

**Comparison Analysis of The Standard Confirmatory Test of Semen
Between Prostatic Specific Antigen (PSA) ELISA Test And Microscopic
Sperm Detection With The New Semenogelin (Sg) Lateral-flow
Immunochromatography Test From Post-coital Vaginal Fluid**

**การเปรียบเทียบวิธีการตรวจยืนยันน้ำอสุจิในช่องคลอดหญิงหลังมีเพศสัมพันธ์
ระหว่างวิธีมาตรฐานโดย Prostatic Specific Antigen (PSA) ด้วยวิธี ELISA
และการตรวจหาตัวอสุจิทางกล้องจุลทรรศน์ กับการตรวจ Semenogelin (Sg)
ด้วยวิธี Lateral-flow Immunochromatography**

Tapanee Muangjaima, B.Sc.*, Nitikorn Poriswais, M.D.*, Suvit Limawongpranee, D.V.M., Ph.D**,
Orawan Kiriwat, M.D.***, Visutr Fongsiripaibul, M.D.*

Department of Forensic Medicine, **Department of Parasitology and *Department of Obstetrics and Gynaecology,
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.*

ฐาปนีย์ เหมืองใจมา, วท.บ.†, นิตกร โปริสวณิช, พ.บ.†, สุวิทย์ ลิมาวงษ์ปราณี, สพ.บ., ประจ.††,
อรวรรณ คีรีวัฒน์, พ.บ.†††, วิสูตร ฟองศิริไพบูลย์, พ.บ.†

†ภาควิชานิติเวชศาสตร์ ††ภาควิชาปรสิตวิทยา และ†††ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700, ประเทศไทย.

Abstract

Objective: To compare the efficiency of the tests between the former two confirmatory tests, ELISA test for detection of PSA and microscopic spermatozoa examination, with the new confirmatory marker, RSID-semen test for detection of Sg.

Materials and Methods: Vaginal swabs from consented female volunteers who reported for a certain normal sexual intercourse without vaginal wash or contamination in a total number of 197 were obtained and classified into 3 groups regarding postcoital periods (1, 2 and 3 days), then they were extracted for seminal components to test for PSA by sandwich ELISA, sperm staining by routine H&E and Sg by RSIDTM-Semen test.

Results: Positive detection of Sg, PSA and sperm detection showed 91.9%, 76% and 69.5%, respectively, within 72 hours post-coitus.

Conclusion: Detection of Sg by RSID™-Semen was the most sensitive confirmatory marker of semen and also the most comfortable method at present.

Keywords: Semenogelin, PSA, Semen detection, Immunochromatography test

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจหา Sg จากช่องคลอดหญิงหลังมีเพศสัมพันธ์กับการตรวจหา PSA และตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีการตรวจยืนยันแบบที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

วัสดุและวิธีการศึกษา: เก็บรวบรวมตัวอย่างของเหลวจากช่องคลอดของอาสาสมัครสตรีที่มีเพศสัมพันธ์อย่างสมัครใจและเชื่อถือได้แน่นอน โดยไม่ได้ทำความสะอาดช่องคลอดหรือทำให้ปนเปื้อนจำนวนทั้งสิ้น 197 ตัวอย่าง แบ่งเป็นกลุ่มทดสอบตามระยะเวลาหลังมีเพศสัมพันธ์ครั้งล่าสุดได้ 3 กลุ่ม (วันที่ 1-3) แล้วนำมาสกัดแยกส่วนประกอบเพื่อตรวจหา Sg ด้วยชุดตรวจ RSID™-Semen, ตรวจหา PSA ด้วยวิธี sandwich ELISA และการตรวจหาตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยการย้อมสี H&E

ผลการศึกษา: เมื่อเปรียบเทียบผลบวกของแต่ละวิธี พบว่าการตรวจหา Sg ด้วยชุดตรวจ RSID™-Semen ให้ผลบวกร้อยละ 91.9 ในขณะที่การตรวจพบ PSA ด้วยวิธี sandwich ELISA และการตรวจพบตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ ให้ผลบวกร้อยละ 76 และ 69.5 ตามลำดับ ซึ่งเป็นการพบหลังจากมีเพศสัมพันธ์มาภายใน 72 ชั่วโมง

