

ศึกษาเซลล์เยื่อช่องคลอดของเพศหญิงด้วยวิธี Lugol iodine staining และ periodic acid schiff stain (PAS)^{*}

A study epithelial cells of women by Lugol Iodine Staining and Periodic Acid Schiff stain (PAS) Method

ยุวเรศ ทรายแก้ว^{**}

บทคัดย่อ

เซลล์เยื่อช่องคลอดเป็นวัตถุพยานทางชีววิทยาที่สำคัญในคดีที่เกี่ยวกับการข่มขืนกระทำชำเรา มีรายงานว่าตรวจพบไกลโคเจนที่อาจมาจากเซลล์เยื่อช่องคลอดติดอยู่กับตัวอย่างที่เก็บจากอวัยวะเพศชายซึ่งอาจจะระบุได้ว่าอวัยวะเพศชายได้ผ่านเข้าไปในช่องคลอด วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อตรวจหาและวัดปริมาณสารไกลโคเจนและในเซลล์เยื่อช่องคลอดในผู้หญิงช่วงอายุต่างกัน ในวัยมีประจำเดือนและหมดประจำเดือนด้วยวิธีการของ Lugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff Staining (PAS)

จากผลการทดลองพบว่า ในกลุ่มตัวอย่างพบว่าเมื่อผู้หญิงที่มีช่วงอายุที่มากขึ้นช่วงอายุที่มากขึ้นจะพบจำนวนไกลโคเจนที่น้อยลง และในกลุ่มตัวอย่างของผู้หญิงที่หมดประจำเดือนจะพบจำนวนไกลโคเจนน้อยกว่าในวัยที่มีประจำเดือนและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 และพบว่าวิธี Lugol's Iodine Staining เป็นวิธีที่สามารถใช้ทดลองหาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อช่องคลอดได้ดีที่สุด

Abstract

Vaginal epithelial cells are important biological evidences in rape cases. It has been reported that glycogen-rich epithelial cells were sometimes present in penile swabs indicating vaginal intercourse. The objective of this research is to detect and determine the glycogen-rich epithelial cells in women of different ages, having menstruation and menopause using Lugol's Iodine Staining method and Periodic Acid Schiff (PAS) staining method.

The results shown that older women were found less glycogen contents than younger women. Women having menopause were also found less glycogen cells than women having menstruation with statistical significance level [α] of 0.05. In addition, the Lugol's Iodine Staining method is the best method to detect glycogen contents of vaginal epithelial cells.

^{*} ตรวจหาสารไกลโคเจนในเซลล์เยื่อช่องคลอดของ เพศหญิงในช่วงอายุ วัยการมีประจำเดือน และวัยหมดประจำเดือน

^{**} นักศึกษาด้านนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร 06895865688 t.t1983@hotmail.com
โดยมี รศ.พ.ต.อ.สันต์ สุขวัจน์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา

บทนำ

ในปัจจุบันพยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในกระบวนการยุติธรรมมากขึ้นเนื่องจากใช้พิสูจน์การกระทำความผิดและแสดงความบริสุทธิ์ของผู้ถูกกล่าวหาได้เช่นเดียวกัน พยานหลักฐานในทางนิติวิทยาศาสตร์สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ พยานเอกสาร พยานบุคคล และพยานวัตถุ หรือจะแบ่งตามประเภทของหลักฐานเป็น ทางฟิสิกส์ ทางเคมี และทางชีววิทยาได้อีกเช่นเดียวกัน โดยทั่วไปในทางปฏิบัติแล้วมักจะนำสืบทั้ง 3 ประเภทนี้รวมกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งในคดีอาญาเพื่อใช้ประกอบการพิจารณา

ในประเทศไทยคดีอาชญากรรม ที่มักเกิดขึ้นบ่อยครั้งคือ การข่มขืนกระทำชำเราที่ส่วนใหญ่แล้วเกิดกับผู้เสียหายที่เป็นเพศหญิงและเกิดได้กับทุกวัยตั้งแต่เด็กจนถึงวัยชรา ซึ่งแต่ละครั้งที่เกิดการข่มขืนกระทำชำเราขึ้นมักจะไม่มีการแจ้งความ การสืบหาผู้กระทำความผิดจึงต้องอาศัยกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์เป็นสำคัญ โดยเก็บหลักฐานจากการตรวจร่างกายผู้เสียหายและในสถานที่เกิดเหตุ หลักฐานที่มักปรากฏพบได้เช่น เสื้อผ้า เส้นผม เส้นขน น้ำหรือคราบอสุจิ หนองเยื่อเมือก หรือก้อนเนื้อ หรือจากการตรวจตัวและอวัยวะเพศของผู้ต้องหาเอง เช่น การตรวจหาเยื่อบุทวารหนัก เยื่อบุกระพุ้งแก้ม น้ำลาย และเยื่อบุช่องคลอด เป็นต้น ซึ่งสามารถติดตามกับผู้ต้องหาได้

เยื่อบุช่องคลอดเป็นวัตถุพยานทางชีววิทยานิดหนึ่ง ที่สามารถเป็นพยานหลักฐานว่าอวัยวะเพศชายได้ผ่านเข้าไปในช่องคลอด ซึ่งใช้เป็นหลักฐานได้ว่ามีความสัมพันธ์ทางเพศระหว่างผู้เสียหายและผู้ถูกกล่าวหาในคดีข่มขืนกระทำชำเราได้ ซึ่งเก็บได้จากปลายอวัยวะเพศของผู้ต้องหาหรือพยานหลักฐานประเภทหนองเยื่อเมือกที่อาจเก็บได้จากสถานที่เกิดเหตุ บริเวณใกล้เคียง หรือสถานที่ที่น่าสงสัย การตรวจสอบเยื่อบุช่องคลอดดังกล่าวอาศัยหลักการทางชีววิทยาและมีการทดลองโดยใช้ Lugol's Iodine Staining ในรูปแบบ Lugol solution ที่กระทำต่อสารไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดเช่นเดียวกับหลักการของวิธี PAS (Periodic Acid Schiff staining) ซึ่งเป็นวิธีน่าสนใจอีกวิธีหนึ่ง ที่ปัจจุบันใช้ในห้องปฏิบัติการในการย้อมชิ้นเนื้อเช่น ตับ เพื่อหาไกลโคเจนในเช่นเดียวกัน สิ่งที่น่าสนใจจากการทดลองข้างต้นนั้นจะสามารถทดสอบและได้ผลอย่างไรบ้างเมื่อทดสอบกับเยื่อบุช่องคลอดของเพศหญิงในช่วงอายุต่างๆในวัยที่มีประจำเดือนและหมดประจำเดือนแล้ว ในคดีข่มขืนกระทำชำเรานั้นเยื่อบุช่องคลอดซึ่งเป็นพยานหลักฐานที่เก็บจากอวัยวะเพศผู้ต้องหาและพยานประเภทอื่นๆได้เช่นหนองเยื่อเมือกในที่เกิดเหตุหรือใกล้เคียงที่แสดงว่าได้เกิดการข่มขืนกระทำชำเราขึ้นจริง

