

การทดสอบหาเอนไซม์ฟอสฟาเทสในรายถูกข่มขืนกระทำชำเรา ที่ รพ. จุฬาลงกรณ์

ประยงค์ มุลลออ*

Moolla-or P. Detection of acid phosphatase at Chulalongkorn Hospital in the sexually assaulted. Chula Med J 1987 Jun; 31(6) : 447-451

In a case of sexual assault, the rape victim, usually a child or a woman, is examined by the doctor for evidences. A test for semen accepted by the court is the identification of spermatozoa in stained smears from the victim's perineum or vagina, which is obviously the best proof of the presence of semen. But it is well recognized that in a fairly large proportion of true seminal stains the spermatozoa may not be present or may have been obscured or destroyed. The demonstration of acid phosphatase from the prostatic gland which is contained in a large amount in the semen is useful, and is also accepted by the court.

One hundred and forty six specimens were tested for acid phosphatase by the Davies method at the Forensic Medicine Department, Chulalongkorn Hospital, and yielded thirty three positive and one hundred and thirteen negative results. Negative results in these specimens may have depended on many factors such as a prolonged delay before the rape victim was examined by the doctor, an incorrect method of collection or handling of the specimens, etc. Positive results depend on good collection of specimens as well as receiving it within 48 hours of being sexually assaulted.

Reprint requests : Moolla-or P. Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10500, Thailand.

Received for publication. January 12, 1987.

ในคดีที่เกี่ยวข้องกับความผิดทางเพศเรื่องการข่มขืนกระทำชำเรา ผู้เสียหายไม่ว่าจะเป็นหญิงหรือเด็กหญิง พยานสำคัญคือแพทย์ผู้ตรวจร่างกายซึ่งเป็นพยานผู้ชำนาญ ซึ่งจะต้องตรวจร่างกายโดยทั่วไป ตรวจอวัยวะเพศและจากนั้นจะต้องนำชีววัตถุจากช่องคลอดหรือคราบที่ติดที่ผิวหนังบริเวณอวัยวะเพศหรือใกล้เคียงบนขนบนหัวเหน่า หรือบนเสื้อผ้ามาตรวจหาน้ำอสุจิ (semen) การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาน้ำอสุจินั้น ประกอบด้วย การหาตัวอสุจิและการหาองค์ประกอบส่วนที่เป็นน้ำ การตรวจหาน้ำอสุจิโดยอาศัยการดูตัวอสุจินั้นเกี่ยวข้องกับระยะเวลาที่ผู้เสียหายมาตรวจตั้งแต่ภายหลังถูกข่มขืนกระทำชำเราทันทีหรือจนกระทั่งถึงเวลาที่ตัดสินใจมาตรวจหรือหาตัวอสุจิ ซึ่งในบางกรณีอาจกินเวลานานมาก แต่ถึงจะไม่นานมากก็มีปัจจัยอื่น ๆ เช่น สภาพความเป็นกรดด่างของของเหลวในช่องคลอดของเจ้าทุกข์เอง หรือในรายที่ชายผู้กระทำความผิดมีภาวะที่มีเชื้ออสุจिन้อย (oligospermia) หรือไม่มีเลย (aspermia) หรือในท้ายที่สุดชายผู้กระทำความผิดอาจจะอยู่ในภาวะทำหมันมาแล้ว ดังนั้นการตรวจหาองค์ประกอบของน้ำอสุจิที่เป็นของเหลว ก็น่าจะเป็นประโยชน์กว่าหรืออาจใช้ร่วมกัน องค์ประกอบของน้ำอสุจิที่ได้มีการตรวจหาได้แก่

1. หา Flavine โดยการใช้คุณสมบัติของ flavine ที่สามารถจะเรืองแสง (fluorescence) โดยผ่าน U-V light ให้สี greenish-white โดยถือการตรวจนี้เป็นการตรวจหาอย่างคร่าว ๆ

