



แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์
(Fungus: KOH preparation)

WI-LAB-086

แก้ไขครั้งที่ 5

ผู้จัดทำ

(นางสาวอัณชิษฐา โยธาจันทร์)
ผู้จัดการวิชาการจุลชีววิทยาคลินิก
7 กรกฎาคม 2568

ผู้ทบทวน

พ.ต.หญิง

(हरररर รันทรสงครรระห์)
ผู้จัดการคุณภาพ
7 กรกฎาคม 2568

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัทรมงคคค คคคยัน)
ผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
7 กรกฎาคม 2568

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยไปแทสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 1 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ(purpose of examination)

บอกชนิดของเชื้อราจากลักษณะที่ตรวจพบในตัวอย่างที่เก็บมาจากบริเวณรอยโรคที่สงสัยว่าติดเชื้อราเพื่อยืนยันการตรวจวินิจฉัยหรือเพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคกลาก(dermatophytosis), โรคเกลื้อน (pityriasis versicolor), โรคติดเชื้อแคนดิดา(candidiasis) และโรคที่เกิดจากเชื้อราอื่นๆ

2. หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ (principle and method of procedure used for examinations)

เป็นการตรวจหาเชื้อราด้วยวิธี KOH preparation (potassium hydroxide preparation) โดยใช้หลักการให้สาร KOH ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างแก่ทำหน้าที่ย่อยสลายเคอราตินและเศษซากเซลล์(cellular and organic debris) แต่สารนี้ไม่ย่อยสลายเชื้อราในตัวอย่างส่งตรวจ เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรามีส่วนประกอบที่สำคัญเป็นโพลีเมอร์ของไคติน (chitin) และกลูแคน (glucan) ซึ่งประสานกันอยู่ในรูปตาข่ายทำให้มีความแข็งแรงมาก ดังนั้นข้อดีของการตรวจด้วยวิธีนี้คือจะทำให้เห็นตัวเชื้อราได้ชัดเจนขึ้น โดยที่โครงสร้างของเชื้อราไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่วิธีการตรวจด้วย KOH นี้ จะไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อราได้ สามารถบอกได้เพียงรูปร่างลักษณะของตัวเชื้อราที่เห็นผ่านกล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ Yeast form, filamentous form (hyaline, pigmented, septate, non-septate), Muriform cell และ Endospore in spherule.

3. ลักษณะทางประสิทธิภาพ (performance characteristics)

ไม่มี

4. ชนิดตัวอย่าง (type of sample)

ตัวอย่างที่ใช้ทำ KOH preparation ได้แก่ ขุยผิวหนัง (skin scraping), ขน/ผม(hair), เล็บ(nail), ชิ้นเนื้อ (tissue), สะเก็ด และเยื่อตามช่องอวัยวะต่างๆ เนื่องจากเชื้อราที่สามารถบุกรุกเข้าไปเจริญอยู่ในร่างกายของคนอาจเจริญเติบโตเฉพาะบริเวณผิวหนังหรือเข้าสู่อวัยวะภายใน การติดเชื้อราในลักษณะดังกล่าว เรียกว่า mycoses หรือ mycosis ทั้งนี้สามารถแบ่งความรุนแรงของการเกิดโรคติดเชื้อราตามความลึกของการเจริญในร่างกายคน ออกได้เป็น 4 ชนิด คือ superficial mycoses, cutaneous mycoses, subcutaneous mycoses และ systemic(deep) mycoses ดังนั้น วิธีการเก็บตัวอย่างจึงอาจแตกต่างกันไปตามบริเวณที่ติดเชื้อรา ดังนี้

4.1 ประเภท Superficial และ Cutaneous mycoses

Superficial mycoses: เป็นการติดเชื้อราที่อยู่ตื้นที่สุด พบว่ามีพยาธิสภาพจำกัดอยู่แค่บริเวณขน ผม และผิวหนังชั้นนอกสุดคือชั้น Stratum corneum โดยเฉพาะบริเวณที่มี keratin อยู่ ซึ่งจัดเป็นบริเวณของเซลล์ที่ตายแล้ว

Cutaneous mycoses: เป็นการติดเชื้อราที่บริเวณผม ขน เล็บ โดยพบว่าชิ้นส่วนของเชื้อราสามารถลุกลามจากชั้น Stratum corneum ไปอยู่ที่รูขุมขน ผม โคนเล็บ และข้างเล็บได้

วิธีเก็บ: เช็ดทำความสะอาดบริเวณรอยโรคด้วยผ้าก๊อช (gauze) ที่ชุบด้วย 70% alcohol ในกรณีที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อจากยีสต์ อาจใช้น้ำกลั่นหรือน้ำเกลือปราศจากเชื้อ แล้วเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการดังนี้

4.1.1 ผิวหนัง



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 2 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

- ก. โรคเกลื้อน (Pityriasis versicolor): เลือกลงตามรอยผื่นที่มีสะเก็ดทั่ววงหรือจุดที่มีสีขาวน้ำตาล หรือชมพู หรือจุดตามรอยผื่นที่ให้สีของเรื่องแสงเมื่อส่องด้วย Wood's lamp
- ข. โรคกลาก (dermatophytosis): เลือกลงสะเก็ดตามขอบวงนูนของผื่น หรือตัดยอดตุ่มน้ำมาตรวจ ถ้าใช้น้ำจากตุ่มน้ำมาตรวจมักตรวจไม่พบเชื้อ
- ค. โรคเชื้อราแคนดิดา(Candidiasis) : เลือกลงบนขาวบนรอยแดงตามรอยพับ หรือจุดสะเก็ดตามขอบวงของผื่นเล็กๆ ที่กระจายอยู่ตามขอบผื่นใหญ่ หรือจุดหนองสีขาวจากตุ่มหนองจากบริเวณที่เชื้อราแคนดิดาชอบอาศัยอยู่ เช่น ซอกผิวหนังที่มีเหงื่ออับชื้น ในช่องปาก ช่องคลอด เป็นต้น
- ง. โรครอยดำดำ (Tinea nigra): จุดบริเวณรอยผื่นสีน้ำตาล โดยเฉพาะขอบผื่นที่มีสีเข้มกว่า และมีสะเก็ดเล็กน้อย
- จ. โรคที่เกิดกับผิวหนังและเล็บจากเชื้อราอวกาศ(Dermatomycosis): ลักษณะผื่นคล้ายกับโรคกลาก แต่มักพบตามบริเวณฝ่ามือ ฝ่าเท้า บริเวณอวัยวะเพศ รอบทวารหนัก ขาหนีบ : ให้จุดเอาตามขอบวงนูนของผื่น

4.1.2 ผมหงอก

- ก. โรคปมราดำ(Black Piedra): เลือกลงเส้นผมบริเวณปลายเส้นที่มีปมแข็งสีน้ำตาล(มักพบบริเวณศีรษะ)
- ข. โรคปมราขาว(White Piedra): เลือกลงเส้นผมบริเวณส่วนปลายที่มีปมอ่อน สีขาว หรือสีน้ำตาลอ่อน หรือตัดเส้นผมที่ให้สีขาวเรื่องแสงเมื่อส่องด้วย Wood's lamp(มักพบตามอวัยวะเพศและรักแร้)
- ค. โรคกลากบริเวณศีรษะ (Tinea capitis): เลือกลงขุยที่หนังศีรษะ เนื่องจากอาการที่พบได้แก่ ผมหงอกและหนังศีรษะตกสะเก็ดและมีรังแค, ผมร่วงเป็นหย่อมๆ ที่ศีรษะ, ผมหักกลางและเห็นมีจุดดำๆ, หนังศีรษะมีการอักเสบจนอาจเกิดเป็นหนองซึ่งเมื่อรวมกันเป็นก้อนเรียกว่าชันตุ(Kerion) บางรายอาจจะมีเพียงรังแคเล็กน้อยเท่านั้นแต่เป็นพาหะนำโรค ถ้าใช้แสง Wood's lamp ส่องดูเส้นผมจะให้สีเขียวเรื่องแสง

