วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ 25 ฉบับที่ 1 มกราคม - กุมภาพันธ์ 2559

Journal of Health Science
Vol. 25 No. 1, January - February 2016

นิพนธ์ต้นฉบับ *Original Article*

การสำรวจเชื้อ *Entamoeba gingivalis* และเชื้อ *Trichomonas tenax* ในช่องปากของประชาชนในชุมชนบ้านหนองบัว จังหวัดสุพรรณบุรี

สรัญญา ศิริบาล ปร.ด.[*]
พาณี จักรแสงชัยโชติ ปร.ด.[**]
พงษ์รุจน์ รัฐประเสริฐ วท.ม.[**]

* *คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น จังหวัดกาญจนบุรี*
** *คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดกรุงเทพมหานคร*

บทคัดย่อ เชื้อ *Entamoeba gingivalis* และเชื้อ *Trichomonas tenax* เป็นโปรโตซัวในช่องปากที่มีหลายรายงานสนับสนุนการมีบทบาทของเชื้อทั้งสองชนิดในโรคปริทันต์และการติดเชื้อที่อวัยวะอื่น ๆ เช่น ปอด ดังนั้น เพื่อสำรวจความชุกของเชื้อ *E. gingivalis* และเชื้อ *T. tenax* ในช่องปากของประชาชนในชุมชนบ้านหนองบัว จังหวัดสุพรรณบุรี คณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างคราบฟันจำนวน 95 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาระยะโทรโฟซอยต์ของเชื้อ *E. gingivalis* และเชื้อ *T. tenax* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีการย้อมสีโกโมริ ไตรโครม และจิมซ่า แล้วยืนยันด้วยการตรวจหา small subunit ribosomal RNA ของเชื้อทั้งสองชนิดด้วยโดยวิธี PCR โดยตรวจพบ *E. gingivalis* จำนวน 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.5 ของตัวอย่างทั้งหมด และพบเชื้อ *T. tenax* จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.1 ของตัวอย่างทั้งหมด แสดงถึงอัตราการพบเชื้อ *E. gingivalis* และเชื้อ *T. tenax* ที่ลดลงจากการศึกษาเมื่อ 40 ปีก่อน แสดงให้เห็นถึงอนามัยช่องปากที่ดีขึ้นของคนไทย ผลการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ของอัตราการติดเชื้อทั้งสองชนิดกับ เพศ อายุ โรคประจำตัว และปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ($p>0.05$) แต่ถึงอย่างไรก็ตามควรให้มีการตรวจวินิจฉัยเพื่อรักษาการติดเชื้อ และเพื่อป้องกันการเกิดโรคปริทันต์และโรคที่เกิดจากการติดเชื้อทั้งสองชนิดนี้ และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ทราบถึงบทบาทที่ชัดเจนของเชื้อทั้งสองชนิดในการเป็นสาเหตุของโรคปริทันต์และการติดเชื้อที่อวัยวะอื่น

คำสำคัญ: **เชื้อ *Entamoeba gingivalis*, เชื้อ *Trichomonas tenax*, โรคปริทันต์**

บทนำ

เชื้อ *Entamoeba gingivalis* และเชื้อ *Trichomonas tenax* เป็นโปรโตซัวที่พบในช่องปาก โดย *E. gingivalis* อาศัยและกินจุลินทรีย์ เซลล์เยื่อบุ เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวที่สะสมอยู่ตามร่องเหงือกและฟัน ในช่วงปี ค.ศ. 1914-1915 มีรายงานอุบัติการณ์พบ *E. gingivalis* ในคนปกติและในผู้ป่วยโรคในช่องปากและโรคปริทันต์สูง[1-3] ซึ่งโดยปกติโรคปริทันต์มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด แต่ในปี 1983 มีรายงานการรักษาโรคปริทันต์ในรายที่มีการติดเชื้อ *E. gingivalis* ร่วมด้วย พบว่าการรักษาอาการติดเชื้อแบคทีเรียร่วมกับการรักษาการติดเชื้อ *E. gingivalis* ให้ผลดีกว่าการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว[4] ทำให้มีความเป็นไปได้สูงที่เชื้อ *E. gingivalis* จะมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์[5-7] และนอกจากนี้ยังมีรายงานการพบเชื้อ *E. gingivalis* ร่วมกับการติดเชื้อ

