

인체 질상피세포와 반응시킨 질편모충의 주사전자현미경적 관찰

김 승 룡, 류 재 숙^{1,*}

한양대학교 의과대학 산부인과학교실, ¹기생충학교실

Scanning Electron Microscopic Observation of *Trichomonas vaginalis* Contacted with Human Vaginal Epithelial Cells

Seung-Ryong Kim and Jae-Sook Ryu^{1,*}

Department of Obstetrics and Gynecology, ¹Department of Parasitology,
Hanyang University College of Medicine, Seoul 133-791, Korea

(Received July 5, 2001)

ABSTRACT

The aim of this study was to observe morphological changes of *Trichomonas vaginalis* after contact with human vaginal epithelial cells, by scanning electron microscope. The vaginal epithelial cells (VEC) (menstrual, days 5~10) from normal women were mixed with *T. vaginalis* (VEC/trichomonads ratio of 1:10), and incubated for 30 min. The parasitic body was changed to a more elongated shape with pseudopodia or was flattened to ameboid transformation showing highly adherence to VEC.

Key words : Human vaginal epithelial cells, Scanning electron microscopy, *Trichomonas vaginalis*

서 론

질편모충(*Trichomonas vaginalis*)은 주로 성적 접촉에 의해 남, 여 사이를 오가는 편모충으로 전세계적으로 널리 분포되어 있으며 미국에서도 매년 2~3백만명이 감염된다고 추정되고 있다(Hammill, 1989). 국내에서도 강원지역의 조사에서 산부인과를 내원한 여성의 7%가 감염되었고(Choi et al., 1996) 본 연구진의 PCR 방식을 통한 경기지역 조사에서도 11%의 감

염률을 보고한 바 있어(Ryu et al., 1999) 국내를 비롯한 전세계적으로 유행하는 성병이다. 이 원충에 의한 감염은 여성에서는 질분비물 과다분비, 대하, 음부가려움증 등 여러 증세를 일으키며 특히 임신부에서는 조기출산, 조기태반박리 등을 유발하는 등 심각한 문제를 일으킨다(Minkoff et al., 1984; Soper et al., 1990). 남성에서는 여성과 달리 대부분의 경우 증세를 나타내지 않는다고 알려져 있으나 비임균성요도염, 전립선염, 불임의 원인으로 여겨지고 있다(Meares, 1980; Krieger, 1981).

이 논문은 2000년 한양대학교 교내연구비 지원으로 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Jae-Sook Ryu, Department of Parasitology Hanyang University College of Medicine, #17 Haengdang-dong, Songdong-gu, Seoul 133-791, Korea. Ph.: +82-2-2290-0683, FAX: 82-2-2281-6519, E-mail: jsryu@hanyang.ac.kr
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

질편모충이 병원성을 나타내기 위해서는 질상피세포에 부착하고 증식하면서 접촉에 기인한 세포독성을 나타내고 또한 단백분해효소들을 분비하여 상피세포를 탈락시키는 것으로 알려져 있다(Alderete & Pearlman, 1984; Alderete & Garza, 1988; Arroyo & Alderete, 1989) 숙주에서는 호중구가 화학주성에 의해 감염장소로 유인되어 기생원충을 사멸시킨다고 하는데 이런 숙주-기생충 간의 작용이 모두 병원성을 나타내는데 작용할 것으로 예상되고 있다(Shao et al., 1994).

질편모충이 병원성을 나타내는 첫 번째 단계인 질상피세포와의 부착은 가장 중요한 단계인데 인체 질상피세포에 부착된 질편모충의 형태 변화에 대해서는 알려진 바가 많지 않다(Arroyo et al., 1993; Furtado & Benchimol, 1998).

