

บทบรรณาธิการ

ปัญหาการติดสารเสพติดยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญของสังคมไทยซึ่งส่งผลกระทบต่อทุกภาคส่วนในสังคม นอกจากสารเสพติดที่มีการแพร่ระบาดอยู่เดิมแล้ว ก็ยังมีการเริ่มเสพยาเสพติดตัวใหม่ ๆ ที่ยังไม่แพร่หลายได้รับความนิยมในสังคม ซึ่งสารเสพติดตัวใหม่ที่มีการผลิตและแพร่หลายนั้นมักจะมีฤทธิ์ที่รุนแรงมากขึ้น ส่งผลเสียต่อสุขภาพผู้เสพยามากขึ้น นอกจากนี้เนื่องจากเป็นสารเสพติดตัวใหม่จึงมักจะยังไม่ถูกประกาศในกฎหมายว่าเป็นสารเสพติดให้โทษ ทำให้มีการซื้อขาย และเสพยาแพร่หลายได้ง่าย ทุกฝ่ายจึงต้องเฝ้าระวังและคอยติดตามข่าวสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ เพื่อควบคุมและป้องกันการกระจายและการเสพยาเสพติดใหม่ๆ เหล่านี้

วัตถุประสงค์

วารสารนิติเวชศาสตร์ เป็นวารสารของภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีวัตถุประสงค์ในการจัดทำวารสาร ได้แก่

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมายที่เกี่ยวข้อง จริยธรรมและปรัชญา
2. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่แนวความคิดสร้างสรรค์ ที่มีประโยชน์ต่อสังคมอย่างมีเหตุผล
3. เพื่อพัฒนามาตรฐานทางวิชาชีพนิติเวชศาสตร์ และนิติวิทยาศาสตร์
4. เพื่อพัฒนารูปแบบของกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทย ให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
5. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัยของแพทย์ประจำบ้าน นิสิต นักศึกษา และนักวิจัย

คณะผู้จัดทำ/กองบรรณาธิการ

- | | |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1. ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ | บรรณาธิการ |
| 2. ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นจิตร | |
| 3. ผศ.นพ.เกรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน | |
| 4. อ.นพ.ธีรโชติ จองสกุล | |
| 5. อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุตินวงศ์ | |
| 6. อ.พญ.เกษณี จงประสาธน์สุข | |
| 7. ภญ.กัญญ์ณลิน หิริญเศรษฐธาดา | ผู้ช่วยบรรณาธิการและเลขานุการ |

วารสารออนไลน์

<http://www.forensicchula.net>

สารบัญ

Original article

- การศึกษาไมโครแซทเทลไลต์ DNA DYS 393 จากตัวอย่างสำลีป้ายช่องคลอด	82
- การหาอัตราการกลายพันธุ์ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ hypervariable region	92
- การสร้างกราฟเลือดแปลกปลอมของแมลงวันหัวเขียว	106
- ระยะเวลาเจริญเติบโตของด้วงหนังสัตว์	118
- ความยาว cephalopharyngeal skeleton ของ <i>C. ruffifacies</i>	127
- ความชุกของหมู่เลือด ABO พืชญโลก	135
- การตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอไก่โดยไซโตโครม บี	144

Review

- เหลกน โลกนคน และนิติภิกษุวิทยา	151
- การจับเท็จ	165
- การทดสอบ Kastle-Mayer และการประยุกต์ใช้	179
- ฮุกคาห์ (Hookah)	185

Miscellaneous

- บุคคลสำคัญ Richard Syngé	190
- ขำขันนิติเวชญา	191

ภาพปก

ชื่อภาพ	"A Sick Child brought into the Temple of Aesculapius"
ศิลปิน	John William Waterhouse
สถานที่	-
ที่มา	http://en.wikipedia.org/wiki/File:TempleofAesculapiusWaterhouse.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิติเวชศาสตร์เป็นวารสารรายสี่เดือน รับเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา โดยให้ส่งผลงานตีพิมพ์ในกระดาษขนาด A4 หรือ ไฟล์ข้อมูลในสื่อบันทึก หรือจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

ผลงานที่ส่งเพื่อตีพิมพ์สามารถใช้ได้ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ โดยไม่จำกัดรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นบทความแสดงความคิดเห็น งานวิจัยนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานผู้ป่วย และงานในรูปแบบอื่น ๆ ให้ระบุชื่อเรื่อง ชื่อผู้วิจัยหรือผู้เขียนผลงาน และส่งผลงานได้ที่

ผศ.นพ.ณัฐ ดันศรีสวัสดิ์

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อ.พระราม4 เขตปทุมวัน กทม.10330

หรือที่ e-mail: issnat@hotmail.com

การศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ DNA ตำแหน่ง DYS 393 จากตัวอย่างสำลี ป้ายช่องคลอดเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ของการมีเพศสัมพันธ์

ศราลักษ์ณ์ ศักดิ์เกียรติชัย *

ธานินทร์ ภูพัฒน์ พ.บ. **

เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์ พ.บ. ***

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 เปรียบเทียบกับการตรวจหาตัวอสุจิก่อนน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหายเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้การมีเพศสัมพันธ์ ซึ่งทำการทดลองกับตัวอย่างน้ำซบช่องคลอดจากภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ตรวจพบเอนไซม์ acid phosphatase จำนวน 60 ตัวอย่าง ที่แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิในปริมาณ 1+, 2+ และ 3+ รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง และอีก 30 ตัวอย่างคือกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ จากนั้นสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีแบบไม่แยกชนิดเซลล์ (total extraction) และเพิ่มปริมาณโดยวิธี PCR ก่อนนำไปแยกใน 8.5% acryl amide gels พบว่า โอกาสของการตรวจพบตำแหน่ง DYS 393 บนโครโมโซมเพศชายมีความแตกต่างจากผลการทดสอบด้วยวิธีการตรวจหาตัวอสุจิที่ $p = 0.000$ และโอกาสที่ตรวจพบจะแปรผันตามปริมาณของตัวอสุจิที่มีในตัวอย่าง ถือได้ว่าในการตรวจหาตำแหน่ง DYS 393 บนโครโมโซมเพศชาย สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การมีเพศสัมพันธ์ได้ และยังช่วยเพิ่มน้ำหนักของวัตถุพยานในคดีที่มีการกระทำชำเราเพิ่มมากขึ้นและสามารถใช้เป็นประโยชน์ในการดำเนินคดีหรือเป็นพยานหลักฐานช่วยในการเอาผิดผู้ร้ายกรณีที่มีการล่วงละเมิดทางเพศได้มากขึ้น

คำสำคัญ : DYS393, ตัวอสุจิ, โครโมโซมเพศชาย, น้ำซบช่องคลอด, การกระทำชำเรา

* สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*** ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The Study of Microsatellite DNA DYS 393 in Vaginal Swabs as an Indicator of Sexual Intercourse

Saraluck Sakkiattichai *

Tanin Bhoopat M.D. **

Lertlakana Bhoopat M.D. ***

Abstract

This study was conducted to determine the chance of detection evidence of abuse by examination between DYS 393 locus on Y-chromosome and spermatozoa detection from vaginal swabs of the raped victims. Y-STR locus DYS 393 using for the investigation of rape cases compared with the Oppitz staining method. The samples were collected from 60 acid phosphatase positive vaginal swabs from the Department of Forensic Medicine and divided into 2 groups which were sperm positive and sperm negative. The sperm positive group was further divided into three subgroups depending on the amount of spermatozoa (1+, 2+ and 3+). The methods to detect DYS 393 were total extraction and amplification using PCR technique, then the PCR product was analyzed on 8.5% polyacrylamide gels. The chance of detection of spermatozoa was different using either the amplification of locus DYS393 or the Oppitz test ($p=0.000$) and the opportunity to detect locus DYS393 varies with the amount of sperm cells in the specimen.

Key words: DYS393, Spermatozoa, Y- Chromosome, Vaginal swabs, Raped

* Forensic Science, Graduate School, Chiang Mai University

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

*** Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

บทนำ

ปัญหาการถูกล่วงละเมิดทางเพศของผู้หญิงในสังคมไทยปัจจุบันถือได้ว่าเป็นปัญหาที่มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ อาจเนื่องมาจากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี รวมถึงการติดต่อสื่อสารกันด้วยระบบอินเทอร์เน็ต ในปัจจุบันที่มีการเผยแพร่สื่อลามกอนาจารสู่สาธารณชนได้ง่ายขึ้น¹ ผลกระทบที่ตามมาภายหลังจากการถูกล่วงละเมิดทางเพศมีมากมาย อาทิเช่น การติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ การทำแท้ง และปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่จะตามมาคือ ปัญหาทางด้านจิตใจของผู้เสียหายเอง

ปัจจุบันมีความเจริญก้าวหน้าทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ค่อนข้างมาก เราจึงสามารถที่จะนำมาใช้เป็นตัวช่วยในการที่จะพิสูจน์ความผิดเกี่ยวกับการล่วงละเมิดทางเพศได้ สำหรับการพิสูจน์ว่าผู้เสียหายถูกกระทำชำเราหรือไม่นั้น จะต้องใช้วัตถุพยานเข้ามาช่วยในการตรวจสอบ ซึ่งวัตถุพยานที่นิยมเก็บส่งตรวจได้แก่วัตถุพยานที่เป็นชีววัตถุพยาน เช่น เส้นผม เส้นขน น้ำซับจากช่องคลอด เป็นต้น^{2, 6} เพื่อที่จะตรวจสอบหาส่วนประกอบของน้ำอสุจิ (seminal plasma) ได้แก่ Acid Phosphatase, Prostate Specific Antigen (PSA), Semenogelin และเซลล์หรือส่วนประกอบของเซลล์ ได้แก่ ตัวอสุจิ, Y-chromosome DNA, Amelogenin เป็นต้น ถึงแม้ว่าการตรวจจะมีหลายวิธีแต่การตรวจหา acid phosphatase ร่วมกับการตรวจหาตัวอสุจินั้นถือเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามการตรวจหาสาร acid phosphatase นั้นจะมีผลบวกปลอม (false positive) ค่อนข้างมาก และการตรวจหาตัวอสุจินั้นหากในช่องคลอดของผู้เสียหายมีตัวอสุจิเหลืออยู่น้อย ก็อาจส่งผลให้ตรวจไม่พบหรือพบได้น้อยมาก ดังนั้นหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ที่เริ่มได้รับความสนใจและถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ หลักฐานทางด้าน DNA (Deoxyribonucleic acid) ที่จะไม่ซ้ำกันในแต่ละบุคคล ถึงแม้ว่าจะเป็นพี่น้องพ่อแม่เดียวกันก็ตาม ยกเว้นในกรณีฝาแฝดที่มาจากไข่และอสุจิตัวเดียวกันหรือที่เรียกว่าแฝดแท้ และการตรวจ DNA ในงานนิติวิทยาศาสตร์นั้น ได้ให้ความสำคัญตรงส่วนที่เป็น Short Tandem Repeats (STR) หรือ Microsatellite ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีลักษณะ DNA เป็นชุดเบสซ้ำ ๆ กัน และจะไม่เหมือนกันในบุคคลสองคน ยกเว้นฝาแฝดไข่ใบเดียวกัน³

และในปัจจุบันก็เริ่มมีคนให้ความสนใจและทำการค้นคว้าวิจัยการตรวจพิสูจน์ DNA เพื่อที่จะนำมาประยุกต์ใช้กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์และใช้เป็นพยานหลักฐานในคดีที่เกี่ยวกับเพศ ยกตัวอย่าง เช่น Canine และคณะ⁷ ได้ทำการศึกษาลักษณะ DNA บนโครโมโซมเพศชาย (Y-STRs) ในคดีที่เกี่ยวกับความผิดทางเพศ โดยใช้ทั้งหมด 12 ตำแหน่งคือ DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS392, DYS437, DYS428 และ GATA H4 พบว่า สามารถตรวจเจอ DNA ของโครโมโซมเพศชายได้ทั้ง 12 ตำแหน่ง และงานวิจัยของ Chomont และคณะ⁸ ก็ได้ศึกษาการตรวจโครโมโซมเพศชายจากสารคัดหลั่งช่องคลอดของผู้หญิงที่ผ่านการมีเพศสัมพันธ์ เพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานในคดีที่เกี่ยวกับเพศ พบว่าสามารถตรวจเจอ PSA ทั้งหมด 50 ตัวอย่าง คิดเป็น 19% และสามารถตรวจเจอโครโมโซมเพศชายได้ 100

ตัวอย่าง คิดเป็น 38% โดยที่ตัวอย่าง 50 ตัวอย่างที่ตรวจเจอ PSA นั้น สามารถตรวจเจอโครโมโซมเพศชายเช่นกัน

ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโอกาสการพบหลักฐานในคดีกระทำชำเรา โดยการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 เพื่อเป็นตัวบ่งชี้การมีเพศสัมพันธ์ เทียบกับการตรวจหาตัวสุจิจากน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหาย

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา ที่ได้จากภาควิชานิติเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 60 ตัวอย่าง แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวสุจิ 30 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ตรวจพบตัวสุจิ 30 ตัวอย่าง ซึ่งในกลุ่มที่ตรวจพบตัวสุจินั้น จะแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย ตามปริมาณตัวสุจิที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำซบช่องคลอด คือ กลุ่มที่พบตัวสุจิปริมาณ 1+, 2+ และ 3+ ตามลำดับ* โดยตัวอย่างทั้ง 60 ตัวอย่างให้ผลตรวจเอนไซม์ acid phosphatase เป็นบวก

จากนั้นนำตัวอย่างทั้ง 60 ตัวอย่าง ไปสกัดดีเอ็นเอแบบไม่แยกชนิดเซลล์ (total extraction)⁴ แล้วผสมน้ำยา Master mix [ประกอบไปด้วย 10X buffer 1 µl, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 1 µl, Taq DNA-polymerase 1 µl, Sterile water 2 µl และ 5 µM each primer mix DYS 393 1 µl] และน้ำสกัดดีเอ็นเอ (DNA template) 4.0 µl ในหลอด microcentrifuge tube แล้วนำเข้าเครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ (thermal cycles) โดยตั้งอุณหภูมิในแต่ละรอบ ดังนี้ 94 °C 45 วินาที, 55 °C 30 วินาที และ 72 °C 30 วินาที เป็นจำนวน 35 รอบ แล้วพักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 72 °C 7 นาที จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปแยกแอมป์ DNA ด้วย 8.5% acrylamide gel electrophoresis โดยใช้กระแสไฟฟ้า 80 volt วิ่งผ่าน running buffer นาน 16.5 ชั่วโมง จากนั้นย้อมเจลด้วยวิธี Silver staining เพื่อให้เห็นแถบดีเอ็นเอ

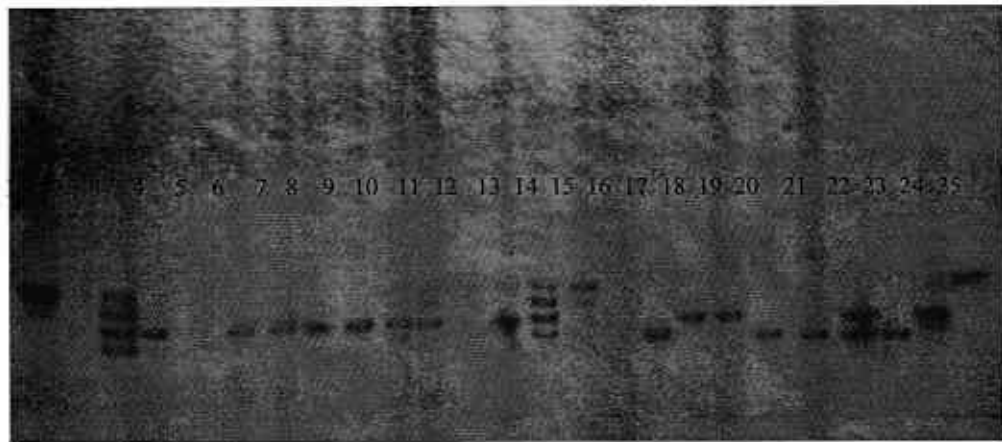
Primer ที่ใช้ในการศึกษา คือ Forward : 5'-GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC -3' และ

Reverse : 5'-CCTCATTTTTTGGACTTGAGTTC-3'

* การตรวจหาตัวสุจิ ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบ Oppitz's test บนพื้นที่วงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร 1+ คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวสุจิ 1-2 ตัว, 2+ คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวสุจิ 3-5 ตัว และ 3- คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวสุจิ 6-5 ตัว

การแปลผลการทดลองจะทำการเปรียบเทียบแถบ DNA ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายทั้งหมด กับอัลลีลมาตรฐาน เพื่อดูตำแหน่งและขนาดของแถบ DNA ที่ตรวจพบ ว่าอยู่ช่วงขนาดที่คาดไว้หรือไม่ ถ้าใช่แสดงว่าให้ผลบวก (positive test) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าทางสถิติ ด้วย McNemar chi-square test เพื่อเปรียบเทียบโอกาสการตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ตำแหน่ง DYS393 กับโอกาสการตรวจพบตัวสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย

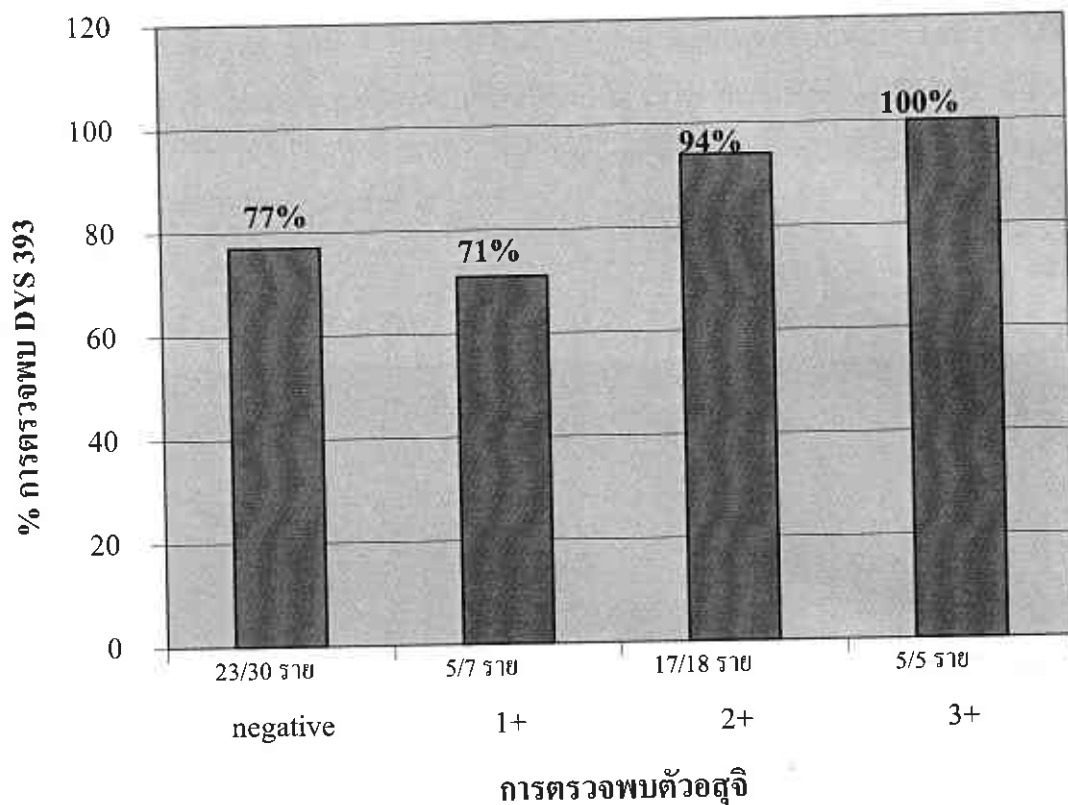
ผลการศึกษา



ภาพที่ 1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราเปรียบเทียบกับตัวอย่างเลือดของผู้หญิง (negative control), ตัวอย่างเลือดผู้ชาย (positive control) และอัลลีลมาตรฐาน โดยที่ช่องที่ 1, 25 แสดงถึง positive control ที่ใช้ตัวอย่างเลือดผู้ชายเป็นตัวอย่างควบคุม ช่องที่ 2 แสดงถึง negative control ที่ใช้ตัวอย่างเลือดผู้หญิงเป็นตัวอย่างควบคุม ช่องที่ 3, 14 แสดงถึงอัลลีลมาตรฐาน (ladder) คือ อัลลีลที่ 12, 13, 14 และ 15 เรียงจากแถบล่างขึ้นบน ช่องที่ 4-13, 15-24 แสดงถึง ตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย

ตาราง 1 แสดงผลการตรวจเปรียบเทียบระหว่างการตรวจหาตัวสุจิ (Sperm) กับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DYS393

อสุจิ \ DYS393	ผลลบ	ผลบวก	รวม
ผลลบ	7	23	30
ผลบวก	3	27	30
รวม	10	50	60



ภาพที่ 2 แสดงโอกาสการตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ DYS393 เทียบกับแต่ละกลุ่มที่แบ่งตามปริมาณอสุจิที่พบ

อภิปรายผลการทดลอง

จากการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอมาตรฐานกับแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้ชายที่ทราบชนิดอัลลีลในตำแหน่ง DYS393 มาเป็นดีเอ็นเอแม่แบบ พบว่า แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงระหว่าง 130-140 bp และผลการตรวจลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DYS393 จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย เทียบกับอัลลีลมาตรฐาน เมื่อทำการประเมินชนิดของอัลลีล พบว่าค่าความถี่ใกล้เคียงกับที่พบในกลุ่มประชากรแถบเอเชียตะวันออก^{9, 10} จึงน่าจะเชื่อได้ว่าแถบดีเอ็นเอดังกล่าวเป็นอัลลีลของผู้ชายที่มีการปนเปื้อนมาจริง และเมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจพบตัวอสุจิกับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DYS393 จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายทั้ง 60 ตัวอย่าง พบว่าโอกาสของการตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DYS393 มีความแตกต่างจากโอกาสการตรวจพบตัวอสุจิ จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.000$) ซึ่งสามารถตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DYS393 ได้ทั้งหมด 50 ตัวอย่าง จาก 60

ตัวอย่าง และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์แยกเป็นกลุ่มย่อยจะพบว่า ในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวสุมิสามารถตรวจพบ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 ได้ถึง 23 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 30 ตัวอย่าง ส่วนในตัวอย่างที่ตรวจพบตัวสุมิ 30 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS393 ได้ถึง 27 ตัวอย่าง (90%) และเมื่อแยกย่อยตามปริมาณการตรวจพบตัวสุมิ คือ ในตัวอย่างที่ตรวจพบตัวสุมิตามเกณฑ์ 1+, 2+ และ 3+ นั้นสามารถตรวจพบในตำแหน่ง DYS 393 ได้เท่ากับ 5/7 ตัวอย่าง, 17/18 ตัวอย่าง และ 5/5 ตัวอย่างตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการตรวจพบ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS 393 จะมีความแปรผันไปตามปริมาณการตรวจพบตัวสุมิ และการที่สามารถตรวจเจอ DYS 393 ได้ในตัวอย่างที่ตรวจเจอตัวสุมิในปริมาณน้อย ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ตรวจไม่พบตัวสุมินั้นอาจเกิดจากวิธีการตรวจหาตัวสุมิที่มีการบกพร่อง ซึ่งในการค้นคว้านี้ใช้วิธีการตรวจตัวสุมิแบบ Oppitz test มีการใช้ปริมาณตัวอย่างจากน้ำซบช่องคลอดจากผู้เสียหายเพียงเล็กน้อยแค่ 2-3 ไมโครลิตร มาหยดบนแผ่นสไลด์ก่อนนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยอาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจหรือที่เรานำมาหยดลงบนแผ่นสไลด์จะไม่มีตัวสุมิติดมาด้วย (ซึ่งทั้งที่จริง ๆ แล้วหากเราใช้ตำแหน่งอื่นของสำลีป้ายช่องคลอดอาจจะมีหรือไม่มีตัวสุมิปนอยู่ก็ได้) จึงทำให้ตรวจไม่พบตัวสุมิ หรืออาจเกิดจากความผิดพลาดของผู้ตรวจเองก็เป็นไปได้เช่นกัน ดังนั้นเมื่อนำมาตรวจหาลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายจึงสามารถตรวจพบได้ในการสกัดตัวอย่างที่นำมาใช้ในการค้นคว้าครั้งนี้จะสกัดแบบไม่แยกชนิดเซลล์ (total extraction) ทำให้เวลาที่สกัดตัวอย่างอาจทำให้ได้ดีเอ็นเอจากเซลล์อื่นของผู้ชายที่ไม่ใช่ตัวสุมิปนมาด้วย เช่น เยื่อบุผิว (epithelial cells) เป็นต้น และในกรณีที่ผู้กระทำไม่ได้มีการร่วมเพศแต่มีการกระทำอย่างอื่นแทนซึ่งถือเป็นการกระทำชำเราได้เช่นกัน เช่น การใช้นิ้วมือก็มีโอกาสที่เซลล์ผิวหนังจากนิ้วมือจะหลุดติดมาได้ หรือการใช้ปาก (oral) ก็อาจมีคราบน้ำลายติดมาได้เช่นกัน จึงทำให้เราสามารถตรวจเจอดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้ รวมถึงกรณีที่ผู้กระทำเป็นหมันหรือเป็นคนที่มีตัวสุมิน้อย (azoospermic semen) ก็จะทำให้โอกาสในการตรวจพบตัวสุมิน้อยมากหรืออาจตรวจไม่พบเลย แต่หากมีการกระทำชำเราเกิดขึ้นจริงเราก็ยังสามารถตรวจเจอดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้ จึงทำให้วิธีการตรวจหา microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายเป็นวิธีที่จะช่วยให้เราพบหลักฐานการกระทำชำเราได้มากขึ้น

สำหรับในกรณีที่มีการตรวจพบตัวสุมิในปริมาณตามเกณฑ์ 1+, 2+ ในบางตัวอย่างที่ตรวจไม่พบลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย อาจเนื่องมาจากในขั้นตอนการสกัดนั้นเป็นการสกัดแบบไม่แยกชนิดเซลล์ หรือ Total extraction ทำให้ในน้ำสกัดดีเอ็นเอมีปริมาณดีเอ็นเอของผู้หญิงปนอยู่มาก จึงไปกีดขวางการจับกันระหว่าง primer กับ ดีเอ็นเอเป้าหมาย (Target DNA) ส่งผลให้ primer ไปจับกับดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้น้อย ดังที่ Prinz และคณะ ได้ศึกษาอัตราส่วนของดีเอ็นเอผู้ชายที่ผสมอยู่กับดีเอ็นเอของผู้หญิงในแต่ละอัตราส่วนที่แตกต่างกัน พบว่า ในอัตราส่วนของดีเอ็นเอผู้ชาย : ดีเอ็นเอของผู้หญิงที่ 1:2000 เป็นอัตราส่วนที่สูง

ที่สุดที่ยังสามารถตรวจพบดีเอ็นเอของผู้ชายได้ (Prinz, et al) การแก้ไขก็อาจทำได้โดยการเปลี่ยนวิธีการสกัด ไปเป็นการสกัดแบบแยกชนิดของเซลล์ หรือ differential extraction ซึ่งวิธีนี้จะมีการย่อยสลายแยกส่วนเอาเซลล์เยื่อ ผนังช่องคลอดออกไปก่อนเหลือไว้แต่เฉพาะเซลล์อสุจิแล้วทำการย่อยตัวอสุจิอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งวิธีนี้อาจจะช่วยลด การกีดขวางการจับกันระหว่าง primer กับ ดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายจากดีเอ็นเอของผู้หญิงได้ นอกจากนี้ อาจเป็นผลมาจากขั้นตอนของการสกัด ที่มีการดูดเอาน้ำล้างตะกอนของน้ำซั้วช่องคลอดออกไป ก่อนนำไป smear บนสไลด์เพื่อตรวจดูตัวอสุจิจากกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนหรือดูดตัวอสุจิที่มีน้อยอยู่แล้วนั้น ออกไปด้วยจึงทำให้เราตรวจไม่เจอตัวอสุจิและดีเอ็นเอของตัวอสุจินั้นด้วย รวมไปถึงการใช้ Proteinase K ใน ขั้นตอนของการสกัดเช่นกัน เนื่องจาก Proteinase K ในขั้นตอนการสกัดนั้นจะมีหน้าที่ในการย่อยสลาย โปรตีนโดยเฉพาะตรงผนังเซลล์ทำให้เซลล์แตกและมีดีเอ็นเอหลุดออกมาได้ แต่ถ้าหาก Proteinase K ที่ใช้ในการ สกัดมีความเข้มข้นน้อยเกินไป ก็อาจส่งผลให้ไม่สามารถทำลายโปรตีนที่เชื่อมหุ้มเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์ ดีเอ็น เอจึงไม่สามารถหลุดออกจากเซลล์ได้ทั้งหมดทำให้ DNA template ที่จะใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ สายใหม่มีน้อยส่งผลทำให้กระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเกิดขึ้น ได้น้อยลง ทำให้ไม่สามารถตรวจเจอดีเอ็นเอ ของโครโมโซมเพศชายได้

สรุป

จากการศึกษาโอกาสการพบหลักฐานในคดีกระทำชำเรา โดยการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย ในตำแหน่ง DYS 393 เพื่อเป็นตัวบ่งชี้การมีเพศสัมพันธ์ เทียบกับการตรวจหาตัวอสุจิจากน้ำซั้วช่องคลอดของ ผู้เสียหาย 60 ราย พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p = 0.000$ และเมื่อได้ศึกษาในกลุ่มย่อย ของน้ำซั้วช่องคลอดตามปริมาณที่ตรวจพบตัวอสุจิ พบว่า ใน 30 ตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิได้ถึง 27 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 30 ตัวอย่าง และเมื่อพิจารณาตามปริมาณที่ตรวจพบตัวอสุจิตามเกณฑ์ 1+, 2+ และ 3+ พบว่า สามารถตรวจเจอลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DYS 393 ได้ถึง 85.7%, 94.4% และ 100% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการตรวจเจอดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DYS 393 จะมีการแปรผันไปตามการ ตรวจพบตัวอสุจิ และในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่าง ก็พบว่าสามารถตรวจเจอลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DYS 393 ได้ถึง 23 ตัวอย่างจากทั้งหมด 60 ตัวอย่างคิดเป็น 85% ดังนั้นจากผลการ คั่นคว้าสามารถแสดงให้เห็นได้ว่าโอกาสการพบหลักฐานในคดีกระทำชำเรา โดยการตรวจดีเอ็นเอของ โครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 สามารถใช้ในการตรวจพิสูจน์วัตถุพยานในการกระทำชำเรา ร่วมกัน กับการตรวจหาตัวอสุจิเพื่อเป็นตัวบ่งชี้การมีเพศสัมพันธ์ได้ เพื่อที่จะช่วยเพิ่มโอกาสและความน่าเชื่อถือในการ ตรวจพบวัตถุพยานที่เกี่ยวกับคดีการกระทำชำเราได้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และศูนย์สวนดอกกัญพันธ์รัฐศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

References

1. โสภณ พิสุทธิวงษ์. (2553). “การป้องกันตนเองจากการตกเป็นเหยื่อในคดี "ข่มขืน". [ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา http://engb.facebook.com/note.php?note_id=163356457022535 (19 ตุลาคม 2553)
2. จินตนา ประดุจกาญจนา. (2552). โครงการอบรมวิชาการ การปฏิบัติงานด้านนิติเวชศาสตร์สำหรับแพทย์จังหวัดชายแดนภาคใต้ ครั้งที่ 1: DNA กับงานนิติเวชศาสตร์ (หน้า 101-117), หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
3. อรรถพล แหม่มสุวรรณวงศ์. นิติวิทยาศาสตร์ 3 เพื่อการสืบสวนสอบสวน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ; 2544
4. วิฑูรย์ ทะสุยะ และ ธาณินทร์ ภูพัฒน์. SOP DNA Analysis for Forensic Medicine. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2005
5. อารยา จาติเสถียร. ชีวสถิติ (BIOSTATISTIC). พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2550
6. Parson W, Niederstatter H, Kochl S, Steinlechner M, Berger B. When autosomal short tandem repeat fail: Optimized primer and reaction design for Y-chromosome short tandem repeat analysis in forensic casework. *Croa Med J* (2001) 42(3): 285-287.
7. Caine L, Pereira MJ, Pinheiro MF. Identification of several profiles in a sexual assault case. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1* (2008) 403-404.
8. Chomont N, Gresenguet G, Levy M, Hocini H, Becquart P, Matta M, et al. Detection of Y chromosome DNA as evidence of semen in cervicovaginal secretions of sexually active women. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001 September; 8(5): 955-8.
9. Chun BW, Shin SC, Kim YJ, Kyung-Sook Kim KS, Dong-Ho Choi DH, Kim KH, et al. Allele frequencies and haplotypes of the STR loci of the PowerPlex Y-system in southern populations from Korea. *Forensic Sci Int* 148 (2005) 225-31.
10. Hara M, Kido A, Takada A, Adachi N, Saito K. Genetic data for 16 Y-chromosomal STR loci in Japanese. *Legal Med* 9 (2007) 161-70.

การวิเคราะห์หาอัตราการกลายพันธุ์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ

Hypervariable region ในจังหวัดพิษณุโลก

สายศิริ มีระเสน *

สุทัศน์ ดวงจิตร **

บทคัดย่อ

ปัจจุบันได้มีการนำดีเอ็นเอมาใช้ตรวจพิสูจน์บุคคลในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ แต่หากสิ่งส่งตรวจอยู่ในสภาพไม่สมบูรณ์ เน่าเปื่อย หรือมีอายุเก่าแก่ และไม่สามารถตรวจจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอได้ จึงมีการพัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ เนื่องจากมีความแปรผันของลำดับเบสในประชากรเชื้อชาติเดียวกัน ซึ่งสามารถนำมาใช้ตรวจพิสูจน์บุคคลและความสัมพันธ์เครือญาติได้ คณะผู้วิจัยจึงศึกษาความผันแปรของลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่บริเวณ HVR I, II และ III ของประชากรที่อาศัยในจังหวัดพิษณุโลก ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจำนวน 100 คน พบว่าที่บริเวณ HVR I, II และ III มีตัวบ่งชี้เอกลักษณ์ที่จำเพาะ 81, 74 และ 13 haplotypes ตามลำดับ และมีความหลากหลายของ haplotype เท่ากับ 0.9943, 0.9853 และ 0.7973 ตามลำดับ มีค่ากำลังการแยกแยะ (PD) 0.9844, 0.9754 และ 0.7858 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ร่วมกันระหว่างบริเวณ HVR I และ II จะทำให้ได้ค่ากำลังการแยกแยะเพิ่มขึ้นถึง 0.9896 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.9900 เมื่อวิเคราะห์ร่วมกันทั้ง 3 บริเวณ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นประโยชน์อย่างมากในการศึกษาชาติพันธุ์และวิวัฒนาการของชาวพื้นเมืองในจังหวัดพิษณุโลก และสามารถนำมาใช้เป็นทางเลือกในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลของประชากรพิษณุโลกและเขตภาคเหนือตอนล่าง นอกจากนี้ยังสามารถนำมาศึกษา SNPs (single nucleotide polymorphisms) เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้เอกลักษณ์ที่จำเพาะ (biomarker) ของโรคทางระบบประสาทในเขตภาคเหนือตอนล่างต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ บริเวณที่มีความหลากหลาย (HVR) และจังหวัดพิษณุโลก

* ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Mutation Rate of Mitochondrial DNA at Hypervariable Region in Phitsanulok Province

Saisiri Mirasena *

Suthat Duangchitra **

ABSTRACT

At present, DNA technology was used to forensically personal identifications. For nuclear DNA, there is limitation in degraded, decomposed or old biological evidences. According to geographic distribution, mitochondrial DNA has many haplotypes so it was applied to forensically personal identification, especially in maternal inheritance. We studied the polymorphism of mtDNA at hypervariable regions (HVR) in 100 Phitsanulok populations that were not maternally related. The haplotypes in each HVR region were 81, 74, 13 and haplotype diversities were 0.9943, 0.9853 and 0.7973, respectively. The power of discrimination (PD) in each region were 0.9844, 0.9754 and 0.7858, respectively. The combined of HVR I and II was 0.9896 and increased to 0.9900 when combined all three HVRs. This data were very informative for study of anthropology and geaneology in Phitsanulok population and were used in forensically personal identification in this area. Moreover, these data would be very benefited for study of single nucleotide polymorphisms (SNP) and used as biomarkers in neuroscience degenerative diseases at this area.