แบคทีเรียที่อวัยวะอื่น ๆ เช่น ที่ปอด ต่อมน้ำเหลือง และกระดูก เป็นต้น[8-10] โดยเชื้อนี้มักพบในผู้ป่วยสูงอายุ ซึ่งมีโรคประจำตัวและมีภูมิคุ้มกันต่ำลง

จากการสำรวจในคนไทยเมื่อ พ.ศ. 2516 พบเชื้อ *E. gingivalis* ในคนปกติประมาณร้อยละ 13.0 ในผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ ร้อยละ 65.0 และในผู้ป่วยโรคปริทันต์ ร้อยละ 81.0[11] และเช่นเดียวกันกับเชื้อ *T. tenax* ซึ่งตรวจพบประมาณร้อยละ 43.0-48.0 ของผู้ป่วยโรคปริทันต์ และในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบอย่างรุนแรงจะพบเชื้อ *T. tenax* ประมาณร้อยละ 80.0 ของผู้ป่วยทั้งหมด[12] แต่ยังไม่มีรายงานการพบเชื้อ *T. tenax* บริเวณฟันปกติ นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบเชื้อ *T. tenax* ในผู้ป่วยโรคปอดและทางเดินหายใจอีกหลายราย[13,14]

จากปัญหาดังกล่าวจึงนำไปสู่การสำรวจความชุกของเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูงกว่าการตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลแก่แพทย์และทันตแพทย์ได้ตระหนักถึงเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ซึ่ง อาจเป็นสาเหตุของโรคปริทันต์ และการติดเชื้อที่อวัยวะต่าง ๆ ได้ อีกทั้งเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษากลไกทางพยาธิชีววิทยาของเชื้อทั้งสองชนิดอย่างจริงจัง

วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจ กลุ่มตัวอย่างเป็นประชาชนที่อาศัยในชุมชนบ้านหนองบัว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ. 2557 โดย สุ่มแบบ Non-probability sampling ในผู้ที่มีอายุ 20 ปีขึ้นไป ทั้งเพศหญิงและชาย และยังมีฟันกรามแท้เหลืออยู่

ขนาดตัวอย่างคำนวณด้วยสูตรคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับงานสำรวจ

$$n = \frac{Z^2_{\alpha/2} P(1-P)}{e^2}$$

โดยอ้างอิงความชุกจากการสำรวจครั้งล่าสุดในคนไทย เมื่อ พ.ศ. 2516 พบเชื้อ *E. gingivalis* ในคนปกติร้อยละ 13.0[11] ด้วยระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 และยอมรับความคลาดเคลื่อนได้ร้อยละ 10 ทำให้ได้ขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมอย่างน้อย 76 ตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างในครั้งนี้ผ่านกระบวนการรับรองของคณะกรรมการจริยธรรมเกี่ยวกับงานวิจัยในมนุษย์ของมหาวิทยาลัยเวสเทิร์น (เอกสารรับรองเลขที่ WTU 2557-00173) โดยก่อนเก็บตัวอย่าง ผู้วิจัยได้ชี้แจงจุดประสงค์ในการทำวิจัย อธิบายขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง และผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นระหว่างและหลังการเก็บตัวอย่างให้ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยรับทราบ โดยผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยต้องให้ความยินยอมเท่านั้น การเก็บตัวอย่างคราบฟัน (dental plaque) ทำโดยใช้ไม้จิ้มฟันปราศจากเชื้อขูดบริเวณซอกเหงือกระหว่างฟันกรามด้านในทั้งสองข้างป้ายลงบนสไลด์แก้ว 2 แผ่น และใส่ลงใน Tris-EDTA buffer พร้อมกับบันทึกข้อมูล อายุ เพศ โรคประจำตัว และปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ เช่น การสูบบุหรี่ เป็นต้น

การตรวจหาเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ด้วยกล้องจุลทรรศน์

สำหรับคราบฟันที่ป้ายลงบนสไลด์แก้ว และทิ้งไว้จนแห้ง ทั้ง 2 แผ่นจะถูกนำไปตรึงด้วย methanol แล้วย้อมสี Giemsa เพื่อตรวจหาเชื้อ *T. tenax* ส่วนอีกหนึ่งแผ่นจะถูกตรึงด้วย Schaudinn's fixative แล้วย้อมสี Gomori's trichrome เพื่อตรวจหาเชื้อ *E. gingivalis*

การตรวจหาสารพันธุกรรมที่จำเพาะของเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ด้วยวิธี PCR

ตัวอย่างคราบฟันที่เก็บไว้ใน Tris-EDTA buffer จะถูกนำไปสกัด DNA ด้วยชุดสกัด Genomic DNA Extraction Miniprep System (VIOGENE, Taiwan) ตัวอย่าง DNA ที่ได้จะถูกนำไปตรวจหา *Small Subunit Ribosomal RNA* ของเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ด้วยวิธี PCRโดยใช้ primer ที่ออกแบบโดย Kikuta และคณะ[15,16] ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยดัดแปลง

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในงานวิจัยและขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR[15, 16]

ชื่อ	ลำดับเบส	Tm (°C)	ความยาว (เบส)	ผลิตภัณฑ์ PCR (เบส)
EGO1	5'-GAATAGGCGCATTTCGAACAGG-3'	66	22	1,412
EGO2	5'-TCCCACTAGTAAGGTACTACTC-3'	66	22	
TtF	5'-AGTTCCATCGATGCCATTC-3'	56	19	775
TtR	5'-CGTCTAAGTCCTTAGATGC-3'	56	19	

ปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 25 µl ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ คือ 1x PCR Buffer with 1.5 mM $MgCl_2$, 800 µM dNTPs mix, 2 µM EGO1 และ EGO2 Primer/TtF และ TtR primer, 1.25 U *Paq*5000 DNA polymerase (Agilent technology, USA) และ 50-150 ng DNA sample โดยมีขั้นตอนการ annealing ที่อุณหภูมิ 53°C จำนวน 30 รอบ จากนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้จะถูกตรวจสอบโดยการทำ agarose gel electrophoresis โดยตัวอย่างที่ให้ผลบวกจะต้องมีขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 1

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing)

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อทั้ง 2 ชนิดโดยทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PCR product ด้วยเครื่อง ABI PRISM® 377 DNA sequencer และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล (BLAST search)

การประมวลผลและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมสำเร็จรูป โดยใช้สถิติร้อยละ และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อกับปัจจัยโดยใช้สถิติ Nonparametric Chi-Square ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.0 โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$

