การศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ จากบาดแผลกระสุนปืน ด้วยวิธีมาตรฐาน ไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็น เพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา

โดย

นายโยธิน เงาทอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ จากบาดแผลกระสุนปืน ด้วยวิธีมาตรฐาน ไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็น เพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา

โดย

นายโยธิน เงาทอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

A COMPARISON STUDY ON TISSUE PROCESSING OF GUNSHOT WOUND BY ROUTINE, MICROWAVE TECHNIQUES AND FROZEN SECTION FOR PATHOLOGICAL DIAGNOSIS

By

Mr. Yothin Ngaothong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in Forensic Science

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2015

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “การศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ จากบาดแผลกระสุนปืน ด้วยวิธีมาตรฐาน ไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็น เพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา” เสนอโดย นายโยธิน เงาทอง เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาตราจารย์ พันตำรวจโท ดร.สฤษดิ์ สืบพงษ์ศิริ

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอกวรธัช วิชชุวาณิชย์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุณีย์ กัลยะจิตร)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาตราจารย์ พันตำรวจโท ดร.สฤษดิ์ สืบพงษ์ศิริ)

...../...../.....

54312315: สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
คำสำคัญ: การศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ จากบาดแผลกระสุนปืน ด้วยวิธี
มาตรฐานไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็นเพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา

โยธิน เงาทอง: การใช้คลื่นไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็นเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อจากบาดแผลกระสุนปืน เพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ. พ.ต.ท. ดร.สฤษดิ์ สืบพงษ์ศิริ. 71 หน้า.

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีคลื่นไมโครเวฟ และการใช้เครื่องตัดเย็น เปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อแบบมาตรฐานทางพยาธิวิทยา ก่อนการวินิจฉัยจากพยาธิแพทย์นั้น ชิ้นเนื้อทดลองทั้ง 10 ชิ้น จะถูกนำมายิงด้วยปืนจำนวน 10 นัด ที่ 10 ระยะของการยิง เริ่มตั้งแต่ ระยะประชิดติดผิวหนัง และที่ระยะ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 จนถึงที่ระยะ 45 เซนติเมตร การดึงน้ำออกจาเนื้อเยื่อด้วยการใช้คลื่นไมครเวฟตามวิธีการของ L. Ralph Rohr และการใช้เครื่องตัดเย็นในการลดระยะเวลาการดึงน้ำออก และทำการเปรียบเทียบระยะเวลา การติดสี H & E ความคมชัดของเซลล์ และ การวินิจฉัยการตรวจพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยพยาธิแพทย์เป็นผู้ให้คะแนนการวินิจฉัย

เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีคลื่นไมโครเวฟ และวิธีเครื่องตัดเย็น กับวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา พบว่าเครื่องตัดเย็นใช้เวลาเพียง 15 นาที ในการทำให้ชิ้นเนื้อสดแข็งตัว อย่างรวดเร็ว ที่ อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยคลื่นไมโครเวฟใช้เวลา 35 นาที ที่อุณหภูมิสูงในการเร่งปฏิกิริยาการดึงน้ำออก เป็นผลให้เกิดความแต่ต่างของระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานที่ใช้เวลา 10 ชั่วโมง 30 นาที วิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยคลื่นไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็นสามารถในการลดระยะเวลาในการดึงน้ำออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ การวินิจฉัยการตรวจพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยพยาธิแพทย์ให้ผลการวินิจฉัยการติดสีย้อม ความคมชัดของเซลล์ และสามารถตรวจพบเขม่าดินปืนด้วยวิธีคลื่นไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็น เมื่อเปรียบเทียบคู่กับวิธีมาตรฐาน พยาธิแพทย์ให้ผลคะแนนการวินิจฉัยออกมาเหมือนกันในทุกวิธี

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา..... ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

54312315: MAJOR: FORENSIC SCIENCE
KEY WORDS: MICROWAVE TECHNIQUE AND FROZEN SECTION COULD EFFICIENTLY REDUCE THE TIME OF TISSUE PROCESSING FOR GUN SHOT WOUND DIAGNOSIS

YOTHIN NGAOTHONG: A COMPARISON STUDY ON TISSUE PROCESSING OF GUNSHOT WOUND BY ROUTINE, MICROWAVE TECHNIQUES AND FROZEN SECTION FOR PATHOLOGICAL DIAGNOSIS. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. POL. LT. COL. SARIT SUEBPONGSIRI, Ph.D. 71 pp.

The objective of the thesis was to study the period of microwave technique and frozen section, and to compare routine tissue processing before diagnosis from the pathologist, 10 flesh samples were shot 10 times in 10 ranges at contact gun shot of 0cm or(contact shot), 5cm, 10cm, 15cm, 20cm, 25cm, 30cm, 35cm, 40cm and 45cm. In rapid microwave tissue processing by means of L. Ralph Rohr and frozen section for reducing dehydrate time to compared to the period, H&E color, resolution of cells and score of soot under microscope by the Pathologist's score.

The time comparison of period of Microwave Tissue Processing and Frozen section with routine tissue processing, showed that the frozen section took 15 minutes and microwave took 35 minutes, which was faster than routine tissue processing taking 1 hr 30 minutes, The comparison indicated that time of microwave and frozen could efficiently reduce the time of dehydration, Pathologist's diagnosis and comparison to routine tissue processing generated the same results on all experiments.

Program of Forensic Science Graduate School, Silpakorn University
Student's signature..... Academic Year 2015
Thesis Advisor's signature……

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยเรื่อง การใช้คลื่นไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็น เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อจากบาดแผลกระสุนปืน เพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา ได้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเพราะได้รับความร่วมมือช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่านที่ได้สละเวลา ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยเป็นอย่างยิ่ง ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันตำรวจโท ดร.สฤษดิ์ สืบพงษ์ศิริ ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและให้คำแนะนำตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้การทำวิทยานิพนธ์นี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุณีย์ กัลยะจิตร ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ และ รองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอก วรธัช วิชชุวาณิชย์ ที่กรุณาเป็นประธานในการสอบและให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ นายแพทย์กรัณย์ พรหมมี พยาธิแพทย์ หัวหน้ากลุ่มงานพยาธิวิทยากายวิภาค และ นายแพทย์กมล รัศมีหิรัญ แพทย์นิติเวช หัวหน้ากลุ่มงานนิติเวชศาสตร์ โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร ปราจีนบุรี ในการสนับสนุนความช่วยเหลือทั้งคำปรึกษาและห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยากายวิภาค นางสาวพีรดา สะเอียบคง และ นางสาวกิริยา ศรีบุรมณ์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความช่วยเหลือเทคนิคทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา ร้อยเอก เมธาสิทธิ์ พิมพ์อภิกฤติยา ในการยินยอมให้ใช้สถานที่ทำการยิงปืน ณ ค่ายพรหมโยธี ปราจีนบุรี และให้คำแนะนำในการใช้อาวุธปืน ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดามารดา ครู อาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้และปลูกฝังให้เห็นคุณค่าของการศึกษา

สำหรับประโยชน์อันพึงมีจากงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ ผู้ถ่ายทอดวิชาความรู้ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนตลอดจนผู้เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ ส่งผลให้ผู้วิจัยทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4

สมมติฐานของการวิจัย 4

ประโยชน์ที่จะได้รับ 4

ขอบเขตของการวิจัย 4

นิยามศัพท์เฉพาะ 5

2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 6

บาดแผลกระสุนปืน 7

บาดแผลกระสุนปืนลูกโดด 7

บาดแผลกระสุนปืนลูกปราย 12

การประมาณระยะยิง 14

ทิศทางของกระสุนปืน 14

ขนาดของกระสุนปืนและชนิดของปืน 15

การตรวจบาดแผลกระสุนปืน 15

บาดแผลทางเข้ากระสุนปืน 15

แผลทางออกของกระสุนปืน 16

ระยะยิง 17

การเกิดเขม่าปืน 19

การส่งตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา 20

ขั้นตอนของงานพยาธิวิทยา 21

Cutting up/ gross examination 21

บทที่ หน้า

Tissue processing 21
Embedding 22
Sectioning 23
Staining 24
Analyse 26
Report 26
คลื่นไมโครเวฟ 27
ส่วนประกอบภายในเตาอบไมโครเวฟ 27
การใช้คลื่นไมโครเวฟในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา 27
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 30
3 วิธีดำเนินการวิจัย 31
ขั้นตอนการศึกษา 31
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 31
การดำเนินงานวิจัย 32
ขั้นตอนการทดลอง 33
การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟเทคนิค 34
การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธี Frozen section 34
เตรียมสไลด์ส่งพยาธิแพทย์วินิจฉัย 36
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 37
การเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventional และ วิธี microwave 38
การเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventional และ วิธี frozen section 40
การวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อแบบใช้ไมโครเวฟ 41
การวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดเย็น 42
5 สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 44
สรุปผลการวิจัย 44

หน้า

อภิปรายผลการวิจัย 45
ปัญหาที่พบในงานวิจัย 46
ข้อเสนอแนะ 46
รายการอ้างอิง 47
ภาคผนวก 49
ภาคผนวก ก แสดงวิธีการยิงและวัดระยะ 50
ภาคผนวก ข เขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืน 61
ประวัติผู้วิจัย 71

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะบาดแผลทางเข้า-ทางออกของบาดแผลกระสุนปืนลูกโดด.....	10
2	ลักษณะเขม่าดินปืนตามระยะยิงของปืนสั้น.....	11
3	ส่วนประกอบของแก๊ปปืนหลอมละลายเป็นไอ	19
4	การเปรียบเทียบการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventionalและ วิธี microwave..	38
5	การเปรียบเทียบการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธีconventionalและวิธี frozen section	40
6	แสดงผลการวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการ ชิ้นเนื้อแบบใช้ไมโครเวฟ.....	41
7	แสดง ผลการวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดเย็น.....	42

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	บาดแผลทางเข้ากระสุนปืนลูกโดด	11
2	บาดแผลกระสุนปืนลูกซองตามระยะยิง	14
3	แสดงภาพเขม่าดินปืนที่เกิดจากการยิง	19
4	แสดงการตัดชิ้นเนื้อที่มีรอยเขม่าดินปืนลงตลับ	21
5	แสดงวางชิ้นเนื้อและเติม paraffin ลงใน mold โลหะเพื่อขึ้นรูป	22
6	เติม paraffin จนเต็ม ชิ้นเนื้อจะถูกฝัง(embed)และปิดด้วยตลับ	23
7	paraffin แข็งตัวแกะออกจาก mold เพื่อเตรียมนำไปตัดต่อไป	23
8	การตัดชิ้นเนื้อที่ฝังใน paraffin แข็งเป็นชิ้นบางๆ ด้วยเครื่อง Microtome	24
9	Section ที่ถูกลอยใน water bath เพื่อละลาย paraffin ถูกช้อนขึ้นมาด้วยสไลด์แก้ว	24
10	แสดงการติดสีของ Nucleus สีม่วง และ Cytoplasm สีชมพู จากการย้อม H & E	25
11	แสดงขั้นตอนการ Permount หยดบนสไลด์ชิ้นเนื้อ แล้วใช้กระจกปิดสไลด์ ปิดทับ	26
12	แสดงขั้นตอนการ Permount หยดบนสไลด์ชิ้นเนื้อ แล้วใช้กระจกปิดสไลด์ ปิดทับ	26
13	แสดงผลการวินิจฉัยบาดแผลกระสุนปืนด้วยวิธีไมโครเวฟและเครื่องตัดเย็น	26
14	แสดงผลการวินิจฉัยบาดแผลกระสุนปืนด้วยวิธีไมโครเวฟและเครื่องตัดเย็น	26
15	แสดงการแขวนชิ้นเนื้อ	33
16	แสดงการวัดระยะก่อนทำการยิงชิ้นเนื้อ	33
17	แสดงรอยผ่านของกระสุนและเขม่า	33
18	แสดงการตัดชิ้นเนื้อลงตลับ	33
19	การใช้เครื่องไมโครเวฟในการเตรียมชิ้นเนื้อ	34
20	แสดงการหยด Embedding media	35
21	แสดงการใช้เครื่อง Frozen section	35
22	ภาพสไลด์ชิ้นเนื้อตัวอย่างที่ย้อม H&E	36
23	แสดงเขม่าดินปืนที่แทรกในเนื้อเยื่อ 10x	43
24	แสดงเขม่าดินปืนที่แทรกในเนื้อเยื่อ 40x	43
25	แสดงการวัดระยะที่ 0 เซนติเมตรก่อนยิง	51
26	แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 0 เซนติเมตร	51
27	แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 5 เซนติเมตร	52
28	แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 5 เซนติเมตร	52

ภาพที่ หน้า

29 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 10 เซนติเมตร 53
30 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 10 เซนติเมตร 53
31 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 15 เซนติเมตร 54
32 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 15 เซนติเมตร 54
33 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 20 เซนติเมตร 55
34 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 20 เซนติเมตร 55
35 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 25 เซนติเมตร 56
36 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 25 เซนติเมตร 56
37 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 30 เซนติเมตร 57
38 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 30 เซนติเมตร 57
39 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 35 เซนติเมตร 58
40 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 35 เซนติเมตร 58
41 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 40 เซนติเมตร 59
42 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 40 เซนติเมตร 59
43 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 45 เซนติเมตร 60
44 แสดงชิ้นเนื้อหมูหลังยิงที่ระยะ 45 เซนติเมตร 60
45 แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิงประชิดติดผิวหนัง ด้วยวิธีไมโครเวฟ..... 62
46 แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 5 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ..... 62
47 แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 10 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ..... 63
48 แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 15 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ..... 63
49 แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 20 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ..... 64
50 แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 25 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ..... 64

ภาพที่		หน้า
51	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 30 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ	65
52	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 35 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ	65
53	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 40 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ	66
54	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 45 เซนติเมตร ด้วยวิธีไมโครเวฟ	66
55	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิงประชิดติดผิวหนัง ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	67
56	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 5 เซนติเมตร ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	67
57	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 10 เซนติเมตร ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	68
58	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 15 เซนติเมตร ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	68
59	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 20 เซนติเมตร ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	69
60	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 25 เซนติเมตร ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	69
61	แสดงเขม่าดินปืนในบาดแผลกระสุนปืนใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ 10x และ 40x ระยะยิง ที่ 30 เซนติเมตร ด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น	70

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหาอาชญากรรมในปัจจุบันมีปรากฏการณ์ที่เพิ่มขึ้นและการนำผู้กระทำความผิดที่แท้จริงมา

ลงโทษตามกระบวนการยุติธรรม เป็นเรื่องที่สำคัญโดยเฉพาะการเก็บรวบรวมพยานหลักฐานเพื่อมายืนยันผิดได้อย่างชัดเจน จึงได้มีการนำเอาองค์ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่างๆ มาพัฒนาใช้ในการตรวจพิสูจน์หลักฐาน การใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีค้นคว้างานวิจัย ผสานกับหลักนิติวิทยาศาสตร์เพื่อมาใช้ในการพิสูจน์หาตัวผู้กระทำความผิด อาทิเช่น การตรวจสถานที่เกิดเหตุ การตรวจลายนิ้วมือแฝง การตรวจการปลอมแปลงเอกสาร การตรวจอาวุธปืนและกระสุนปืนของกลาง การตรวจทางเคมี การตรวจทางฟิสิกส์ การตรวจทางชีววิทยา รวมไปถึงการตรวจทางนิติเวช เป็นต้น

กรณีการใช้อาวุธปืนก่ออาชญากรรม ในกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์การคำนวณทิศทางของการยิง ระยะของการยิง ชนิดของปืน และ ชนิดของกระสุนปืน ทางพนักงานสอบสวนต้อง รวบรวมข้อมูลต่างๆ เพื่อยืนยันให้สามารถพิสูจน์ความผิดได้อย่างชัดเจน เมื่อการใช้อาวุธปืนก่ออาชญากรรมเป็นเหตุให้ผู้อื่นถึงแก่ชีวิต หรือ การเลือกใช้อาวุธปืนในการฆ่าตัวตาย การผ่าตัดชันสูตรพลิกศพผู้เสียชีวิต แพทย์นิติเวช จะทำการผ่าตัดชันสูตรเพื่อหาสาเหตุการตายที่แท้จริง การบอกทิศทางของกระสุปืนเข้าและออกและประมานระยะของการยิง รวมถึงการวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืนในรูปแบบต่างๆ ทั้งนี้ในการวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืนจากระยะยิงต่างๆ แพทย์นิติเวชสามารถตัดชิ้นเนื้อจากบาดแผลกระสุนปืน เพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา เพื่อนำส่งให้พยาธิแพทย์ช่วยวินิจฉัย ยืนยันถึงการตรวจบาดแผลจากกระสุนปืน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อหาคราบเขม่าดินปืน หรือ การแทรกของเขม่าดินปืนจากการยิงเข้าสู่บาดแผล เพื่อบอกถึงระยะของการยิงได้

การวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืน ของแพทย์นิติเวช จากการผ่าตัดชันสูตรศพ จะสามารถบอกได้ถึงทิศทางของกระสุนปืนที่ผ่าน อวัยวะต่างๆของร่างกาย ทิศของการเข้าและออกของกระสุนปืน หากตรวจพบหัวกระสุนปืนก็จะสามารถส่งตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อเปรียบเทียบ กับอาวุธปืนที่ใช้ยิงได้ การวินิจฉัยสาเหตุการตาย ของความเสียหายของอวัยวะภายใน

ร่างกายนั้น สามารถวินิจฉัยได้จากการผ่าตัดชันสูตรศพผู้เสียชีวิต ในส่วนของการประเมินระยะของการยิงนั้น มีปัจจัยหลายๆอย่างทำให้แพทย์นิติเวช ไม่สามารถวินิจฉัยได้ในทันที ที่เห็นบาดแผลว่าบาดแผลถูกยิงชนิดที่ตรวจพบนั้นมีระยะของการยิง ในระยะไหน การยืนยันผลของการวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืน ในระยะต่างๆด้วยการตัดชิ้นเนื้อจากบาดแผลที่ถูกยิงด้วยกระสุนปืนนั้น สามารถถูกยืนยันได้ด้วยการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา โดยให้พยาธิแพทย์ช่วยวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจหาการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อในระดับเซลล์ การแทรกของเขม่าดินปืนในระยะยิงประชิดติดผิวหนัง หรือการแทรกของเขม่าดินปืนในการยิงระยะใกล้ ทั้งนี้ยังสามารถวินิจฉัยไม่พบการแทรกของเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อได้ เพื่อรายงานให้แพทย์นิติเวช ทราบถึงผลของเขม่าดินปืนภายในเนื้อเยื่อ ที่วินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อแพทย์นิติเวชรวบรวมข้อมูลและทำรางงานชันสูตรแก่พนักงานสอบสวนถึงเหตุตาย ทิศทาง และระยะของการยิงได้ต่อไป

ความสำคัญของระยะของการยิง จากรายงานการผ่าตัดชันสูตรของแพทย์นิติเวช เมื่อส่งให้พนักงานสอบสวนรวบรวมสำนวน มีความสำคัญในการเพิ่มน้ำหนักของหลักฐานในการพิสูจน์ถึงความผิด ของผู้กระทำความผิด จากระยะยิงได้ การบอกได้ถึงระยะยิงสามารถบอกได้ถึงเจตนาในทางกฎหมาย ที่ส่งผลถึงการตัดสินภายในชั้นศาลที่แตกต่างกัน การบอกถึงระยะยิงจากรายงานการผ่าตัดชันสูตรศพของแพทย์นิติเวช และผลการวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของพยาธิแพทย์ มีความสำคัญในการบอกเจตนาของผู้กระทำการยิงอาวุธปืนได้เมื่อนำมาประกอบกับพยานแวดล้อมและพยานวัตถุต่างๆต่อไป

ในกระบวนการ เตรียมชิ้นเนื้อ ก่อนการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาจากแพทย์นั้น ขั้นตอนที่สำคัญที่สุดในการปฏิบัติการคือ ต้องทำการดึงน้ำออกจาเนื้อเยื่อให้มากที่สุดด้วยวิธีการทางพยาธิวิทยา ในกระบวนการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อให้คงสภาพไว้ การดึงน้ำออกจากเซลล์ทางพยาธิวิทยาด้วยวิธีมาตรฐานนั้นต้องใช้เวลานาน ถึง 12 – 14 ชั่วโมง โดยการใช้หลักการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วย Alcohol การไล่ลำดับการแช่ชิ้นเนื้อในความเข้มข้นของ Alcohol ในระดับความเข้มข้นต่างๆ จาก น้อย ไปหามาก ความเข้มข้นของ Alcohol จะค่อยๆ ดึงน้ำออกจากเซลล์ทีละนิดๆ เพื่อเป็นการเตรียมชิ้นเนื้อเข้าสู่กระบวนการต่อไป

เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการลำดับความเข้มข้นของ Alcohol จากน้อย ไปหามาก แล้ว การแช่ชิ้นเนื้อใน Paraffin เหลวในขั้นตอน Embedding ชิ้นเนื้อ ใน Paraffin ก่อนทำการตัดชิ้นชิ้นเนื้อเป็น Sections จะมีความบาง ประมาน 3-5 ไมครอน ด้วยเครื่อง Micro-Slicer หรือ เครื่อง Microtome ตัดและนำลง Slide ก่อนนำไปย้อมสีเนื้อเยื่อ ด้วย Hematoxylin and Eosin อีกเป็นเวลา 40 – 60 นาที เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการ จึงทำการวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์พยาธิแพทย์ ประกอบกันในรายงานผลการผ่าตัดชันสูตรศพ ในขั้นตอนการผ่าตัดชันสูตรศพผู้เสียชีวิตจากบาดแผลกระสุนปืน

และ การตรวจวินิจฉัยเพื่อยืนยันระยะยิงของบาดแผลกระสุนปืน จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีระยะเวลา ในการตรวจวินิจฉัย การส่งต่อข้อมูลที่ต้องการส่งตรวจ การผ่านขั้นตอนต่างๆ ของห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยา มีการใช้เวลาที่มีระยะเวลานานหลายวัน

ในการคำนวนระยะเวลาในการดึงน้ำออกจากเซลล์เพื่อเตรียมชิ้นเนื้อทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา (Rohr, 2001) ทำวิจัยเกี่ยวกับการ เปรียบเทียบวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา กับวิธีที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ ในขั้นตอนของการลดระยะเวลาการดึงน้ำออจากเซลล์ทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา และเปรียบเทียบระยะเวลาของการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา พบว่าวิธีการใช้ ไมโครเวฟในการดึงน้ำออกจากเซลล์ขั้นตอนของการเตรียมชิ้นเนื้อสามารถลดระยะเวลาลงได้มากกว่า ขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยวิธีมาตรฐาน การใช้เทคนิคไมโครเวฟ ในการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อช่วยลดระยะเวลาของการเตรียมชิ้นเนื้อทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา เป็นวิธีที่เริ่มใช้กันแพร่หลายในงานทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา เพื่อลดระยะเวลาในการดึงน้ำออกจากเซลล์เพื่อเตรียมชิ้นเนื้อเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป ทั้งผลการวิจัยยังใช้เปรียบเทียบกับวิธีการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยวิธีมาตรฐาน แล้วพยาธิแพทย์สามารถให้ผลวินิจฉัยได้เหมือนกันทั้ง 2 วิธี

การใช้คลื่นไมโครเวฟ ในการช่วยลดระยะเวลาขั้นตอนในการ ดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ เนื่องจากคลื่นไมโครเวฟ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะเร่งปฏิกิริยาของคลื่นไมโครเวฟ กับสารเคมีและชิ้นเนื้อที่ต้องการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยการไล่ลำดับความเข้มข้นของ Alcohol จาก น้อย ไปหาความเข้มข้นมาก เมื่อเนื้อเยื่อขยายตัว จากการสั่นของโมเลกุล ด้วยคลื่นไมโครเวฟ การดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อดังกล่าว ก็จะทำได้เร็วขึ้น ตามลำดับในแต่ละขั้นตอน ในส่วนการใช้เครื่องตัดเย็น หรือ Frozen section นั้น เป็นเทคนิคใหม่ที่ใช้ตัดชิ้นเนื้อแบบพิเศษในทางพยาธิวิทยาด้วย อุณหภูมิที่ติดลบ 30 องศา เพื่อลดขั้นตอนการ ดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ โดยใช้ embedding mediaในการรักษาสภาพของชิ้นเนื้อก่อนทำการตัด slide ผลการวินิจฉัยจะสามารถรายงานได้ในระยะเวลาประมาณ 20-40 นาที ในการลดขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา เพื่อลดระยะเวลาในขึ้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์นั้น มีความสำคัญต่อการทำรายงานระหว่าง พยาธิแพทย์ในการวินิจฉัย กับ รายงานการผ่าตัดชันสูตรศพของแพทย์นิติเวช ในการศึกษาการใช้เทคนิคต่างๆ เพื่อลดระยะเวลาของขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์ที่มีระยะเวลายาวนาน ในการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา มีความสำคัญกับการออกรายงานทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา ประกอบกับ รายงานการผ่าตัดชันสูตรศพ เพื่อส่งต่อให้ยังพนักงานสอบสวนรวบรวม หลักฐานและข้อมูลต่างๆเพื่อใช้ในการทำคดีที่เกิดจากการใช้อาวุธปืนยิงผู้อื่นจนถึงแก่ความตาย หรือการยืนยันการใช้อาวุธปืนในการยิงตัวตาย การตรวจสอบงานวิจัยพบว่ามีความสำคัญ ได้แก่

1. ความสำคัญของระยะของการยิงที่ได้จากการวินิจฉัย

2. การศึกษาขั้นตอนการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ

3. การศึกษาขั้นตอนการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อวิธีมาตรฐาน ไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็น

2.2 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเตรียมชิ้นเนื้อวิธีมาตรฐาน ไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็น

3. สมมุติฐานของการวิจัย

3.1 กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ, เครื่องตัดเย็นสามารถลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อได้

3.2 แพทย์สามารถวินิจฉัยได้ตรงกับผลการทดลอง

4. ประโยชน์ที่จะได้รับ

4.1 ช่วยลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็น

4.2 วิธีไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็นเป็นกระบวนการที่สามารถลดระยะเวลาการวินิจฉัยชิ้นเนื้อจากบาดแผลกระสุนปืน

4.3 เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องทางนิติพยาธิวิทยา

5. ขอบเขตของการวิจัย

5.1 ศึกษารวบรวมข้อมูลกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ ด้วยวิธีมาตรฐาน (conventional) และวิธี microwave ในขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ

5.2 ศึกษาการประสิทธิภาพจากการใช้วิธีไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็น ในการลดระยะเวลาของกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อการวินิจฉัย

5.3 ศึกษาผลลัพธ์ที่ได้จากกระบวนการลดระยะเวลาการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อโดยการ ใช้คลื่น microwave และ frozen section

5.4 การวินิจฉัยจากผู้ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญด้านพยาธิ ในการอ่านผลชิ้นเนื้อ เป็นผู้ประเมินประสิทธิภาพของชิ้นเนื้อที่ได้ทำการทดลองทั้ง 2 วิธี

7. นิยามศัพท์เฉพาะ

7.1 พยาธิวิทยา(Pathology) เป็นการศึกษาและวินิจฉัยโรคจากการตรวจอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ สารคัดหลั่ง และจากทั้งร่างกายมนุษย์ (จากการชันสูตรพลิกศพ) พยาธิวิทยายังหมายถึงการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ของการดำเนินโรค ซึ่งหมายถึงพยาธิวิทยาทั่วไป (General pathology) พยาธิวิทยาทางการแพทย์แบ่งออกเป็น 2 สาขาหลักๆ ได้แก่ พยาธิกายวิภาค (Anatomical pathology) และพยาธิวิทยาคลินิก (Clinical pathology) นอกจากการศึกษาในคนแล้ว ยังมีการศึกษาพยาธิวิทยาในสัตว์ (Veterinary pathology) และในพืช (Phytopathology) ด้วย

7.2 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ (Tissue Processing) การนำชิ้นเนื้อที่พยาธิแพทย์ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ไว้ในตลับพลาสติก ลงไปในเครื่องมือที่เรียกว่า tissue processor เครื่องมือนี้จะมีโถใส่น้ำยาหลายโถ น้ำยาส่วนใหญ่เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน หลักการของขั้นตอนนี้คือการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ต่ำไปจนถึง absolute alcohol

7.3 คลื่นไมโครเวฟ (Microwave) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ของคลื่นระหว่าง 300-30,00 MHz (ความยาวของคลื่นราว 1-100 ซม.) ในโมเลกุลของน้ำ (H_2O) ไฮโดรเจน (H_2) มี (O) มีประจุไฟฟ้าลบ เมื่อไมโครเวฟผ่านเข้าไปในอาหาร สนามไฟฟ้าของคลื่นไมโครเวฟจะเกิดแรงกระทำต่อโมเลกุลของน้ำ ทำให้ประจุบวกและลบของน้ำเกิดการสั่นไปมาอย่างรุนแรง การสั่นสะเทือนนี้ทำให้เกิดความร้อน จึงทำให้อาหารร้อนขึ้น

7.4 เครื่องตัดเย็น (Frozen section) การส่งตรวจวินิจฉัยชิ้นเนื้อเร่งด่วนโดยวิธีแช่แข็งชิ้นเนื้อที่ทำการส่งตรวจด้วยวิธี Frozen section สามารถรายงานผลได้ภายในเวลา 30 นาทีนับจากได้รับสิ่งส่งตรวจชิ้นเนื้อชิ้นเนื้อที่ตรวจด้วยวิธี Frozen section แล้วจะนำมาตรวจวินิจฉัยตามปกติต่อไป

7.5 ระยะยิง (range of fire) ระยะยิงหมายถึงระยะจากปากกระบอกปืนถึงบาดแผลทางเข้า ในการยิงแต่ละครั้ง สิ่งที่ออกจากปากกระบอกปืนนอกจากหัวกระสุนปืนแล้วยังมีกลุ่มของเขม่าดินปืน หรือควันปืน (soot) ประกายดินปืนที่กำลังเผาไหม้ (unburnt particle) และความร้อน ซึ่งสิ่งต่างๆเหล่านี้จะช่วยบอกระยะห่างระหว่างปากกระบอกปืนกับผิวหนังได้

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ในการดำเนินการค้นหาหลักฐานในคดีต่างๆ ที่เกิดขึ้นส่วนหนึ่งต้องใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์หลายสาขาเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งกระบวนการต่างๆ แขนงนี้จัดเป็นความรู้ในหัวข้อวิชา “นิติวิทยาศาสตร์” หรือ “Forensic Science” ซึ่งเป็นความรู้ทางวิทยาศาสตร์มาใช้ในการพิสูจน์ความจริงเพื่อนำมาประกอบการพิจารณาลงโทษผู้กระทำความผิด และส่วนใหญ่เป็นวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับความรู้ทางการแพทย์ จึงมีการกำหนดเฉพาะอีกคำคือ “นิติเวชศาสตร์” ซึ่งภาษาอังกฤษคำที่ใช้เกี่ยวข้องมี 2 คำ คือ “Forensic Medicine” หรือ “Legal Medicine” ในการดำเนินการค้นหาหลักฐานในลักษณะนี้คงแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ เกี่ยวกับผู้ป่วยคดี และเกี่ยวข้องกับศพคดี ซึ่งประกอบไปด้วยการตรวจร่างกายผู้ป่วยหรือศพ เพื่อดูบาดแผลเพื่อหาสาเหตุการเสียชีวิต รวมทั้งการเก็บรวบรวมส่งตรวจวัตถุพยานที่เกี่ยวข้องทั้งหมด ดังนั้นเพื่อให้เป็นการเข้าใจขอบข่ายด้านนี้คร่าวๆ ในปัจจุบันได้มีการแบ่งลักษณะวิชาที่เกี่ยวข้องกับงานนิติวิทยาศาสตร์ ออกเป็น 8 กลุ่ม (พรทิพย์ โรจนสุนันท์, 2543: 13-14) นิติเวชศาสตร์ ดังนี้

1. นิติพยาธิวิทยา (Forensic Pathology)
2. การตรวจผู้ป่วยคดี หรือนิติเวชคลินิก (Clinical Forensic Medicine)
3. นิติจิตเวช (Forensic Psychiatry)
4. นิติพิษวิทยา (Forensic Toxicology)
5. การพิสูจน์หลักฐาน (Biological Evidence Examination)
6. เวชศาสตร์จราจร (Traffic Medicine)
7. นิติซีโรโลยี่ (Forensic Serology)
8. กฎหมายการแพทย์ (Medical Law)

ในการตรวจศพทางนิติเวชศาสตร์ในคดีที่เสียชีวิตด้วยอาวุธปืนนั้น ตำแหน่งของบาดแผลทางเข้าจากอาวุธถือเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องชันสูตรบาดแผลและบันทึกให้ชัดเจนครบถ้วนแม่นยำให้มากที่สุดทั้งรอยปากบาดแผลและลูกกระสุนปืนที่พบในที่เกิดเหตุ อีกทั้งรอยเขม่าปืน ผงสักดินปืน รอยเลือด ล้วนแล้วแต่เป็นหลักฐานสำคัญในการศึกษานี้ ซึ่งได้ศึกษาวรรณกรรมดังปรากฏหัวข้อดังนี้

1. บาดแผลกระสุนปืนและระยะยิง
2. กระบวนการเตรียมเนื้อทางพยาธิวิทยา

1. บาดแผลกระสุนปืน

บาดแผลกระสุนปืนเป็นบาดแผลที่มีลักษณะเดียวกับถูกของแข็งไม่มีคม หรืออาจจะมีลักษณะถูกของแข็งมีคมก็ได้ขึ้นอยู่กับสภาพของหัวกระสุนที่กระทบกับผิวหนังของร่างกาย โดยทั่วไป หัวกระสุนปืนที่ไม่ได้เปลี่ยนรูปร่างจะมีลักษณะหัวกลมมนไม่มีคม แต่สามารถทะลุทะลวงเข้าร่างกายด้วยความแรงของดินปืนที่ดันหัวกระสุนปืนออกมา ฉะนั้นบาดแผลทางเข้าของกระสุนปืนจึงมีบาดแผลถลอกอยู่รอบรูทางเข้า (abraded rim) หรืออาจจะมีช้ำด้วย แต่จะไม่มีสะพานเนื้อเยื่อ ในกรณีที่หัวกระสุนปืนเปลี่ยนรูปร่างไป เช่นกระทบกระแทกกับฝาผนังหรือสิ่งอื่นมาก่อนที่จะเข้าร่างกาย หัวกระสุนปืนอาจจะบี้แบนเปลี่ยนรูปร่างไปเกิดมีคมขึ้นส่วนหนึ่ง และเมื่อส่วนนั้นเป็นส่วนนำในการวิ่งเข้าสู่ร่างกายบาดแผลที่เกิดขึ้นจะเป็นบาดแผลที่ไม่มีขอบถลอกเหมือนถูกของแข็งมีคม ในทางนิติเวชแบ่งบาดแผลกระสุนปืนเป็น 2 ประเภทคือ บาดแผลกระสุนปืนลูกโดด และบาดแผลกระสุนปืนลูกปราย ซึ่งบาดแผลทั้งสองประเภทมีลักษณะจำเพาะที่แตกต่างกัน

1.1 บาดแผลกระสุนปืนลูกโดด (gunshot wounds) คือบาดแผลที่เกิดจากอาวุธปืนชนิดมีเกลียวในลำกล้อง ได้แก่ปืนยาว (rifle) และปืนพกสั้นกึ่งอัตโนมัติ (semi-automatic pistol) และชนิดลูกโม่(revolver pistol))

1.1.1 บาดแผลทางเข้าของกระสุนปืนลูกโดด (entrance wound)

1.1.1.1 ลักษณะทั่วไป

อาจพบได้หลายลักษณะ ทั้งนี้เนื่องจากระยะที่ยิงและตำแหน่งของร่างกายที่เกิดบาดแผล อาจทำให้เกิดบาดแผลได้หลายแบบ โดยมีลักษณะที่สำคัญดังนี้

1. บาดแผลเป็นรูปกลมหรือรี (ยกเว้นบาดแผลทางเข้าในระยะติดผิวหนังบริเวณศีรษะหรือที่มีกระดูกรองรับ) ถ้าหัวกระสุนกระทบร่างกาย โดยทำมุม 90 องศากับผิวหนังบาดแผลจะกลม ถ้าหัวกระสุนทำมุมเฉียงกับผิวหนังบาดแผลจะเป็นรูปรี กรณีบาดแผลทางเข้าในระยะติดผิวหนังที่บริเวณหนังศีรษะซึ่งมีกะโหลกรองรับ บาดแผลทางเข้าจะเป็นรูปหลายแฉกหรือรูปดาว (star-shaped or stellate wound)

2. รอยถลอกรอบบาดแผล (abrasion collar หรือ marginal abrasion) เกิดจากกระสุนเสียดสีผิวหนังถูกยืดขณะที่หัวกระสุนกำลังทะลุผ่านชั้นผิวหนัง

3. รอยเปื้อนน้ำมันบริเวณรอบบาดแผล (grease ring) ขอบด้านในของบาดแผลจะเปื้อนน้ำมันที่มากับหัวกระสุน เนื่องจากในลำกล้องปืนจะมีสารหล่อลื่นทำความ

สะอาดปืน เช่น น้ำมันหล่อลื่นจาระบี ติดค้างอยู่ เมื่อหัวกระสุนถูกดันออกจากลำกล้องในลักษณะรีดตัวออกไป สารหล่อลื่นจะติดหัวกระสุนออกไปด้วย เมื่อหัวกระสุนกระทบผิวหนัง สิ่งหล่อลื่นที่ติดปลายหัวกระสุนจะติดเปื้อนอยู่ที่ขอบของบาดแผล

4. ขนาด โดยทั่วไปจะมีขนาดใกล้เคียงกับหัวกระสุนที่ทะลุผ่าน ขนาดของบาดแผลทางเข้าโดยทั่วไปจะเล็กกว่าบาดแผลทางออก

5. หากกระสุนทะลุเสื้อผ้าก่อนที่จะเข้าร่างกาย อาจพบเศษเส้นใยของเสื้อผ้าที่ขาดอยู่ในบาดแผลทางเข้า

6. พบลักษณะที่เกิดจากเปลวไฟ ควันไฟและเขม่าดินปืนที่เกิดขึ้นจากการยิงปรากฏบริเวณรอบบาดแผล หากเป็นระยะที่ส่วนประกอบจากการยิงเหล่านี้ไปถึงได้

1.1.1.2 ลักษณะบาดแผลตามระยะยิง

ระยะยิงไกล บาดแผลกระสุนปืนซึ่งระยะยิงไกลกว่าที่ ส่วนประกอบของการยิงจะไปถึง จะไม่พบรอยไหม้จากเปลวไฟ ไม่พบควัน (soot) และไม่พบเขม่าดินปืน (tattooing)

ระยะยิงใกล้ เป็นระยะที่ตรวจพบส่วนประกอบจากการยิงได้ รอบแผลทางเข้าจะพบลักษณะที่เกิดจากเขม่าดินปืนเป็นจุดดำเล็กๆ กระจายรอบๆ แผลเป็นวงกว้าง คล้ายกับโรยพริกไทยลงในอาหาร (stipplingหรือ peppering) เขม่าเหล่านี้เป็นส่วนของดินปืนที่เผาไหม้ไม่หมดหรือยังไม่ถูกเผาไหม้ (unburn powder) ถูกดันโดยความแรงของแก๊สที่พ่นออกมาทำให้ฝังจมอยู่ใต้ผิวหนัง มองเห็นเป็นลักษณะคล้ายรอยสัก (power tattooing) โดยทั่วไปสำหรับปืนพกสั้นเขม่าดินปืนจะพบได้ในระยะไม่เกิน 12-18 นิ้ว หากเป็นปืนยาวจะพบเขม่าดินปืนได้ในระยะยิงมากกว่านี้ อย่างไรก็ตาม ระยะไกลที่สุดที่เขม่าจะไปถึงได้ไม่ว่าจะเป็นปืนสั้นหรือปืนยาว ขึ้นกับชนิดของปืน ความยาวลำกล้องและชนิดของลูกกระสุน

นอกจากเขม่าดินปืนแล้ว แก๊สที่เกิดจากการเผาไหม้ถูกพ่นออกมาในขณะยิง เป็นแก๊สที่มีถ่านผสมอยู่ซึ่งเราเรียกว่าควัน (smoke) ควันจะพุ่งออกมาใกล้กว่าเขม่า เมื่อควันถูกบนผิวหนังจะจับเป็นคราบสีเทารอบๆแผลเรียกว่า smudging หรือ soot ซึ่งเมื่อล้างหรือเช็ดจะออกหมด (เขม่าและคราบควันรวมกันเรียกว่า (soiling) โดยทั่วไปอาวุธปืนที่ใช้ในหมู่พลเรือนนั้น ถ้าระยะยิงเกินกว่า 6 นิ้วจะไม่เห็นควันปรากฏที่แผล