4.1.3 เล็บ

- ก. โรคกลาก: เลือกลงบริเวณที่มีลักษณะหนา มีขุย ซึ่งอาจจะมีสีเปลี่ยน
- ข. โรค Paronychia: เลือกลงสะเก็ดบริเวณรอบเล็บ หรือบิบเอาหนองคล้ายแปงเปียกที่มีสีขาวขุ่น และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว
- ค. โรค Dermatomycosis: เลือกลงบริเวณรอยโรคในเล็บที่อาจติดเชื้อรากลุ่มอื่นๆ ซึ่งอาจคล้ายกับโรคกลากบริเวณเล็บ

4.1.4 เยื่อบุตามบริเวณช่องปากและช่องคลอด: เลือกลงบริเวณปื้นขาวหรือวงแดง

4.1.5 ช่องหู : จุดสะเก็ดในช่องหู

4.2 ประเภท Subcutaneous mycoses

Subcutaneous mycoses: เป็นกลุ่มโรคติดเชื้อราที่มีพยาธิสภาพบริเวณผิวหนังและใต้ผิวหนังบางชนิดสามารถลุกลามถึงอวัยวะข้างเคียง เช่น กระดูก หลอดเลือด และต่อมน้ำเหลืองได้



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 3 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

วิธีเก็บ: เช็ดทำความสะอาดบริเวณรอยโรคด้วยผ้าก๊อซ (gauze) ที่ชุบด้วย 70% alcohol แล้วเก็บตัวอย่าง ดังนี้

4.2.1 **ผิวหนัง:** โรค Chromoblastomycosis ให้เลือกจุดหรือแฉะสะเก็ดแห้งแข็งที่อยู่บนแผลที่มีลักษณะนูนคล้ายดอกกระหล่ำ

4.2.2 **ชั้นเนื้อ:** ให้เก็บระหว่างแผ่นผ้าก๊อซที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือปราศจากเชื้อ

4.2.3 **หนอง และ exudate**

แผลปิด : ควรเจาะเอาหนองออก

แผลเปิดและมีสะเก็ดแข็ง: ให้แฉะสะเก็ดแข็งทิ้ง แล้วกดเอาหนองหรือ exudate ออก ถ้ามี granule ซึ่งอาจมีสีขาวหรือดำ ให้เก็บ granule โดยนำผ้าก๊อซที่หมาดๆ วางทับบนรอยแผลค้ำคั้น เม็ด granule จะทะลักออกมาเกาะอยู่บนผ้าก๊อซที่ปิดไว้

4.3 ประเภท systemic mycoses

Systemic (deep) mycoses: เป็นโรคติดเชื้อราที่เกิดกับอวัยวะภายใน บางครั้งอาจพบอาการของโรคที่ผิวหนังร่วมด้วย เชื้อรากลุ่มโรคส่วนใหญ่มักเกิดจาก Dimorphic fungi ที่พบบ่อย ได้แก่ Histoplasmosis, Blastomycosis, Coccidioidomycosis, Paracoccidioidomycosis, Penicilliosis marneffei เป็นต้น

4.3.1 **เสมหะ หนอง น้ำจากช่องปอด น้ำล้างกระเพาะ น้ำจากช่องท้อง เลือด(อาจใช้ buffy coat) ไช้กระดูก น้ำไขสันหลัง:** ให้เก็บใส่กระป๋องพลาสติกสะอาดปราศจากเชื้อ

4.3.2 **ชั้นเนื้อ:** เก็บใส่ขวดปราศจากเชื้อที่มีน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือปราศจากเชื้อหรือใส่ในระหว่างผ้าก๊อซปราศจากเชื้อที่ชื้น(ให้เก็บ 2 ชิ้น เนื่องจากเชื้อก่อโรคอาจพบบริเวณต่างกัน)

5. การเตรียมผู้ป่วย (patient preparation)

แจ้งให้ผู้ป่วยสวมเสื้อผ้าให้เหมาะสมกับตำแหน่งของรอยโรค เพื่อทำให้เกิดความสะดวกต่อการเก็บตัวอย่าง

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง (type of container and additives)

ภาชนะที่จะใช้บรรจุสิ่งส่งตรวจ ให้ใช้ภาชนะปราศจากเชื้อที่เหมาะสมตามชนิดสิ่งส่งตรวจ ได้แก่ Slide ปะกบ 2 แผ่น, ซองจดหมาย, กระดาษสีเข้ม, จานเพาะเชื้อที่ไม่มีอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมผ้าก๊อซที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือปราศจากเชื้อ และขวดปากกว้าง(กระป๋องพลาสติกสะอาดปราศจากเชื้อ)

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี (required equipment and reagents)

7.1 กล้องจุลทรรศน์

7.2 สไลด์แก้ว และกระจกปิดสไลด์ **ขนาด 22 x 22 mm**

7.3 อุปกรณ์ในการขูด เช่น blunt scrape, ใบมีด No.15, ขอบ slide แก้ว, curette ขนาดเล็ก

7.4 **น้ำยา 10% KOH**

7.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์

7.6 ผ้าก๊อซ, สำลี, แอลกอฮอล์

7.7 กรรไกรปลายแหลมโค้ง

7.8 Wood' s lamp (เครื่องส่องตรวจ ultraviolet light)



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 4 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย (environmental and safety controls)

- 8.1 ไม่ใช่ห้องเจาะเลือดและโต๊ะเจาะเลือดเป็นพื้นที่เก็บตัวอย่างสำหรับส่งตรวจหาเชื้อรา ให้ใช้พื้นที่ชุดเชื้อราซึ่งจัดไว้บริเวณด้านหลังห้องปฏิบัติการและพ้นจากสายตาผู้ไม่เกี่ยวข้องในการเก็บตัวอย่าง
- 8.2 กรณีเก็บตัวอย่างในตำแหน่งใต้ร่มผ้า ควรเก็บตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่ซึ่งเป็นเพศเดียวกันกับผู้ป่วย และควรไปขอเก็บตัวอย่างที่ห้องฉุกเฉิน
- 8.3 สวมถุงมือยาง และเสื่อกาวขณะปฏิบัติงาน และปฏิบัติตามหลัก Universal Precautions
- 8.4 เปลี่ยนถุงมือยางที่เก็บตัวอย่างผู้ป่วยรายต่อราย
- 8.5 เปิดพัดลมระบายอากาศในห้องชุดเชื้อราขณะเก็บตัวอย่าง
- 8.6 เช็ดทำความสะอาดสถานที่บริเวณเก็บตัวอย่างทุกครั้งทั้งก่อนและหลังการเก็บตัวอย่างรายต่อราย โดยมีวิธีการทำความสะอาดสถานที่เก็บตัวอย่าง ดังนี้

8.6.1 ตริยมอุปกรณ์และน้ำยาทำความสะอาด

- ผ้าไม่เป็นขุย (lint-free cloth) หรือกระดาษเช็ดทำความสะอาดแบบใช้ครั้งเดียว (disposable tissue)
- น้ำยาฆ่าเชื้อระดับพื้นผิว (surface disinfectant) เช่น:
 - 70% Alcohol (Ethanol หรือ Isopropyl alcohol) – ฆ่าเชื้อได้รวดเร็ว แห้งไว เหมาะกับพื้นผิวที่ไม่เปื้อนสารอินทรีย์
 - 0.1% Sodium hypochlorite (น้ำยาฟอกขาวเจือจาง) – สำหรับพื้นผิวทั่วไป หรือหากมีคราบเลือด/สารคัดหลั่ง
 - น้ำยาฆ่าเชื้อสูตรผสม (เช่น กลุ่ม Quaternary ammonium compounds หรือ Phenolic disinfectants) ที่ได้รับการรับรองประสิทธิภาพตามมาตรฐาน

