คำนำ

งานนิติเวชศาสตร์และงานนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทยมีแนวโน้มที่กำลังจะมีการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงครั้งใหญ่อีกครั้ง ในขณะนี้กำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาศึกษาหาความเหมาะสมของคณะกรรมการชุดต่าง ๆ ทั้งในส่วนบริหารจัดการและการออกกฎระเบียบ ความคาดหวังต่อการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงครั้งนี้คงทำให้วงการนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กระบวนการยุติธรรมของไทยพัฒนาไปอีกขั้นหนึ่งและได้มาตรฐานในระดับนานาชาติ เพื่อผดุงความเป็นธรรมให้กับประชาชนทุกคน

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

วัตถุประสงค์

วารสารนิติเวชศาสตร์ เป็นวารสารของภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีวัตถุประสงค์ในการจัดทำวารสาร ได้แก่

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมายที่เกี่ยวข้อง 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. อ.นพ.กรวิก มีศิลปวิกกัย
8. ภญ.กัญญนลิน หิรัญเศรษฐธาดา ผู้ช่วยบรรณาธิการและเลขานุการ

วารสารออนไลน์

http://www.forensicchula.net

สารบาญ

ค่าความถี่อัลลีลของ STR โลคัส D22S1045 ในประชากรไทยภาคเหนือ 53

Sarcocystis spp. ในแหนม ที่จำหน่ายในจังหวัดพิษณุโลก 61

ผลของเครื่องปรุงและกระบวนการหมักต่อการตรวจพบ Sarcocystis spp. ในแหนม 68

การตรวจเลือดปนเปื้อนบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวในห้องเรียนปฏิบัติการ 79

คราบที่เห็นเป็นคราบเลือดหรือไม่? 86

เห็ดพิษที่พบบริเวณหอพักคณาจารย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร 91

การเรียนรู้แบบเน้นประสบการณ์ในหัวข้อกระบวนการห้ามเลือด 97

คราบเลือดหรือเปล่าครับ อาจารย์? 104

ข่าวสารภาควิชานิติเวชศาสตร์ 110

ภาพปก

ชื่อภาพ **The fall of the rebel angels**

ศิลปิน Charles Le Brun

สถานที่ **Oeuvre du musée des Beaux-Arts de Dijon**

ที่มา https://en.wikipedia.org/wiki/Charles_Le_Brun#/media/File:Le-Brun-Chute-Dijon.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิติเวชศาสตร์เป็นวารสารรายหกเดือน 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

ค่าความถี่อัลลีลของ STR โลคัส D22S1045 ในประชากรไทยภาคเหนือ

Allele Frequency of STR Locus D22S1045 in Northern Thai Population

ภาวนา นุ่มน้อย *

ศ.นพ.ธานินทร์ ภู่พัฒน์ **

บทคัดย่อ

short tandem repeat หรือ STR เป็นเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic marker) ซึ่งถูกนำมาใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลอย่างแพร่หลาย เนื่องจากส่วนของ STR ในแต่ละบุคคลจะมีการเรียงตัวของเบสซ้ำ (tandem repeat) บนสายดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน และในแต่ละประชากรยังมีค่าความถี่อัลลีลที่แตกต่างกันอีกด้วย งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษารูปแบบอัลลีล และค่าความถี่อัลลีลของ STR โลคัส D22S1045 ในประชากรไทยภาคเหนือที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกัน จำนวน 187 คน โดยใช้เทคนิค PCR และเทคนิค polyacrylamide gel ในการวิเคราะห์รูปแบบอัลลีลของประชากร พบว่า มีรูปแบบอัลลีล 6 รูปแบบ (อัลลีล 11, 14-18) โดยอัลลีล 15 มีความถี่สูงสุด (0.3316) ในขณะที่อัลลีล 18 มีความถี่ต่ำสุด (0.0428) และจากการวิเคราะห์ค่าประสิทธิภาพของเครื่องหมายพันธุกรรมในทางนิติวิทยาศาสตร์ พบว่า ค่า expected heterozygosity (H_{exp}) และค่า observed heterozygosity (H_{obs}) เท่ากับ 0.77913 และ 0.77005 ตามลำดับ ค่ากำลังการแยกแยะ (PD) และค่ากำลังการคัดออก (PE) มีค่าเท่ากับ 0.91492 และ 0.56883 ลำดับ และประชากรอยู่ในสมดุลฮาร์ดีและไวเบิร์ก ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพของ STR โลคัส D22S1045 สามารถนำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ในประชากรไทยภาคเหนือได้

คำสำคัญ Short Tandem Repeat (STR), ความถี่อัลลีล ประชากรไทยภาคเหนือ

---

* นักศึกษาปริญญาโท สหสาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ศาสตราจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract

STR (short tandem repeat) becomes a powerful tool for individual identification. The different alleles can be highly variable in individuals. The objective of this research was to determine allele frequency and forensic parameter of STR locus D22S1045 in Northern Thai population. 187 unrelated individual were typed by PCR and separated DNA by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). In the population was founded 6 alleles (allele number 11 and 14-18), allele 15 is the most common with frequency of 0.3316. The expected and observed heterozygosity are 0.77913 and 0.77005. Power of discrimination (PD) and power of exclusion (PE) are 0.91492 and 0.56883, respectively. Thus, this studies were confirmed D22S1045 can use for individual identification and paternity testing in Northern Thai population.

Keyword: Short Tandem Repeat, Allele frequency, Northern Thai Population

---

บทนำ

การพิสูจน์ทราบถึงตัวบุคคลนับเป็นเป้าหมายหนึ่งของงานด้านนิติวิทยาศาสตร์กับคดีอาชญากรรม เนื่องจากหากทราบแล้วว่าผู้ตายหรือผู้เคราะห์ร้ายเป็นใครย่อมนำสู่การคลี่คลายคดีได้อย่างถูกทาง โดยในปัจจุบันการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งการตรวจพิสูจน์ที่ได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพ และความแม่นยำสูงวิธีหนึ่ง คือ การตรวจพิสูจน์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ซึ่งแตกต่างจากการตรวจพิสูจน์อื่น ๆ ที่สามารถใช้ในการตรวจพิสูจน์วัตถุพยานทางชีวภาพ เช่น คราบเลือด อสุจิ โครงกระดูก ชิ้นเนื้อ เป็นต้นได้ นอกจากนี้เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมที่สามารถถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นลายพิมพ์ดีเอ็นเอจึงถูกนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจพิสูจน์พ่อ แม่ ลูก หรือความสัมพันธ์เครือญาติได้อย่างดี

การตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นการอาศัยความแตกต่างของจำนวนชุดเบสซ้ำต่อเนื่อง (tandem repeat) ที่กระจายอยู่ในบริเวณส่วนที่ไม่ใช่ยีนบนสายดีเอ็นเอ เรียกว่า short tandem repeat โดยในแต่ละชุดเบสซ้ำจะประกอบด้วยเบสซ้ำ 2-6 คู่เบส และมีจำนวนชุดซ้ำไม่เกิน 100 ซ้ำ[1] ซึ่งสามารถทำการตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอบริเวณนี้ได้โดยอาศัยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) โดยไพรเมอร์ (primer) ที่ใช้จะมีความจำเพาะกับบริเวณโลคัสที่สนใจ จากนั้นทำการตรวจสอบความแตกต่างของจำนวนชุดซ้ำหรือ อัลลีล (allele) ด้วยเทคนิคการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า

การตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอในทางนิติวิทยาศาสตร์นั้นจำเป็นต้องใช้ STR หลาย ๆ โลคัส (locus) ร่วมกันเพื่อที่จะลดโอกาสของการตรงกันของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแต่ละบุคคลโดยบังเอิญให้น้อยที่สุด และในบางครั้งการตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเออาจเกิดกรณีที่มีความซับซ้อนขึ้นได้ เช่น เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ในบางโลคัสที่ใช้ เกิดอัลลีลขาดหาย (allele dropout) หรืออัลลีลไม่ครบส่วน (partial profile) ปัญหาเหล่านี้จะส่งผลให้ค่าความเชื่อมั่นของการตรวจพิสูจน์ลดลง ซึ่งมีผลกระทบอย่างมากหากการตรวจพิสูจน์นั้นเป็นหลักฐานชิ้นสำคัญที่จะช่วยในการยืนยันตัวผู้กระทำผิด ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษา STR โลคัสใหม่ ๆ เพื่อนำมาช่วยส่งเสริมการตรวจพิสูจน์ในกรณีที่เกิดความซับซ้อนขึ้น โดยเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการเสนอ miniSTR ที่เกิดจากการเลื่อนตำแหน่งที่ไพรเมอร์จะเข้าจับให้ใกล้กับบริเวณชุดเบสซ้ำมากที่สุดเท่าเพื่อจะลดขนาดของ PCR product ลง ซึ่ง STR ชนิดใหม่นี้มีความไวในต่อการตรวจพิสูจน์มากกว่า STR ที่ใช้กันปกติ[2] ด้วยขนาดของชุดซ้ำที่มีขนาดสั้นกว่า STR ทั่วไปจึงให้ผลการตรวจที่ดีกว่าในตัวอย่างคดีที่เสียสภาพ เกิดอัลลีลไม่ครบส่วนหรือให้ผลลบเมื่อทำการตรวจ STR ขนาดปกติ[3] รวมถึงดีเอ็นเอที่มีสภาพเก่าอีกด้วย[4-6] นอกจากนี้ยังมีการศึกษา miniSTR โลคัสใหม่ ๆ ซึ่งอยู่นอกเหนือจากโลคัสใน CODIS ในหลายประชากร ซึ่งแสดงถึงความหลากหลายของอัลลีล และความถี่ที่แตกต่างกันในแต่ละประชากร เช่น การศึกษาในประชากรสิงคโปร์[7] ประชากรจีนฮันและเกาหลีที่อาศัยในประเทศจีน[8] หรือในประชากรเกาหลี[9] นอกจากนี้ miniSTR ยังแสดงประสิทธิภาพในการตรวจพิสูจน์บุคคล มีค่าทางสถิติต่าง ๆ ใกล้เคียงกับ STR ขนาดปกติ สามารถใช้ในการตรวจพิสูจน์ร่วมกับ STR โลคัสอื่นได้อย่างดี และยังเป็นการส่งเสริมค่าของข้อมูลทางพันธุกรรมได้อีกด้วย[10]

ซึ่งในงานวิจัยนี้เลือก miniSTR โลคัส D22S1045 ซึ่งตั้งบนโครโมโซมที่ 22 ที่ยังไม่มี STR ของ CODIS ตั้งอยู่ มีชุดลำดับเบสซ้ำเป็น $ATT_{(n)}$[11] มาใช้ในการศึกษา จากข้อมูลความถี่ในหลาย ๆ กลุ่มประชากรพบว่าในโลคัสดังกล่าว มีค่าทางสถิติสูงบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพและความหลากหลายของโลคัสซึ่งเหมาะสมในการนำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล และตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือดร่วมกับ STR โลคัสอื่น และยังมีประสิทธิภาพในการตรวจพิสูจน์ตัวอย่างคดีที่มีความซับซ้อนหรือมีการเสียสภาพ รวมถึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการตรวจความสัมพันธ์ที่มีความใกล้ชิดกันมากซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์

วิธีการทดลอง

ทำการคัดเลือกตัวอย่างดีเอ็นเอซึ่งสกัดด้วย chelex จากผู้ที่มีภูมิลำเนาอยู่ในจังหวัดภาคเหนือ และไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกัน ซึ่งมาเข้ารับการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ ณ ห้องปฏิบัติการสารพันธุกรรม ภาควิชานิติเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 187 คน ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ตำแหน่งของโลคัส D22S1045 ด้วยเทคนิค PCR ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ 1 ไมโครลิตร, JumpStart

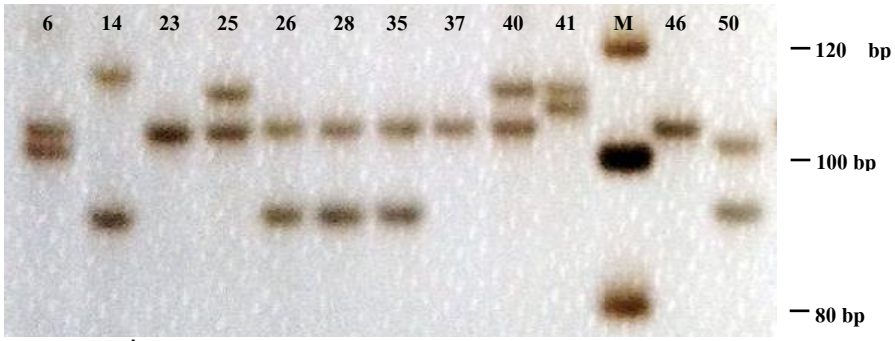
(sigma, USA) 5 ไมโครลิตร, 2 μM D22S1045 primer 1 ไมโครลิตร (ตารางที่ 3.1) และน้ำกลั่น จากนั้นทำการวิเคราะห์รูปแบบอัลลีลด้วย 8.5% polyacrylamide gel electrophoresis และย้อมดูแถบอัลลีลด้วยเทคนิค silver staining จากนั้นจึงอ่านผลรูปแบบอัลลีลโดยเปรียบเทียบกับ allelic ladder ของโลคัส D22S1045 และนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความถี่อัลลีล และค่าประเมินประสิทธิภาพทางนิติวิทยาศาสตร์ด้วยสมการทางสถิติ

ตารางที่ 1 ลำดับเบสไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ STR โลคัส D22S1045[11]

	Sequence	bp
Forward primer	5'- ATT TTC CCC GAT GAT AGT AGT CT-3'	23
Reverse primer	5'- GCG AAT GTA TGA TTG GCA ATA TTT TT-3'	26

ผลการทดลอง

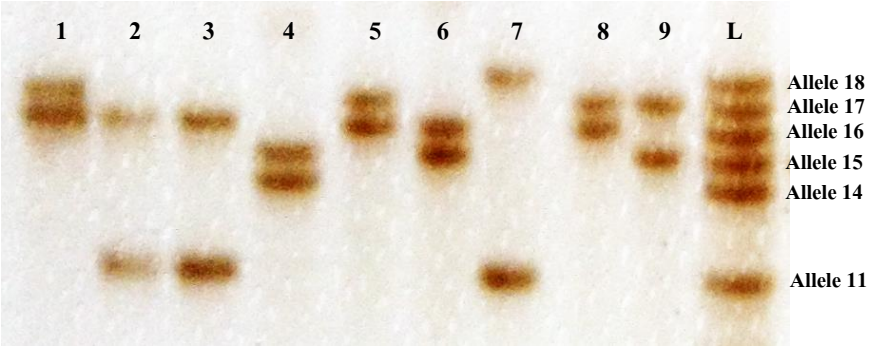
จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างประชากรไทยภาคเหนือ จำนวน 195 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับโลคัส D22S1045 พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้สำเร็จ 187 ตัวอย่าง ผลผลิต PCR มีขนาดระหว่าง 80 - 120 คู่เบส ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ผลการเพิ่มประมาณดีเอ็นเอโลคัสD22S1045 ด้วยเทคนิค PCR

