Cytologic Diagnosis of Infection in Pap Smear

Sasithorn Singkam*, Suchittra Anacha*

**Cytology Division, Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.*

Siriraj Medical Bulletin 2024;17(1):63-71

ABSTRACT

Various organisms such as bacterial infections, fungal infections, protozoan, and viral infections can be detected in vaginal and cervical specimens collected for cervical cancer screening or Pap smear. Some organisms are sexually transmitted and cause infectious diseases in female genital tract and need to be treated but some are not. Organisms and cellular changes in Pap smear need carefully interpreted according to the Bethesda system for reporting cervical cytology 2014 because they mimic to other cellular changes from other causes and have some difficulty for interpretation. The current Bethesda reporting system divided infection into 4 major types as mention above. From 4 major types, we can classify and report the infection into 6 subtypes including trichomonas vaginalis (TV), fungal organisms morphologically consistent with Candida spp., shift in flora suggestive of bacterial vaginosis (BV), bacteria morphologically consistent with Actinomyces spp., cellular change consistent with herpes simplex virus (HSV), and the last one is cellular changes consistent with cytomegalovirus(CMV). The detection of organisms and cellular changes may help the clinicians to provide early treatment for infected woman before they have severe symptoms and can reduce transmission to their partners.

Keywords: Cytologic diagnosis; infection; organisms; pap smear

Correspondence to: Sasithorn Singkam
Email: sasithorn.singkam@gmail.com
Received: 4 April 2023
Revised: 19 May 2023
Accepted: 20 June 2023
http://dx.doi.org/10.33192/smb.v17i1.261799

การวินิจฉัยเซลล์ที่มีการติดเชื้อในแปปสเมียร์

ศศิธร สิงห์คำ*, สุจิตรา อานอาชา*

*หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700 ประเทศไทย

บทคัดย่อ

การติดเชื้อจุลชีพภายในช่องคลอดและปากมดลูก พบได้บ่อยในสตรีที่เข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยาหรือแปปสเมียร์ เชื้อจุลชีพบางชนิดติดต่อผ่านทางเพศสัมพันธ์และทำให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการรักษา แต่เชื้อจุลชีพบางชนิดไม่ติดต่อทางเพศสัมพันธ์ เชื้อจุลชีพและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากการติดเชื้อในการตรวจแปปสเมียร์ในปัจจุบันประเมินและรายงานผลการตรวจตามระบบบีเทสดา ปี ค.ศ. 2014 การเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากการติดเชื้อมีความคล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากสาเหตุอื่นๆ และมีความยากในการแปลผล โดยสามารถแบ่งการติดเชื้อออกเป็น 4 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่ การติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว และไวรัส ในการรายงานผลการติดเชื้อ จะแบ่งออกเป็น 6 ชนิดย่อย ได้แก่ พยาธิช่องคลอดทริโคโมแนส, สิ่งมีชีวิตจากเชื้อราที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาที่สอดคล้องกับแคนดิดา, การเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในช่องคลอดที่บ่งบอกถึงภาวะแบคทีเรียลวาไจโนซิส, แบคทีเรียที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาที่สอดคล้องกับแอคทิโนไมซิส, การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่สอดคล้องกับไวรัสเริม และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่สอดคล้องกับไซโตเมกาโลไวรัส การตรวจพบเชื้อจุลชีพและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากการติดเชื้อในการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยานี้ อาจช่วยให้แพทย์สามารถทำการรักษาสตรีที่ติดเชื้อได้ตั้งแต่ยังไม่มีอาการหรือก่อนที่จะมีอาการรุนแรง และสามารถลดการแพร่เชื้อไปยังคู่นอนได้

คำสำคัญ: การวินิจฉัยเซลล์; การติดเชื้อ; เชื้อจุลชีพ; การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา

บทนำ

การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา หรือเรียกวิธีการตรวจแบบนี้ว่า Pap smear ซึ่งแบ่งย่อยได้เป็น 2 วิธี คือ การตรวจทางเซลล์วิทยาแบบดั้งเดิม (Conventional Pap smear) และการตรวจทางเซลล์วิทยาแบบอิงสารน้ำ (Liquid-based cytology) ซึ่งทั้ง 2 วิธีนี้ สามารถวินิจฉัยการติดเชื้อทางเซลล์วิทยาได้[1,2] การติดเชื้อแบ่งออกเป็นสาเหตุที่เกิดจากโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์และไม่ใช่โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โดยอาจพบอาการผิดปกติทางคลินิก เช่น การตกขาว คันที่ปากช่องคลอด ร่วมด้วย[3,4] นอกจาก Wet smear แล้วการตรวจทางเซลล์วิทยาโดยการย้อมสีเซลล์ด้วยวิธี Papanicolaou stain[1] สามารถบอกถึงเชื้อที่เป็นสาเหตุของอาการที่เกิดกับผู้ป่วยได้เช่นกัน และดูลักษณะของเชื้อแต่ละชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเชื้อจุลชีพ (Organisms) ที่พบได้ในช่องคลอดและปากมดลูก มีทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัส และพยาธิ การวินิจฉัยการติดเชื้อทางเซลล์วิทยาบางครั้งมีความสำคัญกับผู้ป่วยมากและนำไปสู่การรักษาที่จำเพาะกับการติดเชื้อประเภทต่าง ๆ

ในบทความนี้จะกล่าวถึงเฉพาะการติดเชื้อที่รายงานผลตามระบบ The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology 2014 (TBS 2014) เท่านั้น การรายงานผลของการติดเชื้อจุลชีพ (Organisms) จัดอยู่ในกลุ่มการรายงานผลเซลล์ปกติ (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy : NILM) ซึ่งมี 6 ชนิด และรายงานผลดังนี้[1]

1. *Trichomonas vaginalis*
2. Fungal organisms morphologically consistent with *Candida* spp.
3. Shift in flora suggestive of bacterial vaginosis
4. Bacteria morphologically consistent with *Actinomyces* spp.
5. Cellular change consistent with herpes simplex virus
6. Cellular changes consistent with cytomegalovirus