2. หา Choline ซึ่งเป็นอีกส่วนประกอบหนึ่งของน้ำอสุจิ โดยวิธีของ Florence test ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาเคมีของ choline กับน้ำยา iodine ผลบวกจะให้ผลสีรูปเข็มหรือผลสีรูปกระสวยสีน้ำตาลของ choline periodide ดูได้ทางกล้องจุลทรรศน์ แต่วิธีนี้ก็เป็นที่ค่อนข้างจะไม่ได้ผลหรือได้ผลน้อยเพราะ Florence test จะให้ผลบวกน้อยลงอย่างมากถ้าตรวจหลัง 14 ชม. ภายหลังการร่วมเพศ⁽¹⁾

3. Barberio test เป็นปฏิกิริยาของน้ำยา Picric acid กับ Spermin ซึ่งจะให้ผลสีรูปเข็มสีส้ม

แต่ทั้ง 2-3 วิธีนี้ก็ยังคงถือเป็นการตรวจคร่าว ๆ ไม่เป็นการยืนยันที่แน่นอนได้ ยังไม่เป็นที่ยอมรับในทางคดี

4. ทดสอบหาเอซิคฟอสฟาเทส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตโดยต่อมลูกหมาก พบครั้งแรกโดย Kutscher และ Wolberg⁽²⁾ ในปี ค.ศ. 1935 ซึ่งตรวจพบในปัสสาวะ แต่ในเนื้อเยื่ออื่นพบว่ามีเอซิคฟอสฟาเทสอยู่น้อย ในปี ค.ศ.

1941 Gutman และ Gutman⁽³⁾ พบว่าในน้ำอสุจิมียุติเอซิคฟอสฟาเทสอยู่มากพอ ๆ กับในต่อมลูกหมาก และพบว่าเด็กผู้ชายก่อนระยะ puberty จะมีเอซิคฟอสฟาเทสอยู่น้อยมาก

ในปี ค.ศ. 1945 Lundquist และ Rasmussen ได้รายงานถึงการตรวจหาเอซิคฟอสฟาเทสจากคราบน้ำอสุจิบนเสื้อผ้าของกลาง แต่ยังไม่มีการนำไปใช้กันและยังไม่ยอมรับเป็นหลักฐานในทางคดีได้ จึงได้มีการค้นคว้าและดัดแปลงวิธีการตรวจให้ดีขึ้น จนกระทั่งปี 1949 Fisher⁽⁴⁾ รายงานว่าได้ใช้วิธีการตรวจหาเอซิคฟอสฟาเทสของเขาและอ้างต่อศาลจนเป็นที่ยอมรับฟังว่า การตรวจนั้นใช้ยืนยันในคดีความผิดทางเพศในเรื่องการข่มขืนกระทำชำเราได้ แต่วิธีการนี้ค่อนข้างยุ่งและซับซ้อน

ในปี ค.ศ. 1950 Walker⁽⁵⁾ ได้รายงานการตรวจหาเอซิคฟอสฟาเทสที่ทำได้ง่ายและสะดวกต่อการแปลผล ทั้งนี้โดยอาศัยหลักทาง histochemistry ของ Saligman และ Manheimer⁽⁶⁾ โดยให้ α -naphthol phosphate ทำปฏิกิริยากับเอซิคฟอสฟาเทส ซึ่งจะให้ azo pigment สีแดงส้มสดใสให้เห็นภายในเวลา 30 วินาที และเต็มที่ใน 2 นาที azo pigment จะไม่ละลายภายใต้สภาวะของการทดสอบและเกาะติดกับ back ground ณ ตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาของเอซิคฟอสฟาเทสและสีจะติดเข้มที่ขอบของรอยเปื้อนนั้น เนื่องจากปริมาณของเอซิคฟอสฟาเทสจะเข้มข้นที่นั่น

วัตถุประสงค์

รายงานนี้ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ที่จะวิเคราะห์ผลการตรวจหาเอซิคฟอสฟาเทส ที่ ร.พ.จุฬาลงกรณ์ ในระยะเวลา 5 ปี (2513-2518) ที่ผ่านมารวม 146 ราย

