คำนำ

การวิจัยจากงานประจำ (Routine to Research) เป็นสิ่งสำคัญในการสร้างคุณค่าให้กับงานประจำซึ่งได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติงานเพื่อพัฒนาให้งานนั้นมีคุณภาพ เกิดประโยชน์ต่อผู้รับบริการสูงสุด ทั้งนี้เพราะแนวทางปฏิบัติหรือวิธีปฏิบัติงานนั้นเป็นเพียงกรอบขั้นต่ำที่ควรปฏิบัติ ซึ่งหลายครั้งจะต้องมีการปรับปรุงแก้ไขหรือประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมในแต่ละหน่วยงานซึ่งมีข้อจำกัดของสถานที่ อุปกรณ์เครื่องมือ และลักษณะประเภทของผู้มารับบริการที่แตกต่างกัน ดังนั้นการวิจัยจากงานประจำในแต่ละหน่วยงานจึงมีความจำเป็นสำหรับการวางแผน การปรับปรุงการปฏิบัติงาน เพื่อให้เกิดความถูกต้อง เหมาะสม เกิดความพึงพอใจแก่ผู้รับบริการอย่างสูงสุด

อย่างไรก็ตาม งานวิจัยจากงานประจำจำนวนหนึ่งอาจจะถูกประเมินว่าไม่มีคุณภาพเพียงพอสำหรับการนำเสนอผลงานและการตีพิมพ์ในระดับชาติหรือนานาชาติ ดังนั้นงานวิจัยเหล่านี้ต้องอาศัยการขับเคลื่อนจากนโยบายของฝ่ายบริหารหน่วยงานแต่ละที่ในการสนับสนุนให้มีงานวิจัยเหล่านี้ โดยต้องมีนโยบายสนับสนุน จัดหางบประมาณ หาช่องทางเผยแพร่ และการนับงานวิจัยเหล่านี้ให้เป็นภาระงาน เพื่อให้บุคลากรมีความกระตือรือร้นในการสร้างสรรค์งานวิจัยจากงานประจำ เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาหน่วยงานและผู้รับบริการ

วัตถุประสงค์

วารสารนิติเวชศาสตร์ เป็นวารสารของภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีวัตถุประสงค์ในการจัดทำวารสาร ได้แก่

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา
2. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่แนวความคิดสร้างสรรค์ ที่มีประโยชน์ต่อสังคมอย่างมีเหตุผล
3. เพื่อพัฒนามาตรฐานทางวิชาชีพนิติเวชศาสตร์ และนิติวิทยาศาสตร์
4. เพื่อพัฒนารูปแบบของกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทยให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
5. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัยของแพทย์ประจำบ้าน นิสิต นักศึกษาและนักวิจัย

คณะผู้จัดทำ/กองบรรณาธิการ

1. ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ บรรณาธิการ
2. ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร
3. ผศ.นพ.กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน
4. อ.นพ.ธีรโชติ จองสกุล
5. อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุติวงศ์
6. อ.พญ.เกษณี จงประสาธน์สุข
7. ภญ.กัญญนลิน หิรัญเศรษฐธาดา ผู้ช่วยบรรณาธิการและเลขานุการ

วารสารออนไลน์

http://www.forensicchula.net

สารบาญ

Original article

- คุณค่าทางนิติวิทยาศาสตร์ STR 17 ตำแหน่งในช้างไทย 5
- ผลของส่วนผสมเครื่องแกงไทยต่อการทดสอบ Kastle-Meyer 13
- ชาเขียวและชาดำมีผลต่อการทดสอบคราบเลือดของน้ำยา Kastle-Meyer 19
- ผลบวกปลอมของการทดสอบความเปราะเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว 25
- คราบเลือดบนทางเดินและที่จอดรถในมหาวิทยาลัยนเรศวร 29
- การตรวจ *Sarcocystis* spp. ด้วยการย้อมสีแกรม และสีทนกรด 34
- การให้บริการตรวจอุจจาระในรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชน 41

Review

- เชื้อราปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจประเภทอุจจาระและปัสสาวะ 44
- สปอร์ราปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจประเภทอุจจาระ 50

Miscellaneous

- เทคนิคการแพทย์ชุมชน: จากทฤษฎีสู่การลงมือปฏิบัติจริงในชุมชน 55
- ข่าวภาควิชานิติเวชศาสตร์ 59

ภาพปก

ชื่อภาพ Above the Eternal Tranquility

ศิลปิน Isaac Ilyich Levitan

สถานที่ -

ที่มา https://en.wikipedia.org/wiki/File:Levitan_nad_vech_pok28.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิติเวชศาสตร์เป็นวารสารรายสี่เดือน รับเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา โดยให้ส่งผลงานตีพิมพ์ในกระดาษขนาด A4 หรือไฟล์ข้อมูลในสื่อบันทึก หรือจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

ผลงานที่ส่งเพื่อตีพิมพ์สามารถใช้ได้ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ โดยไม่จำกัดรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นบทความแสดงความคิดเห็น งานวิจัยนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานผู้ป่วย และงานในรูปแบบอื่น ๆ

ให้ระบุชื่อเรื่อง ชื่อผู้วิจัยหรือผู้เขียนผลงาน และส่งผลงานได้ที่

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ.พระราม4 เขตปทุมวัน กทม.10330

หรือที่ e-mail: tssnat@hotmail.com

คุณค่าทางนิติวิทยาศาสตร์ของเอสทีอาร์ 17 ตำแหน่งในช้างไทย

จักรพันธ์ หาญภักดีสกุล *

ธานินทร์ ภู่พัฒน์ **

ฉัตรโชติ ทิตาราม ***

จีรยุทธ ไชยจารุวณิช ****

บทคัดย่อ

การตรวจดีเอ็นเอมีประโยชน์หลายด้าน ในส่วนของงานนิติวิทยาศาสตร์นั้น ดีเอ็นเอสามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของแต่ละบุคคล และยังสามารถพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดได้เป็นอย่างดี ในกรณีของช้าง การใช้ดีเอ็นเอพิสูจน์เอกลักษณ์มีความเฉพาะเจาะจงมากกว่าการระบุจากรูปพรรณสัณฐานต่าง ๆ ที่มองเห็นได้จากภายนอก จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับคุณค่าทางนิติวิทยาศาสตร์ของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ช้างจำนวน 17 ตำแหน่ง ได้แก่ EMX-1, FH48, FH60, FH94, FH102, FH103, FH127, FH153, LafMS02, LafMS03, LafMS08, EMU03, EMU04, EMU07, EMU10, EMU12 และ EMU15 จากประชากรช้างจำนวน 139 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางนิติวิทยาศาสตร์ของตำแหน่งดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ทั้ง 17 ตำแหน่ง พบว่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตี้ ค่าโพลีมอร์ฟิกอินฟอร์เมชันคอนเทนท์ (PIC) อยู่ระหว่าง 0.2778(FH48)-0.8155(FH102) และ0.2508(FH48)-0.7854(FH102) ตามลำดับ ค่ากำลังการแยกแยะรวม (Combine PD) แสดงถึงความสามารถในการพิสูจน์เอกลักษณ์ มีค่า 0.999999999999956 ค่ากำลังการคัดออกรวม(Combine PE) ซึ่งใช้ในการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด มีค่า 0.9971194 และ 0.9999696 ในกรณี No parent และ One Parent ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าตำแหน่งดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ได้

คำสำคัญ: ช้าง ดีเอ็นเอ ไมโครแซทเทลไลท์ การพิสูจน์เอกลักษณ์

---

* สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

** ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

*** ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50100

**** ภาควิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 8 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2559

Forensic Value of 17 STR Loci in Thai Elephant (*Elephas maximus*)

Chakraphan Hanpakdeesakul *

Tanin Bhoopat **

Chatchote Thitaram ***

Jeerayut Chaijaruwanich ****

Abstract

DNA analysis has many benefits. In forensic science, DNA can be used for personal identification and blood relationship. In the case of elephants, the use of DNA analysis is more specific than morphological identification method. This study was investigated the forensic value of DNA microsatellite of elephants totally 17 microsatellite loci including, EMX-1, FH48, FH60, FH94, FH102, FH103, FH127, FH153, LafMS02, LafMS03, LafMS08, EMU03, EMU04, EMU07, EMU10, EMU12 and EMU15. Blood samples from 139 elephants. The result of microsatallite DNA of those loci were analyze for forensic value revealed Heterozygosity and Polymorphism Information Content (PIC) are between 0.2778(FH48)-0.8155(FH102) and 0.2508(FH48)-0.7854(FH102) respectively. Combine PD is the value for identification is 0.999999999999956 and combine PE is value for parental testing are 0.9971194 and 0.9999696 for no parent and one parent respectively. Suggesting that, these DNA microsatellite can be applied in forensic science.

Keyword: elephant, *elephas maximus*, DNA, microsatellites, Identification.

---

* Forensic Science, The Graduate School, Chiang Mai University 50200

** Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University 50200

*** Department of Companion Animal and Wildlife Clinic Small Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, 50100

**** Department of Computer Science, Faculty of Science, Chiang Mai University 50200

บทนำ

ช้างจัดเป็นสัตว์ป่าตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่าพ.ศ. 2535 มาตรา 4 ซึ่งตามพระราชบัญญัติฯ ดังกล่าวนั้น ห้ามมิให้มีการล่า ฆ่า มีไว้ในครอบครองหรือเพาะพันธุ์ เว้นแต่ได้รับอนุญาตจากทางราชการเท่านั้น ซึ่งเมื่อช้างอายุครบแปดปี จะต้องดำเนินการฝังไมโครชิพที่หลังใบหูด้านซ้าย และจดตั๋วรูปพรรณช้าง แต่พบว่ายังมีข้อบกพร่องอยู่หลายประการ เช่น ตั๋วรูปพรรณมีการเลือนราง การจดทะเบียนซ้ำซ้อน การปลอมแปลง หรือการนำไมโครชิพจากช้างที่ตายแล้ว มาโยกย้ายใส่ให้กับช้างป่าซึ่งยังไม่เคยจดทะเบียนมาก่อน การตรวจพิสูจน์ช้างด้วยการตรวจดีเอ็นเอได้มีบทบาทสำคัญในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของช้างและเป็นเทคนิคที่มีความเฉพาะเจาะจงมากว่าการระบุตำหนิรูปพรรณสัณฐานที่มองเห็นจากภายนอก และยังสามารถพิสูจน์หาความสัมพันธ์ทางสายเลือดของช้างได้อีกด้วย

การศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ในช้างแอฟริกัน (*Loxodonta africana*)(1) แสดงให้เห็นว่าไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาช้างแอฟริกันนั้นสามารถใช้กับช้างเอเชีย (*Elephas maximus*) ได้ในบางตำแหน่ง ซึ่งแสดงให้เห็นถึงตำแหน่งที่จับจำเพาะของไพรเมอร์ (Primer annealing Site)ได้ถูกอนุรักษ์ไว้ตลอดช่วงกว่า 5 ล้านปีนับตั้งแต่ช้างทั้งสองสายพันธุ์ได้แยกวิวัฒนาการออกจากกัน(2) ต่อมาจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ในช้างเอเชีย (*Elephas maximus*)(3,4) ที่เป็นลักษณะไตรนิวคลิโอไทด์ (Trinucleotide) เตตระนิวคลีโอไทด์ (Tetranucleotide) และไดนิวคลิโอไทด์ (Dinucliotide) รวมถึงการศึกษาในเรื่องของ ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เพื่อใช้ในการจำแนกช้าง(5) และการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดอีกด้วย(6,7)

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการวิเคราะห์ค่าสถิติที่เกี่ยวข้องกับการระบุเอกลักษณ์ของช้าง สถิติที่เกี่ยวข้องกับการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดของช้าง โดยใช้ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานนิติวิทยาศาสตร์ได้

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ในการทำวิจัยได้รับการอนุเคราะห์ข้อมูล DNA ช้างจากคลินิกช้างและสัตว์ป่า ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 139 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างจากเลือดช้าง

(8) ประกอบด้วยปางช้างแม่สา 47 ตัวอย่าง มูลนิธิคืนช้างสู่ธรรมชาติ 18 ตัวอย่าง และศูนย์อนุรักษ์ช้างไทย 74 ตัวอย่าง และได้คัดเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอออกมาทำการศึกษาจำนวน 17 ตำแหน่ง โดยเลือกจากลักษณะ ดีเอ็นเอแบบไดนิวคลีโอไทด์ และไตรนิวคลีโอไทด์ ได้แก่ EMX-1, FH48, FH60, FH94, FH102, FH103, FH127, FH153, LafMS02, LafMS03, LafMS08, EMU03, EMU04, EMU07, EMU10, EMU12 และ EMU15

การวิเคราะห์ข้อมูลด้านพันธุศาสตร์ประชากร

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel Add-In: Microsatellite Tool Kit For Microsoft Excelคำนวณหาค่าความถี่ของแต่ละอัลลีล(Allele Frequency) ในแต่ละตำแหน่งคำนวณหาค่า Observed Heterozygosity, Expected Heterozygosity(9) และค่า Polymorphism Information Content (PIC)(10) ใช้โปรแกรม Arlequin รุ่น 3.11(11) ทำการทดสอบในส่วนของสมดุลของฮาร์ดี ไวน์เบิร์ก (HWE)(12) และได้ทำการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างญาติของกลุ่มประชากร (Co-ancestry Coefficients)(13) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างแต่ละกลุ่มประชากร และมีการใช้โปรแกรม Genepop รุ่น 4.1.4(14) ในการทดสอบ Linkage Disequilibrium(15) อีกด้วย

การวิเคราะห์ข้อมูลด้านนิติวิทยาศาสตร์

ทำการคำนวณหาค่ากำลังการแยกแยะ และค่ากำลังการคัดออก(16) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของการตรวจดีเอ็นเอว่ามีความสามารถในการแยะแยะบุคคลออกจากกันได้มากน้อยเพียงใด และค่าที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการตรวจดีเอ็นเอ โดยค่านี้เป็นค่าที่สามารถคัดคนที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด หรือคนที่ไม่ใช้บุพการีออกไปได้

ผลการทดลอง

การทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์นั้นได้คำนวณค่า Heterozygosity ผลที่ได้คือ ค่า Heterozygosity ของค่าสังเกต(H¬O) อยู่ระหว่าง 0.1642(FH48) - 0.7914(FH60) และค่าคาดหวัง(H¬E) อยู่ระหว่าง 0.2778(FH48) - 0.8155(FH102) มีค่าของ Standard

Error(S.E.) 0.0233(FH102) - 0.0320(EMU12) และผลของการหาค่าความหลากหลายของข้อมูล(PIC) อยู่ระหว่าง 0.2508(FH48) - 0.7854(FH102)

การทดสอบสมดุลของฮาร์ดี และไวน์เบิร์ก(HWE)ได้ใช้โปรแกรม Arlequin 3.11 พบว่าที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% P-value มีค่าเท่ากับ 0.05 ตำแหน่งที่ไม่เป็นไปตามสมดุลของฮาร์ดี และไวน์เบิร์ก ที่ค่า P-Value น้อยกว่า 0.05 จำนวน 10 ตำแหน่ง ได้แก่ FH48, FH94, FH102, FH153, EMU03, EMU04, EMU07, EMU10, EMU12 และ EMU15ตำแหน่งที่เป็นไปตามสมดุลของฮาร์ดี และไวน์เบิร์ก P-Value มากกว่า 0.05 จำนวน 7 ตำแหน่ง ได้แก่ EMX-1, FH60, FH103, FH127, LafMS02, LafMS03 และ LafMS08 ค่ากำลังการแยกแยะ(PD) มีค่าระหว่าง 0.39664(FH48)-0.93422(FH102) ค่ากำลังการคัดออก(PE) มีค่าระหว่าง 0.03852(FH48)-0.45215(FH153) และ 0.13361(FH48)-0.62849(FH153) สำหรับกรณี No Parent และในกรณี One Parent ตามลำดับ ค่า Combined Power of Discrimination ของทั้ง 17 ตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 0.999999999999956 ค่า Combined Power of Exclusion (no parent) ของทั้ง 17 ตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 0.9971194 และ Combined Power of Exclusion (one parent) ของทั้ง 17 ตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 0.9999696 ตามที่แสดงไว้ใน ตารางที่ 1