เชื้อจุลชีพที่พบในแปปสเมียร์ (Organisms in Pap smear)

เชื้อแบคทีเรีย (Bacteria infection)

1. Bacterial vaginosis (BV)

ภาวะช่องคลอดเปลี่ยนแปลงจากเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial vaginosis : BV) เป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของตกขาวผิดปกติในสตรีวัยเจริญพันธุ์ มักมีอาการตกขาวสีขาวปนเทา ตกขาวคล้ายน้ำนม (milky vaginal discharge) มีกลิ่นเหม็นคาวปลา (fishy odor) บางรายอาจพบอาการคันและแสบช่องคลอดร่วมด้วย ความชุกแตกต่างกันไปประหว่างร้อยละ 5-50 โดยเกือบครึ่งหนึ่งไม่แสดงอาการ ซึ่ง BV มีสาเหตุมาจากความไม่สมดุลของแบคทีเรียในช่องคลอด โดย

แบคทีเรียชนิดแลคโตบาซิลไล (Lactobacilli) มีปริมาณลดลง ทำให้ค่า pH ของของเหลวในช่องคลอดที่ปกติเป็นกรด เกิดการเสียสมดุล และ Vaginal pH เพิ่มขึ้นจาก <4.5 เป็น 4.5-6.0[3,5,6]

ลักษณะทางเซลล์วิทยา

จะวินิจฉัยภาวะ BV จากการพบ Clue cells บนกระจกสไลด์ อย่างน้อยร้อยละ 20 ของ Squamous cells ทั้งหมด โดย Clue cells คือ Squamous epithelial cells ที่ถูกปกคลุมด้วย Coccobacilli (short bacilli, curved bacilli, หรือ mixed bacteria) (ภาพ 1ก) และจะไม่พบแบคทีเรียชนิด Lactobacilli และ Squamous cells ที่ถูกแบคทีเรียดังกล่าวปกคลุมจะยังมีขนาดเซลล์รวมทั้งนิวเคลียสที่เป็นปกติ[1,3,4]

2. Actinomyces species

เชื้อตระกูล Actinomyces เป็นเชื้อแกรมบวก ที่เป็นเส้นสาย (filamentous bacteria) โดยปกติอาศัยอยู่ในช่องปาก และทางเดินอาหารส่วนล่าง พบได้ไม่บ่อยในปากมดลูกและช่องคลอด อุบัติการณ์ของการติดเชื้อ Actinomyces เพิ่มมากขึ้นหลังจากการนำห่วงคุมกำเนิด (Intrauterine Contraceptive Device: IUD) มาใช้ อัตราการพบเชื้อขึ้นกับชนิดและระยะเวลาของการใช้ IUD[1,3,4]

ลักษณะทางเซลล์วิทยา

Actinomyces ในสเมียร์จะพบลักษณะเชื้อ เป็นเส้นสายเกาะเป็นกลุ่ม ตรงกลางของกลุ่มติดสีน้ำเงินเข้ม แน่นมองไม่เห็นรายละเอียดของเชื้อ (Cotton ball) และบริเวณรอบนอกของกลุ่มบางลงทำให้สามารถเห็นเชื้อเป็นเส้นสาย (filamentous bacteria) (ภาพ 1ข)[1,3,4]

เชื้อรา (Fungal infection)

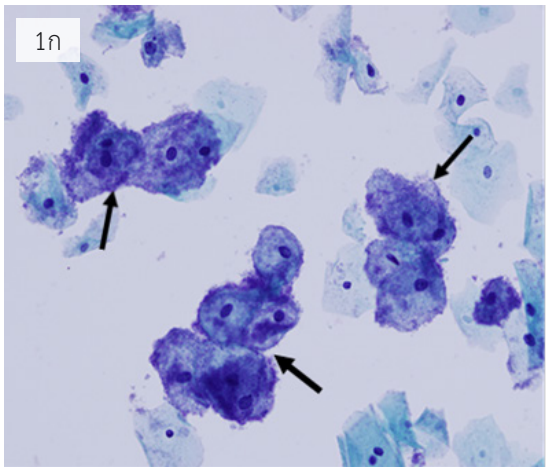
ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ *Candida albicans* สูงถึงร้อยละ 80-89 ที่เหลือเกิดจากสายพันธุ์ที่ไม่ใช่อัลบิแคน[5] ผู้ป่วยมักจะมีอาการคันบริเวณอวัยวะเพศและในช่องคลอด พบลักษณะของตกขาวคล้ายโยเกิร์ต (Curd like) และติดแน่นกับผนังช่องคลอด[7]

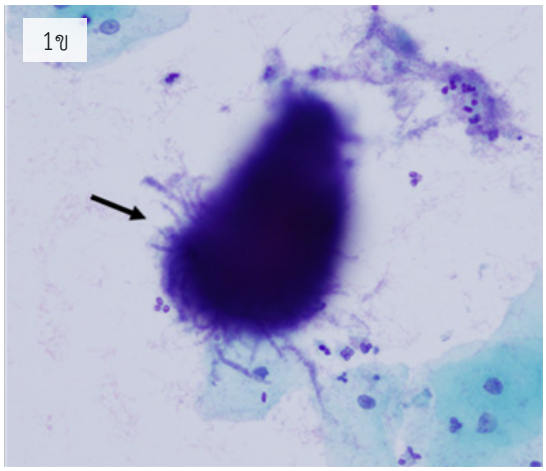
ลักษณะทางเซลล์วิทยา

Candida albicans ในสเมียร์จะมี 2 รูปร่าง คือรูปร่างยีสต์ (yeast form) และรูปร่างเป็นเส้นยาว Pseudohyphae ยีสต์ มีขนาด 3-7 ไมครอน มีรูปร่างกลม หรือรูปไข่ ขนาดเล็ก ส่วน Pseudohyphae เป็นเส้นเล็กยาว ขาดเป็นท่อน ๆ สามารถแตกกิ่งก้านสาขาได้ ทั้ง 2 รูปร่าง ติดสีชมพูและอาจพบลักษณะของ สแควมัสเซลล์ล้อมรอบ Pseudohyphae ทำให้เกิดลักษณะ Shish kebabs (ภาพที่ 2)[1,3,4]