วัสดุและวิธีการ

ทางภาควิชานิติเวชศาสตร์ ร.พ. จุฬาลงกรณ์ ได้ใช้วิธีของ Davies (ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Walker โดยใช้ Brentamine fast blue B. เป็นสารที่ทำให้เกิดสีแทนสาร Anthraquinone 1-diazonium การใช้สารนี้ทำให้เกิดสีชมพูบนม่วงน้ำเงินแทนสีแดงส้มและอ่านผลภายใน 2 นาที) Reagents⁽⁷⁾

solution I. (Stock)

1. Sodium chloride 23 gm.

2. Glacial acetic acid 0.5 ml.

3. Sodium acetate trihydrate 2 gm. (1.2 gm.)

anhydrous) 1-3 ละลายใน distilled water 90 ml. เป็น buffer solution ซึ่งมี pH = 5

solution II.

4. Calcium naphthyl phosphate 50 mg.

5. Aerosol 1% 1 ml. 4-5 ทั้งสองชนิดบดใน morta จนกระทั่งได้ตะกอนแขวนละเอียด

6. Brentamine fast blue B. 50 mg. ละลายใน buffer Solution I ประมาณ 1 ml. แล้วรวมกับ calcium salt solution II แล้วรวม solution I ที่เหลือเข้าด้วยกันกรองโดยเร็วเก็บใส่ขวดสีน้ำตาลในตู้เย็น จำนวน reagent ที่ได้จากการกรอง 85 ml. และ pH = 5

วิธีการตรวจ

Specimen ที่ภาควิชาได้รับมาจากที่ต่าง ๆ ทั้งภายในและนอกโรงพยาบาล

1. ใช้สำลีพันปลายไม้ หล่อมาในหลอดทดลองด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือมาตรฐานจำนวนต่าง ๆ กัน (ตั้งแต่มากจนหกเปียกสำลีที่หุ้มหลอดข่มออกมาภายนอก จนกระทั่งจำนวนประมาณ 2-3 ลบ.ซม.)

2. สำลีพันปลายไม้ ป้ายน้ำในช่องคลอดท่อมมาในกระดาษสีขาวหรือสีน้ำตาล ซึ่งจะมีคราบติดบนกระดาษห่อด้วย

3. สำลีพันปลายไม้ ใส่มาในหลอดทดลองเปล่า ๆ ซึ่งในกรณีแรกจะต้องนำมาหยดในกระดาษกรอง (Whatman no. 1) จนหมดแล้วรอให้แห้ง ในกรณีที่ 2 และ 3 ก็ใช้ก้อนสำลีนั่นเลย นำมาหยดด้วยน้ำยาตรวจหาแอซิคฟอสฟาเทสลงไปให้โชก คอยดูสีที่เกิดขึ้นโดยการจับเวลาที่สีเริ่มเกิด ใช้ น้ำอสุจิจริงเป็นตัวควบคุม (control) (การเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำอสุจิที่เป็นตัวควบคุมจะให้ผลเหมือนกัน) จับเวลาดูสีชมพูที่เริ่มเกิดภายใน 30 วินาที จนเต็มทีภายใน 2 นาที เปลี่ยนเป็นสีชมพูปนม่วง เป็นปฏิกิริยาบวก สีที่เกิดขึ้นภายใน 2 นาที หรือสีส้มปนแดงหรือสีน้ำตาลเป็นผลลบ

ผล

ผลการตรวจหาแอซิคฟอสฟาเทสในรายที่ถูกข่มขืนกระทำชำเราที่ทำในภาควิชานิติเวชศาสตร์ ร.พ. จุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ พ.ศ. 2513 ถึง พ.ศ. 2518 มีจำนวนทั้งสิ้น 146 ราย ให้ผลบวกเพียง 33 ราย จากจำนวน 146 รายนี้ ได้ประวัติแน่นอนคือวันเวลาที่ถูกข่มขืนกระทำชำเราเพียง 47 ราย ทราบอายุที่แน่นอนของผู้เสียหายเพียง 112 ราย ซึ่งมีตั้งแต่ 3½ ปีจนถึง 59 ปี และระยะเวลาหลังจากถูกข่มขืนกระทำชำเราแล้วมาตรวจแตกต่างกันตั้งแต่ 2 ชม. - 10 วัน ดังแสดงไว้ในตาราง

Table Show negative and positive result relating to age group.

