

The Study of Duodenal Content for an Enhance Examination in Toxicology

การศึกษาเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นเพื่อเป็นวิธีเสริมในการตรวจทางพิษวิทยา

Wachiraporn Pota*, Chaturong Kanchai MD.**

**Forensic Science, Graduate School, Chiang Mai University, **Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50000, Thailand.*

วชิราภรณ์ โปธา†, จาตุรงค์ กันชัย พ.บ., ชาย ไม่ทราบชื่อ พ.บ.†, ทญิง ไม่ทราบชื่อ วท.ม.

†สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, †† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่ 50000, ประเทศไทย.

Abstract

Objective: The objective of this study was using duodenal content as an alternative or an enhance specimen in toxicology instead of gastric content.

Materials and Methods: The samples were collected from 30 corpses which died from unknown case with history of toxic substances or drug exposure. The samples were extracted with acids and based and then analyzed by liquid chromatography - mass spectrometry (LC-MS-MS).

Results: The results were compared duodenal content with gastric content using blood and urine as gold standards. Toxic substances or drugs were found in 25 cases (83.30%). The sensitivity, specificity and accuracy of the duodenal content versus the gastric content which were calculated and compared with blood are 76.67:80.00, 41.67:25.00, 70.83:70.83 and urine are 68.29:73.17, 27.27:18.18 and 59.62: 61.54 respectively. Statistic analysis using Chi-square showed that there was no significant difference between duodenal and gastric content ($p < 0.05$).

Conclusion: Therefore, the duodenal content can be used as an alternative specimen for toxicology diagnosis.

Keywords: Duodenal Content, Gastric Content, LC-MS, Unknown Case

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นเป็นทางเลือก หรือวิธีเสริมในการตรวจทางพิษวิทยาและอาจจะนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์แทนเศษอาหารในกระเพาะอาหาร

วัสดุและวิธีการศึกษา: กลุ่มตัวอย่างได้มาจากการเก็บตัวอย่างทางชีวภาพในศพที่เสียชีวิตโดยมีปรากฏเหตุและมีประวัติการได้รับสารพิษหรือยา จำนวน 30 ราย การวิเคราะห์ตัวอย่างทำโดยการสกัดด้วยวิธีกรดและเบส แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS) ผลที่ได้นำมาเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นกับเศษอาหารในกระเพาะอาหารโดยมีผลการวิเคราะห์จากเลือด และปัสสาวะเป็น gold standard

ผลการศึกษา: ผลการวิเคราะห์สามารถตรวจพบสารพิษหรือยาจำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.3 ค่าความไว ความจำเพาะ ความแม่นยำของเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นเทียบกับเศษอาหารในกระเพาะอาหารเมื่อเทียบกับเลือดเท่ากับ 76.67:80.00, 41.67:25.00 และ 70.83:70.83 เมื่อเทียบกับปัสสาวะเท่ากับ 68.29:73.17, 27.27:18.18 และ 59.62: 61.54 เมื่อนำค่าทั้งหมดมาทดสอบสมมติฐานด้วยวิธี Chi-square พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

สรุป: เศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นสามารถใช้แทนเศษอาหารในกระเพาะอาหารในการตรวจวินิจฉัยทางพิษวิทยาได้

คำสำคัญ: เศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้น, เศษอาหารในกระเพาะอาหาร, LC-MS, ศพที่เสียชีวิตโดยมีปรากฏเหตุ