Keywords: mitochondrial DNA, hypervariable region, Phitsanulok province

* Department of Biochemistry, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok

** Department of Physiology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok

บทนำ

ในปัจจุบันได้มีการนำวิทยาการและเทคโนโลยีด้านดีเอ็นเอมาใช้ตรวจพิสูจน์บุคคลในงานทางนิติวิทยาศาสตร์กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีส่วนช่วยในการไขคดีต่างๆ มากมายรวมทั้งด้านอาชญากรรม การพิสูจน์บุคคลสูญหาย รวมทั้งกรณีภัยพิบัติหมู่ เช่น ซึนามิ โคลนถล่ม หรือเครื่องบินตก เป็นต้น โดยดีเอ็นเอที่นำมาใช้ส่วนใหญ่เป็น nuclear DNA บริเวณ non-coding region ที่เรียกว่า VNTR (Variable Number Tandem Repeat) และ STR (Short Tandem Repeat) ซึ่งมีข้อจำกัดในกรณีที่สิ่งส่งตรวจอยู่ในสภาพไม่สมบูรณ์ เน่าเปื่อย หรือมีอายุเก่าแก่ จึงมีการพัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mtDNA) เช่น การตรวจพิสูจน์พระศพของพระเจ้าชาลส์ที่สอง การตรวจพิสูจน์โครงกระดูกของทหารที่เสียชีวิตในสงครามเวียดนาม หรือสงครามเกาหลี หรือการตรวจความสัมพันธ์ระหว่างเครือญาติ เป็นต้น

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเออยู่ในออร์แกนเนลล์ที่เรียกว่าไมโทคอนเดรีย ซึ่งจะมีลักษณะเป็นวงกลมสองสายพันกัน สายที่มีเบสเฟอวรีนมาก เรียกว่า H-strand และอีกสายที่มีเบสไพริมิดีนีนมากเรียกว่า L-strand มีความยาวลำดับเบสทั้งหมด 16,569 คู่เบส และทำการถอดรหัสขึ้นเพื่อใช้ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ทั้งหมด 37 ยีน ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอพบได้มากภายในเซลล์ (high copy number) สามารถถ่ายทอดจากแม่สู่ลูก (maternal inheritance) ทำให้ผู้ที่มีความสัมพันธ์ทางสายโลหิตฝ่ายแม่ จะมีรหัสพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเหมือนกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอไม่มีการ recombination (lack of recombination) และมีความแปรผันของลำดับเบส (mutation rate) สูงกว่าใน nuclear DNA จึงมีการนำมาใช้ศึกษาวิวัฒนาการของมนุษย์ การจำแนก species เช่น cytochrome b การศึกษาทางมานุษยวิทยา โดยการสังเกตลักษณะของลำดับเบสที่มีการวิวัฒนาการ พบว่า ประชากรในโลกล้วนมีถิ่นกำเนิดจากทวีปแอฟริกา และมีการอพยพย้ายถิ่นแผ่ขยายไปทั่วโลกตามทฤษฎี Mitochondrial Eve นอกจากนั้นยังสามารถจำแนกกลุ่มประชากรตามความผันแปรของเบสในตำแหน่งต่าง ๆ (haplogroup) ซึ่งมีการเปรียบเทียบหาลักษณะของเบสในส่วน control region ในกลุ่มประชากรแอฟริกันอเมริกันและกลุ่มคนผิวขาวในอเมริกาได้

Non-coding region ที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลมี 2 บริเวณคือ Hypervariable region (HVR) I และ II ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความแปรผันของเบสค่อนข้างสูง มีรายงานว่า ในประชากรไทยพบความแปรผันของ HVR I และ HVR II เท่ากับ 27.70% และ 16.78 % ตามลำดับ ถือเป็นค่ากำลังการแยกแยะของทั้งสองตำแหน่ง

(Combined Discrimination Power) มีค่าเท่ากับ 0.9872 โอกาสที่จะพบคนที่มียาลำดับเบสเหมือนกัน (random match probability) มีค่าเท่ากับ 0.0128 ซึ่งมีค่าสูงเมื่อเทียบกับการตรวจด้วย STR ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.01×10^{-18}

การตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์เครือญาติในบางครั้งก็ประสบปัญหาเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ ซึ่งบริเวณที่มีการกลายพันธุ์ที่พบได้มากที่สุดคือบริเวณของ control region หรือ non-coding region เกิดจาก DNA polymerase ซึ่งมีสมบัติ proof reading โดยสามารถแก้ไขข้อผิดพลาดจากการคัดลอกสายดีเอ็นเอ พบว่าอัตราการกลายพันธุ์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอทั้งหมดมีค่าประมาณ 0.017×10^{-6} ตำแหน่งต่อปี เมื่อพิจารณาเฉพาะส่วนของ control region พบว่ามีอัตราการเกิดการกลายพันธุ์ได้สูงถึง 0.075×10^{-6} ตำแหน่งต่อปี อัตราการกลายพันธุ์โดยตรงจากการสืบทอดในเครือญาติ หรือในครอบครัวมีค่าเฉลี่ยสูงถึง 0.47×10^{-6} ตำแหน่งต่อปี บางแห่งพบว่าโอกาสที่จะเกิดการกลายพันธุ์ในส่วน of Control region เทียบต่อรุ่นสูงถึง 1.2×10^{-6} ถึง 2.7×10^{-6} ต่อตำแหน่งต่อรุ่นเลยทีเดียว จากข้อมูลดังกล่าวพบว่า อัตราการกลายพันธุ์ในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอมีค่าค่อนข้างสูง และสามารถเกิดขึ้นได้ในดีเอ็นเอแต่ละส่วนของร่างกาย (heteroplasmy) (ร่างกายมีลำดับเบสในตำแหน่งเดียวกันอยู่หลายตัว) เหตุการณ์ดังกล่าวอาจเกิดได้หลายกรณี เช่น เนื้อเยื่อเดียวกันมีลำดับเบสไม่เหมือนกัน หรือในเนื้อเยื่อต่างชนิดกันของคนเดียวกัน มีลำดับเบสแตกต่างกัน ซึ่งการกลายพันธุ์ในลักษณะนี้ก่อให้เกิดปัญหาในการพิสูจน์ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเออย่างมาก เนื่องจากลำดับเบสที่ได้จากการทำการเรียงลำดับเบส (sequencing) จะมีลักษณะคล้ายกับการที่ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมีการปนเปื้อน (contamination) ทำให้ยากต่อการตรวจพิสูจน์ ในประชากรของไทย พบว่าอาจมีอัตราการกลายพันธุ์ที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มเนื่องจากปัจจัยการกลายพันธุ์มีหลายอย่าง คณะผู้วิจัยจึงหาความแปรผันและอัตราการกลายพันธุ์ของลำดับเบสของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ในประชากรภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยเพื่อใช้ตรวจพิสูจน์บุคคลและความสัมพันธ์เครือญาติ และนำมาใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคล ความสัมพันธ์ทางเครือญาติในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร รวมทั้งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาชาติพันธุ์วิทยา (Genealogy) วิวัฒนาการ และมานุษยวิทยา (Anthropology) ของประชากรในพื้นที่ที่ศึกษา นอกจากนี้ ข้อมูลที่ได้ยังสามารถนำมาหา SNPs (single nucleotide polymorphisms) ที่มีความสัมพันธ์กับโรคทางระบบประสาท (neuroscience degenerative diseases) เช่น Alzheimer's disease, Parkinson's disease ในพื้นที่ดังกล่าว จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้เอกลักษณ์ที่จำเพาะ (biomarkers) ของโรคต่างๆ ในเขตภาคเหนือตอนล่างต่อไปใน

ระเบียบวิธีวิจัย

เมื่อได้รับอนุมัติในการดำเนินการวิจัยในมนุษย์แล้ว จึงดำเนินการเก็บสารพันธุกรรมจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม (buccal cells) ของประชากรที่อาศัยอยู่ในจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 100 คน ที่ไม่มีความเกี่ยวพันทางสายเลือด จากนั้นจึงสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มด้วยวิธี Chelex 100 แล้วจึงเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง Hypervariable region (HVR) I, II และ III โดยมีความเข้มข้นของส่วนผสมต่าง ๆ คือ 0.2 mM dNTPS, 1.5 mM MgCl₂, 0.05 U/μl *Taq* DNA Pol (QIAGEN, Germany) และ 0.2 μM HVR I, II และ III primers ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงลำดับ primers ที่ใช้เพิ่มปริมาณไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ HVR I, II และ III (ที่มา: Lutz *et al.* และ Parson *et al.*)

Region	Primers	Sequence (5'→3')
HVR I	L15997	5'-caccattagcacaacaagct-3'
	H16401	5'-tgattcacggaggatggf-3'
HVR II	L29	5'-ggctctatcaccttataaccac-3'
	H408	5'-ctgttaaaagtcatacggcca-3'
HVR III	L128	5'-cgcacctaagtcattatattac-3'
	H619	5'-ggatgatgtgagcccgcttaa-3'

จากนั้นจึงนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง thermocycler 9700 (Perkin Elmer) pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C เวลา 4 นาที denaturation 94°C เวลา 45 วินาที annealing 55°C เวลา 55 วินาที และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทำซ้ำอีก 30 รอบ แล้วจึง final extension 72°C เป็นเวลา 7 นาที แล้วจึงตรวจสอบด้วย 2% agarose gel electrophoresis แล้วทำให้ amplicon บริสุทธิ์ (purification) ด้วย QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Germany) แล้วจึงวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเครื่องวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติ (DNA Sequencing) แล้วจึงนำลำดับเบสที่ได้มาอ่านเปรียบเทียบกับลำดับเบสอ้างอิงของ Anderson หรือ Cambridge Reference

Sequence (CRS) เพื่อหาเบสที่แตกต่างกัน และหา Haplotype เพื่อนำมาหาค่าสถิติ คือ random match probability (p), discrimination power (DP), haplotype diversity ของประชากรในจังหวัดพิษณุโลก

ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาประชากรจังหวัดพิษณุโลก จำนวน 100 คน ด้วยเทคนิค DNA sequencing พบว่า ความแปรผันของลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (polymorphism) รูปแบบความซ้ำเฉพาะของลำดับเบส (haplotype) และความหลากหลาย (haplotype diversity) ความสามารถในการแยกแยะ (PD) และ random match probability ที่บริเวณ HVR ทั้งสาม (HVR I, II, III) แสดงในตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 แสดงความแปรผันของลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ รูปแบบความซ้ำเฉพาะของลำดับเบส (haplotype) และความหลากหลาย (haplotype diversity) ความสามารถในการแยกแยะ (PD) และ random match probability ที่ HVR I, II, III

HVR Region	Polymorphisms	Haplotype	Haplotype diversity	Power of Discrimination (PD)	Random match Probability (p)
HVR I	81	97	0.9943	0.9844	0.0156
HVR II	74	40	0.9853	0.9754	0.0246
HVR III	16	13	0.7937	0.7858	0.2142

ตารางที่ 3 แสดงตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Haplotype) ที่ HVR I, II, III เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับเบสมาตรฐาน Cambridge Reference Sequence (CRS)

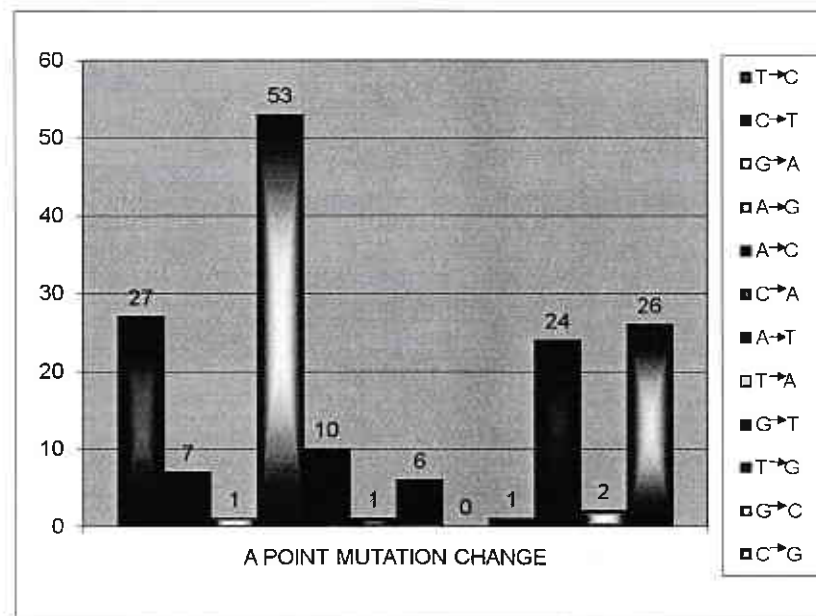
HVR Region	Haplotypes
HVR I	16041 16042 16051 16058 16059 16075 16086 16093 16097 16108 16109 16118 16124 16126 16129 16136 16140 16141 16147 16148 16153 16157 16161 16162 16167 16169 16172 16173 16181 16182 16183 16184 16187 16189 16192 16193 16194 16206 16209 16212 16214 16217 16218 16219 16221 16223 16224 16225 16232 16234 16235 16239 16244 16249 16256 16257 16259 16260 16261 16263 16264 16266 16270 16271 16272 16274 16278 16287 16288 16290 16291 16292 16293 16294 16295 16296 16297 16298 16301 16304 16309 16311 16312 16316 16319 16320 16324 16325 16327 16328 16334 16344 16352 16354 16355 16357 16362

HVR II	073 091 093 114 125 127 128 131 143 146 150 151 152 153 184 185 187 189 194 195 199 200 204 205 207 210 228 229 246 249 263 298 309 315 316 318 324 326 329 332
HVR II	455 463 464 466 479 482 485 489 513 522 523 553 568

ตารางที่ 4 แสดงรูปแบบของลำดับเบสที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับลำดับเบสมาตรฐานของ Anderson's sequence ที่บริเวณตำแหน่ง HVR II มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสซึ่งแสดงไว้ดังนี้

ลำดับเบสที่มีการเปลี่ยนแปลง	จำนวนครั้งของลำดับเบสที่มีการเปลี่ยนแปลง	
T → C	27	88
C → T	7	
G → A	1	
A → G	53	
A → C	10	70
C → A	1	
A → T	6	
T → A	1	
G → T	1	
T → G	24	
G → C	2	
C → G	26	
Insertion	24	
Deletion	8	
% Transition	55.70	
% Transversion	44.30	

แผนภูมิที่ 1 รูปแบบของลำดับเบสที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อนำไปเทียบกับลำดับเบสมาตรฐานของ Anderson's sequence ที่บริเวณตำแหน่ง HVR II



เมื่อพิจารณาลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในตำแหน่งบริเวณ HVR II จะเห็นได้ว่าตำแหน่งเบสที่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากลำดับเบสมาตรฐานของ Anderson's sequence มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบด้วยกันทั้งหมด 4 แบบ ดังนี้

1. Transition คือการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสในหมู่เดียวกัน ได้แก่

- purine/purine A → G, G → A

- pyrimidine/pyrimidine C → T, T → C

2. Tranversion คือการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสในหมู่เบสที่ต่างกัน ได้แก่

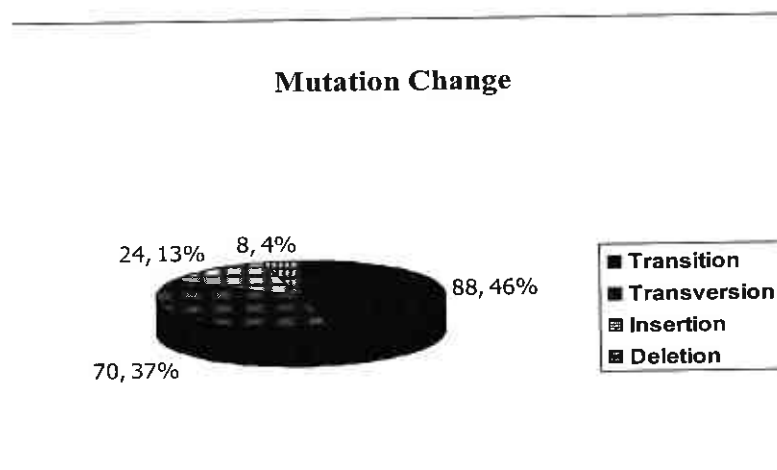
- purine/pyrimidine A → T, A → C, G → C, G → T

- pyrimidine/purine C → G, C → A, T → A, T → G

3. Insertion คือการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสโดยมีการแทรกหมู่เบสเข้ามาในลำดับเบสนั้น

4. Deletion คือการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสโดยมีการหายของหมู่เบสในลำดับเบสนั้น

แผนภูมิที่ 2 รูปแบบของลำดับเบสที่มีการเปลี่ยนแปลงที่พบในกลุ่มประชากรจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 21 ราย



ตารางที่ 5 แสดงผลการทดลองลักษณะลำดับเบสในกลุ่มประชากรจังหวัดพิษณุโลกพบว่าลักษณะเบสมีความหลากหลายทางพันธุกรรมถึง 19 แบบ จากจำนวนทั้งหมด 21 คนซึ่งแสดงไว้ดังนี้

ลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรม	จำนวนความถี่	X_i	X_i^2
73G 189G 207A 226G 263G	1	0.047619	0.002267569161
73G 135C 150T 196G 204G 206G 208G 222G 226G 248G 252G 256G 257C 263G 270C 297C 300C 310C	1	0.047619	
73G 210G 263G 310C 324G	1	0.047619	0.002267569161
73G 135C 138C 263G	1	0.047619	0.002267569161

73G 263G	1	0.047619	0.002267569161
73G 84T 85C 195C 210G 263G	1	0.047619	0.002267569161
73G 84T 263G	3	0.142858	0.020408408164
73G 84T 138C 146C 263G 309.1+C 316.1+C	1	0.047619	0.002267569161
73G 84T 85C 135C 138C 139C 151T 263G 309.1+C 316.1+C	1	0.047619	0.002267569161
73G 135C 139C 142C 210G 263G 308309+2C	1	0.047619	0.002267569161
73G 142C 150T 198C 204C 263G 309.1+C 316.1+C	1	0.047619	0.002267569161
73G 154A 186G 195C 206G 208G 222G 226G 248G 249-C 252G 263G 270C 295T 309.1+C 320T 330G	1	0.047619	0.002267569161
73G 142-T 145C 226G 228T 249-A 263G 309.1+C 316.1+C 324G	1	0.047619	0.002267569161
73G 114T 131G 142C 186G 204G 206G 222G 248G 252G 256G 257C 263G 270C 297C	1	0.047619	0.002267569161
73G 186G 226G 252G 263G 309.1+C 316.1+C	1	0.047619	0.002267569161
73G 138C 139C 186G 206G 208G 221G 225G 256G 263G 270C	1	0.047619	0.002267569161
73G 249-A 263G 316.1+C	1	0.047619	0.002267569161
73G 138C 152C 186G 222G 226G 252G 263G 309.1+C 324G	1	0.047619	0.002267569161
73G 138C 150T 186G 198C 206G 208G 221G 225G 248G 252G 256G 263G 270C 316.1+C 317G 324G 330G 335T 338A	1	0.047619	0.002267569161
SUM	21	1	0.061224653062
1-SUM $[1-\sum x_i^2]$			0.938775346938

Random match probability

$$P = \sum (x_i^2) = 0.0612$$

Discrimination power

$$Dp = 1 - \sum X_i^2 = 0.9387$$

Haplotype diversity

$$h = \frac{(1 - \sum X_i^2)n}{n-1} = 0.9909$$

จากการศึกษาพบว่า ลักษณะลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่บริเวณตำแหน่ง HVR II ของกลุ่มประชากรในจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 21 คน พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยดูค่าจาก Haplotype diversity เท่ากับ 0.9909 และโอกาสที่จะพบคนคนหนึ่งที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดเดียวกันที่จะมีลักษณะลำดับเบสที่เหมือนกันนั้น โดยดูค่าจาก Random match probability เท่ากับ 0.0612

ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในบริเวณตำแหน่ง HVR II ของกลุ่มประชากรจังหวัดพิษณุโลก พบว่ามีความหลากหลายสูงมากถึง 0.9909 คิดเป็น 99.09 % ด้วยความหลากหลายทางพันธุกรรมของบริเวณตำแหน่ง HVR II นั้นสามารถที่จะนำไปใช้เป็นข้อมูลในการดูค่ากำลังการแยกแยะ (Discrimination power) ได้ ซึ่งมีรายงายวิจัยอื่นๆที่ศึกษาหาลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอในบริเวณตำแหน่ง HVR I และ HVR II ร่วมด้วย ได้รายงานไว้ว่า เมื่อทำการศึกษาบริเวณทั้ง 2 ตำแหน่งนี้ร่วมกันพบว่ามีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมมากยิ่งขึ้น สามารถที่จะนำการตรวจไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอทั้งตำแหน่ง HVR I และ HVR II มาใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ ทั้งในแง่การพิสูจน์บุคคลและการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดมารดาเดียวกัน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ผู้ทำการศึกษาก็ได้ให้ความยืนยันสนับสนุนเกี่ยวกับการใช้ตำแหน่ง HVR II เข้ามาช่วยในการพิสูจน์บุคคลร่วมกับการใช้ตำแหน่ง HVR I ว่าในความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่บริเวณตำแหน่ง HVR II นั้นพบว่ามีค่าความหลากหลายสูงมาก ดังนั้นในค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของตำแหน่ง HVR II นี้สามารถที่จะนำไปใช้เป็นข้อมูลเข้ามาช่วยดูค่ากำลังการแยกแยะเฉพาะบุคคลในกลุ่มประชากรจังหวัดพิษณุโลกกลุ่มนี้ได้ และจากข้อมูลรายงานวิจัยอื่นๆที่ทำการศึกษายังได้รายงานอีกว่าในกลุ่มประชากรคนไทยภาคเหนือ พบว่าลำดับเบสของตำแหน่ง HVR II มี 2 ตำแหน่งที่มีลักษณะจำเพาะต่อกลุ่ม

ประชากรคนไทยภาคเหนือ คือ ตำแหน่งที่ 73 และ 263 ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสจาก Adenine (A) ตามลำดับเบสมาตรฐานของ Anderson's sequence เป็น Guanine (G) ในทุกรายทั้ง 2 ตำแหน่ง และในงานวิจัยที่ผู้ทำการศึกษาครั้งนี้ก็พบว่าในกลุ่มประชากรจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 21 คนนี้ มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสทั้ง 2 ตำแหน่ง คือ 73G และ 263G ทุกราย ดังนั้นอาจจะช่วยเป็นการยืนยันได้ว่า การเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของทั้ง 2 ตำแหน่งนี้จำเพาะต่อกลุ่มประชากรในคนไทยภาคเหนือก็ได้ และเป็นที่สนใจได้ว่า การเปลี่ยนแปลงลำดับเบสที่จำเพาะต่อกลุ่มประชากรคนไทยภาคเหนือนั้นสามารถที่จะนำไปเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในตำแหน่งต่างๆของแต่ละเชื้อชาติได้

สรุปผลการศึกษา

จากกลุ่มประชากรในจังหวัดพิษณุโลกลักษณะไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่บริเวณตำแหน่ง HVR II ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมารดาเดียวกันจำนวน 50 คน สามารถตรวจได้สำเร็จเป็นจำนวน 21 คน แยกแยะลักษณะลำดับเบสได้ทั้งหมด 19 แบบ พบตำแหน่งของเบสที่เปลี่ยนแปลงไปจากลำดับเบสของ Anderson's sequence 53 ตำแหน่ง โอกาสที่คนคนหนึ่งจะพบลักษณะของเบสช่วงตรงนี้โดยบังเอิญ เท่ากับ 0.0612 คิดเป็น 6.12 % และมีค่าการกระจายตัวของลักษณะลำดับเบส หรือ ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก เท่ากับ 0.9909 คิดเป็น 99.09 % ซึ่งเหมาะที่จะเป็นข้อมูลที่ใช้ในการดูค่าการแยกแยะเฉพาะบุคคลได้ ซึ่งเหมาะสำหรับที่จะนำมาใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ ทั้งในแง่การพิสูจน์บุคคลและการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดมารดาเดียวกัน และพบว่าลักษณะลำดับเบสที่จำเพาะต่อประชากรในจังหวัดพิษณุโลกสามารถที่จะนำมาเปรียบเทียบกับคนเชื้อชาติอื่นๆได้ ในส่วนนี้อาจจะเป็นประโยชน์ในการใช้ทำนายเชื้อชาติหรือกลุ่มประชากรอื่นๆได้ และเป็นข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาวิวัฒนาการของมนุษย์ ชาติพันธุ์วิทยา และมานุษยวิทยา รวมทั้งการนำมาใช้เป็น biomarker ของโรคทางระบบประสาท (neuroscience degenerative diseases) ได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณฉัฐพงษ์ เสี่ยงพานิช ศูนย์นิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรที่ช่วยดำเนินการจัดเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอและวิเคราะห์หาอัตราการกลายพันธุ์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ และขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนงบประมาณเพื่อการวิจัยนี้

References

1. Budowle B, Allard MW, Wilson MR, Chakraborty R. Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. *Ann Rev of Genome Hum Genet* 2003; 4: 119–41.
2. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290: 457–65.
3. Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 1999; 23: 147.
4. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Proc Natl Acad* 1980; 77: 6715–19.
5. Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, Piercy R, Benson N, et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat Genet* 1994; 6: 130–35.
6. Herrnstadt C, Elson JL, Fahy E, Preston G, Turnbull DM, et al. Reduced median - network analysis of complete mitochondrial DNA coding-region sequences for the major African, Asian, and European haplogroups. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 1152–71.
7. Holland MM, Fisher DL, Mitchell LG, Rodriguez WC, Canik JJ, et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. *J Forensic Sci* 1993; 38: 542–53.
8. Jazin E, Soodyall H, Jalonen P, Lindholm E, Stoneking M, Gyllenstein U. Mitochondrial mutation rate revisited: hot spots and polymorphism. *Nat Genet* 1998; 18: 109–10.
9. Paabo S. Mutational hot spots in the mitochondrial microcosmos. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 493–96.
10. Parsons TJ, Muniec DS, Sullivan K, Woodyatt N, Alliston-Greiner R, et al. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nat Genet* 1997; 15: 363–68.
11. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 2002; 347: 576–80.
12. Stoneking M. DNA and recent human evolution. *Evol. Anthropol.* 1993; 2: 60–73.

13. Stoneking M. Hypervariable sites in the mtDNA control region are mutational hotspots. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 1029–32.
14. Tanaka M, Cabrera VM, Gonzalez AM, Larruga JM, Takeyasu T, et al. Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Res* 2004; 14: 1832–50.
15. Wakeley J. Substitution rate variation among sites in hypervariable region 1 of human mitochondrial DNA. *J Mol Evol* 1993; 37: 613–23.
16. Yao YG, Bravi CM, Bandelt HJ. A call for mtDNA data quality control in forensic science. *Forensic Sci Int* 2004; 141: 1–6.
17. Melton T, Dimick G, Higgins B, Lindstrom L, Nelson K. Forensic mitochondrial DNA analysis of 691 casework hairs. *J Forensic Sci* 2005; 50: 73–80.
18. Holland MM, Parsons TJ. Mitochondrial DNA sequence analysis—validation and use for forensic casework. *Forensic Sci Rev* 1999; 11: 21–50.
19. Nelson TM, Just RS, Loreille O, Schanfield MS, Podini D. Development of a multiplex single base extension assay for mitochondrial DNA haplogroup typing. *Croat Med J* 2007; 48: 460-72.
20. van der Walt JM, Dementieva YA, Martin ER, *et al.*, Analysis of European mitochondrial haplogroups with Alzheimer's disease risk. *Neurosci Letter* 2004; 365: 28-32.
21. Nicodemus KK, Martin ER, Scott WK, *et al.*, Mitochondrial polymorphisms significantly reduce the risk of Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 804-11.
22. William C Copeland. Mitochondrial DNA: Method and protocols. Human Press, New Jersey, 2002: p.3-50.
23. Sabine Lutz, Hans J Weisser, Jeannette Heizmann, Stefen Polak. Mitochondrial heteroplasmy among maternal related individuals. *Int J Legal Med* 1999; 113: 155-61.
24. Sabine Lutz, Hans J Weisser, Jeannette Heizmann, Stefen Pollak. Location and frequency of polymorphic positions in the mtDNA control region of individuals from Germany. *Int J Legal Med* 1998; 111: 67-77.
25. Thomas J Parsons, Michael D Coble. Increasing the forensic discrimination of the mitochondrial DNA testing through analysis of the entire mitochondrial DNA genome. *Croat Med J* 2001; 42: 304-9.

การสร้างคราบเลือดแปลกปลอมของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus* (= *Chrysomya*) *rufifacies* บนพื้นผิวที่แตกต่างกัน

นพวรรณ บุญชู *

คำรณพันธุ์ ทองวัฒน์ *

สุนิสา วังสุข *

แสงชัย นทีวรรณารถ **

บทคัดย่อ

การศึกษาเกี่ยวกับคราบเลือดแปลกปลอมที่แมลงวันหัวเขียวสร้างขึ้น มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากแมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงกลุ่มแรกที่ยังคงชีพและได้สร้างคราบเลือดแปลกปลอมทั้งไว้บนพื้นผิววัตถุพยานในสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งอาจทำให้เกิดการปะปนกับคราบเลือดที่มีความสำคัญในการพิสูจน์คดี ซึ่งก่อให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการสืบสวนได้ วัตถุประสงค์ในการศึกษานี้ เพื่อทราบถึงลักษณะการสร้างคราบเลือดของแมลงวัน ทั้งในด้านของ รูปแบบ จำนวน และขนาดของคราบเลือดที่เกิดจากการกระทำของแมลงวันหัวเขียว 2 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นแมลงวันหัวเขียวที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย คือ *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus* (= *Chrysomya*) *rufifacies* บนพื้นผิวที่แตกต่างกัน 5 ประเภท ได้แก่ ไม้อัด แผ่นพลาสติก ผ้าใยละเอียด กระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม และ โฟมอัดละเอียด โดยทำการเลี้ยงแมลงวันตัวเต็มวัยทั้ง 2 สายพันธุ์ ในกรงเลี้ยงที่บุด้วยพื้นผิวที่ทำการศึกษาดังกล่าวชนิด กรงละ 1 ตัว ภายในกรงมีเลือดหมูสดและน้ำกลั่นเป็นแหล่งอาหาร ทำการสังเกตการสร้างคราบเลือดของแมลงวันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการจำแนกลักษณะ นับจำนวน วัดขนาด และระบุขนาดในการสร้างคราบเลือดของแมลงวันบนพื้นผิววัสดุแต่ละชนิด เพื่อเปรียบเทียบกันระหว่างแมลงวันหัวเขียว 2 สายพันธุ์นี้ จากผลการศึกษาพบว่า คราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นสามารถจำแนกได้เป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ คราบเลือดที่เกิดจากการขับถ่าย คราบเลือดที่เกิดจากการสำรอก และคราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวของแมลงวัน โดยค่าเฉลี่ยของจำนวนคราบเลือดที่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *A. rufifacies* 1 ตัว สร้างในเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 57.34 และ 40.32 คราบ ตามลำดับ เป็นคราบเลือดที่เกิดจากการขับถ่าย การสำรอก และการเคลื่อนไหวของแมลงวัน คิดเป็นร้อยละ 61.79, 28.09 และ 10.12 ของจำนวนที่พบทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่งขนาดคราบเลือดแต่ละรูปแบบบนพื้นผิวแต่ละชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบการสร้างคราบเลือดของแมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์บนพื้นผิวโฟมมากที่สุด นอกจากนี้ ยังได้พบรูปแบบใหม่ของคราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวของแมลงวันซึ่งมีลักษณะคล้ายดอกไม้ อีกด้วย ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

คำสำคัญ : แมลงวันหัวเขียว คราบเลือดที่เกิดจากแมลงวัน นิติวิทยาศาสตร์

* คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

** คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

Production of Blood Stain Artifacts of *Chrysomya megacephala* and *Achoetandrus* (= *Chrysomya*) *rufifacies* on the Different Material Surfaces

Nophawan Bunchu *

Damrongpan Thongwat *

Sunisa Vlongsuk *

Saengchai Nateeworanart **

Abstract

Study of fly artifacts, produced by blow flies, is very important for forensic investigation because blow flies, the first insect fauna arriving at a corpse, produce some artifacts on surrounding surfaces of the crime scene that may alter the real blood stain evidences. The fly artifacts may be a cause of misinterpreted investigation of blood stain pattern in the crime scene. Currently, the study about blow fly artifacts is limited. Therefore, the objective of this study was to investigate pattern, number, and size of blood stains, produced by the two most forensically-important blow fly species of Thailand, *Chrysomya megacephala* and *Achoetandrus* (= *Chrysomya*) *rufifacies*, on 5 different material surfaces. *C. megacephala* and *A. rufifacies* adults were separately reared in a rearing cage. Each rearing cage was covered all the sides with one kind of the studied material surfaces. Fresh swine blood and distilled water in a separated container, as a food source, were placed in the center of the cage. After 24 hrs, the tested materials were examined for fly artifacts. Pattern, number, and size of blood stains produced by each fly species on each kind of studied materials were investigated. Fly artifacts were divided into 3 types including fecal spots, regurgitation spots and swiping stains. In general, mean numbers of fly artifacts, produced by *C. megacephala* and *A. rufifacies* were 57.34 and 40.32 spots, respectively. Totally, numbers of fecal spots, regurgitation spots, and swiping stains found in this study were found 61.79%, 28.09% and 10.12%, respectively. However, the artifact sizes on each kind of material surface produced by these blow fly species were not significantly difference. The results showed that the highest number of fly artifacts was found on the polystyrene foam surface. Moreover, the rosette – like form, the new character of swiping stains, was discovered in this study. The information from this study may be useful for applying in forensic entomology further.

Keywords: Blow fly, fly artifacts, Forensic Entomology

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

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

บทนำ

การศึกษาเกี่ยวกับคราบแปลกปลอมที่แมลงวันหัวเขียวสร้างขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งคราบเลือดในสถานที่เกิดเหตุมีความสำคัญเป็นอย่างมากในด้านนิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Entomology) เนื่องจากแมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงกลุ่มแรกที่มาถึงศพและมักสร้างคราบเลือดแปลกปลอมทั้งไว้บนพื้นผิวรอบบริเวณสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคราบเลือดที่มีอยู่ก่อนในสถานที่เกิดเหตุ จากการศึกษาเกี่ยวกับการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียวที่ผ่านมาพบว่า คราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นเป็นคราบที่เกิดจากการสำรอก การขับถ่าย และการเคลื่อนไหวก โดยคราบเลือดที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะคล้ายกับคราบกระเซ็นของเลือดที่เกิดจากการตายหรือการถูกทำร้ายของเหยื่อในคดีฆาตกรรม ดังนั้น คราบเลือดที่แมลงวันหัวเขียวสร้างขึ้นจึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการสืบสวนที่ต้องอาศัยข้อมูลของรูปแบบคราบเลือดที่พบในสถานที่เกิดเหตุในการพิสูจน์คดี (Bevel, & Gardner, 2002; Stirman, et al., 2011)

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียวยังคงมีอยู่อย่างจำกัด ไม่ครอบคลุมไปถึงวัตถุพยานทุกชนิดที่พบในสถานที่เกิดเหตุ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาดังกล่าว สามารถจำแนกคราบที่แมลงวันสร้างขึ้นได้เป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ (1) คราบที่เกิดจากการขับถ่ายของแมลงวัน (Fecal spots) มีลักษณะเป็นจุดกลม ขนาดเล็ก สีดำ ผิวด้านบนนูนและเรียบสม่ำเสมอ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5–4 มิลลิเมตร มี 3 สีที่แตกต่างกัน คือ สีครีม สีน้ำตาล และสีน้ำตาลเข้ม (2) คราบที่เกิดจากการสำรอกของแมลงวัน (Vomit/regurgitation spots) มีลักษณะเป็นจุดกลมขนาดเล็ก ตรงกลางนูน ด้านขอบนอกจะหนานูนเห็นได้ชัดเจน ผิวของคราบจะสะท้อนเห็นเป็นมันวาวภายใต้การสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจะเห็นว่าประกอบด้วยจุดขนาดเล็กจำนวนมาก เส้นผ่านศูนย์กลางของคราบชนิดนี้ ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร (3) คราบที่เกิดจากการเคลื่อนไหวกของแมลงวัน (Swiping stains) เป็นคราบที่เกิดจากการเคลื่อนไหวกของปลายขาของแมลงวันในระหว่างการขับถ่าย คราบลักษณะนี้ประกอบด้วย ส่วนตัว (body) และ ส่วนหาง (tail) ซึ่งแบ่งตามรูปร่างของคราบได้ 4 แบบ คือ คราบที่มีลักษณะคล้ายหยดน้ำตา (Tear drop-like) คล้ายอสุจิ (Sperm-like) คล้ายงู (Snake-like) และคล้ายลูกอ๊อด (irregular tadpole-like) โดยปกติแล้วเส้นผ่านศูนย์กลางของคราบที่เกิดจากการเคลื่อนไหวกของแมลงวันนั้นจะอยู่ในช่วง 4.8–9.2 มิลลิเมตร (James, & Eckert, 1999; Bevel, & Garder, 2002; Greenberg, & Kunich, 2002, Zuha, et al., 2008)

พฤติกรรมการกินและการขับถ่ายของแมลงวันหัวเขียวนั้นมีลักษณะที่เฉพาะตัว กล่าวคือ การกินอาหารของแมลงวันจะทำให้เกิดจุดเปื้อน เป็นคราบ และในเวลาต่อมาแมลงวันก็จะกลับมากินบริเวณคราบเดิมที่สร้าง

ไว้ โดยปรากฏเป็นจุดเล็ก ๆ ที่มีขนาดเล็กมากและรูปร่างไม่แน่นอน ด้วยเหตุนี้ แมลงวันจึงเป็นตัวแปรสำคัญที่ทำให้เกิดคราบเลือดแปลกปลอมขึ้นในสถานที่เกิดเหตุ เช่น บนร่างกาย เสื้อผ้า รวมไปถึงบนวัตถุอื่น ๆ รอบตัวผู้เคราะห์ร้าย อันเป็นหลักฐานที่ใช้วิเคราะห์ถึงสาเหตุการบาดเจ็บก่อนเสียชีวิต จากการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะการสร้างจุดคราบเลือดของแมลงวันพบว่า แมลงวันมักจะสร้างจุดเปื้อนในบริเวณที่ยังคงอบอุ่นอยู่ และลักษณะของจุดคราบเลือดบนพื้นผิววัตถุแต่ละชนิดมีลักษณะที่ไม่แน่นอน จึงต้องอาศัยหลักเกณฑ์ในการจำแนกรูปแบบของคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นเพื่อใช้ในการยืนยันต่อศาล เพื่อจำแนกความแตกต่างระหว่างรอยกระเด็นของเลือดซึ่งเป็นหลักฐานในการพิสูจน์คดีกับคราบเลือดแปลกปลอมที่เกิดจากการกระทำของแมลงวัน (Benecke, & Barksdale, 2003)

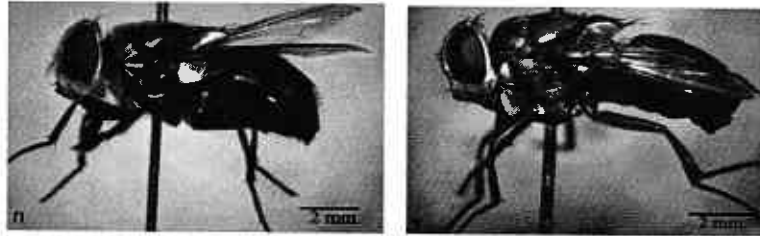
มีการศึกษาเกี่ยวกับการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในประเทศมาเลเซีย คือ *Chrysomya megacephala* พบว่า แมลงวันหัวเขียวชนิดนี้สามารถสร้างคราบเลือดที่แตกต่างกันได้ทั้ง 3 ลักษณะ ดังที่กล่าวข้างต้น (Zuha, et al., 2008) แต่การศึกษาดังกล่าวได้ทำการทดลองบนพื้นผิวกระดาษกราฟเท่านั้น นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียว *Calliphora vicina* และ *Lucilia sericata* บนพื้นผิวชนิดต่าง ๆ (Fujikawa, et. al., 2009; Striman, et. al., 2011) อย่างไรก็ตาม แมลงวันดังกล่าวไม่ใช่แมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ของประเทศไทย ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ จึงเพื่อทดสอบการสร้างคราบเลือดบนพื้นผิววัตถุที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ได้แก่ ไม้อัด แผ่นพลาสติก ผ้าฝ้ายละเอียด กระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม และโฟมอัดละเอียด ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *Achoetandrus* (= *Chrysomya*) *rufifacies* ซึ่งเป็นแมลงวันหัวเขียวที่พบมากที่สุดในประเทศไทย และมีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ของประเทศไทย (Suchrit, et al., 1976; Sucharit, & Tumrasvin, 1981; Sukontason, et al., 2008) ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

