

## Detection of Y-Chromosomal DNA at Locus DYS385 and Spermatozoa in Vaginal Swabs of Rape Victims: A Comparative Study

การศึกษาเปรียบเทียบผลตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS385 กับตัว  
อสุจิก่อนำเข้าช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา

Wisarn Warasuwanaruk M.D.\*, Tanin Bhoopat M.D.\*, Lertlakana Bhoopat M.D.\*\*

*\*Department of Forensic Medicine, \*\*Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, 50200, Thailand*

วิศาล วรสุวรรณรักษ์ พ.บ.†, ธานินทร์ ภูพัฒน์ พ.บ.†, เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์ พ.บ.††

† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และ †† ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
เชียงใหม่ 50200, ประเทศไทย.

### Abstract

**Objective:** To compare the detection of male microsatellite DNA by PCR with the detection of sperm by microscopic examination using the Oppitz staining method.

**Material and Methods:** Sixty acid phosphatase positive vaginal swabs which were collected in less than 48 hours after sexual abuse were examined for the presence of sperm. Samples that showed sperm cells were divided into three groups according to the amount of spermatozoa (few, 1+, and 2+). DNA was extracted and STR at DYS385 locus was amplified from all samples. PCR products were analyzed using polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining.

**Results:** Sperm was found in 30 samples (50%) and DNA of DYS385 locus could be amplified in 37 samples (61.6%). In all 30 sperm negative samples, the amplified DNA locus was detected in 14 cases (46.7%) and in all sperm positive samples, DYS385 was detected in 23 of the total (76.7%). Four of 7 cases of these DYS385 negative (57.1%) showed only few sperm cells. In the combined cases of sperm 1+ and 2+, Y-STR alleles at DYS385 were detected more significantly than in the 'few sperm' group ( $p=0.033$ ). Moreover, in samples with acid phosphatase higher than 700 U/mL,

the amplified DNA was significantly detected more than the cases with lower acid phosphatase activity ( $p=0.037$ ).

**Conclusion:** Detection of male chromosomal DNA in vaginal swabs could increase a chance to confirm sexual abuse. However, it might not substitute the routine detection of sperm by microscopic examination.

**Keywords:** Rape, Y-chromosomal DNA, DYS385 locus, Spermatozoa

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาเปรียบเทียบโอกาสการพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ของโครโมโซมเพศชายโดยวิธี PCR กับการตรวจหาตัวอสุจิโดยใช้กล้องจุลทรรศน์

**วัสดุและวิธีการศึกษา:** นำตัวอย่างน้ำซึบช่องคลอดรวมทั้งหมด 60 ตัวอย่างมาทำการศึกษา ซึ่งตัวอย่างเหล่านี้ตรวจสาร acid phosphatase ให้ผลบวก และช่วงเวลาที่มารับการตรวจไม่เกิน 48 ชั่วโมงหลังถูกกระทำชำเรา นำตัวอย่างทั้งหมดมาทำการตรวจหาตัวอสุจิ ตัวอย่างที่ตรวจพบอสุจิได้นำมาแบ่งเป็น 3 กลุ่มตามปริมาณของตัวอสุจิที่พบ (กลุ่ม few, 1+ และ 2+) และนำตัวอย่างทั้งหมดมาสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ที่ตำแหน่ง DYS385 แยกแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี electrophoresis ด้วยวุ้น polyacrylamide gel และย้อมด้วย silver stain

