

Use of PCR technique for detection of *Streptococcus salivarius* in postmortem blood from drowning cases compared to cases with other causes of death

การใช้เทคนิค PCR เพื่อการตรวจสอบเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดศพที่ตายจากการจมน้ำเทียบกับศพที่ตายจากสาเหตุอื่น

Rawissara Chaimahawan * Tanin Bhoopat ** Lertlakana Bhoopat***

*Forensic Science, Graduate School, Chiang Mai University, ** Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University,

***Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50002, Thailand

รวิสรา ไชยมหาวัน*, ธานินทร์ ภูพัฒน์††, เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์†††,

†สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, †† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,

††† ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50002, ประเทศไทย.

Abstract

Streptococcus salivarius is a kind of bacteria of the throat flora. During drowning this bacterium may invade the blood circulation and might therefore be used as an indicator in drowning cases. The fructosyltransferase (ftf) uracil phosphoribosyltransferase and ATP-dependent protease proteolytic subunit genes of *Streptococcus salivarius* were amplified for its specific detection. Twelve bodies from confirmed drowning cases and twenty-four bodies from other causes of death were analyzed. Heart blood was collected from all corpses. *Streptococcus salivarius* could be detected in the heart blood of only seven drowning cases. In addition, tracheal swabs were taken from five drowning cases and thirteen cases of other death. *Streptococcus salivarius* was found in five drowning cases and in eight cases of other death. Chi-square testing showed that the presence of *Streptococcus salivarius* in heart blood can be used as a significant indicator for diagnosis of drowning. However, the presence of *Streptococcus salivarius* in tracheal swabs is not a significant indicator in drowning cases.

Keywords: PCR, *Streptococcus salivarius*, Drowning cases

บทคัดย่อ

Streptococcus salivarius เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในปากและลำคอ เมื่อมีการสำลักน้ำขณะจมน้ำ เชื้อตัวนี้ จะสามารถเข้าสู่กระแสเลือด และอาจจะนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้สาเหตุการตายจากการจมน้ำได้ จึงได้มีการ ตรวจหาเชื้อตัวนี้โดยเทคนิค PCR ที่จำเพาะต่อเชื้อในส่วนของ fructosyltransferase (ftf) gene and uracil phosphoribosyltransferase and ATP-dependent protease proteolytic subunit genes กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ ได้แก่ กลุ่มของศพที่ได้รับการวินิจฉัยว่าตายจากการจมน้ำจำนวน 12 ศพ และกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการวินิจฉัย ว่าตายจากสาเหตุอื่นจำนวน 24 ศพ เก็บตัวอย่างที่เป็นเลือดจากหัวใจ และก้านสำลี่ปายบริเวณด้านใน หลอดลม ผลที่ได้ในตัวอย่างที่เป็นเลือดจากหัวใจ พบเชื้อ *Streptococcus salivarius* เฉพาะในกลุ่มของศพที่ ตายจากการจมน้ำจำนวน 7 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 12 ตัวอย่าง และไม่พบเชื้อในกลุ่มของศพที่ตายจากสาเหตุ อื่นเลย ในส่วนของตัวอย่างที่เป็นก้านสำลี่ปายบริเวณด้านในหลอดลม กลุ่มที่ตายจากการจมน้ำ พบเชื้อ *Streptococcus salivarius* จำนวนทั้งหมด 5 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ตายจากสาเหตุอื่นพบเชื้อจำนวน 8 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 13 ตัวอย่าง นำผลที่ได้ไปทดสอบสมมติฐานด้วยวิธี Chi-square พบว่าผลการตรวจพบเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การตายจากการจมน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญ ต่างจาก ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นก้านสำลี่ปายบริเวณด้านในหลอดลม ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

คำสำคัญ : PCR, *Streptococcus salivarius*, ศพที่ตายจากการจมน้ำ

บทนำ

การวินิจฉัยการตายจากการจมน้ำเป็นเรื่องที่ค่อนข้างยาก เนื่องจากไม่มีลักษณะตรวจพบที่ จำเพาะ การพิจารณาจะต้องดูจากสิ่งที่จะระบุว่าผู้ตายมีชีวิตอยู่หรือไม่ขณะจมน้ำ เพราะขณะที่ผู้ จมน้ำยังไม่เสียชีวิต จะมีการหายใจเอาน้ำและสิ่งที่ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย วิธีการหนึ่งที่จะช่วย บอกได้ว่าผู้ที่จมน้ำมีการหายใจเอาน้ำเข้าสู่ร่างกายจริงคือ การตรวจหาสิ่งที่ปนเปื้อนในน้ำที่พบอยู่ในร่างกาย ของผู้ที่จมน้ำ