บทนำ

สถิติประชากรไทยในช่วงปี พ.ศ.2550-2554 พบว่าอัตราการเกิดลดต่ำลงและมีอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้น⁽¹⁻³⁾ การฆ่าตัวตายเป็นพฤติกรรมที่ตายอย่างหนึ่งในจำนวนนั้น-วิธีการฆ่าตัวตายที่พบมากที่สุด คือ การรับประทานยาเกินขนาดหรือรับประทานสารพิษ เช่น ยาฆ่าแมลง การวินิจฉัยดังกล่าวต้องใช้ผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หน่วยงานพิษวิทยาต่างๆ⁽⁴⁻⁵⁾ สารพิษหรือยาที่พบบ่อยจากการเสียชีวิต⁽⁶⁻⁸⁾ ได้แก่ ยาเสพติด ยาระงับประสาทและยานอนหลับ สารกำจัดศัตรูพืช การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการจะเก็บตัวอย่างเลือดอย่างน้อย 50 มิลลิลิตร ปัสสาวะอย่างน้อย 100 มิลลิลิตร น้ำล้างกระเพาะอาหารหรือสารในกระเพาะอาหารอย่างน้อย 100 มิลลิลิตร น้ำดีเท่าที่เก็บได้ ใส่ในขวดแก้วที่สะอาด

หากไม่สามารถเก็บตัวอย่างอื่นๆได้ให้เก็บตัวอย่างน้อย 100 กรัม การเก็บตัวอย่างส่งตรวจจึงต้องเก็บอย่างถูกต้อง และมีปริมาณที่เหมาะสม

บุญศักดิ์⁽⁹⁾ รายงานกรณีการตรวจพบสารพิษจากเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นแต่ไม่พบในสารใน กระเพาะอาหาร ดังนั้นผู้ศึกษาจึงเกิดความสนใจที่จะศึกษาการเปรียบเทียบเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นกับเศษอาหารในกระเพาะอาหาร เลือด ปัสสาวะ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมและสามารถนำไปใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษานี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ สารในกระเพาะอาหาร และเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นจากศพ จำนวน 30 ราย จากศพที่เข้ามาชันสูตร ณ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในกรณีตายโดยยังมีปรากฏเหตุ และมีประวัติการได้รับสารพิษหรือยา และศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา ภาควิชานิติเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตัวอย่างจากศพ จะถูกนำไปสกัดด้วยวิธีการดและวิธีเบส ตามวิธีของ Gloria⁽¹⁰⁾ ดังนี้

การสกัดตัวอย่างด้วยกรด

ตัวอย่าง 1 ml แล้วปรับค่า pH = 5 โดยเติม Saturated NH_4Cl 500 μl แล้วเติม Ethyl acetate 5 ml จากนั้นเติม trimipramine 100 μl (final conc. เท่ากับ 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) เขย่า 20 นาที และปั่นด้วยความเร็ว 3000 รอบ/วินาที เป็นเวลา 3 นาที แล้วทำการแยกส่วนใส (supernatant) ใส่หลอดใหม่เพื่อทำการระเหยแห้ง และละลายคราบด้วย Buffer A:B (9:1) 200 μl (Buffer A :5mM Ammoniumformate หรือ 0.01% Formic in water, Buffer B : 0.01% Formic in Acetonitrile)

การสกัดตัวอย่างด้วยเบส

ตัวอย่าง 1 ml ปรับ pH = 11 โดยเติม Saturated Sodium Borate 500 μl แล้วเติม 1-Chlorobutane 5 ml จากนั้นเติม trimipramine 100 μl (final conc. เท่ากับ 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) เขย่า 20 นาที และปั่นด้วยความเร็ว 3000 รอบ/วินาที เป็นเวลา 3 นาที แล้วทำการแยกส่วนใส(supernatant) ใส่หลอดใหม่เพื่อทำการระเหยแห้ง ละลายคราบด้วย Buffer A:B (9:1) 200 μl (Buffer A :5mM Ammoniumformate หรือ 0.01% Formic in water, Buffer B : 0.01% Formic in Acetonitrile)

สารสกัดที่ได้แต่ละวิธีจะถูกฉีดเข้าเครื่อง LC-MS (Agilent Technologies 1290 infinity LC ใช้คู่กับ 6460 Triple Quadrupole LC/MS, Column : Eclipse plus C18, 2.1mm.x100mm., Mobile phase A : 5mM Ammoniumformate/0.01% Formic in water, Mobile phase B : 0.01% Formic in Acetonitrile, Flow rate 0.3 mL/min, Injection 5 μl) เพื่อวิเคราะห์หาสารพิษหรือกลุ่มยา

