

1985-09-01

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปาก โดยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์

กฤษฎา อีฐรัตน์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/cudj>



Part of the [Dentistry Commons](#)

Recommended Citation

อีฐรัตน์, กฤษฎา (1985) "การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปาก โดยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์," *Chulalongkorn University Dental Journal*: Vol. 8: Iss. 3, Article 6.

DOI: 10.58837/CHULA.CUDJ.8.3.6

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/cudj/vol8/iss3/6>

This Original article is brought to you for free and open access by Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn University Dental Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.



การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปาก โดยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์

กฤษณา อจิรรัตน์*



บทคัดย่อ

การตรวจหาเชื้อแคนดิดา ในช่องปากมีหลายวิธีซึ่งให้ผลแตกต่างกัน วิธีการตรวจที่ให้ผลถูกต้องเชื่อถือได้ จะเป็นสิ่งที่ช่วยในด้านการให้การวินิจฉัยโรคที่ต้องตลอดจนการวางแผนการรักษาทั้งโรคในช่องปาก และโรคทางระบบของร่างกาย วิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากแบบใหม่ ที่ง่ายและสะดวก และให้ผลดี ถูกต้อง เชื่อถือได้มากที่สุดและมีความไวต่อการตรวจพบเชื้อสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจแบบอื่น ๆ เหมาะสมสำหรับใช้ตรวจหาเชื้อแคนดิดาทั้งในแง่ของการวินิจฉัยโรคในคนที่มีแผลติดเชื้อในช่องปาก และในคนที่มีโรคทางระบบของร่างกายที่มีจำนวนเชื้อแคนดิดาในช่องปาก สูงรวมทั้งที่มีแนวโน้มของการเพิ่มสูงขึ้นของเชื้อแคนดิดาในช่องปาก ตลอดจนแม้ในคนที่มีสุขภาพในช่องปากปกติ ก็สามารถที่จะตรวจพบเชื้อแคนดิดาได้โดยวิธีนี้

*ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*) เป็นสาเหตุของแผลติดเชื้อในช่องปากที่พบเสมอ ที่เรียกว่าแคนดิดิเอซิส (*Candidiasis*) หรือแคนดิโดสิส (*Candidosis*) หรือโมนิลิเอซิส (*Moniliasis*) ในผู้ใหญ่ หรือ ที่เรียกว่า ทรัช (Thrush) ในเด็ก นอกจากในช่องปากแล้วยังพบแคนดิดิเอซิสที่อวัยวะส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย ได้แก่ที่ผิวหนังโดยเฉพาะที่นิ้วและเล็บมือ ทางเดินอาหาร และที่อวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกและช่องคลอด ในคนที่ใส่ฟันปลอมพบว่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ มีการเจริญอย่างรวดเร็วและเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดแผลอักเสบแดงของเยื่อบุเพดานที่รองรับฟันปลอม ที่เรียกกันว่า เดนเจอร์ สโตมาไทติส (*Denture Stomatitis*)^{1,2,3}

โดยปกติ เชื้อแคนดิดาเป็นเชื้อราที่มีอยู่เป็นประจำในช่องปาก และทางเดินอาหาร^(4,5,6,7) ในช่องคลอด^(4,8) ในช่องปากปกติของคนที่มีสุขภาพดีสามารถตรวจพบเชื้อแคนดิดาได้ถึง 33-48 เปอร์เซ็นต์^(9,10,11,12) โดยที่ไม่มีอาการแสดงในช่องปากของการติดเชื้อใด ๆ เรียกคนที่มีสุขภาพในช่องปากปกติที่ตรวจพบเชื้อแคนดิดานี้ว่า แคนดิดา แคริเออร์ (*Candidal carrier*).

ในคนที่มีโรคทางระบบของร่างกายที่มีจำนวนเชื้อแคนดิดาในช่องปากสูง เช่นโรคเบาหวาน^(13,14) ซิโจนเรน ซินโดรม (*Sjögren's syndrome*)^(15,16) ในคนที่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ^(4,14,17,18) (antibiotics) หรือยาสเตียรอยด์ (steroids)^(19,20) หรือยากดกลไกภูมิคุ้มกันของร่างกาย (*immunosuppressive drug*)^(21,22) และคนไข้ที่เป็นโรคมะเร็ง^(4,22,23,24,25,26) โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งเม็ดเลือดขาว (*leukemia*)^(22,26) รวมถึงผู้ป่วยที่มี

แนวโน้มน้ำที่จำนวนเชื้อแคนดิดาในช่องปากจะสูงขึ้น และไวต่อการเกิดแคนดิดิเอซิสเป็นผลตามภายหลังได้รับการรักษาซึ่งได้แก่การฉายแสง (*irradiation*) รักษาผู้ป่วยโรคมะเร็ง^(27,28) ผู้ป่วยหลังผ่าตัดโรคหัวใจ (*open-heart surgery*) และผู้ป่วยเปลี่ยนไต (*kidney transplantation*) ซึ่งก่อนทำการผ่าตัดจะได้รับยาปฏิชีวนะ และยากดกลไกภูมิคุ้มกันของร่างกาย จะเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากเชื้อแคนดิดาสูง^(29,30,31,32,33) ผู้ป่วยที่ได้กล่าวมาแล้วจำเป็นต้องได้รับการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากก่อนการให้การรักษาดังกล่าว ทั้งนี้เพื่อการให้การวินิจฉัย การวางแผนการรักษา และการป้องกันการเกิดแคนดิดิเอซิสในช่องปาก

