

คำนำ

วารสารนิติเวชศาสตร์ในฉบับขึ้นปีที่ 6 นี้ เริ่มมีการปรับเปลี่ยนจากวารสารราย 4 เดือน ออกปีละ 3 เล่ม เป็นการออกวารสารปีละ 2 ฉบับ และจะเริ่มปรับรูปแบบเพื่อให้ได้มาตรฐานตามเกณฑ์ทั้งในระดับชาติ และนานาชาติ โดยจะเริ่มปรับรูปแบบการเขียนเอกสารอ้างอิงของทุกบทความให้อยู่ในระบบเดียวกันโดยอ้างอิงในระบบ Vancouver style และจัดให้มีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยจะเริ่มในวารสารฉบับหน้า ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 เป็นต้นไป

คณะผู้จัดทำหวังว่าจะยังคงได้รับความร่วมมือจากผู้วิจัย อาจารย์ นิสิตและผู้สนใจร่วมกันส่งผลงาน เพื่อเผยแพร่ผลงานที่น่าสนใจมายังวารสารเพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ความรู้ ความเห็นที่มีประโยชน์ต่อสังคม ทั้งในด้านการเรียนรู้และการอำนวยความสะดวกธรรมชาติธรรมของชุมชน

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 หุ่นวิจิตร
3. ผศ.นพ.เกรียงไกร วงศ์ไพศาลสิน
4. อ.นพ.ธีรโชติ จงสกุล
5. อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุตินวงศ์
6. อ.พญ.เกษณี จงประสาธน์สุข
7. ญ.กัญญณลิน หิรัญเศรษฐธาดา ผู้ช่วยบรรณาธิการและเลขานุการ

วารสารออนไลน์

<http://www.forensicchula.net>

สารบัญ

Original article

- การศึกษาผลของไฟฟ้ากระแสตรงต่อเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดแดงใหญ่เออร์ตา	5
- การศึกษาการบาดเจ็บของผนังทรวงอกและอวัยวะภายในช่องอกที่เกิดจากปฏิบัติการกู้ชีพ	9
- การระบุแหล่งที่มาของดีเอ็นเอจากอสุจิหรือเลือดโดยการตรวจดีเอ็นเอ เมทิลเลชัน	15
- การระบุเพศโดยวิธีการวัดกระดูกสะบักในประชากรไทย	26
- การปนเปื้อนเลือดในห้องเรียนปฏิบัติการ	33
- Species of fresh water snail in water reservoirs in Naresuan university	38
- The prevalence of children enterobiasis of Uttaradit province	45
- Sample Carryover: ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการตรวจวิเคราะห์ DNA	50

Review

- Cantharidin และผิวหนังน้ำมัน	56
- Fecal examination	63
- Sibutramine	74
- Paracetamol toxicity	82

Miscellaneous

- จดหมายถึงบรรณาธิการ	89
-----------------------	----

ภาพปก

ชื่อภาพ	The Mill
ศิลปิน	Rembrandt
สถานที่	National Gallery of Art, Washington
ที่มา	http://en.wikipedia.org/wiki/File:DeMolenRembrandt.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิเทศศาสตร์เป็นวารสารรายหกเดือน รับเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องทางนิเทศศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา โดยให้ส่งผลงานตีพิมพ์ในกระดาษขนาด A4 หรือไฟล์ข้อมูลในสื่อบันทึก หรือจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

ผลงานที่ส่งเพื่อตีพิมพ์สามารถใช้ได้ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ โดยไม่จำกัดรูปแบบของผลงาน ไม่ว่าจะเป็นบทความแสดงความคิดเห็น งานวิจัยนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานผู้ปวย หรืองานในรูปแบบอื่น ๆ

ให้ระบุชื่อเรื่อง ชื่อผู้วิจัยหรือผู้เขียนผลงาน และส่งผลงานได้ที่

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์

ภาควิชานิเทศศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ.พระราม4 เขตปทุมวัน กทม.10330

หรือที่ e-mail: tssnat@hotmail.com

รายงานเบื้องต้นของการศึกษาผลของไฟฟ้ากระแสตรงต่อเซลล์เยื่อหลอดเลือดแดงใหญ่ เอออร์ตาและหลอดเลือดแดงปัลโมนารี

Effect of direct current electrocution to endothelial cell of aorta and pulmonary artery, a preliminary report.

นพ.กรวิก มีศิลป์วิทย์ *

นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ **

บทคัดย่อ

การวินิจฉัยการตายจากกระแสไฟฟ้าในปัจจุบันนั้นมีความลำบากเนื่องจากผู้ตายบางรายมีประวัติเสียชีวิตจากกระแสไฟฟ้า แต่การตรวจชันสูตรพลิกศพไม่พบบาดแผลที่บ่งบอกถึงการถูกกระแสไฟฟ้า การผ่าชันสูตรศพยังไม่มีเครื่องมือที่ใช้ในการวินิจฉัยการตายจากกระแสไฟฟ้าที่ชัดเจน ปัจจุบันนี้ยังไม่พบการตรวจใด ๆ ที่สามารถแยกการตายจากไฟฟ้ากระแสตรงและกระแสสลับได้

ในปี 2551 การศึกษานำร่องโดย Wang, et al. พบว่าไฟฟ้ากระแสสลับทำให้เซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่และหลอดเลือดแดงปัลโมนารีแตก จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าไฟฟ้ากระแสสลับทำให้เกิดรูขนาด 0.8-3 ไมโครเมตร บนเซลล์เยื่อหลอดเลือด ซึ่งสามารถตรวจได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ผลการวิจัยดังกล่าวยังแสดงให้เห็นว่าการแตกของเซลล์นั้นไม่ได้เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการเสื่อมของเซลล์หลังจากเสียชีวิตตามธรรมชาติ

ผู้วิจัยจึงได้นำเทคนิคการตรวจดังกล่าวมาประยุกต์ใช้กับกระแสไฟฟ้าตรง โดยตรวจผนังหลอดเลือดแดงเอออร์ตาและหลอดเลือดแดงปัลโมนารีของผู้ที่มีประวัติการถูกช็อตด้วยเครื่องดีฟิบริเลเตอร์ก่อนเสียชีวิต

ผลการทดลองพบว่าพบการฉีกขาดของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดในผู้ตายที่ผ่านการถูกช็อตด้วยเครื่องดีฟิบริเลเตอร์ อย่างไรก็ตามการเก็บชิ้นเนื้อที่มีสภาพสมบูรณ์เพื่อการตรวจดังกล่าวทำได้ยากเนื่องจากหลายปัจจัย

คำสำคัญ ไฟฟ้ากระแสตรง เซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดแดง

* อาจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

การเสียชีวิตจากกระแสไฟฟ้านั้นโดยทั่วไปแล้ววินิจฉัยจากบาดแผลภายนอกเป็นหลัก แต่ในผู้เสียชีวิตบางรายที่อยู่ในสภาพที่ร่างกายมีค่าความต้านทานไฟฟ้าต่ำกว่าปกติจะทำให้ไม่มีบาดแผลภายนอกที่สามารถใช้ในการวินิจฉัยได้ ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการวินิจฉัยการตายในกรณีดังกล่าวได้

การศึกษานำร่องของ Wang, et al พบว่ามีการฉีกขาดของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ เอออร์ตาและหลอดเลือดแดงพัลโมนารีในผู้ตายที่มีประวัติเสียชีวิตจากไฟฟ้ากระแสสลับ ซึ่งสามารถตรวจได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

ผู้วิจัยจึงต้องการนำการตรวจโดยวิธีดังกล่าวมาประยุกต์ตรวจในผู้เสียชีวิตที่มีประวัติได้รับไฟฟ้ากระแสตรงระหว่างที่เสียชีวิต เพื่อหาความเป็นไปได้ในการใช้วิธีดังกล่าวมาประยุกต์ใช้กับการตายจากไฟฟ้ากระแสตรง

วิธีการศึกษา

การศึกษาทำในรูปแบบของการวิจัยนำร่อง โดยใช้ผู้เสียชีวิตทั้งหมด 8 ร่างที่เสียชีวิตระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555 จนถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2556 มีการแบ่งผู้ตายออกเป็นสองกลุ่ม โดยกลุ่มควบคุมเสียชีวิตโดยไม่มีประวัติสัมผัสกับกระแสไฟฟ้าก่อนเสียชีวิต และอีกกลุ่มที่ศึกษามีประวัติผ่านการกู้ชีพด้วยเครื่องกระตุ้นหัวใจ ทั้งสองกลุ่มไม่จำกัดอายุและเพศ และเสียชีวิตมาไม่เกิน 24 ชั่วโมงก่อนการเก็บตัวอย่าง

การเก็บชิ้นเนื้อทำภายใต้คำแนะนำของศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเก็บชิ้นเนื้อขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร จากหลอดเลือดแดงเอออร์ตาและพัลโมนารีบริเวณที่ใกล้กับหัวใจที่สุด จุดละ 3 ชิ้น และนำไปแช่ในน้ำยากลูตาราลดีไฮด์ 10% เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ ก่อนที่จะส่งชิ้นเนื้อให้ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์เพื่อทำการเตรียมชิ้นเนื้อต่อไป

การตรวจโดย SEM ทำเพื่อประเมินว่ามีการฉีกขาดของเซลล์เยื่อและความผิดปกติอื่นๆ หรือไม่ ในตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม

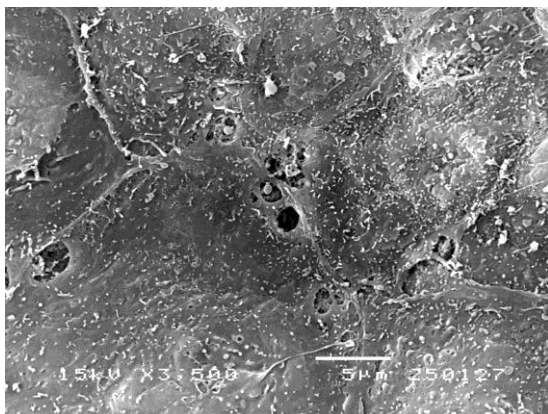
ผลการศึกษา

การศึกษาพบว่ากลุ่มควบคุมมีการฉีกขาดของเซลล์เยื่อบุบริเวณขอบเซลล์ โดยการฉีกขาดดังกล่าวมีขนาดและรูปร่างที่ไม่แน่นอน

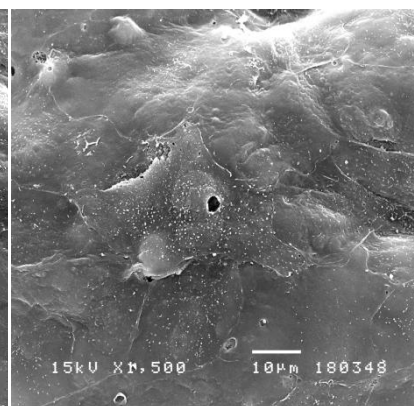
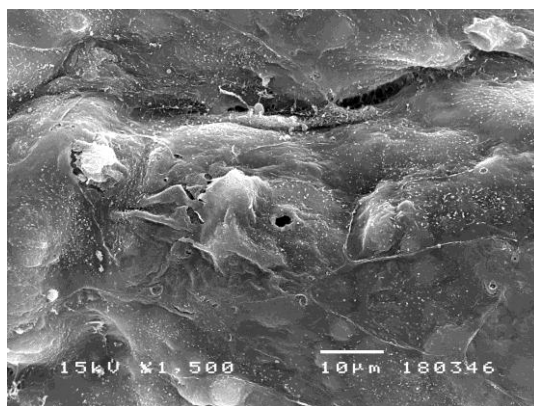
ในกลุ่มทดลองพบว่าการฉีกขาดของเซลล์เยื่อบุบริเวณกลางเซลล์ ในบางเซลล์พบการฉีกขาดดังกล่าวอยู่เหนือนิวเคลียส

อย่างไรก็ตามทั้งสองกลุ่มประสบปัญหาการหลุดลอกของเซลล์เยื่อเป็นอย่างมากแม้ว่าได้เก็บชิ้นเนื้อจากหลายจุดแล้วก็ตาม ในกลุ่มทดลองนั้นพบเซลล์เยื่อที่สมบูรณ์เพียง 1 รายจากทั้งหมด 4 ราย

ในรายที่เสียชีวิตจากไฟฟ้ากระแสสลับทั้งสองรายพบเซลล์เยื่อหลุดลอกทั้งสองราย แต่พบผลึกเกาะตัวกันบนพื้นผิวด้วย ซึ่งผลึกดังกล่าวไม่พบในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง



ภาพที่ 1 และ 2 ตัวอย่างภาพจากกล้อง SEM ในกรณีที่ไม่ได้รับกระแสไฟฟ้ากระแสตรง



ภาพที่ 3 และ 4 ตัวอย่างภาพจากกล้อง SEM ในกรณีที่ได้รับกระแสไฟฟ้ากระแสตรง

สรุปและวิจารณ์

การทดลองนี้ประสบปัญหาการหลุดล่อนของเซลล์เยื่อเป็นอย่างมากทำให้มีปัญหาในการสรุปผล อย่างไรก็ตาม ในกลุ่มทดลองยังพบหนึ่งรายที่มีเซลล์เยื่อในสภาพสมบูรณ์ซึ่งแสดงการฉีกขาดของเซลล์เยื่อที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน

อุปสรรคที่สำคัญในการทดลองอาจจะประสบปัญหาการหลุดล่อนของเซลล์เยื่อเป็นอย่างมากทำให้มีปัญหาในการสรุปผล เนื่องจากสปีดไม่สามารควควบคุมปัจจัยเรื่องการเปลี่ยนแปลงหลังการตายได้แน่นอน รวมไปถึงวิธีการประเมินระยะเวลาการเสียชีวิตก็ยังไม่มีความแม่นยำ

อย่างไรก็ตาม การวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำเทคนิคนี้มาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยการเสียชีวิตเนื่องจากกระแสไฟฟ้า แต่เนื่องจากการสูญเสียชิ้นเนื้อไปเป็นจำนวนมากเนื่องจากการหลุดล่อนของเซลล์เยื่อทำให้ผู้วิจัยเห็นว่าเป็นปัญหาที่ควรได้รับการแก้ไขก่อนที่จะทำการวิจัยต่อไป

References

1. Wang Y, Liu M, Cheng WB, Li F, Liao Z, Wang Y. Endothelial cell membrane perforation of aorta and pulmonary artery in the electrocution victims. Forensic Sci Int. 2008; 178: 204 – 206.
2. Fineschi V, Karch SB, D’Errico S, Pomara C, Riezzo I, Turillazzi E. Cardiac pathology in death from electrocution, Int J Leg Med. 2006; 120(2): 79 – 82.
3. Weaver JC. Electroporation in cells and tissues. IEEE Trans Plasma Sci. 2000; 28(1): 24 – 33.
4. Tsong TY. Electroporation of cell membrane. Biophys J. 1991; 60(2): 297 - 306.

การศึกษาการบาดเจ็บของผนังทรวงอกและอวัยวะในช่องอกที่เกิดจากปฏิบัติการกู้ชีพ

Study of chest wall and intrathoracic organ injuries resulting from cardiopulmonary resuscitation

นพ.ธัญศักดิ์ เอกเวชวิท *

รท.นพ.ปองพล ไตรเทพชนะภัย **

บทนำ

ผู้ป่วยในภาวะวิกฤติ หัวใจหยุดเต้นหรือหยุดหายใจ ต้องได้รับการรักษาอย่างเร่งด่วนด้วยปฏิบัติการกู้ชีพ (cardiopulmonary resuscitation, CPR) อย่างไรก็ตาม CPR เป็นวิธีการรักษาที่รุนแรงและมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการบาดเจ็บต่อผู้ป่วย

การบาดเจ็บที่เกิดจากการทำ CPR ซึ่งพบได้บ่อยคือ การบาดเจ็บของผนังทรวงอกได้แก่ กระดูกซี่โครงและกระดูกอกหัก และรองลงมาคือการบาดเจ็บของอวัยวะในช่องอก เช่น หัวใจ ปอด หลอดเลือดแดงเอออร์ตา (aorta) นอกจากนี้อาจเกิดการบาดเจ็บต่ออวัยวะภายในอื่น ๆ เช่น ตับ และม้าม ซึ่งการบาดเจ็บจากการทำ CPR บางครั้งอาจรุนแรงจนเสียชีวิตได้ เช่น เกิดการฉีกขาดของหัวใจหรือตับ

ปัจจุบันมีแนวโน้มการฟ้องร้องเกี่ยวกับมาตรฐานการรักษาและกู้ชีพสูงขึ้น แพทย์ผู้ทำการชันสูตรมักถูกร้องขอให้ความเห็นว่าการบาดเจ็บที่พบบนนั้นเกิดจากการทำ CPR หรือจากสาเหตุอื่น และการบาดเจ็บดังกล่าวเป็นสาเหตุโดยตรงที่ทำให้เสียชีวิตหรือไม่

* แพทย์นิติเวช โรงพยาบาลจะเชิงเทรา

** อาจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์การวิจัยนี้ เพื่อศึกษาการบาดเจ็บที่เกิดจากการทำ CPR โดยศึกษาจากการผ่าชันสูตรศพที่ผ่านการรักษาโดยการทำ CPR ในพื้นที่รับผิดชอบของศูนย์อำนวยการชันสูตรพลิกศพ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การบาดเจ็บของผนังทรวงอกและอวัยวะภายในช่องอก

วัสดุและวิธีการ

ศึกษาจากศพที่มีการผ่าชันสูตร routine autopsy ซึ่งปรากฏการบาดเจ็บจากการทำ CPR โดยเริ่มเก็บข้อมูล ตั้งแต่ 1 มิถุนายน 2555 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2556 มีจำนวนศพที่เข้าเกณฑ์การวิจัยทั้งหมด 30 ราย

- Inclusion criteria
 - ศพผ่านการทำ CPR ก่อนเสียชีวิต
 - ศพเสียชีวิตผิดธรรมชาติในเขตพื้นที่รับผิดชอบ และถูกนำส่งเข้ามาผ่าชันสูตร
- Exclusion criteria
 - มีประวัติได้รับบาดเจ็บ เช่น ถูกทำร้ายร่างกาย หรืออุบัติเหตุบริเวณทรวงอก
 - อายุต่ำกว่า 20 ปี หรือมากกว่า 65 ปี
 - ประวัติเคยมีกระดูกซี่โครงหักหรือ
 - มีประวัติได้รับการผ่าตัดบริเวณทรวงอก หรือเคยถูก CPR มาก่อน

โดยแบ่งกลุ่มการศึกษาเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม CPR ณ ที่เกิดเหตุ โดยญาติ มูลนิธิ อาสากู้ภัย หรือบุคคลที่ไม่ใช่ทีมแพทย์หรือพยาบาล EMS และกลุ่มที่สองมีการ CPR ในโรงพยาบาลโดยทีมแพทย์และพยาบาลในโรงพยาบาล โดยที่ไม่มีประวัติการ CPR จากที่เกิดเหตุก่อนมาถึงโรงพยาบาล

ผลการศึกษา

1. ข้อมูลทั่วไป

จำนวนศพที่เข้าเกณฑ์การวิจัยทั้งหมด 30 ราย (n=30) เป็นเพศชาย 25 ราย (83.33%) เพศหญิง 5 ราย (16.67%)

ช่วงอายุ 25-65 ปี (mean = 47.76 +/- 9.93) โดยเพศชายมีช่วงอายุ 28-65 ปี (mean = 47.88 +/- 9.67) และเพศหญิง 25-54 ปี (mean = 47.20 +/- 12.46)

CPR ณ ที่เกิดเหตุ 10 ราย (ชาย:หญิง 9:1) และ CPR ในโรงพยาบาล 20 ราย (ชาย:หญิง 16:4)

ไม่พบการบาดเจ็บใด ๆ จากการทำ CPR จำนวน 9 ราย (30%)

2. การบาดเจ็บของกระดูกซี่โครง

พบกระดูกซี่โครงหัก 16 ราย (53.33%) โดยเป็นเพศชาย 12 ราย (48% ของเพศชาย) เพศหญิง 4 ราย (80% ของเพศหญิง)

กระดูกซี่โครงซ้ายหักข้างเดียวมีจำนวน 3 ราย (18.75%) กระดูกซี่โครงหักทั้งสองข้างจำนวน 13 ราย (82.25%)

ไม่พบกระดูกซี่โครงข้างขวาหักเพียงข้างเดียวเลยจากการศึกษาครั้งนี้ ตำแหน่งที่กระดูกซี่โครงหักที่พบมากที่สุดคือ ข้างซ้ายซี่ที่ 3-5 และข้างขวาซี่ที่ 2-5 โดยไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ CPR ณ ที่เกิดเหตุ และในโรงพยาบาล โดยมีรายละเอียดของจำนวนกระดูกที่หัก ข้างที่หักตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนซี่โครงที่หักและข้างที่หักกับปฏิบัติการกู้ชีพ

	จำนวนซี่โครงซ้ายที่หัก	จำนวนซี่โครงขวาที่หัก
CPR ณ ที่เกิดเหตุ	3-7 ซี่ (5±1.63)	2-7 ซี่ (4.75±2.06)
CPR ในโรงพยาบาล	1-7 ซี่ (3.83±1.9)	1-6 ซี่ (3.89±1.54)

3. การบาดเจ็บของกระดูกอก

พบกระดูกอกหักจำนวน 14 ราย (46.67%) เป็นเพศชาย 10 ราย (40%ของเพศชาย) เพศหญิง 4 ราย (80% ของเพศหญิง) ตำแหน่งที่หักส่วนมากคือท่อนที่ 3 และ 4 (64.29%)

โดยการ CPR ณ ที่เกิดเหตุพบกระดูกอกหัก 6 ราย (60%ของCPR ณ ที่เกิดเหตุ) ขณะที่การ CPR ในโรงพยาบาลพบกระดูกอกหัก 8 ราย (40%ของ CPR ในโรงพยาบาล)

ตารางที่ 2 ช่วงอายุ การหักของกระดูกซี่โครงและกระดูกอก

	อายุ (ปี)	25-34	35-44	45-54	55-65	รวม
	CPR					
Rib fracture	ที่เกิดเหตุ	-	2	1	1	4
	โรงพยาบาล	2	2	6	2	12
Sternal fracture	ที่เกิดเหตุ	-	2	2	2	6
	โรงพยาบาล	-	-	6	2	8

4. บาดแผลลอกฟกช้ำบริเวณหน้าอก

ปรากฏบาดแผลลอกฟกช้ำบริเวณหน้าอกจากการถูกชก 8 ราย(26.67%) โดยพบร่วมกับกระดูกซี่โครงหัก 5 ราย (จากจำนวนศพที่พบกระดูกซี่โครงหักทั้งหมด 16 ราย) พบบาดแผลลอกฟกช้ำร่วมกับกระดูกอก 3 ราย (จากจำนวนศพที่พบกระดูกอกหักทั้งหมด 14 ราย) และพบร่วมกับหัวใจฉีกขาด 1 ราย

พบบาดแผลลอกฟกช้ำบริเวณหน้าอกแต่ไม่พบกระดูกหัก 1 ราย

5. การบาดเจ็บของหัวใจ

5.1 หัวใจฟกช้ำ พบ 4 ราย (13.33%) เป็นเพศชาย 3 ราย เพศหญิง 1 ราย โดยเป็นการ CPR ณ ที่เกิดเหตุ 1 รายและการ CPR ในโรงพยาบาล 3 ราย ตำแหน่งการฟกช้ำพบที่ posterior wall 2 ราย anterior wall 1 ราย และ anterior and posterior wall 1 ราย

หัวใจฟกช้ำพบร่วมกับ bilateral rib fractures 2 ราย, sternal fracture with lung contusion 1 ราย

5.2 หัวใจฉีกขาด พบหัวใจฉีกขาด 2 ราย (6.67%) เป็นผู้หญิงและ CPR ในโรงพยาบาลทั้งสองราย รายที่ 1 ตำแหน่งฉีกขาดคือ anterior left ventricle rupture ร่วมกับ bilateral rib fractures, sternal fracture, hemopericardium และ bilateral hemothorax ส่วนรายที่ 2 ตำแหน่งฉีกขาดคือ right atrium rupture ร่วมกับ sternal fracture, hemopericardium และ bilateral hemothorax

6. การบาดเจ็บของปอด

พบปอดฟกช้ำ 3 ราย (10%) เป็นผู้ชาย 2 ราย และ ผู้หญิง 1 ราย ทั้งหมดมีการ CPR ในโรงพยาบาล พบร่วมกับ left rib fracture 1 ราย และ bilateral rib fractures 2 ราย

7. การบาดเจ็บของตับ

พบตับฉีกขาด 1 ราย (3.33%) เป็นเพศชาย โดยมีการ CPR ณ ที่เกิดเหตุ พบร่วมกับ Sternal fracture

สรุปและวิจารณ์

การบาดเจ็บจากการทำ CPR ที่เคยมีการศึกษาได้แก่ abrasion & bruise, skeletal chest injuries, pulmonary bone marrow embolism (0.4-26.9%), heart contusion & petechiae (0.8-8%), heart laceration & hemopericardium (1.1-8.4%), aortic laceration (0.5-1.6%), hemo & pneumothorax (0.8-8.7%), liver/splenic laceration (0.8-4.3%), (0.3-2.6%)

ปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดการบาดเจ็บจากการทำ CPR ได้แก่ อายุของผู้ป่วยโดยผู้สูงอายุมีความเสี่ยงสูงขึ้น เพศ หญิงเสี่ยงมากกว่าชาย เนื่องจากความซุกของ osteoporosis ระยะเวลาที่ทำ CPR และความเชี่ยวชาญของผู้ทำ CPR ก็อาจจะมีผลต่อภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้น