**ผลการศึกษา:** ได้ตรวจพบตัวอสุจิจำนวน 30 ตัวอย่าง (50%) และตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS385 จำนวน 37 ตัวอย่าง (ร้อยละ 61.6) ในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่างนั้น ตรวจพบดีเอ็นเอถึง 14 ตัวอย่าง (ร้อยละ 46.7) และอีก 30 ตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจินั้นตรวจพบดีเอ็นเอ 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 76.7) ซึ่ง 4 ใน 7 ตัวอย่างที่ไม่พบดีเอ็นเอตำแหน่ง DYS385 แต่ตรวจพบตัวอสุจินั้น (ร้อยละ 57.1) เป็นตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิเพียงเล็กน้อย (few) จากการใช้เครื่องมือทางสถิติพบว่ากลุ่มที่พบตัวอสุจิระดับ 1+ และ 2+ ตรวจพบดีเอ็นเอได้มากกว่ากลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิระดับ few อย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.033$ ) นอกจากนี้ กลุ่มที่ตรวจสาร acid phosphatase มากกว่า 700 U/mL จะตรวจพบดีเอ็นเอมากกว่ากลุ่มที่พบ acid phosphatase น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.037$ )

**สรุป:** การตรวจหาดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายจากน้ำซึบช่องคลอดสามารถช่วยให้มีโอกาสตรวจพบหลักฐานการถูกกระทำชำเรามากขึ้น อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังไม่อาจนำมาใช้ทดแทนการตรวจหาตัวอสุจิโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ได้

**คำสำคัญ:** การข่มขืนกระทำชำเรา, สารดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย, ตำแหน่งดีไวเอส 385, ตัวอสุจิ

## บทนำ

การเพิ่มขึ้นของการทำซ้ำเราเป็นปัญหาสังคมที่สำคัญในประเทศไทย และส่งผลกระทบต่อมากมาย เช่น การทำแท้ง การติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ และที่สำคัญคือ ปัญหาทางด้านจิตใจอย่างรุนแรงของผู้เสียหาย แม้ความก้าวหน้าทางนิติวิทยาศาสตร์จะเจริญก้าวหน้ามาก แต่การพิสูจน์ความผิดเกี่ยวกับการกระทำทางเพศนั้นทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากพยานหลักฐานมักจะไม่เพียงพอต่อการพิสูจน์ความผิดของผู้กระทำ หรือหลักฐานสูญหายไป

การพิสูจน์ว่าผู้เสียหายถูกกระทำซ้ำเราหรือไม่ ต้องใช้ชีววัตถุพยาน แม้จะมีการตรวจพิสูจน์หลายวิธี แต่วิธีการตรวจหาสารประกอบของน้ำอสุจิ (acid phosphatase) ร่วมกับการตรวจหาตัวอสุจิ ยังเป็นที่นิยม อย่างไรก็ตาม การตรวจหาสาร acid phosphatase ให้ผล false positive ค่อนข้างมาก ไม่สามารถใช้เป็นสิ่งสรุปได้ว่าผ่านการกระทำซ้ำเราจริง ส่วนการตรวจหาตัวอสุจินั้น แม้จะเป็นสิ่งที่ชี้ชัดว่าผู้เสียหายจะผ่านการกระทำซ้ำเราจริง แต่ตัวอสุจินั้นสูญสลายอย่างรวดเร็วภายในช่องคลอด ถ้าในช่องคลอดมีตัวอสุจิหลงเหลืออยู่น้อย หรือการเก็บน้ำอสุจิช่องคลอดเก็บได้ไม่ครบถ้วนเพียงพอ โอกาสที่จะพบตัวอสุจิอาจไม่มากนัก<sup>1,2</sup>

ปัจจุบันมีการใช้ดีเอ็นเอ ในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลในทางนิติวิทยาศาสตร์อย่างกว้างขวาง จากตัวอย่างชนิดต่างๆ เช่น คราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผม น้ำลาย นอกจากนั้นยังใช้พิสูจน์ความเป็นเครือญาติเดียวกันได้อีกด้วย<sup>3-7</sup>