เชื้อพยาธิในช่องคลอด (Trichomoniasis)

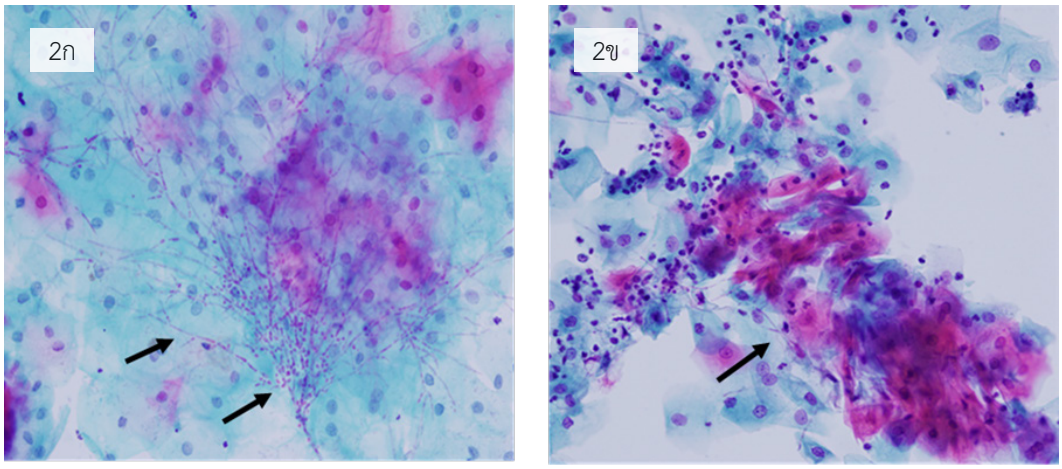
Trichomoniasis หรือ Trichomonas vaginalis: TV เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ที่เกิดจากการติดเชื้อโปรโตซัว หรือพยาธิช่องคลอด พบในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่แสดงอาการใด ๆ มีเพียงร้อยละ 30 ของผู้ป่วยเท่านั้น ที่แสดงอาการของโรค[8] อาการที่พบมีตกขาวเป็นสีเหลือง สีเขียวหรือเทา ช่องคลอดมีกลิ่นเหม็น รู้สึกคัน เจ็บปวดขณะมีเพศสัมพันธ์ และระคายเคืองขณะปัสสาวะ[9] ภาวะแทรกซ้อนของโรค เมื่อเป็นโรคนี้ในระหว่างการตั้งครรภ์ อาจมีความเสี่ยงต่อการคลอดก่อนกำหนด และทารกอาจมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปกติ[5,8]





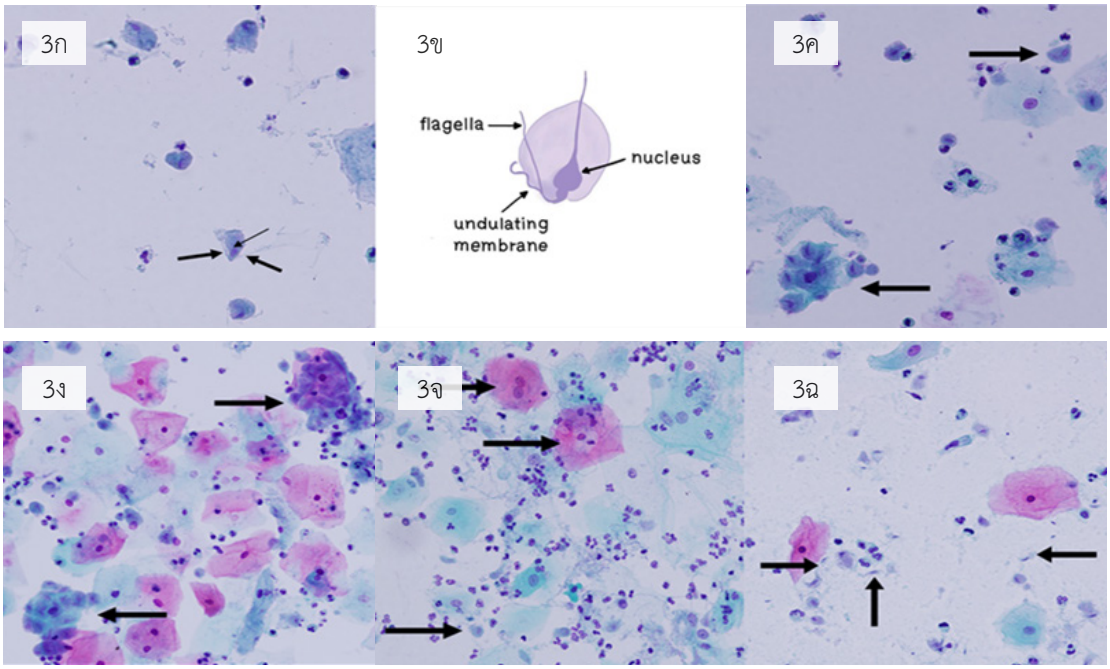
ภาพที่ 1 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของ Bacterial vaginosis มีแบคทีเรีย Coccobacilli จำนวนมากปกคลุม Squamous epithelial cells (Clue cells) (ภาพ 1ก) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Actinomyces* spp. (ภาพ 1ข) (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า)

ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล



ภาพที่ 2 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Candida* spp. พบ Pseudohyphae จำนวนมากปะปนกับ Budding yeasts ติดสีชมพู (ภาพ 2ก) สแควมัสเซลล์ล้อมรอบ Pseudohyphae ทำให้เกิดลักษณะ Shish kebabs (ภาพ 2ข) (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า)

ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล



ภาพที่ 3 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของการติดเชื้อ Trichomonas vaginalis รูปร่างเซลล์คล้ายลูกแพร์ นิวเคลียสมีขนาดเล็ก รูปร่างรีค่อนไปทางริมเซลล์และเห็นหนวดอยู่ด้านหน้า (anterior flagella) (ภาพ 3ก) ภาพแสดงลักษณะนิวเคลียส หนวด (flagella) และเยื่อพัดโบกข้างตัว (undulating membrane) (ภาพ 3ข) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ Trichomonas vaginalis ที่อยู่แบบเดี่ยว ๆ และเกาะอยู่เป็นกลุ่ม โดยเกาะอยู่รอบ ๆ เซลล์สแควมัส (ภาพ 3ค, ภาพ 3ง) ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สแควมัสที่พบร่วมกับการติดเชื้อ Trichomonas vaginalis พบมีช่องว่างระหว่างไซโตพลาสซึมกับนิวเคลียส (Perinuclear halo) และมี 2 นิวเคลียส (Binucleated) (ภาพ 3จ) การเสื่อมของโครมาติน พบนิวเคลียสเปล่า ๆ ของ Trichomonas vaginalis (ภาพ 3ฉ) (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า)

ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ลักษณะทางเซลล์วิทยา[1,3,9,10]

รูปร่างเซลล์ของ Trichomonas คล้ายลูกแพร์ (Pear shaped) ขนาด 15-30 ไมครอน ไซโตพลาสซึมติดสีเทา หรือสีเขียวจาง (cyanophilic) นิวเคลียสมีขนาดเล็ก รูปร่างรีหรือกระสวยอยู่ค่อนไปทางริมเซลล์ (eccentric) (ภาพ 3ก) บางครั้งอาจจะเห็นหนวดอยู่ด้านหน้า (anterior flagella) หรืออาจจะไม่เห็นหนวด (flagella) ของ Trichomonas vaginalis เนื่องจากหลุดไประหว่างการตรึงและย้อมเซลล์ มีขนาดพอๆกับเม็ดเลือดขาว มีเยื่อพัดโบกข้างตัว (undulating membrane) ช่วยในการเคลื่อนที่ (ภาพ 3ข) และเชื้อ Trichomonas vaginalis อาจจะอยู่เดี่ยว ๆ หรือเกาะเป็นกลุ่มโดยเฉพาะรอบ ๆ เซลล์สแควมัส (ภาพ 3ค, ภาพ 3ง) ส่วนมากเซลล์สแควมัสจะมีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการอักเสบ ซึ่งพบมีช่องว่างระหว่างไซโตพลาสซึมกับนิวเคลียส (Perinuclear halo) นิวเคลียสโตขึ้นเล็กน้อย บางครั้งมี 2 นิวเคลียส (Binucleated) หรือหลายนิวเคลียส (Multinucleated) (ภาพ 3จ) และมีการเสื่อมของโครมาติน อาจพบนิวเคลียสเปล่า ๆ ของ Trichomonas vaginalis ในพื้นหลังด้วย (ภาพ 3ฉ)

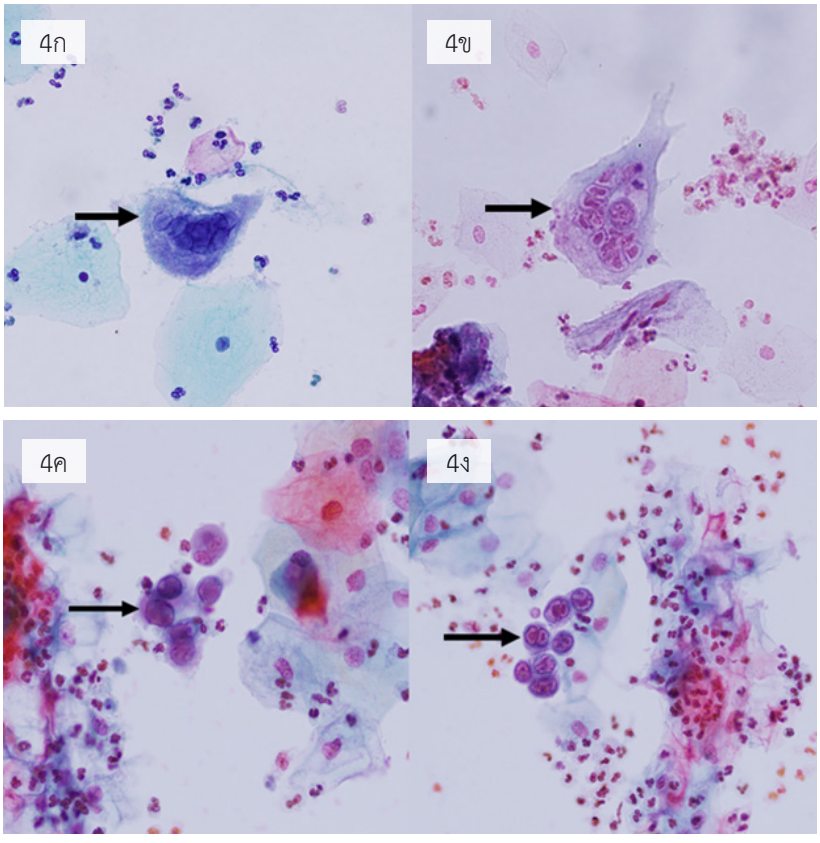
เชื้อไวรัส (Viral infection)

1. Herpes Simplex Virus (HSV)

เชื้อ Herpes Simplex Virus เป็นโรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ ทำให้เกิดตุ่มน้ำใสและแผลถลอกตื้น ๆ บนผิวเยื่อบุทางเดินอวัยวะสืบพันธุ์สตรี ส่วนใหญ่เป็น serotype 2 (HSV-2)[11]