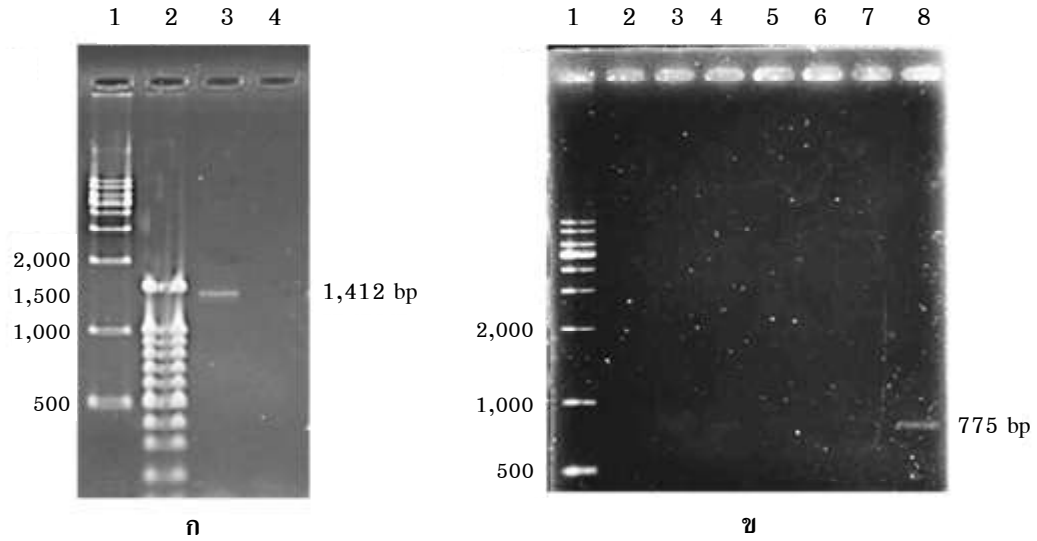
ผลการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ มีตัวอย่างคราบฟันจำนวน 95 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บได้จากเพศชายจำนวน 31 ตัวอย่าง และหญิงจำนวน 64 ตัวอย่าง โดยมีอายุระหว่าง 25-86 ปี จากการตรวจหาเชื้อโดยการย้อมสีแล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบเชื้อ *E. gingivalis* trophozoite และ *T. tenax* trophozoite เพียงอย่างละ 1 ตัวอย่าง โดยทั้งสองตัวอย่างให้ผลบวกโดยวิธี PCR

สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธี PCR จากตัวอย่าง DNA จำนวน 95 ตัวอย่าง ตรวจพบ *SSU rRNA* ของเชื้อ *E. gingivalis* จำนวน 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.5 ของตัวอย่างที่เก็บได้ทั้งหมด และตรวจพบ *SSU rRNA* ของเชื้อ *T. tenax* จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.1 ของตัวอย่างที่เก็บได้ทั้งหมด ดังภาพที่ 1 PCR product ที่ได้นั้นถูกยืนยันโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ สรุปผลการสำรวจที่ได้ดังตารางที่ 2

ผลการศึกษาอัตราการติดเชื้อ พบในเพศชายร้อยละ 9.7 หญิงร้อยละ 9.4 และในช่วงอายุระหว่าง 40-49 ปี มากที่สุดในอัตราร้อยละ 33.3 สำหรับตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* เป็นตัวอย่างที่ได้จากทั้งคนปกติที่ไม่มีโรคประจำตัว คนที่มีโรคประจำตัว และมีพฤติกรรมเสี่ยง เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง และประวัติการสูบบุหรี่ ส่วนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *T. tenax* เป็นตัวอย่างที่ได้จากคนที่มีภาวะความดันโลหิตสูงซึ่งมีประวัติสูบบุหรี่ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ ($p>0.05$) ระหว่างการพบเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* กับ เพศ อายุ โรคประจำตัว และพฤติกรรม ดังตารางที่ 3, 4 และ 5

ภาพที่ 1 ตัวอย่าง PCR products



ก. ตัวอย่าง PCR ของเชื้อ *E. gingivalis*: Lane 1: 1 kb DNA ladder; Lane 2: 100 bp + 1.5 kb DNA ladder; Lane 3: positive sample; Lane 4: negative control

ข. ตัวอย่าง PCR product ของเชื้อ *T. tenax*: Lane1: 1 kb DNA ladder; Lane 2: negative control; Lane 3-7: negative sample; Lane 8: positive sample

ตารางที่ 2 ผลการตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ในตัวอย่างคราบฟัน ของประชาชนในหมู่บ้านหนองบัว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ด้วยกล้องจุลทรรศน์และ วิธี PCR