Oschatz et al. ศึกษาผู้ป่วยซึ่งรอดชีวิตโดย CPR ณ ที่เกิดเหตุ กับ CPR ในโรงพยาบาล ไม่พบความแตกต่างของอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อน Leslie et al. ศึกษาวัดแรงในการทำ CPR เปรียบเทียบระหว่างบุคคลทั่วไปที่ไม่เคยอบรมการกู้ชีพกับแพทย์ พบว่าเพียง 37% ของบุคคลทั่วไปเท่านั้นที่ออกแรงกดมากกว่า 125 ปอนด์ ตามAHA guideline for CPR 2010 ซึ่งระบุให้กดบริเวณกลางอกแนวระดับหัวนม โดยกดให้หน้าอกยุบลึก 2 นิ้ว ซึ่งจะต้องใช้แรงประมาณ 125 ปอนด์ ในอัตรา 100 ครั้ง/นาที

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า บาดแผลตลอดจนฟกช้ำบริเวณหน้าอกจากการกู้ชีพ 8 ราย (26.67%) พบร่วมกับ rib fracture 5 ราย sternal fracture 3 ราย และ heart rupture 1 ราย โดยมีข้อสังเกตคือถึงไม่มีบาดแผลภายนอก แต่ก็พบกระดูกหักหรือการบาดเจ็บของอวัยวะภายในได้

การฉีกขาดของหัวใจนั้น ถ้าพบบริเวณหัวใจห้องล่างซ้ายอาจมีความสัมพันธ์กับโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายซึ่งมีมาก่อน หรือในผู้ป่วยที่ massive blood loss จากการบาดเจ็บอื่น ทำให้ volume ในหัวใจห้องล่างซ้ายลดลงและถูกกดจาก chest wall และ spine แต่การฉีกขาดของหัวใจห้องบนและล่างขวามักเกิดจาก CPR

CPR เป็นวิธีการรักษาผู้ป่วยภาวะวิกฤต จึงต้องให้ความสำคัญกับการรอดชีวิตเป็นอันดับแรก เนื่องจากกระบวนการนี้เป็นการรักษาที่มีความรุนแรง ดังนั้น โอกาสเกิดการบาดเจ็บและภาวะแทรกซ้อนย่อมเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงได้ยาก แต่ผู้ให้การรักษาสามารถลดโอกาสการเกิดการบาดเจ็บได้ หากปฏิบัติตาม guideline และตระหนักถึงปัจจัยที่เพิ่มโอกาสการเกิดภาวะแทรกซ้อน หากหลีกเลี่ยงภาวะแทรกซ้อนเหล่านี้ได้ อัตราการรอดชีวิต และ outcome หลังรอดชีวิตย่อมดีขึ้น

References

การระบุแหล่งที่มาของดีเอ็นเอจากอสุจิหรือเลือดโดยการตรวจดีเอ็นเอ เมทิลเลชัน

Identification of DNA origin from spermatozoa or blood cell by analysis of DNA methylation

รัตนธิดา จำปาทอง *

นพ.ชานินทร์ ภูพัฒน์ **

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อระบุชนิดและแหล่งที่มาของสารพันธุกรรมของอสุจิหรือเลือดโดยตรวจสอบความแตกต่างของ เมทิลเลชันในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครเพศชาย จำนวน 20 คน และเก็บตัวอย่างอสุจิจากผู้บริจาคอีก 20 คน นำตัวอย่างเลือดและอสุจิมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Chelex® แบ่งน้ำสกัดดีเอ็นเอที่ได้จากแต่ละตัวอย่างออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI แล้วทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR ที่ตำแหน่ง L16264 และ L68346 ส่วนที่เหลือนำมาทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยไม่ผ่านการย่อย จากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ทั้งหมดมาตรวจสอบผลโดย 2.5% agarose gel electrophoresis วิเคราะห์ผลเปรียบเทียบกับระหว่างผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างที่ผ่านการย่อยและไม่ผ่านการย่อย พบว่า 19 ใน 20 ตัวอย่าง (95%) ของดีเอ็นเอจากเลือดแสดงเมทิลเลชันสูงที่ตำแหน่ง L16264 แต่ที่ตำแหน่ง L68346 แสดงเมทิลเลชันต่ำในทุกตัวอย่าง (100%) สำหรับอสุจิพบว่า 18 ใน 20 ตัวอย่าง (90%) แสดงเมทิลเลชันสูงที่ตำแหน่ง L68346 ในขณะที่ตำแหน่ง L16264 แสดงเมทิลเลชันต่ำในทุกตัวอย่าง (100%) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การประเมินระดับเมทิลเลชันในโมเลกุลของดีเอ็นเอ สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการบอกแหล่งที่มาของดีเอ็นเอจากเลือดหรืออสุจิได้

* นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ศาสตราจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract

The study was aimed to identify DNA origin of spermatozoa or blood cell by examining the difference in DNA methylation. Blood samples were collected from 20 male volunteers while semen samples were donated by other 20 males. DNA samples were extracted using Chelex[®] method. All DNA extracts were divided into two parts. The first portion was digested by HhaI prior to amplification at loci 16264 and 68346 by PCR technique while another was subjected to direct amplification. All amplicons were analyzed by 2.5% agarose gel electrophoresis. The PCR products from digested and undigested samples were compared. It was found that 19 out of 20 (95%) DNA samples from blood showed high methylation on locus L16264 but low methylation was found at locus L68346 in all samples (100%). In case of semen, 18 out of 20 (90%) DNA samples revealed high methylation on locus L68346 while low methylation was detected at locus L16264 in all samples (100%). Thus, we concluded that the evaluation of methylation level on DNA molecules can be used as a tool to identify origin of DNA from blood or semen.

บทนำ

การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลด้วยดีเอ็นเอได้เข้ามามีบทบาท และได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เพราะธรรมชาติของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล จึงทำให้สามารถใช้ดีเอ็นเอในการระบุตัวบุคคล ตรวจสอบผู้กระทำผิด ผู้ต้องสงสัยได้ โดยนำเซลล์ส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกายมาพิสูจน์ก็ได้ เพราะในแต่ละบุคคลจะมีดีเอ็นเอรูปแบบเดียวกันทั้งร่างกาย โครงสร้างพื้นฐานของโครโมโซม ประกอบด้วยสายดีเอ็นเอ และฮิสโตนโปรตีน นอกจากดีเอ็นเอและฮิสโตนโปรตีนแล้ว โครโมโซมยังประกอบด้วยโปรตีนอื่น ๆ อีกหลายชนิดที่เข้าไปมีส่วนในกระบวนการต่าง ๆ ของโครโมโซม เช่น การจำลองดีเอ็นเอ การแปลรหัส การถอดรหัส การซ่อมแซมดีเอ็นเอ การตัดต่อดีเอ็นเอ หากกล่าวถึงความเหมือนหรือความต่างกันของเอ็มบริโอนิกเซลล์กับนิวเคลียสของโซมาติกเซลล์ นิวเคลียสของเอ็มบริโอนิกเซลล์และโซมาติกเซลล์มีโครงสร้างพื้นฐานของโครโมโซมเหมือนกันแต่ต่างกันในส่วนของการเกิดการดัดแปลงซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในพันธะโควาเลนต์ของดีเอ็นเอ และฮิสโตนโปรตีน ซึ่งเรียกว่าเกิดภาวะเอพิเจเนติก^[2]

เอพิเจเนติก (Epigenetic) คือการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปโดยที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปนี้สามารถผันกลับได้ และสามารถถ่ายทอดสู่ลูกหลานได้ กระบวนการเอพิเจเนติก มีหลายประการ โดยมีกระบวนการควบคุมหลักคือ ดีเอ็นเอ เมทิลชัน การดัดแปรฮิสโตน เช่น histone methylation, histone acetylation รวมทั้งการปรับเปลี่ยนโครงสร้างโครมาติน^[6]

ดีเอ็นเอ เมทิลชัน (DNA methylation) ถือว่าเป็นกระบวนการควบคุมเหนือพันธุกรรม ที่มีการศึกษากันมากที่สุดในปัจจุบัน โดยดีเอ็นเอ เมทิลชัน เป็นการเติมหมู่เมทิล (CH_3) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ของเบสไซโตซีน (Cytosine, C) โดยอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์ดีเอ็นเอเมทิลทรานสเฟอเรส^[1] ในจีโนมของมนุษย์ พบว่ามีจำนวนของ CpG dinucleotides ค่อนข้างน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ไซโทซีน ที่ถูกเติมหมู่เมทิล ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 มักถูกกำจัดหมู่เอมีน (deamination) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ทำให้ได้เบสไทมีนแทน แต่มักพบ CpG dinucleotide ค่อนข้างหนาแน่นในบริเวณที่เรียกว่า CpG -island ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับโปรโมเตอร์ของยีน ในมนุษย์พบว่ามี CpG-island ประมาณร้อยละ 60 ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีนทั้งหมด ในเซลล์ปกติ CpG-island ของยีนไม่เกิดเมทิลชัน

การระบุสารคัดหลั่งหรือสารของเหลวในร่างกาย ที่พบในสถานที่เกิดเหตุ โดยการใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมมาเป็นตัวกำหนด เป็นสิ่งที่น่าสนใจในงานทางด้านนิติพันธุศาสตร์ โดยมีการศึกษาในต่างประเทศหลายงานวิจัย ที่มีการศึกษาเกี่ยวกับดีเอ็นเอ เมทิลชัน ซึ่งกล่าวว่าสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการระบุสารของเหลวในร่างกายได้ โดยอาศัยการประเมินลักษณะรูปแบบเมทิลชันที่ต่างกัน

ดีเอ็นเอ เมทิลชันเป็นเทคนิคที่มีความเสถียร มีความไวและความจำเพาะค่อนข้างสูง และมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาวิเคราะห์ตัวอย่างทางชีวภาพในการระบุถึงแหล่งที่มาของเนื้อเยื่อหรือเซลล์ ซึ่งจะมีประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ ดังนั้นจึงนำมาซึ่งวัตถุประสงค์ของการศึกษา คือเพื่อระบุชนิดและแหล่งที่มาของดีเอ็นเอจากอสุจิหรือเลือด โดยตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอเมทิลชันในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

วิธีการทดลอง

เก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครเพศชาย 20 คน และอสุจิจากผู้บริจาคอีก 20 คน นำตัวอย่างมาสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี Chelex^[3] แบ่งน้ำสกัดดีเอ็นเอที่ได้จากแต่ละตัวอย่างออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ซึ่งในปฏิกิริยาการย่อยประกอบไปด้วย น้ำสกัดดีเอ็นเอ (50 ng/ μl) 1 μl , 10X reaction buffer 2 μl , BSA (10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) 0.2 μl , HhaI restriction enzyme 0.5 μl และน้ำกลั่น 16.3 μl ปริมาตร

รวม 20 μ l บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ส่วนที่เหลือไม่มีการย่อย จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดมาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยเทคนิค PCR ที่ตำแหน่ง L68346 และตำแหน่ง L16264 ในกรณีของตัวอย่างดีเอ็นเอที่ไม่ผ่านการย่อย PCR mixture ประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบ 1 μ l, Primer mix (2 μ M) 1 μ l, Jump start 5 μ l, น้ำกลั่น 3 μ l ปริมาตรรวม 10 μ l ส่วนตัวอย่างดีเอ็นเอที่ผ่านการย่อยแล้ว ประกอบด้วย สารละลายดีเอ็นเอที่ถูกย่อย 9 μ l, Primer mix (2 μ M) 1 μ l, Jump start 10 μ l ปริมาตรรวม 20 μ l จากนั้นนำเข้าเครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งอุณหภูมิที่ 95 °C 5 นาที และในแต่ละรอบของ 94 °C 1 นาที 59 °C 1 นาที 72 °C 1 นาที จำนวน 40 รอบ อุณหภูมิสุดท้าย 60°C 30นาที

ใช้ไพรเมอร์ 2 คู่ คือ L68346 และ L16264 ลำดับเบสของไพรเมอร์ เป็นดังนี้^[7]

L68346 Forward primer CAGCAACAGCACCCAGCTTG,

Reverse primer CACAGGCTCAGTCGCGGATC

L16264 Forward primer GGACGAGTTAACTTCCTTAATTTC,

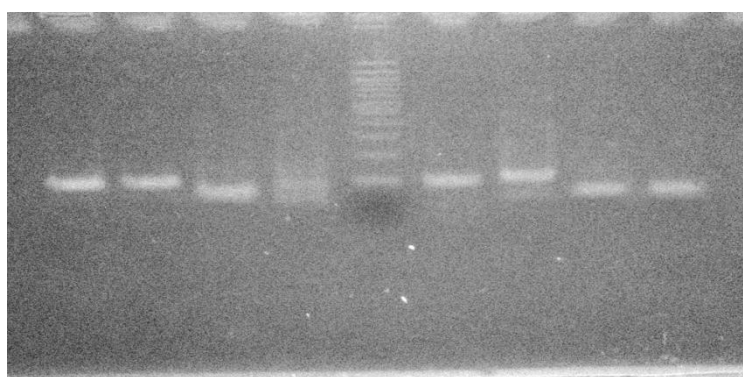
Reverse primer GTTTCTTCGCGGAACCTGGTTTAACTTC

เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาแล้ว นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาตรวจสอบผล โดย 2.5% agarose gel electrophoresis

ผลการวิจัย

นำผลผลิตพีซีอาร์ ที่ได้มาตรวจสอบผล โดยการทำ 2.5% agarose gel electrophoresis แสดงผลดังภาพต่อไปนี้

1 2 3 4 M 6 7 8 9



ภาพที่ 1 แสดงผลการประเมินปริมาณเมทิลเลชันของดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดเทียบกับตัวอย่างสุจิ

หมายเหตุ:

ช่อง 1 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 2 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 3 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 4 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง M คือ 100 bp ladder

ช่อง 6 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

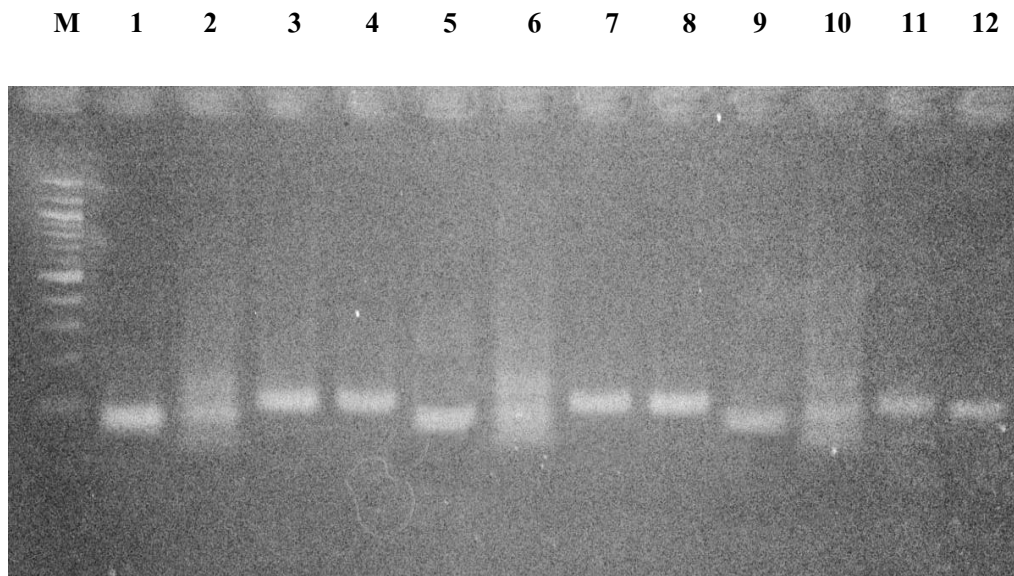
ช่อง 7 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 8 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 9 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

จากการศึกษาลักษณะเมทิลชันของดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง L68346 และ L16264 จากตัวอย่างเลือดและอสุจิ (ภาพ 1) ผลปรากฏว่าในตัวอย่างเลือดที่ตำแหน่ง L16264 ไม่ว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI หรือไม่ เมื่อนำไปทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบผลผลิตที่ได้ด้วย 2.5% agarose gel electrophoresis ปรากฏว่าผลที่ได้ไม่พบลักษณะที่แตกต่างกัน 19 ตัวอย่าง และอีก 1 ตัวอย่าง แสดงลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ถูกย่อย และไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI (ภาพ 2) ในขณะที่ตัวอย่างเลือดที่ตำแหน่ง L68346 ผลปรากฏว่า ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ HhaI ให้ผลผลิต PCR ที่แตกต่างจากตัวอย่างดีเอ็นเอที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ทั้ง 20 ตัวอย่าง

สำหรับตัวอย่างดีเอ็นเอจากอสุจิ ที่ตำแหน่ง L16264 ปรากฏว่าเมื่อมีการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI (ภาพ 3) ผลที่ได้จะแสดงลักษณะที่แตกต่างจากที่ไม่มีการย่อย ทั้ง 20 ตัวอย่าง ในขณะที่ตำแหน่ง L68346 ปรากฏว่าให้ผลในลักษณะไม่แตกต่างกัน 18 ตัวอย่าง และอีก 2 ตัวอย่าง ให้ผลที่แตกต่าง



ภาพที่ 2 แสดงผลลักษณะเมทิลเลชันของดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างเลือดที่ตำแหน่ง L68346 และ L16264

หมายเหตุ:

ช่อง M คือ 100 bp ladder

ช่อง 1 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 2 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 3 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 4 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 5 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 6 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 7 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

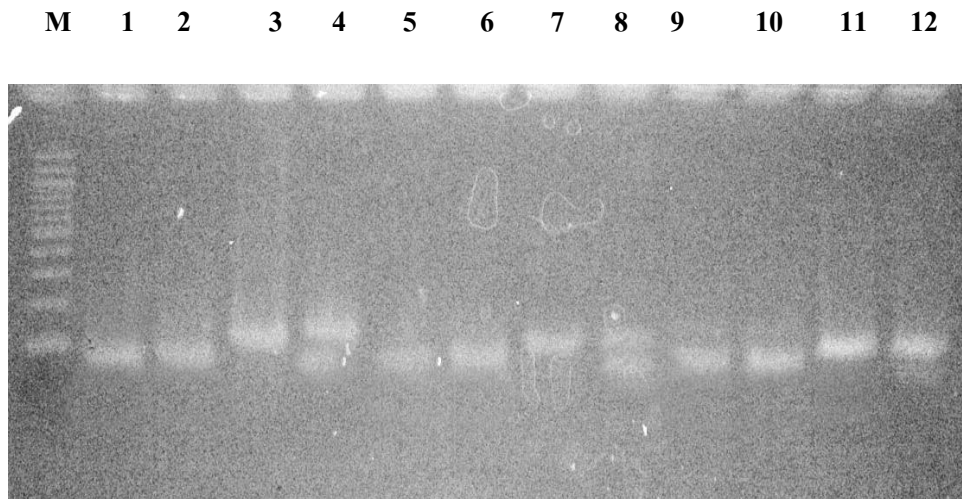
ช่อง 8 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 9 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 10 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 11 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 12 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264



ภาพที่ 3 แสดงผลลักษณะเมทิลเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างอสุจิที่ตำแหน่ง L68346 และ L16264

หมายเหตุ:

ช่อง M คือ 100 bp ladder

ช่อง 1 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 2 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 3 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 4 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 5 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346 โดยไม่ผ่านการย่อย

ช่อง 6 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 7 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 8 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 9 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 10 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 11 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 12 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่ตำแหน่ง L16264

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อระบุชนิดและแหล่งที่มาของดีเอ็นเอจากอสุจิหรือเลือด โดยตรวจสอบความแตกต่างของเมทิลเลชันในโมเลกุลของดีเอ็นเอ 2 ตำแหน่ง คือ L68346 และ L16264 โดยอาศัยหลักการที่ว่า ตำแหน่งที่มีเมทิลเลชันสูงจะทนทานต่อการย่อยของเอนไซม์ HhaI แต่ถ้าตำแหน่งนั้นมีเมทิลเลชันต่ำ ก็จะถูกย่อยได้ง่าย จากการตรวจสอบพบว่า ในตัวอย่างเลือดส่วนใหญ่มีเมทิลเลชันสูงที่ตำแหน่ง L16264 ซึ่งตรวจสอบพบ 19 ตัวอย่าง จาก 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 95% และมีเมทิลเลชันต่ำที่ตำแหน่ง L68346 ทั้ง 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 100% ในตัวอย่างอสุจิส่วนใหญ่มีเมทิลเลชันสูงที่ตำแหน่ง L68346 จาก 20 ตัวอย่าง ตรวจสอบ 18 ตัวอย่าง คิดเป็น 90% และมีเมทิลเลชันต่ำที่ตำแหน่ง L16264 ทั้ง 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 100% และเมื่อใช้สองตำแหน่งร่วมกันสามารถแยกความแตกต่างได้ทั้ง 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 100% อย่างไรก็ตามพบว่าในบางตัวอย่างให้ผลไม่เป็นไปตามที่คาดหวังนั้น อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น อาจมีการปนเปื้อนของดีเอ็นเอตัวอย่าง เนื่องจากในการเก็บตัวอย่างอสุจินั้น อาสาสมัครเป็นผู้เก็บตัวอย่างเอง ซึ่งอาจปนเปื้อนเซลล์อื่นได้ระหว่างเก็บ หรือเนื่องด้วยข้อจำกัดของเทคนิคที่ใช้บางอย่าง เช่น ขั้นตอนการสกัดที่ใช้ chelex extraction method อาจได้ดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์ไม่เพียงพอ และการทดสอบนี้อาศัยการย่อยที่มีประสิทธิภาพของเอนไซม์ HhaI เพราะฉะนั้นการย่อยที่ไม่สมบูรณ์ก็อาจนำไปสู่ผลที่ผิดพลาดได้เช่นเดียวกันหรือในบางกรณี อาจเกิดการจดจำตำแหน่งที่ผิดพลาดของ restriction site จึงทำให้เอนไซม์สามารถย่อยได้

ผู้ศึกษาได้ทำการศึกษาโดยประยุกต์จากวิธีของ Frumkin และคณะ ซึ่งทำการตรวจสอบรูปแบบเมทิลเลชันที่แตกต่างกันในการแยกชนิดของเนื้อเยื่อ โดยวิธี Methylation –sensitive restriction endonuclease polymerase chain reaction (MSRE-PCR) โดยใช้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 50 ตัวอย่างจากจำนวนเนื้อเยื่อ 11 ชนิด ใช้ตำแหน่งวิเคราะห์ทั้งสิ้น 15 ตำแหน่ง ซึ่งการทดลองของ Frumkin และคณะ สามารถให้ผลที่ถูกต้องแม่นยำในทุกตัวอย่าง นอกจากนี้ในงานวิจัย ของ Gomes และคณะ ได้นำวิธีของ frumkin และคณะ ไปประยุกต์ใช้เพื่อทำการทดสอบแยกชนิดของเนื้อเยื่อ โดยใช้วิธีดีเอ็นเอ เมทิลเลชัน เปรียบเทียบกับวิธี mRNA

วิเคราะห์เนื้อเยื่อสองชนิด คือ ผิวหนังฝ่ามือ และน้ำลาย โดยเลือกใช้ตำแหน่งเมทิลเลชัน 4 ตำแหน่ง ใช้เทคนิควิเคราะห์เดียวกันกับวิธีของ Frumkin ผลการทดลองที่ได้มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ แต่ก็ยังคงมีบางตัวอย่างที่ให้ผลไม่เป็นไปตามคาดหวัง สำหรับเทคนิคที่ผู้ศึกษาเลือกใช้เป็นเทคนิคที่ง่ายและสะดวก เนื่องจากมีการใช้งานในห้องปฏิบัติการนิติพันธุศาสตร์อยู่แล้ว คือใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม และตรวจสอบผลโดยวิธี gel electrophoresis จำนวนตัวอย่างที่ใช้คือ 20 ตัวอย่าง เนื่องจากใช้ค่าสถิติในการคำนวณตัวอย่างแล้วได้ผลว่า จำนวนที่น้อยที่สุดที่ควรใช้ในการทดลองคือ จำนวน 10 ตัวอย่าง ผู้ศึกษาจึงเลือกใช้เป็น 20 ตัวอย่าง เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือ และเพิ่มโอกาสในการแยกแยะให้มากขึ้น และเลือกใช้ตำแหน่งตรวจสอบ 2 ตำแหน่ง เพื่อตรวจสอบความแตกต่างของตัวอย่างเลือดและตัวอย่างอสุจิ ผลการทดลองที่ได้คือถ้าใช้สองตำแหน่งร่วมกัน สามารถแยกชนิดของเนื้อเยื่อได้ทั้งหมดทุกตัวอย่าง คิดเป็น 100% แต่ถ้าใช้ตำแหน่งเดียวอาจยังไม่สามารถบอกได้ชัดเจน อาจด้วยข้อจำกัดบางประการของเทคนิควิธีนี้ และถึงแม้ว่าวิธีนี้จะเป็นวิธีประยุกต์ที่ไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน และมีข้อจำกัดบ้าง แต่การทดสอบด้วยวิธีนี้ ก็ยังสามารถใช้แยกความแตกต่างของเมทิลเลชันในโมเลกุลดีเอ็นเอได้ เพราะเมทิลเลชันในโมเลกุลที่มีไม่เท่ากันในแต่ละเนื้อเยื่อ จึงทำให้มองเห็นความแตกต่างของแถบที่ปรากฏได้ โดยแถบที่ไม่มีการย่อยด้วยเอนไซม์จะให้แถบที่ชัดเจนเพียงแถบเดียว และแถบที่มีการย่อยจะไม่ปรากฏแถบตรงตำแหน่งเดียวกันกับตำแหน่งที่ไม่มีการย่อย แต่ก็ยังปรากฏแถบอื่นๆให้เห็น หรืออาจแสดงให้เห็นในลักษณะสเมียร์ ทำให้สามารถแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อได้ โดยดูลักษณะเมทิลเลชันที่แตกต่างกัน หากมีการปรับใช้เครื่องมือที่ทันสมัยมากขึ้น อาจประเมินเมทิลเลชันในเชิงปริมาณได้ชัดเจนขึ้น การประยุกต์ใช้อาจทำได้กว้างขวางขึ้นทั้งในแง่ของการระบุแหล่งที่มา, การปนเปื้อนของดีเอ็นเอที่มาจากเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ และอาจสามารถบอกได้ถึงสัดส่วนปริมาณของเนื้อเยื่อนั้นๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบความแตกต่างของเมทิลเลชันในโมเลกุลของดีเอ็นเอ จากการเก็บตัวอย่างเลือดของคนเพศชาย และตัวอย่างอสุจิกลุ่มละ 20 ตัวอย่าง ตัวอย่างทั้งหมดถูกมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี chelex® แล้วแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนแรกจะนำมาย่อยด้วย เอนไซม์ HhaI อีกส่วนที่เหลือจะไม่ผ่านการย่อย นำตัวอย่างทั้งหมด มาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) จากนั้นตรวจสอบผลโดย 2.5% agarose gel electrophoresis

