

การวินิจฉัยปรสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

วารุณี วงศ์วีเชียร*

ปัจจุบันการสอนวิชาปรสิตวิทยาในโรงเรียนแพทย์ กิติ การให้บริการวินิจฉัยปรสิตในโรงพยาบาลกิติ ยังอยู่ในระดับการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสง ซึ่งมีกำลังขยายสูงสุด ไม่เกินกำลังขยายของเลนส์ตา 15 เท่าและเลนส์วัตถุ 100 เท่า ปรสิตที่เห็นด้วยกำลังขยายสูงสุด 1500 เท่า อาจจะเพียงพอในการวินิจฉัยปรสิตบางตัวในบางระดับ แต่ไม่เพียงพอในการวินิจฉัยปรสิตหลาย ๆ ตัวในหลาย ๆ ระดับ จึงมีการพัฒนากล้องให้มิกำลังขยายสูงเป็นแสนเท่า เพื่อตรวจดู Ultrastructure ของเซลล์ นั่นคือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ปรสิตตัวโตที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่ามักมีปัญหาน้อย แต่ปรสิตตัวเล็ก ๆ พวกสัตว์เซลล์เดียว (Protozoa) มีปัญหามากในการวินิจฉัย เพราะแม้จะดูด้วย oil immersion lens เราก็เห็นแค่รูปร่างรวม ๆ เท่านั้นว่ามีที่ nuclei มี cytoplasmic inclusion อะไรบ้าง ไม่อาจจะดูให้ลึกถึงชั้น nuclear pore ลักษณะของชั้นแต่ละชั้นของ nuclear membrane mitochondria หรือ DNA ของเซลล์ สำหรับเชื้อบิด *Entamoeba histolytica* นั้น เวลาวินิจฉัยเรามักต้องการเห็น typical nucleus ว่าจะต้องมี regular chromatin granules เรียงรายอยู่รอบ ๆ nuclear membrane มี concentric karyosome แต่จริง ๆ แล้วลักษณะที่กล่าวนี้จะเห็นได้ในระยะหนึ่งของการเจริญเติบโตของมัน คือ ระยะ Interphase และ Prophase ของ nuclear division เท่านั้นเอง nucleus ของ trophozoite และ cyst ของ *E. histolytica* ก็ยังต่างกัน หรือแม้แต่ trophozoite จาก pus ที่ได้จาก amoebic liver abscess ก็ยังต่างกับ tropho-

zoite ที่เลี้ยงใน culture media ติดต่อกันเป็นเวลานาน ๆ organelles อื่น ๆ ที่ช่วยในการวินิจฉัย เช่น ขนาดและลักษณะของ hyaliness ของ Pseudopod, cytoplasmic projection ของเชื้อบิดก็แตกต่างกันไปตามภาวะของสิ่งแวดล้อมที่มันอยู่ นั่นก็คือ ความสามารถในการปรับตัวของปรสิต ซึ่งทำให้เกิดความลึกลับ ๆ ในการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์แสง

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมี 2 แบบ คือ แบบ Transmission และ Scanning แบบ Transmission (TEM) ใช้ดูลักษณะภายในเซลล์ในแนวตัด แต่แบบ Scanning (SEM) ใช้ดูผิวภายนอกของเซลล์ จะใช้ EM แบบไหนในการศึกษาเรื่องใดขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของการศึกษา บริษัท JEOL ผลิต TEM เครื่องแรกในปี ค.ศ. 1941 และอีกหลายสิบปีต่อมา จึงผลิต SEM ขึ้นได้ในปี 1972 ทำให้เกิดความก้าวหน้าทางวิทยาการ เป็นประโยชน์แก่มนุษย์โลกอย่างมาก Prof. M. Aikawa ได้ค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับมาลาเรียด้วยกล้อง EM ไว้มาก จนถึงปัจจุบันนี้เขาได้ค้นพบมาถึงจุดที่ว่า Knob บน membrane ของ *P. falciparum* infected red blood cell นั้น มีคุณสมบัติ sticky จะเป็นตัวเกาะกับ infected red blood cell เม็ดอื่น ๆ และเกาะกับ membrane ของ endothelial cell lining ของ capillaries ได้ดี เป็นสาเหตุของการอุดตันของ capillaries ปัญหาที่จะต้องค้นคว้ากันต่อไปคือ ทำอย่างไรจึงจะไม่ให้เกิด Knob อันนี้ได้

แม้แต่พยาธิตัวโต ๆ เช่น พยาธิตัวกลม ตัวแบน ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าก็ยังเป็นปัญหาพยาธิไส้เดือนตัวกลมของคน (*Ascaris lumbricoides*, Linne, 1758) กับพยาธิ-

* ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไส้เดือนตัวกลมของหมู (*Ascaris suum*, Goeze, 1782) นั้นมีความใกล้เคียงกันมาก ทั้งรูปร่าง ขนาด สีของตัว ตลอดจนอวัยวะต่าง ๆ ซึ่งถ้าไม่รู้ที่มาของพยาธิ แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงธรรมดา จะแยกออกจากกันได้ยากมาก แต่ถ้าใช้ SEM จะเห็นลักษณะของ teeth ที่ ridge ระหว่าง ventral lips ของพยาธิ ทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ทำให้แยกพยาธิทั้ง 2 ชนิดนี้ออกจากกันได้ นอกจากนี้ ไข่ของพยาธิที่มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันมากจนไม่อาจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาได้ ก็จะมีจุดปัญหาทันทีเมื่อดูด้วย SEM เช่น ไข่ของพยาธิใบไม้ตับชนิด *O. viverrini* และไข่ของพยาธิใบไม้ตับชนิด *C. sinensis* มีลักษณะคล้ายคลึงกันมากเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดา แต่เมื่อดูด้วย SEM แล้วจะเห็นลักษณะการเรียงตัวของ microspines และ fibrous matrix ที่เปลือกไข่แตกต่างกันอย่างชัดเจน นอกจากนี้การวินิจฉัยปรสิตแล้ว EM ยังมีประโยชน์มากทางด้านวิชาการอีกด้วย หลายสิ่งได้ถูกคัดค้านหรือเพิ่มเติมในรายละเอียด หน้าที่ของอวัยวะบางส่วนได้ถูกทราบเพิ่มเติมขึ้นอีก เช่น กรณี Laurer's canal ของ *C. sinensis* ที่นอกจากจะทำหน้าที่เป็น secretory passage

แล้ว ยังเป็นทางผ่านของ sperm จากพยาธิตัวอื่นมาสู่ seminal receptacle ของพยาธิอีกตัวหนึ่งได้อีกด้วย

จะเห็นว่ากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน นอกจากจะนำมาช่วยในการวินิจฉัยโรคปรสิตในระดับ ultrastructure แล้ว ยังเป็นประโยชน์ทางด้านการศึกษาวิจัยในอีกหลาย ๆ ด้านอีกด้วย

References

1. Maung M. *Ascaris lumbricoides* Linne, 1758 and *Ascaris suum* Goeze, 1782 : morphological differences between specimens obtained from man and pig. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1973 Mar; 4(1) : 41-5
2. Jeong KH. A study on the fine structure of *Clonorchis sinensis*, a liver fluke. Probable function of the Laurer's canal. *Korean J Parasitol* 1983 Dec; 21(2) : 209-18
3. Aikawa M, Udeinya IJ, Rabbege J, Dayan M, Leech JH, Howard RJ, Miller LH. Structural alteration of the membrane of erythrocytes Infected with *Plasmodium falciparum*. *J Protozool* 1985 Aug; 32(3) : 424-9