เชื้อ	วิธีดูด้วยกล้องจุลทรรศน์				วิธี PCR			
	ผลลบ	%	ผลบวก	%	ผลลบ	%	ผลบวก	%
E. gingivalis	94	98.9	1	1.1	86	90.5	9	9.5
T. tenax	94	98.9	1	1.1	94	98.9	1	1.1

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ของผลการตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ในตัวอย่างคราบฟัน ของประชาชนในหมู่บ้าน-หนองบัว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี กับ เพศ

เพศ	จำนวนตัวอย่าง	เชื้อที่พบ			
		E. gingivalis		*T. tenax*	
		จำนวน	%	จำนวน	%
ชาย	31	3	9.7	0	0.0
หญิง	64	6	9.4	1	1.6
รวม	95	9	9.5	1	1.1

การวิเคราะห์ Nonparametric Chi-square: *E. gingivalis:* $\chi^2 = 0.002$, p = 0.962; *T. tenax:* $\chi^2 = 0.490$, p = 0.484

วิจารณ์

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การตรวจพบเชื้อด้วยวิธีการย้อมสี แล้วดูใต้กล้องจุลทรรศน์สามารถตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* เพียง 1 ตัวอย่าง โดยสามารถยืนยันผลด้วยวิธี PCR และการตรวจด้วยวิธี PCR ทำให้มีโอกาสพบเชื้อได้มากกว่าการดูใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเฉพาะ ตัวอย่างที่มีเชื้ออยู่ปริมาณน้อย จึงถือได้ว่า การตรวจหาเชื้อ *E. gingiv*alis รวมถึง *T. tenax* ด้วยวิธี PCR มีความไวสูงกว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

จากการศึกษาในครั้งนี้พบอัตราความชุกของการติดเชื้อ *E. gingivalis* ร้อยละ 9.5 ซึ่งอัตราดังกล่าวค่อนข้างต่ำกว่าการสำรวจในประเทศไทยที่ผ่านมาในปี

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ของผลการตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ในตัวอย่างคราบฟัน ของประชาชนในหมู่บ้านหนองบัว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี กับช่วงอายุ

เชื้อที่พบ	ช่วงอายุ (ปี) (%)							
	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	รวม
E. gingivalis	0	0	3 (33.3)	4 (12.1)	1 (16.7)	0	1 (9.1)	9 (9.5)
T. tenax	0	0	0	0	1 (16.7)	0	0	1 (1.1)
จำนวนตัวอย่าง	2	6	9	33	6	18	11	95

การวิเคราะห์ Nonparametric Chi-square: *E. gingivalis:* χ^2 = 9.161, p = 0.165
T. tenax: χ^2 = 4.990, p = 0.545

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ของผลการตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* ในตัวอย่างคราบฟัน ของประชาชนในหมู่บ้านหนองบัว ตำบลจรเข้สามพัน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี กับ โรคและพฤติกรรมเสี่ยง

โรคและพฤติกรรมเสี่ยง	จำนวนตัวอย่าง	เชื้อที่พบ			
		E. gingivalis		*T. tenax*	
		จำนวน	%	จำนวน	%
ไม่มีโรคประจำตัว	47	4	8.5	0	0.0
เบาหวาน	10	1	10.0	0	0.0
ความดันโลหิตสูง	21	1	4.8	1	4.8
สูบบุหรี่	5	2	40.0	0	0.0
โรคหัวใจ	1	0	0.0	0	0.0
โรคโลหิตจาง	1	0	0.0	0	0.0
หอบหืด	1	0	0.0	0	0.0
กระเพาะอาหารอักเสบ	1	0	0.0	0	0.0
วัณโรค	1	0	0.0	0	0.0
ไวรัสตับอักเสบ บี	1	1	100.0	0	0.0
เบาหวานและความดันโลหิตสูง	2	0	0.0	0	0.0
เบาหวานและสูบบุหรี่	4	0	0.0	0	0.0
รวม	95	9	9.5	1	1.1