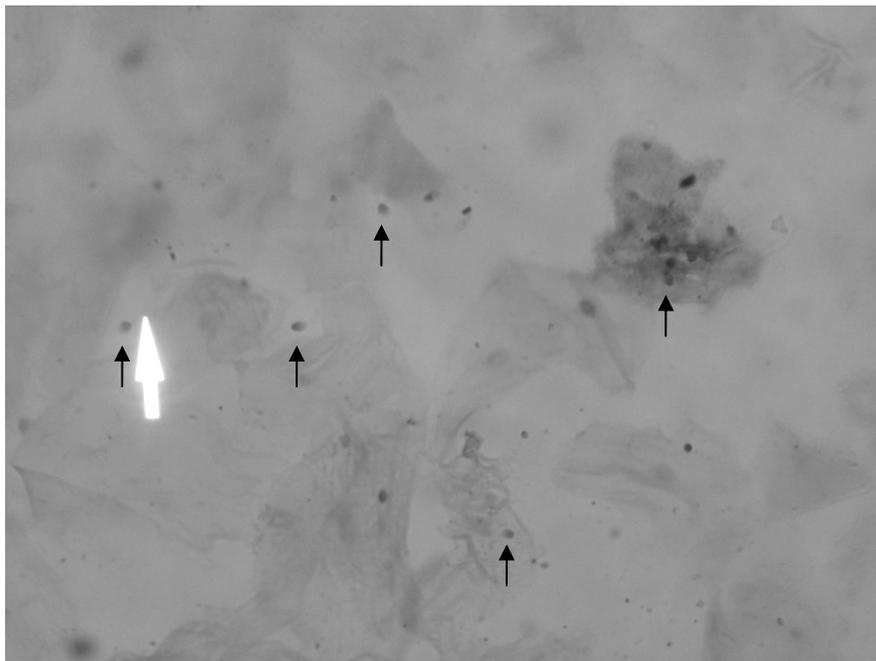
จากการศึกษา พบว่าการตรวจหาดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย จากน้ำอสุจิช่องคลอดของผู้ถูกกระทำซ้ำเรา เป็นหลักฐานที่บ่งชี้ว่าพบเซลล์เพศชายในช่องคลอด และมีข้อได้เปรียบกว่าการตรวจหาตัวอสุจิหรือสารประกอบของน้ำอสุจิหลายประการ อาทิเช่น ดีเอ็นเอไม่ได้สูญสลายไปอย่างง่ายตายเหมือนตัวอสุจิ<sup>8,9</sup> หรือสาร acid phosphatase โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้วิธี polymerase chain reaction จะสามารถเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอได้อีกหลายล้านเท่า ทำให้เพิ่มโอกาสตรวจพบดีเอ็นเอได้มาก และระยะเวลาของการตรวจพบหลังถูกกระทำซ้ำเราก็นานกว่าด้วย ซึ่งมีหลายงานวิจัยที่รายงานว่าการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายเพียงตำแหน่งเดียว (singleplex) จะมีโอกาสตรวจพบได้มากกว่าการตรวจพร้อมกันหลายตำแหน่ง (multiplex)<sup>10,11</sup> และสามารถตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในช่องคลอดได้หลังมีเพศสัมพันธ์ถึง 2 สัปดาห์<sup>12,13</sup> ในขณะที่ตัวอสุจิมักพบได้ไม่เกิน 7 วัน และ acid phosphatase มักพบไม่เกิน 72 ชั่วโมง หลังมีเพศสัมพันธ์<sup>2</sup>

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ เปรียบเทียบการตรวจพบหลักฐานการถูกกระทำซ้ำเราในช่องคลอดของผู้เสียหายโดยวิธีการตรวจหาดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย และการตรวจหาตัวอสุจิ ซึ่งในการศึกษานี้ได้ใช้

ไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอตำแหน่ง DYS385<sup>14</sup> ว่าตรวจพบแตกต่างกันเล็กน้อยเพียงใด อันจะสามารถนำผลการวิจัยนี้มาใช้ประโยชน์ในอนาคตต่อไป

