

สอบสวนเอกสาร

ในบรรดาทริโคโมแนสด้วยกัน Trichomonas vaginalis Donne เป็นปรสิตโปรโตซัวที่ได้รับความนิยมมากที่สุด ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับ T. vaginalis อย่างกว้างขวางครั้งนี้ ศึกษาปรากฏลักษณะโดยละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โครงสร้างและองค์ประกอบทางชีววิทยา ชีวเคมี การเพาะเลี้ยง การเกิดพยาธิสภาพระบาดวิทยา การวินิจฉัยรักษาและป้องกันโรค ผลงานต่าง ๆ เหล่านี้ได้รับการรวบรวมเข้าไว้ด้วยกันโดย Trussell (1943), Shorb (1964), Jirovec and Petru (1968), Hoffman (1966a) and Honigberg (1970)

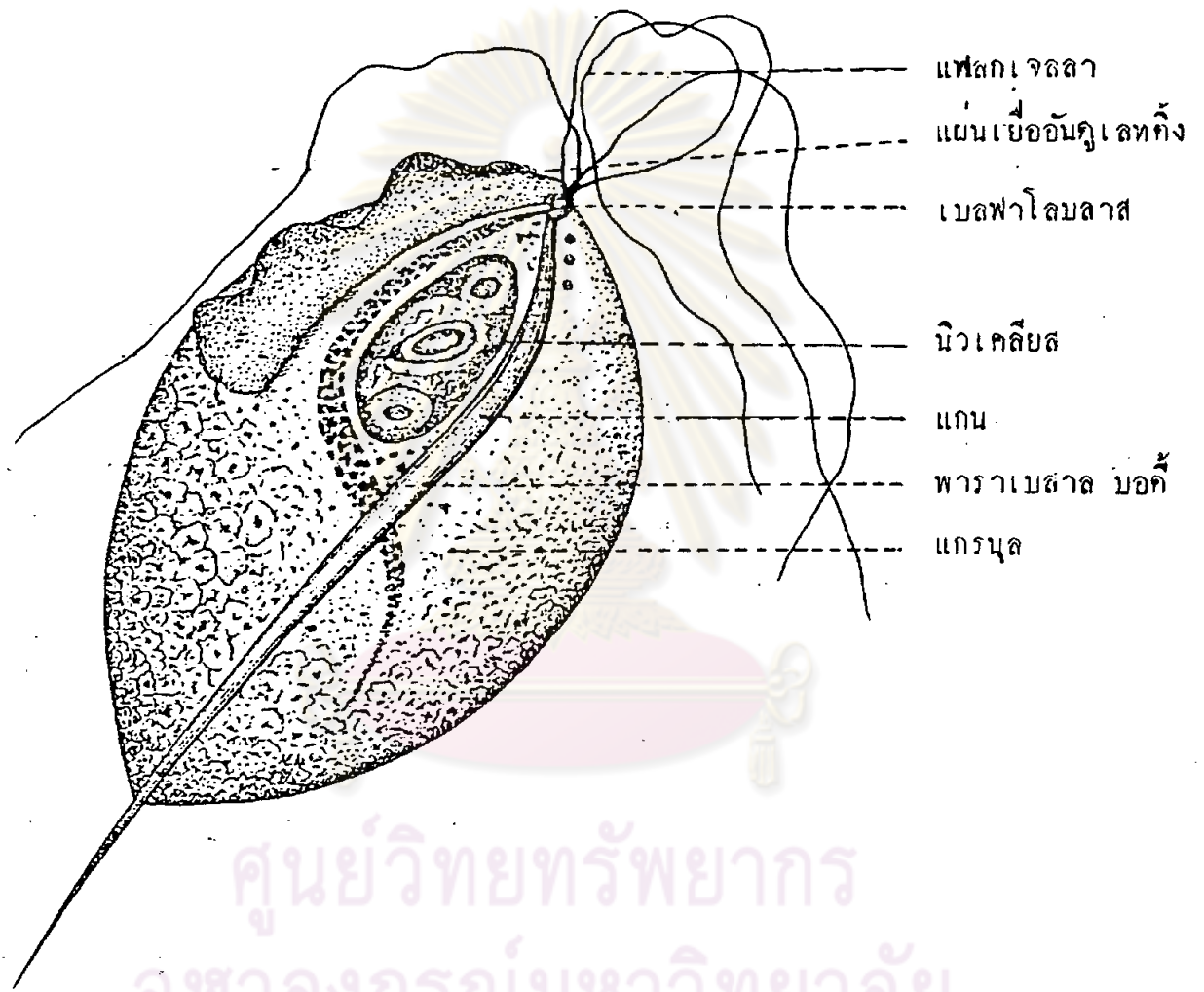
Alfred Donne (1836) เป็นคนแรกที่ได้บรรยายลักษณะของ T. vaginalis และจัดให้อยู่ในจีนัสใหม่ว่า Trichomonas vaginale สองปีต่อมาได้มีการสนับสนุนการค้นพบนี้และให้ชื่อใหม่ว่า Trichomonas vaginalis หลังจากนั้นเรื่องราวเกี่ยวกับ T. vaginalis ก็ไม่ได้รับความนิยมเท่าที่ควร จนกระทั่งปี 1916 Hoehne (cited by Candiani, et al, 1973) จึงพบว่า T. vaginalis ทำให้เกิดโรคในคน และเรียกโรคนี้ว่า "Trichomonadenkolpitis (trichomoniasis)"