การวิเคราะห์ Nonparametric Chi-square: *E. gingivalis*: χ^2 = 16.824, p = 0.156 และ *T. tenax*: χ^2 = 3.560, p = 0.990

พ.ศ. 2516 ที่พบเชื้อในคนปกติประมาณร้อยละ 13.0 และสามารถตรวจพบเชื้อในอัตราที่สูงกว่าในโรคปริทันต์[11] และการตรวจพบเชื้อ *T. tenax* ในครั้งนี้คิดเป็นร้อยละ 1.1 ซึ่งเคยมีผู้สำรวจพบเชื้อในผู้ป่วยโรคปริทันต์ประมาณร้อยละ 43.0-48.0 และในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบอย่างรุนแรง ประมาณร้อยละ 80.0 ของผู้ป่วยทั้งหมด[12] แสดงให้เห็นถึงสุขอนามัยช่องปากที่ดีขึ้นของคนไทย และการพบการติดเชื้อ *E. gingivalis* จากตัวอย่างที่เก็บได้จากคนในครอบครัวเดียวกัน ซึ่งเป็นไปได้ว่าจะได้รับเชื้อจากการสัมผัสฝอยน้ำลาย ใช้แก้วน้ำ หรือช้อนร่วมกัน อย่างไรก็ตาม อัตราการติดเชื้อทั้งสองยังอยู่ในระดับที่ตรวจพบได้ จึงควรให้มีการควบคุมและป้องกันการติดเชื้ออยู่แม้จะยังไม่ทราบบทบาทที่ชัดเจนในการก่อโรคของเชื้อทั้งสองก็ตาม

เมื่อนำผลการพบเชื้อทั้งสองมาหาความสัมพันธ์กับปัจจัยต่างๆ เช่น อายุ เพศ โรคประจำตัว เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน และพฤติกรรมการสูบบุหรี่ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อทั้งสอง โดยอาจเกิดจากการติดเชื้อที่เกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย และจำนวนตัวอย่างของแต่ละปัจจัยมีจำนวนน้อยเกินไป ทำให้ยังไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ที่แท้จริงได้ การสำรวจครั้งนี้จึงเป็นเพียงการศึกษาแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของการติดเชื้อทั้งสองชนิดเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาโดยเฉพาะเจาะจงต่อไป

จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่าเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* น่าจะมีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ[5-7,13] โดยมีผลการศึกษาสนับสนุนความสัมพันธ์ของเชื้อ *E. gingivalis* กับโรคปริทันต์และการติดเชื้อในอวัยวะต่างๆ กล่าวคือ มีการพบแบคทีเรียอยู่รอบตัวเชื้อและในถุงอาหารของเชื้อ *E. gingivalis* เนื่องจากเชื้อกินแบคทีเรียเป็นอาหาร ซึ่งบางโอกาสเชื้อแบคทีเรียอาจรอดพ้นจากการถูกจับกิน (phagocytosis) และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอยู่ในตัวอะมีบา ซึ่งเป็นเกราะป้องกันจากการถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์และยาปฏิชีวนะ[17] ประกอบกับเชื้อ *E. gingivalis* สามารถเคลื่อนที่ได้ หรืออาจถูกพัดพาไปอยู่ตามระบบต่างๆของร่างกาย ได้แก่ กระดูกขากรรไกร ต่อมทอนซิล ปอด ฯลฯ ด้วยเหตุนี้เชื้อ *E. gingivalis* จึงสามารถนำพาเชื้อแบคทีเรียที่ติดไปกับตัวเชื้อหรือแบคทีเรียที่อยู่ในถุงอาหารเข้าไปติดเชื้อที่อวัยวะต่างๆ ดังรายงานการพบเชื้อ *E. gingivalis* ในฝีในทรวงอก กระดูกที่อักเสบ เป็นต้น และพบการติดเชื้อ *T. tenax* ที่บริเวณต่อมน้ำลายใต้ขากรรไกร[14] ที่ต่อมน้ำเหลืองร่วมกับการติดเชื้อวัณโรค[18] และที่ปอด[13,19] จากผลการศึกษาเหล่านี้จึงควรสนับสนุนให้มีการตรวจวินิจฉัยและการรักษาเมื่อตรวจพบเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* แม้จะไม่มีอาการของโรคปริทันต์ก็ตาม นอกจากนี้ ยังมีผู้ตั้งข้อสังเกตว่า ถ้าหากเชื้อ *E. gingivalis* มีการแสดงออกของ Virulence factors ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่มของ proteolytic enzyme เช่น cysteine proteases ที่ทำให้เนื้อเยื่อของโฮสต์ถูกทำลาย และ virulence factor อื่นๆ เช่น adherence lectin[20] และ phospholipases[21] เป็นต้น จะช่วยสนับสนุนการมีบทบาททางพยาธิชีววิทยาของโรคปริทันต์และการติดเชื้อที่อวัยวะอื่นๆ[22,23] ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจัง จึงควรมีการศึกษาต่อยอดเพื่อให้ทราบถึงบทบาททางพยาธิชีววิทยาตามธรรมชาติของเชื้อ *E. gingivalis* และ *T. tenax* อย่างชัดเจนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยในครั้งนี้ทุกท่าน รวมถึงภาควิชาพยาธิโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือจำเป็นหลายอย่าง และขอขอบคุณ สุพัตรา แก้วล้วน ณัฐรมณกาณฑ์ สินสุพรรณ์ จิราภรณ์ แพงสีชา นุจริญา ฤทธิรณ และสุชาดา กอแก้ว สำหรับการเก็บตัวอย่างและการทดลอง และการศึกษาในครั้งนี้จะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ถ้าไม่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเวสเทิร์น (รหัสโครงการเลขที่ HE-WTU 542373)

