



เชื้อราทางการแพทย์

พรพรรณ ภูมิรัตน์, วิทวัส ต้นทอง, นัฐเนศวร์ สับเลิศบ
คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อรา (mycoses) จัดเป็นโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อรา ซึ่งหากแบ่งตามรูปร่างจะสามารถจัดจำแนกได้ 3 ชนิด คือ เชื้อยีสต์ (yeast) ราสาย (mold) และราสองรูป (dimorphic fungi) เชื้อราสามารถพบได้ทั่วไปทั้งในธรรมชาติ คนและสัตว์ ความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากโรคติดเชื้อราในคนเกิดได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม การติดเชื้อราโดยตรงสามารถแบ่งความรุนแรงตามความลึกของการเจริญในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ติดเชื้อออกได้เป็น superficial mycoses, cutaneous mycoses, subcutaneous mycoses และ systemic (deep) mycoses นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถทำให้เกิดความผิดปกติทางอ้อมได้ เนื่องจากเชื้อราบางชนิดสามารถปล่อยสารที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อรา เรียกว่า พิษรา (mycotoxin) ส่งผลให้เกิดความผิดปกติที่เรียกว่า โรคพิษจากเชื้อรา (mycotoxicosis) อีกทั้งเชื้อรายังสามารถก่อให้เกิดความผิดปกติที่มีลักษณะคล้ายโรคภูมิแพ้ เรียกว่า ภูมิแพ้รา (fungal allergy) ได้เช่นกัน สำหรับพยาธิกำเนิดกับความรุนแรงของโรคติดเชื้อรา พบว่ามีความสัมพันธ์กับ 2 ปัจจัย คือ ตัวเชื้อรา โดยเฉพาะ virulence factors และระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ โดยเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันที่มีผลต่อพยาธิกำเนิดของเชื้อรามักอยู่ในกลุ่มของ innate immune response cells การตรวจวินิจฉัยเชื้อราในปัจจุบันมีหลายวิธี ที่นิยมคือวิธีการทางจุลชีววิทยา เช่น การตรวจหาเชื้อโดยตรงโดยใช้สารโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) และการย้อมสีพิเศษ เช่น Lactophenol cotton blue และ Gomori methenamine silver stain นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการตรวจที่จำเพาะเจาะจงเพิ่มมากขึ้น เช่น วิธีการเพาะเลี้ยงบนวุ้นเพาะเลี้ยง (fungal culture) และวิธีการตรวจอื่น ๆ เช่น การตรวจหาจากส่วนประกอบของเชื้อรา (galactomanan, β -D glucans) การตรวจทางซีโรโลยี (serological test) รวมถึงการตรวจทางอณูชีววิทยา (Molecular technique เช่น Polymerase chain reaction; PCR) ด้านการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อราในปัจจุบัน มียาที่ใช้รักษาอยู่ 6 กลุ่ม คือ polyene, azoles, pyrimidine analog, echinocandins, allylamine และ ยากลุ่มอื่นๆ โดยมีรูปแบบของยา 2 รูปแบบ คือ ชนิดทาและชนิดที่ออกฤทธิ์ทั่วร่างกาย ทั้งนี้การเลือกใช้ชนิดและรูปแบบของยาในการรักษาผู้ป่วย ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยแต่ละราย

คำสำคัญ: พิษรา, ภูมิแพ้รา, ยาต้านเชื้อรา

ผู้พิมพ์ประสานงาน

นัฐเนศวร์ สับเลิศบ

ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี

คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

420/6 ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

อีเมลล์: natthanej.lup@mahidol.ac.th

Medical Mycology

Pornpan Pumirat, Witawat Tunyong, Natthanej Luplertlop

Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

Abstract

Mycoses are the infectious diseases caused by fungi. Fungi have been divided according to their morphology into 3 types: yeasts, molds, and dimorphic fungi. Fungi are everywhere including in the environment, and on humans and animals. Diseases by fungi can be occasioned either directly (mycoses) or indirectly (poisoning and allergy). Mycoses are classified by the level of invasion and degree of infected tissue as superficial, cutaneous, subcutaneous and systemic (deep) mycoses. Besides, some fungi can release the fungal metabolites (secondary products of metabolic processes), called mycotoxins, that are capable of causing disease and death called mycotoxicosis. In addition, fungi may trigger an allergic reaction in some humans and other animals. The pathogenesis of fungal infections depend on 2 main factors, the fungal virulence factor and host immune status, especially, innate immune response cells. At present, there are several diagnostic methods for fungal infection, mostly depending on microbiology techniques such as potassium hydroxide (KOH) direct examination of the lesion, which may be stained with lactophenol cotton blue and Gomori methenamine silver stain etc. The other variety of fungal diagnostic tools has been developed for several fungal infected samples such as fungal cultivation, fungal composition based diagnostic tools (galactomanan, β - D glucans), sero diagnosis and molecular based technique (Polymerase chain reaction, PCR). In the treatment of fungal infections, there are 6 types of antifungal agents that commonly used for fungal infected patients, which are polyene, azoles, pyrimidine analog, echinocandins, allylamine and others. The effectiveness among these groups vary according to their inhibition site. Moreover, the form of medication applied either topical or systemic (oral and injection), has to be considered depending on individual fungal pathogen and disease severity.

Keywords: Mycotoxicosis, Fungal allergy, Antifungal drugs

Corresponding author:

Natthanej Luplertlop

Department of Microbiology and Immunology,

Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

420/6 Ratchavitha Road, Payathai, Bangkok, 10400

E-mail: natthanej.lup@mahidol.ac.th

■ บทนำ

เชื้อราจัดเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถก่อโรคได้ทั้งมนุษย์ สัตว์ และพืช เมื่อมีการติดเชื้อราเกิดขึ้นนอกจากจะส่งผลกระทบต่อระบบต่างๆ ที่ติดเชื้อ ยังส่งผลกระทบต่อรูปลักษณ์ (cosmetic concerned) ได้แก่ เกิดรอยต่างของผิว ตุ่มหนอง ตุ่มนูนแข็ง ผอมร่วง เล็บร่น เป็นต้น รวมถึงผลกระทบต่อทางเศรษฐกิจ (economic concerned) ได้ เพราะการรักษาผู้ติดเชื้อรา ต้องใช้ยาที่มีราคาค่อนข้างแพงและใช้ระยะเวลาในการรักษา^{1,2} ดังนั้นการเข้าใจถึงเชื้อราทางการแพทย์เบื้องต้น จึงเป็นสิ่งที่สำคัญและนำไปสู่การพัฒนาความรู้ และการดูแลรักษาผู้ป่วยที่มีประสิทธิภาพต่อไป บทความนี้จะได้รวบรวมความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อราทางการแพทย์ เพื่อใช้เป็นแนวทางการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมในรายละเอียดต่อไป

เชื้อราจัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (eukaryotic cell) มีผนังเซลล์ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นสารไคตินและเซลลูโลส ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับพืช แต่เชื้อราไม่มีคลอโรฟิลล์ จึงไม่สามารถสร้างอาหารได้ด้วยตัวเองและดำรงชีวิตเป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อย (heterotroph)^{1,2}

เชื้อราสามารถจัดจำแนกลักษณะตามสัณฐานวิทยา (morphological classification) ดังแสดงในตารางที่ 1 แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดประกอบด้วย^{1,2}

1. เชื้อราเซลล์เดียว (unicellular) คือ พวกยีสต์ (yeast) หรือ สารา มักจะพบลักษณะเซลล์รูปร่างกลม ไม่มีเส้นใย

2. เชื้อราหลายเซลล์ (multicellular) คือ พวกราสาย (mold) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นสาย (filamentous) ซึ่งมีทั้งแบบเส้นใยที่มีผนังกัน (septate hyphae) หรือไม่มีผนังกัน (non-septate hyphae)

3. เชื้อราที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างกลับไปมาได้ ระหว่างราสายและสารา เรียกว่าราสองรูป (dimorphic fungi) โดยพบว่าถ้าเจริญเติบโตตามพื้นดินหรือสิ่งแวดล้อม (saprophytes) มักพบว่ามีรูปร่างเป็นแบบราสาย (mold forms) ซึ่งไม่ก่อโรค แต่เมื่อเจริญเป็นปรสิต (parasite) ในคนหรือสัตว์ จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นแบบเซลล์เดียว คือ สารา (yeast forms) เชื้อราที่มีคุณลักษณะ dimorphic fungi พบได้ในกลุ่มเชื้อที่ทำให้เกิดกลาก เกื้อื้อ และเชื้อราก่อโรคชนิดแพร่กระจาย (Systemic (deep) mycoses) เช่น *Penicillium marneffeii*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*^{2,4}

