

Laboratory Tests for the Diagnosis of Onychomycosis

Chatisa Panyawong*, Charussri Leeyaphan*, Sumanas Bunyaratavej*, Lalita Matthapan*, Waranyoo Prasong*, Wittawat Turakit*, Punyawee Ongsri**

*Department of Dermatology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, **Division of Dermatology, Department of Internal Medicine, Somdech Phra Nangchao Sirikit Hospital, Naval Medical Department, Bangkok, Thailand

Siriraj Medical Bulletin 2023;16(3):246-252

ABSTRACT

Onychomycosis is a fungal infection of the nail plate or nail apparatus. Onychomycosis is commonly found in populations in tropical countries and in the elderly. Onychomycosis cause unusual nail appearance and discoloration. Most people with onychomycosis commonly had several predisposing factors such as frequent hand washing, contact-ing to soil environment, poor hygienic nail or foot care. The most common causative organisms of onychomycosis in Thailand are dermatophytes, followed by non-dermatophytes and yeast. Normally, fungi are invisible to the naked eye but it can be detected by mycological laboratory, for example, KOH examination, fungal culture, and histopathological examinations. Laboratory examinations are very important in diagnosing fungal nail infection and making differen-tiate diagnosis from other nail diseases such as traumatic onychodystrophy, psoriatic nails. Nowadays, prevalence of onychomycosis is increasing, so correct diagnosis should be emphasized to lead to the effective and safety treatment. After recovering from onychomycosis, some patients may have a chance of recurrent disease. Patients should be aware of hand-foot health care by keeping their hands and feet clean and dry. Finding shoes with appropriate arch support will increase walking comfort. Socks should be washed after each wear and stored in a clean, dry place, which can help avoid foot infections or fungus growth.

Keywords: Onychomycosis; fungi; diagnosis; mycological laboratory

Correspondence to: Chatisa Panyawong

Email: chatisa.pan@gmail.com

Received: 12 January 2023

Revised: 19 May 2023

Accepted: 29 May 2023

<http://dx.doi.org/10.33192/smb.v16i3.260857>

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคเชื้อราที่เล็บ

ชาธิศา ปัญญาวงค์*, จรัสศรี นียาพรรณ*, สมนัส บุญยรัตเวช*, ลลิตา มัญญาพันธ์*, วรัญญู ประสงค์*, วิทวัช ธุระกิจ*, ปุณยวีร์ อ่องศรี**

*ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร, **แผนกโรคผิวหนัง กองอายุรเวชกรรม โรงพยาบาลสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์กรมแพทย์ทหารเรือ ชลบุรี

บทคัดย่อ

โรคเชื้อราที่เล็บเป็นการติดเชื้อราที่เล็บหรือโครงสร้างของเล็บ มักเกิดในประชากรในประเทศเขตร้อน และพบบ่อยในผู้สูงอายุ เชื้อราที่เล็บจะก่อให้เกิดมีลักษณะที่แผ่นเล็บที่ผิดปกติและสีที่ผิดปกติ คนส่วนใหญ่ที่เป็นโรคเชื้อราที่เล็บมักมีความเสี่ยงเช่น มีมดกัดผิวหนัง น้ำบ่อยๆ หรือเท้าที่สัมผัสเชื้อจากพื้นดิน รวมถึงการรักษาความสะอาดที่เล็บและเท้าไม่ดีพอ เชื้อราที่พบบ่อยในการก่อโรคเชื้อราที่เล็บในประเทศไทย คือ เชื้อกลากแท้ ต่อมาด้วย เชื้อกลากเทียม และยีสต์ โดยปกติแล้วเชื้อราที่เกิดขึ้นไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า แต่สามารถตรวจพบได้ทางห้องปฏิบัติการ เช่น การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์, เพาะเลี้ยงเชื้อ และย้อมสีเชื้อราจากสิ่งส่งตรวจที่เป็นชิ้นเนื้อจากบริเวณพยาธิสภาพ เป็นต้น ซึ่งการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญอย่างมากในการวินิจฉัยโรคเชื้อรา รวมถึงการวินิจฉัยแยกโรคเชื้อราออกจากโรคที่มีเล็บผิดปกติ เช่น โรคเล็บจากการกระทบกระแทก โรคสะเก็ดเงินที่เล็บ ปัจจุบันโรคเชื้อราที่เล็บมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น ดังนั้นการวินิจฉัยโรคเชื้อราที่เล็บจึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อนำไปสู่การรักษาที่ถูกต้องและปลอดภัยของผู้ป่วย นอกจากนี้หลังจากหายจากโรคเชื้อราแล้ว ยังมีโอกาสเกิดโรคซ้ำได้ ผู้ป่วยควรตระหนักและหมั่นดูแลสุขภาพเล็บมือและเล็บเท้า โดยรักษามือและเท้าให้สะอาดและไม่อับชื้น สวมใส่รองเท้าที่เหมาะสมช่วยให้เดินได้สบายมากยิ่งขึ้น และถุงเท้าควรซักแล้วเก็บไว้ในที่สะอาดและแห้ง เพื่อหลีกเลี่ยงในการติดเชื้อที่เท้าหรือการเจริญเติบโตของเชื้อรา