เอกสารอ้างอิง

1. Bass CC, Johns FM. Alveolodental pyorrhea. Philadelphia: WB Saunders; 1915.
2. Barrett MT. The protozoa of the mouth in relation to pyorrhea alveolaris. Dent Cosm 1914;56:948-53.
3. Dao AH, Robinson DP, Wong SW. Frequency of *Entamoeba gingivalis* in human gingival scrapings. Am J Clin Pathol 1983;80:380-3.
4. Lyons T, Scholten T, Palmer JC, Stanfield E. Oral amoebiasis: the role of *Entamoeba gingivalis* in periodontal disease. Quintessence Int 1983;12:1243-8.
5. Chen JF, Wen WR, Liu GY, Chen WL, Lin LG, Hong HY. Studies on periodontal disease caused by *Entamoeba gingivalis* and its pathogenetic mechanism. Rev China Med J 2001;114:12-5.
6. Sarowska J, Wojnicz D, Kaczkowski H, Jankowski S. The occurrence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in patients with periodontal disease. Adv Clin Exp Med 2004;13:291-7.
7. Feki A, Molet B, Haag R, Kremer M. Protozoa of the human oral cavity (epidemiological correlations and pathogenic possibilities). J Biol Buccale 1981;9:155-61.
8. Jian B, Kolansky A, Baloach Z, Gupta PK. *Entamoeba gingivalis* pulmonary abscess-diagnosed by fine needle aspiration. Cyto Journal 2008;5:1-5.
9. Bhaijee F, Bell D. *Entamoeba gingivalis* in Acute Osteomyelitis of the Mandible. Case Reports in Medicine [Internet]. 2011 [cited 2014 Dec 15];2011:357301. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3139901/
10. Perez-Jaffe L, Katz R, Gupta PK. *Entamoeba gingivalis* identified in a left upper neck nodule by fine-needle aspiration: a case report. Diag Cytopath 1998;18:458-61.
11. กัลยาณี อมาตยกุล, รุจิรา ทินกร ณ อยุธยา. อะมีบาในปากคนไทย. วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ 2516;23:211-7.
12. บุญถนอม มูลเมืองแสน. ความชุกของเอนตามีบา จิงจิวาลิส ทิโคโมแนส ทีแนกซ์ และแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2547.
13. Chiche L, Donati S, Corno G, Benoit S, Granier I, Chouraki M, et al. *Trichomonas tenax* in pulmonary and pleural diseases. Presse Med 2005;34:1371-2.
14. Mahmoud MS, Rahman GA. Pulmonary trichomoniasis improved diagnosis by using polymerase chain reaction targeting *Trichomonas tenax* 18S rRNA gene in sputum specimens. J Egypt Soc Parasitol 2004;34:197-211.
15. Kikuta N, Yamamoto A, Goto N. Detection and identification of *Entamoeba gingivalis* by specific amplification of srRNA gene. Can J Microbiol 1996;42:1248-51.
16. Kikuta N, Yamamoto K, Fukura K, Goto N. Specific and sensitive detection of *Trichomonas tenax* by the polymerase chain reaction. Lett Appl Microbiol 1997;24: 193-7.
17. Greub G, Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. Clin Microbiol Rev 2004;17:413.
18. Duboucher C, Mogenet M, Périé G. Salivary trichomoniasis. A case report of infestation of a submaxillary gland by *Trichomonas tenax*. Arch Pathol Lab Med 1995;119: 277-9.
19. Bellanger AP, Cabaret O, Costa JM, Foulet F, Bretagne S, Botterel F. Two unusual occurrences of Trichomoniasis: rapid species identification by PCR. J Clin Microbiol 2008;46:3159-61.
20. Petri WA Jr, Haque R, Mann BJ The bittersweet interface of parasite and host: lectin-carbohydrate interactions during human invasion by the parasite *Entamoeba histolytica*. Ann Rev Microbiol 2002;56:39-64.
21. Ravidn JI. Pathogenesis of disease caused by *Entamoeba histolytica*: studies of adherence, secreted toxins, and contact dependent cytolysis. Rev Infect Dis 1986;8:247-60.
22. Gottlier DS, Miller JH. *Entamoeba gingivalis* in periodontal disease. J Periodontol 1971;42:412-5.
23. Sajid M, McKerrow JH. Cysteine proteases of parasitic organisms. Mol Biochem Parasitol 2002;120:1-21.

Abstract: A Survey of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in Oral Cavity in Baan Nong Bua Villagers, Suphanburi Province, Thailand

Saranya Siribal, Ph.D.*; Panee Chaksangchaichot, Ph.D.; Pongruj Rattaprasert, M.Sc.****

** Faculty of Arts and Sciences, Western University, Kanchanaburi; ** Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok*

Journal of Health Science 2016;25:41-8.

Entamoeba gingivalis and *Trichomonas tenax* are protozoan parasites in oral cavity. Many case reports support their roles in periodontal diseases and unusual infection of many organs such as lung. To survey of prevalence of *E. gingivalis* in oral cavity of Baan Nong Bua villager, Suphanburi province, we collected a total of 95 dental plaque samples. *E. gingivalis* and *T. tenax* trophozoites were examined under light microscope by Gomori's trichrome and Giemsa staining, respectively. All samples were then confirmed by detection of *E. gingivalis* and *T. tenax small subunit ribosomal RNA* using polymerase chain reaction. This study revealed a total 9 dental plaque samples (9.5%) were positive for *E. gingivalis* and only one sample (1.1%) was positive for *T. tenax*. The prevalence rates of *E. gingivalis* and *T. tenax* were lower than the previous study in Thailand of 40 years ago. It indicates the improvement of oral hygiene of Thai people. Sex, age, previous diseases, and risk factors did not contribute to rates of infection ($p>0.05$). However, the diagnosis and treatment are still needed for both parasites. Further studies on a potential etiological role of them in periodontal disease and infection of some organs are essential.

***Key words: Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*, Periodontal disease**