이 연구에서는 인체 질상피세포를 분리한 후 질편모충을 넣어 반응시키고 질편모충의 변화를 주사전자현미경으로 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 질편모충의 배양

실험에 사용된 질편모충 KT4 분리주는 질염환자의 질분비액을 면봉으로 채취하여 Diamond의 TYM 배지(1957)에 분리 배양한 것이다. 이때 사용된 무균 배양배지의 처방은 다음과 같다. TYM 배지의 처방은 1차 증류수 435 ml에 Trypticase 10.0 g, Yeast extract 5.0 g, Maltose 2.5 g, L-cystein HCl 0.5 g, Ascorbic acid 0.5 g, K₂HPO₄ 0.5 g, KH₂PO₄ 0.5 g, FeSO₄·7H₂O 0.05 g, TC medium 0.25 g를 넣고 녹인 후 0.2 μm 크기의 소공이 있는 여과지를 통과시켜 무균상태를 만든 후 말혈청 50 ml를 섞어 만들고 15 ml 배양 시험관에 5 ml씩 분주하여 사용하였다. 배양액은 15 ml 배양 시험관에 5 ml씩 넣어 37°C 항온기에서 배양하였으며 24 시간 마다 계대 배양하였다(Ryu et al., 2001). 질편모충의 주사전자현미경적 관찰을 위해서는 0.1% poly-lysine으로 코팅한 덮개유리(cover glass)에 세척한 질편모충을 퍼뜨리고 상온에서 3~5분간 방치하여 건조시킨 후 3% glutaraldehyde에 고정하였다(Min et

al., 1994).

2. HeLa 세포 배양 및 부착 실험

HeLa세포는 10% 우태아혈청을 포함하는 MEM배지에서 배양하였다. 11 × 11 mm 크기의 덮개유리(cover glass)를 24well 배양기에 넣고 HeLa세포 3 × 10⁵을 넣고 하룻밤 배양하였다(Min et al., 1997). 정상 질편모충이나 약제 처리한 질편모충을 150 × 10⁴을 넣고 2시간 부착시켰다. 이때 사용한 배지는 TYM: MEM = 1:20이 되도록 섞은 혼합 배지를 사용하였다. 부착되지 않은 세포들은 인산완충액(pH 7.0)으로 3회 세척하였다. 전자현미경적 관찰을 하기 위하여 3% glutaraldehyde에 고정하였다.

3. 질상피세포의 분리

질염이 없는 여성으로 생리주기 5~10일 사이인 30대 여성 5명의 질 내벽 상피세포를 다음과 같은 방법으로 채취하였다. 먼저 소독된 질경을 사용하여 질을 개대시킨 뒤, 질 세포진 검사에 이용되는 cyto-brush의 brush쪽을 이용하여 질 내벽 양측을 수회 긁은 뒤, 이 brush를 5 ml의 인산완충액(pH 7.2)과 5 ml의 sodium acetate buffer(pH 4.4)가 들어있는 시험관에 넣고 잘 흔든다. 채취된 상피세포는 바로 실험실로 바로 보내서 trypan blue로 생존율을 측정하고 주사전자현미경적 관찰을 위하여 Alderete et al. (1995)의 방법을 수정하여 준비하였다. 먼저 질 상피세포 부유액을 60 μm 구멍의 nylon filter (Millipore NY60, Bedford, Massachusetts)를 먼저 통과 시켜 조직파편 및 다른 숙주세포를 제거한 다음 여과물을 다시 11 μm 구멍의 nylon filter (Millipore NY11)를 통과시켜 여과지 위에 있는 상피세포를 사용하였다.