ปัจจุบัน T. vaginalis ถูกจัดไว้ใน Phylum Protozoa; Superclass Mastigophora Diesing, 1866; Class Zoomastigophora Calkins, 1910; Order Trichomonadina Kirby, 1947; Family Trichomonadidae Chalmers and Pekola, 1981 (Kirby, 1946); Subfamily Trichomonadinae Honigberg, 1963; Genus Trichomonas Donne, 1836.

Trichomonads ที่อาศัยอยู่ในคนมี 3 สปีชีส์คือ T. vaginalis, T. hominis และ T. tenax เฉพาะ T. vaginalis เท่านั้นที่ทำให้เกิดโรคได้ โดยก่อให้เกิดพยาธิสภาพในระบบอวัยวะสืบพันธุ์และระบบขับปัสสาวะ ส่วน T. tenax และ T. hominis จะอาศัยในคนแบบพึ่งพาอาศัย (commensals) โดยอาศัยที่เหงือกและลำไส้ใหญ่ตามลำดับ T. vaginalis มีรูปร่างเป็นรูปไข่ บางครั้งอาจจะกลมขนาดยาว 4-32 μ กว้าง 2.4-14.4 μ มีแฟลกเจลลาทางด้านหน้า 4 เส้น ปลายแฟลกเจลลาโค้งเหมือนตะขอ แผ่นเยื่ออันคูลเลตติ้ง (undulating membrane) ยาวประมาณ 2/3 ของลำตัว ขอบด้านนอกของแผ่นเยื่ออันคูลเลตติ้งที่เป็นอิสระมีฟีลาเมนต์ (filament) และรีคอร์เรนต์ แฟลกเจลลา (recurrent flagella) มีแกน (axostyle) ยื่นออกไปนอกลำตัว ทางด้านหลังเรียกว่า แฟลกเจลลาด้านหลัง (posterior flagella) หรือ แฟลกเจลลาเส้นที่ 5 ซึ่งใช้สำหรับยึดเกาะเท่านั้น ในไซโทพลาสซึมจะพบแกรนูล (granule) มีคอस्ता (costa) อยู่ใกล้กับทวนทางด้านหน้า ส่วนปลายของคอस्ताมักจะงอแผ่นเยื่ออันคูลเลตติ้งปิดไว้ มีพาราเบสาลบอดี้ (parabasal body) ซึ่งมีฟีลาเมนต์ติดอยู่ควาย นิวเคลียสรูปร่างคล้ายกระสวยหรือรูปไข่อยู่ทางด้านหน้าของลำตัว และภายในมีนิวคลีโอลัสเป็นรูปรี ๆ ด้านหน้าคือนิวเคลียสเป็น เบลฟาร์โอบลาสต์ (blepharoplast) ซึ่งเป็นฐานของแฟลกเจลลาทางด้านหน้า