ในการยิงปืนจะมีความร้อนหรือเปลวไฟพ่นออกจากกระบอกปืน ความร้อนที่ออกมาจะทำให้ผิวหนังรอบๆบาดแผลทางเข้าจากการถูกยิงระยะใกล้นั้นเกิดไหม้ขึ้นเป็นสีดำ ทั้งรอยไหม้ของผิวหนังกับเขม่าและควันที่จับอยู่หนาแน่นจะทำให้ไม่เห็นรอยถลอกรอบบาดแผล ความร้อนจากปืนสั้น โดยทั่วไปจะพ่นออกมาไม่เกิน 6 นิ้ว

ระยะยิงประชิดติดผิวหนัง (contact wound) เป็นระยะที่ปากกระบอกปืนติดกับผิวหนัง ในขณะที่หัวกระสุนออกจากลำกล้องเขม่าดินปืน ควัน และความร้อนที่เกิดขึ้นจะถูกพ่นออกมาพร้อมๆกันหรือก่อนหน้าหัวกระสุนเล็กน้อย สิ่งเหล่านี้จะถูกพ่นเข้าไปในบาดแผลทั้งหมด บาดแผลทางเข้าอาจมีลักษณะกลมและใต้ขอบบาดแผลจะมีเขม่าดินปืนสีดำติดอยู่ทั่วไป ผิวหนังใต้ขอบบาดแผลจะดึงยืดขึ้นได้ง่ายลักษณะเป็นโพรงดินปืน (gunpowder cavity) โพรงดินปืนนี้เป็นลักษณะเฉพาะของบาดแผลระยะประชิดติดผิวหนังหรือระยะเกือบติดผิวหนัง (ห่างประมาณ 2-3 มม.)กรณีที่ยิงโดยที่ปากลำกล้องปืนติดกับผิวหนัง (tight contact) อาจเกิดรอยกดของปากลำกล้องปืนปรากฏที่รอบบาดแผลเรียกว่า muzzle imprintระยะยิงติดผิวหนังในตำแหน่งซึ่งมีกระดูกรองรับ เช่นที่ศีรษะหรือกลางหน้าอก บาดแผลที่เกิดขึ้นจะเป็นบาดแผลฉีกขาดเป็นหลายแฉก ลักษณะคล้ายรูปดาว (stellate หรือ star-shaped wound) ร่วมกับพบโพรงดินปืนและอาจสังเกตเห็น muzzle imprintได้

อย่างไรก็ตามลักษณะของบาดแผลทางเข้าที่ผิวหนังเท่าที่กล่าวมาแล้ว อาจเปลี่ยนแปลงไปถ้าเป็นการยิงผ่านเสื้อผ้า กล่าวคือ ขอบแผลด้านในอาจไม่พบรอยเปื้อนน้ำมัน ลักษณะที่เกิดจากเขม่าดินปืนบางอย่างจะปรากฏที่เสื้อผ้าแทนที่จะปรากฏที่บาดแผล เป็นต้น ดังนั้นในการตรวจจึงต้องดูเสื้อผ้าประกอบด้วย

1.1.2 บาดแผลทางออก (exit wound)

บาดแผลทางออกกระสุนปืนที่ผิวหนัง ไม่มีลักษณะเฉพาะ แต่ลักษณะทั่วไปที่พบได้ดังนี้

1. รูปร่างของรูบาดแผลไม่แน่นอนอาจกลมหรือเป็นเหลี่ยมก็ได้ ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนรูปของหัวกระสุน ถ้าหัวกระสุนไม่เปลี่ยนรูปมาก บาดแผลทางออกจะกลมหรือรี ถ้าหัวกระสุนมีการเปลี่ยนรูปร่างลักษณะบู้บี้มาก บาดแผลทางออกจะมีรูปร่างไม่แน่นอนอาจเป็นรูปหลายเหลี่ยม เป็นรูปหลายแฉกและรูปร่างต่างๆได้มากมาย

2. ขนาดของบาดแผลทางออก โดยทั่วไปจะใหญ่กว่าบาดแผลทางเข้า ยกเว้น บาดแผลที่ยิงติดผิวหนังในตำแหน่งของร่างกายที่กระดูกติดกับผิวหนังโดยตรง การที่บาดแผลทางออกมีขนาดใหญ่นี้ เนื่องจากหัวกระสุนเมื่อเวลาออกจากร่างกาย แรงดันลดลงจะควงเป็นวงกว้าง และดันเอาเศษเนื้อเศษกระดูกออกมาด้วย ทำให้รูบาดแผลทางออกกว้างกว่าบาดแผลทางเข้า และในบางกรณีมีเศษกระดูกถูกขับดันออกมามาก เช่น บริเวณศีรษะ บาดแผลทางออกนอกจากจะกว้างแล้วยังมีรูปร่างเป็นบาดแผลฉีกขาดลักษณะเป็นแฉกๆอีกด้วย จึงทำให้แลดูคล้าย

บาดแผลทางเข้าได้ แต่จะต่างกันตรงที่บาดแผลทางออกลักษณะนี้ไม่มีลักษณะของ “โพรงดินปืน” อยู่ด้วย เหมือนบาดแผลทางเข้า

3. ในบาดแผลทางออก จะพบเศษอวัยวะต่างๆ ที่หัวกระสุนดันออกมาจุกอยู่ด้วย เช่น มีเศษกระดูกเศษอวัยวะภายในต่างๆ

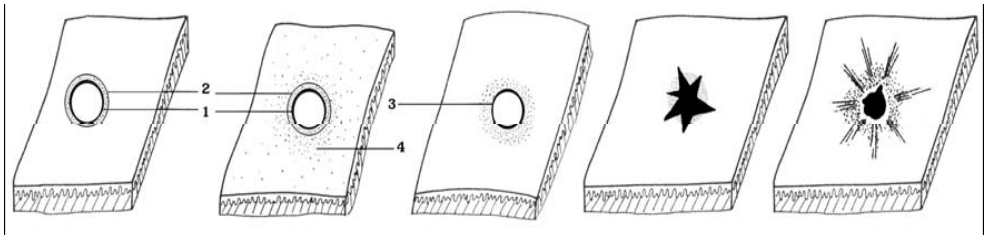
1.1.3. บาดแผลกระสุนปืนผ่านกระดูก

ลักษณะของบาดแผลจากกระสุนปืนที่ผ่านกระดูกนั้น กระดูกจะแตกเป็นรูกลมทางด้านที่หัวกระสุนเจาะกระดูกเข้าไป ขอบรูทางเข้าที่กระดูกจะเรียบ กระดูกทางด้านที่หัวกระสุนทะลุออก จะแตกกว้างออกเป็นรอยขรุขระเป็นแอ่งเหมือนกับเป็นรูปครก ลักษณะรูทะลุที่กระดูกนี้จะเป็นหลักฐานสำคัญในการบอกทิศทางของกระสุนปืน

ตารางที่ 1 ลักษณะบาดแผลทางเข้า-ทางออกของบาดแผลกระสุนปืนลูกโดด

บาดแผลทางเข้า	บาดแผลทางออก
รูปกลมหรือรี (ระยะติดผิวหนังบริเวณศีรษะจะพบรูปแฉก)	รูปร่างไม่แน่นอน กลมหรือเหลี่ยมก็ได้
โดยทั่วไป เล็กกว่าหรือเท่ากับขนาดกระสุน	ใหญ่กว่า
ขอบแผลพบ Greasing ring และMarginal abrasion	ไม่พบ
เขม่าดินปืน	ไม่พบ
เส้นใยเสื้อผ้า กรณีทะลุเสื้อผ้าก่อน	เศษเนื้อเยื่อต่างๆจุกอยู่

ที่มา: วิชัย วงศ์ชนะภัย, “แนวทางการชันสูตรพลิกศพพื้นฐานที่ต้องทำสำหรับแพทย์เวชปฏิบัติทั่วไป,” **คลินิกเวชปฏิบัติปริทัศน์** 2, 12 (สิงหาคม 2546): 652.



ระยะไกล ระยะใกล้ปานกลาง ระยะใกล้ ระยะติดผิวหนัง

ภาพที่ 1 บาดแผลทางเข้ากระสุนปืนลูกโดด (1.ขอบเปื้อนน้ำมัน 2.รอยถลอกรอบๆ 3.รอยไหม้ 4. เขม่าดินปืน)

ที่มา: วิชัย วงศ์ชนะภัย, "แนวทางการชันสูตรพลิกศพพื้นฐานที่ต้องทำสำหรับแพทย์เวชปฏิบัติทั่วไป," **คลินิกเวชปฏิบัติปริทัศน์** 2,12 (สิงหาคม 2546): 652.

ตารางที่ 2 ลักษณะเขม่าดินปืนตามระยะยิงของปืนสั้น

ลักษณะ/ระยะ	ระยะติดผิวหนัง	ระยะใกล้ (2-6 นิ้ว)	ระยะใกล้ ปานกลาง (6-18นิ้ว)	ระยะไกล (มากกว่า18นิ้ว)
เขม่าดินปืน	ภายในบาดแผล	รอบบาดแผล	กระจายออกรอบบาดแผลหรือเสื้อผ้า	ไม่พบ
ขนบริเวณขอบบาดแผล	ไหม้ดำ, หงิกงอ	ไหม้ดำ,หงิกงอ	ปกติ	ปกติ

ที่มา: วิชัย วงศ์ชนะภัย, "แนวทางการชันสูตรพลิกศพพื้นฐานที่ต้องทำสำหรับแพทย์เวชปฏิบัติทั่วไป," **คลินิกเวชปฏิบัติปริทัศน์** 2, 12 (สิงหาคม 2546): 653.

1.1.4 บาดแผลกระสุนปืนผ่านอวัยวะภาย ในขณะที่หัวกระสุนผ่านเนื้อเยื่อ การเคลื่อนที่ของหัวกระสุนจะมีอำนาจในการทำให้อวัยวะภายในต่างๆถูกตัดหรือฉีกขาด เกิดเป็นทางที่หัวกระสุนผ่านไป ซึ่งจะเห็นเป็นทางที่อวัยวะถูกทำลาย เรียกว่า เป็นทางกระสุนถาวร (permanent cavity) แต่ขณะที่กระสุนผ่านไปนั้นเอง พลังงานจลน์ที่เกิดขึ้นจากหัวกระสุนจะถ่ายทอดไปยังเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อที่ถูกแทรกตัวโดยหัวกระสุนจะขยายโป่งขึ้นเป็นโพรงออกไปจากแนวทิศทางที่กระสุนผ่านทั้งสองข้างและโพรงนี้กว้างกว่าขนาดของหัวกระสุนมาก เรียกว่าโพรงชั่วคราว (temporary cavity) ขณะกระสุนวิ่งผ่าน โพรงนี้จะยุบตัวแล้วขยายใหม่อีกครั้ง ทุกครั้งจะขยายน้อยลงกว่าครั้งก่อน จนกระทั่งเหลือเป็นทางกระสุนถาวร การเกิดโพรงชั่วคราวดังกล่าวจึงมีผลทำ

ให้เนื้อเยื่อตามแนวที่กระสุนผ่านขยายตัวยุบตัวสลับกัน (pulsation) โพรงมีรูปเป็นรูปกรวย ขนาดของโพรงจะใหญ่ขึ้นถ้าความเร็วของหัวกระสุนมีมาก และเมื่อมีขนาดของโพรงใหญ่ ทางกระสุนถาวรที่เหลืออยู่จะใหญ่ตามไปด้วย สำหรับกระสุนปืนพกและปืนลูกโม่ ทางกระสุนถาวรที่เหลือจะเท่าขนาดของหัวกระสุน การเกิดโพรงชั่วคราวเช่นนี้จะทำให้เกิดอันตรายต่ออวัยวะข้างเคียงกับทางผ่านของหัวกระสุนด้วย เช่น มีการฉีกขาดของอวัยวะภายในการฉีกของหลอดเลือด และการกดเบียดที่เส้นประสาท เป็นต้น

ตามธรรมดาทางที่หัวกระสุนปืนผ่านภายในร่างกาย (bullet track) มักจะเป็นแนวตรงแต่บางคราวหัวกระสุนไปกระทบอวัยวะบางอย่างภายในร่างกายอาจทำให้เกิดการกระดอนหักเหไปในทิศทางต่างๆได้(ricochet)

1.2 บาดแผลกระสุนปืนลูกปราย (shotgun wounds)

กระสุนปืนลูกซอง 1 นัด จะมีเม็ดกระสุนลูกปรายอยู่ภายในตั้งแต่ 1 เม็ดขึ้นไป เมื่อยิงกระสุนปืนลูกซอง 1 นัด เม็ดกระสุนลูกปรายจะพุ่งออกมาพร้อมกับหมอนปิดปากกระสุน หมอนรองกระสุนหรือหมอนส่งกระสุน เปลวไฟ ก๊าซจากการเผาไหม้ และเขม่าดินปืน โดยในระยะที่เริ่มออกจากปากกระบอกปืนจะยังรวมเป็นกลุ่มก้อนและเมื่อระยะทางมากขึ้นก็จะเริ่มกระจายออกไป ซึ่งจะปรากฏเป็นแผลทางเข้ากระสุนปืนลูกปราย ที่แตกต่างกันไปตามระยะยิง

1.2.1 บาดแผลจากการยิงระยะใกล้ (ระยะไม่เกิน 1 หลา) บาดแผลจะเป็นรูเดียวขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผลมีขนาดใกล้เคียงกับเส้นผ่าศูนย์กลางของลำกล้องปืน ทั้งนี้ก็เพราะในระยะยิงแค่นี้เมื่อลูกปรายพ้นจากปากลำกล้อง ยังรวมตัวกันเป็นกระจุก กลุ่มลูกปรายจะทำให้เกิดบาดแผลเป็นโพรงขอบไม่เรียบ ถ้าเป็นระยะประชิดติดผิวหนัง รอบๆบาดแผลจะมีรอยไหม้สีดำเป็นวงกว้างพอประมาณบริเวณไหม้มีเขม่าดินปืนติดอยู่เป็นจำนวนมาก ภายในโพรงของบาดแผลจะพบหมอนรองกระสุนและดินปืนสีดำติดอยู่ในกรณีที่ระยะยิงห่างจากผิวหนังพอประมาณ (ประมาณ 1 ฟุต) การกระจายของเขม่าดินปืนก็จะกว้างออกไปอีก หมอนรองกระสุนคงพบอยู่ในโพรงแผลเช่นกัน ขอบของบาดแผลจะฉีกขาดลักษณะไม่เรียบเนื่องจากแรงดันของแก๊ส

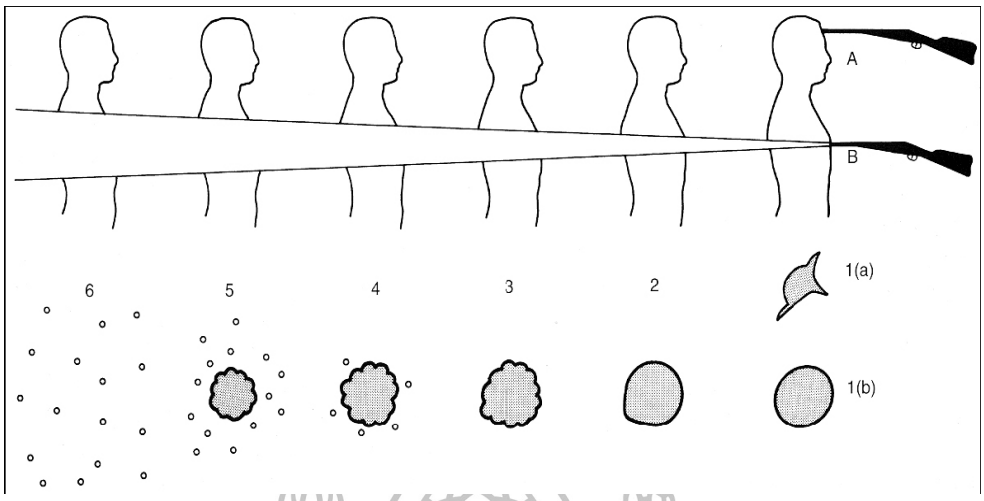
1.2.2 บาดแผลจากการยิงระยะปานกลาง (ประมาณ 1-3 หลา) ลักษณะของบาดแผลจะมีรูใหญ่อยู่ตรงกลางซึ่งเกิดจากกลุ่มลูกปรายจำนวนหนึ่งยังรวมกลุ่มกันอยู่และมีรูเล็กๆที่เกิดจากลูกปรายแต่ละเม็ดที่เริ่มกระจายห่างออกไป รอบๆของบาดแผลไม่ปรากฏรอยของเขม่าดินปืนแต่อย่างใด อาจจะพบรอยถลอกที่เกิดจากการกระแทกของหมอนรองกระสุนร่วมด้วย หรืออาจพบหมอนรองกระสุนดังกล่าวอยู่ในบาดแผลขนาดใหญ่ของกลุ่มลูกปรายนั้นก็ได้ หรือภายในบาดแผลที่เกิดจากลูกปรายแต่ละเม็ดก็ได้หากบาดแผลอยู่ในบริเวณร่างกายที่มีเนื้อเยื่อเป็นส่วนอ่อน เช่น ใกล้เบ้าตาหมอนส่งกระสุนอาจถูกยัดเข้าในรูแผลนั้นได้

1.2.3 บาดแผลจากการยิงระยะไกลหรือค่อนข้างไกล (ตั้งแต่ประมาณ 8 ฟุต หรือ 3 หลา ขึ้นไป) บาดแผลที่เกิดขึ้นจะเป็นรูขนาดเล็กขนาดเดียวกับเส้นผ่าศูนย์กลางของลูกปราย การกระจายของกลุ่มบาดแผลจะสัมพันธ์กับระยะยิง ยิ่งการกระจายของกลุ่มเม็ดกระสุนมาก ระยะยิงก็จะไกล อาจพบบาดแผลถลอกที่เกิดจากหมอนรองกระสุนกระแทกที่ผิวหนังได้ และหมอนรองกระสุนอาจปลิวไปได้ไกลถึงอย่างน้อย 20 หลา และไกลที่สุดถึง 40 หลา

1.2.4 บาดแผลทางออกของกระสุนปืนลูกซองบาดแผลจากการยิงระยะใกล้ ถ้าโดนส่วนของร่างกายที่มีเนื้อเยื่ออ่อน เช่น ลำคอ หรือบริเวณส่วนริมของร่างกาย บาดแผลจะฉีกขาดกว้างลักษณะกระรุ่งกระริ่ง แต่ถ้าโดนส่วนหนาของร่างกาย เช่น บริเวณหน้าอกหรือท้อง บาดแผลทางออกจะไม่มีลักษณะเป็นรูใหญ่เหมือนบาดแผลทางเข้า ส่วนมากเม็ดลูกปรายจะทะลุออกไปเป็นบาดแผลในแต่ละเม็ดและบางเม็ดอาจไม่ทะลุออก ถ้าเป็นแผลบาดจากการยิงระยะค่อนข้างไกลหรือไกล บาดแผลทางออกจะเป็นรูขนาดลูกปรายแต่ละลูก และการกระจายของกลุ่มบาดแผลทางออกจะเป็นบริเวณกว้างกว่าบาดแผลทางเข้า

บาดแผลทางออกของกระสุนลูกปรายแต่ละลูกนั้น ลักษณะและขนาดอาจแตกต่างกัน ทั้งนี้เพราะลูกปรายที่ผ่านร่างกายทะลุออกไปนั้น อาจมีรูปร่างบุบเบี้ยวต่างๆกันไป บาดแผลที่เกิดจากกระสุนลูกปรายดังกล่าวจึงอาจเป็นรูปรีรูปสามเหลี่ยม หรือรูปต่างๆได้ ตามลักษณะของลูกปรายที่เปลี่ยนแปลง

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 2 บาดแผลกระสุนปืนลูกซองตามระยะยิง 1(a). ระยะประชิดติดกระดูก 1(b). ระยะประชิดติดผิวหนัง2. ระยะใกล้ประมาณ 30 ซม. 3. ระยะใกล้ประมาณ 30 ซม.-1 เมตร 4, 5. ระยะห่างประมาณ 1-3 เมตร 6.ระยะห่างมากกว่า 10 เมตร

ที่มา: วิชัย วงศ์ชนะภัย, "การชันสูตรบาดแผลกับกระบวนการยุติธรรม ศึกษาจากคำพิภากษาฎีกา," **วิทยาลัยการยุติธรรม สำนักงานยุติธรรม** 2, 2 (ธันวาคม 2549): 30.