การทดสอบความไม่สมดุลของการเชื่อมโยงยีน(Linkage Disequilibrium: LD) ได้ใช้โปรแกรม GenePop 4.1.4 ในการคำนวณหาความเชื่อมโยงยีน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% P-Value มีค่าเท่ากับ 0.05 พบว่าตำแหน่งที่เกิดความไม่สมดุลของการเชื่อมโยงยีนมีดังนี้ตำแหน่ง FH60 มีการเชื่อมโยงกับตำแหน่งอื่นๆ ได้แก่ FH94, FH102, LafMS02, EMU03 และ EMU07 ตำแหน่ง EMU07 มีการเชื่อมโยงยีนกับ FH103, EMU10 และ EMU12 ตำแหน่ง LafMS02 มีการเชื่อมโยงกับ LafMS03 และ EMU04 ตำแหน่ง FH102 เชื่อมโยงกับ LafMS08การทดสอบอัตราความสัมพันธ์ระหว่างญาติของกลุ่มประชากรของช้างได้ใช้โปรแกรม Arlequin 3.11 กำหนดการทดสอบ Pairwise Test ในส่วนของ Co-ancestry Coefficients ระดับความเชื่อมันที่ 95% P-Value มีค่าเท่ากับ 0.05 จากประชากรช้างจำนวน 3 กลุ่ม ได้แก่ ปางช้างแม่สา มูลนิธิคืนช้างสู่ธรรมชาติ และศูนย์อนุรักษ์ช้างไทย พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างญาติในแต่ละกลุ่มประชากร

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ 17 ตำแหน่งในช้างไทย

Loci	EMX-1	FH48	FH60	FH94	FH102	FH103	FH127	FH153	LafMS02	LafMS03	LafMS08	EMU03	EMU04	EMU07	EMU10	EMU12	EMU15
Hz_{Obs}	0.3406	0.1642	0.7914	0.7698	0.7194	0.5755	0.4964	0.6861	0.5468	0.7482	0.6750	0.5797	0.4500	0.3238	0.4963	0.2522	0.7424
Hz_{Exp}	0.3504	0.2778	0.7687	0.7832	0.8155	0.5660	0.5472	0.8106	0.5136	0.7845	0.6961	0.6580	0.6623	0.7947	0.7253	0.6189	0.7601
S.E. Hz	0.5485	0.3966	0.8992	0.9043	0.9342	0.7026	0.7146	0.9300	0.7076	0.9129	0.8589	0.8117	0.8175	0.8858	0.8693	0.7347	0.9115
PIC	0.3292	0.2508	0.7278	0.7477	0.7854	0.4711	0.4635	0.7831	0.4627	0.7506	0.6458	0.5958	0.6217	0.7625	0.6793	0.5705	0.7297
HWE	0.5345	0.0000	0.7911	0.0006	0.0043	0.3847	0.1648	0.0000	0.0854	0.1780	0.8179	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0040
PD	0.5485	0.3966	0.8992	0.9043	0.9342	0.7026	0.7146	0.9300	0.7076	0.9129	0.8589	0.8117	0.8175	0.8858	0.8693	0.7347	0.9115
PE(One)	0.1924	0.1336	0.5446	0.5760	0.6252	0.2712	0.2683	0.6285	0.2792	0.5826	0.4579	0.3965	0.4378	0.6004	0.4955	0.3803	0.5778
PE(No)	0.0634	0.0385	0.3660	0.3976	0.4490	0.1590	0.1486	0.4522	0.1333	0.4046	0.2870	0.2374	0.2595	0.4233	0.3216	0.2124	0.3946

หมายเหตุ: HzObs: Observed Heterozygosity, HzExp: Expected Heterozygosity, S.E. Hz: Standard Error of Heterozygosity, PIC: Polymorphic Information Content, HWE: P-value α=0.05 PD: Power of Discrimination, PE(No): PE (No Parent), PE(One): PE (One Parent)

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

การศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ของช้างไทยจาก 139 ตัวอย่างรวม 17 ตำแหน่ง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาค่าสถิติที่เกี่ยวข้องกับการระบุเอกลักษณ์ของช้าง รวมถึงการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดของช้างโดยใช้ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เพื่อใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์

ด้านการศึกษาความหลากหลายของพันธุกรรมของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ได้คำนวณค่าเฮเทอโรไซโกซิตี้ค่าคาดหวัง(H¬E) และค่าสังเกต(H¬O) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้าของ Fernando(2001) ชมชื่น(2003) ฉัตรโชติ(2008) และ ชลิตา(2007) พบว่าค่าที่ได้สอดคล้องกัน

ผลรวมของค่ากำลังการแยะแยะ และค่ากำลังการคัดออกของทั้ง 17 ตำแหน่งที่ได้ศึกษานั้นมีค่าสูงเมื่อเทียบกับผลการศึกษาของเฉลิมฉัตร(2007) ซึ่งศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ FH94 FH102 และ LafMS03 ค่าผลรวมค่ากำลังการแยกแยะได้ 0.9972 และ ค่าผลรวมการคัดออก 0.7531 แสดงให้เห็นว่าจำนวนตำแหน่งดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์หลายตำแหน่งจะทำให้การพิสูจน์เอกลักษณ์ และการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดมีประสิทธิภาพมากขึ้น

การทดสอบสมดุลของฮาร์ดี และไวน์เบิร์ก(HWE) พบว่ามีบางตำแหน่งที่ไม่เป็นไปตามสมดุลฮาร์ดีและไวน์เบิร์กสอดคล้องกับการศึกษาของฉัตรโชติ(2008)ได้แก่ FH48, FH94, FH102, FH127 และ FH153

ผลการทดสอบความไม่สมดุลของการเชื่อมโยงยีน(LD) พบว่าบางตำแหน่งเกิดความไม่สมดุลของการเชื่อมโยงยีนเช่นเดียวกับผลการศึกษาของฉัตรโชติ(2008) เนื่องจากตัวอย่างช้างเป็นช้างเลี้ยงเป็นส่วนใหญ่ จึงมีโอกาสที่บางตำแหน่งจะไม่เป็นไปตามสมดุลฮาร์ดีและ ไวน์-เบิร์ก และเกิดความไม่สมดุลของการเชื่อมโยงยีนเกิดขึ้นได้

การทดสอบอัตราความสัมพันธ์ระหว่างญาติของกลุ่มประชากรของช้างทั้ง 3 กลุ่มพบว่าทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างญาติกัน และเมื่อนำมาทดสอบอีกครั้งโดยเปลี่ยนเงื่อนไขเป็นการทดสอบอัตราความสัมพันธ์ระหว่างประชากรกลุ่มเล็ก กับกลุ่มใหญ่ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.05 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าประชากรกลุ่มเล็ก และประชากรกลุ่มใหญ่ ไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างญาติกันซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของฉัตรโชติ ทิตาราม และคณะ(2010)

จากผลการศึกษาที่ได้เมื่อคำนวณค่ากำลังการแยกแยะรวม และค่ากำลังการคัดออกรวมของทั้ง 17 ตำแหน่งจะเห็นได้ว่าเป็นค่าที่สูง มีค่าเฮเทอโรไซโกซิตี้ และค่าความหลากหลายของข้อมูล (PIC) ที่แสดงว่ามีความหลากหลายของพันธุกรรม แต่เมื่อทำการทดสอบสมดุลของฮาร์ดี และไวน์เบิร์ก และการทดสอบความไม่สมดุลของการเชื่อมโยงยีน (LD) แล้ว ยังมีบางตำแหน่งที่ไม่เป็นไปตามทฤษฎีจึงเป็นข้อควรระวังในการเลือกใช้งานตำแหน่งดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เหล่านั้น

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษา วิจัยในครั้งนี้ขอขอบคุณภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการอนุเคราะห์ข้อมูลข้อมูลดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ของช้างเพื่อนำมาใช้ในการศึกษามา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

1. Eggert, L. S., Ramakrishnan, U., Mundy, N. I., & Woodruff, D. S., 2000, Polymorphic microsatellite DNA markers in the African elephant (Loxondonta africana) and their use in the Asian elephant (Elephas maximus). Molecular Ecology, 9(12), 2223-2226.

2. Maglio, V. J. 1973. Origin and Evolution of the Elephantidae, Transactions of the American Philosophical Society, 63(3), 1-149.

3. Fernando, P., Vidya, T. N. C. and Melnick, D. J. 2001. Isolation and characterization of tri- and tetranucleotide microsatellite loci in the Asian elephant, Elephas maximus, Molecular Ecology Notes, 1: 232–233.

4. Kongrit, C., Siripunkaw C., W. Y. Brockelman, V. Akkarapatumwong, T. F. Wright, and L. S. Eggert.2007. Isolation and characterization of dinucleotide microsatellite loci in the Asian elephant (Elephas maximus), Molecular Ecology Resources 8(1), 175-177.

5. Siripunkaw C. 2003 Evaluation of microsatellite loci polymorphism in the Asian elephant, Elephas maximus, Master's thesis. Faculty of Graduate Studies, Mahidol University.

6. Somgrid, C. 2007. DNA Analysis for Parentage Test in Domesticated Asian Elephant (elephas maximus), Thesis the Graduate School, Chiang Mai University.

7. Thitaram C., Somgird C., Mahasawangkul S. et al. 2010. "Genetic Assessment of Captive Elephant (Elephas maximus) Populations in Thailand," Conservation Genetics Vol. 11:325-330.

8. Thitaram C., Thongtip N., Somgird C. et al. 2008. Evaluation and Selection of Microsatellite Markers for an Identification and Parentage Test of Asian Elephants, Conservation Genetics Vol. 9:921-925.

9. Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics, Columbia University Press, New York, NY, USA.

10. Botstein D, White RL., Skolnick, M., and Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, Am J Hum Genet 32:314–331.

11. Excoffier L. and Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows, Molecular Ecology Resources 10: 564-567.

12. Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure, Evolution 38:1358-1370.

13. Reynolds, J., Weir, B.S., and Cockerham, C.C. 1983. Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance, Genetics, 105:767-779.

14. Raymond M. and Rousset F. 1995. An exact test for population differentiation. Evolution, 49:1280-1283.

15. Weir, B. S. 1996. Genetic Data Analysis II. Sinauer, Sunderland, Mass.

16. ธานินทร์ ภู่พัฒน์. 2538. วิทยาการดีเอ็นเอในงานนิติเวช, พิมพ์ครั้งที่ 1, เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผลของส่วนผสมเครื่องแกงไทยต่อการทดสอบ Kastle-Meyer

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

Kastle-Meyer เป็นน้ำยาทดสอบคราบเลือดที่มีความไวในการทดสอบ อย่างไรก็ตามน้ำยานี้มีข้อกำจัดในเรื่องของความจำเพาะต่อการทดสอบ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลบวกปลอมจากส่วนผสมเครื่องแกงในอาหารไทยว่าสามารถให้ผลบวกปลอมกับน้ำยา Kastle-Meyer หรือไม่ ซึ่งผลการทดสอบพบว่าส่วนผสมในเครื่องแกงไทยไม่ก่อให้เกิดผลบวกปลอมกับน้ำยานี้

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

The effect of Thai spice ingredients on Kastle-Meyer test

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

Kastle-Meyer is a sensitive reagent but not specific for bloodstain screening test. The objective is to prove that Thai spicy ingredients will lead to generate false positive result when tested by this reagent or not. The result indicates that the ingredients do not cause a positive reaction in the test.

---

* Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University. Phitsanulok.

บทนำ

Kastle-Meyer (KM) เป็นน้ำยาตรวจกรองเลือดในสถานที่เกิดเหตุในงานนิติวิทยาศาสตร์และเป็นน้ำยาที่มีความไวสูงในการตรวจเลือดหรือคราบเลือด[1,2] ซึ่งน้ำยานี้ถูกนำมาประยุกต์ใช้การตรวจคราบเลือดตกค้างบนเครื่องมือทางทันตกรรม[3-8] และยังมีการใช้ตรวจคราบเลือดบนเครื่องมือในแผนกฉุกเฉินและรถพยาบาล[9] อีกทั้งผลารศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าน้ำยานี้มีความเหมาะสมในการตรวจเลือดที่สามารถเห็นด้วยตาเปล่า (occult blood) ในสิ่งส่งตรวจประเภทอุจจาระและปัสสาวะ [10,11] รวมทั้งทดสอบคราบเลือดตกค้างบนเครื่องตรวจน้ำตาลกลูโคสแบบเจาะปลายนิ้ว[12] นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ในการทดสอบแมลงดูดลือดในทางนกีฏวิยาทางการแพทย์อีกด้วย [13,14] อย่างไรก็ตาม น้ำยานี้มีข้อจำกัดอยู่บ้างเนื่องสามารถเกิดผลบวกปลอมได้กับยาหรือพืชผักผลไม้บางชนิด

อาหารไทยเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมบริโภคทั่วโลก และเครื่องแกงไทยเป็นส่วนผสมที่สำคัญในอาหารไทย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพืชที่ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องแกงไทยว่าสามารถเกิดผลบวกปลอมกับน้ำยานี้หรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของการใช้น้ำยานี้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

วิธีการทดสอบ

ชั่งพืชที่ใช้เป็นส่วนผสมเครื่องแกงไทยซึ่งได้แก่พริกแห้ง กระเทียม หอมแดง ตระไคร้ ข่า ใบมะกรูด ชนิดละ 0.5 กรัมในหลอดทดสอบและหยดน้ำยา Kastle-Meyer 5 มิลลิลิตร หยดเอธิลแอลกอฮอล์ 2 หยด จากนั้นหยด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 หยด อ่านผลทดสอบภายใน 10 วินาที หากน้ำยาเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่าเครื่องปรุงชนิดนั้นสามารถให้ผลปลอมกับการทดสอบนี้ได้

ผลการทดสอบ

ผลการศึกษาพบว่าเครื่องแกงและส่วนผสมของเครื่องแกงไม่ ให้ผลบวกปลอมได้ในการทดสอบด้วยน้ำยานี้ (ตาราง1)

ตาราง 1 แสดงผลของเครื่องแกงและส่วนผสมแต่ละชนิดของเครื่องกับน้ำยา Kastle-Meyer

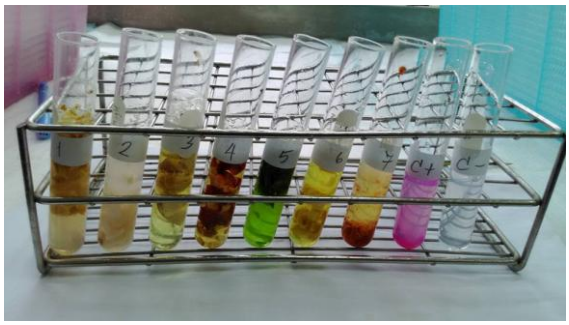
หมายเลขหลอด	ส่วนผสมเครื่องแกง	ผลการทำปฏิกิริยากับน้ำยา
1	ข่า	-
2	กระเทียม	-
3	พริกแห้ง	-
4	ใบมะกรูด	-
5	ตะไคร้	-
6	พริกแกงแดง	-
C+	เลือด	+
C-	น้ำกลั่น	-

+ เกิดปฏิกิริยากับ Kastle-Meyerเป็นสีชมพู - ไม่เกิดปฏิกิริยากับ Kastle-Meyerเป็นสีชมพู

C+หลอดควบคุมผลบวก C- หลอดควบคุมผลลบ

รูปที่ 1 ส่วนผสมของเครื่องแกงที่ใช้ในการทดสอบการเกิดปฏิกิริยากับน้ำยา Kastle-Meyer

รูปที่ 2 หลอดทดสอบที่ยังไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำยา Kastle-Meyer