T. vaginalis ไม่มีปาก (cytostome) กินอาหารโดยวิธีออสโมซิส และฟาโกไซโตซิส การสืบพันธุ์เป็นแบบไมอิกซ์เพส แบ่งตัวจาก 1 เป็น 2 ตามแนวยาว T. vaginalis ไม่มีการสร้างซีสต์ (encystation) สามารถติดต่อกจากโฮสต์หนึ่งไปยังอีกโฮสต์หนึ่งโดยการมีเพศสัมพันธ์ (Honigberg and King, 1964)

T. vaginalis เป็นปรสิตที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อระบบสืบพันธุ์และระบบขับปัสสาวะของคน อาการของโรคที่ปรากฏคือ จะมีตกขาวเป็นฟองคล้ายหนองสีเหลืองปนขาว คันที่ช่องคลอด อวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะของคลอด ปากมดลูกมีอาการอักเสบมีลักษณะเฉพาะเป็นจุด เลือดออกขนาดเท่าหัวเข็มหมุดที่บริเวณปากมดลูก



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างและองค์ประกอบภายในของ Trichomonas vaginalis



รูปที่ 1 แสดงภาพถ่ายของ Trichomonas vaginalis (5,000X)
จากผู้ป่วย

และอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกของผู้หญิง ซึ่งเรียกว่า "strawberry vaginitis" แต่เดิมเข้าใจว่าโรคพยาธิทริโคโมแนสนี้พบเฉพาะในผู้หญิงเท่านั้น แต่ในระยะต่อมาพบว่าโรคนี้เกิดได้ทั้งในผู้หญิงและผู้ชาย แต่ผู้ป่วยหญิงเท่านั้นที่จะแสดงอาการของโรคให้เห็นชัด ผู้ป่วยชายมักไม่มีอาการหรือมีเพียงเล็กน้อย ผู้ป่วยชายจึงกลายเป็นแหล่งแพร่เชื้อโรคที่ยากต่อการควบคุม ดังนั้นการวินิจฉัยโรคในปัจจุบันจึงต้องอาศัยการศึกษาทางค่านิโมโนเข้ามาช่วย ประโยชน์ของการศึกษาทางค่านิโมโน นอกจากจะช่วยในการวินิจฉัยโรค การตรวจคุณสมบัติของการรักษาและวิเคราะห์การคือยาของเชื้อแล้ว ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางอนุกรมวิธานได้เช่นเดียวกันกับการศึกษาทางค่านีโอเล็คโตรฟอร์ซิส ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่า การศึกษาความแตกต่างทางค่านิโมโน และความแตกต่างที่ได้จากการศึกษาทางค่านีโอเล็คโตรฟอร์ซิสของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในพวกจุลินทรีย์และโปรโตซัว มีประโยชน์ต่อการศึกษาอนุกรมวิธานเป็นอย่างยิ่ง โดยสามารถนำมาใช้ในการพิจารณาความสัมพันธ์ทางค่านพันธุกรรมเพื่อเป็นการยืนยันตำแหน่งในสายวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต หรือช่วยในการจัดตำแหน่งใหม่ให้ถูกต้อง เพื่อช่วยในการจำแนกไฟท์ให้ละเอียดขึ้น โดยใช้ร่วมกับการพิจารณารูปร่าง ลักษณะ ถิ่นกำเนิดที่อยู่อาศัย ตามสภาพภูมิประเทศ หรือตามโฮสต์ที่สิ่งมีชีวิตนั้น ๆ อาศัยอยู่ (Brodie and Ryckman, 1967; Reeves and Bischoff, 1968; Carter and Walliker, 1977)