Age (yr)	Number of specimen	No. of Positive APT	No. of negative APT.
3½- 13	13	0	13
14 - 59	98	28	60
not identified	35	5	31

พวกที่ให้ผลบวกทั้งหมด 33 ราย ทราบระยะเวลาหลังจากถูกข่มขืนกระทำชำเราแล้วมาตรวจตั้งแต่ 2 ชม. - 2 วัน 29 ราย ไม่ทราบเวลาแน่นอน 4 ราย ใน 113 รายที่ให้ผลลบนั้นระยะเวลาหลังจากถูกข่มขืนกระทำชำเราแล้วมาตรวจแตกต่างกันตั้งแต่ 3 วัน - 10 วันมี 1 รายเป็นเด็กอายุ 3½ ปี มาตรวจหลังจากถูกกระทำชำเราแล้ว 8 ชม. แพทย์ตรวจร่างกายพบมีการฉีกขาดของทวารหนักทั้งหน้าและหลัง จึงป้ายมูก (mucus) ที่ติดอยู่ข้าง ๆ แผลมาตรวจได้ผลลบอาจเนื่องจากมูกนั้นมาจากทวารหนักไม่ใช่เป็นส่วนของน้ำอสุจิ ผลลบบจะพบในพวกที่มาตรวจ 3 วันหรือหลังจากนั้น ซึ่งตรงกับรายงานของ McCloskey⁽⁸⁾

ใน 33 รายที่ให้ผลบวกโดยการตรวจหาแอซิคฟอสฟาเทสนี้มีโอกาสตรวจหาตัวอสุจิเพื่อเป็นการยืนยันร่วมด้วยเพียง 14 รายและมี 3 รายที่ตรวจพบอสุจิ โดยที่ผลการตรวจหาแอซิคฟอสฟาเทสให้ผลลบ และให้ผลบวกร่วมกันทั้งตัวอสุจิและแอซิคฟอสฟาเทส 31 ราย

ในจำนวนคนไข้ที่มาตรวจนี้เป็นคนไข้ที่ได้จากการส่งมาจากโรงพยาบาลในต่างจังหวัดเสีย 40 ราย ซึ่งกรอกประวัติแน่นอนพร้อมกับกระดาษกรองหรือสำลีป้ายน้ำจากช่องคลอด 27 ราย ที่เหลือได้แต่กระดาษกรองหรือสำลีพันปลายไม้โดยไม่มีประวัติใด ๆ โดยให้คำวินิจฉัยว่าเพื่อตัด (Ruleout) Rape บ้าง ถูกข่มขืนบ้าง และ 2 ราย จาก

ศพโดยไม่ให้ประวัติอื่น ส่วนที่จาก ร.พ. จุฬาลงกรณ์เอง นั้นส่วนใหญ่ก็ไม่ได้ให้รายละเอียดใด ๆ นอกจากวินิจฉัยว่าถูกข่มขืนกระทำชำเรา และผู้ป่วยบางรายประวัติว่าผู้ปกครองเห็นออกจากโรงแรมโดยที่ตัวคนใช้ปฏิเสธ (และรายนี้ให้ผลลบ)

วิจารณ์

ปฏิกิริยาของการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงปนน้ำเงินภายในระยะเวลาซึ่งจำกัด (2 นาที) ใช้แยกจากสีที่เกิดจากแอซิคฟอสฟาเทสจากแหล่งอวัยวะอื่น ๆ เช่น น้ำในช่องคลอด (vagina fluid) หรือที่มาจากภายนอก (extraneous) ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะช้ากว่า เนื่องจากปริมาณที่มีน้อยกว่ามาก และสีที่เกิดก็ไม่เหมือนกันคือได้สีเหลืองหรือน้ำตาล ซึ่งในการตรวจทุกครั้งต้องมีตัวควบคุม ซึ่งเป็นน้ำอสุจิจริง ๆ ป้ายบนกระดาษกรองเป็นตัวเปรียบเทียบ

