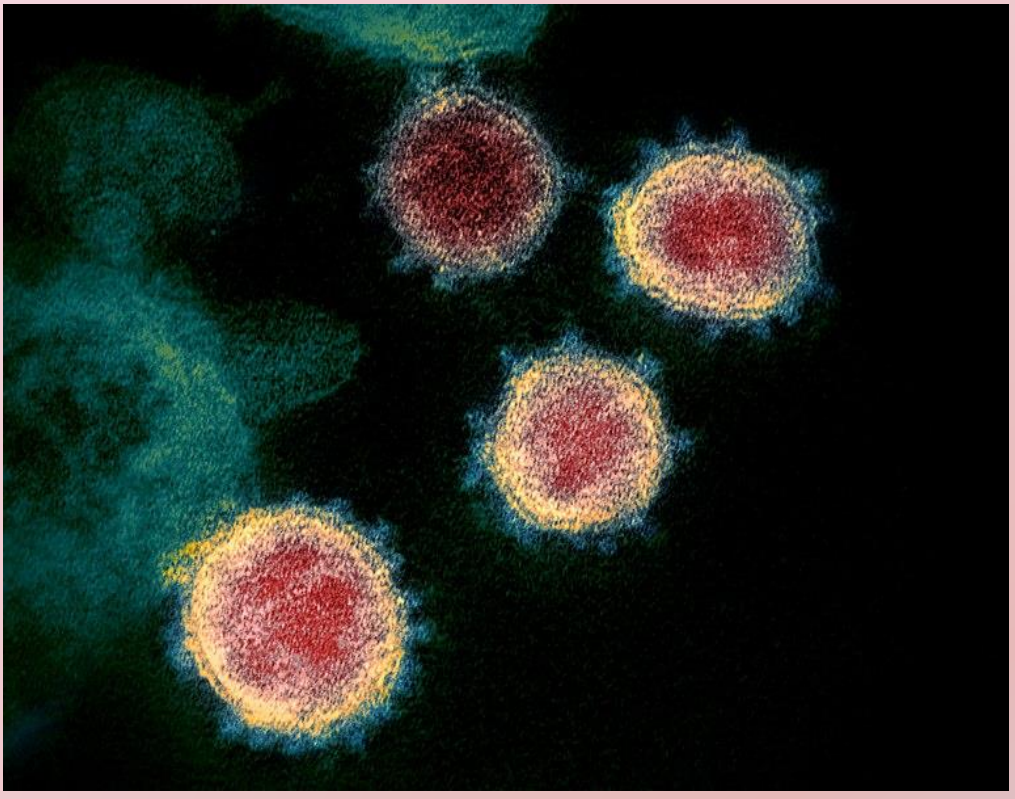
วารสารนิติเวชศาสตร์

Forensic Medicine Journal

ปีที่ 12 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2563 Vol.12 No.2

ISSN 1905 – 8810



Free thinking, but reasonable, and for social benefit

อิสระทางความคิด แต่มีเหตุผล และเพื่อประโยชน์ต่อสังคม

คำนำ

ตลอดปี 2563 ประเทศไทยยังมีปัญหาจากการซื้อ ขาย และเสพสารเสพติดอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังอาจมีผลกระทบจากโรค COVID-19 ที่กำลังกลับมาระบาดใหม่ในช่วงปลายปี ซึ่งผลจากโรคระบาดทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ขึ้นอย่างมากมายในปี 2563 ทำให้เกิด new normal ในหลายมิติ ทางกองบรรณาธิการหวังว่าผู้อ่านทุกท่านจะสามารถผ่านปีที่ยากลำบากนี้ไปได้ สามารถปรับตัวกับสภาพสังคมแบบใหม่ และร่วมแรงร่วมใจพัฒนาศักยภาพงานนิติเวชศาสตร์และนิติวิทยาศาสตร์เพื่อปกป้องสังคมและพัฒนาคุณภาพชีวิตของทุกคน และทำให้กระบวนการยุติธรรมสามารถให้ความเป็นธรรมด้วยข้อมูลและความเห็นที่ถูกต้องจากการปฏิบัติงาน การตรวจวิเคราะห์ทางนิติเวชศาสตร์และนิติวิทยาศาสตร์

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. รศ.นพ.กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน
3. ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร
4. อ.นพ.ธีรโชติ จองสกุล
5. อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุติวงศ์

วารสารออนไลน์

http://www.forensicchula.net

สารบาญ

- สภาวะที่เหมาะสมการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมู **121**
- Contraction band **133**
- Modified cobalt thiocyanate test **139**

ภาพปก

ชื่อภาพ Novel Coronavirus SARS-CoV-2

ศิลปิน -

ที่มา https://en.wikipedia.org/wiki/File:Novel_Coronavirus_SARS-CoV-2.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิติเวชศาสตร์เป็นวารสารรายหกเดือน รับเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา โดยให้ส่งผลงานตีพิมพ์ในกระดาษขนาด A4 หรือไฟล์ข้อมูลในสื่อบันทึก หรือจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

ผลงานที่ส่งเพื่อตีพิมพ์สามารถใช้ได้ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ โดยไม่จำกัดรูปแบบของผลงาน ไม่ว่าจะเป็นบทความแสดงความคิดเห็น งานวิจัยนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานผู้ป่วย หรืองานในรูปแบบอื่น ๆ

ให้ระบุชื่อเรื่อง ชื่อผู้วิจัยหรือผู้เขียนผลงาน และส่งผลงานได้ที่

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ.พระราม4 เขตปทุมวัน กทม.10330

หรือที่ e-mail: tssnat@hotmail.com

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมู

ปัทติมา มาไร *

พรรษชล คำสุข *

อัญชลี ศิษยนเรนทร์ *

บทคัดย่อ

การเก็บรักษาสภาพตัวอย่างมีความสำคัญเพื่อผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือและถูกต้อง มีการศึกษาจำนวนมากที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างในประเทศไทยยังคงมีจำกัด การศึกษานี้ได้ตรวจหา β-actin (ACTB) จากอวัยวะหมูและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมูบด สามารถตรวจพบ β-actin จากเนื้อหมูบด ตับ ไตและลำไส้เล็ก จากการศึกษาสภาวะสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมูบดที่อุณหภูมิ -20^{0}C สามารถตรวจพบ β-actin ในช่วงเวลา 0 วัน 1 สัปดาห์และ 2 สัปดาห์

คำสำคัญ: Reverse transcription-Polymerase chain reaction (RT-PCR), β-actin (ACTB), หมู

---

* ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000 ประเทศไทย

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: anchalees@nu.ac.th

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 12 ฉบับที่ 2
กรกฎาคม – ธันวาคม 2563

The optimizing conditions for storage of laboratory porcine samples

Patthima Marai *

Phadsachon Khamsuk *

Anchalee Sistayanarain *

Abstract

Laboratory samples must be preserved reliably in order to yield accurate results. Several studies have evaluated the optimal condition for the preservation of specimen samples. However, the research study of the optimizing conditions for storage of laboratory samples is still limited in Thailand. This study investigates the detection of the β-actin (ACTB) in porcine organs and determines optimal conditions for the preservation of laboratory porcine samples. β-actin was detected from the liver, kidney and small intestine. From the study of the optimum conditions for the storage of porcine samples at -20^{0}C, β-actin were detected when maintained for 0 day, 1 week and 2 weeks.