มีการทดลองจำนวนมากเกี่ยวกับการหาสิ่งที่ปนเปื้อนในน้ำที่พบภายในร่างกายผู้ที่เสียชีวิตจากการ จมน้ำ ได้แก่ ไดอะตอม แพลงตอน และแบคทีเรีย ในแต่ละการทดลองให้ผลที่พบบอกได้เกี่ยวกับสิ่งปนเปื้อนที่ พบในร่างกายของผู้ตาย แต่ก็มีข้อด้อยบางประการ เช่น การหาไดอะตอม เป็นวิธีการที่ค่อนข้างยุ่งยากและใช้ เวลาในการทดสอบนานเนื่องจากการตรวจหาในเนื้อเยื่อ มีขั้นตอนในการย่อยเนื้อเยื่อ และการกำจัดสิ่งที ครอบคลุมการทดสอบ อีกทั้งผลที่ได้ก็ไม่อาจใช้สรุปได้แน่นอนเนื่องจาก ไดอะตอมสามารถได้มาจากการ

รับประทานอาหารจำพวกสัตว์น้ำได้ และในกรณีที่ไม่พบก็ไม่สามารถใช้ระบุได้เช่นกันว่าผู้ตายไม่ได้เสียชีวิตจากการจมน้ำ เช่นเดียวกับในกรณีของการตรวจหาแพลงตอน ที่มีข้อจำกัดสำหรับแหล่งน้ำที่ไม่มีแพลงตอน

สิ่งปนเปื้อนอีกอย่างหนึ่งที่พบได้ในแหล่งน้ำคือ แบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่พบได้ในแหล่งน้ำทั่วไป สามารถปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย แม้แต่แหล่งน้ำที่ค่อนข้างสะอาดเช่นบ่อน้ำ ก็สามารถพบได้แม้เป็นปริมาณที่น้อย การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียใช้วิธีการมาตรฐานคือ การเพาะเชื้อ ที่ใช้เวลาหลายวันกว่าจะได้ผลว่าเป็นเชื้อตัวใด จึงได้มีความพยายามประยุกต์ใช้วิธีการทางอณูชีววิทยาใช้ในการตรวจพิสูจน์ ได้แก่ เทคนิค PCR เป็นวิธีการตรวจสอบสารพันธุกรรม มีจุดเด่นคือความไว (sensitivity) สูง สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมได้แม้มีปริมาณน้อย ทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต ที่บางครั้งไม่สามารถพบได้ในวิธีการเพาะเชื้อ เทคนิค PCR มีความจำเพาะสูง เนื่องจากตัวต้นแบบ (primer) จำเพาะกับเชื้อแต่ละตัว

เชื้อแบคทีเรียที่พบในน้ำโดยทั่วไปมีหลายชนิด จากการศึกษาโดยส่วนใหญ่เชื้อที่พบมากได้แก่ *Escherichia coli* เป็นเชื้อที่ปนเปื้อนมากับอุจจาระ และ *Aeromonas hydrophila* ที่พบได้ในแหล่งน้ำทั่วไปในร่างกายของมนุษย์โดยปกติจะมีเชื้อแบคทีเรียที่เป็นเชื้อประจำถิ่น ที่ไม่ก่ออันตรายแก่ร่างกาย หนึ่งในนั้นคือ *Streptococcus salivarius* ที่พบในช่องปาก การตรวจหาเชื้อตัวนี้จะช่วยบอกได้ว่าหากพบเชื้อในกระแสเลือดของผู้ที่เสียชีวิตจากการจมน้ำ อาจมีการกลืนหรือหายใจเอาน้ำเข้าไปขณะยังไม่เสียชีวิต และเชื้อได้ผ่านเข้าสู่กระแสเลือดทางระบบหายใจ