## วัสดุและวิธีการศึกษา

คัดเลือกตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดจากหญิงผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา ตรวจโดยแพทย์นิติเวชที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 60 ตัวอย่าง จากผู้เสียหาย 24 คน โดยตัวอย่างทั้งหมดได้รับการตรวจหาสาร acid phosphatase ให้ผลบวกโดยวิธี Spectrophotometry ได้ปริมาณมากกว่า 300 U/mL และ Color test ให้สีภายในเวลา 60 วินาที นำตัวอย่างทั้งหมดมาย่อยด้วย Oppitz และตรวจหาตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิจะถูกแบ่งเป็นกลุ่มย่อยจำนวน 3 กลุ่มตามปริมาณอสุจิที่พบ ได้แก่ กลุ่มพบเล็กน้อย (few) คือพบตัวอสุจิเพียง 1 ถึง 2 ตัวต่อสไลด์, กลุ่มพบปริมาณ 1+ คือพบจำนวนไม่เกิน 1 ใน 4 ของพื้นที่ high power field และกลุ่มพบปริมาณ 2+ คือพบมากกว่า 1 ใน 4 ของพื้นที่ high power field



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างที่พบตัวอสุจิ (ลูกศร) มากกว่า 1 ใน 4 ของ high-power field ซึ่งจัดไว้ในกลุ่มที่พบปริมาณ 2+

นำตัวอย่างทั้งหมดมาสกัดดีเอ็นเอแบบไม่แยกชนิดเซลล์ (total extraction) โดยใช้วิธี Chelex นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ชุดน้ำยา JUMP START™ จากบริษัท SIGMA® 5 ไมโครลิตร (ประกอบด้วย 20 mM Tris-HCl, pH8.3, 100 mM KCl, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.002% gelatin, 0.4 mM each dNTP, 0.06 unit/ $\mu$ L Taq DNA Polymerase, JumpStart Taq antibody) นำสกัดดี

เอ็นเอ 4 ไมโครลิตร และ DYS385 primer mix (5  $\mu$ M each) 1 ไมโครลิตร รวมเป็น 10 ไมโครลิตร PCR profile มีดังนี้ 94 °C 2 นาที ทำ hot start ที่ 80 °C โดยการใส่ primer mix ภายหลัง และวนรอบด้วย อุณหภูมิ 94 °C 20 วินาที, 55 °C 10 วินาที และ 72 °C 30 วินาที ทำซ้ำทั้งหมด 35 รอบ

สำหรับลำดับเบสของ DYS385 locus primer คือ

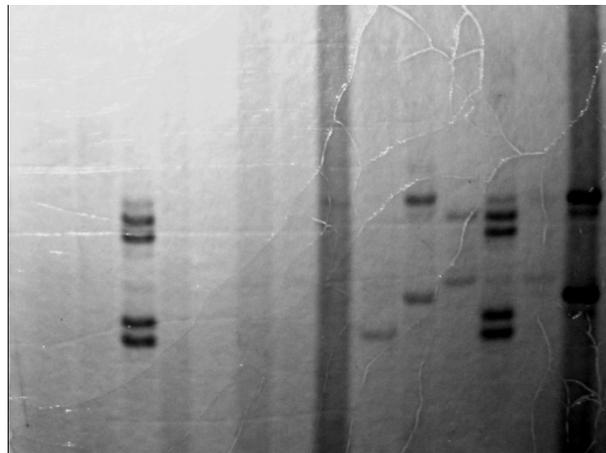
เส้นที่ 1 (primer A): 5'-GAG AAA GAG GAA AGA GAA AGA AAG G-3'

เส้นที่ 2 (primer B): 5'-ATC TAT TCC AAT TAC ATA GTC CTC C-3'

ซึ่ง STR ที่ตำแหน่ง DYS385 มีชุดลำดับเบสซ้ำเป็น GAAA ในชุดอัลลีลมาตรฐานประกอบด้วยอัลลีล ที่ 10 ถึง 18 แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR มีขนาด 154 bp ในอัลลีล 18 DYS385 locus นี้เป็นแบบคู่ (duplicate locus) ซึ่งจะได้ลักษณะแถบดีเอ็นเอ 2 แถบต่อหนึ่ง haplotype