โดย 6, 14, 23,…,50 คือ เลขที่ตัวอย่าง และ M คือ 20bp DNA marker

และเมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย 8.5% polyacrylamide gel electrophoresis โดยใช้ allelic ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน พบว่า ในประชากรตัวอย่างมีรูปแบบอัลลีลทั้งหมดจำนวน 6 อัลลีล ได้แก่ อัลลีล 11 และอัลลีล 14-18 (รูปที่ 2) โดยพบอัลลีล 15 มากที่สุด จำนวน 124 อัลลีล ในขณะที่พบอัลลีล 18 น้อยที่สุด 16 อัลลีล และไม่พบอัลลีลที่ 12-13 เลย จากนั้นนำข้อมูลอัลลีลที่ได้ของประชากรไปวิเคราะห์หาความถี่อัลลีลและประเมินประสิทธิภาพทางนิติวิทยาศาสตร์ ได้ผลดังตารางที่ 2



รูปที่ 2 ผลการตรวจสอบอัลลีลของโลคัส D22S1045 ด้วย 8.5% polyacrylamide gel

โดย 1, 2, 3, …, 9 คือ เลขที่ตัวอย่างประชากร

และ L คือ allelic ladder ของ STR โลคัส D22S1045

ตารางที่ 2 ความถี่อัลลีลของ STR โลคัส D22S1045 ในประชากรไทยภาคเหนือ

Allele	number	P_i
11	67	0.1791
12		
13		
14	24	0.0642
15	124	0.3316*
16	60	0.1604
17	83	0.2219
18	16	0.0428
Hobs	0.77005	
Hexp	0.77913	
PD	0.91492	
PE	0.56883	
PIC	0.77705	

หมายเหตุ Hobs; observed heterozygosity, Hexp; expected heterozygosity, PD; power of discrimination, PE; power of exclusion, PIC; polymorphic information content

สรุป และอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาค่าความถี่อัลลีลของ STR บนโครโมโซมคู่ที่ 22 โลคัส D22S1045 ซึ่งเป็น STR ที่มีขนาดเล็ก (miniSTR) ประมาณ 100 คู่เบส ในกลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยไม่มีความเกี่ยวเนื่องกันทางสายเลือด และบิดา-มารดามีภูมิลำเนาใน 17 จังหวัดภาคเหนือของประเทศไทย จำนวน 187 คน พบ 6 รูปแบบอัลลีล มีลำดับเบสซ้ำเป็น $(ATT)_nACT(ATT)_2$ โดยอัลลีลที่ 15 มีค่าความถี่สูงสุด (0.3316) ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในคนเอเชียจะเห็นว่ามีความสอดคล้องกัน อย่างเช่นในการศึกษาในประชากรจีน มาเลเซีย และอินเดียที่อาศัยในประเทศสิงคโปร์[7] หรือในประชากรจีนฮั่น และเกาหลี[8] รวมถึงในกลุ่มประชากร Tujia ของจีน[12] และประชากรเกาหลี[9-10] ที่แสดงให้เห็นถึงค่าความถี่อัลลีลสูงที่สุดในอัลลีลที่ 15 แต่กลับแตกต่างกับประชากรฮั่นที่อาศัยในบริเวณลุ่มแม่น้ำเหลืองทางตอนเหนือของจีน[13] ที่พบอัลลีลที่ 16 มีความถี่สูงสุด และเช่นเดียวกับการศึกษาในกลุ่มจีน Salar ที่อาศัยในจังหวัด Qinghai[14] โดยพบรูปแบบอัลลีล 17 มากที่สุด และเมื่อพิจารณารูปแบบอัลลีลที่พบในแต่ละประชากร ประชากรเชียงใหม่ไม่พบอัลลีลที่ 12-13 เช่นเดียวกับประชากรจีนในสิงค์โปร์และประชากรจีนฮั่นเช่นกัน ซึ่งนั่นอาจแสดงถึงความสัมพันธ์ของประชากรไทยภาคเหนือกับประชากรจีนทั้งสองกลุ่ม แต่แตกต่างจากประชากรอื่น เช่น อินเดีย เกาหลี มาเลที่จะพบรูปแบบอัลลีลที่ 12 และหรืออัลลีลที่ 13 ด้วย และเมื่อพิจารณากราฟการกระจายตัวของอัลลีลที่พบในประชากรเชียงใหม่จะกราฟจะแบ่งเป็นสองช่วง ซึ่งอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ในขั้นตอนการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมตั้งแต่อดีตจนส่งผลให้เกิดรูปแบบซ้ำในโลคัส D22S1045 มีการกระจายแบบไม่สม่ำเสมอที่อาจเป็นเอกลักษณ์เฉพาะสามารถใช้แยกแต่ละกลุ่มประชากรออกจากกันได้

เมื่อพิจารณาความหลากหลายของ STR โลคัส D22S1045 ในประชากรไทยภาคเหนือ พบว่า ค่า expected heterozygosity (H_{exp}) และค่า observed heterozygosity (H_{obs}) เท่ากับ 0.77913 และ 0.77005 ตามลำดับ ซึ่งนับว่าเป็นค่าที่สูงและใกล้เคียงกันมาก แสดงถึงสัดส่วนของประชากรที่จะพบจีโนไทป์แบบ heterozygous มีมากทั้งในทางทฤษฎี และในประชากรจริง ซึ่งสอดคล้องกับค่า polymorphic information content (PIC) มีค่าเท่ากับ 0.74356 แสดงถึงว่าตำแหน่งที่ทำการศึกษามีความหลากหลายของข้อมูลสูง ดังนั้น โลคัส D22S1045 ในประชากรไทยภาคเหนือจึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงทำให้โอกาสในการที่จะตรวจแล้วเจอบุคคลที่มีรูปแบบอัลลีลตรงกันเป็นไปได้ยากมากขึ้นนั่นเอง

ค่ากำลังการแยกแยะ (PD) ของ STR โลคัส D22S1045 มีค่าเท่ากับ 0.91492 ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการคัดแยกบุคคลสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันออกได้อย่างถูกต้อง 91.49% หรือมีโอกาสที่จะเจอบุคคลที่มีรูปแบบอัลลีลตรงกันของโลคัสนี้ในประชากรไทยภาคเหนือเท่ากับ 8 คนในหนึ่งร้อยคน ส่วนค่ากำลังการคัดออก (PE) เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการคัดบุคคลที่ไม่ใช่พ่อออกไปในการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์พ่อ แม่ ลูก ประกอบด้วย 3 ค่า ได้แก่ PE (no parent) PE(one parent) และ PE โดยที่โลคัส D22S104 ในประชากรไทยภาคเหนือ มีค่าเท่ากับ 0.38932 0.56875 และ 0.56883 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงว่าเมื่อทำการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์พ่อแม่ลูกในแต่ละกรณีด้วยโลคัส D22S1045 เพียงโลคัสเดียวสามารถคัดบุคคลที่ไม่ใช่พ่อออกไปได้อย่างถูกต้องตั้งแต่ 38.93% 56.87% และ 56.88% ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัย และขอขอบพระคุณบุคคลากรภาควิชานิติเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความช่วยและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Butler, J.M. “Short Tandem Repeat Marker”. in *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Academic press, New York, pp.147-151, 2010.
2. Butler, J.M., Shen, Y. and McCord, B.R. The development of reduced size STR amplicons as tools of analysis of degraded DNA. *Journal of Forensic Science,* 48:1054-1064, 2003.
3. Martín, P., García, O., Albarrán, C., García, P. and Alonso, A. Application of mini-STR loci to severely degraded casework samples. *International Congress Series,* 1288:522-525, 2006.
4. Asamura, H., Ota, M. and Fukushima, H. Population data on 10 non-CODIS STR loci in Japanese population using a newly developed multiplex PCR system. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 15:519–523, 2008.
5. Tsukada, K., Takayanagi, K., Asamura, H., Ota, M. and Fukushima, H. Multiplex short tandem repeat typing in degraded samples using newly designed primers for the TH01, TPOX, CSF1PO, and vWA loci. *Legal Medicine,* 4:239-245, 2002.

6. Coble, M.D., Hill, C.R., Vallone, P.M. and Butler, J.M. Characterization and performance of new miniSTR loci for typing degraded samples. *International Congress Series,*1288:504-506, 2006.
7. Yong, R.Y.Y., Gan, L.S.H., Coble, M.D. and Yap, E.P.H. Allele frequencies of six miniSTR loci of three ethnic population in Singapore. *Forensic Science International,* 166:240-243, 2007.
8. Bai, R., Shi, M., Yu, X., Lv, J. and Tu, Y. Allele frequencies for six miniSTR loci of two ethnic populations in China. *Forensic Science International,* 168:e25-e28, 2007.
9. Chung, U., Shin, K.J., Park, M.J., Kim, N.Y., Yang, W.I., Cho, S.H. and Lee, H.Y. Population data of nine miniSTR loci in Koreans. *Forensic Science International,* 168:e51-e53, 2007.
10. Jin, H.J., Kim, K.C., Yoon, C.E. and Kim, W. Forensic and population genetic analyses of eighteen non-CODIS miniSTR loci in Korean population. *Journal of Forensic and Legal Medicine,* 20:1093-1097, 2013.
11. Hill, C.R., Kline, M.C., Coble, M.D. and Butler, J.M. Characterization of 26 miniSTR loci for improved analysis of degraded DNA samples. *Journal of Forensic Science,* 53:73-80, 2008
12. Yuan, G.L., Shen, C.M., Wang, H.D., Liu, W.L., et. al. Genetic data provide by 21 autosomal STR loci from Chiense Tujia ethnic group. *Molecular Biology Reports*, 39:10265-10271, 2012.
13. Yuan, L., Ge. J., Lu. D. and Yang, X., Population data of 21 non-CODIS STR loci in Han population of Northern China. *International Journal of Legal Medicine*. 126:659-664, 2012.
14. Teng, Y., Zhang, F.X., Shen, C.M., Wang, F. Wang, H.D., et. al., Genetic variation of New 21 Autosomal short tandem repeat loci in a China Salar ethnic group. *Molecular Biology Reports.*39:1465-1470, 2012.

Sarcocystis spp. ในแหนม ที่จำหน่ายในจังหวัดพิษณุโลก

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

ทำการตรวจหาความชุกของ Sarcocystis spp. ในแหนมหมูและวัวจำนวน 1,000 ตัวอย่าง โดยแหนมตัวอย่างเก็บจากร้านสะดวกซื้อและร้านค้าในตลาดที่จำหน่ายในอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก และตรวจหาระยะติดต่อของ *Sarcocystis spp.* โดยการบดและการย้อมสี ผลการศึกษาพบว่าแหนมที่ทดสอบไม่มีระยะติดต่อของโปรโตซัวนี้ จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า อาหารพื้นเมืองประเภทนี้ไม่เป็นอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการติดโปรโตซัวนี้

คำสำคัญ: Sarcocystis, แหนม อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

Investigation of *Sarcocystis spp.* in Nahm, sole in Phitsanulok province

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

In order to investigate infective stage of protozoa; *Sarcocystis spp* in pork and cattle Nahm in convenient stores and local market shops in Meung district, Phitsanulok Province. 1,000 Nahm samples were studied by squeeze and dye staining method. The result showed that all of the samples taken from studied areas are free from Sarcocystis infection. This indicated that consuming Nahm is not a risk factor for this protozoal infection.

Keywords: Sarcocystis, Nahm, Mueng District, Phitsanulok Province

---

* Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,

Naresuan University, Phisanilok.

บทนำ

Sarcocystis spp. เป็นปรสิตที่จัดอยู่ใน subkingdom Protozoa, phylum Apicomplexa, class Sporozoa, family Sarcocystidae ก่อให้เกิดโรค Sarcocystosis ที่เกิดจากการกินเนื้อสัตว์ที่มีระยะติดต่อ sarcocyst หรือ bradyzoite เข้าไป อาการทางคลินิกของผู้ติดเชื้อมีตั้งแต่ไม่มีอาการแสดงจนกระทั่งมีอาการแสดงที่ปรากฏได้แก่ ปวดท้องคลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร ท้องเสียและมีไข้ ในผู้ป่วย HIV และ ผู้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันภาวะการติดเชื้อจะรุนแรงและเรื้อรังกว่าคนปกติ นอกจากนี้มีรายงานพบว่าอาสาสมัครที่กินเนื้อวัวดิบที่มี Sarcocyst ของ *Sarcocystis hominis* มีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายอุจจาระเหลว ตรวจพบ oocyst ในอุจจาระ และมี eosinophil สูงในเลือด รวมทั้งมีรายงานผู้ป่วย 6 รายจากประเทศไทยที่กินเนื้อวัวดิบเกิด segmental necrotizing enteritis ต้องรักษาด้วยการผ่าตัด ถ้าคนกินระยะ oocyst ที่ปนเปื้อนในน้ำและอาหารคนจะเป็น intermediate host ผู้ป่วยมักไม่มีอาการแสดงและอาการที่เกิดจากการอักเสบใด ๆ อย่างไรก็ตาม มีรายงานผู้ป่วยมีอาการปวดตามกล้ามเนื้อแขน ขาและลำตัว กล้ามเนื้ออักเสบ ผิวหนังร้อนแดง มีก้อนใต้ผิวหนัง ต่อมน้ำเหลืองโตและมี eosinophil สูงในเลือด มีไข้[1]

Sarcocystosis ในสัตว์ทำให้เกิดอาการเบื่ออาหาร น้ำหนักลด แท้งลูก และตายได้ เป็นผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศ และเกษตรกรผู้ประกอบอาชีพทางปศุสัตว์ สำหรับการติดเชื้อในคนมี 2 แบบ แบบแรกเป็นการติดเชื้อที่ลำไส้ เกิดจาก Sarcocystis ชนิด *S. bovihominis* หรือ *S. suihominis* คนที่พบระยะ oocyst ในอุจจาระส่วนใหญ่ไม่มีอาการป่วย มีรายงานผู้ป่วยลำไส้อักเสบชนิด eosinophilic หรือ ลำไส้อักเสบชนิดเนื้อตาย และพบ *Sarcocystis* ในลำไส้ มักเกิดพยาธิสภาพร่วมกับแบคทีเรีย แบบที่สองเป็นการติดเชื้อในกล้ามเนื้อ เกิดจาก *Sarcocystis* อยู่ในกล้ามเนื้อโดยไม่แสดงอาการ มักวินิจฉัยพบภายหลังคนที่เสียชีวิตจากสาเหตุอื่น ๆ [2]