จากความสำคัญและปัญหาข้างต้น ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการวิจัยเรื่องศึกษาเซลล์เยื่อบุช่องคลอดด้วยวิธี Lugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) โดยจะทำการทดสอบในเพศหญิงที่มีช่วงอายุต่างๆและในวัยที่มีประจำเดือนและหมดประจำเดือนแล้ว ด้วยวิธีข้างต้นทั้ง 2 วิธีเพื่อตรวจสอบผลที่เกิดขึ้นในคดีข่มขืนกระทำชำเราและนำมาเป็นประโยชน์ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1.1 สไลด์แก้ว ชนิดหัวสไลด์แบบผ้า

- 1.2 95% แอลกอฮอล์
- 1.3 ชุดอุปกรณ์การตรวจภายใน (Pap Smear)
- 1.4. Cover slips
- 1.5 Droppers
- 1.6 ขวดสีชา
- 1.7 กล้องจุลทรรศน์และชุดอุปกรณ์ถ่ายภาพ
- 1.8 Beakerหรือขวดแก้วหรือพลาสติกขนาด 250 ml.
- 1.9 โถแก้ว
- 1.10 เครื่องซังดิจิตอล
- 1.11 ถุงมือ
- 1.12 ดินสอ
- 1.13 ผ้าปิดจมูก
- 1.14 นาฬิกาจับเวลา

2. สารเคมี

- 2.1 Lugol's solution
 - Potassium iodide powder
 - Iodine crystal
 - น้ำกลั่น
- 2.2 Periodic Acid Schiff solution
 - 1% Periodic acid
 - Basic fuchsin
 - Potassium metabisulfite
 - HCl
 - Activated charcoal
 - น้ำกลั่น

3. ประชากรเป้าหมาย

ประชากรที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นเพศหญิงจำนวน 200 คน ที่มีช่วงอายุแตกต่างกัน

3.1 การเก็บรวบรวมข้อมูลและการเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอด

ในการเก็บเซลล์เยื่อบุช่องคลอดเพื่อให้ครบตามจำนวนที่ต้องการนั้นไม่สามารถทำการเก็บตัวอย่างได้ภายในวันเดียว ดังนั้นเพื่อป้องกันการเกิดความแตกต่างอันเนื่องมาจากการเก็บเซลล์เยื่อบุช่องคลอดในแต่ละวัน จึงได้กำหนดเงื่อนไขในการเก็บเซลล์เยื่อบุช่องคลอดไว้ดังนี้

1. เก็บสไลด์เซลล์เยื่อบุช่องคลอดใน 95% แอลกอฮอล์ (โดยปริมาตร) โดยแช่เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที

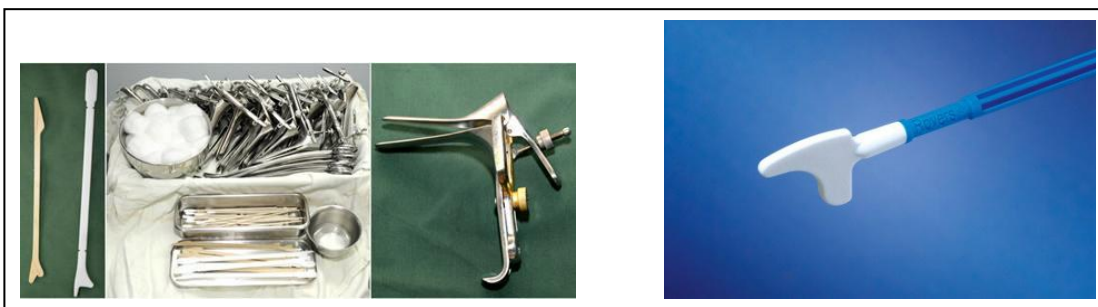
2. ตัวอย่างที่ได้จะเก็บแยกใส่ขวดและเขียนระบุชื่อและวิธีทดสอบอย่างชัดเจน
3. ไม่เก็บตัวอย่างในผู้หญิงหลังคลอดบุตร

3.2 การเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอด

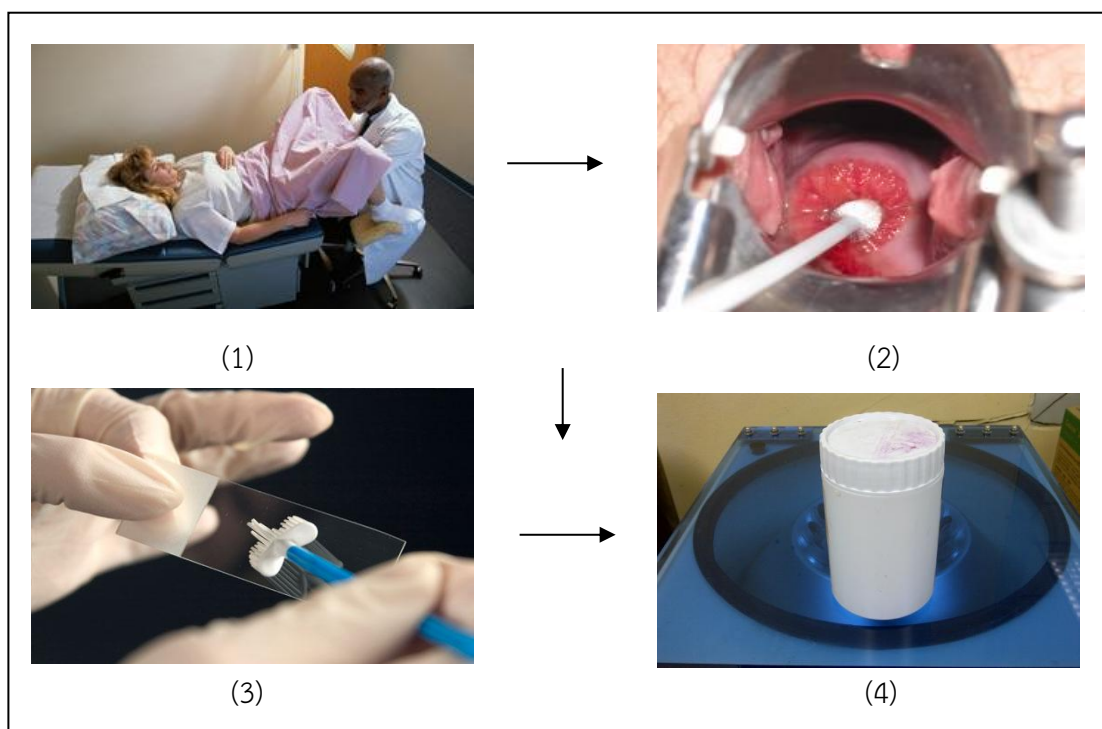
3.2.1 เตรียมขวดน้ำยาใส่ Fixative แอลกอฮอล์ 95% สไลด์แก้ว และดินสอ