1.3 การประมาณระยะยิง

การประมาณระยะยิงในแต่ละรายต้องอาศัยสิ่งตรวจพบจากบาดแผลกระสุนปืนและเสื้อผ้าเปรียบเทียบกับการนำอาวุธปืนและกระสุนที่ใช้ในการยิงกรณีนั้นๆ มาทดลองยิงในระยะต่างๆ จึงจะเป็นการประมาณระยะยิงที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด ทั้งนี้ปืนต่างชนิดกันและกระสุนที่มาจากแหล่งผลิตที่ต่างกัน อาจทำให้ลักษณะที่ปรากฏในระยะยิงต่างๆแตกต่างกันได้ อย่างไรก็ตามในหลายๆกรณีอาจยังไม่ทราบว่าเป็นปืนกระบอกใด กระสุนชนิดใด พนักงานสอบสวนมักจะต้องการทราบระยะยิงโดยประมาณเพื่อเป็นแนวทาง ในการสอบสวนหาผู้กระทำความผิด ซึ่งพอจะประมาณได้คร่าวๆจากลักษณะบาดแผลที่ได้กล่าวถึงแล้วในข้างต้น

1.4 ทิศทางของกระสุนปืน

โดยทั่วไปแนวกระสุนปืน (bullet track) จะเป็นเส้นตรง ยกเว้นกรณีที่มีการกระดอน จะทำให้แนวกระสุนเปลี่ยนทิศทางไปจากแนวตรงได้ ดังนั้นเมื่อตรวจพบบาดแผลกระสุนทางเข้าและบาดแผลกระสุนทางออกหรือตำแหน่งที่พบหัวกระสุนก็สามารถบอกทิศทางของกระสุนปืนได้ การบอกทิศทางของกระสุนปืนจะบอกในแนวหน้า-หลัง ซ้าย-ขวา และบน-ล่าง โดยอาศัยตำแหน่งทางกายวิภาคของผู้ถูกยิงเป็นหลักนอกจากนี้ลักษณะของบาดแผลรอยถลอกรอบแผลหรือการกระจายของเขม่าดินปืนยังช่วยบอกทิศทางของกระสุนปืนได้

1.5 ขนาดของกระสุนปืนและชนิดของปืน

ขนาดของกระสุนปืนประมาณได้จากขนาดของบาดแผลทางเข้า หากตรวจพบหัวกระสุนในร่างกายก็จะช่วยระบุขนาดของปืนได้ดีขึ้น ลักษณะของบาดแผลช่วยบอกชนิดของปืนได้ว่าเป็นปืนลูกโดดหรือปืนลูกปราย

2. การตรวจบาดแผลกระสุนปืนต้องให้ทราบถึง

1. ทิศทางของกระสุนปืนในร่างกาย

2. ระยะของการยิง

การจะทราบทิศทางหรือระยะทางได้ต้องทราบเสียก่อนว่าแผลใดเป็นแผลทางเข้าแผลใดเป็นแผลทางออกของหัวกระสุนปืน

1. บาดแผลทางเข้ากระสุนปืน (entrance, entry wound) หัวกระสุนปืนจะมีลักษณะมนและไม่มีคม เมื่อกระสุนดันเข้าสู่ร่างกายนั้นตัวหัวกระสุนจะดันให้ผิวหนังหายไปเป็นรูปกลม ตามลักษณะหน้าตัดของหัวกระสุนในขณะเดียวกันขอบกระสุนจะเสียดสีกับผิวหนังรอบรูทางเข้าเกิดเป็นแผลถลอกเล็กๆรอบรูทางเข้า ของกระสุนปืน ฉะนั้นลักษณะที่สำคัญของการเป็นแผลทางเข้าของกระสุนปืน

1.1 เป็นแผลรูค่อนข้างกลม

1.2 เป็นแผลที่มีขอบถลอก (abradedrim)

1.3 อาจพบคราบดำของเขม่า(soot)หรือรอยจุดดำของดินปืน(tattooing)รอบบาดแผล ซึ่งเป็นเพียงส่วนประกอบเท่านั้นแต่สามารถใช้เป็นเครื่องช่วยบอกระยะยิงได้

การวัดเส้นผ่าศูนย์กลางรูทางเข้าไม่ว่าจะวัดเฉพาะรูหรือวัดรวมส่วนถลอกก็ตาม จะไม่ใช้เป็นเครื่องขนาดของกระสุนปืน เช่น บางรายที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางทางเข้าขนาด 0.4 ซม. พบหัวกระสุนปืนขนาด 0.9 ซม., 1.1ซม., .357นิ้ว, .44นิ้ว มาแล้วทั้งสิ้นบาดแผลทางเข้าของกระสุนปืนที่ลักษณะผิดเพี้ยนไปในกรณีต่างๆ

1. เมื่อหัวกระสุนกระทบสิ่งกีดขวางก่อนเข้าสู่ร่างกาย เช่น ทะลุกระจกรถยนต์ ทะลุประตูบ้าน สิ่งที่หัวกระสุนผ่านอาจแตกออกเป็นชิ้นเล็กชิ้นน้อยแล้วทิ่มตำเข้าร่างกายใกล้ๆแผล เกิดลักษณะถลอกหรือฉีกขาดเล็กๆรอบแผลอาจมองคล้ายรอยจุดดำของดินปืน(semi tattooing) แต่ขนาดของแผลเล็กเหล่านี้มักไม่สม่ำเสมอและยังอาจพบเศษส่วนของสิ่งที่ผ่านมาติดอยู่ตามร่างกายหรือในบาดแผลทางเข้าก็ได้ เมื่อหัวกระสุนผ่านสิ่งเหล่านั้นแล้ว ความเร็วจะลดลง ถ้ายิงจากปืนลำกล้องเกลียวการหมุนควงของหัวกระสุนก็ช้าลงและควงกว้างขึ้น รูทางเข้าจะใหญ่กว่าขนาดของหัวกระสุน นอกจากนั้นในกรณีที่สิ่งที่ขวางอยู่นั้น อยู่ติดกับตัวผู้ตาย สิ่งนั้นอาจจะกระแทกไปบน

ผิวหนังด้วยทำให้มีการช้ำของเนื้อเยื่อรอบๆบาดแผลได้ สิ่งขวางกั้นที่ใกล้ตัวและพบบ่อยคือส่วนของแขน หรือมือที่พยายามเอามาปิด แผลที่ทะลุจากมือหรือแขนมาเข้าลำตัวอีกครั้ง (re-entry) มักจะพบว่ารูเข้าที่ตัวใหญ่กว่ารู เข้าที่แขน รูเข้าที่ตัวมีรอยช้ำรอบรูด้วย

2. เมื่อหัวกระสุนปืนกระทบกับวัตถุอื่นที่แข็งก่อนเข้าร่างกาย (เช่น ผนังอิฐ หิน ฯลฯ) จนทำให้หัวกระสุนเปลี่ยนรูปร่างไปเป็นของมีคม หรือเป็นแฉก หรือบุบบู้ ฯลฯ แผลทางเข้าก็จะเปลี่ยนไปตามลักษณะของหัวกระสุนนั้น การดูสถานที่เกิดเหตุจึงต้องสังเกตว่าตามฝาผนังรอบข้างศพมีร่องรอยถูกหัวกระสุนหรือไม่ประกอบด้วย

3. เมื่อถูกยิงระยะจี้ติดผิวหนัง (tight contact) และใต้ผิวหนังส่วนนั้นมีกระดูกรองรับ เช่น ศีรษะ ซึ่งการยิงในลักษณะนี้ ก๊าซที่เกิดจากการระเบิดของดินปืน จะพุ่งเข้าไปภายในบาดแผล เมื่อกระทบกระดูกไม่สามารถผ่านไปได้ จะสะท้อนกลับมาที่ผิวหนังอีกครั้งหนึ่ง ดันให้ผิวหนังฉีกขาดออกเป็นหลายแฉก แต่ถ้านำผิวหนังส่วนที่ฉีกขาดมากระทบติดกันก็ยังจะพบว่ามีรูอยู่ และผิวหนังยังอาจจะกระแทกปากกระบอกปืนที่ยังจ่ออยู่ให้เห็นแผลถลอกของปากกระบอกปืนติดอยู่ด้วย และสิ่งที่ออกมาจากปากกระบอกปืนทั้งหมดจะเข้าไปในแผลด้วย เช่น คราบดำของเขม่า จุดดินปืนทั้งหมด โดยอาจจะพบติดอยู่ที่กระดูกที่รองรับ

4. บางครั้งหัวกระสุนถูกใส่กลับข้าง โดยนำส่วนที่กลมมนกลับเข้าด้านใน นำส่วนฐานของหัวกระสุนออกมาเป็นส่วนนำ อาจจะทำให้แผลไม่เป็นรูกลมได้

2. แผลทางออกของกระสุนปืน (exit-wound) แผลทางออกของกระสุนปืนจะมีลักษณะใดก็ได้

2.1 เป็นรูกลม ถ้ากระสุนปืนผ่านร่างกายโดยไม่กระทบกับกระดูกหรือของแข็งใดก็อาจจะคงรูปร่างเดิมและทะลวงออกจากร่างกายทำให้แผลที่ออกเกิดเป็นรูค่อนข้างกลมและมักจะใหญ่กว่าทางเข้าเนื่องจากการควงตัวช้าลง (ในกรณีที่ยิงจากปืนลำกล้องเกลียว) แต่จะไม่พบขอบถลอกรอบแผล

2.2 เป็นรูปอื่นคล้ายถูกของแข็งมีคม เนื่องจากการที่หัวกระสุนมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นรูปต่างๆจากการที่กระแทกกระดูก

2.3 แผลทางออกอาจจะมีมากกว่าหนึ่งแผลได้ เนื่องจากการที่หัวกระสุนแตกออกหรือกระทบกับกระดูกทำให้กระดูกแตกออกเป็นหลายชิ้นทะลุออกไป

2.4 บางครั้งพบแผลทางออกที่เกิดมีถลอกหรือช้ำรอบแผลได้ ในกรณีนี้ถือว่าผิดปกติและอาจจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อผิวหนังส่วนที่หัวกระสุนออกอยู่แนบติดกับของแข็งทำให้แรงที่หัวกระสุนดันผิวหนังให้กระแทกกับของแข็งนั้นเกิดเป็นแผลช้ำและถลอกได้

กรณีที่หัวกระสุนผ่านกระดูกจะสามารถบอกได้ว่าผ่านจากด้านไหนไปด้านไหน เนื่องจากกระดูกที่เป็นทางเข้าขอบกระดูกจะเรียบแต่ทางออกขอบกระดูกจะวิ่นออกไปและพบเห็นได้ง่ายในกะโหลกศีรษะ

ในกรณีกระสุนเจาะศีรษะหลายนัด อาจจะบอกได้ว่านัดไหนเข้าศีรษะก่อน เพราะแนวการแตกของกะโหลกที่เกิดทีหลังจะไม่ผ่านแนวแตกที่มีอยู่ก่อนแล้ว หลังจากการผ่าศพและทราบบาดแผลทางเข้าทางออกแล้ว สามารถบอกทิศทางการเดินทางของหัวกระสุนทุกนัดในร่างกายได้ และแพทย์จะรายงานเป็นสามมิติโดยสมมุติว่าผู้ตายอยู่ในท่ายืน

1. จากด้านหน้าไปด้านหลังหรือจากด้านหลังไปด้านหน้า
2. จากด้านบนลงด้านล่างหรือจากด้านล่างขึ้นด้านบน
3. จากด้านซ้ายไปด้านขวาหรือจากด้านขวาไปด้านซ้าย

การบอกทิศทางนี้ต้องคำนึงถึงการแฉลบ (ricochet) ของหัวกระสุนในร่างกายด้วย เพราะหัวกระสุนเมื่อกระทบกระดูกสามารถแฉลบเปลี่ยนทิศทางไป เช่น ถูกยิงด้านข้างขวาหัวกระสุนกระทบถูก กระดูกสันหลังแฉลบขึ้นด้านบนพบหัวกระสุนในช่องอกขวา การตั้งสมมุติฐานว่าผู้ตายอยู่ในท่ายืนขณะถูกยิงอาจจะไม่ตรงกับสภาพความเป็นจริงที่เกิดขึ้นก็ได้ บางครั้งหัวกระสุนปืนทะลุเข้าไปในเส้นเลือดแดงใหญ่พอดี ทำให้เลือดดันเอาหัวกระสุนนัดนั้นเคลื่อนไปอยู่ห่างจากจุดทางเข้ามากก็ได้ เช่น เข้าที่หน้าอกซ้ายทะลุปอดทะลุเข้าเส้นเลือดแดงใหญ่ในช่องอก เมื่อผ่าศพพบว่าหัวกระสุนไปติดอยู่ที่ในเส้นเลือดแดงใหญ่ที่แยกออกไปเลี้ยงขาทั้งสองข้าง เมื่อได้หัวกระสุนจากร่างกายแล้วต้องทำตำหนิไว้ในส่วนที่ไม่รบกวนการตรวจหัวกระสุน เพื่อให้แน่ใจว่าหลังจากผ่านการตรวจเวียนกันไปหลายแห่งแล้ว ยังใช่หัวกระสุนที่เอาออกมาจากศพจริง

3. ระยะยิง (range of fire)

ระยะยิงหมายถึง ระยะจากปากกระบอกปืนถึงบาดแผลทางเข้า ในการยิงแต่ละครั้ง สิ่งที่ออกจากปากกระบอกปืนนอกจากหัวกระสุนปืนแล้วยังมีกลุ่มของเขม่าดินปืน หรือควันปืน (soot) ประกายดินปืนที่กำลังเผาไหม้ (unburnt particle) และความร้อน ซึ่งสิ่งต่างๆเหล่านี้จะช่วยบอกระยะห่างระหว่างปากกระบอกปืนกับผิวหนังได้เขม่าปืนเป็นควันประกอบด้วยผงถ่านที่เผาไหม้แล้ว จะเบาและพุ่งไปได้ไม่ไกลกว่า 6 นิ้วฟุต เมื่อสัมผัสผิวหนังจะเปื้อนอยู่บนผิวหนังเป็นคราบดำๆ ซึ่งถ้าใช้น้ำล้างจะถูกล้างออกได้ ส่วนดินปืนที่กำลังเผาไหม้นั้นเป็นสะเก็ดไฟ สามารถพุ่งไปได้กว่าฟุตครึ่ง และเมื่อสะเก็ดไฟกระทบผิวหนังจะเกิดเป็นแผลถลอกเล็กๆบนผิวหนังจึงล้างไม่ออกและจะติด ที่ผิวหนังจนกว่าจะเน่าสลายไป และพบว่าระยะทางที่ใกล้ที่สุดที่ไม่พบจุดดินปืนที่ระยะ1.5ฟุต ฉะนั้น ถ้าที่บาดแผลทางเข้าพบเขม่าปืนอยู่ และภายในมีรอยจุดดินปืนค่อนข้างหนาแน่น ระยะยิงอยู่ที่ไม่เกิน 6 นิ้วฟุต ถ้าไม่พบเขม่าพบแต่รอยจุดดินปืนระยะยิงอยู่ประมาณ 6 -

18 นิ้ว แต่ถ้าพบมีบาดแผลทางเข้าอย่างเดียวแสดงว่าน่าจะยิงมาจากระยะเกิน18นิ้ว ยกเว้นแต่ผู้ยิงเจตนานำวัสดุใดมาขวางกั้นเขม่าและดินปืนไม่ให้เปื้อนผิวหนัง การยิงระยะจี้ติดตามที่กล่าวแล้ว เขม่าและดินปืนจะอัดกันเข้าไปในบาดแผลทั้งหมดจึงไม่พบคราบเขม่าหรือรอยจุดดินปืนบนผิวหนังด้วย นอกจากนั้นยังพบว่าที่เนื้อเยื่อ ด้านในมักมีสีแดงสด กว่าส่วนอื่นเพราะคาร์บอนโมน๊อกไซด์ที่เกิดขึ้นในการเผาไหม้ของดินปืนเข้าไปรวมกับเลือดในบริเวณดังกล่าว และอาจตัดเนื้อเยื่อส่วนนั้นหาปริมาณ คาร์บอนโมน๊อกไซด์ได้

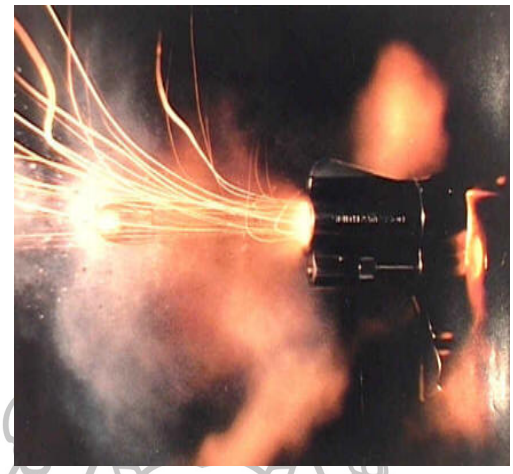
ระยะยิงของปืนลูกซองมีความแตกต่างกันมากในแต่ละกระบอก แต่ละรุ่น ฉะนั้นการจะบอกระยะยิงที่แน่นอนจะต้องได้ปืนกระบอกนั้นมายิงทดสอบเท่านั้น

การประเมินผลการตรวจบาดแผลกระสุนปืน

จำนวนบาดแผล ทิศทางการยิง และระยะยิงอาจจะช่วยการแปลผลเกี่ยวกับพฤติการณ์การตายเช่น

1. ถ้าเป็นอุบัติเหตุ บาดแผลกระสุนปืนมักจะมีนัดเดียว
2. การฆ่าตัวตายจะยิงที่จุดตาย 2 ครั้งไม่ได้ เช่น ยิงเข้าสมองทั้ง 2 นัด
3. การฆ่าตัวตายวิถีกระสุนส่วนใหญ่จะหน้าไปหลัง และวิถีกระสุนจะไม่ตรงแต่เอียงซ้ายขวา หรือเฉียงขึ้นลงเสมอ
4. การยิงตนเองให้เกินระยะ 1.5 ฟุต ได้ยาก ยกเว้นปืนขนาดเล็กมาก
5. การยิงจนหมดแม็กกาซีนจนขึ้นแม็กฯใหม่ (reloaded) แสดงเจตนาในการฆ่า
6. บางครั้งอาจจะพบบาดแผลฆ่าตัวตายยิงทะลุเสื้อผ้า
7. การแตกของกะโหลกศีรษะอาจจะบอกได้ว่านัดไหนยิงก่อนยิงหลัง
8. ยิงตัวตาย กระสุนตัดจุดศูนย์กลางการเคลื่อนไหว (Motor area)ในสมองทันที ทำให้เกิดคาดาเวอริค สปัสซั่ม(Cadaveric spasm)กำปืนอยู่ในมือนั้น ไม่เสมอ เพราะจากการชันสูตรพลิกศพ ในรายยิงตัวตาย (ที่สมอง) เกือบไม่พบคาดาเวอริค สปัสซั่มเลย ดังนั้นจึงกล่าวว่า คาดาเวอริคสปัสซั่มเกิดจากการใช้กล้ามเนื้อมากก่อนตายเพียงอย่างเดียว

4. การเกิดเขม่าปืน



ภาพที่ 3 แสดงภาพเขม่าดินปืนที่เกิดจากการยิง

โดยทั่วไปเมื่อเกิดการยิงปืน จะทำให้แก๊ประเบิด อุณหภูมิจากสิ่งแวดล้อมจะกลายเป็น 1500 – 2000 ^{0}C และความดันจะเปลี่ยนจาก 14 psi เป็น 1400 psi และเมื่อดินส่งกระสุนระเบิด อุณหภูมิจะสูงขึ้นเป็น 3600 ^{0}C และมีความดันถึง 40,000 psi จากอุณหภูมินี้จะทำให้โลหะที่เป็นดังแสดงในตารางด้านล่างสำหรับโลหะสำคัญที่มีในแก๊ปปืน

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของแก๊ปปืนหลอมละลายเป็นไอ

ธาตุโลหะ	จุดหลอมเหลว (Mp) ^{0}C	จุดเดือด (Bp) ^{0}C
ตะกั่ว (Pb)	327	1620
แบเรียม (Ba)	725	1130
แอนติโมนี (Sb)	630	1380

ที่มา: จิรวัชร ธนูรัตน์, **คู่มือการตรวจหาดินปืน เขม่าดินปืน ตะกั่วและทองแดงของลูกกระสุนปืน** (ม.ป.ท.), 2551.