ในการศึกษาเนื้อหมูและเนื้อวัวในตลาดสดในอำเภอบางพลี สมุทรปราการ และอำเภอเมืองพิษณุโลกพบว่าตัวอย่างเนื้อที่ทดสอบมีระยะติดต่อของโปรโตซัวนี้สูงถึง 100% เนื่องจากอำเภอเมืองพิษณุโลกการเป็นเมืองที่มีประชากรอยู่อาศัยหนาแน่น และประชากรบางส่วนเป็นผู้มีภูมิลำเนาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ซึ่งนิยมประกอบอาหารประเภทเนื้อสัตว์แบบสุก ๆ ดิบ ๆ ซึ่งเสี่ยงต่อการได้รับโปรโตซัวนี้[3-5] การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อระยะติดต่อของ *Sarcocystis* spp. ในอาหารพื้นเมืองประเภทแหนมเพื่อเป็นข้อมูลในเฝ้าระวังและการศึกษาอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

เก็บตัวอย่างแหนมหมูและวัวชนิดละ 500 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 1,000 ตัวอย่าง โดยเก็บจากร้านค้าในตลาดสด 10 ร้านจาก ตลาด 4 แห่งและร้านสะดวกซื้อ 20 แห่ง ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก จากนั้นนำตัวอย่างมาบดและบีบน้ำจากตัวอย่างมาหยดบนสไลด์แก้ว ทิ้งให้แห้งประมาณ 5 นาที แล้วตรึงสภาพด้วย methanol และย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นนำไปตรวจหาระยะ bradyzoit ของ *Sarcocystis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100, 400 และ 1000 เท่า ตามลำดับ[6]

ผลการศึกษา

จากการตรวจหาระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp ไม่พบตัวอย่างแหนมใดเลยที่มีระยะติดต่อของโปรโตซัวนี้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจระยะติดต่อของ *Sarcocystis* spp. ในตัวอย่างแหนมที่เก็บจากร้านค้าในตลาด และร้านสะดวกซื้อ ในเขตอำเภอเมืองพิษณุโลก

ตัวอย่างที่ทำการตรวจ (ตัวอย่าง)	**ตัวอย่างที่ตรวจพบระยะ bradyzoite (ราย)**	**ความชุก (ร้อยละ)**
แหนมหมู (500)	0	0
แหนมวัว (500)	0	0
รวมทั้งหมด(1,000)	0	0

สรุปและวิจารณ์

ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยไม่พบระยะติดต่อของ *Sarcocystis* spp. ในตัวอย่างแหนมทั้ง 1,000 ตัวอย่าง ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าเครื่องปรุงแหนม อันได้แก่ เกลือ กระเทียม ข้าวสุก และผงชูรสน่าจะมีผลต่อการคงอยู่ของโปรโตซัว หรือภาวะไร้ออกซิเจนในขั้นตอนการหมักรวมทั้งจุลชีพในขบวนการหมักอาจมีผลต่อการคงอยู่ของปรสิตนี้ การศึกษาในอนาคตควรมีการศึกษาเครื่องปรุงและสภาวะดังกล่าวต่อการคงอยู่ของโปรโตซัว

การศึกษานี้ ผู้วิจัยทำการศึกษา *Sarcocystis* ในแหนมซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองที่ทำจากเนื้อหมูและเนื้อวัวดิบ จึงมีโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อปรสิตนี้ได้เนื่องจากมีจากรายงานพบโปรโตซัวนี้ติดเชื้อในสัตว์หลายชนิดและพบมีรายงานทั่วโลก[5] สำหรับการสำรวจในประเทศไทย พบ *Sarcocystis* ในกล้ามเนื้อหัวใจวัวที่ชำแหละจำหน่ายในตลาด 5 แห่ง ในจังหวัดขอนแก่น พบว่ากล้ามเนื้อหัวใจวัวร้อยละ 93.4 [6] นอกจากนี้พบการติดเชื้อ *Sarcocystis* spp.ในการสำรวจเนื้อโคที่จำหน่ายในตลาด 8 แห่งในจังหวัดเชียงใหม่ และ พบอุบัติการณ์ของ *Sarcocystis* spp.ร้ อยละ100 [7] ขณะที่อุบัติการณ์ของการติดเชื้อ *Sarcocystis* spp .ในเนื้อหมูในเขตกรุงเทพมหานครร้อยละ42.6[8] และพบอุบัติการณ์การติดเชื้อ *Sarcocystis* ร้อยละ 100 ในเนื้อวัว และควายในจังหวัดราชบุรี และกรุงเทพมหานคร [9] สำหรับ *Sarcocystis* ในคน พบ *Sarcocystis* spp . ร้อยละ 3 ในนักเรียนชั้นประถมศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่ และพบการติดเชื้อ *Sarcocystis* spp .ร้อยละ 23.2 ของแรงงานไทยที่จะเดินทางไปทำงานต่างประเทศ [10-11] นอกจากนี้ยังพบรายงานผู้ป่วยที่มีลำไส้เล็กอักเสบเฉียบพลัน 6 ราย ตรวจพบระยะมีเพศ sarcosporidia มีลักษณะคล้าย *S. hominis* [12]

สำหรับในสัตว์ พบว่า *S. neurona* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค myeloencephalitis และ neurologic disease ในม้า [13-14] และ *S. canis* เป็นสาเหตุของโรค encephalitis , hepatitis และ generalized coccidiosis ในสุนัข [15] ถึงแม้จะยังไม่มีรายงานการก่อโรครุนแรงเท่าในสัตว์ แต่การศึกษาชนิดของปรสิตนี้ในคนควรมีการศึกษาถึงความสามารถในการก่อพยาธิกำเนิดว่าโปรโตซัวที่พบในสัตว์สามารถก่อโรคได้รุนแรงเท่าในสัตว์หรือไม่ แต่การศึกษานี้ไม่สามารถระบุชนิดของโปรโตซัวนี้ได้ เนื่องจากข้อจำกัดของวิธีการตรวจและเนื่องจากการแยกชนิดของ *Sarcocystis* ต้องใช้การย้อม Immunohistochemistry หรือแยกโดยลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หรือการตรวจโดยวิธีอณูวิทยาดังนั้นการศึกษาในอนาคตควรมีการศึกษาโดยใช้วิธีการตรวจโดยวิธีการขั้นสูงต่อไป

เนื่องจากที่ตั้งของจังหวัดพิษณุโลกอยู่ระหว่างจังหวัดในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือและผู้อยู่อาศัยจำนวนมากที่ย้ายมาอยู่ที่จังหวัดนี้จำนวนมาก ประกอบกับลักษณะการบริโภคอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อควาย โดยไม่ผ่านการปรุงให้สุก จึงมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *Sarcocystis* spp. สูง โดยการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ความชุกของระยะ Bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ในกล้ามเนื้อหัวใจ รวมทั้งพบเนื้อหมู เนื้อวัวและเนื้อควายในจังหวัดนี้ เป็นร้อยละ 100 [16] ดังนั้นการศึกษาเพื่อหาระยะติดต่อของปรสิตนี้จึงมีความจำเป็นสำหรับเป็นข้อมูลของการให้ความรู้กับประชาชน ถึงแม้การศึกษานี้จะไม่พบปรสิตนี้ในแหนมเลยก็ตาม แต่อาหารที่บริโภคดิบก็ยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อจุลชีพอื่นได้ ดังนั้น การบริโภคแหนมจึงควรผ่านการปรุงให้สุกก่อน ถึงแม้จะทำให้รสชาติไม่ดีเท่าที่ควรก็ตาม

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษานี้ ขอขอบคุณ รศ.ดร. สุขกิจ ยะโสธรศรีกุล ผู้จัดการฝ่าย Scientific Research Science and Innovation บริษัท พีทีที โกลบอล เคมิคอล จำกัด (มหาชน) หรือ PTTGC ในการให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ต่อการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Fayer. *Sarcocystis* spp. in human infections.clin Micro Biol Rev. 2004; 17(4): 894-902.

2. วันชัย มาลีวงษ์, ผิวพรรณ มาลีวงษ์, นิมิต มรกต. ปรสิตวิทยาทางการแพทย์ : โปรโตซัวและหนอนพยาธิ. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาธรรมวิทยา, 2544.

3. แสงชัย นทีวรนารถ. ความชุกของ *Sarcocystis* spp. ในกล้ามเนื้อหัวใจหมูและวัวในอำเภอบางพลี จังวัดสมุทรปราการ. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2549; 34(3): 1741-6.

4. แสงชัย นทีวรนารถ นพดล จำรูญ เฉลิมชัย สกุลโชควัฒนา พรชัย หมีแหม่ว สุวิชญา แสงนาค. ความชุกของ *Sarcocystis* spp. ในกล้ามเนื้อหัวใจโคและกระบือ ในตลาด 4 แห่งในเขตอำเภอเมือง จังวัดพิษณุโลก. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2550; 40(2): 109-13.

5. แสงชัย นทีวรนารถ. การติดเชื้อ *Sarcocystis* spp. ในคน. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2552; 37(3): 2899-910.

6. Danseekaew W, Maleewong W, Kaewkes S. Prevalence of *Sarcocystis* infection in cattle in Khon Kaen Province. Thailand. J Trop Med Parasitol. 1990; 13: 47 – 9.

7. Panin S, Muangyimpong Y, Arthansri P, Piangjai S, Likitvongk, Choochote W. Prevalence of *Sarcocystis* and Cystocercus infection in cattle in Chiang Mai Province, Northern Thailand. J Trop Med Parasitol. 1991; 14: 59 - 61.

8. Keittivvi A, Keittivvi B, Sakpuaram T. A survey of the prevalence of *Sarcocystis* spp. infection from markets in Bangkok. J Parasitol Trop Med Assoc Thai. 1985; 8: 18-19.

9. Muangyai M. Chalermchaikit T. Sarcocystis in Thailand. I. The incidence of *Sarcocystis* in cattle and buffaloes. Thai J Vet Med. 1988 ; 18: 319 - 28. .

10. Muangyimpong Y, Pianngjai S, Artrhansri P, *et al.* Prevalence of *Sarcocystis* infection in primary school children in Changwat Chiang Mai, Northern Thailand. J Trop Med Parasitol. 1993; 16: 22 - 4.

11. Wilairatana P , Radomyos P , Radomyos B , *et al*. Intestinal Sarcocystosis in Thai Laborers. Appl Parasitol. 1995; 161 – 78.

12. Bunyaratvej S, Bunyawongwiroj P, Nitiyanant P. Human intestinal Sarcosporidiosis: Report of six cases. Am J Trop Med Hyg. 1983.; 31: 36 - 41.

13. Dubuy JP, Davis SW, Speer CA, et al. *Sarcocystis neurona* n. sp. (Protozoa: Apicomplex), The Protozoal myeloenphalitis. J. Parasitol 1991; 77(2): 212 - 17.

14. Stanek JF, Dubey JP, Oglesbee MJ, *et al*. Life cycle of *Sarcocystis neurona* in its natural intermediate host, the raccoon, Procyon Lotor. J. Parasitol 2002; 88 (6): 1151 - 58.

15. Culling CF. A Handbook of histopathological and histochemical techniques. 3 rd ed. London: Butterworths. 1974.

16. Nateeworanart S, Chanetmahun U, Samreuy S, Uteam W, Kambenmad U. prevalence of *Sarcocystis* spp. in cardiac muscle of swine in Samutprakan province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004; 35(suppl1): 82-3.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

ผลของเครื่องปรุงและกระบวนการหมักต่อการตรวจพบ *Sarcocystis* spp. ในแหนม

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาผลของเครื่องปรุงอาหารพื้นเมืองประเภทแหนมต่อการตรวจพบระยะติดต่อของ *Sarcocystis* spp. ในแหนมหมูและวัว โดยผสมบดกับเครื่องปรุง จากนั้นจับเวลาในหมัก และย้อมสีเพื่อตรวจหาระยะติดต่อ ของ *Sarcocystis* spp ผลการศึกษาพบว่าเกลือและกระบวนการหมักมีผลต่อการกำจัดระยะติดต่อของโปรโตซัวนี้ในขั้นตอนการหมักแหนมซึ่งชี้ให้เห็นว่าอาหารพื้นเมืองประเภทนี้ไม่เป็นอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการติดโปรโตซัวนี้

คำสำคัญ: *Sarcocystis* spp, เครื่องปรุงแหนม

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

Effects of ingredients and fermentation on *Sarcocystis spp.* detection in Nahm

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

In order to investigate infective stage of protozoa; Sarcocystis spp in local Thai food called Nahm. We investigated infection stage of Sarcocystis in pork and beef that mixed with its ingredients in fermentation process then it was studied by squeeze and dye staining method. The result showed that salt and ferment condition are the most important ingredient and technique which eliminated Sarcocystis spp. in this food. This indicated that consuming Nahm is not a risk factor for this protozoal infection.

Keywords: Sarcocystis spp, Nahm ingredient.

---

* Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,

Naresuan University, Phisanilok.

บทนำ

สืบเนื่องจากการตรวจหา *Sarcocystis* spp. ในแหนมที่วางจำหน่ายในจังหวัดพิษณุโลกที่ผ่านมา [2] ซึ่งพบว่าแหนมตัวอย่างที่นำมาศึกษาไม่สามารถตรวจพบระยะติดต่อของโปรโตซัวนี้ ผู้วิจัยจึงมุ่งเน้นความสนใจไปที่เครื่องปรุงหรือขั้นตอนการหมักอาหารประเภทนี้ว่าจะมีผลต่อการคงอยู่ของปรสิตนี้หรือไม่ จึงนำมาซึ่งการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างเนื้อหมูที่ใช้ในการทดสอบ

บดตัวอย่างเนื้อหมูด้วยเครื่องปั่นบด (blender) น้ำกลั่น และตัวอย่างเนื้อหมูที่ใช้ทดสอบจะต้องตรวจพบระยะ bradyzoite ของ *Sacrocyst* spp.อย่างน้อย 100 bradyzoite / mm^3 เมื่อนับด้วย hemocytometer[2, 14]

ศึกษาผลของเกลือแกงต่อการตรวจพบ Sacrocystis spp.

ผสมเนื้อหมูตัวอย่าง 100 กรัม ผสมกับเกลือ 0.1, 0.2, 2,3,5,15,20 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างที่ผสมแล้วใส่ในถุงพลาสติก บีบไล่อากาศแล้วมัดด้วยยางรัดให้แน่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 10 ,20,30, 40, 50 วินาที และ 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50นาที และ 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,24,48 ชั่วโมง

จากนั้นแบ่งตัวอย่างที่หมักมาทำการบีบน้ำจากตัวอย่างมาหยดบนสไลด์แก้ว ทิ้งให้แห้งประมาณ 5 นาที แล้วตรึงสภาพด้วย methanol และย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นนำไปตรวจหาระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง(compound microscope) (รูปที่1)

ศึกษาผลของกระเทียมต่อการตรวจพบ Sacrocystis spp.