สรุป: การใช้ชุดตรวจ RSID™-Semen เพื่อตรวจหา Sg เป็นวิธีที่สะดวก ไม่ต้องใช้ความชำนาญในขั้นตอนการตรวจและมีประสิทธิภาพมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจหา PSA ด้วยวิธี sandwich ELISA และการตรวจหาตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์

คำสำคัญ: เซมิโนเจลิน (Sg), โพรสแตส สเปซิฟิก แอนติเจน (PSA), การตรวจยืนยันน้ำอสุจิ

บทนำ

การพิสูจน์การกระทำผิดเกี่ยวกับเพศโดยเฉพาะการกระทำชำเรา อาศัยการตรวจหาหลักฐานที่ใช้ยืนยันว่าได้เกิดการกระทำขึ้นจริง วิธีการตรวจพิสูจน์ทางนิติเวชศาสตร์จึงถือเป็นกระบวนการที่สำคัญอย่างยิ่งสำหรับการวินิจฉัยความผิดและโทษตามกระบวนการยุติธรรม การตรวจยืนยันโดยหาตัวอสุจิในช่องคลอดผู้เสียหายเป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด แต่ในกรณีที่ผู้กระทำชำเราเป็นหมันหรือมีความผิดปกติเกี่ยวกับการสร้างตัวอสุจิทำให้ไม่สามารถตรวจพบตัวอสุจิได้ง่าย พบว่ามีประชากรชายที่มีความผิดปกติเช่นนี้ถึงร้อยละ 8 ของประชากรทั้งหมด¹ ดังนั้นการตรวจพิสูจน์วิธีอื่นๆสำหรับน้ำอสุจิจึงมีความสำคัญขึ้นเรื่อยๆ

ในอดีตมีวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจพิสูจน์น้ำอสุจิ เช่นวิธีการตรวจหา acid phosphatase (AP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากในน้ำอสุจิ แต่กลับพบว่ามีโอกาสให้ผลบวกปลอมได้จากพืชบางชนิดรวมถึง AP จากช่องคลอดด้วย ดังนั้นวิธีนี้จึงใช้เป็นเพียงวิธีการตรวจคัดกรองเบื้องต้นเท่านั้น²

วิธีที่ใช้ตรวจยืนยันน้ำอสุจิอีกวิธีหนึ่งคือ การตรวจหาโปรตีน E1 หรือ p30 หรือที่รู้จักกันในชื่อเต็มว่า prostatic specific antigen (PSA) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นโดยต่อมลูกหมาก ถึงแม้ว่าโปรตีนชนิดนี้จะมีปริมาณมากในน้ำอสุจิก็ตาม แต่ก็สามารถตรวจพบได้จากสารคัดหลั่งอื่นๆจากร่างกายทั้งในเพศชายและหญิง เช่นจากซีรัม ปัสสาวะ น้ำนม รวมถึงจากสารคัดหลั่งจากช่องคลอดหญิงที่ไม่มีเพศสัมพันธ์ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เราสามารถแยกแยะความแตกต่างที่ปริมาณของ PSA โดยระดับที่พบในน้ำอสุจิมีความเข้มข้นเฉลี่ย 0.2-5.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร³⁻⁵ แต่ในสารคัดหลั่งจากช่องคลอดหญิงมีความเข้มข้นเฉลี่ยน้อยกว่า 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นวิธี การตรวจจึงต้องใช้วิธีการที่ตรวจวัดปริมาณควบคู่กันด้วย วิธีการที่ปัจจุบันถือเป็นมาตรฐานคือวิธี sandwich ELISA แต่ว่าวิธีนี้มีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยาก⁶ ดังนั้นการตรวจหาโปรตีนชนิดอื่นที่มีความจำเพาะต่อน้ำอสุจิมากกว่าและมีวิธีการตรวจที่ง่ายกว่า PSA จึงกลายมาเป็นประเด็นที่น่าสนใจมากขึ้น