วิธีการศึกษาวิจัย

การเลี้ยงแมลงวัน *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies* ในห้องปฏิบัติการ

ทำการจับแมลงวันตัวเต็มวัยด้วยวิธีสวิงโบล โดยใช้เครื่องในหมูเน่าเป็นเหยื่อล่อ จากพื้นที่ในเขตตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก จำแนกชนิดของแมลงวันที่จับมาได้ โดยการทำให้สลบด้วยความเย็น แล้วจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยใช้กุญแจอนุกรมวิธานของ Tumrasvin et al. (1979) คัดเลือกเฉพาะแมลงวันชนิด *C. megacephala* (รูป 1ก) และ *A. rufifacies* (รูป 1ข) นำไปเลี้ยงในกรงสำหรับเลี้ยงแมลงวันที่หุ้มด้วยถุงผ้าตาข่ายขนาด 30x30x30 เซนติเมตร โดยในหนึ่งกรงจะทำการเลี้ยงแมลงวันเพศผู้และเพศเมีย เพศละ 50 ตัว เลี้ยงตัวเต็มวัยของแมลงวันด้วยสารละลายน้ำตาลผสมวิตามินรวม 10% (w/v) และดับหมูสดประมาณ 40

กรัมต่อกรง เพื่อเป็นแหล่งอาหาร โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงแมลงวันทุกวัน เมื่อแมลงวันวางไข่ที่คับหนุ ทำการย้ายไข่ของแมลงวันด้วยพู่กันไปยังกล่องพลาสติกขนาด 11x20x6 เซนติเมตร ที่มีช่องขนาด 6x13.5 เซนติเมตร ซึ่งบุด้วยผ้าตาข่ายสำหรับระบายอากาศอยู่บนฝากล่อง ไข่จะฟักเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อน ให้คับหนุสดเป็นอาหารตัวอ่อน จนกระทั่งตัวอ่อนเจริญเป็นดักแด้ จึงหยุคให้อาหาร และเมื่อพบดักแด้ฟักเป็นตัวเต็มวัยภายในกล่องเลี้ยง จึงนำกล่องดังกล่าวไปเปิดภายในกรงเลี้ยงแมลงวัน แล้วทำการเลี้ยงตัวเต็มวัยตามวิธีที่กล่าวข้างต้นต่อไป



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (ก) และแมลงวันหัวเขียว *Achoetandrus rufifacies* (ข)

การศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies*

การศึกษาการสร้างคราบเลือดแปลกปลอมของแมลงวันนั้นศึกษาในกรงขนาดเล็ก 15x15x15 เซนติเมตร ซึ่งหุ้มด้วยผ้าตาข่ายสีขาวที่ตัดเอาผ้าตาข่ายออกทั้งหมด 4 ด้าน เพื่อสำหรับใช้ติดพื้นผิววัตถุที่ทดสอบ ซึ่งประกอบด้วย ด้านแนวตั้งทั้งหมด 3 ด้าน และแนวราบ 1 ด้าน (พื้นกรง) โดยแต่ละด้านแบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วน วัตถุที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ประกอบด้วย ไม้อัด แผ่นพลาสติก ผ้าฝ้ายละเอียด กระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม และโฟมอัดละเอียด

ทำการศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *A. rufifacies* โดยย้ายแมลงวันจากกรงเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มายังกรงขนาดเล็กที่ติดพื้นผิววัตถุที่ทดสอบ กรงละ 1 ตัว วางขวดเลือดหมูสดและน้ำเปล่าที่มีสาลีพันปลายไม้จุ่มอยู่ อย่างละ 1 ขวด ขวดละ 100 มิลลิลิตร ที่บริเวณกึ่งกลางกรง เพื่อให้เป็นแหล่งของเลือดและน้ำที่แมลงวันจะนำไปทำให้เกิดคราบ เมื่อครบ 24 ชั่วโมง สังเกต จดบันทึกจำนวนคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นในแต่ละส่วนของกรงเลี้ยง จำแนกลักษณะขนาดคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นได้แก่ คราบเลือดที่เกิดจากการตำรอก การจับถ่าย และการเคลื่อนไหวของแมลงวัน ตามการศึกษาของ Zuhra et al. (2008) นับจำนวนและบันทึกลักษณะคราบเลือดที่พบ วัดขนาดคราบเลือดแต่ละลักษณะ โดยใช้วิธีการวัดขนาดเทียบกับตารางมาตรฐาน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Olympus, ประเทศญี่ปุ่น) ทำการศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันทั้งสองสายพันธุ์บนพื้นผิววัสดุละ 10 ชิ้น เพื่อหาค่าเฉลี่ยของขนาดคราบเลือดทั้ง 3

ลักษณะที่แมลงวันสร้างขึ้น ค่าเฉลี่ยของจำนวนคราบเลือดทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างขึ้นภายในเวลา 24 ชั่วโมง และเปรียบเทียบความแตกต่างในการสร้างคราบเลือดของแมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์

ผลการศึกษา

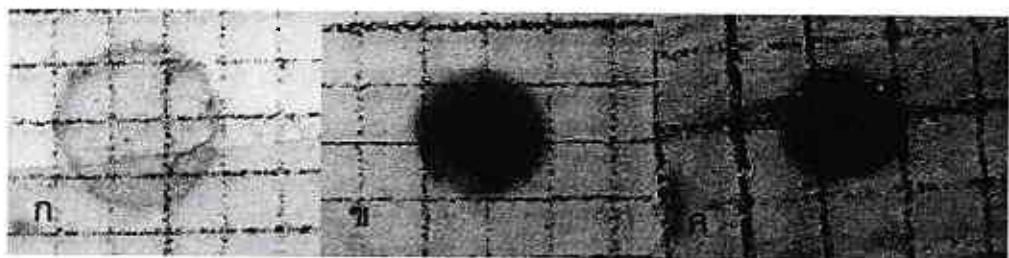
จากการศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียว 2 สายพันธุ์ คือ *C. megacephala* และ *A. rufifacies* บนพื้นผิววัตถุที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ได้แก่ ไม้อัด แผ่นพลาสติก ผ้าฝ้ายละเอียด กระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม และโฟมอัดละเอียด พบว่า แมลงวันหัวเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการสร้างคราบเลือดที่มีลักษณะเหมือนกัน ซึ่งจำแนกได้เป็น 3 ลักษณะ ได้แก่

(1) คราบเลือดที่เกิดจากการจับถ่ายของแมลงวัน มีลักษณะเป็นจุดกลมขนาดประมาณ 0.2-4 มิลลิเมตร พื้นผิวด้านบนของคราบเลือดจะมีลักษณะเรียบด้าน ไม่มันวาว มีความสม่ำเสมอ ซึ่งคราบเลือดลักษณะนี้มี 3 สี คือ สีครีม สีน้ำตาลอ่อน และสีน้ำตาลเข้ม (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ลักษณะตัวอย่างคราบเลือดที่เกิดจากการจับถ่ายของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies* ซึ่งมี 3 ระดับสีคือ สีครีม (ก) สีน้ำตาลอ่อน (ข) และสีน้ำตาลเข้ม (ค)

(2) คราบเลือดที่เกิดจากการสำรอกของแมลงวัน มีลักษณะเป็นจุดกลม ขนาดเล็กตั้งแต่ 0.2-5.5 มิลลิเมตร พื้นผิวด้านบนไม่เรียบสม่ำเสมอ เป็นมันวาว มีเม็ดขนาดเล็กกระจายอยู่ที่ผิวด้านบนของจุดคราบเลือด ซึ่งมี 3 สี คือ สีครีม สีน้ำตาลอ่อน และ สีน้ำตาลเข้ม เช่นเดียวกับจุดแมลงวันที่เกิดจากการจับถ่าย (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ลักษณะตัวอย่างคราบเลือดที่เกิดจากการสำรอกของแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies* ซึ่งมี 3 ระดับสีคือ สีครีม (ก) สีน้ำตาลอ่อน (ข) และสีน้ำตาลเข้ม (ค)

(3) คราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวของแมลงวัน ซึ่งมีความยาวตั้งแต่ 1.1 - 9.8 มิลลิเมตร และสามารถแยกรูปร่างที่แตกต่างกันเป็น 5 รูปแบบคือ

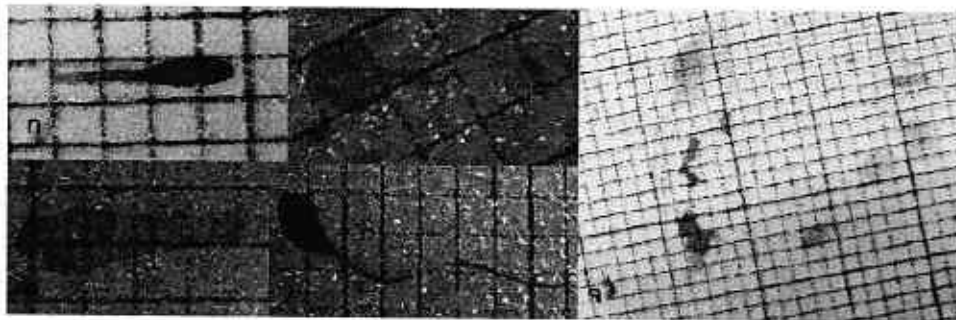
(3.1) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายหยดน้ำตา (Tear drop-like stain) โดยส่วนตัว (Body) จะมีลักษณะเป็นวงรีหรือกลม และส่วนหาง (Tail) จะมีความยาวไม่มากนัก (รูปที่ 4ก)

(3.2) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายอสุจิ (Sperm-like stain) มีลักษณะใกล้เคียงกับคราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายหยดน้ำตา แต่ส่วนหางจะมีความยาวมากกว่าส่วนตัว และที่ปลายสุดของส่วนหางจะมีจุดขนาดเล็ก 1 จุด (รูปที่ 4ข)

(3.3) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายงู (Snake-like stain) มีลักษณะที่ส่วนตัวและส่วนหางมีความกว้างที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งส่วนหางของคราบเลือกรูปแบบนี้จะกว้างกว่ารูปแบบอื่นๆ (รูปที่ 4ค)

(3.4) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายลูกอ๊อด (Tadpole-like stain) มีลักษณะที่ส่วนตัวที่เป็นวงรี และส่วนหางที่เรียวยาว (รูปที่ 4ง)

(3.5) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายดอกไม้ (rosette – like form) มีลักษณะกระจายตัวเป็นกลุ่มเป็นวงกลม แต่ละจุดคราบเลือดในกลุ่มมีลักษณะที่ไม่แน่นอน

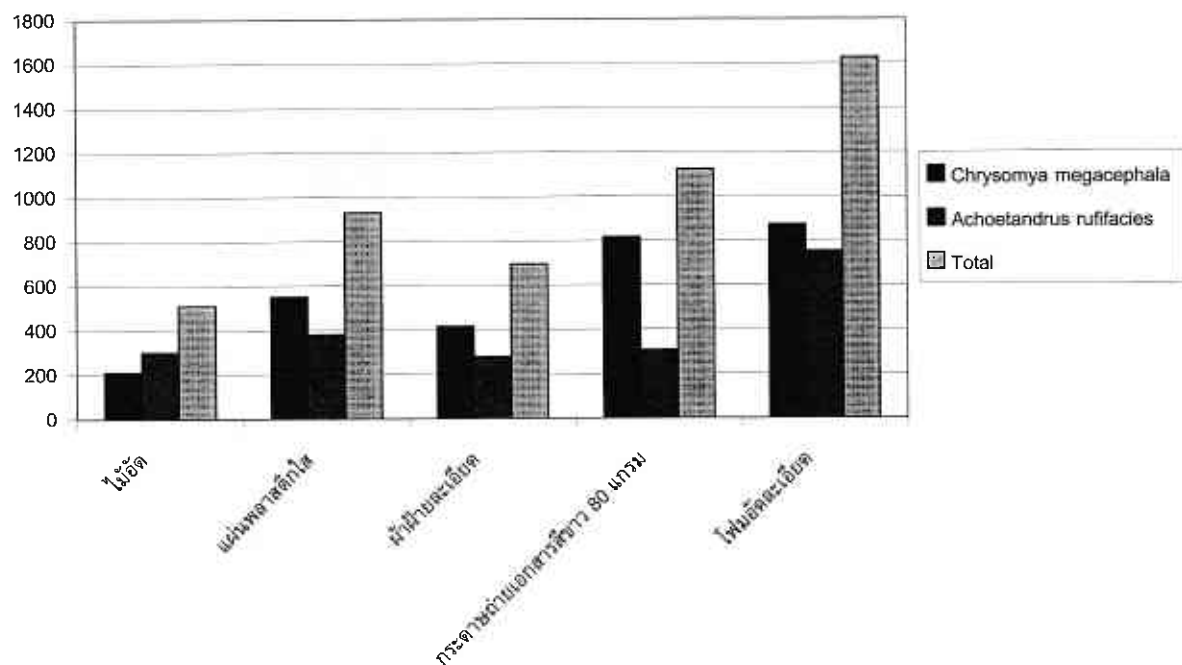


รูปที่ 4 ลักษณะคราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวของแมลงวันตัวเต็มวัยสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies* ทั้ง 5 รูปแบบ ที่พบในการศึกษา คือ คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายหยดน้ำตา (ก) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายอสุจิ ซึ่งวงกลมสีแดงแสดงจุดขนาดเล็กที่ปลายหาง (ข) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายงู (ค) คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายลูกอ๊อด (ง) และคราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายดอกไม้ (จ)

จากการศึกษาคราบเลือดของแมลงวันตัวเต็มวัยสายพันธุ์ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* พบว่าแมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างคราบเลือดทั้ง 3 ลักษณะ โดยเป็นคราบเลือดที่เกิดจากการขบกัดของแมลงวันมาก

ที่สุด รองลงมาคือคราบเลือดที่เกิดจากการสำรอก และคราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหว คิดเป็นร้อยละ 61.79 28.09 และ 10.12 ตามลำดับ

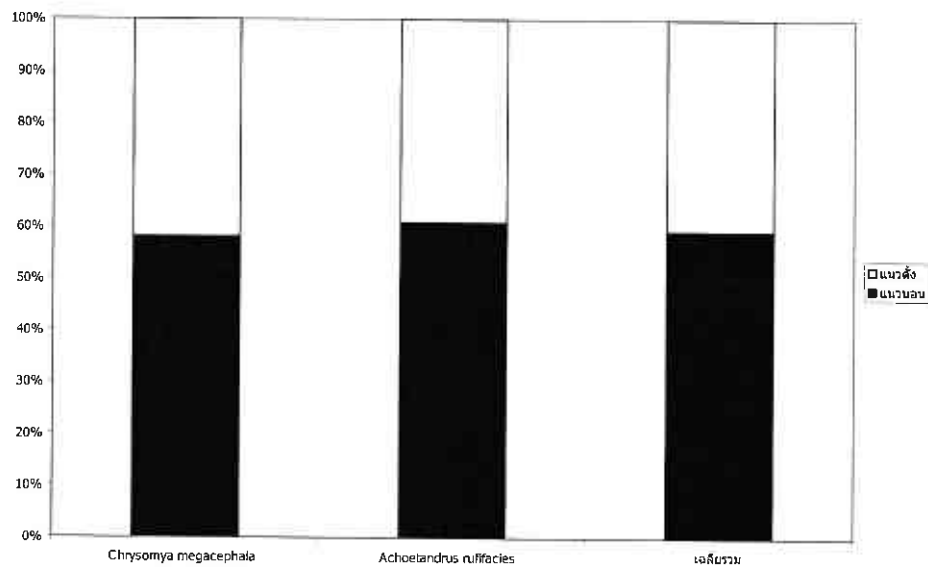
จากการสังเกตในเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าแมลงวัน *C. megacephala* 1 ตัว สร้างจำนวนคราบเลือดโดยเฉลี่ย 57.34 คราบ และแมลงวัน *A. rufifacies* สร้าง 40.32 คราบ โดยพบจำนวนการสร้างคราบเลือดบนผิว โฟมอัดละเอียดมากที่สุด ในแมลงวันหัวเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ รองลงมาคือกระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม แผ่นพลาสติกใส ผ้าฝ้ายละเอียด และไม้อัด ตามลำดับ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 กราฟแสดงจำนวนคราบเลือดทั้งหมดที่แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies* สร้างบนพื้นผิววัตถุแต่ละชนิดที่ใช้ทดสอบ

จากการวัดขนาดคราบเลือดที่แมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างขึ้น พบว่าคราบเลือดที่เกิดจากการขบถ่าย และการสำรอกของแมลงวันบนพื้นผิวผ้าฝ้าย มีขนาดโดยเฉลี่ยมากกว่าคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดอื่น และคราบเลือดทุกลักษณะบนพื้นผิวพลาสติกใสมีขนาดโดยเฉลี่ยน้อยที่สุด เมื่อนำข้อมูลด้านขนาดของคราบเลือดที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ลักษณะที่แมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างขึ้น มาเปรียบเทียบความแตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ T-Test พบว่า ขนาดของคราบเลือดแต่ละลักษณะที่แมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างขึ้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากนี้ จากการศึกษาระนาบที่แมลงวันหัวเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์

สร้างคราบเลือดพบว่า แมลงวันหัวเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ สร้างคราบเลือดบนระนาบแนวนอนของกรงเลี้ยงมากกว่าระนาบแนวตั้งดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 กราฟแสดงอัตราส่วนการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *Achoetandrus rufifacies* บนพื้นผิววัตถุทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ทดสอบ ในระนาบแนวนอนและแนวตั้ง

ตารางที่ 1 ขนาดของคราบเลือดที่สร้างขึ้นโดยแมลงวันหัวเขียว *C megacephala* และ *A rufifacies* บนพื้นผิววัตถุแต่ละชนิด

ลักษณะของคราบเลือด	ขนาดของคราบเลือดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)									
	ไม้อัด		แผ่นพลาสติกใส		ผ้าฝ้ายละเอียด		กระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม		โฟมอัดละเอียด	
	CM	AR	CM	AR	CM	AR	CM	AR	CM	AR
คราบเลือดที่เกิดจากการขับถ่ายของแมลงวัน	1.56	1.65	1.24	1.26	2.39	2.44	1.05	1.26	1.19	1.02
คราบเลือดที่เกิดจากการสำรอกของแมลงวัน	1.38	1.61	2.11	1.46	3.54	3.81	2.39	1.59	1.69	1.69
คราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวกของแมลงวัน	4.35	4.31	2.76	2.69	2.45	3.45	4.28	4.35	4.03	3.18

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *A. rufifacies* บนพื้นผิววัตถุที่แตกต่างกัน 5 ลักษณะ ได้แก่ ไม้อัด แผ่นพลาสติก ผ้าฝ้ายละเอียด กระดาษถ่ายเอกสารสีขาว 80 แกรม และโฟมอัดละเอียด พบว่า แมลงวันหัวเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการสร้างคราบเลือด 3 ลักษณะที่เหมือนกัน คือ คราบเลือดที่เกิดจากการขบถ่าย คราบเลือดที่เกิดจากการสำรอก และ คราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหว เช่นเดียวกับการศึกษาการสร้างคราบเลือดของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *C. megacephala* ในประเทศมาเลเซีย (Zuha, et al. 2008) นอกจากนั้น การศึกษาครั้งนี้ได้พบรูปแบบใหม่ของคราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวของแมลงวัน ที่มีลักษณะคล้ายดอกไม้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zuha et al. (2008) ซึ่งยังไม่มีกำหนดชื่อรูปแบบที่ชัดเจน ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงตั้งชื่อเพื่อใช้เรียกคราบเลือดในรูปแบบนี้ว่า คราบเลือดที่มีลักษณะคล้ายดอกไม้ (rosette – like form)

แมลงวันทั้งสองสายพันธุ์สร้างจำนวนคราบเลือดบนพื้นผิววัตถุทั้ง 5 ชนิด โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตาม พบการสร้างคราบเลือดบนพื้นผิวของโฟมอัดละเอียดมากที่สุดจากแมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก พื้นผิวโฟมอัดละเอียดมีความหยาบมากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นผิววัตถุอีก 4 ชนิดที่ทำการทดสอบ ทำให้แมลงวันเกาะที่ผิวโฟมได้ง่าย จึงทำให้มีการสร้างคราบเลือดมากที่สุดสำหรับขนาดของคราบเลือดที่พบบนพื้นผิววัตถุทั้ง 5 ชนิดนั้น พบว่า คราบเลือดที่เกิดจากการขบถ่ายและการสำรอกของแมลงวันบนผ้าฝ้ายมีขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนคราบเลือดบนพลาสติกใส่นั้นมีขนาดเล็กที่สุด ซึ่งเกิดจากความสามารถในการการดูดซับของเหลวที่แตกต่างกันของวัตถุแต่ละชนิด กล่าวคือ ในวัตถุทั้ง 5 ชนิดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ผ้าฝ้ายสามารถดูดซับของเหลวได้ดีที่สุด ดังนั้นเมื่อแมลงวันสร้างคราบเลือดบนพื้นผิวผ้าฝ้ายแล้ว คราบเลือดจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว ทำให้ขอบเขตของคราบเล็ดขยายขนาดขึ้นจากการกระทำของแมลงวันอีกเล็กน้อย โดยเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นผิวของพลาสติกใส ซึ่งเป็นวัตถุที่ไม่ดูดซับของเหลว เมื่อเกิดคราบเลือดขึ้นบนพื้นผิวพลาสติกแล้ว จุดคราบเลือดจะมีขนาดเท่ากับที่แมลงวันสร้างขึ้นจริงเท่านั้น ไม่มีการขยายขนาดซึ่งเกิดจากการดูดซึมดังที่กล่าวข้างต้น ฉะนั้น จะเห็นได้ว่าความสามารถในการดูดซึมของเหลวของวัตถุต่างๆ มีผลต่อขนาดของคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้ การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า แมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์ สร้างคราบเลือดที่ระนาบแนวนอนมากกว่าระนาบแนวตั้งของกรงเลี้ยง อาจเนื่องมาจากแหล่งอาหาร หรือเลือดที่ให้นั้นวางอยู่ที่พื้นกรง หรือเป็นผลจากพฤติกรรมในการกินอาหารของตัวแมลงวันเอง

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ลักษณะคราบเลือดที่เกิดจากการสร้างขึ้นของแมลงวันนั้น มีความหลากหลาย ซึ่งสามารถทำให้เกิดความสับสน หรือเข้าใจผิดว่าเป็นคราบเลือดที่เกิดจากการกระเซ็นที่เกิดจากการกระทำของคนร้ายในสถานที่เกิดเหตุได้ อันสอดคล้องกับการศึกษาของ Benecke & Barksdale (2003) เช่น คราบ

เลือดที่เกิดจากการขับถ่ายของแมลงวัน มีลักษณะที่คล้ายกับเลือดที่กระเซ็นในอัตราเร็วน้อยกว่า 1.5 เมตรต่อวินาที โดยเกิดจากแรงโน้มถ่วงของโลก ซึ่งพบได้จากการที่เลือดหยดจากมือหรืออาวุธ, คราบเลือดที่เกิดจากการสักรอกจะคล้ายคลึงกับคราบเลือดที่เกิดจากการทุบตีด้วยก้อนหรือขวาน และคราบเลือดที่เกิดจากการเคลื่อนไหวจะคล้ายคลึงกับคราบเลือดที่กระเซ็นจากการกระแทกอย่างรุนแรง เช่นเลือดที่กระเด็นจากการกระแทกด้วยอัตราเร็วมากกว่า 10 เมตรต่อวินาที เช่น การยิงด้วยอาวุธปืน เลือดลักษณะนี้จะกระเด็นในระยะน้อยกว่า 1 มิลลิเมตรจากจุดศูนย์กลาง ดังนั้นคราบเลือดจากการสร้างของแมลงวัน โดยเฉพาะแมลงวันหัวเขียวซึ่งมาถึงศพในสถานที่เกิดเหตุเป็นชนิดแรกนั้น เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความสับสนในการตีความพฤติการณ์ที่เกิดขึ้น ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลของคราบเลือดในสถานที่เกิดเหตุเป็นข้อมูลประกอบ ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้ สามารถสรุปข้อควรระวังในการจำแนกคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นได้ดังนี้คือ ควรระวังในการตรวจสอบคราบเลือดในพื้นที่วัตถุต่างๆ ในที่เกิดเหตุ เพราะมีโอกาสพบการปนเปื้อนคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นบนทุกพื้นผิววัตถุ โดยเฉพาะบริเวณแนวราบ (แนวนอน) จะพบการปนเปื้อนคราบเลือดที่มากกว่าแนวตั้ง โดยคราบเลือดที่สร้างขึ้นมีขนาดและรูปร่างคล้ายกับคราบเลือดที่กระเซ็นในอัตราเร็วต่างๆ ซึ่งปัจจุบันพบว่าทดสอบโดยใช้การตรวจเบื้องต้นทางเคมี เช่น การใช้ phenolphthalein (Hematrix®), leucocrystal violet, Sangur, Luminol, fluorescein และ DNA typing ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างคราบเลือดที่แมลงวันสร้างขึ้นกับคราบเลือดมนุษย์ที่เกิดขึ้นจริงในที่เกิดเหตุได้ (Benecke, & Barksdale, 2003; Fujikawa, et al., 2009) ข้อมูลทางด้านรูปแบบจำนวน และขนาดของคราบเลือดซึ่งเกิดจากแมลงวัน จะเป็นประโยชน์ยิ่งในการนำไปใช้เปรียบเทียบกับคราบเลือดที่พบในสถานที่เกิดเหตุ เพื่อการวินิจฉัยพฤติการณ์ที่เกิดขึ้นได้อย่างถูกต้อง อย่างไรก็ตาม การสร้างคราบเลือดของแมลงวันชนิดอื่น และการสร้างคราบเลือดบนวัตถุอื่นๆ นอกเหนือจากที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อประโยชน์ต่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้

References

1. Benecke, M., & Barksdale, L. (2003). Distinction of bloodstain patterns from fly artifacts. *Forensic Science International*, 137, 152-159.
2. Bevel, T., & Gardner, R.M. (2002). *Bloodstain Pattern Analysis: with an Introduction to Crime Scene Reconstruction* (2nd ed). Florida: CRC Press LLC.

3. Fujikawa, A., Barksdale, L., & Carter, D.O. (2009). *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) and their ability to alter the morphology and presumptive chemistry of bloodstain patterns. *Journal of Forensic Identification*, 59, 502-512.
4. Greenberg, B., & Kunich, J.C. (2002). *Entomology and the Law*. UK: Cambridge University Press.
5. James, S.H., & Eckert, W.G. (1999). *Interpretation of Evidence at Crime Scenes* (2nd ed). Florida: CRC Press LLC.
6. Striman, B., Fujikawa, A., Barksdale, L., & Carter, D.O. (2011). Alteration of expired bloodstain patterns by *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) through ingestion and deposition of artifacts. *Journal of Forensic Science*, 56, 123-127.
7. Sucharit, S., & Tumrasvin, W. (1981). The survey of flies of medical and veterinary importance in Thailand. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 32, 281-285.
8. Sucharit, S., Tumrasvin, W., & Vutikes, S. (1976). A survey on house flies in Bangkok and neighboring Provinces. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 7, 85-90.
9. Sukontason, K., Piangjai, S., Siri Wattanarungsee, S., & Sukontason, K.L. (2008). Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. *Journal of Parasitology Research*, 120, 1207-1216.
10. Tumrasvin, W., Kurahashi, H., & Kano, R. (1979). Studies on medically important flies in Thailand VII. Report on 42 species of calliphorid flies, including the taxonomic keys (Diptera: Calliphoridae). *The Bulletin of Tokyo Medical and Dental University*, 26, 243-272.
11. Zuha, R.M., Supriyani, M., & Omar, B. (2008). Fly artifact documentation of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) - a forensically important blowfly species in Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 25, 17-22.

ระยะเวลาในการเจริญและเติบโตของด้วงหนังสัตว์ *Dermestes maculatus* ที่บ้าน คลองหนองเหล็ก ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

แสงชัย ทิววรรณกร วรรณจิต คงรส *

ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์ วัชรินทร์ เทียนสันต์ อรัญญา จิรวินัยกุล *

อิทธิพล พลสวัสดิ์ ธนากร เสี่ยงล้ำ พัทธชัย สุริยะบุตร **

อนุกุล พิษณุวิวัฒน์ ***

บทคัดย่อ

ด้วงหนังสัตว์ (*Dermestes maculatus*) เป็นแมลงปีกแข็งที่มีความสำคัญในการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ด้วงชนิดนี้จะพบในระยะท้ายของการเน่าสลายของสิ่งมีชีวิต การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประมาณระยะเวลาในการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนี้ในเขตชุมชนบ้านคลองหนองเหล็ก ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ผลการศึกษาพบระยะเวลาในการเจริญจากด้วงตัวเต็มวัยเป็นตัวอ่อน ตัวอ่อนเป็นดักแด้และดักแด้เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 7.08 ± 2.00 , 22.14 ± 2.88 , 7.07 ± 1.71 วันตามลำดับ ข้อมูลจากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ของสถานที่ที่ทำการศึกษา

คำสำคัญ: ด้วงหนังสัตว์ ระยะเวลาการเจริญเติบโต

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** นิติเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

*** สำนักงานเลขานุการ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Growth and Developmental Duration of De Geer (*Dermestes maculates*) in Klong Nong Lek Village, Tha Po Sub-district, Phitsanulok City, Phitsanulok Province.

Saengchai Nateeworanart, Kunchit Kongros *

Chaiwat Chaisomboon, Arunya Jiraviriyakul, Watcharinthon Theansun*

Itthipon Ponsawat, Thanakorn Slanglam, Pittak Suriyabut**

Anukul pichayawiwat***

Abstract

De Geer (*Dermestes maculates*) is a kind of beetle that plays an important role in forensic investigation. It can be found in the late stages of creature decomposition. This study aims to estimate period of growth and development of this insect in an ambient area of Klong Nong Lek Village, Tha Po Subdistrict, Phitsanulok City, Phitsanulok Province. The results show that the developing time from adult insect to larva, larva to pupa and pupa to adult were 7.08 ± 2.00 , 22.14 ± 2.88 , 7.07 ± 1.71 days, respectively. Our data is useful for forensics study.

Keywords: De Geer, growth and development duration

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

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

*** The Secretariat of the Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok.

บทนำ

Dermestes maculatus De Geer (Hide beetle) หรือ ค้างคางด้งเป็นแมลงปีกแข็งที่จัดอยู่ใน Kingdom Animalia, Phylum Arthropoda, Class Insecta, Order Coleoptera, Infraorder Bostrichiformia, Superfamily Bostrichoidea และ Family Dermestidae¹⁻⁴ แมลงปีกแข็งชนิดนี้มีวงจรชีวิตแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) (รูป 1)

ด้วงชนิดนี้มีรายงานการพบทั่วโลก รวมทั้งมีการใช้เป็นหลักฐานประกอบในสถานที่เกิดเหตุทั่วโลก^{5, 6} โดย Sukontason และคณะรายงานพบด้วงชนิดนี้บนศพ 30 ร่างตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 ถึง 2006 ซึ่งด้วงถูกเก็บจากสถานที่เกิดเหตุบริเวณป่าไม้ทั้งในร่มและกลางแจ้ง เขตเมืองและชานเมือง สำหรับกรณีศึกษาที่เกิดใน Bukit Mertajam, Penang, Malaysia พบด้วงชนิดนี้บนซากศพของผู้ตายรายหนึ่ง จากการประมาณจากตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของด้วง *D. ater* (De Geer) คาดว่าผู้ตายน่าจะตายมาแล้ว 14 วัน⁷ ส่วนกรณีศึกษาที่สองเป็นศพเพศหญิงที่ศพพบนอนด้วงคางคาง *D. maculatus* จำนวนมาก จากเอกสารวงจรชีวิตของด้วงคางคางคิดค่า PMI ได้ประมาณ 19-24 วัน (ระยะเวลาที่ด้วงเริ่มเข้าทำลายศพ 11 วัน⁸ + ระยะไข่ 1 - 6 วัน + อายุหนอนที่พบในศพ 7 วัน) ต่อมาเมื่อเจ้าหน้าที่ตำรวจจับตัวฆาตกรได้ คำสารภาพของฆาตกรทำให้ทราบระยะเวลาการตายที่แท้จริงคือ 22 วัน⁹ นอกจากนี้ Schroeder และคณะตั้งข้อสังเกตถึงการพบมูลของด้วงคางคาง (frass) ว่า สามารถชี้ให้เห็นถึงร่องรอยของการมาที่ศพของแมลงชนิดนี้ได้ โดยมูลของด้วงคางคางมีสีน้ำตาลดำ มีลักษณะคล้ายเส้นใยคล้ายขนม้า¹⁰

เนื่องจากด้วงชนิดนี้มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะเวลาที่ด้วงคางคางใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อประมาณเวลาในการตายสำหรับใช้เป็นข้อมูลทางนิติวิทยาศาสตร์สำหรับพื้นที่ที่ทำการศึกษา

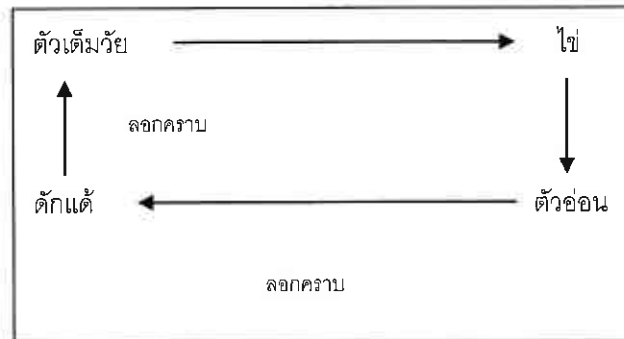
วิธีการศึกษาวิจัย

สถานที่เก็บตัวเต็มวัยในการศึกษา

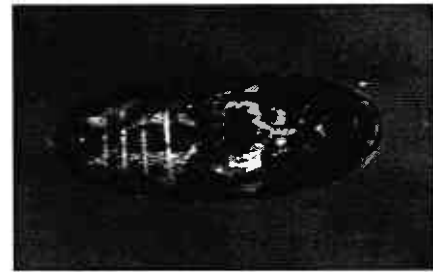
นำศพไก่ทั้งในเขตที่อยู่อาศัย บ้านคลองหนองเหล็ก ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ทำการเก็บแมลงตัวเต็มวัยที่มาที่ศพทุกวัน และนำมาเลี้ยงในเรือนเพาะเลี้ยงที่ตั้งอยู่บริเวณใกล้กับที่ทั้งศพ บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

การศึกษาระยะเวลาในการเจริญเติบโตของตัวอ่อนและตัวเต็มวัย

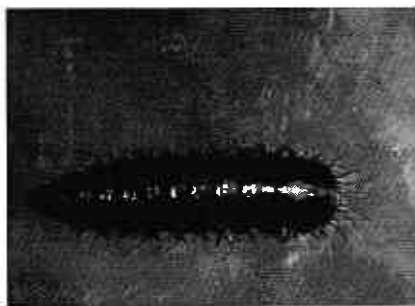
นำด้วงหนังสือที่เก็บจากศพไก่มาเพาะเลี้ยงในกล่องเลี้ยง โดยให้ปลาแห้งและน้ำอย่างเพียงพอ สังเกตการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต จดบันทึกระยะเวลาที่ด้วงหนังสือใช้การเจริญและเปลี่ยนแปลงรูปร่าง



รูปที่ 1 วงจรชีวิตของด้วงหนังสือ



รูปที่ 2 ตัวเต็มวัยของด้วงหนังสือที่เก็บจากซากไก่ (ซ้าย: dorsal view; ขวา: ventral view)



รูป 3 ตัวอ่อนของด้วงหนังสือ

รูป 4 ตัวเต็มวัยของด้วงหนังสือจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษาวิจัย

ผู้วิจัยทำการเพาะเลี้ยงแมลงในช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคมที่อุณหภูมิของอากาศในการศึกษานี้ อยู่ระหว่าง 26.67 ± 1.74 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 79.31 ± 6.9 %

การศึกษานี้พบด้วงหิ้งสัตว์ในช่วง active advance และ dry ของการย่อยสลายศพ โดยจะเริ่มพบแมลงชนิดนี้ในวันที่ 6-9 หลังจากเริ่มทิ้งศพไก่ เมื่อนำตัวเต็มวัยมาทำการเพาะเลี้ยง 2 generation ผู้วิจัยพบระยะเวลาตัวเต็มวัยออกไข่และไข่ฟักเป็นตัวอ่อนใช้เวลา 7.08 ± 2.00 วัน และตัวอ่อนเป็นดักแด้คือ 22.14 ± 2.88 วัน ในขณะที่ระยะเวลาจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 7.07 ± 1.71 วัน (รูปที่ 2-4 และ ตาราง 1)

ตาราง 1 แสดงระยะเวลาในการเจริญเติบโตของด้วงหิ้งสัตว์ที่เลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยง

การเจริญเติบโตของด้วงหิ้งสัตว์	ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต(วัน)
ตัวเต็มวัยออกไข่และไข่ฟักเป็นระยะตัวอ่อน	7.08 ± 2.00
ระยะตัวอ่อนไปเป็นระยะดักแด้	22.14 ± 2.88
ระยะดักแด้ไปเป็นระยะตัวเต็มวัย	7.07 ± 1.71
รวมระยะเวลาในการเจริญ	36.29 ± 6.59

สรุปและอภิปรายผลการศึกษาวิจัย

การศึกษานี้ ผู้วิจัยทำการศึกษาระยะเวลาในการเจริญเติบโตของด้วงหิ้งสัตว์ที่เลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยงในเขตชุมชนบ้านคลองหนองเหล็ก ต. ท่าโพธิ์ อ. เมือง จ. พิจิตร พบว่าระยะเวลาตัวเต็มวัยออกไข่และไข่ฟักเป็นตัวอ่อนใช้เวลา 7.08 ± 2.00 วัน และตัวอ่อนเป็นดักแด้คือ 22.14 ± 2.88 วัน ในขณะที่ระยะเวลาจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 7.07 ± 1.71 วัน ซึ่งสอดคล้องกับชุมพล กันทะที่ระยะเวลาในการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนี้คือ ไข่ของด้วงชนิดนี้ใช้เวลา 1-6 วัน ในการเจริญเป็นตัวอ่อน ระยะตัวอ่อนใช้เวลา 18 วัน ระยะดักแด้ใช้เวลา 6 วัน ระยะเวลาจากไข่ เป็นตัวเต็มวัยประมาณ 30 วัน^{8,11} ในขณะที่ Tassanee Jamjanya และคณะเก็บตัวอ่อนที่เก็บจากซากศพในสถานที่เกิดเหตุ และทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ คณะผู้วิจัยพบว่าไข่ของด้วงใช้เวลา 2.4 ± 0.67 วันในการฟักเป็นตัวอ่อน จากนั้นตัวอ่อนจะลอกคราบ 5 ครั้งใช้เวลา 23.38 ± 1.85 วัน ในระยะ prepupa ใช้เวลา 2.94 ± 0.89 วัน pupa ใช้เวลา 6.23 ± 0.55 วัน รวมระยะที่ครบวงจรชีวิตใช้เวลา 32.01 ± 1.92