จากความรู้ดังกล่าว จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ ที่ต้องการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อในลำคอที่ปนเปื้อนไปกับน้ำที่ลากลักเข้าไปขณะจมน้ำในเลือดของผู้ที่เสียชีวิตจากการจมน้ำ ได้แก่เชื้อ *Streptococcus salivarius* และนำมาเปรียบเทียบกับผลที่ได้ในเลือดของผู้ที่ตายจากสาเหตุอื่น ที่อาจจะเป็นประโยชน์และส่งเสริมการหาสาเหตุการเสียชีวิตจากการจมน้ำได้

วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

ประชากรและการเก็บตัวอย่าง

ศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นศพที่ได้รับการวินิจฉัยว่าตายจากสาเหตุการจมน้ำ จำนวน 12 ศพ และศพที่ได้รับการวินิจฉัยว่าตายจากสาเหตุอื่น จำนวน 24 ศพ แต่ละศพทำการเก็บตัวอย่างที่เป็นเลือดจากหัวใจ โดยเทคนิคปราศจากเชื้อ และตัวอย่างที่เป็นก้านสำลีสืบบริเวณด้านในหลอดลม

การสกัดสารพันธุกรรม

สกัดสารพันธุกรรมของเชื้อที่ปนเปื้อนในตัวอย่างโดยใช้ Chelex ^[5]

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ primer ที่จำเพาะกับเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในส่วนของ fructosyltransferase (fft) gene and uracil phosphoribosyltransferase and ATP-dependent protease proteolytic subunit genes ซึ่งมีลำดับเบสของ primer ดังนี้^[7]

Forward primer : 5'-ccagcggtagcacaaggtaaa-3'

Reverse primer : 5'-gcactcatccaattgtcacg-3'

ปฏิกิริยาเกิดในส่วนผสมที่มีปริมาตร 15 μ l ซึ่งประกอบด้วย น้ำ 7.5 μ l , 10X taq buffer 1.5 μ l, 1mM dNTPs 1.5 μ l, 0.25 U/ μ l Taq DNA polymerase 1.5 μ l, 10 μ M primer mix 1.5 μ l และ template 1.5 μ l และมี PCR condition ดังนี้

- denaturation ที่ 94 $^{\circ}$ c 10 นาที

- denaturation ที่ 94 $^{\circ}$ c 30 วินาที , annealing ที่ 53 $^{\circ}$ c 30 วินาที , extension ที่ 72 $^{\circ}$ c 30 วินาที 38 รอบ

- final extension ที่ 72 $^{\circ}$ c 10 นาที

จากนั้นทำการตรวจสอบ PCR products โดยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis การตรวจสอบผลทุกครั้งจะต้องทำ ตัวควบคุมผลบวก (positive control) และผลลบ (negative control) และใส่ตัวเทียบคือ 100 bp ladder ซึ่งผลบวกก็คือ การปรากฏของแถบ DNA อยู่ที่บริเวณที่เทียบเท่ากับตัวเทียบ (ladder) ได้เท่ากับ 223 bp ผลลบคือ การไม่พบแถบ DNA

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดศพที่ตายจากการจมน้ำ มาเปรียบเทียบกับศพที่ตายจากสาเหตุอื่น ว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ เพื่อที่จะนำมาเป็นวิธีการที่ช่วยวินิจฉัยการตายจากการจมน้ำ โดยใช้ Chi-square test^{[1], [2]}

ผลการค้นคว้าวิจัย

ผลการศึกษาในกลุ่มศพที่เสียชีวิตจากการจมน้ำ ตัวอย่างที่เป็นเลือดจากหัวใจ พบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* จำนวน 7 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 12 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่เป็นก้านสำลี่ป้ายด้านในหลอดลม พบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* จำนวน 5 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 5 ตัวอย่าง

ในกลุ่มศพที่เสียชีวิตจากสาเหตุอื่น ตัวอย่างที่เป็นเลือดจากหัวใจ ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ทั้ง 24 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่เป็นก้านสำลี่ป้ายด้านในของหลอดลม พบสาร

พันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* จำนวน 8 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ดังผลที่แสดงใน ตาราง 1 และ 2

ตัวอย่างลำดับที่	เลือดจากหัวใจ(heart blood)	ก้านสำลีป้ายด้านในหลอดลม (tracheal swab)
1	+	/
2	+	/
3	+	/
4	-	/
5	-	/
6	+	/
7	-	+
8	+	+
9	-	/
10	-	+
11	+	+
12	+	+

