บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการพัฒนาวัคซีนป้องกันมาลาเรียเนื่องมาจากความหลากหลายของเชื้อมาลาเรีย ซึ่งมีความแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นการทราบถึงขอบเขตของความหลากหลายดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาวัคซีนป้องกันมาลาเรียในอนาคต

การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมได้มีผู้ทำการศึกษาโดยอาศัยคุณสมบัติแตกต่างกัน อาทิเช่น ความไวต่อยา ไอโซเอนไซม์ โปรตีน คุณสมบัติทางภูมิคุ้มกันวิทยา และแอนติเจน เป็นตัวบ่งชี้ ซึ่งได้ทำการศึกษาทั้งในระดับกลุ่มประชากรและไอโซเลตรวมทั้งการศึกษาถึงความหลากหลายของ MSP-1 และ MSP-2 (Tanabe et al.., 1987; Kimura et al., 1990; Snewin et al., 1991; Smythe et al., 1991)

เชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมในประเทศไทยนั้นก็ได้มีการศึกษาถึงความหลากหลายของแอนติเจนเช่นกัน โดย Jongwutiwes และคณะ ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของ MSP-1 ในเชื้อมาลาเรียที่เก็บจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก จำนวน 19 ไอโซเลต (Jongwutiwes et al., 1992) ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาความหลากหลายของแอนติเจนยีน MSP-1 และ MSP-2 ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมที่เก็บจากพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรียใน 4 จังหวัด จำนวน 97 ไอโซเลต 3 สายพันธุ์ โดยอาศัยปฏิกิริยา PCR และดีเอ็นเอติดตามที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนยีนทั้ง 2 ชนิดของเชื้อมาลาเรีย

สำหรับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อ P. falciparum โดยใช้ดีเอ็นเอติดตามที่มีความจำเพาะต่อ MSP-1 เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลการไฮบริไดเซชันระหว่างดีเอ็นเอของเชื้อ P. falciparum กับดีเอ็นเอติดตามที่มีความจำเพาะต่อ MSP-1 พบว่าลักษณะการกระจายของยีน MSP-1 ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม ในพื้นที่ 4 จังหวัดมีลักษณะคล้ายกัน กล่าวคือพบทั้ง 3 อัลลีลได้แก่ K1 MAD20 และ RO33 ในทุกท้องที่และอัลลีลที่พบมากที่สุดในทุกพื้นที่ได้แก่อัลลีล MAD20 รองลงมาได้แก่ K1 และ RO33 ยกเว้นในพื้นที่อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งพบว่ามี อัลลีล RO33 มากกว่าอัลลีล K1

(รูปที่ 26A) แสดงให้เห็นว่า MAD20 เป็นลักษณะเด่นของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมในประเทศไทย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jongwutiwes และคณะที่ทำการศึกษาในเชื้อมาลาเรียที่เก็บจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก จำนวน 19 ไอโซเลต พบอัลลีล MAD20 ถึง 74% ส่วนอัลลีล K1 และ RO33 พบ 21% และ 16% ตามลำดับ (Jongwutiwes et al., 1992) และแตกต่างจากผลการศึกษาในประเทศบราซิล (Kimura et al.,1990) โคลัมเบีย (Snewin et al., 1991) และ ซีนีกรัล (Scherf et al., 1991) ซึ่งพบว่าอัลลีล RO33 เป็นลักษณะเด่นที่สุดในประเทศดังกล่าว ความถี่ที่พบอัลลีล MAD20 ในพื้นที่จังหวัดตาก กาญจนบุรี ตราด และ ชลบุรี พบว่ามี 70% 85% 92.5% และ 80% ตามลำดับ ขนาดของผลิตผล PCR ของยีน MSP-1 มีขนาดระหว่าง 400-580 คู่เบส (รูปที่ 24A) โดยอัลลีล K1 มีขนาดระหว่าง 450-580 คู่เบส และขนาดที่พบมากที่สุดได้แก่ 450 และ 500 คู่เบส อัลลีล MAD20 มีขนาดระหว่าง 400-560 คู่เบสและขนาดที่พบมากที่สุดได้แก่ 450 คู่เบส สำหรับอัลลีล RO33 มีขนาดเดียวคือ 450 คู่เบส เนื่องจากอัลลีล RO33 ไม่มีส่วนของลำดับกรดอะมิโนที่ซ้ำซ้อนกัน (Certa et al., 1987; Peterson et al., 1988)