วัน¹² ส่วนการศึกษาระยะเวลาในการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนี้ทางภาคใต้ของประเทศไทยโดย สุวดี มัจฉา พบระยะไข่ใช้เวลา 2.6 ± 0.05 วัน ตัวอ่อนใช้เวลา 38 ± 0.46 วัน ดักแด้ใช้เวลา 6.4 ± 0.06 วัน รวมระยะเวลาจากไข่เจริญไปเป็นตัวเต็มวัย 46.90 ± 0.44 วัน¹³

การศึกษานิติเวชของแมลงที่พบบนศพ มีประโยชน์ในนิติวิทยาศาสตร์ โดยชนิดและเวลาที่ใช้ในวงจรชีวิตแมลงจะช่วยการประมาณเวลาหลังการตาย (post mortem interval; PMI) ซึ่งจะใช้ประกอบเป็นหลักฐานร่วมกับการตรวจทางนิติเวชอื่นเช่น การตรวจร่างกายศพ การตรวจทางพยาธิวิทยา การตรวจทางนิติเซโร โลยี และการตรวจทางอนุวิทยา เป็นต้น

ในทางนิติกีฏวิทยามีการแบ่งช่วงการเน่าสลายของศพที่แตกต่างกัน แต่การศึกษานี้แบ่งเน่าสลายของศพตามรายงานของ Apichat และคณะ ซึ่งแบ่งระยะการเน่าสลายของศพเป็น 5 ระยะได้แก่ระยะ fresh, bloat, active, advance และ dry²⁸ โดยส่วนใหญ่ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ของแมลงวันจะพบในระยะต้นของการเน่าสลาย ส่วนแมลงปีกแข็งรวมทั้ง *D. maculatus* จะพบในระยะ advance และ dry โดยผลการศึกษาดังกล่าวได้จากการศึกษาศพ ถึง กระต่าย หนู rat และหมู¹⁴⁻²⁵ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้ซึ่งพบด้วงหนังสือในการย่อยสลายของศพช่วง active advance และ dry

นอกจากการประมาณเวลาหลังการตายแล้ว สัตว์ขาข้อที่พบบนศพยังถูกนำมาใช้ในการตรวจพิษวิทยาเพื่อหาสารพิษ ยาฆ่าแมลงและสารเสพติดจากศพได้^{26, 27} ดังมีรายงานการตรวจสาร morphine ในแมลงปีกแข็งกลุ่ม Coleoptera ซึ่งได้แก่ *D. frischeri* และ *Thanatophilus sinuatus* โดยการตรวจสารพิษในระยะตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงปีกแข็งทั้งสองชนิดดังกล่าว พบว่าระยะตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของ *D. frischeri* ตรวจพบสารเสพติดได้ ในขณะที่ *T. sinuatus*²⁸ พบ morphine ในบางระยะเท่านั้น (2nd และ 3rd instar larvae) โดย Gagliano-Candela และ Aventaggiato แนะนำการตรวจสารพิษจากแมลงกินศพควรตรวจด้วยวิธีที่มีความไวและจำเพาะเช่น GC-MS และ HPLC-MS มากกว่าการตรวจด้วย immunoenzyme essay นอกจากนี้บทความยังระบุว่า หากศพมีสาเหตุการตายจากการได้รับยาหรือสารพิษ ความเข้มข้นของยาและสารพิษที่ตรวจจากแมลงปีกแข็งจะพบปริมาณที่ต่ำกว่าที่พบในตัวอ่อน หนอนและดักแด้ของแมลงวัน ถึงแม้ว่าด้วงจะกินไข่หรือตัวอ่อน หนอนแมลงวันก็ตาม²⁹ นอกจากนี้ Miller และคณะพบว่า ด้วงในกลุ่ม dermestidae จะตรวจสารพิษจากศพที่แห้งได้ดีเพราะด้วงจะกินผิวหนังซากศพที่แห้งเป็นอาหาร³⁰

ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้แมลงเพื่อการประมาณเวลาในการตาย ได้แก่ อุณหภูมิ สภาพและระยะเวลาการตายของศพ ความชื้นและกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรียย่อยสลายศพ ในการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *D. maculatus* พบว่าที่อุณหภูมิ 15°C ตัวอ่อนด้วงไม่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัย และที่ 20°-35°C แมลงชนิดนี้จะมีอัตราการรอดชีวิตอยู่ในช่วง 93-36% ระยะเวลาในการรอดชีวิตพบด้วงนี้จะมีช่วงเวลารอดชีวิต 89-36 วันในช่วงอุณหภูมิเดียวกันนี้ ดังนั้นการประมาณเวลาหลังการตายจะต้องคำนึงถึงอุณหภูมิในสถานที่เกิดเหตุด้วย การศึกษาที่ผู้วิจัยทำการเพาะเลี้ยงแมลงในช่วงเดือน พฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายนที่อุณหภูมิของอากาศในการศึกษานี้อยู่ระหว่าง 26.67 ± 1.74 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 79.31 ± 6.9 % ส่วนการศึกษาของสุวดี มัจฉา¹³ ที่อุณหภูมิของอากาศในการศึกษานี้อยู่ระหว่าง 27.60 ± 0.8 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 79.31 ± 4.0 % ซึ่งผลการศึกษามีความแตกต่างกันอยู่บ้างทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่แตกต่างกันของภูมิอากาศของภาคเหนือตอนล่างและภาคใต้มีความแตกต่างกัน

D. maculatus เป็นแมลงอีกชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ในทุกฤดูกาล^{16, 31-33} ดังนั้น การศึกษาชีววิทยาและวงจรชีวิตของด้วงหนังสัตว์ในแต่ละสภาวะอากาศและสิ่งแวดล้อมที่แมลงชนิดนี้อาศัยเพื่อใช้เป็นวัตถุพยานในทางนิติวิทยาศาสตร์จึงมีความสำคัญในทุกพื้นที่ของประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณพิสิษฐ แสงอนันตการ คุณสุรีพร นาคอ้ง ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการอำนวยความสะดวกการถ่ายภาพสำหรับใช้ในการประกอบเนื้อหาของงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณอาจารย์ Matthew Robert Furcison สถาบัน NULC มหาวิทยาลัยนเรศวรในการตรวจสอบความถูกต้องของบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

References

1. Dermestes maculatus - BugGuide.Net. Identification, images, & information for insects, spiders & their kin for the United States & Canada. 2006. Access at <http://bugguide.net/node/view/39726/bgpage>. on July 5, 2010.
2. Shaver B, Kaufman P. Hide beetle Dermestes maculatus DeGeer 2008. Access at <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/TN/TN83600.pdf> on July 5, 2010.
3. Dermestes maculatus DeGeer, 1774. Access at <http://www.dermestidae.com/Dermestesmaculatus.html> on July 5, 2010.

4. Gernard DE. Forensic entology: an introduction. 1st ed. UK: John Wiley and sons ltd. 2007.
5. Sukontason K, Narongchai P, Kanchai C, Vichairat K, Sribanditmongkol P, Bhoopat T, et al Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. Parasitol Res 2007; 101(5): 1417-23.
6. Kulshrestha P, Satpathy DK. Use of beetles in forensic entomology. Forensic Sci Int. 2001 ; 120(1-2): 15-7.
7. Kumara TK, Abu Hassan A, Che Salmah MR, Bhupinder S. The infestation of *Dermestes ater* (De Geer) on a human corpse in Malaysia. Trop Biomed 2009; 26(1): 73-9.
8. Richardson MS, Goff ML. Effects of temperature and intraspecific interaction on the development of *Dermestes maculatus* (Coleoptera: Dermestidae). J Med Entomol 2001 ; 38(3): 347-51.
9. นภาพร ศรีตะวานิช, ทศนีย์ แจ่มจรรยา, ยุพา หาญบุญทรง, อัมพร แจ่มสุวรรณ. การประยุกต์ใช้นิติภูมิวิทยาในการประมาณระยะเวลาหลังการตาย วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ฉบับบัณฑิตศึกษา 2550; 7(2): 1-5.
10. Schroeder H, Klotzbach H, Oesterhelweg L, Püschel K. Larder beetles(Coleoptera: Dermestidae) as an accelerating factor for decomposition of a human corpse. Forensic Sci Int 2002; 127(3): 231-6.
11. ชุมพล กันทะ. หลักการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บ. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2533
12. Jamjanya T, Sritavanich N, Jansuwan A, Hanboonsong Y. The use of Dermestid to evaluate post-mortem interval. The 2nd international conference on forensic science and medical science, July 28th-29th,2007. Naresuan university, Phitsanulok, Thailand.116 .
13. สุวดี มัจฉา. การศึกษาระยะเวลาการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตของด้วง *Dermestes maculates* De Geer (Coleoptera: Dermestidae) จาก [http://www. Scimth.org/component/show/586](http://www.Scimth.org/component/show/586) สืบค้นวันที่ 10 มีนาคม พศ. 2554
14. Apichat V, Wilawan P, Udomsak T, Chanasorn P, Saengchai N. A preliminary study on insects associated with pig (*Sus scrofa*) carcasses in Phitsanulok, northern Thailand. Trop Biomed 2007; 24(2): 1-5.
15. Sukontason KL, Narongchai P, Sukontason K, Methanitikorn R, Piangjai S.Forensically important fly maggots in a floating corpse: the first case report in Thailand. J Med Assoc Thai 2005 ; 88(10): 1458-61.
16. Arnaldos MI, Garcia MD, Romera E, Presa JJ, Luna A. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. Forensic Sci Int 2005 ; 149(1): 57-65.
17. Valdes-Perezgasga MT, Sanchez-Ramos FJ, Garcia-Martinez O, Anderson GS. Arthropods of Forensic Importance on Pig Carrion in the Coahuilan Semidesert, Mexico. J Forensic Sci 2010; 55(4): 1098-101.
18. Velásquez Y. A checklist of arthropods associated with rat carrion in a montane locality of northern Venezuela. Forensic Sci Int 2008; 174(1): 68-70.

19. Tantawi TI, eL-Kady EM, Greenberg B, el-Ghaffar HA. Arthropod succession on exposed rabbit carrion in Alexandria, Egypt. *J Med Entomol.* 1996; 33(4): 566-80.
20. Bharti M, Singh D. Insect faunal succession on decaying rabbit carcasses in Punjab, India. *J40.*
21. Richardson MS, Goff ML. Effects of temperature and intraspecific interaction on the development of *Dermestes maculatus* (Coleoptera: Dermestidae). *J Med Entomol* 2001 ; 38(3): 347-51.
22. Carvalho LM, Thyssen PJ, Linhares AX, Palhares FA. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000 ; 95(1): 135-8.
23. Kulshrestha P, Satpathy DK. Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Sci Int* 2001; 120(1-2): 15-7.
24. Arnaldos MI, García MD, Romera E, Presa JJ, Luna A. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Sci Int* 2005; 149(1): 57-65.
25. Oliva A. Insects of forensic significance in Argentina. *Forensic Sci Int* 2001; 120(1-2): 145-54.
26. Gomes L, Gomes G, Desuó IC. A preliminary study of insect fauna on pig carcasses located in sugarcane in winter in southeastern Brazil. *Med Vet Entomol* 2009; 23(2): 155-9.
27. Introna F, Campobasso CP, Goff ML. Entomotoxicology. *Forensic Sci Int* 2001; 120(1-2): 42-7.
28. Lan LM, Liao ZG, Chen YQ, Yao Y, Li JB, Li MY, Cai JF. Advances of forensic entomology in China. *A Yi Xue Za Zhi* 2006 ; 22(6): 448-50.
29. Bourel B, Tournel G, Hédouin V, Goff ML, Gosset D. Determination of drug levels in two species of necrophagous Coleoptera reared on substrates containing morphine. *J Forensic Sci* 2001; 46(3): 600-3.
30. Gagliano-Candela R. Avenaggiato L. The detection of toxic substances in entomological specimens. *Int J Legal Med* 2001; 114(4-5): 197-203.
31. Miller ML, Lord WD, Golf ML, Donnelly B, McDonough ET, Alexis JC. Isolation of amitriptyline and nortriptyline from flypuparia (*Phoridae*) and beetle exuviae (*Dermatidae*) associated with mummified human remains. *J Forensic Sci* 1994; 39: 1305-13.
32. Wang J, Li Z, Chen Y, Chen Q, Yin X. The succession and development of insects on pig carcasses and their significances in estimating PMI in south China. *Forensic Sci Int* 2008; 179: 11-8.
33. รักนิษฐา พลลีลา. ศีรษะสัตว์กับการใช้ประโยชน์ในงานนิติวิทยาศาสตร์. *วารสารนิติเวชศาสตร์.* 2554; 3(3): 141-57.
34. แสงชัย นทีวรณารอด , อภิชาติ วิทย์ตะ. ศีรษะสัตว์ (*Dermestes maculatus*) *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2553; 38(2): 3190-202.

ความยาวของ Cephalopharyngeal skeleton ของ *Chrysomya rufifacies* ระยะ third instar larvae ที่เก็บจากมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์ แสงชัย นทวรรณอด อรัญญา จิระวิริยะกุล *

อิทธิพล พลสวัสดิ์ ธนกร เสี่ยงล้ำ พัทธ์ชัย สุริยะบุตร **

บทคัดย่อ

Chrysomya rufifacies เป็นหนึ่งในแมลงวันหัวเขียวที่มีความสำคัญมากที่สุดที่พบในหลายส่วนทั่วโลก ตัวอ่อนของแมลงวันนี้มักพบบนศพของมนุษย์ ซึ่งนักนิติวิทยาศาสตร์สามารถใช้ตัวอ่อนเหล่านี้ประมาณเวลาหลังการตาย (postmortem interval; PMI) ได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดส่วนต่าง ๆ ของ cephalopharyngeal skeleton (CS) ของแมลงวันชนิดนี้ในระยะ third instar larva โดยตัวอย่างหนอนตัวอ่อนจะถูกย่อยและทำให้เห็นส่วนของ CS ใน 10% KOH จากนั้นวัด CS ด้วย ocular micrometer ผลการศึกษาพบ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความยาวของ pharyngeal sclerite (PS), mouthhook-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite (MH-DC), pharyngeal sclerite-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite (PS-DC), mouthhook-ventral (cornua) of pharyngeal sclerite (MH-VC), mouthhook-vertical plate (MH-VP) และ sclerite เท่ากับ 195.18 ± 23.83 , $1,421.05 \pm 69.88$, $1,132.89 \pm 79.36$, $1,300.00 \pm 78.77$, $1,231.14 \pm 65.34$ และ 57.41 ± 13.85 ไมโครเมตร ตามลำดับ ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถช่วยในการแยกชนิดของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* กับแมลงวันหัวเขียวอื่น ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ในการประมาณเวลาหลังการตายในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

คำรหัส: *Chrysomya rufifacies* cephalopharyngeal skeleton มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** นิติสาขาเทคนิคการแพทย์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Length of Cephalopharyngeal Skeleton of *Chrysomya rufifacies*, Third Instar Larvae, Collected from Naresuan University, Phitsanulok Province

Chaiwat Chaisomboon, Saengchai Nateeworanart, Arunya Jiraviriyakul *

Itthipon Ponsawat, Thanakorn Sienglum, Pitak Suriyabut **

Abstract

Chrysomya rufifacies is one of the most important blowfly species in a multifarious part of the world. The fly larvae are often found in human corpses, and it is used by forensic entomologist to estimate the postmortem interval (PMI). The objective of this study was to measure the various parts of the cephalopharyngeal skeleton (CS) taken from third instar larva of this fly. The specimens were digested and cleared for a better visualization in 10% KOH. Then the cleared sample was measured its CS by using an oculo micrometer. The results show that the mean $\pm$ standard deviation of length of pharyngeal sclerite (PS), mouthhook-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite (MH-DC), mouthhook-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite or length pharyngeal sclerite-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite (PS-DC), mouthhook-ventral cornua of pharyngeal sclerite (MH-VC) mouthhook-vertical plate (MH-VP) and sclerite are 195.18 ± 23.83 , $1,421.05 \pm 69.88$, $1,132.89 \pm 79.36$, $1,300.00 \pm 78.77$, $1,231.14 \pm 65.34$ and 57.41 ± 13.85 micrometers, respectively. The data results are useful for identifying *C. rufifacies* that lead to estimate PMI in studied area.

Keywords: *Chrysomya rufifacies*, cephalopharyngeal skeleton, Naresuan University, Phitsanulok province

* Department of Medical Technology, Naresuan University, Phitsanulok.

** Student of Medical Technology, Department of Medical Technology, Naresuan University, Phitsanulok.

บทนำ

แมลงวันหัวเขียว (Blow fly) เป็นแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ ด้วยพฤติกรรมของแมลงวันตัวเมียที่มักจะวางไข่บนสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว การพบตัวอ่อนหนอนแมลงวันชนิดนี้จึงสามารถประยุกต์ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อประมาณระยะเวลาหลังการตาย (postmortem interval: PMI) ของศพได้¹

Chrysomya rufifacies เป็นแมลงวันหัวเขียวที่พบมากในระยะแรกของกระบวนการเน่าเปื่อยของศพ มีรายงานการพบแมลงวันชนิดนี้นับจากศพทั่วโลก การศึกษาในประเทศไทยที่ผ่านมาพบแมลงวัน *Chrysomya megacephala* และ *C. rufifacies* เป็นกลุ่มที่พบมากและมีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย^{1,2}

Cephalopharyngeal skeleton (CS) เป็นอวัยวะหนึ่งของตัวอ่อนหนอนแมลงวันด้าน anterior ที่สามารถแยกกลุ่มของแมลงวันได้³ ผู้วิจัยจึงทำการวัดส่วนประกอบของ CS เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของการศึกษานิติวิทยาศาสตร์ของพื้นที่โดยรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ผู้วิจัยทำการเก็บตัวอย่างโดยใช้ซากไก่เน่าเป็นเหยื่อล่อให้แมลงวันตัวเมียวางไข่ โดยการวางเหยื่อล่อ 5 จุดรอบมหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างหนอนในวันที่ 3 ของการวางเหยื่อ โดยเลือกเฉพาะตัวอ่อนระยะ third stage larva ของแมลงวันหัวเขียวเท่านั้นมาเพื่อการศึกษาต่อไป จากนั้นทำการแยกชนิดของ *C. rufifacies* จากลักษณะภายนอกจาก key และรายงานที่เคยมีการศึกษาที่ผ่านมา¹⁻⁵ โดยใช้ตัวอ่อนหนอน *C. rufifacies* จำนวน 72 ตัว ในการวัดความยาวของส่วน CS

การวัดความยาวของตัวอ่อนหนอนแมลงวันและส่วน CS

1. วัดขนาดหนอนแมลงวันชนิด *C. rufifacies* โดยใช้ vernier caliper และเลือกใช้ตัวที่มีขนาดความยาว 1.00 – 1.35 เซนติเมตร ความกว้าง 0.20 – 0.35 เซนติเมตร
2. ตัดส่วนหัวของตัวอ่อนหนอนแมลงวันโดยตัดจากส่วนปลายถึงปล้องที่ 3 (รูปที่ 1)
3. นำส่วนหัวของหนอนแมลงวันแช่ในสารละลาย 10% KOH ข้ามคืน
4. ทำการ dehydration ส่วนหัวของหนอนแมลงวันโดยแช่ใน ethanol ร้อยละ 35, 50, 70, 80, 95 และ 100 เป็นเวลา ความเข้มข้นละ 30 นาที จากนั้นแช่ใน ethanol xylene (S.E. Supply LTD., PART) นาน 30 วินาที

5 Mount ส่วนหัว โดยใช้ permount (Permount, Fisher Chemical, UN 1993)

6 วัดส่วน CS จากส่วนหัวของหนอนแมลงวัน โดยใช้ oculo micrometer โดยวัด

6.1 ความยาวตรงส่วน Pharyngeal sclerite (Length of PS)

6.2 ส่วน MH-DC (Mouthhook-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite)

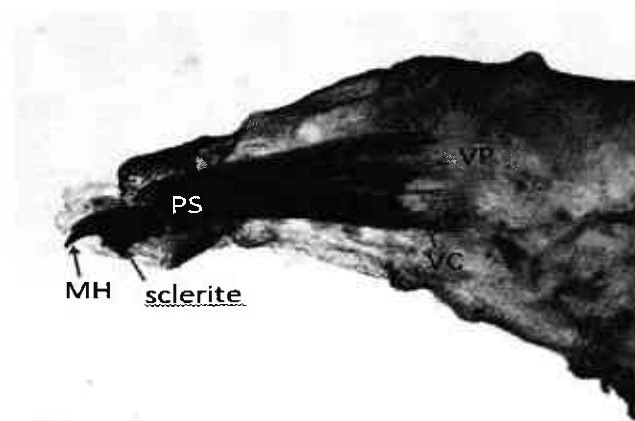
6.3 ส่วน PS-DC (Pharyngeal sclerite-dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite)

6.4 ส่วน MH-VC (Mouthhook-ventral cornua of pharyngeal sclerite)

6.5 ส่วน MH-VP (Mouthhook-vertical plate of pharyngeal sclerite)

6.6 ส่วน sclerite

7. บันทึกผลโดยรายงานค่ากลางความยาวของ CS ได้แก่ ค่าความยาวและความกว้างสูงสุดและต่ำสุด (maximum and minimum) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) โดยค่าที่รายงานมีหน่วยเป็น ไมโครเมตร



รูปที่ 1 โครงสร้าง cephalopharyngeal skeleton ระยะ L3 ของ blow fly larva. PS; pharyngeal sclerite, MH; mouthhook, DC; dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite, VC; ventral cornua of pharyngeal sclerite, VP; vertical plate. (10x)

ผลการศึกษา

ขนาดของ CS ของตัวอ่อนหนอนแมลงวัน *C. rufifacies* มีความยาวของส่วน PS อยู่ระหว่าง 150-250 ไมโครเมตร ค่าเฉลี่ยที่ 195.18 ไมโครเมตร ความยาวจากส่วน mouthhook (MH) ถึงส่วน dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite (DC) มีความยาวระหว่าง 1,250-1,550 ไมโครเมตร ค่าเฉลี่ยที่ 1,421.05 ไมโครเมตร ค่า

ความยาวจากส่วน pharyngeal sclerite (PS) ถึง dorsal lobes (cornua) of pharyngeal sclerite (DC) มีความยาวระหว่าง 1,000-1,425 ไมโครเมตร ค่าเฉลี่ยที่ 1,132.89 ไมโครเมตร ค่าความยาวของส่วน MH ถึงส่วน ventral cornua of pharyngeal sclerite (VC) มีความยาวระหว่าง 1,125-1,500 ไมโครเมตร ค่าเฉลี่ยที่ 1,300.00 ไมโครเมตร ความยาวของส่วน MH ถึง vertical plate (VP) มีความยาวระหว่าง 1,100-1,400 ไมโครเมตร ค่าเฉลี่ยที่ 1,231.14 ไมโครเมตร และความยาวสำหรับ sclerite มีค่าระหว่าง 25-87.5 ไมโครเมตร ค่าเฉลี่ย 57.41 ไมโครเมตร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความยาวของโครงสร้าง Cephalopharyngeal skeleton of *C. rufifacies*

	Length of (micrometers; μm)					
	PS (μm)	MH-DC (μm)	PS-DC (μm)	MH-VC (μm)	MH-VP (μm)	Sclerite (μm)
Max	250	1,550	1,425	1,500	1,400	87.5
Min	150	1,250	1,000	1,125	1,100	25
Mean	195.18	1,421.05	1,132.89	1,300	1,231.14	57.41
SD	23.83	69.88	79.36	78.77	65.34	13.85

สรุปและวิจารณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยวัดความยาวของ CS ของตัวอ่อนหนอนแมลงวัน *C. rufifacies* มีความยาวของส่วน PS, MH-DC, PS-DC, MH-VC, MH-VP และ sclerite เท่ากับ 195.18 ± 23.83 , $1,421.05 \pm 69.88$, $1,132.89 \pm 79.36$, $1,300.00 \pm 78.77$, $1,231.14 \pm 65.34$ และ 57.41 ± 13.85 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่การวัดความยาวของ CS ของตัวอ่อนระยะ third instar larvae ของ *C. megacephala* พบ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความยาวของ PS ระยะของ MH-DH, PS-DC, MH-VC และ MH-VP เท่ากับ 392.14 ± 29.14 , $1,616.47 \pm 85.42$, $1,265.65 \pm 69.65$, $1,362.01 \pm 85.94$ และ 607.88 ± 44.13 ไมโครเมตร ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าว

พบว่า ส่วน PS และ MH-VP ของแมลงวันทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันมาก และนักนิติวิทยาศาสตร์สามารถแยกแมลงวันทั้งสองชนิดได้จาก CS ทั้งสองส่วนนี้ อย่างไรก็ตาม ผู้วัดต้องใช้ตัวอ่อนระยะ third instar larva ของแมลงวันหัวเขียว เนื่องจากเป็นระยะที่ CS ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแล้ว⁵

การศึกษาส่วน CS มีประโยชน์ในการระบุชนิดของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* การพบตัวอ่อนหนอนแมลงวันนี้ นอกจากจะมีประโยชน์ในการประมาณเวลาหลังการตายแล้ว ยังสามารถใช้ตัวอ่อนหนอนแมลงวันมาตรวจหาสารพิษหรือยาที่ผู้ตายได้รับก่อนตายได้อีกด้วย^{6,7}

หนอนแมลงวันที่นำมาศึกษาเป็นหนอนแมลงวันที่ได้มาจากการวางไข่ตามธรรมชาติ ผู้วิจัยคาดว่า การศึกษาจะมีประโยชน์มากยิ่งขึ้นหากมีการศึกษาด้านอื่น เช่น การศึกษาพิษวิทยา ระยะเวลาในช่วงเวลาที่มีการเจริญและพัฒนาของตัวอ่อนที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วย เนื่องจากข้อมูลดังกล่าวน่าจะมีประโยชน์ในทางพิษวิทยาและการประมาณค่า PMI มาตรฐานของพื้นที่ที่ศึกษา

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยใช้สารละลาย 10% KOH ช่วยย่อยสารประกอบในตัวหนอนเพื่อให้เห็นส่วน CS ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาพบว่าสารละลายกรด HCl และ H_2SO_4 ทำให้เห็นส่วน CS ของตัวอ่อนได้เร็วกว่าสารละลาย 10% KOH สารละลายกรดจึงน่าจะใช้เวลาย่อยตัวหนอนได้เร็วขึ้น⁸ การศึกษาในอนาคตจึงควรทำการศึกษานิดของสารละลายที่เหมาะสมในการย่อยและทำให้เห็นส่วน CS เนื่องจากจะช่วยระบุชนิดของตัวอ่อนได้เร็วขึ้น ทำให้สามารถรายงานผลได้เร็วขึ้น นำไปสู่การประมาณเวลาหลังการตายรวดเร็วยิ่งขึ้น

การศึกษานาค รูปร่างของไข่และอวัยวะของแมลงวันมีส่วนช่วยในการคลี่คลายคดีหลายคดีที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกาและหลายประเทศทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการใช้ตัวอ่อนแมลงวันในการประมาณเวลาในการตาย เช่น การประมาณเวลาในการตายของหญิงไทยรายหนึ่งในจังหวัดขอนแก่นได้จากตัวอ่อนของ *C. megacephala*⁹ สำหรับอวัยวะที่สามารถใช้ในการแยกชนิดแมลงวัน ได้แก่ anterior และ posterior spiracle เป็นต้น^{3, 10, 11} ในขณะที่มีรายงานการศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีการศึกษารูปร่างลักษณะและอัตราการพัฒนาของแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติเวชศาสตร์ คือ *C. megacephala* และ *C. rufifacies*¹³ รายงานนี้ผู้วิจัยทำการวัด CS ของ *C. rufifacies* เท่านั้น เนื่องจากเป็นแมลงวันหัวเขียวที่พบมากในพื้นที่ที่ศึกษา อย่างไรก็ตาม

ตามการศึกษาในอนาคตรวทำการวัดส่วนต่างๆ ของ CS ของแมลงวันหัวเขียวชนิดอื่นที่พบในเขตที่ทำการศึกษามากกว่าที่ควรทำการวัด CS ได้แก่ *C. nigripes*, *C. chain* โดย Bunchu และคณะได้รายงานไว้ใน การสำรวจชนิดของแมลงวันหัวเขียวในจังหวัดพิษณุโลก อย่างไรก็ตาม แมลงวันที่พบสูงสุด คือ *C. megacephala* และ *C. rufifacies*¹³ สำหรับการศึกษาลักษณะและความยาวของ CS ของแมลงวันในอนาคตรวทำการศึกษามากกว่ากลุ่มอื่น เช่น แมลงวันบ้าน แมลงวันหลังลายและแมลงวันกลุ่มอื่นๆ ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าจะ เป็นประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ของจังหวัดพิษณุโลกและประเทศไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณพิสิฐ แสงอนันตการ คุณสุวีพร นาคอึ้งและอาจารย์ยุทธพงษ์ ทองพบ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการให้ความช่วยเหลือระหว่างทำการทดลอง และขอขอบคุณอาจารย์ Matthew Robert Ferguson, Naresuan University Language Center (NULC) ในการให้คำแนะนำและช่วยตรวจสอบความถูกต้องของบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

References

1. คม สุคนธสรณ์, กาบแก้ว สุคนธสรณ์. แมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: เชียงใหม่ดิจิทัลเวอร์คส์ จำกัด. 2548.
2. Erzinclioglu YZ. The larvae of some blowflies of medical and veterinary importance. Med Vet Entomol 1987; 1: 121-5.
3. Greenberg B, Kunich JC. Entomology and the law: flies as forensic indicators. UK: Cambridge University Press. 2002.
4. Wells JD, Byrd JH, Tantawi TI. Key to third-instar chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. J Med Entomol 1999; 36(5): 638-41.
5. แสงชัย นทีวรณารณ, นพวรรณ บุญชู, อภิชาติ วิทย์ตะ. การวัด Cephalopharyngeal skeleton ของ *Chrysomya megacephala* ระยะ third instar larvae ที่เก็บจากมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2553; 38(1): 3100-6.
6. Gagliano CR, Aventaggiato L. The detection of toxic substances in entomological specimens. Int J Legal Med 2001; 114: 197-203.
7. Campobasso CP, Gherardi M, Caligara M, Sironi L, Introra F. Drug analysis in blowfly larvae and in human tissue: a comparative study. Int J Legal Med 2004; 118: 201-4.

8. Sukontason K, Mathanitikorn R, Sukontason KL, Piangjai S, Olson JK. Clearing technique to examine the cephalopharyngeal skeletons of blow fly larvae. J Vector Ecol 2003; 29: 192-5.
9. นภาพร ศรีตะวานิช, ทศนีย์ แจ่มจรรยา, อุพา หาญบุญทรง, อัมพร แจ่มสุวรรณ. การประยุกต์ใช้นิติภูมิวิทยาในการประมาณเวลาหลังการตาย. วารสารวิจัย มข. 2550; 7(2): 1-5.
10. Greenberg B. *Chrysomya megacephala* (F) (Diptera: Calliphoridae) collected in North America and note on *Chrysomya* species present in the New World. J Med Entomol 1988; 25: 199-200.
11. Greenberg B, Singh D. Species identification of Calliphoridae (Diptera) egg. J Med Entomol 1995; 48: 46-50.
12. Sukontason K, Piangjai S, Siri Wattanarungsee S, Sukontason LK. Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *C. rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. Parasitol Res 2008; 102(5): 973-80.
13. Bunchu N, Sanit S, Sontigun N, et al. Blowfly species (Diptera: Calliphoridae) in different landscapes of Phitsanulok province, Thailand. Abstract of the 6th Naresuan research conference, 2010 July 29-31. Thailand, Phitsanulok: 2010. p83.

ความชุกของหมู่เลือด ABO และ Rh ในโครงการบริการวิชาการของคณะ

วิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

ยุทธพงษ์ ทองพบ *

อภิชาติ วิทย์ตะ **

แสงชัย นทีวรรณารด ***

บทคัดย่อ

คณะผู้วิจัยศึกษาความชุกของหมู่เลือดในระบบ ABO และ Rh โดยเก็บตัวอย่างเลือดจำนวนทั้งสิ้น 167 คน จาก 3 ตำบลของจังหวัดพิษณุโลก คือ (1) ตำบลบ้านชาติตระการ อำเภอชาติตระการ (จำนวน 47 คน), (2) ตำบลบ้านมุง อำเภอเนินมะปราง (จำนวน 100 คน) และ (3) ตำบลบ้านยาง อำเภอวัดโบสถ์ (จำนวน 20 คน) พบว่าตัวอย่างเลือดจากบ้านชาติตระการเป็นหมู่เลือด A, B, AB และ O เป็นจำนวน 7, 15, 2 และ 23 ตัวอย่างตามลำดับ ในกลุ่มที่สองพบความชุกของหมู่เลือด A, B, AB และ O จากประชากรบ้านมุงเป็นจำนวน 12, 36, 8 และ 44 คนตามลำดับ และในกลุ่มสุดท้าย ประชากรจากบ้านยางจำนวน 2, 10, 1 และ 7 คนมีหมู่เลือด A, B, AB และ O ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างเลือดทั้งหมดจากบ้านชาติตระการและบ้านยางเป็นหมู่ Rh+ ในขณะที่ประชากรในพื้นที่บ้านมุงมีหมู่เลือด Rh- จำนวน 1 คน หมู่เลือด ABO และ Rh นอกจากจะเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านสุขภาพของประชาชนในพื้นที่แล้ว ข้อมูลดังกล่าวยังเป็นข้อมูลพื้นฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไปอีกด้วย

คำสำคัญ : ความชุก, หมู่เลือด ABO, หมู่เลือด Rh, มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก

* ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

*** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Prevalence of ABO and Rh Blood Group, Attending Medical Science

Academic Service Program of Naresuan University, Phitsanulok

Yutthapong Tongpob *

Apichat Vitta **

Saengchai Nateeworanart ***

Abstract

We investigated prevalence of blood group base on ABO and Rh system. In this investigation, total number of blood samples was 167 that were collected from 3 areas of Phitsanulok province; (1) BC; Ban Chattakarn, Amphur Chattakarn (n=47), (2) BM; Ban Mung, Amphur Nernmapang (n=100), and (3) BY; Ban Yang, Amphur Watbot (n=20). In BC area, we found that the prevalence of blood group A, B, AB and O were 7, 15, 2 and 23 samples, respectively. In the second area, the prevalence of blood group A, B, AB and O from BM area, were 12, 36, 8 and 44 samples, respectively. In the last group, all people from BY area had 2, 10, 1 and 7 samples in blood group A, B, AB and O, respectively. All of samples from BC and BY area were blood group Rh⁺. On the other hand, we found 1 Rh⁻ from people from BM area. This data is not only a basic health data of people in this area but a fundamental data of basic forensic data.