ทำการแยก PCR product ด้วย polyacrylamide gel electrophoresis ในชุดแยกสารในวุ้นที่มีความเข้มข้นของ acrylamide โดยรวม 8.5% ขนาดของวุ้นที่ใช้กว้าง 16 ซม. ยาว 20 ซม. และหนา 0.1 ซม. โดยใช้ gel buffer ประกอบด้วย 33 mM ของ Tris-SO<sub>4</sub> (pH 4.5), 6% glycerol และ electrophoresis buffer จากนั้นทำการย้อมวุ้นด้วย silver staining อ่านผลการตรวจเปรียบเทียบกับอัลลีลมาตรฐาน

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



ภาพที่ 2 ตัวอย่าง polyacrylamide gel หลังการ electrophoresis และย้อมด้วย silver stain

เลนที่ 1 คือตัวอย่างควบคุมผลลบ

เลนที่ 3 และ 12 คืออัลลีลมาตรฐาน ประกอบด้วยอัลลีลที่ 10, 11, 13, 16, 17 และ 18

เลนที่ 2 และ 4 ถึง 7 คือตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดที่ตรวจไม่พบดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย

เลนที่ 8 ถึง 11 และ 13 คือตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดที่ตรวจพบดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย และอ่านผลได้เป็น 12/18, 10/-, 12/18, 13/17 และ 13/18 ตามลำดับ

เลนที่ 14 คือตัวอย่างควบคุมผลบวก ลักษณะพันธุกรรมเป็น 12/18

## ผลการศึกษา

คุณลักษณะของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษา แสดงในตารางที่ 1

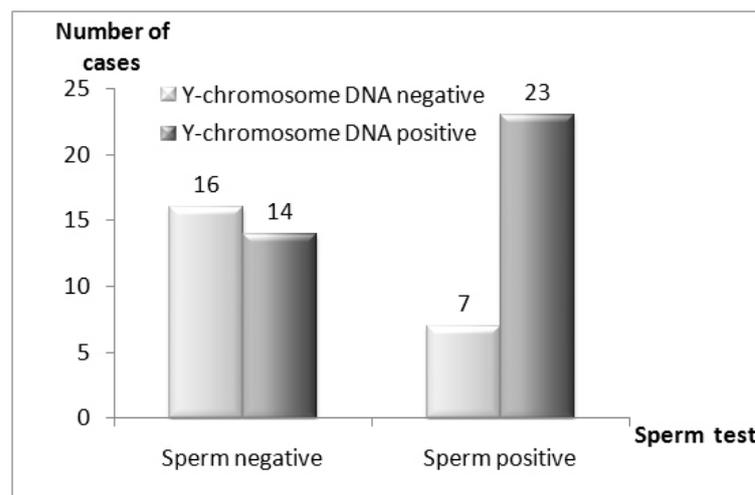
คุณลักษณะของตัวอย่าง		Min	Max	Mean
อายุของหญิงเจ้าของตัวอย่างน้ำขี้ข่องคลอด (ปี)		12	52	20.7
ระยะเวลาหลังจากถูกกระทำชำเรา (ชั่วโมง)		2	48	20.0
Acid phosphatase activity	Color test (sec)	0 (ทันที)	55	24.9
	Spectrophotometry (U/mL)	291*	>1000	770.1

\* ระดับเอนไซม์ acid phosphatase น้อยกว่า 300 ยูนิต/มล. แต่พบอสุจิ ถูกนำมารวมในงานวิจัย 1 ราย

ตารางที่ 1 แสดงคุณลักษณะต่างๆ ของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษา

สำหรับผลการตรวจหาตัวอสุจิด้วยวิธีย้อม Oppitz test และส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์นั้น ได้ตรวจพบตัวอสุจิจำนวน 30 ตัวอย่าง (50%) จากทั้งหมด 60 ตัวอย่าง ส่วนการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS385 นั้น พบจำนวน 37 ตัวอย่าง (ร้อยละ 61.6) เมื่อทำการเปรียบเทียบแบบ Compare proportion ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $Z=1.103$ )

