

คำนำ

ในปัจจุบันคหิตความผิดทางเพศและข่มขืนกระทำชำเรา มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นพยานหลักฐานที่สำคัญในคดีคือ อสุจิ ด้วยความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ สามารถตรวจพิสูจน์ได้หลากหลายไม่ว่าจะเป็นการตรวจสารพันธุกรรม การตรวจทางชีวเคมี สำหรับการตรวจพิสูจน์ความผิดโดยอาศัยกระบวนการทางนิติเวชศาสตร์นั้น แบ่งออกเป็น การตรวจสภาพร่างกาย (Physical examination) การตรวจทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory examination) สำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการถือเป็นหัวใจสำคัญเพื่อพิสูจน์ยืนยันการตรวจพบตัวอสุจิ โดยอาศัยวิธีการทางเซลล์วิทยา และการตรวจยืนยันคราบน้ำอสุจิโดยอาศัยวิธีการตรวจทางชีวเคมีเพื่อตรวจหา Acid phosphatase ซึ่งยังคงยึดถือปฏิบัติเป็นงานประจำวันทางนิติเวชศาสตร์ เพราะเป็นวิธีการที่สะดวกและรวดเร็ว นอกจากนี้ยังมีสารชีวเคมีอื่นที่ยังไม่ได้กล่าวถึงในการตรวจพิสูจน์คราบน้ำอสุจิอีก

จากการศึกษาในครั้งนี้ ผู้วิจัยอาศัยวิธีการตรวจพิสูจน์คราบน้ำอสุจิ โดยอาศัยสารชีวเคมีที่พบในน้ำอสุจิคือ สังกะสีและเอนไซม์ Acid phosphatase โดยอาศัยหลักการ Colormetric ซึ่งเป็นวิธีการตรวจที่รวดเร็ว 2 วิธี เพื่อจะศึกษาเปรียบเทียบถึง ความไว, ความจำเพาะเจาะจง การทำนายค่าบวก,ค่าลบ เพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ในงานประจำวันทางนิติเวชศาสตร์

ทางผู้จัดทำเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อท่านผู้ที่มีความสนใจและต้องการศึกษาค้นคว้า ตลอดจนเป็นการเพิ่มพูนความรู้ในเรื่องดังกล่าวได้ไม่มากนักน้อย และขอขอบคุณท่านอาจารย์ พ.ต.ท. กฤษณา ภิรมมทรัพย์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำที่ดีเสมอมา

ผู้จัดทำ

สรารุช แหยมศิริ

31 กรกฎาคม 2553

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
บทคัดย่อภาษาไทย	1
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	3
บทนำ	4
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	8
สถิติ	9
ผลการทดลอง	10
การอภิปรายผลการทดลอง	12
<u>ภาคผนวก</u>	
เอกสารภาษาอังกฤษ	
เอกสารการนำเสนอ	
คำถามในการสัมมนา	
ทบทวนวรรณกรรม	
แผนผังการทดลอง	

การตรวจหาตัวอสุจิด้วยวิธีรวดเร็วโดยการเปรียบเทียบสองวิธี

Rapid detection of sperm: comparison of two methods

510702 สัมมนาสำหรับนิติวิทยาศาสตร์ 1 ภาคต้น ปีการศึกษา 2553

ผู้ให้สัมมนา นายสรารุช แหยมศิริ รหัส 52312339 คณะนิติวิทยาศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา พันตำรวจโทกฤษฎา รีมรวมทรัพย์

วันที่ 31 กรกฎาคม 2553 ห้อง 405 อาคารวิทยาศาสตร์ 4 มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสนามจันทร์

บทคัดย่อ

การตรวจหาตัวอสุจิเป็นสิ่งสำคัญในการยืนยันการกระทำผิดทางเพศในคดีข่มขืน งานวิจัยนี้เป็นการเปรียบเทียบวิธีการทางชีวเคมี สองวิธี ที่ใช้ในงานนิติเวช วิธีการแรกเป็นการตรวจหา Zinc วิธีที่สองเป็นการตรวจหาการทำงานของ Acid phosphatase ในการศึกษากลุ่มประชากรประกอบด้วย ผู้หญิงที่ยินยอมจำนวน 174 ราย ที่ Male Infertility Center ในเมือง Toulouse ประเทศฝรั่งเศส และทราบวันสุดท้ายของการมีเพศสัมพันธ์ที่รู้อย่างแม่นยำ วิธีการทางเซลล์วิทยาถูกนำมาใช้ในการอ้างอิง เป็นการตรวจที่ใช้ในการยืนยันการตรวจพบตัวอสุจิในตัวอย่างในช่องคลอด งานวิจัยนี้ศึกษา ความไว ความจำเพาะเจาะจง และการทำนายค่า Positive และค่า Negative ของวิธีการทางชีวเคมีของทั้ง 2 วิธี

การตรวจหา Acid phosphatase เป็นวิธีที่มีคุณค่าเป็นอย่างมาก แต่จำกัดการใช้ในเรื่องของเวลา วิธีการหา Zinc เป็นวิธีที่ทำให้ผลเป็นที่น่าผิดหวังของการศึกษาครั้งนี้ แต่ดูเหมือนว่าวิธีนี้จะไม่เป็นประโยชน์ต่อแพทย์นิติเวช

Key word : Sperm ; Spermatozoa ; Detection of sperm ; Zinc ; Acidphosphatase ; Sexual intercourse ; Sexual assault ; Rape

เอกสารอ้างอิง

1. Jean-Pascal Allery, Norbert Telmon, Anthony Blanc, Roger Miesusset, Daniel Rouge. Rapid detection of sperm: comparison of two methods. J Clinical Forensic Medicine (2003) 10, 5–7
2. Ricci LR, Hoffman SA. Prostatic acid phosphatase and sperm in the postcoital vagina. Ann Emerg Med 1982; 11: 530–534.

3. Davies A, Wilson E. The persistence of seminal constituents in the human vagina. *Forensic Sci* 1974; 3: 45–55.
4. Davies A. Evaluation of results from tests performed on vaginal, anal and oral swabs received in casework. *J Forensic Sci Soc* 1977; 17: 127–130.

.....
พันตำรวจโทกฤษฏา ธิบรวมทรัพย์
อาจารย์ที่ปรึกษา

Abstract

Sperm detection can be an important factor in confirming sexual assault in cases of rape. This paper compares two biological methods used in forensic medicine: the first detects the presence of zinc, the second detects acid phosphatase activity. The population studied was composed of 174 consenting women seen at the Male Infertility Center in Toulouse, France. The date of their last sexual intercourse was known accurately. Cytology was the reference test to confirm the presence of sperm in the vaginal sample. We studied the sensitivity, specificity, and positive and negative predictive value of the two biochemical methods. Acid phosphatase detection was the most valuable technique, But its use is limited in time. The zinc test gave disappointing result in our study and does not seem to be useful reference method for the forensic physician.

Keywords: Sperm; Spermatozoe; Detection of sperm; Zinc; Acid phosphatase; Sexuel intercourse; Sexual assault; Rape

REFERENCES

1. Jean-Pascal Allery, Norbert Telmon, Anthony Blanc, Roger Miousset, Daniel Rouge. Rapid detection of sperm: comparison of two methods. *J Clinical Forensic Medicine* (2003) 10, 5–7
2. Ricci LR, Hoffman SA. Prostatic acid phosphatase and sperm in the postcoital vagina. *Ann Emerg Med* 1982; 11: 530–534.
3. Davies A, Wilson E. The persistence of seminal constituents in the human vagina. *Forensic Sci* 1974; 3: 45–55.
4. Davies A. Evaluation of results from tests performed on vaginal, anal and oral swabs received in casework. *J Forensic Sci Soc* 1977; 17: 127–130.