ลักษณะทางเซลล์วิทยา

สเมียร์จากปากมดลูกมักจะพบพื้นหลัง (background) ที่มี proteinaceous discharge ที่มีเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear leukocytes (PMNs) ปะปนอยู่มาก ลักษณะที่สำคัญ คือเซลล์สแควมัสจะมีหลายนิวเคลียส (Multimucleation) แต่ละนิวเคลียสจะโค้งรับกับนิวเคลียสที่อยู่ข้างเคียง (Molding) ขอบของนิวเคลียสหนาขึ้น (Magination of nuclear chromatin) ภายในนิวเคลียสจะพบโครมาตินติดสีจางลงคล้ายกระจกฝ้า (Ground glass chromatin) และอาจพบ Intranuclear inclusion สีแดงอยู่ตรงกลางนิวเคลียสได้ (ภาพ 4ก, ภาพ 4ข) และบางครั้งอาจพบมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ได้ (ภาพ 4ค, ภาพ 4ง)[1,3,4]



ภาพที่ 4 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของการติดเชื้อ Herpes simplex virus เซลล์สแควมัสมีหลายนิวเคลียส แต่ละนิวเคลียสโค้งรับกับนิวเคลียสที่อยู่ข้างเคียง ขอบของนิวเคลียสหนาขึ้น ภายในนิวเคลียสพบโครมาตินติดสีจางลงคล้ายกระจกฝ้า (ภาพ 4ก) พบ Intranuclear inclusion สีแดงอยู่ตรงกลางนิวเคลียส (ภาพ 4ข) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของการติดเชื้อ Herpes Simplex Virus เซลล์สแควมัสแบบเดี่ยว นิวเคลียสมีลักษณะเหมือนกระจกฝ้า (ภาพ 4ค) และมี Intranuclear inclusion สีแดงอยู่ตรงกลางนิวเคลียส (ภาพ 4ง) (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า)

ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

2. Cytomegalovirus (CMV)

Cytomegalovirus (CMV) เป็น DNA virus ชนิดหนึ่งซึ่งอยู่ในfamily เดียวกับ herpes virus ซึ่งสามารถติดเชื้อในอวัยวะอื่น ๆ ได้ทั่วร่างกาย และสามารถถ่ายทอดสู่ทารกในครรภ์ได้[1,2] มักพบในคนที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง[1,3]

ลักษณะทางเซลล์วิทยา

ในทางเซลล์วิทยา เซลล์ที่ติดเชื้อ CMV จะมีขนาดใหญ่ขึ้น พร้อมกับนิวเคลียสใหญ่ที่มี inclusion สีแดง inclusion นี้จะถูกล้อมรอบด้วยบริเวณใส ๆ (halo) ซึ่งถูกล้อมรอบอีกชั้นหนึ่งด้วยโครมาตินของเซลล์เจ้าบ้าน (host cell) ซึ่งมองดูคล้ายกับผนังนิวเคลียสหนาขึ้น ลักษณะของเซลล์ที่ติดเชื้อจะมีลักษณะคล้ายตานกฮูก (Owl's eye appearance) ลักษณะการติดเชื้อ CMV จะพบในเซลล์ Endocervical มากกว่าพบในเซลล์สแควมัส (ภาพที่ 5)[1,3]

การป้องกันและแนวทางการแก้ไขความผิดพลาดในการแปลผล

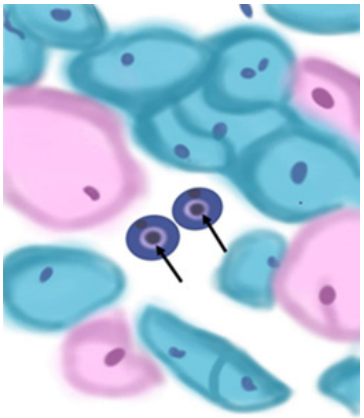
การแปลผลการติดเชื้อจุลชีพ (Organisms) ทางเซลล์วิทยา ภายในห้องปฏิบัติการหน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา ใช้เกณฑ์การวินิจฉัย (Criteria) ตามระบบการรายงานผล The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology 2014 (TBS 2014)[1] ซึ่งมีเกณฑ์การวินิจฉัย (Criteria) ที่ชัดเจน ดังนั้นการป้องกันความผิดพลาดในการแปลผล ต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะทาง มีความละเอียด รอบคอบ และระมัดระวังในการแปลผล ในกรณีที่พบเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อทางเซลล์วิทยาที่ชัดเจน สามารถแปลผลและรายงานผลได้โดย Cytoscreener (ผู้อ่านสไลด์เบื้องต้น) แต่ในกรณีที่เกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อทางเซลล์วิทยาไม่ชัดเจน จะมีการปรึกษาร่วมกันภายในหน่วยงาน โดยเป็นการปรึกษาร่วมกันระหว่าง Cytoscreener ก่อน หากยังไม่สามารถแปลผลได้ Cytoscreener จะส่งสไลด์ปรึกษา Senior cytotechnologist (นักเทคนิคเซลล์วิทยาอาวุโส) และ Consultant (แพทย์ผู้รับปรึกษา) ในลำดับถัดไป โดยปกติภายในห้องปฏิบัติการหน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา มี Senior cytotechnologist เป็นผู้ทำการควบคุมคุณภาพการรายงานผลภายในกระบวนการวิเคราะห์ (Internal Quality Control) โดยทำการ Rescreen ร้อยละ 100 และอ่านสไลด์ซ้ำทุกรายที่ Cytoscreener ส่งปรึกษา รวมทั้งเลือกอ่านสไลด์ซ้ำในรายที่มีประวัติชวนสงสัย เช่น มีประวัติทางคลินิคไม่ปกติ ตกขาวหรือมีเลือดออกผิดปกติ มีรอยโรคที่ปากมดลูก

สไลด์จากการรายงานผลเซลล์ปกติ (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy: NILM) ที่เหลือทั้งหมด ไม่รวมสไลด์จากการทำ Rescreen จะมีการนำมาทำการสุ่มเพื่ออ่านซ้ำ (Random) อีกอย่างน้อย ร้อยละ 10 เพื่อตรวจสอบคุณภาพการรายงานผลทางเซลล์วิทยาเบื้องต้น (Primary screening) ที่ผู้อ่านคัดกรองสไลด์ (Cytoscreener) ไม่พบเซลล์ผิดปกติ เพื่อให้การรายงานผลมีความถูกต้อง แม่นยำ และเกิดผลลบลวง (False negative result) น้อยที่สุด