Keywords: Reverse transcription-Polymerase chain reaction (RT-PCR), β-actin (ACTB), porcine

---

* Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok, 65000, Thailand

* Corresponding author E-mail address: anchalees@nu.ac.th

บทนำ

การเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจก่อนการตรวจวิเคราะห์มีความสำคัญและจำเป็นทางห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องเช่น การพิจารณาส่งต่อตัวอย่างสิ่งส่งตรวจไปยังห้องปฏิบัติการอื่นที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้หรือการตรวจสอบตัวอย่างสิ่งส่งตรวจหลายตัวอย่างในคราวเดียวกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นเพื่อการเก็บและรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจก่อนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ วิธีการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ 4^0C, -20^0C, -80^0C และการใช้ไนโตรเจนเหลว การเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมีความสำคัญเพื่อการวิเคราะห์ผลที่น่าเชื่อถือและถูกต้องที่สุด มีรายงานการศึกษาการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจเช่น ตัวอย่าง oral fluid ซีรั่มหรือพลาสมา และอุจจาระ รวมทั้งเนื้อสัตว์ โดยสามารถเก็บรักษาได้ในสภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกัน [1-4]

เนื้อสัตว์ อวัยวะของสัตว์เช่น ตับและลำไส้ เป็นต้น จัดเป็นตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ใช้ในงานหลายด้าน โดยเฉพาะการตรวจกรดนิวคลีอิกเพื่อวัตถุประสงค์ในการจำแนก ยืนยันและรับรองพันธุ์สัตว์ การระบุชนิดของเนื้อสัตว์เจือปนในอาหาร การชันสูตรโรคติดเชื้อในสัตว์ [5-7] รวมทั้งการตรวจหาไวรัสที่ปนเปื้อนในอาหารที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงและโรคตับอักเสบในคน ตัวอย่างไวรัสก่อโรคที่สำคัญได้แก่ โนโรไวรัส (norovirus) โรตาไวรัส (rotavirus) ไวรัสตับอักเสบอี (hepatitis E virus) และไวรัสตับอักเสบเอ (hepatitis A virus) โดยวิธีที่นิยมสำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในอาหารคือการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) [8-12] บางกรณีการตรวจสอบอาจไม่สามารถทำได้ทันทีซึ่งมีความจำเป็นต้องมีการเก็บรักษาสภาพก่อนการส่งตรวจ เนื่องจากวิธีการตรวจหากรดนิวคลีอิกโดยเฉพาะ RNA ที่สามารถถูกทำลายได้ง่ายในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นการเก็บและรักษาสภาพของเนื้อสัตว์และอวัยวะของสัตว์จึงมีความสำคัญ

สำหรับประเทศไทยข้อมูลการศึกษาการเก็บและรักษาสภาพของสิ่งส่งตรวจยังคงมีจำกัด วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้คือการศึกษาเบื้องต้นเพื่อศึกษาสภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมูโดยการตรวจหา Housekeeping gene ที่ใช้เป็นยีนเป้าหมายด้วยวิธี PCR

วิธีดำเนินการวิจัย

ตัวอย่างและการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ

ตัวอย่างอวัยวะหมู

ตัวอย่างจากหมูได้แก่ เนื้อหมูบด ตับ ไต ลำไส้เล็ก สมองและปอดจากร้านขายหมูและตลาดในจังหวัดพิษณุโลก จากนั้นเก็บรักษาสภาพเนื้อหมูบดที่อุณหภูมิ –20^{0}C เป็นเวลา 0, 7, 14 และ 30 วันตามลำดับ

การสกัดอาร์เอ็นเอ (RNA)

เนื้อหมูบด

นำตัวอย่างเนื้อหมูบด 400 mg ผสมกับ Proteinase K บ่มที่อุณหภูมิ 50^{0}C เป็นเวลา 30 นาที [12] และสกัด RNA ด้วยชุดสกัด PureLink Viral RNA/DNA Kits (Invitrogen) โดยทำตามคู่มือแนะนำ เก็บ RNA ที่ -20^{0}C เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

อวัยวะหมู

นำตัวอย่างเนื้อหมูบด 400 mg ผสมกับ Proteinase K บ่มที่อุณหภูมิ 50^{0}C เป็นเวลา 30 นาที [12] จากนั้นสกัดอาร์เอ็นเอด้วยชุดสกัด TIANamp Virus DNA/RNA Kit (Tiangen, China) โดยทำตามคู่มือแนะนำและเก็บ RNA ที่ -20^{0}C

การสังเคราะห์ cDNA และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA) ด้วยวิธี PCR

สังเคราะห์ cDNA และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA) โดยใช้ชุดการสังเคราะห์ cDNA สำเร็จรูป 2 step RT-PCR Kit (Vivantis, Malaysia) โดยทำตามคู่มือแนะนำ โดยการสังเคราะห์ cDNA ใช้เอนไซม์ Reverse Transcriptase และ Primers ACTB (β-actin) คือ ACTB-R (5'TGATCTGGGTCATCTTCTTCTCAC3') [13]

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA) ด้วยวิธี PCR โดยปฏิกิริยาประกอบด้วย primers beta-actin คือ ACTB-F (5'TCTGGCACCACACCTTCT3') และ ACTB-R [13], DNA template, Primer ACTB-F (0.5 μM), Primer ACTB-R (0.5 μM), dNTPs (0.1 mM) และ Taq DNA Polymerase 5 U สำหรับการศึกษาการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างและ 10 U สำหรับการศึกษาการการตรวจหา ACTB จากเนื้อหมูบด ตับ ไต ลำไส้เล็ก สมอง และปอดของหมู โดยใช้สภาวะอุณหภูมิที่ 94^0C นาน 2 นาที และ 94^0C 30 วินาที, 48^0C 30 วินาที, 72^0C 30 วินาที จำนวน 40 รอบ และ 72^0C นาน 7 นาที จากนั้นตรวจสอบ PCR productขนาด 114 bp ผ่านวุ้นความเข้มข้น 2%