บทนำ

คดีข่มขืนโดยทั่วไปมักไม่พบพยานในคดี หลักฐานของอสุจิมิบทบาทสำคัญที่ใช้ในการยืนยันผู้ถูกกล่าวหาในระยะเริ่มแรกของการสอบสวน การตรวจทางการแพทย์ได้มีโอกาสในการเก็บรวบรวมหลักฐานทางกายภาพ และ ตัวอย่างทางชีวเคมี ในการยืนยันการตรวจพบอสุจิของผู้กระทำความผิด หรือผู้ถูกกล่าวหา การพบตัวอสุจิเป็นเกณฑ์ปัจจุบันในการตรวจยืนยันการมีเพศสัมพันธ์ พยานหลักฐานทางชีวเคมี เป็นที่ยอมรับทั้งคู่โดยทฤษฎีนิติเวชศาสตร์ สำหรับวิธีการทางเซลล์วิทยา ยังเป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) ถึงแม้ว่าจะมีวิธีการอื่นใช้ก็ตาม โดยเจ้าหน้าที่ตามกฎหมาย

วิธีการทางชีวเคมีอื่น ที่สามารถช่วยแพทย์นิติเวชในการตรวจหาอสุจิ

- การวัดระดับ free choline : แต่มันจะลดอย่างรวดเร็ว (< 24 ชั่วโมง) ในสภาพแวดล้อมช่องคลอด แต่วิธีนี้ยังให้คุณค่าน้อยในการปฏิบัติงานประจำวันในงานนิติเวช
- การตรวจหา PAS (Prostatic Acid Phosphatase) การวัดระดับ การทำงานของเอนไซม์คูเหมือนจะเป็นประโยชน์ในสายงานวิจัย เพราะ เอนไซม์นี้มี ความจำเพาะเจาะจงสูงมาก
- การตรวจ Zinc test เคยถูกใช้ในบางคณะ และ เคยเปิดเผยว่าสังกะสีมีบรรจุอยู่ในน้ำ อสุจิ การตรวจหาสังกะสี สามารถตรวจพบได้เด่นชัดแม้ในคราบน้ำอสุจิที่มีอายุ 20 ปี
- วิธีการพิเศษทาง อิมมูโนโลยี เคยเสนอให้ตรวจหาสารที่จำเพาะตัว เช่น
 - + Lactate dehydrogenase isoenzyme C4
 - + Prostate – specific antigen (PSA)
 - + Seminal vesicle – specific antigen
 - + Spermatozoid wall – specific antigen

แม้กระทั่งวิธีการเป็นวิธีทาง Chromatographic ของการสกัด Prostaglandin แต่เทคโนโลยีนี้ซับซ้อนจึงจำกัด ในการใช้ในงานประจำวันทางนิติเวชศาสตร์

เนื่องจากวิธีการเหล่านี้สะดวกง่ายต่อการใช้ นักวิจัยจึงเลือก สองวิธีดังกล่าวข้างต้นเกี่ยวกับ Acid phosphatase test และ Zinc test เทคนิคแรก การตรวจหา Acid phosphatase test เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด และ ได้รับความสนใจมากที่สุด แต่มันถูกใช้ในทางนิติเวชศาสตร์อย่างจำกัด โดยอาศัยช่วงชีวิตสั้นๆของโปรตีน โดยทั่วไปเอนไซม์นี้จะหายไปภายใน 48 ชม. สำหรับ Zinc test เคยได้รับการกล่าวอ้างเพียงเล็กน้อยในวารสารแต่ในทางทฤษฎีมันน่าสนใจในการปฏิบัติงานทางนิติเวช เพราะว่าการตรวจหาสังกะสีดูเหมือนว่าจะไม่จำกัดในเรื่องของเวลา

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ผู้ประพันธ์ได้ศึกษาจากตัวอย่างจาก Cervicovaginal ของผู้หญิงที่ยินยอมที่ Male Infertility Center ในโรงพยาบาลประจำมหาวิทยาลัยเมือง Toulouse ประเทศฝรั่งเศส สำหรับในการทดลอง หรือ การทดสอบหลังการมีเพศสัมพันธ์

- อายุโดยเฉลี่ยของผู้ชาย 32 ปี (ช่วง 23 – 48)
- อายุโดยเฉลี่ยของผู้หญิง 30 ปี (ช่วง 21 – 40)

วันที่ผ่านการมีเพศสัมพันธ์ครั้งล่าสุดของผู้ป่วยแต่ละคน และเวลาที่ใช้ในการสุ่มจะถูกบันทึกไว้และถูกนำมาประเมินช่วงเวลาการมีเพศสัมพันธ์และการเช็ดล้าง

วิธีการทดลอง

เซลล์วิทยา (Cytology)

- เตรียม Slide จากแต่ละ Swab และทำให้แห้งด้วยอากาศ
- ตีงด้วย(Fix)แอลกอฮอล์หรืออีเธอร์
- และย้อมสีด้วย nuclear fast red และ Christmas tree stain
- ทุก Slide จะต้องนำมาส่องกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 40X
- ตรวจสอบหาตัวสูกิจที่พบ เพื่อใช้ในการยืนยันการตรวจพบตัวสูกิจในตัวอย่าง แล้วใช้เป็นวิธีอ้างอิง

ชีวเคมีวิทยา(Biochemistry)

- Acid phosphatase test : แผ่น strip ที่ใช้ภายใต้ชื่อทางการค้า (Phosphatesmo KM ; Machery – Nagel ; Duren) โดยนำตัวอย่างที่ได้จากไม้ Swab หยดลงในแผ่น strip สังเกตการณ์เปลี่ยนสีโดยตรง แปลผลโดย นักเทคนิคการแพทย์ หรือ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์
- Zinc test ใช้น้ำยา Hooft's improved reagent หยดสาร โดยตรง 2 หยด ลงในตัวอย่าง Vaginal แปลผลเมื่อสีเริ่มเปลี่ยน โดย นักเทคนิคการแพทย์ หรือ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

Slide ที่ถูกเตรียมด้วยวิธีการย้อมทางเซลล์วิทยา คู่ด้วยสียตา (ปรับกล้องด้วยแสงอ่อน) ค่าของวิธีการทางชีวเคมี ในการเปรียบเทียบกับวิธีการทางเซลล์วิทยา (เป็นวิธีการที่ใช้ในการอ้างอิงในครั้งนี้) ประเมินค่าโดยการคำนวณความไว ความจำเพาะเจาะจง การทำนายค่าบวกและการทำนายค่าลบ การแปรผันเชิงปริมาณ โดยการใช้สถิติ T – test ศึกษาและการพิจารณาค่า Significant 5% ทั้ง 174 ตัวอย่างเหมาะสมสำหรับโดยใช้ Acid phosphatase test และ 171 ตัวอย่างตรวจโดย Zinc test

ผลการทดลอง

จำนวนเฉลี่ยตัวอสุจิต่อวงกล้องจุลทรรศน์ ในตัวอย่าง Acid phosphatase test
ตัวอย่าง Acid phosphatase test ที่ให้ค่าลบ = 0.0006 (max 0.04)

ตัวอย่าง Acid phosphatase test ที่ให้ค่า บวก = 15.24 (SD 39.10)

พบข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $t = 3.05$ $p = 0.003$

การเปรียบเทียบกับวิธีการทางเซลล์วิทยา	ความไว	95%
	ความจำเพาะเจาะจง	96%
	การทำนายค่าบวก	93%
	การทำนายค่าลบ	98%

(ตารางที่1)

Table 1 Detection of sperm with the acid phosphatase test and cytology

	Cytology - (n = 111)	Cytology + (n = 63)
Acid phosphatase test - (n = 110)	107	3
Acid phosphatase test + (n = 64)	4	60

ตัวอย่างที่เก็บภายใน 24 ชม. - 2 ตัวอย่างจาก 63 ตัวอย่าง (3.2%) ให้ผลบวกกับเซลล์วิทยาแต่ Acid phosphatase test ให้ผลเป็นลบ อัตราการตรวจพบ 96.8%

ตัวอย่างที่เก็บภายใน 48 ชม. - อัตราการตรวจพบ 88.9%

เวลา 106 ชม.สามารถจะตรวจพบ Acid phosphatase test ที่มีค่าเป็นบวก ได้

ในการศึกษาครั้งนี้ ในสี่ตัวอย่างที่ผล Acid phosphatase test มีผลเป็นบวก แต่ Cytology มีผลเป็นลบ (ผลบวกปลอม=False positive) แสดงให้เห็นว่า

- จาก 4 ตัวอย่างนี้ ได้เก็บตัวอย่างก่อน ระหว่าง 10 ชม. และ 36 ชม. หลังการมีเพศสัมพันธ์ เพราะฉะนั้นจึงมี Acid phosphatase ที่ยังคงทำงานอยู่ ดังนั้นจะได้ผลบวกที่เป็นไปตามหลักวิชาการ ในการวิเคราะห์เอนไซม์

- มีผู้ชายส่วนหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มพิเศษ คือ กลุ่ม Azoospermia (ไม่พบตัวอสุจิ ต่อการหลั่งน้ำอสุจิ 1 ครั้ง) หรือ Oli gospermia (มีปริมาณอสุจิน้อยกว่า 40 ล้านตัวต่อการหลั่งน้ำอสุจิ 1 ครั้ง) นี่อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้การนับตัวอสุจินั้น มีน้อยนับได้ยากในทางเซลล์วิทยา