ตาราง 1 แสดงผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดจากหัวใจ

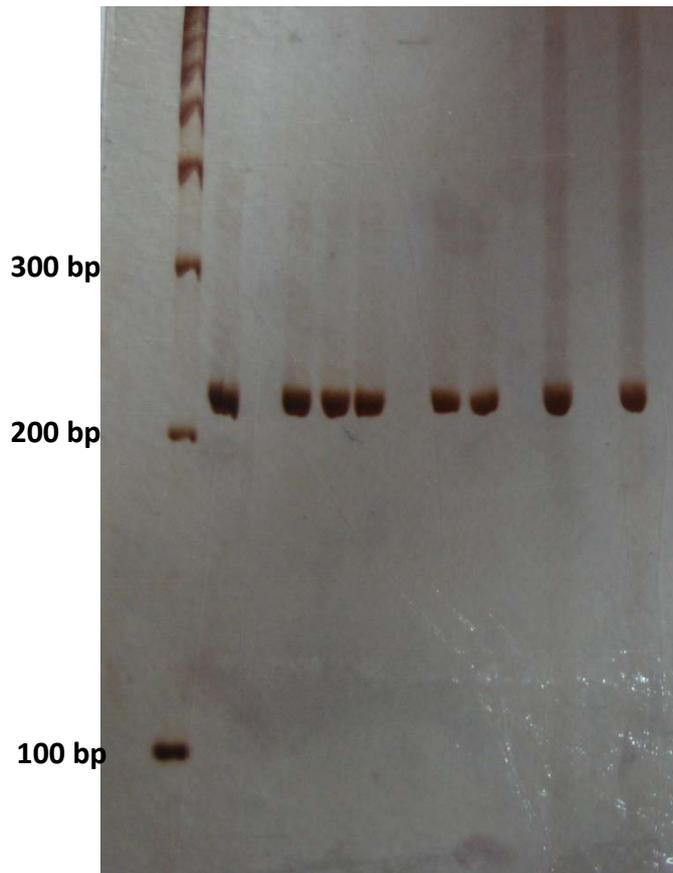
และก้านสำลีป้ายด้านในหลอดลม ในกลุ่มของศพที่เสียชีวิตจากการจมน้ำ

- + ผลบวก คือ พบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius*
- ผลลบ คือ ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius*
- / ไม่ได้เก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างลำดับที่	เลือดจากหัวใจ(heart blood)	ก้านสำลีป้ายด้านในหลอดลม (tracheal swab)
1	-	/
2	-	/
3	-	/
4	-	/
5	-	/
6	-	/
7	-	/
8	-	/
9	-	/
10	-	/
11	-	-
12	-	-
13	-	+
14	-	/
15	-	+
16	-	+
17	-	+
18	-	+
19	-	+
20	-	-
21	-	+
22	-	+
23	-	-
24	-	-

ตาราง 2 แสดงผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดจากหัวใจ และก้านสำลีป้ายด้านในหลอดลม ในกลุ่มของศพที่เสียชีวิตจากสาเหตุอื่น

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



- ช่องที่ 1 คือ ตัวเทียบ 100 bp ladder
- ช่องที่ 2 คือ ตัวควบคุมผลบวก (positive control)
- ช่องที่ 3 คือ ตัวควบคุมผลลบ (negative control)
- ช่องที่ 4, 5, 6, 8, 9, 11 และ 13 คือ ผลบวก (พบดีเอ็นเอของเชื้อ *Streptococcus salivarius*)
- ช่องที่ 7, 10 และ 12 คือ ผลลบ (ไม่พบดีเอ็นเอของเชื้อ *Streptococcus salivarius*)

ภาพ 1 แสดงตัวอย่างการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* บน polyacrylamide gel

จากผลที่ได้นำมาทดสอบสมมติฐาน เพื่อเปรียบเทียบว่า ในกลุ่มของศพที่ตายจากการจมน้ำและกลุ่มที่ตายจากสาเหตุอื่น มีผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้ Chi-square test ได้ผลดังนี้

ตัวอย่างเลือดที่เก็บจากหัวใจ

อัตราการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดศพที่ตายจากการจมน้ำ แตกต่างจากศพที่ตายจากสาเหตุอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวอย่างที่เป็นก้านสำลีป้ายหลอดลม

อัตราการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดศพที่ตายจากการจมน้ำ แตกต่างจากศพที่ตายจากสาเหตุอื่นอย่างไม่มีนัยสำคัญ

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

จากผลการทดลองแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็นตัวอย่างเลือด และกลุ่มที่เป็นก้านสำลีป้ายบริเวณด้านในหลอดลม กลุ่มที่เป็นตัวอย่างเลือด เมื่อนำมาทดสอบสมมติฐานก็ได้ว่า การพบเชื้อ *Streptococcus salivarius* ในเลือดศพที่ตายจากการจมน้ำต่างจากศพที่ตายจากสาเหตุอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนของผลจากก้านสำลีป้ายด้านในหลอดลม จากการทดสอบสมมติฐานพบว่า การพบเชื้อในกลุ่มที่ตายจากการจมน้ำ และตายจากสาเหตุอื่นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ผลที่ได้เช่นนี้เกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เมื่อพิจารณาในแต่ละกลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มตัวอย่างที่เป็นศพที่ตายจากการจมน้ำ ได้ผลหลายกรณี อธิบายแต่ละกรณีได้ดังนี้

กรณีที่เกิดขึ้นเฉพาะตัวอย่างเลือด

- กลุ่มที่ให้ผลบวก ได้แก่ ตัวอย่างที่ 1, 2, 3 และ 6 สอดคล้องกับผลการชันสูตรที่บ่งบอกการจมน้ำชัดเจน
- กลุ่มที่ให้ผลลบ ได้แก่ ตัวอย่างที่ 4, 5 และ 9

ตัวอย่างที่ 4 และ 5 ผลไม่สอดคล้องกับผลการชันสูตรที่บ่งบอกการจมน้ำอย่างชัดเจน เนื่องจากทั้งสองตัวอย่างได้มาจากศพที่เน่าทำให้ได้ตัวอย่างเลือดที่เน่า ทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *Streptococcus salivarius* ได้ เชื้อส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการเน่าของศพคือ เชื้อที่อยู่บริเวณลำไส้ ซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมาก ในกรณีของศพที่เน่าอาจเป็นไปได้ว่า มีเชื้อบริเวณลำไส้ที่ทำให้เน่าออกมามาก ทำให้เกิดการเจริญมากกว่าเชื้อที่เป้าหมายที่ต้องการตรวจหา และโดยธรรมชาติของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ที่เป็นเชื้อแกรมบวก จะมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมน้อยกว่าเชื้อจากลำไส้ที่เป็นแกรมลบ จึงอาจเป็นสาเหตุให้ได้ผลลบในกรณีของการเน่า

ตัวอย่างที่ 9 แม้ผลการชันสูตรจะพบว่าไม่มีน้ำไปขัดขวางการหายใจ แต่ก็มีปัจจัยอื่นๆที่ช่วยเสริมการเสียชีวิต ได้แก่ แอลกอฮอล์ และยาบางชนิด ทำให้ผู้ตายที่ช่วยเหลือตัวเองไม่ได้จากฤทธิ์ยาและแอลกอฮอล์ อยู่แล้ว ไม่สามารถขึ้นมาจากน้ำได้ แม้จะเป็นเพียงน้ำในอ่างอาบน้ำก็ตาม จึงทำให้ไม่มีการสำลักน้ำ หรือมีน้อยมาก จึงได้ผลลบในกรณีนี้

กรณีที่เกี่ยวข้องกับตัวอย่างเลือดและตัวอย่างที่เป็นก้านสำลีป้ายด้านในหลอดลม

- การพบเชื้อในตัวอย่างเลือด และก้านสำลีป้ายบริเวณด้านในหลอดลม ในตัวอย่างที่ 8, 11 และ 12 มีความสัมพันธ์กัน คือพบทั้งคู่ แสดงถึงการจมน้ำอย่างเต็มที่ (full drowning) คือมีการนำพาเชื้อเข้าสู่หลอดลม เนื่องจากการสำลักน้ำขณะจมน้ำ และจมนานจนกระทั่งเชื้อสามารถเข้าสู่กระแสเลือดผ่านระบบทางเดินหายใจได้ ก่อนจะเสียชีวิต