การตรวจพบเชื้อแคนดิดาขึ้นอยู่กับการเลือกใช้วิธีการตรวจ^(3,20) ดังนั้นในแง่ของการวินิจฉัยโรคการเลือกวิธีที่ใช้ตรวจ จึงเป็นสิ่งสำคัญ ไมเช่นนั้นจะทำให้ การวินิจฉัยโรคไม่ถูกต้องผิดพลาดได้ซึ่งจะเป็นผลต่อไปถึงการวางแผนการรักษา การให้การรักษาและการป้องกัน นอกจากนี้ในการศึกษาค้นคว้าและวิจัย เกี่ยวกับเชื้อแคนดิดาในช่องปาก การเลือกใช้วิธีการตรวจหาเชื้อก็มีความสำคัญในการที่จะให้ได้ผลที่ถูกต้อง เมื่อนำไปศึกษาค้นคว้าต่อไป

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปาก มีหลายวิธีด้วยกันในปี ค.ศ.1950 Lilienthal⁽³⁴⁾ ได้ตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากโดยวิธีป้ายจากเยื่อบุช่องปาก (*mucosal swab*) เปรียบเทียบกับวิธีตรวจจากน้ำลาย (*salivary sample technique*) ซึ่งพบว่าวิธีตรวจหาเชื้อราชนิดนี้ จากน้ำลายให้ผลดีกว่า ในระยะต่อมาผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อแคนดิดาในช่องปาก ส่วนใหญ่ใช้วิธีตรวจหาเชื้อจากน้ำลาย ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่ให้ผลดีที่สุด ณ เวลานั้น^(6,9,35,36,37) นอกจากนี้ยังมีวิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาโดยวิธี

เอพิทีเลียล สเมียร์ (Epithelial smears)^(2,38) และโดยวิธีเพาะเชื้อจากการพิมพ์ปาก (Impression culture)^(2,39,40) จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจต่าง ๆ นี้พบว่า การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากที่มีสุขภาพปกตินั้น วิธีการตรวจจากน้ำลาย^(34,41) และการเพาะเชื้อจากการพิมพ์ปาก⁽³⁹⁾ ให้ผลดีกว่าวิธีการตรวจแบบอื่น ๆ ที่ใช้กันอยู่ในเวลานั้น

ต่อมาในปี ค.ศ.1970 Davenport⁽³⁾ ได้ศึกษาการกระจายของเชื้อแคนดิดาในช่องปากคนใช้ใส่ฟันปลอมที่มีการอักเสบแดงของเยื่อบุเพดาน (Denture stomatitis) โดยได้คิดค้นวิธีการตรวจที่เรียกว่าวิธีเพาะเลี้ยงแบบเรพลิคา (Replica culture) หรือวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ (Imprint culture) มาใช้ในการตรวจหาเชื้อแคนดิดาและได้ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาแบบต่าง ๆ ซึ่งได้แก่วิธีทำสเมียร์จากเยื่อบุเพดาน และจากฟันปลอมด้านที่ติดกับเยื่อบุเพดาน (palatal mucosa) วิธีตรวจจากน้ำลาย และวิธีเพาะเลี้ยงแบบเรพลิคา หรือแบบอิมพริ้นท์ จากบริเวณทั้งสองดังกล่าว Davenport⁽³⁾ ได้ให้ข้อคิดเห็นว่าผลการตรวจพบเชื้อแคนดิดาโดยวิธีสเมียร์นั้น แม้จะให้ผลสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ก็ตาม แต่ก็ไม่สามารถที่จะนำมาทำการทดสอบในขั้นต่อไปได้ว่า เชื้อที่ตรวจพบนั้นเป็นเชื้อแคนดิดาอัลบิแคนส์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบแดงของเยื่อบุเพดานหรือไม่ ซึ่งต่างจากการตรวจด้วยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ ที่สามารถนำเชื้อที่ตรวจพบมาทดสอบต่อไปได้

ในปี ค.ศ.1977 Berdicevsky และคณะ⁽⁹⁾ ได้นำแถบไมโครสติกซ์ (Microstix) ที่ใช้ตรวจหา

เชื้อแคนดิดาในช่องคลอดมาใช้ตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปาก เรียกวิธีการตรวจแบบนี้ว่า สตรีป เทสต์ (Strip test) พบว่าให้ผลดีใกล้เคียงกับวิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาจากน้ำลายโดยเพาะเลี้ยงบนซาบอโรทเออการ์ ซึ่งใช้กันอยู่และวิธีนี้มีข้อดีคือทราบผลได้เร็วกว่า คือเพียง 24 ชั่วโมง เท่านั้น

ในปี ค.ศ.1979 Arendorf และ Walker⁽⁴¹⁾ ทำการศึกษาตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากด้วยวิธีต่าง ๆ กันหลายวิธี ได้แก่ ตรวจจากน้ำลาย จากการพิมพ์ปาก วิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์และเอพิทีเลียล สเมียร์ เปรียบเทียบผลที่ได้ว่าวิธีตรวจแบบไหนให้ผลดีที่สุด ซึ่งสรุปได้ว่า วิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากทั้ง 4 วิธีดังกล่าว วิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์เป็นวิธีการตรวจที่ไวและให้ผลดีที่สุด และสามารถตรวจหาเชื้อแคนดิดาเฉพาะตำแหน่งในช่องปากได้ ตลอดจนแสดงการกระจายของเชื้อแคนดิดาในช่องปากว่ามีมากน้อยในแต่ละตำแหน่งอย่างไรบ้าง ซึ่งแตกต่างจากผลที่ได้จากการเลือกใช้วิธีตรวจแบบอื่น ๆ อีก 3 แบบที่กล่าวแล้ว