พบว่าตัวอย่างเลือดให้ผลบวก (เมทิลเลชันต่ำ) ที่ตำแหน่ง L68346 ทั้ง 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลลบ (เมทิลเลชันสูง) ที่ตำแหน่ง L16264 จำนวน 19 ตัวอย่าง คิดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์

ส่วนตัวอย่างอสุจิให้ผลบวก ที่ตำแหน่ง L16264 ทั้ง 20 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์และให้ผลลบที่ตำแหน่ง L68346 จำนวน 18 ตัวอย่าง คิดเป็น 90 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นการตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอเมทิลเลชันสามารถใช้ระบุแหล่งที่มาของดีเอ็นเอจากอสุจิหรือเลือดได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบุคลากรภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้เอื้อเฟื้อสถานที่ ในการทำวิจัย

References

- [1] กาญจนา มะลิกรรม. โครงสร้าง DNA และคุณสมบัติ DNA. [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2556] เข้าถึงได้จาก <http://malikangenetic.blogspot.com>
- [2] โชติกา หยกทองวัฒนา.เอพิเจเนติก-การควบคุมเหนือลำดับดีเอ็นเอ. Thai J. 2011, 4(2):71-84
- [3] พันธุศาสตร์...ศาสตร์แห่งชีวิต. [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2556] เข้าถึงได้จาก: <http://www.thaigoodview.com/library/contest2552/type2/science04/27/contents/genetics-8e01.html>
- [4] วิฑูรย์ ทะสุยะ และชานินทร์ ภูพัฒน์. SOP DNA Analysis for Forensic Medicine. เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2005
- [5] Baron u, Turbachova I, Hellweg A, Eckhardt f, Burlin K, Hoffmuller U, et al. DNA Methylation Analysis as a Tool for Cell Typing. Epigenetics 2006; 1: 55-60
- [6] Bird, A. Perception of epigenetics. Nature 2007; 447: 396–398
- [7] Byun HM, Siemund KD, Pan F, Weisenberger DJ, Kanel G, Laird PW and Yang AS. epigenetic profiling of somatic from human autopsy specimens identifies tissue and individual specific DNA methylation patterns. Hum. Mol. Gen 2009; 18:4808-17
- [8] DNA amplification & PCR. [Internet]. [Cited 15 July 2013]. Available from: <https://www.neb.com/applications/dna-amplification-and-pcr>
- [9] Frumkin D, Wasserstrom A, Budowle B, Davidson A. DNA methylation-based forensic tissue identification. Forensic sci int 2011; 5:517-24

- [10] Gel electrophoresis and analysis.[Internet].[cited 15 July 2013].available from:
http://biology.arizona.edu/sciconn/lessons2/alongi/Lesson5_3.htm
- [11] Grewal, S.I. and Jia, S. Heterochromatin revisited. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 35–46.
- [12] Gomes I, Kohlmeire F, Schneider PM. Genetic markers for body fluid and tissue identification in forensics. *Forensic sci int* 2011; 3: 469-70
- [13] Hyun J, choi A, Shin KJ, Yang WI, Lee HY. DNA Methylation- specific multiplex assays for body fluid identification. *Int J Legal med* 2013; 127: 35-43
- [14] Lee HY, Park MJ, Choi A, Ann JH, Yang WI, Shin KJ. Potential forensic application of DNA methylation profiling to body fluid identification. *Int J Legal med* 2012; 126: 55-62
- [15] Vanyushin, B.F. and Ashapkin, VV. 2011. DNA methylation in higher plants: past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 1809: 360–368.
- [16] Wadding C. The epigenotype. *Endeavour* 1942; 18-20
- [17] Yang, P.K. and Kuroda, M.I. Noncoding RNAs and intranuclear positioning in monoallelic gene expression. *Cell* 2007; 128: 777–786.
- [18] Zhang, M., Kimatu, J.N., Xu, K. and Lui, B. 2010. DNA cytosine methylation in plant development. *J. Genet. Genomics* 37: 1–12.

การระบุเพศโดยวิธีการวัดกระดูกสะบักในประชากรไทย

Gender determination by using scapular measurement in Thai population

กุสุมา สุภาคง, ชนาธิป โภทัย, ธนพร เพิ่มพูน

, ปัทมา เป้นแก้ว, ปิยภัทร เปลียนสาย, วันเพ็ญ ชันติวงศ์,

รัชนี ชนะสงค์, พงษ์พิทักษ์ ภูติวัตร, ธรรมศ พิศลย์กุลเกษม, สุทัศน์ ดวงจิตร*

บทคัดย่อ

กระดูกจัดเป็นวัตถุพยานที่มีความสำคัญต่อการระบุเพศในการพิสูจน์บุคคลของคดีอาชญากรรม อย่างไรก็ตาม กระดูกแต่ละชิ้นมีลักษณะที่เฉพาะตัว แตกต่างกันไปในแต่ละเชื้อชาติ จึงทำให้ความแม่นยำของการวิเคราะห์กระดูกเพื่อการระบุเพศของคนในเชื้อชาตินั้นๆ มีความแตกต่างกัน การศึกษาครั้งนี้ต้องการประเมินหาความน่าเชื่อถือจากการวัดกระดูกสะบักของประชากรไทย ซึ่งศึกษากระดูกจากห้องปฏิบัติการมหากายวิภาคศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 94 ชิ้น (ชาย 64 ชิ้น และหญิง 30 ชิ้น) ทำการวัดกระดูกสะบัก 3 ตำแหน่ง ได้แก่ ความกว้างจาก glenoid cavity ถึงปลายสุดของ spine of scapula (BS) ความสูงจากมุมบนสุดถึงมุมล่างสุดของกระดูกสะบัก (HS) และความยาวจาก จุดปลายสุดของ acromion process ถึงปลายสุดของ spine of scapula (LAS) นำผลมาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย และทำการจำแนกเพศด้วย discriminant function analysis ด้วยโปรแกรม SPSS V.17.0 พบว่าค่าเฉลี่ยของทุกตำแหน่งในเพศชาย มีค่ามากกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้ตำแหน่งที่มีความแม่นยำในการจำแนกเพศมากที่สุดคือ LAS โดยมีค่าความแม่นยำของสมการการจำแนกกลุ่มสูงถึง 97.37 เปอร์เซนต์ นอกจากนี้พบค่าเฉลี่ยทั้งสามตำแหน่งในเพศชาย ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเพศหญิงสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา ดังนั้นการวิเคราะห์ทางสถิติจากการวัดกระดูกสะบักในประชากรไทยครั้งนี้ น่าจะเป็นดัชนีที่มีความน่าเชื่อถือสำหรับนำมาใช้ในการจำแนกเพศ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพิสูจน์บุคคลที่เป็นประชากรไทยต่อไป

คำสำคัญ: การพิสูจน์บุคคล การระบุเพศ กระดูกสะบัก นิติมานุษยวิทยา ประชากรไทย

* คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

Corresponding author : E-mail: suthatd@gmail.com

Abstract

Bones are the important evidences for gender determination, which is the important information for individual identification. However, the accuracy of this technique is questionable because of the variety among races and individuals. This study aims to evaluate the reliability of gender determination from scapula measurement in Thai population. The bones were obtained from the human Gross Anatomy Laboratory, Department of Anatomy, Faculty of Medical Science, Naresuan University comprising 94 scapulae (64 males and 30 females). The measurements were done on 3 parameters: the breadth from glenoid cavity to root of spine (BS), the height between superior angle to inferior angle (HS), and the maximum length of acromion process to root of spine (LAS). Measurements of both genders were analyzed by discriminant function analysis by SPSS V.17.0. The results showed that the averages of all the three parameters in males were significantly higher than in the females ($P < 0.05$). The parameter that offered the most accuracy was LAS with the accuracy of 97.37 %. Moreover, the averages of all parameters in male were significantly greater than in female and were consistent with the findings by previous studies. Thus, this study indicated that scapula parameters could be reliable indices which could be suitable for gender determination in Thai population.

Keywords: Human identification, Gender determination, Scapula, Forensic anthropology, Thai population

บทนำ

การแยกเพศโดยใช้กระดูกของมนุษย์นั้นจัดว่ามีความสำคัญอย่างมากในการตรวจพิสูจน์บุคคลทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในกรณีที่พบโครงกระดูกหรือบางส่วนของกระดูกในที่เกิดเหตุจากคดีฆาตกรรมหรือภัยพิบัติทางธรรมชาติต่างๆ และหากทำตามขั้นตอนอย่างถูกต้องครบถ้วนแล้วอาจทำให้สามารถทราบรายละเอียดต่าง ๆ จนกระทั่งสามารถบอกได้ว่าผู้ตายเป็นเพศใด ส่วนสูงเท่าไร เชื้อชาติอะไร อายุเท่าไร และอาจบอกสาเหตุการตายได้ ซึ่งอาจนำไปสู่การระบุตัวตนของผู้ตายได้ในที่สุด ถ้าหากเปรียบเทียบกับการตรวจพิสูจน์ด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การตรวจดีเอ็นเอหรือโครโมโซมนั้นการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลจากกระดูกนั้น มีค่าใช้จ่ายน้อย และประหยัดเวลาในการพิสูจน์มากกว่าการพิสูจน์ดังกล่าว

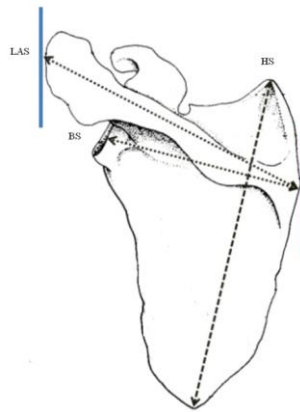
อีกด้วย เนื่องจากกระดูกสามารถบอกคุณลักษณะทางเพศได้ค่อนข้างแน่ชัด ซึ่งสามารถพบได้ว่า การระบุเพศจากโครงกระดูกนั้นสามารถทำได้จากหลายชิ้นส่วน เช่น กระดูกกะโหลกศีรษะ(1) กระดูกเชิงกราน (2), (3) และจากข้อมูลของผลงานวิจัยดังกล่าวพบว่าการแยกเพศโดยใช้กระดูกสองชิ้นข้างต้นมีความแม่นยำสูง แต่ในบางกรณีการพบชิ้นส่วนของโครงกระดูกในสถานที่ที่ต่างกัน และกระจัดกระจาย การที่จะพบ กระดูกเชิงกรานและ กะโหลกศีรษะนั้น ก็ไม่เป็นที่แน่นอน ฉะนั้น จึงมีการพยายามที่จะนำกระดูกอื่น ๆ มาเพื่อทำการวิเคราะห์ คุณลักษณะทางเพศด้วย เช่น กระดูก ulna (4) กระดูก radius (5) กระดูก humerus (6) กระดูก femur (7) กระดูก tibia (8) กระดูก clavicle (9), (10) เป็นต้น ดังนั้นการทำวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อระบุเพศโดยใช้กระดูกสะบัก (scapula) ในการประเมินคุณลักษณะทางเพศ เพื่อหาช่วงความยาวของ scapula ของคนไทย เพื่อนำมาประยุกต์ใช้และเกิดประโยชน์ต่อการระบุเพศของคนไทยให้มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น เพราะปัจจุบันเรามักจะอ้างอิงข้อมูลต่าง ๆ จากกระดูกของต่างชาติ

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

ทำการวัดกระดูกสะบักทั้งหมด 3 ตำแหน่ง ซึ่งดัดแปลงมาจาก Moore-Jansen และคณะ(11) ได้แก่

1. ความกว้างของกระดูกสะบักโดยวัดระยะจากปลายสุดของ glenoid cavity ถึงปลายสุดของ spine of scapula (BS)
2. ความสูงของกระดูกสะบักโดยวัดระยะจากมุมบนสุด (superior angle) ถึงมุมล่างสุด (inferior angle) ของกระดูกสะบัก (HS) และ
3. ความยาวมากที่สุดของ spine of scapula โดยวัดระยะจากจุดปลายที่ไกลที่สุดของ acromion process ถึงปลายสุดของ spine of scapula (LAS)

จากกลุ่มทดลองที่เป็นกระดูกสะบักจากห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 94 ชิ้น เพศชาย 64 ชิ้น เพศหญิง 30 ชิ้น กระดูกที่นำมาวัดนั้นต้องเป็นผู้มีอายุตั้งแต่ 20 ปีขึ้นไปและมีสภาพสมบูรณ์ สามารถระบุเพศได้อย่างชัดเจน ทำการวัดสามครั้ง ด้วยเวอร์เนียร์ คาร์ลิปเปอร์ดิจิตอล (Digital Caliper) โดยการบันทึกค่าข้อมูล วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรมสถิติ SPSS V.17.0 เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลสถิติเชิงพรรณนาได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และข้อมูลทางสถิติเชิงวิเคราะห์โดย แยกกลุ่มด้วยวิธีการ Discriminant function analysis พร้อมสร้างสมการการแยกเพศจากข้อมูลทางสถิติ



รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งการวัดจากภาพด้านหลังของกระดูกสะบักทั้งสามตำแหน่งได้แก่ ความกว้างของกระดูกสะบัก (BS) ความยาวของกระดูกสะบัก (HS) และความยาวมากที่สุดของ Spine กระดูกสะบัก (LAS)

ผลการวิจัย

จากผลการทดลอง พบว่ากลุ่มประชากรตัวอย่างที่ใช้การวิเคราะห์สำหรับการแยกเพศ โดยใช้กระดูกสะบักในเพศชาย จำนวน 64 ชิ้น ซึ่งจากข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ โปรแกรมทางสถิติ SPSS V.17.0 พบว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละตำแหน่งของการวัดกระดูกสะบักระหว่างเพศชายและเพศหญิง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่เพศชายจะมีความกว้าง ความสูง และความยาวของ spine of scapula มากกว่าเพศหญิง (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ข้อมูลพารามิเตอร์ของกลุ่มประชากรตัวอย่างในลักษณะต่าง ๆ

ตำแหน่งการวัด	เพศ	ค่าเฉลี่ย (มม.)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)	ค่า Sig. (2-tailed)
ความกว้าง (BS)	ชาย	102.55	5.96	0
	หญิง	93.63	7.4	
ความสูง (HS)	ชาย	150.28	5.85	0
	หญิง	123.2	6.32	
ความยาวของ Spine (LAS)	ชาย	134.84	6.27	0
	หญิง	117.59	9.42	

จากการใช้ข้อมูลมาวิเคราะห์โปรแกรมทางสถิติ SPSS V.17.0 โดยวิธี Discriminant function analysis ทำให้สามารถนำมาสร้างสมการในการจำแนกเพศของกระดูกสะบักได้ และพบว่าในแต่ละตำแหน่งมี เปอร์เซ็นต์ความแม่นยำอยู่ในระดับสูงและตำแหน่งที่สูงสุดคือ ความยาวของ Spine ของกระดูกสะบัก (LAS) (ดังตารางที่ 2) วิธีการใช้สมการคือ นำค่าที่วัดได้ในแต่ละตำแหน่งไปแทนค่าในสมการทั้งสองเพศ เมื่อแทนค่าแล้วผลลัพธ์ที่ได้ของสมการใดมีค่ามากกว่าแสดงว่ากระดูกที่วัดค่านั้นเป็นกระดูกของเพศ ตามผลลัพธ์ของสมการที่มีค่ามากกว่านั้น ๆ

ตารางที่ 2 แสดงสมการที่ได้จากการคำนวณ Discriminant function analysis ในแต่ละพารามิเตอร์ของกลุ่มประชากร

ตำแหน่งการวัด	เพศ	สมการของการระบุเพศ	Cut point	ความแม่นยำ
ความกว้าง (BS)	ชาย	$BS_M = 2.419(BS) - 124.726$	98.27	87.50%
	หญิง	$BS_F = 2.209(BS) - 104.091$		
ความยาว (HS)	ชาย	$HS_M = 4.211(HS) - 317.124$	136.73	87.93%
	หญิง	$HS_F = 3.452(HS) - 213.350$		
ความยาวของ Spine (LAS)	ชาย	$LAS_M = 2.332(LAS) - 157.905$	125.92	97.37%
	หญิง	$LAS_F = 2.033(LAS) - 120.255$		

BS_M คือ สมการการความกว้างของสะบักในเพศชาย BS_F คือ สมการการความกว้างของสะบักในเพศหญิง

HS_M คือ สมการการความยาวของสะบัก ในเพศชาย HS_F คือ สมการการความยาวของสะบัก ในเพศหญิง

LAS_M คือ สมการการความยาวของ spine ในเพศชาย LAS_F คือ สมการการความยาวของ spine ในเพศหญิง

วิจารณ์ และสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยในกระดูกสะบักเพื่อนำมาใช้ในการงานทางด้านนิติมนุษย์วิทยาครั้งนี้ พบว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละพารามิเตอร์ของกระดูกนั้น ในเพศชายมีความยาวมากกว่าเพศหญิงซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการวิจัยของการศึกษาที่ผ่านมา (12, 13) นอกจากนี้ยังพบว่าการนำกระดูกสะบักมาใช้ในการจำแนกเพศครั้งนี้มี ค่าน่าเชื่อถือของสมการการจำแนกเพศและมีค่าอยู่ในระดับที่สูงมากโดยเฉพาะส่วนของความยาวของ Spine

คือมีค่าความแม่นยำสูงถึง 97.37% ของกลุ่มตัวอย่าง แต่อย่างไรก็ดี พารามิเตอร์ตัวอื่นก็ถือว่ามีความแม่นยำสูงเช่นกัน เพราะอยู่ในเกณฑ์ที่มากกว่า 80 % นอกจากนั้นหากเปรียบเทียบกับ การใช้กระดูกอื่น ๆ การวิเคราะห์การจำแนกเพศโดยใช้กระดูกสะบักครั้งนี้ก็ยังมีค่าความแม่นยำสูงกว่า เช่นการใช้กระดูกต้นขาซึ่งพงษ์พิทักษ์และสุทัศน์ (14) ได้ทำการวัดความกว้างของ condyle ของกระดูกต้นขาพบว่ามีความแม่นยำสูงสุด 79.70 % นอกจากนั้นยังพบว่ามีการศึกษาในกลุ่มคนไทยของกระดูกหลายชิ้น เช่นกระดูก metacarpal ทั้ง 5 ชิ้น ในตำแหน่งต่าง ๆ พบว่ามีความน่าเชื่อถือตั้งแต่ 38.9-83.3% (15) แต่อย่างไรก็ตามการใช้กระดูกในการประเมินเพื่อจำแนกเพศนั้นก็ไม่สามารถตัดสินและลงความเห็นในการระบุเพศด้วยการวิเคราะห์จากกระดูกเพียงชิ้นเดียวได้ ซึ่งจะทำให้เกิดความผิดพลาดขึ้นได้ ในทางปฏิบัติที่เหมาะสม ควรใช้กระดูกหลายๆชิ้นเพื่อยืนยันความถูกต้องและเพิ่มความแม่นยำให้มากขึ้นนอกจากนี้สิ่งที่สำคัญอีกปัจจัยนั้น ควรทราบข้อมูลด้านเชื้อชาติของโครงกระดูกด้วยเพราะเชื้อชาติต่าง ๆ นั้นมีค่าเฉลี่ยที่ต่างกันไป จึงต้องศึกษาและวิเคราะห์อย่างรอบคอบ เพื่อนำความรู้ไปใช้ในการแก้ไขปัญหากรณีต่าง ๆ ในทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

References

1. Nascimento Correia Lima N., Fortes de Oliveira O., Sassi C., Picapedra A., Francesquini Jr., Daruge E Jr. Sex determination by linear measurements of palatal bones and skull base. J Forensic Odontostomatol. 2012;30(1):38-44.
2. Kanabur V. Sex Determination of Human Hip Bone by Metric Analysis of Ileum. Indian Journal of Forensic Medicine & Pathology. (12). 2012;5(1):29-34.
3. Doshi BD., Joshi HG., Mehta CD. The Sex determination by Posterior Border Of Adult Human Hip Bone. NJIRM. 2011;2(2):10-3.
4. Santoshkumar Dope A., Jyoti Gaikwad R., Laeeque M., V. Diwan C. Determination of Sex from Ulna by Univariate Analysis. Indian Journal of Forensic Medicine & Pathology. 2011;4(3):119-24.
5. Celbis O., Agritmis H. Estimation of stature and determination of sex from radial and ulnar bone lengths in a Turkish corpse sample. Forensic Sci Int. 2006;158(2-3):135-9.
6. Vance VL., Steyn M. Geometric morphometric assessment of sexually dimorphic characteristics of the distal humerus. Homo. 2013;64(5):329-40.

7. Kim DI., Kwak DS., Han SH. Sex determination using discriminant analysis of the medial and lateral condyles of the femur in Koreans. *Forensic Sci Int.* 2013;233(1-3):121-5.
8. Yue B., Varadarajan KM., Ai S., Tang T., Rubash HE., Li G. Gender differences in the knees of Chinese population. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19(1):80-8.
9. Akhlaghi M., Moradi B., Hajibeygi M. Sex determination using anthropometric dimensions of the clavicle in Iranian population. *J Forensic Leg Med.* 2012;19(7):381-5.
10. Kralik M., Urbanova P., Wagenknechtova M. Sex assessment using clavicle measurements: inter- and intra-population comparisons. *Forensic Sci Int.* 2014;234:181 e1-15.
11. Moore-Jansen PH., Ousley SD., Jantz R. Data Collection Procedures for Forensic Skeletal Material No. 48. , 3rd ed. Forensic Anthropology Center, Department of Anthropology, The University of Tennessee, Knoxville. Report of Investigations 1994.
12. Dabbs G. Sex determination using the scapula in new kingdom skeletons from Tell El-Amarna. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology.* 2010; 61(6):413-20.
13. Dabbs GR., Moore-Jansen PH. A method for estimating sex using metric analysis of the scapula. *J Forensic Sci.* 2010;55(1):149-52.
14. Putiwat P., Daungchit S. Gender determination of Thais by measurements of adult femurs. *Science and Technology Ubon Ratchathani Journal.* 2012;14(2):65-70
15. Pichitpol M. Sex Determination by discriminant analysis : An evaluation of the reliability of metacarpals measurements in Thai population. 2011; 4(2): 549-614

**การปนเปื้อนเลือดในห้องเรียนปฏิบัติการ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก**

**Blood Contamination on Medical Laboratory Classroom, Faculty of Allied Health
Sciences, Naresuan University, Phitsanulok**

แสงชัย นทีวรรณารถ *

อรรณพ เทียมแก้ว **

อรัญณ์ พิมลศรี ***

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาพื้นผิวของบริเวณที่ปนเปื้อนเลือดในห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก จากการศึกษาพบว่า โต๊ะเตรียมน้ำยาและตัวอย่างส่งตรวจมีการปนเปื้อนสูงสุดซึ่งชี้ให้เห็นว่าบริเวณดังกล่าวควรได้รับการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อลดการติดเชื้อที่ติดต่อทางเลือด

Abstract

This study focused on determining the contamination of blood on the surface areas of the laboratory learning room in division of Medical technology division, faculty of Allied health sciences, Naresuan university. The Kastle Meyer reagent was used for assessing the contamination. The result showed that chemical and specimens preparing bench is the most frequent finding the contamination. It is indicated the area should be aware to clean and disinfectant to reduce the risk of blood transmitted organism.