เมื่ออุณหภูมิลดลง ไอของแต่ละธาตุจะแข็งตัวเป็นอนุภาค จากการที่มีความดันสูงขึ้นนั้นในกรณีปืนพกรีวอลเวอร์ จะมีช่องว่าง (Physical gap) ระหว่างผิวหน้าของรังเพลิงและส่วนท้ายของลำกล้อง (ไม่เช่นนั้นลูกโม่ปืนจะหมุนไม่สะดวก) ดังนั้นก็จะมีการรั่วของ Propellant

gas ที่จุดนี้เมื่อมีการยิง ช่องว่างนี้จะแคบที่สุดถึง 0.0015 นิ้ว และกว้างที่สุดถึง 0.006 นิ้ว ส่วนกรณีปืนพกออโตเมติก เขม่าปืนจะออกมาทาง Ejection port และเมื่อ Slide ถอยหลังก็จะนำเขม่าปืนมาด้วย ทำให้ติดบริเวณระหว่างนิ้วหัวแม่มือกับนิ้วชี้มาก ส่วนเขม่าปืนที่พ่นออกมาทางปากกระบอกปืนนั้น ก็มีผลที่จะปลิวไปติดที่มือได้อยู่แล้ว

ส่วนสารประกอบไนไตรท์นั้นจะเกิดขึ้นเมื่อส่วนประกอบสำคัญของดินปืนไม่ว่าจะเป็นดินดำ , ดินควันน้อย หรือดินระเบิดบางตัว เกิดการลุกไหม้ (Decomposition) แล้วสิ่งที่เหลือบางส่วนคือสารประกอบ Nitrate และ Nitrite (Nitrite – base compound) ซึ่งจะยังคงอยู่ที่ลำกล้องปืนและติดที่เสื้อผ้าของผู้เสียหายและผู้ต้องสงสัย

5. การส่งตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

การส่งตรวจชิ้นเนื้อ เพื่อวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาเป็นการวินิจฉัยเป็น 2 วิธีประกอบกัน คือ

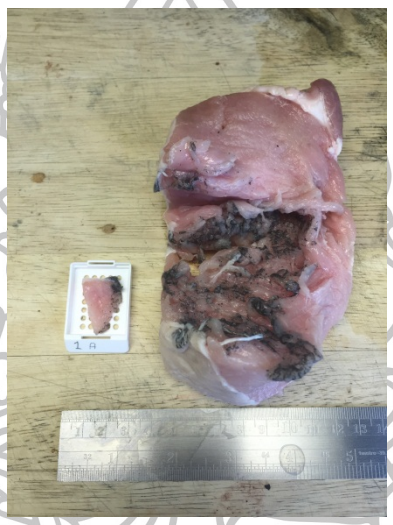
1. Gross Examination การตรวจชิ้นเนื้อส่งตรวจ และ บรรยายสภาพ ลักษณะอวัยวะ ต่างๆ ด้วยตาเปล่า

2. Microscope Examination การตรวจชิ้นเนื้อส่งตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยา เกี่ยวข้องกับการตรวจชิ้นเนื้อเป็นหลัก โดยพยาธิแพทย์จะทำการตรวจชิ้นเนื้ออวัยวะที่ผิดปกติต่างๆ ทั้งด้านการติดสีของเซลล์ รอยโรค รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และสิ่งแปลกปลอมที่เพิ่มเติมหรือลดลงในระดับเซลล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น ในโรคทางศัลยกรรมที่ต้องตัดชิ้นเนื้อหรืออวัยวะของ ผู้ป่วยออกมา เช่น เนื้องอกมะเร็ง เป็นต้น พยาธิแพทย์จะตรวจชิ้นเนื้อหรืออวัยวะที่ได้รับนั้นขั้นแรกเป็น การตรวจดูด้วยตาเปล่าเพื่อหาว่ามีลักษณะผิดปกติที่แตกต่างไปจากเนื้อเยื่อปกติหรือไม่เมื่อตรวจพบแล้ว จะตัดชิ้นเนื้อบริเวณที่ผิดปกติเป็นชิ้นเล็กๆ ชิ้นเนื้อที่ตัดเป็นชิ้นเล็กจะผ่านน้ำยาเคมีอีกหลายชนิดเพื่อทำ ให้เนื้อแข็งพอที่จะตัดให้เป็นประมาณ 3-5 ไมครอน แล้วนำมาวางบนสไลด์แก้ว ย้อมสีจนได้เป็นสไลด์ ที่เสร็จสมบูรณ์เพื่อที่จะตรวจชิ้นเนื้อนั้นในระดับของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อไปประกอบร่วมกับประวัติ อาการ อาการแสดง และผลการตรวจอื่น ๆของผู้ป่วยที่ได้รับจากใบส่งตรวจทางพยาธิวิทยาที่แพทย์ผู้ทำการรักษาส่งมาพร้อมกับชิ้นเนื้อหรืออวัยวะนั้นๆ เพื่อให้การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยาชิ้นเนื้อของผู้ป่วยบางรายอาจต้องศึกษาด้วยการตรวจพิเศษอื่น ๆเพิ่มเติมอีกเพื่อช่วยในการวินิจฉัย เช่น อิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry), อณูพยาธิวิทยา (molecular pathology) ในกรณีที่ชิ้นเนื้อนั้นเป็นมะเร็งต้องบอกว่าเป็นมะเร็งชนิดใด เป็นเซลล์มะเร็งชนิดไหน และลักษณะที่พบอื่นๆ ที่บอกการพยากรณ์โรคของผู้ป่วย เช่น การแพร่กระจายของมะเร็งเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองเป็นต้น ซึ่งข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้เป็นข้อมูลที่สำคัญและจำเป็นที่ต้องใช้ในการดูแลรักษาผู้ป่วยต่อไป

ชิ้นเนื้อที่จะส่งมาตรวจทางพยาธิวิทยากายวิภาคส่วนมากต้องแช่มาใน 10% buffered formalinโดยปริมาตรน้ำยาต้องมากกว่าชิ้นเนื้อ 10 เท่า แต่การตรวจบางอย่างไม่ต้องแช่ฟอร์มาลิน เช่น frozen section ต้องใช้ชิ้นเนื้อสดๆ

ขั้นตอนของงานพยาธิวิทยามีดังนี้

1. Cutting up/ gross examination เป็นการตรวจดูพยาธิสภาพของชิ้นเนื้อนั้นด้วยตาเปล่าโดยพยาธิแพทย์ และเลือกตัดบริเวณที่มีรอยโรคหรือสงสัยรอยโรคใส่ตลับเพื่อส่งไปตรวจ



ภาพที่ 4 แสดงการตัดชิ้นเนื้อที่มีรอยเข่มาดินปืนลงตลับ

2. Tissue processing คือการนำชิ้นเนื้อที่พยาธิแพทย์ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ไว้ในตลับพลาสติก ลงไปในเครื่องมือที่เรียกว่า tissue processor เครื่องมือนี้จะมีโถใส่น้ำยาหลายโถ น้ำยาส่วนใหญ่เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังนี้

2.1 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 10% Formalin 60 นาที
2.2 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 10% Formalin 60 นาที
2.3 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 70% Alcohol 45 นาที
2.4 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 95% Alcohol 45 นาที
2.5 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 95% Alcohol 45 นาที
2.6 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 100% Alcohol 45 นาที
2.7 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 100% Alcohol 45 นาที

2.8 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ 100% Alcohol 45 นาที

2.9 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ Xylene 60 นาที

2.10 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ Xylene 60 นาที

2.11 นำตลับชิ้นเนื้อแช่ Liquid Paraffin 30 นาที จำนวน 4 ครั้ง

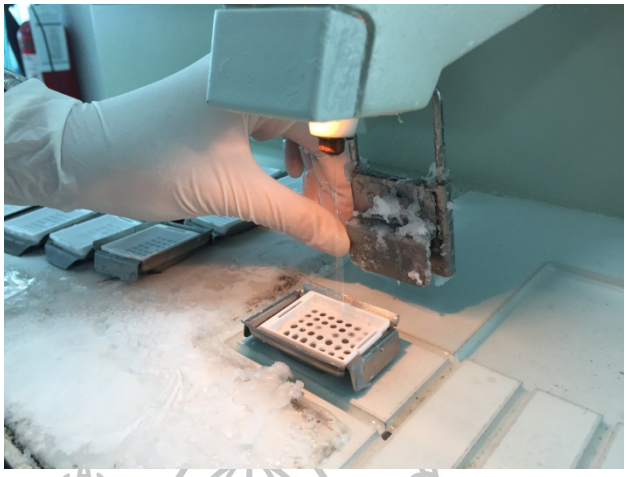
เมื่อเข้าสู่ขั้นตอนของ paraffin เหลว หลักการของขั้นตอนนี้คือการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ต่ำไปจนถึง absolute alcohol จากนั้นเป็น xylene แล้วแช่อิ่มรักษาสภาพชิ้นเนื้อด้วย paraffin เหลวหรือ paraplast และเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป

3. Embedding คือ การทำบล็อกชิ้นเนื้อ (แสงเทียน คงพันธุ์, 2554)

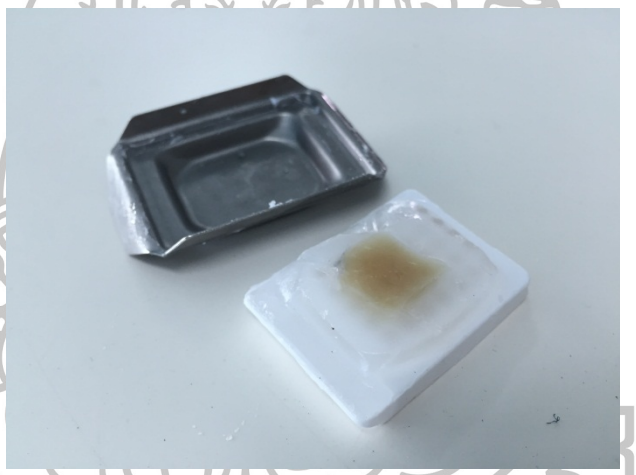
นำตลับใส่ชิ้นเนื้อออกจากเครื่องเตรียมชิ้นเนื้อ วางบนแท่นร้อนของ embedding center นำชิ้นเนื้อมาใส่ลงในเบ้าชิ้นเนื้อ (mold) กดชิ้นเนื้อให้แนบไปกับเบ้าชิ้นเนื้อ กดสวิตช์ให้ palaplast ไหลมาท่วมชิ้นเนื้อ นำ base mold มาวางลงบนแท่นเย็น ใช้ปากคีบ (forcep) ปลายแหลมจับชิ้นเนื้อ กดลงเบาๆเพื่อให้ชิ้นเนื้อเรียบสม่ำเสมอ วางตลับที่มีหมายเลขกำกับลงบนชิ้นเนื้อจำนั้นนำ cassette ring วางลงบน base mold แล้วกดสวิตช์ปล่อยให้ palaplast เหลวไหลลงใน cassette ring จนเกือบเต็มแล้ว วางแบบลงบนถาดเย็นของเครื่อง embedding รอให้เย็นแล้วแกะออกจากแบบ

การทำบล็อกชิ้นเนื้อ (Paraffin Block or Embedding in Paraffin) วัตถุประสงค์เพื่อรักษาสภาพโครงสร้างของเซลล์เนื้อเยื่อและเพิ่มความแข็งแรงเพื่อรองรับการ ฝังชิ้นเนื้อและการตัดบาง และสามารถจัดระเบียบของชิ้นเนื้อก่อนการ Section และยังสามารถช่วยให้การตัด paraffin section เป็นแถวยาวๆ (ribbon) กระทำได้ง่ายและสะดวกมากขึ้น ทั้งยังสามารถกำหนดความบาง (thin section) ได้ตามที่ต้องการ

ภาพที่ 5 แสดงวางชิ้นเนื้อและเติม paraffin ลงใน mold โลหะเพื่อขึ้นรูป



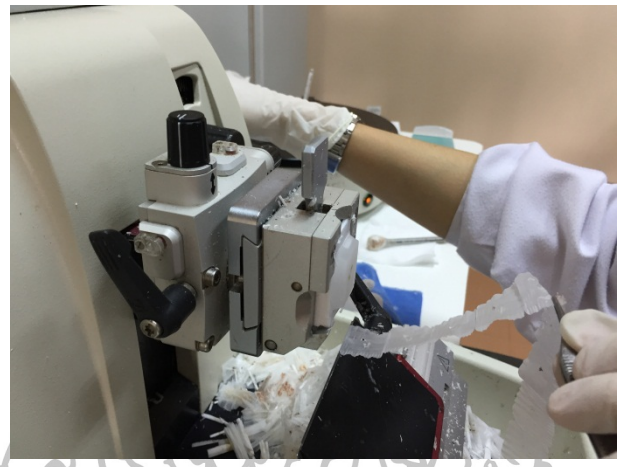
ภาพที่ 6 เติม paraffin จนเต็ม ชิ้นเนื้อจะถูกฝัง(embed)และปิดด้วยตลับ



ภาพที่ 7 เมื่อ paraffin แข็งตัวแกะออกจาก mold เพื่อเตรียมนำไปตัดต่อไป

4. Sectioning คือ การตัด Paraffin Section (Paraffin Section Cutting or Sectioning) วาง paraffin block ในถาดน้ำแข็ง นำ paraffin block ใส่ในช่องยึด block ปรับตำแหน่งให้เหมาะสม ปรับปุ่มตั้งความหนา 3-5 ไมครอน ปรับมุมมีดที่กระทำต่อ paraffin block ประมาณ 5-10 องศา หมุนตัดแต่งหน้า paraffin block ซึ่งเป็นการเฉือนหยาม โดยใช้ disposable blade ที่ใช้แล้วตัดหยาบ จนกระทั่งเห็นทุกส่วนของชิ้นเนื้อหลังจาก trim จนเต็มหน้าตัดแล้ว เริ่มตัด section โดยการหมุน hand wheel จนได้แถบยาวคล้าย ริบบิ้น ใช้ปากคีบปลายแหลมคีมแถบริบบิ้นไปลอยบนผิวน้ำร้อน ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 45-50 องศาเซลเซียส โดยระวังไม่ให้ยับ ใช้สไลด์ฟ้าช้อน section จากอ่างน้ำอุ่น

โดยเลือกเฉพาะชิ้นที่สมบูรณ์ที่สุด เลือกช้อนประมาณ 2 section ใช้ดินสอเขียนหมายเลขรหัสบนสไลด์ จากนั้นใส่ rack อบด้วยตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 90-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที



ภาพที่ 8 การตัดชิ้นเนื้อที่ฝังใน paraffin แข็งเป็นชิ้นบางๆ ด้วยเครื่อง Microtome

ภาที่ 9 section ที่ถูกลอยใน water bath เพื่อละลาย paraffin ถูกช้อนขึ้นมาด้วยสไลด์แก้ว

5. Staining คือขั้นตอนการย้อมสีสไลด์ชิ้นเนื้อด้วยสี Hematoxylin & Eosin stain (H&E)

5.1 สไลด์ชิ้นเนื้อที่อบ และเย็นแล้ว จุ่มใน Xylene เป็นขั้นตอน Deparaffinization เป็น การล้างหรือขจัดเอาขี้ผึ้ง (Paraffin) ออกจากสไลด์ หรือ Section (ส่วนของชิ้นเนื้อ) โดยการจุ่มสไลด์ลงใน Xylene จนชิ้นเนื้อปราศจาก Paraffin โดยจะมีลักษณะใส

5.2 จุ่มใน 100% Ethyl alcohol Hydration เป็นการทำให้น้ำเข้าสู่เซลล์ และเนื้อเยื่อ โดยผ่านสารละลาย Alcohol จากความเข้มข้นสูง (100%)ลงไปหาต่ำ (95%) เพื่อเป็นการเตรียมให้เซลล์มีความพร้อมในการรับสีที่จะย้อม เพราะสารละลายสีส่วนใหญ่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

5.3 Tap water เป็นขั้นตอนการล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่านชิ้นเนื้อตลอดเวลา

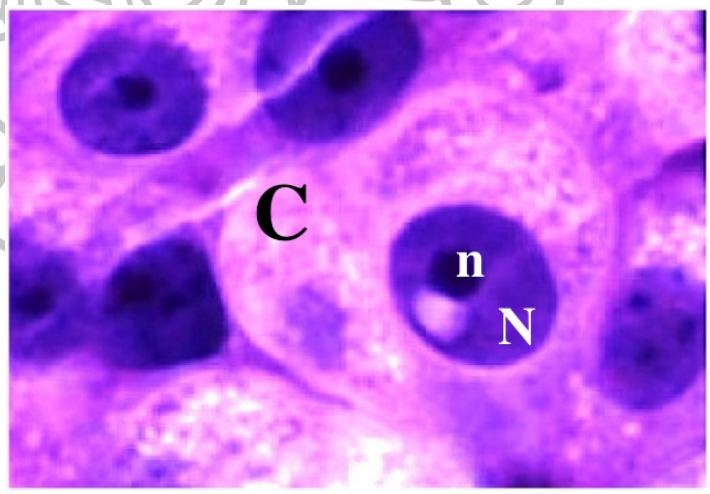
5.4 จุ่มใน Mayer' s Heamatoxylin Primary staining เป็นการย้อมสีแรก ส่วนใหญ่เป็น Basic dye เพื่อย้อม Nucleus

5.5 Tap water เป็นขั้นตอนการล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่านชิ้นเนื้อตลอดเวลา

5.6 จุ่มในสี Eosin . Counterstaining เป็นการย้อมสีซ้ำ เพื่อเพิ่มสีใหม่ในชิ้นเนื้อ ทำให้เกิดการเปรียบเทียบระหว่างสิ่งที่ย้อมในขั้นแรก และขั้นที่สอง เด่นชัดขึ้น ส่วนใหญ่เป็นสี Acid dye ย้อม Cytoplasm หรือส่วนอื่นของเซลล์ และเนื้อเยื่อ

5.7 จุ่มใน 95% Ethyl alcohol Dehydration เป็นการขจัดน้ำออกจากเซลล์ และเนื้อเยื่อ โดยการผ่านสารละลาย Alcohol จากความเข้มข้นต่ำ (95%) ไปสูง (100%)

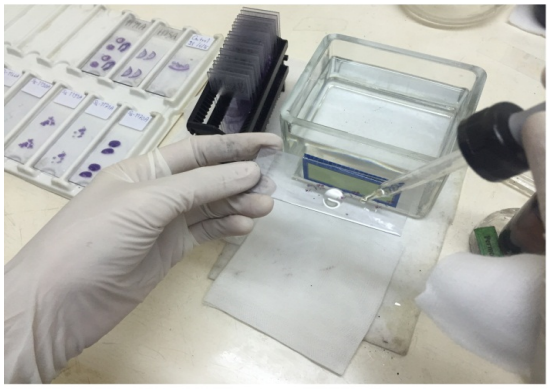
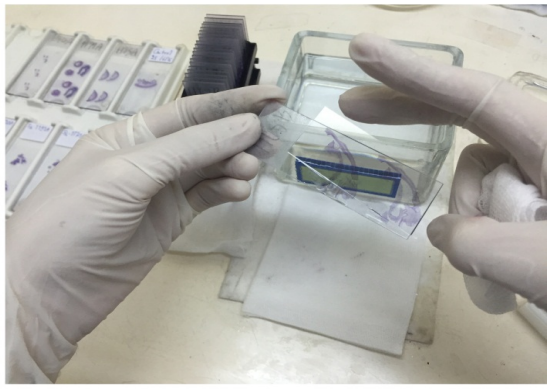
5.8 จุ่มใน Xylene ขั้นตอน Clearing เป็นการทำให้ชิ้นเนื้อใสขึ้น โดยใช้Xylene ช่วยให้แสงผ่าน Section ได้ดี เหมาะต่อการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 10 แสดงการติดสีของ Nucleus สีม่วง และ Cytoplasm สีชมพู จากการย้อม H & E

ที่มา: **H&E Stain Slide**, เข้าถึงเมื่อ 20 มิถุนายน, 2559. เข้าถึงได้จาก http://breast-cancer.ca/6b-ihc/