การค้นพบโปรตีน semenogelin (Sg) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สร้างมาจาก seminal vesicle⁷ โดยมีการสร้างในปริมาณมากกว่า PSA คือมีความเข้มข้นในน้ำอสุจิได้ถึง 19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 50-80% เมื่อเทียบกับ PSA ซึ่งมีเพียง 15-30% ของปริมาณน้ำอสุจิทั้งหมด นอกจากนี้ยังมีความจำเพาะที่พบจากน้ำอสุจิมากกว่าโปรตีนหรือการตรวจหาส่วนประกอบซึ่งบ่งน้ำอสุจิชนิดอื่น^{8,9} เนื่องจากไม่พบในสารคัดหลั่งต่างๆ รวมทั้งจากสารคัดหลั่งในช่องคลอดด้วย ทำให้เชื่อได้ว่ามีความจำเพาะต่อการตรวจหาน้ำอสุจิมากกว่า PSA¹⁰ ด้วยเหตุผลดังกล่าว วิธีการตรวจจึงไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์ในเชิงปริมาณ ทำให้มีการใช้วิธี lateral-flow immunochromatography ที่สามารถผลิตออกมาเป็นชุดตรวจสำเร็จรูปและตรวจวิเคราะห์ได้ง่าย ในปัจจุบันมีผู้ผลิตออกมาหลายยี่ห้อ ซึ่งการศึกษาวิจัยชิ้นนี้เลือกที่จะใช้ชุดตรวจ RSID™-Semen ซึ่งเป็นชุดตรวจที่ผลิตขึ้นเป็นรายแรกของโลก ได้รับการทดสอบยืนยันมาตรฐาน และยังพบว่ามีความสะดวกรวดเร็วโดยให้ผลภายในเวลาเพียง 10 นาที

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจพบน้ำอสุจิจากช่องคลอด โดยพิจารณาจากโอกาสและความไวของแต่ละวิธีที่ใช้ตรวจยืนยันน้ำอสุจิ สำหรับเป็นข้อมูลในการนำมาใช้จริงในอนาคต

วัสดุและวิธีการศึกษา

คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจากหญิงที่มารับบริการที่หน่วยอนามัยการเจริญพันธุ์และการวางแผนครอบครัว ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่สมัครใจเข้าร่วมศึกษาวิจัยภายหลังการอธิบายและขอความยินยอมแล้ว ซึ่งกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นหญิงในวัยเจริญพันธุ์ที่มีประวัติของเพศสัมพันธ์ที่มีการหลั่งน้ำอสุจิเข้าช่องคลอดอย่างแน่นอนน่าเชื่อถือ รวมถึงไม่มีการทำความสะอาดช่องคลอด ไม่ใช้สารที่อาจเป็นการปนเปื้อนต่อผลการตรวจ ไม่มีโรคทางนรีเวชที่อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อน้ำอสุจิและไม่อยู่ในระหว่างการมีประจำเดือน แล้วทำการเก็บข้อมูลเบื้องต้นรวมถึงระยะเวลาการมีเพศสัมพันธ์ครั้งล่าสุดและแบ่งกลุ่มเป็น 3 กลุ่มตามจำนวนวันภายหลังจากมีเพศสัมพันธ์ คือภายในวันที่ 1 (0-24 ชั่วโมง), วันที่ 2 (>24-48 ชั่วโมง) และวันที่ 3 (>48-72 ชั่วโมง)

จากนั้นจึงทำการเก็บตัวอย่างด้วยไม้พันสำลีป้ายของเหลวจากช่องคลอด (vaginal swab) เพื่อนำสกัดเอา ส่วนของเหลวในน้ำอสุจิมาตรวจหา PSA ด้วยวิธี indirect sandwich ELISA¹¹ และตรวจ Sg ด้วยชุดตรวจ RSID™-Semen (Independent Forensics DNA Testing & Technologies, IL, USA) (sensitivity $\geq 1 \mu\text{l/ml}$) ตามขั้นตอนของชุดตรวจที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำ จากนั้นนำตะกอนจากการปั่นแยกน้ำอสุจิและตะกอนเซลล์ มา หยดลงบนแผ่นสไลด์และย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin (H&E) เพื่อตรวจหาตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ นำ ผลที่ได้มาวิเคราะห์ความไวที่พบผลบวกเปรียบเทียบกันในแต่ละวิธี