นอกจากนี้ยังสามารถนำเชื้อที่ตรวจพบนั้นไปทดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดแผลติดเชื้อในช่องปากหรือเป็นเชื้อชนิดใด

เนื่องจากการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากโดยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์นี้ยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทย บทความนี้จะกล่าวถึงวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบอิมพริ้นท์ และวิธีการแบบอื่น ๆ ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันสำหรับเป็นแนวทางในการเลือกใช้วิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากที่เหมาะสมเพื่อการวินิจฉัยโรค การศึกษาค้นคว้าและการวิจัย

วัสดุ และวิธีการ

วัสดุ

เครื่องมือตรวจ 1 ชุด

แผ่นโพลีพลาสติก หรือแผ่นฟองน้ำอย่างบาง ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขนาดและรูปร่างขึ้นอยู่กับตำแหน่งหรือบริเวณที่ต้องการตรวจหาเชื้อ

ซาบอราท เด็กซ์โทรส บรอก (Sabouraud's dextrose broth) (Difco)

ซาบอราท เด็กซ์โทรส เอการ์ (Sabouraud's dextrose agar) (Difco)

โซเดียม เบนซิล เพนนิซิลลิน (Sodium benzyl penicillin)

สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (Streptomycin sulphate)

Petri dish ขนาด 20 × 150 มม.

ตะเกียงแอลกอฮอล์

ดินสอเขียนแก้ว

ขวดแก้วขนาดบรรจุ 20 มล. ปากกว้าง 15 มม.

วิธีการ

การเตรียมสารเลี้ยงเชื้อ (Media)

ซาบอราท เด็กซ์โทรส บรอก

(Sabouraud's dextrose broth)

ละลายผงซาบอราท เด็กซ์โทรส เอการ์ จำนวน 30 กรัมลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้เข้ากันในภาชนะทนไฟ ต้มให้เดือดจนส่วนผงละลายหมด นำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยอบในตู้อบ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซนติเกรด เป็นเวลา 15 นาที นำออกมาปล่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 55 องศาเซนติเกรด แล้วเติมยาปฏิชีวนะ โซเดียม เบนซิล เพนนิซิลลิน ขนาด 1.5 มก./มล. และสเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต ขนาด 5 มก./มล. เพื่อไม่ให้มีการเจริญของพวกแบคทีเรียเมื่อใช้ในการเพาะหาเชื้อ

แคนดิดา แบ่งใส่ขวดแก้วขนาดบรรจุ 20 มล. ที่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขวดละ 10 มล. เพื่อเก็บไว้ใช้ในการเพาะเชื้อต่อไป

ซาบอราท เด็กซ์โทรส เอการ์

(Sabouraud's dextrose agar)

ละลายผง ซาบอราท เด็กซ์โทรส เอการ์ จำนวน 65 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้เข้ากันในภาชนะทนไฟ ต้มให้เดือดจนส่วนผงละลายหมด นำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยอบในตู้อบ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซนติเกรด เป็นเวลา 15 นาที นำออกมาปล่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 55 องศาเซนติเกรด แล้วเติมยาปฏิชีวนะ โซเดียม เบนซิล เพนนิซิลลิน ขนาด 1.5 มก./มล. และสเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต ขนาด 5 มก./มล. เพื่อไม่ให้มีการเจริญของพวกแบคทีเรียเมื่อใช้ในการเพาะหาเชื้อแคนดิดา หลังจากนั้นเทสารเลี้ยงเชื้อนี้ลงในภาชนะเพตริดิช ขนาด 20 × 150 มม. ให้ได้ความลึก 5 มม. ปล่อยให้แห้งตัว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซนติเกรดเพื่อใช้ในการเพาะหาเชื้อแคนดิดาต่อไป

วิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดา

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากโดยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์เป็นการนำเอาเชื้อจากเยื่อบุช่องปากที่ต้องการตรวจไปเพาะบนสารเลี้ยงเชื้อซาบอราท เด็กซ์โทรส เอการ์ โดยอาศัยแผ่นโพลีพลาสติก หรือ แผ่นฟองน้ำอย่างบางที่เตรียมไว้โดยนำไปจุ่มให้ชุ่มด้วย ซาบอราท เด็กซ์โทรส บรอกก่อนแล้วนำไปวางให้แนบกับเยื่อบุช่องปากบริเวณที่ต้องการตรวจหาเชื้อแคนดิดาหรือบนรอยโรคที่สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อแคนดิดาเป็นเวลา 60 วินาที แล้วนำแผ่นฟองน้ำนั้นไปวางบนสารเลี้ยงเชื้อซาบอราท เด็กซ์โทรส เอการ์ ที่เตรียมไว้ ภายใต้ sterile condition กดให้แผ่นฟองน้ำแตะกับ

ผิวของสารเลี้ยงเชื้อโดยสม่าเสมอ นำไปอบ (incubate) ในตูบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซนติเกรดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วนำออกมาเพื่อเอาแผ่นฟองน้ำออก นำไปอบต่ออีกจนครบ 48 ชั่วโมง นำออกมาตรวจการเจริญของเชื้อ และนำเชื้อที่เจริญบนสารเลี้ยงเชื้อนั้นไปทำการศึกษาคัดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดา ชนิดใดต่อไป