คำแนะนำ: ให้เลือกใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่มีทะเบียน อย. หรือผ่านการรับรองจากกรมควบคุมโรค/WHO

8.6.2 ขั้นตอนการทำความสะอาด**ก่อนเก็บตัวอย่าง**

- ทำความสะอาดบริเวณที่ใช้วาง/พียงอวัยวะของผู้ป่วย (เช่น เตียง โต๊ะชุดผิวหนัง) ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ
- เช็ดตามแนวเดียวอย่างเป็นระบบ (one-directional wiping) และปล่อยให้แห้งเองตามธรรมชาติ

**หลังเก็บตัวอย่าง**

- เก็บเศษวัสดุ เช่น สะเก็ดผิวหนังหรือกระดาษรองผิวหนัง ทิ้งในถังขยะติดเชื้อ (ถุงแดง)
- เช็ดทำความสะอาดพื้นผิวด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อชนิดเดียวกันอีกครั้ง โดยใช้ผ้าหรือกระดาษใหม่



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยไปแทสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 5 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

- ล้างมือหรือเปลี่ยนถุงมือหลังเสร็จสิ้นการทำความสะอาด
- ◆ **ข้อควรระวังด้านความปลอดภัย**
 - สวมถุงมือขณะทำความสะอาดทุกครั้ง
 - หลีกเลี่ยงการสัมผัสน้ำยาโดยตรงกับผิวหนังหรือดวงตา
 - ระบายอากาศบริเวณโต๊ะตรวจให้เหมาะสม โดยเฉพาะหากใช้น้ำยาที่ระเหยง่าย (เช่น แอลกอฮอล์)
 - ห้ามผสมน้ำยาฆ่าเชื้อหลายชนิดร่วมกัน

8.7 วิธีการทำความสะอาดพื้นผิวของร่างกายผู้ป่วยบริเวณใช้เก็บตัวอย่าง

8.7.1 แนวทางการทำความสะอาดพื้นผิวร่างกายของผู้ป่วย (บริเวณที่เก็บตัวอย่าง)

✓ ก่อนการเก็บตัวอย่าง

1) ตรวจสอบบริเวณที่จะเก็บตัวอย่าง

- ควรหลีกเลี่ยงบริเวณที่มีบาดแผลเปิดหรือติดเชื้อรุนแรง

2) ทำความสะอาดผิวหนังเบื้องต้น

- ใช้ผ้าก๊อชหรือสำลีชุบ น้ำเกลือปราศจากเชื้อ (0.9% NaCl) หรือ น้ำต้มสุกที่เย็นแล้ว เช็ดคราบสิ่งสกปรกหรือเหงื่อ
- หากบริเวณผิวหนังมีคราบไขมันหรือสิ่งปนเปื้อน ให้ใช้สำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์ เช็ดเบาๆ ทิ้งไว้ให้แห้งเองก่อนทำการขูด

3) ห้ามใช้สบู่หรือน้ำยาฆ่าเชื้อที่แรงเกินไป

- เพราะอาจทำให้โครงสร้างของเชื้อราถูกทำลาย ส่งผลต่อความไวของการตรวจ

✓ ขณะเก็บตัวอย่าง

- ควรสวมถุงมือสะอาด
- ใช้ใบมีดขูดหรืออุปกรณ์ปลอดเชื้อขูดเฉพาะบริเวณที่ต้องการ
- ระวังไม่ให้เกิดการเลือดออก หรือขูดรุนแรงจนทำลายผิวหนังโดยไม่จำเป็น

✓ หลังการเก็บตัวอย่าง

1) ทำความสะอาดผิวหนังอีกครั้ง

- ใช้สำลีหรือผ้าก๊อชชุบ 70% แอลกอฮอล์ เช็ดซ้ำบริเวณที่ขูด
- หากผู้ป่วยรู้สึกกระคายเคือง อาจใช้ผ้าก๊อชแห้งสะอาดซับหรือทาบทิ้งไว้ชั่วคราว

2) **ไม่ควรทายาฆ่าเชื้อหรือครีมอื่น ๆ ทันที**



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 6 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ยกเว้นได้รับคำแนะนำจากแพทย์หรือเป็นการดูแลหลังเก็บตัวอย่างในผู้ป่วยที่มีรอยชุดใหญ่

♦ **หลักการสำคัญตามแนวทางการควบคุมการติดเชื้อ**

- **มือของผู้ปฏิบัติงาน** เป็นแหล่งการแพร่กระจายเชื้อที่สำคัญที่สุด
- ต้องมีการ **ล้างมือก่อนและหลังสัมผัสผู้ป่วย** ทุกครั้ง ด้วยสบู่ผสมน้ำยาฆ่าเชื้อ หรือน้ำยาล้างมือแอลกอฮอล์
- การปนเปื้อนเชื้อที่ผิวหนังของผู้ป่วย เช่น *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.* อาจเป็นแหล่งแพร่กระจาย หากไม่ทำความสะอาดให้เหมาะสม

♦ **สรุปแนวทางที่แนะนำสำหรับวิธีการทำความสะอาดก่อนและหลังเก็บตัวอย่าง**

ขั้นตอน	วิธีการทำความสะอาด
ก่อนเก็บตัวอย่าง	เช็ดด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ หรือน้ำต้มสุกเย็น / หากมีคราบใช้ 70% แอลกอฮอล์
หลังเก็บตัวอย่าง	เช็ดซ้ำด้วย 70% แอลกอฮอล์ ทิ้งให้แห้ง
ข้อควรระวัง	ห้ามใช้น้ำยาฆ่าเชื้อแรง ๆ, หลีกเลี้ยงสบู่ หรือยาทาก่อนการชุด

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ (calibration procedures)

ไม่มี

10. ขั้นตอนของกระบวนการ (procedural steps)

- 10.1 วางสิ่งส่งตรวจ เช่น ผีวหนัง ผม ลงบนสไลด์แก้ว
- 10.2 หยดสารละลาย **10%KOH** จำนวน 1 หยด
- 10.3 ปิดทับด้วย Microscope cover glass ขนาด 22x22 mm
- 10.4 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที(ระยะเวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดและลักษณะตัวอย่าง) อาจต้องใช้ความร้อนช่วยโดยนำไฟมาลนใต้ slide
- 10.5 นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 10x, 40x ตามลำดับ **โดยใช้วิธีการตรวจดูให้ทั่วทุกพื้นที่ของ cover glass ขนาด 22x22 mm ด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 10x เมื่อพบบริเวณที่สงสัยว่าจะมีเชื้อราให้ตรวจดูรายละเอียดด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 40x อย่างน้อย 20 วงกล้อง**

หมายเหตุ กรณีสิ่งส่งตรวจเป็น “เล็บ” ให้ดำเนินการดังนี้ (ถ้ามีสารเคมีที่เกี่ยวข้อง)

- (1) ให้ใช้สารละลายผสม KOH + dimethyl sulfoxide ซึ่งเตรียมโดยการใช้ dimethyl sulfoxide 40 mL ผสมกับน้ำกลั่น 60 mL เติม KOH 20 g คนให้เข้ากันจน KOH ละลายหมด บรรจุใส่ขวดที่มีจุกหยด
- (2) ใช้กรรไกรตัดตัวอย่างเล็บเป็นชิ้นเล็กและบางเท่าที่จะทำได้ ใช้คีมคีบชิ้นส่วนของเล็บจุ่มลงในหยดสารละลายผสม potassium hydroxide และ dimethyl sulfoxide ที่หยดไว้ก่อนแล้ว 1 หยดบน



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)	
รหัสเอกสาร: WI-LAB-086	หน้า 7 จาก 25 หน้า
แก้ไขครั้งที่: 5	วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