คำสำคัญ: โรคเชื้อราที่เล็บ; เชื้อรา; การวินิจฉัยโรค; การตรวจทางห้องปฏิบัติการเชื้อรา

บทนำ

ปัจจุบันประชากรทั่วโลกจะพบผู้ป่วยติดเชื้อราที่เล็บประมาณร้อยละ 5-10 แต่จะพบในผู้สูงอายุที่มีอายุมากกว่า 60 ปีถึงร้อยละ 50 และจะพบมากในกลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่ในภูมิภาคเขตร้อนและร้อนชื้น เนื่องจากเชื้อราเจริญได้ดีในที่มีอุณหภูมิประมาณ 25-28°C อีกทั้งยังมีปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น อาชีพ สภาพแวดล้อม การใช้ชีวิตประจำวัน และพฤติกรรมเสี่ยงบางอย่างอาจส่งเสริมในการติดโรคเชื้อราที่เล็บได้ เช่น เดินเท้าเปล่าในพื้นที่ชื้นหรือน้ำท่วมขัง สวมรองเท้าที่คับหรืออับชื้น ล้างมือบ่อย หรือต้องทำงานที่ทำให้มือชื้นตลอดเวลา¹⁻⁵ ซึ่งเชื้อราสามารถแพร่กระจายต่อผู้อื่นได้ ครอบครัวหรือคนใกล้ชิดมีสิทธิ์ที่จะติดเชื้อราได้ และจะเป็นอันตรายอย่างมาก ถ้าคนในครอบครัวติดเชื้อราและยังเป็นภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือโรคเบาหวาน อาจมีความเสี่ยงในแพร่กระจายและก่อให้เกิดการติด

เชื้อรุกรานบริเวณเท้าและอวัยวะอื่นตามมา⁶⁻⁹ นอกจากนี้ยังพบว่าร้านเสริมสวยที่ให้บริการตกแต่งเล็บ อาจมีส่วนในการแพร่เชื้อราผ่านอุปกรณ์ทำเล็บต่าง ๆ⁹⁻¹¹

การจำแนกลักษณะทางคลินิกของโรคเชื้อราที่เล็บ

โรคเชื้อราที่เล็บที่พบส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการเจ็บปวดใดๆ มักแสดงลักษณะของเล็บที่หนาตัวขึ้น ผิวเล็บไม่เรียบ เล็บที่แยกตัวเล็บบอกจากฐานเล็บ หรือเล็บที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีเล็บ เช่น สีขาว สีเหลือง สีดำ หรือสีอื่นๆ โดยโรคเชื้อราที่เล็บอาจต้องวินิจฉัยแยกกับโรคเล็บอื่น เนื่องจากโรคเชื้อราที่เล็บมีลักษณะรอยโรคคล้ายกับโรคเล็บอื่น เช่น โรคสะเก็ดเงินที่เล็บ หรือภาวะเล็บผิดปกติจากการกระทบกระแทก จึงต้องอาศัยการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อนำไปสู่การรักษาที่ถูกต้อง

โรคเชื้อราที่เล็บมีลักษณะทางคลินิกหลายรูปแบบซึ่งแบ่งตามการเข้าและลุกลามของเชื้อราที่แตกต่างกัน^{9,15-16} ดังนี้