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากการติดเชื้อมีความคล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากสาเหตุอื่น ๆ และมีความยากในการแปลผล โดยเฉพาะเชื้อที่มีขนาดเล็ก ผู้แปลผลควรใช้กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์เพิ่มขึ้น การแยกลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อจุลชีพ (Organisms) ที่มีความคล้ายคลึงกับลักษณะทางเซลล์วิทยาต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. แบคทีเรีย Lactobacilli ที่มีการรวมตัวเป็นกลุ่มก้อน จะมีลักษณะคล้ายกับเชื้อ Actinomyces species บอกความแตกต่างได้โดยสังเกต ลักษณะที่พบตรงกลุ่มก้อนนั้นจะมี bacilli เดี่ยว ๆ รอบ ๆ กลุ่ม แต่ลักษณะทางเซลล์วิทยาของการติดเชื้อ Actinomyces species นั้นตรงกลางของกลุ่มจะติดสีน้ำเงินเข้ม แน่นมองไม่เห็นรายละเอียดของเชื้อ (Cotton ball) และบริเวณรอบนอกของกลุ่มบางลงทำให้สามารถเห็นเชื้อเป็นเส้นสาย (filamentous bacteria) (ภาพ 6ก)[1]

2. ลักษณะการยึดของมูก (Mucus) จะดูคล้ายกับลักษณะของ Pseudohyphae ที่พบในเชื้อรา เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่



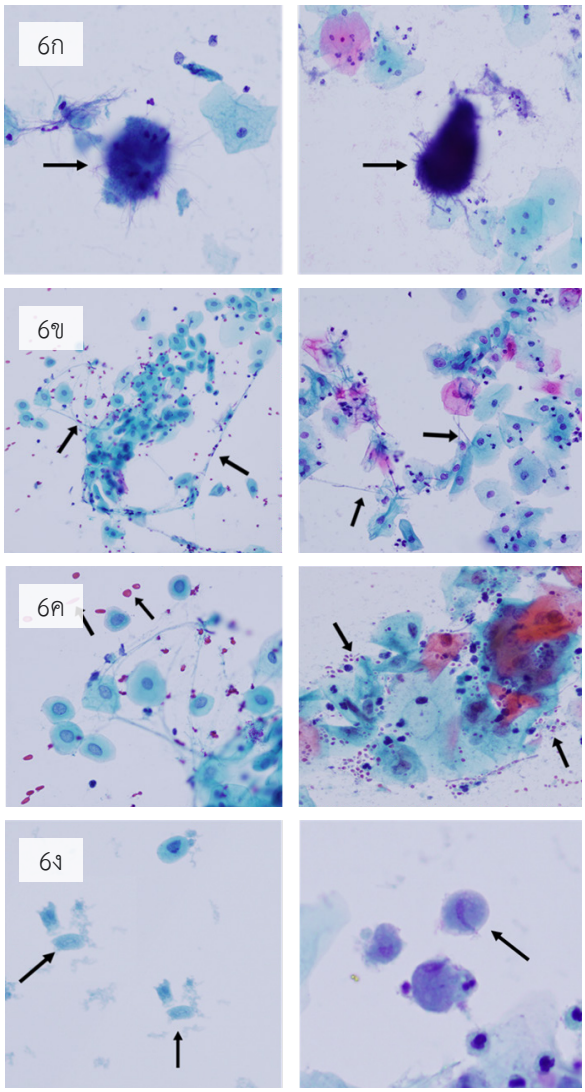
ภาพที่ 5 แสดงลักษณะทางเซลล์วิทยาของเซลล์ที่ติดเชื้อ Cytomegalovirus (CMV) มี inclusion ถูกล้อมรอบด้วยบริเวณใส ๆ (halo)
ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

กำลังขยายต่ำ ดังนั้นควรใช้กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์เพิ่มขึ้นเพื่อให้เห็นลักษณะที่ชัดเจนโดย Pseudohyphae นั้นจะพบเป็นแท่งยาว ปลายมนต่อกัน สามารถแตกกิ่งก้านสาขาได้ และติดสีชมพู แต่มูก (Mucus) จะติดสีฟ้าอ่อน (pale blue) (ภาพ 6ข)[3,4]

3. ลักษณะเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เสื่อม (Degenerate red blood cell) จะมีลักษณะคล้ายกับ Budding yeast ที่พบในเชื้อรา เนื่องจาก Budding yeast จะมีขนาดเล็ก ในบางครั้งเมื่อใช้กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ต่ำ จะไม่สามารถมองเห็นรายละเอียดของเชื้อได้ ดังนั้นควรใช้ กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์เพิ่มขึ้น เพื่อให้เห็นลักษณะที่ชัดเจน โดยลักษณะทางเซลล์วิทยาของ Budding yeast มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ขนาดเล็ก ติดสีชมพู มีความแวววาว ขอบชัด (ภาพ 6ค)[4]

4. ลักษณะ Parabasal cells ที่กำลังจะเสื่อมสลาย ใน Atrophic smear จะเห็นลักษณะนิวเคลียสจาง ๆ อยู่กลางเซลล์ ซึ่งจะดูคล้ายกับลักษณะเซลล์วิทยาของเชื้อ Trichomonas vaginalis แต่นิวเคลียสของ Trichomonas vaginalis นั้นจะเห็นได้ชัดเจนกว่าว่ามีรูปร่างรีหรือกระสวยอยู่ค่อนไปทางริมเซลล์ (eccentric) และ Parabasal cells จะมีขนาดที่ใหญ่กว่า โดย Parabasal cells มีขนาด 50 ไมครอน ส่วนเชื้อ Trichomonas vaginalis มีขนาด 15-30 ไมครอน (ภาพ 6ง)[1,4]