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** งานห้องปฏิบัติการ สำนักเลขานุการ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

*** ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

การศึกษาวิชาโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกเป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ เนื่องจากการศึกษาทั้งสองวิชาดังกล่าว ต้องมีการเรียนการสอนทางปฏิบัติการที่ใช้เลือดสำหรับส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ การทำงานในห้องเรียนปฏิบัติการอาจก่อให้เกิดการติดเชื้อจากการปนเปื้อนเลือดได้ ซึ่งห้องเรียนปฏิบัติการอาจเป็นแหล่งแพร่กระจายของโรคมาสู่ผู้ปฏิบัติงานได้หากไม่มีการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อเป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ใช้ปฏิบัติการมีบาดแผลหรือช่องทางอื่นก่อให้เกิดการติดเชื้อจากเลือดที่ปนเปื้อนได้ เช่น การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี และ HIV²⁻³ เนื่องจากห้องเรียนปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ อาจเป็นแหล่งแพร่เชื้อจากสิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือดได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาบริเวณที่มีการปนเปื้อนเลือดซึ่งเป็นสถานที่ที่มีโอกาสก่อให้เกิดการติดเชื้อดังกล่าวข้างต้น อันจะเป็นแนวทางในการทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อลดอันตรายจากการติดเชื้อจากห้องปฏิบัติการ

วิธีและขั้นตอนการดำเนินงาน

น้ำยา NaOH Kastle-Meyer เตรียมโดยชั่ง Sodium Hydroxide ผสม phenolphthalein และ zinc powder ละลายในน้ำกลั่นและต้มจนสารละลายเปลี่ยนจากสีชมพูจนกระทั่งเป็นสารละลายที่ไม่มีสี เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 °C⁴⁻⁶

การเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อป้ายลงบนพื้นที่ที่ต้องการการทดสอบการปนเปื้อน ได้แก่ โต๊ะปฏิบัติการ อ่างล้างมือ ตู้เก็บกล้องจุลทรรศน์ โต๊ะหน้าห้องและเครื่องคอมพิวเตอร์ กล้องจุลทรรศน์และเครื่องแปลผลสัญญาณเข้าสู่โทรทัศน์ พื้นห้องปฏิบัติการ โต๊ะเตรียมสารเคมี ห้องเตรียมสารเคมีและเก็บน้ำยา ตู้เย็นเก็บสารเคมีและสิ่งส่งตรวจ ตู้ดูดควัน (fume hood) ตู้เก็บเครื่องแก้ว อ่างล้างเครื่องแก้ว

การทดสอบการปนเปื้อนด้วยน้ำยา Kastle-Meyer

1. นำตัวอย่างไม้พื้่นสำลีที่เก็บจากบริเวณที่ต้องการทดสอบใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมน้ำยา KOH Kastle-Meyer และ NaOH Kastle-Meyer ปริมาตร 0.3 ml ในหลอดทดสอบหยด 3% H_2O_2 จำนวน 2 หยด ลงในหลอดทดสอบ อ่านผลการทดสอบภายใน 10 วินาที บันทึกผล⁴⁻⁷
3. ทำการทดสอบซ้ำครั้งที่ 2 (Duplicate)

ผลการศึกษา

จากการศึกษาพบว่า โต๊ะเตรียมสารเคมีในห้องเตรียมตัวอย่างและสารเคมีเป็นพื้นที่ที่น้ำยา Kastle-Meyer ให้ผลทดสอบเป็นผลบวกสูงสุด กล่าวคือตัวอย่างที่เก็บทั้งหมดให้ผลบวก (2/2) (ตาราง 1)

ตารางที่ 1 แสดงการปนเปื้อนของเลือดบนพื้นผิวของพื้นที่ในห้องเรียนปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์

บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างที่เก็บ
โต๊ะปฏิบัติการ	0/10
อ่างล้างมือ	0/5
ตู้เก็บกล่องจุลทรรศน์	0/20
โต๊ะหน้าห้องและเครื่องคอมพิวเตอร์	0/2
พื้นห้องปฏิบัติการ	0/20
กล่องจุลทรรศน์และเครื่องแปลงสัญญาณเข้าสู่โทรทัศน์	0/2
โต๊ะเตรียมสารเคมี ห้องเตรียมสารเคมีและเก็บน้ำยา	2/2
อ่างล้างเครื่องแก้ว	0/2
ตู้เย็นเก็บสารเคมีและสิ่งส่งตรวจ	0/4
ตู้ดูดควัน (fume hood)	0/2
ตู้เก็บเครื่องแก้ว	0/2
รวม	2/61

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

ห้องเตรียมสารเคมีและสิ่งส่งตรวจเป็นบริเวณที่มีการใช้บ่อยครั้ง ในเวลาที่ผู้ดูแลทำความสะอาด และเช็ดน้ำยาฆ่าเชื้ออาจมีผู้ใช้บริเวณดังกล่าวเตรียมปฏิบัติการอยู่ ซึ่งเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้บริเวณนี้พบ การปนเปื้อนเมื่อทดสอบด้วยน้ำยา Kastle-Meyer ดังนั้น ผู้รับผิดชอบห้องปฏิบัติการควรตระหนักและลด การปนเปื้อนคราบเลือด โดยทำความสะอาดพื้นที่นี้ทุกครั้งด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ

การศึกษานี้ใช้น้ำยา reduced Phenolphthalein หรือ Kastle-Meyer เป็นน้ำยาทดสอบ เนื่องจาก ใน การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจการปนเปื้อนของเลือดพบว่าน้ำยา Kastle-Meyer สามารถทดสอบเลือด ที่สดและแห้งหลังจากที่นำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วย Autoclave อุณหภูมิสูงถึง 134 °C ได้ โดยให้ผลบวกที่ Dilution 1:6,400 หรือต่ำกว่านั้น⁶ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้น้ำยานี้ตรวจการปนเปื้อนของเลือดใน เครื่องมือในแผนกผู้ป่วยบาดเจ็บฉุกเฉินและเครื่องมือในรถพยาบาลฉุกเฉิน^{3,8,9} ในการศึกษา¹ ผู้วิจัยใช้น้ำยา Kastle-Meyer ในการทดสอบคราบเลือดเนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาสนับสนุนการใช้น้ำยานี้เนื่องจากมีความ ไวสูง¹⁰ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจเลือดปริมาณน้อยมาก ได้อีกด้วย แม้ว่าน้ำยานี้จะเกิดผลบวกปลอมกับสาร บางชนิด เช่น peroxidase ก็ตาม การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบน้ำยานี้กับน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ประจำในห้องเรียน นี้ซึ่งพบว่าน้ำยานี้ไม่เกิดผลบวกปลอมจากน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ทำความสะอาดอยู่เป็นประจำ ดังนั้นผลทดสอบ จึงไม่ได้เกิดจากผลบวกปลอมจากน้ำยาฆ่าเชื้อ ผลจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการปนเปื้อนสามารถทำให้ หมดไปได้แม้บริเวณทดสอบมีการทดลองที่ใช้เลือดอยู่เป็นประจำ เช่น โต๊ะปฏิบัติการและอ่างล้างเครื่องแก้ว ดังนั้น บริเวณที่เตรียมปฏิบัติการที่ให้ผลบวกจึงควรได้รับการทำความสะอาดอยู่เป็นประจำและควรให้ผู้ทำ ความสะอาดได้ทำความสะอาดและเช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อลดการปนเปื้อนเลือดที่อาจก่อให้เกิดการติดเชื้อ จากห้องปฏิบัติการได้

References

1. งานพัฒนาหลักสูตร กองบริการการศึกษา. คู่มือนิสิตระดับปริญญาตรี มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีการศึกษา 2553. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยนเรศวร 2553.
2. Lowe AH, Bagg J, Burke FJ, MacKenzie D, McHugh S. A study of blood contamination of siqveland matrix bands. Br Dent J 2002; 192(8): 425.

3. 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.
4. แสงชัย นทีวรรณารณ, อรัญญา จิระวิริยะกุล, จิรภาส จงจิตวิมล, นพดล จำรูญ. การศึกษาเปรียบเทียบน้ำยา Kastle- Meyer กับแถบทดสอบปัสสาวะ เพื่อตรวจภาวะ hematuria และ hemoglobinuria. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550; 35(1): 1860-2.
5. แสงชัย นทีวรรณารณ. การเปรียบเทียบชุดทดสอบ Guaiac และ น้ำยา Kastle Meyer สำหรับตรวจ fecal occult blood. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2552; 2(3): 1-10.
6. ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์. การทดสอบ Kastle-Meyer และการประยุกต์ใช้ในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2555; 4(2): 179-84.
7. Bevel T, Gardner RM. Bloodstain pattern analysis: with an introduction to crime scene reconstruction. 3rd ed, CRC Press, LLC, Boca Raton, Florida, USA, 2008.
8. 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.
9. 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.
10. 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.

**Species of Freshwater Snail in Water Reservoirs in Naresuan university, Phitsanulok
Province, Thailand.**

Saengchai Nateeworanart*

Urat Pimolsri **

Apichat Vitta**

Abstract

The species diversity of snail in Naresuan university were investigated. The samples were collected from 13 water reservoirs. 15 species of snail were identified on the basis of their shell differences. The dominant species of snails were *Pomacea canaliculata*, *Melanoides tuberculata*, *Filopaludina martensi*, *F. munensis*, *F. polygramma*, *Tarebia granifera*, *F. speciosa*, *Idiopoma umbilicata*, *Trochotaia trochoides*, *Indoplanorbis exustus*, , *Radix rubiginosa*, *Pila polita* and *Gyraulus convexiusculus*.

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

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

Introduction

Freshwater snails are known to host a wide variety of parasite. Most digenetic trematode species seem to require a snail host to complete their life cycles and at least one or as many as three additional hosts

Naresuan University main campus located 16 km outside to the south of Phitsanulok city. The location of the university was surrounded by canals and water reservoirs that serve agriculture. Man made water reservoirs also serious disrupt their surrounding ecosystems. Some species have the potential to pose risk to public health: snail and fish may act as intermediate hosts that may transmit parasite and other food-borne disease¹.

In Thailand, many species of snail serve as the intermediate hosts of parasites. Such as, the snail *Bithynia siamensis goniomphalos* is the intermediate host for the trematode, *Opisthorchis viverrini* in northeast Thailand, which is a highly prevalent infection in inhabitants and is markedly correlated with cholangiocarcinoma². Other snails for example *Filopaludina* sp. and *Corbicula* sp. and *Radix rubiginosa*, serve as the first and second intermediate hosts of the intestinal fluke echinostomes. Nematode, *Angiostrongylus cantonensis*, can vector through many kinds of snails such as *Pila* sp. *Filoparudina* sp. and *Achatina fulica*²

No survey for freshwater snails of medical importance has been conducted since the construction of the university. This study aims to study diversity of fresh water snail in and around the area university site.

Materials and Methods

The study sites were in 13 water reservoirs in Naresuan University. The survey was conducted by using a 15-minute search-sampling snail collection by six surveyors. At each station, The team collected all snails found by hand and/or standard wire-mesh-scoops, and put each samples in separate, labeled plastic bags and transport to the laboratory at the faculty of Medical Science, Naresuan University for shell identification^{3,4}.

Results

15 species of snail were found in 13 water reservoirs were *Filopaludina martensi*, *F. munensis*, *F. polygramma*, *F. speciosa*, *Idiopoma umbilicata*, *Trochotaia trochoides*, *Indoplanorbis exustus*, *Gyraulus convexiusculus*, *Radix rubiginosa*, *Melanoides tuberculata*, *Pila polita*, *Pomacea canaliculata* and *Tarebia granifera*(Fig 1). The most numerous snails were *Pomacea canaliculata*, *Melanoides tuberculata*, and *Filopaludina martensi*, respectively. The density of snails was highest in site. 1 (the water reservoir for tape water supply) (Table1)

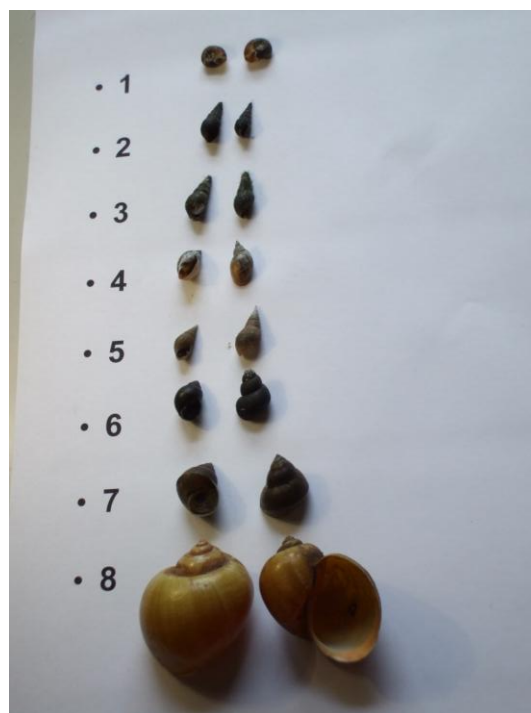


Fig 1. Some snails collected from water reservoirs, Naresuan University, Phitsanulok.

1. *Indoplanorbis exustus*; 2, 3. *Melanoides tuberculata*; 4. *Radix rubiginosa*;

5. *Tarebia granifera*; 6,7 *Filopaludina* spp; 8. *Pomacea canaliculata*.

Table 1. Total snail collected from water reservoirs in Naresuan university

Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	total
<i>Pomacea canaliculata</i>	413	5	-	6	130	11	125	-	-	14	10	33	4	751
<i>Pila polita</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	7
<i>Filopaludina martensi</i>	400	11	8	4	41	12	10	-	9	3	89	59	22	668
<i>F. polygramma</i>	123	25	-	1	112	17	12	-	49	3	33	283	8	666
<i>F. speciosa</i>	72	-	-	-	15	3	10	-	-	-	14	16	-	130
<i>F. cambodiensis</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Idiopoma umbilicata</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	6
<i>Radix rubiginosa</i>	17	-	2	3	40	-	-	-	-	-	4	-	6	72
<i>M. tuberculata</i>	-	68	12	-	83	10	337	-	4	18	-	6	142	680
<i>Tarebia granifera</i>	-	3	-	-	-	-	137	-	-	-	-	11	266	417
<i>Indoplanorbis exutus</i>	50	-	-	-	2	-	-	114	-	1	1	21	-	189
<i>G. convexiusculus</i>	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Camptocerus sp.</i>	6	-	-	-	-	1	-	-	-	46	-	-	-	53
<i>Trochotaia trochoides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	5	2	1	11
<i>Thiara scabra</i>	-	-	-	-	135	4	10	1	-	14	2	18	-	184
total	1,085	112	22	14	560	58	641	115	65	99	165	454	449	3,839

Site 1; water reservoir for tape water supply Site 2; in front of school of renewable energy technology

Site 3; in front of faculty of Medicine Site 4; beside faculty of Medicine

Site 5; in front of faculty of Dentistry Site 6; in front of faculty of Agriculture

Site 7; in front of faculty of Allied health science and faculty of Nursing

Site 8; King Naresuan monument 1 Site 9; the pool of faculty of Pharmacy

Site 10; King Naresuan monument 2 Site 11; life museum

Site 12; in front of faculty of Engineering Site 13; King Naresuan monument 3

Table 2 Suspected snail species of transmitting human diseases

Species	Potential disease
1. <i>Pomacea canaliculata</i>	Angiostrongyliasis
2. <i>Pila polita</i>	Angiostrongyliasis
3. <i>Bithynia goiomphalos</i>	Opisthorchiasis
4. <i>Filopaludina</i> spp.	Echinostomiasis
5. <i>Melaniodes tuberculata</i>	Echinostomiasis
	Paragoniasis
6. <i>Radix rubiginosa</i>	Echinostomiasis
	Fascioliasis

	Cercarial dermatitis
7. <i>Indoplanorbis exustus</i>	Echinostomiasis
	Cercarial dermatitis
8. <i>Gyraulus convexius</i>	Echinostomiasis
9. <i>Tarebia granifera</i>	Paragoniasis

Discussion

Sixteen species of snail were found in 13 water reservoirs were *Filopaludina martensi*, *F. munensis*, *F. polygramma*, *F. speciosa*, *Idiopoma umbilicata*, *Trochotaia trochoides*, *Indoplanorbis exustus*, *Gyraulus convexiusculus*, *Radixa rubiginosa*, *Melanooides tuberculata*, *Pila polita*, *Pomacea canaliculata* and *Tarebia granifera*. The most numerous snail were *Pomacea canaliculata*. The density of snails was highest in site 1 (the water reservoir for tape water supply) (Table 1). These results are similar to those report by Sri-aroon et al. 2005 and Temcharoen et al. 1982, which showed the same species of the snail in Lampao Dam, Kalasin province^{1,2,5}. Our result also matched those from a study conducted by Tesana 2002, in which freshwater mollusks are the same of our study in Lam Ta Khong reservoir, Nakhon Rachasima and Prachinburi province^{2,5}. However *Bithynia goniomphalos* and *Clea Helena* were not found in our study. Night species were suspected of transmitting human diseases (Table 2). Therefore, our study may be a basic knowledge of controlling the parasitic disease in Naresuan University and the areas around the campus.

Acknowledgements

We would like to thank the faculty of Medical Science for providing facilities for this survey. We also thank Medical Science third year students for collecting the snail from the sampling site.

References

1. Sri-aroon P, Butraporn P, Limsomboon et al. Freshwater mollusks of medical importance in Kalasin province, Northeast Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36:653-7.
2. Tesana S. Diversity of mollusks in Lam Ta Khong reservoir, Nakhon Ratchasima, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002; 33: 733-8.
3. Brandt RAM. The non-marine aquatic mollusca of Thailand. *Arch Molluskenkd* 1974; 105: 1-423.
4. Upathum ES, Sornmani S, Kitikoon V et al. Identification key for the fresh and brackish water snails of Thailand. *Malacol Rev* 1983; 16: 107-32.
5. Temcharoen P, Keittivuti A, Keittivuti B et al. Freshwater snails survey in and around the Cambodian refugee camp, Sakaeo district, Prachinburi province, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1982; 13: 606-8.

The prevalence of children enterobiasis of Uttaradit province, attending mobile unit of Naresuan University.

Urat Pimolsri *

Saengchai Nateeworanart **

Introduction

Uttaradit is province in the Lower North, Uttaradit has along history developing the years since prehistoric time. The site of the original town, than called Bang Pho Tha It, was located on the right bank of the Nan River. It flourished as a port for goods transportation. As a result, King Rama V elevated its status into a province and re-named it Uttaradit, literally the Port of the North. Uttaradit is located 491 km. for Bangkok and covers an area of 7,838 square km. and is divided into the following districts: Muang, Tron, Laplae, Phichi, Tha Pla, Nam Pat, Fak Tha, Ban Khok and Thong Saen Khan. In 2010 Uttaradit Province had a total population of 462,651 , male of 228,268 people and female of 234,383 people (Uttaradit Primary Education Service area office 1. 2013; Update July 2010)

The pinworm, *Enterobius vermicularis*, is one of the most common world-wide distributed parasites of man particularly in school children. It is characterized by an esophagus with a posterior bulb. The worms are most abundant in the cecum and appendix. Human are generally thought to be the only host, but these worm have been reported in a few other primates for example, chimpanzee an gibbon (Noble et al, 1989). Nocturnal migration of the female worms to host's anus for laying eggs frequently leads to severe irritation. Most cases are asymptomatic. However, anal or vaginal pruritus, abdominal pain, constipation or diarrhea can occur. Children are more commonly infected than adult, presumably because they are less fastidious in matters of personal hygiene. (Paingjai *et al*, 1992)

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

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

The objective of this study was to determine the egg positive rate of pinworm infection in students of rural area of Uttaradit province.

Materials and Methods

A survey of *Enterobius vermicularis* was carried out in three schools (Chumchonbanhuadong School, Watmaechey School, and Denchat School) in Uttaradit the 160 children in these areas, age 1-13 years were recruited in this study with verbal informed consent form their parents. The children were clarified for using cellophane tape. As described by Beaver *et al.* 1984.

Results

A total of 37(23.12%) of the 160 samples were positive for pinworm egg. The egg positive rate among boys (27.39%) was higher than that among girls (19.54%)

Discussion

The overall infection rate was 23.12% (37/160) in with the egg positive rate positive rate among boys (27.39%) was higher than that among girls (19.54%). The result of the present study is nearly as much as other worker in Thailand. By using the same method. The infection rates were 15.49% and 21.54% in Mae Chame , Chiang Mai and Bang Khum Thian, Bangkok, respectively (Saksirisampant et al, 2004, Changsab *et al*, 2000). However, a high prevalence in the hill tribal children Mae Suk district and Karen hill tribe villages in Chiang Mai were 41.60% (Chaisalee *et al*, 2004). In this study the egg positive rate among boys (19.02%) was no significant differences that among girls (18.52%). Never the less, a total of 307 (18.50%) of the 1,661 samples were positive for *Enterobius vermicularis* eggs. The egg positive rate ranged from 0% to 59.30% by location on western and southern coastal of the republic of Korea. (Park *et al.* 2005)

The prevalence of enterobiasis greatly depends upon socioeconomic situation levels, and on personal hygiene and habits. A lack of personal hygiene and close contact between people encourage the spread of *Enterobius vermicularis*. Other factors including playing on the floor nail biting, failure to wash hand before meals, and living in non-apartment dwelling have also been reported to associate with the prevalence of enterobiasis (Sung *et al*, 2001). In this respect, kindergarten and school based mass control activities are likely to be more effective than individual treatment.

Enterobiasis is a disease with usually mild symptoms such as, perianal itching and dermatitis; it is asymptomatic in most adult who have low worm burdens. However, in children, particularly who have heavy worm burdens, neurological symptoms including nervousness, restlessness, irritability, and distraction may occur, and these may influence child growth (Beaver *et al*, 1984, Cook, 1994, Song *et al*, 2003). Rarely ectopic infections in the pelvic area or urinary tract of woman can occur.

Egg positive rate in our study is rather low, may be form using a single test. Goldsmith and Heyneman (1989) suggested that 3 tests will detect 90.00% and 99.00% in 5 tests. Repeated cellophane tape method must be done again to get the real prevalence in these communities.

Effective chemotherapeutic regimens have been developed and used for decades; however, the control of enterobiasis is difficult because of frequent reinfection and a short life cycle (Lee *et al*, 2001). Repeated health education concerning improved personal hygiene and regular inspections and mass chemotherapy with appropriate anthelmintics are essentially required to control enterobiasis among children in three school of Uttaradit.



Fig 1. Egg of *Enterobius vermicularis* (Cellophanetape technique, 40X)

Acknowledgement

We would like to thank faculty of Medical Science, Naresuan University staffs for their assistance.

References

1. Uttaradit Primary Education Service area office 1. 2013 Access at <http://www.utdone.net/commentutd1/index2.html> on 18 December 2013.
2. Noble ER, Noble GA, Schad GA, Macinnes AJ. Parasitology; The biology of animal parasites. 6th ed, Lea&Febiger, Philadelphia, USA. 1989.
3. Piangjai S, Muangyimpoing Y, Tipavangkosol P, Artsansri P, Choochote W . A survey on the Prevalence of *Enterobius vermicularis* in primary school children in Chiang Mai province. J Trop Med Parasitol 1992;15:106-7.
4. Beaver PC, cupp EW. Clinical Parasitology. 9thed, Lea&Febiger, Philadelphia, USA.1984.
5. Sakairisampant W, Prowmbeon J, Kanmarnee P, Phaisom S, Yenthakam S, Nuchprayoon S. Prevalence of Parsitism among students of the Karen hill-tribe in Mae Chame district, Chiang Mai province, Thailand. J Med Assoc Thai.2004;87 suppl 2:278-83.
6. Changsap B, Nithaikatkul C, Boontan P, Wannapinyosheep S, Vongvanics N, Poister C. Enterobiasis in primary school in Bang Khun Thian District Bangkok, Thailand.Southeast Asian J Trop Med Public Health; 2000;33suppl 3 ; 72-5.
7. Chaisalee T, Tukaew A, Suwansaksri J. Verry high prevalence of Enterobiasis Among The Hilltribal Children in rural district “Mae Suk” Thailand. Med Gen Med. 2004; 6:5

8. Park JH, Han ET, Kin WH, Shin EH, Guk SM, Kim JL, Chai JY. A survey of *Enterobius vermicularis* infection among children on western and southern coastal Islands of the republic Korea. Korean J Parasitol. 2005; 43: 129-34 .
9. Sung JF, Lin RS, Huang KC, Wang SY, Lu YJ. Pinworm control and risk factors of pinworm Infection among primary-school children in Taiwan. Am J Trop Med Hyg 2001; 65: 558-62.
10. Cook GC. *Enterobius vermicularis* infection. Gut 1994; 35: 1159-1162.
11. Song HJ, Cho CH, Kim JS, Choi MH, Homg SP. Prevalance and risk factors for enterobiasis Among preschool children in a meyropolitancity in Korea 2003; 91:46-50.
12. Goldsmith R., Heyneman. Tropical Medicine and Parasitology. Appleton&Lange, Conncticut.1989.
13. Lee KJ, Ahn YK, Ryang YS. *Enterobius vermicularis* egg positive rates in Primary school Children in Gangwon-do, Korea.Korean J Parasitol 2001;39: 327-8.

Sample Carryover: ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการตรวจวิเคราะห์ DNA

Sample Carryover: an Important Factor for DNA Analysis

อรรถัน พิมลศรี *

แสงชัย นทีวรณารถ **

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของตัวอย่างมีผลต่อการตรวจผู้ป่วยเป็นอย่างมาก เนื่องจากการสารพันธุกรรมและโปรตีนมีความไวต่อการปนเปื้อน ดังนั้นแม้มีสารดังกล่าวปริมาณเพียงเล็กน้อยสามารถเป็นสาเหตุให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ การศึกษานี้ต้องการชี้ให้เห็นว่าการปนเปื้อนของตัวอย่าง DNA ระหว่างตัวอย่างจะลดลงได้ หากมีการล้าง cuvette หลังการใช้ในแต่ละตัวอย่าง

Abstract

Sample carryover can cause erroneously high patient test results . Because genetic materials and proteomics study are a sensitive test, a small amount of contamination may lead to a source of error diagnosis. This study indicates cuvette washing after determination will decrease sample to sample DNA carryover.

* ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

ความหมายในการวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกและภูมิคุ้มกันวิทยา sample to sample carryover (SSC) คือ การปนเปื้อนของสารจากตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์หนึ่งไปสู่การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างอีกตัวอย่างถัดมา การเกิด SSC มีผลเสียต่อการตรวจวิเคราะห์เพราะทำให้ผลการตรวจผิดพลาดจากความเป็นจริง SSC มักจะเกิดจากการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่ความเข้มข้นต่ำ¹⁻² ถึงแม้ว่าการตรวจวิเคราะห์สารในตัวอย่างส่งตรวจในปัจจุบันจะใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ การปนเปื้อนดังกล่าวก็ยังคงเกิดขึ้นได้เสมอ ซึ่งการปนเปื้อนดังกล่าวจะเกิดผลเสียมากและทำให้การวินิจฉัยโรคเกิดการผิดพลาด การป้องกันการเกิดการปนเปื้อนจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ผู้ตรวจวิเคราะห์ต้องให้ความสำคัญต่อการเกิดการปนเปื้อนในการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง เชื่อถือได้ อันจะนำไปสู่การรักษาที่ถูกต้องต่อไป¹⁻³ การศึกษานี้ต้องการชี้ให้เห็นถึงผลของ SSC ในการตรวจวิเคราะห์ DNA ซึ่งปัจจุบันมีการศึกษาเพื่องานวิจัยและการรักษา แม้กระทั่งการตรวจเพื่อใช้เป็นหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือได้มากที่สุดตัวอย่างหนึ่ง

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ผู้วิจัยทำการศึกษาผลของการปนเปื้อน carryover ของการวัด DNA ที่สกัดจาก *Trichomonas vaginalis* โดยวิธี conventional PCR โดยตำแหน่ง gene ที่ใช้ในการศึกษา Adenylate cyclase และใช้ primer AGC2

การทดสอบการปนเปื้อนโดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงอัตโนมัติ (spectrophotometer)

ทำการตรวจปริมาณ DNA ด้วยการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Gene Quant Pro, Biochem Ltd, Cambridge, England ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นปรับศูนย์ (set blank)³

สำหรับการศึกษาการปนเปื้อน ผู้วิจัยทำการวัดปริมาณ DNA ที่ได้จาก PCR product โดยเจือจางสารละลาย DNA ตัวอย่าง 1:20 ทำการวัดครั้งที่ 1 PCR product ตั้งต้นจำนวน 2 ตัวอย่าง

จากนั้นทำการวัดการดูดกลืนแสงน้ำกลั่นใน cuvette เดิมในการวัดครั้งที่ 2 ส่วนการวัดครั้งที่ 3 ผู้วิจัย PCR product วัดการดูดกลืนแสงก่อนจากนั้นใช้ cuvette เดิมที่ล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนจะวัดการดูดกลืนแสงอีกครั้งด้วยน้ำกลั่น

การทดสอบการปนเปื้อนโดย agarose gel electrophoresis

นำ PCR product จากการตรวจวัดการดูดกลืนแสงทั้งสามครั้งมาตรวจด้วยการทำ electrophoresis ตรวจการปนเปื้อนด้วยแสง Ultraviolet (UV)

ผลการศึกษา

ตาราง 1. ผลการวัดการดูดกลืนแสงของ PCR product โดยปราศจากการล้าง cuvette ก่อนวัดเปรียบเทียบกับการ

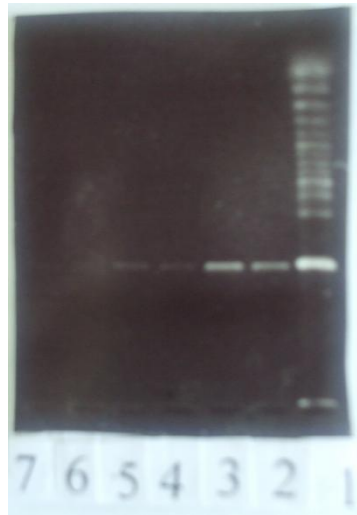
วัดการดูดกลืนแสงเมื่อล้าง cuvette ก่อนการวัดครั้งต่อไป

วัดครั้งที่	ตัวอย่างที่	ค่าเฉลี่ยของ DNA ที่ 260 นาโนเมตร(ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)
1	1	0.035
	2	0.010
2	1	0.006
	2	0.002
3	1	0.002
	2	0.000

ครั้งที่ 1 DNA ตั้งต้น

ครั้งที่ 2 DNA ที่วัดโดยไม่ล้าง cuvette

ครั้งที่ 3 DNA ที่วัดโดยล้าง cuvette ด้วยน้ำกลั่นก่อนการวัดในครั้งถัดไป



ภาพ 1. แสดงแถบของ PCR product ที่เกิดจากการปนเปื้อนเมื่อล้างและไม่ล้าง cuvette ก่อนการตรวจวัด

ในครั้งต่อไป

Lane 1 แถบของ marker

Lane 2, 3 แถบ DNA product ตั้งต้น

Lane 4,5 แถบ DNA product ที่วัดโดยไม่ล้าง cuvette

Lane 6,7 แถบ DNA product ที่วัดโดยล้าง cuvette

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากผลการศึกษาพบการปนเปื้อนของ PCR product ในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ เมื่อวัดการดูดกลืนแสงด้วย cuvette เดิมที่ไม่ผ่านการล้างก่อนการวัดในครั้งต่อไป ในขณะที่การปนเปื้อนจะน้อยลงมากเมื่อล้าง cuvette ด้วยน้ำกลั่นก่อนทำการวัดในครั้งต่อไป (ตาราง 1 และภาพ 1) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการปนเปื้อนจากการวัดสารที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่สารที่มีความเข้มข้นที่ต่ำกว่าโดยไม่ล้าง cuvette มีโอกาสทำให้เกิดการปนเปื้อนสูง ซึ่งการปนเปื้อนดังกล่าวนี้เป็นสาเหตุของความผิดพลาดในการวินิจฉัยได้ ผู้ปฏิบัติงานและนักวิจัยควรตระหนักและระมัดระวังผลเสียที่เกิดจากการปนเปื้อนนี้ ในทางเคมีคลินิกมีการหลีกเลี่ยงโดยเปลี่ยน pipette ทุกครั้งที่ดูดสารหรือตัวอย่าง วัดความเข้มข้นสารจากสารละลายที่สีจางไปหาสารละลายที่สีเข้มกว่าตามลำดับ¹⁻³ เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการวัดการดูดกลืนแสงของ DNA ซึ่งเป็นการวัดความขุ่น

เนื่องจากไม่มีน้ำยาในปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวัด ดังนั้นผู้ตรวจวัดควรล้าง cuvette ด้วยน้ำกลั่นทุกครั้งหลังการวัดสารละลาย

Carryover เป็นปัญหาในการตรวจวิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ การปนเปื้อนจากตัวอย่างหนึ่งไปสู่อีกตัวอย่างหนึ่งสามารถทำให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) ทำให้เกิดผลเสียในการแปลผลและความน่าเชื่อถือของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การปนเปื้อนสามารถเกิดได้จากตัวผู้ทำการตรวจวัดเอง อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง cuvette, pipette และ autopipette ดังนั้นผู้ปฏิบัติควรตระหนักและระมัดระวังปัญหานี้ในการตรวจวิเคราะห์ การปนเปื้อนลักษณะนี้มักเกิดจากการตรวจวัดสารจากสารที่มีความเข้มข้นสูงไปยังตัวอย่างที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า แม้ปัจจุบันมีการตรวจวิเคราะห์โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติเพื่อความรวดเร็วและลดความผิดพลาดผลตรวจวิเคราะห์ที่เกิดจากตัวบุคคลก็ตาม ปัญหาการปนเปื้อนจากตัวอย่างหนึ่งไปสู่อีกตัวอย่างหนึ่งยังคงเกิดขึ้น ถึงแม้จะมีผู้ผลิตเครื่องตรวจวิเคราะห์บางรายอ้างถึงความสามารถของเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทผลิตไม่มีปัญหาการปนเปื้อนในการตรวจวิเคราะห์ก็ตาม แต่มักจะมีรายงานการศึกษาที่รายงานผลบวกปลอมของการตรวจวัดสารบางชนิดเกิดขึ้นในภายหลังเสมอ⁴⁻⁵ เพื่อเป็นการเพิ่มความน่าเชื่อถือของการตรวจวิเคราะห์ ผู้ใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติควรทำการศึกษาปัญหา การปนเปื้อนจากตัวอย่างสู่ตัวอย่างในการใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติเสมอเมื่อมีการตรวจวิเคราะห์สารในห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ Dr.Tai Jung Hsiang, Institute of Molecular Medicine, Academia Sinica, Taipei, Taiwan ในการอนุเคราะห์สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณ The Taiwan International Graduate Program(TIGP), Academia Sinica, Taipei, Taiwan และมหาวิทยาลัยนครสวรรค์ในการอนุเคราะห์ทุนในการศึกษาดูงานในครั้งนี้

และรศ.ดร.สุกัญญา ชะโชรศรีกุล รองอธิการบดีฝ่ายกิจการต่างประเทศ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ในการให้คำปรึกษาหารือที่ผู้วิจัยดำเนินการทดลองในประเทศได้ทุกวัน

References

1. Armbruster DA, Alexander DB. Sample to sample carryover: a source of analytical laboratory error and its relevance to integrated clinical chemistry/immunoassay systems. Clin Chim Acta. 2006; 373(1-2): 37-43.
2. เรวัตร ทักษิณะมณี ใน เต็มดวง ลิ้มไพบูลย์ จุริรัตน์ ปู่อาจ ดวงฤดี อินทวงษ์ บรรณาธิการ. Carryover effect: ปฏิบัติการเคมีคลินิก. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2542.
3. Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: a laboratory manual volume 2. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 2001.
4. Grenier A. Analytical false-positive increases and cardiac troponin I: what is the best sample?. Ann Biol Clin (Paris). 2009; 67(1): 118-20.
5. Dimeski G, Jones B, Brown N. Carryover can be a cause of false-positive results with the Beckman AccuTnI assay. Clin Chem Lab Med. 2012; 50(6): 1135-6.

Cantharidin และด้วงน้ำมัน

Cantharidin and Blister Beetles

ศุภฤตา ว่องวิทย์การ *

แสงชัย นทีวรนาถ **

บทคัดย่อ

Cantharidin ที่ผลิตจากด้วงน้ำมันมีความสำคัญทางการแพทย์เนื่องจากสารนี้มีความเป็นพิษร้ายแรงต่อสัตว์ บทความนี้จึงนำเสนอความสามารถในการเป็นพิษ อาการทางคลินิกและผลของสารนี้ที่มีต่อมนุษย์

Abstract

Cantharidin is produced by blister beetles. Because of its super toxic to animals, cantharidin is of medical importance. The aims of this review was to mention cantharidin toxicity, clinical symptomatology and human cantharidiasis.

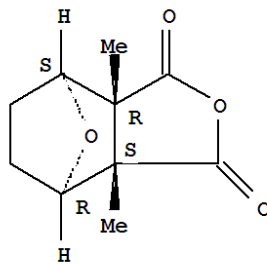
* คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

Cantharidin เป็นสารที่ถูกผลิตโดยด้วงใน family Meloidae (true blister beetles) และ family Oedemeridae (false blister beetles) สารนี้มีชื่อทางเคมีคือ 4,7-Epoxyisobenzofuran-1,3-dione, hexahydro-3a,7a-dimethyl-, (3aR,4S,7R,7aS)-rel-(5S,6S)- และชื่อพ้องทางเคมีคือ 4,7-Epoxyisobenzofuran-1,3-dione, hexahydro-3a,7a-dimethyl-, (3aa,4b,7b,7aa)-; 7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylic anhydride, 2,3-dimethyl-(8CI); Cantharidin(6CI,7CI); 1,2-Dimethyl 3,6 epoxyperhydrophthalicanhydride; Cantharidine; Cantharone; Hexahydro-3a,7a-dimethyl-4,7-epoxyisobenzofuran-1,3-dione; Kantaridin; NSC 61805

สูตรทางเคมีคือ $C_{10}H_{12}O_4$ สูตรโครงสร้าง (ภาพที่ 1) มีน้ำหนักโมเลกุล 196.22 ความหนาแน่น 1.362 g/cm³ จุดเดือด 326.869 °C at 760 mmHg จุดหลอมเหลว 215-217 °C จุดวาบไฟ 146.137 °C¹



ภาพ 1 โครงสร้างของ Cantharidin

ที่มา: <http://www.lookchem.com/Cantharidin/>

ด้วงน้ำมัน

ด้วงน้ำมัน (blister beetle หรือ oil beetle) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ของด้วงนี้คือ *Mylabris phalerata* เรียกชื่อสามัญหลายชื่อเช่นด้วงโสน ด้วงไฟเดือนห้า ในทางอนุกรมวิธานด้วงนี้ถูกจัดอยู่ใน Phylum : Arthropoda, Class : Insecta, Order : Coleoptera, Family : Meloidae, Genus : Mylabris, Species : phalerata ชนิดที่พบในประเทศไทยพบมากเป็นชนิดด้วงน้ำมันชนิดด้วงน้ำมันเหลืองดำใหญ่ (yellow-banded blister beetle) มีความยาวประมาณ 2.5 ซม. กว้างประมาณ 1 ซม. ส่วนลำตัว ขา และหนวดมีสีดำ หนวดสั้น ปีกมีแถบเหลืองพาดขวาง 3 แถบ เป็นแมลงศัตรูพืชชนิดปากกัดกิน (chewing type) ตัวเต็มวัยกัด

กินใบ ดอก ยอดอ่อน ผลและทำให้พืชมีอาการไหม้เกรียมด้วย มักพบบนต้นถั่วลิสง ฝ้าย แตง แตงกวา ปอแก้ว และไม้ดอกอีกหลายชนิด(ภาพ2)

นอกจาก *Mylabris phalerata* ยังพบด้วงน้ำมัน *Epicauta malkini* ปีกคู่หน้าสีเหลืองและปลายปีกสีดำ แต่ *E. waterhousei* ปีกคู่หน้าสีดำมีขีดสีเหลืองตามยาวขอบปีกข้างละขีด หัวสีแดงด้วงน้ำมัน พบเห็นทั่วประเทศ (ภาพ3) โดยเฉพาะ *Epicauta malkini* และ *E. waterhousei* จะพบตั้งแต่เดือนเมษายนเป็นต้นไป ส่วน *M. phalerata* จะพบเห็นในระหว่างเดือนสิงหาคม เป็นต้นไป และจะพบมากในระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายนของทุกปี

วงจรชีวิตของด้วงน้ำมัน

ตัวเมียวางไข่ในดิน หลังจากไข่ฟักออกเป็นตัวหนอน ตัวหนอนตัวอ่อนของด้วงน้ำมันเป็นแมลงห้ำกินไข่ด้กัแตนเป็นอาหารจนโตเข้าดักแด้ในดิน จากนั้นเมื่อฟักเป็นตัวเต็มวัยด้วงบินไปหาดันถั่วที่เริ่มออกดอกและกินดอกถั่วเป็นอาหาร เมื่อด้วงน้ำมันรบกวนผลผลิตและมีปริมาณมากผิดปกติ เกษตรกรควรใช้ carbaryl 0.1% (Sevin 85% WP) พ่น 1-2 ครั้งทุก 7-10 วัน ²⁻⁷



ภาพ 2 ด้วงน้ำมันชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทย

ที่มา SIAM INSECT-ZOO & MUSEUM <http://www.malaeng.com/blog/?cat=57>



ภาพ3 *Epicauta waterhousei*

ที่มา SIAM INSECT-ZOO & MUSEUM <http://www.malaeng.com/blog/?cat=57>



ภาพ4 Canthridin dermatitis

ที่มา: <http://bakabo.exteen.com/20101124/entry>

ความเป็นพิษของด้วงน้ำมัน

ในธรรมชาติ ด้วงน้ำมันสร้างสาร Cantharidin ที่ข้อต่อส่วนขาและ ข้อต่อบริเวณหนวดของมันเพื่อป้องกันการทำลายของไข่จากนักล่าหรือเมื่อมันถูกรบกวนจากสัตว์อื่น สารนี้จะถูกสร้างจากด้วงตัวผู้แล้วถ่ายทอดไปยังตัวเมีย เมื่อมันจับคู่สืบพันธุ์ และถ่ายทอดไปยังไข่ที่มันวางในที่สุด Cantharidin มีความเป็นพิษต่อสัตว์หลายชนิดไม่ว่าจะเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญ เช่น วัว แพะ แกะ และสัตว์อื่น ๆ อาทิเช่น กระต่าย สุกร หนู สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ปีก ดังนั้นด้วงน้ำมันจึงเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดความ

เสียหายต่อสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะปศุสัตว์ที่เลี้ยงไว้นม จากรายงานการศึกษาในสหรัฐอเมริกาพบว่า วัวที่ให้นมลดลงหรือเสียชีวิตจากการได้รับสารพิษนี้มีสาเหตุสืบเนื่องมาจากวัวกิน alfalfa ที่มีด้วงนี้อยู่ ความรุนแรงของอาการขึ้นกับปริมาณสารนี้ที่สัตว์กินเข้าไป ขนาดและสุขภาพของสัตว์ที่ได้รับสารนี้ ซึ่งอาการจะมีตั้งแต่ปวดท้องอย่างรุนแรง ช็อคและตายได้ในที่สุด รายงานการศึกษาในวัวที่กินแมลงที่มีสารนี้อยู่ โดยมีน้ำหนักของแมลง 1.6 g จะตายภายใน 26 ชั่วโมง ส่วนสาร cantharidin บริสุทธิ์ 10 g ทำให้วัวตายได้ ส่วนการศึกษาหนึ่งรายงานว่า lethal dose ของสารนี้ในม้าน้อยกว่า 0.5 mg/Kg body weight นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารนี้จะไม่มีปริมาณลดลงแม้จะเก็บฟางหรือหญ้าแห้งที่มีซากของแมลงที่ผลิตสารนี้ไว้เป็นเวลานาน

อาการแสดงของสัตว์ที่ได้รับสารพิษนี้ ขึ้นกับปริมาณ cantharidin ที่รับเข้าไป สารนี้จะทำให้เกิดการระคายเคืองในระบบทางเดินอาหารและทางเดินปัสสาวะ อาจพบสัตว์ปัสสาวะเป็นเลือด อย่างไรก็ตามส่วนใหญ่มักพบปัสสาวะมีสีปกติ ปวดท้อง ชิม เบื่ออาหาร สัตว์จะพยายามดื่มน้ำหรือแช่ส่วนจมูกและปากในน้ำ ในม้าจะพบ mucous membranes ของทางเดินอาหารมีสีแดงคล้ำ เหงื่อออกมาก มีอัตราการเต้นของหัวใจและการหายใจเพิ่มขึ้น อุณหภูมิส่วน rectal เพิ่มขึ้น อาจพบน้ำลายฟูมปาก กระวนกระวาย กระบังลมทำงานผิดปกติ เดินโซเซ ท้องร่วง โดยอาจจะพบเลือดออกมากับมูล ช็อคตายในที่สุด⁸

ผลของสาร cantharidin ที่มีต่อคน

ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าคนจะได้รับพิษจากสาร cantharidin ผ่านการโดนแมลงขับ haemolymph ที่ข้อต่อขาของแมลงสัมผัสกับผิวหนังทำให้เกิด dermatitis (ภาพ4) นอกจากผิวหนังแล้วคนยังได้รับสารนี้จากการกินแมลงที่มีสารนี้อยู่ โดยมีความเชื่อว่าการกินแมลงที่มีสารนี้จะเสริมสมรรถภาพทางเพศ นอกจากนี้ยังมีรายงานการได้รับสารนี้จากการใช้ด้วงน้ำมันหรือ Spanish fly (*Lytta vesicatoria*) เป็นเหยื่อในการตกปลา

การกินสารนี้ปริมาณ 10-65 mgสามารถทำให้คนเสียชีวิต โดยรายงานในคนเสียชีวิตจากการได้สารนี้รายหนึ่งพบ 72.3 mg/ml ซึ่ง LD 50 ของสารนี้คือ 1mg/kg

การกินสารนี้เข้าไปจะทำให้ epithelial cell ที่ระบบทางเดินอาหารและทางเดินปัสสาวะถูกทำลาย รวมทั้งเกิด liver toxicity มีการรบกวนการทำงานของหน่วยไตเกิด vascular nephritis มีเลือดออกในระบบทางเดินอาหาร

ผู้ที่บริโภคด้วงน้ำมันมากกว่า 3 ตัวขึ้นไป จะมีอาการคออักเสบ กลืนอาหารลำบาก ปวดท้อง คลื่นไส้ อูจาระร่วง อาเจียนเป็นเลือด ความดันโลหิตลดลง ปัสสาวะเป็นเลือด สลบ และเสียชีวิตจากภาวะหายใจล้มเหลว เมื่อด้วงน้ำมันถูกรบกวนหรือถูกจับตัว มันจะขับของเหลวสีเหลืองอ่อนที่มีสารพิษแคนทาริดิน (cantharidin) ออกจากข้อต่อของส่วนขา ถ้าพิษถูกผิวหนังจะเป็นตุ่มพุพองอักเสบ โดยสารนี้จะไม่ถูกทำลายโดยความร้อนจากการหุงต้มหรือเผาไฟ แม้ผู้รับประทานจะนำด้วงน้ำมันไปผ่านความร้อนก็ยังได้รับอันตรายจากแมลงชนิดนี้ นอกจากนี้การกินอาหารที่มีไขมันสูงมีผลทำให้เกิดพิษของสารนี้มากขึ้นอีกด้วย⁹

อาการพิษจากการได้รับพิษมีสองแบบคือ การได้รับพิษแบบแรกเป็นแบบพิษเฉียบพลัน (acute poisoning) ถ้าถูกผิวหนังจะทำให้เกิดการระคายเคือง เป็นตุ่มพุพอง หากรับประทานเข้าไปจะเกิดอาการคล้ายถูกไฟไหม้พุพอง คออักเสบ กลืนอาหารลำบาก ปวดท้อง คลื่นไส้ อูจาระร่วง อาเจียนเป็นเลือด ความดันโลหิตลดลง ปัสสาวะเป็นเลือด สลบและเสียชีวิตจากภาวะหายใจล้มเหลว การได้รับพิษแบบต่อมาเป็นแบบพิษเรื้อรัง (chronic poisoning) อาการคล้ายพิษเฉียบพลัน แต่รุนแรงน้อยกว่า

หากรับประทานสารนี้ ในขนาดประมาณ 50-70 มิลลิกรัม จะทำให้ผู้ใหญ่เสียชีวิตได้ นอกจากนี้สารนี้ยังยับยั้งการทำงานของ protein phosphatases 1 และ 2A ซึ่ง protein phosphatase 2A (PP2A) เกี่ยวข้องกับ metabolism ของ glycogen และการควบคุม cell proliferation และ channels และ receptors บน membrane รวมทั้งสารนี้ยังเกี่ยวข้องกับการปรับสภาพของ protein kinase และ protein phosphatase โดยเฉพาะอย่างยิ่ง protein phosphatase มีส่วนสำคัญในการควบคุมการทำงานของกระบวนการ reversible protein phosphorylation ที่ควบคุม gene transcription, protein-protein interaction, การแบ่งเซลล์และกระบวนการ apoptosis โดย cantharidin ขัดขวางขั้นตอนการ alignment ของ chromatid ในระยะ metaphase ทำให้กระบวนการแบ่งตัวแบบ mitosis ช้าลง ซึ่งมีผลทำให้การเริ่มเกิดระยะ anaphase ช้าลง ซึ่งส่งผลต่อการเกิดกระบวนการ apoptosis ที่ช้าลงด้วย¹⁰⁻¹¹

การรักษาผู้ที่ได้รับอันตรายจากการบริโภคสารนี้ คือ ล้างท้องเพื่อให้สารพิษออกจากร่างกายหรือใช้ผงถ่าน (activated charcoal) ดูดซับสารพิษ การให้เลือดและน้ำเกลือทางหลอดเลือดดำ สำหรับการรักษาระบบไหลเวียนเลือดล้มเหลวและการช็อก โดยการให้เลือดและน้ำเกลือทางหลอดเลือดดำ ส่วนการป้องกันอันตรายที่เกิดกับไต โดยทำให้มีการถ่ายปัสสาวะเพิ่มมากขึ้น ด้วยการให้ของเหลวแมนนิทอล (mannitol) และยาขับปัสสาวะอื่นๆ เข้าทางหลอดเลือดดำ¹²

References

1. Look Chem; look for chemicals. <http://www.lookchem.com/Cantharidin/>
2. พิสุทธิ เอกอำนวยการ. โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ. พิมพ์ครั้งที่ 3. สวนสัตว์แมลงสยาม แมริม เชียงใหม่. 2553.
3. ฐานข้อมูลแมลงศัตรูพืช. http://agkc.lib.ku.ac.th/prap/pest/detail.php?pest_id=236
4. ค้างคาวน้ำมัน. <http://www.agriqua.doe.go.th/plantclinic/Clinic/plant/peanut/blister.htm>
5. ค้างคาวน้ำมัน อันตรายที่ไม่ควรมองข้าม. <http://www.tripandtrek.com/tntboard/index.php?topic=1337.0>
6. SIAM INSECT-ZOO & MUSEUM <http://www.malaeng.com/blog/?cat=57>
7. ค้างคาวน้ำมัน โคนเข้ากับตัวรู้ซึ่งเลย <http://bakabo.exteen.com/20101124/entry>
8. Schmitz DG. Cantharidin poisoning (Blister beetle poisoning)
http://www.merckmanuals.com/vet/toxicology/cantharidin_poisoning_blister_beetle_poisoning/overview_of_cantharidin_poisoning.html
9. Ghoneim K. Cantharidin toxicosis to animal and human in the world: a review. Stand Res J Toxicol Environ H Sci. 2013; 1(1): 1-16.
10. Eldridge R, Casida JE. Cantharidin effects on protein phosphatases and phosphorylation state of phosphoproteins in mice. Toxicol Appl pharmacol. 1995; 130:95-100
11. Bonness K, Aragon IV, Rutland B, Ofori-Acquah S, Dean NM, Honkanen RE. Cantharidin-induced mitotic arrest is associated with the formation of aberrant mitotic spindles and lagging chromosomes resulting, in part, from the suppression of PP2A α . Molec Cancer. 2006; 5(11): 2727-36.
12. <http://daten.didaktikchemie.uni-bayreuth.de/umat/cantharidin/cantharidin.htm>

การตรวจอุจจาระ

Fecal examination

แสงชัย นทีวรรณารณ *

ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์ *

บทคัดย่อ

ถึงแม้อุจจาระจะเป็นสิ่งส่งตรวจซึ่งไม่เหมาะสมต่อการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากการรบกวนของสารสีในน้ำดีและการเสื่อมสลายของ DNA จากเอนไซม์ และแบคทีเรีย แต่การตรวจอุจจาระสามารถช่วยในการระบุโรคในระบบการย่อยอาหาร และช่วยหาสาเหตุของอาการโรคที่เกิดในระบบทางเดินอาหาร การตรวจอุจจาระสามารถใช้ในการตรวจกรองมะเร็งลำไส้ใหญ่จากการตรวจ occult blood :อีกทั้งยังสามารถใช้สิ่งส่งตรวจนี้ในการหาสาเหตุของการติดเชื้อปรสิต แบคทีเรีย เชื้อราและไวรัสได้อีกด้วย

Abstract

Stool is unsuccessful forensics specimen because of the bile pigments inhibitory effect, the degradation of DNA by digestive enzymes and bacteria. However, stool analysis can help identify diseases of the digestive system and help find the cause of symptoms affecting the digestive tract. The analysis can be used for colon cancer screening by checking for hidden (occult) blood. In addition, not only this diagnosis can look for parasites, but it can also look for the cause of an infection, such as bacteria, a fungus, or a virus.