ผลการวิจัย

เนื่องจากการใช้ β-actin เป็น Internal control สามารถที่จะใช้เป็นมาตราฐานสำหรับการบ่งชี้การตรวจหากรดนิวคลีอิกในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจได้ การทดลองนี้จึงได้ศึกษาการใช้ β-actin เพื่อเป็นยีนเป้าหมายสำหรับปฏิกิริยา PCR โดยการตรวจหาจากกลุ่มตัวอย่างสิ่งส่งตรวจคือ เนื้อหมูบด ตับ ไต ลำไส้เล็ก สมองและปอดของหมู โดยสามารถตรวจพบ Specific band ของ β-actin ขนาด 114 bp ได้จากตัวอย่างเนื้อหมูบด ตับ ไต และลำไส้เล็ก (ตารางที่ 1)

เนื่องจากบางกรณีไม่สามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตรวจได้ทันทีภายหลังจากการได้รับตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ ดังนั้นการเก็บและการรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจก่อนการตรวจวิเคราะห์จึงมีความสำคัญและจำเป็นทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องมากที่สุด การศึกษาครั้งนี้กลุ่มผู้วิจัยได้ทำการศึกษาการเก็บและรักษาสภาพเฉพาะตัวอย่างเนื้อหมูบดโดยการตรวจหา β-actin ด้วยการทำปฏิกิริยา PCR โดยการเก็บรักษาสภาพเนื้อหมูบดที่อุณหภูมิ -20^{0}C ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถตรวจพบ Specific band ของ β-actin จากตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เก็บเป็นระยะเวลา 0, 7 และ 14 วัน และไม่สามารถตรวจพบเมื่อเก็บเป็นระยะเวลานาน 30 วัน (รูปที่ 1)

Table 1 Detection of β-actin in porcine organs

sample	PCR product (114 bp)
Minced pork	+
liver	+
kidney	+
small intestine	+
brain	-
lung	-

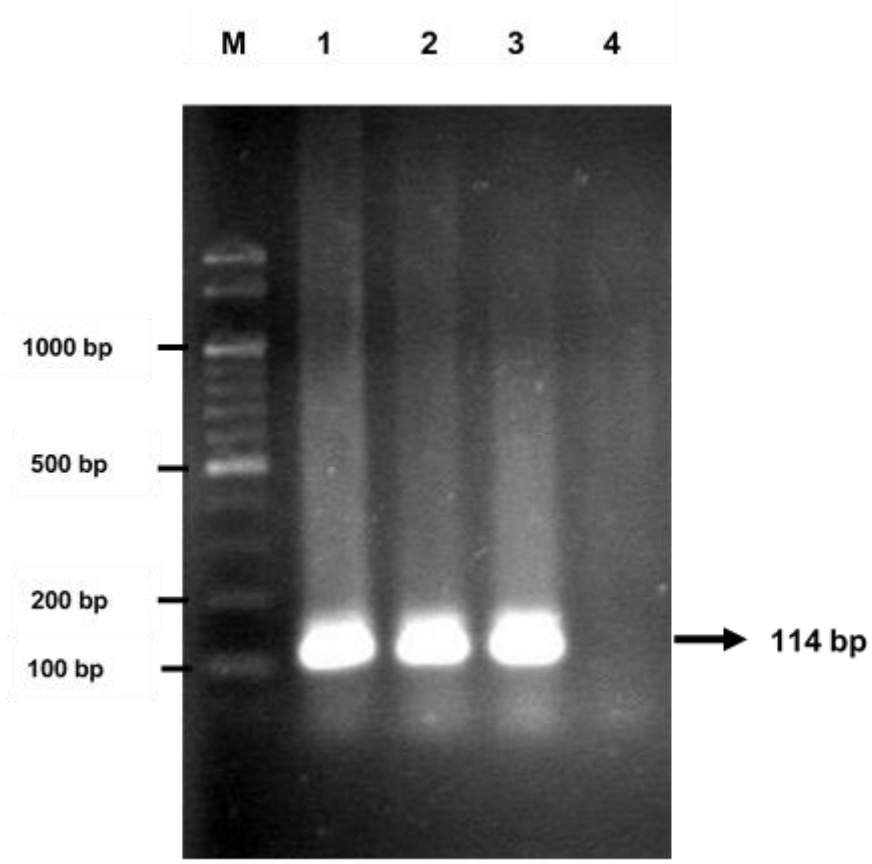


Figure 1 Storage of pork samples at various times

M: DNA Marker

Lane 1-4: Storage of porcine samples at -20^{0}C for 0 day, 7 days, 14 days and 30 days

(→ = PCR product)

วิจารณ์

ข้อมูลการศึกษาการเก็บและรักษาสภาพของสิ่งส่งตรวจโดยเฉพาะเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในอาหารยังคงมีจำกัด วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้คือการศึกษาเบื้องต้นเพื่อศึกษาสภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมูโดยการตรวจหา Housekeeping gene ด้วยวิธี PCR ซึ่งข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในอาหารในลำดับต่อไป

สำหรับประเทศไทยการศึกษาการเก็บและรักษาสภาพของสิ่งส่งตรวจโดยเฉพาะเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในอาหารยังมีข้อมูลที่จำกัด β-actin จัดเป็น Housekeeping gene ที่นิยมนำมาใช้เป็น internal control ในขั้นตอนการทำ PCR สามารถตรวจพบการแสดงออกของ Housekeeping gene ในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่แตกต่างกัน การศึกษานี้ได้ทดลองปรับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจหา β-actin จากเนื้อหมูและอวัยวะของหมูโดยปฏิกิริยา RT-PCR โดยสามารถตรวจพบ PCR product ของ β-actin (ขนาด 114 bp) จากตัวอย่างเนื้อหมูเมื่อปรับสภาวะของ Taq DNA polymerase เป็น 5 และ 10 unit แต่สามารถตรวจพบจากตัวอย่างตับหมูเมื่อปรับสภาวะของ Taq DNA polymerase เป็น 10 unit เท่านั้น (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) แสดงว่าความเข้มข้นของ Taq DNA polymerase อาจมีผลเกี่ยวข้องต่อการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิกและชนิดของตัวอย่างชิ้นเนื้อ การตรวจหา β-actin จากตัวอย่างเนื้อหมู ตับ ไต ลำไส้เล็ก สมองและปอดของหมู โดยผลการทดลองไม่สามารถตรวจพบ PCR product ที่จำเพาะของ ACTB จากสมองและปอด ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากคุณลักษณะของชิ้นเนื้อตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันและปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นของ RNA ดังนั้นอาจมีความจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนสภาวะให้เหมาะสมเช่น การใช้ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นของ RNA ที่เหมาะสมหรือการเลือกใช้ Housekeeping gene อื่นที่เหมาะสม