สำหรับการตรวจ indirect sandwich ELISA นั้น ใช้น้ำยาและเครื่องมือที่สำคัญ ได้แก่

1. Flate-bottomed Nunc-Immuno Plate Maxisorp polystyrene 8 x 12 ELISA plate (Kanstrup, Denmark)
2. Automated micro-plate washer (GENios, TECAN, Austria)
3. Micro-plate autoreader (GENios, TECAN, Austria)
4. Anti-human PSA rabbit polyclonal antibody (A0562, Dako Cytomation, Denmark) เป็น coating capture antibody โดยเตรียม titration ที่ 1:500, 1:1000 และ 1:2000 ใน coating buffer เพื่อหา ระดับที่เหมาะสม (optimal concentration) ของการวัด
5. Anti-human PSA mouse monoclonal antibody (OP158, Merk, Germany) เป็น detecting antibody โดยเตรียม titration ที่ 1:500, 1:1000 และ 1:2000 ใน blocking buffer เพื่อหา ระดับที่เหมาะสม (optimal concentration) ของการวัด
6. Anti-mouse IgG, gamma-chain specific, peroxidase-conjugated goat antibody (401207, Merk, Germany) เป็น conjugated detecting antibody ที่จำเพาะต่อ detecting antibody โดยเตรียม titration ที่ 1:500, 1:1000 และ 1:2000 ใน blocking buffer เพื่อหา ระดับที่เหมาะสม (optimal concentration) ของการวัด
7. Standard human PSA from seminal fluid (539832, Merk, Germany) เป็น positive external standard control และใช้สำหรับ standard quantitation curve
8. O-phenylenediamine (S2045, Dako Cytomation, Denmark) เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดสี โดยวัดการดูดกลืนแสงจากเครื่องอ่าน ELISA ที่ความยาวคลื่นแสง 630-650 nm สำหรับความเข้มข้น ที่จะวัด และใช้ความยาวคลื่นแสง 490 nm สำหรับการวัดแบบ internal negative control

ผลการศึกษา

การตรวจวัดระดับ PSA ด้วยวิธี indirect sandwich ELISA ในการศึกษาเริ่มต้นด้วยขั้นตอนการ หาความเหมาะสมของปริมาณสารที่ใช้และการวัดค่าที่เที่ยงตรง (optimal condition) โดยใช้ standard human PSA ที่เตรียมให้เป็น antigen มาตรฐานแล้ว titrate ตั้งแต่ระดับที่ต่ำที่สุดที่ควรจะวัดได้ (1 ng/ml) พบว่า

1. ใช้ coating capture antibody (anti-human PSA rabbit polyclonal antibody) ที่ความเข้มข้น 1:1000 ใน coating buffer
2. ใช้ detecting antibody (anti-human PSA mouse monoclonal antibody) ที่ความเข้มข้น 1:1000 ใน blocking buffer และ
3. ใช้ conjugated detecting antibody (anti-mouse IgG, gamma-chain specific, peroxidase-conjugated goat antibody) ที่ความเข้มข้น 1:2000 ใน blocking buffer

จะได้ผลเป็น linear curve ที่ดีที่สุดดังที่แสดงใน ภาพที่ 1 นอกจากนั้นแล้ว ผลจะไม่ได้ linearity เลย เมื่อทำซ้ำสองครั้งภายในหนึ่งวัน (within-day analysis) แล้ววิเคราะห์เป็น linear equation จะได้ความสัมพันธ์ คือ