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

การเกิดอุจจาระ

อาหารที่กินเข้าไปผ่านการย่อยในระบบทางเดินอาหาร โดยเริ่มจากการบดเคี้ยวของฟัน การย่อยแป้งของน้ำลาย (Saliva) การย่อยในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก โดยมีอวัยวะช่วยย่อยอื่นๆ เช่น น้ำดีจากตับและตับอ่อน มีการดูดกลับน้ำและสารจำเป็นบางชนิดของลำไส้ใหญ่ ก่อนที่ส่วนที่ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้จะถูกถ่ายออกมานอกร่างกายทางทวารหนักในรูปของอุจจาระ อุจจาระปกติที่เกิดในระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal system) โดยอาหารส่วนที่ร่างกายไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้เช่น Cellulose, แบคทีเรีย, สารคัดหลั่งในระบบทางเดินอาหาร (gastro intestinal secretion), สารสีในน้ำดี (Bile pigment), เซลล์จากลำไส้ (Intestinal wall cells), Electrolytes และ น้ำ¹⁻¹⁰

การตรวจอุจจาระและนิติวิทยาศาสตร์

ถึงแม้จะมีเซลล์บุทางเดินอาหารประมาณ 10^{10} เซลล์ที่ออกมากับอุจจาระในหนึ่งวัน แต่อุจจาระเป็นสิ่งส่งตรวจที่ไม่เหมาะกับการตรวจ nuclear DNA เพราะสารสีจากน้ำดีจะรบกวนการตรวจ DNA typing รวมทั้ง แบคทีเรียและเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารจะทำให้ nuclear DNA เสื่อมสภาพ³ จึงมีการศึกษาที่พยายามจะลดการรบกวนดังกล่าวเพื่อใช้อุจจาระสำหรับการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์ ชีววิทยาและนิเวศวิทยา^{4,5} อย่างไรก็ตาม มีรายงานที่ระบุว่าอุจจาระสามารถใช้ในการตรวจ mitochondrial DNA ได้^{3,5}

การทดสอบหาสาเหตุของท้องร่วง

ปกติน้ำจากอาหารรวมทั้งสารคัดหลั่งที่หลั่งจากน้ำลาย กระเพาะอาหาร ตับ ตับอ่อนและลำไส้รวมแล้วจะมีปริมาตร 500-1,500 มล. จะมีการดูดกลับที่ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ โดยเฉพาะที่ลำไส้ใหญ่จะดูดกลับน้ำได้ถึง 300 มล. น้ำที่ถูกขับออกพร้อมกับอุจจาระจะมีปริมาณเพียง 150 มล. เท่านั้น ปริมาณน้ำในอุจจาระเกิน 3,000 มล. เป็นปริมาณเกินลำไส้ใหญ่จะดูดกลับได้เรียกว่า ท้องร่วง (Diarrhea) แต่ถ้าปริมาณน้ำดูดกลับมากเกินไปที่ลำไส้ใหญ่จะทำให้เกิดท้องผูก (Constipation) ซึ่งทำให้อุจจาระก้อนเล็กและแข็งมาก

การติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และโปรโตซัว ที่ทำให้สูญเสีย Electrolytes และน้ำ ทำให้ลำไส้ใหญ่ไม่สามารถดูดกลับน้ำเรียก Secretory diarrhea ในขณะที่ Osmotic diarrhea เกิดจากร่างกายมีความผิดปกติในการสลายและดูดกลับของสารอาหารของลำไส้ใหญ่ ทำให้พบสารอาหารนั้น ๆ ในอุจจาระ

ตาราง 1 การทดสอบสำหรับหาสาเหตุของอาการท้องร่วง

Secretory Diarrhea	Osmotic Diarrhea
Stool culture	Microscopic fecal fats
Ova and Parasite examination	Muscle fiber detection
Rota virus immunoassay	Qualitative fecal fats
Fecal leukocyte	Trypsin screening
	Muscle Fiber detection
	D-xylose tolerance test
	Lactose tolerance test
	Clinitest

การเก็บสิ่งส่งตรวจที่เป็นอุจจาระ

ผู้ป่วยที่ตรวจอุจจาระ ควรมีการเตรียมตัวเพื่อเก็บสิ่งส่งตรวจให้ถูกต้อง โดยผู้ป่วยควรเก็บอุจจาระที่ถ่ายในกระโถนและไม่ควรมีการปนเปื้อนปัสสาวะ ไม่ควรเก็บอุจจาระที่ถ่ายบนดินและถ่ายกลางแจ้งที่โดนแสงแดด เก็บอุจจาระที่จะทำการตรวจในขวดหรือตลับที่มีฝาปิดป้องกันการหกวมทั้งควรมีการระบุวันที่เก็บอุจจาระด้วย

ผู้ป่วยที่ทำการตรวจอุจจาระเพื่อตรวจ occult blood ควรมีการเตรียมตัวให้ถูกต้องโดยงดอาหารจำพวกเนื้อดิบ เลือด หรือผักผลไม้ที่มี เอนไซม์ peroxidase สูง ก่อนการตรวจสำหรับอุจจาระที่ส่งตรวจ

เพื่อตรวจไข่มดพยาธิ และโปรโตซัวควรรักษาในสารรักษาสภาพ (Preservative) ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจได้ทันที

การเก็บอุจจาระเพื่อตรวจเม็ดเลือดขาว (leukocyte) เส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) และไขมันอุจจาระ (Fecal fat) ควรเก็บในภาชนะมีฝาปิด สำหรับการตรวจไขมันอุจจาระเชิงปริมาณ (Quantitative fecal fat) การอธิบายระยะเวลาในการเก็บและชนิดของอาหารมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการหาปริมาณไขมันอุจจาระ ในการเก็บอุจจาระเพื่อส่งตรวจควรทำการเก็บ 3 วันติดต่อกัน เพื่อให้ผลการตรวจมีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

การตรวจอุจจาระด้วยตาเปล่า (Macroscopic examination)

อุจจาระปกติจะมีสีน้ำตาล การที่อุจจาระมีสีที่แตกต่างกันออกไปจากปกติอาจเกิดจากพยาธิสภาพของระบบทางเดินอาหารได้ ในทางการแพทย์ มีการแบ่งอุจจาระตามลักษณะเป็น 5 ประเภทตามลักษณะของอุจจาระตาม Bristol chart

ตาราง 2 การเกิดสีของอุจจาระ

สี	สาเหตุ
สีน้ำตาล	เกิดจากปฏิกิริยา oxidation ของแบคทีเรียในลำไส้ที่เปลี่ยน Urobilinogen จากการสลายเม็ดเลือดแดงให้เป็น Urobilin
สีดำ	เกิดเลือดออกในระบบทางเดินอาหารส่วนต้น , ธาตุเหล็ก, พงถ่านหรือ Bismuth
สีแดง	เกิดเลือดออกในระบบทางเดินอาหารส่วนปลาย, อาหารจำพวก beefs
สีเขียว	ปฏิกิริยา Oxidation bilirubin เป็น biliverdin , ผักผลไม้ที่มีสีเขียว

ความอ่อนแข็งของอุจจาระ (Consistency)

ในทางปรัลติวิทยา แบ่งอุจจาระตามความอ่อนแข็งของอุจจาระ 3 ลักษณะ

1. อุจจาระก้อนแข็งมาก (Hard) อุจจาระประเภทนี้จะมีน้ำน้อยมาก เมื่อใช้ไม้จิ้มฟันปัก ไม่สามารถตักได้ พบในภาวะท้องผูก
2. อุจจาระอ่อนนุ่ม (Soft) เป็นอุจจาระที่มีรูปร่าง มีปริมาณน้ำไม่เกิน 150 มล.เป็นอุจจาระในภาวะปกติ
3. อุจจาระในภาวะท้องร่วง อาจมีเลือด หรือมูกเลือดปน
4. อุจจาระเป็นน้ำ

อุจจาระในภาวะปกติ จะมีลักษณะอ่อนนุ่ม และคงรูปร่าง(form) มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ในภาวะท้องผูก (constipation) ก้อนจะเล็กและแข็ง ในภาวะที่มีการอุดตันของทางเดินน้ำดี จะมีสีซีดขาว ปริมาณมาก(bulk) มีฟอง (frothy) และมีกลิ่นเหม็น (foul odor) รูปร่างลักษณะคล้ายทรงกระบอก ลักษณะคล้ายแถบริบบิ้น (ribbon-like stool)

ปกติเยื่อเมือก (mucus) จะไม่พบหรือพบน้อยมากในระบบทางเดินอาหาร เมื่อตรวจอุจจาระด้วยตาเปล่า พบมูก จะรายงานผล Mucus ; Positive และ Mucus ; Negative เมื่อไม่พบ เช่นเดียวกับเลือด จะไม่พบเลือดเมื่อตรวจอุจจาระด้วยตาเปล่า ถ้าเลือดออกมากับอุจจาระเกิน 3 มล. แสดงว่ามีโรคในระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal disease) เลือดที่ออกจากระบบทางเดินอาหาร ส่วนบนตั้งแต่ ปากถึงกระเพาะอาหาร เม็ดเลือดแดงจะถูกน้ำย่อยในกระเพาะอาหารเปลี่ยน ฮีโมโกลบิน เป็น ฮีม และโกลบิน ส่วนเลือดที่ออกในระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง ตั้งแต่ลำไส้เล็กส่วน Duodenum ไปถึงรูทวารหนัก (Anus) มักพบเม็ดเลือดแดงออกมา เมื่อพบเลือดที่เห็นด้วยตาเปล่าในอุจจาระจะรายงานลักษณะที่เห็นคือ Blood gross ; Positive และ ไม่พบเลือดจะรายงาน Blood gross ; Negative

การตรวจอุจจาระด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination) เรียกว่า Simple smear examination wet mount หรือ Direct examination เป็นการหาไข่พยาธิ ตัวอ่อน ปล้องพยาธิ รวมทั้งหาโปรโตซัว นอกจากนี้หากพบเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวต้องรายงานให้แพทย์ทราบ

ขั้นตอนการตรวจ simple smear ⁸

1. หยด 0.85 % NaCl (Normal Saline หรือ NSS) 1 หยดบนสไลด์แก้ว ในกรณีที่ต้องการย้อมสีนิวเคลียส ของโปรโตซัวให้ชัดเจนขึ้นอาจใช้ 1% I₂ แทน 0.85 % NaCl
2. ใช้ไม้จิ้มอุจจาระเท่าหัวไม้ขีด จิ้มและป้ายบนหยดของ NSS เกลี่ยให้กระจายตัวดี
3. ปิดด้วย Cover slip อย่าให้เกิดฟองอากาศ

การตรวจมักจะตรวจคร่าว ๆ ด้วยกล้องหัว 10X และเมื่อพบปฏิกิริยาจะยืนยันที่หัว 40X สำหรับสไลด์ที่ตรวจอาจตรวจจากบนสไลด์ล่างไปมาจนถึงสิ้นสุด Cover slip หรือจากซ้ายไปขวา และสไลด์ตัวอย่างที่ดี เมื่อนำไปวางบนหนังสือพิมพ์ต้องพอที่จะมองเห็นตัวหนังสือเมื่อมองผ่าน Cover slip บริเวณเกลี่ยอุจจาระไว้

การรายงานผลการตรวจอุจจาระ ผู้ตรวจจะต้องรายงาน ชื่อวิทยาศาสตร์ และระยะของปรสิตที่ตรวจพบเช่น *Giardia lamblia* cyst จะรายงานเป็น Not found หรือ Not seen ในช่อง Parasite เมื่อตรวจไม่พบ ปรสิตใดเลยในอุจจาระตัวอย่างสิ่งหนึ่งที่ผู้ตรวจควรคำนึงถึงคือต้องรายงานผลการตรวจพบเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงให้แพทย์ทราบ

การตรวจหาสาเหตุของโรคจากอุจจาระ

Fecal leukocyte

เม็ดเลือดขาวในอุจจาระส่วนใหญ่จะพบชนิด neutrophil การพบเม็ดเลือดขาวใน feces จะบ่งถึงพยาธิสภาพอาจเกิดที่ Intestinal mucosa เช่น Ulcerative colitis และ Bacterial dysentery การตรวจ Fecal leukocyte สามารถทำได้โดยวิธี wet preparation ทำโดยการย้อมสีเม็ดเลือดขาวด้วยสี Wright stain และ สีแกรม นอกจากนี้การทำ Fecal leukocyte สามารถย้อม Lectoferrin โดยวิธี Latex agglutination โดยการย้อม Secondary granules ของเม็ดเลือดขาว

ขั้นตอนการตรวจ Fecal leukocyte โดย การย้อม Methylene blue

1. หยด อุจจาระ 1 หยด
2. หยด Löffler's methylene blue 2 หยด
3. ผสมอุจจาระ ทิ้งไว้ 2-3 นาที
4. ดู WBC ด้วย High power field

Muscle fiber

เป็นการตรวจ กล้ามเนื้อลายที่ไม่ถูกย่อยจากอาหารที่กิน เป็นการวินิจฉัยความผิดปกติของการทำงานของตับอ่อน การพบกล้ามเนื้อลายที่ไม่ย่อยในอุจจาระ จะพบในโรคทางเดินน้ำดีอุดตันและการทะลุเข้าหากันของลำไส้ใหญ่ การตรวจ muscle fiber มักตรวจควบคู่กับ fecal fat เมื่อตรวจพบ Undigested fiber 10 fiber ให้รายงานผล Increase

การเตรียมตัวก่อนการตรวจ muscle fiber ผู้ป่วยควรงดกินเนื้อแดงก่อนการเก็บอุจจาระ และหลังจากนั้น ควรตรวจภายใน 24 ชั่วโมง หลังการเก็บอุจจาระ สำหรับวิธีการตรวจ ผสมอุจจาระ กับ 10% Eosin ใน Alcohol ทิ้งไว้ 3 นาที แล้วนับจำนวน undigested fiber

การทดสอบ APT

อุจจาระของทารกอาจพบเลือดหรือการอาเจียนจากการกลืนเลือดแม่ระหว่างคลอด APT test เป็นการทดสอบหนึ่งเพื่อแยกเลือดทารกจากเลือดแม่ในอุจจาระหรืออาเจียน การทดสอบ APT ใช้หลักการ alkaline-resistant ของ fetal hemoglobin สำหรับการอ่านผลการทดสอบ สารละลายจะเป็นสีชมพูถ้าเป็นเลือดทารก และสารละลายจะเป็นสีน้ำตาลเหลืองเมื่อเป็น เลือดแม่ การทดสอบนี้ใช้ทดสอบการเลือดออกในทางเดินอาหารของทารก รวมทั้งการสลายเลือดแม่ของทารก เพื่อ เป็นการแยก fetal hemoglobin ออกจาก hemoglobin A, CS และ SS

ข้อควรระวังในการแปลผลอย่างหนึ่งคือ แม่ที่เป็น thalassemia major จะมี hemoglobin F สูง ทำให้ผลการตรวจผิดพลาด อุจจาระที่ใช้ในการทดสอบต้องเป็นอุจจาระที่ถ่ายออกมาใหม่ๆ และเป็นอุจจาระที่มีลักษณะของเลือด โดยอุจจาระที่ตรวจไม่ควรเป็นอุจจาระดำ หรือสีน้ำมันดิน เพราะอุจจาระในลักษณะดังกล่าวจะเป็น denature Hb ทำให้แปลผลผิดพลาด

Fecal enzyme

การพบอุจจาระมีไขมันสูง และอาหารที่ไม่ย่อยใน feces พบในการทำงานของตับอ่อนผิดปกติเช่น ตับอ่อนอักเสบเรื้อรัง, cystic fibrosis สำหรับ fecal enzyme จะตรวจ enzyme ในกลุ่ม phospholytic enzyme ได้แก่ trypsin, chymotrypsin และ elastase 1 วิธีการทดสอบนี้อาศัยหลักการที่ trypsin ในอุจจาระ Expose

กับ Film X ray จะย่อย gelatin บน film X ray เกิดเป็น clear area ซึ่ง fecal enzyme จะพบในคนไข้ที่มีความผิดปกติของตับอ่อนอย่างรุนแรง ผล false negative ของการทดสอบนี้เกิดจากการ degradation ของ trypsin หรือ ในอุจจาระมี trypsin inhibitor และผล false Positive ของการทดสอบเกิดจาก proteolytic enzyme ในตัวแบคทีเรียในอุจจาระที่ทิ้งไว้นาน ส่วนการตรวจนิยมนตรวจ chemotrypsin ในอุจจาระ นิยมนตรวจด้วย spectrophotometer มากกว่า

ส่วน elastase 1 เป็น Isoenzyme ใน pancrease product เอนไซม์ elastase 1 จะสูงใน pancreatic secretic secretion และ elastase 1 เป็น strongly resist degradation แต่นิยมนตรวจ fecal elastase 1 โดย immunoassay elastase เป็น sensitive Indicator ของการทำงานที่ผิดปกติของตับอ่อน

การตรวจ Carbohydrate (CHO) ใน Feces

เป็นการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติในการ reabsorb คาร์โบไฮเดรต ของลำไส้ พบในโรคที่เกิดกับลำไส้หรือภาวะพร่องเอนไซม์ในการย่อย CHO แต่ความผิดปกติของการดูดซึม CHO นิยมนตรวจใน Serum และ Urine มากกว่า

Fecal CHO ใช้หลักการ copper reduction ผลตรวจ CHO ใน Feces มักเป็นไปในทางเดียวกับ pH ปกติใน อุจจาระ pH ประมาณ 7-8 แต่ถ้ามีความผิดปกติในการใช้ CHO pH อาจต่ำกว่า 5.5 ได้ เพราะแบคทีเรียใช้ CHO เพิ่มขึ้น การตรวจความผิดปกติของ CHO ในอุจจาระใช้หลักการ Copper reduction โดยเมื่ทดสอบปียี่ห้อ Clinitest ของ Bayer ค่าปกติของ CHO ในอุจจาระต่ำกว่า 0.5 g/dL ถ้าผลตรวจ CHO test ในอุจจาระเป็น positive ควรตรวจ CHO tolerance ใน serum ในการตรวจ CHO ใน feces นิยมนตรวจ D-xylose เพื่อทดสอบ malabsorption และตรวจ lactose tolerance test ใน maldigestion

Fecal Fat

การตรวจมี 2 ลักษณะ เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ fecal fat เป็นการตรวจความผิดปกติของการดูดซึมไขมัน การตรวจไขมันใน Fece มักตรวจ Neutral fats ซึ่งก็คือ Triglyceride , Soap คือ Fatty acid salt, Fatty acid และ Cholesterol ย้อมไขมันในอุจจาระด้วยสี Sudan III Sudan IV และ Oil red O การย้อม neutral fat ด้วยสี Sudan III จะเห็นเป็น Droplet สีส้มแดงขนาดใหญ่มักอยู่ที่ขอบ Coverslip โดยหากพบ 60 droplet/HP แสดงว่ามีไขมันในอุจจาระสูง ส่วนการย้อม split fat จะตรวจ total fat content การตรวจ total fat content จะดีกว่าการตรวจ Neutral fat เพราะ Neutral fat จะถูก Bacterial lipase และ Spontaneous hydrolysis

ทำให้ค่า Neutral fat ต่ำกว่าความเป็นจริง เพราะฉะนั้นควรทำการตรวจควบคู่กันทั้งสองการทดสอบ ปกติแล้ว soap และ fatty acid จะไม่ถูกย้อมด้วย Sudan III แต่เมื่อ soap และ fatty acid ผสมกับ acetic acid และให้ความร้อน free fatty acid และ fatty acid soap และ neutral fat จะถูกย้อมด้วย Sudan III การอ่านและการแปลผล normal specimen จะไม่พบ droplet หรือ พบ droplet เล็กกว่า 4 ไมโครเมตร น้อยกว่า 100 droplets/HPF ถ้าพบ droplet 1-8 ไมโครเมตร มากกว่า 100 droplets รายงาน Slightly increase และ ถ้าพบ Droplet 6-7 ไมโครเมตร มากกว่า 100 droplets รายงานผล Increase

ขั้นตอนการย้อม Neutral Fat

ผสมอุจจาระ 1 ส่วน กับน้ำ 2 ส่วน หยด 95% ethanol 1 หยด Sudan III จำนวน 2 หยด ผสมให้เข้ากัน สังเกต droplet สีส้มแดง นับจำนวน รายงานผล HPF

ขั้นตอนการย้อม Split fat

ผสมอุจจาระ กับ 36% acetic acid 1 หยดในหลอดทดลอง หยด Sudan III จำนวน 2 หยด ผสมให้เข้ากัน ใส่หลอดทดลองในบีกเกอร์น้ำร้อน 5 นาที นับจำนวน Droplets

Quantitative fecal fat

ถ้าสามารถตรวจทั้งวิธี quantitative และ qualitative fecal fat จะให้ผลที่ถูกต้องและแน่นอน

การตรวจเชิงปริมาณ ควรเก็บอุจจาระ 3 วันและมีการจำกัด fat intake 100 g/day ในช่วงเวลาที่เก็บอุจจาระตรวจ การตรวจเชิงปริมาณจะมีการบอก significant of fat retention แต่มักไม่นิยมตรวจเชิงปริมาณ เพราะยุ่งยาก

Fecal occult blood

Fecal occult blood (FOB) คือเลือดในอุจจาระปริมาณน้อย ๆ ที่ไม่สามารถสังเกตเห็นด้วยตาเปล่า โดยเลือดที่ออกในทางเดินอาหารส่วนบนจะมีสีดำ ส่วนเลือดที่ออกในทางเดินอาหารส่วนล่างจะเห็นเป็นเลือดสด ถ้าในอุจจาระถ้ามีเลือดมากกว่า 20 ml/150 g stool แสดงว่ามีพยาธิสภาพ

การตรวจนี้เป็นการทำนายโรคมะเร็งลำไส้และไส้ตรง ในระยะเริ่มแรก หลักการของการตรวจคือการเปลี่ยนสี chromogen จาก pseudoperoxidase ในเม็ดเลือดแดง ทำให้ chromogen เปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสี

ที่เห็นด้วยตาเปล่า สำหรับ chromogen ที่ใช้ได้ ได้แก่ Benzidine, Ortho toluidine และ gum guaiac การทดสอบ occult blood ในงานประจำ นิยมใช้ guaiac เป็น chromogen หลักการของการทดสอบ คือ hemoglobin และ developer ซึ่งได้แก่ H_2O_2 จะเกิดเป็นน้ำกับออกซิเจนแล้วออกซิเจนจะไป oxidized guaiac เป็นสีน้ำเงิน ในการทดสอบถ้ามี degradation ของ hemoglobin ไปเป็น porphyrin เกิด false negative สิ่งที่รบกวนการตรวจ Occult blood โดย gum guaiac false positive เกิดจากยาแอสไพริน ยาต้านการอักเสบ อาหารเช่น เนื้อแดง หัวไชเท้า บล็อกโครีดิบ ดอกกะหล่ำ การปนเปื้อนประจำเดือนและริดสีดวง ก็เป็นสาเหตุของ false positive ส่วน false negative เกิดจาก Vitamin C รวมทั้งอาหารเสริมที่มีเหล็กและวิตามิน C เป็นส่วนประกอบ

วิธีการทดสอบ Hexagon obscreen

ใช้ Spatula ป้ายอุจจาระ ในช่องแรก ใช้ Spatula อันที่ 2 ป้ายอุจจาระตัวอย่างเดิมในบริเวณอื่นๆ ป้ายอุจจาระในช่อง 2 หยด Activator จากนั้นหยด Developer 1 หยดอ่านผลภายใน 30 วินาที⁵⁻¹⁰

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการตรวจ FOB ให้จำเพาะกับเม็ดเลือดแดงคนโดยใช้หลักการ immunochromatography เพื่อลดการเกิดผลบวกลบและผลบวกปลอมในการตรวจ¹¹

References

1. Strasinger SK, Lorenzo MS. Urinalysis and body fluid. Philadelphia, F.A. Davis Company. 2008.
2. Nickell J, Fischer JF. Crime science :methods of forensic detection. USA, The University Press of Kentucky. 1999.
3. James ST, Nordby JJ. Forensic science: an introduction to scientific and investigative technique. Florida: CRC press, 2002.
4. Li M, Gong J, Cottrill M, Yu H, de Lange C, Burton J, Topp E. Evaluation of QIAamp DNA Stool Mini Kit for ecological studies of gut microbiota. J Microbiol Methods. 2003 ;54(1):13-20.
5. Hopwood AJ, Mannucci A, Sullivan KM. DNA typing from human faeces. Int J Legal Med. 1996;108(5):237-43.
6. แสงชัย นทีวรรณารณ. การเปรียบเทียบชุดทดสอบ Guaiac และ น้ำยา Kastle Meyer สำหรับตรวจ fecal occult blood. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2552; 2(3): 1-10.

7. แสงชัย นทีวรณารถ. การตรวจอุจจาระทางห้องปฏิบัติการ. เอกสารประกอบคำสอนวิชาเทคนิคพื้นฐานทางเวชศาสตร์ชันสูตร. พิษณุโลก คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2555.
8. ไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์. การทดสอบ Kastle-Meyer และการประยุกต์ใช้ในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2555; 4(2): 179-84.
9. อาจารย์ประจำกลุ่มวิชาโลหิตวิทยาและจุลทรรศนศาสตร์คลินิก. คู่มือปฏิบัติการวิชาการตรวจปัสสาวะและสารน้ำในร่างกาย เล่ม 1. พิษณุโลก คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2555.
10. คณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา. คู่มือปฏิบัติการวิชาการปรสิตวิทยาทางการแพทย์. พิษณุโลก คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2556.
11. แสงชัย นทีวรณารถ. เอกสารประกอบคำสอนวิชาฝึกงานทางเทคนิคการแพทย์. พิษณุโลก คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2556.