การเก็บตัวอย่างเนื้อหมูที่อุณหภูมิ -20^{0}C ในระยะเวลาที่แตกต่างกันโดยสามารถตรวจพบ RNA ของ β-actin เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 1 วัน 1 สัปดาห์ และ 2 สัปดาห์ การศึกษาของ Damen และคณะ [2] สามารถตรวจพบ

RNA ของไวรัสตับอักเสบซีจากตัวอย่างซีรั่มหรือพลาสม่าเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -70^{0}C เป็นระยะเวลา 15 เดือน Jose´ และคณะ [14] สามารถตรวจพบ RNA ของไวรัสตับอักเสบซีจากตัวอย่างซีรั่มหรือพลาสมาเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 และ -20^{0}C เป็นระยะเวลา 3 เดือนและ 2.5 ปีตามลำดับ นอกจากนี้ Catomeris และคณะ [3] ได้ศึกษาการตรวจหาฮีโมโกลบินในอุจจาระในสภาวะการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน โดยพบว่าอุจจาระที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิในช่วง -20^{0}C ถึง -15^{0}C, 2^{0}C ถึง 8^{0}C และ 20^{0}C ถึง 22^{0}C ยังคงตรวจพบฮีโมโกลบินในช่วงระยะเวลา 4.2 ถึง 60 วัน สำหรับการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถตรวจพบ RNA ของ β-actin เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 1 เดือนที่อุณหภูมิ -20^{0}C ทั้งนี้อาจเนื่องจากชนิดของตัวอย่างและสภาวะของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยตัวอย่างประเภทซีรั่มและพลาสมาซึ่งเป็นของเหลวอาจมีความคงสภาพและสามารถเก็บได้นานกว่าตัวอย่างประเภทชิ้นเนื้อ อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาการตรวจหายีน TnI, MRP และ tropomodulin จากเนื้อสัตว์คือ เนื้อไก่ เนื้อหมู เนื้อแพะ เนื้อวัวและเนื้อนกกระจอกเทศ โดยวิธี simplex และ multiplex PCR โดยสามารถตรวจพบยีนเหล่านี้ได้เมื่อเก็บรักษาสภาพตัวอย่างที่ 4^{0}C และ -80^{0}C เป็นระยะเวลานาน 10 วันและ 13 สัปดาห์ตามลำดับ [4] การศึกษาครั้งนี้แสดงผลที่แตกต่างจากการศึกษาของ Cheng และคณะ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาวะของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม Raymond และคณะสามารถตรวจหากรดนิวคลีอิกของ porcine reproductive และ respiratory syndrome virus (PRRSV) ในเนื้อหมูที่เก็บรักษาสภาพที่ -20^{0}C เป็นระยะเวลานาน 15 สัปดาห์ [15] การเปรียบเทียบการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมูในระยะเวลาต่างกันสามารถพบการลดลงของปริมาณ PCR product ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นจากตัวอย่างเนื้อหมูบางตัวอย่าง แสดงว่าเมื่อเก็บตัวอย่างเป็นระยะเวลานานขึ้นอาจมีผลที่ก่อให้เกิดการเสื่อมสลายของ RNA เพิ่มขึ้น [4] อย่างไรก็ตามควรศึกษาการเปรียบเทียบการตรวจพบปริมาณ RNA โดยวิธี real time RT-PCR หรือ Quantitative RT-PCR การศึกษาครั้งนี้สามารถตรวจพบ β-actin จากตัวอย่างเนื้อ

หมู ตับ ไตและลำไส้เล็กเท่านั้น นอกจากนี้สามารถตรวจพบ β-actin จากตัวอย่างเนื้อหมูบดที่เก็บรักษาสภาพที่อุณหภูมิ -20^{0}C ได้เป็นระยะเวลานานถึง 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามมีรายงานการเก็บรักษาสภาพของตัวอย่าง เช่น ตับอ่อน ด้วย RNAlater โดยการช่วยรักษาและคงสภาพของ RNA [16]

สรุปผลการวิจัย

สามารถตรวจพบ β-actin ได้จากตัวอย่างเนื้อหมู ตับ ไตและลำไส้เล็ก การเก็บรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อหมูบดที่อุณหภูมิ -20^{0}C ได้เป็นระยะเวลาจนถึง 14 วันยังคงสามารถตรวจพบ β-actin ได้ ข้อมูลจากการศึกษาวิจัยนี้จะนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างสิ่งส่งตรวจสำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ในลำดับต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

เอกสารอ้างอิง

1. Prickett, JR., Cutler, S., Kinyon, JM., Naberhaus, MSN., Stensland, WR., Yoon, KJ. and Zimmerman, JJ., 2010, Stability of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and antibody in swine oral fluid, J. Swine. Health. Prod. 18: 187-195.

2. Damen, M., Sillekens, P., Sjerps, M., Melsert, R., Frantzen, I., Reesink, HW., Lelie, PN. and Cuypers, HT., 1998, Stability of hepatitis C virus RNA during specimen handling and storage prior to NASBA amplification, J. Virol. Methods. 72: 175-184.

3. Catomeris, P., Baxter, NN., Boss, SC., Paszat, LF., Rabeneck, L., Randell, E., Serenity, ML., Sutradhar, R. and Tinmouth, J., 2018, Effect of Temperature and Time on Fecal Hemoglobin Stability in 5 Fecal Immunochemical Test Methods and One Guaiac Method, Arch. Pathol. Lab. Med. 142: 75-82.

4. Cheng, JH., Chou, HT., Lee, MS. and Sheu, SC., 2016, Development of qualitative and quantitative PCR analysis for meat adulteration from RNA samples, Food. Chem. 192: 336-342.