Keywords : Prevalence, ABO blood group, Rh blood group, Naresuan university, Phitsanulok

* Department of Anatomy, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok

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

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

บทนำ

ระบบ ABO เป็นระบบเลือดที่มีความสำคัญมากในการให้เลือด โดยการให้เลือดผิดหมู่ในระบบ ABO อาจเกิด intravascular hemolysis เป็นการเกิดการทำลาย incompatible red blood cell จาก antigen-antibody reaction กระตุ้น complement partway ทำให้เกิดรูบน red blood cell membrane และเกิด hemolysis นอกจากนี้การให้เลือดผิดหมู่ในระบบ ABO ยังเป็นผลให้เกิด extravascular hemolysis จากการทำลาย incompatible red blood cell โดย macrophage ใน reticuloendothelial system ด้วย¹⁻³ เนื่องจาก แอนติบอดีในระบบ ABO สามารถเกิดปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนตรงกันได้อย่างรุนแรง ดังนั้นการให้เลือดจึงต้องให้เลือดตรงตามหมู่ โดยมีการตรวจหมู่เลือดทั้งของผู้ป่วยและผู้รับเลือด

แอนติเจนในระบบ Rh ที่สำคัญได้แก่ D antigen ผู้ที่มี D antigen จะเป็น Rh positive (Rh+) ส่วนผู้ที่ไม่มี D antigen จะเป็น Rh negative (Rh-) แอนติบอดีของระบบ Rh นี้เกิดการกระตุ้นทางระบบภูมิคุ้มกันด้วยการรับเลือดหรือการตั้งครรภ์เท่านั้น ผู้ป่วยที่ไม่มี D antigen หากรับเลือดหรือสัมผัสแอนติเจนชนิดนี้จากการตั้งครรภ์ จะสร้าง anti-D ที่ความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันสูง ด้วยเหตุนี้การให้เลือดต้องตรวจหมู่เลือดในระบบ Rh ด้วย¹

นอกจากเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการให้และรับเลือดแล้ว หมู่เลือดทั้งสองระบบยังมีความสำคัญในแง่นิติวิทยาศาสตร์สามารถใช้ศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมโดยการควบคุมของยีนและการสืบเชื้อสายของคนได้ นอกจากนี้การตรวจหมู่เลือดจากเลือดหรือคราบเลือดในสถานที่เกิดเหตุยังใช้เป็นหลักฐานประกอบการสืบสวนทางนิติเวชได้⁴⁻⁵

หมู่เลือด ABO และ Rh เป็นข้อมูลระบบเลือดที่มีความสำคัญ เพราะนอกจากจะเป็นข้อมูลของบุคคลในระบบทะเบียนแล้ว ข้อมูลนี้ยังใช้เป็นข้อมูลทางนิติวิทยาศาสตร์และข้อมูลในการให้และรับเลือดในกรณีฉุกเฉิน ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรเล็งเห็นถึงความสำคัญของข้อมูลดังกล่าวจึงจัดบริการตรวจระบบหมู่เลือดให้กับประชากรที่อาศัยอยู่ใน 3 ตำบลของจังหวัดในพิษณุโลก

การศึกษานี้เป็นการให้บริการ หมู่เลือดระบบ ABO และ Rh กับผู้รับบริการตรวจหมู่เลือดในโครงการบริการวิชาการของคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้

ผู้รับบริการทราบหมู่เลือดของตนในระบบ ABO และ Rh เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการรับบริการทางสาธารณสุขในโรงพยาบาลและเป็นข้อมูลสำหรับงานนิติวิทยาศาสตร์ในกรณีที่ต้องใช้ข้อมูลของระบบหมู่เลือด

วิธีการศึกษา

คณะผู้วิจัยทำการเก็บตัวอย่างเลือดและตรวจหมู่เลือด cell grouping ระบบ ABO และ Rh ให้ผู้รับบริการในโครงการบริการวิชาการของคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในพื้นที่พิษณุโลก 3 ตำบล ดังนี้ (1) วันที่ 8 มกราคม 2554 ณ ตำบลบ้านชาติตระการ อำเภอชาติตระการ จำนวน 47 คน, (2) วันที่ 15 มกราคม 2554 ณ ตำบลบ้านมุง อำเภอนีนะปราง จำนวน 100 คน และ (3) วันที่ 29 มีนาคม 2554 ณ ตำบลบ้านยาง อำเภอวัดโบสถ์ จำนวน 20 คน โดยกลุ่มตัวอย่างจากทั้ง 3 พื้นที่มีอายุระหว่าง 1-72 ปี คณะผู้วิจัยได้ทำการตรวจหมู่เลือดทั้งสองระบบใช้วิธี slide method โดยใช้ anti-A anti-B และ anti-D สำหรับตรวจหมู่เลือด Rh (Biotest Diagnostic; Bio Rad) โดยทำการทดสอบตามคู่มือการใช้ antiserum⁶

ผลการศึกษา

ผู้รับบริการวิชาการฯ จากตำบลบ้านชาติตระการ อำเภอชาติตระการมีจำนวน 47 คน พบว่ามีหมู่เลือด A จำนวน 7 คน หมู่เลือด B จำนวน 15 คน หมู่เลือด AB จำนวน 2 คน และหมู่เลือด O จำนวน 23 คน และเป็นหมู่ Rh+ ทุกคน (ตาราง 1 และ 2) ในขณะที่ผู้รับบริการจากตำบลบ้านมุง อำเภอนีนะปรางจำนวน 100 คน พบความชุกของหมู่เลือด A จำนวน 12 คน หมู่เลือด B จำนวน 36 คน หมู่เลือด AB จำนวน 8 คน และหมู่เลือด O จำนวน 44 คน นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นหมู่ Rh+ จำนวน 99 คนและ Rh- จำนวน 1 คน (ตาราง 3 และ 4) ส่วนผู้รับบริการจากตำบลบ้านยาง อำเภอวัดโบสถ์จำนวน 20 คน พบหมู่เลือด A จำนวน 2 คน หมู่เลือด B จำนวน 10 คน หมู่เลือด AB จำนวน 1 คน และหมู่เลือด O จำนวน 7 คน และเป็นหมู่ Rh+ จำนวน 20 คน (ตาราง 5 และ 6) ซึ่งข้อมูลรวมของทั้ง 3 พื้นที่ได้แสดงดังตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ ABO ของผู้รับบริการ จากตำบลบ้านชาติตระการ อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
A	2	5	7
B	4	11	15
AB	0	2	2
O	5	18	23

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ Rh ของผู้รับบริการ จากตำบลบ้านชาติตระการ อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
Rh+	11	36	47
Rh-	0	0	0

ตารางที่ 3 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ ABO ของผู้รับบริการ จากตำบลบ้านม่วง อำเภอนันทพวง จังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
A	2	10	12
B	13	23	36
AB	3	5	8
O	12	32	44

ตารางที่ 4 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ Rh ของผู้รับบริการ จากตำบลบ้านมุง อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
Rh+	30	69	99
Rh-	0	1	1

ตารางที่ 5 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ ABO ของผู้รับบริการ จากตำบลบ้านยาง อำเภอวัดโบสถ์ จังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
A	0	2	2
B	3	7	10
AB	0	1	1
O	2	5	7

ตารางที่ 6 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ Rh ของผู้รับบริการ จากตำบลบ้านยาง อำเภอวัดโบสถ์ จังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
Rh+	5	15	20
Rh-	0	0	0

ตารางที่ 7 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ ABO ของผู้รับบริการ จาก 3 อำเภอในจังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
A	4	17	21
B	20	41	61
AB	3	8	11
O	19	55	74

ตารางที่ 8 ผลการตรวจหมู่เลือดระบบ Rh ของผู้รับบริการ จาก 3 อำเภอในจังหวัดพิษณุโลก

หมู่เลือด	ชาย(คน)	หญิง(คน)	รวม(คน)
Rh+	46	120	166
Rh-	0	1	1

สรุปและวิจารณ์ผล

ผู้วิจัยทำการศึกษาหมู่เลือดของผู้รับบริการตรวจหมู่เลือดในระบบ ABO และ Rh พบความชุกของหมู่เลือดผู้รับบริการ 47 คน จากตำบลบ้านชาติตระการ อำเภอชาติตระการเป็นหมู่เลือด A จำนวน 7 คน หมู่เลือด B จำนวน 15 คน หมู่เลือด AB จำนวน 2 คน หมู่เลือด O จำนวน 23 คน Rh+ จำนวน 47 คน สำหรับความชุกของหมู่เลือดผู้รับบริการ 100 คน จากตำบลบ้านมุง อำเภอเนินมะปรางเป็นหมู่เลือด A จำนวน 12 คน หมู่เลือด B จำนวน 36 คนหมู่เลือด AB จำนวน 8 คน หมู่เลือด O จำนวน 44 คน Rh+ จำนวน 99 คน และ Rh- จำนวน 1 คน (คิดเป็นร้อยละ 1) ส่วนความชุกของหมู่เลือดผู้รับบริการ 20 คน จากตำบลบ้านยาง อำเภอวัดโบสถ์เป็นหมู่เลือด A จำนวน 2 คน หมู่เลือด B จำนวน 10 คนหมู่เลือด AB จำนวน 1 คน หมู่เลือด O จำนวน 7 คน Rh+ จำนวน 20 คน โดย การตรวจหมู่เลือดทั้งสองระบบในการให้บริการครั้งนี้ใช้วิธี slide method โดยใช้ anti-A anti-B และ anti-D (สำหรับตรวจหมู่เลือด Rh)

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการบริการวิชาการของคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ผู้วิจัยใช้วิธีทดสอบ cell grouping โดย slide method ซึ่งการทดสอบนี้เป็นการตรวจ antigen บนเม็ดเลือดแดง เพื่อความสะดวกและความรวดเร็วในการให้บริการ อย่างไรก็ตาม วิธีการทดสอบนี้มีข้อจำกัดในการตรวจอยู่บ้าง เนื่องจาก การตรวจเลือดด้วยวิธีที่ใช้ในการให้บริการนี้อาจเกิดความขัดแย้งกันระหว่างผลการตรวจตรวจหมู่เลือด ABO ด้วยวิธีการตรวจหาแอนติเจนบนเม็ดเลือด (cell grouping) และวิธีตรวจหาแอนติบอดีใน serum (serum grouping) เนื่องจาก antigen บนเม็ดเลือดแดงอาจเป็นชนิด subgroup A, B หรือ Weakened ของ A หรือ B antigen บนผิวเม็ดเลือด รวมทั้ง Chimera ซึ่งหมายถึงการมี antigen มากกว่าหนึ่งชนิดจากกรรมพันธุ์หรือการได้รับ blood transfusion⁷⁻¹⁰ สำหรับความผิดพลาดในการตรวจระบบ Rh อาจเกิดได้จากหมู่เลือด Rh มี D antigen ที่หลากหลายบนเม็ดเลือดแดง อีกทั้ง antigen ดังกล่าวยังมีความแรงในการเกิดปฏิกิริยากับ anti-D ไม่เท่ากัน ซึ่งด้วยเหตุผลนี้อาจทำให้ผลการตรวจหมู่เลือดในระบบ Rh ผิดพลาดได้ อย่างไรก็ตามในการตรวจพบ Rh- ในผู้รับบริการที่ผล Rh- จากผู้รับบริการรายหนึ่งในอำเภอเนินมะปรางผู้วิจัยได้ทำการตรวจซ้ำและเปลี่ยนผู้อ่านผลตรวจเพื่อเป็นการยืนยันผลการตรวจอีกถึง 3 ครั้ง นอกจากแจ้งผลตรวจแล้วผู้วิจัยได้อธิบายผลการตรวจและการปฏิบัติตนที่ผู้รับบริการควรระมัดระวังทั้งในการดำเนินชีวิตและกรณีที่มีการตั้งครรภ์เพื่อเป็นการป้องกันการเกิด hemolytic reaction transfusion หรือ hemolytic disease of the newborn

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยพบหมู่เลือด มีความชุกสูงสุดและความชุกของหมู่เลือดต่ำสุด ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้รับบริการในกรณีที่มีความต้องการใช้เลือดฉุกเฉิน¹⁰ หรือประกอบการสืบสวนสอบสวน¹¹ หากมีคดีความเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามข้อมูลนี้ยังไม่สามารถเป็นข้อมูลตัวแทนหมู่เลือดของประชากรจำนวนผู้รับบริการเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างเป็นกลุ่มที่สมัครใจตรวจเท่านั้น การศึกษาในอนาคตควรทำการศึกษาในกลุ่มประชากรทั้งหมดเพื่อเป็นตัวแทนข้อมูลที่ดีในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

เนื่องจากข้อจำกัดและเครื่องมือในการทดสอบ การศึกษาในอนาคตควรทำการทดสอบ serum grouping อีกครั้งหนึ่งในประชากรกลุ่มเดิมเพื่อยืนยันผลการตรวจ รวมทั้งอาจทำการตรวจหมู่เลือดจากน้ำลายเพื่อความถูกต้องในการให้บริการตรวจหมู่เลือดด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.คตฤดี สงวนเสริมศรี ดร.นพวรรณ บุญชู ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา อ.รัชนี้ ชนะสงค์ คุณพิสิฐ แสงอนันตการ คุณสุริพร นาคอ้ง คุณนันทพร สุขสำราญและนิสิตช่วยงานจากภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจหมู่เลือดและบันทึกผลการตรวจระหว่างที่ให้บริการตรวจ

References

1. นิสารัตน์ โอภาสเกียรติกุล. วัฒนา เลี้ยววัฒนา. คาราวรรณ วัฒนาชีวนาวิน. มงคล คุณากร. วนิดา วงศ์ศิริพร. พยาธิวิทยาคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 1, สมาคมพยาธิวิทยาคลินิกไทยกรุงเทพ: 2545.
2. ชำรง จิรจรีาเวช. พยาธิวิทยาคลินิก. ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 1, คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามารับดี: กรุงเทพ. 2549.
3. ดวงกมล ชันชเลิศ. เอกสารประกอบการสอนวิชาภูมิคุ้มกันวิทยา. ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก. 2550
4. Nickell J, fisher JF. Crime science: methods of forensic detection. USA., The University press of Kentucky.1999.
5. Wecht CH, Rago JT. Forensic science and law: investigative applications in criminal, civil, and family justice. USA. CRC/Taylor & Francis, 2006.
6. ทศน์ยานี จันทนยิ่งยง. เวชศาสตร์การธนาคารเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 1, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล: มหาวิทยาลัยมหิดล 2541
7. Rudman SV. Text book of blood banking and transfusion medicine. Philadelphia: W.B. Saunders. 1995.
8. Hamening DM. Modern blood banking and transfusion practices. 3rd ed. Philadelphia: F.A Davis. 1994.
9. ขาญวิทย์ ลีลาวัฒน์. เวชศาสตร์การบริการโลหิต. พิมพ์ครั้งที่ 3, คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น: ขอนแก่น. 2549.
10. Home Health (UK). Blood Group Test ABO and Rhesus (D) 2007. Accessed at <http://www.homehealth-uk.com/medical/bloodgroup.htm> on January 27, 2011.
11. Landsteiner K, Levine P. On the inheritance of agglutinogens of human blood demonstrable by immune agglutinins. Exp Med. 1928; 48(5): 731-49.

การพิสูจน์ยืนยันดีเอ็นเอของไก่ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนไซโตโครม บี

มีณญา บุญเจริญ *

บทคัดย่อ

การศึกษาการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของไก่ โดยใช้ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อยีนไซโตโครม บี ในขั้นแรกผู้ศึกษาได้ทำการออกแบบและเลือกใช้ forward primer ตำแหน่ง L 14962 และ Reverse primer ตำแหน่ง H 15142 ดีเอ็นเอทั้งหมดนำมาสกัดด้วยวิธี Chelex และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR รวมถึงทำการตรวจสอบผลด้วยการแยกแแถบดีเอ็นเอในวุ้นโดยผ่านกระแสไฟฟ้าบนเจล อะกาโรส ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดสดของไก่จำนวน 45 ตัวปรากฏแถบชัดเจนและถูกต้องตรงตามขนาดที่ 181 bp แต่ในทางกลับกันผลของตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดสด หรือเส้นขนของสัตว์อื่น ๆ ได้แก่ มนุษย์ ปลา หมู วัว และเป็ด ไม่มีการปรากฏแถบดีเอ็นเอนาขนาดดังกล่าวเลย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีการและไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของไก่ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : ดีเอ็นเอของไก่, ยีนไซโตโครม บี, เทคนิค PCR.

* คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Verification of *Gallus gallus* DNA Using Primer Specific to Cytochrome b Gene

Abstract

In the present study, the verification of *Gallus gallus* DNA using primer specific to cytochrome b gene. Initially, the forward and reverse primers (L14962/H15142) were designed from the sequence of *Gallus gallus* mitochondrial cytochrome b gene. Total DNA was extracted using the Chelex method and amplified by PCR; the PCR products were analyzed on agarose gel electrophoresis. In this study, we successfully amplified DNA extracted from blood specimens of forty-five *Gallus gallus*. The results obtained that all blood samples of *Gallus gallus* produced a single band at the expected size of 181 bp. On the other hand, no visible band was amplified from DNA extracted from blood or hair specimens of other species (human, fish, pig, cow and duck). Therefore, these method and primer pair are useful to verify *Gallus gallus* DNA.

Keywords : *Gallus gallus* DNA, Cytochrome b gene, PCR technique

บทนำ

พยานหลักฐานทางชีวภาพ อาทิ เลือด เส้นผม เส้นขน เนื้อเยื่อ น้ำลาย กระดูก คราบอสุจิ ฯลฯ ถือได้ว่าเป็นสิ่งส่งตรวจที่สำคัญในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากสามารถใช้ช่วยพิสูจน์ทราบถึงสาเหตุ พฤติการณ์และบุคคลหรือสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่มีความเกี่ยวข้องกับเหตุการณ์หรือคดีที่เกิดขึ้น ในบางครั้ง พยานหลักฐานทางชีวภาพดังกล่าวไม่สามารถพิสูจน์ทราบถึงชนิดของเจ้าของตัวอย่าง สิ่งส่งตรวจนั้น ๆ ได้ด้วยวิธีการทางกายภาพ ภายวิภาค หรือทางชีวเคมี จึงทำให้ปัจจุบันมนุษย์มีความพยายามที่จะค้นหาวิธีการใหม่ ๆ ทางวิทยาศาสตร์ที่มีความจำเพาะ สะดวก รวดเร็ว เข้ามาประยุกต์ใช้เพื่อช่วยในการตรวจพิสูจน์ แสวงหาข้อเท็จจริงและที่สำคัญช่วยให้พยานหลักฐานชิ้นนั้นมีประโยชน์ต่อรูปคดีที่เกิดขึ้นให้มากที่สุด

การตรวจดีเอ็นเอถือได้ว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ มีการยอมรับและมีความเชื่อมั่นในความถูกต้องแม่นยำของเทคนิคสูง การตรวจดีเอ็นเอจะมีวัตถุประสงค์หลายประการ เช่น เพื่อการตรวจพิสูจน์บุคคล การตรวจสอบเพื่อทราบชนิดของสัตว์ที่เป็นเจ้าของตัวอย่างดีเอ็นเอ ในกรณีนี้จะนิยมตรวจจากยีนไซโตโครม บี ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย ลำดับเบสของยีนไซโตโครม บี ก่อนข้างอนุรักษ์ กล่าวคือ จะคงลักษณะ

รูปร่างและคุณสมบัติต่าง ๆ ไว้เหมือนเดิม ถึงแม้มีปริมาณตัวอย่างที่น้อยหรือถูกเก็บไว้เป็นระยะเวลานาน การเปรียบเทียบลำดับเบสทำได้สะดวก รวมทั้งยังมีการแปลรหัสเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะและมีความหลากหลายสูง จึงสามารถออกแบบไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะกับตัวอย่างสิ่งส่งตรวจและสามารถนำเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ (polymerase chain reaction; PCR) เข้าร่วม ในการช่วยเพิ่มปริมาณส่วนดังกล่าวได้อีกด้วย อย่างเช่นงานวิจัยของ Matsunaga, et al. (1999) ที่ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค Multiplex PCR ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายโดยใช้ไพรเมอร์หลายคู่พร้อมกันในปฏิกิริยาเดียวกันมาตรวจสอบชนิดเนื้อสัตว์ 6 ชนิด ได้แก่ แพะ ไก่ วัว แกะ หมู และม้า ซึ่งไพรเมอร์ที่ใช้จะมีการออกแบบมาจากยีนในส่วนของยีนไซโตโครม บี โดย forward primer จะเป็นการนำลำดับเบสของสัตว์ 6 ชนิดดังกล่าว มารวมกันด้วยอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ 1: 0.2: 3: 0.6: 3: 0.6: 2 ส่วน Reverse primer จะใช้ลำดับเบสตามความจำเพาะของสัตว์แต่ละชนิด เมื่อมีการตรวจสอบผลโดยการแยกแอมป์ลิฟิเคชันด้วยกระแสไฟฟ้าบนเจลอะกาโรส พบว่า ขนาดของดีเอ็นเอของสัตว์แต่ละชนิด (แพะ ไก่ วัว แกะ หมู และม้า) มีความแตกต่างกัน คือ จะปรากฏแอมป์ลิฟิเคชันที่ขนาด 157, 227, 274, 331, 398 และ 439 bp ตามลำดับ นอกจากนี้ผู้ทำการวิจัยยังได้มีการศึกษาในส่วนของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแม่แบบที่จะสามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบ ซึ่งพบว่าขอบเขตของปริมาณดีเอ็นเอแม่แบบที่จะสามารถนำมาตรวจสอบได้นั้นอยู่ที่ 0.25 นาโนกรัม และในปี 2007 Jain, et al. ได้ทำการศึกษาศึกษาการตรวจสอบชนิดเนื้อสัตว์ ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับ Matsunaga, et al. (1999) แต่มีบางส่วนที่มีความแตกต่างกัน คือ ได้เพิ่มชนิดของเนื้อสัตว์ที่มีการนำมาตรวจสอบอีก 1 ชนิด คือ กระบือ เมื่อมีการตรวจสอบผลโดยการแยกแอมป์ลิฟิเคชันด้วยกระแสไฟฟ้าบนเจล อะกาโรส พบแอมป์ลิฟิเคชันที่ขนาดความยาว 274 bp ซึ่งตรงกับขนาดดีเอ็นเอของวัว อันเนื่องมาจากการใช้ Reverse primer ชนิดเดียวกันในการตรวจสอบและลำดับเบสของกระบือในช่วงที่นำมาทดสอบนั้นมี ลำดับเบสที่เหมือนกันกับของวัว จากการศึกษาสรุปได้ว่าไพรเมอร์ที่มีการออกแบบมาจากยีนไซโตโครม บี มีความจำเพาะกับดีเอ็นเอของสัตว์แต่ละชนิด ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดของสัตว์ต่าง ๆ ออกจากกันได้ ถึงแม้ว่าปริมาณของดีเอ็นเอที่ใช้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย

ในปี ค.ศ. 2007 Li-Chin, et al. ได้เข้าร่วมในการตรวจสอบวัตถุพยานจำนวน 5 ชิ้น ที่ได้จากคดีการกระทำความผิดเกี่ยวกับสัตว์ป่าสงวน ประจำปี 2006 ถึง 2007 ของกระทรวงการเกษตร วัตถุพยานจำนวน 5 ชิ้น ประกอบด้วย ขนสัตว์จำนวน 2 ชิ้น อวัยวะเพศของสัตว์เพศผู้ อัมตะและ ชิ้นเนื้อของสัตว์ อย่างละ 1 ชิ้น การตรวจสอบครั้งนี้ผู้ตรวจสอบได้ใช้เทคนิค Nested PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ รวมทั้งใช้ไพรเมอร์ในส่วน of ยีนไซโตโครม บี ที่สามารถใช้ระบุชนิดสัตว์ การตรวจสอบจะอาศัยการทำ PCR 2 ขั้นตอนด้วยไพรเมอร์ 2 คู่ โดยไพรเมอร์คู่แรกจะสามารถให้ขนาดความยาวของดีเอ็นเอที่ 486 bp และไพรเมอร์คู่ที่สองจะสามารถให้ขนาดความยาวของดีเอ็นเอที่ 251 bp ซึ่งจากการสรุปผลการตรวจสอบวัตถุพยานแล้วพบว่า ขนสัตว์ทั้ง 2 ชิ้น เป็นขนของแมวและอวัยวะเพศของสัตว์เพศผู้ อัมตะและชิ้นเนื้อของสัตว์ อย่างละ 1 ชิ้นนั้นเป็นของวัว โดยการ

ตรวจสอบวัตถุพยาน ในครั้งนี้มีความแม่นยำไม่ต่ำกว่า 99.7% จากผลดังกล่าวสามารถใช้เป็นหลักฐานยืนยันการกระทำความผิดและใช้ดำเนินคดีกับผู้กระทำความผิดในคดีเกี่ยวกับการลักลอบล่าสัตว์ป่าหรือค้าสัตว์ผิดกฎหมายได้

จากปัญหาและความรู้ดังกล่าว ทำให้การตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของสัตว์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อยีนไซโตโครม บี สามารถที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ในหลายกรณี เช่น กรณีการเกิดข้อพิพาททางกฎหมายในคดีอาญา หรือกรณีเกี่ยวกับกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภค เป็นต้น ในรายงานนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาและทดสอบวิธีการที่มีความจำเพาะกับการตรวจพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของไก่ โดยการใช้ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อยีนไซโตโครม บี

ตัวอย่างและวิธีการศึกษา

กลุ่มประชากร

- ตัวอย่างเลือดสดของไก่พันธุ์เนื้อที่มีการเลี้ยงไว้เพื่อจำหน่าย จำนวน 45 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างเลือดสดของมนุษย์ ปลา และเป็ด จำนวนชนิดละ 25 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างเส้นขน (มีเยื่อหุ้มรากติดอยู่) ของหมู และวัว จำนวนชนิดละ 25 ตัวอย่าง

การเก็บและสกัดตัวอย่าง ^[1]

- เลือด เจาะเลือดปริมาณ 0.5 - 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีสารกันเลือดแข็งตัวชนิด EDTA อยู่ ผสมให้เข้ากัน ถ้ายังไม่นำไปทดสอบทันที ให้เก็บไว้ในที่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วทำการทดสอบภายใน 4 วัน ถ้าจะเก็บไว้นานกว่านั้น ให้เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ -20 °C
 - เส้นขน เก็บตัวอย่างเส้นขนโดยการถอน เพื่อให้มีเยื่อหุ้มรากติดอยู่ด้วยอย่างน้อย 5 เส้น โดยบรรจุในซองกระดาษเพื่อนำไปทำการทดสอบก่อนบรรจุต้องแน่ใจว่าเส้นขนนั้นๆ แห้งสนิทดีแล้ว
- ตัวอย่างดีเอ็นเอทั้งเลือดและเส้นขนทั้งหมด จะถูกนำมาสกัดด้วยวิธี Chelex แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยเทคนิค PCR

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยเทคนิค PCR

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจะใช้ PCR mixture ที่มีปริมาตรรวม 10 µl (ประกอบด้วย sterile water 5 µl, 10X Taq buffer 1 µl, dNTPs 1 µl, Taq DNA-polymerase 1 µl, 1 µM each primer mix (*Gallus gallus*) 1 µl, DNA Template 1 µl) จากนั้นนำ PCR mixture ดังกล่าวเข้าเครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ (Thermal cycles) โดยตั้งอุณหภูมิในแต่ละรอบ ดังนี้ Denaturation 94°C นาน 30 วินาที, Annealing 60°C นาน 30 วินาที และ

Extension 72°C นาน 30 วินาที รวมทั้งสิ้น 35 รอบ ซึ่งลำดับเบสของ Primer ที่ได้ทำการออกแบบขึ้นใหม่^[2,3] และเลือกใช้ในการศึกษา คือ

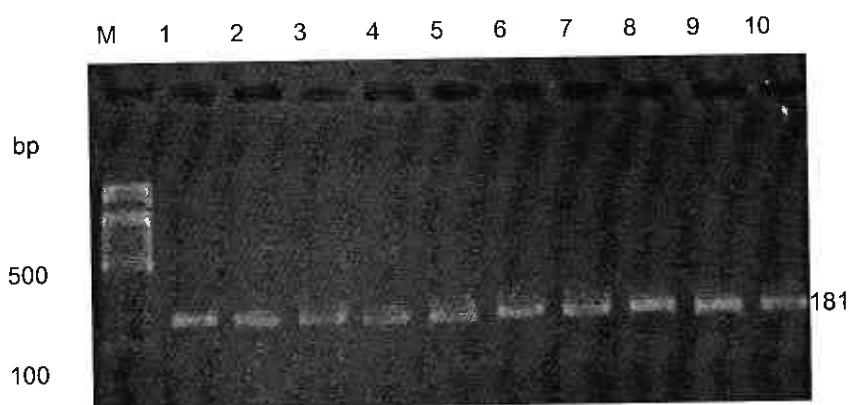
Primer F : 5'- GCC CCA TCC AAC ATC TCT GC -3'

Primer R : 5'- GGA GAT TCC GGA TGA GTC AG -3'

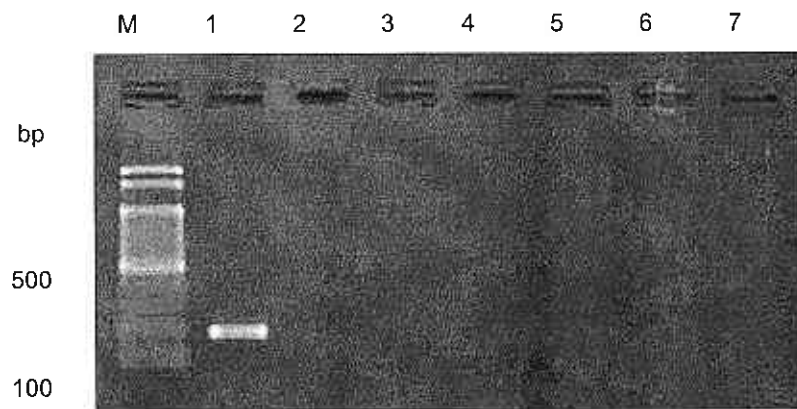
การตรวจสอบผลของ PCR products จะทำโดยการแยกแถบดีเอ็นเอโดยผ่านกระแสไฟฟ้าบนเจล อะกาโรส (agarose gel electrophoresis) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ 25 นาที แล้วย้อมเจลด้วย Ethidium bromide และนำไปส่องดูด้วยแสงอัลตราไวโอเลต

ผลและอภิปรายผลการศึกษา

เมื่อตรวจสอบผลของ PCR products จากตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่ทั้ง 45 ตัวเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ปรากฏแถบชัดเจน และถูกต้องตรงตามขนาดที่ตำแหน่ง 181 bp (รูปที่ 1) และเมื่อทำการตรวจสอบซ้ำจำนวน 2 ครั้ง ผลที่ได้ก็ยังปรากฏเหมือนเดิมทุกประการ จากนั้นผู้ศึกษายังทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีการที่ใช้ในการศึกษา โดยการนำไปตรวจสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ มนุษย์ ปลา หมู วัว และเป็ด จำนวนชนิดละ 25 ตัวอย่าง ด้วยวิธีการเดียวกันดังกล่าว พบว่า PCR products จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ทั้ง 5 ชนิด ไม่มีการปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 181 bp เลย (รูปที่ 2) และเมื่อทำการตรวจสอบซ้ำจำนวน 2 ครั้ง ผลที่ได้ก็ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอเช่นกัน



รูปที่ 1 แสดงขนาดของ PCR products จากตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่ (เลน 1 - 10) เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (เลน M)



รูปที่ 2 แสดงผลของ PCR products จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ทั้ง 5 ชนิด โดย เลน M: ดีเอ็นเอมาตรฐาน
ช่อง 1: ตัวควบคุมเชิงบวก (ไก่), เลน 2-6: มนุษย์ ปลา หมู และวัว เป็ด ตามลำดับ
และเลน 7: ตัวควบคุมเชิงลบ (sterile water)

จากผลการศึกษาดังกล่าว สามารถแสดงว่าประสิทธิภาพของวิธีการและไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความจำเพาะกับตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่เท่านั้น คิดเป็น 100 % เมื่อเทียบกับการนำวิธีการและไพรเมอร์ดังกล่าวไปใช้กับสัตว์ชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่เคยศึกษาเกี่ยวกับการใช้ดีเอ็นเอ ไมโทคอนเดรียในช่วงยีนไซโตโครม บี สำหรับจำแนกชนิดสัตว์ต่าง ๆ ออกจากกัน ทั้งในแง่ของการเกิดข้อผิดพลาดทางกฎหมายในคดีอาญาหรือกรณีเกี่ยวกับกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภค^[2-4] และแม้ว่าการศึกษานี้สามารถที่จะประเมินถึงประสิทธิภาพของวิธีการและความจำเพาะของไพรเมอร์ได้เป็นอย่างดี แต่ในการนำไปใช้ในกรณีการเกิดข้อผิดพลาดทางกฎหมาย พยานหลักฐานทางชีวภาพที่ส่งตรวจอาจอาจเป็นเพียงเศษของคราบเลือด เส้นผม เส้นขน เนื้อเยื่อ กระดูก อวัยวะ หรือคราบอสุจิเท่านั้น การตรวจสอบทางกายภาพคงไม่เพียงพอต่อการตรวจพิสูจน์บุคคลหรือชนิดของสิ่งมีชีวิตที่เป็นเจ้าของตัวอย่างพยานหลักฐานทางชีวภาพนั้นได้ ดีเอ็นเอในส่วนที่ยีนไซโตโครม บี จึงมีบทบาทอย่างมากในการช่วยตรวจสอบ ซึ่งในกรณีนี้อาจนำเทคนิค Nested PCR^[4] เข้ามาช่วยเพื่อเพิ่มความไวในการตรวจสอบโดยไม่ลดความจำเพาะ ของตัวอย่างและผลผลิตของดีเอ็นเอเป้าหมายที่ได้จะมีจำนวนมากขึ้นตามต้องการ แต่เทคนิคนี้มีข้อเสีย คือ จะเสียค่าใช้จ่ายและเสียเวลา เนื่องจากจะต้องใช้ไพรเมอร์ 2 คู่และอาศัยการทำ PCR ถึง 2 ครั้ง ทำให้มีโอกาสนในการเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย

กรณีของการตรวจสอบคุณภาพอาหาร การปนเปื้อนอาหาร และการปลอมปนอาหารที่ผิดกับกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภค ซึ่งบางครั้งตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอาจมีรูปแบบที่แตกต่างกันไปอีกทั้งสัดส่วนปริมาณการปนเปื้อนที่มากหรือน้อยไม่ทราบได้ ในการศึกษาควรออกแบบให้มีความหลากหลายของสภาวะ เช่น การตรวจดีเอ็นเอจากตัวอย่างชิ้นเนื้อดิบ และชิ้นเนื้อที่ถูกทำให้สุกในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน เป็นต้น หรือใช้เทคนิค

Real-time PCR^[5] มาทำการตรวจสอบ ซึ่งจะเป็นการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยจะสามารถวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ในเวลาต่างๆ ทำให้ทราบส่วนผสมของเนื้อสัตว์ ชนิดต่างๆ รวมถึงปริมาณการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์ชนิดอื่นได้อีกด้วย

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาและทดสอบวิธีการในการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของไก่ โดยการใช้ไพรเมอร์ ที่จำเพาะต่ออินไซโตโครม บี พบว่า PCR products จากตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่ทั้ง 45 ตัว ปรากฏแถบดีเอ็นเอชัดเจน และถูกต้องตรงตามขนาดที่ 181 bp แต่ผลของ PCR products จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์อื่น ๆ ทั้ง 5 ชนิด (มนุษย์ ปลา หมู วัว และเป็ด) ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาดดังกล่าวเลย จึงสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของวิธีการและไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความจำเพาะกับตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่เท่านั้น รวมทั้งสามารถนำวิธีการและไพรเมอร์ดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ทั้งในแง่ของการคัดแยก หรือตรวจพิสูจน์กรณีการเกิดข้อพิพาททางกฎหมายทั้งทางอาญาและทางการคุ้มครองผู้บริโภคในคดีซึ่งเกี่ยวข้องกับไก่ได้เป็นอย่างดี

References

1. วิฑูรย์ ทะสุยะ และธานินทร์ ภูพัฒน์. (2005). SOP DNA Analysis for Forensic Medicine, การเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจและขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ (หน้า 6-9), ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
2. Matsunaga T., Chikuni K., Tanabe R., Muroya S., Shibata K., Yamada J., Shinmura Y. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science*. 1999; 51: 143-148.
3. Jain S., Brahmabhai M.N., Rank D.N., Joshi C.G., Solank J.V. Use of cytochrome *b* gene variability in detecting meat species by multiplex PCR assay. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2007; 77(9): 880-881.
4. Li-Chin T., Mei-Tzu H., Chung-Ting H., Chun-Yen L., Szu-Jung C., Chun-I L., Hsing-Mei H. Species Identification of animal specimens by cytochrome *b* gene. *Forensic Science Journal*. 2007; 6(1): 63-65.
5. Andreo L.M., Lugo L., Amando G.P., Prieto M.I., Puyet A. Identification and Quantitation of Species in Complex DNA Mixtures by Real-time Polymerase Chain Reaction. *Analytical Biochemistry*. 2005; 339: 73-82.

เหาคน โลนคน และนิติกฎหมาย

อภิชาติ วิทย์ตะ *

แสงชัย นทีวรรณารถ **

บทคัดย่อ

เหาเป็นแมลงดูดเลือดที่ไม่มีปีก เหาจัดอยู่ใน Kingdom Animalia, Phylum Arthropoda, Class insecta, order Anoplura แมลงชนิดนี้สามารถเป็นหลักฐานในการพิสูจน์บุคคล คนสามารถเป็นโฮสต์ของเหาได้สามชนิด คือ เหาบนศีรษะ เหาตามลำตัวและโลน เหาสามารถใช้ในการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ เนื่องจากเลือดที่ปรสิตนี้กินเข้าไปหรือสิ่งที่เหากายออกมา สามารถใช้ในการตรวจ DNA ในการตรวจทางอนุชีววิทยาได้ ยิ่งไปกว่านั้น การที่นักนิติกฎหมายพบแมลงเหล่านี้บนศพคนยังเป็นการบ่งชี้ถึงสิ่งแวดล้อมของสถานที่ที่เกิดการตายได้อีกด้วย

คำรหัส: เหาคน โลนคน การตรวจ DNA และนิติวิทยาศาสตร์

* ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

Human Lice and Forensic Entomology

Apichat Vitta *

Saengchai Nateeworanart **

Abstract

Lice are bloodsucking wingless insects of the Kingdom Animalia, Phylum Arthropoda, Class insecta, order Anoplura. Lice are hematophagus insects that may be useful in identifying individual hosts. Humans host three different kinds of lice; head lice, body lice, and pubic lice. These lice are often utilized in forensics investigations because their bloodmeal and excreta can be used in molecular diagnosis for human DNA detection. In addition, the insects robustness can be evidence in a dead environment when forensic entomologists find them on human remains.