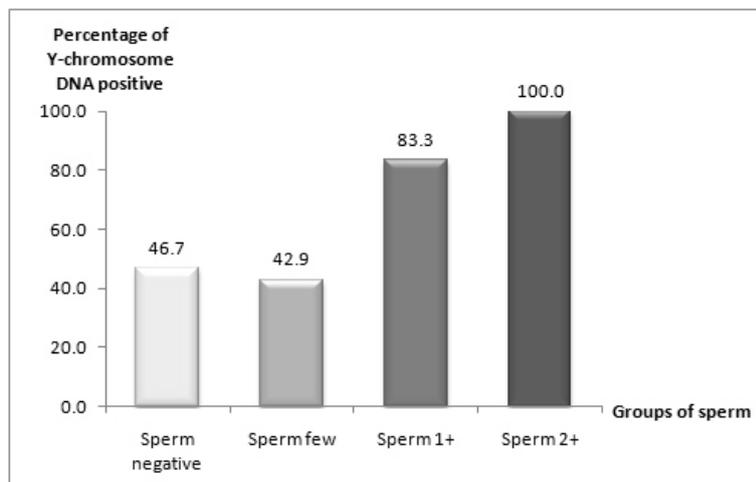
ในจำนวนตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่างนั้น ตรวจพบดีเอ็นเอถึง 14 ตัวอย่าง (ร้อยละ 46.7) และอีก 30 ตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจินั้นตรวจไม่พบดีเอ็นเอ 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 23.3) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1 เมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติถึงโอกาสการตรวจพบตัวอสุจิเทียบกับการตรวจพบดีเอ็นเอ โดยใช้ McNemar chi-square test ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.268$ )



แผนภูมิที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบและไม่พบดีเอ็นเอ สำหรับด้านซ้ายคือตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ และด้านขวา คือตัวอย่างที่พบตัวอสุจิ อย่างละ 30 ตัวอย่าง

เมื่อนำตัวอย่างที่พบตัวอสุจิทั้ง 30 ตัวอย่างมาแบ่งกลุ่มออกเป็น 3 กลุ่มตามปริมาณของตัวอสุจิที่พบ คือ กลุ่มพบปริมาณเล็กน้อย (few), พบปริมาณ 1+ และพบปริมาณ 2+ พบว่ามีตัวอย่างที่พบตัวอสุจิอยู่ในกลุ่ม few จำนวน 7 ตัวอย่าง กลุ่ม 1+ จำนวน 18 ตัวอย่าง และกลุ่ม 2+ จำนวน 5 ตัวอย่าง เมื่อได้ตรวจดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง DYS385 แล้วพบดีเอ็นเอในทั้งสามกลุ่มจำนวน 3, 15 และ 5 ตัวอย่างตามลำดับ (ร้อยละ 42.9, 83.3 และ 100 ตามลำดับ) ซึ่งกลุ่มที่พบตัวอสุจิจะดับ few จะมีโอกาสพบดีเอ็นเอตำแหน่ง DYS385 ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2 ซึ่ง 7 ตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิ แต่ไม่พบดีเอ็นเอ นั้น อยู่ในกลุ่ม few 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 57.1) และกลุ่ม 1+ อีก 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 42.9) เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า ในกลุ่มที่พบตัวอสุจิตั้งแต่ระดับ 1+ ขึ้นไปมีโอกาสตรวจพบดีเอ็นเอมากกว่ากลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิจะดับ few อย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.033$ )

นอกจากนี้ กลุ่มที่ตรวจสาร acid phosphatase มากกว่า 700 U/mL จะมีโอกาสตรวจพบดีเอ็นเอมากกว่ากลุ่มที่พบ acid phosphatase น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.037$ ) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบดีเอ็นเอกับระยะเวลาหลังจากถูกกระทำชำเรา



แผนภูมิที่ 2 แสดงจำนวนร้อยละที่พบดีเอ็นเอ ในกลุ่มตัวอย่างที่แบ่งตามปริมาณการตรวจพบอสุจิคือ กลุ่มไม่พบ, พบปริมาณเล็กน้อย (few), พบปริมาณ 1+ และพบปริมาณ 2+