การศึกษาความแตกต่างทางค่านิโมโนใน T. vaginalis พบว่า T. vaginalis ที่ได้จากคนไข้ต่าง ๆ ให้นำผลทางค่านิโมโนไม่เหมือนกัน ทำให้สามารถจำแนก T. vaginalis ออกเป็นเซอโรไทป์ (serotype) ได้หลายแบบ แตกต่างกันไปมากบางน้อยบาง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการทดลองและจำนวนตัวอย่างที่นำมาทดลอง เช่น Magara (1957) ศึกษา T. vaginalis จำนวน 7 ตัวอย่างพบว่ามิเชอโรไทป์สองแบบ Kott and Adler (1961) ศึกษา T. vaginalis จำนวน 19 ตัวอย่างพบว่ามิเชอโรไทป์แปดแบบและ Hoffman and Gorczynski (1964) พบเซอโรไทป์ห้าแบบ

การทดลองทางค่านิยมโนเกี่ยวกับเชอโรไฟท์ที่น่าสนใจมากที่สุดได้แก่การทดลองของ Estonian group (1963-1966 cited by Honigberg, 1970) ซึ่งทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีแอกกลูติเนชัน และคอมพลีเมนต์ ฟิกเซชัน กับ T. vaginalis ที่ได้จากผู้ป่วยในยุโรปตอนกลางและยุโรปทางก้านตะวันออกซึ่งคลุมพื้นที่กว้างขวางมาก ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนก T. vaginalis เป็น 4 เชอโรไฟท์ คือ TLR, TN, TRT และ TR ซึ่งเขาได้ยึดถือเชอโรไฟท์ทั้งสี่ตัวนี้เป็นพื้นฐานสำหรับเปรียบเทียบผลของการศึกษาทางค่านิยมโนต่อไป อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับการจำแนกไฟท์ของ T. vaginalis ทางค่านิยมโนก็ยังไม่สามารถหาข้อยุติได้เนื่องจากความแตกต่างของวิธีทดลอง สถานที่ทดลอง และตัวอย่างของ T. vaginalis ที่นำมาทดลองเช่นเดียวกับการจำแนกไฟท์ของ T. vaginalis โดยอาศัยเทคนิคทางอีเล็กโตรฟอริซิส

การจำแนกไฟท์ของ T. vaginalis โดยอาศัยเทคนิคทางอีเล็กโตรฟอริซิส เริ่มจากกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นคือ Takayanaki, Enriquez and Kambara (1971) ได้ศึกษาเรื่อง อะมัยเลสไอโซไซม์ ของ T. vaginalis ที่พบในผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลต่าง ๆ ในประเทศญี่ปุ่น โดยใช้เทคนิคของเซลลูโลส เจล อีเล็กโตรฟอริซิส (cellosize gel electrophoresis) พบว่า T. vaginalis จำนวน 258 สายพันธุ์บริสุทธิ์ ที่ได้จากผู้ป่วย 65 คน มีไอโซไซม์ 8 ไอโซไซม์ จัดแบ่งได้เป็น 9 รูปแบบ นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นอีกคนคือ Tanaka (1971) ศึกษาไอโซไซม์ของเอ็นไซม์มาเลท ดีไฮโดรจีเนส ใน T. vaginalis จำนวน 11 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคของอะซิเตท เซลลูโลส อีเล็กโตรฟอริซิส และคิสต์ อีเล็กโตรฟอริซิส ผลการทดลองแตกต่างกันดังนี้คือ การใช้เทคนิค อะซิเตท เซลลูโลส อีเล็กโตรฟอริซิส พบว่า มีไอโซไซม์ของเอ็นไซม์มาเลท ดีไฮโดรจีเนส 3 ไอโซไซม์ และไม่สามารถแยกความแตกต่างของทั้งสามไอโซไซม์ออกจากกันได้ โดยเด็ดขาด ส่วนการใช้เทคนิค คิสต์ อีเล็กโตรฟอริซิส พบว่า มีไอโซไซม์ของเอ็นไซม์มาเลท ดีไฮโดรจีเนส 8 ไอโซไซม์ สามารถแยกไอโซไซม์ออกจากกันได้