ข้อมูลผลการตรวจพบสารพิษหรือกลุ่มยาในตัวอย่างเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นจะถูกนำมาเปรียบเทียบกับผลการตรวจพบในตัวอย่างเศษอาหารในกระเพาะอาหารโดยมีผลการตรวจพบจากตัวอย่างเลือดและปัสสาวะเป็น gold standards

การวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วยการวิเคราะห์ค่าความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) และความแม่นยำ (Accuracy)⁽¹¹⁾ และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ไคสแควร์ (Chi-square test)

ผลการศึกษา

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาจากศพ จำนวน 30 รายสามารถตรวจพบสารพิษหรือยา จำนวน 25 ราย (ร้อยละ 83.30) และตรวจไม่พบจำนวน 5 ราย (ร้อยละ 16.70) โดยผลการตรวจพบสารพิษหรือยาในแต่ละตัวอย่างพบว่ามีในตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ เศษอาหารในกระเพาะอาหาร และเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นมีร้อยละการตรวจพบเท่ากับ 73.30, 63.60, 70.00 และ 70.00 ตามลำดับ

รายการชนิดของสารพิษหรือยาที่ตรวจพบแยกตามช่องทางการได้รับโดยการสันนิษฐาน แบ่งออกเป็นสองประเภทด้วยกันคือ การได้รับทางปาก และการได้รับทางอื่น ซึ่งการได้รับทางอื่นนั้นประกอบไปด้วย Morphine, 6-MaM, Lidocaine และ THC ส่วนการได้รับทางปากนั้นประกอบไปด้วย Acetaminophen, Amphetamine, Methamphetamine, Amlodipine, Caffeine, Carbamate, Codeine, Nor – Codeine, Chlorpheniramine, Chloroquine, Clozapine, Dextromethophan, Diphenhydramine, Diazepam, Desmethyl diazepam, Nordiazepam, Loprazolam, Hydroxyzine, Orphenadine, Desmethyl Orphen, Omeprazole, Sertraline, Temazepam และ Tramadol

เมื่อนำข้อมูลการตรวจพบสารพิษหรือยามาวิเคราะห์หาค่าความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความแม่นยำ (Accuracy)⁽¹¹⁾ ของเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นและเศษอาหารในกระเพาะอาหาร โดยมีผลการตรวจพบจากตัวอย่างเลือดและปัสสาวะเป็น gold standards พบว่า ค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำ ของเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นและเศษอาหารในกระเพาะอาหารมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 1

ผลการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง พบว่าค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำของเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นและเศษอาหารในกระเพาะอาหารไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

อภิปรายผลการศึกษา

การวินิจฉัยสาเหตุการตายในกรณีนี้สงสัยว่าเกิดจากสารพิษหรือยา โดยทั่วไปในเบื้องต้นจะใช้ผลการตรวจวิเคราะห์จากตัวอย่างเลือด ปัสสาวะและเศษอาหารจากกระเพาะอาหาร แต่หากไม่สามารถเก็บตัวอย่างดังกล่าวได้

ครบ ตัวอย่างที่สามารถเก็บเพิ่มเติมได้คือ น้ำดี และ ตับ⁽⁸⁾ แต่เนื่องจากบุญศักดิ์⁽⁹⁾ เคยรายงานการตรวจพบสารพิษ ในตัวอย่างเศษอาหารจากลำไส้เล็กส่วนต้นโดยไม่พบในตัวอย่างเศษอาหารในกระเพาะอาหาร จึงเกิดคำถามว่าเศษอาหารจากลำไส้เล็กส่วนต้นจะสามารถใช้เป็นตัวอย่างทางเลือกเพิ่มเติมในทางพิษวิทยาได้หรือไม่