ผสมเนื้อหมูตัวอย่าง 100 กรัม ผสมกับกระเทียมไทย0.1, 0.2, 2,3,5,15,20 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างที่ผสมแล้วใส่ในถุงพลาสติก บีบไล่อากาศแล้วมัดด้วยยางรัดให้แน่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50 วินาที และ 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50นาที และ 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,24,48 ชั่วโมง

จากนั้นแบ่งตัวอย่างที่หมักมาทำการบีบน้ำจากตัวอย่างมาหยดบนสไลด์แก้ว ทิ้งให้แห้งประมาณ 5 นาที แล้วตรึงสภาพด้วย methanol และย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นนำไปตรวจหาระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์

ศึกษาผลของข้าวสุกต่อการตรวจพบ Sacrocystis spp.

ผสมเนื้อหมูตัวอย่าง 100 กรัม ผสมกับข้าวสุก 0.1, 0.2, 2, 3, 5, 15, 20 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างที่ผสมแล้วใส่ในถุงพลาสติก บีบไล่อากาศแล้วมัดด้วยยางรัดให้แน่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 10 ,20,30, 40, 50 วินาที และ 1, 2, 3, 5,10, 20, 30, 40, 50,นาที และ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48 ชั่วโมง

จากนั้นแบ่งตัวอย่างที่หมักมาทำการบีบน้ำจากตัวอย่างมาหยดบนสไลด์แก้ว ทิ้งให้แห้งประมาณ 5 นาที แล้วตรึงสภาพด้วย methanol และย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นนำไปตรวจหาระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์

ศึกษาผลของเครื่องปรุงแหนมต่อการตรวจพบ Sacrocystis spp.

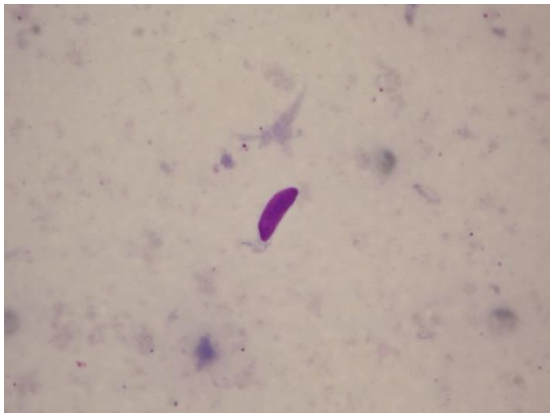
ผสมเนื้อหมูตัวอย่าง 100 กรัม กับเครื่องปรุงแหนม (เนื้อหมู 50 กรัม เกลือ 1 กรัม ข้าวสุก 5 กรัม) จากนั้นนำตัวอย่างที่ผสมแล้วใส่ในถุงพลาสติก บีบไล่อากาศแล้วมัดด้วยยางรัดให้แน่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0,10, 20, 30, 40, 50 วินาที และ 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50 นาที และ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48 ชั่วโมง

จากนั้นแบ่งตัวอย่างที่หมักมาทำการบีบน้ำจากตัวอย่างมาหยดบนสไลด์แก้ว ทิ้งให้แห้งประมาณ 5 นาที แล้วตรึงสภาพด้วย methanol และย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นนำไปตรวจหาระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์

ศึกษาผลของเกลือแกงในเนื้อวัวต่อการตรวจพบ Sacrocystis spp.

ผสมเนื้อวัวตัวอย่าง 100 กรัม ผสมกับเกลือแกง 0.1, 0.2, 2, 3, 5, 15, 20 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างที่ผสมแล้วใส่ในถุงพลาสติก บีบไล่อากาศแล้วมัดด้วยยางรัดให้แน่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50 วินาที และ 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50นาทีและ 1, 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,24,48 ชั่วโมง

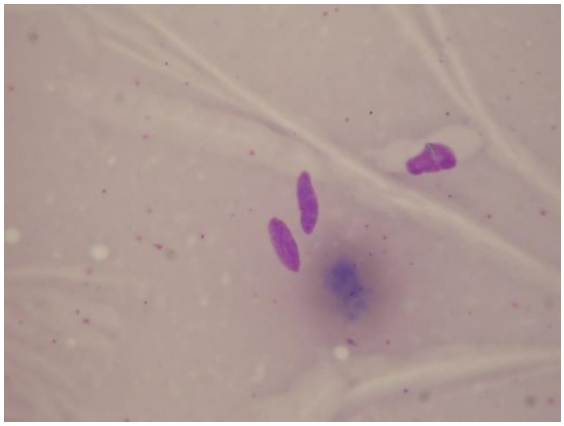
จากนั้นแบ่งตัวอย่างที่หมักมาทำการบีบน้ำจากตัวอย่างมาหยดบนสไลด์แก้ว ทิ้งให้แห้งประมาณ 5 นาที แล้วตรึงสภาพด้วย methanol และย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นนำไปตรวจหาระยะ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์[2]



รูปที่ 1 bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ที่พบ ในเนื้อหมูก่อนขั้นตอนการหมักกับเครื่องปรุงแหนม (40X; Giemsa stain)

ผลการศึกษา

ระยะติดต่อของปรสิตมีลักษณะที่พบก่อนผสมกับเครื่องปรุงเป็นดังรูปที่ 1 และเมื่อผสมเครื่องปรุง การตรวจนั้นอาจพบปรสิตมีขนาดเล็กและสั้นลง (รูปที่2) หรือไม่พบระยะนี้เลย ซึ่งผลเป็นดังตาราง 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ สำหรับผลระยะติดต่อของปรสิตนี้เมื่อผสมเกลือแกงในกระบวนการหมักแสดงในตาราง 5



รูปที่ 2 bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp.ที่พบ ในเนื้อหมูในขั้นตอนการหมักกับเครื่องปรุงแหนม (40X; Giemsa stain)

ตารางที่ 1 แสดงผลเกลือแกงกับการตรวจพบ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp. ในเนื้อหมู

ความเข้มข้นเกลือแกง (กรัม)	**ระยะเวลาที่ตรวจไม่พบ** *Sarcocystis* spp.
0.1	22 ชั่วโมงหลังการหมัก
0.2	11ชั่วโมงหลังการหมัก
2	9 ชั่วโมงหลังการหมัก
3	9 ชั่วโมงหลังการหมัก
5	9 ชั่วโมงหลังการหมัก
15	2 ชั่วโมงหลังการหมัก
20	30 วินาทีของการหมัก

ตารางที่ 2 ผลของกระเทียมต่อการตรวจพบ *Sacrocystis* spp. ในเนื้อหมู

ความเข้มข้นกระเทียม(กรัม)	**ระยะเวลาที่ตรวจไม่พบ** *Sarcocystis* spp.
0.1	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
0.2	48ชั่วโมงหลังการหมัก
2	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
3	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
5	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
15	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
20	48 ชั่วโมงหลังการหมัก

ตารางที่ 3 ผลของข้าวสุกต่อการตรวจพบ *Sacrocystis* spp. ในเนื้อหมู

ความเข้มข้นข้าวสุก(กรัม)	ระยะเวลาที่ตรวจไม่พบ *Sarcocystis* spp.
0.1	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
0.2	48ชั่วโมงหลังการหมัก
2	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
3	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
5	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
15	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
20	48 ชั่วโมงหลังการหมัก

ตารางที่ 4 ผลของเครื่องปรุงแหนมต่อการตรวจพบ *Sacrocystis* spp. ในแหนมที่ทำจากเนื้อหมู

เครื่องปรุงแหนม	ระยะเวลาที่ตรวจไม่พบ *Sarcocystis* spp.
เนื้อหมู 50 กรัม เกลือ 1 กรัม ข้าวสุก 5 กรัม	3 ชั่วโมงหลังการหมัก

ตารางที่ 5 แสดงผลเกลือแกงการตรวจพบ bradyzoite ของ *Sarcocystis* spp.ในเนื้อวัว

ความเข้มข้นเกลือแกง (กรัม)	ระยะเวลาที่ตรวจไม่พบ *Sarcocystis*
0.1	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
0.2	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
2	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
3	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
5	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
15	48 ชั่วโมงหลังการหมัก
20	48 ชั่วโมงหลังการหมัก

สรุปและวิจารณ์

ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยพบระยะติดต่อของปรสิตนี้ในบางความเข้มข้นของชนิดเครื่องปรุงที่เป็นส่วนประกอบของแหนมทั้งที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์ดังรูปที่ 1 และ2 อย่างไรก็ตาม ส่วนใหญ่จะไม่พบระยะติดต่อของ *Sarcocystis* spp. ในตัวอย่างแหนม ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าเครื่องปรุงแหนม อันได้แก่ เกลือ กระเทียม ข้าวสุกน่าจะมีผลต่อการคงอยู่ของ โปรโตซัว หรือภาวะไร้ออกซิเจนในขั้นตอนการหมักรวมทั้งจุลชีพในขบวนการหมักอาจมีผลต่อการคงอยู่ของปรสิตนี้ โดยเกลือแกงเป็นเครื่องปรุงที่มีผลต่อการตรวจพบมากที่สุด โดยเกลือแกงเพียง 0.1 กรัมสามารถทำให้โปรโตซัวหายไปจากเนื้อหมูในเวลา 22 ชั่วโมงของการหมัก ในขณะที่เนื้อวัวที่หมักด้วยเกลือแกงเพียง 0.1 กรัม สามารถกำจัดปรสิตในเวลา 48 ชั่วโมงหลังการหมัก ดังนั้น แหนมจึงเป็นอาหารที่ปลอดภัยจากปรสิตนี้เนื่องจากแหนมที่มีรสชาติดีมักบริโภคแหนมในวันที่สามของการหมัก ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อหมักเนื้อหมูด้วยเครื่องปรุงแหนมที่มีสัดส่วนที่ให้รสชาติดีที่ประกอบไปด้วยเนื้อหมู 50 กรัม เกลือ 1 กรัม ข้าวสุก 5 กรัม พบว่าไม่พบโปรโตซัวนี้ ที่เวลา 3 ชั่วโมงหลังการหมัก สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่ทำการตรวจแหนมหมูและวัวในจังหวัดพิษณุโลกซึ่งไม่พบแหนมที่มีระยะติดต่อของ *Sarcocytis* spp. เลย[2] โดยคาดว่าเกลือแกงน่าจะมีผลต่อแรงดันออสโมติกและผนัง

เซลของเซลโปรโตซัว อย่างไรก็ตาม กระเทียมและข้าวสุกอาจมีผลต่อการหายไปของปรสิตนี้ได้เช่นกัน เนื่องจากตรวจไม่พบระยะติดต่อของปรสิตนี้ในวันที่ 2 ของการหมัก นอกจากกระบวนการหมักแหนมน่าจะมีส่วนในการทำให้สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญของปรสิตนี้โดยกระเทียมและข้าวสุกเป็นเครื่องปรุงสำคัญในการหมักแหนมเพราะในกระบวนการหมักแหนม *Pediococcus cerevisiaec* และ *Heterofermentative lactobacillus* เจริญอย่างรวดเร็วทำให้มีความเป็นกรดสูง ต่อมา *Lactobacillus planarum และ L. breivis* ทำให้มีการสร้างกรดเพิ่มขึ้นทำให้โปรโตซัวไม่สามารถมีการเจริญได้ โดยแหนมที่ผลิตใหม่จะมี pH 5.6 - 6.3 และจะลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์แรก จนมี pH 4.45 - 4.55 ยิ่งไปกว่านั้น สภาวะการหมักแหนมเป็นสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งอาจมีผลทั้งความเป็นกรดและรบกวนการหายใจระดับเซลล์ของ *Sacrocystis* ได้ ดังนั้น เมื่อหมักแหนมด้วยอัตราส่วนที่ทำให้แหนมีรสชาติดี (เนื้อหมู 50 กรัม เกลือ 1 กรัม ข้าวสุก 5 กรัม) [2] จึงทำให้ไม่พบโปรโตซัวนี้ในเมื่อโมงที่ 3 ของการหมัก

ถึงแม้การบริโภคแหนมไม่เสี่ยงต่อการติดเชื้อปรสิตนี้ แต่เชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารอื่นได้ เช่น เชื้อ *Samonella* spp, *Bacillus cereus*, *Staphyllococcus aureus*, *Campylobacter* spp, *Listeria monocytogenase*, *Escherichia coli*,และ *Yersinia enterocolitis* หากกระบวนการปรุงไม่สะอาดพอ ดังนั้น การทอดหรือปรุงสุกโดยผ่านความร้อนจึงมีความสำคัญยิ่งในการทำลายจุลชีพก่อโรคในอาหารประเภทนี้ ถึงแม้ความร้อนจะทำให้รสชาติของแหนมเปลี่ยนไปก็ตาม นอกจากนี้ โปรโตซัว *Toxoplasma gondii* พยาธิ *Trichinella spilaris* และ *Taenia* spp ยังอาจพบในอาหารประเภทนี้ได้[2] ดังนั้นการศึกษาในอนาคตจึงควรทำการศึกษาปรสิตดังกล่าวในแหนมด้วย

การศึกษานี้ผู้วิจัยทำการตรวจโดยการใช้การบีบน้ำจากตัวอย่างและย้อมสี เนื่องจากมีความสะดวกและปรสิตในตัวอย่างมีปริมาณมากเพียงพอเนื่องจากมีการทำตัวอย่างที่ควบคุมผลบวกด้วยทุกครั้ง อีกทั้งเทคนิคการตรวจที่น่าจะมีความไวและจำเพาะกว่ามักใช้ไม่ได้ผลดีในการตรวจปรสิตนี้ในตัวอย่าง โดย Harrisและคณะระบุว่าการตรวจด้วย immunohistochemistry และPCR มีข้อจำกัดในการวินิจฉัยปรสิตนี้[15]

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร. สุขกิจ ยะโสธรศรีกุล ผู้จัดการฝ่าย Scientific Research Science and Innovation บริษัท พีทีที โกลบอล เคมิคอล จำกัด (มหาชน) หรือ PTTGC ในการให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ต่อการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. แสงชัย นทีวรนารถ การติดเชื้อ *Sarcocystis* spp. ในคน. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2552; 37(3): 2899-910..

2. แสงชัย นทีวรนารถ ชณสรณ์ ภูเด่นแดน เทวรัตน์ คุ้มจันทึก. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง *Sarcocystis* spp. ในแหนมที่จำหน่ายในตลาดเขตอำเอเมือง จังหวัดพิษณุโลก; คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร: 2551

3. แสงชัย นทีวรนารถ. ความชุกของ *Sarcocystis* spp. ในกล้ามเนื้อหัวใจหมูและวัวในอำเภอบางพลี จังวัดสมุทรปราการ. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2549; 34(3): 1741-6.

4. แสงชัย นทีวรนารถ, นพดล จำรูญ, เฉลิมชัย สกุลโชควัฒนา , พรชัย หมีแหม่ว, สุวิชญา แสงนาค. ความชุกของ Sarcocystis spp. ในกล้ามเนื้อหัวใจโคและกระบือ ในตลาด 4 แห่งในเขตอำเภอเมือง จังวัดพิษณุโลก. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2550; 40(2): 109-13.