5. Klomtong, P. and Duangjinda, M., 2014, Molecular genetic -based approachesfor traceability ofmeat and meat products, Thai J. Genet. 7: 139–148.

6. Asch, BV., Santos, LS., Carneiro, J., Pereira, F. and Amorim, A., 2011, Identification of mtDNA lineages of Susscrofaby multiplex single base extension for the authentication of processed food products, J. Agr. Food. Chem. 59: 6920–6926.

7. Wang, S., Zhang, M., Liu, XC., Lin, T., Yang, HC., Yuan, SS., Zhao, GW., Ia, H., Yan, RF., Song, XK., Xu, LX. and Li, XR., 2015, Investigation on the co-infections of Toxoplasma gondii with PRRSV, CSFV or PCV-2 in swine in part of China, J. Integr. Agric. 14: 1838-1844.

8. Verhoef, L., Kouyos, RD., Vennema, H., Kroneman, A., Siebenga, J., van Pelt, W., Koopmans, M. and Foodborne Viruses in Europe Network., 2011, An integrated approach to identifying international foodborne norovirus outbreaks, Emerg. Infect. Dis. 17: 412-418.

9. Moor, D., Liniger, M., Baumgartner, A. and Felleisen, R., 2018, Screening of Ready-to-Eat Meat Products for Hepatitis E Virus in Switzerland, Food. Environ. Virol. 10: 263-271.

10.Terio, V., Bottaro, M., Pavoni, E., Losio, MN., Serraino, A., Giacometti, F., Martella, V., Mottola, A., Di Pinto, A. and Tantillo, G., 2017, Occurrence of hepatitis A and E and norovirus GI and GII in ready-to-eat vegetables in Italy, Int. J. Food. Microbiol. 249: 61-65.

11. Fusco, G., Di Bartolo, I., Cioffi, B., Ianiro, G., Palermo, P., Monini, M. and Amoroso, MG., 2017, Prevalence of Foodborne Viruses in Mussels in Southern Italy, Food. Environ. Virol. 9: 187-194.

12. Intharasongkroh, D., Sa-Nguanmoo, P., Tuanthap, S., Thongmee, T., Duang-In, A., Klinfueng, S., Chansaenroj, J., Vongpunsawad, S., Theamboonlers, A., Payungporn, S., Chirathaworn, C. and Poovorawan Y., 2017, Hepatitis E Virus in Pork and Variety Meats Sold in Fresh Markets, Food. Environ. Virol. 9: 45-53.

13. Gu, YR., Li, MZ., Zhang, K., Chen, L., Jiang, AA., Wang, JY. and Li, XW., 2011, Evaluation of endogenous control genes for gene expression studies across multiple tissues and in the specific sets of fat- and muscle-type samples of the pig, J. Anim. Breed. Genet. 128: 319-325.

14.Jose, M., Curtu, S., Gajardo, R. and Jorquera, JI., 2003, The effect of storage at different temperatures on the stability of Hepatitis C virus RNA in plasma samples, Biologicals. 31: 1-8.

15.Raymond, P., Bellehumeur, C., Nagarajan, M., Longtin, D., Ferland, A., Müller, P., Bissonnette, R. and Simard, C., 2017, Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in pig meat, Can. J. Vet. Res. 81: 162-170.

16. Griffin, M., Abu-El-Haija, M., Abu-El-Haija, M., Rokhlina, T. and Uc, A., 2012, Simplified and versatile method for isolation of high-quality RNA from pancreas, Biotechniques. 52: 332-334.

Contraction Band

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ *

บทนำ

กล้ามเนื้อหัวใจตายเป็นสาเหตุการเสียชีวิตในลำดับต้นของประชากรทั่วโลกในยุคปัจจุบัน เมื่อมีการชันสูตรพลิกศพเพื่อวินิจฉัยกล้ามเนื้อหัวใจตายจะอาศัยประวัติ การตรวจร่างกาย การตรวจทางห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามในกรณีที่การเสียชีวิตเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังกล้ามเนื้อหัวใจตายอาจจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพจากการมองด้วยตาเปล่า รวมไปถึงการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

การเปลี่ยนแปลงอย่างหนึ่งที่พบได้ในกล้ามเนื้อหัวใจตายระยะเริ่มต้นคือการเกิด contraction band โดยมีสมมติฐานการเกิด contraction band จาก reperfusion injury

เมื่อมีการอุดกั้นหลอดเลือดแดงโคโรนารีย์นานเกิน 30 นาที กล้ามเนื้อหัวใจจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถย้อนกลับไปสู่สภาวะปกติได้ ดังนั้นวิธีการรักษาโรคหลอดเลือดโคโรนารีย์อุดกั้นจึงเป็นการทำให้เลือดกลับไปเลี้ยงหัวใจได้เร็วที่สุด อย่างไรก็ตามผลของการมีเลือดกลับมาเลี้ยงได้ใหม่ก็ทำให้เกิดอันตรายต่อกล้ามเนื้อหัวใจที่ขาดเลือดอยู่ด้วย (reperfusion injury)

---

* ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Kloner แบ่ง reperfusion injury เป็น 4 รูปแบบ ได้แก่

1.กล้ามเนื้อหัวใจที่ยังไม่ได้รับผลกระทบในช่วงแรกของการขาดเลือดกลับตายเมื่อมีเลือดมาเลี้ยงได้ใหม่

2.เกิดการทำลาย microvasculature เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ไม่สามารถขนส่งเลือดไปยังบริเวณที่ขาดเลือดได้

3.กล้ามเนื้อหัวใจเกิด abnormal intracellular metabolism มีการผลิตพลังงานลดลง หดตัวบีบตัวน้อยลง

4.เกิดหัวใจเต้นผิดจังหวะ เช่น ventricular tachycardia, ventricular fibrillation

กล้ามเนื้อหัวใจที่ขาดเลือดอยู่แล้วได้รับเลือดกลับเข้ามาอย่างรวดเร็ว ทำให้มีแคลเซียมจำนวนมากเข้ามาในกล้ามเนื้อหัวใจทำให้เกิด hypercontraction ของกล้ามเนื้อหัวใจ หัวใจเต้นผิดจังหวะ และกล้ามเนื้อหัวใจตาย Reperfusion

Contraction band

มีรายงานการตรวจพบ contraction band จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ย้อม H&E) บริเวณขอบของกล้ามเนื้อหัวใจตายตั้งแต่ ค.ศ.1939 โดยปรากฏลักษณะเป็นแถบ hypercontraction ร่วมกับหย่อมกล้ามเนื้อหัวใจตาย มีชื่อเรียกพยาธิสภาพนี้อีกหลายชื่อ เช่น myofibrillar degeneration, coagulative myocytolysis และ Zenker necrosis