จากจำนวนคนใช้ 146 รายที่ตรวจให้ผลบวกเพียง 33 ราย (22.6%) และผลลบ 113 รายหรือ 77.4% นั้นพอจะสรุปได้ว่าน่าจะเกิดจากสาเหตุต่าง ๆ ดังนี้

1. specimen 40 ราย (27%) มาจาก ร.พ.ต่าง-จังหวัด โดยส่งมาทางไปรษณีย์ภัณฑ์ธรรมดา ซึ่งบางครั้งใช้เวลานานเกือบ 1 เดือนกว่าจะถึงมือผู้ตรวจ specimen อาจเสื่อมคุณภาพเพราะความร้อน บางครั้ง specimen ใช้สำลีพันปลายไม้ป้ายมาโดยแช่ในน้ำเกลือหรือน้ำกลั่นซึ่งหกเรี่ยราดทำให้ปริมาณของแอซิคฟอสฟาเทสเจือจางลงไปอีก

2. ในรายที่ผู้เสียหายอายุต่ำ $3\frac{1}{2}$ ปี ถูกข่มขืนรายนี้มีผลการตรวจร่างกายว่าทวารหนักมีขนาดทั้งหน้าและหลัง และมีมูกเลือดอยู่ข้าง ๆ ผลที่ฉีกขาดทั้ง ๆ ที่ระยะเวลาที่ตรวจ 8 ชม. สิ่งที่น่ามาอาจจะไม่ใช่ น้ำอสุจิ และในเด็กที่ให้ผลลบทั้งหมดนั้นน่าจะเป็นการข่มขืนกระทำชำเราไม่สำเร็จหรือสำเร็จแต่มีแผลฉีกขาดของช่องคลอดทำให้ชำระแอซิคฟอสฟาเทสออกไปโดยเร็วกว่าควร

3. ระยะเวลาที่ผู้เสียหายมาตรวจภายหลังที่ถูกข่มขืนกระทำชำเราที่ให้ผลลบที่ทราบแน่นอนคือตั้งแต่ 3 วัน ถึง 10 วัน จึงเป็นไปได้ว่าผู้เสียหายอาจจะชะล้างทำความสะอาดบริเวณอวัยวะเพศ หรือถ้าผู้เสียหายมี activity มากก็จะให้ผลลบได้

4. ใน 146 specimen นี้มีโอกาสได้ตรวจหาตัวอสุจิควบคู่ไปด้วย 45 ราย (30.82%) ซึ่งทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ การส่ง specimen มาตรวจเปิดโอกาสให้ตรวจได้ และผลที่ได้ยืนยันว่าพบทั้งตัวอสุจิและให้ผลบวกแอซิคฟอสฟาเทส

18 ราย ให้ผลลบทั้งสองอย่าง 35 และมี 3 ราย ให้ผลลบแอซิคฟอสฟาเทสให้ผลบวก ตัวอสุจิ 3 ราย ซึ่งต้องนับเป็น false negative (2%) หรืออาจจะเป็นไปได้ว่าตัวอสุจินั้นอาจอยู่ในช่องคลอดได้นานกว่าแอซิคฟอสฟาเทส (2 รายใน 3 นี้ไปส่งตรวจไม่บอกอายุแต่เขียนว่า นาง, น.ส. 1 ราย อายุ 34 ปี แต่ทั้ง 3 ราย ไม่มีประวัติอื่น ๆ ร่วมด้วย)