แผ่นสไลด์แก้ว ปิดทับด้วย cover glass ไม่ต้องลงไฟ แล้วนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เลนส์ใกล้วัตถุ กำลังขยาย10x, 40x ตามลำดับ

10.6 บันทึกรายงานรูปร่างลักษณะของเชื้อราที่ตรวจพบ ไม่ควรวินิจฉัยเกินกว่าวิธีทดสอบนี้จะบอกได้ ให้รายงานเฉพาะสิ่งที่เห็น เช่น

- No fungal elements seen หรือ **Not found**
- Non-septate hyphae
- Dark-walled septate hyphae
- Fragmented septate hyphae and round thick walled yeasts
- Thick-walled round spores and fragmented septate hyphae
- Budding yeasts and fragmented hyphae
- Oval yeast form and short curved hyphae
- Budding yeasts and pseudohyphae
- Budding yeasts, pseudohyphae and septate hyphae
- Hyaline oval yeast cells, budding yeast cells with pseudohyphae suggestive for candidiasis*
- Endothrix hair (เชื้อสร้างโคนิเดีย รูปร่างกลมเจริญอยู่ภายในเส้นผม พบในกลุ่ม Dermatophytes สกุล Trichophyton) อาจรายงานผลว่า “endothrix infection suggesting dermatophytosis”
- Ectothrix hair (เชื้อสร้างโคนิเดีย รูปร่างกลมเกาะอยู่ภายนอกเส้นผม พบในกลุ่ม Dermatophytes สกุล Microsporum) อาจรายงานผลว่า “ectothrix infection suggesting dermatophytosis”
- เชื้อราที่สร้างเส้นใยเป็นท่อนยาวเรียงตัวอยู่ในเส้นผมเป็นลักษณะเฉพาะของรากลุ่ม Dermatophytes เช่น Trichophyton schuenleinii อาจรายงานว่า “Favic infection suggesting dermatophytosis”
- Arthroconidia
- **Septate hyphae and arthroconidia**
- **Hyaline septate hyphae with arthroconidia**
- **Hyaline branching septate hyphae, arthroconidia suggesting dermatophytosis**
- **Septate hyphae**
- **Brownish septate hyphae**
- **Brownish septate hyphae with arthrospores**
- **Hyaline nodule mass of arthroconidia**
- **Brown nodule with asci and ascostroma**
- **Sclerotic bodies**
- **Hyaline septate hyphae**



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)	หน้า 8 จาก 25 หน้า
รหัสเอกสาร: WI-LAB-086	วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568
แก้ไขครั้งที่: 5	

- *Conidial head of Aspergillus*

เป็นต้น

หมายเหตุ:

- (1) *กรณีนำตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อก่อโรค Candidiasis ไปย้อมสีแกรม จะรายงานว่า “Gram positive oval yeast cells, budding yeast cells with pseudohyphae suggestive for candidiasis
- (2) การตรวจสดในสารละลาย KOH ไม่เหมาะกับการตรวจหา Histoplasma yeast cells เนื่องจากเชื้อมีขนาดเล็ก ดูได้ยาก ควรตรวจสิ่งส่งตรวจด้วยการย้อมสีแกรม หรือสี Giemsa หรือสี Wright

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ (quality control procedures)

ทำ IQC ของการทดสอบ KOH preparation โดยวิธีการควบคุมปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

- 11.1 ส่งตรวจคุณภาพของน้ำยา **10% KOH ผลิตภัณฑ์ BIOTECH Reagent** ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจะต้องไม่มีตะกอนและเชื้อรา ให้ทำอย่างน้อย 1 ครั้งใน 1 เดือน
- 11.2 ผู้รับรองผลวิเคราะห์ สุ่มคูสโลด์ซ้ำ ก่อนลงนามรับรองผล
- 11.3 เปรียบเทียบภาพการตรวจตัวอย่างที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์กับภาพในตำรา/เอกสารอ้างอิง เช่น การตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นทางจุลชีววิทยาคลินิก(RF-LAB-042) และตัวอย่างรูปภาพในหน้า **11** ข้อ 19. ตารางที่ 1

12. ขั้นตอนการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparisons)

- 12.1 เข้าร่วมโครงการ การประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์งานจุลชีววิทยาคลินิก รายการทดสอบ Gram stain, Acid fast stain และ KOH preparation ซึ่งดำเนินการโดย **กองทดสอบความชำนาญกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์** ความถี่ในการวิเคราะห์ปีละ 3 รอบ โดยใช้รูปภาพเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่างต่อรอบ
- 12.2 เมื่อผลประเมินไม่เป็นไปตามเกณฑ์หรือเป้าหมายที่กำหนด ให้บันทึกมาตรการแก้ไข/ป้องกัน ในแบบบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ (FM-LAB-020)

13. สิ่งรบกวน (interferences)

ไม่มี

14. หลักการของของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอนของการวัด (principle of procedure for calculating results including, where relevant, the measurement uncertainty of measured quantity values)

ไม่มี

15. ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก (biological reference intervals or clinical decision values)

ตรวจไม่พบ (Not found)

16. ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้ (reportable interval of examination results)

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)	
รหัสเอกสาร: WI-LAB-086	หน้า 9 จาก 25 หน้า
แก้ไขครั้งที่: 5	วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ไม่มี

17. คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด (instructions for determining quantitative results when a result is not within the measurement interval)

ไม่มี

18. ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม (alert/critical values, where appropriate)

ไม่มี

19. การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ (laboratory clinical interpretation)

ตารางที่ 1 การรายงานผล KOH preparation และโรค/เชื้อที่น่าจะเป็น



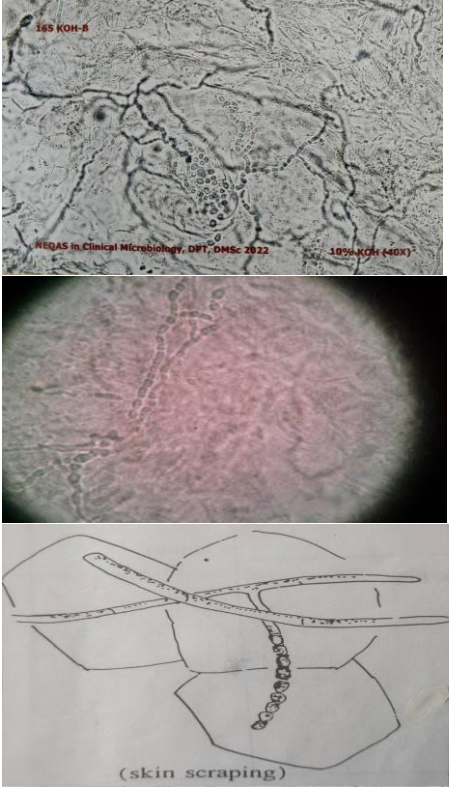

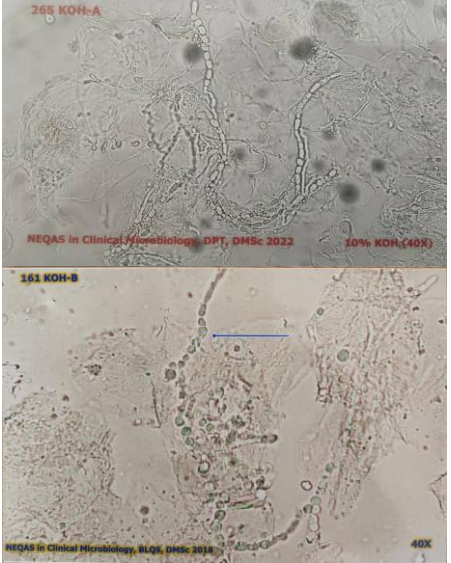
วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 11 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่น่าจะเป็น
 <p>165 KOH-B</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2022</p> <p>10% KOH (40X)</p> <p>(skin scraping)</p>	<p>165 KOH-B = <i>Septate hyphae with arthroconidia</i></p> <p>กรณีไม่พบ <i>arthroconidia</i> อาจรายงาน <i>Septate hyphae without arthroconidia</i> หรือ <i>Septate hyphae</i></p>	<p>โรคกลาก (Dermatophytosis)</p> <p><i>Microsporum, Trichophyton, and Epidermophyton</i></p> 
 <p>265 KOH-A</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2022</p> <p>10% KOH (40X)</p> <p>161 KOH-B</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, BLQS, DMSc 2018</p> <p>40X</p>	<p>265 KOH-A, 161 KOH-B = <i>Arthroconidia</i></p>	