สำหรับขนาดของแผ่นฟองน้ำที่ใช้เป็นตัวนำเชื้อจากเยื่อช่องปากตรงตำแหน่งที่ต้องการตรวจไปเพาะยังสารเลี้ยงเชื้อนั้น ขึ้นอยู่กับขนาดของบริเวณเยื่อช่องปากที่ต้องการตรวจ ตลอดจนรูปร่างด้วย ในกรณีที่ต้องการตรวจบริเวณมุมปาก ในคนที่เป็น angular cheilitis หรือบริเวณ labial หรือ buccal mucosa พื้นช่องปาก บริเวณใต้ลิ้น (ventral surface) หรือด้านข้างของลิ้น ขนาดของแผ่นฟองน้ำที่ใช้ไม่ควรเกิน $2.5 \times 2.5 \times 0.2$ ซม. ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการติดเชื้อ (contaminate) จากบริเวณอื่นที่อยู่ใกล้เคียง

นอกจากการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากด้วยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ที่ได้กล่าวมาแล้ว ใคร่ขอกล่าวถึงวิธีการตรวจอื่น ๆ ที่ใช้กันในปัจจุบันทั้งในแง่ของการให้การวินิจฉัยโรคและการศึกษาค้นคว้าดังนี้

1. (ก.) การตรวจหาเชื้อแคนดิดาด้วยการตรวจจากน้ำลาย⁽³⁴⁾

นำน้ำลาย (mixed whole unstimulated saliva) ที่คนไข้บ้วนประมาณ 2 มล. ในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วไปทำให้เชื้อในน้ำลายมีการกระจายตัวไปทั่ว ๆ โดยใช้เครื่องสั่นร้าว (Vibrator) แล้วนำน้ำลาย 0.2 มล. ไปเพาะบนสารเลี้ยงเชื้อซาบอโรท เด็กซ์โทรส เอการ์ ที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะอยู่ด้วย เช่นเดียวกับสารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมใช้ในการเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์โดยเกลี่ยน้ำลาย

ให้ทั่วบนผิวของสารเลี้ยงเชื้อโดยสม่าเสมอนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซนติเกรด เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจการเจริญของเชื้อ

1. (ข.) การตรวจหาเชื้อแคนดิดาจากน้ำลายโดยใช้สตริปเทสต์⁽⁹⁾ (Strip test)

วิธีนี้เป็นการตรวจหาเชื้อโดยใช้แถบไมโครสติกส์ (Microstix) ซึ่งมีส่วนประกอบของอาหาร (nutritional component) ของเชื้อราในรูปแบบที่แห้ง เมื่อทำให้เปียกขึ้นจะเหมาะสำหรับการเจริญของเชื้อแคนดิดา นอกจากนี้ในแถบไมโครสติกส์ยังมี บิสมัท อินดิเคเตอร์ (Bismuth indicator) ซึ่งถ้าหากมีเชื้อแคนดิดาในคัลเชอะบนแถบไมโครสติกส์ เชื้อนี้จะทำปฏิกิริยากับ บิสมัท อินดิเคเตอร์เกิด บิสมัท ซัลไฟด์ (Bismuth sulfide) เป็นจุดสีน้ำตาลดำปรากฏบนแถบไมโครสติกส์

ในการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากวิธีนี้ในขั้นแรก ต้องทำให้แถบไมโครสติกส์ เปียกชุ่มก่อน แล้วใช้ไม้พันสำลี (swab) จุ่มลงในน้ำลาย นำมาทาลงบนแถบไมโครสติกส์ แล้วผึ่งหรือปิดแถบไมโครสติกส์ให้สนิท นำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซนติเกรดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าในน้ำลายที่ตรวจมีเชื้อแคนดิดา ก็จะปรากฏเป็นจุดสีน้ำตาลดำบนแถบไมโครสติกส์นั้น จุดสีน้ำตาลดำนี้ จะปรากฏมากน้อยแค่ไหนขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของเชื้อแคนดิดาในน้ำลายที่นำมาตรวจ

2. การตรวจหาเชื้อแคนดิดาโดยการพิมพ์ปาก⁽³⁹⁾

เป็นการตรวจหาเชื้อโดยการพิมพ์ปากด้วยวัสดุพิมพ์ปาก (alginate impression) ทั้งฟันบนและฟันล่าง (maxillary และ mandibular arch) แล้วนำมาเทแบบ (casting) ด้วย 6 เปอร์เซนต์ฟอร์ติไฟด์ เอการ์ (6% fortified agar) ที่มีส่วนผสมของซาบอโรท เด็กซ์โทรส บรอก (Sa-

bouraud's dextrose broth) เมื่อ เอการ์ที่เป็นแบบแข็งตัวแล้ว แกะออกจากแม่แบบ (impression) แล้วใส่ในภาชนะปากกว้างที่มีฝาปิดเป็นเกลียว (screw tapped jars) นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศา เซนติเกรด เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3. การตรวจหาเชื้อแคนดิดา ด้วยวิธี เอพิธีเลียล สเมียร์ (Epithelial smear)⁽²⁾