สรุป

ได้ทำการตรวจหาแอซิคฟอสฟาเทสจากน้ำในช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกข่มขืนกระทำชำเราโดยวิธีของ Davies ซึ่งได้ดัดแปลงมาจาก Walker's method ใช้เป็นเครื่องช่วยยืนยันว่าพบทั้งอสุจิในช่องคลอด (เพื่อเป็นพยานต่อศาล) ในผู้เสียหาย 146 รายนี้ได้ผลลบถึง 113 ราย ซึ่งเป็นจำนวนที่ค่อนข้างสูง ทั้งนี้ไม่ใช่วิธีการยังไม่ดีพอแน่นอน เพราะวิธีนี้ถือว่าเป็นวิธีที่ช่วยยืนยันว่าที่รองลงมาจาก การพบตัวอสุจิ การให้ผลลบนี้น่าจะไม่ได้ออกว่าหญิงผู้เสียหายไม่ได้ถูกข่มขืนกระทำชำเรา ทั้งนี้ น่าจะเป็นเพราะว่าการเก็บ (collect) specimen หรือการ handle specimen นั้นยังไม่ถูกต้อง และส่ง specimen มาตรวจล่าช้าเกินไป ทั้งนี้ เพราะองค์ประกอบที่สำคัญคือการที่ผู้เสียหายเอามาตรวจล่าช้า เป็นสิ่งซึ่งแพทย์ไม่สามารถจะแก้ไขได้เลย (ควรจะมาตรวจภายใน 48 ชม. เป็นดีที่สุด)

ในการศึกษานี้เน้นให้เห็นความสำคัญคือ

1. การเลือกเก็บ specimen เพื่อการทดสอบหาแอซิคฟอสฟาเทส ซึ่งควรจะเป็นกระดาษกรอง (Whatman no. 1) ป้ายน้ำในช่องคลอดหรือคราบที่สงสัย โดยใช้กระดาษกรองชุบน้ำพอลมาทาบบกับคราบน้ำนั้นทิ้งไว้ให้แห้ง⁽⁷⁾ (จากการทดลองของภาควิชาฯ คราบน้ำอสุจิจะมีแอซิคฟอสฟาเทส activity อยู่ได้นานเป็นปี)

2. การให้ประวัติของระยะเวลาของการข่มขืนกระทำชำเราของคนใช้ก่อนมาตรวจ ก็จะเป็นเครื่องช่วยชี้บ่งถึงผลบวกหรือลบที่ควรจะได้จากการทดสอบเป็นอย่างดี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหัวหน้าภาควิชานิติเวชศาสตร์ผู้อนุญาตให้รายงานผลการตรวจนี้ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการนิติพยาธิวิทยา ตลอดจนนักวิชาสูติ-นรีเวชฯ ของ ร.พ. จุฬาว ที่ทำให้น้ำอสุจิมาใช้เป็นตัวควบคุม ผลการทดสอบนี้ และท้ายที่สุดแพทย์ผู้ส่งตรวจที่ให้รายละเอียดของผู้เสียหายมาด้วย

อ้างอิง

1. Davies A, Wilson E. The persistence of seminal constituents in the human vagina. *Forensic Sci* 1974 ; Feb (1) : 45-55
2. Kutscher W, Wolberg H. Prostataphosphatase. *Ztschr. f. Physiol Chem* 1935 ; 236 : 237
3. Gutman AB, Gutman EB. Quantitative relations of a prostatic component (acid phosphatase) of human seminal fluid. *Endocrinology* 1941 Jan; 3 (1) : 115-118
4. Fisher RS. Acid phosphatase tests as evidence of rape. *N Engl J Med* 1949 May 5 ; 240 (18) : 738-739
5. Walker JT. A new test for seminal stains. *N Engl J Med* 1950 Jan 19 ; 242 (3) : 110-111
6. Saligman AM, Manheimer LH. A new method for the histochemical demonstration of acid phosphatase. *J Nat Cancer Inst* 1949 Apr-Jun ; 9 (5-6) 427-435
7. Camp FE. *Gradwohl's Legal Medicine*. 2 ed. Bristol : John Wright and Sons, 1968. 207-208
8. McCloskey KL, Muscillo GC, Noordewier B. Prostatic acid phosphatase activity in the post-coital vagina. *J Foren Sci* 1975 Oct ; 20 (4) : 630-636