จำนวนเฉลี่ยของตัวอสุจิที่ตรวจพบต่อกล้องจุลทรรศน์ พบข้อมูลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่สัมพันธ์กับผลการทดสอบ Zinc test ($t = 30.5$, $p = 0.003$)

เมื่อ Zinc test ให้ผลเป็นลบ = 3.60 ตัวอสุจิที่สังเกตจากกล้องจุลทรรศน์ ($SD = 24.55$) เปรียบเทียบกับ 6.71 ($SD = 24.58$) เมื่อ Zinc test ให้ผลเป็นบวก เมื่อเปรียบเทียบกับ เซลล์วิทยา

ความไว	81%
ความจำเพาะเจาะจง	54%
ทำนายค่าบวก	49%
ทำนายค่าลบ	84%

(ตารางที่ 2)

Table 2 Detection of sperm with the zinc test and cytology

	Cytology - (n = 109)	Cytology + (n = 62)
Zinc test - (n = 70)	59	11
Zinc test + (n = 101)	50	51

อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า Acid phosphatase test มีความไวที่ดี และมีความจำเพาะที่ดี และมันทำนายค่าเป็นลบ ได้ 98% ขณะที่มันเหมาะสมในการ ตรวจคัดกรอง และมันไม่เหมาะสมในการใช้ตรวจยืนยัน การศึกษาถึงตัวอย่างที่ Acid phosphatase test มีผลเป็นบวกแต่ผลทางเซลล์วิทยามีผลเป็นลบ แสดงให้เห็นว่า ผู้ชายนั้นอาจจะมีตัวสูจิน้อย หรือ ผู้ชายนั้นเป็นหมัน (มีตัวสูจิน้อยหรือไม่มีเลย) ถูกยกเป็นคำถามที่ว่า Acid phosphatase test ไม่ไวกว่าวิธีเซลล์วิทยา ในกรณีดังกล่าว

ในอีกทางหนึ่ง การตรวจหา Acid phosphatase test และเทคนิคในการวัดอาจถูกขัดขวางโดยระยะเวลาที่จำกัดของเอนไซม์ ในการศึกษาครั้งนี้ระยะเวลานานที่สุดที่สามารถจะตรวจพบผลบวกที่เป็นไปได้ ถึง 106 ชม. ระหว่างการมีเพศสัมพันธ์และการสุ่มเก็บตัวอย่าง (Fig 1)

วิธี Zinc test ทำให้เห็นว่าตรวจหาอสุจิ ในระยะเวลานานได้ ขณะที่ Zinc test เป็นวิธีที่น่าสนใจในทางทฤษฎี ทว่าเขาพบว่ามันทำให้น่าผิดหวังในทางปฏิบัติ มีโอกาสเพียง 50-50 เท่านั้น ที่ตัวอย่าง Zinc test ที่มีผลเป็นบวก จะมีตัวสูจิอยู่จริง (ค่าทำนายมีผลเป็นบวก 49%) และค่าทำนายมีผลเป็นลบ มีค่าที่ต่ำเกินไปสำหรับวิธีการตรวจคัดกรอง

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้ยืนยันได้ว่า Acid phosphatase test เป็นประโยชน์ที่ใช้ในการตรวจคัดกรอง ที่ใช้งานประจำวันในทางนิติเวช เพราะว่ามันใช้ง่าย และให้ผลอย่างรวดเร็ว และให้ค่าทำนายค่าเป็นลบที่สูง และมันแสดงให้เห็นว่าเป็นการตรวจที่เป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับผู้พิสูจน์ในคดีข่มขืน (ตรวจติดตามระยะเวลาเพื่อที่จะอธิบายในคดีข่มขืน)

Zinc test ดูเหมือนจะเป็นประโยชน์ในทางทฤษฎี แต่มันไม่เป็นที่น่าพอใจในการตรวจหาน้ำอสุจิ

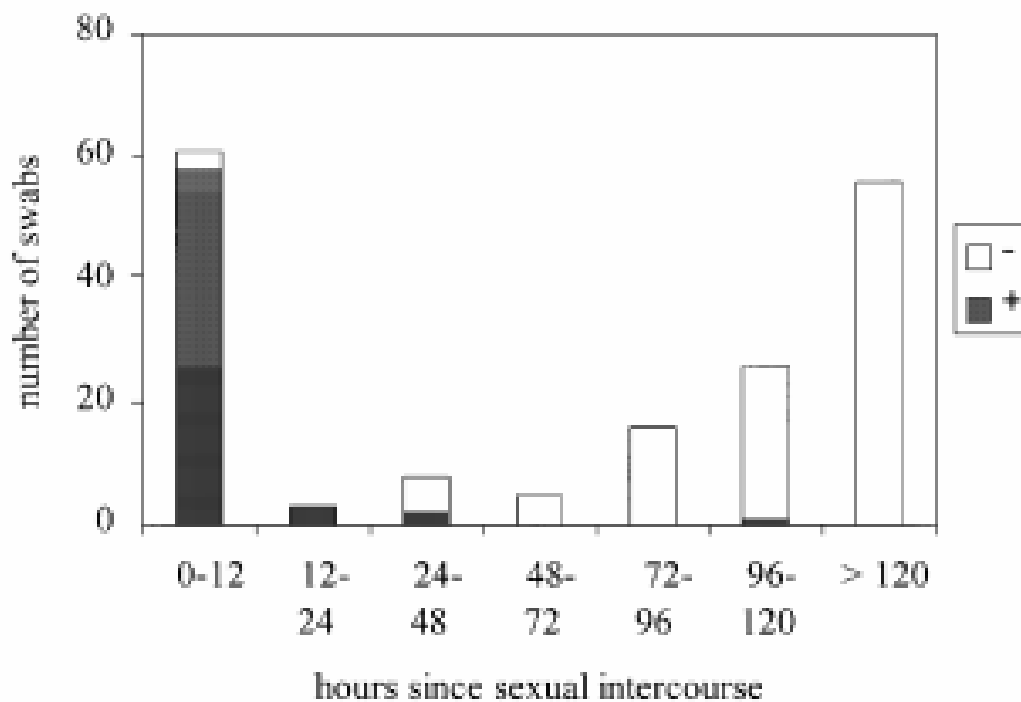


Fig. 1 Internal vaginal swabs. Frequency of positive swabs tested with the acid phosphatase technique according to time since intercourse.

ภาพที่ 1 ไม้พันสำลีที่ป้ายภายในช่องคลอด. ความถี่ของไม้พันสำลีที่ให้ผลบวกกับการตรวจด้วยเทคนิค Acid phosphatase ตลอดคล้องกับเวลาเริ่มการมีเพศสัมพันธ์