โดยใช้ไม้กดลิ้นหรือพายโลหะ (metal spatular) ที่ใช้ผสมวัสดุทางทันตกรรมที่ปราศจากเชื้อ ขูดเบา ๆ ที่เยื่อช่องปากบริเวณที่ต้องการตรวจหาเชื้อ นำมาเกลี่ยลงบนแผ่นสไลด์ (Microscopic slides) ให้บางโดยสม่ำเสมอทั่ว ๆ กัน แล้วตรึงให้ติดคงที่ (fixed) ด้วยน้ำยาที่เป็นส่วนผสมของอีเทอร์ (ether) และ 95 เปอร์เซนต์แอลกอฮอล์อย่างละเท่า ๆ กัน เป็นเวลา 15 นาที หรือใช้ความร้อน (heat fixed) ย้อมสีด้วยฟิ เอ เอส (PAS - Periodic acid schiff) หรือ แกรม สเตน (Gram stain) แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ว่ามีเชื้อแคนดิดาหรือไม่ วิธีนี้อาจจะตรวจหาเชื้อได้โดยไม่ต้องย้อมสีก็ได้โดยหลังจากที่เกลี่ยลงบนสไลด์แล้ว ให้หยดโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH solution) ลงบนสไลด์ตรงตำแหน่งที่ได้เกลี่ยเชื้อไว้แล้ว นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ วิธีนี้เหมาะสำหรับการตรวจหาเชื้อแคนดิดาอย่างรวดเร็วในคนที่สงสัยมีแผลติดเชื้อเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้ เพื่อการวินิจฉัยเบื้องต้นอย่างคร่าว ๆ เท่านั้น

บทวิจารณ์ และบทสรุป

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากมีหลายวิธีดังได้กล่าวมาแล้ว แต่ละวิธีต่างก็มีข้อดี ข้อเสีย และความเหมาะสมในการเลือกใช้แตกต่างกัน

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากโดยวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ ให้ผลดีเชื่อถือได้ และมี

ความไวต่อการพบเชื้อสูงมากสามารถบอกตำแหน่งที่ตรวจพบเชื้อแคนดิดาในช่องปากตลอดจนแสดงให้เห็นการกระจายของเชื้อแคนดิดาที่ตำแหน่งต่าง ๆ ในช่องปากได้ เชื้อที่ตรวจพบสามารถนำไปทดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดไหน^(3,11,14) ในการตรวจจำเป็นต้องมีแผ่นฟองน้ำ และสารเลี้ยงเชื้อ เวลาที่ใช้ในการทำน้อยเท่า ๆ กับวิธีตรวจโดยการทำ เอพิธีเลียล สเมียร์ และอ่านผลได้ภายหลังอบแล้ว 48 ชั่วโมง เช่นเดียวกับวิธีที่ 1 ก และวิธีที่ 2 วิธีนี้มีขอบเขตการใช้กว้าง เหมาะสำหรับการใช้ตรวจหาเชื้อแคนดิดา ทั้งในคนที่มีสุขภาพในช่องปากปกติ เพื่อหา Candidal carrier ในคนที่มีแผลติดเชื้อในช่องปากมีเยื่อเพดานอักเสบแดงร่วมกับการใส่ฟันปลอม ในคนที่มีโรคทางระบบของร่างกาย ซึ่งมีผลทำให้จำนวนเชื้อแคนดิดาในช่องปากสูงขึ้นกว่าสภาพปกติรวมทั้งในผู้ป่วยที่คาดว่าผลจากการรักษามีแนวโน้มทำให้จำนวนเชื้อแคนดิดาในช่องปากสูงขึ้นมีแผลติดเชื้อในช่องปากเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้จะเป็นประโยชน์ทั้งในแง่ของการให้การวินิจฉัย การวางแผนการรักษาตลอดจนการป้องกัน

สำหรับการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากจากน้ำลายโดยวิธีที่ 1 ก. คือ นำน้ำลายไปเพาะหาเชื้อบนสารเลี้ยงเชื้อซาบอโรท เด็กซ์โทรส เอการ์ นั้น ทำได้ง่าย สะดวก ใช้เวลาในการตรวจน้อยแต่จำเป็นต้องมีสารเลี้ยงเชื้อ และต้องอบไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อยจึงจะอ่านผลได้ อย่างไรก็ตามการตรวจโดยวิธีนี้ ให้ผลดีและมีความไวในการตรวจพบเชื้อ (sensitive) และเชื่อถือได้^(3,34,41) สามารถนำเชื้อที่ตรวจพบมาทำการทดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดไหนได้ ตลอดจนสามารถบอกถึงความเข้มข้นหรือความหนาแน่นของเชื้อได้ด้วย แต่มีข้อจำกัดที่ไม่สามารถตรวจหาเชื้อเฉพาะตำแหน่งใดตำแหน่ง

หนึ่งในช่องปากได้ จึงเหมาะสำหรับการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากทั่ว ๆ ไปเท่านั้น

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาจากน้ำลายโดยวิธี 1 ข. นั้นก็เช่นเดียวกับวิธีที่ 1 ก. คือ ทำได้ง่าย สะดวก ใช้เวลาในการตรวจน้อย สามารถอ่านผลได้เร็วกว่าวิธีที่ 1 ก. โดยใช้เวลาในการอบเพียง 24 ชั่วโมงเท่านั้น ซึ่งเป็นข้อดีของวิธีนี้ในกรณีที่ต้องการทราบผลเร็ว แต่จำเป็นต้องมีแถบไมโครสติกส์ เป็นสื่อการตรวจวิธีนี้ ให้ผลดีและมีความไวของการตรวจพบเชื้อ และเชื้อถือได้ เช่นเดียวกับวิธีที่ 1 ก.⁽⁹⁾ แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถนำเชื้อที่ตรวจพบไปทดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดใด และไม่สามารถตรวจหาเชื้อแคนดิดาเฉพาะที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งในช่องปากได้ จึงเหมาะสำหรับที่จะตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากโดยทั่วไป และในกรณีที่ต้องการทราบผลเร็ว