5. ลักษณะเซลล์วิทยาของเซลล์ที่ติดเชื้อ Herpes simplex virus ที่พบเดี่ยวๆ จะคล้ายกับเซลล์ของ High Grade Squamous Intraepithelial lesion (HSIL) โดยสามารถแยกความแตกต่างได้คือ เชื้อ Herpes simplex virus นิวเคลียสจะมีลักษณะเหมือนกระจกฝ้า (ground glass chromatin) และขอบนิวเคลียสหนาขึ้น (Magination of nuclear chromatin) แต่เซลล์วิทยาของ HSIL จะพบอัตราส่วนนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมสูง (High N/C ratio) โครมาตินหยาบติดสีเข้มขึ้น (Hyperchromatic) ขอบนิวเคลียสมีรอยหยัก (Irregular nuclear membrane) เพื่อความชัดเจนตามเกณฑ์การวินิจฉัย (Criteria) ควรใช้กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์เพิ่มขึ้นในการดูลักษณะทางเซลล์วิทยา (ภาพ 6จ)[1,4]



ภาพที่ 6 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของการติดเชื้อที่มีความคล้ายคลึงกับลักษณะทางเซลล์วิทยาต่าง ๆ และตัวอย่างสเมียร์ที่พบการติดเชื้อ 2 เชื้อ ในผู้ป่วยรายเดียวกัน (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า)

ภาพ 6ก ลักษณะแบคทีเรีย Lactobacilli ที่รวมกลุ่มกัน (ซ้าย) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Actinomyces* spp. (ขวา)

ภาพ 6ข ลักษณะการยืดของมูก (Mucus) (ซ้าย) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ Candida spp. (ขวา)

ภาพ 6ค ลักษณะเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เสื่อม (Degenerate red blood cells) (ซ้าย) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของ Budding yeast (ขวา)

ภาพ 6ง ลักษณะ Parabasal cells ที่กำลังจะเสื่อมสลาย (ซ้าย) ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Trichomonas vaginalis* (ขวา)

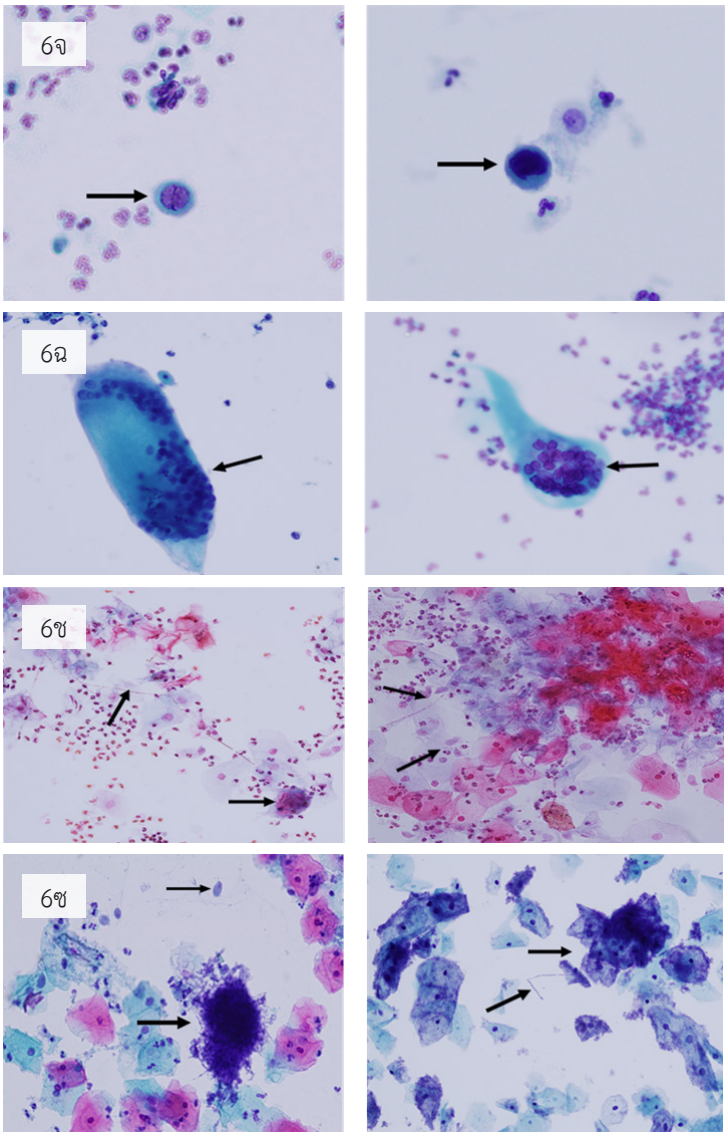
ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

6. Multinucleated histiocytes giant cells เป็นเซลล์ที่พบได้ในสตรีวัยหมดระดู และสตรีหลังคลอด จะมีลักษณะคล้ายกับ Multinucleated cells ที่พบในการติดเชื้อ Herpes simplex virus ดังนั้นจะต้องดูลักษณะของนิวเคลียสประกอบในการแปลผล ซึ่งเชื้อ Herpes simplex virus นิวเคลียสจะมีลักษณะเหมือนกระจกฝ้า (ground glass chromatin) และขอบนิวเคลียสหนาขึ้น (Magination of nuclear chromatin) (ภาพ 6ฉ)[1,4]

7. การติดเชื้อที่พบในสเมียร์นั้น บางครั้งอาจพบมากกว่า 1 เชื้อ ในผู้ป่วยรายเดียวกัน ดังนั้นควรระมัดระวังในการแปลผล โดยใช้เกณฑ์การวินิจฉัย (Criteria) ตามระบบ The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology 2014 (TBS 2014) (ภาพ 6ช, ภาพ 6ซ)