ส่วนผลการไฮบริไดเซชันระหว่างดีเอ็นเอของเชื้อ P. falciparum กับดีเอ็นเอติดตามที่มีความจำเพาะต่อ MSP-2 พบว่ามีลักษณะการกระจายของยีน MSP-2 คล้ายกันในทุกพื้นที่ อัลลีลที่พบมากที่สุดในพื้นที่จังหวัดตาก กาญจนบุรี ตราด และ ชลบุรี ได้แก่ IC1 โดยมีความถี่ที่พบเป็น 55% 95% 62.5% และ 60% ตามลำดับ รองลงมาได้แก่อัลลีล FC27 โดยมีความถี่ที่พบเป็น 35% 30% 52.5% และ55% ตามลำดับ (รูปที่ 26B) เมื่อเปรียบเทียบขนาดของอัลลีลทั้ง 2 ชนิด พบว่ามีขนาดระหว่าง 400-740 คู่เบส แต่อัลลีล IC1 มีความแตกต่างของขนาดอยู่ในช่วงที่กว้างกว่าอัลลีล FC27 โดยอัลลีล IC1 มีขนาดระหว่าง 410-740 คู่เบส ส่วนอัลลีล FC27 มีขนาดระหว่าง 400-660 คู่เบส ขนาดของอัลลีล IC1 ที่พบมากที่สุดได้แก่ 560 และ 600 คู่เบส แต่ขนาดของอัลลีล FC27 ที่พบมากที่สุดได้แก่ 500 คู่เบส (รูปที่ 24B) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อมาลาเรียจำนวน 11 ไอโซเลตไม่ให้ผลไฮบริไดซ์กับดีเอ็นเอติดตามทั้ง 2 ชนิดของ MSP-2 เลย ถึงแม้ว่าจะมีแถบปรากฏอยู่บนอะกาโรสเจลก็ตาม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิด intragenic recombination ในบริเวณ variable block มีผลทำให้ลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนใดส่วนหนึ่งขาดหายไป โดยเฉพาะบริเวณที่เป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอติดตาม ทำให้ดีเอ็นเอติดตามไม่สามารถจับ (bind) กับดีเอ็นเอของเชื้อมาลาเรียได้ หรืออาจเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนที่ใช้เป็นดีเอ็นเอติดตาม ทำให้ดีเอ็นเอ

ติดตามไม่สามารถจดจำลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ จึงไม่ทำให้เกิดการไฮบริไดเซชัน มีรายงานการศึกษาของ Smythe และ คณะ ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของ MSP-2 ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมจากประเทศต่างๆ โดยอาศัยการไฮบริไดเซชันกับดีเอ็นเอติดตามและสามารถจำแนกตามผลการไฮบริไดซ์ออกเป็น 3 กลุ่มคือ IC1 FC27 และพวกที่ไม่เกิดการไฮบริไดเซชันกับดีเอ็นเอติดตาม ซึ่งคาดว่ากลุ่มสุดท้ายนั้นอาจจะเป็นรูปแบบใหม่ของ MSP-2 ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน (Smythe et al., 1990) นอกจากนี้ Snewin และคณะ ได้ทำการศึกษาในทำนองเดียวกันนี้ในประเทศโคลัมเบีย พบว่าบางไอโซเลตไม่สามารถไฮบริไดซ์กับดีเอ็นเอติดตามทั้งสองชนิดเหมือนกัน เมื่อนำไอโซเลตดังกล่าวมาศึกษาการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า มีการขาดหายไปบางส่วนของกรดอะมิโนที่มีลักษณะซ้ำซ้อนซึ่งเป็นบริเวณที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอติดตาม จึงทำให้ไม่เกิดการไฮบริไดเซชัน (Snewin et al., 1991) ซึ่งสันนิฐานว่าการขาดหายนั้นอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่าง 2 อัลลีลขณะที่เกิดกระบวนการไมโอซีส