3.2.2 จากนั้นเขียนชื่อตัวอย่างและชื่อย่อของวิธีที่ใช้ทดสอบ เช่น L หมายถึง Lugol's Iodine Staining หรือ PAS หมายถึง Periodic Acid Schiff Staining

3.2.3 เก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอดด้วยเทคนิคการตรวจภายใน (Pap smear) โดยสูตินารีแพทย์ สเมียร์ตัวอย่างที่ได้จากอุปกรณ์ที่เรียกว่า Spatulas (ดังภาพที่1) ลงบนสไลด์แก้วที่สะอาดแช่ในแอลกอฮอล์ 95% ทันทีเป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาที (ดังภาพที่2)



ภาพที่ 1 ชุดอุปกรณ์การตรวจภายใน (Pap Smear)



ภาพที่ 2 วิธีการเก็บตัวอย่าง

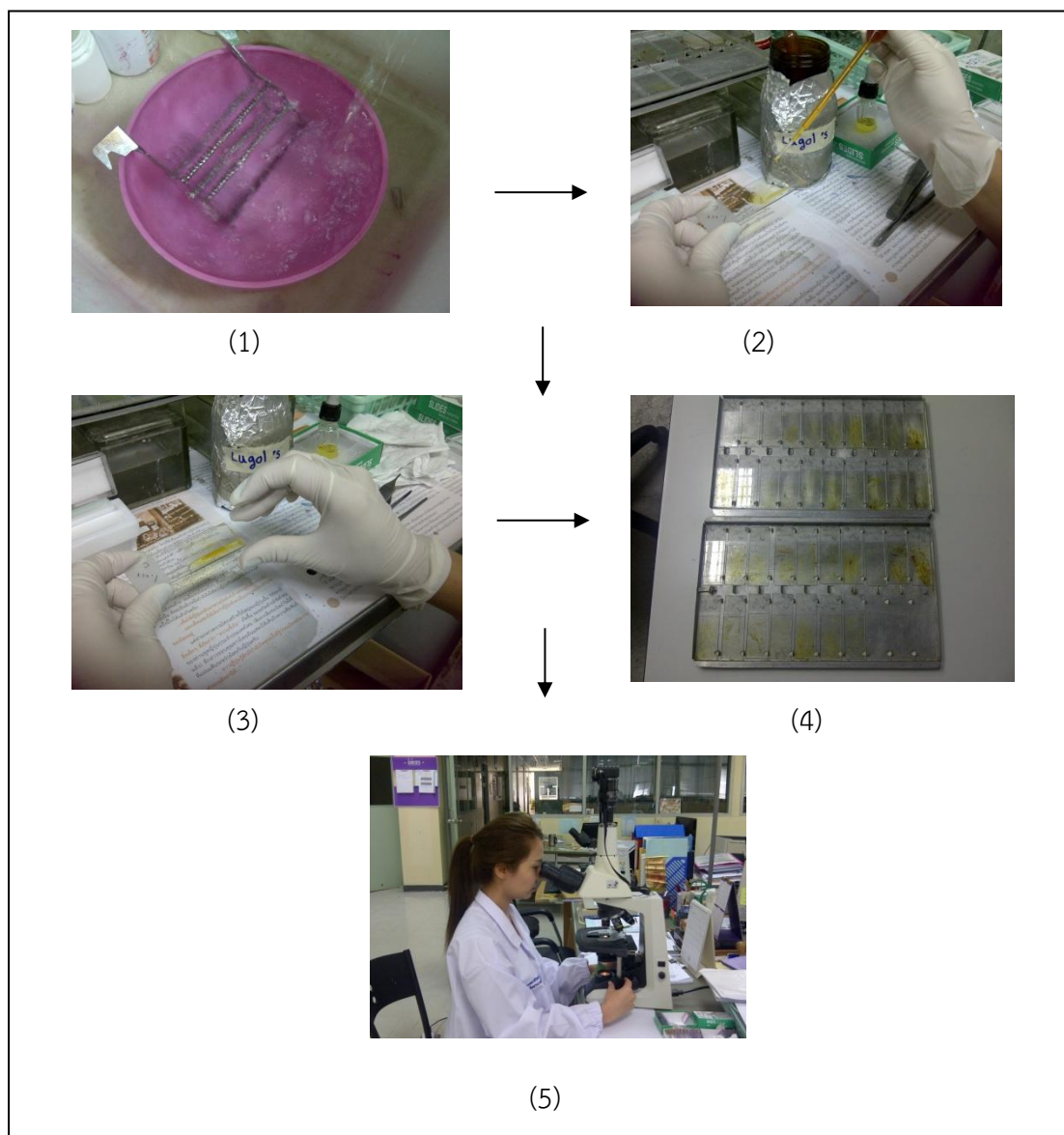
- (1) ลักษณะการ ตรวจภายใน
- (3) สเมียร์บนสไลด์แก้ว

- (2) การป้าย Pap smear
- (4) แช่ใน 95 % แอลกอฮอล์

4. การทดสอบหาปริมาณไกลโคเจน

4.1 วิธี Lugol's Iodine Staining

นำสไลด์ที่ผ่านการแช่ 95% แอลกอฮอล์ มาล้างน้ำสะอาด (Running water) เป็นเวลา 5 นาที นำขึ้นจากน้ำ ผึ่งรอให้สไลด์แห้งโดยการสังเกตจากหยดน้ำที่หายไป หยด Lugol's solution ลงบนสไลด์ให้ทั่ว ปิดด้วย Cover slips ทิ้งไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 5 นาทีและนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยายของ Objective lens ที่ 10X และ 40X ตามลำดับ นับจำนวนเซลล์ไกลโคเจนที่ให้ผลบวกคือเห็นเซลล์เป็นสีน้ำตาลไหม้หรือสีช็อคโกแลตดังภาพที่ 3