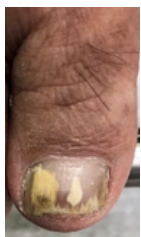
1) โรคเชื้อราที่ส่วนปลายและข้างของเล็บ (distal lateral subungual onychomycosis) เป็นลักษณะของโรคเชื้อราที่เล็บที่พบบ่อยที่สุด โดยส่วนใหญ่มักจะพบที่เล็บเท้า ในระยะแรกจะมีการติดเชื้อราที่ปลายเล็บหรือด้านข้างของเล็บ และแพร่มาที่เนื้อเยื่อใต้เล็บและแผ่นเล็บตามลำดับ ทำให้มีลักษณะของเล็บที่หนาตัวขึ้นและเกิดการยกแผ่นเล็บให้แยกกับฐานเล็บ ซึ่งจะพบเล็บมีสีผิดปกติจากปลายเล็บเข้าไปที่ส่วนโคนเล็บ^{15,16,20} ดังภาพ 1ก บางครั้งเล็บอาจมีการเปลี่ยนสีเป็นสีดำได้ ซึ่งอาจเกิดได้จากทั้งกลากแท้และกลากเทียม ดังภาพ 1ข

2) โรคเชื้อราที่โคนเล็บ (proximal subungual onychomycosis) พบได้ในผู้ป่วยโรคเอดส์หรือมีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ การติดเชื้อราเริ่มติดที่เนื้อเยื่อสร้างเล็บโดยเข้าผ่านผิวหนังปกคลุมข้างเล็บ

ส่วนโคนและลุกลามลงใต้แผ่นเล็บส่วนโคน การตรวจทางกายภาพของเล็บจะพบเป็นสีขาวที่โคนไม่ห่างที่โคนเล็บและผิวหนังด้านบนของแผ่นเล็บปกติ^{15,16,20} ดังภาพ 1ค

3) โรคเชื้อราสีขาวที่ผิวเล็บ (superficial white onychomycosis) การติดเชื้อราเริ่มเกิดจากจุดขาวขนาดเล็กอยู่ที่แผ่นเล็บ ต่อมาจุดขาวเหล่านี้ค่อย ๆ รวมตัว กันเป็นวงขยายออกไปจนเต็มแผ่นเล็บ มีลักษณะผิวของแผ่นเล็บหยาบ ขรุขระ มีความเปราะแตกได้ง่าย^{15,16,20} ดังภาพ 1ง

4) โรคเชื้อราที่เล็บที่แผ่นเล็บผิดปกติทั้งเล็บ (total dystrophic onychomycosis) มีการทำลายและเปลี่ยนแปลงของเล็บทั้งเล็บ พบได้เป็นรอยโรคทุติยภูมิจากการเปลี่ยนแปลงมาจากโรคเชื้อราที่เล็บชนิดอื่นๆ แต่ถ้าเกิดเป็นรอยโรคปฐมภูมิมักพบในกลุ่มผู้ป่วยพร่องภูมิคุ้มกันที่เป็นมาก เช่นในโรค HIV/AIDS หรือในโรค chronic mucocutaneous candidiasis^{15,16,20} ดังภาพ 1จ



1ก



1ข



1ค



1ง



1จ

ภาพที่ 1 ตัวอย่างลักษณะของรอยโรคเชื้อราที่เล็บแต่ละชนิดการเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ (clinical sample collections) การตรวจทางห้องปฏิบัติการเชื้อรา

ที่มา: ถ่ายโดย รศ.นพ.สมนัส บุญยะรัตเวช คลังภาพถ่ายคลินิกหัตถการเชื้อรา ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

เชื้อราที่ก่อโรคที่เล็บซึ่งพบในห้องปฏิบัติการคือ เชื้อรากลุ่มยีสต์ และเชื้อราสาย ซึ่งเชื้อราสายแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ กลุ่มกลากแท้ (dermatophytes) และกลากเทียม (non-dermatophyte) จากการศึกษาระบาดวิทยาในประเทศไทย พบว่าเชื้อที่ก่อโรคเชื้อราที่เล็บที่พบบ่อย คือกลุ่มกลากแท้มากถึงร้อยละ 50 ได้แก่ *Trichophyton*, *Epidermophyton* และ *Microsporum* และกลุ่มกลากเทียมร้อยละ 45 ได้แก่ *Neoscytalidium dimidiatum* และ *Fusarium spp.* และมีเพียงร้อยละ 5 เกิดจากกลุ่มยีสต์ ซึ่งเชื้อกลากเทียมเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาและรักษาได้ยากกว่าเชื้อกลากแท้และยีสต์¹³⁻¹⁸