4. 주사전자현미경적 관찰

질상피세포에 부착된 질편모충의 형태를 관찰하기 위하여 분리한 질상피세포를 6 well plate에 넣고 질상피세포 대 질편모충의 비가 1:10이 되도록 세척한 질편모충을 넣은 후 30분간 37°C 항온기에서 반응시킨 후 인산완충액으로 가볍게 세척한다. 세척한 세포를 11 μm 구멍의 nylon 여과지 위에 올리고 상온에

서 5분간 방치하여 약간 건조시켰다. 4°C의 3% glutaraldehyde (0.1 M Millonig's phosphate buffer, pH 7.3) 하에서 3시간 전고정하였다. 인산완충액으로 세척한 다음 1% osmium tetroxide로 1시간 20분 후고정하였다. 인산완충액으로 세척한 다음 50% ethanol로부터 농도 상승순으로 완전 탈수시키고 치환은 isoamyl acetate로 3회 실시하고 임계점 건조기(critical point dryer, HCP-2)로 건조시킨 후 시료를 제물대(stube)에 부착시켰다. 금속증착은 ion sputter (E-1010)를 사용하여 약 20 nm 두께로 금(Au)도금하였다. 주사전자 현미경(S-2380N)으로 가속전압 25 kV에서 관찰하였다(Min et al., 1994).

결 과

1. 정상 TYM배지에서 배양한 질편모충 (*Trichomonas vaginalis*) 영양형

질편모충은 장축이 10 µm 내외의 크기의 타원형으로 4개의 길다란 앞편모를 가지고 있는데 이 편모는 세포내의 운동원기로 부터 나올 때 두 부분으로 갈라져서 나온다. 두 개의 편모가 붙어서 나오다가 다시 한 개씩 갈라진다. 파동막(undulating membrane)은 충체 전반부에서 원형질막과 접촉하여 물결치듯 체후방으로 진행된다. 원형질막에는 굴곡이 있고 표면에 작은 구멍도 관찰된다. 축색(axostyle)은 체후방에 5 µm 내외의 길이로 뾰족하게 뻗어 있다(Fig. 1). 원형질막에는 굴곡이 있고 표면에 작은 구멍도 관찰되었다. 때로는 활발한 아메바상 운동체인 filopodia나 위족도 관찰되었고(Figs. 1, 2) 축색은 체후방으로 뾰족하게 뻗어 있었다.

2. 인체 질상피세포

실험에 사용한 질상피세포는 생리주기 5~10일 사이의 질상피세포로 생존율은 34~42%범위이었다. 질상피세포는 상피세포와 상피세포사이의 경계부위가 솟아나온 ridge로 연결되어 있거나(Fig. 3a) 또는 세포와 세포사이에 furrow가 있어(Fig. 3b) 세포끼리를 연결시켜주며 세포와 세포가 분명히 구분되었다. 세포

와 세포 간에 ridge로 연결되어있는 세포는 표면에 많은 microridge가 있으며 오목(pit)이나 구멍(hole) 주위를 둘러싸고 있다(Fig. 4). 그러나 세포와 세포의 연결이 furrow에 의해 연결되어 있는 세포는 표면에 많은 미세융모(microvilli)가 관찰되고 있으나 구멍은 관찰되지 않았다(Fig. 3b). 세포간의 연결이 ridge로 되어있는 면과 furrow로 연결된 면은 각각 질상피세포의 꼭대기쪽 면(apical surface)과 바닥쪽 면(basal surface)으로 구분된다(Fig. 4).

3. 질상피세포에 부착된 질편모충의 형태

질편모충은 몸을 길게 늘이고 편모가 나오는 전단 부보다는 후반부 쪽에서 위족을 내면서 질 상피세포에 부착한다. 초기의 부착이 진행되면 충체가 몸을 얇게 펴면서 상피세포에 퍼져 상피세포와 구분하기 어려운 정도로 강력하게 부착하게 된다. 여러마리의 질편모충이 모이게 된다(Figs. 5-8).

상피세포의 상태가 좋지않아 microridge나 미세융모를 관찰하기 어려운 경우에도 질편모충과 질상피세포에 단단히 부착되어 질편모충과 질상피세포의 구분이 어려운데 질편모충의 편모가 표면으로 나와 있어 구분되었다(Fig. 9). 이분열하는 질편모충은 2벌의 편모가 충체의 앞, 뒤로 관찰되며 뱀 모양으로 관찰되었다(Fig. 10).

4. HeLa 세포에 부착된 질편모충의 형태

배양된 HeLa세포는 원형질막에 많은 미세융모(microvilli)로 덮혀있었고(Fig. 11), 질편모충은 여러마리가 무리를 지어 HeLa세포에 부착되어 있었다. 질편모충에서 위족을 내어 HeLa세포에 붙어있는 것도 관찰되었으며, 원충끼리 편모를 상대방 영양형에 뻗치고 있었다. 어떤 원충에서는 파동막도 보였다. 질편모충 표면에 구멍이 관찰되었으며 불규칙한 완만한 주름도 관찰되었다(Fig. 12).

고 찰

질상피세포의 주사전자현미경적 관찰 논문은 많지

않으며 대부분이 실험동물 즉 백서, 마우스, 기니아피 등을 대상으로 한 논문으로 (Rubio, 1976; Centola, 1978; Kuhnel & Mendoza, 1992) 인체의 생리주기에 따른 질 상피세포의 주사전자현미경적 연구 논문은 찾기 어렵다.

인체 질상피세포의 생리주기에 따른 생존율의 변화를 조사한 보고는 찾기 어려운데 Patton et al. (2000) 은 생리주기에 따라 상피세포층 수가 26~29층으로 변한다고 하였다. 인체 질상피세포와 질편모충을 반응시킨 Furtado & Benchimol (1998)의 보고에서는 질 상피세포의 생존율이 12%이었고 Arroyo et al. (1993) 과 Rendon-Maldonado et al. (1998)은 질상피세포의 연구에서 생존율에 대해서는 조사하지 않았다.

이 실험에서 10여명의 질상피세포의 생존율을 조사하니 생리주기 12~21일에 채취한 상피세포는 생존율이 10% 내외이었고 생리주기 5~10일 사이의 질 상피세포는 생존율이 35% 이상을 보였으므로 생리주기 10일 이전의 질상피세포를 사용하였다.

질상피세포의 생존을 높게 유지하기 위해서는 질 상피세포를 부유할 때 사용하는 완충액이 중요할 것으로 생각되어 pH가 다른 2가지 완충액을 비교하였다. 인체 질 점막의 pH는 산성으로 알려져 있으므로 pH 4.4인 sodium acetate buffer를 사용하였고, 다른 완충액은 일반적으로 세포를 세척, 부유시킬 때 사용하는 pH 7.2인 인산완충액을 사용하였는데 2종류의 완충액은 질상피세포의 생존율에 크게 영향을 주지 않고 비슷한 생존을 보였다.

실험에 사용한 생리주기 5~10일 사이의 질상피세포는 세포표면이 2가지 모양이었는데 세포끼리 연결 부위가 ridge로 솟아 있는 세포와 furrow로 낮은 고랑이 파여있는 세포가 관찰되었다. Centola (1978)는 백서의 질상피세포의 주사전자현미경적 관찰에서 ridge를 보이는 상피세포는 위쪽 층의 상피세포와 연결할 때 ridge가 접촉되는 곳이라고 하였다. Fig. 4에서 질상피세포가 접혀있어서 꼭대기쪽 면 (apical surface)과 바닥쪽 면 (basal surface)이 모두 관찰되었는데 꼭대기쪽 면에는 ridge가 있고 바닥쪽 면에는 세포와 세포 연결부위에 furrow가 있으며 표면이 미세융모로 되어 있음을 관찰할 수 있었다. Arroyo et al. (1993)은 몇몇의 질편모충이 furrow가 있는 쪽에 부

착된 것을 보고하였으나 이 실험에서는 대부분의 질편모충이 ridge가 있는 질 상피세포 표면에 부착되어 있는 것이 관찰되었다 (Figs. 5-8). 한편 질편모충은 표적세포의 생존과 관계없이 부착됨을 알수 있었는데 Fig. 9 및 Fig. 10은 상피세포가 많이 손상되어 microridge나 미세융모가 관찰되지 않음에도 질편모충의 강력한 부착이 관찰되었고 Furtado & Benchimol (1998)도 손상된 질상피세포에 충체 부착을 관찰하였다. 실제로 죽은 질상피세포와 건강한 질상피세포 중 어느 세포에 부착이 잘 되는지에 대해서는 알려지지 않았다.