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลการไฮบริไดเซชันของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมที่ได้นำการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ส่วนใหญ่เป็นประชากรมาลาเรียชนิดผสม (mixed population) ซึ่งจากการศึกษาของ Thaithong และคณะ ที่ได้ทำการแยกสายพันธุ์บริสุทธิ์ของเชื้อฟัลซิพารัมไอโซเลต T9 ที่เก็บจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก พบว่าเชื้อจากไอโซเลต T9 นี้ ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางฟีโนไทป์ได้ถึง 7 แบบ (Thaithong et al., 1984) แสดงให้เห็นว่าเชื้อมาลาเรียที่พบอยู่ในธรรมชาตินั้น มีคุณลักษณะที่แตกต่างกันไปได้มากมายหลายแบบ เชื้อที่เก็บจากผู้ป่วยคนเดียวนั้นอาจจะมีประชากรของเชื้ออยู่หลายกลุ่ม ซึ่งเชื้อแต่ละกลุ่มก็มีพันธุกรรมที่แตกต่างกันไป ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อ P . falciparum มีการติดเชื้อแบบผสมได้หลายแบบ โดยมีรูปแบบของการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-1 ตามผลการไฮบริไดซ์หลายแบบ ได้แก่ K1/MAD20 (22%) K1/RO33 (4%) MAD20/RO33 (15%) และ K1/MAD20/RO33 (17%) ส่วนการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-2 ได้แก่ IC1/FC27 (23%) จะเห็นได้ว่าความถี่ของการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-1 สูงกว่า MSP-2 เนื่องมาจากผลของการเกิด intragenic recombination ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดความหลากหลายของแอนติเจนใน MSP-1 ความถี่ของการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-1 ในพื้นที่จังหวัดตาก กาญจนบุรี ตราด และ ชลบุรี มีค่าเท่ากับ 35% 50% 65% และ 75% ตามลำดับ ส่วนการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-2 ในพื้นที่ดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 15% 25% 27.5% และ 20% ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบ

เทียบความสัมพันธ์ระหว่าง MSP-1 และ MSP-2 พบว่าแอนติเจนยีนทั้งสองชนิดนี้มีความสัมพันธ์แบบไม่ขึ้นต่อกัน อาจเนื่องมาจากว่าแอนติเจนยีนทั้งสองชนิดอยู่บนโครโมโซมต่างแท่งกัน โดย MSP-1 อยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 9 ในขณะที่ MSP-2 อยู่บนโครโมโซม แท่งที่ 2 (Kemp et al., 1987) แต่ถ้าพิจารณาถึงการติดเชื้อแบบผสมของแอนติเจนยีนทั้งสองชนิดนี้รวมกันจะทำให้ได้รูปแบบของการติดเชื้อแบบผสมมากขึ้นภายในกลุ่มประชากรมาลาเรีย ทำให้เกิดความหลากหลายของยีนมากยิ่งขึ้น จะเห็นได้ว่าเชื้อมาลาเรียที่เก็บจากจังหวัดตาก กาญจนบุรี ตราด และ ชลบุรี มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม อาจเนื่องมาจากประชาชนมีการอพยพย้ายถิ่นบริเวณชายแดนไทย-กัมพูชา และ ไทย-พม่า ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อมาลาเรียมาก เพราะมีโครงการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมต่างๆ ทำให้มีการอพยพเคลื่อนย้ายแรงงานจำนวนมากเข้าไปในดินแดนดังกล่าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งระหว่างจังหวัดตากและตราด ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอาชีพขุดพลอย ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้พอสรุปได้ว่าเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมที่พบในประเทศไทยในแต่ละภูมิภาคมีการกระจายทางด้านภูมิศาสตร์ที่คล้ายคลึงกันและความถี่ที่พบในแต่ละอัลลีลของยีน MSP-1 และ MSP-2 มีความคงที่ ถึงแม้ว่าจะเก็บต่างสถานที่และต่างเวลากันก็ตาม

เนื่องจากเชื้อมาลาเรียมีระยะต่างๆในการเจริญเติบโตหลายระยะและมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งในธรรมชาตินั้น การเกิดยีนมิวเตชันและยีนรีคอมบิเนชันเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดความแตกต่างแปรผันในองค์ประกอบทางพันธุกรรม (genetic variation) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยสงเสริมให้มีความแตกต่างแปรผันทางพันธุกรรมมากยิ่งขึ้นและสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นถัดไปได้อย่างต่อเนื่อง สำหรับใน MSP-1 นั้น จากการศึกษาในระดับนิวคลีโอไทด์และดีเอ็นเอไฮบริไดเซชัน แสดงให้เห็นว่า intragenic recombination มีส่วนสำคัญในการเกิดความหลากหลายของแอนติเจนของ MSP-1 (Tanabe et al., 1987; Peterson et al., 1988) และสามารถแบ่ง MSP-1 ออกเป็นบล็อคต่างๆ ได้ถึง 17 บล็อค ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็น conserved semiconserved และ variable block ส่วนของ semiconserved และ variable blocks มีเพียง 2 รูปแบบเท่านั้น ยกเว้น variable repeat (บล็อค 2) ซึ่งพบว่ามี 3 รูปแบบ (Peterson et al., 1988; Certa et al., 1987) การเกิด intragenic recombination ระหว่างกระบวนการไมโอซีสซึ่งเกิดขึ้นภายในตัวของยุงพาหะที่ได้รับอัลลีลที่แตกต่างกันของ MSP-1 ในขณะที่ยุงกัดคน ทำให้เกิดความแตกต่างของอัลลีลขึ้น โดยบริเวณของการเกิดการแลกเปลี่ยนสาร