การศึกษาการใช้ตัวอย่างเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นเพื่อใช้เป็นทางเลือกในการตรวจวินิจฉัยทางพิษวิทยาโดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างตัวอย่างเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นกับตัวอย่างเศษอาหารในกระเพาะอาหาร โดยใช้ตัวอย่างเลือด และปัสสาวะ เป็น gold standard

การเลือกใช้ตัวอย่างเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นเพื่อนำมาวินิจฉัยทางพิษวิทยาเนื่องจากลำไส้เล็กส่วนต้นเป็นอวัยวะที่ติดต่อกับกระเพาะอาหาร รับประทานอาหารที่ยังไม่ย่อย และมีหน้าที่ย่อยและดูดซึมมากที่สุดเมื่อเทียบกับลำไส้เล็กส่วนกลางและส่วนปลาย และเป็นส่วนของลำไส้ที่รับน้ำดีจากตับ จึงเป็นแหล่งรวมสารพิษหรือยาที่ได้รับทั้งทางปากและจากเลือดโดยผ่านตับออกมาทางน้ำดี

การตรวจวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Liquid Chromatography- Mass Spectrometry (LC-MS) เนื่องจากสามารถตรวจวิเคราะห์สารพิษหรือยาได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย และเป็นวิธีมาตรฐานอย่างหนึ่งของการตรวจวิเคราะห์สารพิษหรือยา

ผลการวิเคราะห์ระหว่างตัวอย่างเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นกับตัวอย่างเศษอาหารในกระเพาะอาหาร เลือด และปัสสาวะของตัวอย่างที่นำมาศึกษาจากศพ จำนวน 30 ราย สามารถตรวจพบสารพิษหรือยา จำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.30 และตรวจไม่พบจำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.70 พบว่าในตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ เศษอาหารในกระเพาะอาหาร และเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นมีร้อยละการตรวจพบเท่ากับ 73.30 63.60 70.00 และ 70.00 ตามลำดับ ซึ่งในตัวอย่างปัสสาวะมีร้อยละการตรวจพบที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่นๆ เนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างปัสสาวะได้จำนวน 8 ราย จึงส่งผลต่อการคิดร้อยละของการตรวจพบสารพิษหรือยา

เนื่องจากลำไส้เล็กส่วนต้นเป็นอวัยวะที่รับเศษอาหารต่อจากกระเพาะอาหารและรับน้ำดีจากตับ การตรวจวิเคราะห์ชนิดของสารพิษหรือยาที่ตรวจพบจึงแยกตามทางการได้รับโดยสันนิษฐานว่าอาจได้รับทางปากและทางอื่นๆ ชนิดของสารพิษหรือยาที่ได้รับทางปาก เช่น Acetaminophen ยากลุ่ม Benzodiazepine-สาร Caffeine Tramadol เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารหรือยาเสพติดบางตัวที่เข้าสู่ร่างกายด้วยการรับประทานบ่อยที่สุด เช่น Amphetamine Methamphetamine Codeine เป็นต้น ส่วนชนิดของสารหรือยาที่ได้รับทางอื่นนั้นได้แก่ Morphine กัญชา Lidocaine

ผลการเปรียบเทียบค่าความไว ความจำเพาะและความแม่นยำเมื่อใช้ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจากเลือดและปัสสาวะเป็น gold standards และเมื่อทดสอบทางสถิติโดยใช้การทดสอบไคสแควร์ พบว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้

จากเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นและเศษอาหารในกระเพาะอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงสามารถใช้ตัวอย่างส่งตรวจที่เก็บจากลำไส้เล็กส่วนต้นเป็นทางเลือกในการส่งตรวจทางพิษวิทยาได้

การเก็บตัวอย่างส่งตรวจจากเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นมีข้อดีมากกว่าเก็บการเก็บเศษอาหารจากกระเพาะอาหารคือวิธีการเก็บยากกว่าและได้ปริมาณน้อยกว่าทำให้ต้องกังวลเรื่องปริมาณสิ่งส่งตรวจที่จะนำมาตรวจวิเคราะห์