Keywords: Human louse, pubic louse, DNA investigation and forensic entomology

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

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

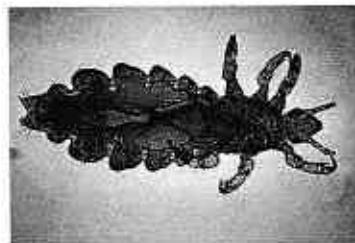
เหาคน (Human louse)

เหาเป็นแมลงที่มีชื่อวิทยาศาสตร์เรียกว่า *Pediculus humanus* เหาที่มีความสำคัญทางการแพทย์มี 2 ชนิด คือ เหาบนศีรษะ (Head louse; *Pediculus humanus* var *capitis*) และเหาตามลำตัว (Body louse; *Pediculus humanus* var *coporis*)^{1,2} เหาเป็นแมลงขนาดเล็กประมาณ 1-5 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ และเป็นแมลงที่ด้านหลังและด้านท้องแบนเข้าหากัน (Dorsoventral) และไม่มีปีก (รูปที่ 1)³ เหาเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้เล็กน้อย เพศเมียมีขนาดลำตัวยาวประมาณ 3.5-4.5 มิลลิเมตร ส่วนเพศผู้มีขนาดประมาณ 2.5-3.5 มิลลิเมตร รูปร่างลักษณะของเหาแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ส่วนหัวมีลักษณะเรียวยาวและแคบกว่าส่วนอก มีตาประกอบขนาดเล็กมาก ๆ 1 คู่ มีหนวดสั้น ๆ จำนวน 1 คู่ หนวดแต่ละเส้นมี 5 ปล้อง ปากของเหาเป็นแบบแทงดูด (Piercing-sucking type) ส่วนอกของเหาตัวเต็มวัยเชื่อมติดเป็นปล้องเดียวกัน มีรูหายใจ 1 คู่ อยู่ทางด้านหลัง เหาเมียที่อ้วนสั้นแต่แข็งแรง ส่วนปลายขามีปล้องที่ดัดแปลงเป็นตะขอ ใช้ในการยึดเกาะให้ตัวหาดูดแน่นอยู่กับเส้นผมหรือขนของโฮสต์ ส่วนท้องของเหาตัวเต็มวัยมีความยาวประมาณ 3/5 ของความยาวร่างกายทั้งหมด ผิวหนังส่วนท้องสามารถยืดหยุ่นและโป่งพองออกอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเหากินเลือดเต็มที่ ส่วนปลายสุดของส่วนท้องในเหาเพศผู้มีลักษณะแหลมและมี Aedeagus (Penis) ที่เห็นได้ชัด 1 คู่ สำหรับเหาเพศเมียส่วนปลายสุดของท้องมีรอยเว้า และมีรูเปิดของอวัยวะสืบพันธุ์อยู่ตรงกลาง

เหาตามลำตัวและเหาบนศีรษะมีรูปร่างภายนอกเหมือนกัน แต่แตกต่างกันคือบริเวณที่อาศัยบนร่างกายของโฮสต์ ในปี ค.ศ. 2005 ในการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ประชากรของเหาบนศีรษะและเหาตามลำตัว โดยศึกษา microsatellite DNA ของเหาทั้งสองกลุ่ม พบว่าเหาทั้งสองชนิดมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ถ้าหากจะแยกเหาทั้งสองชนิดออกจากกัน ควรจะตั้งชื่อเหาที่อยู่บนศีรษะว่า *Pediculus capitis* ส่วนเหาที่อยู่บนตัวเรียกว่า *Pediculus humanus*⁴ เหาตามลำตัวมีความสำคัญในทางการแพทย์คือเป็นพาหะของโรค Louse-borne epidemic typhus, Trench fever และ Louse-borne epidemic relapsing fever ส่วนเหาบนศีรษะไม่มีรายงานเป็นพาหะโรคดังกล่าว ในประเทศไทย^{1,2,5} อย่างไรก็ตาม มีการระบุว่าเหาบนศีรษะสามารถเป็นพาหะของการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes*⁵ แมลงนี้อาศัยอยู่บนศีรษะและอยู่ตามขนบริเวณลำตัวจะกัดและดูดเลือดคน เนื่องจากเหามีลำตัวยาว และมีความคล่องตัวในการเคลื่อนไหว จึงติดต่อกับคนได้ง่ายมาก ผู้ติดเชื้ออาจไม่มีอาการมากเท่าใดนัก แต่ปรกติอาจสร้างความรำคาญได้ เด็กหญิงที่มีเหาบนศีรษะ สามารถ

แพร่การติดเชื้อให้แก่เพื่อนร่วมชั้นเรียนเดียวกันได้ภายใน 24 ชั่วโมง ผู้ติดเชื้อมักจะทำให้เกิดอาการคันที่บริเวณด้านหลังและตรงศีรษะ ถ้าเกามากจนเป็นหนอง สะเก็ดแห้งกรังได้ บางครั้งเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน ทำให้ต่อมน้ำเหลืองที่บริเวณท้ายทอยและข้างคอโตได้ ในทางตรงกันข้าม ผู้ติดเชื้อบางรายอาจจะไม่มีอาการใดมาก ไม่คันมาก ถึงแม้ว่าเหาจะพบบ่อยในเด็กวัยเรียนมากที่สุด แต่ปรสิตนี้สามารถพบได้ทุกเพศทุกวัย ตัวเหาบนศีรษะสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรืออาจใช้แว่นขยายช่วยส่องดู ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีตัวเหาบนศีรษะน้อยกว่า 10 ตัว แต่ในบางคนอาจพบเหาได้มากถึง 2,091 ตัว⁶ การติดเหาจะติดต่อทางการสัมผัสโดยตรง เช่น การใช้หวีแปรงร่วมกัน การใช้หมวกร่วมกัน การใช้หมอนที่นอนร่วมกัน จากศีรษะคนหนึ่งไปที่ศีรษะอีกคนหนึ่ง เพราะฉะนั้นจึงมักพบระบาดในโรงเรียนได้บ่อย เพราะเด็กนักเรียนจะเล่นใกล้ชิดกันมาก¹²

โรคเหาที่หนังศีรษะพบได้บ่อยในเด็กวัยเรียน โดยเฉพาะเด็กผู้หญิง เหาจะดูดเลือดกินเป็นอาหาร น้ำลายเหามีสารที่ระคายผิวหนังได้ ทำให้เกิดตุ่มคันตรงรอยกัด เหาดำรงชีวิตแบบปรสิต แมลงนี้อาศัยอยู่บนหนังศีรษะ เส้นผม ขน เหาจะดูดเลือดกินเป็นอาหาร และวางไข่บนเส้นผม โดยหลังสารไคติน (Chitin) หุ้มปลายหนึ่งของไข่ ให้เกาะติดแน่นอยู่ มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า¹ มีสีขาวขุ่นอยู่ติดกับโคนผม (รูปที่ 2)⁷ ไข่เหาจะฟักเป็นตัวภายใน 7-10 วัน⁸ ไข่มีขนาดเล็กประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร สีขาวขุ่น เกาะติดแน่นกับเส้นผม เห็นได้ด้วยตาเปล่า ตัวเหาจะวางไข่ที่บริเวณโคนรากผม เมื่อผมยาวขึ้นก็จะเห็นไข่เหาอยู่ห่างจากหนังศีรษะมากขึ้น เช่น ปกติผมจะยาววันละประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ถ้าพบไข่อยู่บนเส้นผมห่างจากหนังศีรษะหรือโคนรากผม ประมาณ 15 เซนติเมตร แสดงว่าเป็นเหามาประมาณ 9 เดือน แล้วไข่ที่ยังมีตัวอยู่จะมีสีเหลืองขุ่น แต่ไข่ที่ว่างเปล่าไม่มีตัวจะมีสีขาวขุ่น⁴



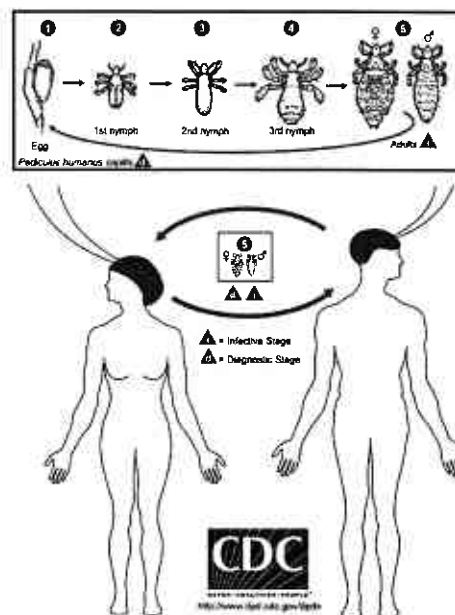
รูปที่ 1 เหากัน: ตัวเต็มวัยเพศเมีย (ซ้าย) และตัวเต็มวัยเพศผู้ (ขวา) (ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/Head_louse)



รูปที่ 2 ไข่ (nit) ของเหาบนศีรษะที่ติดอยู่กับเส้นผม (ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/Head_louse)

วงจรชีวิต

เหามีการเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบไม่สมบูรณ์ (Hemimetabolous) เมื่อตัวผู้และตัวเมียผสมพันธุ์กันแล้ว ตัวเมียจะวางไข่ยึดติดกับเส้นผมหรือขนโดยใช้กาวเหนียวๆ (Cement) เหาดำเต็มวัยเพศเมียวางไข่วันละประมาณ 6-9 ฟอง หรือประมาณ 200-300 ฟอง ตลอดวงจรชีวิต⁸ ประมาณ 7 วัน ไข่ nymph จะฟักออกมาจากไข่ ลอกคราบ 3 ครั้ง โดยใช้เวลาประมาณ 16-18 วัน จะเจริญเป็นตัวเต็มวัย ทั้งระยะ nymph และระยะตัวเต็มวัยจะดูดเลือดโฮสต์ (รูปที่ 3)⁹ การติดต่อของเหามักเกิดจากการคลุกคลีอยู่ใกล้ชิดกัน และใช้สิ่งของร่วมกัน



รูปที่ 3 วงจรชีวิตของเหา (ที่มา: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/headlice.htm>)

อาการ

เด็กที่เป็นเหาจะมีอาการคันมาก อาจเกาจนหนังศีรษะลอก อักเสบ และเป็นแผลติดเชื้อได้ นอกจากนี้ยังทำให้เด็กเสียสมาธิในการเรียน บางรายจะมีอาการคันศีรษะมาก และพบตัวเหาและไข่เหาซึ่งเห็นเป็นจุดขาว ๆ ติดอยู่บนบริเวณโคนผมและเส้นผม ส่วนใหญ่จะพบที่บริเวณเหนือใบหูและที่ท้ายทอย บางรายอาจมีอาการคันมากตอนกลางคืน จนนอนหลับไม่หลับเป็นผลให้พักผ่อนไม่เพียงพอ¹⁻³

การวินิจฉัย

ผู้ติดเชื้อสามารถตรวจได้ด้วยตาเปล่าโดยการตรวจพบตัวและไข่เหา บนศีรษะหรือลำตัวขึ้นกับชนิดเหา สำหรับการวินิจฉัยแยกโรค ต้องแยกจากรังแคซึ่งจะเป็นสะเก็ด ขุยลอกบนศีรษะ ขุยนี้จะไปติดแน่นกับเส้นผมเหมือนไข่เหา นอกจากนี้อาจต้องแยกลักษณะขุยหรือสะเก็ดจากการติดเชื้อจากโรคที่เกิดจากการใช้เจลใส่ผม ซึ่งเจลใส่ผมบางครั้งเมื่อทำปฏิกิริยากับเส้นผม แล้วจะแห้งกรัง เกาะติดเป็นแผ่นเล็กๆ บนเส้นผมได้⁴

การรักษา

การสระผมวันเว้นวันและใช้หวีเสนียดสางเหาใส่กระดาดและเผาทำลาย ทำเช่นนี้ทุกวันประมาณ 2-3 สัปดาห์ ช่วยให้เหาหมดไปได้โดยไม่ต้องใช้ยากำจัด การใช้หวีเสนียดควรใช้หวีซึ่งมีซี่ของหวีถี่มากใช้สางผมทำให้ทั้งตัวเหาและไข่เหาหลุดติดกับหวีออกมา นอกจากนี้วิธีโกนผมออกให้หมด เป็นการรักษาที่ได้ผลดีเพราะเหาไม่มีที่อาศัยเกาะ เป็นวิธีที่สะดวก ไม่สิ้นเปลือง^{1,2,4}

สำหรับการใช้สมุนไพรรักษา เช่น ยาฉุน ใบหรือเมล็ดน้อยหน่า ตำแล้วคั้นกับน้ำหรือน้ำมัน ชโลมผมให้ทั่วศีรษะ ทิ้งไว้ 3-4 ชั่วโมง จึงสระผม เหามักจะเกิดในเด็กนักเรียน ในการกำจัดเหาจำเป็นต้องทำซ้ำ เพราะขณะกำจัดเหา สมุนไพรที่ใช้สามารถฆ่าตัวเหาได้ แต่ไข่อาจจะถูกกำจัดไม่หมด จึงควรใช้ซ้ำ และแนะนำให้รักษาความสะอาดโดยการสระผมบ่อย ๆ นอกจากนี้ใช้ยารักษาเหาขององค์การเภสัชกรรมซึ่งมีลักษณะเป็นยาน้ำแขวนตะกอนสีขาวขุ่น (Scabicide emulsion) ควรใช้อย่างระมัดระวัง และปฏิบัติตามคำแนะนำในฉลาก สำหรับยาที่ใช้ฆ่าเหาและไข่เหาได้ผลดี คือ แกมมาเบนซีนเฮกซะคลอไรด์ (Gamma-1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane, Benhexachlor, Gamma isomer of benzene hexachloride) ชื่อทางการค้า คือ Exagama, Forlin, Gallogama, Gamapex, Gammex, Isotox, Lindafor, Lindagam, Lindagrain, Lindagranox, Lindalo,

Lindamul, Lindapoudre, Lindaterra, Novigam, และ Silvanol ใช้ทาทั่วศีรษะ หลังสระผมให้สะอาดแล้ว แล้วทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง และสระผมซ้ำล้างออก โดยจะฆ่าตัวเหาได้หมด แต่ไข่เหายังไม่ถูกกำจัดให้หมด จึงแนะนำให้ทายาซ้ำอีก 1 สัปดาห์ แล้วใช้วิธีอื่นๆ สางผมให้ไข่เหาหลุดออก หรือใช้ทาศีรษะ ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ล้างออกใช้ทาคิดต่อกัน 3 วัน สำหรับการใส่สารกำจัดเหาอื่นเช่น เบนซิลเบนโซเอต 25 % (25% Benzyl benzoate) ซโลมทั่วศีรษะ โปกผ้าทิ้งไว้ประมาณ 12-20 ชั่วโมง วิธีที่สะดวก คือ ใส่ยาตอนเย็น แล้วทิ้งไว้ค้างคืนหลังจากนั้นสระผมให้สะอาด พร้อมทั้งใช้หวีเสนียดสางเอาไข่เหาออกมา อีกหนึ่งสัปดาห์ต่อมา ควรทำซ้ำอีกครั้ง เพราะเป็นระยะที่ไข่เหาที่หลงเหลืออยู่จะฟักตัวอีกครั้งหนึ่ง⁴ แพทย์อาจต้องพิจารณาใช้ยาปฏิชีวนะ หากเกิดมีเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนเกิดขึ้น รวมทั้งอาจใช้ยากลุ่มแอนติฮิสตามีน (antihistamin) เพื่อระงับอาการคัน^{1,2,4,5}

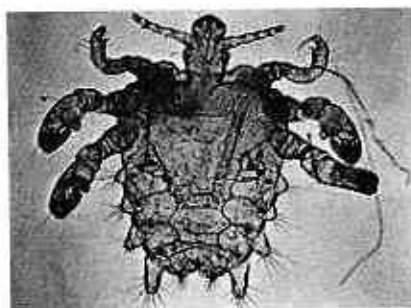
การป้องกัน

ควรสระผมให้สะอาดเป็นประจำอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 ครั้ง และไม่คลุกคลีหรือใช้สิ่งของร่วมกับผู้ติดเชื้อ นอกจากนี้ครูหรือผู้ปกครองควรตรวจหาให้เด็กอย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และแนะนำให้เพื่อนและสมาชิกในครอบครัวกำจัดเหาพร้อมกันด้วยวิธีที่ถูกต้อง ซึ่งเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคเหาได้ โดยแนะนำให้เด็กต้องรักษาความสะอาดของร่างกาย และสระผมเป็นประจำ หากสมาชิกในครอบครัวเป็นเหาควรนำเครื่องใช้ของผู้ติดเชื้อไปล้างทำความสะอาด ส่วนเครื่องนุ่งห่มควรนำไปตากแดดหรือเข้าเครื่องอบผ้า^{1,2,4,5} ส่วนเหาตามลำตัว จะมุ่งเน้นกำจัดตัวเหาและไข่เหาที่อยู่ตามเสื้อผ้าเป็นหลัก การรักษาความสะอาดของร่างกายด้วยการอาบน้ำบ่อยๆ อาจจะทำให้กำจัดเหาได้

โลนคน (Pubic louse)

ชื่อวิทยาศาสตร์ของโลน คือ *Phthirus pubis* พบได้ทั่วโลก และมักพบในช่วงเดือนที่มีอากาศเย็น¹⁰ ตัวเต็มวัยแมลงนี้มีขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร สีขาวเทา ลักษณะลำตัวอ้วนป้อมกว่าเหา โลนมีส่วนท้องค่อนข้างสั้น และกว้างเกือบเท่ากับ ความยาวของลำตัว ด้านข้างของปล้องท้องแต่ละปล้องมีตุ่มยื่นออกมา โลนมีขาคู่แรกพอมและเล็ก ส่วนขาคู่ที่ 2 และ 3 มีขนาดใหญ่ ปลายขาแต่ละข้างจะมีอุ้งตะขอที่ใหญ่ รูปร่างลักษณะภายนอกดังกล่าวทำให้เหมือนกับก้ามปู จึงมีชื่อเรียกโลนอีกอย่างหนึ่งว่า Crab louse^{1,5} (รูปที่ 4)¹¹ ปรสติดนี้อาศัยอยู่ตามขน

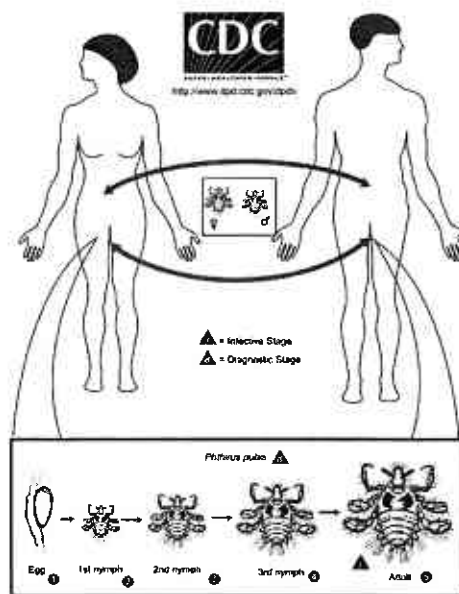
โดยเฉพาะบริเวณหัวหนาดูดกินเลือดคนเป็นอาหาร หากอดอาหาร 24 ชั่วโมง ตัวโลนจะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้^{1,2,4,5}



รูปที่ 4 ตัวเต็มวัยโลน (*Pthirus pubis*) (ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/Crab_louse)

วงจรชีวิต

โลนมีวงจรชีวิตคล้ายคลึงกับเหา โลนอาศัยอยู่ตามขนบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ (Pubic hair) หรือบริเวณ Peri-anal region บางครั้งอาจพบอาศัยที่ขนตามใบหน้า ขนหน้าอก ขนตา ขนคิ้ว หนวดเครา ขนรักแร้ และขนตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย^{8,12} ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ติดกับเส้นขน วันละประมาณ 2-3 ฟอง หรือประมาณ 30 ฟอง ตลอดช่วงชีวิต¹³ ไข่ฟักเป็นตัวอ่อน (Nymph) ภายใน 6-8 วัน แล้วเจริญเติบโตจนเป็นตัวเต็มวัย ประมาณ 13-17 วัน จากไข่จนกลายเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 20-28 วัน (รูปที่ 5)¹⁴ โลนมีอายุอยู่ได้ประมาณ 1 เดือน โลนสามารถติดต่อผ่านทางเพศสัมพันธ์ เชื้อจะติดจากขนของคนหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่ง แต่จะไม่ติดบนผม^{1,2,4,5} การติดต่อทางอื่นที่มีไข้จากเพศสัมพันธ์ เช่น การอนาเพศหรือใช้ผ้าเช็ดตัวร่วมกับคนที่ติดเชื้อ ใส่เสื้อผ้าของคน ที่ติดเชื้อ หรือนั่งบนโถส้วมที่มีเชื้ออยู่^{1,2,4,5,15}



รูปที่ 5 วงจรชีวิตของโลน (ที่มา <http://www.cdc.gov/parasites/lice/pubic/biology.html>)

อาการ

จากการศึกษาผู้ป่วยที่เป็นโรค Pediculosis pubis จำนวน 118 คน¹⁶ พบว่าผู้ที่มีอาการคันอย่างรุนแรงร้อยละ 85.9 มีรอยถลอกร้อยละ 24.8 และมี Maculae ceruleae บริเวณหน้าท้องและต้นขาร้อยละ 0.8 อาการที่สำคัญคืออาการคันบริเวณที่ติดเชื้อโดยเฉพาะบริเวณหัวหนำ อาจจะสังเกตเห็นตัวโลนที่หัวหนำ หรือสังเกตพบไข่ที่โคนขนหัวหนำหรืออาจจะพบรอยข้ำบริเวณที่ตัวโลนดูดเลือด นอกจากนี้อาจจะพบตัวโลนในบริเวณอื่น เช่น ขนรักแร้ เครา ขนคิ้ว ขนตา¹⁵

การวินิจฉัย

สามารถเห็นไข่หรือตัวเชื้อด้วยตาเปล่า หรืออาจจะใช้แว่นขยาย หรือหากสงสัยการติดโลน อาจไปพบแพทย์ เพื่อนำปรสิตส่งกล้องจุลทรรศน์เพื่อวินิจฉัย^{1,5,15}

การรักษา

Permethrin cream ทาบริเวณที่ติดเชื้อทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วล้างออก ไม่ใช้บริเวณที่ขนตา

Lindane shampoo ใช้สระขนบริเวณที่เป็นทิ้งไว้ 4 นาทีแล้วล้างออก ไม่ใช้บริเวณขนตา ไม่ใช้ในคนที่ เป็นโรคลมชัก ไม่ใช้บริเวณที่มีแผล หรือคนท้อง หรือเด็กอายุน้อยกว่า 2 ปี

Pyrethrins ใช้สระขนทิ้งไว้ 10 นาที แล้วล้างออก^{1,2,4,5,15} การโกนขนบริเวณที่ปรสิตอาศัยอยู่ทั้งเป็นการ รักษาที่ดีวิธีหนึ่ง¹

การป้องกัน

หลังจากรักษา ควรกำจัดไข่เนื่องจากการรักษาด้วยสารเคมีจะฆ่าตัวเต็มวัยแต่ไม่สามารถกำจัดไข่โตนให้หมดไป การเปลี่ยนชุดและที่นอนใหม่ที่สะอาดเป็นการป้องกันการติดปรสิตนี้อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้รักษาที่นอนและงคร่ามเพศจนกระทั่งรักษาหายขาดแล้ว หลังจากรักษาแล้วเสื้อผ้า ที่นอน เครื่องใช้ยังติดต่อ เพราะฉะนั้นต้องนำเสื้อผ้า ผ้าห่ม เครื่องนอนทั้งหลายไปต้มและอบแห้งด้วยความร้อน^{1,4,5,15}

เหา โตน และนิติกีฏวิทยา

นิติกีฏวิทยา (Forensic Entomology) หมายถึง การนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิต

ใน Phylum Arthropoda มาประยุกต์ใช้อ้างอิงในกระบวนการทางกฎหมาย¹⁷ เช่น การใช้ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแมลงในการประเมินเวลาหลังการตาย (Post mortem interval หรือ PMI) จากโครงสร้างหรืออวัยวะของตัวอ่อนหรือตัวเต็มวัย¹⁸⁻²⁰ นอกจากนี้ข้อมูลจากแมลงที่มายังศพยังใช้เป็นประกอบกับหลักฐานอื่นในที่เกิดเหตุ เป็นอีกหนทางหนึ่งที่สามารถใช้เป็นข้อมูลในการบังคับใช้กฎหมาย เพื่อลงโทษตัวผู้กระทำความผิดหรือหาสาเหตุการตาย²¹⁻²³ เช่น การนำสัตว์ขาข้อที่กินซากศพวิเคราะห์หาหรือสารพิษซึ่ง Derrick ได้ระบุในงานทบทวนเอกสารว่า ส่วนของกล้ามเนื้อของตัวอ่อนหนอนแมลงวันสามารถตรวจหาหรือสารที่ผู้ตายได้รับได้ นอกจากนี้ยาหรือสารที่ผู้ตายได้รับยังสามารถตรวจจากอาหารที่ตัวอ่อนแมลงวันได้กินจากศพเข้าไปได้อีกด้วย รวมทั้งตัวอ่อนระยะดักแด้ของหนอนแมลงวันสามารถใช้เป็นหลักฐานในการตรวจหาหรือสารพิษได้ และมีความเป็นไปได้ที่ยาหรือสารพิษอาจอยู่ในตัวดักแด้ได้นานเป็นปี ยิ่งไปกว่านั้นยาหรือสารพิษจากศพยังสามารถตรวจแมลงปีกแข็งในที่เกิดเหตุที่กินตัวอ่อนหนอนแมลงวันเป็นอาหารได้ด้วย²⁴ นอกจากนี้ Gagliano-Candela และ Aventaggiato ระบุรายงานการใช้สัตว์ขาข้อถูกใช้ในการตรวจหาสารพิษในทางนิติพิษวิทยา ด้วยเทคนิคการตรวจสารพิษที่แตกต่างกันไปในแต่ละรายงาน²⁵ สำหรับหลักฐานที่สำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์อีกประเภทหนึ่งคือ สาร

พันธุกรรม Deoxyribonucleotide; DNA ซึ่งจะเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้พิสูจน์ตัวบุคคลได้ ในทางนิติวิทยาศาสตร์ มีรายงานจำนวนมากที่ใช้เทคนิคการตรวจ DNA ในการคลี่คลายคดี ไม่ว่าจะเป็นการตรวจสอบสารพันธุกรรมนี้ด้วยเทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) และ Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งนอกจาก nuclear DNA แล้ว mitochondrial DNA ยังมีรายงานการใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์เพิ่มขึ้นอีกด้วย²¹

การตรวจ DNA ในทางนิติวิทยาศาสตร์สามารถได้จากสิ่งส่งตรวจหลายชนิด เช่น เนื้อเยื่อ ปมรากผม เลือด เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือดในที่เกิดเหตุเป็นหลักฐานที่มีความสำคัญในการตรวจ DNA เพื่อสืบสวนคดีทางนิติวิทยาศาสตร์^{26,27} เนื่องจากเหงาและโลนเป็นสิ่งที่มีความมีชีวิตที่เป็นปริศนา และเนื่องการดำรงชีวิตของแมลงทั้งสองชนิดนี้ที่อาศัยอยู่ใกล้กับโฮสต์ที่มันอาศัยอยู่ จึงมีการศึกษาเพื่อตรวจหา DNA ในแมลงทั้งสองนี้เพื่อใช้เป็นหลักฐานในการพิสูจน์บุคคลนิติวิทยาศาสตร์ ทั้งจากเลือดที่ปริศนาถูกกินเข้าไปและสิ่งที่แมลงขับถ่ายออกมา (Excreta)²⁸⁻³⁰ โดย Replogle ประสบความสำเร็จในการตรวจ genotype ของคนโดยใช้ mitochondrial DNA ส่วน D1S80 HUMTH01 ด้วยเทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (AMP-FLP) จากการตรวจสิ่งขับถ่ายจากโลน *Pthirus pubis*²⁸ ในปี 1998 Lord และคณะ สามารถเพิ่มจำนวนและหาลำดับเบสของ human mitochondrial DNA จากตัวโลน ที่ได้ดูดกินเลือดคนเข้าไป²⁹ ในการตรวจ DNA ด้วยเทคนิค PCR โดยส่วน short tandem repeats ที่ loci D13S317, D7S820 และ D16S539 จากเหาบนศีรษะ *Pediculus humanus* L., 1758 ที่ดูดกินเลือดที่ 2,4,6,8,14, 17, 20 และ 24 ชั่วโมงหลังดูดเลือด คณะผู้วิจัยพบว่า genomic DNA ของโฮสต์ที่ถูกดูดเลือดสามารถตรวจได้จาก 2 ถึง 20 ชั่วโมง หลังเหาดูดเลือดไปแล้ว เมื่อนำเลือดจากเหาที่ดูดเลือดจากคน 2 คนผสมกัน สามารถตรวจ DNA จากเลือดผสมได้ที่ 0 ถึง 3 ชั่วโมง และการตรวจ DNA ยังจะสามารถตรวจได้ถึงแม้เหาจะดูดเลือดจากโฮสต์ 3 คน อย่างไรก็ตามผู้วิจัยตั้งข้อสังเกตว่าการตรวจ DNA จากเลือดที่เหาดูดกินเลือดอาจเกิดปัญหาในการแปลผลได้หากเหากินเลือดของทั้งผู้ต้องหาและเหยื่อเข้าไปเพราะเกิดการติดต่อของเหาในที่เกิดเหตุ³⁰ เนื่องจากการศึกษาดังกล่าวสกัด DNA จากเหา 2 ถึง 3 ตัว Davey และคณะ ได้ทำการศึกษการสลายของ mtDNA เลือดกระต่ายที่ถูกเหาตามลำตัวดูดเลือด (ทำการทดลองโดยให้เพียงตัวเดียวที่กินเลือดโฮสต์) ผู้วิจัยพบว่า DNA ขนาด 199 bp จะสลายช้ากว่า DNA ขนาด 283 bp อย่างมีนัยสำคัญ³¹ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังพบว่าเมื่อ mtDNA 199 bp สามารถตรวจได้จากเหานานถึง 24 ชั่วโมง หลังจากเหาดูดเลือดไปแล้ว ในขณะที่ขนาด 283 bp ตรวจพบได้หลังจากเหาดูดเลือด 0 ถึง 12 ชั่วโมง นอกจากนี้การพบเหาและโลนในที่เกิดเหตุสามารถใช้ประกอบหลักฐานในการสอบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ โดยเหาจะ

อาศัยในพื้นที่ที่แห้งเท่านั้นและจะอาศัยอยู่บนโฮสต์เท่าที่อุณหภูมิร่างกายโฮสต์เหมาะสมเท่านั้น ซึ่งข้อมูลนี้สามารถประกอบการประมาณเวลาในการตายของเหยื่อร่วมกับข้อมูล ในการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ (Rigor mortis) และการตกของเม็ดเลือดหลังการตาย (Lividity) ในกรณีของการตายในลักษณะ Recent death ภายในเวลา 24 ชั่วโมงได้³² นอกจากนี้ Durden ได้ระบุในหนังสือ Medical and Veterinary Entomology ว่า ประชากรของเหาจะตายประมาณ 4% หลังจากที่ถูกแยกจากโฮสต์ของมัน ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 65% และที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เหาจะตายภายใน 7 วัน³³

บทสรุป

ปัจจุบันนี้ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ มีข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการใช้เหาและโลนในทางนิติวิทยาศาสตร์อยู่น้อยมาก โดยเฉพาะในประเทศไทยยังไม่พบข้อมูลด้านนี้เลย ข้อมูลที่ผู้นิพนธ์ได้รวบรวมมาเป็นการแสดงให้เห็นว่าเหาและโลนสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ได้จริง โดยการสกัด DNA จากเลือดคนในตัวเหาหรือโลนที่ดูดเลือดคนเข้าไปหรืออาจจะใช้ประโยชน์ในการประมาณระยะเวลาการตายแบบคร่าว ๆ แต่อย่างไรก็ตามยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกมากในเรื่องของเทคนิคการสกัด DNA ของคนจากเหาหรือโลนเพื่อความแม่นยำและความถูกต้อง แล้วจึงนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการพิสูจน์บุคคล

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Mr. Matthew Robert Furguson ผู้อำนวยการสถาบันพัฒนาภาษามหาวิทยาลัยนเรศวร ในการให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเขียนบทความภาษาอังกฤษ

References

1. วิจิต พิพิษฐกุล. สัตว์ขาข้อทางการแพทย์. ใน สมาน เทศนา และ ศิวพรณ มาลีวงษ์ บรรณาธิการ. ปรสิติวิทยาทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1, ขอนแก่น; โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2544: 300-37.
2. Service MW. Medical entomology for students. 2nd ed UK: Cambridge University press, 2000.
3. http://en.wikipedia.org/wiki/Head_louse (สืบค้นเมื่อ 26 กรกฎาคม 2554)
4. Leo NP, Hughes JM, Yang X, Poudel SKS, Brogdon WG, Barker SC. The head and body lice of humans are genetically distinct (Insecta: Phthiraptera, Pedicululidae): evidence from double infestations. Heredity 2005; 95: 34-40.
5. Burkhardt CN, Burkhardt CG. Fomite transmission in head lice. J Am Acad Dermatol 2007; 56(6): 1044-7.

6. อุษาวดี ถาวรระ, ประครอง พันธุ์ไร, อนุสรณ์ มาลัยนวล, และจิตติ จันทรแสง. ภาพการณ์เป็นเหาของเด็กนักเรียนชนบทในภาคต่างๆ ของประเทศไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2531; 30: 75-82.
7. http://en.wikipedia.org/wiki/Crab_louse (สืบค้นเมื่อ 27 กรกฎาคม 2554)
8. Service MW. A guide to medical entomology. London & Basingstoke: The Macmillan Press LTD., 1980
9. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/headlice.htm> (สืบค้นเมื่อ 31 กรกฎาคม 2554)
10. Mimouni D, Ankol OE, Gdalevich M, Grotto I, Davidovitch N, Zangvil E. Seasonality trends of pediculosis capitis and *Phthirus pubis* in a young adult population: follow-up of 20 years. J Eur Acad Dermatol Venereol 2002; 16: 257-9.
11. http://en.wikipedia.org/wiki/Crab_louse (สืบค้นเมื่อ 27 กรกฎาคม 2554)
12. James MT, Harwood RF. Herms's medical entomology. 6th ed. New York: Macmillan Publishing Co., Inc, 1969
13. Burkhart CN Gunning W, Burkhart CG. Scanning electron microscopic examination of the egg of the pubic louse (Anoplura: Pediculidae). Int J Dermatol 2000; 39: 201-2.
14. <http://www.cdc.gov/parasites/lice/pubic/biology.html> (สืบค้นเมื่อ 31 กรกฎาคม 2554)
15. คณาจารย์ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. สารกำจัดเหา. สารเคมีในชีวิตประจำวัน. (สืบค้นจาก <http://www.pharm.su.ac.th/cheminlife/cms/index.php/bath-room/pediculus-humanus> เมื่อ มิถุนายน 2554)
16. Ko CJ, Elston DM. Pediculosis. J Am Acad Dermatol 2004; 50: 1-12.
17. วิสุทธิ์ ชะริโต. นิติกฎหมาย. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2552; 2(3): 39-50
18. แสงชัย นทีวรณารณ, นพวรรณ บุญชู, อภิชาติ วิทย์ตะ. การวัด cephalopharyngeal skeleton ของ *Chrysomya megacephala* ระยะ third in star larvae ที่เก็บจากมหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2553; 38(1): 3100-6.
19. Greenberg B, Kunich JC. Entomology and the law. Cambridge; Cambridge University press: 2002
20. Smith KG. Annual of forensic entomology. London; The trustees of the British museum, 1986
21. Nickell J, Fischer JF. Crime science; method of forensic detection. USA, The university press of Kentucky 1999.
22. Saferstein R. Criminalistics: an introduction to forensic science. 8 ed, USA, Pearson printic hall. 2004.
23. Stuart HJ, Jon JN. Forensic science: an introduction to scientific and investigative technique. USA, CRC press. 2002
24. Derrick J. Pounder. Forensic entomo-toxicology. J Forensic Sci Soc. 1991;31(4): 469-72
25. Gagliano-Candela R, Avenaggiato L. Thedetection of toxic substances in entomological specimens. Int J Legal Med 2001; 114: 197-203
26. กรเกียรติ วงไพศาลสิน. ดีเอ็นเอกับงานนิติเวช. วารสารนิติเวชศาสตร์. 2550; 1(1):91-6
27. กรเกียรติ วงไพศาลสิน. ดีเอ็นเอ สู่กระบวนการนิติวิทยาศาสตร์. วารสารนิติเวชศาสตร์. 2550; 1(2): 35-6
28. Replogle J, Lord WD, Budowle B, Meinking TL, Taplin D. Identification of host DNA by amplified fragment length polymorphism analysis: preliminary analysis of human crab louse (Anoplura: Pediculidae) excreta. J Med Entomol. 1994 ; 31(5): 686-90.
29. Lord WD, DiZinno JA, Wilson MR, Budowle B, Taplin D, Meinking TL. Isolation, amplification, and sequencing of human mitochondrial DNA obtained from human crab louse, *Pthirus pubis* (L.), blood meals. J Forensic Sci. 1998; 43(5):1097-100.

30. Mumcuoglu KY, Gallili N, Reshef A, Brauner P, Grant H. Use of human lice in forensic entomology. J Med Entomol. 2004; 41(4): 803-6.
31. Davey JS, Casey CS, Burgess IF, Cable J. DNA detection rates of host mtDNA in bloodmeals of human body lice (*Pediculus humanus* L., 1758). Med Vet Entomol 2007; 21: 293-6.
32. Gernard DE. Forensic entomology; an introduction. West Sussex, England; Wiley: 2007.
33. Mullen G, Durden LA. Lice. Medical and veterinary entomology. Amsterdam; Academic Press, 2002.

การจับเท็จ

อรรจน์มน ธรรมไชย *

ผศ. ดร. นवलลอ ธวินชัย **

บทคัดย่อ

ปัจจุบัน วิธีการจับเท็จได้มีการพัฒนาขึ้น จากการวัดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ด้วยเครื่องโพลีกราฟ เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางโดยตรง โดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพสมอง (Functional magnetic resonance imaging: fMRI) ถึงแม้ว่าการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมองยังไม่ได้นำมาใช้ในงานยุติธรรม เนื่องจากต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงและผู้ใช้จะต้องมีความชำนาญพิเศษเฉพาะด้าน แต่ความแม่นยำนั้นมีมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 ในขณะที่การจับเท็จด้วยเครื่องโพลีกราฟมีความแม่นยำอยู่ในช่วงค่อนข้างกว้างคือ ร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 99 และสามารถนำไปใช้ในชั้นศาลได้ร้อยละ 60 เท่านั้น นอกจากนี้ รูปแบบของการถามและชนิดของคำถามมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการจับเท็จ ดังนั้น บทความวิชาการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนวิธีการจับเท็จด้วยเครื่องโพลีกราฟ และเทคนิคการถ่ายภาพสมอง และเพื่อสรุปรูปแบบของการถามและชนิดของคำถามที่สำคัญต่อการจับเท็จ ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจหลักการทางวิทยาศาสตร์ต่อการจับเท็จที่จะเอื้อประโยชน์ต่องานยุติธรรมต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: การจับเท็จ เทคนิคการถ่ายภาพสมอง โพลีกราฟ

* สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Deception Detection

Abstract

Presently, deception detection has been advanced from assessing physiological signs using polygraph to assessing brain activity using functional magnetic resonance imaging (fMRI). The fMRI has not been used in court yet because of expensive course and required specialist. However, its accuracy has been reported about 90 percent while the polygraph's accuracy has been report in a wide range of 50-99 percent and the result can be used only 60 percent in court. Furthermore, question paradigm and types are necessary in deception detection. Therefore, the purposes of this review article were to review deception detection using the polygraph and fMRI, and to summarize the question paradigm and types that have been used in deception detection. This knowledge would be more helpful in understanding the applied science principle to the deception detection which would be further benefits to the justice system.