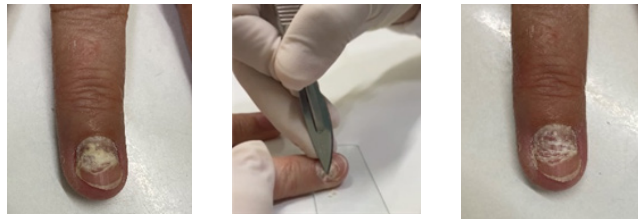
การตรวจวินิจฉัยเชื้อราในปัจจุบันมีหลายวิธี

เช่น การตรวจหาเชื้อโดยตรงโดยใช้สารโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide; KOH) และการย้อมสีพิเศษ เช่น Chlorazol Black E และ Gomori methenamine silver stain นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการตรวจที่จำเพาะเจาะจงเพิ่มมากขึ้น เช่น วิธีการเพาะเลี้ยงบนวุ้นเพาะเลี้ยง (fungal culture) และวิธีการตรวจอื่นๆ เช่น การตรวจทางอณูชีววิทยา (molecular technique เช่น polymerase chain reaction; PCR)



ภาพที่ 2ก ตัวอย่างการเก็บสิ่งส่งตรวจโรคเชื้อราที่เล็บแบบส่วนปลายและข้างของเล็บ

ที่มา: ถ่ายโดย ห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล



ภาพที่ 2ข ตัวอย่างการเก็บสิ่งส่งตรวจโรคเชื้อราที่เล็บแบบสีขาวที่เล็บ

ที่มา: ถ่ายโดย ห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล



ภาพที่ 2ค ตัวอย่างการเก็บสิ่งส่งตรวจโรคเชื้อราที่เล็บแบบแผ่นเล็บผิดปกติ

ที่มา: ถ่ายโดย ห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

การเก็บสิ่งส่งตรวจ

การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ เป็นการเริ่มต้นที่จะนำไปสู่การวินิจฉัยที่ถูกต้อง เนื่องจากการเก็บสิ่งส่งตรวจที่สงสัยติดเชื้อรานั้น ถ้าเก็บไม่ถูกวิธีอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อราที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมหรืออาจทำให้ไม่พบเชื้อราได้²² การเก็บสิ่งส่งตรวจในโรคเชื้อราที่เล็บควรมีการพิจารณาจากลักษณะรอยโรคที่เล็บก่อน เพื่อให้การเก็บสิ่งส่งตรวจสัมพันธ์กับตำแหน่งการเกิดโรค การชุดขูดเพื่อส่งตรวจจะแตกต่างกันตามลักษณะรอยโรคแต่ละชนิดของเชื้อราที่เล็บ โดยก่อนเก็บตัวอย่างควรเช็ดทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ก่อนเพื่อป้องกันผลบวกของหยดไขมันจากยาที่ผู้ป่วยทานมาก่อน

- การเก็บสิ่งส่งตรวจจากโรคเชื้อราที่เล็บแบบส่วนปลายและข้างของเล็บ: โดยส่วนใหญ่ผู้ป่วยที่เป็นเชื้อราที่เล็บจะพบการก่อโรคแบบนี้ การเก็บสิ่งส่งตรวจจะตัดเล็บบริเวณที่เป็นรอยโรคจนถึงตำแหน่งเล็บดีและเล็บที่ผิดปกติ และชุดขูดใต้เล็บ (ภาพที่ 2ก)

- การเก็บสิ่งส่งตรวจโรคเชื้อราที่เล็บที่โคนเล็บ: การเก็บสิ่งส่งตรวจ ต้องชุดที่ได้เล็บส่วนด้านโคนของเล็บที่มีสีขาวเหลืองอยู่ใต้เล็บ โคนชุดผ่านแผ่นเล็บลงไป

- การเก็บสิ่งส่งตรวจจากโรคเชื้อราที่เล็บแบบสีขาวที่ผิวเล็บ: การเก็บสิ่งส่งตรวจโดยชุดขูดที่สีขาวด้านบนของเล็บ (ภาพที่ 2ข)

- การเก็บสิ่งส่งตรวจโรคเชื้อราที่เล็บแบบแผ่นเล็บผิดปกติ: การเก็บสิ่งส่งตรวจโดยชุดขูดตัวแผ่นเล็บและชุดขูดใต้เล็บ (ภาพที่ 2ค)

การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อราทางห้องปฏิบัติการ

วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อราทางห้องปฏิบัติการ แบ่งได้ 4 วิธี คือ