สาเหตุการเสียชีวิตที่สามารถตรวจพบ contraction band มีหลายสาเหตุ เช่น โรคหลอดเลือดแดงโคโรนารีย์อุดกั้น การกู้ชีพ จมน้ำ อุณหภูมิต่ำ ไฟไหม้ intracranial hemorrhage, catecholamine excess, preeclampsia และผลจากการใช้ยาหรือสารเสพติดอีกหลายชนิด เช่น โคเคน

Contraction band ที่ตรวจได้จากล้องจุลทรรศน์เกิดจาก Z-lines ที่หนาตัวขึ้น และ sarcomeres ที่หดสั้น (ขนาดปกติ 1.5 μm) ร่วมกับ coagulation necrosis, fragmentation of hypercontracted myofibrils into eosinophilic bands

The Society of Cardiovascular Pathology แบ่ง contraction band เป็น 2 ประเภท ได้แก่ Contraction band necrosis และ artifactual contraction band

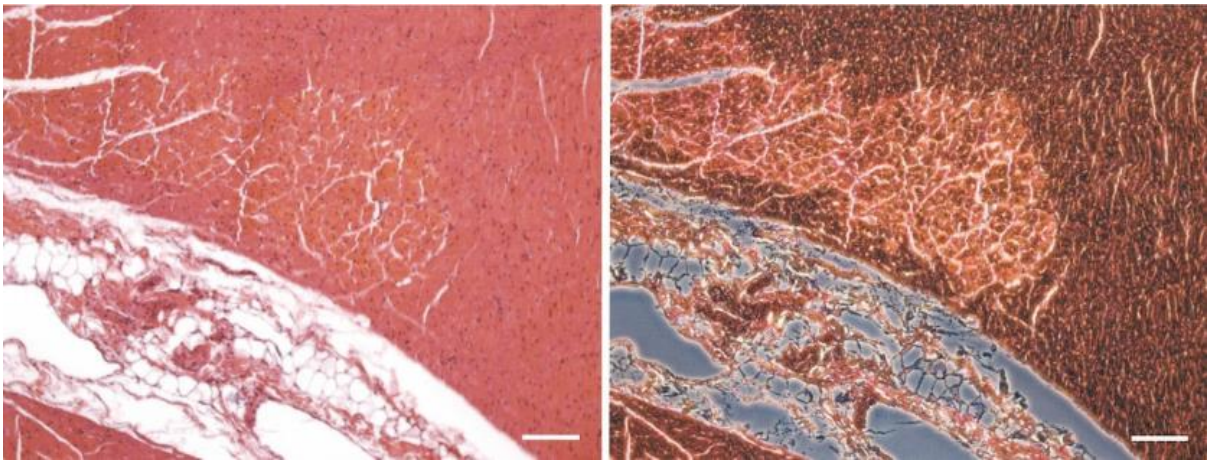
Contraction band necrosis จะมีกล้ามเนื้อหัวใจที่ดูปกติล้อมรอบ มักมี granular basophilic hue เนื่องจากมีแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อหัวใจเกิด fragmentation และย้อมติด coagulation necrosis ด้วย CCC9 (สามารถตรวจกล้ามเนื้อหัวใจตายใน 6 ชั่วโมงแรกได้) ในขณะที่ artifactual contraction band จะไม่ปรากฏลักษณะที่มีใน contraction band necrosis และ artifactual contraction band มักเกิดในกรณี myocardial biopsy ที่มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างใน fixative chilled

ในงานนิติเวชศาสตร์มีการศึกษา contraction band เพื่อช่วยวินิจฉัยสาเหตุการเสียชีวิตโดยอาศัยการย้อมด้วย complement component C9 (CCC9) และ Sirtuin 1 (SIRT1) โดยมีผลการศึกษาดังนี้

- CCC9 + / SIRT1 - กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ
- CCC9 - / SIRT1 + ผ่านการกู้ชีพ (cardiopulmonary resuscitation, CPR) โดยพบ contraction band เป็นหย่อมกระจายในกล้ามเนื้อหัวใจ โดยพบบ่อยบริเวณขอบของหัวใจห้องล่างซ้าย
- CCC9 - / SIRT1 - กรณีที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิต่ำ จมน้ำ
- CCC9 + / SIRT1 + กรณีที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง

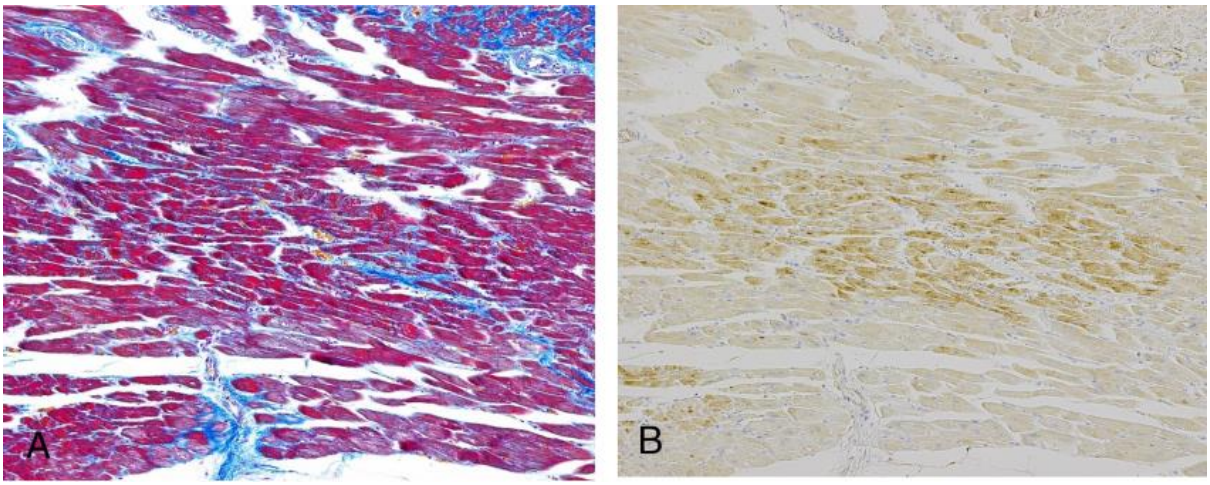
Fluorescence, immunofluorescence และ electron microscope ช่วยให้การวินิจฉัยกล้ามเนื้อหัวใจตายในระยะเริ่มต้นได้รวดเร็วขึ้นแม่นยำขึ้น แต่วิธีการเตรียมตัวอย่างใช้เวลา ขั้นตอนที่ซับซ้อนกว่าการย้อม H&E นอกจากนั้นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนก็มีเฉพาะสถาบันทางด้ายพยาธิวิทยาขนาดใหญ่เท่านั้น