5. อารี วิบูลย์พงศ์ , ทรงศักดิ์ ศรีบุญจิตต์, เยาวเรศ เชาวนพูนผล, วิมล อารยะรัตน์, นัทธียา หวั่นท๊อก. รายงานการวิจัย เรื่อง การศึกษาสถานภาพการผลิตแหนม : ภาคเหนือตอนบนและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และคณะเศรษฐศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2545

6. Danseekaew W, Maleewong W, Kaewkes S. Prevalence of Sarcocystis infection in cattle in Khon Kaen Province. Thailand. J Trop Med Parasitol. 1990; 13: 47– 9.

7 Panin S, Muangyimpong Y, Arthansri P, Piangjai S, Likitvongk, Choochote W. Prevalence of Sarcocystis and Cystocercus Infection in cattle in Chiang Mai Province, Northern Thailand. J Trop Med Parasitol. 199; 14: 59 - 61.

8 Keittivvi A, Keittivvi B, Sakpuaram T. A survey of the prevalence of *Sarcocystis* spp. Infection from markets in Bangkok. J Parasitol Trop Med Assoc Thai. 1985; 8: 18-19.

9 Muangyai M. Chalermchaikit T. Sarcocystis in Thailand. I. The incidence of Sarcocystis in cattle and buffaloes. Thai J Vet Med. 1988; 18: 319 - 28. .

10. Muangyimpong Y, Piangjai S, Artrhansri P, et al..Prevalence of Sarcocystis infection in primary school children in Changwat Chiang Mai, Northern Thailand. J Trop Med Parasitol. 1993; 16: 22 - 4.

11. Wilairatana P , Radomyos P , Radomyos B , Phraevanidr R , Plooksawasdi W , Chanthavanich P, Viravan C, Looareesuwan S..Intestinal Sarcocystosis in Thai laborers. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1996; 27(1): 161 – 78.

12. Bunyaratvej S, Bunyawongwiroj P, Nitiyanant P. Human intestinal Sarcosporidiosis: Report of six cases. Am J Trop Med Hyg. 1983; 31: 36 - 41.

13. Culling CF. A Handbook of histopathological and histochemical techniques. 3 rd ed. London: Butterworths. 1974.

14. Nateeworanart S, Chanetmahun U, Samreuy S, Uteam W, Kambenmad U. prevalence of *Sarcocystis* spp. In cardiac muscle of swine in Samutprakan province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004; 35(suppl1): 82-3.

15. Harris VC, van Vugt M, Aronica E *et al*. Human Extraintestinal Sarcocystosis: what we know, and what we don't know. Curr Infect Dis Rep. 2015; 17(8):42.

การตรวจเลือดปนเปื้อนบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวในห้องเรียนปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

เครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวเป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือนี้ในห้องเรียนปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร โดยใช้น้ำยา Kastle-Meyer ในการตรวจเลือดปนเปื้อนบนเครื่องมือนี้ ซึ่งผลการศึกษาพบการปนเปื้อนช่วงปิดภาคการศึกษาและเปิดภาคการศึกษาเท่ากับ 18.42% และ 15.79% ตามลำดับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าเครื่องมือนี้ควรได้รับการทำความสะอาดเพื่อลดการติดเชื้อที่อาจเกิดจากการใช้เครื่องมือนี้

คำสำคัญ: เครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว น้ำยา Kastle-Meyer ห้องเรียนปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Email ผู้รับผิดชอบบทความ: saengchai_n@yahoo.com

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

The investigation of blood contamination on white blood cell differentiation counters in laboratory classrooms, division of Medical Technology, faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University.

Saengchai Nateeworanart *

Abstract

White blood cell counter is an important instrument in medical technology laboratory. The aim of this study was to investigate blood contamination on this instrument used in division of Medical technology classroom, Faculty of Allied health sciences, Naresuan University. The blood contamination was determined by Kastle-Meyer reagent. The result found that the contamination during semester and semester break was 18.42% and 15.79%, respectively. This indicates that the instrument should be clean to avoid infection that could occur during laboratory use.

Keywords: white blood cell counter, Kastle-Meyer reagent, medical technology laboratory classroom.

---

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

Corresponding author E-mail: saengchai_n@yahoo.com

บทนำ

การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวมีความสำคัญเนื่องจากสามารถใช้ประกอบการวินิจฉัยโรคและเป็นข้อมูลสำหรับดูแลผู้ป่วยและใช้เป็นข้อมูลในการติดตามการรักษาของแพทย์[1] ดังนั้นหัวข้อการนับแยกชนิดเม็ดเลือดจึงมีความสำคัญมากในการเรียนการสอนรายวิชาโลหิตวิทยา ซึ่งเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวอัตโนมัติเป็นเครื่องมือที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในการเรียนการสอนรายวิชานี้ และขั้นตอนการใช้เครื่องนับนี้ระหว่างทำการตรวจแยกชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อาจเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องนับซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อจากห้องปฏิบัติการได้

เลือดเป็นสิ่งส่งตรวจที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสาเหตุของความผิดปกติของการทำงานของร่างกายที่แพทย์ส่งมายังห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุของโรคมากที่สุดชนิดหนึ่ง ซึ่งผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการที่สัมผัสสิ่งส่งตรวจนี้มีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากเลือด การติดเชื้อดังกล่าวอาจเกิดจากการทิ่มแทงของเข็มในขั้นตอนการตรวจหรืออาจเกิดจากการติดเชื้อเมื่อเกิดบาดแผล[2] ถึงแม้จะยังไม่มีรายงานการติดเชื้อจากการใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์สู่ผู้ใช้อุปกรณ์เหล่านี้ แต่การติดเชื้อมีโอกาสเกิดหากขาดความระมัดระวังในการใช้อุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อนสิ่งส่งตรวจที่มีจุลชีพก่อโรคปนเปื้อนอยู่ [3]

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่ใช้ในการเรียนการสอนปฏิบัติโลหิตวิทยาภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ช่วงปิดและเปิดภาคเรียนของปีการศึกษา 2557

วัสดุและวิธีการทดสอบ

เก็บตัวอย่างโดยใช้ไม้พันสำลีชุบ 70% ethanol ป้ายบนแป้นนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวของเครื่องมือนับอัตโนมัติ(รูปที่1) จากนั้นทำการทดสอบด้วย Kastle-Meyer reagent ซึ่งผลการทดสอบจะเป็นบวกหากมีการปนเปื้อนเลือดบนแป้นนับแยกเม็ดเลือดขาว โดยน้ำยาจะเปลี่ยนจากน้ำยาที่ใสไม่มีสีเป็นสีชมพูภายในเวลา 10 วินาที 3

ผลการศึกษา

ผลการตรวจการปนเปื้อนบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวช่วงปิดภาคเรียนและเปิดภาคเรียนเป็นดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่1. แสดงการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวในห้องเรียนปฏิบัติการ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในช่วงปิดภาคเรียนและเปิดภาคเรียน ปีการศึกษา 2557

ช่วงระยะเวลา	การตรวจพบเลือดปนเปื้อน
ช่วงปิดภาคเรียน	18.42%
ช่วงเปิดภาคเรียน	15.79%

รูปที่1 เครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวอัตโนมัติที่ใช้ในการศึกษา

วิจารณ์และสรุปการศึกษา

การปนเปื้อนเลือดบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวช่วงปิดภาคเรียนและเปิดภาคเรียนเท่ากับ 18.42% และ 15.79% ตามลำดับ(ตาราง1) การศึกษานี้ ผู้วิจัยใช้น้ำยา Kastle-Myer เนื่องจาก เป็นน้ำยาที่ใช้ในการตรวจกรองคราบเลือดในทางนิติวิทยาศาสตร์ที่มีประสิทธิภาพมาก4-6และได้มีการนำมาใช้ในทางการแพทย์ โดยในการศึกษาที่ผ่านมาในทางทันตกรรมพบว่าน้ำยานี้มีประสิทธิภาพในการตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือผ่าตัดทางทันตกรรมได้ดี[7-10] ในปี 2005 Lee และคณะรายงานประสิทธิภาพของน้ำยานี้ว่ามีความเหมาะสมในการตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือในแผนกฉุกเฉินและเครื่องมือใน

รถพยาบาลฉุกเฉิน[11] ส่วนทางกีฏวิทยาการแพทย์ Gurtler และคณะพบว่าแมลงที่กินเลือดเป็นอาหารให้ผลบวกต่อการทดสอบด้วยน้ำยานี้ ในขณะที่แมลงอื่นให้ผลทดสอบลบต่อการทดสอบ[12, 13] สำหรับการทดสอบน้ำยานี้เทียบกับแถบทดสอบเลือดในปัสสาวะพบว่า น้ำยานี้มีประสิทธิภาพในการทดสอบ hematuria และ hemoglobinuria ได้ดีกว่าแถบทดสอบสำเร็จรูป[14] รวมทั้งน้ำยานี้ยังสามารถตรวจสอบ fecal occult blood ได้ดีกว่าชุดสอบ guaiac[15] ยิ่งไปกว่านั้น ยังมีรายงานการศึกษาที่ระบุว่าน้ำยานี้ใช้ทดสอบเลือดปนเปื้อนบน glucose meter ได้อย่างมีประสิทธิภาพ[3]

การตรวจคราบเลือดบนวัตถุพยานและสถานที่เกิดเหตุด้วยน้ำยา Kastle-Meyer อาจจะมีข้อจำกัดอยู่บ้างโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดผลบวกปลอมบนวัตถุหรือสถานที่มีการปนเปื้อนของอาหารที่เป็นพืชผักและผลไม้ที่มี peroxidase ยาบางชนิด[16] รวมทั้งอาจเกิดผลลบปลอมจากวิตามินซี จึงมีคณะวิจัยที่รายงานการใช้ visible wavelength reflectance hyperspectral imaging ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของการตรวจคราบเลือดบนวัตถุพยานและสถานที่เกิดเหตุซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของเลือดและการเกิดผลบวกปลอมจาก peroxidas [17] แต่การตรวจดังกล่าวมีการใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงซึ่งไม่สะดวกในการตรวจกรองและต้องมีการนำส่งวัตถุพยานที่ยุ่งยาก ดังนั้นการตรวจโดยการตรวจกรองด้วยตาเปล่าจึงมีความสะดวกมากกว่า รวมทั้งการศึกษานี้ทำการศึกษาบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่ใช้งานในห้องเรียนปฏิบัติการ จึงมีโอกาสน้อยที่เครื่องมือจะปนเปื้อน peroxidase ซึ่งส่วนใหญ่พบในผัก ผลไม้ อย่างไรก็ตามการศึกษาในอนาคต ควรมีการตรวจสอบสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ที่อาจทำให้เกิดผลบวกปลอมและผลลบปลอมเพิ่มเติม และเพิ่มการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพอื่น ๆ บนเครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อเป็นข้อมูลและแนวทางในการป้องกันการติดเชื้อจากเครื่องมือมาสู่ผู้ปฏิบัติงาน

การศึกษานี้พบการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่ใช้ในการเรียนการสอนวิชาโลหิตวิทยาทั้งช่วงเวลาปิดและเปิดภาคการศึกษา ซึ่งผู้สอนและผู้เรียนที่ใช้ห้องเรียนปฏิบัติการควรระมัดระวังและหามาตรการป้องกันการติดเชื้อจากการใช้เครื่องมือนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ซึ่งรับผิดชอบในการทำความสะอาดเครื่องมือนี้ควรตระหนักในการทำความสะอาดเพื่อลดการปนเปื้อนเลือดเพื่อความปลอดภัยในการใช้เครื่องมือนี้ในห้องปฏิบัติการต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรในการสนับสนุนเงินทุนวิจัยและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยและขอขอบคุณ อ. เอกพจน์ พรมพันธ์ สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ในการตรวจสอบความถูกต้องของต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. พรวรีย์ ลำเจียกเทศ, จิรศักดิ์ ปฐมวัฒนานุรักษ์, ขนิษฐา หงวนตัด, อุไรวรรณ แก้วบวร, นฤมล โชคคุณะวัฒนา. การเปรียบเทียบการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวโดยกล้องจุลทรรศน์และ CellaVision DM96. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2556; 23(1) : 23-32.

2. พรรธนมณฑน์ อุชชิน, ชุติธร เกตุลอย, ภาฤทธิ์ เมฆอรุณกมล, รวิโชติ บัณฑิตเสาวภาคย์, ภรณี กนกโรจน์. พยาธิวิทยาคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

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

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

5. 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.

6. 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.

7. 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.

8. 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.

9. 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.

10. 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.

11. 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.

12. 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.

13. 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.

14. แสงชัย นทีวรนารถ, อรัญญา จิระวิริยะกุล, จิรภาส จงจิตวิมล, นพดล จารูญ. การศึกษาเปรียบเทียบน้ำยา Kastle-Meyer กับแถบทดสอบปัสสาวะ เพื่อตรวจภาวะ hematuria และ hemoglobinuria. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550; 35(1): 1860-6.

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

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

17. Li B, Beveridge P, O'Hare WT, Islam M. The application of visible wavelength reflectance hyperspectral imaging for the detection and identification of blood stains. Sci Justice. 2014 ; 54(6): 432-8.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

คราบที่เห็นเป็นคราบเลือดหรือไม่?