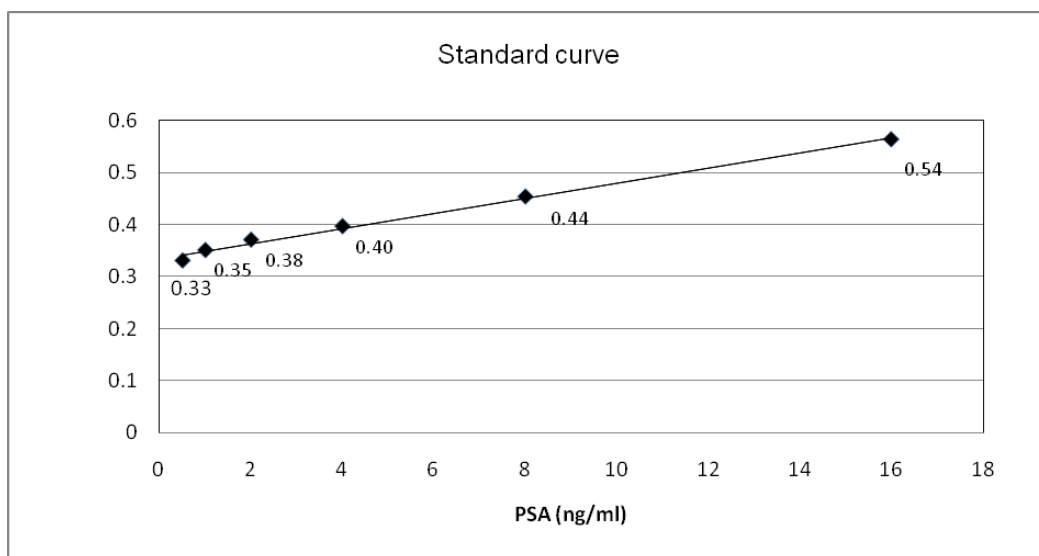
$$y = 0.014x + 0.3394 \text{ โดยมี correlation } (r^2) = 0.9993$$

แต่หากทำซ้ำสองครั้งภายในหนึ่งวันติดต่อกันสามวัน (between-day analysis) แล้ววิเคราะห์เป็น linear equation จะได้ความสัมพันธ์ คือ

$$y = 0.141x + 0.3321 \text{ โดยมี correlation } (r^2) = 0.9998$$

เมื่อ $y = \text{optical density (OD)}$

$x = \text{antigen concentration (ng/ml)}$



ภาพที่ 1 แสดงกราฟ calibration จากการหาความเหมาะสมของวิธีการ sandwich ELISA โดยแกน y แสดงค่า OD และแต่ละจุดแสดงความเข้มข้น ของ PSA มาตรฐานที่ 1, 2, 4, 8 และ 16 นาโนกรัมต่อมิลลิตร เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา

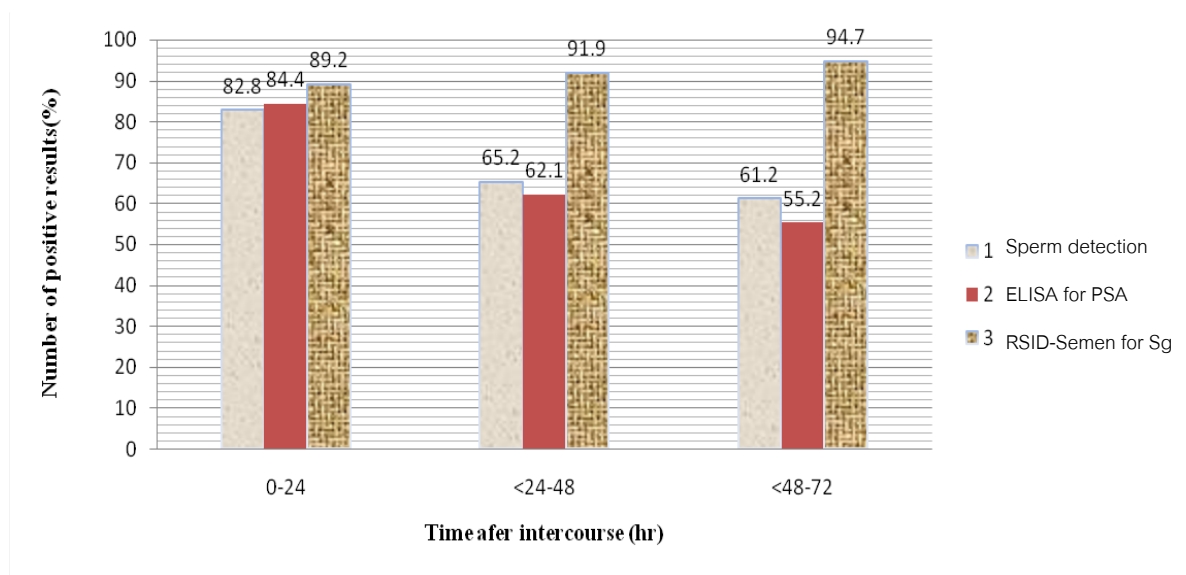
หลังจากนั้นได้นำตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 197 ตัวอย่าง มาตรวจในแต่ละวิธีแล้วเปรียบเทียบผลบวกที่ได้ซึ่งกันและกันแล้ว พบว่าเมื่อดูผลรวมภายหลังจากมีเพศสัมพันธ์ภายใน 3 วันหรือ 72 ชั่วโมง สามารถตรวจพบ Sg ได้โดยเฉลี่ยร้อยละ 91.9 ตรวจพบ PSA ร้อยละ 76 และตรวจพบตัวสูจิร้อยละ 69.5