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากโดยวิธีพิมพ์ปากเหมาะสำหรับใช้ตรวจหาเชื้อแคนดิดาที่ตัวฟัน เยื่อบุสันเหงือก (alveolar mucosa) และเยื่อบุเพดาน (palatal mucosa) ฟันปลอมด้านที่ติดกับเยื่อช่องปาก (fitting surface of denture) วิธีนี้สามารถบอกถึงการกระจายของเชื้อแคนดิดาที่ตำแหน่งต่าง ๆ ได้และสามารถนำไปทดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดใดได้ ให้ผลดีพอใช้

ได้ ในการตรวจจำเป็นต้องมีวัสดุพิมพ์ปากและเอการ์สำหรับเทแบบและใช้เวลา 48 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อยจึงจะอ่านผลได้

การตรวจหาเชื้อแคนดิดาด้วยวิธีเอพิธีเลียล-สเมียร์นั้น ทำได้ง่าย ใช้เวลาน้อย ทราบผลเร็ว และค่อนข้างสะดวกทั้งผู้ป่วยและทันตแพทย์ ให้ผลดีเชื่อถือได้ในกรณีที่ต้องการทราบผลเร็วเช่นเพื่อช่วยในการให้การวินิจฉัยโรคเป็นต้น แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถนำเชื้อที่ตรวจพบไปทำการทดสอบต่อว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดใด

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากของคนที่มีสุขภาพดี และในช่องปากของคนไข้ฟันปลอมที่ไม่มีการอักเสบของเยื่อบุเพดานและที่มีการอักเสบของเยื่อบุเพดาน ของ Devenport⁽³⁾ พบว่าวิธีเอพิธีเลียล-สเมียร์ให้ผลเท่าเทียมกับวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ และดีกว่าวิธีตรวจจากน้ำลายวิธีที่ 1 ก. ซึ่งตรงกับที่ Arendorf และ Walker⁽²⁰⁾ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อแคนดิดาในช่องปากวิธีต่าง ๆ ซึ่งสรุปได้ว่าวิธีเพาะเลี้ยงแบบอิมพริ้นท์ และวิธีเอพิธีเลียล-สเมียร์ ให้ผลดีที่สุดเชื่อถือได้ และมีความไวของการตรวจพบสูง ส่วนวิธีตรวจจากน้ำลายให้ผลรองลงมา และวิธีพิมพ์ปากนั้นให้ผลต่ำที่สุด

สรุป เปรียบเทียบข้อดี ข้อเสียของการตรวจหาเชื้อแคนดิดาด้วยวิธีต่าง ๆ

	วิธีเพาะเลี้ยง แบบอิมพรีน	วิธีเอพริ์เลียล สเมียร์	วิธีตรวจ จากน้ำลาย
1. สามารถตรวจหาเชื้อแคนดิดา ในช่องปากตามตำแหน่งต่าง ๆ ได้	✓	✓	× (1ก., 1ข.)
2. สามารถแสดงการกระจายของเชื้อ แคนดิดาตามตำแหน่งต่าง ๆ ในช่องปากได้	✓	×	× (1ก., 1ข.)
3. สามารถนำเชื้อที่ตรวจพบไปทดสอบว่าเป็น เชื้อแคนดิดาชนิดใด	✓	×	✓ (1ก) × (1ข)

จะนับบทความนี้จึงประสงค์ให้ผู้อ่านได้ทราบถึงขบวนการ การตรวจหาเชื้อแคนดิดาที่ให้ผลดี ถูกต้อง และเชื่อถือได้เพื่อประโยชน์ในการให้การป้องกันและการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อราชนิดนี้ ตลอดจนการศึกษา ค้นคว้าวิจัยต่อไป

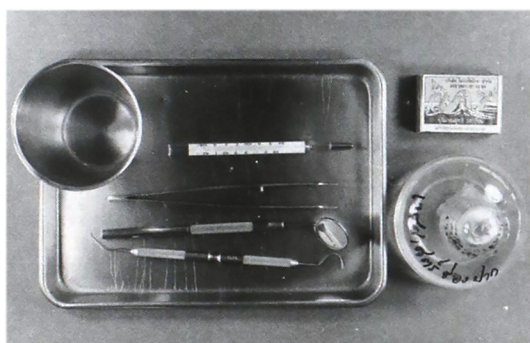
เอกสารอ้างอิง

1. Cawson, R.A. : Denture sore mouth and angular cheilitis. Oral candidiasis in adults. Brit. dent.J. 115:441-9, 1963.
2. Budtz-Jørgensen E.: The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. Scand. J. dent. Res. 82:151-190, 1974.
3. Davenport J.C. : The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. Brit. dent. J. 129:151-156, 1970.
4. Winner, H.I. and Hurley R. : *Candida albicans*. London: Churchill, 1964.
5. Drake, T.E. and Maibach, H.I.; *Candida* and Candidiasis, 1 : Cultural conditions epidemiology and Pathogenesis, Postgrad. Med. 53:85-7, 1973.
6. Drake, T.E. and Maibach, H.I. : *Candida* and Candidiasis 2. : Clinical manifestations and therapy of candidal disease. Postgrad. Med. 53:120-6, 1973.
7. Gentles, J.C. and La Touche, C.J. : Yeast as human and animal pathogens. In A.H. Rose and J.S. Harrison (eds.), The Yeast Vol. I: 108-82, Academic Press, London, 1969.
8. Hirsch, H.A. and Dedes, M.: Local and systemic treatment of vaginal candidiasis. Postgrad. Med.J. 50, suppl. July: 83-4, 1974.
9. Berdicevsky, I., Ben-Arych, H., Glick, D. and Gutman, D.: A strip test for detecting candida in the oral cavity. Oral Surg. 44:206-209, 1977.
10. Marples, M.J. and di Menne, M.E. : The incidence of *candida albicans* in Dunedin, New Zealand, NZ.J. Pathol. Bacteriol. 64:497-502, 1952.
11. Arendorf, T.M. and Walker, D.M. : The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. Archs. oral Biol. 25:1-10, 1980.