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบคราบที่พบบนพื้นทางเดินที่พบเป็นคราบเลือดหรือไม่ ทดสอบโดยใช้น้ำยา Kastle-Meyer หรือ reduced phenolphthalein ในการทดสอบ ซึ่งผลการทดสอบพบว่าคราบดังกล่าวเป็นคราบเลือดจริง ซึ่งผู้เห็นเหตุการณ์ให้ข้อมูลว่าคราบที่พบเป็นคราบเลือดสุนัข

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

การตรวจกรองคราบเลือดในทางนิติเวชวิทยาศาสตร์ใช้สารทดสอบหลายชนิด ซึ่งน้ำยา Kastle-Meyer (KM) หรือ reduced phenolphthalein เป็นน้ำยาที่ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ที่ได้พิสูจน์แล้วว่ามีความเหมาะสมในการตรวจกรองเลือดหรือคราบเลือดในสถานที่เกิดเหตุ[1-3] การศึกษานี้เกิดโดยบังเอิญเมื่อนิสิตเห็นคราบบนพื้นและสงสัยว่าคราบดังกล่าวน่าจะเป็นคราบเลือดหรือไม่ นิสิตจึงได้ทำการทดสอบเพื่อให้ทราบว่าคราบดังกล่าวเป็นคราบเลือดจริง

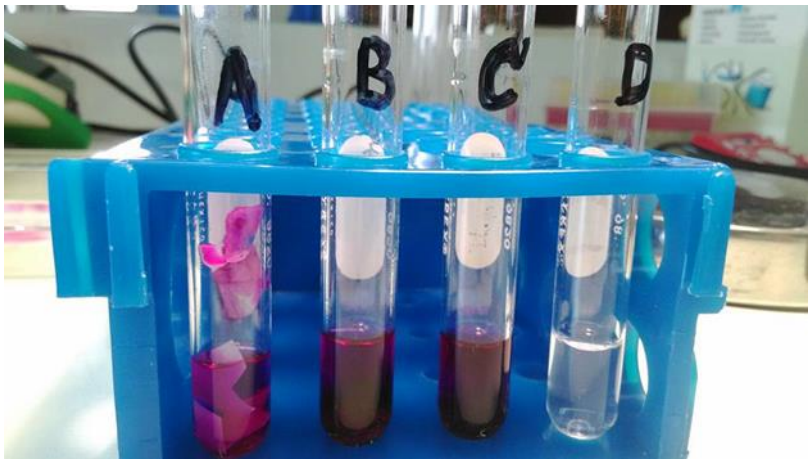
วิธีการศึกษา

ผู้ทดสอบเก็บคราบต้องสงสัยบนทางเดินของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในวันอาทิตย์ที่ 18 ตุลาคม 2558 ด้วยกระดาษใบเสร็จจากร้านสะดวกบนทางเดินและเก็บตัวอย่างดินที่พบคราบที่สงสัยใส่ถุงพลาสติกสะอาด (ภาพ 1 - 4) และนำตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติกลาง หน่วยวิจัยหัวใจและหลอดเลือดและทำการทดสอบด้วยการตัดกระดาษที่เก็บตัวอย่างคราบใส่ลงในหลอดทดสอบที่หนึ่งและใส่คราบที่พบบนพื้นดินในหลอดทดสอบที่สอง รวมทั้งทำหลอดควบคุมผลบวกโดยใช้เลือดคนที่เหลือจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการและตัวควบคุมผลลบด้วยการหยดน้ำกลั่นในหลอดที่สี่ จากนั้นทดสอบด้วยน้ำยา KOH-Kastle-Meyer หรือ reduced phenolphthalein อ่านผลบวกภายใน 10 วินาที โดยผลบวกจะให้สีชมพูในหลอดที่ใส่ตัวอย่างที่เป็นเลือดและไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ เมื่อผลทดสอบเป็นลบ

ภาพที่ 1 ทางเดินในอาคารที่เป็นสถานที่พบคราบที่สงสัย

ภาพที่ 2 กระดาษที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างบนทางเดิน

ภาพที่ 3 การเก็บคราบที่สงสัยบนพื้นดิน



ภาพที่ 4 ผลการทดสอบตัวอย่างที่เก็บด้วยน้ำยา Kastle -Meyer

ผลการทดสอบ

ผู้ทดสอบพบผลบวกเกิดขึ้นในหลอดที่ 1, 2 และ3 ในขณะที่หลอดที่ 4 ให้ผลลบดังภาพที่4

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

ผลการทดสอบพบว่าคราบที่เก็บมาเป็นคราบเลือด เนื่องจากให้ผลการทดสอบกับน้ำยาเป็นบวกในหลอดที่หนึ่งและสอง เนื่องจาก KM เป็นน้ำยาที่มีการประยุกต์ในทางนิติวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่มีการรายงานหลายการทดสอบโดยใช้ทดสอบคราบเลือดทางทันตกรรม[4-8] นอกจากนี้ยังใช้ทดสอบการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือและอุปกรณ์ในแผนกคนไข้ฉุกเฉินและรถพยาบาล[9] รวมทั้งมีการทอสอบมูลของมวนดูดเลือด และพบว่าน้ำยานี้สามารถแยกชนิดแมลงกินเลือดเป็นอาหารในทางกีฏวิทยาทางการแพทย์[10] สำหรับการศึกษาที่ใกล้เคียงกับการศึกษานี้ได้แก่การศึกษาคราบบนกำแพงที่มีการร่ำลือว่าเป็นคราบเลือดเหยื่อที่โดนฆาตกรรม ซึ่ง KM เป็นน้ำยาอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ในการทดสอบนี้ และผลการทดสอบพบว่าคราบดังกล่าวไม่ใช่คราบเลือดซึ่งเป็นการยุติข่าวลือของที่มาของคราบต้องสงสัยในประเทศตุรกี[11] อย่างไรก็ตามน้ำยานี้มีข้อจำกัดของการทดสอบอยู่บ้างเนื่องจากอาจพบผลบวกปลอมได้จากผักหรือผลไม้ที่มี peroxidase สูง[12] สำหรับการศึกษานี้ผู้วิจัยมีความมั่นใจในผลการทดสอบว่าคราบดังกล่าวคือคราบเลือดเนื่องจากจากการสอบถามแรงงานที่ทำงานก่อสร้างในบริเวณเกิดเหตุได้รับคำตอบว่ามีการต่อสู้ของสุนัขเพศผู้ที่แย่งสุนัขเพศเมียในบริเวณนั้นและเห็นว่ามีสุนัขที่ได้รับบาดเจ็บจริง อย่างไรก็ตามหากมีการทดสอบชนิดของคราบเลือดว่าเป็นคราบเลือดของคนหรือสุนัขด้วยการทดสอบทางนิติเซโรโลยีจะทำให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนบทความขอขอบคุณ นิสิตสาริน สายคำฟู นิสิตพงพัฒน์ จีนตุง และนิสิตวรายุทธ รวมสุข นิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 รวมทั้งอาจารย์เอกพจน์ พรหมพันธุ์ มหาวิทยาลัยพะเยา ในการช่วยเหลือให้การศึกษานี้สำเร็จไปได้ด้วยดี รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการกลาง คณะสหเวชศาสตร์ ในการอำนวยความสะดวกในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1.Webb JL, Creamer JI, Quickenden TI. A comparison of the presumptive luminol test for blood with four non-chemiluminescent forensic techniques. Luminescence. 2006 ;21(4):214-20.

2. Johnston E, Ames CE, Dagnall KE, Foster J, Daniel BE. Comparison of presumptive blood test kits including hexagon OBTI. J Forensic Sci. 2008;53(3):687-9.

3. Vennemann M, Scott G, Curran L, Bittner F, Tobe SS. Sensitivity and specificity of presumptive tests for blood, saliva and semen. Forensic Sci Med Pathol. 2014 ;10(1):69-75

4. 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

5. Edmunds 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

6. Lowe AH, Bagg J, Burke FJ, MacKenzie D, McHugh S. A study of blood contamination of Siqveland matrix bands. Br Dent J. 2002 ;192(1):43-5

7.Letters 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

8. Whitworth CL, Davies K, Palmer NO, Martin MV. An investigation of the decontamination of Siqveland matrix bands. Br Dent J. 2007 ;202(4): 220-1.

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. 2006 ;23(1):73-5

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

11. Tuğ A, Alakoç YD, Hanci IH. An end to a rumour. Forensic Sci Int. 2005 ;153(2-3):156-60.

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

เห็ดพิษที่พบบริเวณหอพักคณาจารย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

อุรัตน์ พิมลศรี *

แสงชัย นทีวรนารถ **

บทคัดย่อ

สำหรับในประเทศไทยแล้ว เห็ดมักพบเห็นได้ทั่วไปในช่วงฤดูฝน ซึ่งเห็ดหลายชนิดสามารถกินได้ แต่เห็ดที่ขึ้นเป็นจำนวนไม่น้อยที่เป็นเห็ดพิษไม่สามรถกินได้ รายงานการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของเห็ดที่พบบริเวณหอพักคณาจารย์มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อทำการแยกชนิดเห็ดจากสัณฐานภายนอก พบว่าเห็ดนี้คือ *Chlorophyllum molybdites* (Meyer. ex. Fr.) Mass. มีชื่อสามัญว่า เห็ดหัวกรวดครีบเขียว หรือ Green-gilled parasol mushroom

---

* ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

Poisoning mushroom found around teaching staff dormitory, Naresuan University, Phitsanilok.

Urat Pimolsri *

Saengchai Nateeworanart **

Abstract

In Thailand, mushrooms generally found in raining season. Some of those are edible but some are not. In this report, we identified the mushroom found around teaching staff dormitory Naresuan University. After identification, we found that those mushrooms are *Chlorophyllum molybdites* (Meyer. ex. Fr.) Mass. and its common name is Green-gilled parasol mushroom.

---

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

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

บทนำ

มหาวิทยาลัยนเรศวรตั้งอยู่ในเขตจังหวัด พิษณุโลกซึ่งเป็นจังหวัดทางภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งมีอากาศแบบร้อนชื้นซึ่งเหมาะแก่การเจริญของเห็ดหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเห็ดที่มีพิษ[1] ในฤดูฝนที่ผ่านมาโดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงเดือนสิงหาคมถึงตุลาคมมีเห็ดเป็นจำนวนมากที่เจริญอยู่หลายบริเวณในมหาวิทยาลัย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อระบุชนิดของเห็ดที่พบบริเวณหอพักคณาจารย์ โดยแยกชนิดเห็ดจากสัณฐานภายนอกของเห็ดชนิดนี้

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาลักษณะภายนอกของเห็ดชนิดหนึ่งที่พบเป็นจำนวนมากที่สนามหญ้าข้างหอพักคณาจารย์ มน. นิเวศน์ 6 มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

ผลการศึกษา

ภาพที่ 1 ลักษณะของเห็ดที่เจริญเต็มที่แล้ว

ภาพที่ 2 ลักษณะของเห็ดที่เจริญยังไม่เต็มที่

ภาพที่ 3 ลักษณะอีกมุมมองหนึ่งของเห็ดที่ยังเจริญไม่เต็มที่

ลักษณะภายนอกที่พบคือหมวกเห็ดที่พบ มีสีขาวโค้งด้านบนและแบนลงและมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 - 20 เซนติเมตร กลางหมวกมีบริเวณที่มีวงสีน้ำตาลและผิวจะมี เกล็ดสี่เหลี่ยมสีน้ำตาล กระจายห่างไปยังขอบหมวก ส่วนก้าน รูปทรงกระบอกสีขาวหรือน้ำตาลอ่อน มีความยาว 6 - 20 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 - 1.8 เซนติเมตร โคนก้านใหญ่เป็นกระเปาะเล็กน้อย ภายในมีรูกลวงตลอดก้าน ใต้หมวกมีวงแหวนหนา 2 ชั้น ขอบบนสีน้ำตาล ขอบล่างสีขาว วงแหวนเคลื่อนขึ้นลงได้ เนื้อเห็ดสีขาวเวลาตัดหรือช้ำมีสีแดงเรื่อๆ [2, 3] ดังภาพที่ 1-3

สรุปและอภิปรายผลผลการศึกษา

จากสัณฐานภายนอกเห็ดที่พบคือ *Chlorophyllum molybdites* (Meyer. ex. Fr.) Mass. มีชื่อสามัญว่า เห็ดหัวกรวดครีบเขียว หรือ Green-gilled parasol mushroom เห็ดชนิดนี้เป็นเห็ดพิษที่มีสารพิษในกลุ่มที่ทำให้เกิดอาการกับระบบทางเดินอาหาร โดย 1 -3 ชั่วโมงหลังกินเห็ดนี้เข้าไป โดยจะมีอาการ คลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง ถ้าเด็กรับประทานเห็ดพิษกลุ่มนี้ปริมาณที่มากก็อาจถึงตายได้ แต่เห็ดพิษชนิดเดียวกันบางคนกินแล้วมีอาการแต่บางคนกลับไม่แสดงอาการเมื่อรับประทานพร้อมกัน เห็ดพิษในกลุ่มนี้มีหลายชนิดเมื่อรับประทานดิบจะเป็นพิษ แต่ถ้าต้มสุกแล้วไม่เป็นอันตรายเพราะความร้อนทำให้พิษถูกทำลายหมดไป กลายเป็นเห็ดรับประทานได้ อย่างไรก็ตาม กระทรวงสาธารณสุขได้มีการแจ้งเตือนเสมอในช่วงฤดูฝนให้ชาวบ้านระมัดระวังในการนำเห็ดพิษมาประกอบอาหาร[4] โดยตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม - 17 กรกฎาคม 2558 พบผู้ป่วย 337 ราย จาก 38 จังหวัด เสียชีวิต 1 ราย ที่จังหวัดตาก โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีอัตราป่วยสูงสุด อาการเมาเห็ดพิษ มักเกิดหลังกินเห็ดไปแล้ว 2 - 3 ชั่วโมง ทำให้ผู้ป่วยมีอาการคล้ายโรคอาหารเป็นพิษ คือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ถ่ายเป็นน้ำ หากได้รับพิษมาก อาจทำให้ ตับ ไตวายได้[4-5] จึงกำชับให้สถานบริการสาธารณสุขทุกแห่ง ซักประวัติผู้ป่วยที่มีอาการอาหารเป็นพิษทุกราย เพื่อแยกสาเหตุว่า มาจากการรับประทานเห็ดพิษหรือไม่ เพื่อให้การรักษาอย่างถูกต้อง และทันท่วงที และได้ให้สำนักสาธารณสุขจังหวัดและอาสาสมัครสาธารณสุข เร่งให้ความรู้ประชาชน สร้างความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับเห็ดป่าสำหรับรายงานนี้ผู้วิจัยมีความประสงค์ที่จะนำเสนอข้อมูลนี้ให้ผู้อาศัยในหอพักดังกล่าวระมัดระวังในการดูแลบุตรหลานและสัตว์เลี้ยงที่อาจได้รับสารพิษจากเห็ดนี้เข้าไป เนื่องจากบริเวณที่อาศัยมีเด็กเล็กจึงอาจเกิดเหตุการณ์ไม่คาดคิดขึ้นจากการกินเห็ดนี้เข้าไป

เอกสารอ้างอิง

1. พิไลพรรณ พงษ์พูล. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน. 2525.

2. อรุณี จันทรสนิท, ณภัทร สนธิรัตน, อัจฉรา พยัพพานนท์, กรกช จันทร, วราพร ไชยมา, อภิรัชต์ สมฤทธิ์. เห็ดไทย. 2555. กรุงเทพ; สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. 2555

3. ณภัทร สนธิรัตน, อัจฉรา พยัพพานนท์, วัลลภา ธีรภาวะ, สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ . เห็ดพิษ. กรุงเทพฯ: สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. 2549

4. Blayney D, Rosenkranz E, Zettner A. Mushroom poisoning from *Chlorophyllum molybdites*. West J Med. 1980 ;132(1):74-7.