1. การตรวจหาเชื้อจากสิ่งส่งตรวจโดยตรง

เป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย การตรวจที่มีความไวและความแม่นยำที่ดี สามารถระบุได้ว่าในสิ่งส่งตรวจมีเชื้อราสายหรือยีสต์ แต่ไม่สามารถบอกได้ถึงเชื้อก่อโรค ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี²²⁻³⁰

1) วิธีการโดยใช้สารโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นการตรวจหาเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ส่งสัยบนสไลด์ จากนั้นนำสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 20%-40% หยดลงบนสิ่งส่งตรวจที่อยู่บนสไลด์ สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์จะช่วยละลายเคราตินทำให้สิ่งส่งตรวจใส และมองเห็นเชื้อราได้ชัดเจนขึ้น การตรวจวิธีนี้จะสามารถแยกราสาย ชนิดไม่มีผนังกันและชนิดที่มีผนังกันออกจากยีสต์²²⁻²⁴ (ภาพที่ 3)

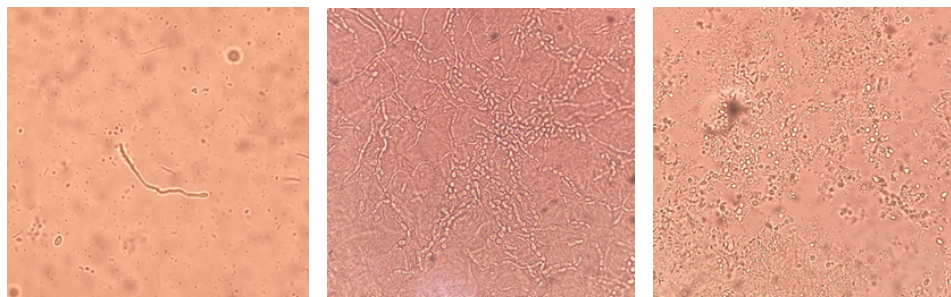
2) การตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยการย้อมสีเชื้อราเพื่อให้เห็นโครงสร้างของเชื้อราที่ชัดเจนและง่ายต่อการหาสายเชื้อรา สีที่ใช้สำหรับย้อมมีหลายชนิด การเลือกชนิดของสีย้อมจึงขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของเซลล์ของเชื้อราที่ต้องการย้อม เช่น การย้อมสีนิวเคลียส การย้อมสีเส้นใย การย้อมสปอร์ หรือการย้อมเพื่อตรวจดูความมีชีวิตของสปอร์ เป็นต้น ตัวอย่างสีที่นิยมใช้ย้อมเชื้อรา เช่น Chlorazol Black E เป็นสารย้อมให้ผนังเซลล์ของสายราและยีสต์ย้อมติดสีดำช่วยให้เห็นสายราและยีสต์ได้ง่ายขึ้น²⁶ หรือ calcofluor white เป็นสารเรืองแสงที่ใช้ย้อมส่วนประกอบของเชื้อราที่มี cellulose และ chitin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในผนังเซลล์ของเชื้อรา โดยตรวจโครงสร้างเชื้อราด้วย calcofluor white ร่วมกับแสงยูวีหรือแสงที่มีความยาวคลื่นประมาณ 300-440 นาโนเมตร จะให้สีเรืองแสงเขียวอมฟ้า สาร calcofluor white สามารถย้อมเชื้อราได้ทุกชนิด ทั้งราสายและยีสต์²²⁻²⁵

2. การเพาะเชื้อ

เป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อราจากสิ่งส่งตรวจให้เจริญในวันเพาะเลี้ยง เพื่อบูเชื้อก่อโรค นำมาซึ่งการวินิจฉัยโรคและการรักษาที่ถูกต้อง นอกจากนั้นสามารถนำไปศึกษาต่อเนื่อง เช่น การศึกษาทางชีววิทยาระดับโมเลกุล การศึกษาพยาธิกำเนิดของโรค การจัดจำแนกกลุ่มของเชื้อรา การทดสอบผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อรา การพัฒนาเครื่องมือสำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา²²⁻²³ อาหารมาตรฐานที่เพาะเลี้ยงสำหรับเชื้อราโดยเฉพาะราสายที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ คือ

1) Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ซึ่งทางห้องปฏิบัติการมีการเพาะเลี้ยงเชื้อ จำนวน 2 หลอดต่อสิ่งส่งตรวจ โดยหลอดแรกมีการเติมสาร chloramphenicol เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และหลอดที่สองเติมสาร chloramphenicol และ cycloheximide เพื่อยับยั้งการเจริญแบคทีเรียและเชื้อราปนเปื้อน อีกทั้งยังสามารถแยกเชื้อกลากแท้และกลามเทียมได้อีกด้วย โดยเชื้อกลากเทียมเจริญได้ช้าหรือไม่สามารถเจริญในหลอดที่มีการเติม cycloheximide ได้ โดยทางห้องปฏิบัติการวินิจฉัยสายพันธุ์ของเชื้อรา ทำด้วยวิธีการ Scotch-tape technique โดยนำด้าน Scotch-tape ที่มีกาวเหนียวแปะลงบนโคโลนี แล้วนำมาผสมกับสี lactophenol cotton blue นำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยพิจารณาตุลลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ร่วมกับลักษณะโคโลนี วิธีดังกล่าวอาจกระทบกระเทือนโครงสร้างของconidiaของสายเชื้อรา อาจหลุดออกจากกัน หรือหลุดออกจากสายรา ทำให้ไม่เห็นลักษณะเฉพาะของเชื้อราเพื่อใช้ในการวินิจฉัยได้^{23,27}

2) Dermatophyte test medium เป็นการพัฒนาอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อรากลากแท้โดยเฉพาะ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จะใช้ enzymatic digest of soybean meal เป็นแหล่งไนโตรเจนและวิตามินที่เชื้อกลากแท้ใช้สำหรับเจริญเติบโตและเกิดการสร้างสาร secondary metabolites จากตัวเชื้อราออกมาทำปฏิกิริยากับ phenol red ในอาหาร เกิดเป็นสีที่แตกต่างกันตั้งแต่เหลืองเข้มจนถึง



3ก

3ข

3ค

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของเชื้อราที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เชื้อราที่ไม่มีผนังกัน (3ก) เชื้อราที่มีผนังกัน (3ข) และยีสต์ (3ค)

ที่มา: ถ่ายโดย ห้องปฏิบัติการเชื้อรา ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

แดงเข้ม วันชนิดนี้จึงเป็นที่นิยมเพราะสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อและระบุได้จำเพาะว่าเชื้อที่ขึ้นและเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีแดง ร่วมกับ การ кульक्षणโคโลนี สามารถแยกกลากแท้จากกลากเทียมได้^{22,28}

3) Chrom agar เป็นอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราในกลุ่ม ยีสต์ มีการใช้ chromogenic substrates ซึ่งประกอบไปด้วย proteolytic enzymes ทำให้เกิดการแสดงออกของสีโคโลนีของเชื้อ *Candida* spp. ตาม species ที่แตกต่างกัน ได้แก่ *C. albicans* แสดงสีเขียว, *C. tropicalis* แสดงสีน้ำเงิน, *C. krusei* แสดงสีชมพู *C. glabrata* แสดงสีน้ำตาล, *C. parapsilosis* แสดงสีครีมขาว และ *C. dubliniensis* แสดงสีเขียวเหมือนกับ *C. albicans* แต่สามารถดูเทียบกับอาหาร Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ที่บ่มอุณหภูมิ 43°C ซึ่งทำควบคู่ไปด้วยจะพบว่า *C. dubliniensis* สามารถเจริญได้บน SDA ได้ช้าหรือไม่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิที่ 42°C ขึ้นไป ซึ่งสามารถทำให้แยกแยะระหว่าง 2 species ที่มีสีโคโลนีเหมือนกันใน Chrom agar ได้^{22,29}

3. การตรวจทางพยาธิวิทยา

คือการตัดชิ้นส่วนของเล็บที่ผิดปกติส่งไปตรวจทางพยาธิวิทยา โดยตัดเล็บแล้วใส่ใน paraffin เพื่อนำไปตัดเป็นชิ้นเนื้อเล็บออกมาและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ว่า พบสายราแทรกในแผ่นเล็บหรือไม่ ซึ่งอาจมีการย้อมพิเศษเพื่อให้เห็นสายราชัดเจนมากขึ้นด้วย เช่น Periodic acid-Schiff, Gomori methenamine silver stain เป็นต้น การวินิจฉัยนี้มีความไวและความแม่นยำที่ดี แต่ไม่สามารถจำแนกชนิดเชื้อก่อโรคได้และการตรวจใช้เวลาานาร่วมกับมีค่าใช้จ่ายการตรวจที่สูง^{22,23}

4) การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อราด้วยวิธีอณูพันธุวิทยา (molecular technique)

ที่นิยม คือ polymerase chain reaction (PCR), real-time PCR และ flow cytometry ร่วมด้วยเป็นการช่วยระบุสายพันธุ์ของเชื้อราอย่างแม่นยำและจำเพาะ โดยจะนิยมตรวจหาความจำเพาะที่บริเวณ highly conserved area ของเชื้อรา เช่น 18S, 5.8S, Internal transcribed spacer (ITS)^{22,23} วิธีนี้สามารถตรวจวินิจฉัยได้แม้จะมีเชื้อราปริมาณน้อยก็ตาม และสามารถทราบผลภายใน 48 ชั่วโมง ซึ่งวิธีดังกล่าวยังไม่เป็นที่นิยมสำหรับการตรวจทางคลินิกทั่วไป เพราะราคาสูงและใช้อุปกรณ์เครื่องมือที่แพงที่ไม่ได้มีในโรงพยาบาลทั่วไป

การตรวจวินิจฉัยโรคเชื้อราที่เล็บสามารถทำได้หลายวิธีสามารถใช้การตรวจหลายอย่างร่วมกันเพื่อเพิ่มความไวและความจำเพาะได้ เช่น การตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ร่วมกับการเพาะเชื้อ ซึ่งการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญอย่างมากทั้งในการด้านการวินิจฉัย การพยากรณ์โรคและการประเมินผลหลังการรักษา ดังนั้น ควรให้คำแนะนำแก่ผู้ป่วยที่มีเล็บผิดปกติที่สงสัยให้มาพบแพทย์เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการเชื้อราให้ได้การวินิจฉัยที่ชัดเจนก่อนเริ่ม

การรักษา เพื่อช่วยเพิ่มความแม่นยำในการรักษาหรือการให้ยาแก่ผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ รวมถึงหลังการรักษาโรคเชื้อราที่เล็บแล้วก็ควรมาตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินการหายจากเชื้อราด้วย เนื่องจากมีโอกาสเกิดโรคซ้ำได้ แม้ว่าเล็บที่ดูเหมือนเกือบจะปกติหลังจากการรักษาแล้วอาจยังคงมีเชื้อราที่ยังหลงเหลืออยู่ ดังนั้นการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันอีกครั้ง โดยเฉพาะก่อนจะหยุดการรักษาก็มีความสำคัญไม่น้อย

สรุป

โรคติดเชื้อราที่เล็บ สามารถเกิดได้ทั้งเล็บมือและเล็บเท้า และมีแนวโน้มว่าจะมีการติดเชื้อราที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้สูงอายุ การวินิจฉัยโรคเชื้อราที่เล็บเป็นสิ่งสำคัญ ผู้ป่วยที่มีลักษณะเล็บที่ผิดปกติอาจไม่ได้เกิดจากเชื้อราทุกราย ผู้ป่วยควรมาพบแพทย์เพื่อตรวจและทำการเก็บส่งตรวจไปตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อให้วินิจฉัยโรคเชื้อราที่ถูกต้องซึ่งจะนำไปสู่การรักษาที่ถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

1. Gupta AK, Jain HC, Lynde CW, Macdonald P, Cooper EA, Summerbell RC. Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter Canadian survey of 15,000 patients. *external icon. J Am Acad Dermatol.* 2000;43:244-8.
2. Bunyaratavej S, Pattanaprichakul P, Leeyaphan C, Chayangsu O, Bunyaratavej S, Kulthanan K. Onychomycosis: A study of self-recognition by patients and quality of life. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2015;81:270-4.
3. Repetto EC, Giacomazzi CG, Castelli F. Hospital-related outbreaks due to rare fungal pathogens: a review of the literature from 1990 to June 2011. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:2897-904.
4. Dyanne P, Michael J. Onychomycosis: Current trends in diagnosis and treatment. *Am Fam Physician.* 2013;88(11):762-70.
5. Bunyaratavej S, Srinonprasert V, Kiratiwongwan R, Wongdama S, Leeyaphan C. Onychomycosis in older : The age and associated factors affecting the complete cure rate. *Australas J Dermatol.* 2022;63(1):74-80.
6. Thomas J, Jacobson GA, Narkowicz CK, Peterson GM, Burnet H, Sharpe C. Toenail onychomycosis: an important global disease burden. *J Clin Pharm Ther.* 2010;35(5):497-519.
7. Assadamongkol R, Lertwattanak R, Wannachalee T, Bunyaratavej S, Leeyaphan C, Matthapan L. Prevalence, Risk Factors, and Type of Organism in Fungal Foot Infection and Toenail Onychomycosis in Thai Diabetic Patients. *J Med Assoc Thai.* 2016;99:659-64.
8. Surjushe A, Kamath R, Oberai C, et al. A clinical and mycological study of onychomycosis in HIV infection. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2007;73(6):397-401
9. Gupta AK, Stec N, Summerbell RC, Shear NH, Pigué V, Tosti A, Piraccini BM. Onychomycosis: a review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34:1972-90.