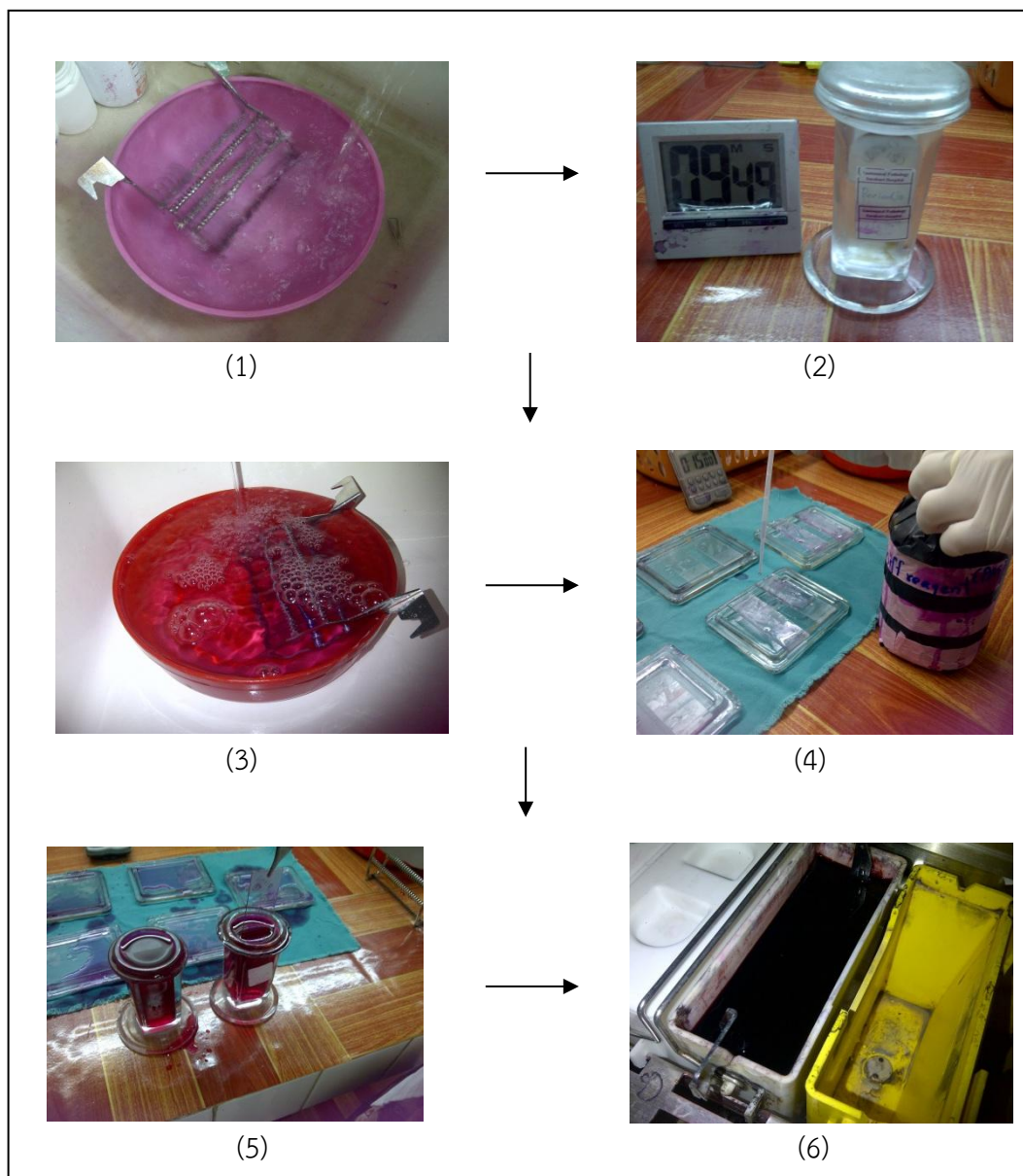


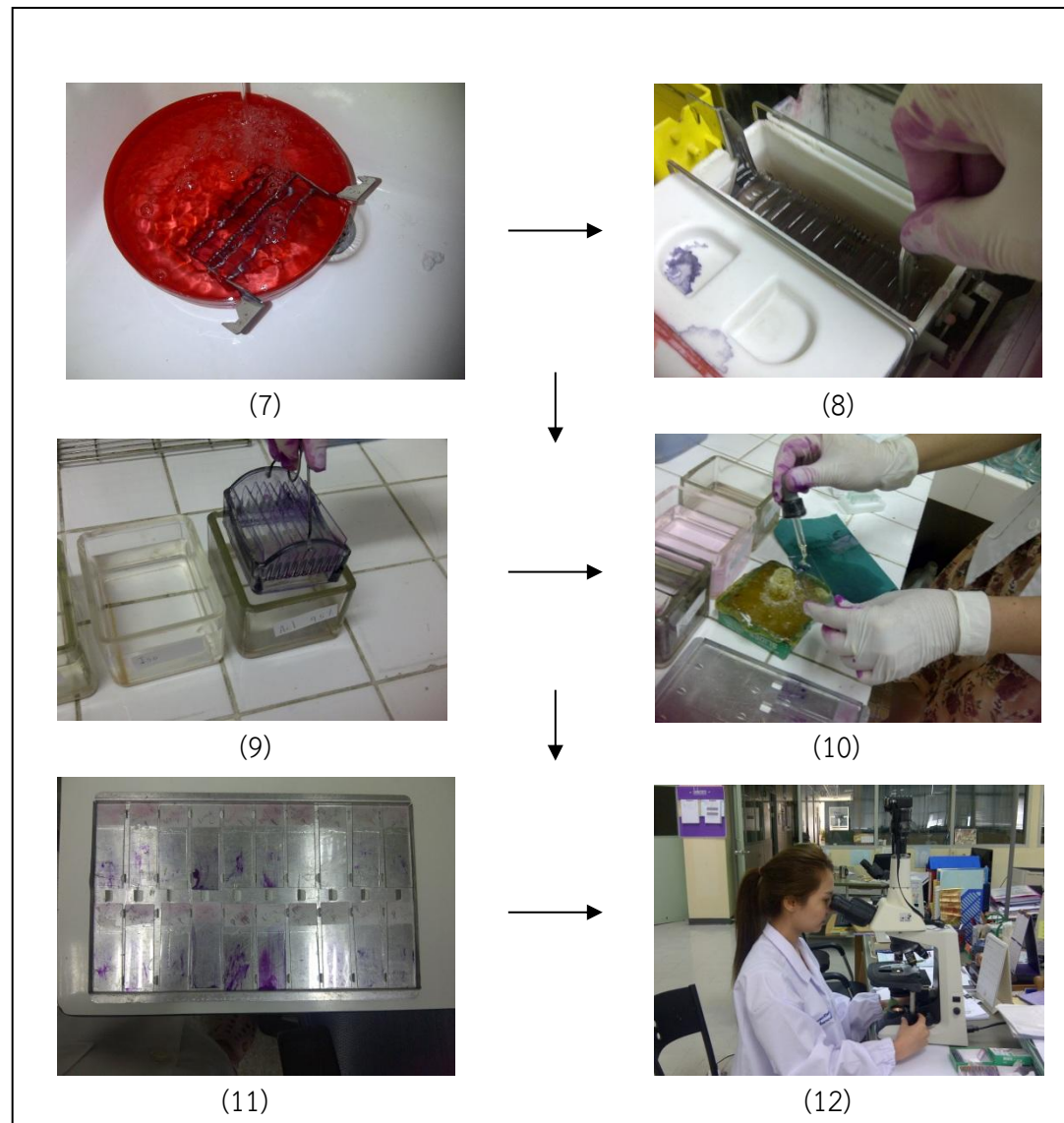
ภาพที่ 3 วิธี Lugol's Iodine Staining

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| (1) ล้างน้ำสะอาด | (2) หยด Lugol's solution |
| (3) ปิดด้วย Cover slips | (4) ทิ้งไว้ 5 นาที |
| (5) ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ | |

4.2 วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS)

นำสไลด์ที่ผ่านการแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ มาล้างน้ำสะอาด (Running water) เป็นเวลา 5 นาที นำไปแช่ใน Periodic Acid Solution เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด น้ำ 10 นาที นำมาหยด Coleman's (Schiff's Leuco-fuchsin Solution) ที่จางไว้นาน 15 นาที นำมาแช่น้ำ 5 นาที (จะสังเกตเห็นเป็นสีชมพู) นำไปย้อมสี (Hematoxylin) 30 วินาที ล้างน้ำออก นำไปแช่ใน Bluing Solution นาน 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ 3 นาที จากนั้นจุ่มเร็วๆ ใน 95% Alcohol, Isopropyl Alcohol แช่ใน Xylene และ Mounting ด้วย Permount ที่ให้แห้ง และนำสไลด์ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วย Objective lens ขนาดหัว 10X และ 40X ตามลำดับ นับจำนวนเซลล์ไกลโคเจนที่ให้ผลบวกคือเห็นเซลล์เป็นสีแดงชมพู ดังภาพที่ 4





ภาพที่ 4 วิธีทดสอบด้วย Periodic Acid Schiff Staining (PAS)

- | | |
|---|--|
| (1) ล้างน้ำสะอาด | (2) แช่ใน Periodic Acid Solution 10 นาที |
| (3) ล้างน้ำ 10 นาที | (4) หยด Coleman's 10 นาที |
| (5) แช่น้ำกลั่น 10 นาที | (6) ย้อมสี Hematoxylin 30 วินาที |
| (7) ล้างด้วยน้ำ | (8) Bluing Solution 30 วินาที |
| (9) จุ่มใน 95% Alcohol , Isopropyl Alcohol แช่ใน Xylene | |
| (10) Mounting | (11) ทิ้งไว้ให้แห้ง |
| (12) ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ | |

4.3 การทดสอบกับชุดควบคุม (Control) แบ่งออกเป็น 2 ชุดคือ

4.3.1 ชุดควบคุมการทดลอง วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS) โดยใช้เซลล์ตับ

4.3.2 ชุดควบคุมการทดลองวิธี Lugol's Iodine Staining โดยใช้เซลล์เยื่อบุช่องปาก (Buccal Swab)

4.4 ประเมินผลจำนวนไกลโคเจนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดโดยใช้กำลังขยาย Objective lens ที่ 10x

ตารางที่ 1 การประเมินระดับจำนวนเซลล์ไกลโคเจนที่ตรวจพบ

จำนวนไกลโคเจน(เซลล์)	ระดับคะแนน	
0	1	+
1-3	2	++
4-6	3	+++
7-9	4	++++
≥10	5	+++++

4.5 นำผลการทดลองที่ได้มาทำการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for Social Science) โดยใช้สถิติ χ^2 -test เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นคือ ช่วงอายุและการมีประจำเดือน และตัวแปรตาม คือ จำนวนไกลโคเจน และหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้สถิติ Kendall's tau-b

ผลการวิจัย

การวิจัยเรื่องการศึกษาเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของเพศหญิงด้วยวิธี Lugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) ผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของเพศหญิงทั้งหมด 200 คน และนำมาตรวจหาปริมาณไกลโคเจนโดยใช้วิธี คือ Lugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยายของ Objective lens ที่ 10X และ 40X ตามลำดับ นับจำนวนเซลล์ไกลโคเจนที่ปรากฏขึ้นมาทำการวิเคราะห์และประเมินผลการทดสอบจากปริมาณไกลโคเจนที่เกิดขึ้นในช่วงอายุต่างๆ และตามการมีประจำเดือน โดยนำเสนอผลการวิจัยที่ได้ดังต่อไปนี้

1. กลุ่มประชากรที่ศึกษา

ประชากรที่ศึกษาสามารถแบ่งตามช่วงอายุและหาร้อยละของจำนวนประชากรได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนและร้อยละของจำนวนผู้หญิงจำแนกตามช่วงอายุ

ช่วงอายุ	จำนวน (คน)	ร้อยละ
ช่วงอายุ ≤ 20 ปี	11	5.50
ช่วงอายุ 21 – 40 ปี	73	36.50
ช่วงอายุ 41 – 60 ปี	102	51.00
ช่วงอายุ ≥ 61 ปี	14	7.00
อายุน้อยสุดที่ 15 ปี		
อายุมากที่สุดที่ 78 ปี		

(n=200)

ดังตารางที่ 2 พบว่า กลุ่มตัวอย่างอยู่ในช่วงอายุ 41 – 60 ปี มากที่สุด คิดเป็น ร้อยละ 51.00 รองลงมาคือ ช่วงอายุ 21 – 40 ปี คิดเป็นร้อยละ 36.50 ช่วงอายุ ≥ 61 ปี และ ช่วงอายุ ≤ 20 ปีคิดเป็นร้อยละ 7.00 และ ร้อยละ 5.50 ตามลำดับ

เมื่อแยกกลุ่มตัวอย่างตามปัจจัยการมีประจำเดือนได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนและร้อยละของผู้หญิงจำแนกตามการมีประจำเดือน