รูปที่3 หลอดทดสอบหลังทดสอบด้วยน้ำยา Kastle-Meyer แล้ว

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษานี้พบว่าเครื่องแกงไม่สามารถให้ผลบวกปลอมกับการทดสอบนี้ ซึ่งเป็นไปในแนวทางเดียวกับการศึกษาของธนกรณ์ หว่างแย้มและคณะที่พบว่าหอมแดง หอมหัวใหญ่และหอมอินเดียไม่เกิดผลบวกปลอมกับน้ำยานี้ ในขณะที่แครอท หัวผักกาดและมันฝรั่งสามารถเกิดผลบวกปลอมกับน้ำยานี้และการศึกษาของ Petersen และ Kovacs พบ legume root nodules สามาถเกิดผลบวกปลอมกับน้ำยานี้ได้ ซึ่งคาดว่าผลบวกดังกล่าวเกิดจากเปอร์ออกซิเดสในพืชเหล่านั้น ยิ่งไปกว่านั้นพืชผักบางชนิด เช่น บรอคโลลี แคนตาลูป ดอกกระหล่ำ แตงกวา เห็ด ฟักทอง ผักกาดหอม ผักโขม พริกไทย ผลแบล็คเบอรี สับปะรด กล้วย องุ่นดำ ลูกพีซ ลูกผลัม แตงโมและแอปเปิลสายพันธุ์ gold delicious และ gravenstein ให้ผลทดสอบกับ KM เป็นบวกได้เช่นเดียวกัน

เนื่องจากการทดสอบคราบเลือดมีความสำคัญต่อการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ผู้ตรวจสอบหลักฐานจึงควรมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับพืชที่สามารถเกิดผลบวกปลอมเหล่านี้ ซึ่งการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าพืชที่ใช้เป็นส่วนผสมเครื่องแกงไทยไม่เกิดผลบวกปลอมกับการทดสอบ KM ดังนั้น การทดสอบคราบเลือดในสถานที่เกิดจะไม่เกิดผลผิดพลาดจากการตรวจสอบอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของพืชเหล่านี้

ในการตรวจสถานที่เกิดเหตุ มีการใช้ทั้งน้ำยา KM และ luminol เพื่อตรวจคราบเลือดเบื้องต้น แต่ luminol อาจให้ผลบวกปลอมได้กับ บร็อคโคลี หัวผักกาดและดอกกระหล่ำ[17] รวมทั้งสารนี้อาจให้ผลลบปลอมกับชาเขียวและชาจีนได้[18-19] ดังนั้นในการศึกษาในอนาคต ควรทำการทดสอบปฏิกิริยาระหว่าง ชากับ KM ว่าสามารถเกิดผลบวกและลบปลอมหรือไม่ เพื่อเป็นข้อมูลทางนิติวิทยาศาสตร์สำหรับการทดสอบกรองคราบเลือดในอนาคตต่อไปเนื่องจากการปนเปื้อนพืชเหล่านั้นอาจส่งผลต่อการทดสอบคราบเลือดได้ เนื่องจากถึงแม้ว่าน้ำยานี้มีความไวในการทดสอบคราบเลือดมากแต่กลับมีข้อด้อยอยู่บ้างด้านความจำพาะ สำหรับการศึกษาในอนาคต ควรทำการทดสอบผลบวกปลอมและผลลบปลอมที่เกิดจากอาหารและยาเพิ่มเติมเพื่อเป็นข้อมูลทางนิติวิทยาศาสตร์ในการใช้น้ำยานี้ตรวจสอบคราบได้มีประสิทธิภาพและมีประสิทธิผลต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. แสงชัย นทีวรนารถ อรรณพ เทียมแก้ว อุรัตน์ พิมลศรี. การปนเปื้อนเลือดในห้องเรียนปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรพิษณุโลก.วารสารนิติเวชศาสตร์ 2557; 6(3): 33-7.

2. Cox M. A study of the sensitivity and specificity of four presumptive tests for blood. J Foresic Sci 1991; 36(5): 1503-11.

3. Johnston E, Ames CE, Dagnall KE, Foster J, Daniel BE. Comparison of presumptive blood test kits including Hexagon OBTI. J Forensic Sci; 53(3): 687-9.

4. Tobe SS, Watson N, Daéid NN. Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular-weight DNA. J Forensic Sci 2007; 52(1): 102-9.

5. Lowe AH, Bagg J,Burke FJ, MacKenzie D, McHugh S. A study of blood contamination of siqveland matrix bands. Br Dent J 2002; 192(8): 425.

6. Edmand LM, Rawlinson A. The effect of cleaning on blood contamination in the dental surgery following periodontal procedures. Aust Dent J 1998; 43(5):349-53.

7. McColl E, Bagg J, Winning S. The detection of blood on dental surgery surfaces and equipment following dental hygiene treatment. Br Dent J 1994; 176(2): 65-7.

8. Leytters S, Smith AJ, McHugh S, Bagg J. A study of visual and blood contamination on reprocessed endodontic files from general dental practice. Br Dent J 2005; 199(8): 522-5.

9. Lee JB, Levy M, Walker A. Use of a forensic technique to identify blood contamination of emergency department and ambulance trauma equipment. Emerg Med J 2005; 22(11): 836.

10. แสงชัย นทีวรนารถ อรัญญา จิระวิริยะกุล จิรภาส จงจิตวิมล นพดล จารูญ. การศึกษาเปรียบเทียบน้ำยา Kastle-Meyer กับแถบทดสอบปัสสาวะ เพื่อตรวจภาวะ hematuria และ hemoglobinuria. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550; 35(1): 1860-2.

11. แสงชัย นทีวรนารถ. การเปรียบเทียบ guiac และน้ำยา Kastle-Mayer สำหรับตรวจ fecal occult blood. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2552; 2(3); 6-10

12. Louie RF, Lau MJ, Lee JH, Tang Z, Kost GJ. Multicenter study of the prevalence of blood contamination of point-of-care glucose meter and recommendation for controlling contamination. Point of Care 2005; 4(4): 158-63.

13. Gürtler RE, Oneto ML, Cecere MC, Castañera MB, Canale DM. Simple method to identify triatomine (Hemiptera: Reduviidae) feces in sensing devices used in vector surveillance programs. J Med Entomol 2001; 38(2): 147-52.

14. Nateewranart S, Tongpob Y, Sudsaward S, Yasothornsrikul S. The application of Kastle-Meyer test to indentify Brown plant hopper, Nilaparvata lugens (Stal) as a non blood-feeding insect. วารสารนิติเวชศาสตร์2553; 3(1): 67-9.

15. แสงชัย นทีวรนารถ หนึ่งฤทัย นิลศรี ไชยวัฒน์ “ชยสมบูรณ์. ผลบวกปลอมของสารบางชนิดในการเกิดปฏิกิริยาของน้ำยา Kastle-Meyer. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2556; 5(2): 79-83

16. Petersen D, Kovacs F. Phenolphthalein false-positive reactions from legume root nodules. J Forensic Sci. 2014 ; 59(2): 481-4.

17. Ibrahim SA, Fisher C, Betker K, Finbar A. Detection of false positive results for Kastle-Meyer test from food samples. Erie County Central Police Forensic Laboratory, University of New York. [Cited 2015 Oct 22]. Available from: http://curca.buffalo.edu/students/pdfs/2013_posters/IbrahimSitiAshirah.pdf

18. Bancirova M. Black and green tea--how to make a perfect crime. J Forensic Leg Med. 2013 ;20(6):635-9

19. Bancirova M. Black and green tea - luminol false-negative bloodstains detection. Sci Justice. 2012 ;52(2):102-5.

ชาเขียวและชาดำมีผลต่อการทดสอบคราบเลือดของน้ำยา Kastle-Meyer

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

ชาดำและชาเขียวป็นสาเหตุของผลลบปลอมเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาที่ใช้ทดสอบคราบเลือด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหา dilution ที่ทำให้เกิดผลลบปลอมของน้ำยา Kastle-Meyer ที่เกิดจากชาทั้งสองนิดนี้ ผลการศึกษาพบว่าชาดำและชาเขียวให้ผลลบปลอมที่ dilution 1:100 และ 1:10000 ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผู้ตรวจสอบทางนิติวิทยาศาสตร์ควรคำนึงถึงผลการตรวจเลือดในสภาวะที่มีการปนเปื้อนของเครื่องดื่มทั้งสองชนิดนี้

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Influence of black and green tea on Kastle-Meyer blood stain detection

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

Black and green tea cause false negative result of many blood stain detection reagents. The objective of this study was to find a dilution of tea that enhance false negative in blood detection of Kastle-Kastle reagent. The reaction of negative result of black and green tea was dilution 1:100 and 1.1000, respectively. The result indicated that forensic investigator should aware the blood test result which contaminated with this beverage.

* Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

บทนำ

ในการตรวจสถานที่เกิดเหตุและสิ่งที่เป็นหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ จะใช้สารที่เปลี่ยนสีหรือเรืองแสงได้ เช่น น้ำยาKastle-Meyer (KM) หรือ luminol (LM) เพื่อตรวจคราบเลือดเบื้องต้น[1-3] ซึ่งสารดังกล่าวอาจมีข้อจำกัดอยู่บ้าง เช่น เกิดผลบวกหรือผลลบปลอมจากยาหรือหารบางชนิดและสืบเนื่องจากการศึกษาของ Bancirova ที่รายงานพบสาร LM มีข้อจำกัดอยู่บ้าง โดยรายงานนี้พบสารนี้อาจให้ผลลบปลอมกับเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ไวน์ขาวและไวน์แดง รวมทั้งมีการศึกษาเพิ่มเติมที่พบว่าชาเขียวและชาดำจากจีนทำให้เกิดผลลบปลอมกับสารนี้ได้เช่นกัน[4-5] น้ำยา KM เป็นสารที่ใช้ในการตรวจคราบเลือด รวมทั้งมีการใช้ในการเรียนการสอนนิติวิทยาศาสตร์ และเครื่องดื่มดังกล่าวอาจจะให้ผลลบปลอมได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากมีหลักการทดสอบเดียวกัน ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลลบปลอมของปฏิกิริยาของเลือดกับน้ำยา KM ที่เกิดจากชาเขียวและชาดำเพื่อทราบถึงข้อจำกัดของน้ำยาชนิดนี้ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุและบุคลากรที่ทำหน้าที่ตรวจห้องปฏิบัติการนิติวิทยาศาสตร์

ขั้นตอนในการศึกษา

การเตรียมสารละลายชาเขียวและชาดำเข้มข้นร้อยละ 2

ชั่งชาเขียวหรือชาดำมา 2 กรัม เติมน้ำเดือด 100 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นลงเท่ากับอุณภูมิห้อง กรองกากชาออกด้วยกระดาษกรอง นำน้ำที่ได้ใช้ในการเจือจางเลือดต่อไป

การเจือจางเลือดที่ใช้ในการทดสอบ

เจือจางเลือดคนปกติที่มีความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน 14 กรัม/เดซิลิตร ในลักษณะของ ten-fold serial dilution ด้วยสารละลายชาเขียวและชาดำที่ความเข้มข้น 2% ที่ได้เตรียมไว้แล้ว

การทดสอบด้วยน้ำยา KM

นำหลอดทดลองที่เจือจางด้วยสาละลายชาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเติม ethanol แล้วเติมชาและน้ำยา Kastle-Meyer ลงในหลอดทุกหลอด ผสมให้เข้ากันจากนั้นเติม hydrogenperoxide อ่านผลการทดสอบภายในเวลา 10 วินาที

การอ่านผลทดสอบ

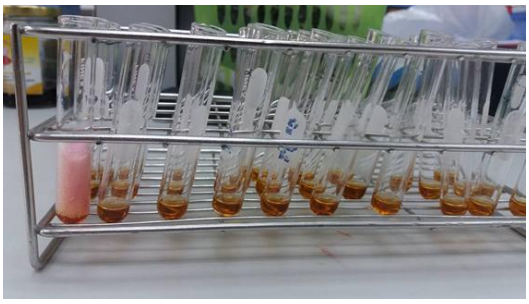
หลอดที่ให้ผลบวกมีการเปลี่ยนสีของน้ำยาทดสอบจากใสเป็นสีเป็นสีชมพู ส่วนหลอดที่ให้ผลทดสอบเป็นลบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี โดยผู้อ่านผลทดสอบสามคน ผลทดสอบจะเป็นบวกเมื่อผู้อ่านผลสองในสามลงความเห็นว่ามีการเปลี่ยนสีของสารทดสอบและทำการทดสอบผลบวกโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายชาเทียบด้วยทุกครั้ง

ผลการทดสอบ

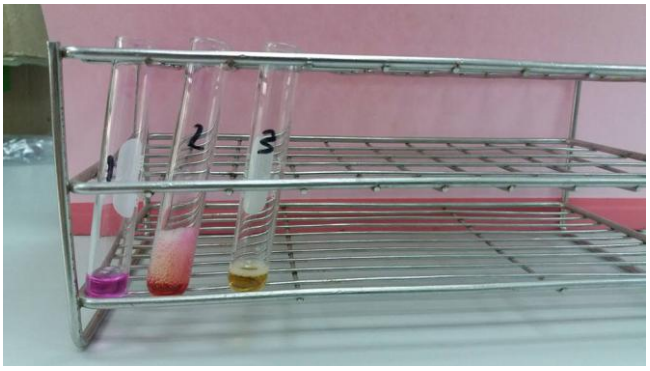
เมื่อเจือจางเลือดกับทดสอบกับ KM โดยใช้ชาเขียวและชาดำเข้มข้น 2% เป็นสารละลายเจือจาง พบว่า น้ำยา KM เริ่มให้ผลเป็นลบกับชาเขียวและชาดำที่ความเข้มข้นของการเจือจางเลือด 1:10000 และ 1:100 ตามลำดับ (ตาราง1 และ รูปที่ 1- 4)

ตารางที่ 1 แสดงผลทดสอบเมื่อตัวอย่างเลือดมีความเข้มข้นต่างๆกันในสภาวะที่มีการปนเปื้อนชาเขียวและชาดำ

	ชาเขียว	ชาดำ
ความเข้มข้นเลือดสุดท้ายที่ให้ผลทดสอบเป็นลบ	1:10000	1:100



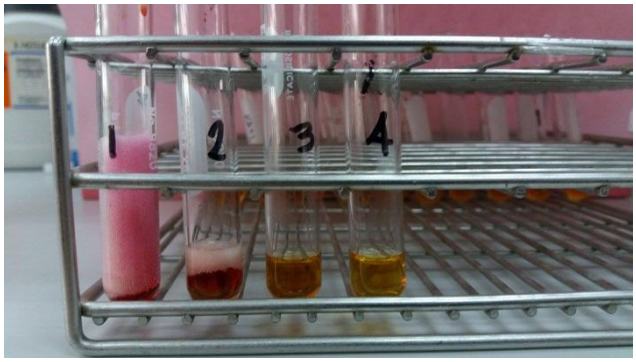
รูปที่1 แสดงผลการทดสอบเลือดที่เจือจางวสารละลายชาดำความเข้มข้นที่ dilution ต่าง ๆ กับน้ำยา Kastle-Meyer



รูปที่ 2 แสดงผลการทดสอบเลือดกับน้ำยา Kastle-Meyer เมื่อเจือจางด้วยชาดำที่ dilution 1:10 แล1::100

หลอด1 คือ ตัวควบคุมผลบวก, 2 คือ dilution 1:10 และ 3 คือ dilution 1:100

รูปที่ 3 แสดงผลการทดสอบเลือดที่เจือจางด้วยสารละลายชาเขียวความเข้มข้นที่ dilution ต่าง ๆ กับน้ำยา Kastle-Meyer



รูปที่ 4 แสดงปฏิกิริยาของน้ำยา KM กับชาเขียวที่เจือจางให้มีความเข้มข้นลดลง

หลอด1 คือความเข้มข้นที่ dilution 1:10, 2 คือ dilution 1:100, 3 คือ dilution1:100 และ 4 คือ dilution 1:10000

อภิปราย

โดยทั่วไปน้ำยา KM จะให้ผลทดสอบเลือดเป็นลบเมื่อเจือจางด้วนน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นที่ dilution 1:10000000[6-7] แต่จากการศึกษานี้พบว่า เมื่อเจือจางเลือดด้วยชาดำหรือชาเขียวจะทำให้ความสามารถในการให้ผลบวกต่อเลือดคนลดลงให้ผลลบที่ dilution 1:100 และ 1:1000 ตามลำดับ จากผลการทดสอบชี้ให้เห็นว่า ชาดำและชาเขียวทำให้ความสามารถในการทดสอบทดสอบเลือดของน้ำยา KM ลดลงสอดคล้องกับการทดสอบก่อนหน้าที่พบว่าชาดำและชาเขียวทำให้ความสามารถในการทดสอบเลือดของสาร LM ลดลง ซึ่งผู้รายงานระบุว่าในชาเขียวและชาดำมีสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ซึ่งทำให้เกิดผลลบปลอมกับ LM [4-5] และเนื่องจาก KM เป็นน้ำยาอีกชนิดหนึ่งที่มีหลักการทดสอบที่เดียวกับ LM และการศึกษานี้ผู้วิจัยพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระในชาทั้งสองชนิดสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาของเลือดคน กับ KM ลดลงซึ่งอาจจะทำให้เกิดผลลบปลอมเมื่อใช้ทดสอบสถานที่เกิดเหตุหรือบนหลักฐานทางนิติเวชได้ ดังนั้น ผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุและผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการนิติเวชศาตร์ควรตระหนักถึงการรบกวนของสารในชาทั้งสองชนิดนี้เนื่องจากอาจทำให้เกิดการแปลผลทดสอบที่ผิดพลาดได้

ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยใช้ชาดำที่นำเข้าจากประเทศจีนและชาเขียวที่ปลูกในภาคเหนือของไทยในการทดสอบกับน้ำยาทดสอบ หากมีการศึกษาเพิ่มเติมควรทำการศึกษาในชาสายพันธุ์อื่นๆ และสภาพการปลูกว่ามีผลต่อการทดสอบด้วยน้ำยา KM ด้วยหรือไม่ นอกจากนี้ การทดสอบใช้ KM ที่เตรียมจาก สารละลายKOH การศึกษาในอนาตควรมีการทดสอบผลลบปลอมของน้ำยา KM ที่เตรียมจาก NaOH ด้วย เนื่องจากKM สามารถเตรียมได้จากสารละลายด่างทั้งสองชนิดดังกล่าว รวมถึงควรทดสอบผลบวกปลอมและผลลบปลอมจากอาหารและเครื่องดื่มอื่น ๆ ด้วย เนื่องจากมีรายงานพบว่า ไวน์ขาวและไวน์แดงสามารถเกิดผลลบปลอมในการทดสอบสาร LM ดังนั้นการทดสอบผลทดสอบปลอมจึงควรทำการศึกษาใน KM ซึ่งเป็นสารทดสอบเลือดเบื้องต้นที่ใช้ในการทดสอบในห้องปฏิบัติการและสถานที่เกิดเหตุที่มีหลักการทดสอบเดียวกัน ซึ่งผู้รายงานระบุว่าในชาเขียวและชาดำมีสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ซึ่งทำให้เกิดผลลบปลอมกับ lm และเนื่องจาก KM เป็นน้ำยาอีกชนิดหนึ่งที่มีหลักการทดสอบเดียวกันกับ LM ผู้วิจัยคาดว่าสารต้านอนุมูลอิสระในชาทั้งสองชนิดจะสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดผลลบปลอมได้หรือไม่

สรุปผลการทดสอบ

การศึกษานี้ ผู้วิจัยพบว่า ชาดำสามารถให้ผลลบปลอมกับการทดสอบคราบเลือดของน้ำยา KM ที่ dilution 1:100 และ ชาเขียวให้ผลลบปลอมที่ 1:10000

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณอรรณพ เทียมแก้ว นักวิทยาศาสตร์ ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการช่วยเหลือให้การศึกษานี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1.Cox M. A study of the sensitivity and specificity of four presumptive tests for blood. J Foresic Sci 1991; 36(5): 1503-11.

2. Ibrahim SA, Fisher C, Betker K, Finbar A. Detection of false positive results for Kastle-Meyer test from food samples. Erie County Central Police Forensic Laboratory, University of New York. [Cited 2015 Oct 22]. Available from: http://curca.buffalo.edu/students/pdfs/2013_posters/IbrahimSitiAshirah.pdf

3. Tobe SS, Watson N, Daéid NN. Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular-weight DNA. J Forensic Sci 2007; 52(1): 102-9.

4. Bancirova M. Black and green tea--how to make a perfect crime. J Forensic Leg Med. 2013 ;20(6):635-9

5. Bancirova M. Black and green tea - luminol false-negative bloodstains detection. Sci Justice. 2012 ;52(2):102-5.

6. Vennemann M, Scott G, Curran L, Tobe SS. Sensitivity and specificity of presumptive tests for blood, saliva and semen. Forensic Sci Med Pathol 2014; 10: 69-75

7. แสงชัย นทีวรนารถ อรัญญา จิระวิริยะกุล จิรภาส จงจิตวิมล นพดล จำารูญ. การศึกษาเปรียบเทียบน้ ายา Kastle-Meyer กับแถบทดสอบปัสสาวะ เพื่อตรวจภาวะhematuria และ hemoglobinuria. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550; 35(1): 1860-2.

ผลบวกปลอมของการทดสอบความเปราะเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว

(One tube Osmotic Fragility test)

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อชี้ให้เห็นว่าน้ำยาเก่าทำให้เกิดผลบวกปลอมการทดสอบ One tube osmotic fragility (OF) ซึ่งเป็นการทดสอบกรองโรคธาลัสซีเมีย โดยผลบวกปลอมจะก่อให้เกิดผลเสียต่อการแปลผลการตรวจในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งอาจส่งผลเสียต่อการรักษาของแพทย์ ส่วนผลเสียต่อการเรียนการสอนวิชาโลหิตวิทยาจะทำให้ผู้เรียนสับสนในการเรียนรู้เนื้อหาของการแปลผลวิเคราะห์

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

False positive result of One tube Osmotic Fragility test

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

The objective of this study is to indicate that false positive resulting from One tube osmotic test using in a thalassemia screening test, will lead to false disease investigation and confuse hematology-learning student.

* Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

บทนำ

One tube osmotic fragility test เป็นการทดสอบที่ใช้ในการตรวจกรองโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย โดยการใช้น้ำยา OF ซึ่ง เป็นการใช้ NaCl ที่มีความเข้มข้น 0.36% ในการทดสอบ โดยอาศัยหลักการที่เม็ดเลือดแดงของคนปกติจะแตกโดยสมบูรณ์ในน้ำเกลือความเข้มข้นดังกล่าว แต่เม็ดเลือดแดงของพาหะธาลัสซีเมียจะไม่แตกสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามการทดสอบนี้สามารถให้ผลบวกในภาวะที่มีเม็ดเลือดแดงที่ hypochromia ในภาวะโลหิตจางเนื่องจากการขาดธาตุเหล็ก

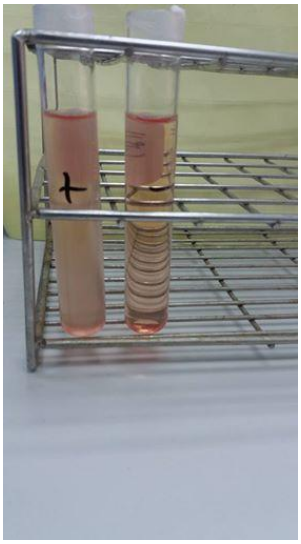
การปฏิบัติงานหรือการสอนทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาและจุลทรรศนศาสตรผู้ปฏิบัติงานหรือผู้สอนที่ใช้น้ำยานี้ที่เก็บไว้เป็นเวลานานจะก่อให้เกิดความผิดพลาดในการอ่านผลการทดสอบ ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อชี้ให้เห็นถึงการใช้น้ำยาที่เก่าเก็บว่ามีผลต่อการอ่านผลที่ผิดพลาดได้เมื่อตรวจกรองผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

วิธีการศึกษา

นำเลือดคนปกติมาทดสอบกับน้ำยา OF แบบ one tube osmolarity ที่เตรียมใหม่และน้ำยาที่เก็บไว้เป็นเวลา 1 และ 2 ปี จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง อ่านผลการทดสอบโดยหากน้ำยาใสอ่านผลทดสอบเป็นลบ และหากขุ่นอ่านผลทดสอบเป็นบวก โดยทำตัวควบคุมผลบวกโดยใช้เลือดผู้ป่วยธาลัสซีเมียและเลือดคนปกติ

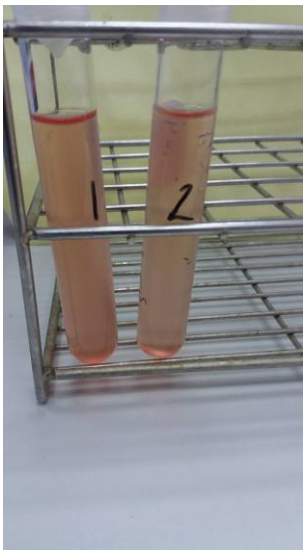
ผลการศึกษา

น้ำยาที่เตรียมใหม่ให้ผลการทดสอบที่ตรงกับความเป็นจริง แต่น้ำยาที่เป็นไว้ 1 และ 2 ปีให้ผลบวกปลอม (รูปที่ 1และ 2)



รูปที่ 1 ผลทดสอบชุดควบคุมของการทดสอบน้ำยา OF ที่เตรียมใหม่ก่อนใช้

+ คือผลการทดสอบเป็นบวกเม็ดเลือดแดงไม่แตกสมบูรณ์ – คือ ผลการทดสอบเป็นลบ เม็ดเลือดแดงแตกสมบูรณ์



รูปที่ 2 ผลบวกปลอมที่ใช้น้ำยา OF ที่เตรียมไว้เป็นระยะเวลานาน โดย1 คือ 1 ปีและ 2 คือ 2 ปี

อภิปราย

จากผลการทดสอบพบว่าน้ำยาที่เก็บไว้เป็นเวลานานจะให้ผลบวกปลอม ซึ่งจะก่อให้เกิดความสับสนในการอ่านผลเพื่อคัดกรองผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้ ซึ่งผลเสียที่เกิดจากการใช้น้ำยา OF ที่เสื่อมสภาพหรือหมดอายุในการทดสอบจะทำให้นิสิตเกิดความกังวลกับผลทดสอบของเลือดที่เจาะจากตัวนิสิตเองเนื่องจาก

คิดว่าตนเองมีความผิดปกติจากการเป็นโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียและนิสิตเรียนรู้การแปลผลที่ผิดและแปลผลทดสอบผิดพลาด รวมทั้งมีการรายงานผลทดสอบที่ผิดพลาด ดังนั้น ผู้ปฏิบัติงานและผู้สอนควรมีการเตรียมการสอนให้ดีรวมทั้งทำการทดสอบน้ำยากับตัวอย่างที่จะใช้สอนนิสิต รวมทั้งควรตรวจสอบวันหมดอายุของน้ำยานี้ก่อนจะนำไปใช้หรือสอนในชั่วโมงปฏิบัติการ และหากมีการเตรียมน้ำยาทดสอบใช้เองควรเตรียมน้ำยาให้เพียงพอกับการใช้ในระยะเวลาไม่เกินหนึ่งปี ไม่ควรใช้น้ำยาที่มีอายุเกินกว่าหนึ่งปีในการทดสอบเนื่องจากทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานและผู้สอนควาเตรียมน้ำยานี้ใหม่ทุกครั้งเมื่อทำการทดสอบหรือสอนในหัวข้อที่ใช้น้ำยานี้ นอกจากผลเสียดังกล่าวแล้วในการเรียนการสอนวิชาโลหิตวิทยา การใช้นำยาเก่าเก็บจะก่อให้เกิดผลเสียต่อผู้สอนร่วมได้เพราะผู้สอนร่วมและนิสิตจะเกิดความสับสนในการอธิบายผลทดสอบ อันอาจนำไปสู่การขาดความเชื่อถือจากผู้เรียนและแพทย์ที่ส่งการทดสอบนี้

สรุปผลการทดสอบ

น้ำยา OF ที่เก็บไว้เกิน 1 ปีจะทำให้เกิดผลบวกปลอม ไม่สามารถใช้ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการได้ จึงไม่ควรใช้น้ำยานี้ที่หมดอายุมาใช้ในการเรียนการสอนเพราะจะเกิดการเรียนรู้ที่ผิดพลาดซึ่งจะส่งผลการการปฏิบัติงานทางห้องปฏิบัติการในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคุณอรรณพ เทียมแก้ว นักวิทยาศาตร์ห้องปฏิบัติการคณะสหเวชศาสตร์ ในการอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. พรรธนมฑน์ อุชชิน ชุติธร เกตุลอย ภาฤทธิ์ เมฆอรุณกมลและคณะ. พยาธิวทยาคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงแทพ: ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2552.

2. สุทธิพรรณ ประสาทแก้ว นันทรัตน์ โฆมานะสิน. คู่มือปฏิบัติการจุลทรรศนศาสสตร์. ขอแก่น: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2533

3. อานนท์ บุณยะรัตเวช. โลหิตวิทยา:เม็ดเลือดแดง.กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยมหิดล. 2535

4. คณาจารย์ภาควิชาโลหิตวิทยาและจุลทรรศนศาสตร์. คู่มือปฏิบัติการ วิชาโลหิตวิทยา 1. พิษณุโลก:คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2559

คราบเลือดบนทางเดินและที่จอดรถในมหาวิทยาลัยนเรศวร

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

พบคราบที่มีลักษณะคล้ายคราบเลือดบนทางเดินและที่จอดรถในหอพักบุคลากร มน นิเวศฯ 6 เมื่อเก็บคราบดังกล่าวเพื่อพิสูจน์โดยน้ำยา Kastle-Meyer พบว่าคราบดังกล่าวเป็นคราบเลือดจริง รวมทั้งคราบนี้ยังได้นำไปพิสูจน์ทางนิติซีโรวิทยาเพื่อเติมด้วย anti human immunoglobulin ซึ่งผลชี้ให้เห็นว่าคราบดังกล่าวไม่ใช่คราบเลือดคน

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Bloodstain on sidewalk and car park found in Naresaun University

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

A lot of bloodstains like were found on sidewalk and car park in staff apartment 6 Naresaun University. We investigated the stains by using Kastle-Meyer reagent and found that these were blood. In addition, when we tested the stains by using anti-human immunoglobulin ,the result showed that those were not human blood.

* Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University. Phitsanulok.

บทนำ

ในเดือนกันยายนถึงเดือนพฤษจิกายน 2558 มีคราบต้องสงสัยจำนวนมากในอาคารที่เป็นหอพักบุคลากร มน นิเวศน์ 5 และ6 จึงทำให้ผู้พักอาศัยในหอพักเกิดความสงสัยต่อคราบดังกล่าวว่ามีที่มาอย่างไร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตอบคำถามที่ว่าคราบดังกล่าวคืออะไรและเกี่ยวข้องกับปัญหาสุนัขจรจัดที่มีอยู่เป็นประจำนวนมากในมหาวิทยาลัยหรือไม่ เนื่องจากมีการแย่งชิงสุนัขตัวเมียและต่อสู้เพื่อป้องกันเขตแดนของสุนัขจรจัดเหล่านั้น

รูปที่ 1 คราบที่พบตามทางเดินในหอพักและอาคารจอดรถของหอพัก มน นิเวศน์ 5 และ 6

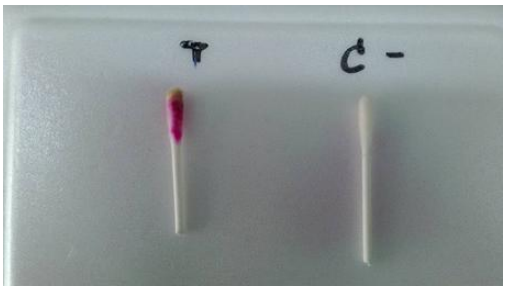
วิธีการศึกษา

ผู้ทอสอบเก็บตัวอย่างคราบที่สงสัยที่พบเป็นจำนวนมากตามทางเดินหอพักและลานจอดรถมาทดสอบด้วยน้ำยา reduced phenolphthalein หรือ Kastle-Meyer[1-4] เพื่อตอบคำถามที่ว่าคราบดังกล่าวเป็นคราบเลือดจริงหรือไม่ เนื่องจากในขณะเกิดเหตุไม่มีผู้เห็นเหตุกันแต่มีผู้อาศัยในหอพักบางท่านได้ยินสียงต่อสู้กันของสุนัข นอกจากนี้ผู้ทดสอบยังได้ทำการทดสอบเพื่อตอบข้อสงสัยของผู้ปกครองเด็กเล็กหลายท่านที่สงสัยว่าคราบที่พบเห็นเป็นคราบเลือดที่สุนัขจรจัดกัดผู้พักอาศัยในหอพักหรือไม่เนื่องจากมีสุนัขแม่ลูกอ่อนที่คลอดลูกและกัดผู้เดินผ่านบริเวณที่มันคลอดลูก โดยผู้ทดสอบทำการทดสอบเพื่อพิสูจน์คราบเลือดมนุษย์ด้วยน้ำยา anti-human immunoglobulin ของศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย

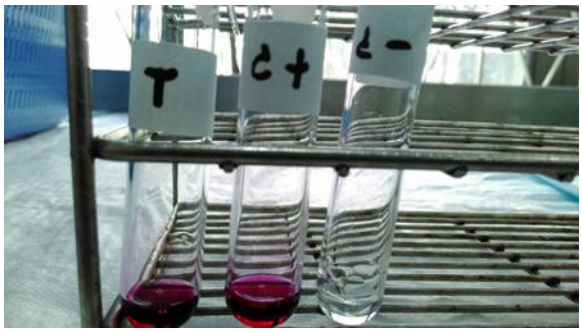
รูปที่ 2 การเก็บตัวอย่างคราบที่พบด้วยไม่พันสำลีเพื่อทดสอบว่าคราบที่พบเป็นคราบเลือดหรือไม่

รูปที่ 3 การเก็บตัวอย่างคราบที่พบด้วยกระดาษกรองเพื่อทดสอบว่าคราบที่พบเป็นคราบเลือดหรือไม่

รูปที่ 4 การเก็บตัวอย่างคราบเพื่อทดสอบว่าคราบที่พบเป็นคราบเลือดมนุษย์หรือไม่

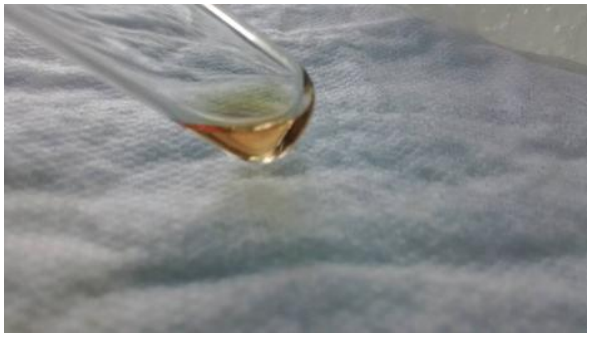


รูปที่ 5 ผลการทดสอบคราบเลือดบนไม้พันสำลีด้วยน้ำยา Kastle-Meyer



รูปที่ 6 ผลการทดสอบคราบเลือดบนกระดาษกรองด้วยน้ำยา Kastle-Meyer

รูปที่ 7 น้ำยา anti-human immunoglobulin



รูปที่ 8 ผลการทดสอบคราบเลือดด้วย anti human immunoglobulin

สรุปและวิจารณ์ผลการทดสอบ

ผลการทดสอบพบว่าคราบดังกล่าวด้วยน้ำยา Kastle-Meyer[1-4] ผู้ทดสอบพบว่าคราบดังกล่าวเป็นคราบเลือดจริงและเมื่อนำคราบเลือดไปทดสอบกับ anti-human globulin พบว่าคราบเลือดที่พบไม่ใช่คราบเลือดของมนุษย์ ประกอบกับการที่มักพบเห็นการต่อสู้เพื่อแย่งสุนัขตัวเมียอยู่เป็นประจำภายในมหาวิทยาลัย ทำให้ผู้ทดสอบคาดว่าคราบเลือดดังกล่าวน่าจะเป็นคราบเลือดสุนัขเพศผู้ที่ต่อสู้กันหรือเป็นคราบเลือดสุนัขที่เกิดจากปกป้องเขตแดนเนื่องจากมีสุนัขจรจัดเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ ภายในเขตมหาวิทยาลัย ส่วนข้อสงสัยที่ว่าคราบเลือดนี้เกิดจากสุนัขจรจัดกัดผู้อาศัยในหอพักหรือไม่นั้น จากการสอบถามพนักงานรักษาความปลอดภัยได้ความว่าในช่วงเดือนกันยายนสุนัขแม่ลูกอ่อนได้กัดผู้อาศัยในหอพักจริง แต่หลังจากเดือนตุลาคมได้มีผู้นำลูกสุนัขไปเลี้ยงดู อีกทั้งคราบเลือดนี้ได้ถูกพบเห็นและเก็บในวันที่ 4 พฤศจิกายน ซึ่งไม่มีเหตุการที่สุนัขตัวดังกล่าวกัดผู้อาศัยในหอพักแล้ว จากการทดสอบชี้ให้เห็นว่าการมีสุนัขจรจัดจำนวนมากในอาคารและสถานที่ภายในมหาวิทยาลัยเป็นปัญหาที่สำคัญที่ควรมีการแก้ไขและป้องกันอันตรายจากการที่สุนัขทำอันตรายต่อนิสิตและบุคลากรของมหาวิทยาและควรมีมาตรการเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าวที่นอกจากจะก่อให้เกิดความรำคาญต่อผู้อาศัยในหอพักแล้ว ยังอาจนำไปสู่อันตรายอื่น ๆ เช่นสุนัขวิ่งไล่นิสิตที่ขับขี่จักรยานยนต์ซึ่งอาจทำให้เกิดอุบัติเหตุในการขับขี่ได้และสุนัขเหล่านี้ไม่ได้มีการคุมกำเนิดหรือฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า รวมทั้งสุนัขจรจัดมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ผู้รับผิดชอบจึงควรหามาตรการป้องกันปัญหาที่เกิดจากสุนัขเหล่านี้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์. การทดสอบ Kastle-Meyer และการประยุกต์ใช้ในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2555; 4(2):179-84.

2. Nateewranart S, Tongpob Y, Sudsaward S, Yasothornsrikul S. The application of Kastle-Meyer test to indentify Brown plant hopper, Nilaparvata lugens (Stal) as a non blood-feeding insect. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2553; 3(1): 67-9.

3. Stuart HJ, Jon JN. Forensic Science: An introduction to scientific and investigative techniques. USA: CRC press LLC, 2003.

4. แสงชัย นทีวรนารถ, อรรณพ เทียมแก้ว, อุรัตน์ พิมลศรี. การปนเปื้อนเลือดในห้องเรียนปฏิบัติการ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2557; 6(1): 33-7.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 8 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2559

การตรวจ *Sarcocystis* spp. ด้วยการย้อมสีแกรม และสีทนกรด

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

Sarcocystis spp. เป็นโปรโตซัวที่อยู่ในเซลล์ที่จำเป็นต้องมีโฮสต์ 2 ชนิดในวงจรชีวิต โดยโฮสต์จะมีความสัมพันธ์ในลักษณะผู้ล่าและเหยื่อ คนอาจเป็นได้ทั้งโฮสต์กึ่งกลางและโฮสต์ถาวรของโปรโตซัวนี้ ในหลายการศึกษาที่ผ่านมามักย้อมระยะติดต่อ Bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยสี Giemsa และHematoxylin & Eosin การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้การย้อมสีทางจุลชีววิทยาหา bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. คณะวิจัยพบว่าการย้อมสีทั้งวิธีของแกรม และ สีทนกรด สามารถย้อมโปรโตซัวนี้ได้ โดยพบโปรโตซัวติดสีแดงเมื่อย้อมด้วยสีแกรม และติดสีม่วงเมื่อย้อมสีโดยวิธี Ziehl Neelsen และ Kinyoun ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า การย้อมสีของแกรมและสีทนกรด สามารถใช้ในการย้อม *Sarcocystis* spp. เพื่อตรวจกรองปรสิตนี้ในเนื้อสัตว์ได้

คำรหัส: *Sarcocystis* spp., Gram's Stain, Acid Fast Stain

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

E-mail address: Saengchai_n@yahoo.com

Detection of *Sarcocystis* spp.by Using Gram's and Acid Fast Stain

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

Sarcocystis spp is an intracellular protozoa with a requisite two-host life cycle based on a prey-predator host relationship. Human may serve as an intermediate and a definitive host of this protozoa. Bradyzoite, the infective stage of Sarcocystis, was stained by Giemsa and Hematoxylin & Eosin stains in many trials. The objective of this study was to use microbiological stains to identify the Bradyzoite of *Sarcocystis* spp. We found that both Gram's and acid fast stains could stain this protozoa. The Protozoa was in red color when stained with Gram's while it was in purple when stained with Ziehl Neelsen and Kinyoun acid fast stain. The result indicated that Gram's and acid fast stains can be used as a screening stain for detection of *Sarcocystis* in meat product.

Key Words: *Sarcocystis* spp., Gram's Stain , Acid Fast Stain

---

* Faculty of Aiied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

Corresponding author E-mail address: Saengchai_n@yahoo.com

บทนำ

Sarcocystis spp. เป็น sporozoa ในกลุ่ม Apicomplexa ที่คนสามารถเป็นทั้งโฮสต์ถาวร (definitive host) และโฮสต์ตัวกลาง (intermediate host) ของโปรโตซัวนี้ โดยถ้าคนกินระยะ sarcocyst หรือ bradyzoite ในสัตว์ติดเชื้อ คนจะเป็น definitive host ส่วนใหญ่ผู้ติดเชื้อมักไม่มีอาการแสดง อย่างไรก็ตามมีรายงานอาสาสมัครที่กินเนื้อวัวดิบที่มี Sarcocyst ของ *S. hominis* มีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายอุจจาระเหลว ตรวจพบ oocyst ในอุจจาระ และมี eosinophil สูงในเลือด [1] รวมทั้งมีรายงานผู้ป่วย 6 รายจากประเทศไทยที่กินเนื้อวัวดิบเกิด segmental necrotizing enteritis ต้องรักษาด้วยการผ่าตัด [2] ถ้าคนกินระยะ oocyst ที่ปนเปื้อนในน้ำและอาหาร คนจะเป็น intermediate host ผู้ป่วยมักไม่มีอาการแสดงและอาการที่เกิดจากการ

อักเสบใดๆ อย่างไรก็ตาม มีรายงานผู้ป่วยมีอาการปวดตามกล้ามเนื้อแขน ขาและลำตัว กล้ามเนื้ออักเสบ ผิวหนังร้อนแดง มีก้อนใต้ผิวหนัง ต่อมน้ำเหลืองโตและมี eosinophil สูงในเลือด มีไข้ [1] การวินิจฉัยโรคปรสิตทางห้องปฏิบัติการนอกจากปัจจัยเกี่ยวกับสิ่งส่งตรวจ ความรู้ความชำนาญของบุคคลากรของห้องปฏิบัติการแล้ว สีย้อมเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิต ไม่ว่าจะเป็นสีกลุ่ม Romanowky เช่น สี ไรท์ (Wright's), จิมซา (Giemsa's) ซึ่งใช้ในการวินิจฉัยฟิล์มเลือด นอกจากนี้ sporozoa บางชนิดเช่น *Cryptosporidium parvum* และ *Cyclospora cayetanensis* ต้องใช้สีที่ย้อมเฉพาะ คือ modified acid fast เป็นต้น

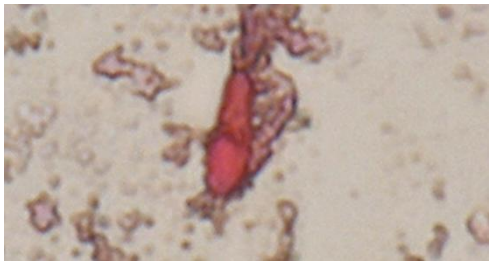
การย้อมสีแกรม(Gram's stain) และสีย้อมชนิดทนกรด (Acid fast stain) เป็นการย้อมสีเพื่อช่วยในการวินิจฉัยจุลชีพทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สำหรับการศึกษาเพื่อหาความชุกของ *Sarcocystis* spp.ในเนื้อหมูหรือวัวที่ผ่านมาส่วนใหญ่มักย้อมระยะติดต่อนี้ด้วยสี Giemsa หรือย้อมชิ้นเนื้อผู้ป่วยด้วยสี Hematoxylin& Eosin (H&E)[1, 3, 4, 5] การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาระยะ bradyzoite ซึ่งเป็นสาเหตุ sarcocystosis โดยทดลองย้อมสีระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยสีย้อมทางจุลชีววิทยา ได้แก่สีย้อมแกรม และสีทนกรด โดยคณะผู้วิจัยคาดว่าการย้อมสีดังกล่าวจะสามารถประยุกต์ใช้ในการย้อมปรสิตนี้ระยะ bradyzoite ได้

ระเบียบวิธีวิจัย

นำตัวอย่างเนื้อวัว 10 กรัม มาล้างทำความสะอาด บดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น blender (Pbi international) จากนั้น นำตัวอย่างกล้ามเนื้อที่บดละเอียดแล้วไปห่อด้วยผ้าก๊อซ บีบน้ำลงบนสไลด์ เกลี่ยให้ทั่วสไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วตรึงสภาพด้วย methanol 10 – 15 วินาที และย้อมสีแกรมและสีทนกรดชนิด Kinyoun และ Ziehl-Neelsen ตามขั้นตอนที่ใช้ย้อมในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา[5] ดูผลการติดสีระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

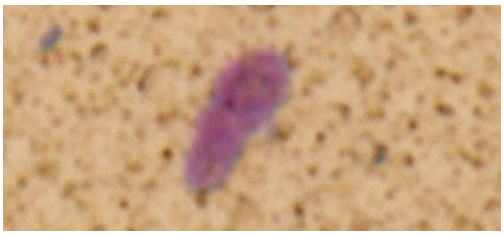
ผลการศึกษา

ผู้วิจัยพบระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. สามารถย้อมติดด้วยสีแกรม สีทนกรดชนิด Kinyoun และ Ziehl-Neelsen โปรโตซัวติดสีแดงเมื่อย้อมด้วยสีแกรม และติดสีม่วงเมื่อย้อมด้วยสีทนกรดวิธี Ziehl Neelsen และ Kinyoun (รูปที่ 1, 2 และ 3)



รูปที่ 1 *Sarcocystis* sp. ระยะ bradyzoite ย้อมด้วย Gram stain (100X)

รูปที่ 2 *Sarcocystis* sp.ระยะ bradyzoite ย้อมด้วย Kinyoun acid fast stain(100X)



รูปที่ 3 *Sarcocystis* sp. *ระยะ* bradyzoite ย้อมด้วย Ziehl-Neelsen acid fast stain(100X)

สรุปและวิจารณ์

ผู้วิจัยพบระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. สามารถย้อมด้วยสีแกรม สีทนกรดชนิด Kinyoun และ Ziehl-Neelsen โดยในการย้อมสีแกรม พบโปรโตซัวติดสีแดงจากการที่ Crystal violet ที่จับกับ Gram iodine ถูกล้างออกด้วย 95% ethanol เมื่อย้อมทับด้วย Safranin O จึงพบโปรโตซัวนี้ติดสีแดง ส่วนการย้อมสีทนกรดชนิด Kinyoun และZiehl-Neelsen นั้น พบ bradyzoite ติดสีม่วงซึ่งอาจเกิดจาก Carbol fuchsin ที่จับ

ส่วนประกอบที่เป็นไขมันบนผนังเซลของโปรโตซัวและไม่ถูกล้างด้วย acid alcohol เมื่อย้อมทับด้วย methylene blue จึงติดสีม่วง จากผลการติดสีย้อมที่ใช้ในศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า นอกจากสี Giemsa แล้วในการย้อม bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. สามารถย้อมโดยใช้สีแกรม สีทนกรดชนิด Kinyoun และ Ziehl-Neelsen ได้ สำหรับประโยชน์ของการย้อมสีดังกล่าวสามารถใช้ย้อมสีเพื่อสาธิตระยะติดต่อของโปรโตซัวนี้ในการเรียนการสอนได้ในกรณีที่ห้องปฏิบัติการไม่สามารถเตรียม Giemsa ได้ นอกจากนี้ สีแกรม สีทนกรดชนิด Kinyoun และZiehl-Neelsen เป็นสีที่ต้องเตรียมเก็บไว้สำหรับย้อมสีในงานประจำวันทางจุลชีพวิทยา ดังนั้นสีทั้งสามชนิดดังกล่าวจึงสามารถใช้ศึกษาหาระยะนี้ของปรสิตในตัวอย่างเนื้อสัตว์ได้ ในการศึกษาโปรโตซัวกลุ่ม Sporozoa บางชนิดเช่น *C. parvum, Cyclospora* spp. และ *Isospora belli* สามารถย้อมด้วยสีทนกรดชนิดแก้ไขเปลี่ยนแปลง (modified acid fast) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้เนื่องจาก *Sarcocystis* ย้อมติดสีทนกรดเช่นเดียวกัน โดยการศึกษานี้ bradyzoite ติดสีม่วง ในทางตรงข้ามการย้อมสี modified acid fast ระยะ trophozoite ของ *Cryptosporidium* sp. และ *Cyclospora* sp. ติดสีแดง คาดว่ามีสาเหตุจากขั้นตอนการล้างสีด้วย acid alcohol เพราะ การย้อมสีทนกรดในการศึกษานี้ใช้สารละลาย 3% HCl เป็นตัวล้างสี (decolorizer) แต่การย้อมสี modified acid fast ใช้สารละลาย 1% H_2SO_4 เป็นตัวล้างสี นอกจากนี้ ระยะเวลาในการล้างสีด้วย acid alcohol อาจจะมีผลต่อการติดสีของโปรโตซัวเช่นเดียวกัน สำหรับรายงานสีย้อมอื่นพบว่าฟิล์มเลือดที่ย้อมสี Wrigth สามารถตรวจพบระยะ merozoite ของ *S. cruzi* ได้ โดยจะพบเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายพระจันทร์เสี้ยวที่นิวเคลียสติดสีม่วง 1-2 นิวเคลียส ไซโตรพลาสมติดสีฟ้าอ่อน [1, 6]

การศึกษานี้เป็นการรายงานการทดสอบย้อมสีระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ในเนื้อวัวด้วยสีย้อมแกรมซึ่งเป็นสีย้อมพื้นฐานสำหรับงานวินิจฉัยทางจุลชีววิทยาทั่วไป ซึ่งคณะผู้วิจัยพบว่าสีแกรมสามารถย้อมโปรโตซัวนี้ได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษาในอนาคตควรทำการศึกษาโดยใช้สีย้อมเช่นย้อม Crystal violet หรือ Gram iodine หรือ Safranin O เพียงชนิดใดชนิดเดียว หากพบว่าสามารถสีย้อมสามารถย้อมโปรโตซัวได้การย้อมด้วยสีเพียงสีเดียวจะสะดวกและประหยัดกว่าการย้อมแกรมซึ่งมีขั้นตอนการย้อมถึง 3 ขั้นตอน เนื่องจากมีรายงานการศึกษาพบว่า Propidium iodide สามารถย้อมดูความสามารถที่จะมีชีวิตและเจริญเติบโต(viability) *ของ S. neurona* ได้ ซึ่งเซลล์ที่มีชีวิตจะสามารถกำจัดสีออกจากเซลล์ได้จึงไม่ติดสี ในขณะที่เซลล์ตายจะถูกย้อมด้วย Propidium iodide[7, 8] แต่เนื่องจากสีนี้มีราคาพงและใช้ในงานวิจัย อีกทั้งยังต้องใช้กล้อง fluorescent ในการตรวจ รวมทั้งการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า สีแกรมและการย้อมแบคทีเรียสีทนกรดสามารถย้อมโปรโตซัวนี้ได้ เนื่องจากห้องปฏิบัติจุลชีววิทยามีการเตรียมสีทั้งสองชนิดนี้ในงาน

ประจำวัน ซึ่งสามารถใช้สีทั้งสองชนิดได้ทั้งด้านการใช้วินิจฉัยในงานประจำและการเรียนการสอนนิสิตในหัวข้อการย้อมโปรโตซัว ซึ่งสามารถเป็นทางเลือกที่สะดวกแทนการย้อม Giemsa และ H&E ได้

การติดเชื้อโปรโตซัวในสัตว์อาจมีอาการรุนแรงได้เช่น *S. neurona* ในม้าซึ่งก่อให้ myeloencephalitis ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายมากในการปศุสัตว์ ดังนั้นการตรวจหาปรสิตนี้จึงยังมีความสำคัญทั้งทางการแพทย์ สัตวแพทย์และสัตวบาล [7-10] สำหรับการติดเชื้อโปรโตซัวนี้ในหมูและวัวควายพบมีการติดเชื้อสูงในเนื้อหมูและวัวควายที่ชำแหละเพื่อการบริโภคในกรุงเทพมหานครและลำปางและโปรโตซัวทั้ง *S. bovishominis* ในวัวควาย และ *S. suihominis* ในหมูมีรูปร่างลักษณะที่คล้ายกันจนไม่สามารถแยกด้วยรูปร่างลักษณะเมื่อย้อมสี จึงไม่สามารถย้อมชนิดปรสิตนี้ด้วยวิธีการย้อมสี การศึกษานี้จึงสามารถระบุได้เพียงแค่มีการติดเชื้อโปรโตซัวนี้ในเนื้อวัวที่ศึกษาเมื่อย้อมสีแกรมและสีทนกรดหรือไม่

เนื่องจากเป็น sporozoa ที่ความสามารถในการก่อโรคไม่รุนแรงมากนัก ผู้ป่วยอาจจะไม่มีอาการแสดงใดเลยถึงแม้จะพบ oocyst หรือ sporocyst ในอุจจาระ อย่างไรก็ตามการติดเชื้อของโปรโตซัวนี้ในสิ่งแวดล้อมเป็นเรื่องที่ควรระมัดระวัง เนื่องจากพบรายงานผู้ติดเชื้อบางรายที่มีอาการปวดท้อง ท้องร่วง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดกล้ามเนื้อ มีไข้ ต่อมน้ำเหลืองโตซึ่งอาการดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *S. hominis* และ *S. suihominis* [11, 12] ดังนั้น การตรวจปรสิตนี้จึงยังคงมีความสำคัญต่อสุขอนามัยด้านการบริโภคเนื้อสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.สุขกิจ ยะโสธรศรีกุล ผู้จัดการฝ่าย Scientific Research Science and Innovation บริษัท พีทีที โกลบอล เคมิคอล จำกัด (มหาชน) หรือ PTTGC ในการให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ต่อการศึกษาในครั้งนี้และเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์และเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการอำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัย เนื่องจากรายงานการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจาก ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณสำนักงานคณะการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. แสงชัย นทีวรนารถ. การติดเชื้อ *Sarcocystis* spp. ในคน. วารสารเทคนิคการแพทย์. 2552; 37(3): 2899-2910

2. Bunyaratvej S, Bunyawongwiroj P, Nitiyanant P.Human intestinal sarcosporidiosis: report of six cases. Am J Trop Med Hyg.1982; 31: 36-41

3. Daenseekaew W, Maleewong W, Kaewkes S. Prevalence of *Sarcocystis* infection in cattle in Khon Kaen province, Thailand. J Trop Med Parasitol. 1990; 13(2) : 47-9.

4. Nateeworanart S, Chanetmahun U, Samreuy S *et al*. Prevalence of *Sarcocystis* spp. in cardiac muscle of swine in Samut Prakan province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public health.2004; 35(suppl1): 82-3.

5. Mahmoud R, Mitra S. The prevalence of Sarcocystis infection in meat-production by using digestion method in Ahvaz, Iran. Jundishapur J Microbiol 2011; 4(4): 295-299.

6. Wurt RM, Kocka FE, Peters CS *et al.* Clinical characteristics of seven cases of diarrhea associated with a novel acid-fast organism in the stool;. Clini Inf Dis.1993; 16(1): 136-8.

7. Elsheikha HM, Mansfield LS. Assessement of *Sarcocystis neurona* sporocyst viability and differentiation between viable and non viable sporocyst using propidium iodine stain. J Parasitol.2004; 90(4): 872-5.

8. Elsheikha HM, Murphy AJ, Mansfield LS. Viability of *Sarcocystis neurona* sporocysts after long term stage. Vet Parasitol. 2004; 123(3-4): 257-64.

9. Dubey JP, Howe DK, Furr M, Saville WJ, Marsh AE, Reed SM, Grigg ME. An update on *Sarcocystis neurona* infections in animals and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). Vet Parasitol. 2015 ; 209(1-2): 1-42.

10. Hsu V, Grant DC, Dubey JP, Zajac AM, Lindsay DS. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in cats from Virginia and Pennsylvania. J Parasitol. 2010; 96(4): 800-1

11. Fayer R, Esposito DH, Dubey JP. Human infections with *Sarcocystis* species. Clin Microbiol Rev. 2015 ; 28(2): 295-311.

12. Bunyaratvej S, Unpunyo P, Pongtippan A. Sources of Natural Intestinal Sarcocystosis in Thai people. J Med Assoc Thai 2007; 90 (10): 2128-35

การให้บริการตรวจอุจจาระในรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชนของนิสิตภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

เริงวิทย์ บุญโยม *

ปราถนา มูลคำ **

แสงชัย นทีวรนารถ *

นพดล จำรูญ *

นภาพร อภิรัฐเมธีกุล *

บทคัดย่อ

นิสิตและอาจารย์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรออกให้บริการตรวจปรสิตกับผู้รับบริการ ณ. หมู่ 2 ตำบลวังอิทก อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก พบไข่พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* จำนวน 1 รายจากตัวอย่างทั้งหมด 44 ราย ซึ่งคาดว่าหากจำนวนตัวอย่างส่งตรวจมากกว่าที่ส่งตรวจในครั้งนี้ น่าจะมีอัตราการพบผู้ติดเชื้อปรสิตมากกว่านี้

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลับนเรศวร พิษณุโลก

** พยาบาลวิชาชีพชำนาญการ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวังอิทก พิษณุโลก

บทนำ

โรคติดเชื้อพยาธิเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในเขตชนบทหลายๆ แห่งในประเทศไทย และยังขาดการให้บริการการตรวจในหลายชุมชน และชุนชนวัดกระทุ่มยอดน้ำ หมู่ 2 ตำบลวังอิทก อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลกเป็นอีกแห่งหนึ่งที่ยังขาดการให้บริการการตรวจนี้อยู่ อาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชาจึงประสานงานกับพยาบาลวิชาชีพชำนาญประจำโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวังอิทกและอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้านของหมู่ 2 ตำบลวังอิทกเพื่อให้บริการตรวจอุจจาระกับผู้สมัครใจเข้ารับการตรวจ

มีการแจกตลับใส่อุจจาระและให้คำแนะนำกับ อ.ส. ม เพื่อประสานงานในการส่งสิ่งตรวจแล จากนั้นนิสิตและอาจารย์ที่รบผิดชอบได้ให้บริการตรวจอุจจาระในวันที่ 6 พฤศจิกายน 2558 หลังจากตรวจได้มีการประสานงานกับพยาบาลที่รับผิดชอบแจ้งให้คนไข้ที่ตรวจพบปรสิตเพื่อแจ้งให้คนไข้ทราบและประสานงานเพื่อรับยารักษาโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญต่อไป[1-3]

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่เก็บจากผู้รับบริการตรวจหาตัวอ่อนและไข่พยาธิหรือชิ้นส่วนด้วยวิธี simple wet smear โดยใช้ 0.85%NaCl หรือ 10%Iodine

ผลการศึกษา

พบไข่พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrin* จำนวน 1 ราย จากการตรวจตัวอย่างทั้งหมด 44 ราย คิดเป็นอัตราการติดเชื้อเท่ากับร้อยละ 2.27

รูปที่ 1 แสดงไข่พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* (40X) ที่พบในตัวอย่างส่งตรวจของคนไข้

สรุปและอภิปรายผล

ผู้รับบริการทั้งหมดจำนวน 44 ราย พบคนไข้1รายตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* โดยพยาธิขนาดประมาณ 32x12 ไมโครเมตร ไข่ด้านบนมีไหล่ shoulder ชัดเจนและมีฝาปิด operculum เปลือกไข่หนาและขรุขระ ภายในมีตัวอ่อน miracidium และด้านล่างของไข่มีตุ่มตรงปลายชัดเจน[3]

เนื่องจากเวลาที่นิสิตและอาจารย์ออกให้บริการเป็นเวลาที่วัยทำงานและคนหนุ่มสาวปฏิบัติงานในไร่นา ตัวอย่างที่ตรวจส่วนใหญ่จะเป็นสิ่งส่งตรวจของผู้สูงวัยที่ดูแลบุตรหลานอยู่กับบ้านและประกอบกับช่วงเวลาที่ออกให้บริการมีข้อจำกัดด้านภาระการเรียนการสอน อีกทั้งงบประมาณในรายวิชามีจำกัด การให้บริการจึงทำการตรวจได้เพียงครั้งเดียว จึงพบผู้ติดเชื้อเพียงรายเดียว หากจำนวนตัวอย่างมากกว่านี้ ผู้ให้บริการคาดว่าน่าจะพบตัวอย่างที่ให้ผลบวกมากกว่านี้เนื่องจากเป็นชุมชนที่ติดแม่น้ำและมีปัจจัยที่เอื้อต่อการติดเชื้อพยาธิชนิดนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยลัยนเรศวรในการให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการตรวจรวมทั้งคณะสหเวชศาสตร์ ที่สนับสนุนงบประมาณในการให้บริการตรวจปรสิตในครั้งนี้และองค์การบริหารส่วนตำบลวังอิทกและโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวังอิทกตลอดจนอาสาสมัคาสาธารณสุขประจำหมู่บ้านที่อำนวยความสะดวกในการให้บริการตรวจในครั้งนี้

เอกสารประกอบการเรียบเรียง

1. เริงวิทย์ บุญโยม. เอกสารประกอบรายละเอียดรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชน. พิษณุโลก; ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2557

2. งานพัฒนาหลักสูตร กองบริการการศึกษา. คู่มือนิสิตระดับปริญญาตรี มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีการศึกษา 2553. มหาวิทยาลัยนเรศวร 2553.

3. วันชัย มาลีวงษ์ ผิวพรรณ มาลีวงษ์ นิมิตร มรกต.ปรสิตวิทยาทางการแพทย์: โปรโตซัวและหนอนพยาธิ. ขอนแก่น: คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2544.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 8 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2559

เชื้อราปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจประเภทอุจจาระและปัสสาวะ

แสงชัย นทีวรนารถ *

ประธาน วงศ์ตาหล้า **

อุรัตน์ พิมลศรี ***

บทคัดย่อ

เชื้อราในสิ่งแวดล้อมสามารถปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจปัสสาวะและอุจจาระได้แก่ *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., *Epicoccum* sp., และ *Cladosporium* sp. ผู้ทำการตรวจทางจุลทรรศนศาสตร์ในห้องปฏิบัติควรมีความรู้เกี่ยวกับเชื้อราเหล่านี้เพื่อผลตวจที่มีความถูกต้องและแม่นยำในการวินิจฉัย

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชารังสีเทคนิค คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

*** ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Contaminated fungi in fecal and urine specimen

Saengchai Nateeworanart *

Prathan Wongtala **

Urat Pimolsri ***

Abstract

There are many fungi that can contaminate in fecal and urine specimen such as *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Cladosporium* sp. Laboratory investigator should concern about these for an accurate and precise laboratory diagnosis.

* Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

** Department of Radiological Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

*** Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

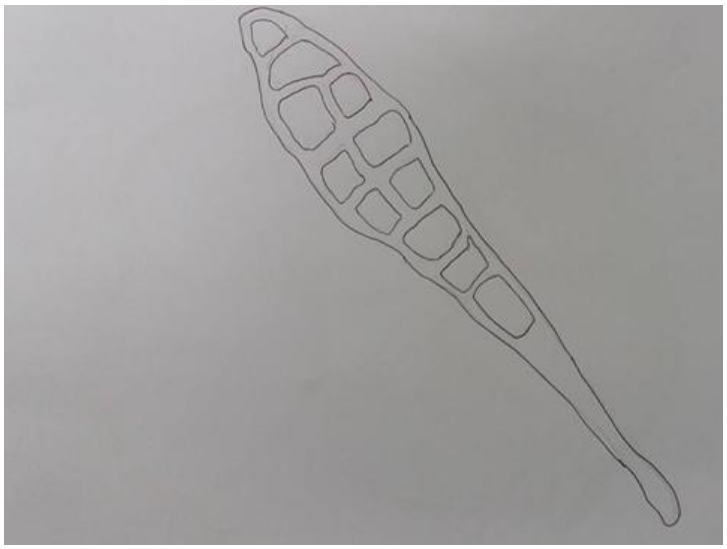
บทนำ

สิ่งส่งตรวจที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุของพยาธิสภาพจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ขั้นตอนการเก็บ การรักษาและการนำส่งสิ่งส่งตรวจ ตลอดจนการปฏิบัติของผู้ป่วยในการเก็บสิงส่งตรวจล้วนแล้วแต่มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยของนักเทคนิคการทย์และเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานในแผนกเวชศาสตร์ชันสูตรทั้งสิ้น นอกจากนี้ความรู้เกี่ยวกับสิ่งปนเปื้อนและสิ่งแปลกมีความสำคัญต่อผลการตรวจวินิจฉัย[1-2] ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการควรมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งแปลกปลอมที่ไม่มีความสำคัญทางคลินิก รายงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ข้อมูลเกี่ยวกัยเชื้อราปนเปื้อนที่มัก และ พบในสิ่งส่งตรวจที่เป็นอุจจาระและปัสสาวะที่มักพบในการตรวจทางจุลทรรศนศาสตร์คลินิก โดยเฉพาะการตรวจสด (wet smear)

เชื้อราที่พบในปัสสาวะในห้องปฏิบัติการที่นักเทคนิคการแพทย์และผู้ปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ควรรู้จักได้คือ *Alternaria* sp, *Helinthosporium* sp, *Epicoccum* sp, *Cladosporium* sp เนื่องจากเชื้อราดังกล่าวมักพบในสิ่งส่งตรวจที่เป็นปัสสาวะบ่อยครั้ง[3]

เชื้อรา *Alternaria* sp.

Alternaria sp. โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Alternaria brassicae* ซึ่ง เป็นเชื้อราที่พบระบาดในพืช[4] ราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคใบจุดและต้นแห้งไหม้จากเชื้อกลุ่ม Alternaria (Alternaria leaf spot) สำหรับพืชผักที่มีความสำคัญที่พบระบาดจะเป็นผักกาดพวก crucifers ซึ่งได้แก่กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม กะหล่ำดาว บร็อคโคลี ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกวางตุ้ง ผักกาดหัว รวมไปถึงพวกแรดิช เทอร์นิบ และรูทาบาก้า ในปัสสาวะที่ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการจะพบ Conidium ที่พบปนเปื้อนในตะกอนปัสสาวะจะมีลักษณะเป็น muriform มีผนังกั้นขวาง(transverse septa) น้อยกว่า 6 septa ส่วนผนังกั้นตามยาว (longitudinal septa) มักมีมากกว่า 6 septa และมักคอดเล็กน้อยที่ septum รูปร่าง conidia เป็นแบบ ovoid, obclavate, tapered ovoid, beaked ovoid, cylindrical หรือ rostrate conidia ในบางครั้ง conidium อาจแตกแขนงได้และพบ apical cell มีลักษณะเป็น truncate cone สั้นและหนา ส่วนฐานของ conidium ที่ติดกับ conidiophore หรือส่วน basal end กว้างกว่าส่วนปลาย ผนัง conidium อาจเรียบหรือขรุขระสีเข้ม conidia มักเกิดอย่างเดี่ยวๆหรือเกิดต่อกันเป็นลูกโซ่และ conidia มักหลุดออกจากก้าน conidiophore ได้ง่าย[5-7] ภาพที่ 1

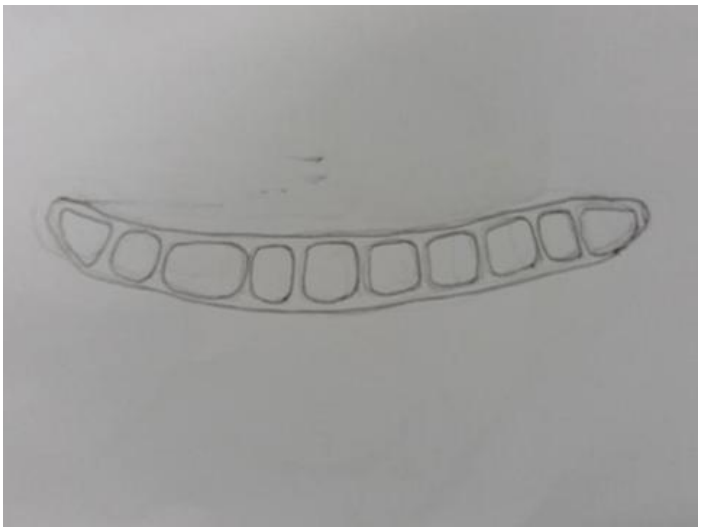


ภาพที่ 1 ภาพวาดแสดงสปอร์ของ รา *Alternaria* sp. ที่พบในตัวอย่างส่งตรวจประเภทปัสสาวะและอุจจาระ

จากประสบการณ์ของผู้เขียนบทความพบ *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราที่พบปนเปื้อนมากที่สุดในปัสสาวะที่ส่งตรวจในห้องปฏิบัติการและปัสสาวะที่นิสิตเก็บมาเองเพื่อใช้ในการตรวจสดในชั่วโมงที่มีการเรียนการสอนวิชาการตรวจปัสสาวะและสารน้ำในร่างกาย นอกจากนี้รานี้ยังพบมากที่สุดในอุจจาระตัวอย่างที่ใช้ในการเรียนวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์อีกด้วย

เชื้อรา *Helminthosporium* sp.

เชื้อรา *Helminthosporium* sp. เป็นเชื้อราที่พบบ่อยที่ปนเปื้อนในปัสสาวะที่ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ เชื้อราชนิดนี้พบการระบาดในพืชธัญหารหลายชนิด ทั้งข้าว อ้อย มะพร้าว ปาล์ม ทำลายเนื้อเยื่อใบ ทำให้ใบไหม้เรียกว่าโรคใบจุด และเป็น seed-borne pathogen ลักษณะ conidia รูปทรงกระบอกตรงหรือโค้ง สีน้ำตาล ผนังเรียบ มี 5-14 pseudosepta (ภาพที่ 2)

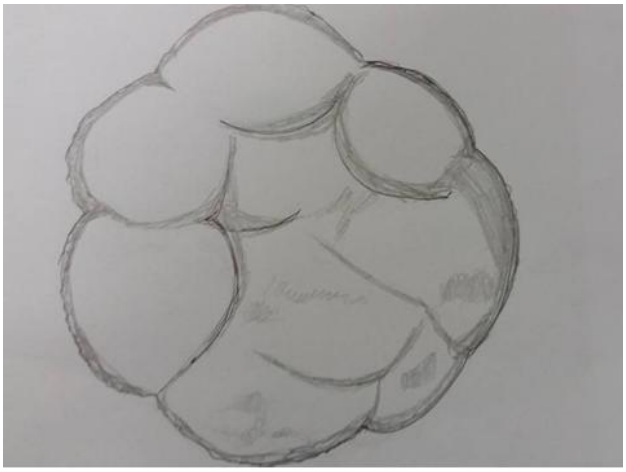


ภาพที่ 2 ภาพวาดแสดงสปอร์ของ รา *Helminthosporium* sp. ที่พบในตัวอย่างส่งตรวจประเภทปัสสาวะและอุจจาระ

เชื้อรา *Epiccocum* sp.

สำหรับเชื้อราที่มีการปนเปื้อนในตะกอนปัสสาวะที่มีรายงานอีกสองชนิดได้แก่ *Epiccocum* sp. และ Cledosporium sp.

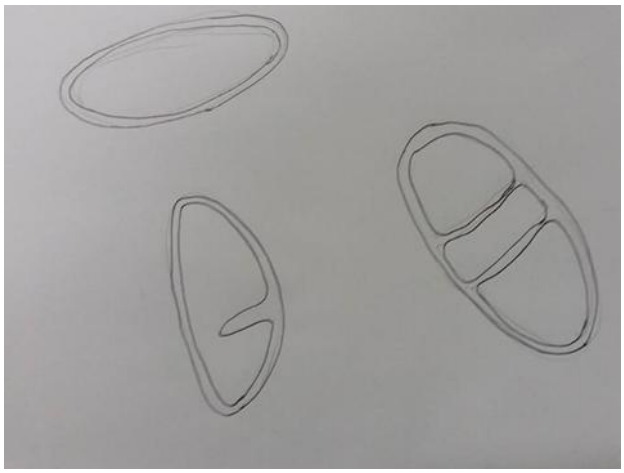
Epiccocum purpurascens ที่พบบ่อยบนเมล็ดพันธุ์ที่เน่าเปื่อยและซากพืชที่เน่าสลาย สปอร์คล้ายนวมไม่แยกออกจากกันได้ (cushion-like sporodochia) สีน้ำตาล ขนาด 12-24 ไมโครเมตร (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ภาพวาดแสดงสปอร์ของ รา *Epiccocum* sp. ที่พบในตัวอย่างส่งตรวจประเภทปัสสาวะและอุจจาระ

เชื้อรา *Cladosporium* sp.

Cladosporium sp. เป็นเชื้อราก่อโรคในพืชทำให้เกิดโรคช่อดอกแห้งในข้าว ถั่ว และผักผลไม้สด ที่พบบ่อยในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คือ *Cladosporium cladosporioides* และ *Cladosporium sphaerospermum* ลักษณะที่จะพบในการตรวจตะกอนปัสสาวะคือ ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ตั้งตรงสีน้ำตาลอ่อน มีความยาวประมาณ 350-400 ไมครอน conidia มีสีน้ำตาล เป็นกลุ่ม บลาสโตสปอร์ (blastospore) มี 1 – 2 เซลล์ ส่วนใหญ่ เป็นเซลล์เดียว ผนังเรียบ มีลักษณะรูปร่างต่างกัน คือ รูปร่างแบบรูปไข่ รูปรี หรือรูปร่างคล้ายมะนาวจนถึง เหลี่ยมไม่สม่ำเสมอ และมักเห็นรอยแผล (scar) ที่บริเวณหัวท้ายเซลล์ หรือเฉพาะส่วนฐานของเซลล์ ส่วนใหญ่มักจะพบ conidia รูปร่างคล้ายผลมะนาว ต่อกัน เป็นลูกโซ่ เชื้อรา(ภาพที่4) [8-9]



ภาพที่ 4 ภาพวาดแสดงสปอร์ของ รา *Cladosporium* sp. ที่พบในตัวอย่างส่งตรวจประเภทปัสสาวะและอุจจาระ

สรุป

ถึงแม้เชื้อราที่ปนเปื้อนเป็นเชื้อราในสิ่งแวดล้อมและบางชนิดก่อโรคในพืช แต่มีการรายงานก่อให้เกิดภูมิแพ้และรากลุ่ม *Alternaria* และ *Cladosporium* บางสายพันธุ์ก่อโรคในคน[10] ดังนั้นการเพาะเชื้อและการย้อมสีเพื่อแยกชนิดของราจากสิ่งส่งตรวจจึงยังมีความสำคัญมากในการวินิจฉัยแยกราก่อโรคและราปนเปื้อน

เอกสารอ้างอิง

1. แสงชัย นทีวรนารถ. การตรวจอุจจาระ. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2557; 6(1): 63-73.

2. นงนุช เศรษฐเสถียร์ ประหยัด พันธะศรี. การเก็บ เก็บรักษาและนำส่งสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการชันสูตรโรค. พิมพ์ครั้งที่3. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2536

3. Fogazzi GB. The urinary sediment. An integrated view, 3 rd ed, Italy: Printer Trento, 2010.

4. โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ Alternaria ไทยเกษตรศาสตร์ Published on February 7, 2013 [cited 3 Feb 2016]. Available from http://www.thaikasetsart.com/

5. พัฒนา สนธิรัตน์ วิรัช ชูบำรง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และ ปิยะ เกียรติก้อง.. เชื้อรา Alternaria ก็เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. วารสารโรคพืช. 2526 ; 3(4): 154-167.

6. Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi, pp. 132-133p. 4th ed. Britain, New York. 1987.

7. Dixon, GR. Vegetable Crop Disease, p 404. Horticulture division, School of agriculture, Aberdeen, UK. 1981.

8. Dipak T, Nagrale AP, Gaikwad LS. Morphological and cultural characterization of Alternaria alternata (Fr.) Keissler blight of gerbera (Gerbera jamesonii H. Bolus ex J.D. Hook). J. Appl. & Nat. Sci. 5 (1): 171-178 (2013)

9. Cladosporium [cited 5 Feb 2016]. Available from: http://203.130.231.174:1107/GST/src/Html/Thai/Thai_Mycology/thai_CLADOSPO.htm

10. พรรณกร อิ่มวิทยา. โรคติดเชื้อรา. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี. 2543.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 8 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2559

สปอร์ราปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจประเภทอุจจาระ

อุรัตน์ พิมลศรี *

แสงัชย นทีวรนารถ **

บทคัดย่อ

ในการเรียนภาคปฏิบัติการวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ นิสิตสาขาเทคนิคการแทย์ ตรวจพบเชื้อราในสิ่งส่งตรวจตัวอย่าง หลังจากการตรวจลักษณะสัณฐานวิทยาของจุลชีพดังกล่าวพบว่า เป็น conidia ของ *Alternaria* sp. เพื่อการตรวจวินิจฉัยสิ่งส่งตรวจที่ถูกต้องการเข้าใจในราที่สามารถพบปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจจึงมีความสำคัญในการตรวจสิ่งส่งตรวจที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยในงานจุลทรรศนศาสตร์ที่แม่นยำ

* ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Contaminant Fungal Spores in Fecal specimen

Urat Pimolsri *

Saengchai Nateeworanart **

Abstract

In the period of Medical Parasitology, a Medical technology student found a fungus-like spore in his test. After morphological investigation, the organism spore is conidia of *Alternaria* sp fungus. To understand the morphology of contaminated fungi play an important role in microscopic examination because it will enhance precise laboratory diagnostic result.

* Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

** Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

บทนำ

อุจจาระเป็นสิ่งส่งตรวจที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์เพื่อวินิจฉัยเบื้อต้นสำหรับโรคในระบบทางเดินอาหารและปรสิตวิทยา เนื่องจากการตรวจสิ่งส่งตรวจประเภทนี้ทำได้ง่ายและไม่ต้องอาศัยเครื่องมือที่ซับซ้อนในการตรวจวินิจฉัย แต่อาจเกิดความผิดพลาดในการเก็บและรักษาสิ่งส่งตรวจนำไปสู่การเกิดความสับสนในขั้นตอนการอ่านผลทางห้องปฏิบัติการได้

เชื้อราที่ปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมอาจพบในตัวอย่างส่งตรวจที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการ โดยการปนเปื้อนอาจเกิดในระหว่างที่ทำการเก็บสิ่งส่งตรวจหรือขั้นตอนการนำสิ่งส่งตรวจไปยังห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ในกระบวนการเตรียมสิ่งส่งตรวจอาจมีการปนเปื้อนมาจากอากาศมาสู่สิ่งส่งตรวจได้ รวมทั้งภาชนะที่ใช้เก็บปัสสาวะอาจเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนของราในสิ่งส่งตรวจได้[1]

รายงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อราที่พบในอุจจาระตัวอย่างที่พบในการตรวจอุจจาระตัวอย่างของนิสิตเทคนิคการแพทย์รายหนึ่งในการเรียนวิชาปรสิตวิทยาทางการแทย์ที่คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

วิธีการศึกษา

ในชั่วโมงปฏิบัติการของวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ นิสิตได้รับมอบหมายให้ตรวจอุจจาระตัวอย่างเพื่อหาปรสิตในอุจาระตัวอย่าง หากพบปรสิตหรือไม่แน่ใจให้นิสิตยกมือถามอาจารย์ประจำกลุ่ม นิสิตรายหนึ่งตรวจพบสิ่งแปลกปลอมทีทมีลักษณะคล้ายสปอร์เชื่อรา จึงยกมือเพื่อสอบถามผู้สอนว่าเป็นราก่อโรคในคนหรือไม่

ผลการศึกษา

เชื้อราที่นิสิตพบในอุจจาระตัวอย่างเป็น Conidia ของ เชื้อราที่พบมีลักษณะยาวรีคล้ายรูปกระบองหรือพินโบลิ่ง สีน้ำตาล ผิวเรียบและมีผนังตามแนวขวาง 5 เซลย่อย คล้าย conidia ของราในกลุ่ม *Alternaria* sp.(รูปที่ 1)