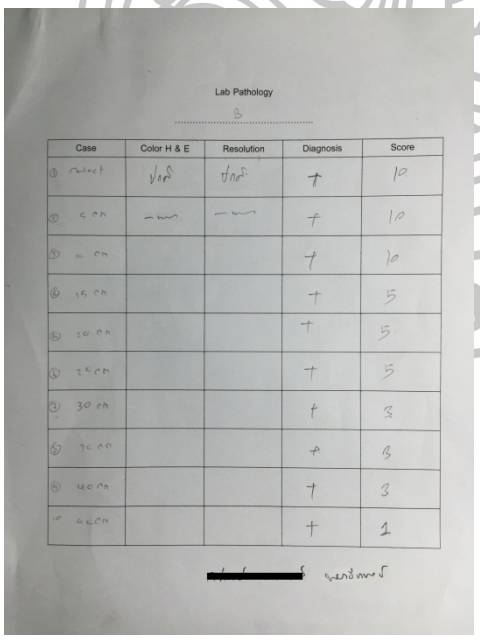
6. Mounting คือ Mounting เป็นการใช้น้ำยา Permount หยดบนสไลด์ชิ้นเนื้อแล้วใช้กระจกปิดสไลด์ ปิดทับเพื่อทำการรักษาสภาพของสไลด์ จากนั้นติดฉลาก (label) สไลด์

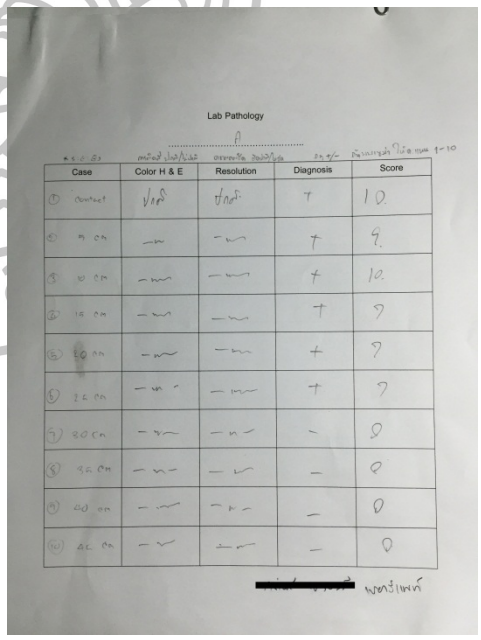



ภาพที่ 11 และ 12 แสดงขั้นตอนการ Permount หยดบนสไลด์ชิ้นเนื้อแล้วใช้กระจกปิดสไลด์ ปิดทับ

7. Analyse คือขั้นตอนการอ่านสไลด์ และวิเคราะห์ผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยพยาธิแพทย์

8. Report คือการวิเคราะห์ผลของการวินิจฉัย





ภาพที่ 13 และ 14 แสดงผลการวินิจฉัยบาดแผลกระสุนปืนด้วยวิธีไมโครเวฟและเครื่องตัดเย็น

คลื่นไมโครเวฟ

Microwaves จะทำงานที่ความถี่ 2450 MHz จะให้พลังงาน 500-1100 Watts ในตู้อบ Microwaves มีท่อที่เรียกว่า magnetron ซึ่งเป็นแหล่งที่ทำให้เกิดคลื่น เมื่อเราเปิด switch ก็จะเกิดคลื่น คลื่นนี้จะถูกพัดลมพัดคลื่นให้กระจายทั่วเตา อาหารก็จะดูดซึมคลื่น Microwave นอกจากนั้น ถาดที่หมุนได้จะช่วยให้อาหารได้รับคลื่นอย่างสม่ำเสมอ โมเลกุลของน้ำเมื่อได้รับคลื่น Microwaves จะเกิดการสั่นในระดับโมเลกุลทำให้เกิดความร้อนเตาอบไมโครเวฟใช้คลื่นความถี่สูงจะแตกต่างจากเตาหุงต้มอาหารชนิดที่ใช้แก๊สหรือใช้ไฟฟ้า ซึ่งจะเปลี่ยนพลังงานเชื้อเพลิงหรือพลังงานไฟฟ้าให้เป็นพลังงานความร้อนนี้จึงถ่ายเทสู่อาหารต่อไป ส่วนเตาอบไมโครเวฟจะสร้างคลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ของคลื่นสูงกว่าความถี่ของคลื่นวิทยุธรรมดามาก คือประมาณใกล้เคียงกับความถี่ของคลื่นแสง คลื่นไมโครเวฟจะกระตุ้นโมเลกุลของอาหารให้มีการเคลื่อนไหวได้ด้วยอำนาจแม่เหล็กทำให้อาหารร้อนขึ้นได้เร็วกว่าเมื่อใช้เตาอบธรรมดา และเนื่องจากความร้อนซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยคลื่นไมโครเวฟจะเกิดขึ้นลึกลงไปจากผิวหน้าของอาหารประมาณ ¼ นิ้วเท่านั้น ดังนั้น หลังจากที่นำอาหารออกจากเตาอบไมโครเวฟแล้วจะต้องวางทิ้งไว้สักครู่เพื่อให้ความร้อนที่ยังคงมีอยู่ภายในตัวอาหารกระจายไปทั่วๆ ทำให้อาหารสุกเสมอกัน และในบางกรณี ถ้าต้องการทำให้ผิวหน้าของอาหารมีลักษณะเกรียม ก็จำเป็นที่จะต้องใช้การทำให้เกรียมด้วยวิธีการหุงต้มแบบเดิม และเนื่องจากคลื่นไมโครเวฟอาจทำลายเนื้อเยื่อผิวหนังของคนได้ ดังนั้น การใช้งานเตาอบไมโครเวฟจึงต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด

1. ส่วนประกอบภายในเตาอบไมโครเวฟ

เตาอบไมโครเวฟ จะมีตัวตั้งเวลาติดตั้งไว้ด้วยเพื่อควบคุมการทำงานของเตาอบ ซึ่งจะเริ่มทำงานได้ก็ต่อเมื่อประตูเตาปิดสนิทและถูกลงสลักกลอนไว้อย่างปลอดภัยแล้วเท่านั้น กระแสไฟฟ้าแรงดันต่ำที่ป้อนเข้าสู่ตัวเตาจะถูกแปลงให้มีแรงดันสูงขึ้นจากเดิมประมาณ 30 เท่า ด้วยหม้อแปลงแรงดันไฟฟ้า แล้วจึงผ่านไปยังตัวเก็บประจุซึ่งจะทำงานร่วมกับอุปกรณ์ประกอบอื่นๆ เพื่อทำการเปลี่ยนไฟฟ้ากระแสสลับให้เป็นไฟฟ้ากระแสตรงและป้อนเข้าสู่ “แมกนีตรอน” ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวสร้างคลื่นไมโครเวฟขึ้นมา คลื่นจะออกจากแมกนีตรอนผ่านเข้าไปในท่อนำคลื่น (มีลักษณะเป็นท่อสี่เหลี่ยมผืนผ้า) เพื่อป้อนเข้าสู่ห้องอบต่อไป (จรัส บุญยธรรมา, 2559)

2. การใช้คลื่นไมโครเวฟในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

เตาอบไมโครเวฟ ให้ความร้อนกับอาหารโดยการ แผ่คลื่นย่านความถี่ไมโครเวฟ โดยปกติจะใช้ ช่วงความถี่ 2.45 จิกะเฮิรตซ์(GHz) (หรือ ความยาวคลื่น 12.24 เซนติเมตร) ผ่านเข้าไปในอาหารโดย โมเลกุลของน้ำ ไขมัน และ น้ำตาล ที่อยู่ในอาหารจะดูดซับพลังงานของคลื่นที่ผ่านเข้าไปและเกิดเป็นความร้อนขึ้น ในกระบวนการที่เรียกว่า การเกิดความร้อนในสารไดอีเล็ก

ตริก (dielectric heating) เนื่องจากโมเลกุลส่วนใหญ่นั้นเป็นโมเลกุลที่มีขั้วไฟฟ้า คือ มีประจุบวกและ ประจุลบที่ขั้วตรงกันข้าม เมื่อคลื่นไมโครเวฟ ซึ่งเป็นสนามไฟฟ้าผ่านเข้าไป โมเลกุลเหล่านี้ก็จะถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้วเพื่อปรับเรียงตัวตามสนามไฟฟ้าของคลื่น และคลื่นนี้เป็นสนามไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงสลับไปมาจึงส่งผลให้โมเลกุลเหล่านี้หมุนกลับไปมา ทำให้เกิดความร้อนขึ้น การให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟนี้จะมีประสิทธิภาพการเกิดความร้อนสูงสุด ในการให้ความร้อนแก่น้ำ และ ประสิทธิภาพรองลงมา เมื่อให้ความร้อนแก่ ไขมัน น้ำตาล การให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟนี้

การประยุกต์ใช้คลื่นไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่อาหารนั้น ในขั้นตอนของการของการดึงน้ำออกจากเซลล์ ในการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ความร้อนช่วยส่งผลให้ชิ้นเนื้อสามารถลดระยะเวลาการดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยอ้างอิงตามงานวิจัยในการควบคุมอุณหภูมิ และ ระยะเวลาที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ชิ้นเนื้อทดลอง และ งานวิจัย การประยุกต์ใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟในการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา L. Ralph Rohr, MD (2001) ได้ใช้คลื่นไมโครเวฟในการทำวิจัยเปรียบเทียบ กับวิธีมาตรฐานในการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา และแสดงถึงระยะเวลาทั้ง 2 วิธีเปรียบเทียบกัน

ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ด้วยวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟในการลดระยะเวลาในขั้นตอน การดึงน้ำออกจากเซลล์อ้างอิงตามงาวิจัยการเปรียบเทียบขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์ระหว่างวิธีไมโครเวฟและวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา การเพิ่มอุณหภูมิเพื่อลดระยะเวลาในการดึงน้ำออกจากเซลล์ในแต่ละขั้นตอน

1. 100% Alcohol 5 นาที ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส
2. 100% Alcohol 10 นาที ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส
3. 100% Isopropanol 5 นาที ที่อุณหภูมิ 74 องศาเซลเซียส
4. 100% Alcohol 10 นาที ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส
5. Paraffin 5 นาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

หลังจากสิ้นสุดขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์ชิ้นเนื้อจะถูกรักษาสภาพด้วย paraffin และทำการตัด section ก่อนนำไปย้อมสีเซลล์เพื่อให้พยาธิแพทย์อ่านผลต่อไป

ในเฉพาะขั้นตอนของการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ก่อนการตัดด้วยเครื่อง Microtome และ การย้อมสีด้วยเครื่อง Auto-Staining ด้วยวิธีมาฐานทางพยาธิวิทยา เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระยะเวลาในการดึงน้ำออกจากเซลล์เป็นหลัก

Frozen section

นอกจากวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา และ การประยุกต์ใช้เทคนิคไมโครเวฟ เพื่อลดระยะเวลาในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาวิธี Frozen Section เป็นคำที่นิยมและรู้จักกันแพร่หลายทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา Frozen section เป็นการพัฒนาเครื่องมือทางพยาธิวิทยาเพื่อการวินิจฉัยสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการผ่าตัด การวินิจฉัยเบื้องต้นมีผลต่อวิธีการผ่าตัดผู้ป่วย เนื่องจากผู้ป่วยยังต้องดมยาอยู่ในห้องผ่าตัด กระบวนการนี้จึงต้องทำด้วยความรวดเร็ว

ข้อจำกัดของ intraoperative consultation คือวิธีการนี้เป็นการให้การวินิจฉัยเบื้องต้นเท่านั้น ไม่สามารถใช้เป็น final diagnosis เนื่องจากกระบวนการทำ frozen section เป็นการทำให้ชิ้นเนื้อแข็งตัวภายใต้อุณหภูมิ -40 องศาในเวลาอันรวดเร็ว ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งและเซลล์เปลี่ยนรูปร่างจากปกติ การแปลผลจึงทำได้เพียงคร่าวๆเท่านั้น และต้องอาศัยการตรวจด้วยเทคนิค routine histopathology (permanent section)เพื่อยืนยันการวินิจฉัยประกอบกันทั้ง 2 วิธีเสมอ ดังนั้นหากการส่งตรวจ Tissue ที่ต้องการส่งตรวจด้วยวิธี frozen section ควรเป็น biopsy ที่มีลักษณะไม่ใหญ่มาก การตัด Section ที่อุณหภูมิ – 40 องศาเซลเซียส เมื่อได้ Section ที่ต้องการแล้ว นำ Slideมาทำการ Imprint ขั้นตอนนี้เรียกว่า Frozen section ใช้เวลาในการตรวจวินิจฉัย ประมาณ 30 – 45 นาที คำแนะนำควรตัดชิ้นเนื้อเผื่อสำหรับการตรวจด้วย routine histopathology อย่างน้อยอีก 1 ชิ้น เพื่อให้ได้ tissue ที่มีสภาพดีพอสำหรับการวินิจฉัย การใช้ Frozen section แม้จะเป็นหนึ่ง วิธีทางพยาธิวิทยาที่ให้ผลการวินิจฉัยได้เร็วมากวิธีหนึ่ง แต่ขั้นตอนก่อนเข้าสู้กระบวนการ ต้องทำการเปิดเครื่องตัดเย็นก่อนอย่างน้อย 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อให้เครื่องตัดเย็นมีความเย็นที่อุณหภูมิที่เรา set ไว้ได้อย่างเหมาะสมในการใช้เครื่องตัดเย็นในการลดระยะเวลาและการวินิจฉัยระหว่างการผ่าตัดถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย

การใช้ Frozen section ในการวินิจฉัยเบื่อต้นของพยาธิแพทย์ระหว่างการผ่าตัดนั้นยังคงมีความคลาดเคลื่อนทางสถิติที่ไม่ตรงกับวิธี permanent section เนื่องจากเมื่อวัดจากการวินิจฉัยผู้ป่วยมะเร็งระหว่างการผ่าตัด พยาธิแพทย์ต้องทำการวินิจฉัยจำนวนของเซลล์ที่ผิดปกติ ขนาดของเซลล์ และการแบ่งระดับของความผิดปกติของเซลล์ต่างๆ ที่มีความระเอียดค่อนข้างมากในหนึ่งการวินิจฉัย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Leong AS-Y (1991) ได้ศึกษาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟกับชิ้นเนื้อใหญ่ ทางจุลพยาธิวิทยา

การทดลองใช้เทคนิคไมโครเวฟในการเตรียมชิ้นเนื้อสดจากการผ่าตัดด้วยอุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส โดยการดึงน้ำออกด้วย absolute alcohol 30 นาที 4 ครั้ง, Xylene 20 นาที 3 ครั้ง และ Wax 20 นาที 2 ครั้ง จากการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน พบว่า เนื้อที่ถูกเตรียมด้วยวิธีไมโครเวฟมีคุณภาพดีในการตัดเช่นเดียวกับวิธีมาตรฐานและให้ผลการวินิจฉัยเช่นเดียวกัน รวมถึงการรักษาสภาพ Antigenได้ดีเช่นเดียวกับวิธีรักษาสภาพด้วย Formalin

Rohr (2001) ได้ทำการเปรียบเทียบวิธีมาตรฐานและวิธีไมโครเวฟ ในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางศัลยพยาธิวิทยา ในขั้นตอนการวิจัยการใช้ชิ้นเนื้อจากคนไข้ 158 ชิ้นมาทำการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟและทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อพบว่าวิธีไมโครเวฟใช้เวลาน้อยกว่าวิธีมาตรฐาน แต่ในส่วนของการดึงน้ำออกและรักษาสภาพชิ้นเนื้อที่มีส่วนประกอบของกล้ามเนื้อเรียบ เช่น ตัวอย่างมดลูกที่มีความหนา ยังคงไม่สามารถใช้วิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟได้

Cendán (2005) ได้ทำการเปรียบเทียบความแม่นยำระหว่าง วิธีที่ถูกวินิจฉัยด้วยวิธี Frozen Section กับ ชิ้นเนื้อที่วินิจฉัยด้วยวิธี permanent section ในระหว่างการผ่าตัดมะเร็งที่เต้านม โดยทำการเปรียบเทียบผลการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมด้วยเครื่องตัดเย็นกับวิธีมาตรฐานพบว่า ในการให้ผลวินิจฉัยมะเร็งเต้านม เกิดผลวินิจฉัย False Negative 22 รายจาก 116 รายและส่งผลกระทบต่อคนไข้ 19 รายไม่พบผลวินิจฉัย False Positive ในผลการวินิจฉัยมะเร็งเต้านมด้วยเครื่องตัดเย็นยังถือว่ามีความยากในการวินิจฉัยหากผู้ป่วยอยู่ในระยะแรกของ Ductal Carcinoma In Situ

Quinlivan (2001) ได้ทำการวิจัยความแม่นยำของการวินิจฉัยโดยใช้วิธี Frozen section ระหว่างการผ่าตัดมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก

การเปรียบเทียบผลวินิจฉัยมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูกด้วยวิธีเครื่องตัดเย็นและวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยาจากผู้ป่วยมะเร็งมดลูกจำนวน 460 ราย ทำการวินิจฉัยเปรียบเทียบผลทั้ง 2 วิธี พบว่าเกิดการวินิจฉัยผิด 11 รายในระยะแรกของมะเร็งมดลูก แม้ผลการวินิจฉัยมีความแม่นยำเพิ่มขึ้นแต่ยังคงมีความเสี่ยงสูงในการวินิจฉัยผิดในระยะแรกของการเป็นมะเร็งโพรงมดลูก

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาข้อมูลของระยะเวลาการดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยวิธีไมโครเวฟ และการใช้เครื่องตัดเย็น เปรียบเทียบระยะเวลากับวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานเป็นการวิจัยเชิงการทดลองโดยทำการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีทั้ง 3 และนำระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อทั้ง 3 วิธีมาเปรียบเทียบระยะเวลาและผลการวินิจฉัยทั้ง 3 วิธี โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ขั้นตอนการศึกษา

1.1 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาในการวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืน จากชิ้นเนื้อหมูได้ถูกนำมาใช้ทดลองในการยิงด้วยปืนพกขนาด .38 ในระยะทั้งหมด 10 ระยะ ตั้งแต่ 0 เซนติเมตร หรือ ระยะประชิดติดผิวหนัง ไล่ลำดับออกทีละ 5 เซนติเมตร ไปจนสิ้นสุดที่ 45 เซนติเมตร

1.2 การเก็บชิ้นเนื้อทดลองตัวอย่างภายหลังจากการยิงในทุกระยะแล้ว นำส่งมาที่ห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยา กลุ่มงานพยาธิกายวิภาคศาสตร์ โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรี เพื่อทำการทดลองการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ และ การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น โดยมีวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยาเป็นวิธีควบคุมคุณภาพของงานวิจัย

1.3 วิเคราะห์ผลการวินิจฉัยจากพยาธิแพทย์และทำการเปรียบเทียบระยะเวลาของวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อทั้ง 3 วิธี

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.1 เนื้อหมูที่ใช้เพื่อเป็นตัวอย่างสำหรับงานวิจัย

2.2 ปืน ขนาด .38

2.3 สมุดบันทึก

2.4 ไม้บรรทัด

2.5 กล้องถ่ายรูป

2.6 เครื่อง Microwave

2.7 เครื่องตัดชิ้นเนื้อแบบเย็นและแบบธรรมดา

2.8 เครื่อง Tissue Embed ชิ้นเนื้อ

2.9 เครื่อง Auto Tissue processing

2.10 เครื่อง Auto Stain H & E

2.11 กล้องจุลทรรศน์

3. การดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ใช้ชิ้นเนื้อของหมูเป็นตัวอย่างในการเปรียบเทียบการวินิจฉัยบาดแผลถูกยิงด้วยกระสุนปืน จำนวนทั้งหมด 10 ชิ้น และยิงปืนใส่ชิ้นเนื้อจำนวน1นัด ในแต่ละระยะของการยิงโดยระยะของการยิง แบ่งเป็น 3 ระยะ (วิชัย วงศ์ชนะภัย 2546 : 653) ได้แก่

ระยะประชิดติดผิวหนัง โดยทำการยิง ชิ้นที่ 1 ที่ระยะประชิดติดผิวหนัง

ระยะใกล้ โดยทั่วไปแล้วระยะยิงตั้งแต่ 5 – 15 เซนติเมตร เป็นระยะที่ตรวจพบส่วนประกอบจากการยิงค่อนข้างชัด ได้แก่