Sibutramine

ภญ. รุจิรา บุญส่อง *

ดอกรัก ก้อนทอง **

บทนำ

เมื่อปี ค.ศ.2002 Sibutramine จำหน่ายเป็นครั้งแรกในสหรัฐอเมริกา ส่วนในประเทศไทย บริษัท Abbott laboratory จำกัด เป็นผู้นำเข้าและจำหน่ายภายใต้ชื่อทางการค้าคือ Reductil ยาตัวนี้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม “ยาควบคุมพิเศษ” ใช้สำหรับควบคุมน้ำหนักในผู้ที่มีดัชนีมวลกายตั้งแต่ 30 kg/m^2 หรือในผู้ที่มีดัชนีมวลกายตั้งแต่ 27 kg/m^2 ร่วมกับมีปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ (เช่น โรคเบาหวาน ภาวะไขมันในเลือดสูง และความดันโลหิตสูงที่ควบคุมได้) ในปีเดียวกันนี้ ได้มีการศึกษา Sibutramine Cardiovascular Morbidity/Mortality Outcomes in Overweight or Obese Subjects at Risk of a Cardiovascular Event (SCOUT : Sibutramine Cardiovascular OUTcome Trial)¹ พบว่า Sibutramine มีผลกระทบต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยมีผลเพิ่มอัตราการเกิดภาวะหัวใจขาดเลือด หลอดเลือดในสมองแตก หัวใจหยุดเต้น หรือเสียชีวิต โดยเฉพาะผู้ที่มีประวัติเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดอยู่แล้ว ดังนั้น ในปี 2009 องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (US FDA) และไทย (Thai FDA) จึงได้ทำการถอนทะเบียนตำรับยาทุกตำรับที่มีส่วนประกอบของ Sibutramine

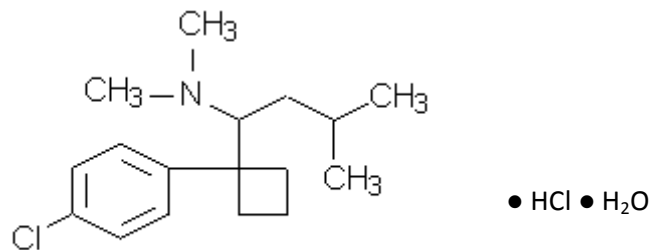
* เกษัชกร ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฝายนิติเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

Sibutramine คืออะไร

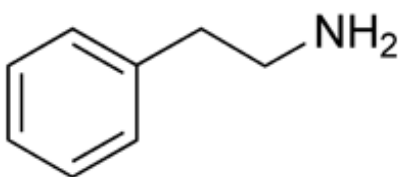
ในช่วงเริ่มต้น Sibutramine ถูกพัฒนาเพื่อใช้เป็นยาในการรักษาโรคซึมเศร้า หลังจากนั้นได้ทำการศึกษาทดลอง sibutramine ในอาสาสมัคร พบว่านอกจากจะมีผลในการรักษาโรคซึมเศร้าแล้วยังสามารถใช้ในการควบคุมน้ำหนักได้ด้วย ดังนั้นในปี ค.ศ.2001 sibutramine จึงถูกนำเข้าสู่ท้องตลาดในฐานะยาที่เป็นยาลดความอยากอาหาร (Appetite suppressant) ภายใต้ชื่อทางการค้า Reductil หรือ Meridia²

Sibutramine มีชื่อสามัญคือ sibutramine hydrochloride monohydrate โดยเป็นอนุพันธ์ของ Phenylethylamine ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับ Amphetamine (รูปที่ 2) ลักษณะทางกายภาพของ Sibutramine เป็นผงผลึก สีขาวถึงสีครีม ความสามารถในการละลายน้ำ 2.9 mg/mL (pH 5.2)

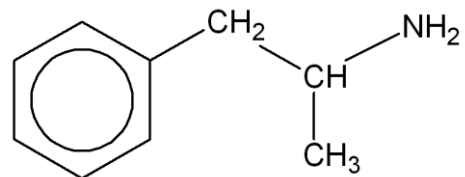


รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ Sibutramine hydrochloride monohydrate

(<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/PublicHealthAdvisories/UCM130745.pdf>)



Phenylethylamine



Amphetamine

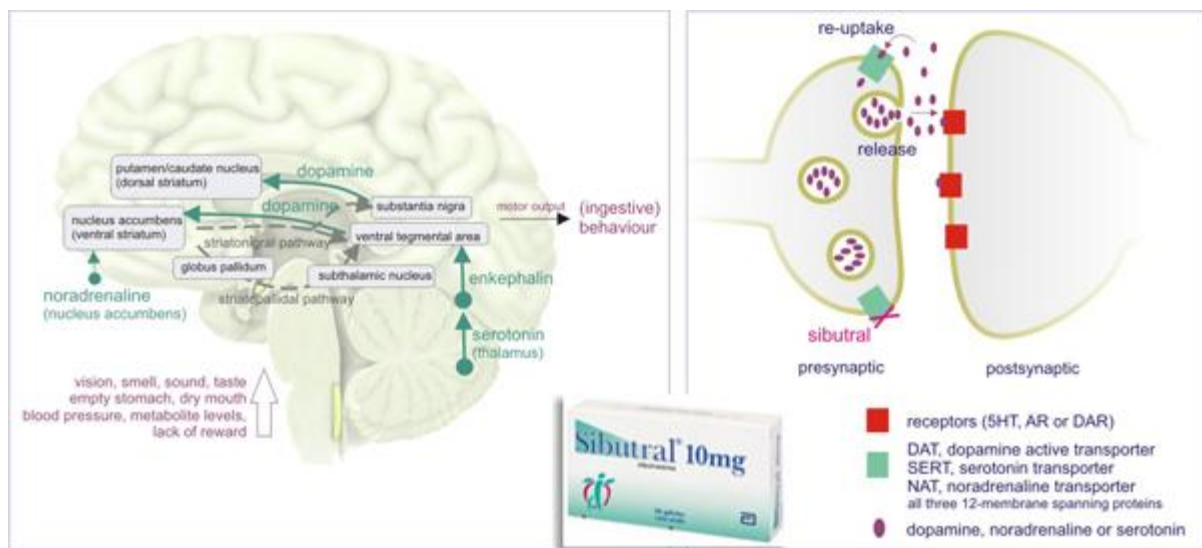
รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ Phenylethylamine และ Amphetamine (<http://the-medical-dictionary.com>)

ข้อบ่งใช้

ใช้ควบคุมน้ำหนักร่วมกับโปรแกรมควบคุมน้ำหนักในผู้ที่มีดัชนีมวลกายตั้งแต่ 30 kg/m^2 หรือในผู้ที่มีดัชนีมวลกายตั้งแต่ 27 kg/m^2 แต่มีปัจจัยเสี่ยง เช่น โรคเบาหวาน ภาวะไขมันในเลือดสูง และความดันโลหิตสูงที่ควบคุมได้ โดยแนะนำให้ใช้ในขนาด 10 – 15 มิลลิกรัมต่อวัน¹

กลไกการออกฤทธิ์

Sibutramine ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการเก็บกลับของ serotonin-noradrenaline (รูปที่ 3) และอาจมีผลกระทบต่อการทำงานของ dopamine ด้วย โดยผลจากการเพิ่มขึ้นของ noradrenaline จะมีผลทำให้ dopamine ลดลง ส่งผลให้ลดความอยากอาหาร และการเพิ่มขึ้นของ serotonin จะมีผลทำให้อิ่มนานขึ้น²



รูปที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของ sibutramine ที่ Synaptic cleft²

ผลข้างเคียงจากการรับประทาน Sibutramine

อาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยามีตั้งแต่ ท้องผูก ปากแห้ง นอนไม่หลับ คลื่นไส้ หลุดเลื่อดขยา ความดันโลหิตสูง หัวใจเต้นเร็ว ใจสั่น สับสน อ่อนแรง ปวดหัว วิดกกังวล เหงื่อออก การรับรสของลิ้นเปลี่ยนไป โดยอุบัติการณ์การเกิดแตกต่างกันไป แต่ปัญหาที่ทั่วโลกให้ความสนใจคือปัญหาเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด⁴

ปฏิกิริยาระหว่าง sibutramine กับยาอื่นๆ

ผู้ที่รับประทานยา sibutramine ควรระมัดระวังการรับประทานยาอื่นๆ เนื่องจากอาจเกิดอันตรายได้ เช่น

- ยาที่มีผลเพิ่มซีโรโทนิน (serotonergic agent) เช่น tramadol, ergotamine, ยากลุ่ม triptans, lithium, venlafaxine, fluoxetine, sertraline, paroxetine และ selegiline เนื่องจากการใช้ยา sibutramine ในผู้ป่วยเหล่านี้อาจเสี่ยงต่อการเกิดภาวะที่เรียกว่า serotonin syndrome ซึ่งจะมีอาการใจสั่น ความดันโลหิตสูงขึ้น อุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น กล้ามเนื้อกระตุก (myoclonus) และสภาพจิตใจเปลี่ยนแปลง เช่น ซึมเศร้า กังวล หวาดระแวง เป็นต้น

- ยาที่มีผลยับยั้งเอนไซม์ Cytochrome P450 ชนิด 3A4 (CYP3A4) เช่น azithromycin, clarithromycin, ketoconazole, ritonavir, cimetidine หรือ verapamil เป็นต้น เนื่องจากยา sibutramine จะถูกทำลายโดยเอนไซม์ CYP3A4 หากผู้ป่วยรับประทานยา sibutramine ร่วมกับยาที่มีผลยับยั้งเอนไซม์ CYP3A4 อาจส่งผลทำให้ระดับยา sibutramine ในกระแสเลือดสูงขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับอันตรายจากผลข้างเคียงของยาได้ ดังนั้นผู้ป่วยควรแจ้ง แพทย์หรือเภสัชกรทุกครั้งว่ายาที่ตนเองรับประทานอยู่นั้นมีอะไรบ้าง⁴

นอกจากนั้นแล้ว ยังพบผู้ที่แพ้ Sibutramine จากการรับประทานยาลดความอ้วนยี่ห้อผิงบุก โดยมีอาการแพ้แบบ TEN (Toxic Epidermal Necrolysis) Syndrome (มีใช้นามาก่อนอาการทางผิวหนัง 2-3 วัน มีผื่นตามตัวอาจราบหรือนูนและแดงแฉกๆ โน้มจะรวมกันเป็นแผ่นใหญ่ เชื้อในช่องปาก อวัยวะเพศและ/หรือเยื่อตาเกิดการอักเสบ และบางรายมีอาการของเยื่อระบบทางเดินหายใจและลำไส้ด้วย)⁶

การยกเลิกการใช้ยา Sibutramine โดยองค์การอาหารและยา เมื่อปี พ.ศ. 2553

เมื่อปี พ.ศ. 2552 องค์การอาหารและยาทำการแจ้งเตือนบุคลากรทางการแพทย์และผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากการใช้ยา Sibutramine ในผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน และการเกิด stroke ของผู้ป่วยได้ โดยอ้างอิงข้อมูลจากการศึกษา “SCOUT” (Sibutramine Cardiovascular Outcomes Trial) โดยทำการศึกษาในผู้ป่วยน้ำหนักเกิน หรืออ้วน ที่มีอายุมากกว่า 55 ปีขึ้นไป และมีประวัติเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ สืบพันธุ์ ความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง เบาหวานชนิดที่ 2 ไม่ออกกำลังกาย ประมาณ 10,000 ราย พบว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจสูงขึ้นสัมพันธ์กับการใช้ยา Sibutramine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ต่อมาในปี พ.ศ.2553 องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้ประกาศให้ทราบว่า บริษัท Abbott laboratory จำกัด แจ้งถอนยา Sibutramine ออกจากตลาดโดยสมัครใจ เนื่องจากข้อมูลการทดลองทาง

คลินิก (SCOUT : Sibutramine Cardiovascular OUTcome Trial) ซึ่งให้เห็นว่ายาดังกล่าวเพิ่มความเสี่ยงต่อกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดและโรคหลอดเลือดสมองถึงร้อยละ 16 เมื่อเทียบกับยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงน้ำหนักที่ลดลงของผู้ที่ได้รับยานี้ กับผู้ที่ได้รับยาหลอกแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ บริษัท Abbott laboratory จำกัด ซึ่งเป็นผู้นำเข้าผลิตภัณฑ์ Reductil (Sibutramine) ในประเทศไทย ได้ขอยกเลิกทะเบียนตำรับยาดังกล่าวในประเทศไทยด้วย เนื่องจากมีข้อมูลบ่งชี้ว่า ยาดังกล่าวนี้มีความเสี่ยงมากกว่าประโยชน์ เมื่อมีการยกเลิกทะเบียนตำรับยาแล้ว และเพื่อมิให้เกิดความเสี่ยง จึงขอให้แพทย์ หรือเภสัชกรหยุดการสั่งจ่ายยา Sibutramine นับตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป ในส่วนของผู้ป่วยที่กำลังรับประทานยา Sibutramine ควรหยุดใช้ยาและปรึกษาแพทย์ถึงทางเลือกอื่นในการลดน้ำหนัก รวมถึงการควบคุมอาหาร และออกกำลังกายตามความเหมาะสมของแต่ละบุคคล

Sibutramine ในปัจจุบัน

ถึงแม้ว่า Sibutramine ได้ถอนออกจากตลาดแล้ว แต่ยังมียาและอาหารเสริมที่ตรวจพบส่วนผสมของ Sibutramine อยู่ยกตัวอย่าง เช่น จากการตรวจสอบของสำนักงานสาธารณสุข ขอนแก่น พบว่า ผงบุก กวางแดง มีส่วนผสมของสาร Sibutramine ซึ่งปัจจุบันยังคงมีการวางขายอยู่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ รุจิราและคณะ (2013) พบ Sibutramine ในยาลดความอ้วน ยี่ห้อผงบุกกวางแดง และผงบุก (รูปที่ 4) เช่นเดียวกัน⁷



รูปที่ 4 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ผงบุกกวางแดง และผงบุก

นายแพทย์บุญชัย สมบูรณ์สุข เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาเปิดเผยว่า กรณีที่ศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้รับข้อมูลจากหน่วยควบคุมกำกับด้านยา (HSA: Health Sciences Authority) ประเทศ สิงคโปร์ มีการตรวจพบ ผู้โดยสารหญิงนำเม็ดยาไม่ระบุชื่อจำนวนหลายชนิด สั่งจ่ายโดยโรงพยาบาลเอกชนแห่งหนึ่งในประเทศไทย เมื่อนำไปตรวจ

วิเคราะห์ พบว่าเป็นยาชุดลดน้ำหนัก สูตรค็อกเทล ของตัวยาแผนปัจจุบันหลายชนิด ได้แก่ bisacodyl, chlorpheniramine, fluoxetine, thyroxine, frusemide, sibutramine, hydrochlorothiazide โดยขนาดของยา Sibutramine เป็นขนาดที่ใกล้เคียงหรือมากกว่าขนาดยาที่ใช้ในการรักษาสูงสุดต่อวัน หรือ 15 มิลลิกรัม HSA จึงทำการตรวจสอบเพิ่มเติมจนทราบข้อมูลว่า ยาชุดดังกล่าวมีการจำหน่ายทางอินเทอร์เน็ต และ online forum ในชื่อ Slimming pills ยี่ห้อต่าง ๆ เช่น ยี่ห้อตามชื่อโรงพยาบาล เป็นต้น อย. จึงเร่งดำเนินการตรวจสอบข้อมูลเกี่ยวกับยา Sibutramine พบว่า ถูกถอนทะเบียนไปแล้วตั้งแต่วันที่ 11 ตุลาคม 2553³



รูปที่ 5 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก Sliming pills สูตร Cocktail

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบสารไซบูทรามิน (Sibutramine) เจือปนในกาเฟลลดความอ้วน 3 ยี่ห้อ นอกจากนี้ ทาง อย. ได้ตรวจสอบตลาดโฆษณากาเฟลลดความอ้วนทั้ง 3 รายการ พบข้อความระบุสรรพคุณเกินความเป็นจริง ได้แก่



- 1."กาแฟมหัศจรรย์ 26 วัน ผอม (รูปที่6) มี 26 ซอง บรรจุซองละ 10กรัม"
ระบุข้อความบนฉลากสีขาว-แดง ข้างกาแฟบรรจุกระป๋องโลหะทรงกลม

รูปที่ 6 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก กาแฟมหัศจรรย์ 26 วัน ผอม



2. "สำหรับคนดี (ลดยาก) Brazil Potent Slimming Coffee (รูปที่7)
ขนาด 10 กรัม/ถุง 26 ถุง ผู้ร่วมผลิต : บริษัท เทคโนโลยีชีวภาพอ้าย
ชื่อหยวนเยอร์มันนิกรูป จำกัด บริษัท ผลิตภัณฑ์บำรุงสุขภาพไห่ฝาง
ซินเพ็ง จำกัด เลขที่ 29 ถนนเหอผิง เขตไห่เจิน เมืองไห่ฝาง" ระบุ
ข้อความบนฉลากสีดำ-แดง กาแฟบรรจุรวมในกระป๋องโลหะทรงรี

รูปที่ 7 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก กาแฟสำหรับคนดี (ลดยาก) Brazil Potent Slimming Coffee



- 3."Slimming Coffee Lishou Instant Coffee"(รูปที่8) ระบุข้อความบน
กาแฟบรรจุกล่องกระดาษรูปทรงสี่เหลี่ยมสีน้ำตาลทอง รูปถ้วยกาแฟ

รูปที่ 8 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก กาแฟ Slimming Coffee Lishou Instant Coffee

อย่างไรก็ตาม ขณะนี้ได้มีการดำเนินคดีทางกฎหมายแก่ผู้จำหน่าย กรณีแสดงฉลากไม่ถูกต้อง มีโทษ
ปรับไม่เกิน 30,000 บาท และ อย.ได้แจ้งไปยังสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดทั่วประเทศเฝ้าระวังไม่ให้
ผลิตภัณฑ์กาแฟดังกล่าวเด้ดออกมามีจำหน่ายได้ ซึ่งหากพบผู้ใดผลิตหรือนำเข้าเพื่อจำหน่าย จะมีโทษ
จำคุกไม่เกิน 2 ปี หรือปรับไม่เกิน 20,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ³

References

1. U.S. Food and Drug Administration [homepage on the Internet]. US: Early Communication about an Ongoing Safety Review of Meridia (sibutramine hydrochloride), [updated 2013 April 18; cited 2014 Jun 4]. Available from:
<http://www.fda.gov/drugs/drugsafety/postmarketdrugsafetyinformationforpatientsandproviders/drugsafetyinformationforhealthcareprofessionals/ucm191650.htm>
2. Cell Biology Promotion [homepage on the Internet]. France: Obesity Project SVI632, [updated 2010 Sep 30; cited 2014 Jun 4]. Available from: <http://www.cellbiol.net/ste/alpobesity5.php>
3. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (<http://www.fda.moph.go.th>)
4. Sibutramine. DRUGDEX[®] 2.0 Evaluations. [Online]. Available from: MICROMEDEX[®] Healthcare Series; 2014. [cited 2014 Jun 4].
5. American Heart Association [homepage on the Internet]. US: Heart Attack Risk Assessment, [updated 2014; cited 2014 Jun 5]. Available from: <http://www.heart.org/>
6. วลัยธร ปรัชญพฤทธิ. Stevens Johnson syndrome และ Toxic epidermal necrolysis [อินเทอร์เน็ต]. ตีพิมพ์: สถาบันโรคผิวหนัง กรมการแพทย์ [เข้าถึงเมื่อ 5 มิ.ย. 2557]. เข้าถึงได้จาก:
<http://www.trangskin.org/UserFiles/emergency%20in%20derm.pdf>
7. Rujira B, Songpol S, Verachai K, Nat T. Determination of substance in street anti-obesity products: Konjac glucomannan capsule. Proceeding of 5th Asian Forensic Sciences Network; Annual meeting & Symposium. 2013 Nov 11-14. Singapore. P 84-85.

Paracetamol Toxicity

ภก.ทรงพล ศรีนวล *

พาราเซตามอล เป็น ยาแก้ปวดแก้ไข้ ที่มีใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยและในทั่วโลก และเป็นยาที่สามารถหาซื้อได้ง่าย ประชาชนทั่วไปสามารถเข้าถึงยาได้อย่างง่ายดาย แต่เพราะความที่สามารถเข้าถึงได้ง่าย คนก็มักจะมองข้ามความปลอดภัยของการใช้ยาดังกล่าวไป หลายคนคิดว่า กินพาราเซตามอล (หรือยาแก้ปวดที่ชาวบ้านเรียกกัน) กินเกินก็ไม่เป็นไร ก็ไม่เห็นมีอะไรเกิดขึ้น แต่คุณรู้หรือไม่ว่า “นั่นเป็นความคิดที่ผิด” เพราะอย่างที่คำกล่าวของพาราเซลซัส (Paracelsus) กล่าวไว้ว่า “สารทุกชนิดเป็นพิษและไม่มีสารใดที่ไม่เป็นพิษ” ดังนั้น ยาแก้ปวดลดไข้พาราเซตามอลที่ใครหลายคนคิดว่าปลอดภัย จริงแล้ว มันมีความเป็นพิษถ้าใช้อย่างไม่ถูกต้อง

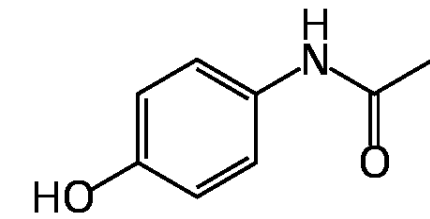
Paracetamol

Paracetamol มีชื่อเรียกสามัญคือ Acetaminophen ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1 จัดอยู่ในกลุ่มของยาแก้ปวดลดไข้ (Analgesic and Antipyretic) โดยกลไกของการออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ชัดเจน แต่อาจสรุปคร่าวๆได้ว่า ในฤทธิ์ลดไข้ นั้น เกิดจากการยับยั้งศูนย์ควบคุมเกี่ยวกับอุณหภูมิที่บริเวณสมองส่วน Hypothalamus ส่วนกลไกในการลดอาการปวดนั้นจะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการนำของกระแสประสาทที่เกี่ยวข้องกับความเจ็บปวด อย่างไรก็ตาม มีการเสนอกลไกเรื่องของ การเกี่ยวข้องกับการเป็น weak inhibitor ในกระบวนการสังเคราะห์ prostaglandin ซึ่งมีผลต่อการสร้างเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้อง ในกระบวนการเจ็บปวดหรือการอักเสบ อย่างไรก็ตาม กลไกการออกฤทธิ์ของพาราเซตามอลยังต้องมีการศึกษาต่อไป

ข้อบ่งใช้ของยาพาราเซตามอลอย่างทั่วถึงกันทั่วไปก็คือ ใช้เป็นยาแก้ปวดลดไข้ในเด็กและผู้ใหญ่ รวมถึงเป็นยาเลือกอันดับแรก (1st choice) ในการรักษาอาการปวดจากอาการข้อเสื่อม (Osteoarthritis) โดยขนาดของเด็กอายุ 1 – 3 เดือน คือ 30 mg/kg ทุก ๆ 8 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 60 mg/kg/day เด็กอายุ 3 เดือนถึง 1 ปี ใช้ขนาด 60 – 120 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง แต่ไม่เกินวันละ 4 ครั้ง เด็กอายุ 1 – 5 ปี 120-250 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง ไม่เกิน 4 ครั้งใน 24 ชั่วโมง ส่วนเด็กอายุ 6 – 12 ปี ให้ขนาด 250 – 500 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 4 ครั้งใน 24 ชั่วโมง ส่วนในผู้ใหญ่จะใช้ขนาด 500 – 1,000 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 4,000 mg ต่อวัน ซึ่งสรุปดังแสดงในตารางที่ 1

* เกษกร หน่วยนิติพิษวิทยา ฝ่ายนิติเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

อาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นได้จากรับประทานยาพาราเซตามอล ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ผื่นแพ้ หรือเกิดอาการที่ไต ทำให้เกิด acute renal tubular necrosis แต่อาการที่เกิดรุนแรงนั้นเกิดได้ไม่บ่อยแต่รุนแรงเช่น องค์ประกอบต่างๆในเลือดคลดลง (blood dyscrasia) หรือเกิดตับวาย (liver failure) จนถึงแก่ชีวิตได้ หรืออาจเกิดอาการแพ้รุนแรงถึงขั้นเกิด Steven Johnson's Syndrome (SJS) หรือ Toxic epidermal necrolysis (TEN) ได้เช่นกัน



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของพาราเซตามอล^[7]

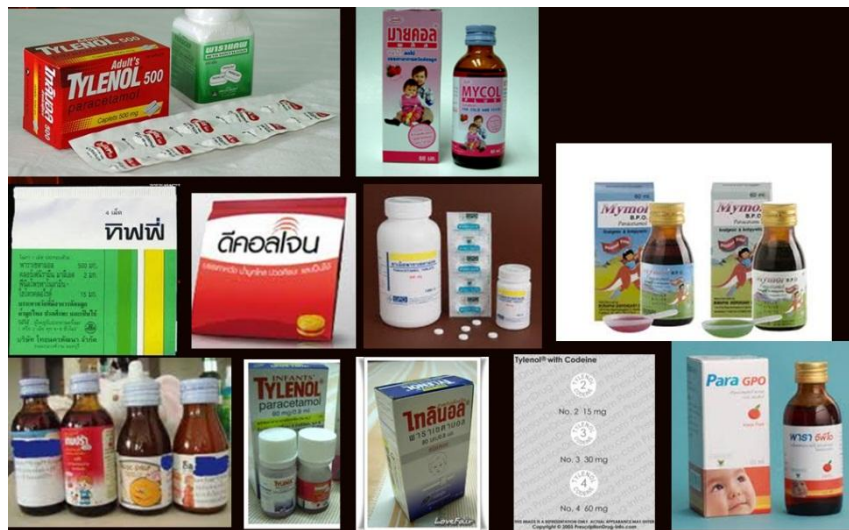
ตารางที่ 1 ตารางแสดงขนาดยาพาราเซตามอลปกติและขนาดยาที่ไม่ควรได้รับเกินในแต่ละช่วงอายุ^[6]