ตารางที่ 1 การแบ่งชนิดของเชื้อราตามสัณฐานวิทยาของรา^{1,4}

ชนิดของเชื้อรา	ลักษณะ	ตัวอย่าง
ยีสต์ (yeast)	<ul style="list-style-type: none"> เซลล์เป็นแบบ eukaryotic cell มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส เซลล์เดี่ยว รูปร่างกลมรูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอน ส่วนมากขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (budding) แต่บางชนิดอาจขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) หรือ เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Candida albicans</i> <i>Shizosaccharomyces pombe</i>
ราสาย (mold)	<ul style="list-style-type: none"> เซลล์เป็นแบบ eukaryotic cell มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ไม่มีคลอโรฟิลล์ ดำรงชีวิตเป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อย ผนังเซลล์เป็นสารไคตินกับสารประกอบคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูแคน เซลลูโลส เส้นใยแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ <ul style="list-style-type: none"> เส้นใยที่มีผนังกัน (septate hypha) เส้นใยที่ไม่มีผนังกัน (non-septate hypha) 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Mycorrhiza</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. <i>Metarhizium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
ราสองรูป (dimorphic fungi)	<ul style="list-style-type: none"> มีรูปร่าง 2 แบบ ถ้าเจริญเติบโตตามพื้นดินมีรูปร่างเป็นแบบ filamentous fungi ถ้าไปเจริญเป็นปรสิตในคนหรือสัตว์ จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นแบบ yeast 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Penicillium marneffeii</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i>

สำหรับ *Candida albicans* จัดเป็นกลุ่มส่ราที่มีคุณสมบัติของการปรับเปลี่ยนรูปโดยการยึดโครงสร้างคล้ายท่อออกจากเซลล์กลม ทำให้มีลักษณะคล้ายสายรา พบว่าคุณสมบัติดังกล่าวมักจะพบเมื่อมีภาวะกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม เช่น pH, อุณหภูมิ, serum, CO₂ และภาวะขาดอาหาร แต่ลักษณะของสายรดังกล่าว มีคุณสมบัติที่แตกต่างไปจาก true hyphae ที่พบในราสาย คือ จะมีการโค้งงอในบริเวณที่มีการสร้าง septum (septation site) มีความกว้างขนาดใหญ่กว่า true hyphae มักจะไม่พบ cytoplasmic connection รวมถึงการเจริญและยึดของท่อที่พบใน *Candida albicans* จะใช้ polarisome แทนส่วนที่เรียกว่า spitzenkörper ที่พบใน true hyphae ด้วยความแตกต่างระหว่าง true hyphae ในราสายกับการยึดลักษณะคล้ายท่อที่เกิดจากเชื้อ *Candida albicans* จึงเรียกสิ่งที่ยึดลักษณะคล้ายท่อดังกล่าวว่า pseudohyphae และไม่จัดเชื้อ *Candida albicans* เป็นราสองรูป (dimorphic fungus) แต่จะบ่งชี้ได้ว่าเชื้อ *Candida albicans* มีคุณสมบัติของ dimorphism⁴

■ การก่อโรคของเชื้อรา (Fungal infection)

การก่อโรคของเชื้อราในคน สามารถจัดจำแนกได้ 3 ประเภท คือ

1. **Toxigenic fungi** คือ เชื้อราที่มีสารพิษอยู่ในหรือสารพิษที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อรา ซึ่งสารพิษนี้สามารถปล่อยออกมา ส่งผลต่อผู้ที่ได้รับสารพิษดังกล่าวทันทีเมื่อได้รับในปริมาณมาก หรือสะสมสารพิษดังกล่าวในปริมาณน้อยแต่สะสมเป็นระยะเวลา นานจนก่อให้เกิดความผิดปกติของอวัยวะเป้าหมายของสารพิษดังกล่าว ในบางครั้งเชื้อราไม่ได้ปล่อยสารพิษแต่สารที่ปล่อย

จากเชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างตามสิ่งแวดล้อมจนเกิดลักษณะที่เป็นพิษขึ้นได้เช่นกัน เรียกความผิดปกติของคนที่เกิดจากสารพิษของเชื้อรานี้ว่า mycotoxicosis และเรียกสารพิษก่อโรครดังกล่าวว่า mycotoxin ซึ่งเชื้อราแต่ละชนิดจะปล่อยสารพิษในปริมาณและชนิดที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของเชื้อรา ชนิดของแหล่งเจริญของเชื้อรา รวมถึงสิ่งที่มีกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง mycotoxin (ตารางที่ 2)⁵⁻⁸

2. **Allergenic fungi** คือ เชื้อราหรือส่วนของเชื้อราที่ทำหน้าที่คล้ายแอนติเจน (antigen) โดยไปส่งผลกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี (antibody) ชนิด IgE ก่อให้เกิดความผิดปกติลักษณะคล้ายปฏิกิริยาภูมิไวเกิน (hypersensitivity reaction type I) หรือ มีอาการและอาการแสดงของความผิดปกติคล้ายกับภาวะหอบหืด (asthmatic like symptoms) โดยเชื้อรากลุ่มที่มีคุณสมบัติดังกล่าวเช่น *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Epicoecum nigrum*, *Fusarium* spp., *Ganoderma* spp., *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp.⁹⁻¹¹

3. **Invasive fungi** คือ เชื้อราที่สามารถบุกรุกเข้าไปเจริญอยู่ในร่างกายของคน อาจเจริญเฉพาะบริเวณผิวหนัง หรือเข้าสู่อวัยวะภายใน การติดเชื้อราในลักษณะดังกล่าว เรียกว่า mycoses หรือ mycosis ทั้งนี้สามารถแบ่งความรุนแรงของการเกิดโรคติดเชื้อราตามความลึกของการเจริญในร่างกายคน ออกได้เป็น 4 ชนิด คือ superficial mycoses, cutaneous mycoses, subcutaneous mycoses และ systemic (deep) mycoses¹²

3.1 *Superficial mycoses* จัดเป็นการติดเชื้อราที่อยู่ตื้นที่สุด พบว่ามีพยาธิสภาพจำกัดอยู่แค่บริเวณขน ผม และผิวหนังชั้นนอกสุดคือชั้น *Stratum corneum* โดยเฉพาะบริเวณที่มี keratin อยู่ ซึ่งจัดเป็นบริเวณของเซลล์ที่ตายแล้ว และไม่

ตารางที่ 2 ชนิดของสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin) เชื้อราต้นเหตุและความผิดปกติที่เกิดขึ้น⁵⁻⁸

สารพิษ (Mycotoxin)	เชื้อราต้นเหตุ	ความผิดปกติที่พบบ่อย ๆ
Aflatoxins	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Teratogenic และ liver carcinogenic
Ergot	<i>Penicillium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. <i>Claviceps purpurea</i>	Ergotism (มักจะพบลักษณะของการชักและเกิดความผิดปกติบริเวณปลายมือ-เท้าในลักษณะของ gangrenous symptoms)
Trichothecenes	<i>Fusarium</i> spp.	คลื่นไส้ อาเจียน และเกิดความผิดปกติในกลุ่มของ alimentary toxic aleukia
Ochratoxins	<i>Penicillium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.	ส่งผลต่อความผิดปกติของไต (nephrotoxic)
3-Nitropropionic acid	<i>Arthrinium</i> spp.	เกิดภาวะอาหารเป็นพิษ ที่เรียกว่า moldy sugarcane poisoning

ค่อยมีปฏิกิริยาทางระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ความผิดปกติดังกล่าวไม่ส่งต่อการกระตุ้นการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ไม่ค่อยพบการอักเสบที่ชัดเจนเหมือนชนิดอื่นๆ ที่มีการติดเชื้อลึกยิ่งขึ้น กลุ่มโรคติดเชื้อราชนิด superficial mycoses (ตารางที่ 3)¹³⁻¹⁶ ที่พบบ่อย ได้แก่

- โรคเกลื้อน (Pityriasis versicolor) จัดเป็นกลุ่มโรคที่พบบ่อย โดยเฉพาะกลุ่มผู้ที่มีเหงื่อออกปริมาณมาก ร่วมกับอาการดูแลความสะอาดที่ไม่เหมาะสม ลักษณะของโรคจะมีผื่นสีจาง (hypopigment) บางครั้งสามารถพบผื่นลักษณะสีเข้ม (hyperpigment) หรือสีแดง (erythema) ได้ พบผื่นได้บ่อยบริเวณคอ หัวไหล่ หน้าอก และหลัง เชื้อก่อโรค คือ *Malassezia furfur* ซึ่งเจริญได้ดีที่ชั้น keratin ของผิวหนัง