สถิติการพบ Organisms ใน Pap smear

จากข้อมูลของสตรีที่เข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา (Pap smear) ในโรงพยาบาลศิริราช ปี พ.ศ.2565 จำนวน 36,261 ราย พบข้อมูลสถิติการตรวจพบเชื้อจุลชีพ (Organisms) จากห้องปฏิบัติการหน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวช วิทยา จำนวน 3,629 คิดเป็นร้อยละ 10.01 โดยตรวจพบการติดเชื้อดังนี้ *Candida* spp. ร้อยละ 9.33 *Actinomyces* spp. ร้อยละ 0.47 *Trichomonas vaginalis* ร้อยละ 0.13 Herpes simplex virus ร้อยละ 0.05 Bacterial vaginosis ร้อยละ 0.03 และไม่พบการติดเชื้อ Cytomegalovirus โดย Organisms ที่พบมากที่สุดคือเชื้อรา ซึ่งจากการตรวจทางเซลล์วิทยาของห้องปฏิบัติการหน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา พบว่าผู้ป่วยที่เข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา (Pap smear) มีทั้งแสดงอาการและไม่แสดงอาการของการติดเชื้อ และพบการติดเชื้อมากในช่วงอายุ 31-50 ปี และจากสถิติช่วงปี พ.ศ. 2563-2565 ตรวจพบการติดเชื้อจาก Pap smear ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 10 ซึ่งเป็นตัวเลขที่ค่อนข้างคงที่



ภาพที่ 6 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของการติดเชื้อที่มีความคล้ายคลึงกับลักษณะทางเซลล์วิทยาต่าง ๆ และตัวอย่างสเมียร์ที่พบการติดเชื้อ 2 เชื้อ ในผู้ป่วยรายเดียวกัน (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า)

ภาพ 6จ ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเซลล์ที่ติดเชื้อ Herpes simplex virus (ซ้าย) ลักษณะเซลล์ผิดปกติ HSIL (ขวา)

ภาพ 6ฉ ลักษณะ Multinucleated histiocytes giant cells (ซ้าย) ลักษณะเซลล์วิทยาของเชื้อ Herpes simplex virus มีหลายนิวเคลียสและนิวเคลียสมีลักษณะเหมือนกระจกฝ้า (ขวา)

ภาพ 6ช ตัวอย่างสเมียร์ที่พบการติดเชื้อ 2 เชื้อ ในผู้ป่วยรายเดียวกัน เรียงจากซ้ายไปขวา ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Candida* spp. และเชื้อ Herpes simplex virus ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Candida* spp. และเชื้อ *Trichomonas vaginalis*

ภาพ 6ซ ตัวอย่างสเมียร์ที่พบการติดเชื้อ 2 เชื้อ ในผู้ป่วยรายเดียวกัน เรียงจากซ้ายไปขวา ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ *Actinomyces* spp. และเชื้อ *Trichomonas vaginalis* ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเชื้อ Bacterial vaginosis และเชื้อ *Candida* spp.

ที่มา: ศศิธร สิงห์คำ หน่วยเซลล์วิทยา ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

สรุป

การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทางเซลล์วิทยา (Pap smear) สามารถวินิจฉัยเซลล์วิทยาของการติดเชื้อได้ ซึ่งพบเชื้อจุลชีพ (Organisms) ได้ทั้งในผู้ป่วยที่แสดงอาการและไม่แสดงอาการ ซึ่งการตรวจพบเชื้อในผู้ที่ไม่แสดงอาการนี้จะทำให้ผู้ป่วยได้รับโอกาสในการรักษาก่อนจะมีอาการแสดงที่รุนแรง รวมทั้งสามารถลดและป้องกันการแพร่เชื้อไปยังคู่นอนผ่านทางเพศสัมพันธ์ได้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.พญ. ปัทมา เชาว์โพธิ์ทอง หัวหน้าหน่วยเซลล์วิทยา ที่กรุณาให้คำปรึกษาและอนุเคราะห์ปรับแก้ไขข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในบทความนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Nayar R, Wilbur DC, editors. The Bethesda system for reporting cervical cytology: definitions, criteria, and explanatory notes, 3rd ed. Springer Cham, 2015.

2. Jayapalan S, Bindu R. Papanicolaou smear: A diagnostic aid in sexually transmitted infections. Indian J Sex Transm Dis & AIDS. 2020;41(2):143.

3. Ducatman BS. Cytology: Diagnostic principles and clinical correlates. 2020.p.18-22

4. Kamal MM. The Pap smear in inflammation and repair. CytoJournal. 2022;19.

5. Rao VL, Mahmood T. Vaginal discharge. Obstet Gynaecol Reprod Med. 2020;30(1):11-8.

6. Coudray MS, Madhivanan P. Bacterial vaginosis—A brief synopsis of the literature. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020;245:143-8.

7. โรงพยาบาลคลินิกและสถาบันด้านการศึกษาสุขภาพ. เชื้อราในช่องคลอด [อินเตอร์เน็ต]. 2564 [เข้าถึงเมื่อ 2566 ก.พ. 1]. เข้าถึงได้จาก https://www.health2click.com

8. โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์. โรคพยาธิในช่องคลอด ภัยเงียบที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า [อินเตอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 2566 ก.พ. 1]. เข้าถึงได้จาก https://www.bumrungrad.com/th/health-blog/july-2019/trichomoniasis.

9. โรคที่เกิดจากแฟลกเจลเลต – ทริโคโมนิเอซิส [อินเตอร์เน็ต]. 2557 [เข้าถึงเมื่อ 2566 ก.พ. 1]. เข้าถึงได้จาก https://microbiology-protozoa.blogspot.com/2014/07/blog-post_1102.html.

10. Ismail KA, Hagag HM, Alam-Eldin YH, Mahmoud MK, Abdulaziz AM, Khalifa AM, et al. Perinuclear halo indicate Trichomonas vaginalis in Pap smear. Arch Biotechnol & Biomed. 2019;3(1):001-5.

11. Organization WH. Herpes simplex virus [Internet]. 2022 [cited 2023 Feb 1] Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus.

12. Navti OB, Al-Belushi M, Konje JC. Cytomegalovirus infection in pregnancy–An update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2021;258:216-22.