อายุของผู้ป่วย	ขนาดยาที่ควรได้รับ	ไม่ควรเกิน
1 – 3 เดือน	30 mg/kg ทุก 8 ชั่วโมง	60 mg/kg/day
3 เดือน – 1 ปี	60 – 120 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง	ไม่เกิน 4 ครั้งต่อวัน
1 – 5 ปี	120 – 250 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง	ไม่เกิน 4 ครั้งต่อวัน
6 – 12 ปี	250 – 500 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง	ไม่เกิน 4 ครั้งต่อวัน
ผู้ใหญ่	500 – 1,000 mg ทุก 4 – 6 ชั่วโมง	ไม่เกิน 4,000 mg ต่อวัน

ตัวอย่างยาที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

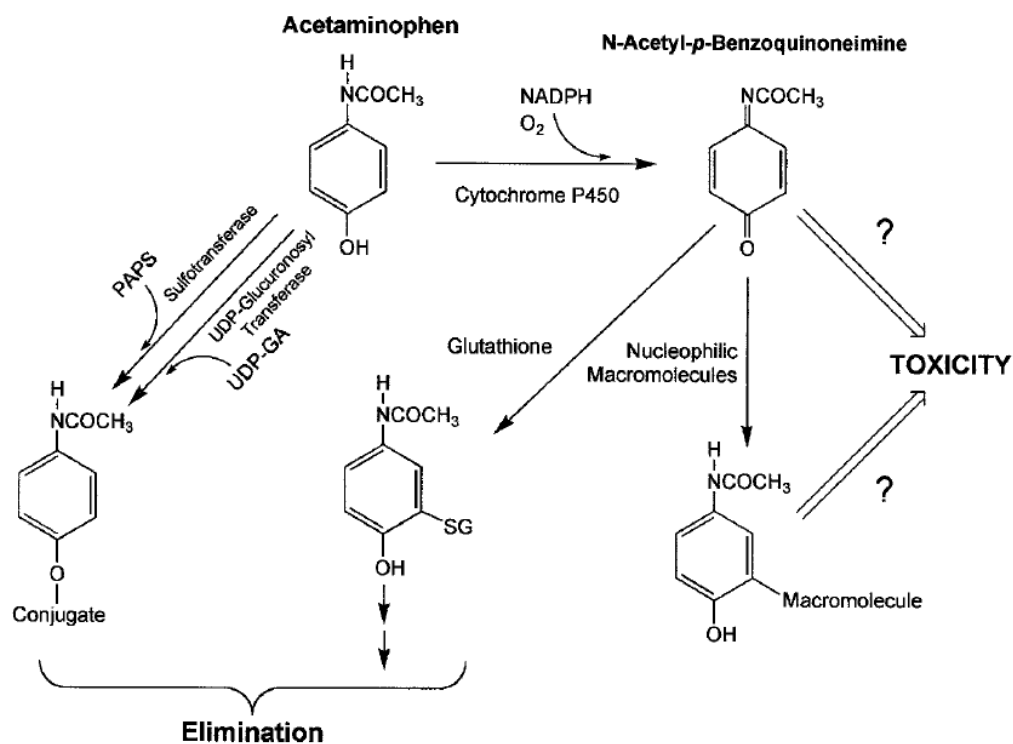
พาราเซตามอลเป็นยาที่จำหน่ายอย่างกว้างขวาง ไม่ว่าจะเป็นทั้งในประเทศไทย และในต่างประเทศ ซึ่งยี่ห้อที่จำหน่ายมีมากกว่า 60 ยี่ห้อในประเทศไทย และมากกว่า 400 ยี่ห้อทั่วโลก โดยมีทั้งที่อยู่ในรูปแบบยาเม็ด คือเป็นตัวยาพาราเซตามอลอย่างเดียว ขนาด 325, 500 mg และยาผสมซึ่งอาจจะผสมกับยาต้านฮิสตามีน เช่น คลอเฟนิรามีน บรอมเฟนิรามีน หรือยาแก้ไอ เช่น โคเดอีน หรือ กัวเฟนิซีน

รูปแบบของเภสัชภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีหลากหลาย ได้แก่ ยาเม็ด ยาน้ำเชื่อม ยาน้ำแขวนตะกอน ยาน้ำอัดรวมถึงในต่างประเทศจะมีในรูปแบบยาเหน็บทวารด้วย ซึ่งยี่ห้อที่ได้รับความนิยมในประเทศไทย เช่น Tylenol®, Sara®, Paracetamol GPO® หรือในรูปแบบยาผสม เช่น Tiffy®, Decolgen® ซึ่งผสมยาต้านฮิสตามีน หรือ Tylenol® with Codeine ซึ่งผสมยาแก้ไอ ซึ่งตัวอย่างยาที่มีจำหน่ายในประเทศไทยแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ตัวอย่างเกสัชภัณฑ์ของพาราเซตามอลที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

การเกิดพิษจากการรับประทานยาพาราเซตามอลถือเป็นพิษจากยาหรือเภสัชภัณฑ์ที่เกิดได้บ่อยที่สุดในปัจจุบัน ซึ่งจะเกิดขึ้นทั้งโดยความตั้งใจหรือการรับประทานยาเกินโดยไม่ตั้งใจก็ได้ โดยความเป็นพิษของพาราเซตามอลจะทำให้เกิดอาการได้ตั้งแต่คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง และความเป็นพิษสำคัญที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตคือ Hepatic Necrosis

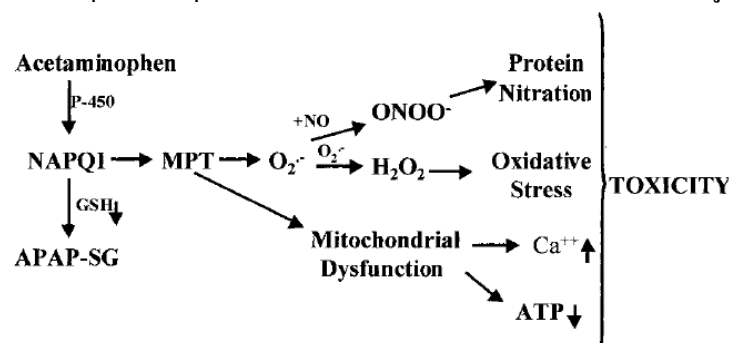


รูปที่ 3 กลไกการกำจัดออกจากร่างกายและการเกิดเมตาบอไลต์ที่เป็นพิษของพาราเซตามอล^[2]

จากรูปที่ 3 จะเห็นว่าโดยปกติแล้ว ร่างกายจะมีความสามารถและกลไกในการกำจัดออกของยาพาราเซตามอลอยู่แล้ว ซึ่งจะผ่าน Glucoronide conjugation และ Sulfation จะได้สารซึ่งอยู่ในรูปที่หมดฤทธิ์ (Inactive metabolite) ขับออกทางปัสสาวะ อย่างไรก็ดี หากความสามารถในการขับออกของร่างกายลดลง หรือมีปริมาณพาราเซตามอลที่เพิ่มขึ้น อาจทำให้เกิดสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ได้ ซึ่งได้แก่ N-Acetyl-p-Benzoquinoneimine (NAPQI) ซึ่งมีความสามารถในการทำให้เกิดความเสียหายต่อระดับเซลล์มาก แต่หากมีในปริมาณที่ไม่มาก ร่างกายก็จะมีกระบวนการในการกำจัดออกโดยคอนจูเกตกับ Glutathione และขับออกทางปัสสาวะเช่นกัน แต่ถ้ามีมากเกินไป ร่างกายก็จะไม่สามารถกำจัดออกได้ NAPQI ก็จะไปจับกับ Nucleophilic Macromolecule เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ นิวเคลียส หรือส่วนประกอบอื่นๆ ในเซลล์ได้ ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ จนเป็นสาเหตุของการเกิดความเสียหายของอวัยวะต่าง ๆ เช่น ตับ ได้

กลไกการเกิดพิษของพาราเซตามอล

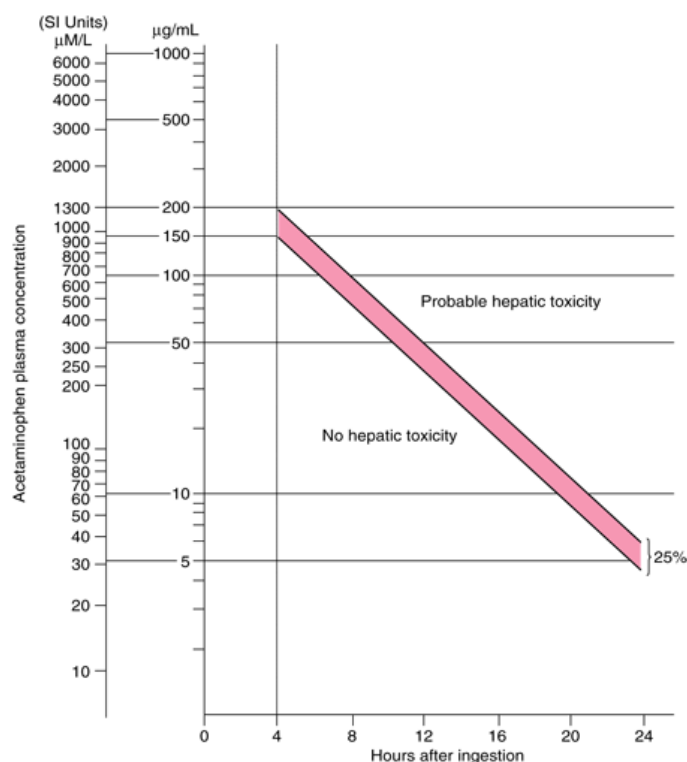
พาราเซตามอลนั้น ระดับยาที่อยู่ในระดับปกติ หรืออยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์และรูปดั้งเดิม จะไม่ก่อให้เกิดพิษ แต่เมื่อไหร่ก็ตามที่ร่างกายไม่สามารถกำจัดออกได้หมด หรือระดับยามีมากเกินไป ก็จะทำให้เกิด Reactive metabolite ที่ทำให้เกิดพิษได้ คือ NAPQI โดยกลไกนั้น จะเกิดจากการที่เซลล์ของร่างกายถูกทำลาย เนื่องจากการยับยั้งการทำงานของระบบการหายใจระดับเซลล์ ทำให้การสังเคราะห์พลังงานไม่เกิดขึ้น เซลล์ก็ตายลงในที่สุด นอกจากนี้ ยังเกิดพิษจากการที่ NAPQI มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง Superoxide และ Peroxynitrite radical ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระจำนวนมาก ส่งผลให้เซลล์เกิดภาวะ Oxidative Stress และเกิด Protein Nitration โดยเป็นภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ทำให้เซลล์ตายลงได้ อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากสองกลไกที่ผ่านมาแล้ว ยังมีกลไกต่อเนื่องเมื่อเซลล์มีความผิดปกติ จึงเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งสารสื่อที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น IL-1, TNF- α ซึ่งมีผลต่อการทำลายเซลล์ จึงส่งผลให้อวัยวะที่ได้รับพิษจากพาราเซตามอลเช่น ตับ มีจำนวนเซลล์ที่ลดลง มีการอักเสบที่เพิ่มมากขึ้น มีความสามารถในการทำงานที่ลดลง ส่งผลให้อวัยวะดังกล่าวล้มเหลว และผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากพาราเซตามอลเสียชีวิตในที่สุด โดยสรุปกลไกการเกิดพิษของพาราเซตามอล เป็นดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 กลไกความเป็นพิษของพาราเซตามอล^[2]

การรักษาการเกิดพิษจากพาราเซตามอล

เมื่อผู้ป่วยมาถึงโรงพยาบาล ภายใน 24 ชั่วโมง ควรทำการล้างท้องเพื่อลดการดูดซึมพาราเซตามอล และให้การรักษาแบบประคับประคอง (Supportive treatment) ก่อน แล้วเจาะเลือดเพื่อดูระดับยาในเลือดเพื่อ ดูโอกาสการเกิดความเสียหายต่อเซลล์ตับ ซึ่งประเมินโดยใช้ Rumack-Matthew treatment nomogram ดังแสดงในรูปที่ 5 ซึ่งหากเจาะเลือดดูระดับยาในกระแสเลือดแล้วได้ค่าอยู่เหนือเส้น (>200 ug/ml) แปลว่า อาจเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ตับได้ แต่หากต่ำกว่า 100 ug/ml แปลว่าระดับยาดังกล่าว ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ตับ อย่างไรก็ตาม nomogram นี้จะใช้กับการรับประทานในขนาดสูง ๆ ครั้งเดียว (Acute ingestion) เท่านั้น



รูปที่ 5 Rumack-Matthew treatment nomogram^[8]

Antidote หรือยาต้านพิษที่ใช้เป็นหลักในการรักษาผู้ที่ได้รับพาราเซตามอลเกินขนาดจนเกิดพิษ ได้แก่ N-acetylcysteine (NAC) ซึ่งมีอยู่ใน 2 รูปแบบทางเภสัชภัณฑ์ ได้แก่ ชนิดเม็ดฟู่ (effervescent tablets) ขนาด 600 mg ผสมน้ำรับประทาน (NAC[®] long) ส่วนแบบฉีด มีขนาด 5 g ในสารละลาย 25 ml (Hidonac[®] infusion)

หลักเกณฑ์และขนาดในการให้ยาต้านพิษ

เมื่อไหร่ก็ตามคนไข้มีประวัติการรับประทานพาราเซตามอลเกินขนาด เมื่อตรวจระดับยาในกระแสเลือดภายใน 4 ชั่วโมงแล้วเกิน 200 ug/ml หรือมีระดับ AST, ALT เกินค่าปกติ หรือมีทั้งสองอย่าง ควร

เริ่มต้นให้ NAC ในทันที ส่วนในกรณีที่ได้รับประทานยาในรูปแบบออกฤทธิ์เนิ่น (extended release tablets) ควรใช้ระดับยาในกระแสเลือดเทียบกับ Rumack-Matthew treatment nomogram ดังนี้

1. หากระดับพาราเซตามอลในกระแสเลือดที่ 4 ชั่วโมงมากกว่า 200 ug/ml และ/หรือมี AST หรือ ALT ที่สูงขึ้น สั่งจ่าย NAC ในทันที เนื่องจากมีความเสี่ยงต่อการได้รับผลกระทบต่อดับจากพิษของพาราเซตามอลแล้ว
2. หากระดับพาราเซตามอลในกระแสเลือดที่ 4 ชั่วโมงน้อยกว่า 200 ug/ml ให้ติดตามระดับยาในกระแสเลือดที่ 6 ชั่วโมง หากมากกว่า 200 ug/ml แล้ว ควรสั่งจ่าย NAC ในทันที

ซึ่งการบริหาร NAC ในการเป็นยาด้านพิษที่เกิดจากพาราเซตามอล เป็นดังนี้

1. หากผู้ป่วยสามารถรับประทานได้ หรือให้ผ่านทางสายยาง จะให้ในรูปแบบรับประทาน 1,330 mg/kg ภายใน 72 ชั่วโมง แบ่งออกเป็น Loading dose ขนาด 35 mg/kg/h เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และ Maintenance dose ทั้งหมด 17 ครั้ง โดยห่างกันครั้งละ 4 ชั่วโมง และให้ในขนาด 17.5 mg/kg/h
2. หากให้ในรูปแบบยาฉีดเข้าเส้นเลือด จะให้ในขนาด 300 mg/kg แบ่งออกเป็น 3 ครั้ง ครั้งแรก จะให้ในขนาด 150 mg/kg ภายใน 15 นาที – 1 ชั่วโมง จากนั้น ครั้งที่สอง จะให้ขนาด 12.5 mg/kg/h เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และครั้งที่สามจะให้ในขนาด 6.25 mg/kg/h เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

การติดตามการดำเนินของการเกิดพิษจากพาราเซตามอล

1. หากเป็นผู้ป่วยที่ยังมีชีวิตอยู่ สามารถติดตามได้จากระดับพาราเซตามอลในกระแสเลือด และค่า AST, ALT ที่มีค่าสูงขึ้น ซึ่งเป็นค่าเอนไซม์ของตับที่บ่งบอกภาวะที่เกิดการอักเสบหรือการได้รับผลกระทบของตับจากพิษของพาราเซตามอล
2. หากเป็นผู้ที่เสียชีวิต สามารถติดตามได้จากประวัติเดิมของผู้ป่วย การย้อมสีขึ้นเนื้อในส่วนของตับ การตรวจหาจากตัวอย่างอาหารในกระเพาะด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (หากพบพาราเซตามอลจะให้สีม่วงเมื่อสเปรย์ด้วยสารละลาย FeCl_3 และทับด้วยสารละลาย $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) หรือใช้วิธี Solid-phase Extraction (SPE) และฉีดเข้าเครื่อง HPLC หรือ LC/MS แต่อย่างไรก็ตาม การติดตามในผู้เสียชีวิตต้องขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ได้รับพิษด้วย เพราะหากเป็นการรับประทานจำนวนมากแล้วเสียชีวิตภายใน 24 ชั่วโมง อาจพอที่จะตรวจพบได้ทั้งในเลือดและในตัวอย่างอาหารจากกระเพาะอาหารตาม Rumack-Matthew treatment nomogram หากเกินกว่านั้น อาจตรวจไม่พบ

สรุป

พาราเซตามอล ยาสามัญประจำบ้านทั่วไปที่ใครหลายคนคิดว่าปลอดภัย วันนี้ไม่ปลอดภัยอีกแล้ว ในขนาดที่มากเกินไป อาจก่อให้เกิดพิษร้ายแรงจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ ซึ่งกลไกการเกิดพิษ เกิดจากการเกิด Oxidative stress และ การไม่สามารถทำงานได้ของเซลล์ ซึ่งส่งผลต่ออวัยวะสำคัญได้แก่ ตับ แต่อย่างไรก็ตาม การรักษาด้วย N-acetylcysteine อย่างทันทั่วทั้งที่ ก็สามารถช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดพิษที่รุนแรงขึ้นได้ นอกจากนี้การติดตามการดำเนินของอาการจากการได้รับพิษก็เป็นสิ่งสำคัญ เพื่อลดโอกาสในการเสียชีวิตจากพาราเซตามอล

References

1. Rumack BH, Bateman DN. **Acetaminophen and acetylcysteine dose and duration: past, present and future.** Clin Toxicol (Phila). 2012 Feb;50(2):91–8.
2. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. **Acetaminophen-induced hepatotoxicity.** Drug Metab. Dispos. 2003 Dec;31(12):1499–506.
3. Graham GG, Scott KF. **Mechanism of action of paracetamol.** Am J Ther. 2005 Feb;12(1):46–55.
4. Rowden AK, Norvell J, Eldridge DL, Kirk MA. **Updates on acetaminophen toxicity.** Med. Clin. North Am. 2005 Nov;89(6):1145–59.
5. Fauci AS et al. **Haririson’s Principles of Internal medicine.** 17th ed. McGraw-Hill. 2008.
6. **Paracetamol Full Prescribing Information, Dosage & Side Effects | MIMS.com USA** [Internet]. 2010 [cited 2012 Jun 18]. Available from: <http://www.mims.com/USA/drug/info/paracetamol/?type=full&mtype=generic>.
7. **Paracetamol - Wikipedia, the free encyclopedia** [Internet]. [cited 2012 Jun 18]. Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/Paracetamol>.
8. **Acetaminophen Poisoning: Poisoning: Merck Manual Professional** [Internet]. [cited 2012 Aug 18]. Available from: http://www.merckmanuals.com/professional/injuries_poisoning/poisoning/acetaminophen_poisoning.html

ความคิดเห็นนิสิตเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 ต่อการทำแบบทดสอบก่อนและหลังการฝึกงานทาง

ห้องปฏิบัติการ หัวข้อ: ประสิทธิภาพและความสำคัญทางการแพทย์

เรียนบรรณาธิการ

จากการศึกษาดำรงซึ่งเป็นเอกสารประกอบคำสอนของมหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมราช ซึ่งมีการระบุวัตถุประสงค์การเรียนรู้ กิจกรรมที่ช่วยส่งเสริมการเรียนรู้เช่นแบบทดสอบก่อนและหลังเรียน ทำให้ผู้เขียนคิดว่ากิจกรรมดังกล่าวจะสามารถประยุกต์ใช้กับการเรียนการสอนในลักษณะของการฝึกงานได้ เนื่องจากการสอบจะเป็นการกระตุ้นให้ผู้เรียนทบทวนบทเรียนที่เคยเรียนมาแล้ว โดยผู้สอนจะมอบหมายให้นิสิตทบทวนเนื้อหาโดยการกำหนด website ที่มีเนื้อหาที่กระชับและเข้าใจง่ายให้นิสิตทบทวนก่อนถึงวันฝึกปฏิบัติการ โดยมีการแจ้งการสอบ pre test และ post test ในตารางการฝึกปฏิบัติการเพื่อให้นิสิตทราบก่อนถึงวันฝึกงานประมาณ 3 วัน เพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมนิสิตก่อนลงมือฝึกปฏิบัติงานจริง เมื่อถึงวันฝึกงานนิสิตจะทำการทดสอบ pre test ก่อน จากนั้นผู้สอนจะเฉลยคำตอบ ต่อจากนั้นอาจารย์จะสรุปเนื้อหาและนิสิตจะลงมือทำปฏิบัติการ เมื่อเสร็จสิ้นปฏิบัติการ อาจารย์จะทำการสอบ post test เพื่อเปรียบเทียบผลการเรียนรู้ด้วยข้อสอบที่มีเนื้อหาใกล้เคียงกับ pre test แต่เป็นคนละชุด ซึ่งผู้สอนพบว่า นิสิตมีพัฒนาการของเนื้อหาในวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ดีขึ้น โดยทำคะแนนได้เพิ่มขึ้นทุกคน จากผลของการพัฒนาการเรียนรู้ถือว่าการฝึกงานเพื่อเตรียมความพร้อมก่อนการฝึกงานในโรงพยาบาลของนิสิตในหัวข้อนี้บรรลุตามวัตถุประสงค์

ความคิดเห็นของนิสิตต่อการทำ pre test และ post test ในการฝึกงานหัวข้อ ปรสิตวิทยาทางการแพทย์



นายณัฐกร นามหนองปรือ: ผมชอบการทำ pre test และ post test ในการฝึกงาน เพราะ กระตุ้นให้ผมหัดสังเกตและพยายามหาคำตอบในระหว่างการเรียนรู้ ผมคิดว่าเป็นแนวทางสำหรับการเรียนรู้ที่ดีครับ



นางสาวกนกวรรณ แก้วจันทร์ฉาย: การทำ pre test ทำให้หนูสนใจอ่านทบทวนความรู้ที่เคยเรียนผ่านมา ทำให้มีความพยายามจดจำบทเรียนที่เคยเรียนผ่านมาเพิ่มขึ้น ส่วน post test ก็เช่นเดียวกันทำให้เกิดความกระตือรือร้นในการอ่านหนังสือ การทำ pre test และ post test ในการฝึกงานโดยรูปภาพและเห็นปรสิตจากตัวอย่างจริง ทำให้หนูจดจำได้ดีขึ้นค่ะ



นางสาวณัชชิดา วงศ์เขียว: ชอบการ pre test และ post test ในการฝึกงาน เพราะเป็นการวัดความรู้เดิมและได้ทบทวนความรู้และทักษะในการทำแล็บ ทำให้เกิดความชำนาญมากขึ้น การทดสอบนี้ทำให้ผู้เรียนพยายามเพิ่มศักยภาพในการเรียนรู้ของตนเองและปรับปรุงในสาระของเนื้อหาในส่วนที่ไม่เข้าใจหรือเข้าใจผิดให้ถูกต้อง

จากทฤษฎีการศึกษาที่ระบุการวัดผลเป็นการวินิจฉัยเพื่อค้นหาจุดบกพร่องของผู้เรียนเพื่อหาทางช่วยเหลือให้ผู้เรียนเข้าใจในบทเรียนในส่วนที่ผู้เรียนเข้าใจผิดหรือเข้าใจบกพร่องในเนื้อหาของบทเรียน การวัดผลจึงเป็นเครื่องมือที่ใช้เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของนักเรียนเอง ซึ่งการทดสอบก่อนเรียน และหลังเรียนสามารถใช้เพื่อเปรียบเทียบพัฒนาการของผู้เรียนรวมทั้งสามารถนำผลที่ได้มาตัดสิน หรือสรุปคุณภาพของการจัดการศึกษาว่ามีประสิทธิภาพสูงหรือต่ำ ซึ่งผู้สอนสามารถใช้ข้อมูลจากการวัดผลมาปรับปรุงแก้ไขกระบวนการสอนได้ ซึ่งจากผลการสำรวจความคิดเห็นของนิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 ของภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มีความพึงพอใจในการสอนโดยมีการทดสอบก่อนและหลังเรียนปฏิบัติการฝึกงาน และจากผลคะแนนทดสอบชี้ให้เห็นว่านิสิตมีพัฒนาการที่ดีขึ้นในการเรียนรู้หัวข้อในการฝึกงานในครั้งนี้ ซึ่งจะนำไปสู่การเรียนรู้ที่มีความหมาย (meaningful learning) ก่อนจะนำความรู้ที่ได้ไปใช้ในการฝึกปฏิบัติงานในโรงพยาบาลต่อไป

เอกสารประกอบการเรียนเรียง

1. ประดิษฐ์ อุปรมัย . เอกสารการสอนชุดวิชาพื้นฐานการศึกษา หน่วยที่ 4 มนุษย์กับการเรียนรู้. พิมพ์ครั้งที่ 15: นนทบุรี, สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. 2540 .
2. พรณี ชูทัย เจนจิต . จิตวิทยาการเรียนการสอน. พิมพ์ครั้งที่ 4 ; กรุงเทพฯ , บริษัทคอมแพคท์พริ้นท์จำกัด.2538 .
3. อัจฉรา ธรรมภรณ์ . จิตวิทยาการเรียนรู้. ปัตตานี : คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต ปัตตานี. 2531.

ขอแสดงความนับถือ

แสงชัย นทีวรณารถ และไชยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก