บทที่ 1

บทนำ

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

เชื้อ Pityrosporum ทำให้เกิดโรคทางคลินิกได้หลายรูปแบบเช่น เกลื้อน (pityriasis versicolor) (Borelli, Jacobs, and Nall, 1991;Faergemann, and Torsten, 1982) ซีบอเรอิคเดอมาไตติส (seborrhoeic dermatitis) (Bergbrant, and Faergemann, 1990; Faergemann, and Maibach, 1984) รังแค (Leyden, McGinley, and Kligman, 1976) รูขุมขนอักเสบ (pityrosporum folliculitis) (Faergemann, and Maibach, 1984; Ford, 1984) หรือเป็นเพียงปัจจัยเสริม ของการเกิดโรคในโรค atopic dermatitis หรือในโรค confluent and reticulate papillomatosis (Faergemann, and Maibach, 1984) และยังมีอีกหลายภาวะที่ไม่ทราบแน่ว่าเชื้อยีสต์นี้มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดผื่นหรือไม่ โรคที่เกิดจากเชื้อดังกล่าวนี้จะเป็นโรคที่ไม่ร้ายแรง อาจหายได้เองแต่กินเวลานานมาก และยังสามารถกลับเป็นซ้ำได้บ่อยหลังการรักษา (Borelli, 1991)

การตรวจพบเชื้อยีสต์ Pityrosporum บริเวณรอยโรคไม่ได้บ่งว่าเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุให้เกิดผื่น อาจเป็นผลตามมาของผื่นเนื่องจากสะเก็ดของโรคเป็นปัจจัยส่งเสริมการเจริญของเชื้อให้เจริญได้ดี (Leyden, McGinley, and Kligman, 1976) นอกจากนี้ในผิวหนังปกติที่ไม่มีผื่นก็สามารถพบเชื้อ *P. ovale* ได้ในปริมาณมากเช่นกัน (McGinley, et al. 1977) ดังนั้นการศึกษาถึงความสัมพันธ์นี้จึงต้องใช้ข้อมูลหลาย ๆ อย่างมาประกอบกัน

วิธีการตรวจหาความสัมพันธ์ของผื่นกับเชื้อยีสต์ Pityrosporum มีหลายวิธีได้แก่ การขูดสะเก็ดไปย้อมด้วย 10%KOH ใช้เทปกาวใสแปะติดกับรอยโรคแล้วนำไปย้อมด้วย methylene blue (Lachapelle, et al., 1977) การตรวจทางพยาธิวิทยา (Ford, G. 1984) การเพาะเชื้อและนับปริมาณของเชื้อ (Faergemann, 1984; Wikler, Haan, and Nieboer, 1988) หรือการดูผลการตอบสนองต่อยารักษาเชื้อรา (Faergemann, 1984)

วิธีการเพาะเชื้อและนับปริมาณของเชื้อโดยวิธีใช้แผ่นกาวใส "tape method" (Wikler, Haan, and Nieboer, 1988; Wikler, Nieboer, and Willemze, 1992) เป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจและสามารถอ่านผลจำนวนปริมาณเชื้อ จึงนำมาใช้ประโยชน์ในการติดตามผลการรักษาได้ แต่วิธีนี้ยังมีข้อจำกัดในหลาย ๆ ด้านคือ วิธีนี้ตรวจดูได้เฉพาะเชื้อยีสต์ที่อยู่ชั้นบนของหนังกำพร้าเท่านั้น ทั้ง ๆ ที่โรคที่เกิดจากเชื้อนี้มีอยู่หลายโรคที่มีพยาธิสภาพที่อยู่ในชั้นลึกกว่านั้น แม้แต่ในโรคเกลื้อนเองที่มีพยาธิสภาพอยู่ที่ชั้นบนของหนังกำพร้า แต่ สามารถตรวจพบเชื้อได้จนถึงชั้นล่างสุดของชั้นหนังกำพร้าและยังพบอยู่ในเซลล์ด้วย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการกลับเป็นโรคซ้ำได้บ่อยหลังการรักษา (Montes, 1970; Tosti, Villardita, and Fazzini, 1972)

มีการตรวจเพาะและนับเชื้ออีกวิธีหนึ่งที่เป็นที่นิยมในการใช้ตรวจหาเชื้อกลาก คือวิธีการเพาะและนับเชื้อโดยใช้แผ่น cyanoacrylate skin surface stripping (CSSS) (Rurangirwa, Pierard-Franchimont, and Piérard, 1989; Piérard, Arrese, and Doncker, 1995) แต่ยังไม่เคยมีการใช้วิธีนี้กับเชื้อยีสต์ Pityrosporum มาก่อน และยังมีโรคในกลุ่มนี้ที่จำเป็นที่จะต้องหาวิธีการตรวจเชื้อที่แม่นยำและดีกว่าเดิมในการหาสาเหตุของโรคหรือติดตามผลการรักษา วิธี CSSS นี้จึง ควรนำมาประยุกต์ใช้ในจุดนี้เนื่องจากวิธีนี้สามารถเก็บผิวหนังได้ลึกกว่าวิธีการเดิม

รายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

Lachapelle et al. (1977) ได้เสนอวิธีการทำ skin surface biopsy เพื่อตรวจนับเชื้อราโดยใช้แผ่นกาวใส (plastic sheet) ผลพบว่าสามารถตรวจพบผลบวกได้มากกว่าวิธีขูดสะเก็ดธรรมดา แม้ว่าผลที่ได้จะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบข้อดีกว่าวิธีขูดสะเก็ดธรรมดาในแง่ การดูบริเวณและขอบเขตของการติดเชื้อ การเก็บเป็นสไลด์ถาวรเพื่อการเปรียบเทียบ และการใช้ในการเพาะเชื้อ

Faergemann (1984) ได้เสนอวิธีการเพาะและนับเชื้อ *Pityrosporum orbiculare* เป็นวิธีแรกทำการศึกษาจากผู้ที่เป็นโรคเกลื้อน 15 ราย โดยใช้วงแหวน stainless ขนาด 5.5 ตารางเซนติเมตร วางลงบนผิวหนัง แล้วใช้สาร surfactant จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในวงแหวนดังกล่าวทิ้งไว้ 1 นาที นำไปเพาะเชื้อใน glucose-neopeptone-yeast extract agar medium ที่ใส่ 2% olive oil, tween 80 (0.1%) และ glycerol monostearate และได้ทำการนับจำนวนโคโลนี (colony) ของเชื้อเพื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้สาร surfactant แต่ละชนิด ผลการศึกษาพบว่า 0.1 % triton X-100 ใน sterile 0.075 M phosphate buffer, pH 7.9 เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้น้อยที่สุดและทำให้

สามารถทำการเพาะและนับเชื้อยีสต์นี้ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเชื้อจากรอยโรคและผิวหนังที่ปกติของผู้ที่เป็นโรคเกลื้อนมีจำนวนไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าแตกต่างเมื่อเทียบกับผิวหนังของคนปกติที่ไม่เป็นโรคเกลื้อน

Wikler, Haan, และ Nieboer (1988) ได้เสนอวิธีการเพาะและนับจำนวนเชื้อยีสต์ Pityrosporum (quantitative culture of Pityrosporum yeasts) โดยการใช้แผ่นกาวใส "Tape-method" ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและได้ผลดี การศึกษานี้ใช้แผ่นกาวใสขนาด 1 ตารางเซนติเมตรปิดบนผิวหนังแล้วลอกออก นำแผ่นกาวใสนั้นไปทาบบนหยดของ sterile olive oil ซึ่งอยู่บน sabouraud medium นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 7 วัน นับจำนวนโคโลนีใต้แผ่นกาวใสโดยใช้กล้องจุลทรรศน์เทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาพบว่าจำนวนโคโลนีในผื่นซีบอเรอิคเดอมาไตติสมีมากกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในปี ค.ศ. 1992 Wikler, Nieboer, และ Willemze ได้ใช้วิธีเพาะและนับเชื้อยีสต์ Pityrosporum โดยใช้ "tape method" ศึกษาในผู้ติดเชื้อ HIV 28 รายโดยแบ่งเป็นกลุ่มที่มีผื่นโรคซีบอร์เรอิคเดอรมาไตติส และกลุ่มที่ไม่มีผื่นซีบอร์เรอิคเดอรมาไตติส เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ติดเชื้อ HIV ทั้งที่มีและไม่มีผื่นซีบอร์เรอิคเดอรมาไตติส ผลการศึกษาพบว่าในผู้ติดเชื้อ HIV ทั้งที่มีและไม่มีผื่นซีบอร์เรอิคเดอรมาไตติส จะพบจำนวนโคโลนีในปริมาณน้อยมาก แต่ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ติดเชื้อ HIV พบว่าผู้ที่มีผื่นซีบอร์เรอิคเดอรมาไตติส จะมีจำนวนโคโลนีของเชื้อยีสต์ Pityrosporum ที่มากกว่าในกลุ่มที่ไม่เป็นโรคซีบอร์เรอิคเดอรมาไตติส และสรุปได้ว่าผื่นซีบอร์เรอิคเดอรมาไดติสในผู้ติดเชื้อ HIV น่าจะแยกเป็นโรคที่แตกต่างจากโรคซีบอร์เรอิคเดอรมาไดติสธรรมดา ("classical" seborrheic dermatitis)

Rurangirwa, Piérard-Franchimont, and Piérard (1989) ได้ทดลองใช้วิธีการเพาะเชื้อกลากหลายชนิดจากแผ่น CSSS และเสนอว่าการเพาะเชื้อวิธีนี้น่าจะได้ผลดีกว่าการใช้แผ่นกาวใสธรรมดา ("tape method") วิธี CSSS ได้ความหนาของชั้น stratum corneum มากกว่าและมีขนาดเท่ากันโดยตลอด นอกจากนี้วิธีนี้ไม่ต้องอาศัยอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากแผ่นผิวหนังที่ติดขึ้นมากับกาวนั้นเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อโดยธรรมชาติอยู่แล้ว

มีการนำวิธี CSSS มาใช้ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของยาต้านเชื้อรา (Pi érard, Arrese, and Doncker, 1995; Arrese et al., 1995) โดยใช้ CSSS จากอาสาสมัครปกติที่ได้ทดลองใช้ยาต้านเชื้อรานำไปเพาะเชื้อร่วมกับเชื้อกลากชนิดต่าง ๆ และเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ใน diluted Sabouraud medium ใส่ลงไปเพื่อศึกษาถึงคุณสมบัติของยา การศึกษานี้ได้ทำการนับ

จำนวนเชื้อราโดยใช้ computerized image analyzer (MOP Videoplan Kotron) เพื่อทำการนับบริเวณที่ปกคลุมด้วยเชื้อราบนแผ่น CSSS

มีการศึกษาลักษณะทางพยาธิและจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคเกลื้อน (Montes, 1970) พบว่าเชื้อนี้สามารถทะลุเข้าเซลล์และอยู่เป็นปาราสิตในเซลล์ผิวหนังได้ เชื้อนี้สามารถเจริญงอกลงไปลึกได้ถึงชั้นล่างสุดของชั้น stratum corneum เหนือกว่าชั้น granular เล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ มีการติดเชื้อกลับเป็นซ้ำบ่อยและไม่สามารถจะรักษาให้หายขาดโดยใช้ยาทารักษาเชื้อราเพียงอย่างเดียว

เนื่องจากปัญหาเรื่องโรคที่เกิดขึ้นจากเชื้อยีสต์ Pityrosporum หรือมีความเกี่ยวข้องกับเชื้อนี้มีหลายโรค บางโรคพบแล้วว่ามีความสัมพันธ์กับเชื้อนี้อย่างใกล้ชิด แต่บางโรคยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ แม้จะมีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้มากพอสมควร แต่การพบเชื้อยีสต์ที่ผื่นไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นสาเหตุของการเกิดผื่นหรือไม่ ต้องพิจารณาปัจจัยหลายอย่างประกอบกัน เช่นเทียบกับจำนวนเชื้อที่พบในบริเวณผิวหนังปกติเทียบกับรอยโรคหรือเทียบกับหลังการรักษา ดังนั้นวิธีที่ใช้เพาะและนับเชื้อยีสต์จึงมีความสำคัญ การใช้สาร surfactant แต่เดิมเป็นวิธีที่ยุ่งยาก ส่วนการใช้วิธี "tape method" ธรรมดานั้นแม้จะทำได้สะดวก แต่ผลที่ได้จากการเพาะเชื้ออาจไม่เป็นตัวแสดงถึงเชื้อที่ทำให้เกิดผื่นจริง ๆ เนื่องจากมีระดับความลึกน้อยและไม่แน่นอนในแต่ละครั้งของการทำและไม่เท่ากันทั้งแผ่น วิธี CSSS น่าจะได้ผลที่ดีกว่าเนื่องจากได้ระดับชั้นของ stratum corneum ที่มีความเท่ากันตลอด ลึกถึงชั้นของรูขุมขน และเป็นวิธีที่ทำได้สะดวก

โรคเกลื้อนเป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุดในบรรดาโรคที่เกิดจากเชื้อเดียวกันนี้ และเชื้อยีสต์ในโรคเกลื้อนนี้สามารถตรวจพบได้ในทุกชั้นของหนังกำพร้า โรคนี้จึงน่าจะเป็นตัวอย่างที่ดีในการเปรียบเทียบวิธีการประยุกต์นับเชื้อโดยใช้ CSSS กับวิธีการเพาะและนับเชื้อแบบเดิม การศึกษานี้จะทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเพาะและนับเชื้อโดยใช้แผ่นกาว cyanoacrylate เทียบกับการใช้ "tape method" เพื่อดูความสอดคล้อง แตกต่าง และข้อดีข้อเสียของแต่ละวิธี

การวิจัยนี้อาจช่วยให้ได้วิธีที่ดีในการนำไปใช้เพาะเชื้อยีสต์ Pityrosporum ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อไปในการหาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อนี้กับผื่นอื่น ๆ ที่เกิดจากเชื้อนี้ดังกล่าวข้างต้น หรือแม้กระทั่งใช้ในการวัดและติดตามผลการรักษา เนื่องจากวิธีใหม่นี้เป็นวิธีที่สะดวก มีความแม่นยำและสามารถตรวจหาเชื้อยีสต์ที่มีจำนวนน้อย ๆ หรือที่อยู่ในชั้นลึกได้ ดังนั้นจึงน่าจะเป็นวิธีที่ดีในการใช้ติดตามผลการรักษาของโรคที่เกิดจากเชื้อยีสต์ Pityrosporum ได้