- การไม่พบเชื้อในตัวอย่างเลือด แต่พบในก้านสำลีป้ายบริเวณด้านในหลอดลม ในตัวอย่างที่ 7 และ 10 คาดว่าน่าจะมีการจมน้ำเพียงเล็กน้อย (early drowning) โดยมีการนำพาเชื้อเข้าสู่หลอดลมไปพร้อมกับน้ำที่สำลัก แต่ไม่ได้มากจนกระทั่งเข้าสู่กระแสเลือด เมื่อพิจารณาผลการชันสูตรพลิกศพพบว่า ตัวอย่างที่ 7 น่าจะมีการหมดสติเนื่องจากโรคประจำตัวก่อนตกลงไปในน้ำ และตัวอย่างที่ 10 พบรอยโรคที่เคยเป็นแผลในสมอง คาดว่าอาจมีการช็อก หมดสติ แล้วตกลงไปในน้ำก่อนเสียชีวิต

2. กลุ่มตัวอย่างที่เป็นศพที่ตายจากสาเหตุอื่น ผลที่ได้อธิบายแต่ละกรณีได้ดังนี้

- การไม่พบเชื้อในตัวอย่างเลือดเลย แสดงถึงความจำเพาะของเชื้อ *Streptococcus salivarius* ที่โดยปกติแล้วไม่พบในกระแสเลือด พบได้เฉพาะในช่องปากและทางเดินหายใจส่วนต้น

- การพบเชื้อในหลอดลม เมื่อพิจารณารายละเอียดของแต่ละศพ พบว่ามีสาเหตุการตายจากหลายๆ อย่าง เช่น อุบัติเหตุจลาจล หัวใจวาย และการเสียชีวิตที่โรงพยาบาลที่มีการใส่ท่อช่วยหายใจ ทุกสาเหตุมีความเป็นไปได้มากที่จะมีการนำพาเชื้อเข้าสู่หลอดลม ทั้งการสำลัก และการนำพาโดยท่อช่วยหายใจ

จะเห็นได้ว่ามีหลายๆปัจจัยที่ทำให้ไม่พบเชื้อในกรณีที่ตายจากการจมน้ำ และพบเชื้อในกรณีที่ตายจากสาเหตุอื่นได้เช่นกัน จึงเป็นข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้ ที่ต้องพิจารณาเกี่ยวกับแต่ละตัวอย่างให้ดีถึงสภาพศพ และสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องด้วย กรณีการตายจากการจมน้ำ ผลการชันสูตรมีส่วนสำคัญในการนำมาประกอบการพิจารณา เนื่องจากถ้าหากว่าเป็นการจมน้ำแบบไม่เต็มที่ คือมีการสำลักเพียงเล็กน้อยหรืออาจไม่มีการสำลักเลย ก็จะไม่สามารถพบเชื้อได้ในเลือด แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาผลที่ได้จากการทดสอบสมมติฐาน จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่เป็นเลือดสามารถช่วยแยกศพที่ตายจากการจมน้ำ และศพที่ตายจากสาเหตุอื่นได้ ส่วนในตัวอย่างที่เป็นก้านสำลีป้ายบริเวณด้านในหลอดลม ใช้ช่วยยืนยันว่ามีการสำลัก และใช้ในกรณี early drowning ได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณห้องปฏิบัติการอนุพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ยืมใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. คณิต ไช้มุกด์. สถิติพื้นฐาน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์หน้าฝนจำกัด, 2546.
2. ชูศรี วงศ์รัตน์. เทคนิคการใช้สถิติเพื่อการวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 10. นนทบุรี: บริษัทไทนอร์มิตกิจอินเตอร์ โปรดักส์, 2550.
3. นางลักษณ์ สุวรรณพินิจ, ปรีชา สุวรรณพินิจ. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย, 2552.
4. ตริทิพย์ รัตนวรชัย. อนุพันธุศาสตร์เบื้องต้น: มหัศจรรย์ของดีเอ็นเอ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัทแอด ทีพีพรินท์จำกัด, 2552.
5. อานินทร์ ภูพัฒน์, วิฑูรย์ ทะสุยะ. Standard Operation Procedure งานตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ สำหรับงานนิติเวช (SOP for DNA Analysis for forensic medicine). เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549.
6. อีรพร วุฒยวนิช, นิมิตร มรกต, กิตติกา กาญจนรัตน์นาก. วิจัยทางการแพทย์.
7. Suto M, Kato N, Abe S, Nakamura M, Tsuchiya R, Hiraiwa K. PCR detection of bacterial genes provides evidence of death by drowning. Legal medicine(2009).