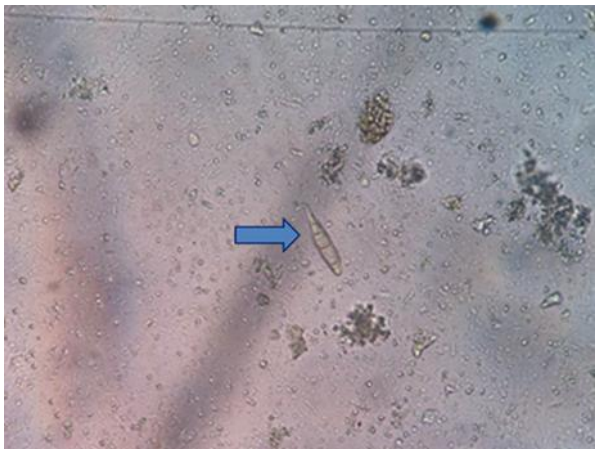
สรุปและวิจารณ์

จากประสบการณ์ของผู้สอนจากลักษณะของ conidia รวมทั้งการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม ผู้สอนพบว่าราที่นิสิตตรวจพบเป็น conidia ของรา กลุ่ม *Alternaria* sp.ซึ่งไม่ก่อโรคในคนสุขภาพปกติทั่วไป แต่เป็นราที่ก่อโรคในพืช ซึ่งสาเหตุที่พบราดังกล่าวในอุจจาระตัวอย่างอาจเกิดจากการปนเปื้อนของภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจหรือการกินพืชที่ติดเชื้อราดังกล่าวเข้าไปและผ่านกระบวนการย่อยของระบบทางเดินอาหารของร่างกายและถูกขับออกจากร่างกายพร้อมกากอาหารจึงตรวจพบในอุจจาระตัวอย่างส่งตรวจ

Alternaria sp. เป็นเชื้อราที่พบระบาดในพืช ราชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคใบจุดและต้นแห้งไหม้จากเชื้อ Alternaria (Alternaria leaf spot) สำหรับพืชผักที่มีความสำคัญที่พบระบาดจะเป็นผักกาดพวก crucifers ซึ่งได้แก่กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม กะหล่ำดาว บร็อคโคลี ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกวางตุ้ง ผักกาดหัว รวมไปถึงพวกแรดิช เทอร์นิบ และรูทาบาก้า ในปัสสาวะหรืออุจจาระที่ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการจะพบ Conidium ที่พบปนเปื้อนในตะกอนปัสสาวะจะมีลักษณะเป็น muriform มีผนังกั้นขวาง(transverse septa) น้อยกว่า 6 septa ส่วนผนังกั้นตามยาว(longitudinal septa) มักมีมากกว่า 6 septa และมักคอดเล็กน้อยที่ septum รูปร่าง conidia เป็นแบบ ovoid, obclavate, tapered ovoid, beaked ovoid, cylindrical หรือ rostrate conidia ในบางครั้ง conidium อาจแตกแขนงได้และพบ apical cell มีลักษณะเป็น truncate cone สั้นและหนา ส่วนฐานของ conidium ที่ติดกับ conidiophore หรือส่วน basal end กว้างกว่าส่วนปลาย ผนัง conidium อาจเรียบหรือขรุขระสีเข้ม conidia มักเกิดอย่างเดี่ยวๆหรือเกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ และ conidia มักหลุดออกจากก้าน conidiophore ได้ง่าย[2-4]

ตัวอย่างของเชื้อราชนิดนี้ที่พบในสิ่งส่งตรวจได้แก่ *Alternaria brassicae* ซึ่งเป็นเชื้อราใน Class Deuteromycetes ขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศโดยการเกิดสปอร์ หรือโคนีเดียลักษณะ muriform ซึ่งมีท้ายป้านปลายเรียวมนคล้ายพินโบว์ลิ่ง มีผนังกั้นทั้งตามยาวและตามขวางแบ่งออกเป็นเซลล์ย่อยๆ หลายเซลล์ ส่วนปลายของสปอร์หรือส่วนคอซึ่งเป็นเซลล์อันปลายสุดนี้ใช้เป็นสิ่งบอกหรือจำแนก species ของ *Alternaria* sp ได้อย่างหนึ่ง สำหรับเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบนผัก crucifers นี้ จะมีส่วนคอค่อนข้างยาวเมื่อเทียบกับตัวอื่น สปอร์พวกนี้เมื่อแก่ก็จะหลุดออกจากก้านปลิวไปตามลม น้ำ หรือติดไปกับเครื่องมือ เครื่องใช้ แมลง สัตว์ และมนุษย์ ทำให้ระบาดแพร่กระจายไปได้เป็นระยะทางไกล เมื่อตกลงบนพืชมีสิ่งแวดล้อมเหมาะสม ทุกเซลล์ที่มีอยู่ในแต่ละสปอร์ก็จะงอก germ tube ออกมาได้หนึ่งอันเมื่อเข้าไปในพืชแล้วก็จะก่อให้เกิดอาการโรค ขึ้นได้ ภายใน 2-14 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผักที่มันเข้าทำลาย[5-6]

ผู้สอนและนักเทคนิคการแพทย์ควรมีความรู้เกี่ยวกับเชื้อที่มักจะปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจประเภทอุจจาระและปัสสาวะ เนื่องจากอาจก่อให้เกิดความเข้าใจสับสนหรือเกิดข้อสงสัยในการวินิจฉัยสิ่งส่งตรวจที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยทางจุลทรรศนศาสตร์ ซึ่ง Fogazzi ได้ระบุในหนังสือ The urinary sediment ว่า เชื้อราที่พบในปัสสาวะในห้องปฏิบัติการที่นักเทคนิคการแพทย์และผู้ปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ควรรู้จักได้คือ *Alternaria* sp, *Helinthosporium* sp, *Epicoccum* sp และ *Cladosporium* sp. เนื่องจากเชื้อราดังกล่าวมักพบในสิ่งส่งตรวจที่เป็นปัสสาวะบ่อยครั้ง[7]



รูปที่ 1 conidia ของราในกลุ่ม Alternaria sp.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตที่เอื้อฟื้อสิ่งส่งตรวจและยืนยันผลการตรวจอุจจาระและขอบคุณนายวธัญญู บัวแก้วและนางสาวณเกล้า เมี้ยนจินดานิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรในการอนุเคราะห์รูปถ่ายจากสิ่งส่งตรวจในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1.แสงชัย นทีวรนารถ ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์. การตรวจอุจจาระ. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2557; 6(1): 63-73.

2. พัฒนา สนธิรัตน์ วิรัช ชูบำรง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และ ปิยะ เกียรติก้อง. เชื้อรา Alternaria เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. วารสารโรคพืช.2526; 3(4): 154-167.

3. Barnett, H.L. and B. B. Hunter. Illustrated genera of imperfect fungi, pp. 132-133p. 4th ed. Britain, New York. 1987.

4. Dixon, G.R. Vegetable Crop Disease, p 404. Horticulture division, School of agriculture,Aberdeen, UK. 1981.

5. โรคใบจุดที่เกิดจาก *Alternaria* ไทยเกษตรศาสตร์ Published on February 7, 2013 [2016 , Feb 29]สืบค้นจาก http://www.thaikasetsart.com/

6. เทอดพันธ์ ธรรมรัตนพงษ์. ชีววิทยาและการก่อให้เกิดจากเชื้อโรคของ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของผักกาด

กวางตุ้งและการกระตุ้นต้านทานต่อโรคก่อนการเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,ภาควิชาโรคพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2548.

7. Fogazzi GB. The urinary sediment. An integrated view, 3 rd ed, Italy: Printer Trento, 2010.

เทคนิคการแพทย์ชุมชน: จากทฤษฎีสู่การลงมือปฏิบัติจริงในชุมชน

เริงวิทย์ บุญโยม*

แสงชัย นทีวรนารถ*

ปราถนา มูลคำ **

ยอดหทัย ทองศรี*

กาญจนา อู่สุวรรณทิม*

บทนำ

ด้วยภาควิชาเทคนิคการแพทย์ได้มีการจัดการเรียนการสอนในรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชนซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อให้นิสิตได้ใช้วิชาชีพทางเทคนิคการแพทย์ออกให้บริการกับผู้ที่อาศัยในชุมชน ในปีการศึกษานี้ หัวน้ำภาควิชาและอาจารย์ที่สมัครใจเข้าร่วมออกให้บริการได้ให้นิสิตนำเสนอแนวความคิดที่จะออกบริการแก่ชุมชน โดยนำนิสิตออกสำรวจชุมชนเพื่อเก็บข้อมูลทางสาธารณสุขและนำเสนอต่ออาจารย์ประจำกลุ่มที่ควบคุมการสอนในรายวิชานี้ จากนั้น นิสิตจะนำเสนอข้อมูลและเลือกโครงการที่คิดว่าเหมาะสมโดยอาศัยข้อมูลจากการสำรวจ ซึ่งโครงการหลักได้แก่การตรวจเลือดเพื่อกรองโรคเบาหวาน ไขมัน การทำงานของตับและไต ซึ่งโครงการตรวจพยาธิเข็มหมุดในเด็กเล็กเป็นอีกโครงการหนึ่งที่ได้รับการเห็นชอบจากกลุ่มอาจารย์ผู้เข้าร่วมรับฟังการนำเสนอข้อมูลที่นิสิตได้สำรวจเห็นชอบให้ออกบริการแก่ผู้อาศัยในชุมชนที่ได้ออกให้บริการในครั้งนี้

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** พยาบาลวิชาชีพชำนาญการ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวังอิทก พิษณุโลก

ขั้นตอนในการดำเนินงาน

โครงการตรวจพยาธิเข็มหมุดประกอบด้วยสองส่วนคือการตรวจการติดเชื้อพยาธินี้ด้วยวิธี scotch tape และหาปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อจากการตอบแบบสอบถามผู้ปกครอง โดยอาจารย์ที่ปรึกษาประจำกลุ่มและนิสิตได้ประสานกับครูผู้ดูแลประจำศูนย์และองการบริหารส่วนตำบลวังอิทกเพื่อขอให้บริการตรวจและนัดหมายรวมทั้งซักซ้อมความเข้าใจกับคูรเพื่อให้ข้อมูลกับผู้ปกครองเพื่อเป็นการขออนุญาติและขอความร่วมมือในการตอบแบบสอบถามและประสานงานกับพยาบาลวิชาชีพโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ตำบลวังอิทก เพื่อประสานงานกับอาสาสมัครสาธาณสุขประจำหมู่บ้านเพื่อให้ข้อมูลในการเตรียมตัวก่อนเข้ารับบริการ ระหว่างการออกบริการได้มีการประชุมแผนงานระหว่างนิสิตกับอาจารย์ประจำกลุ่มอยู่หลายครั้ง และในวันให้บริการตรวจซึ่งตรงกับวันที่ 6 พฤศจิกายน 2558 นิสิตกลุ่มตรวจพยาธิเข็มหมุดได้เตรียมสถานที่ และของรางวัลในการตรวจซึ่งได้แก่ลูกโปร่งและอาหารว่างซึ่งนิสิตเลือกนมเปรี้ยวสำหรับเด็กเล็กเพื่อแจกหลังการตรวจและนำบอร์ดให้ความรู้เล่าให้เด็กเล็กฟังและถามคำถามเพื่อทดสอบความเข้าใจซึ่งบรรยากาศเต็มไปด้วยความสนุกสนาน เพราะตัวแทนกลุ่มใช้ภาษาที่กระชับและเข้าใจง่ายและเหมาะสมกับวัยของผู้รับการตรวจ

หลังจากเสร็จสิ้นกิจกรรมกับเด็กเล็กในโรงเรียน กลุ่มนิสิตได้นำตัวอย่างที่เก็บมาตรวจเพื่อหาไข่พยาธิเข็มหมุดที่ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร โดยทำการตรวจให้เสร็จสิ้นภายในวันที่เก็บตัวอย่างมาและพยายามแจ้งผลการตรวจกลับให้เร็วที่สุดเพื่อให้เด็กที่ตรวจพบไข่พยาธิได้รับการรักษาได้ทันท่วงทีและเป็นการตัดวงจรชีวิตพยาธิก่อนแพร่กระจายไปสู่เพื่อนร่วมชั้นเรียนเนื่องจากพยาธิเข็มหมุดสามารถติดต่อได้หลายทาง จากนั้นทำการติดต่อกับครูผู้รับผิดชอบเพื่อแจ้งผู้ปกครองให้นำบุตรหลายไปรับยาที่สถานพยาบาลใกล้บ้านต่อไป

รูปที่1 นิสิตให้ความรู้เรื่องพยาธิเข็มหมุดกับ เด็กเล็กในศูนย์พัฒนาเด็กเล็กวังอิทก

รูปที่ 2 เด็กในศูนย์พัฒนาเด็กเล็กที่รอรับการบริการตรวจพยาธิเข็มหมุด

ความคิดเห็นของนิสิตที่ดำเนินโครงการ

หลังจากที่ทำการตรวจหาพยาธิเข็มหมุดในตัวอย่างและแจ้งผลต่ออาจารย์และผู้ปกครองเด็กเพื่อให้นำบุตรหลานไปรับยาที่สถานบริการสาธาณสุขใกล้บ้านแล้ว นิสิตได้มีการซักซ้อมความเข้าใจกับอาจารย์ประจำกลุ่มเพื่อเตรียมการนำเสนอผลการดำเนินโครงการต่อไป เมื่อนิสิตส่วนหนึ่งผู้นำเสนอขอเสนอความรู้สึกและความคิดเห็นดังต่อไปนี้

นิสิตพรพุธ วิโรจน์วนากุล (แทน)

” การปฏิบัติงานจริงในพื้นที่ทำให้ได้ประบการณ์ในวิชาชีพมากขึ้นครับ ทำให้ผมแก้ไขปัญหาเฉพาะหน้าเป็นและได้ฝึกการทำงานเป็นทีมด้วยครัย”

นิสิตจุฑารัตน์ ปะละตุ่น (นก)

“การออกชุมชนครั้งนี้ทำให้ได้พบประชาวบ้านและเข้าใจวิถีชีวิตของคนในชุมชน มีความสุขที่ได้เห็นรอยยิ้มของผู้รับบริการค่ะและได้เรียนรู้การทำงานเป็นทีมด้วยค่ะ”

นิสิตเนติรัฐ เจริญนาวี (เน)

“รู้สึกสนุกและเหนื่อยครับ”

นิสิตปรียา ตอพล (บีม)

‘’ได้ฝึกวางแผนการทำงานและการจัดการและตระเตรียมทักษะวิชาชีพเทคนิคการแพทย์เพื่อให้บริการ ทำให้รู้จักและเข้าใจคนในชุมชนมากขึ้น และนิสิตมีโอกาสได้ฝึกการทำงานเป็นทีมค่ะ”

กิกติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณเกษม คำโสภา นายกองค์การส่วนบริหารตำบลวังอิทก คุณดำรงค์ วงแทน หัวหน้าส่วนการศึกษาศาสนาและวัฒนธรรมที่อนุญาติให้ภาควิชาฯ นำนิสิตเข้าให้บริการในสถานศึกษาภายใต้การดูแลของท่านและขอขอบคุณคุณครูดวงกมล ดีแป้น คุณครูปราถนา รุ่นแรก คุณครูเกษม นวลสิงหะและ คุณบุญช่วย เทียมทันในการให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. เริงวิทย์ บุญโยม. เอกสารประกอบรายละเอียดรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชน.ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2557

2. งานพัฒนาหลักสูตร กองบริการการศึกษา. คู่มือนิสิตระดับปริญญาตรี มหาวิทย่ลัยนเรศวร ประจำปีการศึกษา 2553. มหาวิทยาลัยนเรศวร 2553.

3. วีรลักษณ์ สายต่างใจ วิวรรธนา ฤทธิ์เทพ วริศรา พรามจรและคณะ. คความชุกการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุดในเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวงอิทก จังหวัดพิษณุโลก. วารสารนิติเวชศาสตร์;5(3):164-9.

ข่าวสารภาควิชานิติเวชศาสตร์

ห้องปฏิบัติการนิติเซโรวิทยาได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 และ 15190 สำหรับการตรวจพิสูจน์บิดา มารดาและบุตร เมื่อวันที่ 29 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2559

และได้จัดพิธีรับมอบใบรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการเมื่อวันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ.2559 โดยผู้อำนวยการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นประธานในพิธี และได้รับเกียรติจาก คุณจุรีภรณ์ บุณยวงศ์วิโรจน์ รองอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นผู้มอบใบรับรอง