ในการปฏิบัติงานจริงมีศพจำนวนหนึ่งที่มีลักษณะเนาทำให้ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะได้ จึงอาจทำการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนนี้

สรุป

การศึกษานี้ได้ผลเป็นไปตามวัตถุประสงค์สามารถพิสูจน์ว่าการเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางพิษวิทยาจากเศษอาหารในลำไส้เล็กส่วนต้นสามารถใช้เป็นทางเลือกหรือวิธีเสริมทดแทนการเก็บตัวอย่างส่งตรวจจากเศษอาหารในกระเพาะอาหารได้ และสามารถนำไปใช้เพื่อช่วยในการวินิจฉัยสาเหตุการตายได้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาของอาจารย์อนงพันธ์ จันทร์กัญญา อาจารย์ประจำภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ที่คอยช่วยเหลือชี้แนะเป็นอย่างดีในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบคุณภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์ความสะดวก และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. พัชรา นนทขุนทด. การเกิดประชากรไทย. [ระบบออนไลน์]. (23 กุมภาพันธ์ 2554).แหล่งที่มา : <http://buntarika-patchara.blogspot.com/2011/02/blog-post.html>
2. สถิติสาธารณสุข 2554. ตาราง 2.1.1 จำนวนและอัตราเกิดมีชีพต่อประชากร 1,000 คน จำแนกรายภาคและเพศ พ.ศ. 2550 – 2554. [ระบบออนไลน์]. (20 กุมภาพันธ์ 2556).แหล่งที่มา : <http://bps.ops.moph.go.th/E-book/statistic/statistic54/statistic54.html>
3. สถิติสาธารณสุข 2554. ตาราง 2.2.2 จำนวนและอัตราตายต่อประชากร 1,000 คน จำแนกรายภาคและเพศ พ.ศ. 2550 – 2554. [ระบบออนไลน์]. (20 กุมภาพันธ์ 2556). แหล่งที่มา : <http://bps.ops.moph.go.th/E-book/statistic/statistic54/statistic54.html>
4. รายงานอัตราการฆ่าตัวตาย (รายต่อแสนประชากร2544-2552). [ระบบออนไลน์]. (10 พฤศจิกายน 2555). แหล่งที่มา: <http://www.suicidethai.com>
5. นันทน์ภัส ประสานทอง. การฆ่าตัวตาย(Suicide). [ระบบออนไลน์]. (1 กุมภาพันธ์ 2556). แหล่งที่มา: www.klb.dmh.go.th
6. เลียง หุยประเสริฐ. การตายจากสารพิษ. บทเรียนสำหรับนักศึกษานิติศาสตร์, 3(2536).
7. คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี. การตรวจสอบพิษสารเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วย กระดาษทดสอบ Reactive Paper. [ระบบออนไลน์]. (10 มีนาคม 2556). แหล่งที่มา : <http://www.ra.mahidol.ac.th/poisoncenter/bulletin/bul96/v4n2/Reacpap.html>
8. ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. คู่มือการเก็บตัวอย่างส่งตรวจ. คู่มือการเก็บตัวอย่างส่งตรวจสำหรับห้องปฏิบัติการภาควิชานิติเวชศาสตร์. 1(2555):2-1.

9. บุญศักดิ์ หาญเทอดสิทธิ์. กรณีศึกษาที่ 14 Fetal zinc phosphide poisoning. รายงานการสัมมนาเครือข่ายนิติพิษวิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 2. 7-8 สิงหาคม 2551; ณ กรีนเลคส์รีสอร์ท. หน้า 69-74.
10. Gloria R. Jones. Postmortem toxicology. In: Sue Jickells, Adam Negrusz, editors. *Clarke' analytical forensic toxicology*. London: Pharmaceutical press; 2008:198-202.
11. คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. การตรวจคัดกรองโรค(Screening of Disease). [ระบบออนไลน์]. (20 พฤษภาคม 2557). แหล่งที่มา : www.health.nu.ac.th/epidemiology/5.%20การตรวจคัดกรองโรค.doc