5. สธ.เตือนระวังเห็ดป่าที่มีพิษในหน้าฝนนี้-มีตาย1คน. สืบค้นจาก http://news.sanook.com/1839842/เมื่อ 25 ตุลาคม 2558

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

การเรียนรู้แบบเน้นประสบการณ์ในหัวข้อกระบวนการห้ามเลือด รายวิชาโลหิตวิทยา2 ของนิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 3 คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

แสงชัย นทีวรนารถ *

บทคัดย่อ

กิจกรรมการแสดงละครและบทบาทสมมุติเป็นกลยุทธหนึ่งที่เป็นประโยชน์ต่อการเรียนรู้และจดจำกระบวนการที่ซับซ้อนของระบบการห้ามเลือด การนำเสนอบทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเสนอประสบการณ์ของการใช้ทฤษฎีการเรียนรู้ตามแนวคิดของนักจิตวิทยาการศึกษาชาวอเมริกัน David Asubel

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

ในวิชาจิตวิทยาการเรียนรู้ David Asubel นักจิตวิทยาชาวอเมริกัน กล่าวไว้ว่า การเรียนรู้อย่างมีความหมาย (Mearningful learning) คือการเรียนที่ผู้เรียนได้รับสิ่งที่จะต้องเรียนรู้จากผู้สอน ด้วยความเข้าใจแล้วผู้เรียนสามารถเชื่อมโยงสิ่งที่เรียนรู้กับประสบการณ์ของตนที่เก็บไว้ในความทรงจำ และจะสามารถนำมาใช้ในอนาคตต่อไป[1]

การเรียนรู้ที่มุ่งเน้นให้ผู้เรียนสร้างความรู้จากประสบการณ์เดิมของตน มีลักษณะสำคัญ คือการเรียนรู้ที่อาศัยประสบการณ์เดิมของผู้เรียน ที่จะก่อให้เกิดการเรียนรู้ใหม่ๆ ที่ท้าทาย และเป็นการเรียนรู้เชิงรุกที่ผู้เรียนต้องทำกิจกรรมตลอดเวลาและมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างผู้เรียนด้วยกันเอง และผู้เรียนกับผู้สอน ซึ่งปฏิสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นก่อให้เกิดการขยายตัวของเครือข่ายความรู้อย่างกว้างขวาง โดยอาศัยการสื่อสารทุกรูปแบบ ซึ่งก่อให้เกิดการแลกเปลี่ยน การวิเคราะห์สังเคราะห์ ซึ่งวิมลรัตน์ สุนทรโรจน์ ได้ให้ตัวอย่างการจัดกิจกรรมการเรียนรู้แบบเน้นประสบการณ์ เช่น การเรียนรู้โดยใช้เกม กรณีตัวอย่าง สถานการณ์จำลอง ละคร และบทบาทสมมติ [2]

สำหรับกิจกรรมการเรียนรู้แบบเน้นประสบการณ์ในหัวข้อกระบวนการห้ามเลือด รายวิชาโลหิตวิทยาของนิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ในครั้งนี้เป็นแนวคิดที่ดัดแปลงมาจากการเรียนการสอนหัวข้อ complement ของทวีพร พันธุ์พาณิชย์ และศราวุธ สุทธิรัตน์ ที่พบว่าการแสดงบทบาทสมมุติทำให้นักศึกษาสามารถจดจำกระบวนการทำงานที่ซับซ้อนของระบบนี้ในระบบการทำงานของภูมิคุ้มกันมนุษย์[3] สำหรับการทำกิจกรรมในครั้งนี้ นิสิตเลือกนำเสนอในสองรูปแบบคือการสื่อเนื้อหาด้วยการแสดงละครและการใช้บทบาทสมมุติ

วิธีการดำเนินกิจกรรม

กิจกรรมนี้ถูกบรรจุในชั่วโมงปฏิบัติการของการเรียนการสอนในหัวข้อการห้ามเลือดหลังจากที่นิสิตได้เรียนเนื้อหาและปฏิบัติการไปแล้วบางส่วน ผู้สอนแจ้งนิสิตให้แบ่งกลุ่มการแสดงตามหัวข้อที่ได้กำหนดไว้ให้ เมื่อถึงชั่วโมงที่กำหนด นิสิตจะนำเสนอบทเรียนที่ได้รับมอบหมายในรูปของละครและบทบาทสมมุติขึ้นอยู่กับการวางแผนการทำงานตามที่กลุ่มนิสิตได้ประชุมและซักซ้อมกันมา โดยนิสิตทำกิจกรรมที่ได้รับมอบหมายไปรอบแรก เมื่อกิจกรรมรอบแรกเสร็จสิ้น อาจารย์ผู้รับผิดชอบสอนหัวข้อนั้น ๆ

จะแก้ไขเนื้อหาและความเข้าใจผิดในเนื้อหา จากนั้นนิสิตจะประชุมแก้ไขและแสดงกิจกรรมเป็นครั้งที่สอง รวมทั้งถูกกำหนดให้ทำกิจกรรมเดิมอีกครั้งเป็นการแสดงรอบที่สามเพื่อบันทึกลงในวิดีทัศน์

ผลจากการสำรวจความคิดเห็น

จากการทำกิจกรรมสี่ปีที่ผ่านมา นิสิตที่ทำกิจกรรมนี้ในปีการศึกษา 2554 มีความพึงพอใจในกิจกรรมเนื่องจากกิจกรรมนี้ทำให้ผู้เรียนจดจำเนื้อหาได้ดีขึ้น และการทำงานร่วมกันในการนำเสนอทำให้เกิดความสามัคคีในหมู่คณะและรู้สึกสนุกสนานกับกิจกรรมที่ได้ทำร่วมกัน และกิจกรรมนี้ได้ดำเนินการต่อเนื่องในนิสิตในปีการศึกษา 2555 ถึง 2557 และนิสิตได้ให้ความเห็นในทำนองเดียวกัน แต่ให้นิสิตตั้งแต่ปีการศึกษา 2556 ถึง 2557ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเกี่ยวกับการวางแผนก่อนการจัดกิจกรรมของผู้สอน โดยให้ความคิดเห็นดังจะนำเสนอในส่วนของอภิปรายผลต่อไป

สรุปและอภิปราย

ผลจากการสำรวจความคิดเห็นของนิสิตที่ผ่านมาพบว่า ในปีแรกของการใช้กิจกรรมนี้ในหัวข้อและรายวิชาเดียวกันนี้ นิสิตที่ร่วมกิจกรรมมีความพึงพอใจในกิจกรรม เนื่องมาจากการทำกิจกรรมทำสองรอบเท่านั้นคือรอบแรกนิสิตนำเสนอตามความเข้าใจเนื้อหาของกลุ่มผู้เรียนเอง จากนั้น อาจารย์ที่สอนในหัวข้อนั้นแก้ไขเนื้อหาให้ตรงตามทฤษฎีและให้นิสิตแสดงบทบาทสมมุติตามที่แนะนำไปซึ่งจะเป็นการแสดงในรอบสองและจบกิจกรรมทั้งหมดของชั่วโมงการนำเสนอเท่านั้น แต่ในปีการศึกษาสามปีให้หลังผู้สอนมีการกำหนดให้ทำกิจกรรมรอบที่สามเพื่อบันทึกวีดีทัศน์ ซึ่งนิสิตให้ความเห็นว่าทำให้เกิดความเครียดและเกิดความเบื่อหน่ายในการทำกิจกรรมนี้ รวมทั้งนิสิตต้องการให้ผู้สอนปรับความเข้าใจในเนื้อหาก่อนนิสิตนำเสนอเพื่อเป็นการลดความเครียดเมื่อต้องนำเสนอในรอบที่สอง รวมทั้งควรงดการแสดงครั้งที่สามที่เป็นสาเหตุของความเบื่อหน่ายต่อการทำกิจกรรมนี้ไป ในปีการศึกษา 2556 นิสิตเสนอให้มีงบประมาณเพื่อสนับสนุนการแสดงละครและบทบาทสมมุติซึ่งผู้สอนได้ชี้แจงวัตถุประสงค์ของกิจกรรมและนิสิตได้ยอมรับแนวคิดของกิจกรรมนี้ สำหรับในปีการศึกษา 2557 นิสิตเสนอให้มีการเตรียมแผนภาพกระบวนการห้ามเลือดเพื่อใช้ประกอบการชมละครและการแสดงบทบาทสมมุตินี้ เนื่องจากนิสิตจะเตรียมการนำเสนอในหัวข้อที่กลุ่มตนได้รับมอบหมายและมีความเข้าใจลึกซึ้งเฉพาะหัวข้อที่ได้รับมอบหมายเท่านั้น ทำให้ไม่

เข้าใจและไม่สามารถติดตามเนื้อหาของกลุ่มอื่นที่นำเสนอทัน ดังนั้นจากความคิดเห็นของนิสิต ผู้สอนควรมีการเตรียมเนื้อหาและการซักซ้อมความเข้าใจกับผู้เรียนก่อนให้ผู้เรียนนำเสนอกิจกรรมนอกจากนี้ การแก้ไขเนื้อหาในวันที่นำเสนอก่อให้เกิดความกังวลในเนื้อหาที่นำเสนอ ทำให้ผู้นำเสนอไม่สามารถถ่ายทอดเนื้อหาที่เตรียมการไว้อย่างราบรื่น รวมทั้งงดการให้ทำกิจกรรมซ้ำเป็นรอบที่สามซึ่งเป็นสาเหตุของความเครียดในการทำกิจกรรมนี้[4]

ทิศนา แขมมณีให้ความหมายในทางจิตวิทยาการเรียนรู้ว่าวิธีการสอนโดยใช้การแสดงละคร (Dramatization)เป็นกระบวนการที่ช่วยให้ผู้เรียนเกิดการเรียนรู้ตามวัตถุประสงค์ โดยการให้ผู้เรียนแสดงละคร ซึ่งเป็นเรื่องราวที่ต้องการให้ผู้เรียนได้เรียนรู้ตามเนื้อหาและบทละครที่ได้กำหนดไว้ และนำเรื่องราวที่แสดงออกมา และการแสดงของผู้แสดงมาอภิปรายร่วมกัน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผู้เรียนเห็นภาพเรื่องราวที่ชัดเจน และสามารถจดจำเรื่องราวได้นาน และทำให้ผู้เรียนมีส่วนร่วมในการจัดการเรียนการสอนและฝึกทักษะต่าง ๆ โดยมีขั้นตอนการสอนดังนี้ ขั้นแรกผู้เรียนเตรียมบทละคร ผู้สอนและผู้เรียนควรอภิปรายวัตถุประสงค์ในการเลือกใช้ละครเป็นวิธีการเพื่อให้เกิดการเรียนรู้ ผู้เรียนควรจะมีส่วนในการเลือกเรื่องราวที่จะแสดง ในการเตรียมบทละครผู้สอนอาจเตรียมให้หรือผู้เรียนเตรียมกันเอง แต่ต้องมีการศึกษาเนื้อหาหรือเรื่องราวให้เข้าใจ ได้เนื้อหาที่ครบถ้วนสมบูรณ์ให้มากที่สุด และขั้นต่อมาผู้เรียนศึกษาบทละครและเลือกบทบาทที่จะแสดง ในการเลือกละคร ควรคำนึงถึงความเหมาะสมกับความสามารถของผู้เรียนกับบทที่จะแสดง แต่ในบางกรณีผู้สอนอาจเลือกผู้เรียนที่มีบุคลิกภาพไม่ตรงกับบทที่จะแสดงเพื่อให้นักเรียนได้รับประสบการณ์ในการแสดง แต่ผู้แสดงควรมีความเต็มใจที่จะแสดง เพื่อให้การแสดงออกมาดีที่สุด ขั้นที่สาม ผู้เรียนซ้อมการแสดง ในการซ้อมการแสดงต้องมีการฝึกซ้อมการแสดงร่วมกัน และในบางกรณีอาจจำเป็นจะต้องเปลี่ยนตัวผู้แสดงคนใหม่ เพื่อให้การแสดงสมบทบาทและสื่อความหมายได้ถูกต้อง ส่วนผู้เรียนที่ไม่ได้มีส่วนร่วมในการแสดง ผู้สอนจะต้องแนะนำในการชมการแสดงว่า ควรสังเกตและให้ความสนใจที่เรื่องอะไรบ้าง จุดไหนบ้าง และขั้นที่สี่ผู้เรียนแสดงและชมการแสดง ในขณะแสดง ผู้สอนและผู้ชมไม่ควรขัดการแสดงกลางคัน และควรให้กำลังใจผู้แสดง ผู้ชมควรตั้งใจสังเกตการแสดงในเรื่องราวที่สำคัญที่ผู้สอนได้แนะนำ ขั้นสุดท้ายอภิปรายการแสดง ในการอภิปรายต้องมุ่งไปที่เรื่องราวที่แสดงออกมา และการแสดงของผู้แสดงว่า สามารถแสดงได้สมจริงเพียงใด

ข้อดีของการแสดงละครคือทำให้ผู้เรียนได้มีประสบการณ์จริงและมีส่วนร่วมในการจัดการเรียนการสอน รวมทั้งผู้เรียนได้ฝึกทักษะต่าง ๆ เช่น ทักษะการพูด การเขียน การแสดงออก การจัดการ การแสวงหา

ความรู้ และการทำงานเป็นกลุ่มเป็นต้น ส่วนข้อจำกัดคือใช้เวลาในการจัดกิจกรรมมากและ. มีค่าใช้จ่ายในการจัดกิจกรรม รวมทั้งต้องอาศัยความชำนาญในการเขียนบท

นอกจากการแสดงละครแล้ว นิสิตบางกลุ่มยังใช้กลวิธีโดยใช้บทบาทสมมุติ (Role Playing) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ช่วยให้ผู้เรียนเกิดการเรียนรู้ตามวัตถุประสงค์ โดยการให้ผู้เรียนสวมบทบาทในสถานการณ์ซึ่งมีความใกล้เคียงกับความเป็นจริง และแสดงออกตามความรู้สึกนึกคิดของตนและนำเอาการแสดงออกของผู้แสดง ทั้งทางด้านความรู้ ความคิด ความรู้สึก และพฤติกรรมที่สังเกตพบ มาเป็นข้อมูลในการอภิปรายเพื่อให้ผู้เรียนเกิดการเรียนรู้ตามวัตถุประสงค์ โดยมีวัตถุประสงค์คือ เพื่อให้ผู้เรียนเกิดความเข้าใจในเรื่องต่าง ๆ เกี่ยวกับบทบาทสมมุติที่ตนแสดง รวมทั้งเพื่อให้ผู้เรียนได้มีส่วนร่วมในการจัดการเรียนการสอน และฝึกทักษะต่าง ๆ โดยมีขั้นตอนการนำเสนอคือ ขั้นแรกผู้สอน / ผู้เรียนนำเสนอสถานการณ์สมมุติและบทบาทสมมุติ บทบาทสมมติที่กำหนดขึ้นควรมีความใกล้เคียงกับความเป็นจริง ไม่มีบทให้ ผู้สวมบทบาทจะต้องคิดแสดงเอง หรืออาจให้บทบาทสมมติแบบแก้ปัญหาซึ่งจะกำหนดสถานการณ์ที่มีปัญหาหรือความขัดแย้งให้และผู้สวมบทบาทแก้ปัญหาตามความคิดของตน ขั้นต่อมาผู้สอน / ผู้เรียนเลือกผู้แสดงบทบาท ในการเลือกผู้แสดง ควรคำนึงถึงความเหมาะสมกับความสามารถของผู้เรียนกับบทที่จะแสดง แต่ในบางกรณีผู้สอนอาจเลือกผู้เรียนที่มีบุคลิกภาพไม่ตรงกับบทที่จะแสดงเพื่อให้นักเรียนได้รับประสบการณ์ในการแสดง แต่ผู้แสดงควรมีความเต็มใจที่จะแสดง เพื่อให้การแสดงออกมาดีที่สุด ขั้นที่สามผู้สอนเตรียมผู้สังเกตการณ์หรือผู้ชม ผู้สอนควรแนะนำการชมว่า ควรสังเกตอะไร และควรบันทึกข้อมูลอย่างไร หรือผู้สอนอาจจัดทำแบบสังเกตการณ์ให้ผู้ชมใช้ในการสังเกตด้วยก็ได้ ขั้นที่สี่ ผู้เรียนแสดงบทบาท ผู้ชมและผู้สอนสังเกตพฤติกรรมที่แสดงออก ขั้นสุดท้ายคือผู้เรียนและผู้สอนอภิปรายร่วมกัน เกี่ยวกับความรู้ ความคิด ความรู้สึก และพฤติกรรมที่แสดงออกของผู้แสดง