- โรคปมราดำ (Black piedra) เป็นโรคติดเชื้อราที่พบบริเวณเส้นผม ไม่ค่อยพบที่บริเวณขนรักแร้และขนบริเวณหัวหน่าว จะพบลักษณะเป็นตุ่มแข็งเป็นมัน มีสีดำหรือน้ำตาลเข้มที่เส้นผม ไม่สามารถถอดออกได้เหมือนไซเหา เชื้อก่อโรค คือ *Piedra hortae*

- โรคปมราขาว (White piedra) เป็นโรคที่พบบ่อย จะพบลักษณะตุ่มสีขาวบริเวณรอบเส้นขน สามารถถอดออกได้คล้ายไซเหา เชื้อก่อโรค คือ *Trichosporon beigeli* ลักษณะของโรคนี้ บางครั้งคล้ายกับโรคติดเชื้อ *Corynebacterium* ที่เรียกว่า Trichomycosis axillaris

- โรครอยดำดำ (Tinea nigra) เป็นโรคที่ผู้ป่วยไม่ค่อยมีอาการที่รุนแรง นอกจากพบลักษณะปื้นสีน้ำตาลเข้มดำ คล้ายเปื้อนสีที่บริเวณฝ่ามือ เชื้อก่อโรคคือ *Phaeoanellomyces werneckii*

ตารางที่ 3 ชื่อโรคและเชื้อราก่อโรคชนิด superficial mycoses¹³⁻¹⁶

โรคในกลุ่ม Superficial mycoses	เชื้อราก่อโรค
โรคเกลื้อน (Pityriasis versicolor)	<i>Malassezia furfur</i>
โรคปมราดำ (Black piedra)	<i>Piedra hortae</i>
โรคปมราขาว (White piedra)	<i>Trichosporon beigeli</i>
โรครอยดำดำ (Tinea nigra)	<i>Phaeoanellomyces werneckii</i>

3.2 Cutaneous mycoses คือ เชื้อราที่บริเวณผผ ขน เล็บ โดยพบว่าชั้นส่วนของเชื้อราสามารถลุกลามจากชั้น Stratum corneum ไปอยู่ที่รูขุมขน ผม โคนเล็บ และข้างเล็บได้ เมื่อมีการติดเชื้อราในกลุ่มนี้ร่างกายมักจะมีการตอบสนอง

ทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งจะมีการอักเสบ บวม แดง หรือความผิดปกติต่อโครงสร้างของผิวหนัง ผม และเล็บได้ กลุ่มโรคติดเชื้อราชนิด cutaneous mycoses ที่พบบ่อยนั้นแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มโรค (ตารางที่ 4)¹⁶⁻¹⁷ คือ

□ โรคที่เกิดจากเชื้อ Dermatophytes เรียกว่า โรคกลาก (dermatophytosis) จัดเป็นโรคติดเชื้อราที่พบบ่อย เชื้อที่เป็นสาเหตุก่อโรค คือ

- *Trichophyton*s พบว่าเป็นสาเหตุในการติดเชื้อบริเวณผม ผิวหนัง และเล็บ
- *Microsporums* พบว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่บริเวณผมและผิวหนังมากกว่าบริเวณเล็บ
- *Epidermophyton*s พบได้บ่อยในการติดเชื้อบริเวณผิวหนังและเล็บ สำหรับการติดเชื้อโรคกลาก (dermatophytes) นั้นทางการแพทย์จะมีการเรียกชื่อที่แตกต่างกันออกไปตามอวัยวะที่เกิดพยาธิสภาพ เช่น

- กลากบริเวณศีรษะ เรียกว่า Tinea capitis
- กลากบริเวณลำตัว เรียกว่า Tinea corporis
- กลากบริเวณขาหนีบ/ ร่มผ้า เรียกว่า Tinea cruris
- กลากบริเวณง่ามมือและนิ้วมือ เรียกว่า Tinea manuum
- กลากบริเวณฝ่าเท้า เรียกว่า Tinea pedis เป็นต้น

□ โรคที่เกิดจากเชื้อรากลุ่มอื่นๆ เรียกว่า dermatomycosis โดยเชื้อที่พบบ่อย คือ เชื้อ *Candida albicans* ซึ่งมักจะเป็นสาเหตุของการติดเชื้อราบริเวณอวัยวะที่มีความชื้นสูงๆ โดยเฉพาะ mucocutaneous เช่น บริเวณอวัยวะเพศ รอบๆ ทวารหนัก ขาหนีบ นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อราอวัยวะอื่น ๆ ได้อีก เช่น เชื้อก่อโรคราดำ (*Hendersonula toruloidea*) โรคติดเชื้อราที่เล็บตัวอื่นๆ เช่น *Scytalidium hyalinum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus* spp.

3.3 Subcutaneous mycoses เป็นกลุ่มโรคติดเชื้อราที่มีพยาธิสภาพบริเวณผิวหนังและใต้ผิวหนังบางชนิดสามารถลุกลามถึงอวัยวะข้างเคียง เช่น กระดูก หลอดเลือด และต่อมน้ำเหลืองได้ กลุ่มโรคติดเชื้อราชนิด subcutaneous mycoses ที่พบบ่อย (ตารางที่ 5)^{18,19} ได้

ตารางที่ 4 ชื่อโรคและเชื้อราก่อโรคชนิด cutaneous mycoses^{16,17}

โรคในกลุ่ม Cutaneous mycoses	เชื้อราก่อโรค
โรคกลาก (dermatophytosis, ring worm, tinea)	Dermatophytes ประกอบด้วย <ul style="list-style-type: none"> • Trichophytons เช่น <i>T. rubrum</i>, <i>T. mentagrophytes</i>, <i>T. tonsurans</i> • Epidermophytons เช่น <i>E. floccosum</i> • Microsporium เช่น <i>M. gypseum</i>, <i>M. canis</i>
โรคผิวหนังจากเชื้อแคนดิดา (cutaneous candidiasis, cutaneous candidosis)	<i>Candida</i> spp.
โรคที่เกิดกับผิวหนังและเล็บ จากเชื้อราอวยโอกาส (dermatomycosis)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Hendersonula toruloidea</i> • <i>Scytalidium hyalinum</i> • <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> • <i>Aspergillus</i> spp. • <i>Aspergillus</i> spp.

• *Chromoblastomycosis* เป็นการติดเชื้อราที่ผู้ป่วยมักจะมีตุ่มหนองผิวไม่เรียบ พบบ่อยที่บริเวณขา เมื่อตัดชิ้นเนื้อมาตรวจสอบจะพบลักษณะคล้ายกับเหรียญซ้อเงิน เรียกว่า copper pennies ส่วนมากความผิดปกติชนิดนี้มักไม่กระจายไปสู่กระดูก เอ็น และกล้ามเนื้อ เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคคือ *Fonsecaea pedrosoi*, *Fonsecaea compacta* เป็นต้น

• *Eumycotic mycetoma* ผู้ป่วยจะมีลักษณะตุ่มหนอง พบมากบริเวณขา ความผิดปกตินี้สามารถแพร่กระจายเข้าไปสู่กระดูกและกล้ามเนื้อได้ เมื่อตัดชิ้นเนื้อไปตรวจสอบจะพบลักษณะของท่อทางเดินของหนอง (draining sinus tract) ร่วมกับกลุ่มเซลล์ลักษณะคล้ายตะกอนสีดำๆ เรียกว่า pigmented grains พบว่าเชื้อราที่เป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยๆ คือ *Pseudallescheria boydii* บางครั้งอาจพบเชื้อแบคทีเรียที่สามารถก่อโรคคล้ายๆ กับเชื้อราได้ เรียกความผิดปกติที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียว่า Actinomycotic mycetoma โดยเชื้อก่อโรคคือ *Nocardia brasiliensis*

• *Subcutaneous sporotrichosis* โรคนี้มักจะมีประวัติของการได้รับอุบัติเหตุแล้วมีการทิ่มแทงสิ่งที่เป็นเนื้อเข้าไปในร่างกาย เช่น หนามดอกไม้ตำ หรือกิ่งไม้แทงตา เป็นต้น โดยเชื้อก่อโรคชนิดนี้มักจะแพร่กระจายไปตามท่อน้ำเหลือง เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค คือ *Sporothrix schenckii*

สำหรับโรคอื่นๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่ม *Subcutaneous mycoses* แต่พบได้ค่อนข้างน้อย เช่น *Subcutaneous zygomycosis*, *Rhinosporidiosis*, *Lobomycosis*, *Subcutaneous protothecosis*

ตารางที่ 5 ชื่อโรคและเชื้อราก่อโรคชนิด Subcutaneous mycoses^{18,19}

โรคในกลุ่ม Deep mycoses	เชื้อราก่อโรค
Chromoblastomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fonsecaea pedrosoi</i> • <i>Fonsecaea compacta</i> • <i>Phialophora verrucosa</i> • <i>Cladosporium carrionii</i>
Eumycotic mycetoma	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Exophiala jeanselmei</i> • <i>Pseudallescheria boydii</i> • <i>Acremonium</i> spp. • <i>Curvularia</i> spp. • <i>Fusarium</i> spp.
Subcutaneous sporotrichosis	• <i>Sporothrix schenckii</i>
Cystic chromomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Wangiella dermatitidis</i> • <i>Exophiala spinifera</i> • <i>Exophiala moniliae</i> • <i>Alternaria alternata</i>
Subcutaneous zygomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Basidiobolus ranarum</i> • <i>Conidiobolus coronatus</i> • <i>Conidiobolus incongruus</i>
Rhinosporidiosis	• <i>Rhinosporidium seeberi</i>
Lobomycosis	• <i>Loboa Lobo</i>
Subcutaneous protothecosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Prototheca wickerhamii</i> • <i>Prototheca zopfii</i>

3.4 Systemic (deep) mycoses เป็นโรคติดเชื้อราที่เกิดกับอวัยวะภายใน บางครั้งอาจพบอาการของโรคที่ผิวหนังร่วมด้วย เชื้อราก่อโรคส่วนใหญ่มักเกิดจาก Dimorphic fungi ที่พบบ่อย ได้แก่ Histoplasmosis, Blastomycosis, Coccidioidomycosis, Paracoccidioidomycosis, Penicilliosis marneffeii เป็นต้น

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้ออวยโอกาสบางชนิด (opportunistic fungi) ที่สามารถก่อให้เกิดความผิดปกติเหมือนกับ systemic (deep) mycoses ได้ เช่น *Cryptococcus neoformans*, *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Zygomycetes* โดยการก่อโรคของเชื้อราในกลุ่มนี้มักจะมีความสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ที่ลดน้อยลงจากสาเหตุต่างๆ ได้แก่

ปลูกถ่ายอวัยวะ รับประทานภูมิคุ้มกัน รับประทานสเตียรอยด์ ชนิดกินเป็นเวลานาน ผู้ป่วยเบาหวาน รวมถึงผู้ติดเชื้อเอชไอวี เป็นต้น (ตารางที่ 6)²⁰⁻²⁴

ตารางที่ 6 ชื่อโรคและเชื้อราก่อโรคชนิด Systemic (deep) mycoses²⁰⁻²⁴

โรคในกลุ่ม Deep mycoses	เชื้อราก่อโรค
Coccidioidomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Coccidioides immitis</i> (dimorphic fungus)
Histoplasmosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Histoplasma capsulatum</i> (dimorphic fungus) • <i>Histoplasma capsulatum</i> var <i>duboisii</i> (dimorphic fungus)
Blastomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Blastomyces dermatitidis</i> (dimorphic fungus)
Paracoccidioidomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> (dimorphic fungus)
Penicilliosis marneffei	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Penicillium marneffei</i> (dimorphic fungus)
Cryptococcosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Cryptococcus neoformans</i>
Systemic candidiasis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Candida</i> spp.
Systemic zygomycosis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Absidia corymbifera</i> • <i>Cunninghamella bertholletiae</i> • <i>Conidiobolus incongruus</i> • <i>Saksenaea vasiformis</i>
โรคเชื้อราสายชนิดไม่มีสี (systemic hyalohyphomycosis)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Aspergillus</i> spp. • <i>Penicillium</i> spp. • <i>Fusarium</i> spp.

■ **พยาธิกำเนิดของโรคติดเชื้อรา**²⁵⁻³⁰

เมื่อมีการพัฒนาการศึกษาและการวิจัยในทางลึก ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจทางด้านอนุพันธุวิทยาของสารพันธุกรรมเพิ่มมากขึ้น ทำให้การศึกษาด้านพยาธิกำเนิดของโรคติดเชื้อรามีการพัฒนาไปในทางลึกเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยพยาธิกำเนิดของโรคติดเชื้อรา พิจารณาจาก 2 ปัจจัย คือ ตัวเชื้อรา และระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ คือ

1. เชื้อราก่อโรค (Infective agent)^{25,26} สำหรับ

คุณสมบัติของการก่อให้เกิดพยาธิสภาพจากเชื้อราก่อโรค จะพิจารณาจาก

1.1 เชื้อราดังกล่าวเป็นเชื้อราที่ก่อโรคได้เองโดยตรง (Primary pathogens) หรือ เป็นกลุ่มเชื้อราฉวยโอกาส (Opportunistic pathogens) พบว่าความรุนแรงของเชื้อราที่ก่อโรคได้เองโดยตรง จะสามารถก่อโรคได้ทั้งกลุ่มที่ระบบภูมิคุ้มกันปกติและกลุ่มที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน ในทางตรงข้าม กลุ่มเชื้อราฉวยโอกาสมักจะก่อให้เกิดพยาธิสภาพเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ กลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เป็นระยะเวลานาน ผู้ป่วยที่ป่วยเป็นโรคที่มีผลกับระบบภูมิคุ้มกัน เช่น เบาหวาน หรือผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี เป็นต้น

1.2 ปัจจัยที่มีผลกับความรุนแรงของโรค (Virulence factors) โดยเชื้อแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการพัฒนาปรับเปลี่ยนตัวเอง เพื่อให้สามารถดำรงชีพในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพที่รุนแรงเพิ่มขึ้นได้ ทั้งนี้เชื้อแต่ละชนิดจะมี virulence factor ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ยังหมายรวมถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของเชื้อรา เช่น Adherence factors, Penetration and dissemination factors, Nutritional and metabolic factors และ Necrotic factors (รายละเอียดไม่ได้นำเสนอไว้ในบทความนี้) ซึ่งปัจจัยต่างๆ ของ virulence factors นี้ สามารถส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการหลังสารพิษบางชนิดเพิ่มขึ้น การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของเชื้อให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป รวมถึงบางชนิดสามารถปรับเปลี่ยนสารพันธุกรรมเพื่อการดำรงอยู่ของเชื้อต่อไป

2. การตอบสนองของโฮสต์ต่อเชื้อราก่อโรค (host response)²⁷⁻³⁰ สำหรับความสัมพันธ์ของโฮสต์กับ

พยาธิกำเนิดของเชื้อรานั้นจะมุ่งเน้นถึงระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย และโรคอื่นๆ ที่จะมีผลกับการเจริญเติบโตของเชื้อราในผู้ป่วย ซึ่งโรคเชื้อราแต่ละชนิดจะมีกลุ่มเซลล์ทางระบบภูมิคุ้มกันที่มีผลในการยับยั้งที่แตกต่างกันออกไป (รายละเอียดของกลไกพยาธิกำเนิดแต่ละชนิดไม่ได้นำเสนอในบทความนี้) ตัวอย่างเช่น

2.1 Superficial mycoses ส่วนมากจะไม่มีเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากมีการแพร่กระจายลึกถึงชั้นผิวหนังที่ลึกขึ้น หรือมีการแพร่กระจายของเชื้อไปทั่วร่างกาย โดยเซลล์ที่มักจะมีส่วนเกี่ยวข้องคือ Langerhans cells ร่วมกับ pattern recognition receptors (PRRs) เช่น toll-like receptors หรือ lectin receptors (DCSIGN และ Dectin-2)²⁷

2.2 Cutaneous mycoses เชื้อที่มีบทบาทกับเชื้อก่อโรคกลุ่มนี้ คือ Dendritic cells, Macrophage และ T-helper cells โดยพบว่าส่วนมากจะเป็นกลุ่ม Th1 และ Th2²⁸

2.3 Subcutaneous mycoses เชื้อที่มักมีผลต่อพยาธิกำเนิดของโรคคือ T cells โดยเฉพาะกลุ่ม Th2, Th17, regulatory T cells และ cytotoxic T cells²⁹

2.4 Systemic (deep) mycoses เชื้อที่มีผลต่อพยาธิกำเนิดคล้ายกับกลุ่มของ subcutaneous mycoses³⁰

จะเห็นได้ว่าเชื้อราในระบบภูมิคุ้มกันที่มีผลต่อพยาธิกำเนิดของเชื้อรา นั้นมักจะเป็นกลุ่มเชื้อราที่เกี่ยวข้องกับ innate immune response มากกว่ากลุ่มเชื้อราที่มีผลต่อ adaptive immune response เช่น plasma cells และ B-cell ปัจจุบันมีนักวิทยาศาสตร์ระบบภูมิคุ้มกันพยายามศึกษาถึงระบบแอนติบอดีต่อการตอบสนองการติดเชื้อราเพิ่มมากขึ้นแต่ยังคงอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

■ วิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อราเบื้องต้น³¹⁻³⁶

สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อรา นั้น จุดมุ่งหมายเพื่อหาเชื้อก่อโรคในสิ่งส่งตรวจที่แตกต่างกันออกไป นอกจากวิธีการตรวจวินิจฉัยที่เหมาะสม สิ่งที่สำคัญที่ไม่น้อยไปกว่าการตรวจวินิจฉัย นั่นคือการเก็บตัวอย่างและการนำส่งสิ่งส่งตรวจ

การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจและการนำส่งสิ่งส่งตรวจ (specimen collection and transportation)^{31,32}

การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ (specimen collection) จัดเป็นการเริ่มต้นที่จะนำไปสู่การวินิจฉัยที่ถูกต้อง เนื่องจาก การเก็บสิ่งส่งตรวจที่ส่งยัดเชื้อรา นั้น ถ้าเก็บไม่ถูกต้องอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อราที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม สำหรับการเลือกชนิดของสิ่งส่งตรวจและการเก็บสิ่งส่งตรวจควรให้สอดคล้องกับเชื้อที่สงสัยจะเป็นสาเหตุของการก่อโรค หรือสัมพันธ์กับอาการและอาการแสดงของผู้ป่วย ตัวอย่างเช่น

- ผู้ป่วยโรคกลาก สงสัยติดเชื้อกลุ่ม dermatophytes การเก็บสิ่งส่งตรวจขึ้นอยู่กับบริเวณที่เกิดความผิดปกติ เช่น
 - ถ้าเป็นความผิดปกติที่ผิวหนัง ควรเลือกใช้การขูดบริเวณผื่น (skin scraping)
 - ถ้าความผิดปกติพบที่บริเวณเล็บ ควรเลือกใช้การตัดเล็บและขูดใต้เล็บ (nail clipping)
 - ถ้าความผิดปกติอยู่ที่บริเวณผมหรือรากผม ควรเลือกใช้การถอนผม (hair pull) ไปตรวจ

- ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติที่บริเวณปอด สงสัยว่าอาจเกิดจากเชื้อ *Aspergillus* spp. สิ่งส่งตรวจที่ควรเก็บคือเสมหะ (sputum) เก็บด้วยวิธี bronchoalveolar lavage เพื่อลดการปนเปื้อนจากช่องปาก

- ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติบริเวณอวัยวะเพศ ร่วมกับมีตกขาว สงสัยติดเชื้อ *Candida albicans* สิ่งส่งตรวจคือสารคัดหลั่งบริเวณอวัยวะเพศ เก็บโดยใช้ cotton swab รวมถึงการขูดผิวหนังบริเวณโดยรอบ (skin scraping) เพื่อตรวจยืนยันหาเชื้อก่อโรค

การนำส่งสิ่งส่งตรวจ (specimen transport) หลังจากเก็บสิ่งส่งตรวจแล้ว การนำส่งสิ่งส่งตรวจถือว่ามีผลสำคัญ โดยสิ่งส่งตรวจต้องอยู่ในภาชนะที่ปิดมิดชิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราในสิ่งแวดล้อม นอกจากนั้นถ้าสิ่งส่งตรวจเป็นของเหลวต้องไม่ให้เกิดการแห้งในขณะนำส่ง โดยปกติในการนำส่งสิ่งส่งตรวจควรทำหลังจากเก็บตัวอย่างให้ถึงห้องปฏิบัติการอย่างรวดเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ แต่ถ้าใช้เวลามากกว่า 24 ชั่วโมง จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจในความเย็นประมาณ 4 °C เพื่อรักษาสภาพของสิ่งส่งตรวจไว้^{31,32} ในบางกรณีที่ต้องเก็บด้วยวิธีเก็บตัวอย่างและนำส่งตัวอย่างด้วยวิธีการจำเพาะทางห้องปฏิบัติการควรที่จะต้องมีการบ่งชี้ให้กับแพทย์หรือผู้ที่เกี่ยวข้องรับทราบก่อนที่จะดำเนินการเก็บและส่งสิ่งส่งตรวจ เพื่อไม่ให้ต้องดำเนินการเก็บซ้ำ ทำให้เกิดการเสียเวลา เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราต้องใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 20-30 วัน

การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อรา (fungal diagnosis)

สำหรับการตรวจวินิจฉัยสิ่งส่งตรวจว่ามีเชื้อราหรือไม่นั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธีหลักๆ คือ การตรวจหาเชื้อโดยตรง (direct examination) กับการตรวจหาเชื้อทางอ้อม (indirect examination)

1. การตรวจหาเชื้อโดยตรง (direct examination)

จัดเป็นวิธีการพื้นฐานที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อรา โดยสามารถทำได้ข้างเตียงผู้ป่วยทันที และการตรวจวินิจฉัยที่ต้องนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อการระบุชนิดของเชื้อก่อโรคต่อไป

1.1 การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อราที่สามารถทำได้ข้างเตียงผู้ป่วย (bedside diagnosis)^{33,34} ที่นิยมทำคือการย้อมด้วย potassium hydroxide (KOH) ที่ความเข้มข้น 10 - 40% โดยสาร KOH นั้นจัดเป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นเบสแก่ ทำให้

สามารถย่อยสลายเคอราตินและเศษเซลล์ต่างๆ แต่สารนี้ไม่ย่อยสลายเชื้อราในตัวอย่างส่งตรวจ เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรามีส่วนประกอบที่สำคัญเป็นโพลิเมอร์ของไคติน (chitin) และ กลูแคน (glucan) ซึ่งประสานกันอยู่ในรูปตาข่ายทำให้มีความแข็งแรงมาก ดังนั้นข้อดีของการตรวจด้วยวิธีนี้คือจะทำให้เห็นตัวเชื้อราได้ชัดเจนขึ้น โดยที่โครงสร้างของเชื้อราไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่วิธีการตรวจด้วย KOH นี้ จะไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อราได้ สามารถบอกได้เพียงลักษณะตัวเชื้อที่เห็น คือ septate, non-septate form หรือ yeast forms (รูปที่ 1a)

1.2 การตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา จะมีการย้อมสีเพื่อให้เห็นโครงสร้างของเชื้อราที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

- การย้อมสีเชื้อรา (fungal staining)^{33,34} จากสิ่งส่งตรวจ จุดประสงค์เพื่อย้อมองค์ประกอบของเชื้อรา เมื่อทำการตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะทำให้สามารถบ่งชี้โครงสร้างจำแนกชนิดเชื้อราและวินิจฉัยเชื้อราที่ก่อโรคได้อย่างแม่นยำ ทั้งนี้ที่ใช้สำหรับย้อมมีหลายชนิด การเลือกชนิดของสีย้อมจึงขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนหรือองค์ประกอบของเซลล์ของเชื้อราที่ต้องการย้อม เช่น การย้อมสีนิวเคลียส การย้อมสีเส้นใย การย้อมสปอร์ หรือการย้อมเพื่อตรวจดูความมีชีวิตของสปอร์ เป็นต้น ตัวอย่างสีที่นิยมใช้ย้อมเชื้อราได้แก่

- Lactophenol cotton blue ใช้ย้อมจากสิ่งส่งตรวจที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองหรือวัฒนธรรมเพาะเลี้ยง (รูปที่ 1b)
- Indian ink (ใช้ย้อมเพื่อตรวจเชื้อ *Cryptococcus neoformans* จากสิ่งส่งตรวจ)^{33,34} เป็นต้น

- สำหรับการย้อมสีเชื้อราจากสิ่งส่งตรวจที่เป็นชิ้นเนื้อจากบริเวณพยาธิสภาพ จะมีการย้อมที่แตกต่างไปจากการย้อมจากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา เนื่องจากการย้อมสีเชื้อราจากเนื้อเยื่อนั้นจะต้องมีการดำเนินการขั้นตอนต่างๆ ตามวิธีการย้อมชิ้นเนื้อ เพื่อตรวจวิเคราะห์ทางกล้องจุลทรรศน์ (tissue processing for light microscopic examination) โดยสีที่นิยมใช้ย้อม คือ^{33,34}

- Periodic acid-Schiff (PAS) (รูปที่ 1c)
- Gomori methenamine silver stain (รูปที่ 1d)

การย้อมนี้สามารถยืนยันได้เพียงเนื้อเยื่อดังกล่าวมีการติดเชื้อราจริง และน่าจะเป็นสัราหรือราสาย แต่ไม่สามารถบ่งชี้ชนิดของเชื้อร่าก่อโรคได้ ดังนั้นถ้าต้องการบ่งชี้ชนิดของเชื้อราจำเป็นต้องนำชิ้นเนื้อดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต่อไป