ด้วยเครื่องเดินลิโตนีเตอร์ วัดความเข้มของสีย้อมที่ติดอยู่ที่แถบของไอโซไซม์ และ วัดตำแหน่งที่ไอโซไซม์เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าอเล็กโตรฟอร์ซีส ทำให้สามารถจำแนก ชนิดของ T. vaginalis ออกตามรูปแบบของไอโซไซม์ได้เป็น 5 ไทป์ คือ SD, OS, TC, TF และ TB ไทป์ สำหรับ OS และ TF ไทป์ พบว่ามี จำนวนและชนิดของไอโซไซม์เหมือนกัน คือ ทั้งสองชนิดประกอบด้วยไอโซไซม์แถบ ที่ 2,4,5 และ 6 แต่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้ โดยพบว่า ไอโซไซม์แถบที่สองที่พบใน OS ไทป์ มีความสามารถสูง คือ ติดสีย้อมเข้มกว่าไอโซไซม์ แถบที่สองของ TF ไทป์ ซึ่งมีความสามารถต่ำ

การศึกษาเกี่ยวกับอเล็กโตรฟอร์ซีสในยุโรปโดย Andreeva and Mihov (1976) ได้ศึกษาอเล็กโตรฟอร์ซีสของโปรตีนของ T. vaginalis จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคโพลีอะครีลาไมด์ เจล ดิสค อเล็กโตรฟอร์ซีส พบว่า สามารถจำแนก T. vaginalis ออกตามรูปแบบของอเล็กโตรฟอร์ซีส ได้เป็น 5 ไทป์

การศึกษาในประเทศไทย สุภาพรณ์ (2522) ศึกษาเอ็นไซม์กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส ของ T. vaginalis ในกรุงเทพมหานคร โดยใช้เทคนิค สตาร์ช เจล อเล็กโตรฟอร์ซีส ผลการศึกษาพบว่า T. vaginalis จำนวน 100 สายพันธุ์บริสุทธิ์ ที่ได้จากผู้ป่วยโรคพยาธิทริโคโมแนส 50 ตัวอย่าง มีไอโซไซม์ 9 ไอโซไซม์ และสามารถจัดแบ่ง T. vaginalis ได้เป็น 7 ไทป์ โดยเรียกแถบ ของไอโซไซม์ที่ปรากฏอยู่บนเจลภาย หลังการย้อมดังนี้

ไอโซไซม์แถบที่ 1 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังซ้ายวกเป็นระยะ ทาง 10 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานต่ำหรือติดสีจาง

ไอโซไซม์แถบที่ 2 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังซ้ายวกเป็นระยะ ทาง 6.8 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ที่มีการทำงานสูงหรือติดสีเข้ม

ไอโซไซม์แถบที่ 3 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 3.8 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานต่ำ

ไอโซไซม์แถบที่ 4 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 3.7 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานต่ำ

ไอโซไซม์แถบที่ 5 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 3.4 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานสูง

ไอโซไซม์แถบที่ 6 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 3.1 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานสูง

ไอโซไซม์แถบที่ 7 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 2.8 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานสูง

ไอโซไซม์แถบที่ 8 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 2.5 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานสูง

ไอโซไซม์แถบที่ 9 เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้นไปยังขั้วบวกเป็นระยะทาง 0.5 เซนติเมตร เป็นไอโซไซม์ชนิดที่มีการทำงานสูง