การใช้ light microscope โดยทั่วไปจะสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกล้ามเนื้อหัวใจปกติจากกล้ามเนื้อหัวใจตายเมื่อเกิดการอุดกั้นหลอดเลือดแดงโคโรนารีย์ไปแล้วประมาณ 10 ชั่วโมง (ย้อมด้วย H&E) แต่ถ้าใช้ phase-contrast จะสามารถตรวจวินิจฉัยกล้ามเนื้อหัวใจตายได้เร็วขึ้น นอกจากนี้การย้อมชิ้นเนื้อด้วย Azan จะทำให้สังเกต contraction ได้ง่ายขึ้นกว่าการย้อม H&E



Light microscope Phase-contrast microscope

รูปที่ 1 กล้ามเนื้อหัวใจตายย้อมด้วย H&E เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และ phase-contrast (Ref 1)



Azan stain CCC9 +

รูปที่ 2 Contraction band เมื่อย้อมด้วย Azan stain และ CCC9 + ในเคสที่เสียชีวิตจากกล้ามเนื้อหัวใจตาย (Ref 4)

หมายเหตุ

1. เกณฑ์การวินิจฉัยกล้ามเนื้อหัวใจตายด้วยกล้องจุลทรรศน์

ระยะแรก/เฉียบพลัน (Acute or early)

- Hypereosinophilia
- Contraction bands
- Thinning and waviness of fibers
- Increased intercellular space

ระยะเวลาวัน - สัปดาห์ (Days to weeks)

- Dissolution of myocyte nuclei (karyolysis)
- Dissolution of myocyte cells
- Infiltration of leukocytes
- Increased fibroblasts and collagen fibers

2. SIRT1 deacetylase ทำปฏิกิริยา redox นำหมู่ acetyl ออกจาก lysine residue ในโปรตีนเมื่อมี NAD^+ เป็น coenzyme ทำให้เกิด deactivate p53 protein และ deacetylase transcription factors เมื่อมีภาวะที่ต้องการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น เช่น การออกกำลังกายอย่างหนัก SIRT1 จะเพิ่มขึ้นผ่าน PGC-1α ทำให้มี mitochondrial biogenesis จึงสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดออกซิเจน (oxygen sensor) ดังนั้นการย้อม SIRT1 ช่วยบ่งชี้การปรับตัวของเซลล์ในสภาวะขาดออกซิเจนผ่าน hypoxia-inducible factor 1α

References

1. Neumann T, Konietzka I, Sand A, Aker S, Schulz R, Heusch G. Identification of necrotic tissue by phase-contrast microscopy at an early stage of acute myocardial infarction. Lab Invest 2000; 80(6): 981-2.
2. Baroldi G, Mittleman RE, Parolini M, Silver MD, Fineschi V. Myocardial contraction bands. Int J Legal Med 2001; 115: 142 -51.
3. Basso C, Thiene G. The pathophysiology of myocardial reperfusion: a pathologist's perspective. Heart 2006; 92: 1559-62.
4. Morita S, Furukawa S, Nishi K. Classification of contraction bands using immunohistochemistry. Am J Forensic Med Pathol 2015; 36(1): 23 – 6.

Modified cobalt thiocyanate test

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ *

วิธีการตรวจคัดกรอง ketamine มีหลากหลายวิธี เช่น Janovsky color test และ modified Scott test เนื่องจาก Janovsky test ให้ผลบวกลวงกับสารในกลุ่ม benzodiazepines ซึ่งเป็นสารที่พบได้บ่อย การตรวจคัดกรอง ketamine จึงนิยมใช้วิธี modified Scott test ซึ่งไม่เกิดผลบวกลวงกับสารกลุ่มดังกล่าว

Scott test หรือมีชื่อเรียกอีกชื่อ cobalt thiocyanate test ถูกพัฒนาขึ้นใน ค.ศ.1973 เพื่อการตรวจคัดกรองโคเคนและเกลือของโคเคน โดยวิธีการทำปฏิกิริยาให้เกิดสี (color test) เมื่อเติมสารละลาย cobalt (II) thiocyanate ($Co(SCN)_2$) ลงไปในตัวอย่าง โดยจะได้สารประกอบเชิงซ้อน (complex) ที่มีสีน้ำเงิน ในกรณีตรวจวิเคราะห์ cocaine base จะต้องปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรดก่อนทดสอบจึงจะเกิดสี และในการเติมกรดนี้ยังเป็นการพัฒนาเทคนิคเพื่อลดผลบวกลวงที่เกิดจากสารปนเปื้อนอื่นด้วย

Modified Scott test เป็นการปรับปรุงจากวิธี Scott test โดย Morris และคณะ ให้มีความเหมาะสมในการตรวจ ketamine โดยจุดแตกต่างหลักจากเทคนิคเดิมคือการปรับค่า pH ของตัวอย่างที่ต้องการตรวจวิเคราะห์จากกรดให้เป็นเบสโดยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนเติมสารละลาย cobalt thiocyanate

สารละลาย cobalt thiocyanate ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยานิยมใช้สารละลายเข้มข้น 2% ในน้ำ (เตรียมได้จากละลาย $Co(SCN)_2$ 2 กรัม ในน้ำกลั่น 100 mL)

---

* ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

การตรวจวิเคราะห์โคเคนที่มีอยู่ในตัวอย่างแบ่งเป็น 2 เทคนิค ขึ้นกับสถานะของตัวอย่างว่ามีสถานะของแข็งหรือของเหลว ในกรณีตัวอย่างของเหลวจะใช้ two-step procedure และกรณีตัวอย่างของแข็งจะใช้ three-step procedure

Two-step procedure for liquid

- หยดของเหลวตัวอย่างในหลอดทดสอบ
- เติม 0.1 N NaOH ลงไป 1 หยด
- หยดสารละลาย cobalt thiocyanate
- ผสมให้เข้ากัน
- ถ้ามี ketamine จะเกิดผลบวกเป็นตะกอน (precipitate) สี lavender ม่วงอมชมพู (pinkish purple) ไปจนถึงสีม่วง (purple)
- ในกรณีผลลบจะเกิด precipitate สีเขียวอมน้ำเงิน (blue-green)