ชิ้นที่ 2 ที่ระยะ 5 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 3 ที่ระยะ 10 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 4 ที่ระยะ 15 เซนติเมตร

ที่ระยะใกล้ – ปานกลา 20 – 45 เซนติมเตร เป็นระยะที่เริ่มตรวจพบส่วนประกอบจากการยิงลดลง

ชิ้นที่ 5 ที่ระยะ 20 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 6 ที่ระยะ 25 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 7 ที่ระยะ 30 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 8 ที่ระยะ 35 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 9 ที่ระยะ 40 เซนติเมตร

ชิ้นที่ 10 ที่ระยะ 45 เซนติเมตร

ภายหลังจากการยิงในระยะต่างๆ จึงทำการใช้ห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยา เพื่อเข้าสู่กระบวนการหาเขม่าดินปืนจากบาดแผลกระสุนปืนทางพยาธิวิทยา ด้วยวิธีที่ใช้ไมโครเวฟ เครื่องตัดเย็น และวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา จากนั้น พยาธิแพทย์ จะทำการวินิจฉัยชิ้นเนื้อเพื่อตรวจหาเศษเขม่าดินปืนที่แทรกเข้าไปอยู่ภายในบาดแผลในระยะของการยิง พยาธิแพทย์จะทำการให้คะแนนความคมชัด การติดสี และปริมานเขม่าดินปืนที่ตรวจพบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเปรียบเทียบเวลาขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อแบบใช้ ไมโครเวฟ, เครื่องตัดเย็น และวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อแบบมาตรฐานทางพยาธิวิทยา

มหาวิทยาลัยศิลปากร

4. ขั้นตอนการทดลอง

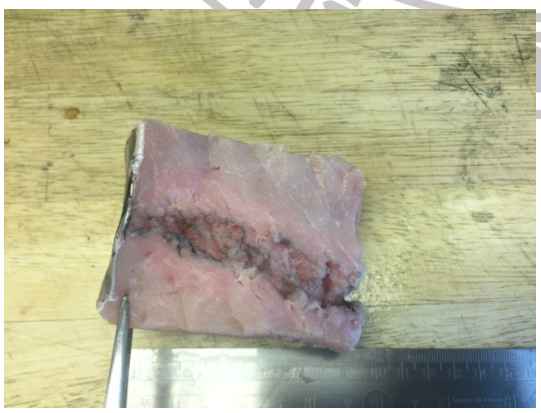
4.1 นำเนื้อหมูที่ใช้ในการทดลอง ทั้งหมด 10 ชิ้น มาแขวนที่เป้ายิง และวัดระยะในการยิงแต่ละครั้งให้แตกต่างกัน ตั้งแต่ ระยะยิงประชิดติดผิวชิ้นเนื้อทดลอง หรือ เท่ากับ 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 และ 45 เซนติเมตร

ภาพที่15 แสดงการแขวนชิ้นเนื้อหมู

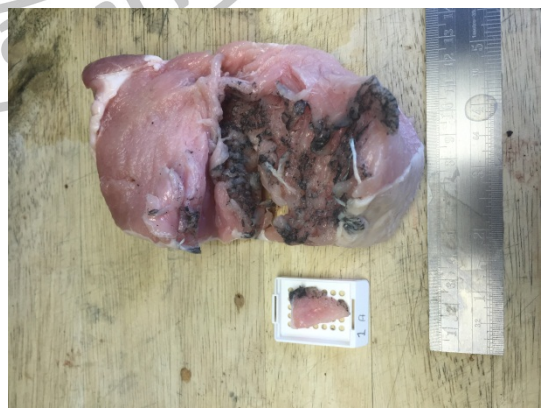
ภาพที่ 16 แสดงการวัดระยะก่อนทำการยิงชิ้นเนื้อ

4.2 การตรวจด้วยตาเปล่า และการตรวจชิ้นเนื้อ (Gross Examination)

หลังจากทีทำการยิงเนื้อหมูทดลองทั้ง 10 ระยะของการยิงแล้ว ตรวจสอบความสมบูรณ์ของตัวอย่าง ใส่หมายเลข รายละเอียดต่างๆจดบันทึกไว้ จากนั้นทำการตัดชิ้นเนื้อที่มีเขม่าติดลงตลับ



ภาพที่17 แสดงรอยผ่านของกระสุนและเขม่า



ภาพที่18 แสดงการตัดชิ้นเนื้อลงตลับ

5. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟเทคนิค Microwave Tissue Processing

ในการดึงน้ำออกจากเซลล์ที่ต้องการทดลองโดยใช้หลักการ ไล่ลำดับความเข้มข้นของ Alcohol จาก ความเข้มข้นน้อย ไปหาความเข้มข้นมาก โดยมีคลื่นไมโครเวฟช่วยให้ความร้อนในการเร่งปฏิกิริยาในขั้นตอนการดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อร่วมด้วยในแต่ละขั้นตอน ระยะเวลาประมาณ 45 นาที

ภาพที่ 19 แสดงการใช้เครื่องไมโครเวฟในการเตรียมชิ้นเนื้อ

ในขั้นตอนของ microwave technique หลังจากตัดชิ้นเนื้อลงตลับชิ้นเนื้อแล้ว นำไปแช่ในอ่างสารเคมีต่างๆ ในการดึงน้ำออกจากเซลล์เพื่อใช้วินิจฉัยทางพยาธิวิทยาดังนี้

1. 100% Alcohol 5 นาที ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส
2. 100% Alcohol 10 นาที ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส
3. 100% Isopropanol 5 นาที ที่อุณหภูมิ 74 องศาเซลเซียส
4. 100% Alcohol 10 นาที ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส
5. Paraffin 5-10 นาที ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

6. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธี Frozen Section

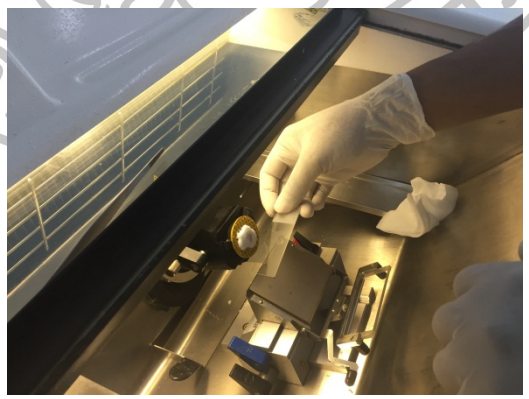
Frozen section เป็นวิธีการที่รวดเร็วสำหรับการรักษาสภาพเนื้อเยื่อตัวอย่าง โดยนิยมใช้ในการวินิจฉัยเพื่อการผ่าตัดกำจัดเซลล์มะเร็ง วิธีนี้ใช้สำหรับการผ่าตัดเซลล์มะเร็งและหาขอบเขตภายหลังการผ่าตัดเซลล์มะเร็ง การแช่แข็งเนื้อเยื่อตัวอย่างจะใช้เครื่องมือที่เรียกว่า cryostat หลังจาก

ที่เนื้อเยื่อที่ถูกแช่แข็งแล้วจะถูกสไลด์ ด้วยเครื่องมือตัดที่เรียกว่า microtome ทำการแช่แข็งและติดตั้งตัวอย่างเนื้อเยื่อบนกระจกสไลด์ เครื่องตัดชิ้นเนื้อแบบ Frozen Section มีจุดประสงค์เพื่อใช้ความเย็นในการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ ที่ – 40 องศาเซลเซียส

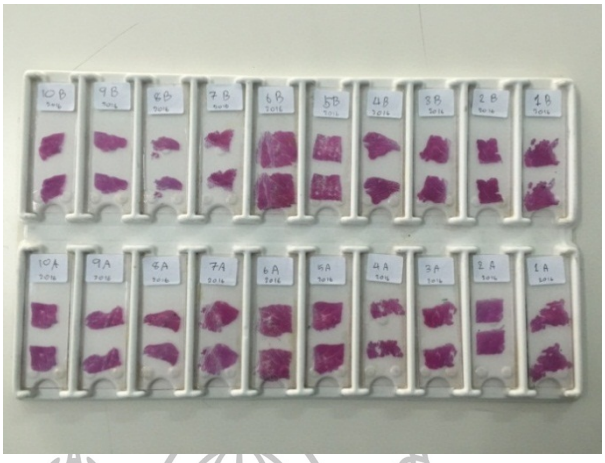
การใช้เครื่องตัดชิ้นเนื้อแบบเย็นมีขั้นตอนดังนี้

1. ตัดชิ้นเนื้อสดที่ต้องการ วางลง plate เย็น ที่ -40°C
2. หยดน้ำยา (Embedding media) เพื่อให้ชิ้นเนื้อคงรูปขณะตัดและนำไปแช่ ที่-40°C จนแข็ง
3. ทำการตัดชิ้นเนื้อ ให้เป็นแผ่นบางๆ ลง slide ก่อนนำไปย้อมสีเซลล์ต่อไป

ภาพที่ 20 แสดงการหยด Embedding media



ภาพที่ 21 แสดงการใช้เครื่อง Frozen Section



ภาพที่ 22 ภาพสไลด์ชิ้นเนื้อตัวอย่างที่ย้อม H & E

7. เตรียม slide ส่งพยาธิแพทย์วินิจฉัย

เมื่อทำการตัดชิ้นเนื้อทดลองที่ต้องการลง slide แล้ว ทั้งวิธีไมโครเวฟ และ Frozen Section เมื่อผ่านการย้อมสีมาตรฐานที่ใช้ในการย้อมทางพยาธิวิทยา H & E แล้ว สไลด์ชิ้นเนื้อทั้งหมดจะถูกนำไปให้พยาธิแพทย์ เพื่อทำการวินิจฉัย คุณภาพของการเตรียมชิ้นเนื้อทดลองทั้งแบบไมโครเวฟ, Frozen Section และ คุณภาพของการย้อมสีหลังจากการเปลี่ยนวิธีในการเตรียมชิ้นเนื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำข้อมูลการวินิจฉัยที่ได้มาทำการวิเคราะห์ผลการวินิจฉัย และทำการเปรียบเทียบระยะเวลาในแต่ละวิธีการ

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อวินิจฉัยบาดแผลกระสุนปืนทางพยาธิวิทยาทั้ง แบบใช้คลื่นไมโครเวฟ และ แบบเครื่องตัดเย็น เพื่อลดระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อนั้น วิธีมาตรฐานในขั้นตอน การเอาน้ำออก dehydration เป็นวิธีการเอาน้ำออกจากเซลล์ โดยการใช้สารเคมีที่มีหน้าที่ดูดน้ำ ทั้งนี้เพื่อเตรียมตัวอย่างให้พร้อมที่จะยอมให้ embedding media ซึมผ่านข้าไปได้ สารเคมีที่ใช้ในการเอาน้ำออกเรียกว่า dehydrant โดยทั่วไป นิยมใช้ ethyl alcohol ในการดูดน้ำออกจากตัวอย่างได้รวดเร็ว ไม่ทำให้ชิ้นเนื้อแข็งเปราะ และไม่เป็นพิษต่อสุขภาพ แต่มีข้อเสียคืออาจทำให้เนื้อเยื่อเหี่ยวย่นได้ เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่าง alcohol และน้ำ ข้อควรระวังการแช่เนื้อใน ethyl alcohol ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 80% นานๆ จะทำให้ชิ้นเนื้อแข็งเปราะ ถ้าแช่ใน ethyl alcohol ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 70 % นานๆ จะทำให้ชิ้นเนื้อเละได้ การเอาน้ำออก กระทำโดยผ่านตัวอย่างลงไปใน dehydrant ที่มีความเข้มข้นจากน้อยไปมากคือ 70% 95% ไปจนถึง 100% และวิธีที่ใช้ในการวิจัยได้ดังนี้

1. เปรียบเทียบกับ ระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานด้วยเครื่อง Auto-Tissue Processing กับ ระยะเวลาของการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ (Microwave)

2. เปรียบเทียบกับระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานด้วยเครื่อง Auto-Tissue Processing กับระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีเครื่องตัดเย็น (Frozen Section)

3. เปรียบเทียบผลการวินิจฉัยระยะยิง จากการเตรียมชิ้นเนื้อวิธีไมโครเวฟ และเครื่องตัดเย็น โดยใช้ความเห็นของพยาธิแพทย์หนึ่งท่าน

1. การเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventional และวิธี microwave

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventional และวิธี microwave

วิธี conventional		**วิธี microwave**	
สารเคมี	**ระยะเวลา**	**สารเคมี**	**ระยะเวลา/อุณหภูมิ**
1. 10% Formalin	60 นาที	1.100% Alcohol	5 นาที ที่ 67°C
2. 10% Formalin	60 นาที	2.100% Alcohol	10 นาที ที่ 67°C
3. 70% Alcohol	45 นาที	3.100% Isopropanol	5 นาที ที่ 74°C
4. 95% Alcohol	45 นาที	4.100% Alcohol	10 นาที ที่ 67°C
5. 95% Alcohol	45 นาที	5.Liquid Paraffin	5 นาที ที่ 80°C
6. 100% Alcohol	45 นาที	รวม	35 นาที
7. 100% Alcohol	45 นาที		
8. 100% Alcohol	45 นาที		
9. Xylene	60 นาที		
10. Xylene	60 นาที		
11.Liquid Paraffin	120 นาที		
รวม	10 ชั่วโมง 30นาที		

1. การดึงน้ำออกด้วยวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา (conventional) วิธีที่ 1 ตามตารางที่ 1 การดึงน้ำออก dehydration เป็นวิธีการเอาน้ำออกจากเซลล์ โดยการใช้สารเคมีที่มีหน้าที่ดูดน้ำ กระทำโดยผ่านตัวอย่างลงไปใน dehydrant ที่มีความเข้มข้นจากน้อยไปมากคือ 70% 95% ไปจนถึง 100% รวมถึง การรักษาสภาพภายใน paraffin เหลว รวมทั้งสิ้น 11 ขั้นตอน ในแต่ละขั้นตอนใช้เวลา 45 นาที 60 นาที และ 120 นาที การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่อง Auto-tissue processing ต้องใช้เวลารวมประมาณ 10 ชั่วโมง 30 นาที ใน 1 รอบของกระบวนการดึงน้ำออกเพื่อเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

1.1 การไล่ลำดับความเข้มข้นของ alcohol จากน้อยไปหามากนั้น ภายใน chamber ของ เครื่อง Auto-tissue processing จะสามารถรองรับ ตลับชิ้นเนื้อที่บรรจุอยู่ในตะกร้า โดยประมาณ 50-80 ตลับต่อ 1 รอบของกระบวนการนี้ หรือแล้วแต่รุ่นและลักษณะของตะกร้าที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยา ที่มีความต้องการในการเตรียมชิ้นเนื้อมากน้อยแตกต่างกัน ใน

ปริมาณตลับชิ้นเนื้อที่อยู่ภายในตะกร้ามากขึ้น ระยะเวลาที่ใช้ในการเตรียมชิ้นเนื้อจะมากขึ้นตามจำนวนอัตราของปริมาณชิ้นเนื้อที่ใส่ในตะกร้า ก่อนนำเข้าเครื่อง Auto-tissue process

1.2 การดึงน้ำออกด้วยวิธีไมโครเวฟ (microwave technique) วิธีที่ 2 ตามตารางที่ 4 การดึงน้ำออก dehydration เป็นวิธีการเอาน้ำออกจากเซลล์ โดยการใช้สารเคมีที่มีหน้าที่ดูดน้ำพร้อมทั้งยังเพิ่มอุณหภูมิจากคลื่นไมโครเวฟ ในทุกขั้นตอนของการดึงน้ำออก รวมทั้งสิ้น5 ขั้นตอน ใช้เวลาในแต่ละขั้นตอนเพียง 5 – 10 นาที การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟ ต้องใช้เวลารวมประมาณ 35 นาที ใน 1 รอบของกระบวนการดึงน้ำออกเพื่อเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

1.3 เตาอบไมโครเวฟ ให้ความร้อนกับชิ้นเนื้อและสารเคมี โดยแผ่คลื่นย่านความถี่ไมโครเวฟ โดยปกติจะใช้ ช่วงความถี่ 2.45 จิกะเฮิรตซ์(GHz) ผ่านเข้าไปในอาหารโดย โมเลกุลของน้ำ สารเคมี และ ชิ้นเนื้อ จะดูดซับพลังงานของคลื่นที่ผ่านเข้าไปและเกิดเป็นความร้อนขึ้นช่วยให้ปฏิกิริยาการดึงน้ำออกเกิดได้ไวขึ้น ภายใน chamber ที่จะนำเข้าไปในเครื่องไมโครเวฟนั้น สามารถบรรจุตลับชิ้นเนื้อได้เพียง 8-10 ตลับ ต่อ 1 รอบของกระบวนการนี้ จึงทำให้การใช้เทคนิคไมโครเวฟในการเตรียมชิ้นเนื้อเหมาะสมกับการตรวจที่ต้องการความเร็วในการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา

1.4 การใช้วิธี microwave ในแต่ละครั้งจำเป็นต้องทำการควบคุมคุณภาพของการดึงน้ำออก ควบคู่ไปด้วยโดยทุกครั้งที่มีการใช้วิธี microwave จะต้องตัดชิ้นเนื้อลงตลับและทำการดึงน้ำออกด้วยวิธี conventional ทุกครั้งเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของการดึงน้ำออก เนื่องจากวิธี microwave ไม่ใช่ วิธีที่ถูกนำมาใช้ประจำroutine technique จึงต้องถูกควบคุมคุณภาพจากวิธี conventional ทุกครั้ง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

2. การเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventional และวิธี frozen section

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อระหว่างวิธี conventional และ วิธี frozen section

วิธี conventional		วิธี Frozen section	
สารเคมี	ระยะเวลา	สารเคมี	ระยะเวลา/อุณหภูมิ
1. 10% Formalin	60 นาที	1. Embedding media	10 -15 นาที ที่ -30°C
2. 10% Formalin	60 นาที	รวม	10 – 15 นาที
3. 70% Alcohol	45 นาที		
4. 95% Alcohol	45 นาที		
5. 95% Alcohol	45 นาที		
6. 100% Alcohol	45 นาที		
7. 100% Alcohol	45 นาที		
8. 100% Alcohol	45 นาที		
9. Xylene	60 นาที		
10. Xylene	60 นาที		
11.Liquid Paraffin	120 นาที		
รวม	10ชั่วโมง 30นาที		

ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธี Frozen section เป็นการทำให้ชิ้นเนื้อทดลอง และ Embedding media แข็งตัวภายใต้อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียสภายระยะเวลาอันรวดเร็ว ในขั้นตอนของการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธี Frozen section ตั้งแต่การนำชิ้นเนื้อสดวางบน plate เย็นและหยด Embedding media นำเข้าสู่แท่นทำความเย็นภายในเครื่องตัดเย็นรอจน Embedding media แข็งตัวใช้เวลาโดยประมาณ 10 - 15 นาที ต่อ 1 รอบ ก่อนทำการตัดด้วย microtome ภายใต้อุณหภูมิที่ -30 °C

3. การวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการ เตรียมชิ้นเนื้อแบบใช้ไมโครเวฟ

ตารางที่ 6 แสดงผลการวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อแบบใช้ไมโครเวฟ

Range of fire	Color H & E	Resolution	Diagnosis	Score
1.Contact (0 cm)	Normal	คมชัด	Positive	10/10
2. 5 cm	Normal	คมชัด	Positive	10/10
3. 10 cm	Normal	คมชัด	Positive	10/10
4. 15 cm	Normal	คมชัด	Positive	5/10
5. 20 cm	Normal	คมชัด	Positive	5/10
6. 25 cm	Normal	คมชัด	Positive	5/10
7. 30 cm	Normal	คมชัด	Positive	3/10
8. 35 cm	Normal	คมชัด	Positive	3/10
9. 40 cm	Normal	คมชัด	Positive	3/10
10. 45 cm	Normal	คมชัด	Positive	1/10

การวินิจฉัยชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานกับวิธีเตรียมชิ้นเนื้อด้วยคลื่นไมโครเวฟ ในระยะต่างๆ ให้ผล positive ในทุกระยะ คุณภาพการติดสีของการย้อมสีเซลล์ด้วยเครื่อง Auto- H & E Staining สีติดปกติในทุกระยะ ความคมชัด (Resolution)ของเนื้อเยื่อทดลองในการวินิจฉัยคมชัดสามารถวินิจฉัยได้