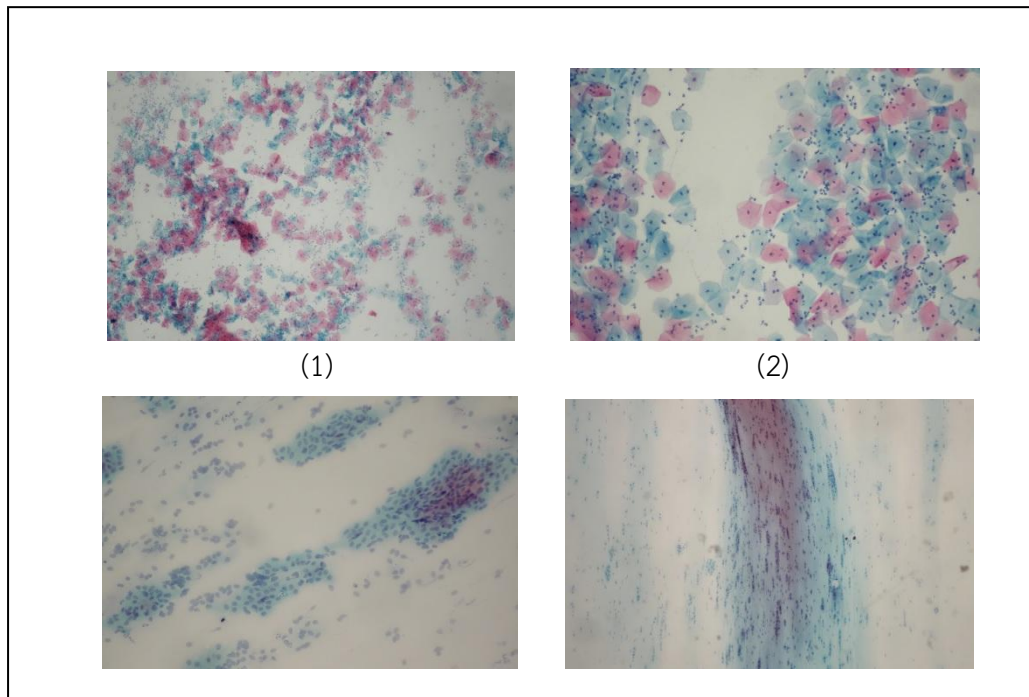
การมีประจำเดือน	จำนวน (คน)	ร้อยละ
วัยมีประจำเดือน	144	72.00
วัยหมดประจำเดือน	56	28.00

(n=200)

ตารางที่ 3 พบว่ากลุ่มตัวอย่างในวัยมีประจำเดือนคิดเป็นร้อยละ 72.00 และ วัยหมดประจำเดือนคิดเป็นร้อยละ 28.00

เมื่อนำเซลล์เยื่อบุช่องคลอดมาตรวจหาเซลล์ของไกลโคเจนโดยวิธี Lugol's Iodine Staining ได้ผลดังตารางที่ 4

จากการศึกษาการตรวจหาไกลโคเจนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของเพศหญิงพบลักษณะสเมียร์ของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดในวัยมีประจำเดือนและวัยหมดประจำเดือนตามอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนแสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่5/19 ลักษณะเสมียร์เซลล์เยื่อบุช่องคลอดในวัยมีประจำเดือนและวัยหมดประจำเดือนตามอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจน (Pap Stain)

(1) วัยมีประจำเดือน

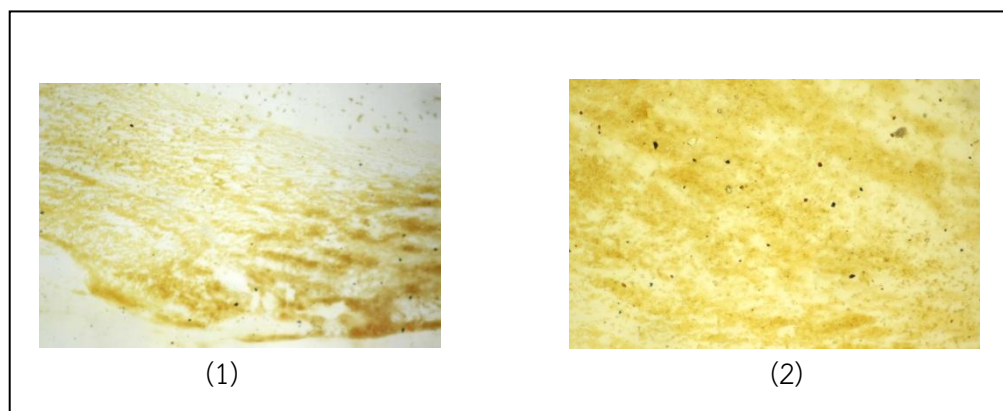
(2) วัยหมดประจำเดือน

ตารางที่ 4 จำนวนและร้อยละของไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดโดยใช้ วิธี Lugol's Iodine Staining

จำนวนเซลล์ไกลโคเจน	จำนวน (คน)	ร้อยละ
0 เซลล์ (ระดับคะแนน 1)	20	10.00
1-3 เซลล์ (ระดับคะแนน 2)	8	4.00
4-6 เซลล์ (ระดับคะแนน 3)	5	2.50
7-9 เซลล์ (ระดับคะแนน 4)	0	0.00
≥ 10 เซลล์ (ระดับคะแนน 5)	167	83.50

(n=200)

จากตารางที่ 4 พบว่า จำนวนเซลล์ไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดทดสอบโดยใช้ วิธี Lugol's Iodine Staining ส่วนใหญ่จะพบจำนวนเซลล์ไกลโคเจน ≥ 10 เซลล์ คิดเป็นร้อยละ 83.50 รองลงมาคือ ไม่พบจำนวนไกลโคเจนเลย คิดเป็นร้อยละ 10.00 แสดง พบจำนวนไกลโคเจน 1- 3 เซลล์ คิดเป็นร้อยละ 4.00 แสดง และพบจำนวนไกลโคเจน 4-6 เซลล์ คิดเป็นร้อยละ 2.50 ไม่มีกลุ่มตัวอย่างที่พบจำนวนเซลล์ที่ติดไกลโคเจนจำนวน 7-9 เซลล์ แต่เมื่อนำเซลล์เยื่อบุช่องคลอดมาตรวจหาเซลล์ของเซลล์ไกลโคเจนโดยใช้วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS) ได้ผลดังตารางที่ 4



ภาพที่ 6/20 ไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดโดยใช้ วิธี Lugol's Iodine staining ในระดับ 0 เซลล์

(1) Objective lens 4X

(2) Objective lens 10X

ตารางที่ 5 จำนวนเซลล์ร้อยละจำนวนเซลล์ของไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดทดสอบโดยใช้ วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS)

จำนวนไกลโคเจน	จำนวน	ร้อยละ
0 เซลล์ (ระดับคะแนน 1)	200	100.00
1-3 เซลล์ (ระดับคะแนน 2)	0	0.00
4-6 เซลล์ (ระดับคะแนน 3)	0	0.00
7-9 เซลล์ (ระดับคะแนน 4)	0	0.00
≥ 10 เซลล์ (ระดับคะแนน 5)	0	0.00

(n=200)

จากตารางที่ 5 พบว่าตรวจไม่พบจำนวนเซลล์ไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดเลยโดยใช้ วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS) ดังนั้นวิธีตรวจเซลล์ไกลโคเจนนี้จึงไม่เหมาะสมกับเซลล์ตัวอย่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอด ดังนั้น ผู้วิจัยจะวิเคราะห์จำนวนไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดโดยใช้ วิธี Lugol's Iodine Staining เท่านั้น

เมื่อทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนกับผู้หญิงในอายุต่างๆ พบว่า ทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กัน (X^2 -test = 37.213) โดยที่ความสัมพันธ์ของทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กันเชิงลบ เพราะ ค่า Kendall's tau-b = -.341 (มีค่าเป็นลบ) หมายถึง เมื่อกลุ่มตัวอย่างมีอายุที่มากขึ้นจำนวนไกลโคเจนที่พบจะน้อยลง ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนและช่วงอายุ