โดยที่วันแรกตรวจพบ Sg ได้โดยเฉลี่ยร้อยละ 89.2 ตรวจพบ PSA ร้อยละ 84.4 และตรวจพบตัวอสุจिर้อยละ 82.8 วันที่สองตรวจพบ Sg ได้โดยเฉลี่ยร้อยละ 91.9 ตรวจพบ PSA ร้อยละ 62.1 และตรวจพบตัวอสุจिर้อยละ 65.2 ส่วนวันที่สามตรวจพบ Sg ได้โดยเฉลี่ยร้อยละ 94.7 ตรวจพบ PSA ร้อยละ 55.2 และตรวจพบตัวอสุจिर้อยละ 61.2 ดังรายละเอียดใน ตารางที่ 1

Time after intercourse (hr.)	Number of positive result form		
	Microscopic sperm detection	Sandwich ELISA test for PSA	RSID™-semen test for Sg
0-24	53/64 (82.8%)	54/64 (84.4%)	33/37 (89.2%)
>24 -48	43/66 (65.2%)	41/66 (62.1%)	34/37 (91.9%)
>48 - 72	41/67 (61.2%)	37/67 (55.2%)	36/38 (94.7%)
Total	137/197 (69.5%)	132/197 (76%)	103/112 (91.9%)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจพบส่วนประกอบในน้ำอสุจิจากตัวอย่าง vaginal swab ที่เก็บหลังมีเพศสัมพันธ์ในช่วงเวลาต่างๆ

จากตารางที่ 1 เมื่อนำมาแสดงด้วยกราฟแท่งเปรียบเทียบตัวอย่างแต่ละกลุ่มช่วงเวลาหลังจากมีเพศสัมพันธ์ พบว่าตัวอย่างที่เก็บหลังจากมีเพศสัมพันธ์ภายในไม่เกิน 24 ชั่วโมงให้ผลไม่แตกต่างกันทั้งสามวิธี แต่พบว่าแตกต่างกันมากขึ้นเมื่อทดสอบกับตัวอย่างที่เก็บหลังจากมีเพศสัมพันธ์มาแล้วภายใน 48-72 ชั่วโมง ดังแสดงใน ภาพที่ 2



ภาพที่ 2. กราฟแท่งเปรียบเทียบร้อยละของผลบวกจากการตรวจหา sperm, PSA และ Sg ในแต่ละกลุ่ม

อภิปรายผลการศึกษา

ในการตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้ จำเป็นต้องเริ่มต้นด้วยการสอบเทียบมาตรฐานของการวัดเฉพาะ ELISA เนื่องจากต้องหาความเที่ยงของการวัด จะเห็นได้ว่าเมื่อทำการวัดสารมาตรฐานที่เตรียมความเข้มข้นใน titer ต่างๆ

กันซ้ำภายในหนึ่งวันก็ดีหรือทำซ้ำในวันต่อมารวมเป็นสามวันก็ดี กระบวนการที่วัดได้มีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 5% ($r^2 = 0.9993$ และ 0.9998 ตามลำดับ) แสดงว่าการวัดมีความเที่ยงน่าเชื่อถือได้