질편모충이 질상피세포에 부착되는 과정은 시간별로 하지 못하고 30분으로 고정시켰는데도 불구하고 여러 질편모충의 부착과정을 통해 Arroyo et al. (1993)의 보고에서와 같이 시간별 부착과정을 볼 수 있었다. 질편모충이 몸을 얇게 펴서 아메바 모양으로 변하면서 부착되는데 대부분의 충체는 질상피세포에 부착할 때 편모가 윗면에 위치하게 된다. 어떤 질편모충은 질상피세포에 부착된 모습이 마치 강력한 힘에 의해 위에서 누르거나 또는 밑대로 밀은 것 같이 완전히 부착되어 질상피세포와 구분이 안되나 충체의 윗부분으로 노출된 편모를 보아 구분이 가능하게 된다.

질상피세포와 달리 HeLa세포에서는 2시간의 반응 시간에도 둥근모양의 질편모충을 그대로 유지하면서 HeLa세포와 접촉면 일부에 위족을 내밀은 것이 관찰되었다. Heath (1981)는 토끼 신장 세관상피세포 (RK13)를 표적세포로 사용하여 6시간 반응시켰을 때 질편모충의 모양은 아메바 모양보다는 둥근모습을 유지하고 있으며 위족을 내미는 모양으로 되어 있으므로 질편모충은 부착될 표적세포에 따라 부착하는 모양에 차이가 있음을 알 수 있었다. 질편모충층 감염에서 질편모충의 표적세포인 인체 질상피세포와 접촉하였을 때 충체를 되도록 넓게 펴서 질상피세포와의 접촉면적을 넓히는 것이 계속적인 분비가 일어나는 질환경에서 질편모충이 살아나는 방법이라고 하였다 (Arroyo et al., 1993).

질편모충이 상피세포에 부착할때에 adhesin 단백질, 시스테인단백분해효소 등 여러 가지 요인이 관여한다고 알려져 있다 (Alderete & Garza, 1988; Arroyo &

Alderete, 1989). Adhesin 단백질은 부착에 관여하는 단백질로 부착하지 않은 상태와 비교하여 충체가 상피세포에 부착하면 단백질이 증가된다고 하며 (Arroyo et al., 1993) 또한 adhesin은 질편모충 배양배지에 철분 농도를 낮게 하면 이 단백질 유전자 발현이 감소되거나 발현되지 않았다고 하였다 (Lehker et al., 1991). 즉, 질편모충의 상피세포 부착은 형태적인 전환 (transformation)과 adhesin 단백질의 합성을 유도한다 (Arroyo et al., 1993).

이 연구에서는 인체 질상피세포에 질편모충을 넣고 30분 후 부착되는 과정을 주사전자현미경으로 관찰하였는데 질편모충의 둥근모양이 물체를 얇게 펴서 질상피세포와의 접촉면적을 늘리면서 질상피세포에 강력하게 부착됨을 관찰하였다.

감사의 글

이 연구를 진행함에 있어 시료제작에 큰 도움을 주신 한양의대 기생충학교실 최한규 선생님과 한양의대 전자현미경실 권중균 선생님께 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Alderete JF, Pearlman E: Pathogenic *Trichomonas vaginalis* cytotoxicity to cell culture monolayer. *Br J Vener Dis* 60 : 99-105, 1984.
- Alderete JF, Garza GE: Identification and properties of *Trichomonas vaginalis* proteins involved in cytoadherence. *Infect Immun* 56 : 28-33, 1988.
- Alderete JF, Arroyo R, Lehker MW: Analysis for adhesins and specific cytoadhesion of *Trichomonas vaginalis*. *Methods in Enzymology* 253 : 407-414, 1995.
- Arroyo R, Alderete JF: *Trichomonas vaginalis* surface proteinase activity is necessary for parasite adherence to epithelial cells. *Infect Immun* 56 : 2991-2997, 1989.
- Arroyo R, Gonzalez-Robles A, Martinez-Palomo A, Alderete JF: Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesin synthesis follows cytoadherence. *Mol Microbiol* 7 : 299-309, 1993.
- Centola GM: Surface features of exfoliated vaginal epithelial cells during the oestrous cycle of the rat examined by scanning electron microscopy. *J Anat* 127 : 553-561, 1978.
- Choi KS, Kwon JY, Uh Y, Koo JS, Cha DS, Kim MC: Prevalence of vaginal *Trichomonas vaginalis* in Kangwon area. *Korean J Obstet Gynecol* 39 : 1273-1278, 1996 (Korean).
- Diamond LS: The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic culture. *J Parasitol* 43 : 488-490, 1957.
- Furtado MB, Benchimol M: Observation of membrane fusion on the interaction of *Trichomonas vaginalis* with human vaginal epithelial cells. *Parasitol Res* 84 : 213-220, 1998.
- Hammill HA: *Trichomonas vaginalis*. *Obstet Gynecol Clin North Am* 16 : 531-540, 1989.
- Heath JP: Behaviour and pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* in epithelial cell cultures. A study by light and scanning electron microscopy. *Br J Vener Dis* 57 : 106-117, 1981.
- Krieger JN: Urologic aspects of trichomoniasis. *Invest Urol* 18 : 411-417, 1981.
- Kuhnel W, Mendoza AS: Scanning electron microscope investigations on the vaginal epithelium of the guinea pig during the estrous cycle. *Arch Histol Cytol* 55 : 205-210, 1992.
- Lehker MW, Arroyo R, Alderete JF: The regulation by iron of the synthesis of adhesins and cytoadherence levels in the protozoan *Trichomonas vaginalis*. *J Exp Med* 174 : 311-318, 1991.
- Mearns EM Jr: Prostatitis syndromes: new perspectives about old woes. *J Urol* 123 : 141-147, 1980.
- Min DY, Ryu JS, Ahn MH, Park SJ, Cho WW: Transmission and scanning electron microscopic changes of *Trichomonas vaginalis* after antiserum treatment. *Hanyang J Med* 14 : 511-526, 1994 (Korean).
- Min DY, Ryu JS, Park SY, Shin MH, Cho WY: Degradation of human immunoglobulins and cytotoxicity on HeLa cells by live *Trichomonas vaginalis*. *Korean J Parasitol* 35 : 39-46, 1997.
- Minkoff H, Grunebaum AN, Schwarz RH, Feldman J, Cummings M, Crombleholme W, Clark L, Pringle G, McCormack WM: Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 150 : 965-972, 1984.

- Patton DL, Thwin SS, Meier A, Hooton TM, Stapleton AE, Eschenbach DA: Epithelial cell layer thickness and immune cell populations in the normal human vagina at different stage of the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 183: 967-973, 2000.
- Rendon-Maldonado JG, Espinosa-Cantellano M, Gonzalez-Robles A, Martinez-Palomo A: *Trichomonas vaginalis*: In vitro phagocytosis of lactobacilli, vaginal epithelial cells, leukocytes, and erythrocytes. *Exp Parasitol* 89: 241-250, 1998.
- Rubio CA: The exfoliating cervico-vaginal surface. II. Scanning electron microscopical studies during the estrous cycle in mice. *Anatomical Record* 185: 359-372, 1976.
- Ryu JS, Chung HL, Min DY, Cho YH, Ro YS, Kim SR: Diagnosis of trichomoniasis by polymerase chain reaction. *Yonsei Medical Journal* 40: 56-60, 1999.
- Ryu JS, Choi HK, Min DY, Ha SE, Ahn MH: Effect of iron on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. *J Parasitol* 87: 457-460, 2001.
- Shaio MF, Lin PR, Liu JY, Tang KD: Monocyte-derived interleukin-8 involved in the recruitment of neutrophil induced by *Trichomonas vaginalis* infection. *J Infect Dis* 170: 1638-1640, 1994.
- Soper DE, Bump RC, Hurt WG: Bacterial vaginosis and trichomoniasis vaginitis are risk factors for cuff cellulitis after abdominal hysterectomy. *Am J Obstet Gynecol* 163: 1016-1023, 1990.

< 국문 초록 >

여성의 질에서 분리한 질편모충을 생리주기 5~10일 사이의 인체 질상피세포와 10:1의 비율로 37°C 항온기에서 30분 반응시킨 후 주사전자현미경으로 질편모충의 형태를 관찰하였다. 정상 질편모충은 난원형 모양인데 비해 인체 질상피세포와 반응시킨 총체는 위쪽을 길게 내밀고 몸이 얇게 퍼져 아메바모양으로 변화하면서 질상피세포에 강하게 부착하는 것이 관찰되었다. 반면 HeLa세포에 부착된 질편모충은 난원형모양을 유지하면서 부착하는 것이 관찰되었다. 이 결과를 종합할 때 질편모충은 질상피세포에 부착할 때 질편모충의 생존에 유리한 아메바모양으로 변하는 것을 알 수 있었다.

FIGURE LEGENDS

Figs. 1-2. Scanning electron micrographs of *T. vaginalis* KT4 cultivated in TYM medium.

Fig. 1. Normal trophozoite of *T. vaginalis* shows 4 anterior flagella (AF), an undulating membrane (UM) and axostyle (A). ($\times 5,000$)

Fig. 2. Flagella of each trophozoite contact with other trichomonad, and filopodia (arrow) of trichomonad is seen. ($\times 2,500$)

Figs. 3-4. Scanning electron micrographs of human vaginal epithelial cell (HVEC).

Fig. 3a. Apical surface of human vaginal epithelial cell. The cell boundaries between adjacent cells are demarcated by ridge (arrow). The apical surface of cell have complex microridges. ($\times 2,000$)

Fig. 3b. Basal surface of human vaginal epithelial cell presents microvilli all over its surface. Elongated furrows (F) represent intercellular boundaries. ($\times 4,000$)

Fig. 4. Both surfaces (apical surface (AS) and basal surface (BS)) of HVEC are observed by folding of HVEC. The microridges frequently surround a pit or hole (arrows). ($\times 6,000$)

Figs. 5-10. Scanning electron micrographs of *Trichomonas vaginalis* in the process of adherence to HVEC.

Figs. 5-6. The parasitic body changes slightly to a more elongated appearance with pseudopodia (P). (Fig. 5; $\times 2,500$) (Fig. 6; $\times 4,000$)

Fig. 7. Broad pseudopodium (P) extended down on to HVEC. ($\times 6,000$)

Fig. 8. The flattened trichomonad sticks to HVEC like a frog. ($\times 4,000$)

Fig. 9. Two pressed trichomonads (T) are strongly adherent to damaged HVEC. ($\times 6,000$)

Fig. 10. The elongated *T. vaginalis* having 2 sets of flagella (arrows) looks like a snake. ($\times 3,000$)

Figs. 11-12. Scanning electron micrographs of normal *T. vaginalis* adherent to HeLa cell monolayer.

Fig. 11. Normal HeLa cell monolayer has many microvilli on the surface. ($\times 1,500$)

Fig. 12. Many trichomonads adhere to HeLa cell monolayer. The majority of parasite attached to HeLa cells retain a pear-like shape. ($\times 1,500$)

Bar = 5 μ m

*** Abbreviations in figures**

A; axostyle, AF: anterior flagella, AS: apical surface, BS: basal surface, F: furrow, HVEC: human vaginal epithelial cells, MR: microridge, P: pseudopodia, R: ridge, T: *T. vaginalis* UM: undulating membrane