จากตารางที่ 6 แสดงผลการวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนในชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อแบบใช้ไมโครเวฟ พยาธิแพทย์ให้คะแนนการพบเขม่าดินปืนที่แทรกในเนื้อเยื่อ ดังนี้ ในระยะการยิงที่ 1, 2, และ 3 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลอง ในระดับ 10 เต็ม 10 ในระยะการยิงที่ 4, 5, และ 6 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลอง ในระดับ 5 เต็ม 10 ในระยะการยิงที่ 7, 8,และ 9 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลอง ในระดับ 3 เต็ม 10 ในระยะการยิงที่ 10 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลอง ในระดับ 1 เต็ม 10 ปริมาณเขม่าที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พยาธิแพทย์ให้คะแนนปริมาณการพบในเนื้อเยื่อทดลอง โดยใช้ระดับคะแนนในระยะประชิดติดผิวหนัง หรือ

ระยะการยิงที่ 1 เป็นคะแนนสูงสุด 10 เต็ม 10 และใช้เป็นการเปรียบเทียบกับระยะทั้งหมดที่ปริมาณเขม่าดินปืนที่ตรวจพบลดลงในแต่ละระยะของการยิง ตามลำดับ

4. การวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดเย็น

ตารางที่ 7 แสดง ผลการวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆ ด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดเย็น

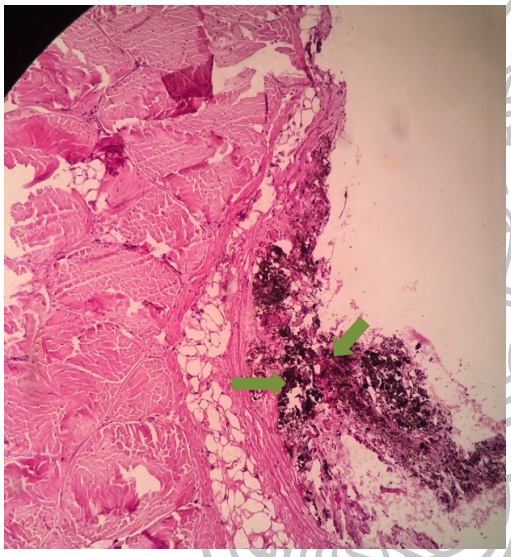
Range of fire	Color H & E	Resolution	Diagnosis	Score
1.Contact (0 cm)	Normal	คมชัด	Positive	10/10
2. 5 cm	Normal	คมชัด	Positive	9/10
3. 10 cm	Normal	คมชัด	Positive	10/10
4. 15 cm	Normal	คมชัด	Positive	7/10
5. 20 cm	Normal	คมชัด	Positive	7/10
6. 25 cm	Normal	คมชัด	Positive	7/10
7. 30 cm	Normal	คมชัด	Negative	0/10
8. 35 cm	Normal	คมชัด	Negative	0/10
9. 40 cm	Normal	คมชัด	Negative	0/10
10. 45 cm	Normal	คมชัด	Negative	0/10

การวินิจฉัยชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานกับวิธีเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องตัดเย็น ในระยะต่างๆ ให้ผล positive ในระยะที่ 1 – 6 และ ผล Negative ในระยะที่ 7 - 10 คุณภาพการติดสีของการย้อมสีเซลล์ด้วยเครื่อง Auto- H & E Staining สีติดปกติในทุกระยะ ความคมชัด(Resolution)ของเนื้อเยื่อทดลองในการวินิจฉัยคมชัด สามารถวินิจฉัยได้

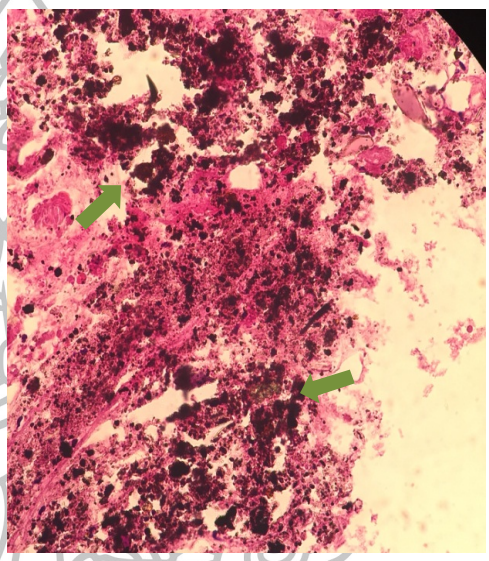
จากตารางที่ 7 แสดงผลการวินิจฉัยตรวจหาเขม่าดินปืนในชิ้นเนื้อส่งตรวจในระยะต่างๆด้วยวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อแบบใช้ไมโครเวฟ พยาธิแพทย์ ให้คะแนนการพบเขม่าดินปืนที่แทรกในเนื้อเยื่อ ดังนี้ ในระยะการยิงที่ 1 และ 3 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลองในระดับ 10 เต็ม 10 ในระยะการยิงที่ 2 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการพบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลองในระดับ 9 เต็ม 10 ในระยะการยิงที่ 4, 5, และ 6 พยาธิแพทย์วินิจฉัยการไม่พบเขม่าดินปืนใน

เนื้อเยื่อทดลองในระดับ 7 เต็ม 10 ในระยะการยิงที่ 7, 8, 9, และ10พยาธิแพทย์วินิจฉัยการไม่พบเขม่าดินปืนในเนื้อเยื่อทดลองในระดับ 0 เต็ม 10

ปริมาณเขม่าที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พยาธิแพทย์ให้คะแนนปริมาณการพบในเนื้อเยื่อ โดยใช้ระดับคะแนนในระยะประชิดติดผิวหนัง หรือ ระยะการยิงที่ 1 เป็นคะแนนสูงสุด 10 เต็ม 10 และใช้เป็นการเปรียบเทียบกับระยะทั้งหมดที่ปริมาณเขม่าดินปืนที่ตรวจพบลดลงในแต่ละระยะของการยิง และในระยะยิงที่ 7, 8, 9, และ 10 ไม่พบเขม่าดินปืนจากการวินิจฉัย



ภาพที่ 23 แสดงเขม่าดินปืนที่แทรกในเนื้อเยื่อขยาย 10x



ภาพที่ 24 แสดงเขม่าดินปืนที่แทรกในเนื้อเยื่อขยาย40x

การแทรกของเขม่าดินปืนภายในชั้นเนื้อเยื่อของเนื้อ หลังจากผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อและย้อมสีแล้ว พบเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีลักษณะคล้ายผลึกสีน้ำตาลเข้ม แทรกอยู่ภายนะชั้นเนื้อเยื่อ เขม่าดินปืนที่แทรกอยู่ภายในชิ้นเนื้อทดลอง จะมีลักษณะการเรียงตัวแบบกระจัดกระจายไม่เป็นระเบียบ ในการวิจัยผู้วิจัยได้ทำ การเปรียบเทียบระหว่างการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ และวิธีใช้เครื่องตัดเย็นในการเตรียมชิ้นเนื้อ ได้ทำการทดลองควบคู่ไปกับวิธีมาตรฐานในการทดลอง เพื่อควบคุมคุณภาพของการติดสีย้อมจากการเปลี่ยนวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อ และควบคุมคุณภาพการตัดชิ้นเนื้อ ลง slide ของผู้วิจัยเพื่อให้ผลออก มีคุณภาพการติดสีย้อมเซลล์ และคุณภาพการตัดชิ้นเนื้อลง slide ตรงตามค่ามาตรฐานที่ยอมรับได้ ของทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาวิจัยเรื่อง การใช้คลื่นไมโครเวฟ และ เครื่องตัดเย็น เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อจากบาดแผลกระสุนปืน เพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการดึงน้ำออกจาเนื้อเยื่อในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา โดยการใช้คลื่นไมโครเวฟในการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้ออ้างอิงตามวิธีการของ L. Ralph Rohr, MD (2001) และการใช้เครื่องตัดเย็นในการตรวจและจัดการระหว่างการผ่าตัดโดยอ้างอิงวิธีการใช้เครื่องตัดเย็นของ Julie A. Quinlivan (2001) และ Juan C Cendán, MD (2005) โดยการนำชิ้นเนื้อตัวอย่างจำนวน 10 ชิ้น มาทำการยิงด้วยปืนสั้นขนาด .38 จำนวน 10 นัด แบ่งเป็นระยะการยิงทั้งหมด 10 ระยะ และนำชิ้นเนื้อทั้ง 10 ชิ้น มาทำการตัดส่วนที่มีเขม่าลงตลับทั้งหมด 40 ตลับ โดยแบ่งเป็น วิธีไมโครเวฟ 10 ตลับ กับวิธีมาตรฐาน10 ตลับ และวิธีเครื่องตัดเย็น 10 ตลับ กับวิธีมาตรฐาน 10 ตลับ จากนั้นทำการจับเวลาในแต่ละขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อ ที่กลุ่มงานพยาธิวิทยา โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร จังหวัดปราจีนบุรี จากนั้นทำการ ย้อมสีเซลล์ด้วยวิธีมาตรฐาน H & E Staining ก่อนส่งให้พยาธิแพทย์ทำการวินิจฉัย สรุปผลวิจัยได้ดังนี้

1. สรุปผลการวิจัย

1.1 การศึกษาขั้นตอนการดึงน้ำออกด้วยวิธีมาตรฐานในการเตรียมชิ้นเนื้อ ใช้เวลาในการดึงน้ำออกจากเซลล์และรักษาสภาพเซลล์ใช้เวลาทั้งหมด 10 ชั่วโมง 30 นาที ด้วย เครื่อง Auto-Tissue Processing ในการเตรียมชิ้นเนื้อก่อนนำไป หล่อ Paraffin Block และนำไปตัดลง Slide เพื่อทำการวินิจฉัยต่อไปในขั้นตอนนี้เป็น routine tissue processing ที่มีระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อนาน และในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานยังถือเป็นวิธีควบคุณภาพในขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์

1.2 วิธีใช้คลื่นไมโครเวฟในการเพิ่มอุณหภูมิในการเร่งปฏิกิริยาในการดึงน้ำออกจากเซลล์และรักษาสภาพเซลล์ใช้เวลาทั้งหมด 35 นาที โดยการใช้เครื่องไมโครเวฟในการเพิ่มอุณหภูมิแบบสามารถตั้งค่าอุณหภูมิได้โดยอ้างอิงวิธีการของ L. Ralph Rohr, MD (2001) ในการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ระยะเวลาที่ลดลงจากอุณหภูมิที่เป็นปัจจัยในการเร่งปฏิกิริยาในการดึงน้ำออก

จากชิ้นเนื้อทดลอง ทำให้สามารถลดระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐานไปกว่า 10 ชั่วโมง ใน 1 รอบของการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟ

1.2.1 การวินิจฉัยชิ้นเนื้อที่ผ่านการดึงน้ำออกด้วยวิธีไมโครเวฟ พยาธิแพทย์ให้ผลการวินิจฉัยเห็นคล้องกันระหว่าง วิธีไมโครเวฟและวิธีมาตรฐาน เนื่องจากชิ้นเนื้อที่ทำการดึงน้ำออกนั้นมีขนาดที่เล็ก มีความง่ายต่อการดึงน้ำออกจากเซลล์ จึงทำให้การดึงน้ำออกไม่พบความต่างในการวินิจฉัย จากทั้ง 2 วิธีในการเตรียมชิ้นเนื้อ

1.3 วิธีการใช้เครื่องตัดเย็น Frozen Section เป็นการลดอุณหภูมิชิ้นเนื้อสดอย่างรวดเร็วที่ -30 องศาเซลเซียส embedding media ที่ใช้ในการหล่อชิ้นเนื้อเพื่อรักษาสภาพระยะเวลา ในการแข็งตัวของ embedding media ประมาณ 10 - 15 นาที จากนั้นจึงนำไปตัดลง Slide ต่อไป ในการเลือกใช้ Frozen section มีระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยความเย็น ก่อนทำการตัด section น้อยที่สุดจากทั้ง 3 วิธี

เมื่อพิจารณาผลการเปรียบเทียบระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อวิธีทั้ง 3 พบความแตกต่างในการเตรียมชิ้นเนื้อในเรื่องของเวลาที่แตกต่างกันพบว่า Frozen section ใช้ระยะเวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อน้อยที่สุด และ การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีไมโครเวฟใช้ระยะน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

2. อภิปรายงานวิจัย

จากการศึกษาวิธี ทั้ง 3 ที่ใช้ในการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา พบว่า การใช้เครื่องตัดเย็น Frozen section สามารถใช้เวลาในการเตรียมชิ้นเนื้อได้ในระยะเวลา 10 – 15 นาที หลังจากการตัดเนื้อลง block และ รอ embedding media แข็งตัว และทำการตัดชิ้นเนื้อลง slide การย้อมสี ติดปกติสามารถวินิจฉัยได้ในปริมานเขม่าดินปืนที่มากพอ ในระยะการยิงจี้ประชิดติดผิวหนัง และระยะใกล้ หลังจาก ระยะ ที่ 30, 35, 40, 45 เซนติเมตร ไม่พบเขม่าดินปืนภายในเนื้อเยื่อ มีเนื่องจากการตัดเย็นจะมีความแตกต่างจาก การตัดชิ้นเนื้อลง slide แบบวิธีมาตรฐาน คือ การตัดเย็น ผู้ตัดจะทำการ ประทับ (Imprint Slide) กับ ชิ้นเนื้อแทนการ ลอยใน water bath ในแบบวิธีมาตรฐาน จึงมีโอกาสที่เขม่าดินปืนในระยะที่เริ่มห่างออกไป มีโอกาสของ ปริมานเขม่าที่จะเข้ามาแทรกในชิ้นเนื้อลดลงตามลำดับระยะของการยิง ในส่วนของค่าใช้จ่าย และ อายุของ embedding mediaรักษาสภาพชิ้นเนื้อนั้น มีต้นทุนค่อนข้างสูงและผลการวินิจฉัยที่พบทั้งเขม่าดินปืน และไม่พบนั้น

เครื่องตัดเย็น (Frozen Section) จึงยังไม่เหมาะในกระบวนการวินิจฉัยบาดแผลจากกระสุนปืน นิยมมาใช้ในการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อทำการ วินิจฉัยชิ้นเนื้อส่งตรวจจากห้องผ่าตัดเพื่อวิเคราะห์ระยะของมะเร็ง ในการวางแผนระหว่างพยาธิแพทย์ และ ศัลยแพทย์ในการผ่าตัด เพื่อ

ประกอบการตัดสินใจระหว่างการผ่าตัดว่าจะตัดออกเพียงก้อนเนื้อหรือ นำออกทั้งอวัยวะหากผลวินิจฉัยจากพยาธิแพทย์ระบุว่าเสี่ยงทั้งอวัยวะ

การใช้วิธีไมโครเวฟในการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา มีขั้นตอนน้อย ใช้เวลา 35 – 45 นาที ในการเตรียมชิ้นเนื้อ การใช้เครื่องไมโครเวฟ ในการเตรียมชิ้นเนื้อต้องมีความระมัดระวังอุณหภูมิภายในเครื่องไมโครเวฟไม่ให้ อุณหภูมิสูงจนเกินไปอาจทำให้เนื้อสุกหรือชิ้นเนื้อแตกได้ ก่อนทำการตัดและย้อมสี วิธีนี้สามารถลดระยะเวลาจาก วิธีมาตรฐานได้มาก และสามารถเสร็จสิ้นกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อได้ภายระยะเวลาอันสั้น รวมถึงผลของการวินิจฉัยยังสามารถพบเขม่าดินปืนได้ในทุกระยะของการยิง เมื่อเปรียบเทียบควบคู่ไปกับ การเตรียมชิ้นเนื้อส่งตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน

3. ปัญหาที่พบในงานวิจัย

3.1 การตัดชิ้นเนื้อที่มีเขม่าติดในระยะต่างๆของการยิง ชิ้นเนื้อที่ทำการตัดแล้ว ไม่สามารถเก็บไว้ได้เนื่องจากภายหลังจากการยิง น้ำภายในเซลล์ของเนื้อจะค่อยๆ ซึมไหลออกมา ชะล้างคราบเขม่าที่ติดกับชิ้นเนื้อได้

3.2 อุณหภูมิ ภายในเครื่องไมโครเวฟไม่ค่อยตรงตามที่ตั้งค่าอุณหภูมิ ที่ตั้งไว้ในระดับต่างๆ ต้องคอยใช้เทอร์โมมิเตอร์ตรวจสอบเป็นระยะๆ และเครื่องไมโครเวฟใช้เวลาค่อนข้างนานในการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่สารเคมีที่ใช้แช่ชิ้นเนื้อ

4. ข้อเสนอแนะ

4.1 ควรมีการเพิ่มจำนวนการยิงในแต่ละระยะ และ เพิ่มจำนวนของชิ้นเนื้อในการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ส่งตรวจวินิจฉัย เพื่อความแม่นยำและมีความน่าเชื่อถือมากขึ้นตามลำดับ

4.2 ในส่วนของการวินิจฉัยควรตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ โดยไม่ให้ข้อมูลพยาธิแพทย์ทราบว่า ได้ทำการวิจัยด้วยวิธีใดในการเตรียมชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

4.3 วิธี frozen section ไม่เหมาะสมนำมาใช้ในระบบกระบวนการยุติธรรม มีความเหมาะสมในกาตรวจวินิจฉัยทางเชิงการรักษาทางการแพทย์ เนื่องจากมีผล positive และ negative ซึ่งอาจให้ผล error ในทางคดีความ

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

จรัส บุญยธรรมา. (2559). **เตาอบไมโครเวฟและส่วนประกอบภายในเตาอบไมโครเวฟ.** เข้าถึงเมื่อ 21 เมษายน. เข้าถึงได้จาก http://www.atom.rmutphysics.com/charud/specialnews/6/microwave1/index2.htm

จิรวัชร ธนูรัตน์. (2551).“คู่มือการตรวจหาดินปืนเขม่าดินปืน ตะกั่ว และทองแดงของลูกกระสุนปืน.” กองพิสูจน์หลักฐาน สำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ. (อัดสำเนา).

พรทิพย์ โรจนสุนันท์.(2545). **การชันสูตรพลิกศพ**. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดยูเคชั่น.

พาโทโลยี่ ไดอะโนสติกส์ เซ็นเตอร์. (2559). **การส่งตรวจ Frozen section**. เข้าถึงเมื่อ 21 เมษายน. เข้าถึงได้จาก http://www.thaipatho.com/services/frozen-section/

เลี้ยง หุยประเสริฐ. (2559). **บาดแผลกระสุนปืนและวัตถุระเบิด.** เข้าถึงเมื่อ 21 เมษายน. เข้าถึงได้จาก http://www.ifm.go.th/th/ifm-book/ifm-textbook/145 -gun.html

วิชัย วงศ์ชนะภัย. (2549). **เงื่อนไขทางนิติเวชในกรมการแพทย์ร่วมกับสมาคมแพทย์อุบัติเหตุ แห่งประเทศไทย การดูแลผู้บาดเจ็บที่ไม่ต้องรักษาตัวในโรงพยาบาล.** กรุงเทพฯ: เอ็น พี เพรส.

แสงเทียน คงพันธุ์. (2554). “การประมาณระยะเวลาการตายโดยโอดอนโตบลาสต์ในโพรงฟันมนุษย์.” การค้นคว้าอิสระปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ภาษาต่างประเทศ

AS-Y. (1991). “Microwave fixation and rapid processing in a large throughput histopathology laboratory.” **Pathology** 23 :271-273.

Cendán, Juan C. (2005). “Accuracy of Intraoperative Frozen-Section Analysis of Breast Cancer Lumpectomy-Bed Margins.” **J Am Coll Surg** 201:194–198.

Druid, H. (1997). “Site of entrance wound and direction of bullet path in firearm fatalities as indicators of homicide versus suicide.” **Forensic Sci Int** 4, 88 (August): 147-162.

Leong AS-Y. (1993). “Microwave techniques for diagnosis laboratories.” **Scaning** 15: 88-98.

Quinlivan, Julie A. (2001). “Accuracy of frozen section for the operative management of endometrial cancer.” **Br J Obstet Gynaecol** 108: 798-803.

Rohr, L. Ralph. (2001). “A Comparison of Routine and Rapid Microwave Tissue Processing in a Surgical Pathology Laboratory.” **706 Am J Clin Pathol** 115: 703-708.

Udey, Ruth N. (2011). “Differentiation of Bullet Type Based on the Analysis of Gunshot Residue Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.” **J Forensic Sci**, 5 (September): 56.