จากผลที่ได้จะเห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนผลบวกของทั้งสามวิธีในตัวอย่างแต่ละกลุ่ม พบว่าการตรวจหา Sg ด้วยวิธี RSID™-Semen ให้ผลบวกในทุกกลุ่มช่วงเวลา มากกว่าการตรวจหา PSA ด้วยวิธี sandwich ELISA และการตรวจหาตัวสุจิจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงให้เห็นว่ามีความไว (sensitivity) มากกว่า ทั้งนี้จากวิธีการตรวจและข้อเท็จจริงของ Sg, PSA และตัวสุจิ ทำให้ผลที่ตรวจพบว่าเป็นบวก เป็นผลบวกแท้ จึงไม่ต้องคำนึงถึงความจำเพาะ (specificity) ของผล ทุกวิธีจึงเป็น gold standard ทั้งสิ้น

ในวันแรก (0-24 ชั่วโมง) หลังการมีเพศสัมพันธ์ จะพบว่าการตรวจยืนยันทั้งสามวิธีให้ผลที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อเข้าสู่วันที่ 2 เป็นต้นไป การตรวจพบ Sg ยังพบว่ายังคงให้ผลบวกคงที่คล้ายกับวันแรกในขณะที่การตรวจหา PSA และตัวสุจิกลับมีผลบวกที่ลดลงอย่างชัดเจนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในวันที่ 3 ซึ่ง PSA ตรวจพบได้ต่ำกว่าการตรวจที่เหลือ ทั้งนี้ น่าจะเนื่องมาจากความเข้มข้นของ Sg ในน้ำอสุจิมียาวนานซึ่งคิดเป็นร้อยละ 50-80 เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของ PSA ซึ่งมีเพียงร้อยละ 15-30 เท่านั้น อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะยังคงมีรายงานว่า Sg มีความคงตัว (stability) ในช่องคลอดหญิงได้ 1-2 วัน¹² คล้ายกับ PSA แต่จากการศึกษาในครั้งนี้กลับพบว่า Sg มีความคงตัวได้นานกว่า 2 วันและอาจจะนานกว่านั้นก็ได้ หากขยายกลุ่มทดสอบเพิ่มระยะเวลาไปอีก ในทำนองกลับกัน PSA และตัวสุจิกลับเสื่อมสลายไปได้ง่ายกว่ามาก โดยมีผลบวกลดลงอย่างชัดเจนในช่วงหลังมีเพศสัมพันธ์วันที่ 2 เป็นต้นไป แต่ก็อาจจะยังตรวจพบได้เมื่อพ้นวันที่ 2 ไปแล้ว

สำหรับการตรวจหา PSA ด้วยวิธี ELISA ซึ่งเป็นการตรวจที่ยุงยากและซับซ้อนกว่าการตรวจจากชุดตรวจ PSA สำเร็จรูปแบบ immunochromatography ก็ตาม แต่การตรวจเช่นนี้ถือเป็นมาตรฐานยิ่งกว่า เพราะได้วัดระดับและใช้แยกแยะออกจากผลบวกหลงได้ชัดเจน ในขณะที่การใช้ชุดตรวจสำเร็จรูปเช่นนั้น อาจจะไม่มีความไวสูงกว่าแต่มีความจำเพาะน้อย ดังนั้นการศึกษานี้จึงไม่ได้นำวิธีการตรวจ PSA จากชุดตรวจสำเร็จรูปมาใช้และทำให้มีผลที่แตกต่างไปจากการศึกษาที่เคยมีมาแล้วได้¹³

เมื่อเปรียบเทียบความไวของทั้งสามวิธีในวันแรกแล้วพบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก แต่วิธี RSID™-Semen ให้ผลที่ดีกว่าเล็กน้อย แสดงว่าวิธีการทั้งสามวิธีล้วนแต่มีประโยชน์ไม่แตกต่างกันในการพิสูจน์การกระทำชำเรา หากในกรณีที่ผู้กระทำผิดเป็นหมันหรือมีความผิดปกติของตัวสุจิ ทำให้ไม่สามารถตรวจพบตัวสุจิในช่องคลอดผู้เสียหายได้ การตรวจหา Sg ด้วยวิธี RSID™-Semen หรือการหา PSA ด้วยวิธี sandwich ELISA ก็จะเป็นวิธีที่ให้ผลดีกว่า อย่างไรก็ตาม เมื่อผู้ถูกกระทำชำเรามาตรวจภายหลังจากวันที่ 2 ไปแล้ว การตรวจหา Sg น่าจะเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุด (The test of choice) นอกจากนี้ขั้นตอนการตรวจนั้นง่ายกว่ามาก ไม่จำเป็นต้องใช้ความชำนาญในการตรวจ จึงเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำมาใช้ทางห้องปฏิบัติการทางนิติเวชศาสตร์

อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยวิธีการตรวจพบ Sg ด้วยชุดตรวจ RSID™-Semen ยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก อีกทั้งราคาชุดตรวจค่อนข้างมีราคาสูง จึงควรหาวิธีตรวจ Sg ที่ง่าย มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันและประหยัด เพื่อให้ใช้เป็นมาตรฐานหลักของการตรวจทางนิติเวชศาสตร์

สรุป

การตรวจหา Sg ด้วยชุดตรวจ RSID™-Semen เพื่อยืนยันการมีน้ำอสุจิในช่องคลอดหญิงหลังมีเพศสัมพันธ์ เป็นวิธีการยืนยันที่มีประสิทธิภาพและมีความไวต่อน้ำอสุจิของมนุษย์มากที่สุด จึงน่าจะเหมาะสมในการใช้ในงานประจำทางนิติเวชศาสตร์ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Jimenez-Verdejo A, Osuna, E., Garcia-Olivares, E., Luna, A. Study of the enzymatic activity of GGT, LDH, PAP and PSA in semen stains: application to age calculation. Forensic Science International. 1994; 68:7-15.
2. วิฑูรย์ อึ้งประพันธ์, วิสูตร ฟองศิริไพบูลย์, อรวรรณ ศิริวัฒน์. ปฏิกริยาอะซิดฟอสฟาเตสจากก้อนล้าที่ป้ายจากช่องคลอดภายหลังการร่วมเพศ. สารศิริราช 2526; 35:677-84.
3. Armbruster A D. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods, and Clinical Application. Clinical Chemistry. 1993; 39(2):181-95.
4. Hara M KY, Inouce T, Fukuyama T. Physicochemical characteristics of gamma-seminoprotein; an antigenic component specific for human seminal plasma. Jpn J legal Med. 1971;25:322-4.
5. Li Ts BC. Isolation and Characterization of two specific antigens of human seminal plasma. Fertil Steril. 1973;24:137-43.
6. Nancy A, Stubbing R.T, Pamela J, Newall P.J. An Evaluation of Gamma-Glutamyl transpeptidase (GGT) and p30 Determinations for the Identification of semen on Postcoital vaginal swabs. Journal of Forensic sciences. 1985; 30(3):604-14.
7. Sensabaugh G. F. The quantitative acid phosphatase test. A statistical analysis of endogenous and postcoital acid phosphatase levels in the vagina. J Forensic Sci. 1979;24(2):346-65.
8. Hobbs M M, Steiner M, Steiner M, Rich KD, Gallo F, Warner L, et al. Vaginal swab specimen processing methods influence performance of rapid semen detection tests: a cautionary tale. Contraception. 2010;82(3):291-5.
9. Davies A, Wilson B. The Persistence of Seminal Constituents in the Human Vagina. Forensic Science 1974; 3:45-55.
10. Sato I, Kojimac K, Yamasakid T, Yoshidae K, Yoshiike M, Takanod S, et al. Rapid detection of semenogelin by one-step immunochromatographic assay for semen identification. J Imm Met. 2004;287(1-2):137-45.
11. Stowell LI, Lionel E, Hamel K .An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for prostate-specific antigen. Forensic Science International. 1991;50:125-138.
12. Sato I, Barni F, Yoshiike M, Rapone C, Berti A, Nakaki N, et al. Applicability of Nanotrap Sg as a semen detection kit before male-specific DNA profiling in sexual assaults. J Legal Med. 2007;121:315-9.
13. Talthip J, Chirachariyavej T, Peonium V, Atamasirikul K, Teerakamchai S. An autopsy report case of rape victim by the application of PSA test kit as a new innovation for sexual assault investigation in Thailand. J Med Assoc Thai. 2007;90:348-51.