Original Article

การปนเปื้อนเชื้อราก่อโรคฉวยโอกาสในยาดมสมุนไพร

พัชรี กัมมารเจษฎากุล[1]* ธีราพร ชนะกิจ[3]
วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์[1] อิสยา จันทร์วิทยานุชิต[1]
จิดาภา เซคเคย์[2] อริยา จินดามพร[4]

Contamination of Opportunistic Fungi in Herbal Inhalers.

Patcharee Kammarnjassadakul[1], Watcharin Rangsipanuratn[1], Jidapa Szekely[2], Teeraporn Chanakit[3], Isaya Janwithayanuchit[1], Ariya Chindamporn[4]

[1]Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Bangplee, Samutprakarn, 10540, Thailand.

[2]Faculty of Medical Technology, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110, Thailand.

[3]Division of Pharmacy Practices, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Warinchumrab, Ubon Ratchathani, 34190, Thailand.

[4]Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Pathum Wan, Bangkok, 10330, Thailand.

*E-mail: kpatcharee@gmail.com

Songkla Med J 2015;33(2):63-71

บทคัดย่อ:

วัตถุประสงค์: เพื่อตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อราก่อโรคฉวยโอกาสในยาดมสมุนไพร

วัสดุและวิธีการ: เป็นการศึกษาภาคตัดขวาง โดยทำการตรวจหาเชื้อราปนเปื้อนในอากาศจากยาดมสมุนไพรที่มีจำหน่ายในจังหวัดสมุทรปราการ และยังไม่ได้เปิดใช้งาน จำนวน 45 ตัวอย่าง โดยการเพาะเชื้อราและจำแนกชนิดเชื้อรา

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ประจำปีการศึกษา 2555
งานวิจัยนี้นำเสนอเป็นรูปแบบโปสเตอร์ในงานประชุมหัวเฉียววิชาการ ครั้งที่ 1 วันที่ 25 มีนาคม 2557

[1]คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540
[2]คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
[3]กลุ่มวิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190
[4]คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

รับต้นฉบับวันที่ 28 ตุลาคม 2557 รับลงตีพิมพ์วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2558

ด้วยคุณสมบัติทางฟีโนทัยป์และทางชีววิทยาระดับโมเลกุล ได้แก่ การทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) และ Deoxyribonucleic acid (DNA) sequencing

ผลการศึกษา: ยาดมสมุนไพรจำนวน 45 ตัวอย่าง มี 33 ตัวอย่างที่พบเชื้อราปนเปื้อน คิดเป็นร้อยละ 73.3 จำแนกเป็นเชื้อราฉวยโอกาส ได้แก่ เชื้อ *Aspergillus sydowii, Aspergillus aculeatus, Aspergillus calidoustus, Cladosporium cladosporioides, Cladosporium* spp., *Penicillium citrinum, Bipolaris papendorfii, Clavispora lusitaniae* และ *Candida orthopsilosis* และเชื้อที่ยังไม่มีรายงานการก่อโรคในคน ได้แก่ เชื้อ *Emericella variecolor, Neurospora intermedia, Trametes polyzona และ Glomerella graminicola* ลักษณะของผลิตภัณฑ์ยาดมที่ตรวจพบเชื้อรามากที่สุดคือ ยาดมสมุนไพรตากแห้ง (ร้อยละ 100) ยาดมสมุนไพรตากแห้งผสมน้ำมันหอมระเหย (ร้อยละ 83.3) และยาดมส้มมือ (ร้อยละ 40)

สรุป: ยาดมสมุนไพรส่วนใหญ่พบเชื้อราปนเปื้อน โดยกลุ่มเชื้อราที่พบมากที่สุดและมีโอกาสก่อโรคติดเชื้อฉวยโอกาสคือ *Aspergillus* spp. ดังนั้นหน่วยงานภาครัฐจึงควรเข้ามามีบทบาทในการควบคุมคุณภาพในการผลิตเพื่อลดความเสี่ยงของผู้บริโภคจากการเกิดโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสที่ปนเปื้อนอยู่ในยาดมสมุนไพร

คำสำคัญ: เชื้อราฉวยโอกาส, เชื้อราปนเปื้อน, ยาดมสมุนไพร

Abstract:

Objective: To determine airborne-fungi contamination in herbal inhalers, potentially causing opportunistic fungal infection.

Material and Method: A cross-sectional study determined airborne-fungi contaminated in 45 samples of sealed, newly-opened herbal inhalers distributed in Samutprakarn province, Thailand. Phenotypic and genotypic characteristics of fungi isolated from the inhalers were determined by PCR and DNA sequencing.

Results: Of 45 samples, 33 were positive for contaminant fungi (73.3%). The fungi can be divided into 2 groups;opportunistic fungi and contaminant fungi. The opportunistic fungi were *Aspergillus sydowii, Aspergillus aculeatus, Aspergillus calidoustus, Cladosporium cladosporioides,Cladosporium* spp., *Penicillium citrinum, Bipolaris papendorfii*, *Clavispora lusitaniae and Candida orthopsilosis*, whereas contaminant fungi were *Emericella variecolor*, *Neurospora intermedia*, *Trametes polyzona* and *Glomerella graminicola*. Prevalence of the opportunistic fungi isolated from different product ingredients was 100%, 83.3% and 40%, from products with air-dried herbs, air-dried herbs mixed with fragrant oil and finger citron, respectively.

Conclusion: Contaminant fungi have been isolated from several herbal inhaler samples. Importantly, the most common opportunistic fungi, *Aspergillus* spp. were found in the studied samples. In order to decrease the risk of unexpected fungal infection through inhaling fungal spores from herbal inhalers, the Food and Drug Administration should investigate and qualify a production control of manufacturers.

Keywords: contaminant fungi, herbal inhaler, opportunistic fungi

บทนำ

ยาดมสมุนไพรจัดเป็นยาสามัญประจำบ้านที่ประชาชนนิยมใช้สำหรับสูดดมในประเทศไทย โดยมีสรรพคุณช่วยบรรเทาอาการวิงเวียน หน้ามืด ตาลาย เป็นหวัด คัดจมูก มีส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วน ได้แก่ สารเคมีและสมุนไพรจากธรรมชาติ โดยสารเคมีประกอบด้วย การบูร เมนทอล และพิมเสน ส่วนสมุนไพรจากธรรมชาติประกอบด้วย กานพลู กระวาน ดอกจันทน์เทศ พริกไทยดำ โป๊ยกั๊ก อบเชย และน้ำมันหอมระเหย[1] ลักษณะยาดมสมุนไพรและบรรจุภัณฑ์มีหลายรูปแบบ ได้แก่ สมุนไพรตากแห้งบรรจุในขวดพลาสติกหรือขวดแก้ว สมุนไพรตากแห้งผสมน้ำมันหอมระเหยบรรจุในขวดพลาสติกหรือขวดแก้ว และสมุนไพรผสมน้ำมันหอมระเหยบดละเอียดห่อด้วยผ้าขาวบางบรรจุขวดอลูมิเนียม หรือเรียกว่ายาดมส้มมือ

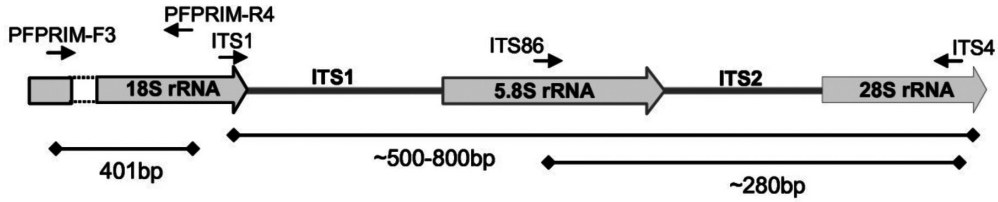
เนื่องจากการผลิตยาดมสมุนไพรส่วนใหญ่ยังเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน ทำให้กรรมวิธีการผลิตและการเก็บรักษาสมุนไพรโดยการตากแดดให้แห้งยังไม่ได้มาตรฐานเท่าที่ควร จึงมีโอกาสที่สมุนไพรเหล่านี้จะมีความชื้นเกินมาตรฐานจนเหมาะกับการเจริญของเชื้อราบางชนิดที่ปนเปื้อนมาจากธรรมชาติ ได้แก่ *Aspergillus, Penicillium, Bipolaris, Curvularia, Alternaria* และ *Mucor* spp.[2] เชื้อราเหล่านี้สามารถก่อโรคฉวยโอกาสได้ในผู้มีภูมิคุ้มกันลดลงโดยการสูดดมเอาสปอร์เข้าไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคของระบบทางเดินหายใจ เช่น โพรงจมูกอักเสบ ไซนัสอักเสบ ในกลุ่มเชื้อราก่อโรคฉวยโอกาสทั้งหมด พบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp. ก่อให้เกิดโรครุนแรงและพบบ่อยที่สุด โดยเป็นสาเหตุของโรค Aspergillosis ในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันลดลง เช่น ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยมะเร็ง ได้รับเคมีบำบัด ได้รับยากดภูมิต้านทาน เมื่อได้รับเชื้อจากการสูดดมจะเกิดการติดเชื้อหลายรูปแบบ ได้แก่ ภูมิแพ้สปอร์ของรา (allergic aspergillosis) โรคติดเชื้อที่ปอด แอสเปอร์จิลโลมา (aspergilloma) และเชื้อบุกรุกเนื้อเยื่อของร่างกาย (invasive aspergillosis) และเชื้ออาจจะลุกลามไปยังกระดูก สมอง เยื่อหุ้มสมอง จนถึงเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิต[2-4] เนื่องจากการศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนเชื้อราก่อโรคฉวยโอกาสในยาดมสมุนไพรยังมีน้อยมาก การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อราก่อโรคฉวยโอกาสในยาดมสมุนไพรก่อนเปิดใช้งานที่วางจำหน่ายในจังหวัดสมุทรปราการ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้ผู้ผลิตและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้ตระหนักถึงคุณภาพของยาดมสมุนไพร และให้ผู้บริโภคตระหนักถึงอันตรายที่อาจเกิดจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในยาดมสมุนไพร

วัสดุและวิธีการ

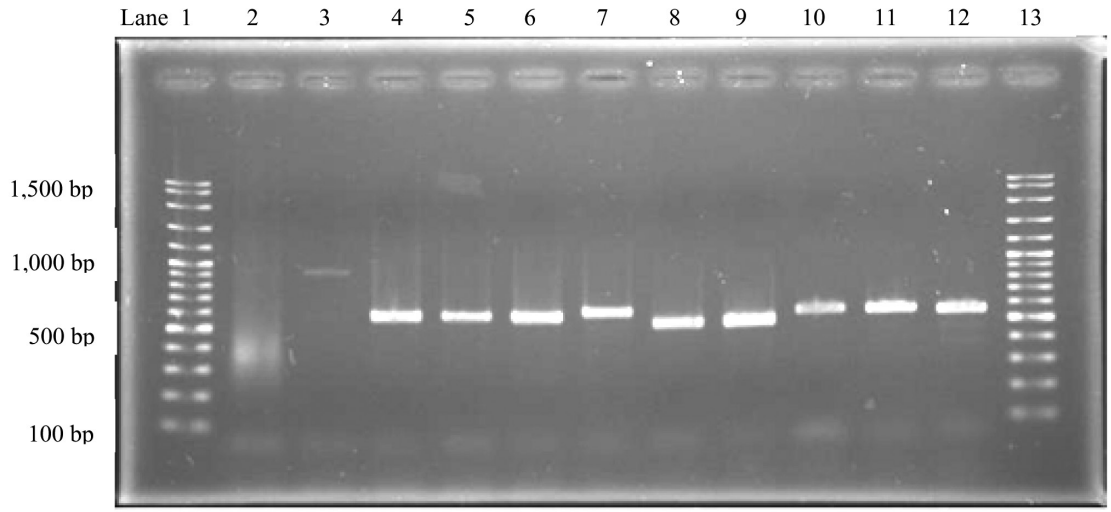
การวิจัยนี้เป็นการศึกษาภาคตัดขวาง ณ ช่วงเวลาหนึ่ง (cross-sectional study) โดยเก็บตัวอย่างยาดมสมุนไพรจากตลาดและห้างสรรพสินค้าในจังหวัดสมุทรปราการ ในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2556 จำนวน 15 ยี่ห้อๆ ละ 3 ตัวอย่าง รวม 45 ตัวอย่าง จำแนกตามบรรจุภัณฑ์และลักษณะของสมุนไพรเป็น 3 ลักษณะ คือ สมุนไพรตากแห้งบรรจุขวด 4 ยี่ห้อ รวม 12 ตัวอย่าง สมุนไพรตากแห้งผสมน้ำมันหอมระเหยบรรจุขวด 6 ยี่ห้อ รวม 18 ตัวอย่าง และยาดมส้มมือ 5 ยี่ห้อ รวม 15 ตัวอย่าง มาตรวจหาเชื้อราทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โดยการเพาะเชื้อรา และจำแนกชนิดของเชื้อราโดยใช้คุณสมบัติทางฟีโนทัยป์และวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุล วิธีการโดยสังเขป ดังนี้ นำตัวอย่างสมุนไพร 1 กรัม มาซับน้ำมันหอมระเหยด้วยกระดาษซับปราศจากเชื้อ ยกเว้นยาดมส้มมือ บดให้ละเอียด ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นนำส่วนใสและส่วนตะกอนปริมาณ 150 ไมโครลิตร มาเพาะโดยวิธี spread plate บน Sabouraud dextrose agar ที่ใส่ยา chloramphenicol จำนวน 2 ซ้ำ บ่มจานอาหารที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน จำแนกเชื้อราที่เจริญขึ้นมาเบื้องต้นด้วยคุณสมบัติทางฟีโนทัยป์ คือ ดูลักษณะโคโลนีและลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์ และยืนยันด้วยวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุล คือ การสกัดดีเอ็นเอ (whole genome) และเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) 1 และ 2 ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ universal primers ของเชื้อรา ได้แก่ ITS1 primer (5'-TCCGTAGGTG AACCTGCGG-3') และ ITS4 primer (5'-TCCT

CCGCTTATTGATATGC-3') (รูปที่ 1) ตามวิธีของ White และคณะ[6] จะได้ PCR product ขนาด 500-700 base pairs (รูปที่ 2) นำ PCR product ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุด GeneJET PCR purification kit (Thermo scientific Inc, USA) และส่งไปตรวจหาลำดับดีเอ็นเอ (DNA sequencing) ด้วยเครื่อง ABI PRISM Sequencher จากนั้นนำลำดับดีเอ็นเอที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับดีเอ็นเอของเชื้อราที่อยู่ใน GenBank โดยใช้โปรแกรม Blastn (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Nucleotides) การวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ เป็นต้น

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ



รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งที่จับของ ITS 1 และ ITS 4 primer ของการทำ PCR บริเวณ ITS1-2 region[5]



รูปที่ 2 Agarose gel electrophoresis แสดงผล PCR product ของเชื้อราบริเวณ ITS 1-ITS 2 regions โดยใช้ Universal primer ของเชื้อรา คือ ITS 1 และ ITS 4 บน 1.5% Agarose gel
Lane 1, 13: 1 Kb ladder DNA marker
Lane 2: Negative control (น้ำกลั่น)
Lane 3: PCR product ของเชื้อราควบคุมผลบวก (positive control) ขนาดประมาณ 950 bp
Lane 4-12: PCR product ของเชื้อราปนเปื้อนที่แยกได้จากยาดมสมุนไพร ขนาด 500-700 bp

ผลการศึกษา

ผลการตรวจเชื้อราปนเปื้อนในยาดมสมุนไพร จำนวน 45 ตัวอย่าง พบเชื้อราปนเปื้อน 33 ตัวอย่าง คิดเป็นความชุกของเชื้อราปนเปื้อนร้อยละ 73.3 ยาดมสมุนไพรที่ตรวจพบเชื้อราปนเปื้อนมากที่สุดคือ ยาดมสมุนไพรตากแห้งร้อยละ 100 (12/12) รองลงมา ได้แก่ ยาดมสมุนไพรตากแห้งผสมน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 83.3 (15/18) และยาดมส้มมือร้อยละ 40.0 (6/15) จากตัวอย่างปนเปื้อน 33 ตัวอย่าง พบเชื้อราทั้งราสายและยีสต์ 18 ชนิด รวม 35 สายพันธุ์ เนื่องจากมี 21 ตัวอย่างที่ปนเปื้อนเชื้อราตั้งแต่ 2-6 สายพันธุ์ โดยพบในยาดมสมุนไพรตากแห้งมากที่สุด ราสายที่พบมากที่สุดคือกลุ่ม *Aspergillus* ได้แก่ *Aspergillus* spp., *A. sydowii, A. aculeatus, A. calidoustus, Emericella* (ชื่อเรียกในระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ หรือ teleomorphic state ของ *Aspergillus*) *variecolor* ร้อยละ 37.1 (13/35) รองลงมา ได้แก่ *Cladosporium* spp. ร้อยละ 14.3 (5/35) *Trametes polyzona* ร้อยละ 11.4 (4/35) *Penicillium* spp. และ *Neurospora* spp. ชนิดละ 3 และ 2 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 8.6 (3/35) และ 5.7 (2/35) ตามลำดับ *Bipolaris papendorfii, Clavispora lusitaniae, Chaetomium* spp., *Glomerella graminicola, Hypocreales* spp., *Nigrospora oryzae* ชนิดละ 1 สายพันธุ์ (ร้อยละ 2.9) และพบยีสต์ *Candida orthopsilosis* ร้อยละ 5.7 (2/35) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ชนิดเชื้อราปนเปื้อนที่พบในยาดมสมุนไพร จำแนกโดยวิธีทางจีโนทัยป์

เชื้อรา	ลักษณะยาดม			จำนวน (ร้อยละ)
	ยาดมสมุนไพรตากแห้ง	ยาดมสมุนไพรตากแห้งผสมน้ำมันหอมระเหย	ยาดมส้มมือ	
1. *Aspergillus* spp.	4	3	1	8 (22.9)
2. *Aspergillus aculeatus*	-	1	1	2 (5.7)
3. *Aspergillus calidoustus*	-	1	-	1 (2.9)
4. *Aspergillus sydowii*	1	-	-	1 (2.9)
5. *Biopolaris papendorfii*	-	-	1	1 (2.9)
6. *Candida orthopsilosis*	-	1	1	2 (5.7)
7. *Chaetomium* sp.	-	1	-	1 (2.9)
8. *Cladosporium* spp.	3	-	-	3 (8.6)
9. *Cladosporium cladosporioides*	2	-	-	2 (5.7)
10. *Clavispora lusitaniae*	1	-	-	1 (2.9)
11. *Emericella variecolor*	-	1	-	1 (2.9)
12. *Glomerella graminicola*	-	1	-	1 (2.9)
13. *Hypocreales* spp.	1	-	-	1 (2.9)
14. *Neurospora* spp.	1	-	-	1 (2.9)
15. *Neurospora intermedia*	1	-	-	1 (2.9)
16. *Nigrospora oryzae*	-	-	1	1 (2.9)
17. *Penicillium* spp.	-	2	-	2 (5.7)
18. *Penicillium citrinum*	1	-	-	1 (2.9)
19. *Trametes polyzona*	1	2	1	4 (11.4)
รวม	**16**	**13**	**6**	**35 (100)**

วิจารณ์

ยาดมสมุนไพร เป็นยาสามัญประจำบ้านที่ผลิตจากสมุนไพรธรรมชาติหลายชนิดรวมกัน โดยแต่ละชนิดมีหน้าที่ออกฤทธิ์หรือปรุงแต่งกลิ่น เพื่อให้มีสรรพคุณในการแก้วิงเวียนศีรษะ หน้ามืด ตาลาย ความนิยมในการใช้ยาดมสมุนไพรมีมากขึ้นตามความนิยมในการหันมาใช้สิ่งที่มาจากธรรมชาติ ประกอบกับภาครัฐได้กำหนดไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 4 (พ.ศ. 2520-2524) ต่อเนื่องถึงฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2535-2539)[7] ในการพัฒนาสมุนไพรมาใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน ทำให้มีการส่งเสริมการผลิตยาดมสมุนไพรในชุมชนมากขึ้น แต่ด้วยข้อจำกัดทางด้านความรู้ความเข้าใจในด้านต่างๆ ของชุมชน จึงอาจทำให้เกิดปัญหาหลายด้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสุขาภิบาลของสถานที่ผลิตและสุขอนามัยของผู้ผลิต การเก็บรักษาวัตถุดิบ กรรมวิธีการผลิต การบรรจุหีบห่อ การขนส่ง การมีฉลากแจ้งสรรพคุณและวันหมดอายุ ของผลิตภัณฑ์

ผลการเพาะเชื้อราพบว่า ยาดมสมุนไพรตากแห้งพบเชื้อราปนเปื้อนทุกตัวอย่าง ในขณะที่ยาดมสมุนไพรตากแห้งผสมน้ำมันหอมระเหยและยาดมส้มมือพบเชื้อราน้อยกว่า น่าจะเกิดจากสองกลุ่มหลังมีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนผสมเหมือนกัน และไม่สามารถซับน้ำมันหอมระเหยจากยาดมส้มมือได้ เนื่องจากสมุนไพรมีลักษณะบดละเอียดและติดกับผ้าขาวบาง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้[8,9]

การจำแนกชนิดเชื้อราปนเปื้อนจากยาดมสมุนไพรด้วยคุณสมบัติทางฟีโนทัยป์ คือ การดูลักษณะโคโลนีและลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการวินิจฉัยเชื้อราในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากไม่ต้องการอุปกรณ์ หรือเครื่องมือพิเศษที่มีราคาแพง แต่มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงจนกว่าเชื้อราจะสร้างหน่วยสืบพันธุ์หรือลักษณะเด่นที่จะใช้ในการจำแนกเชื้อในระดับจีนัส และเป็นการยากมากที่จะจำแนกเชื้อในระดับสปีชีส์ ที่สำคัญคือต้องอาศัยผู้มีประสบการณ์สูงในการจำแนกเชื้อ ส่วนวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุลสามารถจำแนกเชื้อราได้อย่างถูกต้อง แม่นยำและได้ถึงระดับสปีชีส์ สามารถทำได้รวดเร็วและมีความน่าเชื่อถือกว่าการใช้คุณสมบัติทางฟีโนทัยป์ แต่มีข้อจำกัดทางด้านเครื่องมือและค่าใช้จ่ายที่สูง และต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญทางด้านอณูชีววิทยา ดังนั้นการเลือกใช้วิธีในการจำแนกเชื้อราจึงขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการทำงานเป็นหลัก

เชื้อราปนเปื้อนในอากาศบางสายพันธุ์จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อราก่อโรคฉวยโอกาส (opportunistic fungi) เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดโรคติดเชื้อราได้ โดยการหายใจเอาโคนิเดียหรือสปอร์ของเชื้อราเข้าไปในปอด ในคนภูมิคุ้มกันปกติจะสามารถกำจัดเชื้อออกไปได้ แต่ในกลุ่มคนที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือสุขภาพอ่อนแอจะเกิดการติดเชื้อที่บริเวณระบบทางเดินหายใจ และอาจลุกลามไปยังอวัยวะอื่นจนส่งผลให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ นอกจากนี้ยังมีเชื้อราบางชนิดที่สามารถก่อให้เกิดโรคภูมิแพ้ได้ในคนปกติที่หายใจเอาโคนิเดียหรือสปอร์ของเชื้อราเข้าไปเป็นระยะเวลานาน ในงานวิจัยครั้งนี้พบเชื้อราปนเปื้อนในยาดมสมุนไพรก่อนเปิดใช้งานจำนวน 35 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดได้แก่ *Aspergillus* spp., *A. sydowii*, *A. aculeatus* และ *A. calidoustus* แต่ไม่พบ *A. fumigatus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีรายงานการก่อโรคที่รุนแรงและพบในผู้ป่วยมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Fernandez และคณะ[10] ที่ทำการตรวจหาเชื้อ *Aspergillus* จากอากาศในโรงพยาบาลเด็ก พบเชื้อ *Aspergillus* spp. อื่นมากกว่าเชื้อ *A. fumigatus* เชื้อ *Aspergillus* spp. เหล่านี้เดิมถือเป็น cryptic species ที่ไม่ค่อยพบว่าเป็นสาเหตุของการเกิดโรค แต่ในปัจจุบันด้วยปัจจัยหลายด้าน เช่น การใช้ยากดภูมิคุ้มกัน การเป็นโรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน และความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี ทำให้พบผู้ป่วยติดเชื้อกลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้น โดยเชื้อราที่มีรายงานการก่อโรคติดเชื้อแบบฉวยโอกาสกลุ่ม *Aspergillus* ได้แก่ *A. sydowii* ก่อโรค allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) และพบก่อโรคในผู้ป่วยมากกว่าเชื้อ *A. fumigatus*[11] *A. aculeatus* เป็นเชื้อในกลุ่ม Black aspergillus ก่อให้เกิดการอักเสบบริเวณถุงน้ำตา (Dacryocystitis)[12] *A. calidoustus*

มีรายงานพบอุบัติการก่อโรค pulmonary aspergillosis เพิ่มมากขึ้นในผู้ป่วยที่ผ่าตัดเปลี่ยนถ่ายปอดและได้รับยา amphotericin B เป็นเวลานาน[13] นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *A. calidoustus* ได้จากระบบน้ำประปาในประเทศนอร์เวย์ ทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล[14] ส่วนเชื้อรากลุ่มอื่นที่มีรายงานการก่อโรค ได้แก่ *Cladosporium cladosporioides* เป็นเชื้อราในกลุ่มสายรามีสีน้ำตาลหรือดำ (dematiaceous fungi) ก่อให้เกิดโรค Rhinosinusitis[15,16] และโรค Allergic brochopulmonary mycosis (ABPM)[17] *Penicillium citrinum* เป็นราสายไม่มีสี (hyaline fungi) สามารถก่อให้เกิดโรค chronic sinusitis[15] สามารถสร้างสารพิษชื่อ citrinin ซึ่งเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity)[18,19] *Bipolaris papendorfii* เป็นเชื้อราในกลุ่มสายรามีสีน้ำตาลหรือดำ (dematiaceous fungi) ก่อให้เกิดโรคกระจกตาอักเสบ (mycotic keratitis)[20] *Clavispora lusitaniae* (ชื่อเรียกในระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Candida lusitaniae*) เป็นเชื้อยีสต์ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสโลหิต และมีรายงานการดื้อยาในเชื้อกลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้น[21,22] *Candida orthopsilosis* เป็นเชื้อยีสต์ในกลุ่ม *Candida parapsilosis species complex* (ได้แก่ *C. parapsilosis sensu stricto, C. metapsilosis* and *C. orthopsilosis*)[23] สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสโลหิตได้[24-28]

สำหรับเชื้อราปนเปื้อนชนิดอื่นยังไม่มีรายงานการติดเชื้อในคน แต่อาจก่อโรคในพืชได้ เช่น *Emericella variecolor* พบว่าสร้างสารพิษ asteltoxin ที่สามารถยับยั้งกระบวนการ mitochondria respiration ของพืช[29] แต่ยังไม่มีรายงานการก่อโรคในคน เชื้อ *Neurospora intermedia* ไม่ใช่เชื้อก่อโรคทั้งในคน สัตว์ และพืช[30] เชื้อ *Trametes polyzona* เป็นเห็ดที่พบได้ในเขตอบอุ่น ไม่ใช่เชื้อก่อโรคทั้งในคน สัตว์และพืช[31] เชื้อ *Glomerella graminicola* เป็นสาเหตุของโรคในพืช เช่น ข้าวโพด[32,33] *Chetomium* เป็นสาเหตุของโรคในพืช อย่างไรก็ตามแม้ว่าวิธีทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลจะสามารถจำแนกเชื้อได้ถึงระดับสปีชีส์ แต่ด้วยข้อจำกัดทางด้านข้อมูลสารพันธุกรรมทำให้การวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถระบุเชื้อบางชนิดในระดับสปีชีส์ได้

การศึกษาในครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับผู้บริโภคให้ตระหนักถึงพิษภัยที่อาจมาจากยาดมสมุนไพร และพิจารณาเลือกใช้ยาดมสมุนไพรที่ปลอดภัยเพื่อลดความเสี่ยงในการได้รับเชื้อราจากระบบทางเดินหายใจ เริ่มตั้งแต่ลักษณะบรรจุภัณฑ์ที่ควรปิดสนิท เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลชีพ อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยก็มีโทษเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยอาจทำให้เกิดการระคายเคือง หรือการอักเสบของโพรงจมูกและอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคจากการติดเชื้อได้เช่นกัน ในผู้ที่มีอาการโพรงจมูกอักเสบ ติดเชื้อในโพรงจมูก หรือไซนัสอักเสบควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาดมสมุนไพรเพราะอาจจะทำให้เกิดอาการป่วยเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ส่วนประกอบบางอย่าง เช่น เมนทอล และการบูร มีผลต่อระบบประสาท จึงอาจก่อให้เกิดการเสพติดยาดมได้ ข้อมูลที่ได้เป็นสิ่งที่ทำให้ผู้ผลิตควรตระหนักถึงอันตรายที่มาจากกระบวนการผลิตที่ไม่เหมาะสม ทำให้มีการปนเปื้อนเชื้อราในยาดมสมุนไพรก่อนเปิดใช้งาน หน่วยงานภาครัฐจึงควรเข้ามามีบทบาทในการให้ความรู้ ความเข้าใจกับผู้ผลิตและผู้บริโภค เช่น ผู้ผลิตต้องปฏิบัติตามหลักกระบวนการผลิตที่ดี (good manufacturing practice; GMP) มีการติดฉลากอธิบายวิธีการใช้งาน วันหมดอายุ และข้อควรระวังในการใช้งานให้ผู้บริโภคได้รับทราบ เพื่อลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสที่ปนเปื้อนอยู่ในยาดมสมุนไพร ซึ่งอาจทำให้เกิดปัญหาทางด้านสุขภาพต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคระบบทางเดินหายใจในกลุ่มเสี่ยงที่มีโอกาสติดเชื้อราฉวยโอกาสได้ง่าย

สรุป

ยาดมสมุนไพรพบเชื้อราปนเปื้อนในสัดส่วนที่ค่อนข้างสูง คือ ร้อยละ 73.3 โดยกลุ่มเชื้อราที่พบมากที่สุดและมีโอกาสก่อโรคติดเชื้อฉวยโอกาส คือ *Aspergillus* spp. (ร้อยละ 37.1) ดังนั้นหน่วยงานภาครัฐจึงควรเข้ามามีบทบาทในการควบคุมคุณภาพในการผลิต เพื่อลดความเสี่ยงของผู้บริโภคจากการเกิดโรคติดเชื้อราฉวยโอกาสที่ปนเปื้อนอยู่ในยาดมสมุนไพร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปีการศึกษา 2555

เอกสารอ้างอิง

1. Chamchai P. All about herbs: qualities and usefulness. 2nd ed. Bangkok: Kledthai Publisher; 2008; p.303.
2. Imwitthaya P. Fungal infection. Bangkok: The Secretariat of the Cabinet Printing House; 2000.
3. Khan AN, Jones C, Macdonald S. Bronchopulmonary aspergillosis: a review. Curr Probl Diagn Radiol 2003; 4: 156 - 68.
4. Agarwal R, Aggarwal AN, Gupta D, et al. Aspergillus hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma: systematic review and meta-analysis. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13: 936 - 44.
5. Embong Z, Wan Hitam WH, Yean CY, et al. Specific detection of fungal pathogens by 18S rRNA gene PCR in microbial keratitis. BMC Ophthalmol 2008; 29: 1 - 8.
6. White TJ, Bruns, T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M, Gelfand D, Sninsky J, et al, editors. PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press; 1990; p.315 - 22.
7. Nesdb.go.th [homepage on the Internet]. Bangkok: Office of the National Economic and Social Development Board; 1977-1996 [cited 2014 Aug 1]. Available from: http://eng.nesdb.go.th/Default.aspx?tabid=402
8. Pattnaik S, Subramanyam VR, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. Microbios 1996; 86: 237 - 46.
9. Verma RK, Chaurasia L, Kumar M. Antifungal activity of essential oils against selected building fungi. Indian J Nat Prod Resour 2011; 2: 448 - 51.
10. Fernandez M, Cattana M, Rojas F, et al. *Aspergillus* species in hospital environments with pediatric patients in critical condition. Rev Iberoam Micol 2013; 6: 121 - 6.
11. Matsuse H, Tsuchida T, Fukahori S, et al. Dissociation between sensitizing and colonizing fungi in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. Ann Allergy Asthma Immunol 2013; 111: 190 - 3.
12. Perrone G, Epifani F, Rambukwelle K, et al. *Aspergillus aculeatinus* n. sp. in chronic human dacryocystitis; the first report. J Infect Dis Antimicrob Agents 2012; 29: 89 - 97.
13. Egli A, Fuller J, Humar A, et al. Emergence of *Aspergillus calidoustus* infection in the era of posttransplantation azole prophylaxis. Transplantation 2012; 94: 403 - 10.
14. Hageskal G, Kristensen R, Fristad RF, et al. Emerging pathogen *Aspergillus calidoustus* colonizes water distribution systems. Med Mycol 2011; 49: 588 - 93.
15. Twaruzek M, Soszczynska E, Winiarski P, et al. The occurrence of molds in patients with chronic sinusitis. Eur Arch Otorhinol 2014; 271: 1143 - 8.
16. Giri S, Kindo AJ, Rao S, et al. Unusual causes of fungal rhinosinusitis: a study from a tertiary care centre in South India. Indian J Med Microbiol 2013; 31: 379-84.
17. Chowdhary A, Agarwal K, Kathuria S, et al. Allergic bronchopulmonary mycosis due to fungi other than *Aspergillus*: a global overview. Crit Rev Microbiol 2014; 40: 30 - 48.
18. Singh DK, Ganbold EO, Cho EM, et al. Detection of the mycotoxin citrinin using silver substrates and Raman spectroscopy. J Hazard Mater 2014; 265: 89 - 95.
19. Ostry V, Malir F, Ruprich J. Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. Toxins 2013; 5: 1574 - 86.
20. Kumar M, Mishra NK, Shukla PK. Sensitive and rapid polymerase chain reaction based diagnosis of mycotic keratitis through single stranded conformation polymorphism. Am J Ophthalmol 2005; 140: 851 - 7.
21. Taj-Aldeen SJ, AbdulWahab A, Kolecka A, et al. Uncommon opportunistic yeast bloodstream infections from Qatar. Med Mycol 2014; 52: 552 - 6.
22. Desnos-Ollivier M, Moquet O, Chouaki T, et al. Development of echinocandin resistance in *Clavispora lusitaniae* during caspofungin treatment. J Clin Microbiol 2011; 49: 2304 - 6.

23. Pryszcz LP, Nemeth T, Gacser A, et al. Genome comparison of *Candida orthopsilosis* clinical strains reveals the existence of hybrids between two distinct subspecies. Genome Biol Evol 2014; 6: 1069 - 78.
24. Orsi CF, Colombari B, Blasi E. *Candida metapsilosis* as the least virulent member of the '*C. parapsilosis*' complex. Med Mycol 2010; 48: 1024 - 33.
25. Borghi E, Sciota R, Iatta R, et al. Characterization of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from invasive fungal infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 30: 1437 - 41.
26. Abi-Chacra EA, Souza LO, Cruz LP, et al. Phenotypical properties associated with virulence from clinical isolates belonging to the *Candida parapsilosis* complex. FEMS Yeast Res 2013; 13: 831 - 48.
27. Marti-Carrizosa M, Sanchez-Reus F, March F, et al. Fungemia in a Spanish hospital: the role of *Candida parapsilosis* over a 15-year period. Scan J Infect Dis 2014; 46: 454 - 61.
28. Chin VK, Foong KJ, Maha A, et al. *Candida albicans* isolates from a Malaysian hospital exhibit more potent phospholipase and haemolysin activities than non-albicans *Candida* isolates. Trop Biomed 2013; 30: 654 - 62.
29. Kawai K, Fukushima H, Nozawa Y. Inhibition of mitochondrial respiration by asteltoxin, a respiratory toxin from *Emericella variecolor*. Toxicol Lett 1985; 28: 73-7.
30. Hussain S, Akrema, Rahisuddin, et al. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles: effects of shape-directing cetyltrimethylammonium bromide, pH, sunlight and additives. Bioprocess Biosyst Eng 2014; 37: 953 - 64.
31. Douanla-Meli C, Leif R, Ewald L. Studies of tropical African pore fungi (Basidiomycota, Aphyllophorales): three new species from Cameroon. Nova Hedwigia 2007; 84: 409 - 20.
32. Vaillancourt LJ, Hanau RM. Cotransformation and targeted gene inactivation in the maize anthracnose fungus, *Glomerella graminicola*. Appl Environ Microbiol 1994; 60: 3890 - 3.
33. Vaillancourt LJ, Hanau RM. Sexuality of self-sterile strains of *Glomerella graminicola*. Mycologia 1999; 91: 593 - 6.