## อภิปรายผลการศึกษา

การตรวจร่างกายหญิงผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราแต่ละปีจะมีจำนวนหลายคดีที่ไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่าผ่านการกระทำชำเราหรือไม่ เนื่องจากตรวจไม่พบตัวอสุจิ ทำให้ไม่สามารถใช้เป็นหลักฐานยืนยันได้ว่าถูกกระทำชำเราจริง การพบเอนไซม์ acid phosphatase เพียงอย่างเดียวอาจไม่จำเพาะเจาะจงเนื่องจากเกิดผลบวกเทียมในหลายกรณี เช่น ในหญิงที่มีการติดเชื้อในช่องคลอด หรือหญิงที่ใช้น้ำยาล้างช่องคลอดบางชนิด เป็นต้น การพบตัวอสุจิในช่องคลอดจึงจะสามารถใช้เป็นสิ่งยืนยันการถูกกระทำชำเรา

การตรวจหาดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย ซึ่งจะมีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เพศชายมาก หากตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในช่องคลอดของหญิง แสดงให้เห็นถึงการผ่านการถูกระทำชำเรา เทียบได้กับการตรวจพบตัวอสุจิในช่องคลอดเช่นกัน

จากการศึกษานี้ พบว่า ในจำนวนผู้เสียหายที่ตรวจพบแต่สาร acid phosphatase แต่ตรวจไม่พบตัวอสุจิจำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS385 ถึง 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 46.7% แสดงให้เห็นว่า หากใช้การตรวจดีเอ็นเอจะช่วยให้พบหลักฐานของการถูกระทำชำเราเพิ่มขึ้นได้อีกเป็นจำนวนมากทีเดียว การวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sibille (2001)<sup>15</sup> ที่พบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตัวอย่างที่ไม่พบตัวอสุจิถึง 28.8% แต่ไม่ได้ตรวจสาร acid phosphatase และนอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chomont (2001)<sup>16</sup> ที่พบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในรายที่ตรวจไม่พบ PSA ถึง 24.4%

นอกจากนี้ การศึกษานี้ยังพบว่า มีปัจจัยหลายประการ ที่มีผลต่อการตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย เช่น การตรวจ acid phosphatase activity พบมากกว่า 700 U/mL จะทำให้ตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.037$ ) และการตรวจพบตัวอสุจิตั้งแต่ 1+ ขึ้นไป จะทำให้ตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.033$ ) ส่วนเรื่องระยะเวลา หากผู้เสียหายมาตรวจภายใน 20 ชั่วโมงแรกหลังถูกระทำชำเรา อาจทำให้ตรวจพบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้มากขึ้น แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.066$ )

สำหรับตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่างนี้ ตรวจไม่พบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย 7 ตัวอย่าง คิดเป็น 23.3% โดยใน 7 ตัวอย่างดังกล่าวนี้ มีกลุ่มที่พบตัวอสุจิล็กน้อย (few) จำนวน 4 ตัวอย่าง และกลุ่ม 1+ จำนวน 3 ตัวอย่าง อาจเป็นไปได้ว่า ในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอนั้น อาจทำให้ดีเอ็นเอบางส่วนมีการสูญเสียไปด้วย เมื่อประกอบกับการที่มีตัวอสุจิปริมาณน้อย จึงทำให้ตรวจไม่พบดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย จึงแสดงให้เห็นว่าการตรวจหาดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายเพียงอย่างเดียว ยังไม่สามารถนำมาใช้แทนที่การตรวจหาตัวอสุจิได้

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ได้ทำการตรวจไม่โครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอตำแหน่ง DYS385 เพียงตำแหน่งเดียว โครโมโซมเพศชายนั้นยังมีอีกหลายตำแหน่งมากที่ยังไม่ได้นำมาทดลอง การตรวจดีเอ็นเอตำแหน่งอื่นๆ อาจเป็นการช่วยเพิ่มโอกาสในการตรวจพบให้มากขึ้นได้ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายตำแหน่งอื่นๆ ต่อไป