พันธุกรรมระหว่าง 2 อัลลีลเกิดขึ้นได้บริเวณปลายด้าน 5' ของยีน (บล็อค 1-4) และจากการศึกษาของ Jongwutiwes และ คณะ ก็พบว่ามีบริเวณของการเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมอยู่ในบล็อค 3 และ 4 (Jongwutiwes et al., 1992) นอกจากนี้ยังพบว่าการเกิด intragenic recombination ก็เกิดขึ้นได้เช่นกันใน MSP-2 (Marshal et al., 1991) การเปลี่ยนแปลงแอนติเจนนอกจากจะเป็นกลไกสำคัญอย่างหนึ่งในการหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์แล้ว ยังอาจเกี่ยวข้องกับความสามารถของเชื้อในการที่จะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงของคนด้วย (Anders., 1991) การเกิดการติดเชื้อแบบผสมอาจจะเกิดขึ้นจากการกัดของยุงเพียงครั้งเดียวโดยได้รับเชื้อที่มีอัลลีลหลายรูปแบบซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมภายในตัวยุง หรืออาจจะเกิดจากการกัดของยุงหลายครั้ง ซึ่งแต่ละครั้งได้รับเชื้อที่มีอัลลีลชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียวก็ได้ (Conway et al., 1991)

ดีเอ็นเอของเชื้อ P. falciparum แต่ละไอโซเลตถูกนำมาทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณโดยใช้ตัวควบคุมชนิดบวก (positive control) 3 ตัว ได้แก่ 3D7 HB3 และ RO33 และตัวควบคุมชนิดลบ (negative control) ซึ่งเป็นตัวควบคุมที่มีองค์ประกอบต่างๆสำหรับการทำ PCR อยู่ครบ ยกเว้นแต่ไม่มีดีเอ็นเออยู่ เมื่อนำผลิตผลจากปฏิกิริยา PCR มาแยกตามขนาดความยาวโดยใช้กระแสไฟฟ้าบน 1.5% อะกาโรสเจล และใช้ DNA molecular weight marker VI ซึ่งมีขนาด 2176 1766 1230 655 517 453 394 298 234 และ 154 คู่เบส ตามลำดับ เป็นมาตราฐานในการเปรียบเทียบ (size marker) เนื่องจากการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอในอะกาโรสเจลจะขึ้นกับขนาดของดีเอ็นเอ ดังนั้นการหาขนาดของดีเอ็นเอจึงทำได้โดยการเปรียบเทียบการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอนั้นๆกับดีเอ็นเอมาตราฐานที่ทราบขนาดแล้วนำมาเขียนกราฟมาตราฐานโดยใช้ค่าระยะทางการเคลื่อนที่และค่า log ของขนาดโมเลกุล จะได้กราฟเป็นเส้นตรง (รูปที่ 11) นอกจากการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอในอะกาโรสเจลจะขึ้นอยู่กับขนาดของดีเอ็นเอแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของ อะกาโรส ความต่างศักย์ไฟฟ้า และ บัฟเฟอร์ที่ใช้ เป็นต้น ดังนั้นขนาดของดีเอ็นเอที่หาได้โดยวิธีนี้จึงเป็นเพียงค่าประมาณเท่านั้น และเพื่อเป็นการทดสอบว่าค่าที่คำนวณขึ้นจะใช้เปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอได้ดีเพียงไร จึงศึกษาจากผลของการวัดขนาดของสายพันธุ์ T9/94 T9/94 (M1-1)b3 และ T9/94(M1-1)b6 พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์นี้มีขนาดของยีน MSP-1 และ MSP-2 ตรงกัน ทั้งนี้เป็นเพราะ 3 สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ที่ได้จากไอโซเลต T9 เดียวกัน จึงแสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ใช้ได้ดีและสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอแต่ละชิ้นได้

จากการวิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอของเชื้อ P. falciparum หลังจากผ่านกระบวนการอิเลคโทรโฟรีซีสแล้ว พบว่าผลิตผล PCR ของแอนติเจนยีนทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างของขนาดผลิตผล PCR ของ MSP-1 มีขนาดระหว่าง 400-580 คู่เบส ส่วน MSP-2 มีขนาดระหว่าง 410-740 คู่เบส จะเห็นได้ว่าผลิตผล PCR ของ MSP-2 มีช่วงความแตกต่างกันของขนาดมากกว่า MSP-1 และในบางไอโซเลตพบว่ามีจำนวนแถบที่ปรากฏบนเจลมากกว่า 1 แถบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไอโซเลต TP46 TP55 TD37 และ S76 แสดงให้เห็นว่ามีการติดเชื้อมาลาเรียที่มีขนาดอัลลีลแตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาในระดับหน่วยพันธุกรรมของยีนที่ทำหน้าที่สร้างแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียพบว่ามีโครงสร้างพื้นฐานของยีนที่แตกต่างกัน (genetic variation) เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดภาวะหลายรูปแบบ (polymorphism) กลไกที่ทำให้เกิดความแตกต่างนี้เกิดขึ้นจาก repeat variation และ intragenic recombination ใน MSP-1 นั้น repeat variation เป็นเพียงสาเหตุรองของการเกิดความหลากหลายของแอนติเจน (Holder., 1988) แต่ใน MSP-2 นั้น repeat variation เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดความหลากหลายของแอนติเจน (Smythe et al., 1988; 1990; 1991; Thomus et al., 1990) ดังนั้นความแตกต่างของการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ ขนาด และจำนวนซ้ำ (number of repeats) มีผลทำให้เกิดความแตกต่างของขนาด (size polymorphism) ของยีนในสายพันธุ์ที่ต่างกัน

จะเห็นได้ว่าจากผลการศึกษารูปแบบของแอนติเจนยีน MSP-1 และ MSP-2 ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมในประเทศไทยพบว่า แอนติเจนยีนทั้งสองชนิดนี้มีความหลากหลายของรูปแบบแอนติเจนได้มากมาย ซึ่งจากการศึกษาของ Conway และ McBride ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของแอนติเจนทั้ง 2 ชนิดนี้ในประเทศแกมเบีย จำนวน 344 ตัวอย่าง โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีพบว่า สามารถแบ่ง MSP-1 ได้เป็น 36 กลุ่ม และ MSP-2 เป็น 8 กลุ่ม (Conway and McBride, 1991)

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ใช้เชื้อมาลาเรียจำนวน 97 ไอโซเลตเป็นตัวแทนของประชากรมาลาเรียในประเทศไทยพบว่า สามารถแบ่ง MSP-1 ได้เป็น 22 กลุ่ม โดยอัลลีล MAD20 นั้นสามารถแบ่งตามขนาดได้เป็น 13 กลุ่ม และอัลลีล K1 ได้เป็น 8 กลุ่ม สำหรับอัลลีล RO33 นั้นมีเพียง 1 กลุ่ม ส่วน MSP-2 นั้นสามารถแบ่งได้เป็น 34 กลุ่ม โดยอัลลีล IC1 สามารถแบ่งตามขนาดได้ถึง 20 กลุ่ม ส่วนอัลลีล FC27 แบ่งได้เป็น 14 กลุ่ม และถ้าพิจารณาถึงการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-1 พบว่าความถี่ของการติดเชื้อแบบผสมของ MSP-1 เป็น 58% ส่วน MSP-2 เป็น 23% แต่ถ้าพิจารณาถึงการ

ติดเชื้อแบบผสมระหว่าง MSP-1 กับ MSP-2 รวมกัน จะพบความถี่ของการติดเชื้อแบบผสมนี้สูงถึง 72% ซึ่งมีทั้งการติดเชื้อแบบผสมที่มีอัลลีลต่างกันหรืออาจเป็นการติดเชื้อแบบผสมที่มีอัลลีลเหมือนกัน แต่ขนาดต่างกันก็ได้มีผลทำให้เกิดความหลากหลายของแอนติเจนยีนมากขึ้นและถ้าทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่ใหญ่ขึ้นก็อาจจะพบความหลากหลายมากยิ่งขึ้น