- การเพาะเลี้ยงเชื้อราในห้องปฏิบัติการ (fungal culture)^{33,34} ในบางครั้งปริมาณเชื้อราจากสิ่งส่งตรวจอาจไม่เพียงพอ หรืออาจมีการปนเปื้อนได้ จึงต้องมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อรา (fungal isolation and propagation) เพื่อให้มีปริมาณมากเพียงพอสำหรับการตรวจวินิจฉัยหรือนำไปศึกษาในแนวคิดต่อไป การเพาะเลี้ยงเชื้อรานั้นจะสามารถดูลักษณะของเชื้อราเบื้องต้นได้ว่า มีลักษณะเป็น yeast หรือ mold มีสีหรือไม่ มีการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อหรือไม่ ซึ่งสิ่งเหล่านี้นำไปสู่การจำแนกชนิดของเชื้อราได้ค่อนข้างแม่นยำ สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรานั้น มีการเลือกใช้สารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ

- Non-selective medium ซึ่งเป็นอาหารที่สามารถใช้ได้กับการเจริญของเชื้อราทุกชนิด ที่ใช้กันอยู่บ่อยๆ คือ Sabouraud's dextrose agar (SDA) และ brain heart infusion (BHI)
- Selective medium จัดเป็นอาหารที่จำเพาะและมีการเพิ่มสารบางชนิดเพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆ โดยสารที่นิยมใส่ในอาหารคือ chloramphenicol เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย และ cyclohexamide เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อราในสิ่งแวดล้อมและเชื้อราที่โตเร็วแต่มักเป็นกลุ่มที่ไม่ก่อโรค เป็นต้น ในบางครั้งอาจมีการเพิ่มสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิด ได้แก่ organic sulfur สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ dermatophytes หรืออาจเพิ่มสีที่ใช้ในการตรวจสอบ เช่น phenol red, methylene blue เป็นต้น³²

2. การตรวจหาเชื้อทางอ้อม (indirect examination)^{35,36} สำหรับวิธีการนี้จะเป็นการตรวจวินิจฉัยที่มุ่งเน้นที่ตัวเชื้อร่าก่อโรคและระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ คือ

- การตรวจวินิจฉัยภายใต้ส่วนประกอบของเชื้อราและสารเฉพาะที่พบในเชื้อร่าก่อโรค ซึ่งส่วนมากจะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค (virulence factors) ที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบันคือ
- Galactomannan antigen detection สำหรับการตรวจนี้เป็น การตรวจหา galactomannan ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ของเชื้อรา โดยอาศัยหลักการ antigen-antibody based assay

เช่น ELISA เชื้อราที่นิยมตรวจในปัจจุบันด้วยวิธีการดังกล่าว คือ กลุ่มเชื้อ *Aspergillus* spp.

- (1,3)- β -D-glucan สำหรับวิธีนี้จะเป็นการตรวจหาส่วนประกอบที่พบได้ที่ผนังเซลล์ของเชื้อราทั้งชนิดสำรา (yeast) ยกเว้นกลุ่ม *Cryptococcosis* ราสาย (mold) และราสองรูป (dimorphic) โดยอาศัยหลักการของ enzyme link immunosorbant assays (ELISA) ในการตรวจสอบเชื้อราที่นิยมตรวจด้วยวิธีนี้คือ *Candida* spp., *Saccharomyces*, *Fusarium*, *Trichosporon* และ *Acremonium*
- Mannoprotein เป็นวิธีการที่ใช้ตรวจหาส่วนประกอบที่ผนังเซลล์ ที่พบได้บ่อยในกลุ่มของ *Candida* spp. พบว่า manoprotein โดยเฉพาะกลุ่มของ mannan นั้นจะมีการหลุดออกมาภายในเลือดภายหลังการติดเชื้อ *Candida* แต่สารดังกล่าวจะถูกกำจัดไปได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการตรวจหา mannan นั้นจะต้องมีการตรวจซ้ำๆ เพื่อยืนยันการติดเชื้อ
- การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ *Cryptococcus* spp. โดยใช้วิธี latex agglutination และ/หรือ lateral Flow assay ซึ่งสามารถตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นชุดตรวจสอบสำเร็จ สามารถออกผลการตรวจได้ภายใน 24 ชั่วโมง วิธีนี้นิยมใช้ตรวจจากสิ่งส่งตรวจประเภทของเหลว เช่น เลือด น้ำไขสันหลัง และปัสสาวะ
- การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อราด้วยวิธีอณูพันธุวิทยา (molecular technique) ที่นิยมใช้กันปัจจุบัน คือ polymerase chain reaction (PCR) based assay เช่น conventional PCR และ real time PCR โดยจะนิยมตรวจหาความจำเพาะที่บริเวณ highly conserved area ของเชื้อรา เช่น 18S, 5.8S, Internal transcribed spacer (ITS) วิธี PCR นี้สามารถตรวจวินิจฉัยได้แม้จะมีเชื้อราปริมาณเพียง 1 CFU/ml และสามารถตรวจพบได้ตั้งแต่การติดเชื้อภายใน 2 - 9 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา
- การตรวจวินิจฉัยภายใต้ระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยต่อเชื้อราก่อโรค^{35,36} สำหรับวิธีการนี้เป็นการตรวจหาแอนติบอดีของผู้ที่ติดเชื้อราเพื่อใช้ในการวินิจฉัยชนิดของเชื้อราก่อโรค

เรียกว่า serological test ส่วนมากนิยมตรวจในกลุ่มเชื้อราก่อโรคชนิด systemic (deep) mycoses วิธีการที่นิยมใช้ตรวจคือ agglutination (latex agglutination), precipitation assay (immunodiffusion), complement fixation test (CFT) และ enzyme link immunosorbant assays (ELISA) ซึ่งเชื้อที่สามารถตรวจสอบด้วย serological test ในปัจจุบัน คือ Aspergillosis, Blastomycosis, Coccidiomycosis, Histoplasmosis และ Paracoccidiomycosis พบว่าวิธีการตรวจหาเชื้อราด้วยวิธี serological test นั้นมีปัญหา ด้าน sensitivity และ false positive ค่อนข้างมาก ทำให้ในปัจจุบันจึงนิยมใช้วิธี PCR เพิ่มมากขึ้น

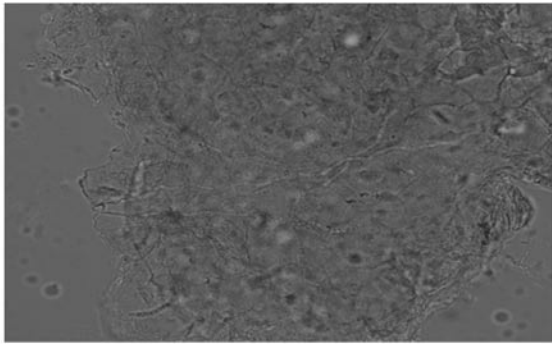
เห็นได้ว่าปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อราไปในทางลึกเพิ่มมากขึ้นตามการพัฒนาของเทคโนโลยีและการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งรายละเอียดของวิธีการตรวจนั้นผู้เขียนไม่ได้นำเสนอในบทความนี้ ผู้เขียนนำเสนอภาพการตรวจวินิจฉัยเชื้อราโดยตรงและเป็นวิธีที่นิยมใช้ในทางการแพทย์ คือ การย้อมด้วย KOH, Lactophenol cotton blue, Gomori methenamine silver stain และ Indian ink ดังรูปที่ 1

■ ยารักษาโรคติดเชื้อรา (antifungal agent)³⁷⁻³⁹

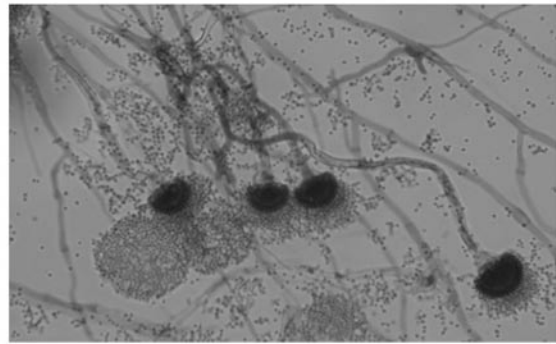
ในปัจจุบันยาที่ใช้สำหรับรักษาการติดเชื้อรานี้สามารถจำแนกตามคุณสมบัติการออกฤทธิ์ของยากับโครงสร้างของเชื้อราที่แตกต่างกัน ออกได้เป็น 6 กลุ่มด้วยกัน (ตารางแสดงที่ 7) คือ

1. Polyene เป็นกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์โดยการจับกับ ergosterol ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของเชื้อราบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์มีลักษณะเป็นรู เกิดการเคลื่อนที่ของสารประกอบภายในเซลล์ของเชื้อราออกสู่ภายนอก เชื้อราจึงไม่สามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้คือ Amphotericin B