ข้อดีของการแสดงบทบาทสมมุติคือ ผู้เรียนเกิดความเข้าใจความรู้สึกและพฤติกรรมของผู้อื่นและเกิดการเปลี่ยนแปลงเจตคติและพฤติกรรมของตน รวมทั้งพัฒนาทักษะในการเผชิญสถานการณ์ตัดสินใจและแก้ปัญหา และเป็นการเปิดโอกาสให้ผู้เรียนมีส่วนร่วมในการเรียนมาก สำหรับข้อจำกัด ได้แก่ใช้เวลาในการจัดกิจกรรมมากและต้องอาศัยความสามารถของผู้สอนในการแก้ปัญหาเนื่องจากการแสดงของผู้เรียนอาจไม่เป็นไปตามความคาดหมายของผู้สอน ผู้สอนจะต้องสามารถแก้ปัญหาหรือปรับสถานการณ์และประเด็นให้ผู้เรียนเกิดการเรียนรู้ได้[5]

จากประสบการณ์ที่ผ่านมาผู้นำเสนอพบว่านิสิตมีความพึงพอใจในกิจกรรมการแสดงละครและบทบาทสมมุติเพื่อช่วยให้การเรียนรู้กระบวกการห้ามเลือดในรายวิชาโลหิตวิทยา 2^4 อย่างไรก็ตามผู้สอนควรมีการวางแผนก่อนการนำกลวิธีนี้ไปใช้และรับฟังความคิดเห็นของผู้เรียนให้มากขึ้น รวมทั้งมีความพยายามปรับปรุงขั้นตอนในการทำกิจกรรมเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้เรียนให้เกิดประโยชน์สูงสุด

รูปที่ 1. การแสดงละครที่เปรียบเทียบการเกิดบาดแผลและการกระตุ้นการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดกับการแตกของเขื่อน ในขั้นตอนการห้ามเลือดตติยภูมิ

รูปที่ 2. การแสดงบทบาทสมมุติในกระบวนการแข็งตัวของเลือดในขั้นตอนการสลายลิ่มเลือด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้นำเสนอขอขอบคุณ อ.ทวีพร พันธุ์พาณิชย์ และ ผศ.ศราวุธ สุทธิรัตน์ ผู้ริเริ่มการใช้กลยุทธในการเรียนรู้รูปแบบนี้ในการเรียนการสอนในสาขาเทคนิคการแพทย์ ขอขอบคุณนิสิตที่ร่วมกิจกรรมอย่างตั้งใจและร่วมแสดงความคิดเห็นต่อการเรียนการสอนในกิจกรรมนี้และ ผศ.ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์ ดร.ทิพวรรณ สังขพงษ์ ดร.ครรชิต คงรส และ ดร.จิรภาส จงจิตวิมล ในการเข้าร่วมกิจกรรม และให้คำเสนอแนะเกี่ยวกับความถูกต้องของเนื้อหา รวมทั้ง คุณอนุกูล พิชญวิวัฒน์ และ คุณอรรณพ เทียมแก้ว ในการอำนวยความสะดวกด้านโสตทัศนูปกรณ์ในการทำกิจกรรมในครั้งนี้ ขอขอบคุณ อ.เอกพจน์ พรหมพันธุ์ ในการตรวจความถูกต้องของเนื้อหาบทความ

เอกสารอ้างอิง

1. Ausubel, D., Novak, J., & Hanesian, H. Educational Psychology: A Cognitive View (2nd Ed.). New York: Holt, Rinehart & Winston. 1978.

2. วิมลรัตน์ สุนทรโรจน์. นวัตกรรมเพื่อการเรียนรู้. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ช้างทอง. 2549.

3. ศราวุธ สุทธิรัตน์, ทวีพร พันธุ์พาณิชย์ และ ณัฐริณี หอระตะ. ถอดบทเรียนการจัดการเรียนการสอนวิชาวิทยาภูมิคุ้มกันผ่านกิจกรรมการเรียนรู้ “ฉันคือใครในระบบภูมิคุ้มกัน” วารสารเทคนิคการแพทย์ 2557 ; 42(1): 4852-61

4. แสงชัย นทีวรนารถ. การแสดงบทบาทสมมุตในการเรียนการสอนวิชาโลหิตวิทยา 2 ของนิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. วารสารนิติเวชศาสตร์. 2557; 6(2): 142-50.

5. ทิศนา แขมมณี. 14 วิธีสอนสำหรับครูมืออาชีพ. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2543.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ.2558

คราบเลือดหรือเปล่าครับ อาจารย์?

แสงชัย นทีวรนารถ *

ผู้เขียนได้เขียนบทความนี้เพื่อสื่อให้เห็นถึงอิทธิบาท 4 ของนิสิตกลุ่มหนึ่งที่กำลังศึกษาในภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

สำหรับ อิทธิบาท หมายถึง คุณธรรมที่เป็นสิ่งให้บรรลุถึงความสำเร็จตามที่ตนประสงค์ อิทธิบาทประกอบไปด้วยคุณธรรม 4 ข้อ ข้อแรก คือ ฉันทะ (ความพอใจรักใคร่ในสิ่งนั้น) ข้อต่อมาต่อมาคือ วิริยะ (ความพากเพียรในสิ่งนั้น) ข้อต่อไปคือ จิตตะ (ความเอาใจใส่ฝักใฝ่ในสิ่งนั้น)และข้อสุดท้ายได้แก่ วิมังสา (ความหมั่นสอดส่องในเหตุผลของสิ่งนั้น) ซึ่งนิสิตกลุ่มนี้มีคุณธรรมนี้ครบทั้งสี่ข้อ ผู้เขียนเชื่อว่าคุณธรรมนี้จะนำพานิสิตกลุ่มนี้ให้ประสบความสำเร็จในอนาคตอย่างแน่นอน ข้อเขียนขอนำเสนอเหตุการณ์ในรูปของเรื่องสั้นดังต่อไปนี้

วันอาทิตย์ที่ 18 ตุลาคม พ.ศ. 2558 ห้องปฏิบัติกลางหน่วยวิจัยหัวใจและหลอดเลือด คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรพิษณุโลก นิสิตสามคนกำลังทำปฏิบัติการในรายวิชาโครงงานวิชาชีพเทคนิคการแพทย์

ดอย ภีร์ และน๊อตกำลังทำ western blot เพื่อหาโปรตีนที่สนใจในรายวิชาวิชาโครงงานวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ โดยมีพี่ปาร์ค นิสิตปริญญาเอกดูแลการทำปฏิบัติการของนิสิตรุ่นน้องในห้องปฏิบัติการเดียวกันนี้

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

อาจารย์: ดูรูปที่ถ่ายมานี่สิ

ภีร์: คราบเลือดหรือเปล่าครับ

อาจารย์: ถ้าสงสัยว่ามันเป็นคราบเลือด ภีร์จะตรวจยังไง

น๊อต: ตรวจเหมือนที่พวกผมเคยเรียนในวิชาการตรวจปัสสาวะและสารน้ำในร่างกายครับ

อาจารย์: นั่นสิ ยังไงต่อดี

ดอย: ???

น๊อต: ทดสอบแล้วดูการเปลี่ยนสี

ภีร์: เหมือนตรวจ occult blood ในอุจจาระ

อาจารย์: ตกลง เรามาทดสอบกันว่า คราบพวกนี้เป็นเลือดหรือเปล่า

ภีร์: ดีครับเดี๋ยวผมช่วย

น๊อต: ทำไงครับ

อาจารย์: เราจะใช้วิธีตรวจกรองคราบเลือดทางนิติวิทยาศาสตร์กัน น้ำยาทดสอบคือ reduced phenolphthalein หรือบางครั้งเรียก Kastle-Meyer เค้าใช้ทดสอบว่าคราบที่สงสัยเป็นเลือดหรือเปล่า เอาละ ภีร์ ชั่ง สารตามที่ผมจดไว้นะ

ภีร์ ชั่ง KOH ใส่ Phenolphtalein

ภีร์: โอ้โห สีสวยครับ ใส่ผงสังกะสีเลยนะครับ ต้มยังไงครับ

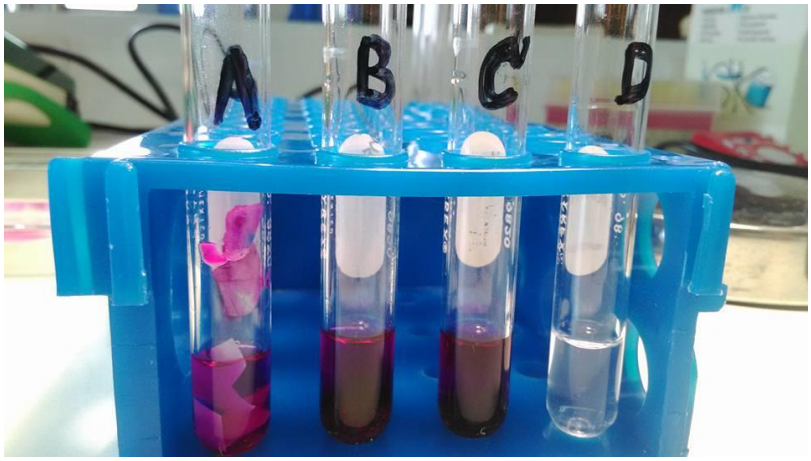
น๊อต ตั้งน้ำยาใน flask บน hotplate ต้มจนกระทั่งสารละลายใส และตั้งทิ้งไว้จนเท่าอุณหภูมิห้อง

อาจารย์: นี่เป็นกระดาษที่เก็บในที่เกิดเหตุ พอดีมีใบเสร็จจากร้านสะดวกซื้อติดกระเป๋าตังค์ เลยถูคราบบนทางเดินมา พีตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่หลอดทดลองไว้ เขียนอักษร Aไว้นะ น๊อตเอาคราบดินที่เราสงสัยใส่ในหลอด B แล้วหลอด C ให้เป็น positive control หยดเลือดที่เลือดจากการทำแล็ปลงไป หลอด D เป็น negative controlใส่น้ำกลั่นหยดนึงลงไป

ภีร์: ทำไงต่อครับ

อาจารย์: อันดับแรกหยด 70% ethanol ทุกหลอด ต่อด้วยน้ำยาที่ต้มจนสีชมพูหายไปทุกหลอด แล้วก็ 10% H_2O_2

พี่ปาร์ค: น้ำยาที่ไม่มีสี คือKastle-Meyer แน่เลย มา เดี๋ยวพี่ช่วยอ่านผล



ดอย: หลอด Negative control ไม่มีสี แสดงว่าคราบที่เก็บมาเป็นคราบเลือดใช่มั้ย น๊อต

น๊อต: สงสัยใช่นะ

ภีร์: มีกระดาษเหลือ ผมขอทดสอบเพิ่มแบบหยดเลยนะครับ

อาจารย์: เอาเลย แต่อย่าลืมทำ positive control ใส่กระดาษทิชชูแบบใส่เลือดคนนะ

น๊อต: ครับ

น๊อต: แสดงว่าคราบที่เก็บมาเป็นคราบเลือด ถ้าผมอยากรู้ว่าเป็นหลอดใคร ทางนิติวิทยาศาสตร์ทำไงต่อครับ

อาจารย์: ขั้นต่อไปต้องพิสูจน์ว่าเลือดที่เก็บมาเป็นของคนหรือสัตว์ ใช้หลักสูตรทางภูมิคุ้มกัน ถ้าอยากรู้ว่าเป็นเลือดใครอาจต้องทดสอบหมู่เลือดและใช้หลักการ นิติซีโรและ molecular biology ต่อครับ

ภีร์: ถ้าเป็นเลือด จะรู้ยังไงว่าเป็นเลือดอะไร ของใคร ใช้หลักการ PCR หรือเปล่าครับ

อาจารย์: ใช่แล้ว อยากรู้ต่อต้องลองเปิด youtube ดู เอ้า เอาเลยครับ อ้อก่อนขึ้นมาที่ตึกคนงานก่อสร้างเล่าให้ฟังว่า มีสุนัขฝูงใหญ่ต่อสู้กันเพื่อแย่งตัวเมีย ลองคิดเล่น ๆ ดูนะเด็ก ๆ การสืบสวนทางด้านนิติเวชศาสตร์ต้องมีการสอบสวนพยานด้านบุคคลและพยานด้านวัตถุด้วย รบกวนเวลาทำแล็ปพวกเรามาพอสมควรแล้ว ขอบคุณที่ช่วยครับ

ดอย พี และน๊อต: อาจารย์สวัสดีครับ

อาจารย์: สวัสดีครับ

จากเรื่องที่นำเสนอไป จะเห็นได้ว่านิสิตทั้งสี่มีความขยันหมั่นเพียรคือทำการศึกษาปฏิบัติการของตนแม้แต่ในวันหยุด และมีน้ำใจในการให้ความช่วยเหลืออาจารย์ที่กำลังทำปฏิบัติการและที่สำคัญที่สุดมีความใส่ใจและใฝ่รู้ ซึ่งเป็นคุณธรรมหนึ่งในอิทธิบาท 4 ผู้นำเสนอหวังว่าบทความนี้จะเป็นส่วนหนึ่งที่เป็นตัวอย่างให้นิสิตรุ่นน้องถือปฏิบัติเช่นเดียวกับนิสิตรุ่นพี่กลุ่มนี้ต่อไป

ข่าวภาควิชานิติเวชศาสตร์

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จัดงานสานสัมพันธ์นิติเวชจุฬา ขึ้นในวันที่ 22 ธันวาคม 2558 โดยเชิญผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงาน การเรียนการสอน เข้าร่วมสรุปและแสดงความคิดเห็นในประเด็นต่าง ๆ ในรอบปีที่ผ่านมา และการวางแผนสำหรับปีต่อไป โดยมีตัวแทนตำรวจ เจ้าหน้าที่มูลนิธิ ตัวแทนบริษัทประกันชีวิต และแพทย์เข้าร่วมงานสานสัมพันธ์ครั้งนี้