จำนวน ไกลโคเจน	ช่วงอายุ				รวม	X ² -test	Kendall's tau-b
	≤ 20 ปี	21 – 40 ปี	41 – 60 ปี	≥ 61 ปี			
0 เซลล์	0	1	14	5	20	37.213*	-.341*
1-3 เซลล์	0	1	4	3	8		
4-6 เซลล์	0	1	3	1	5		
≥ 10 เซลล์	11	70	81	5	167		
รวม	11	73	102	14	200		

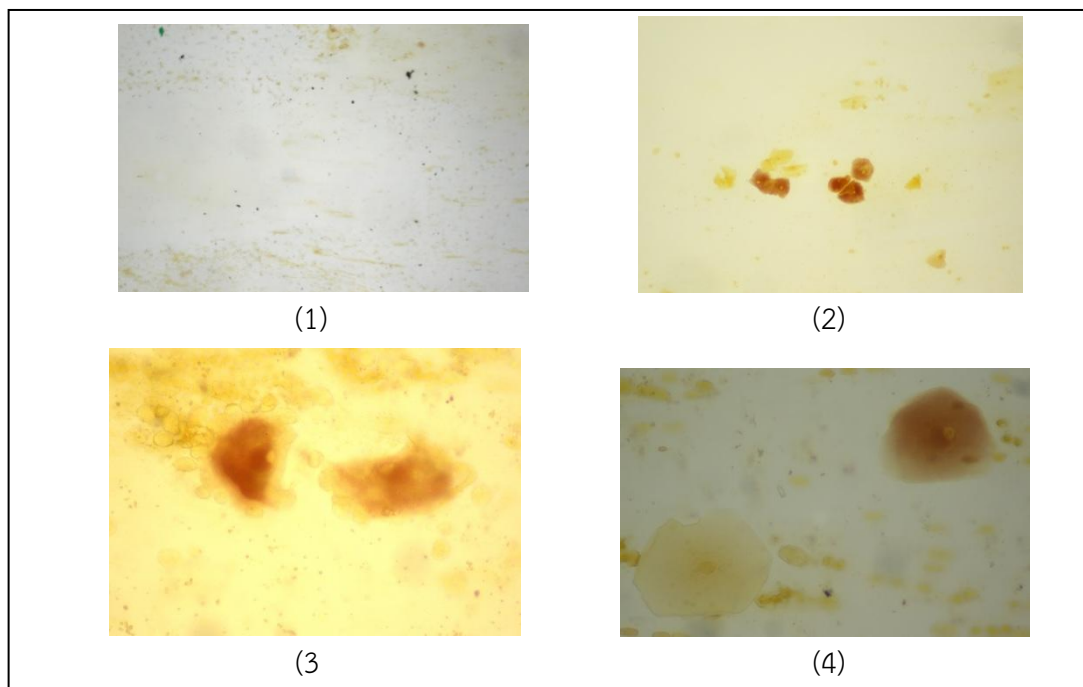
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

เมื่อทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนและการมีประจำเดือน พบว่า ทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กัน (X^2 -test = 78.090) โดยที่ความสัมพันธ์ของทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กันเชิงบวก เพราะ ค่า Kendall's tau-b = .611 (มีค่าเป็นบวก) หมายถึง เมื่อกลุ่มตัวอย่างของวัยมีประจำเดือนพบจำนวนไกลโคเจนได้มากกว่ากลุ่มตัวอย่างของวัยที่หมดประจำเดือน ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนและการมีประจำเดือน

จำนวน ไกลโคเจน	วัยการมีประจำเดือน(คน)		รวม(คน)	X ² -test	Kendall's tau-b
	มี	หมด			
0 เซลล์	1	19	20	78.090*	.611*
1-3 เซลล์	1	7	8		
4-6 เซลล์	1	4	5		
≥ 10 เซลล์	141	26	167		
รวม	144	56	200		

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05



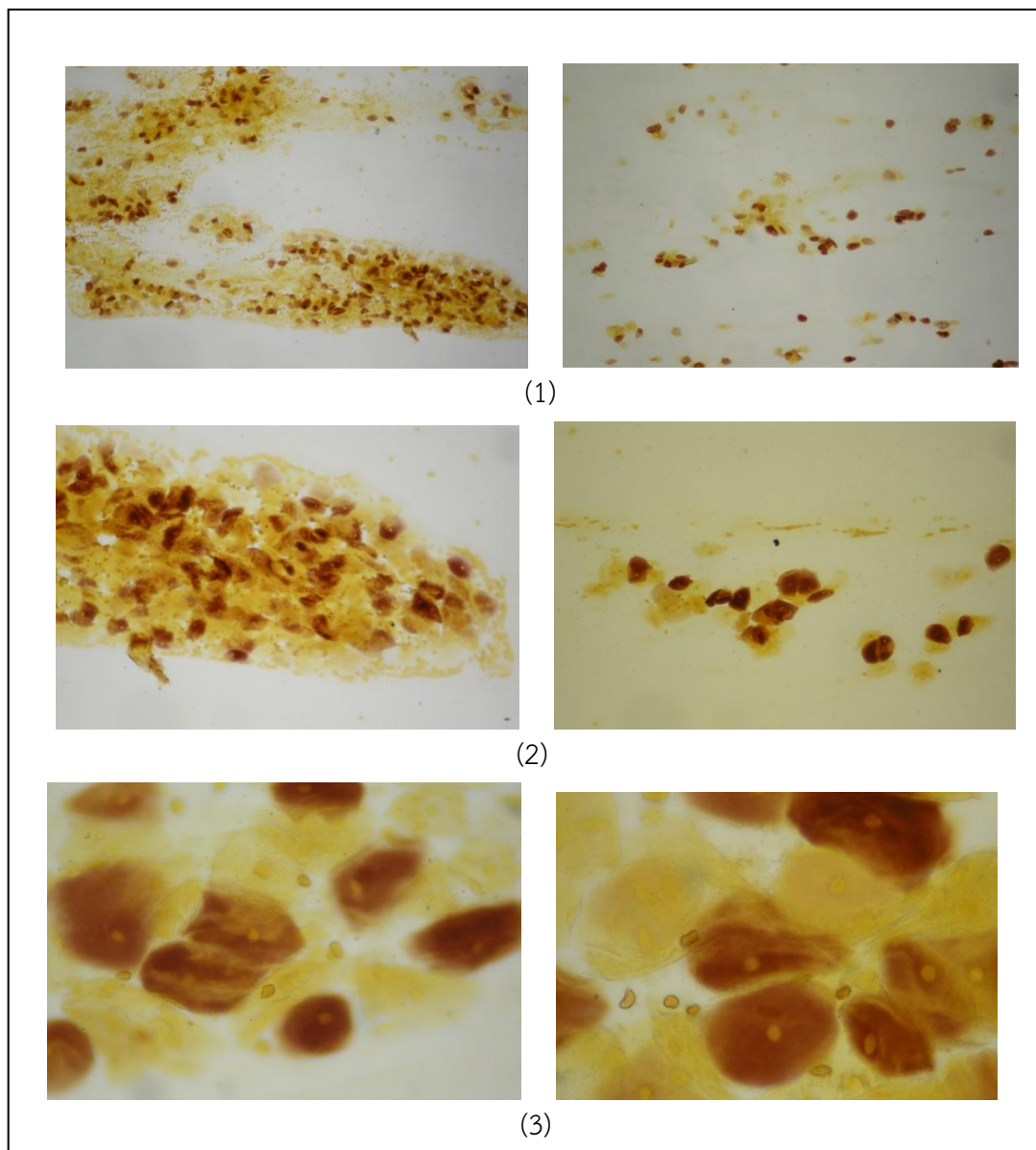
ภาพที่ 7 ลักษณะสเมียร์โดย วิธี Lugol's Iodine Staining ในระดับ 1-3, เซลล์ 4-6 เซลล์