12. Bartels, H.A. and Blechman H. : Survey of the yeast population in saliva and an evaluation of some procedures for identification of *Candida albicans*. J. dent. Res. 41:1386-1390, 1962.
13. Weinstein, I.W., Duke, I.B., Peters, R.S. and Bahn, A.N. : *Candida albicans* in the saliva of diabetics, J. Dent. Res. 38:656, 1959.
14. Barlow, A.J.E. and Chattaway, F.W. : Observations on the carriage of *Candida albicans* in man. Br. J. Dermatol. 81: 103-6, 1969.
15. MacFarlane, T.W. and Mason, D.K. : Changes in the oral flora in Sjögren's syndrome. J. Clin. Pathol. 27:416-419, 1974.
16. Tapper-Jones, L.M., Aldred, M. and Walker, D.M. : Prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans* in Sjogren's syndrome J.Clin. Pathol. 33:282-287, 1980.
17. Johnston, R.D., Click, E.W., Johnston, N.S. and Jarvis, M.A. : Asymptomatic quantitative increase of *Candida albicans* in the oral cavity: predisposing conditions. South Med. J. 60:1244-7, 1967.
18. McKendrick, A.J., Wilson, M.I. and Main, D.M.G. : Oral candida and long-term tetracycline therapy. Arch. oral Biol. 12:281-90, 1967.
19. Lehner, T. and Ward, R.G. : Iatrogenic oral candidosis. Br. J. Dermatol. 83: 161-6, 1970.
20. Zegarelli, E.V. and Kutscher, A.H. : Oral moniliasis following intraoral topical corticosteroid therapy. J oral Ther. 1 : 304-7, 1964.
21. Budtz-Jørgensen, E. : Immune response to *Candida albicans* in monkeys with experimental candidiasis in the palate. Scand. J.Dent. Res. 81:360-71, 1973.
22. Bodey, G.P. : Fungal infections complicating acute leukemia. J. Chronic Dis. 19:667-87, 1966.
23. Boggs, D.R., Williams, A.F. and Howell, A. : Thrush in malignant neoplastic disease. Arch. Intern. Med. 107:354-60, 1961.
24. Jensen, K.B., Stenderup, A., Thomsen, J.B. and Bichel, J. : Oesophageal moniliasis in malignant neoplastic disease. Acta Med. Scand. 175:455-9, 1964.
25. Rose, M.S. : Hodgkin's granuloma complicated by generalized cytomegalic inclusion disease and gastrointestinal moniliasis. J. Clin. Pathol. 19:266-7, 1966.
26. Schumacher, H. R., Ginns, D.A. and Warren, W.J. : Fungus infection complicating leukemia. Am. J. Med. Sci. 247:313-23, 1964.
27. Chen, T.V. and Webster, J.H. : Oral Monilia Study in Patients with Head and Neck cancer During Radiotherapy. Cancer, 34:246, 1974.
28. Rosenthal, L.E. and Wilkie, B. : The effects of radiotherapy on Oral tissues. J. Prosthet. Dent. 15:153-6, 1965.
29. Bernhardt, H.E., Orlando, J.C., Benfield, J.R., Hirose, F.M. and Foos, R.Y. : Disseminated candidiasis in surgical patients. Surg. Gynecol. Obstet. 134:819-25, 1972.
30. Gaines, J.D. and Remington, J.S. : Disseminated candidiasis in the surgical patient. Surg. 72:730-6, 1972.
31. Parker, J.C., Jr. McCloskey, J.J. and Knauer, K.A. : Pathobiologic features of human candidiasis. A common deep mycosis of the brain, heart and kidney in the altered host. Am. J. Clin. Pathol. 65:991-1000, 1976.
32. Richards, K.E. Pierson, C.L., Bucciarelli, L. and Feller, L. : Monilial sepsis in the surgical patient. Surg. Clin. North Am. 52:1399-406, 1972.
33. Rifkind, D., Marchioro, T.L., Schneck, S.A. and Hill, R.B., Jr. : Systemic fungal infections complicating renal transplantation and immunosuppressive therapy. Clinical, microbiologic, neurologic and pathologic features. Am. J. Med. 43:28-38, 1967.

34. Lilienthal, B. : Studies of flora of the mouth-III. Yeastlike organism: some observations on their incidence in the mouth.. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 28:279-286, 1950.
35. Lehner, T.C. : Immunofluorescence study of *Candida albicans* in Candidosis, carriers and controls. J. Path. Bact. 91:97-104, 1966.
36. Lehner T. : Oral Candidosis. Dent. Pract. 17:209-216, 1967.
37. Sharon, A., Berdicevsky, I., Ben-Aryeh, H. and Gutman, D.: The effect of chlorhexidine mouth rinses on oral *Candida* in a group of leukemic patients. Oral Surg. 44:201-205, 1977.
38. Jenkins, W.M.M., Macfarlane, T.W., Ferguson, M.M., and Mason, D.K.: Nutritional deficiency in oral candidosis. Int. J. oral. Surg. 6:204-210, 1977.
39. Bahn, A.N., Quillman, P.D., and Kendrick, F.J. : Intra-oral localization of microorganisms. J. dent Res. 41: 715, 1962.
40. Budtz-Jørgensen, E. and Bertram, U.A. : Denture Stomatitis 1. The etiology in relation to trauma and infection. Acta odont. scand. 28:71-92, 1970.
41. Arendorf T.M. and Walker, D.M.: Oral Candidal Populations in Health and Disease. Brit. dent.J. 147:267-272, 1979.