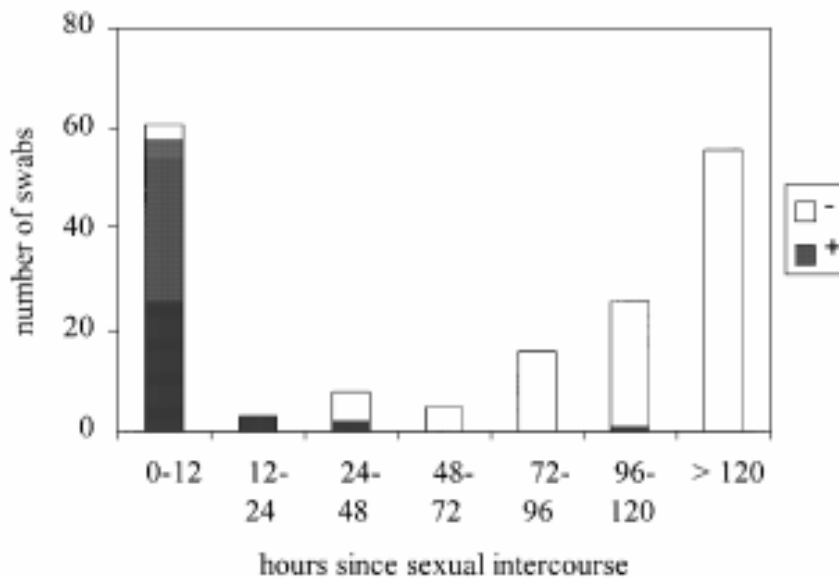
เอกสารอ้างอิง

1. Ricci LR, Hoffman SA. Prostatic acid phosphatase and sperm in the postcoital vagina. *Ann Emerg Med* 1982; 11: 530–534.
2. Davies A, Wilson E. The persistence of seminal constituents in the human vagina. *Forensic Sci* 1974; 3: 45–55.
3. Davies A. Evaluation of results from tests performed on vaginal, anal and oral swabs received in casework. *J Forensic Sci Soc* 1977; 17: 127–130.
4. Haimovici F, Anderson DJ. Detection of semen in cervicovaginal secretions. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; 8(3): 236–238.
5. Willott GM, Allard JE. The detection of spermatozoa in the mouth. *J Forensic Sci Soc* 1986; 26: 125–128.
6. Willott GM, Allard JE. Spermatozoa: their persistence after sexual intercourse. *Forensic Sci Int* 1982; 19: 135–154.
7. Collins KA, Rao PN, Hayworth R, Schnell S, TapMP, Lantz PE, Geisinger KR, Pettenati MJ. Identification of sperm and non-sperm male cells in cervicovaginal smears using fluorescence in situ hybridization: applications in alleged sexual assault cases. *J Forensic Med* 1994; 39: 1347–1355.
8. Forensic Science Research and Training Center Laboratory Division – F.B.I. Academy. Proceedings of a forensic science symposium on the analysis of sexual assault evidence, July 6–8, 1983. Washington, DC: US Government Printing Office, 1984.
9. Hooft P, Van de Voorde H. In vitro changes in human spermatozoa exposed to gastric juice: laboratory findings as a support for forensic practice. *Z Rechtsmed* 1988; 101: 41–44.
10. Hooft P, Van de Voorde H. The zinc test as an alternative for acid phosphatase spot tests in the primary identification of seminal traces. *Forensic Sci Int* 1990; 47: 269–275.
11. Hooft P, Van de Voorde H, Van Dijk P. A more sensitive modification of the zinc test for seminal traces suitable for stable test paper strips. *Forensic Sci Int* 1992; 53: 131–133.
12. Hooft P, Van de Voorde H. Evaluation of the modified zinc test and the acid phosphatase test as preliminary screening methods in sexual assault case material. *Forensic Sci Int* 1992; 53(2): 135–141.

13. Hooft P, Van de Voorde H. Interference of body products, food and products of daily life with the modified zinc test and the acid phosphatase test. *Forensic Sci Int* 1994; 66(3): 187–196.
14. Merz B. DNA fingerprints come to court. *JAMA* 1988; 37(2): 99–108.
15. Young WW, Bracken AC, Goddard MA, Matheson S. Sexual assault: review of a national model protocol for forensic and medical evaluation. New Hampshire Sexual Assault Medical Examination Protocol Project Committee. *Obstet Gynecol* 1992; 80(5): 878–883.
16. Suzuki O, Asano M, Kido A, Oya M. Zinc test as a new tool for identification of human seminal stains. *Forensic Sci Int* 1983; 22: 231–235.
17. Pawlowski R, Brinkmann B. Evaluation of sperm specific lactate dehydrogenase isoenzyme C4; application to semen detection in stains. *Int J Legal Med* 1992; 105(2): 123–126.
18. Graves HCB, Sensabaugh GF, Blake ET. Postcoital detection of a male specific semen protein. *N Engl J Med* 1985; 312: 338–343.
19. Keil W, Bachus J, Troger HD. Evaluation of MHS-5 in detecting seminal fluid in vaginal swabs. *Int J Legal Med* 1996; 108(4): 186–190.
20. Lolov SR, Yomtova VM, Tsankov Y, Kehayov IR, Kyurkchiev SD. An express immunological method for detection of human seminal plasma. *Forensic Sci Int* 1992; 54(1): 39–50.
21. Du Chesne A, Bajanowski T, Rand S. Prostaglandin E in vaginal smears: a possibility for sperm detection in azoospermia. *Arch Kriminol* 1992; 190(1–2): 29–35.
22. Allery JP, Telmon N, Miesusset R, Blanc A, Rougé e d. Cytological detection of spermatozoa: comparison of three staining methods. *J Forensic Sci* 2001; 46(2): 349–351.

คำถามในการสัมมนา

1. จากตารางที่ 3 ทำไมการตรวจด้วยวิธี Acid phosphatase test ให้ผลบวกที่ ชั่วโมงที่ 108 โดยในชั่วโมงที่ 24 – 107 ชั่วโมง ให้ผลเป็นลบ คุณคิดว่าเพราะสาเหตุใด



ตอบ จากผลการทดลองของผู้ทำวิจัยในครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า

- สาเหตุที่ 1 สภาพแวดล้อมของผู้หญิง (ช่องคลอด) อาจจะได้ไม่มีการชำระล้าง ช่องคลอดทำให้เอนไซม์ Acid phosphatase ยังคงอยู่ และมีปริมาณเพียงพอที่จะทำให้เกิดผลบวกได้ หรือ ไม่ได้มีกิจกรรมที่ทำให้เอนไซม์นั้นเสื่อมสลายหรือหายไปในช่วงการเก็บตัวอย่าง
- สาเหตุที่ 2 วิธีการเก็บ Specimen อาจจะทำให้การเก็บที่ไม่เหมาะสม จากหลักวิธีการตำแหน่งที่จะพบอสุจิมากที่สุด คือ ปากมดลูก หรือ อาจจะเก็บได้ไม่เพียงพอที่จะทำให้ Acid phosphatase test เป็นบวกได้

2. คุณคิดว่าสาเหตุใดที่ทำให้ผล Acid phosphatase test มีผลเป็นบวก แต่วิธีการทาง Cytology มีผลเป็นลบ

ตอบ จากผลการทดลองของผู้วิจัยในครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า

- สาเหตุที่ 1 เนื่องจากผู้ชายอาจจะมีปริมาณตัวอสุจิน้อยที่เรียกว่า Oligospermia มากกว่าหรือเท่ากับ 40 ล้านตัว หรือพวกเป็นหมัน (Azoospermia) อาจตรวจไม่พบ Sperm Cell ทำให้ผลทาง Cytology เป็นลบได้ แต่ก็ยังคงมีน้ำอสุจิที่จะทำให้ Acid phosphatase test เป็นบวกได้
- สาเหตุที่ 2 ปริมาณตัวอสุจิน้อย ทำให้เวลาในการทำ Cytology อาจไม่พบผล เกิดเป็นลบ ปัจจัยที่ส่งผลต่อการตรวจทาง Cytology มี
 - + ปริมาณของ Sperm Cell

+ ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

+ วิธีการเก็บ

3. เอนไซม์ Acid phosphatase ทำหน้าที่อะไรในน้ำอสุจิ และมี PH เท่าใด

ตอบ ซีรัมปกติประกอบด้วย Acid phosphatase isoenzyme อย่างน้อย 3 ตัว โดย

ยังไม่ทราบแหล่งกำเนิดที่แน่นอน อาจมาจาก platelets เซลล์เม็ดเลือดเม็ดเลือดแดง ตับ ม้าม ส่วน prostatic acid phosphatase จะมีใน prostatic เท่านั้น ส่วนในซีรัมทั้งของเพศหญิงและเพศชายที่ปกติ จะมีระดับที่ใกล้เคียงกันเสมือนหนึ่งว่ามีสิ่งกีดขวางการเข้าสู่กระแสเลือดของ prostatic acid phosphatase

ปัจจุบันนี้ยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่นอนของ prostatic acid phosphatase แต่เข้าใจว่ามีส่วนสำคัญต่อการ fertilization

Acid phosphatase ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาได้ดีที่สุดในสภาวะเป็นกรด (pH 4.8 – 6.0)

น้ำอสุจิมักมีฤทธิ์เป็นด่าง ค่า pH ปกติอยู่ระหว่าง (pH 7.2 – 8.5)

อ้างอิงจาก <http://www.medtechzone.com/data/chem/ALP.php>

4. สังกะสีมีหน้าที่อะไรในน้ำอสุจิ และมีปริมาณเท่าใด

ตอบ สังกะสีเป็นจุลสารอาหารที่สำคัญในระบบสืบพันธุ์ มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการทำงานของเซลล์สืบพันธุ์ในเพศชาย ปริมาณปกติคือ 100-200 mg/L และปริมาณปกติที่พบในพลาสมา คือ 1 mg/L

สำหรับผู้ชายเป็นเพศที่สูญเสียปริมาณสังกะสีในร่างกายได้ง่าย เพราะทุกครั้งที่มีการหลั่งน้ำอสุจิ สังกะสีปริมาณ 5 มิลลิกรัมซึ่งเป็นปริมาณมากถึง 1 ใน 3 ของปริมาณสังกะสีที่ร่างกายต้องการต่อวันจะถูกขับออกจากร่างกาย ดังนั้น ผลเสียที่ตามมาจากการที่ร่างกายขาดสังกะสีก็คือ ความต้องการทางเพศลดลง และโอกาสที่จะเป็นหมันสูง รวมทั้งสูญเสียประสิทธิภาพในการดมกลิ่นและรับรส แหล่งที่มาของอาหารเสริมชนิดนี้ได้แก่ อาหารทะเลจำพวกหอยนางรม ถั่ว เมล็ดพืช ธัญพืช และเนื้อสัตว์ ส่วนข้อควรระวังสำหรับการกินแร่ธาตุประเภทสังกะสีก็คือ ในกรณีที่คุณบริโภคสังกะสีมากกว่าวันละ 25 มิลลิกรัม เป็นประจำอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการคลื่นไส้และท้องผูกตามมา

5. ถ้าพบแต่ตัวอสุจิจะทำให้ Zinc test บวกได้หรือไม่

ตอบ ยังไม่มีผู้ใดทำการทดลอง และผู้วิจัยไม่ได้กล่าวถึง

โดยส่วนตัวคิดว่าไม่ทำให้มีผลเป็นบวก เนื่องจาก การตรวจ Zinc test นั้นเป็นการตรวจหาปริมาณสังกะสีในน้ำอสุจิเท่านั้น สำหรับตัว Sperm Cell นั้นมิได้มีองค์ประกอบของสังกะสี และโดยทั่วไปแล้วหากเกิดการมีเพศสัมพันธ์ และมีการหลั่งน้ำอสุจิออกมา ก็จะต้องมีสังกะสีออกมาด้วยเสมอ และที่สำคัญ Sperm Cell ไม่สามารถจะเคลื่อนที่ออกมาได้หากปราศจากน้ำอสุจิ

6. หากการตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจ Acid phosphatase test ผลเป็นบวก แต่ การตรวจทาง Cytology ผลเป็นลบ จะมีความเชื่อถือได้มากแค่ไหน
 ตอบ น่าเชื่อถือได้ว่าสิ่งส่งตรวจนั้น “น่าจะเป็นน้ำอสุจิ” เพราะพบสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำอสุจิ แต่ไม่พบ Sperm Cell

หากผล Acid phosphatase เป็นบวก และผลทาง Cytology เป็นบวก การแปลผล ก็จะได้ว่า สิ่งส่งตรวจนั้นเป็นน้ำอสุจิ เพราะพบทั้งสารที่เป็นตัวอสุจิ และ สารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำอสุจิ

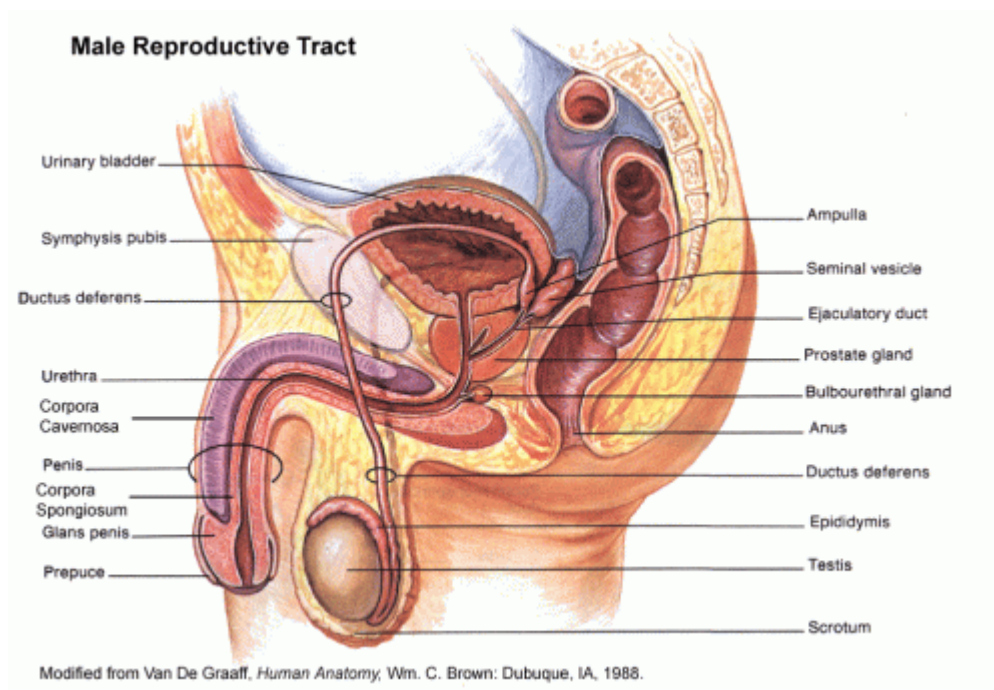
นอกจากการตรวจ Acid phosphatase test ยังมีการตรวจทาง อิมโมโนโลยีเช่น

- PSA (Prostate – Specific antigen)
- P₃₂ Protein
- Lactate dehydrogenase isoenzyme C₄
- Seminal vesicle- specific antigen
- Spermatozoid wall – specific antigen
- และแม้แต่การตรวจหาสารพันธุกรรม DNA typing

การตรวจเหล่านี้เป็นการยืนยันการตรวจพบอสุจิด้วยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ที่มีความน่าเชื่อถือ และเพิ่มคุณค่าของพยานหลักฐานเพื่อใช้ในการพิจารณาคดี

บทบาทวรรณกรรม

อสุจิเกิดขึ้นได้อย่างไร



ภาพแสดงส่วนประกอบของอวัยวะสืบพันธุ์เพศชาย

ที่มา : <http://202.44.68.33/node/11480>

จากรูปจะเห็นส่วนประกอบต่างๆทั้งภายนอกและภายในของอวัยวะเพศชายอวัยวะเพศภายนอกประกอบด้วยองคชาติและถุงอัณฑะภายในถุงอัณฑะจะมีลูกอัณฑะซึ่งทำหน้าที่สร้างตัวอสุจิและสร้างฮอร์โมนเพศตัวอสุจิที่ถูกสร้างจะถูกนำไปเก็บไว้ที่ถุงผลิตน้ำอสุจิหรือถุงพักน้ำกามต่อจากนั้นจะมีท่อหลังน้ำกามนำน้ำกามมาสู่ท่อปัสสาวะปกติ น้ำกามจะถูกสร้างและนำมาเก็บสะสมไว้ที่ถุงพักน้ำกามนี้ตลอดเวลาเมื่อน้ำอสุจิมียจำนวนมากก็จะมีความรู้สึกทางเพศและมีความต้องการทางเพศสูงกว่าปกติและจะเกิดการจับน้ำกามที่กำลังจะล้นนี้ออกมาเองทางท่อปัสสาวะภายใต้กลไกทางจิตใจในตอนกลางคืนความรู้สึกทางเพศจะกระตุ้นให้เกิดความฝันทางเพศเช่นฝันว่าได้กอดจูบหรือร่วมเพศแล้วจะเกิดความรู้สึกทางเพศอย่างสูงจนหลังน้ำอสุจิออกมาในขณะที่หลับเรียกว่า“ฝันเปียก”ปรากฏการณ์เช่นนี้แสดงว่าร่างกายเริ่มมีการสร้างน้ำอสุจิอย่างต่อเนื่องด้วยอิทธิพลของฮอร์โมนเพศชายซึ่งก็แสดงว่าเริ่มเข้าสู่วัยรุ่นนั่นเอง

ผิวหนังบริเวณอวัยวะเพศนี้จะมีผิวที่ไวต่อการกระตุ้นมากเป็นพิเศษเมื่อไปถูกต้องสัมผัสเข้าจะเกิดความรู้สึกทางเพศองคชาตจะแข็งตัวและขยายตัวขึ้นถึงสองสามเท่าการเกิดความรู้สึกทางเพศจากการได้มองภาพโป๊หรือจากจินตนาการทางเพศก็ทำให้เกิดการแข็งตัวขององคชาตได้เช่นกันเมื่อความรู้สึกทางเพศลดลง

องคชาตก็จะคืนตัวกลับสู่สภาพเดิมในวันหนึ่งองคชาตอาจแข็งตัวได้หลายครั้งบางครั้งอาจเกิดขึ้นในสถานการณ์ที่ไม่เหมาะสมเช่นในขณะที่เรียนหนังสือหรืออยู่ต่อหน้าผู้อื่นอาจทำให้รู้สึกอายหรือวิตกกังวลเกรงว่าผู้อื่นจะมองเห็นการเบี่ยงเบนความคิดหรือการกระทำที่พ้นจากเรื่องเพศในขณะนั้นจะช่วยให้องคชาตอ่อนตัวลงได้อย่างรวดเร็ว น้ำอสุจิเป็นของเหลวสีขาวข้นประกอบด้วยตัวอสุจิและของเหลวที่สร้างขึ้นจากถุงผลิตน้ำหล่อเลี้ยงอสุจิหรือถุงพักน้ำกามต่อมลูกหมากและต่อมเคปเปอร์ของเหลวนี้จะเป็นอาหารของตัวอสุจิและช่วยให้ตัวอสุจิแข็งแรงเดินทางได้สะดวกเมื่อมีการกระตุ้นทางเพศจนถึงระยะ“สุดยอดทางเพศ”จะมีการฉีดน้ำอสุจิออกมาทางท่อปัสสาวะเป็นจังหวะๆประมาณ10ครั้งห่างกันครั้งละ1วินาทีรวมจำนวนน้ำอสุจิที่หลั่งออกมาประมาณ2-6ลูกบาศก์เซนติเมตรซึ่งจะมีตัวอสุจิประมาณ120-250ล้านตัว

ตัวอสุจิเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศชายที่ผลิตขึ้นมาจากลูกอัณฑะมีขนาดเล็กมากมองด้วยตาเปล่าไม่เห็นตัวอสุจิประกอบด้วยส่วนหัวส่วนกลาง(ลำตัว)และส่วนหางซึ่งจะโบกสะบัดทำให้ตัวอสุจิเคลื่อนที่ได้เมื่อมีเพศสัมพันธ์กันจนถึงจุดสุดยอดตัวอสุจิจะถูกหลั่งออกมาภายในช่องคลอดของฝ่ายหญิงหลังจากนั้นตัวอสุจิจะแหวกว่ายเข้าไปในมดลูกและต่อมดลูกจนไปพบ“ไข่”ของเพศหญิงตัวอสุจิจะไขเข้าไปภายในไข่ได้เพียงตัวเดียวและผสมกับไข่นั้นเกิดเป็นตัวอ่อนของเด็กรวมการผสมระหว่างตัวอสุจิและไข่นี้เรียกว่า“การปฏิสนธิ”

อวัยวะที่สำคัญในระบบสืบพันธุ์เพศชาย ประกอบด้วย

1. อัณฑะ (Testis) เป็นต่อมรูปไข่ มี 2 อัน ทำหน้าที่สร้างตัวอสุจิ (Sperm) ซึ่งเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศชาย และสร้างฮอร์โมนเพศชายเพื่อควบคุมลักษณะต่างๆของเพศชาย เช่น การมีหนวดเครา เสียงห้าว เป็นต้น ภายในอัณฑะจะประกอบด้วย หลอดสร้างตัวอสุจิ (Seminiferous Tubule) มีลักษณะเป็นหลอดเล็กๆ ขดไปขดมาอยู่ภายใน ทำหน้าที่สร้างตัวอสุจิ หลอดสร้างตัวอสุจิมีข้างละประมาณ 800 หลอด แต่ละหลอดมีขนาดเท่าเส้นด้ายขนาดหยาบ และยาวทั้งหมดประมาณ 800 เมตร

2. **ถุงหุ้มอัณฑะ (Scrotum)** ทำหน้าที่ห่อหุ้มลูกอัณฑะ ควบคุมอุณหภูมิให้พอเหมาะในการสร้างตัวอสุจิ ซึ่งตัวอสุจิจะเจริญได้ดีในอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิปกติของร่างกายประมาณ 3-5 องศาเซลเซียส

3. **หลอดเก็บตัวอสุจิ (Epididymis)** อยู่ด้านบนของอัณฑะ มีลักษณะเป็นท่อเล็กๆ ยาวประมาณ 6 เมตร ขดทับไปมา ทำหน้าที่เก็บตัวอสุจิจนตัวอสุจิเติบโตและแข็งแรงพร้อมที่จะปฏิสนธิ

4. **หลอดนำตัวอสุจิ (Vas Deferens)** อยู่ห่างจากหลอดเก็บตัวอสุจิ ทำหน้าที่ลำเลียงตัวอสุจิไปเก็บไว้ที่ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ

5. **ต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (Seminal Vesicle)** ทำหน้าที่สร้างอาหารเพื่อใช้เลี้ยงตัวอสุจิ เช่น น้ำตาลฟรักโทส วิตามินซี โปรตีน โกลบูลิน เป็นต้น และสร้างของเหลวมาผสมกับตัวอสุจิเพื่อให้เกิดสภาพที่เหมาะสมสำหรับตัวอสุจิ

6. **ต่อมลูกหมาก (Prostate Gland)** อยู่ตอนต้นของท่อปัสสาวะ ทำหน้าที่หลั่งสารที่มีฤทธิ์เป็นเบส

การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีความผิดทางเพศ

1. **การตรวจหาตำแหน่งของคราบ** คราบที่ปรากฏบริเวณเสื้อผ้าที่มีสำดำหรือสีเข้มนั้น อาจมองด้วยตาเปล่า ไม่เห็นว่าอยู่ที่ตำแหน่งใด การตรวจหาตำแหน่งของคราบในกรณีนี้ต้องใช้แสงอุลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet lamp) ส่องในห้องมืด จะทำให้มองเห็นบริเวณที่มีคราบติดอยู่ปรากฏชัดเจนต่างจากบริเวณอื่น

2. **การตรวจคราบอสุจิโดยหาตัวอสุจิ, น้ำอสุจิ**

2.1 การตรวจคราบอสุจิ

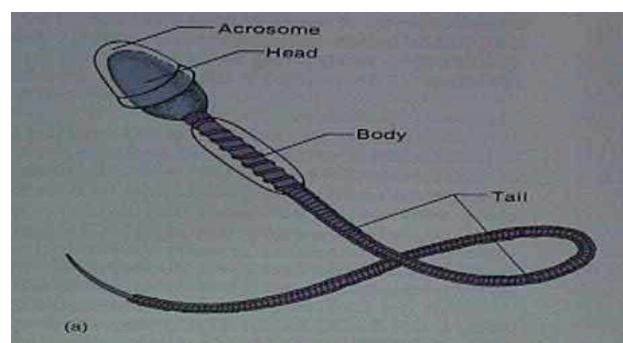
วัตถุพยานในคดีข่มขืนกระทำชำเรา ซึ่งเป็นคดีความผิดทางเพศ ที่สำคัญ คือน้ำอสุจิ ซึ่งเป็นน้ำหลังจากอวัยวะเพศชาย จากการร่วมประเวณี หรือกระตุ้นให้เคลื่อนออกมา มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวที่ขาวขุ่น สร้างขึ้นโดยต่อมลูกหมาก (Prostate gland) Seminal vesicles และ Bulbourethral โดยมี Testes เป็นตัวสร้างตัวอสุจิผสมออกมา (1) ในคนปกติ น้ำอสุจิหลังออกมาครั้งละประมาณ 2-6 มิลลิลิตร และมีตัวอสุจิจำนวนประมาณ 60 ล้าน/มิลลิลิตร โดยมีน้ำอสุจิ (semen หรือ seminal fluid) ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำ (seminal plasma) และส่วนที่เป็นเนื้อ คือ ตัวอสุจิ (sperm)

2.2 การตรวจว่าเป็นน้ำอสุจิหรือไม่

การตรวจหาตัวอสุจิเพื่อยืนยันว่ามีการร่วมประเวณีหรือไม่ กรณีมีการร่วมประเวณีใหม่ๆ สามารถตรวจพบตัวอสุจิที่กำลังเคลื่อนไหวได้ แต่ส่วนใหญ่ผู้เสียหายมักจะมาตรวจร่างกายหลังการร่วมประเวณีนานมากกว่า 1 วัน ดังนั้นจึงไม่พบตัวอสุจิที่เคลื่อนไหว การตรวจก็ดูเพียงว่ามีตัวอสุจิหรือไม่ ถ้ามีก็แสดงว่าผ่านการร่วมประเวณีมาจริง โดยทั่วไปแล้วการตรวจตัวอสุจิอาจพบได้นานถึง 3 วัน แต่จากรายงานการวิจัยบางฉบับสามารถตรวจพบตัวอสุจิได้นานถึง 2 สัปดาห์

การตรวจดูตัวอสุจิโดยการย้อมสีดูลักษณะทั่วไปของตัวอสุจิ ซึ่งประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวยังมีนิวเคลียสที่สามารถนำมาตรวจพิสูจน์ตัวบุคคลได้ อย่างไรก็ตามมีคิข่มจีนกระทำชำเราเป็นจำนวนมากที่ไม่สามารถตรวจพบตัวอสุจิได้ เนื่องจากผู้ชายที่ข่มจีนเป็นหมันหรือผ่านการทำหมัน ดังนั้นการตรวจว่าเป็นคราบอสุจิหรือไม่จึงต้องใช้การตรวจทางเคมีเพื่อหาส่วนประกอบของน้ำอสุจิ