จากการเรียงตัวของกลุ่มไอโซไซม์ของเอ็นไซม์กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส ที่พบใน T. vaginalis จำนวน 100 สายพันธุ์บริสุทธิ์ สุภาภรณ์ (2522) ได้จัดแบ่ง T. vaginalis ออกเป็น 7 ไทป์ ดังนี้ (แผนภาพที่ 2)

T. vaginalis ไทป์ที่หนึ่ง มีไอโซไซม์ของเอ็นไซม์กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส แบบที่หนึ่ง (GPI₁) ประกอบด้วยไอโซไซม์แถบที่ 1, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9

T. vaginalis ไทป์ที่สอง มีไอโซไซม์ของเอ็นไซม์กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส แบบที่สอง (GPI₂) ประกอบด้วยไอโซไซม์แบบที่ 2, 6, 7 และ 8

T. vaginalis ไทฟ์ที่สาม มีไอโซไซม์ของเอนไซม์กลูโคส ฟอสเฟต
ไอโซเมอเรส แบบที่สาม (GPI₃) ประกอบด้วยไอโซไซม์แถบที่ 4,6,7 และ 8

T. vaginalis ไทฟ์ที่สี่ มีไอโซไซม์ของเอนไซม์กลูโคส ฟอสเฟต
ไอโซเมอเรส แบบที่สี่ (GPI₄) ประกอบด้วยไอโซไซม์แถบที่ 3,4,5,6,7 และ 8

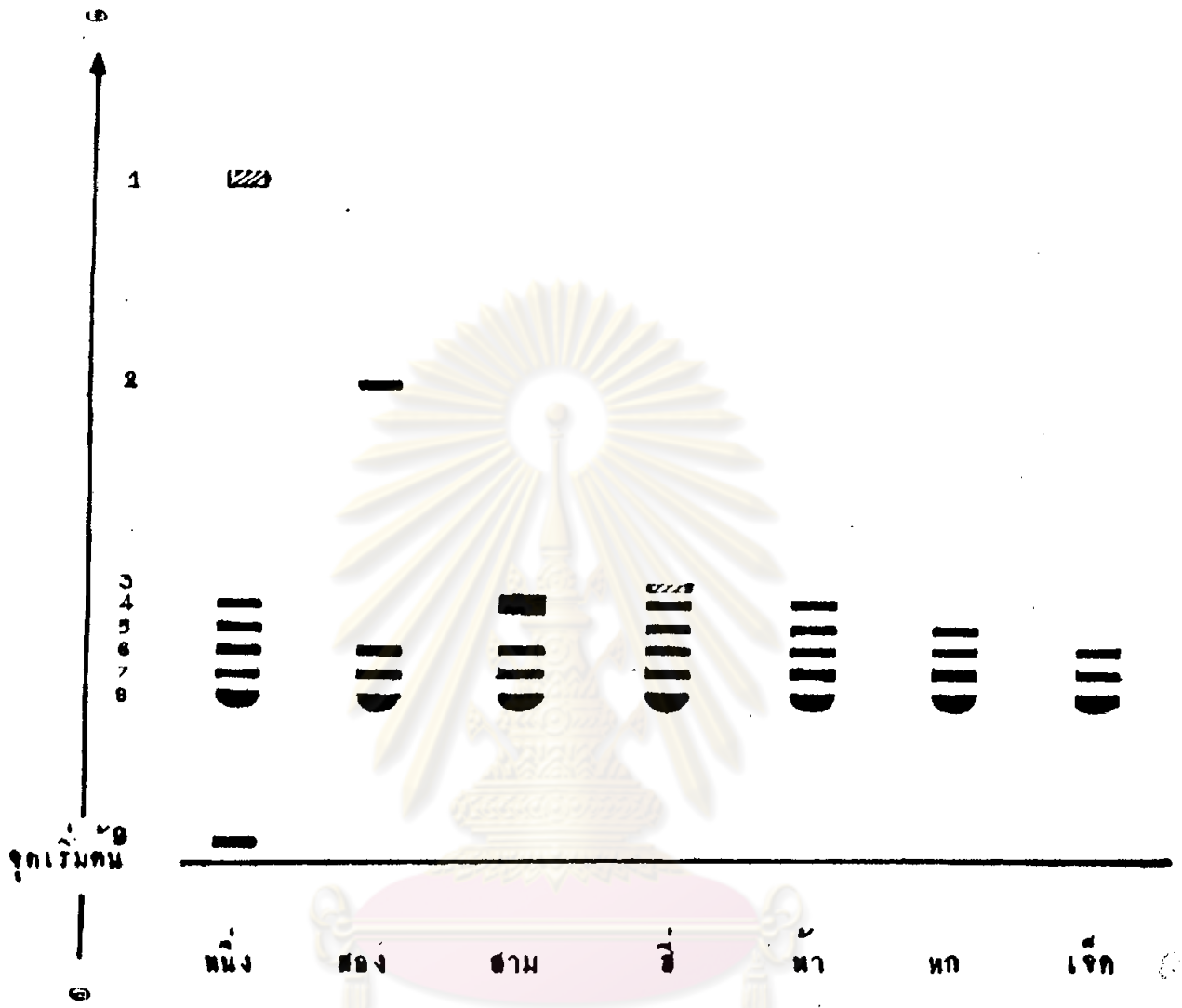
T. vaginalis ไทฟ์ที่ห้า มีไอโซไซม์ของเอนไซม์กลูโคส ฟอสเฟต
ไอโซเมอเรส แบบที่ห้า (GPI₅) ประกอบด้วยไอโซไซม์แถบที่ 4,5,6,7 และ 8