10. Wolff K, Goldsmith L, Katz S, Gilchrist B, Paller AS, Leffell D. Fitzpatrick's Dermatology in general medicine 7th ed. McGraw-Hill. 2008:1806-10.
11. Wolff K, Goldsmith L, Katz S, Gilchrist B, Paller AS, Leffell D. Fitzpatrick's Dermatology in general medicine 8th ed. McGraw-Hill. 2012:1013-14.
12. Salakshna N, Bunyaratavej S, Matthapan L, Lertrujivanit K, Leeyaphan C. A cohort study of risk factors, clinical presentations and outcomes for dermatophyte, non-dermatophyte and mixed toenail infections. *J Am Acad Dermatol*. 2018;79:1145-6.
13. Bunyaratavej S, Limphoka P, Kiratiwongwan R, Leeyaphan C. Survey of skin and nail fungal infections by subject age among Thai adults and the etiological organisms. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2019;50:1118-30.
14. Lipner SR, Scher RK. Onychomycosis: Clinical overview and diagnosis. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:835-51.
15. Lipner SR, Scher RK. Onychomycosis: Treatment and prevention of recurrence. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80:853-67.
16. Elewski B, Charif M. Prevalence of onychomycosis in patients attending a dermatology clinic in Northeastern Ohio for other conditions. *Arch Dermatology*. 1997;133:1172-3.
17. S, Bunyaratavej S, Leeyaphan C, Rujitharanawong C, Surawan TM, Muanprasat C, Atthapan L. Efficacy of 5% amorolfine nail lacquer in *Neoscytalidium dimidiatum* onychomycosis. *J Dermatolog Treat*. 2016;27:359-63.
18. Leeyaphan C, Bunyaratavej S, Prasertworanun N, Muanprasat C, Matthapan L, Rujitharanawong C. Dermatophytoma: An under-recognized condition. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2016;82:188-9.
19. Singal A, Khanna D. Onychomycosis: Diagnosis and management. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2011;77(6):659-72.
20. Finch J, Arenas R, Baran R. Fungal melanonychia. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(5):830-41.
21. Luplertlop N, Suwanmanee S. Dermatophytosis: from bench to bedside. *J Trop Med Parasitol*. 2013;36:75-87.
22. Pumirat P, Tunyong W, Luplertlop N. Medical Mycology. *J Med Health SCI*. 2013;20(2):31-44.
23. Kondori N, Tehrani PA, Strömbeck L, Faergemann J. Comparison of Dermatophyte PCR Kit with Conventional Methods for Detection of Dermatophytes in Skin Specimens. *Mycopathologia*. 2013;176(3-4):237-41.
24. Luplertlop N, Suwanmanee S. Dermatophytosis: from bench to bedside. *J Trop Med Parasitol*. 2013;36:75-87.
25. Matthapan L, Leeyaphan C, Limphoka P, Lertrujivanit K, Prasong W, Bunyaratavej S. *J Med Asso Thai*. 2021;104(3):383-87.
26. Odds FC. Sabouraud('s) agar. *J Med Vet Mycol*. 1991;29(6):355-9.
27. Li XF, Shen YN, Chen W, Chen H, Lv GX, Liu WD. A new medium for diagnosis of dermatophyte infection. *Eur J Dermatol*. 2009;19(1):34-7.
28. Ruan E, Johan K, Carolina H. *Candida albicans* or *Candida dubliniensis*?. *Mycoses*. 2011;54(1):1-16.
29. Shemer A, Davidovici B, Grunwald H, Trau H, Amichai B. New criteria for the laboratory diagnosis of non-dermatophyte moulds in onychomycosis. *Br J Dermatol*. 2009;160(1):37-9.