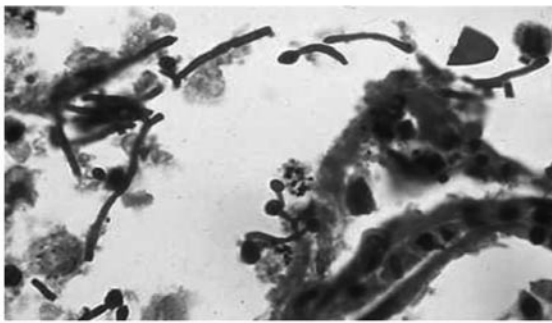
2. Azoles เป็นกลุ่มยาที่มีผลในการยับยั้งเอนไซม์ 14 α -sterol demethylase ซึ่งมีผลในการสร้าง ergosterol ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักที่เยื่อหุ้มเซลล์ และยังมีผลต่อ 14 α -sterol demethylsterol ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ATPase ทำให้การทำงานของ electron transports เปลี่ยนแปลงไป เชื้อราจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ เช่น Ketoconazole, Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole, Posaconazole



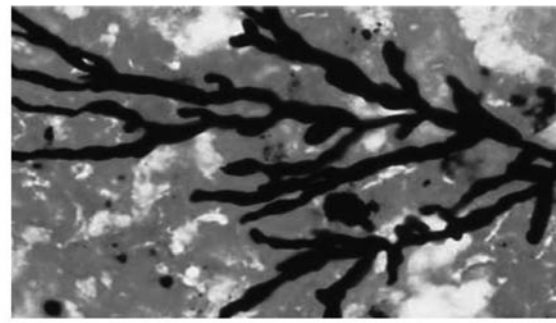
1a: การย้อมเชื้อราด้วย 10%KOH จากผิวหนัง จะพบลักษณะ septate hyphae



1b: การย้อมเชื้อราด้วย Lactophenol cotton blue จากสิ่งส่งตรวจที่ติดเชื้อ *Aspergillus* spp. เพาะเลี้ยงบนวุ้นเลี้ยงเชื้อ



1c: การย้อมเชื้อราด้วย Periodic acid-Schiff (PAS) จากเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ *Candida albicans*



1d: การย้อมเชื้อราด้วย Gomori Methenamine Silver Stain (GMS) จากเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ *Aspergillus* spp.

รูปที่ 1 แสดงการตรวจหาเชื้อราโดยตรงด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา

ตารางที่ 7 ชนิดของยาด้านเชื้อรา (anti-fungal agents)^{37,39}

กลุ่มยาด้านเชื้อรา	กลไกการออกฤทธิ์	ตัวอย่างยาด้านเชื้อรา
Polyene	Inhibit ergosterol formations	• amphotericin B
Azoles	Inhibit 14-sterol demethylase	• ketoconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, posaconazole
Pyrimidine analog	Inhibit DNA/ RNA synthesis	• flucytosine
Echinocandins	Inhibit β -(1,3) D-glucans synthesis	• micafungin, anidulafungin, caspofungin
Allylamine	Inhibit squalene epoxidase	• terbinafine
Others	Inhibit microtubes	• griseofulvin

3. Pyrimidine analog เป็นกลุ่มยาที่มีผลต่อการยับยั้งการสร้าง DNA และ RNA ของเชื้อรา ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้คือ flucytosine ซึ่งเป็นยาที่จะถูกเปลี่ยนเป็น 5-fluoro-2-deoxyuridine-5-monophosphate (5-FdUMP) และ 5-fluorouridine triphosphate (5-FUTP) ส่งผลต่อการสร้าง DNA ของเชื้อรา ทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้ลดลง

4. Echinocandins เป็นกลุ่มยาที่มีผลในการยับยั้งการสร้าง β -(1,3) D-glucans ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของ

ผนังเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เชื้อรามีความเปราะบางและถูกทำลายได้ง่ายขึ้น ยาในกลุ่มนี้ เช่น Micafungin, Anidulafungin, Caspofungin

5. Allylamine เป็นกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งเอนไซม์ squalene epoxidase ทำให้เกิดการสะสมของ squalene ซึ่งเป็นสารที่มีพิษและส่งผลในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา ตัวอย่างเช่น Terbinafine

6. ยากลุ่มอื่นๆ ที่ไม่จัดอยู่ในกลุ่ม 1-5 ชนิดเบื้องต้นที่นิยมใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อรา ได้แก่ Griseofulvin ยาใน

กลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ที่ไมโครทิวบูล (microtubules) ทำให้เชื้อราไม่สามารถแบ่งตัวได้ โดยเฉพาะในช่วง mitosis ส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้

ยาด้านเชื้อราในกลุ่มต่างๆ นั้นได้มีการพัฒนารูปแบบของยาเพื่อให้สะดวกและเหมาะสมต่อการรักษา โดยแบ่งรูปแบบของยาออกได้เป็น 2 รูปแบบ (ตารางแสดงที่ 8) คือ

1. แบบที่ใช้ภายนอก (topical forms)³⁸ เป็นยาที่ใช้ทาภายนอกเพื่อรักษาโรคเชื้อราที่ผิวหนังชั้นตื้นๆ ผิวหนังชั้นนอก ผม ขน และเล็บ กลุ่มยาที่นิยมใช้ในรูปแบบทาภายนอก เช่น Azole, Polyene, Allylamines และกลุ่มยาอื่นๆ เช่น Undecylenic acid, Whitfeld's ointment, Benzoic acid และ Salicylic acid

2. แบบที่มีผลทั่วร่างกาย (systemic forms)³⁹ ยาด้านเชื้อราในรูปแบบนี้สามารถใช้ได้ทั้งแบบรับประทานและรูปแบบฉีด นิยมใช้ในการรักษาการติดเชื้อราที่อวัยวะภายในร่างกายหรือรักษาเชื้อราที่ค่อนข้างดื้อยาและไม่ตอบสนองต่อการใช้รูปแบบทา อีกทั้งสามารถใช้รักษาการติดเชื้อราที่ผิวหนังชั้นตื้นๆ แต่มีพื้นที่ของการติดเชื้อปริมาณมาก (ทั่วร่างกาย) กลุ่มยาที่นิยมใช้ในแบบที่มีผลทั่วร่างกายเช่น Polyene, Azole, Griseofulvin, Echinocandins.

กล่าวคือยาด้านเชื้อรานั้นแบ่งออกได้หลายชนิด และสามารถเลือกใช้ได้ทั้งแบบทา แบบรับประทาน และแบบฉีด สำหรับการเลือกรูปแบบและชนิดของยาด้านเชื้อรา ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค ระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยในผู้ป่วยแต่ละราย รวมถึงการตอบสนองและการดื้อยาของเชื้อก่อโรคนั้นๆ ทั้งนี้แพทย์ผู้รักษาจำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานของเชื้อรา

ก่อโรคในคนและนำไปประยุกต์ใช้กับการรักษา เนื่องจากการรักษาโรคติดเชื้อราต้องใช้เวลาในการรักษาที่ยาวนาน อันอาจจะส่งผลข้างเคียงของยาต่อร่างกายของผู้ป่วยได้เช่นกัน

■ สรุป

ปัจจุบันเชื้อราจัดเป็นจุลชีพก่อโรคที่พบได้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมและความเสื่อมถอยของสุขภาพของคนจากการใช้ชีวิตประจำวันเพิ่มมากขึ้น เชื้อราจัดเป็นกลุ่มจุลชีพชนิด eukaryotic cells ที่มีรูปร่าง 3 ลักษณะคือ สาหร่าย (yeast) ราสาย (mold) และราสองรูป (dimorphic fungi) สามารถพบเชื้อราได้ทั้งในสิ่งแวดล้อมและกลุ่มก่อโรคในคน สัตว์ และพืช โดยความรุนแรงของการติดเชื้อราสามารถแบ่งได้ตามความลึกของการเจริญหรือพยาธิสภาพออกได้เป็น 4 ระดับจากกลุ่มที่เจริญเฉพาะผิวหนังชั้นขี้ไคล (keratin) ของ *Stratum corneum* เรียกว่า superficial mycoses, cutaneous mycoses และ subcutaneous mycoses ตามลำดับ จนถึงชนิดที่สามารถแพร่กระจายตามร่างกายเรียกว่า systemic (deep) mycoses พยาธิกำเนิดของโรคติดเชื้อรา พบว่าความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัย คือ virulence factors ของเชื้อรา และ ระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ ถ้าโฮสต์มีระบบภูมิคุ้มกันลดน้อยลง นอกจากเชื้อราก่อโรคปกติจะส่งผลให้มีความผิดปกติที่รุนแรงขึ้น ยังอาจพบการติดเชื้อราฉวยโอกาสร่วมด้วยเช่นกัน นอกจากการเกิดโรคติดเชื้อราจะเกิดจากผลของการติดเชื้อราโดยตรง เชื้อราบางชนิดยังสามารถก่อโรคได้จากสารที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อราที่เรียกว่า mycotoxin ส่งผลให้เกิดความผิดปกติกับคนที่ได้รับสาร เรียกความผิดปกติดังกล่าวว่า mycotoxicosis และยังพบอีกว่าเชื้อ