T. vaginalis ไทฟ์ที่หก มีไอโซไซม์ของเอนไซม์กลูโคส ฟอสเฟต
ไอโซเมอเรส แบบที่หก (GPI₆) ประกอบด้วยไอโซไซม์แถบที่ 5,6,7 และ 8

T. vaginalis ไทฟ์ที่เจ็ด มีไอโซไซม์ของเอนไซม์กลูโคส ฟอสเฟต
ไอโซเมอเรส แบบที่เจ็ด (GPI₇) ประกอบด้วยไอโซไซม์แถบที่ 6,7 และ 8

ความถี่ของการพบไอโซไซม์แต่ละไทฟ์ใน T. vaginalis จำนวน
100 สายพันธุ์บริสุทธิ์ มีดังนี้ ไทฟ์ที่หนึ่งพบ 2%, ไทฟ์ที่สองพบ 2%, ไทฟ์ที่สาม
พบ 8%, ไทฟ์ที่สี่พบ 10%, ไทฟ์ที่ห้าพบ 29%, ไทฟ์ที่หกพบ 24% และ
ไทฟ์ที่เจ็ดพบ 25% และพบความแตกต่างระหว่าง 2 สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่แยกมาจาก
คนไข้คนเดียวกัน 2 ตัวอย่าง ใน 50 ตัวอย่าง หรือ 4%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แผนภาพที่ 2

แสดงไอโซไซม์จำนวน 7 แบบ (แบบที่หนึ่ง-เจ็ด จากซ้ายไปขวา) ที่พบจากการศึกษาเอ็นไซม์กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส โควิวิสตาร์ซ เจอ อีเล็กโทรโฟริซิส ของ Trichomonas vaginalis จำนวน 242 สไลด์ที่เก็บสุทธิ สไลด์ที่มีเส้นขวางแสดงถึงไอโซไซม์ที่มีการทำงานต่ำ สไลด์ที่มีเส้นทึบแสดงถึงไอโซไซม์ที่มีการทำงานสูง (สุภาภรณ์, 2522)