รูปร่างของตัวอสุจิมนุษย์ ที่ลักษณะที่ประกอบด้วยส่วนหัวซึ่งเป็นรูปรีแบนกว้างประมาณ 2-3 ไมครอน ยาวประมาณ 3-6 ไมครอน ในกล้องจุลทรรศน์ทางด้านแบนจะมองเห็นหัวเป็นรูปรีคล้ายรูปไข่ ถ้าหัวอสุจิตั้งทางข้างๆจะมองเห็น เป็นรูปรียาวปลายหัวแหลม ต่อจากหัวก็เป็นส่วนลำตัวยาวประมาณ 5-9 ไมครอน กว้าง 1 ไมครอน เป็นแท่งยาวลงมา และต่อกับส่วนหางซึ่งเป็นเส้นยาว 40-50 ไมครอนหางจะทำหน้าที่โบกให้ตัวอสุจิเคลื่อนไหวไปได้นาทีละ 3-4 มม. ในน้ำอสุจิ 1 ลบ.ซม.จะมีตัวอสุจิประมาณ 60-100 ล้านตัว ในคนปกติ



ที่มา http://www.ifm.go.th/articles/article003_002.php

ดังนั้นการตรวจตัวอสุจิจึงเอาของเหลวที่ส่งสไปส่งกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบตัวอสุจิก็แสดงว่าของเหลวนั้นมีน้ำอสุจิอยู่

คราบอสุจิที่ติดตามเสื้อผ้าหรือก่อนสำลีนั่น ถ้ามีตัวอสุจิตติดอยู่ด้วย ก็ต้องมีวิธีที่จะสกัดตัวอสุจิออกจากคราบดังกล่าว โดยใช้เศษผ้าที่ติดคราบหรือสำลีที่ติดคราบแช่ลงไปใต้น้ำยาแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ (NH₄OH) โดยตัดผ้าหรือ สำลีเฉพาะส่วนที่ติดคราบออกมาเป็นเศษเล็ก ๆ แช่ทิ้งไว้จนน้ำยาขุ่น แล้วเอาเศษผ้าหรือเศษสำลีนั่นออก นำน้ำยาไปเข้าเครื่องปั่นให้ตกตะกอนตัวอสุจิถ้ามีอยู่ที่คราบจะหลุดตกรวมกับตะกอน คุณนำส่วนที่ใสเหนือตะกอนทิ้งไป เอาตะกอนไปเกลี่ยลง แผ่นกระจกแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนการตรวจตัวอสุจิต้องนำแผ่นกระจกนั้น ไปย้อมสีเพื่อให้ตัวอสุจิตติดสี สีที่ใช้ ย้อมอาจใช้ได้หลายชนิด แต่ชนิดที่เรียกว่าซิมมาท็อกซิลิน อีโอสิน (H.E.) ใช้ได้ดีเมื่อผ่านกรรมวิธีย้อมสีแล้ว จึงนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ ถ้ามีตัวอสุจิจะเห็นเป็นจุดรีขนาดเล็กติดสีน้ำเงินบริเวณปลายที่ต่อกับหางจะมีลักษณะเรียวยาวแหลม บางครั้ง อาจเห็นหางยาวติดสีแดง ปลายหัวเห็นเป็นบริเวณใส ๆ อยู่ตอนปลาย นอกจากนี้คราบอสุจิสามารถนำมาตรวจหาหมู่เลือดและเอ็นไซม์ต่าง ๆ ได้ หมู่เลือดที่ใช้ในการตรวจ คือหมู่ A.B.O และเอ็นไซม์ที่ควรรหาคือ P.O.M (Phospho-glucomutase Phenotypes) อาจนำคราบที่สงสัยจะเป็นอสุจิมาตรวจหา H.L.A.(Human Histocompatibility Leucocyte Antigen) เปรียบเทียบกับH.L.A.ของอสุจิของผู้ต้องหาได้ นอกจากนี้ยังอาจหาD.N.A. (Desoxyribonucleicacid) จากคราบที่สงสัย เป็นอสุจิในระยะเวลาถึง 1 เดือน เปรียบเทียบกับลักษณะของ D.N.A. จากผู้ต้องหา

3. การตรวจทางเคมี ส่วนประกอบของน้ำอสุจิ นอกเหนือจากตัวอสุจิแล้วยังมีสารเคมีหลายชนิด การตรวจคราบอสุจิ จึงตรวจหาสารเคมีเหล่านั้น ถ้าพบสารเคมีเหล่านั้นก็แสดงว่าคราบนั้นน่าจะเป็นอสุจิ การตรวจสารเคมีนี้ไม่ อาจยืนยันได้แน่นอนเหมือนกรณีที่ตรวจพบตัวอสุจิ เพราะสารเคมีดังกล่าวมิได้มีอยู่เฉพาะแต่ในน้ำอสุจิเท่านั้น

ในน้ำอสุจิมีสารประกอบหลายชนิด เช่น Citric acid Flavin เอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตส และสารแสดงหมู่เลือด การตรวจทางเคมีในปัจจุบัน เป็นการตรวจหาเอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตส ซึ่งมีปริมาณสูงมากในน้ำอสุจิ โดยใช้ น้ำยา alpha – naphthyl phosphate และ Brentamine Fast Blue B ทำปฏิกิริยากับคราบอสุจิซึ่งจะเกิดตะกอนสีม่วงขึ้นมา แสดงว่ามีเอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตสอยู่ แต่เนื่องจากเอ็นไซม์ตัวนี้อยู่ในส่วนอื่นๆ ของร่างกายด้วย เช่น น้ำเมือกของผู้หญิงเองแต่ปริมาณน้อยกว่ามาก การตรวจใช้การจับเวลาหากเกิดสีม่วงภายใน 60 วินาที ถือว่าให้ผลบวก คือมีเอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตสซึ่งสามารถตรวจพบได้ภายในระยะเวลาประมาณ 3 วัน หลังร่วมประเวณี เมื่อการตรวจให้ผลบวกก็จะสรุปว่าน่าจะเป็นคราบอสุจิ การจะยืนยันว่าเป็นคราบอสุจิจะต้องตรวจพบตัวอสุจิ สำหรับในกรณีคนที่เป็นหมันสามารถยืนยันได้ด้วยการตรวจโปรตีน P30 ซึ่งสามารถพบได้จากคราบอสุจิที่มีอายุนานถึง 6 เดือน การตรวจ P30 ยังสามารถยืนยันได้ว่าเป็นคราบอสุจิของมนุษย์หรือไม่

3.1 การตรวจโคลีน คือการตรวจหาสารโคลีน (Choline) ซึ่งมีอยู่ในน้ำอสุจิวิธีนี้เป็นวิธีเก่าเรียกว่า การทดสอบฟลอเรนซ์ (Florence test) วิธีนี้ใช้วิธีเคมีร่วมกับการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ วิธีการก็คือการละลายคราบ ที่สงสัยลงบนแผ่นกระจกที่สำหรับตรวจทางกล้องจุลทรรศน์แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง หยคน้ำยาที่ตรวจหาโคลีนลงไปข้างๆ บริเวณ ที่มีคราบ ถ้ามีสารโคลีน จะเกิดผลึกเป็นรูปแท่งเกิดขึ้น ผลึกนี้ต้องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในปัจจุบันวิธีนี้ใช้กันน้อย เพราะมีความไม่แน่นอนอยู่มากและการตรวจก็ไม่ไวพอ การตรวจวิธีนี้ ถ้าให้ผลบวกก็แสดงเพียงว่าคราบนั่นน่าจะเป็นน้ำอสุจิได้