Three-step procedure for powdered samples

- เติมผงตัวอย่างเล็กน้อย (tip of a small spatula) ในหลอดทดสอบ
- เติม deionized water หนึ่งหยด และ 0.1 N NaOH หนึ่งหยด
- ทำละลายผงตัวอย่างให้เข้ากัน
- เติมสารละลาย cobalt thiocyanate หนึ่งหยด ผสมให้เข้ากัน
- ถ้ามี ketamine จะเกิดผลบวกเป็น precipitate สี lavender ไปจนถึงสีม่วง (purple)
- ในกรณีผลลบจะเกิด precipitate สีเขียวอมน้ำเงิน (blue-green)

การทดสอบทุกครั้งควรมีการทดสอบ blank sample, positive control และ negative control ด้วยทุกครั้ง

ในกรณีตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่มี ketamine hydrochloride ด้วยวิธี cobalt thiocyanate จะได้สีน้ำเงินถึงน้ำเงินเข้ม แต่ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นสารละลาย ketamine การตรวจวิเคราะห์นี้จะไม่เกิดสีดังกล่าว

ความไว (Sensitivity) ของการตรวจ ketamine hydrochloride ได้ผลบวกคือ 1.25 mg อย่างไรก็ตามถ้าตัวอย่างเป็นสารบริสุทธิ์ไม่มีสิ่งเจือปนอื่นความไวในการตรวจจะตรวจได้ในระดับไมโครกรัม

ตารางที่ 1 การทดสอบการเกิดปฏิกิริยา Modified Scott test กับสารอื่น ๆ (Ref 2)

Compound	Test result	Compound	Test result
Morphine	NR	Dextrose	NR
Heroin	NR	Diphenhydramine HCl	Bright blue ppt
Codeine	NR	Ephedrine HCl	NR
Strychnine	NR	Ethylmorphine	NR
Brucine	NR	Fenfluramine HCl	NR
Betamethasone	NR	Ketamine	NR
Dexamethasone	NR	Procaine	NR
Digitoxigenin,	NR	Bupivacaine	NR
Digoxigenin,	Blue ppt in pink sol'n	Mepivacaine	NR
Digitoxin	NR	Lidocaine	NR
Lanatoside C	NR	Lidocaine HCl	NR
Alprazolam	NR	Pethidine	NR
Amobarbital	NR	Flunitrazepam	NR
Amphetamine sulfate	NR	Phenylepropanolamine HCl	NR
Citric acid	NR	Flurazepam 2HCl	NR
Cocaine base	NR	butyrolactone (GBL)	Pink solution
Cocaine HCl	NR	GHB, Na	NR
Codeine	NR	Hydromorphone HCl	NR
Ibogaine HCl	NR	Mannitol	NR
Ketamine free base	NR	MDMA HCl	NR
Ketamine HCl	Pinkish purple ppt	Medazolam	NR
Lactose	NR	Meperidine HCl	NR
Levorphanol tartrate	NR	Mescaline HCl	NR
Methamphetamine HCl	NR	Methadone HCl	Bright blue ppt
Methaqualone HCl	NR	Phencyclidine HCl	Bright blue ppt
Methocarbamol	NR	Phenobarbital	NR
Nicotinamide	NR	Phenylepropanolamine HCl	NR
Nordiazepam	NR	Quazepam	NR
Opium	NR	Secobarbital, Na	NR
Oxazepam	NR	Sodium bitartrate	Pink solution
Pentazocine HCl	NR	Sodium carbonate	Light blue ppt
Triazolam	NR	Soluble starch	NR
Saline water	Pink solution	Adrenaline	NR
Mannitol	NR	KOH solution	NR
Methyl paraben	NR	Ethanol	NR
1,4-Butanediol	NR	5-Methoxy- α-methyltryptamine HCl	NR
Ethylene glycol	NR	5-Methoxy-N,N-dimethyltryptamine	NR
2,4,6-Trimethoxyamphetamine HCl	NR	Modafinil	NR
2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine HBr	NR	N,N-Diisopropyl-5-methoxytryptamine HCl	NR
2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine	NR	N,N-Dimethylamphetamine HCl	NR

สรุป

การตรวจคัดกรองเป็นการตรวจที่รวดเร็ว ราคาถูก สามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์ ณ สถานที่เกิดเหตุ โดยที่ผู้ทดสอบไม่จำเป็นต้องเป็นนักวิทยาศาสตร์ที่ผ่านการฝึกอบรมเป็นผู้ชำนาญ อย่างไรก็ตามจุดด้อยที่สำคัญของการตรวจคัดกรองคือ การเกิดผลการทดสอบที่เป็นได้ทั้งผลบวกลวงและผลลบลวง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการตรวจยืนยันทุกครั้งเมื่อผลการตรวจคัดกรองได้ผลบวก เพื่อให้มั่นใจได้ว่าผลบวกที่ได้จากการตรวจคัดกรองนั้นเป็นผลบวกจากสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์อย่างแท้จริงเพื่อนำผลการตรวจนั้นไปใช้ต่อในกระบวนการยุติธรรมเพื่อให้เกิดความเป็นธรรมแก่ทุกฝ่าย

References

1. Jeremiah A, Morris BS. Modified cobalt thiocyanate presumptive color test for ketamine hydrochloride. J Forensic Sci 2007; 52(1): 84-7.
2. Dubey P, Shukla SK, Gupta KC. Modified Scott's test for ketamine hydrochloride. Australian J Forensic Sci 2013; 45(2): 165-71.
3. Tsumura Y, Mitome T, Kimoto S. False positives and false negatives with a cocaine-specific field test and modification of test protocol to reduce false decision. Forensic Sci Int 2005; 155: 158-64.
4. O'Neal CL, Crouch DJ, Fatah AA. Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse. Forensic Sci Int 2000; 109: 189-201.
5. Deakin AL. A study of acids used for the acidified cobalt thiocyanate test for cocaine base. Microgram J 2003; 1(1-2): 40-3.

พระราชดำรัสสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี

คนดีของฉันรึ

จะต้องเป็นคนไม่พูดปด

ไม่สอพลอ

ไม่อิจฉาริษยา

ไม่คดโกง

และไม่มีความทะเยอทะยานอย่างบ้าบ้า

แต่พยายามทำหน้าที่ของตนให้ดี

ในขอบเขตของศีลธรรม