ตารางที่ 8 รูปแบบของยาด้านเชื้อรา^{37,39}

รูปแบบยา	ตัวอย่างยาด้านเชื้อรา
ยาด้านเชื้อราที่ใช้ภายนอก (topical drugs)	<ul style="list-style-type: none"> • Polyene : Nystatin • Azole : Clotrimazol, Ketoconazole, Econazole, Miconazole • Allylamines : Terbinafine, Naftifine • Others : Tolnaftate, Undecylenic acid, Whitfeld's ointment, Benzoic acid และ Salicylic acid
ยาด้านเชื้อราที่มีผลทั่วร่างกาย (systemic drugs)	<ul style="list-style-type: none"> • Polyene : Amphotericin B • Azole : Itraconazole, Fluconazole, Ketoconazole, Voriconazole • Pyrimidine analog : Flucytosine • Echinocandins : Micafungin, Anidulafungin, Caspofungin • Others : Griseofulvin

รบบางชนิดสามารถกระตุ้นให้มีการสร้างแอนติบอดีชนิด IgE เพิ่มมากขึ้นกว่าปกติก่อให้เกิดผื่นคล้ายกับผื่นแพ้ผิวหนังหรืออาจส่งผลให้หายใจผิดปกติคล้ายหอบหืดได้ เรียกว่า Fungal allergy จะเห็นได้ว่าเชื้อราสามารถก่อโรคได้หลายรูปแบบ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยเชื้อราที่ถูกต้องแม่นยำจะนำไปสู่การรักษาที่มีประสิทธิภาพต่อไป ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยเชื้อราสามารถทำได้ตั้งแต่ข้างเตียงผู้ป่วย (KOH preparation) จนถึงในห้องปฏิบัติการ เช่น fungal culture, fungal staining, serological test และ PCR เมื่อรู้เชื้อก่อโรคที่แน่ชัดจากการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้อง จะนำไปสู่การเลือกวิธีการรักษาและชนิดของยาได้อย่างเหมาะสมกับเชื้อราที่ก่อโรคนั้น โดยปัจจุบันยาด้านเชื้อราแบ่งออกได้เป็น 6 ชนิดคือ Polyene, Azoles,

Pyrimidine analog, Echinocandins, Allylamine และอื่นๆ โดยรูปแบบของยามี 2 ชนิดคือ ชนิดที่ใช้ทาภายนอก และชนิดที่มีผลทั่วร่างกาย ทั้งนี้การเลือกชนิดและรูปแบบยาขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค ชนิดของเชื้อราที่ก่อโรค และสภาพของผู้ป่วยแต่ละราย

เชื้อรามีความสำคัญทางการแพทย์เป็นอย่างมากแต่เป็นกลุ่มจุลชีพที่มีการศึกษาในแนวลึกค่อนข้างน้อย การเข้าใจถึงพื้นฐานเบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อราทางการแพทย์ จะนำไปสู่การวางแผนการค้นคว้าและการศึกษาวิจัยในแนวลึก รวมถึงใช้เป็นแนวทางพัฒนาการป้องกันและรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Hibbett DS, Taylor JW. Fungal systematics: is a new age of enlightenment at hand? *Nat Rev Microbiol* 2013;11:129-33.
2. 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.
3. van Burik JA, Magee PT. Aspects of fungal pathogenesis in humans. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:743-72.
4. Crampin H, Finley K, Gerami-Nejad M, et al. *Candida albicans* hyphae have a Spitzenkörper that is distinct from the polarisome found in yeast and pseudohyphae. *J Cell Sci*. 2005; 118:2935-47.
5. Jard G, Liboz T, Mathieu F, et al. Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2011;28:1590-609.
6. Paterson RR, Lima N. Toxicology of mycotoxins. *EXS* 2010;100:31-63.
7. Peraica M, Radic B, Lucic A, et al. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull World Health Organ* 1999;77:754-66.
8. Edwards MR, Bartlett NW, Hussell T, et al. The microbiology of asthma. *Nat Rev Microbiol* 2012;10:459-71.
9. Callejas CA, Douglas RG. Fungal rhinosinusitis: what every allergist should know. *Clin Exp Allergy* 2013;43:835-49.
10. Gilstrap DL, Kraft M. Asthma and the host-microbe interaction. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:1449-50.
11. Wolff CH. Innate immunity and the pathogenicity of inhaled microbial particles. *Int J Biol Sci* 2011;7:261-8.
12. Hsu LY, Wijaya L, Shu-Ting Ng E, et al. Tropical fungal infections. *Infect Dis Clin North Am* 2012;26:497-512.
13. Kelly BP. Superficial fungal infections. *Pediatr Rev*. 2012;33:e22-37.
14. Marques SA. Fungal infections of the mucous membrane. *Dermatol Ther* 2010;23:243-50.
15. Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. *Clin Dermatol* 2010;28:197-201.
16. López-Martínez R. Candidosis, a new challenge. *Clin Dermatol* 2010;28:178-84.
17. Charles AJ. Superficial cutaneous fungal infections in tropical countries. *Dermatol Ther* 2009;22:550-9.
18. Haisley-Royster C. Cutaneous infestations and infections. *Adolesc Med State Art Rev* 2011;22:129-45.
19. Marcoux D, Jafarian F, Joncas V, et al. Deep cutaneous fungal infections in immunocompromised children. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:857-64.

20. Ramos-e-Silva M, Lima CM, Schechtman RC, et al. Systemic mycoses in immunodepressed patients (AIDS). *Clin Dermatol* 2012;30:616-27.
21. Galimberti R, Torre AC, Baztán MC, et al. Emerging systemic fungal infections. *Clin Dermatol* 2012;30:633-50.
22. Bonifaz A, Vázquez-González D, Perusquía-Ortiz AM. Endemic systemic mycoses: coccidioidomycosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and blastomycosis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2011;9:705-14.
23. Perusquía-Ortiz AM, Vázquez-González D, Bonifaz A. Opportunistic filamentous mycoses: aspergillosis, mucormycosis, phaeohyphomycosis and hyalohyphomycosis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2012;10:611-21.
24. Ramos-e-Silva M, Lima CM, Schechtman RC, et al. Systemic mycoses in immunodepressed patients (AIDS). *Clin Dermatol* 2012;30:616-27.
25. Gauthier GM, Keller NP. Crossover fungal pathogens: The biology and pathogenesis of fungi capable of crossing kingdoms to infect plants and humans. *Fungal Genet Biol.* 2013;61:146-57.
26. Cottier F, Pavelka N. Complexity and dynamics of host-fungal interactions. *Immunol Res.* 2012; 53:127-35.
27. Criado PR, Oliveira CB, Dantas KC, et al. Superficial mycosis and the immune response elements. *An Bras Dermatol.* 2011;86:726-31.
28. Mendez-Tovar LJ. Pathogenesis of dermatophytosis and tinea versicolor. *Clin Dermatol.* 2010;28:185-9.
29. Queiroz-Telles F, McGinnis MR, Salkin I, et al. Subcutaneous mycoses. *Infect Dis Clin North Am.* 2003;17:59-85.
30. Garcia-Vidal C, Viasus D, Carratalà J. Pathogenesis of invasive fungal infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26: 270-6.
31. Bajwa S, Kulshrestha A. Fungal infections in intensive care unit: challenges in diagnosis and management. *Ann Med Health Sci Res* 2013;3:238-44.
32. Marcos JY, Pincus DH. Fungal diagnostics: review of commercially available methods. *Methods Mol Biol* 2013;968: 25-54.
33. Vyzantiadis TA, Johnson EM, Kibbler CC. From the patient to the clinical mycology laboratory: how can we optimise microscopy and culture methods for mould identification? *J Clin Pathol.* 2012;65:475-83.
34. Ahmad S, Khan Z. Invasive candidiasis: a review of nonculture-based laboratory diagnostic methods. *Indian J Med Microbiol.* 2012;30:264-9.
35. Bašková L, Buchta V. Laboratory diagnostics of invasive fungal infections: an overview with emphasis on molecular approach. *Folia Microbiol (Praha).* 2012;57:421-30.
36. Oz Y, Kiraz N. Diagnostic methods for fungal infections in pediatric patients: microbiological, serological and molecular methods. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011;9:289-98.
37. Hatipoglu N, Hatipoglu H. Combination antifungal therapy for invasive fungal infections in children and adults. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11:523-35.
38. Kaur IP, Kakkar S. Topical delivery of antifungal agents. *Expert Opin Drug Deliv* 2010;7:1303-27.
39. Stevens DA. Advances in systemic antifungal therapy. *Clin Dermatol* 2012;30:657-61.