## สรุป

การตรวจหาดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายจากน้ำซบช่องคลอดสามารถช่วยให้มีโอกาสตรวจพบหลักฐานการถูกระงับชำเรามากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังไม่อาจนำมาใช้แทนที่การตรวจหาตัวสุจิโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ได้ การใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการตรวจหาหลักฐานของการถูกระงับชำเรา

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์นิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ช่วยสนับสนุนเงินทุนเพื่อการวิจัย และภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ยืมใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัยครั้งนี้ และงานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองทางจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## เอกสารอ้างอิง

1. Mauck CK, Doncel GF. Biomarkers of semen in the vagina: applications in clinical trials of contraception and prevention of sexually transmitted pathogens including HIV. *Contraception*. 2007; 75:407– 419.
2. DiMaio VJM, DiMaio D. *Forensic Pathology*. 2nd ed. Florida: CRC press; 2001. p. 442-4.
3. ธานินทร์ ภูพัฒน์. วิทยาการ ดี เอ็น เอ ในงานนิติเวช. เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2538.
4. Butler JM. *Forensic DNA typing: Biology, Technology and Genetics of STR Markers*. 2nd ed. London: Elsevier Academic Press; 2005.
5. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. *An Introduction to Forensic Genetics*. Wiltshire: Antony Rowe Ltd; 2007.
6. Rapley R, Whitehouse D. *Molecular Forensics*. Wiltshire: Antony Rowe Ltd; 2007.
7. Seta S. Current research and case work activities of criminalistics in Japan. *Forensic Sci Int*. 1996 Jun 28; 80(1-2):109-35.
8. Rydzewska M, Janica J, Jaruzelska J, Pepinski W, Skawronska. Detection of the SRY (fragment I) gene as evidence of coitus interruptus in alleged sexual assaults and during molestation. *Med Sci Monit*. 1999; 5(4):652-5.
9. Prinz M, Sansone M. Y Chromosome-specific Short Tandem Repeats in Forensic Casework. *Croat Med J*. 2001 Jun; 42(3):288-91.
10. Hall A, Ballantyne J. Novel Y-STR typing strategies reveal the genetic profile of the semen donor in extended interval post-coital cervicovaginal samples. *Forensic Sci Int*. 2003 Sep 9; 136(1-3):58-72.
11. Mayntz-Press KA, Sims LM, Hall A, Ballantyne J. Y-STR Profiling in Extended Interval ( $\geq$  3 days) Postcoital Cervicovaginal Samples. *J Forensic Sci*. 2008 Mar; 53(2):342-8.
12. Zenilman JM, Yuenger J, Galai N, Turner CF, Rogers SM. Polymerase chain reaction detection of Y chromosome sequences in vaginal fluid: preliminary studies of a potential biomarker for sexual behavior. *Sex Transm Dis*. 2005 Feb; 32(2):90-4.
13. Jadack RA, Yuenger J, Ghanem KG, Zenilman J. Polymerase chain reaction detection of Y-chromosome sequences in vaginal fluid of women accessing a sexually transmitted disease clinic. *Sex Transm Dis*. 2006 Jan; 33(1):22-5.

14. Bhoopat T, Hohoff C, Steger HF. Identification of DYS385 allele variants by using shorter amplicons and Northern Thai haplotype data. *J Forensic Sci.* 2003 Sep; 48(5):1108-12.
15. Sibille I, Duverneuil C, Lorin de la Grandmaison G, Guerrouache K, Teissière F, Durigon M, et al. Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. *Forensic Sci Int.* 2002 Feb 18; 125(2-3):212-6.
16. Chomont N, Grésenguet G, Lévy M, Hocini H, Becquart P, Matta M, et al. Detection of Y Chromosome DNA as Evidence of Semen in Cervicovaginal Secretions of Sexually Active Women. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001 Sep; 8(5):955-8.