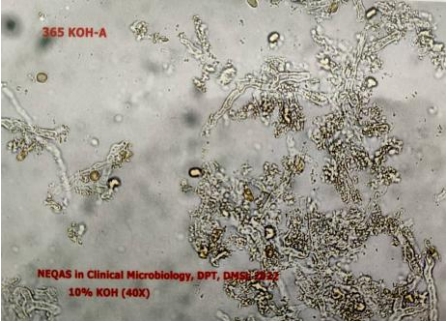
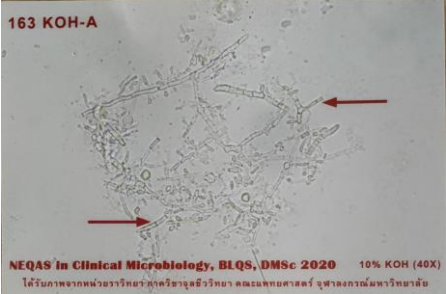
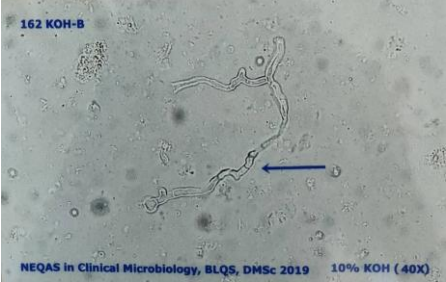
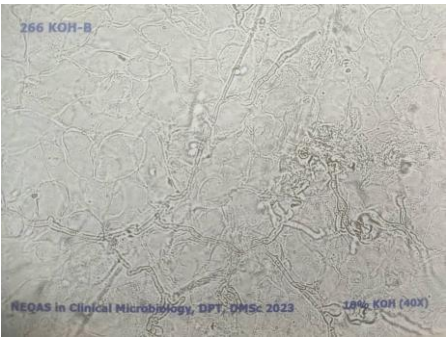
วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 12 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่น่าจะเป็น
    <p>Filamentous form</p> 	<p>365 KOH-A, 163 KOH-A, 162 KOH-B, 266 KOH-B = <i>Hyaline septate hyphae</i></p>	



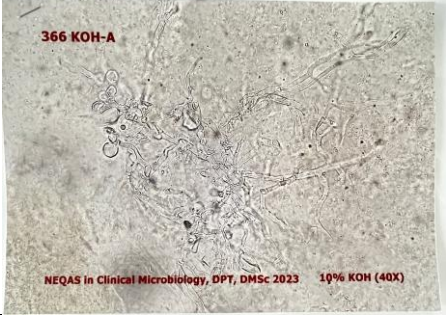
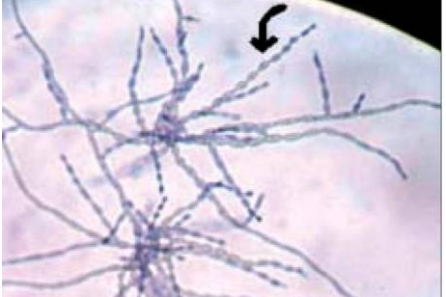
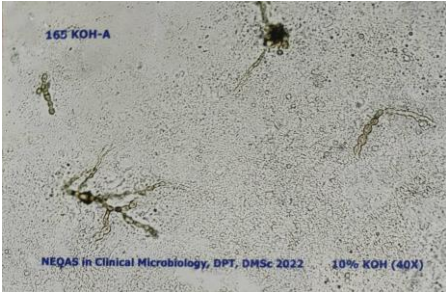
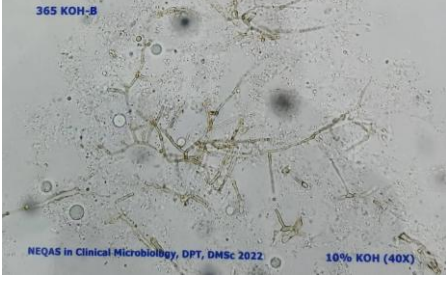
วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 13 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่น่าจะเป็น
 <p>366 KOH-A</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2023 10% KOH (40X)</p>		
 <p>Filamentous form</p>	<p>Dark walled septate hyphae with single celled oval conidia in long branched chains</p>	<p><i>Cladophialophora bantiana</i> <i>Ramichloridium mackenziei</i> (Dark-walled, long branching septate hyphae)</p>
 <p>165 KOH-A</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2022 10% KOH (40X)</p>  <p>365 KOH-B</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2022 10% KOH (40X)</p>	<p>165 KH-A, 365 KOH-B = Dark-walled septate hyphae</p> <p>Phaeohyphomycosis consists of a group of mycotic infections characterized by the presence of dematiaceous (dark-walled) septate hyphae and sometimes yeast or a combination of both in tissue. The hyphae may be short to elongate, distorted or swollen (toruloid hyphae), regularly shaped, or any combination of the above. The yeast when present will be variable in size and most of the time will show budding. The yeast should not be confused with the sclerotic Medler cells seen with the agents of chromoblastomycosis in subcutaneous tissue, although there are case reports of <i>Wangiella</i> (<i>Exophiala</i>) dermatitidis and <i>Exophiala jeanselmei</i> producing a combination of hyphae, yeast, and sclerotic cells from deep infections that otherwise could not be</p>	



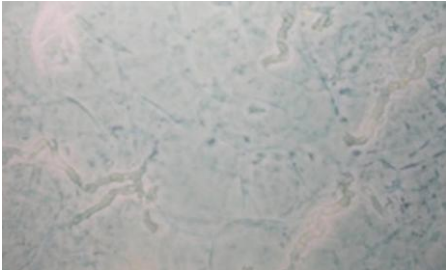

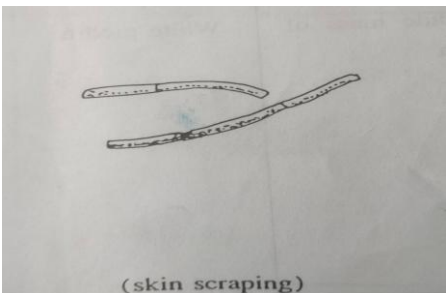


วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 14 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่น่าจะเป็น
	classified as chromoblastomycosis. Infections of the eyes and skin by the black fungi could also be classified as phaeohyphomycosis	
   <p>(skin scraping)</p> <p>Filamentous form</p>	<i>Brown septate hyphae</i>	<p>โรครอยต่างดำ (Tinea nigra)</p> <p><i>Phaeoannellomyces werneckii</i></p>  <p>Tinea nigra is a brown or black, scaly, non-itchy rash that is caused by a brown mold.</p>  <p>The mold that causes Tinea nigra commonly affects the soil and tends to infect people who sweat excessively.</p>



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 15 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่น่าจะเป็น
<p>265 KOH-B</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2022 10% KOH (40X)</p> <p>163 KOH-B</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, BLQS, DMSc 2020 10% KOH (40X)</p> <p>162 KOH-A</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, BLQS, DMSc 2019 Wet smear (40X)</p> <p>166 KOH-A</p> <p>NEQAS in Clinical Microbiology, DPT, DMSc 2022 10% KOH (40X)</p> <p>(ผิวหนัง, vagina และอื่น ๆ)</p> <p>Yeast form</p>	<p>265 KOH-B, 163 KOH-B, 162 KOH-A, 266 KOH-A =</p> <p><i>Budding yeast and pseudohyphae</i></p> <p>A Budding yeast</p> <p>B Germ Tube Pseudohypha</p> <p>C Hypha</p>	<p>Candidiasis</p> <p><i>Candida albicans</i></p> <p>After radiation treatment fungal infections such as candida are common, but easily resolved.</p>



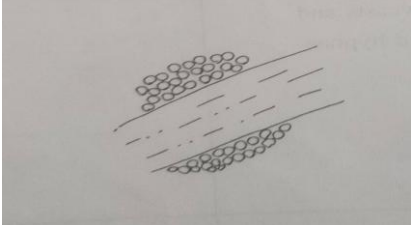
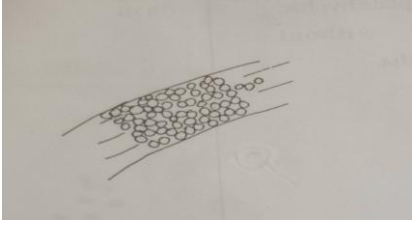
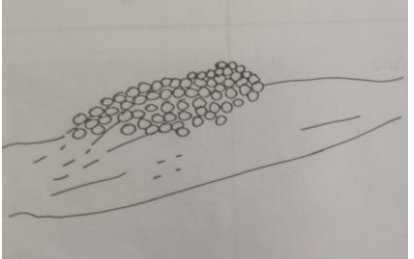
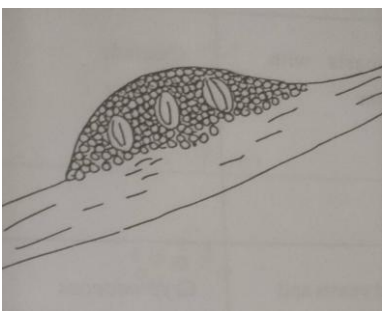
วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 16 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่น่าจะเป็น
 เส้นผม	<i>Ectothrix hair</i>	โรคกลาก (Dermatophytosis)
 เส้นผม	<i>Endothrix hair</i>	
 เส้นผม	<i>Hyaline nodule mass of arthroconidia</i>	โรคปมราขาว (White Piedra) จะพบลักษณะตุ่มสีขาว บริเวณรอบเส้นขน สามารถ รูดออกได้ คล้ายไข่เหา เชื้อก่อโรค คือ <i>Trichosporon beigelii</i>
 เส้นผม	<i>Brown nodule with asci and ascostroma</i>	โรคปมราดำ (Black Piedra) เป็นโรคติดเชื้อราที่ พบบริเวณเส้นผม จะพบ ลักษณะเป็นตุ่มแข็งเป็นมัน มีสีดำหรือน้ำตาลเข้มที่เส้น ผม ไม่สามารถรูดออกได้ เหมือนไข่เหา เชื้อก่อโรค คือ <i>Piedra hortae</i>






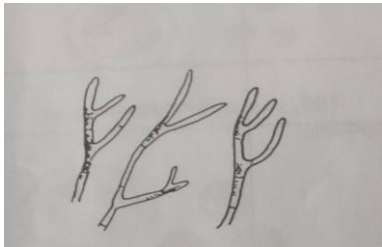
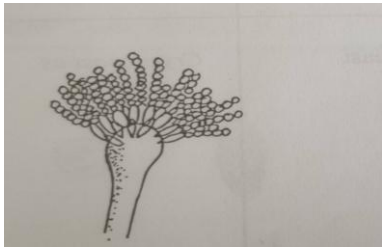
วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 17 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

ภาพจริง/ภาพจำลอง ที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์	คำศัพท์ที่ใช้รายงานผล	โรค/เชื้อที่ น่าจะเป็น
		
 <p>เมื่อนำสะเก็ดจากบริเวณรอยโรคมาตรวจจะพบเซลล์ลักษณะกลม ผนังหนาสีน้ำตาลแกมดำ (The fungi produce thick-walled, single or multicellular clusters called sclerotic or muriform bodies)</p>	<i>Sclerotic bodies</i>	<p>โรค Chromoblastomycosis</p>  <p>รอยโรคเริ่มจากตุ่มเล็กๆ แล้วจึงขยายใหญ่ขึ้น ขอบขรุขระ ตรงกลางเป็นก้อนแข็งคล้ายดอกกระหล่ำ แต่ไม่มีอาการเจ็บ เชื้อก่อโรคที่พบบ่อยได้แก่ <i>Cladosporium carrionii</i>, <i>Phialophora verrucosa</i></p>
	<i>Hyaline septate hyphae</i>	Hyaline mold เช่น <i>Aspergillus</i>
	<i>Conidial head of Aspergillus</i>	<p>ASPERGILLOSIS <i>Aspergillus</i> (Most common – <i>A. Fumigatus</i>, <i>A. Flavus</i>, and <i>A. niger</i>)</p>

ตารางที่ 2 ชื่อโรคและเชื้อรากลุ่มโรคชนิด superficial mycoses



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 18 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

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

ตารางที่ 3 ชื่อโรคและเชื้อราก่อโรคชนิด cutaneous mycoses



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 19 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

โรคในกลุ่ม Cutaneous mycoses	เชื้อร่าก่อโรค
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>• Microsporum เช่น <i>M. gypseum</i>, <i>M. canis</i>
โรคผิวหนังจากเชื้อแคนดิดา (cutaneous candidiasis, cutaneous candidosis)	<i>Candida</i> spp.
โรคที่เกิดกับผิวหนังและเล็บ จากเชื้อราขวยโอกาส (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.

ตารางที่ 4 ชื่อโรคและเชื้อร่าก่อโรคชนิด Subcutaneous mycoses



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 20 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

โรคในกลุ่ม Deep mycoses	เชื้อรากลุ่มโรค
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	<ul style="list-style-type: none"> ● <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 alternate</i>
Subcutaneous zygomycosis	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Basidiobolus ranarum</i> ● <i>Conidiobolus coronatus</i> ● <i>Conidiobolus incongruus</i>
Rhinosporidiosis	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Rhinosporidium seeberi</i>
Lobomycosis	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Loboa Lobo</i>
Subcutaneous protothecosis	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Prototheca wickerhamii</i> ● <i>Prototheca zopfii</i>

ตารางที่ 5 ชื่อโรคและเชื้อรากลุ่มโรคชนิด Systemic (deep) mycoses

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 21 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

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.

หมายเหตุ

Histopathologic Features of the Most Commonly Encountered Fungi

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งสุดท้าย



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 22 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

- *Candida*: Budding yeast cells (blastoconidia), pseudohyphae and septate hyphae are observed.
- *Cryptococcus neoformans*: Pleomorphic yeast-like cells and formation of narrow-based buds are typical. The encapsulated strains have capsular material detected with mucin stain.
- *Aspergillus*: Hyaline, septate, dichotomously branched hyphae of uniform diameter are observed. In cavitory lesions, conidial heads are occasionally observed. Purulent, necrotizing inflammation is present. Calcium oxalate crystals, probably originating from fungal oxalic acid, are present near hyphae in necrotic tissue, if the infecting species is *Aspergillus niger*.
- *Fusarium and Pseudallescheria*: Hyaline, septate, randomly branched hyphae are observed. The hyphal contours are regular.
- *Mucor, Rhizopus* and other fungi of the Order *Zygomycetes*: Broad, thin-walled, hyaline, often aseptate or sparsely septate hyphae are observed. The contours of the hyphae are typically non-parallel and branches are irregular. Invasion of blood vessels is noteworthy. Pyogenic inflammation, abscess formation and suppurative necrosis are observed.
- *Microsporium, Epidermophyton, and Trichophyton*: These fungi, the dermatophytes, produce septate, branched hyphae that break into chains of arthroconidia.
- *Coccidioides immitis*: Spherule containing endospores is the typical structure. The transition form of *C. immitis* producing septate hyphae that develop into arthroconidia, may be observed in necrotic nodules and misdiagnosed as one of the fungi in hyphomycetes group, when spherules are not yet evident.
- *Histoplasma capsulatum*: Intracellular budding yeast cells are typical. It should be differentiated from the other intracellular dimorphic fungus, *Penicillium marneffeii*. The yeast cells of *P. marneffeii* divide by fission, but not by budding. *Histoplasma capsulatum* predominates at the central portion of the lesions. Thus, the selection of the tissue section to be excised for histopathologic and mycologic examination is of particular significance.
- *Blastomyces dermatitidis*: Thick-walled yeast-like cells and single broad-based buds are typical. In contrast to *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis* is located more at the periphery of the infected lesion, rather than the center.



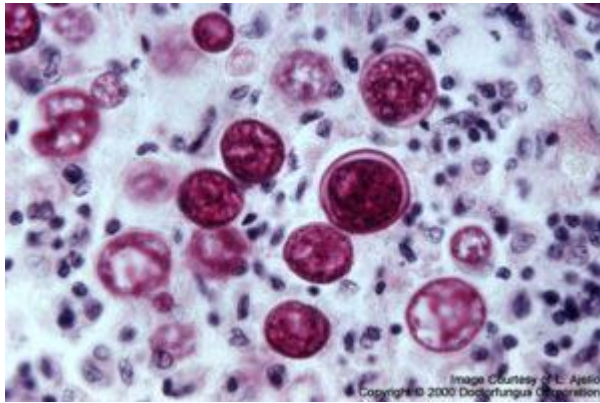
วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

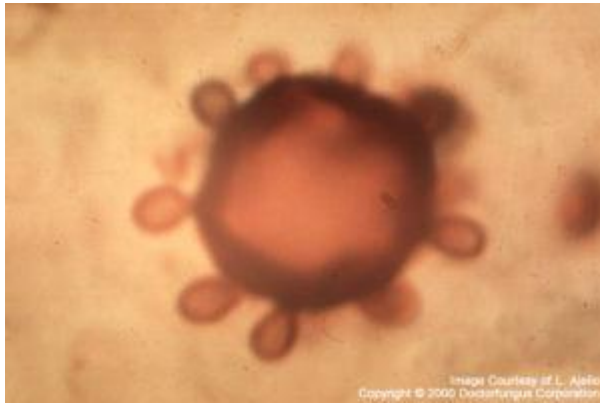
หน้า 23 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568



- *Paracoccidioides brasiliensis*: Yeast-like cells with multiple buds are typical. The buds are attached to the mother cell with narrow necks. The appearance resembles a “steering-wheel”.



- Fungi causing eumycotic mycetoma (*Madurella*, *Acremonium*, *Pseudallescheria*, *Exophiala*, *Curvularia*, *Aspergillus*, and others): Granule formation is typical. The granules are composed of **hyaline or phaeoid** (depending on the fungus involved), septate, branching hyphae. Chlamydoconidia may be formed.
- Fungi causing chromoblastomycosis (*Fonsecaea*, *Phialophora*, *Cladophialophora*, and others): **Spherical or polyhedral, dark brown, thick-walled sclerotic bodies** (muriform cells) are typical. Phaeoid hyphae may also be observed.

20. แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น (potential sources of variation)

หลังจากเก็บสิ่งส่งตรวจแล้ว การนำส่งสิ่งส่งตรวจ(specimen transport) ถือว่ามีความสำคัญโดยสิ่งส่งตรวจต้องอยู่ในภาชนะที่ปิดมิดชิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราในสิ่งแวดล้อมนอกจากนั้นถ้าสิ่งส่งตรวจเป็นของเหลวต้องไม่ให้เกิดการแห้งในขณะนำส่ง โดยปกติในการนำส่งสิ่งส่งตรวจควรทำหลังจากเก็บตัวอย่างให้ถึงห้องปฏิบัติการอย่างรวดเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ แต่ถ้าใช้เวลามากกว่า 24 ชั่วโมงจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจในความเย็นประมาณ 4°C เพื่อรักษาสภาพของสิ่งส่งตรวจไว้ ในบางกรณีที่ต้องเก็บด้วยวิธีเก็บตัวอย่าง



วิธีปฏิบัติงานเรื่อง : การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus : KOH preparation)

รหัสเอกสาร: WI-LAB-086

หน้า 24 จาก 25 หน้า

แก้ไขครั้งที่: 5

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568

และนำส่งตัวอย่างด้วยวิธีการจำเพาะ ทางห้องปฏิบัติการควรที่จะต้องมีการบ่งชี้ให้กับแพทย์หรือผู้ที่เกี่ยวข้องรับทราบก่อนที่จะดำเนินการเก็บและส่งส่งตรวจ เพื่อไม่ให้ต้องดำเนินการเก็บซ้ำ ทำให้เกิดการเสียเวลา

21. เอกสารอ้างอิง (references)

- 21.1 การตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นทางจุลชีววิทยาคลินิก(RF-LAB-042)
- 21.2 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการจัดการกระบวนการทดสอบ (WP-LAB-20)
- 21.3 ระเบียบปฏิบัติงานเรื่องการสร้างเชื่อมั่นในคุณภาพผลการวิเคราะห์ (WP-LAB-21)
- 21.4 คู่มือการปฏิบัติงานแบบที่เรียและรา สำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป 2561(MN-LAB-076)
- 21.5 วิธีปฏิบัติงานย่อ เรื่อง วิธีการเตรียม specimen และการใช้น้ำยา 10% KOH(CF-LAB-034)



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WL-LAB-086: วิธีปฏิบัติงานเรื่องการทำเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Fungus: KOH preparation)

วัน/เดือน/ ปี ที่แก้ไข/ ทบทวน	ฉบับ แก้ไข ครั้งที่	รายการที่แก้ไข	ผู้จัดทำ/ ผู้แก้ไข	ผู้ทบทวน/ ผู้รับรอง	ผู้อนุมัติใช้	วันที่ ประกาศใช้
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	ทนพญ. อัญ ชิษฐาฯ	ร.ต.หญิง อรกัญญา	พ.อ.ฉัตรมงคล	11 พ.ย.62
1 พ.ย.63	1	ทบทวนแล้วแก้ไขทั้งฉบับ	ทนพญ. อัญ ชิษฐาฯ	ร.ต.หญิง อรกัญญา	พ.อ.ฉัตรมงคล	1 พ.ย.63
1 พ.ย. 64	1	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	ทนพญ. อัญ ชิษฐาฯ	ร.ต.หญิง อรกัญญา	พ.อ.ฉัตรมงคล	1 พ.ย.63
1 เม.ย. 65	2	ทบทวนแล้ว แก้ไขทั้งฉบับ หน้า 7 ข้อ 19. เพิ่มรูปภาพเชื้อรา ในตารางที่ 1 การรายงานผล KOH preparation และโรค/เชื้อที่น่าจะ เป็น	ทนพญ. อัญ ชิษฐาฯ	ร.ท.หญิง อรกัญญา	พ.อ.ฉัตรมงคล	1 เม.ย. 65
1 ก.ย. 66	3	ทบทวนแล้ว แก้ไขทั้งฉบับ <ul style="list-style-type: none"> หน้า 5 ข้อ 10 เพิ่มหมายเหตุ ต่อท้ายข้อ 10.5 ดังนี้ “หมายเหตุ กรณีสิ่งส่งตรวจเป็น “เล็บ” ให้ดำเนินการดังนี้ ให้ใช้สารละลายผสม KOH + dimethyl sulfoxide ซึ่งเตรียม โดยการใช้ dimethyl sulfoxide 40 mL ผสมกับน้ำ กลั่น 60 mL เติม KOH 20 g คนให้เข้ากันจน KOH ละลาย หมด บรรจุใส่ขวดที่มีจุกหยด ใช้กรรไกรตัดตัวอย่างเล็บเป็นชิ้น เล็กและบางเท่าที่จะทำได้ ใช้คีม คีบชิ้นส่วนของเล็บจุ่มลงในหยด สารละลายผสม potassium hydroxide และ dimethyl sulfoxide ที่หยดไว้ก่อนแล้ว 1 หยดบนแผ่นสไลด์แก้ว ปิดทับ ด้วย cover glass ไม่ต้องลนไฟ แล้วนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10x, 40x ตามลำดับ” 	ทนพญ. อัญ ชิษฐาฯ	ร.ท.หญิง อรกัญญา	พ.อ.ฉัตรมงคล	1 ก.ย. 66