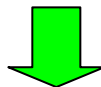
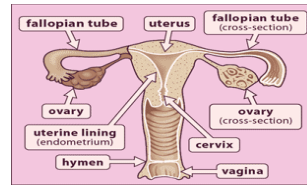
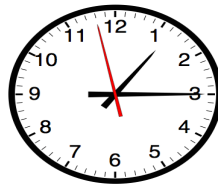
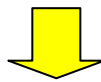
3.2 การตรวจหาสารแอซิดฟอสฟาเตส (Acid phosphatase test) สารนี้เป็นเอ็นไซม์ที่มาจากต่อมลูกหมาก (Prostate gland) และมีอยู่ในน้ำอสุจิเป็นปริมาณสูง ได้มีผู้พยายามดัดแปลงวิธีการตรวจสารนี้อย่างง่าย ๆ โดยใช้ น้ำยา หยดลงไป ในสิ่งที่สงสัยว่าจะเป็นคราบอสุจิ ถ้ามีสารแอซิดฟอสฟาเตส ปริมาณมากพอจะทำให้เกิดสีขึ้นภายใน เวลาที่กำหนด ซึ่งการทดสอบดังกล่าวนี้จะถือว่าให้ผลบวก แสดงว่าสิ่งนั้นน่าจะเป็นคราบอสุจิ เนื่องจากน้ำยาที่ใช้ทดสอบนี้ ต้องใช้ทีละน้อยเพราะมีราคาแพง สิ่งที่น่ามาตรวจต้องแบ่งมาเป็นชิ้นเล็กๆ เช่น ก้อนสำลีที่ป้ายจากบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์หรือป้ายจากภายในช่องคลอดเวลาตรวจต้องตัดแบ่งมาเพียงชิ้นเล็ก ๆ ขนาด ปลายนิ้วก็พอสำหรับคราบที่ติดตามเสื้อผ้าหรือตามที่ต่าง ๆ เวลามาตรวจต้องใช้ก้อนสำลีชิ้นป้ายเอามาหรือถ้าเป็นคราบเก่าที่แห้งมากเวลามาตรวจอาจใช้กระดาษกรองสีขาวชุบน้ำกลั่นแล้วนำไปกดทับบริเวณคราบ เพื่อให้คราบละลายติดมาที่กระดาษแล้วจึงตัดกระดาษออกเป็นเศษเล็กๆไปตรวจอีกทีหนึ่ง ในกรณีเช่นนี้ เมื่อหยคน้ำยาลงบนกระดาษ ถ้ามีสารแอซิดฟอสฟาเตสที่กระดาษจะปรากฏสี (สีแดงหรือม่วงแล้วแต่น้ำยาที่ใช้) ให้เห็นได้ที่กระดาษ

4. การตรวจว่าเป็นคราบอสุจิของใคร สามารถตรวจได้โดยตรวจหาหมู่เลือดในคราบอสุจิ เช่นเดียวกับการตรวจหาหมู่เลือดในน้ำลาย นอกจากนั้นยังตรวจหาหมู่ของเอ็นไซม์ที่มีอยู่ในน้ำอสุจิได้ด้วย ปัจจุบันนี้ยังสามารถตรวจสารพันธุกรรม (DNA TYPING) จากตัวอสุจิเพื่อเปรียบเทียบกับ ตัวอสุจิ เลือดหรือเซลล์ อื่น ๆ ของร่างกาย ผู้ต้องสงสัย เพื่อพิสูจน์ตัวบุคคลได้ด้วย

5. การตรวจเซลล์ของเยื่อบุช่องคลอด เซลล์ของเยื่อบุช่องคลอดนั้นส่วนหนึ่งจะมีลักษณะพิเศษคือมีสารที่เรียกว่า กลัยโคเจน (Glycogen) อยู่ในเซลล์เป็นจำนวนมากและสารนี้เมื่อถูกกับน้ำยาลูกกอด (Lugol's solution) จะเกิดสี น้ำตาลไหม้หรือสีช็อคโกแลต ดังนั้นแผ่นกระจกที่แตะบริเวณคออวัยวะเพศชายตามที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 2.4.2 เมื่อนำ มาตรวจในห้องปฏิบัติการโดยหยคน้ำยาลูกกอดลงไป แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้ามีเซลล์ที่มีเม็ดสีช็อคโกแลต เป็นจุด ๆ ติดอยู่ในเซลล์ แสดงว่าเซลล์นั้นเป็นเซลล์ที่มีจากเยื่อบุช่องคลอดซึ่งเป็นผลจากการร่วมประเวณีใหม่ ๆ

Experimental Diagram

Women 174 Male



Acid phosphatase

Cytology

Zinc test

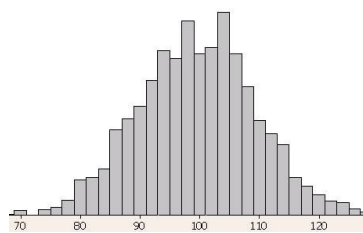
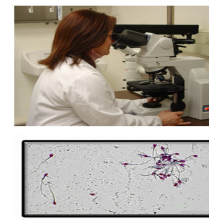
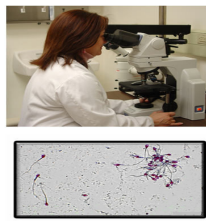
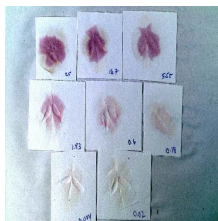
Cytology

174 samples

174 samples

171 samples

171 samples

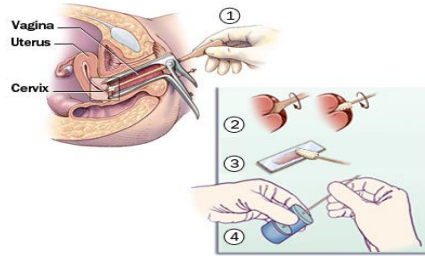


Student's t test

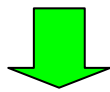


Conclusion

Cytology method



© Mayo Foundation for Medical Education and Research. All rights reserved.



Direct wet smear

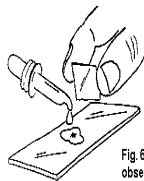
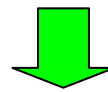
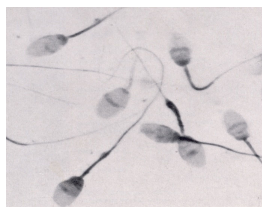
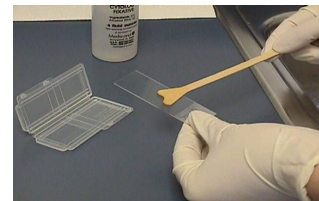


Fig. 6 - Put the sample to be observed upon a slide with two drops of water and cover with a coverslip.

Screening sperm by 40X microscopic



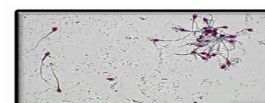
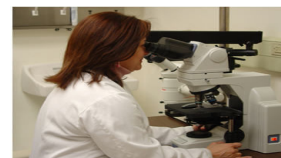
Air dried



fix in alcohol and ether



Stain with nuclear fast red or picroindigocarmine

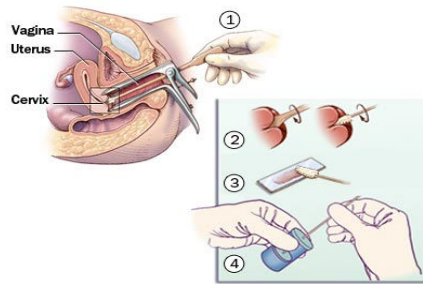


Screening sperm by 40X microscopic

Cytology was the reference test to confirm the presence of sperm in the samples.

Biochemistry

1. Acid phosphatase test



© Mayo Foundation for Medical Education and Research. All rights reserved.

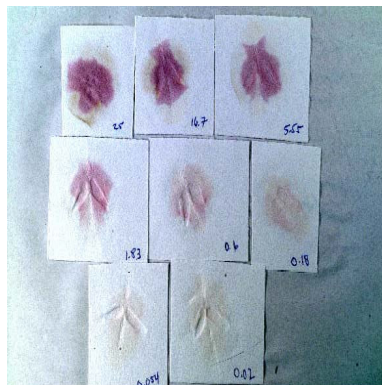
The swab is applied directly on to the paper strip



Phosphatesmo KM,

Macherey–Nagel, Duren, Germany

Alpha-naphthyl phosphate +Brentamine Fast Blue B

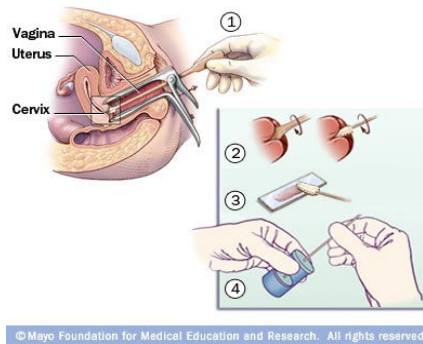


Color reaction

white → violet

Biochemistry

2. Zinc test

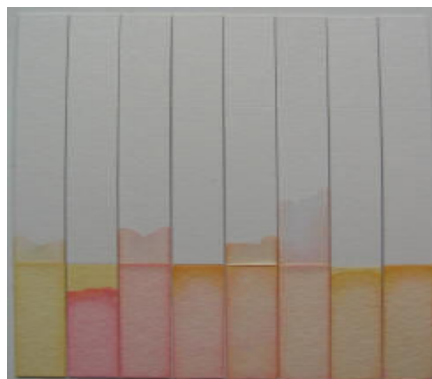


Hoof's improved reagent.

1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol



2 drops are applied directly on to the vaginal sample swab



Color reaction

yellow → pink