Keywords: Lie detection, Functional magnetic resonance imaging (fMRI), Polygraph

บทนำ

การจับเท็จเป็นการดำเนินการตรวจสอบเพื่อให้ได้มาซึ่งความจริงจากแต่ละบุคคลที่ถูกตรวจสอบ โดยประเมินว่าผู้นั้นตอบคำถามตามความเป็นจริง (Truth) หรือการหลอกลวง (Deception) โดยมีการสังเกตจากอาการปฏิกิริยาทางกายและการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ คำถามที่ใช้ทดสอบการจับเท็จมีหลายรูปแบบของคำถามซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาทางกายต่างๆและการทำงานของสมอง (1)

เครื่องโพลีกราฟ (Polygraph) เป็นเครื่องมือที่ใช้กันในปัจจุบัน ซึ่งมีความแม่นยำอยู่ในช่วงค่อนข้างกว้าง คือ ร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 99 (2-4) ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่เครื่องโพลีกราฟใช้หลักการวัดความเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาของร่างกายอันมีผลมาจากสภาวะความเปลี่ยนแปลงทางอารมณ์ (5) จึงทำให้ไม่สามารถแยกแยะได้อย่างชัดเจนว่าความผิดปกติของเส้นกราฟนั้นเกิดขึ้นจากสภาวะอารมณ์ใด (4, 6, 7) นอกจากนี้ ยังขึ้นกับความหลากหลายของรูปแบบการทดสอบการจับเท็จและความสามารถของผู้จับเท็จอีกด้วย (2, 8) ใน

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการจับเท็จด้วยเทคนิคใหม่โดยวัดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางโดยตรง คือ เทคนิคการถ่ายภาพสมอง Functional magnetic resonance imaging (fMRI) (3, 4, 6, 8-13) ซึ่งเป็นเทคนิคการถ่ายภาพสมองด้วยเครื่องเอ็มอาร์ไอ (Magnetic resonance imaging: MRI) เพื่อตรวจหาส่วนของสมองที่ทำงานหนักขึ้นเมื่อมีการหลอกลวงโดยการสแกนสมองเพื่อให้เกิดเป็นภาพความเปรียบต่าง (Contrast) ของความสัมพันธ์ของอัตราสูงสุดของกระบวนการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนในเลือด (Blood oxygen level dependent: BOLD) การจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI มีความแม่นยำอยู่มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 (3, 14-16)

ถึงแม้ว่าการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI จะยังไม่แพร่หลายเนื่องจากต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงและผู้ใช้จะต้องมีความชำนาญพิเศษเฉพาะด้านแต่ก็นับว่าเป็นความหวังใหม่ในการช่วยจับเท็จที่แม่นยำกว่าเครื่องโพลีกราฟและเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือ จากหลาย ๆ การศึกษาในต่างประเทศทั้งในยุโรปและอเมริกา (4, 11, 13, 16-19) ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมและกระบวนการตอบสนองทางกายวิภาคด้วยเทคนิคการถ่ายภาพ fMRI พบว่า เมื่อมีการหลอกลวงปฏิบัติการทำงานของสมองจะเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะส่วนที่เรียกว่า Ventrolateral prefrontal cortex: VLPFC ซึ่งส่วนใหญ่ทำการศึกษาในคนปกติโดยทำการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงการทำงานของสมองระหว่างการหลอกลวงกับการกล่าวความจริง (4, 7, 11, 16-18) ประโยชน์จากการศึกษาเหล่านี้คือ เป็นการคาดหวังว่าจะสามารถนำรูปแบบการจับเท็จและการเปลี่ยนแปลงของสมองมาใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI ในงานนิติวิทยาศาสตร์เพื่อใช้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือต่อไปในอนาคต

การจับเท็จ (Lie detection)

แม้นักทฤษฎีวิทยาศาสตร์ด้านการจับเท็จจะได้มีการพัฒนาการมาเป็นเวลานานกว่าศตวรรษแต่ผู้เชี่ยวชาญก็ต้องพยายามหาหนทางที่จะพัฒนาเทคนิคของการวิเคราะห์เพื่อที่จะลงความเห็นได้ว่าบุคคลนั้น ๆ ได้ตอบคำถามด้วยการกล่าวความจริงหรือหลอกลวง ดังนั้น การเข้าใจถึงหลักของตรรกะในทางจิตวิทยา สรีรวิทยารวมถึงเทคนิคการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ จึงถือได้ว่าเป็นคุณสมบัติที่สำคัญสำหรับผู้ดำเนินการจับเท็จ หลักของตรรกะในทางจิตวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการกล่าวความเท็จหรือการหลอกลวงได้กล่าวถึงการที่สภาวะทางร่างกายจะมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อสภาวะทางจิตเปลี่ยนแปลง หมายถึง เมื่อผู้ใดก็ตามที่สามารถรับรู้ได้ว่าสิ่งที่ตนกล่าวออกมานั้นเป็นความเท็จซึ่งไม่ตรงกับความเป็นจริงที่ตนรับรู้อยู่ในใจย่อมเกิดความขัดแย้งสับสนภายในสมองของตนเองและความขัดแย้งสับสนเช่นนี้จะเป็นตัวก่อให้เกิดความเครียดหรือความวิตกกังวลซึ่งจะกระตุ้นต่อกลไกทางร่างกาย ปัจจัยต่าง ๆ ทางจิตวิทยาไม่ว่าจะเป็นความหวาดกลัว ความวิตกกังวล ความขัดแย้งสับสน ต่างก็มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาทั้งสิ้น โดยสิ่งสำคัญของกระบวนการจับเท็จคือแรงกระทบใน

ปฏิสัมพันธ์ทางจิตวิทยาที่มีต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาเนื่องจากผู้ดำเนินการจับเท็จมิได้มุ่งวัดถึงตัวค่าหลอกลวงนั้นแต่เป็นการมุ่งวัดถึงปฏิกิริยาต่างๆที่เปลี่ยนแปลงในร่างกายของบุคคลที่มีความเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมทางจิตซึ่งสัมพันธ์กับความเครียดที่เกี่ยวข้องกับการหลอกลวงนั้น ๆ (5)

ประเภทการจับเท็จ

1. การจับเท็จโดยการจับพิรุณ

การจับเท็จที่ใช้โดยทั่วไป คือจับพิรุณโดยการสังเกตสีหน้า การพูด ท่ากิริยาหรือโดยวิธีอื่น โดยที่นักจิตวิทยาหลายคนมีความคิดว่าการพิจารณาจังหวะการพูดหรือการเปลี่ยนน้ำเสียง จะช่วยในการจับเท็จได้ (1) แต่ก็ยอมรับว่าการใช้วิธีการจับเท็จทุกวิธีต่างก็มีความบกพร่องไม่สามารถจับคนโกหกได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ (20)

2. การจับเท็จโดยใช้เครื่องโพลีกราฟ

ในปัจจุบัน เครื่องโพลีกราฟ เป็นเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในการจับเท็จที่ให้ความสะดวกแก่ผู้ปฏิบัติงานที่ทำงานร่วมกับระบบที่ถูกกำหนดไว้ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์แต่ก็จำเป็นที่จะต้องอาศัยความสามารถและประสบการณ์ของผู้ดำเนินการจับเท็จเพื่อให้การวิเคราะห์ผลมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ เครื่องโพลีกราฟใช้หลักการการวัดความเปลี่ยนแปลงทางร่างกายอันมีผลมาจากสภาวะความเปลี่ยนแปลงทางอารมณ์ 5 ประการ คือ การหายใจบริเวณเหนืออก (Thoracic respiration) การหายใจบริเวณหน้าท้อง (Abdominal respiration) ปฏิกริยาเหงื่อที่ผิวหนัง (Galvanic skin reflex) ความดันโลหิต-ชีพจร (Blood pressure-pulse) และปริมาณความเข้มข้นของโลหิตที่ปลายนิ้ว (Plethysmograph) (5)

จากการทดสอบความแม่นยำของการจับเท็จด้วยเครื่องโพลีกราฟ พบว่ามีความแม่นยำในระดับที่หลากหลาย คือ ประมาณร้อยละ 85 (4, 21), ร้อยละ 90 (20), ช่วงร้อยละ 50 ถึง 99 (2), ช่วงร้อยละ 50 ถึง 95 (3) และช่วงร้อยละ 80 ถึง 98 (22) บ่งบอกถึงการมีความแม่นยำในช่วงที่กว้างและยังถือว่าไม่เพียงพอที่จะนำมาเป็นที่ยอมรับในชั้นศาล (4, 6) อีกทั้งเนื่องจากผลของการวัดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่เกิดจากการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติไม่สามารถแยกแยะได้อย่างชัดเจนว่าความผิดปกติของเส้นกราฟนั้นเกิดขึ้นจากสภาวะอารมณ์ใด เช่น ความรู้สึกผิด (Guilt) ความตื่นเต้น (Excitement) หรือความโกรธ (Anger) (4, 6, 7) ดังนั้น การพัฒนาเครื่องทางวิทยาศาสตร์เพื่อพัฒนาการจับเท็จโดยผ่านทางระบบประสาทส่วนกลางโดยตรงจะทำให้มีความให้ความแม่นยำในการจับเท็จมากยิ่งขึ้น (4, 6, 8) นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อให้การจับเท็จในงานนิติวิทยาศาสตร์มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

3. การจับเท็จโดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพสมอง (Functional magnetic resonance imaging: fMRI)

เอ็มอาร์ไอ (Magnetic resonance imaging: MRI) เป็นเครื่องมือทางการแพทย์ที่ได้ความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ซึ่งมีประโยชน์มากโดยเฉพาะการสร้างภาพของสมอง เพราะนอกจากจะใช้สร้างภาพเพื่อดูกายวิภาคแล้วยังสามารถใช้ตรวจหาตำแหน่งต่าง ๆ ในสมองที่ใช้ในการรับความรู้สึกจากสิ่งกระตุ้น เช่น การได้ยิน การสัมผัส การมองเห็น เป็นต้น รวมไปถึงการใช้ตรวจหาตำแหน่งในสมองที่ใช้ในการออกคำสั่งให้ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น เช่น การพูด การคิด เป็นต้น ซึ่งเทคนิคดังกล่าวเรียกว่า Functional magnetic resonance imaging (fMRI)

fMRI เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจหาตำแหน่งของสมองที่มีผลมาจากการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางโดยตรง (3, 4, 6, 8-13) ซึ่งอาศัยหลักการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงระหว่างเลือดที่มีระดับความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำ (Deoxyhemoglobin) ในช่วงเวลาที่สมองอยู่ในสภาวะพัก (Rest) และเลือดที่มีระดับความเข้มข้นของออกซิเจนสูง (Oxyhemoglobin) ในช่วงเวลาที่สมองได้รับการกระตุ้น (Activated) จะเห็นได้ว่าระดับสัญญาณเอ็มอาร์ไอที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนจึงนิยมเรียกเทคนิคนี้ว่า BOLD (Blood oxygen level dependent)-based fMRI ซึ่งเลือดที่มีออกซิเจนอยู่เข้มข้น (Oxyhemoglobin, Fe^{2+}) จะแสดงคุณสมบัติทางแม่เหล็กเป็นไดอะแมกเนติก (Diamagnetism) มีผลทำให้ความแปรปรวนของสนามแม่เหล็กหลัก (Magnetic flux) ลดลง ส่งผลให้บริเวณดังกล่าวมีสัญญาณเอ็มอาร์ไอต่ำกว่าบริเวณข้างเคียง ในทางตรงกันข้ามเลือดที่มีออกซิเจนต่ำ (Deoxyhemoglobin, Fe^{3+}) จะมีอิเล็กตรอนโคจรรอบนิวเคลียสของเหล็กและจะแสดงคุณสมบัติทางแม่เหล็กเป็นพาราแมกเนติก (Paramagnetism) ทำให้สนามแม่เหล็กหลักบริเวณดังกล่าวเกิดความแปรปรวนเพิ่มขึ้น ทำให้สัญญาณเอ็มอาร์ไอลดลงเมื่อเทียบกับบริเวณที่มีออกซิเจนสูง (23)

การนำเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI มาใช้ในการจับเท็จจะสามารถตรวจสอบการทำงานของระบบประสาทที่ควบคุมสภาวะอารมณ์ได้ดี โดยอาศัยหลักการสร้างรูปแบบในการจับเท็จภายใต้คำแนะนำ 2 ข้อ คือ ควรออกแบบการทดสอบให้มีความเกี่ยวข้องกับผลต่อสังคมและควรมีการกระตุ้นให้ผู้เข้าร่วมการทดสอบเกิดความพยายามที่จะโกหกอย่างจริงจัง การออกแบบการทดสอบที่เป็นการหลอกลวงอย่างแท้จริงจะทำให้เห็นถึงกระบวนการการทำงานของสมองที่เกี่ยวข้องกับการหลอกลวงได้อย่างเฉพาะเจาะจง (8) การจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI มีความแม่นยำมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 (3, 14, 15, 18) ดังนั้น เพื่อเป็นการพัฒนารูปแบบการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI ให้มีความเฉพาะเจาะจงต่อการทำงานของพื้นที่สมองมากยิ่งขึ้นจึงควรต้องอาศัยหลักการของการตรวจสอบทางโพลีกราฟมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการตั้งคำถามและตอบคำถามรวมถึงรูปแบบในการทดสอบเพื่อให้ได้มาซึ่งกระบวนการจับเท็จที่มีความแม่นยำและ

สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้จริงในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์โดยเป็นการเพิ่มหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในงานด้านการจับเท็จ (3, 8, 17) ทั้งในด้านของความน่าเชื่อถือ ความแม่นยำที่มากยิ่งขึ้น

รูปแบบของการถามสำหรับการจับเท็จ

การจับเท็จจะมีการทดสอบหลายครั้งในชุดคำถามที่เหมือนกันหรือต่างกันตามจุดประสงค์โดยที่แต่ละลักษณะจะมีสูตรของคำถามและตำแหน่งในการสลับคำถาม คำถามที่จะนำมาใช้ในการทดสอบที่ใช้เป็นหลักอยู่โดยทั่วไปจะมี 3 ประเภท คือ 1) คำถามเกี่ยวข้องกับคดี (Relevant question) เป็นคำถามที่อยู่ในกรอบจำเพาะของคดีที่กำลังสืบสวนสอบสวนเท่านั้น สิ่งที่สำคัญคือ ต้องมีทั้งคำถามที่เชื่อมโยงกับคดีโดยตรง คำถามระดับรอง และคำถามเชื่อมโยงพยานหลักฐาน 2) คำถามควบคุม (Control question) เป็นคำถามที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความผิดที่เป็นคู่ขนานกับคดีแต่มิได้นำนักความรับผิดชอบน้อยกว่า 3) คำถามที่เป็นกลางหรือไม่เกี่ยวข้องกับคดี (Neutral/Irrelevant question) เป็นคำถามที่มุ่งพิจารณาหาเกณฑ์ปกติของปฏิกิริยาที่ตอบสนองของบุคคลนั้น คำถามสำหรับการทดสอบมีหลายรูปแบบซึ่งมีวัตถุประสงค์จำเพาะต่างกันออกไปและการตรวจสอบทางโพลีกราฟมีการทดสอบหลายครั้ง แต่ละรูปแบบของคำถามจะเป็นไปตามสูตรของคำถาม

โดยหลักทั่วไปนั้น ริด (Reid) ได้ใช้วิธีเริ่มต้นด้วยการทดสอบแรก (First test) แล้วจึงใช้การทดสอบด้วยบัตรเลขหมาย (Card test) เพื่อใช้เป็นในการกระตุ้นความรู้สึกของบุคคล หลังจากนั้นจะเป็นการทดสอบที่สาม (Third test) แล้วจึงเป็นการทดสอบด้วยคำถามผสม (Mixed question test) นอกจากนี้ยังมีการทดสอบปมบาป (Guilt complex test: GKT) ที่เหมาะสำหรับบุคคลที่มีปฏิกิริยาตอบสนองมากเกินไปซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการที่บุคคลนั้นกำลังหมกมุ่นกับบางสิ่งบางอย่างในคำหรือเรื่องราวที่ทำให้กระทบถึงความรู้สึกอย่างรุนแรงได้ การทดสอบอีกชนิดหนึ่งที่แตกต่างกันจากการทดสอบอื่น เรียกว่า การทดสอบจุดสุดยอดของความตึงเครียด (Peak of tension test: POT) จะช่วยกระตุ้นความรู้สึกที่ต้องกล่าวหาลอกลวงอย่างจำเพาะต่อข้อคำถามนั้นออกมา และจะได้ผลอย่างยิ่งถ้าข้อมูลรายละเอียดปลีกย่อยที่สำคัญของคดีไม่เป็นที่ล่วงรู้ของบุคคลอื่นใดมาก่อนนอกจากตัวผู้กระทำและเจ้าหน้าที่ตำรวจที่สืบทราบข้อมูลเท่านั้น ส่วนการทดสอบอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า การทดสอบด้วยคำตอบเจียบ เป็นการทดสอบที่ผู้ตรวจสอบต้องบอกให้บุคคลนั้นตอบคำถามในใจของตนเองตลอดการทดสอบ ซึ่งจะก่อให้เกิดความขัดแย้งสับสนในความรู้สึกที่เกิดขึ้นภายในตัวบุคคลเองและทำให้เกิดปฏิกิริยาทางอารมณ์ ซึ่งจะสะท้อนออกมาปรากฏให้เห็นได้ทางเส้นภาพโพลีกราฟ (5) จากการศึกษาคุณสมบัติของแต่ละการทดสอบที่มีความแตกต่างกันและความเป็นไปได้ว่าเมื่อมีการเริ่มคิดคำนึงถึงคำตอบทันทีที่เข้าใจคำถามย่อมทำให้เกิดกระบวนการคิดผ่านการทำงานของสมอง จึงนำมาซึ่งการประยุกต์ใช้รูปแบบการทดสอบต่างๆ ในการจับเท็จเพื่อวัดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางโดยตรง (3, 4, 6, 8-13)

การพัฒนารูปแบบและการนำคำถามมาประยุกต์ใช้ในการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI โดยทำการสร้างและทดสอบรูปแบบการจับเท็จซึ่งคำถามที่นำมาใช้ในการทดสอบมีสามประเภท คือ คำถามเกี่ยวข้องกับคดี คำถามควบคุม และคำถามที่เป็นกลางหรือไม่เกี่ยวข้องกับคดี ผลจากการศึกษาพบว่าส่วนของสมองที่ถูกกระตุ้นสามารถนำมาทำนายได้อย่างถูกต้องร้อยละ 93 และสามารถจับเท็จได้ร้อยละ 90 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI สามารถนำมาจับเท็จได้ในรายบุคคล แต่อย่างไรก็ตามควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยสร้างสถานการณ์จำลองแบบอื่นๆที่เหมือนจริงเนื่องจากผลที่ได้จากการกระตุ้นบอกได้แต่เพียงกลุ่มของบริเวณทางกายวิภาคของสมองที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจากการหลอกลวงแต่ไม่สามารถระบุบริเวณทางกายวิภาคของสมองที่เกี่ยวข้องกับการหลอกลวงได้อย่างเฉพาะเจาะจง (14, 15)

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาการจับเท็จโดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI ที่ใช้รูปแบบการทดสอบที่เรียกว่าการทดสอบปมบาป เป็นการทดสอบอีกรูปแบบหนึ่งของกระบวนการทางโปลีกราฟที่อาศัยการกระตุ้นความรู้สึกที่เป็นปมอยู่ในใจ ผลจากการศึกษาพบว่า ในขณะที่มีการหลอกลวงจะมีการทำงานของสมองส่วน VLPFC, Dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), Medial prefrontal cortex (MPFC) และ Anterior cingulate gyrus หรือ Anterior cingulate cortices (ACC) จะเห็นได้ว่าผลจากการกระตุ้นด้วยการทดสอบปมบาป แสดงให้เห็นถึงการทำงานร่วมกันของสมองหลายส่วนที่เกี่ยวข้องกับการหลอกลวงแต่ก็ยังไม่สามารถกระตุ้นการทำงานของสมองให้สนองตอบต่อการกล่าวหลอกลวงได้อย่างเฉพาะเจาะจงเช่นเดียวกัน (10, 11, 17, 24)

การนำรูปแบบการทดสอบด้วยคำถามที่เป็นกลางหรือไม่เกี่ยวข้องกับคดี มาทำการทดสอบการจับเท็จโดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI และกำหนดให้ผู้เข้าร่วมการศึกษาสามารถเลือกตอบคำถามระหว่างพูดจริงหรือพูดเท็จได้อย่างอิสระ พบว่า การกล่าวหลอกลวงจากการกระตุ้นด้วยคำถามที่เป็นกลางหรือไม่เกี่ยวข้องกับคดี มีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นการทำงานของสมองส่วน ventrolateral prefrontal regions ทั้งสองข้าง (16, 18) ข้อเสนอแนะที่สำคัญคือ การให้ผู้เข้าร่วมการศึกษาเตรียมเรื่องราวที่มีความคุ้นเคยหรือเหตุการณ์จริงที่ผ่านมา จะทำให้ผู้เข้าร่วมการศึกษามีความรู้สึกยอมรับ วัตถุประสงค์การกระตุ้น และสัมพันธ์กับการกระตุ้นการทำงานของสมองส่วน VLPFC ได้ดีกว่าการใช้รูปแบบการศึกษาย่อยๆ เช่น การใช้บัตรเลขหมายหรือไพ่ (16)

สรีรวิทยาและประสาทกายวิภาคกับการจับเท็จ

สรีรวิทยาและการจับเท็จ

ผู้สนใจในวิทยาการด้านการจับเท็จได้อาศัยหลักตรรกะทางสรีรวิทยาเพื่อตรวจสอบความเปลี่ยนแปลงของร่างกายอันมีผลมาจากความเปลี่ยนแปลงด้านอารมณ์ต่อระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic nervous

system: ANS) (5) ซึ่งเป็นระบบประสาทที่สามารถควบคุมสภาวะภายในร่างกายให้สมดุล เช่น การเต้นหัวใจ การหายใจ อุณหภูมิของร่างกาย เป็นต้น ระบบประสาทอัตโนมัติแยกเป็นสองส่วนคือ ระบบประสาทซิมพาเทติก (Sympathetic nervous system: SNS) ซึ่งมีเซลล์ประสาทอยู่ในปล้องไขสันหลังระดับอกและเอว (Thoracolumbar) และระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (Parasympathetic nervous system: PNS) ที่มีเซลล์ประสาทอยู่ในปล้องไขสันหลังระดับคอและกระเบนเหน็บ (Craniosacral) ระบบประสาทอัตโนมัติมีบทบาทควบคุมอวัยวะภายในร่างกาย ดังนี้ คือ กล้ามเนื้อเรียบของผิวหนัง (Arrector pili) ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ ระบบหายใจ ผังหลอดเลือด กล้ามเนื้อเรียบภายในตา (Ciliary, Sphincter papillae, Dilator pupillae) กล้ามเนื้อนอกตา (Tarsal, Muller's ของหนังตา) กล้ามเนื้อหัวใจและต่อมต่าง ๆ (25)

ในการตรวจสอบด้วยเครื่องจับเท็จนั้นความวิตกกังวลโดยทั่วไปของบุคคลที่ถูกตรวจสอบจะมีส่วนไปกระตุ้นระดับการทำงานของประสาทบังคับอาการนอกอำนาจจิตใจ (Sympathetic activity) เมื่อสภาวะทางอารมณ์ถูกปลุกเร้าขึ้นในช่วงขณะการกล่าวทูลถ้อย ปฏิกริยาสนองตอบทางสรีรวิทยาจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยปริมาณโลหิตที่แขนอาจเพิ่มขึ้นพร้อมกับเพิ่มแรงไหลเวียนของโลหิตไปยังกล้ามเนื้อส่วนกะโหลก ความต้านกระแสไฟฟ้าบริเวณผิวหนังอาจลดน้อยลงเนื่องจากอาจเกิดเหงื่อที่บริเวณอุ้งมือ รูปแบบการหายใจอาจผันผวน อัตราการหายใจและชีพจรอาจไม่คงที่ เมื่อระบบประสาทซิมพาเทติก (Sympathetic nervous system: SNS) ถูกความเครียดกระตุ้นให้เกิดการทำงาน ระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (Parasympathetic nervous system: PNS) จะทำงานเพื่อให้ร่างกายกลับสู่สภาวะสมดุล (5) โดยส่วนของสมองที่ทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางควบคุมระบบประสาทอัตโนมัติ คือ ไฮโปทาลามัส (Hypothalamus) จะสร้างฮอร์โมนเพื่อควบคุมการผลิตฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองเพื่อให้เกิดการควบคุมสมดุลของปริมาณน้ำและสารละลายในเลือดและควบคุมอุณหภูมิร่างกาย อารมณ์ความรู้สึก วงจรการตื่นและการหลับ การหิว การอิ่ม และความรู้สึกทางเพศ และทำหน้าที่ประสานการทำงานระหว่างระบบประสาทอัตโนมัติกับระบบประสาทและต่อมไร้ท่อ (Neuroendocrine) เพื่อรักษาสมดุลของร่างกาย (25)

การเปลี่ยนแปลงทางร่างกายเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงอันสลับซับซ้อนของระบบประสาทส่วนกลาง ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทอัตโนมัติและการเปลี่ยนแปลงของต่อมไร้ท่อ การเปลี่ยนแปลงทางร่างกายเหล่านี้ทำให้นักจิตวิทยาที่มีความสนใจและพบว่าขณะมีการเปลี่ยนแปลงอารมณ์ ร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงยกตัวอย่างเช่น ปฏิกริยาของเหงื่อที่ผิวหนัง เกี่ยวข้องกับการนำไฟฟ้าที่ผิวหนังขณะที่มีอารมณ์ตื่นเต้นพลังงานไฟฟ้าบนผิวหนังจะเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงการไหลของเลือด เกิดจากเส้นเลือดฝอยขยายตัวและเลือดจะถูกส่งไปหล่อเลี้ยงบริเวณผิวหนังมากขึ้นทำให้คนที่มีความโกรธจัดหน้าจะแดง ส่วนคนที่มีการตรงข้ามกัน คือ คนที่มีความกลัวหรือตกใจเส้นเลือดจะหดตัว เลือดจะไปเลี้ยงบริเวณผิวหนังน้อยจึงจะเห็นว่าหน้าซีด การเต้น

ของหัวใจที่แรงขึ้นเป็นสัญลักษณ์ที่แสดงให้เห็นได้ง่าย กล่าวคือ เมื่อคนเกิดอารมณ์ที่เปลี่ยนแปลงอัตราการเต้นของหัวใจจะเร็วและแรงขึ้น ส่วนอัตราการหายใจเข้าออกและการหายใจลึกเป็นเครื่องบ่งชี้ให้เห็นถึงการเกิดอารมณ์โดยเฉพาะอารมณ์ที่เกี่ยวกับความขัดแย้งในใจ (Conflicts) เช่น อาการหายใจไม่หรือถอนหายใจ ส่วนการขยายกว้างของม่านตาแสดงถึงอารมณ์โกรธ เจ็บปวดหรือตื่นเต้นและจะหดตัวเมื่อเกิดอารมณ์เศร้า เป็นต้น (26)

การเปลี่ยนแปลงของร่างกายเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงอารมณ์จะอยู่ภายใต้อิทธิพลของระบบประสาทและต่อมไร้ท่อ ดังนั้น เมื่อเกิดการแสดงออกทางอารมณ์จึงจำเป็นต้องมีการทำงานประสานกันของระบบประสาทส่วนกลางและประสาทอัตโนมัติ ทั้งนี้ การตอบสนองทางระบบประสาทอัตโนมัติที่เกิดจากการกระตุ้นในสมองนั้น กระแสประสาทที่เกิดขึ้นจะถูกส่งไปยังไฮโปทาลามัสซึ่งเป็นศูนย์กลางสูงสุดในการปรับแต่งการตอบสนองของระบบประสาทอัตโนมัติและกลุ่มของเซลล์ประสาทในหลายระดับที่มีอิทธิพลต่อการตอบสนองของระบบประสาทอัตโนมัติด้วยดังนี้ คือ ในระดับสมองส่วนกลาง(Midbrain) มีศูนย์กลางของการหดตัวม่านตา ในระดับพอนส์ (Pons) มีศูนย์กลางเกี่ยวกับปัสสาวะและในระดับก้านสมอง (Medulla) มีศูนย์กลางการหายใจ การเต้นหัวใจ ปรากฏการณ์ของระบบประสาทอัตโนมัติหลายชนิดถูกกระตุ้นให้เกิดจากหลายส่วนของสมอง เช่น สมองกลีบหน้า (Frontal lobe) และสมองส่วน ACC เป็นต้น (25)

ประสาทกายวิภาคและการจับเท็จ

การศึกษาส่วนใหญ่ที่เกี่ยวกับการจับเท็จโดยใช้เทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI พบว่าปฏิกิริยาการทำงานของสมองส่วนหน้า (Prefrontal cortex) จะเพิ่มมากขึ้นในขณะที่มีการหลอกลวง (10, 11, 13, 16-19, 27-29) สมองส่วนหน้า (Prefrontal cortex) กินเนื้อที่ถึงหนึ่งในสี่ของเปลือกสมองทั้งหมดอยู่บริเวณสมองกลีบหน้า หน้าต่อพื้นที่สมอง (Brodmann area: BA) 6, 8 และ 45 ทำหน้าที่ควบคุมการเคลื่อนไหว การออกเสียง ความคิด ความจำ สถิติปัญญา บุคลิก ความรู้สึก อารมณ์ (25)

สมองส่วนหน้า (Prefrontal cortex) คือ Frontal association cortex แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ

1. ส่วน Orbitofrontal (25) คือ Orbital gyrus มีบทบาทสัมพันธ์กับการทำงานของอวัยวะภายในและอารมณ์ (Visceral และ Emotional activities) โดย Orbitofrontal เป็นส่วนหนึ่งของทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมทางระเบียบสังคม (Theory of mind) (30) ดังนั้น จึงถือได้ว่า สมองส่วน Orbitofrontal มีความสัมพันธ์กับการหลอกลวง (13)
2. ส่วน Dorsolateral (25) มีบทบาทเกี่ยวกับความฉลาด (Intellectual abilities) เช่น ความคิดรวบยอด การวางแผน การตัดสินใจ และการแก้ปัญหา

สมองส่วนที่ได้รับการยืนยันว่ามีความสัมพันธ์ต่อการหลอกลวงเป็นอย่างมากคือสมองส่วน VLPFC ซึ่งทำงานภายใต้สมองส่วน Orbitofrontal และถือได้ว่าเป็นส่วนหนึ่งของสมองส่วนหน้า (25) สมองส่วน VLPFC นี้เป็นสมองส่วนที่มีความสำคัญต่อการทำให้เกิดประสบการณ์และการตอบสนองทางอารมณ์เป็นอย่างยิ่ง (31) นอกจากนี้สมองส่วน VLPFC ยังมีบทบาทต่อการควบคุมการเรียนรู้ของความจำ (Cognitive control of memory) อีกด้วย (30) ถึงแม้ว่าการหลอกลวงเป็นกระบวนการเรียนรู้ที่ซับซ้อนของระบบประสาทซึ่งต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของสมองหลายส่วน (Combinations of signatures) (27) แต่การหลอกลวงนั้นสัมพันธ์กับการกระตุ้นการทำงานของสมองส่วน VLPFC เป็นอย่างมาก (11, 13, 17-19, 28)

สมองส่วน VLPFC เป็นส่วนย่อยของ Pars opercularis, Pars triangularis, Pars orbitalis โดยเฉพาะ BA 44, BA 45 และ BA 47 ของ Inferior frontal gyrus มีหน้าที่สำคัญ คือ เป็นหน่วยควบคุมความจำ โดยที่สมองส่วน Inferior frontal gyrus จะอยู่หน้าต่อสมองส่วน Premotor cortex (BA 6) และหลังต่อสมองส่วน Posterior frontal pole (BA 10) (30)

ความสัมพันธ์ระหว่างสมองส่วน VLPFC และการหลอกลวง

สมองส่วน VLPFC มีความสัมพันธ์ต่อการหลอกลวงภายใต้การทำงานของสมองส่วน Orbitofrontal เนื่องจากเป็นสมองส่วนที่มีความสำคัญต่อการทำให้เกิดความจำที่เกี่ยวข้องกับประสบการณ์และการตอบสนองทางอารมณ์เป็นอย่างยิ่ง (31) การทำงานของ VLPFC มีความสำคัญต่อการควบคุมการเรียนรู้ของการจำ สองกระบวนการ คือ กระบวนการควบคุมการช่วยจำ (Mnemonic control) และกระบวนการคิดเกี่ยวกับสัญลักษณ์หรือความหมายของคำ (Semantic retrieval) โดยที่สมองส่วน VLPFC จะมีบทบาทต่อคำถามเกี่ยวกับการจดจำรูปแบบการแก้ปัญหา (Episodic retrieval) หรือความจำเชิงเหตุการณ์ (Episodic retrieval) ซึ่งเป็นการจดจำรูปแบบในการแก้ปัญหาของเหตุการณ์ที่เคยผ่านมาหรือประสบการณ์ในอดีตที่เกี่ยวข้องกับการตัดสินใจและการแสดงออก ดังนั้น สมองส่วน VLPFC จึงมีความสัมพันธ์กับการหลอกลวงเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากในขณะที่มีการหลอกลวง สมองส่วนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการจดจำรูปแบบการแก้ปัญหาของเหตุการณ์ที่เคยเกิดขึ้นนั้นก็จะถูกกระตุ้นเพื่อให้มีการคิดและนำเอารูปแบบของการตัดสินใจในรูปแบบนั้นมาใช้อีก (30) นอกจากนี้สมองส่วน VLPFC ยังมีบทบาทสัมพันธ์กับการทำงานของอวัยวะภายในและอารมณ์ โดยเฉพาะอารมณ์เศร้า (Sad mood) การจดจำบุคคล (Recall of personal memories) และเป็นสมองส่วนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับอารมณ์ (Emotional material) หรือการตอบสนองทางอารมณ์เป็นอย่างยิ่ง (31)

การศึกษาที่ยืนยันความสัมพันธ์ของการหลอกลวงกับการกระตุ้นการทำงานของสมองส่วน VLPFC โดยอาศัยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI ซึ่งกำหนดให้ผู้เข้าร่วมการศึกษาเขียนเรื่องราวจากประสบการณ์ของตนเองจำนวนสองเรื่องและนำมาตั้งเป็นคำถามจับเท็จ ผู้เข้าร่วมการศึกษสามารถเลือกตอบตามความจริงหรือ

กล่าวหลอกลวงได้ ผลการศึกษาพบว่า การหลอกลวงสัมพันธ์กับการกระตุ้นการทำงานของสมองส่วน VLPFC เป็นอย่างมากและมีความสมมาตรกันทั้งสองข้าง ดังนั้น การให้ผู้เข้าร่วมการศึกษาเตรียมเรื่องราวที่มีความคุ้นเคยหรือเหตุการณ์จริงที่ผ่านมาจะทำให้ผู้เข้าร่วมการศึกษามีความรู้สึกลึกซึ้ง รับ วัตถุประสงค์การกระตุ้น และสัมพันธ์กับการกระตุ้นการทำงานของสมองส่วน VLPFC ได้ดีกว่าการใช้รูปแบบการศึกษาอย่างอื่นๆ เช่น การใช้บัตรเลขหมายใช้ไฟ (16)

นอกจากการเข้าใจกลไกการควบคุมการทำงานของสมองที่เกี่ยวข้องกับการหลอกลวงแล้ว ยังจำเป็นต้องมีความเข้าใจในหลักการทางจิตวิทยาของการโกหก (Psychology of deception) ซึ่งมีความยากต่อการจำแนกพื้นที่การทำงานของสมองเพื่อให้เฉพาะเจาะจงต่อการหลอกลวง เนื่องจากกระบวนการทำงานของสมองจะเกี่ยวข้องกับสถานการณ์ต่างๆ เช่น การระลึกถึงข้อมูล (Recall) สภาวะอารมณ์ (Emotions) การควบคุมพฤติกรรม (Behaviours controlled) และการจัดการข้อมูล (information managed) เป็นต้น (13) และยังจำเป็นต้องอาศัยความเข้าใจเกี่ยวกับทฤษฎีแห่งจิตใจ (Theory of mind) การยับยั้งการตอบสนอง (Response) และความจำระยะยาว (Working memory) จึงน่าเชื่อว่าเมื่อสมองได้รับการกระตุ้นด้วยการกล่าวหลอกลวงจะพบการทำงานร่วมกันของสมองส่วนต่างๆ มากกว่าการตอบตามความเป็นจริง เนื่องจากพบว่าการกระตุ้นการทำงานของสมองทั้งสองข้างของ Inferior frontal gyri และสมองส่วนอื่นๆ ที่จำเป็นต่อกระบวนการจำ การคิดวิเคราะห์ การแก้ปัญหาและการตัดสินใจ ยกตัวอย่างเช่น Middle frontal gyrus, ACC และ SMA ในขณะที่ผลของการกระตุ้นการทำงานของสมองด้วยการตอบตามความเป็นจริงพบว่าการกระตุ้นการทำงานของสมองซีกขวาของ Inferior frontal gyrus โดยมีสมองส่วนอื่นที่จำเป็นต่อกระบวนการคิดและการจำมาเกี่ยวข้องน้อยกว่า เนื่องมาจากว่าในขณะที่มีการพูดความจริงมีความจำเป็นในการคิดและทบทวนความจำน้อยกว่าการกล่าวหลอกลวง (11)

กลไกการควบคุมการเรียนรู้ (Cognitive control mechanisms) เป็นกลไกของการเรียนรู้ที่จะสัมพันธ์กับเป้าหมายและการแสดงออก โดยที่สมองส่วน VLPFC โดยเฉพาะซีกซ้ายของส่วนที่เรียกว่า Inferior frontal gyrus par opercularis หรือ BA 44 มีผลต่อการควบคุมการเรียนรู้ของความจำ เช่น กระบวนการควบคุมการช่วยจำและกระบวนการคิดเกี่ยวกับสัญลักษณ์หรือความหมายของคำ (32) การศึกษาที่ผ่านมาได้อธิบายถึงบทบาทที่สำคัญของสมองส่วน VLPFC ซีกซ้าย (Left VLPFC) ไว้ว่า ส่วนหน้าของ VLPFC (Anterior VLPFC) ซึ่งเป็นบริเวณ BA 47 หรือเรียกว่า Inferior frontal gyrus pars orbitalis จะมีบทบาทเกี่ยวกับการควบคุมความคิด การแสดงออก การตอบคำถามที่เกี่ยวข้องกับการจดจำรูปแบบการแก้ปัญหา ร่วมกับการทำงานสมองซีกซ้ายของ Posterior middle temporal cortex เพื่อประมวลผลจากความจำเชิงเหตุการณ์โดยสมองจะจดจำรูปแบบลักษณะเหตุการณ์ และจดจำรูปแบบการแก้ปัญหาของเหตุการณ์นั้น ในขณะที่สมองส่วนกลางของ VLPFC (Mid VLPFC) ซึ่งเป็นบริเวณ BA 45 หรือเรียกว่า Inferior frontal gyrus pars triangularis จะมีบทบาทเกี่ยวกับการประมวลผลทั่วไป