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร: WI-LAB-086: วิธีปฏิบัติงานเรื่องการตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Fungus: KOH preparation)

วัน/เดือน/ ปี ที่แก้ไข/ ทบทวน	ฉบับ แก้ไข ครั้งที่	รายการที่แก้ไข	ผู้จัดทำ/ ผู้แก้ไข	ผู้ทบทวน/ ผู้รับรอง	ผู้อนุมัติใช้	วันที่ ประกาศใช้
		<ul style="list-style-type: none"> หน้า 6 ข้อ 10 เพิ่มหมายเหตุ ต่อท้ายข้อ 10.6 ดังนี้ <u>หมายเหตุ:</u> กรณีนำตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อก่อโรค Candidiasis ไปย้อมสีแกรม จะรายงานว่า “Gram positive oval yeast cells, budding yeast cells with pseudohyphae suggestive for candidiasis การตรวจสดในสารละลาย KOH ไม่เหมาะกับการตรวจหา Histoplasma yeast cells เนื่องจากเชื้อมีขนาดเล็ก ดูได้ยาก ควรตรวจสิ่งส่งตรวจด้วยการย้อมสีแกรม หรือสี Giemsa หรือสี Wright หน้า 7 ข้อ 19. เพิ่มรูปภาพเชื้อราในตารางที่ 1 การรายงานผล KOH preparation และโรค/เชื้อที่น่าจะเป็น หน้า 22 ข้อ 21 เพิ่มข้อย่อยที่ 21.4 “คู่มือการปฏิบัติงานแบคทีเรียและรา สำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป 2561(MN-LAB-076)” 				
1 ก.พ.67	3	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	ทนพญ. อัญชิษฐา	ร.ท.หญิง อรกัญญา	พ.อ.ฉัตรมงคล	1 ก.ย. 66
1 เม.ย.68	4	แก้ไขชื่อผู้ทบทวนเอกสาร	ทนพญ. อัญชิษฐา	พ.ต.หญิง หรรษา	พ.อ.ฉัตรมงคล	1 เม.ย.68
7 ก.ค.68	5	<ul style="list-style-type: none"> แก้ไขชื่อสารเคมีจาก 10-30% KOH เป็น 10%KOH ในข้อ 7.4 และ 11.1 จากข้อความเดิมในข้อ 10.5 นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ 	ทนพญ. อัญชิษฐา	พ.ต.หญิง หรรษา	พ.อ.ฉัตรมงคล	7 ก.ค.68

เอกสารควบคุม มีอายุการใช้งาน 1 ปี นับจากวันที่ปรับปรุงแก้ไขครั้งล่าสุด



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร_WI-LAB-086: วิธีปฏิบัติงานเรื่องการตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์(Fungus: KOH preparation)

วัน/เดือน/ ปี ที่แก้ไข/ ทบทวน	ฉบับ แก้ไข ครั้งที่	รายการที่แก้ไข	ผู้จัดทำ/ ผู้แก้ไข	ผู้ทบทวน/ ผู้รับรอง	ผู้อนุมัติใช้	วันที่ ประกาศใช้
		<p>กำลังขยาย 10x, 40x ตามลำดับ# ให้เพิ่มข้อความ ต่อท้ายว่า “โดยใช้วิธีการตรวจดู ให้ทั่วทุกพื้นที่ของ cover glass ขนาด 22x22 mm ด้วยเลนส์ ใกล้วัตถุกำลังขยาย 10x เมื่อพบ บริเวณที่สงสัยว่าจะมีเชื้อรา ให้ ตรวจดูรายละเอียดด้วยเลนส์ใกล้ วัตถุกำลังขยาย 40x อย่างน้อย 20 วงกลิ้ง”</p> <ul style="list-style-type: none"> จากข้อความเดิมในข้อ 8.1 “ให้ ใช้ห้องชุดเชื้อราซึ่งกันเป็นห้อง แยกออกจากห้องเจาะเลือดและ พ้นจากสายตาผู้ไม่เกี่ยวข้องใน การเก็บตัวอย่าง” แก้ไขเป็น “ให้ ใช้พื้นที่ชุดเชื้อราซึ่งจัดไว้บริเวณ ด้านหลังห้องปฏิบัติการและพ้น จากสายตาผู้ไม่เกี่ยวข้องในการ เก็บตัวอย่าง” ข้อ 8.2 เดิมใช้ข้อความว่า “กรณี เก็บตัวอย่างในตำแหน่งใต้ร่มผ้า ควรเก็บตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่ซึ่ง เป็นเพศเดียวกันกับผู้ป่วย” ได้ แก้ไขโดยการเพิ่มข้อความ ต่อท้ายว่า “และควรไปขอเก็บ ตัวอย่างที่ห้องฉุกเฉิน” ข้อ 8.6 เดิมใช้ข้อความว่า “เช็ด ทำความสะอาดบริเวณเก็บ ตัวอย่างทุกครั้งที่เก็บตัวอย่าง เสร็จรายต่อราย” ได้แก้ไขเป็น “เช็ดทำความสะอาดสถานที่ บริเวณเก็บตัวอย่างทุกครั้งทั้ง ก่อนและหลังการเก็บตัวอย่าง รายต่อราย” เพิ่มข้อ 8.7 วิธีการทำความสะอาด พื้นผิวของร่างกายผู้ป่วย 				



ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร: WI-LAB-086: วิธีปฏิบัติงานเรื่องการตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (Fungus: KOH preparation)

วัน/เดือน/ปี ที่แก้ไข/ ทบทวน	ฉบับ แก้ไข ครั้งที่	รายการที่แก้ไข	ผู้จัดทำ/ ผู้แก้ไข	ผู้ทบทวน/ ผู้รับรอง	ผู้อนุมัติใช้	วันที่ ประกาศใช้
		<p>บริเวณใช้เก็บตัวอย่าง โดยระบุรายละเอียด</p> <ul style="list-style-type: none">• ข้อ 10.6 เพิ่มข้อความต่อท้าย No fungal elements seen ว่า “หรือ Not found”• เพิ่มชื่อรายการเอกสารอ้างอิง ข้อ 21.5 วิธีปฏิบัติงานย่อ เรื่อง วิธีการใช้น้ำยา 10% KOH(CF- LAB-034)				



แผนกพยาธิวิทยา

โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง

การตรวจหาเชื้อราด้วยโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์

(Fungus: KOH preparation)

WI-LAB-086

แก้ไขครั้งที่ 5

ผู้จัดทำ

(นางสาวอัญชิษฐา โยธาจันทร์)

ผู้จัดการวิชาการจุลชีววิทยาคลินิก

7 กรกฎาคม 2568

ผู้ทบทวน พ.ต.หญิง

(ทรรษา จันทร์สงเคราะห์)

ผู้จัดการคุณภาพ

7 กรกฎาคม 2568

ผู้จัดการคุณภาพ

7 กรกฎาคม 2568

ผู้อนุมัติ

พ.อ.

(ฉัตรมงคล คนขยัน)

ผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ

7 กรกฎาคม 2568

วันที่ประกาศใช้: 7 กรกฎาคม 2568