(ได้รับเรื่องเมื่อวันที่ 2 ตุลาคม พ.ศ. 2528)



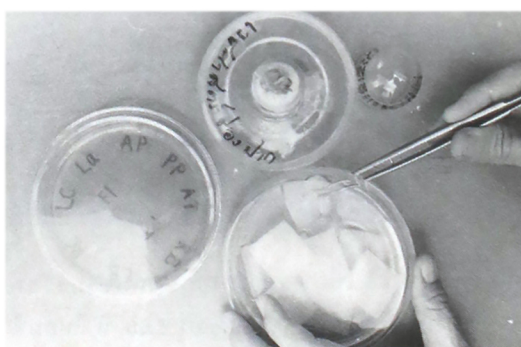
รูปที่ 1 ชุดเครื่องมือตรวจ และตะเกียงแอลกอฮอล์



รูปที่ 2 แผ่นโพลีพลาสติก, ซาบอโรท เด็กซ์โทรส
เอการ์ พร้อมทั้งระบุตำแหน่งที่ตรวจหาเชื้อ,
ซาบอโรท เด็กซ์โทรส บอรัท



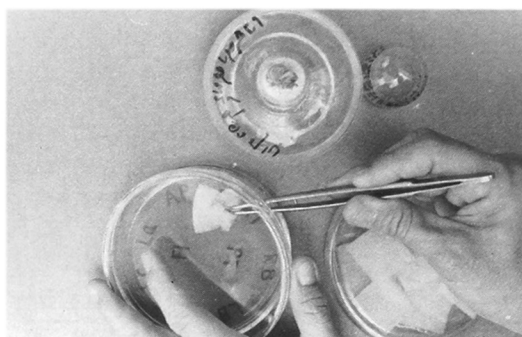
รูปที่ 3 เทซาบอโรท เด็กซ์โทรส บอรัท ลงในเพตริ
ดิช ที่บรรจุแผ่นโพลีพลาสติก เพื่อให้แผ่น
โพลีพลาสติกเปียกชุ่ม



รูปที่ 4 นำแผ่นโพลีพลาสติกที่เปียกชุ่มด้วยซาบอโรท
เด็กซ์โทรส บอรัท ไปวางลงที่เชือกช่องปาก
ตรงตำแหน่งที่ต้องการตรวจหาเชื้อแคนดิดา



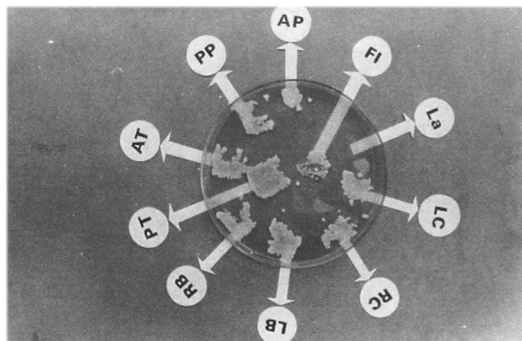
รูปที่ 5 วางแผ่นโฟมพลาสติกลงบนเยื่อช่องปาก (ในภาพ-พื้นของช่องปาก) ที่ต้องการตรวจหาเชื้อแคนดิดาเป็นเวลา 60 วินาที



รูปที่ 6 หลังจากวางแผ่นโฟมพลาสติกและไว้ที่เยื่อช่องปากเป็นเวลา 60 วินาทีแล้วนำแผ่นโฟมพลาสติกนั้นมาวางลงบนชาบอโรท เด็กซ์โทรส เอการ์ ตรงตำแหน่งที่ระบุไว้



รูปที่ 7 วางแผ่นโฟมพลาสติกให้แนบกับชาบอโรท เด็กซ์โทรส เอการ์โดยสม่ำเสมอ นำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซนติเกรด เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เอาแผ่นโฟมพลาสติกออก แล้วอบต่อไปจนครบ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 8 แสดงถึงการตรวจพบเชื้อแคนดิดาที่ตำแหน่งต่าง ๆ ของเยื่อช่องปาก ซึ่งจะทราบถึงความหนาแน่นของเชื้อแคนดิดาในแต่ละตำแหน่งด้วย ที่เยื่อช่องปากบริเวณด้านในของริมฝีปากล่าง (La-labial mucosa) ไม่พบว่าการเจริญของเชื้อแคนดิดา นอกจากนี้เชื้อแคนดิดาที่ตรวจพบสามารถนำไปทำการทดสอบว่าเป็นเชื้อแคนดิดาชนิดใดต่อไป



Imprint Culture for Detection of Candida in the Oral Cavity

Abstract

Many techniques were used in detecting of candida in the oral cavity. The imprint culture is the new and simple method of testing for Candida in the oral cavity. It gave the reliable results, not only the detection of the Candida but also the density of the organism. This technique enabled the local prevalence and concentration at various sites of the oral mucosa to be assessed. The imprint culture technique was recommended for testing clinically suspected Candidiasis, candidal carrier in a high-risk group of patients and was very useful for screening.

Krisana Itharatana

Department of oral Medicine
Faculty of Dentistry
Chulalongkorn University