ดังนั้น กลไกการควบคุมการทำงานที่ประสานกันระหว่างกระบวนการควบคุมการช่วยจำและกระบวนการคิดเกี่ยวกับสัญลักษณ์หรือความหมายของคำ รวมทั้งความจำเกี่ยวกับการคิด รายละเอียดในอดีต การแก้ปัญหาต่ออุปสรรคและการเปลี่ยนกิจกรรมนั้นเป็นจึงผลมาจากการทำงานของสมองส่วน VLPFC ซีกซ้าย โดยที่สมองส่วน VLPFC ซีกซ้ายนี้จะทำหน้าที่ในการคิดร่วมกับ Inferior and lateral temporal cortical เพื่อตอบสนองต่อคำถามที่เกี่ยวข้องกับความรู้อย่างยาวหมายถึงความรู้ที่เกี่ยวกับความหมายของคำและคุณสมบัติของสัญลักษณ์ (30, 33)

อย่างไรก็ตาม ยังมีสมองส่วนอื่นๆที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะอารมณ์ เช่น สมองส่วน ACC ซึ่งทำหน้าที่รับรู้อารมณ์และยังบทบาทที่เฉพาะเจาะจงต่อการตัดสินใจโดยตรง (30) และสมองส่วน Ventromedial prefrontal cortex (VPMFC) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของสมองกลีบหน้าจะทำหน้าที่ในการรับรู้อารมณ์ร่วมกับสมองส่วน ACC (25) จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการอธิบายถึงความสัมพันธ์ของการทำงานของสมองกับการหลอกหลวงว่าในขณะที่มีคิดเกี่ยวกับการหลอกหลวงจะมีการทำงานร่วมกันของสมองหลายส่วน คือ Prefrontal cortex, ACC, Temporal, Parietal และบางส่วนของ Subcortical หรือกล่าวได้ว่าเป็นกระบวนการทำงานของสมองระดับสูง (Executive function) (13) ดังนั้น การศึกษาเกี่ยวกับการทำงานของสมองในขณะที่มีการกระตุ้นให้มีการหลอกหลวงจึงเป็นที่มาของแนวคิดที่ว่า การหลอกหลวงต้องใช้กระบวนการคิดและการตัดสินใจในระดับสูง (Higher function) เช่น การคิดวิเคราะห์ ภาษา ความเข้าใจ การควบคุมอารมณ์ ความคิดสร้างสรรค์เพื่อจะควบคุมการตอบสนองและสภาวะจิตใจ จึงได้มีการพยายามที่จะพัฒนารูปแบบในการทดสอบการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI ให้มีความเฉพาะเจาะจงต่อการทำงานของพื้นที่สมองมากยิ่งขึ้น (8, 17)

สรุป

การศึกษารูปแบบของคำถามและชนิดของคำถามที่ใช้ทั่วไปในเครื่องโพลีกราฟจะมีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI และเป็นแนวทางในการพัฒนารูปแบบการทดสอบการจับเท็จด้วยเทคนิคการถ่ายภาพสมอง fMRI เพื่อให้มีความเฉพาะเจาะจงต่อการทำงานของพื้นที่สมองมากยิ่งขึ้น ดังนั้น การอาศัยหลักการของการตรวจสอบทางโพลีกราฟมาประยุกต์ใช้จึงเป็นสิ่งสำคัญและการนำรูปแบบของการตั้งคำถามและตอบคำถาม รวมถึงรูปแบบในการทดสอบมาใช้อย่างเหมาะสมจะทำให้ได้มาซึ่งกระบวนการการจับเท็จที่มีประสิทธิภาพและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ในด้านของความเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือและความแม่นยำที่มากยิ่งขึ้น อีกทั้งจะส่งผลต่อการเอื้อประโยชน์ที่สนองต่องานยุติธรรมอย่างมีเหตุผลต่อไปในอนาคต

References

1. LIEBERMAN DJ. NEVER BE LIED TO AGAIN. วีเลิร์น จำกัด; 2008.
2. Jackson J. What is polygraphy and do lie detectors work? Journal [serial on the Internet]. 2006 Date: Available from: <http://www.ukskeptics.com/polygraph.php>.
3. Simpson JR. Functional MRI lie detection: too good to be true? J Am Acad Psychiatry Law. 2008; 36(4): 491-8.
4. Ford EB. Lie detection: historical, neuropsychiatric and legal dimensions. Int J Law Psychiatry. 2006 May-Jun; 29(3): 159-77.
5. ไทพีศรีนิติ ภัคติกุล. ไปสีกราฟ. ภาควิชาสังคมวิทยา และ มานุษยวิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2552.
6. Appelbaum PS. Law & psychiatry: The new lie detectors: neuroscience, deception, and the courts. Psychiatr Serv. 2007 Apr; 58(4): 460-2.
7. Mohamed FB, Faro SH, Gordon NJ, Platek SM, Ahmad H, Williams JM. Brain mapping of deception and truth telling about an ecologically valid situation: functional MR imaging and polygraph investigation--initial experience. Radiology. 2006 Feb; 238(2): 679-88.
8. Sip KE, Roepstorff A, McGregor W, Frith CD. Detecting deception: the scope and limits. Trends Cogn Sci. 2008 Feb; 12(2): 48-53.
9. Kozel FA, Padgett TM, George MS. A replication study of the neural correlates of deception. Behav Neurosci. 2004 Aug; 118(4): 852-6.
10. Langleben DD, Schroeder L, Maldjian JA, Gur RC, McDonald S, Ragland JD, et al. Brain activity during simulated deception: an event-related functional magnetic resonance study. Neuroimage. 2002 Mar; 15(3): 727-32.
11. Langleben DD, Loughhead JW, Bilker WB, Ruparel K, Childress AR, Busch SI, et al. Telling truth from lie in individual subjects with fast event-related fMRI. Hum Brain Mapp. 2005 Dec; 26(4): 262-72.
12. Lee TM, Liu HL, Tan LH, Chan CC, Mahankali S, Feng CM, et al. Lie detection by functional magnetic resonance imaging. Hum Brain Mapp. 2002 Mar; 15(3): 157-64.
13. Spence SA, Hunter MD, Farrow TF, Green RD, Leung DH, Hughes CJ, et al. A cognitive neurobiological account of deception: evidence from functional neuroimaging. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2004 Nov 29; 359(1451): 1755-62.
14. Kozel FA, Laken SJ, Johnson KA, Boren B, Mapes KS, Morgan PS, et al. Replication of Functional MRI Detection of Deception. Open Forensic Sci J. 2009 Jan 1; 2: 6-11.
15. Kozel FA, Johnson KA, Mu Q, Grenesko EL, Laken SJ, George MS. Detecting deception using functional magnetic resonance imaging. Biol Psychiatry. 2005 Oct 15; 58(8): 605-13.
16. Spence SA, Kaylor-Hughes C, Farrow TF, Wilkinson ID. Speaking of secrets and lies: the contribution of ventrolateral prefrontal cortex to vocal deception. Neuroimage. 2008 Apr 15; 40(3): 1411-8.
17. Phan KL, Magalhaes A, Ziemlewicz TJ, Fitzgerald DA, Green C, Smith W. Neural correlates of telling lies: a functional magnetic resonance imaging study at 4 Tesla. Acad Radiol. 2005 Feb; 12(2): 164-72.

18. Fullam RS, McKie S, Dolan MC. Psychopathic traits and deception: functional magnetic resonance imaging study. *Br J Psychiatry*. 2009 Mar; 194(3): 229-35.
19. Christ SE, Van Essen DC, Watson JM, Brubaker LE, McDermott KB. The contributions of prefrontal cortex and executive control to deception: evidence from activation likelihood estimate meta-analyses. *Cereb Cortex*. 2009 Jul;19(7): 1557-66.
20. Oksol EM, O'Donohue WT. *Handbook of Forensic Psychology : Resource for Mental Health and Legal Professionals*. UNIVERSITY OF NEVADA; 2003 [cited. Available from: <http://www.ecampus.com/book/9780125241960>.
21. Grubin D, Madsen L. Accuracy and utility of post-conviction polygraph testing of sex offenders. *Br J Psychiatry*. 2006 May; 188: 479-83.
22. Dardeau G. Tethyan evolution and Alpine reactivation of Jurassic extensional structures in the French Alpes Maritimes. *Bulletin de la Société géologique de France*. 1998; 4(4): 651.
23. Peter J, Paul MM, Stephen MS. *Functional MRI An Intorduction to Methods*. Introduction: Oxford Unverisity; 2001. p. 1-30.
24. Gamer M, Bauermann T, Stoeter P, Vossel G. Covariations among fMRI, skin conductance, and behavioral data during processing of concealed information. *Hum Brain Mapp*. 2007 Dec; 28(12): 1287-301.
25. ผาสุก (บุญเชื้อ) มหรรฆานุเคราะห์. *ประสาทกายวิภาคศาสตร์พื้นฐาน*. พี.บี. ฟอเรน บুকส์ เซนเตอร์; 2543.
26. ซิลเวอร์แมน อี. *General Psychology*. กรุงเทพมหานคร: จามจุรีโปรดักท์; 2547.
27. Ganis G, Kosslyn SM, Stose S, Thompson WL, Yurgelun-Todd DA. Neural correlates of different types of deception: an fMRI investigation. *Cereb Cortex*. 2003 Aug; 13(8): 830-6.
28. Davatzikos C, Ruparel K, Fan Y, Shen DG, Acharyya M, Loughhead JW, et al. Classifying spatial patterns of brain activity with machine learning methods: application to lie detection. *Neuroimage*. 2005 Nov 15; 28(3): 663-8.
29. Mitchell DG, Rhodes RA, Pine DS, Blair RJ. The contribution of ventrolateral and dorsolateral prefrontal cortex to response reversal. *Behav Brain Res*. 2008 Feb 11; 187(1): 80-7.
30. Badre D, Wagner AD. Left ventrolateral prefrontal cortex and the cognitive control of memory. *Neuropsychologia*. 2007 Oct 1; 45(13): 2883-901.
31. Phillips ML. Understanding the neurobiology of emotion perception: implications for psychiatry. *Br J Psychiatry*. 2003 Mar; 182: 190-2.
32. Thompson-Schill SL, Swick D, Farah MJ, D'Esposito M, Kan IP, Knight RT. Verb generation in patients with focal frontal lesions: a neuropsychological test of neuroimaging findings. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Dec 22; 95(26): 15855-60.
33. Gorno-Tempini ML, Dronkers NF, Rankin KP, Ogar JM, Phengrasamy L, Rosen HJ, et al. Cognition and anatomy in three variants of primary progressive aphasia. *Ann Neurol*. 2004 Mar; 55(3): 335-46.

การทดสอบ Kastle-Meyer และการประยุกต์ใช้ในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์

Kastle-Meyer Test and Its Application in Medical Sciences

ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์ *

บทคัดย่อ

Kastle-Meyer เป็นการทดสอบเบื้องต้นทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อทดสอบคราบเลือด ด้วยหลักการที่ hemoglobin ในเม็ดเลือดแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้ peroxidase ให้เกิด oxidation เปลี่ยน reduced form ของ phenolphthalein จากสารละลายไม่มีสี เปลี่ยนไปเป็น phenolphthalein ซึ่งมีสีชมพู ไม่เพียงแต่มีประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ แต่น้ำยานี้สามารถใช้ในการศึกษาทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์อีกด้วย

คำรหัส: Kastle-Meyer reduced phenolphthalein

Abstract

Kastle-Meyer test is a forensic presumptive blood remain test. It relies on the peroxidase-like activity of hemoglobin in red blood cells to catalyze the oxidation of the colorless reduced form of phenolphthalein into phenolphthalein, which is visible as bright pink color. The reagent does not only serve as a useful test for forensic scientific investigation but it can also be applied to medical science laboratory investigation.

Keywords: Kastle-Meyer, reduced phenolphthalein

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

Kastle-Meyer เป็นการทดสอบเบื้องต้นเพื่อทดสอบคราบเลือดและ hemoglobin ในทางนิติวิทยาศาสตร์ ถึงแม้ว่าส่วนใหญ่การทดสอบนี้จะใช้ในการสืบสวนคดีในทางนิติเวชศาสตร์ แต่มีรายงานการประยุกต์ใช้การทดสอบนี้ในทางเทคนิคการแพทย์ กิจวิทยาทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์อื่น ดังจะนำเสนอต่อไปในรายงานบททวนเอกสารนี้

ประวัติการพบการทดสอบ Kastle-Meyer

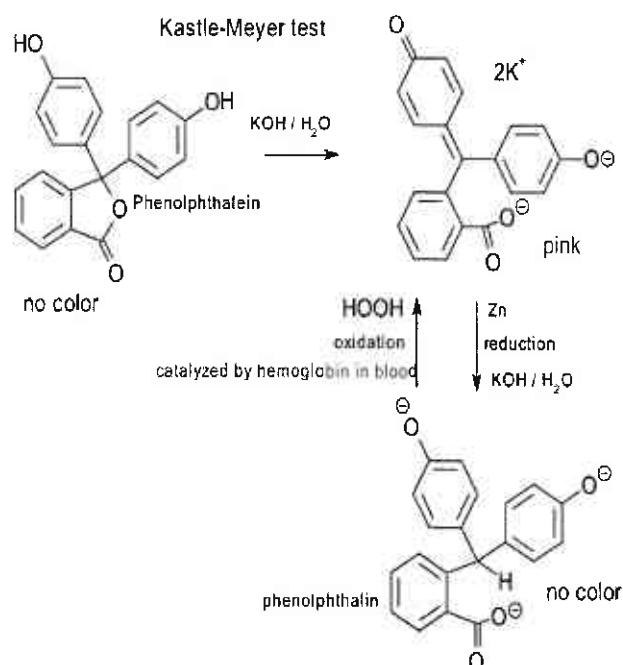
ในปี ค.ศ.1818 Louis-Jacques Thenard ค้นพบ hydrogen peroxide และในปีค.ศ.1863 Christian Freidrich Schonbein สังเกตเห็น peroxidase-like activity ของ hemoglobin เป็นสาเหตุของ oxidation ของ hydrogen peroxide ผลของปฏิกิริยาระหว่าง hydrogen peroxide กับ hemoglobin มีฟองเกิดขึ้น ในช่วงต้นของปี 1900 Kastle ได้ใช้ phenolphthalein เป็น color indicator ของการตรวจ hemoglobin ไม่กี่ปีต่อมา Meyer ได้ปรับปรุงและพัฒนาการทดสอบ จึงเรียกการทดสอบนี้ว่า Kastle-Meyer (KM) test¹

หลักการของการทดสอบ

หลักการของการทดสอบ คือ hemoglobin ในเลือด เร่งการสลายเอนไซม์ peroxidase จะสลาย hydrogen peroxide ได้น้ำและออกซิเจน จากนั้นออกซิเจนจะออกซิไดส์สาร phenolphthalin (reduced form) จากที่ไม่มีสี ให้เปลี่ยนเป็น phenolphthalein (oxidized form) ได้สีชมพู²⁻⁵ (รูปที่ 1)

การเตรียมน้ำยา

การเตรียมน้ำยามีความแตกต่างกันในปริมาณของสาร หลักการเตรียมน้ำยาละลายนี้โดยทั่วไปเตรียมโดย ชั่ง phenolphthalein และ sodium hydroxide pellets เติมน้ำ deionised water จะได้สารละลายสีชมพู เติมน้ำผงสังกะสี (zinc dust) ต้มจนกระทั่งสารละลายใสไม่มีสี เติมน้ำ ethanol เติมน้ำผงสังกะสีลงไปอีกเล็กน้อยเพื่อให้สารละลายอยู่ในภาวะ reduced form เก็บน้ำยาในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิทในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) โดยน้ำยานี้จะเก็บไว้ได้หลายเดือน⁶⁻⁹



รูปที่ 1. The Kastle-Meyer test reaction (ที่มา: http://chem.vander-lingen.nl/info/item/November_2008/id/141/mid/141)⁵

ขั้นตอนการทดสอบ

ตัวอย่างที่เกิดเหตุ เช่น ไม้พินสำลีที่ป้ายคราบเลือดที่สงสัย หรือตัวอย่างที่เก็บได้จากที่เกิดเหตุหยด ethanol ลงบนตัวอย่าง หยดน้ำยา KM จากนั้น หยด 3% hydrogen peroxide สังเกตผลการทดสอบ หากตัวอย่างมีสีชมพูเกิดขึ้น คราบที่ทดสอบอาจเป็นคราบเลือด อย่างไรก็ตาม KM สามารถให้ผลการทดสอบเป็นผลบวกปลอมได้จากเอนไซม์ peroxidase ในพืชผัก ผลไม้ เช่น มันฝรั่ง หัวผักกาด¹⁰ บรอกโคลี กะหล่ำดอก¹¹ ดังนั้นในทางนิติวิทยาศาสตร์ KM เป็นการทดสอบคราบเลือดเบื้องต้นเท่านั้น จำเป็นที่จะต้องมีการทดสอบยืนยันอื่นต่อไป^{2, 11}

การใช้น้ำยา Kastle-Meyer ในทางนิติวิทยาศาสตร์

ในทางนิติวิทยาศาสตร์ สารหรือสารละลายที่ใช้ในการตรวจคราบเลือดเบื้องต้น (presumptive test) ได้แก่ Benzidine, O-tolidine, Tetramethylbenzidine (TMB), Leucomalachite Green (LMG), Luminol และ Kastle-Meyer reagent เมื่อต้องการตรวจยืนยันการพบคราบเลือดจะทำการทดสอบ Crystal test ด้วย Teichmann test และ Takayama test ต่อไป²

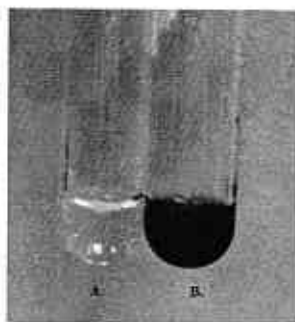
ในการศึกษาเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของ presumptive test ให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกันไป ในการศึกษาของ Johnston และคณะ พบว่า ชุดทดสอบ Hexagon OBTI kit มีความไวในการทดสอบเท่ากับ LMG และ KM¹² ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Cox ที่พบว่า KM มีความจำเพาะต่อการตรวจราบเลือดมากกว่า O-tolidine และ TMB¹¹ นอกจากนี้ ในการศึกษา DNA ในตัวอย่างวัตถุพยาน พบว่า DNA ไม่ถูกทำลาย และสามารถตรวจพบและเพิ่มจำนวนในตัวอย่างที่ได้ผ่านตรวจด้วย KM แล้วอีกด้วย¹³

การประยุกต์ใช้น้ำยา Kastle-Meyer ในวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์

นอกจากน้ำยานี้จะใช้ในการตรวจคราบเลือดบนวัตถุพยานและสถานที่เกิดเหตุแล้ว ยังมีการศึกษาน้ำยา KM ในการตรวจการปนเปื้อนของเลือดในเครื่องมือผ่าตัดทางทันตกรรม¹⁴⁻¹⁷ ซึ่งการปนเปื้อนของเลือดในเครื่องมือผ่าตัดเป็นสาเหตุของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี และ HIV^{14, 15} ในการศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจการปนเปื้อนของเลือดพบว่า น้ำยา KM สามารถทดสอบเลือดที่สดและแห้งหลังจากที่นำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วย Autoclave อุณหภูมิสูงถึง 134 องศาเซลเซียสได้ โดยให้ผลบวกที่ Dilution 1:6,400 หรือต่ำกว่านั้น¹⁴ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้น้ำยานี้ตรวจการปนเปื้อนของเลือดในเครื่องมือในแผนกผู้ป่วยบาดเจ็บฉุกเฉินและเครื่องมือในโรงพยาบาลฉุกเฉิน¹⁸ ในรายงานการศึกษามูลของมวนดูดเลือด triatomine (Hemiptera: Reduviid) พบว่ามูลของมวนนี้ให้ผลบวกกับ KM เช่นเดียวกับมูลของเรือดและยุงลาย แต่น้ำยานี้กลับให้ผลลบในมูลของแมลงที่ไม่กินเลือดเป็นอาหารซึ่งได้แก่ แมลงสาบ แมงมุม จิ้งหรีด แมลงวันบ้านและแมลงเต่าทอง¹⁹ ในการทดสอบเพื่อยืนยันโคคสีน้ำตาลที่ระบาดในเขตเกษตรกรรมของจังหวัดพิษณุโลกพบว่าแมลงศัตรูพืชชนิดนี้ไม่กินเลือดเป็นอาหารเนื่องจากให้ผลการทดสอบเป็นลบ ในขณะที่ยุงตัวเมียและเห็บสุนัขที่ดูดเลือดให้ผลการทดสอบเป็นบวก²⁰

ในการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจเลือดในปัสสาวะ โดยทดสอบด้วยแถบทดสอบปัสสาวะเทียบกับน้ำยา KM พบว่า KM มีความไวในการตรวจมากกว่าแถบทดสอบ (fig. 2) รวมทั้งสารละลายยังสามารถตรวจระดับ hemoglobin แม้ในปัสสาวะจะมีความเข้มข้นเพียง 0.007 มิลลิกรัม/เดซิลิตรเท่านั้น²¹ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการตรวจอุจจาระที่พบเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า KM ให้ผลบวกตรงกับการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ 84.38% ในขณะที่ชุดทดสอบ Guiac ให้ผลบวก 75%²² ซึ่ง Glaister²³ ได้ระบุในรายงานว่า KM เป็นการทดสอบที่ควรมีการประยุกต์ใช้ในวิทยาศาสตร์การแพทย์สาขาอื่นด้วย

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้น น้ำยา KM น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้เป็นน้ำยาสารติดสำหรับตรวจภาวะ hemoglobinuria และ hematuria ในปัสสาวะและการตรวจ occult blood ในอุจจาระในวิชาที่เกี่ยวข้องกับสาขาเทคนิคการแพทย์ เช่น วิชาการตรวจปัสสาวะและสารน้ำในร่างกาย ปรสดีวิทยาทางการแพทย์



รูปที่ 2 ผลการทดสอบน้ำยา Kastle-Meyer ในตัวอย่างปัสสาวะ A. ผลการทดสอบเป็นลบ B. ผลการทดสอบเป็นบวก

References

1. Investigating CSI – Background material. Available at URL: http://biomedsci.cornell.edu/graduate_school/shared/gradschool/Outreach/Invest_CSI_Background.pdf. Accessed July 28, 2011.
2. Stuart HJ, Jon JN. Forensic Science: an introduction to scientific and investigative techniques. USA: CRC pressLLC, 2003.
3. White PC. Crime scene to court: The essentials of forensic science. Cornell, UK: TJ international LTD, 2004.
4. Becker RF. Criminal investigation. 2nd ed, Massachusette, USA: Jones and Bartlett publishers. 2005.
5. NNNS chemistry blog. Available at URL: http://chem.vander-lingen.nl/info/item/November_2008/id/141/mid/141. Accessed July 28, 2011.
6. Culliford BJ. The examination and typing of bloodstains in the crime laboratory. U.S. Government Printing Office, 1971.
7. Metropolitan Police Forensic Science Laboratory, Biology Methods Manual. 1978.
8. Saferstein R. Forensic science handbook. Prentice Hall, Inc., 1982.
9. Gaensslen R. Sourcebook in forensic serology, immunology, and biochemistry. U.S. Government Printing Office, 1983.
10. Ramsland K. The forensic science of C.S.I. New York, USA: A Berkley Boulevard book. 2001.
11. Cox M. A study of the sensitivity and specificity of four presumptive tests for blood. J Forensic Sci 1991; 36(5): 1503-11.
12. 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.
13. 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.

14. Lowe AH, Bagg J, Burke FJ, MacKenzie D, McHugh S. A study of blood contamination of siqueveland matrix bands. Br Dent J 2002; 192(8): 425.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Nateewranart S, Tongpob Y, Sudsaward S, Yasothornsrikul S. The application of Kastle-Meyer test to identify Brown plant hopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) as a non blood-feeding insect. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2553; 3(1): 67-9.
21. แสงชัย นทีวรณารถ อรัญญา จิระวิริยะกุล จิรภาส จงจิตวิมล นพดล จำรูญ. การศึกษาเปรียบเทียบน้ำยา Kastle-Meyer กับ แถบทดสอบปัสสาวะ เพื่อตรวจภาวะ hematuria และ hemoglobinuria. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550; 35(1): 1860-2.
22. แสงชัย นทีวรณารถ. การเปรียบเทียบชุดทดสอบ Guaiac กับน้ำยา Kastle-Meyer. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2552; 2(3): 6-10.
23. Glaister J. The Kastle-Meyer test for the detection of blood; considered from the medio-legal aspect. Br Med J 1926; 1(3406): 650-2.

Hookah

นพ.ณัฐ ดันศรีสวัสดิ์ *

บทนำ

สุกคาห์ (สุกกา, ฮุกา) เป็นอุปกรณ์สำหรับการเสพยาเส้น หรือสารเสพติดอื่น ๆ ที่สามารถเสพโดยการสูบ เริ่มมีข่าวแพร่ระบาดในประเทศไทยตั้งแต่ พ.ศ. 2546 หลังจากนั้นก็พบมีการวางขายซื้อหาได้โดยง่ายตามแหล่งท่องเที่ยวต่าง ๆ โดยมีการวางขายตามข้างถนนจนตกเป็นข่าวใหญ่ในสังคมมาช่วงหนึ่ง นอกจากนี้ยังสามารถซื้อผ่านอินเทอร์เน็ตได้จากเว็บไซต์ และเมื่อไม่นานมานี้สุกคาห์ได้มีโอกาสนำข่าวหน้าหนึ่งของหนังสือพิมพ์เกือบทุกฉบับรวมถึงมีการทำข่าวออกโทรทัศน์เกือบทุกช่องเมื่อมีภาพของนักร้องชื่อดังของประเทศไทยกำลังเสพสารเสพติดโดยใช้สุกคาห์ ซึ่งตัวนักร้องได้ออกมาสารภาพว่าได้เสพสารเสพติดจริง ในประเทศไทยมีคำนิยมเรียกสุกคาห์ว่า บาราอู หรือ มอระกูด้วย

สุกคาห์คืออะไร

สุกคาห์ คืออุปกรณ์ที่ใช้เสพไอระเหย ยาเส้นหรือสารเสพติดที่เสพโดยการสูบ มีหลักฐานว่าเริ่มจากพรมแดนของประเทศอินเดียติดกับเปอร์เซียตั้งแต่ช่วง ค.ศ. 1500 - 1600 จากนั้นได้เริ่มแพร่หลายไปในดินแดนข้างเคียงโดยรอบ และเริ่มมีการแพร่หลายและแพร่ระบาดไปทั่วโลกทั้งในประเทศพัฒนาและกำลังพัฒนาในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา โดยผู้เสพส่วนใหญ่อยู่ในช่วงวัยรุ่น

สุกคาห์ (hookah) เป็นคำที่ใช้เรียกในประเทศอินเดียและกลุ่มประเทศใกล้เคียง และมีการเรียกชื่อที่หลากหลายแตกต่างกันออกไปมากมายในแต่ละประเทศ เช่น shisha, narghile, nargeela, nargileh, argeela, argileh, argilee, hooka, lula, lulava, chillim, gudugudaa, hubble bubble และ water pipe

* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในสังคมของคนอินเดียและชาวอาหรับนั้นการสูบไอระเหยผ่านสุกาค่านั้นเป็นกิจกรรมร่วมกันในการพบปะสังสรรค์เข้าสังคม และบางชุมชนการสูบสุกาค่าเป็นกิจกรรมที่เป็นวัฒนธรรมประเพณีท้องถิ่น

ไอระเหยที่สูบผ่านสุกาค่านั้นส่วนใหญ่เป็นใบยาสูบ (tobacco) ผสมกับกากน้ำตาล (molasses) หรือ ผสมกับเปลือกผลไม้เพื่อเพิ่มรสชาติและกลิ่นตามที่ต้องการ ยาสูบที่ได้รับความนิยมมากได้แก่ maassel, ajami, jurak

โครงสร้างของสุกาค่า

โครงสร้างหลักของสุกาค่าประกอบด้วยที่วางใบยาสูบซึ่งถูกออกแบบมาให้มีรูพรุนอยู่ที่ส่วนบน และถัดมาคือท่อส่งไอระเหยหรือควันลงมาโอฆามหรือหม้อด้านล่างซึ่งบรรจุน้ำ และมีท่อสูบไอระเหยที่ผ่านออกมาจากน้ำ

นอกจากนี้อาจมีโครงสร้างอื่น ๆ เช่น แผ่นรองขี้เถ้าซึ่งอยู่ใต้ตำแหน่งที่วางใบยาสูบ



ภาพจาก

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Small_Argileh.jpg



ภาพจาก

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hukkah_nepal.jpg

การทำงานของสุกคาห์

เมื่อนำยาสูบวางที่วางด้านบนซึ่งมักห่อกระดาษฟอยล์ที่เจาะรู จากนั้นให้ความร้อนยาสูบโดยนิยมนำความร้อนจากถ่านติดไฟไปวางไว้ด้านบน เมื่อใบยาสูบได้รับความร้อนจะเกิดควันซึ่งจะถูกดูดลงไปตามท่อด้านล่างผ่านลงไปใต้น้ำซึ่งบรรจุอยู่ในโถด้านล่าง และจะมีไอหรือน้ำที่ร้อนขึ้นมาน้ำผ่านไปยังท่อที่ผู้สูบกำลังสูบบุหรี่

ทำไมจึงมีการแพร่หลายไปทั่วโลก

สุกคาห์เริ่มแพร่หลายไปทั่วโลกในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา ด้วยหลายปัจจัย เช่น ความเข้มงวดของกฎหมายในการควบคุมการสูบบุหรี่ การเปลี่ยนค่านิยมที่ทำให้การสูบบุหรี่เป็นสิ่งที่สังคมส่วนใหญ่ไม่ให้การยอมรับ การรณรงค์เผยแพร่ความรู้ถึงอันตรายต่อสุขภาพร่างกายที่เกิดจากการสูบบุหรี่หรือไม่ได้เป็นผู้สูบแต่ได้รับควันจากผู้สูบบุหรี่ เมื่อการสูบบุหรี่มีข้อจำกัดต่าง ๆ มากมาย ผู้เสพและวัยรุ่นจึงเริ่มหาวิธีการเพื่อทดแทนการสูบบุหรี่ ซึ่งสุกคาห์เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมเพราะบางสังคมให้การยอมรับอยู่ก่อนแล้วเมื่อคนในชุมชนนั้นมีการอพยพ ย้ายถิ่น ไปศึกษาหรือทำงานในต่างประเทศก็นำวิธีการเสกผ่านสุกคาห์นี้ไปด้วย และที่ได้รับความนิยมเพราะรูปร่างวัสดุที่มีการพัฒนาตกแต่งให้ดูดีสวยงาม ยาสูบที่ใช้ที่มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีความหอมหวาน ลดการระคายเคือง ชุมชนให้การยอมรับ ไอควันจากการให้ความร้อนผ่านกระดาษฟอยล์ที่หุ้มยาสูบนั้นหลายคนเชื่อว่ามีอันตรายน้อยกว่าไอควันจากยาสูบที่ถูกเผาไหม้โดยตรงจากการสูบบุหรี่ นอกจากนี้ไอควันยาสูบในสุกคาห์ที่ผ่านลงไปใต้น้ำก่อนทำให้คนจำนวนมากคิดว่าน้ำสามารถกรองสารพิษต่าง ๆ ได้เป็นจำนวนมาก ไอควันที่สูบจากสุกคาห์จึงน่าจะปลอดภัยกว่าการสูบบุหรี่-ยาเส้น-ซิการ์ ซึ่งสูบบรรยากาศพิษจำนวนมากโดยตรง และปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือสุกคาห์ยังไม่ผิดกฎหมายเกี่ยวกับการควบคุมสารเสพติดหรือวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทด้วย

ปัญหาสุขภาพจากการใช้สุกคาห์

จากการศึกษาที่เริ่มมีมากขึ้นบ่งชี้ว่าผู้สูบบุหรี่มีโอกาสได้รับสารพิษต่าง ๆ จากยาสูบมากกว่าการสูบบุหรี่ เนื่องจากไอควันจากการสูบบุหรี่มีกลิ่นหอมรสหวานและระคายเคืองน้อยกว่าไอควันจากบุหรี่ทำให้ผู้

สูบสามารถสูบหายใจเข้าไปได้ลึกเป็นผลให้เกิดการรับไอควันครั้งละปริมาณที่ค่อนข้างมาก และการสูบบุหรี่ที่
จนหมดแต่ละครั้งใช้เวลานานครั้งถึงหนึ่งชั่วโมงซึ่งนานกว่าการสูบบุหรี่ที่ใช้เวลาการสูบมวนละประมาณห้า
นาที ทำให้ผู้สูบรับสารพิษต่าง ๆ ไปในปริมาณมาก โดยที่ไอควันที่ผ่านน้ำนั้นไม่สามารถลดปริมาณของสารพิษ
ลงได้ตามความเชื่อที่มี

สารพิษที่พบนอกจากนิโคตินซึ่งพบจากใบยาสูบแล้ว ยังพบก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ ฟอร์มัลดีไฮด์ อะ
เซทัลดีไฮด์ (acetaldehyde), acrolein, ^{210}Po , tar, free radicals และโลหะหนักต่าง ๆ เช่น โคบอลต์ โครเมียม
ตะกั่ว สารหนู

ผลของสารพิษต่าง ๆ เหล่านี้เชื่อว่าน่าจะทำให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพเช่นเดียวกับการสูบบุหรี่ ไม่ว่าจะเป็น
เกิดโรคมะเร็งหลอดเลือดและหัวใจ โรคมะเร็งทางเดินหายใจ รวมถึงมะเร็งชนิดต่าง ๆ

นอกจากสารพิษที่เกิดขึ้นจากยาสูบแล้ว พบว่าการสูบบุหรี่มักจะมีการสูบรวมกันผ่านท่อสูบเดียวกัน
ทำให้มีโอกาสเกิดโรคติดต่อต่าง ๆ ที่สามารถติดต่อผ่านทางลมหายใจและน้ำลายได้ เช่น โรคเริม โรคตับอักเสบบ
และวัณโรค

การสูบบุหรี่ยังพบว่าเป็นทางผ่านเบื้องต้นที่ผู้สูบจะมีแนวโน้มไปทดลองและติดสารเสพติดอื่น ๆ ที่มี
พิษและความรุนแรงมากขึ้น เช่น การนำกัญชา ยาบ้า ยาไอซ์ โคเคน มาสูบผ่านสุกาคู่แทนที่จะสูบยาเส้น และ
การเข้าไปเสพยาเสพติดโดยการกิน การสูดโดยตรง รวมถึงการฉีดสารเสพติดเข้าหลอดเลือด

การควบคุมทางกฎหมาย

เนื่องจากยาสูบที่นำมาสูบผ่านสุกาคู่ นั้นเมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์แล้วไม่มีส่วนผสมของสารเสพติดหรือ
วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทที่กฎหมายเกี่ยวกับสารเสพติดและวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทประกาศ
ควบคุมอยู่ เจ้าหน้าที่ซึ่งทำงานเกี่ยวข้องกับการควบคุมป้องกันจึงต้องนำกฎหมายอื่น ๆ ที่สามารถนำมาปรับ
ใช้ได้มาควบคุมการแพร่หลายของสุกาคู่ เช่น กฎหมายเกี่ยวกับการห้ามสูบบุหรี่ในสถานที่ต่าง ๆ กฎหมาย
เกี่ยวกับการนำเข้ายาสูบซึ่งเป็นสินค้าต้องห้าม กฎหมายเกี่ยวกับการเสียภาษีสินค้านำเข้า กฎหมายเกี่ยวกับการ
ติดฉลากเตือน

References

1. Cobb C, Ward KD, Maziak W, Shihadeh AL, Eissenberg T. Waterpipe tobacco smoking: an emerging health crisis in the united states. *Am J Health Behav.* 2010; 34(3): 275 – 83.
2. Maziak W, Ward KD, Soweid ARA, Eissenberg T. Tobacco smoking using a waterpipe: a re-emerging strain in a global epidemic. *Tobacco Control.* 2004; 13: 327 – 33.
3. Hookah. <http://en.wikipedia.org/wiki/Hookah>. accessed January 9, 2012.

บุคคลสำคัญ

Richard Laurence Millington Syge

Richard LM Syge เกิดที่เมืองลิเวอร์พูล ประเทศอังกฤษ วันที่ 28 ตุลาคม ค.ศ. 1914 จบการศึกษาจาก Winchester และ Trinity college มหาวิทยาลัยเคมบริดจ์ในสาขาชีวเคมี ตลอดชีวิตการทำงานของท่านเกี่ยวข้องกับการทำวิจัยในสถาบันต่าง ๆ เช่น Lister Institute for Preventive Medicine และ Rowett Research Institute

ผลงานที่สร้างชื่อเสียงให้ท่านมากที่สุดได้แก่การคิดค้น partition chromatography ร่วมกับ Archer Martin ซึ่งผลงานชิ้นนี้ทำให้ทั้งสองท่านได้รับรางวัลโนเบลสาขาเคมีในปี ค.ศ. 1952



ภาพจาก http://en.wikipedia.org/wiki/File:Richard_Laurence_Millington_Syge.jpg

Richard LM Syge ถึงแก่กรรมเมื่อ 18 สิงหาคม ค.ศ. 1994

Reference

1. Richard Laurence Millington Syge. http://en.wikipedia.org/wiki/Richard_Laurence_Millington_Syge

ข่าวนิติเวชจุฬา

News from Chula Forensic Medicine

ผศ.นพ.เกรียงศักดิ์ไพศาลสิน ได้รับทุนจากมหาวิทยาลัย Yale และ มหาวิทยาลัย North Texas ไป
ทำการศึกษาวิจัยร่วมกับศาสตราจารย์ Robert Malison, Joel Gelernter และศาสตราจารย์ Bruce Budowle ที่
ประเทศสหรัฐอเมริกาตั้งแต่เดือนมกราคม 2555

หัวหน้าภาควิชา ในฐานะผู้อำนวยการศูนย์อำนวยการชันสูตรพลิกศพได้รับเชิญจากสถานทูตออสเตรเลีย
ไปร่วมงาน Australia Day ในวันที่ 26 มกราคม 2555 และได้รับเชิญจาก The Charge d’Affairs ad interim of
the United States of America สถานทูตสหรัฐอเมริกาไปร่วมงานในวันที่ 23 มกราคม 2555

นักศึกษาแพทย์ชั้นปีที่ 6 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จำนวน 3 คน มาฝึกปฏิบัติงานที่ภาควิชา ระหว่าง
วันที่ 8 – 29 มกราคม 2555

ภาควิชาฯ เริ่มจัด Special Topic of the Month โดยจะนำกรณีศึกษาที่น่าสนใจมานำเสนอพร้อมกับการ
บรรยายทางวิชาการทบทวนความรู้พื้นฐานและความรู้ที่ทันสมัยในประเด็นที่เกี่ยวข้อง โดยเริ่มครั้งแรกในวันที่
1 กุมภาพันธ์ 2555 ในหัวข้อ Death from Fat Emboli and Pulmonary Thromboembolism