(1) Objective lens 4X

(2) Objective lens 10X

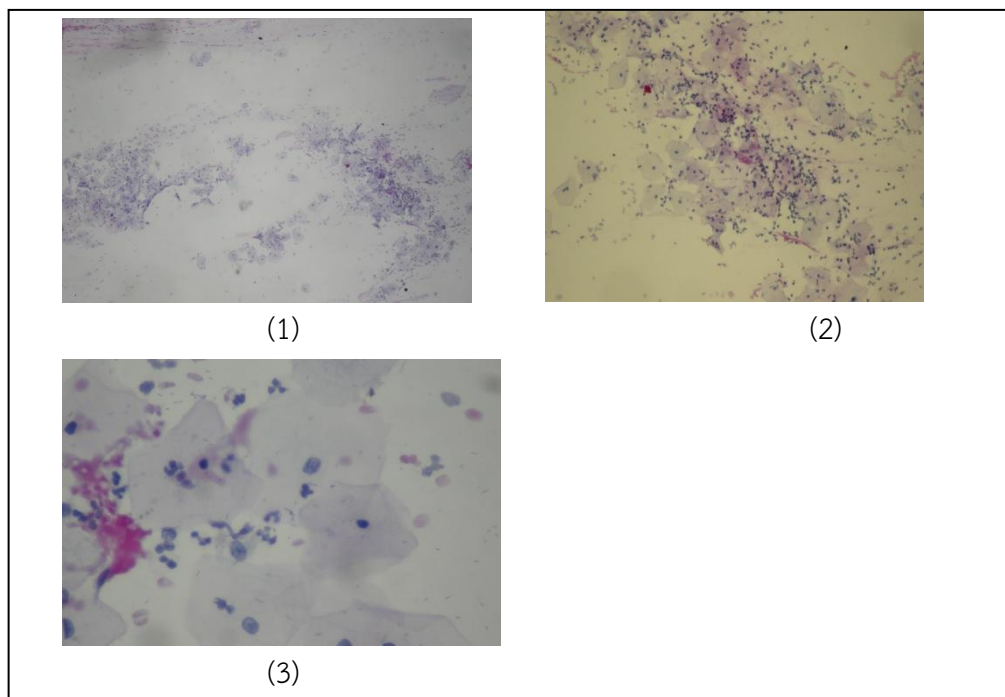
(3) Objective lens 40X

(4) Objective lens 60X



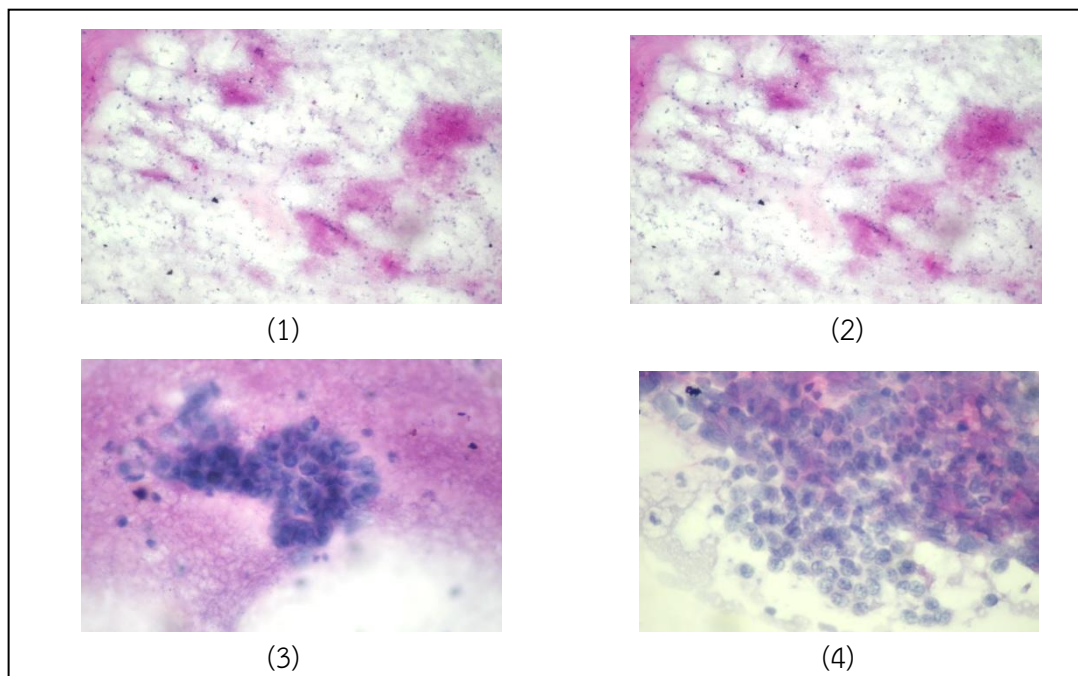
ภาพที่ 8 ลักษณะสเมียร์โดยใช้ วิธี Lugol's Iodine Staining ในระดับ ≥ 10 เซลล์

- (1) Objective lens 4X
- (2) Objective lens 10X
- (3) Objective lens 40X



ภาพที่ 9 ลักษณะสเมียร์โดยใช้ วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS) ในวัยมีประจำเดือน

(1) Objective lens 4X (2) Objective lens 10X (3) Objective lens 40X



ภาพที่ 10 ลักษณะสเมียร์โดยใช้ วิธี Periodic Acid Schiff Stain (PAS) ในวัยหมดประจำเดือน

(1) Objective lens 4x (2) Objective lens 10x
(3) Objective lens 40x (4) Objective lens 60x

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดด้วย วิธีLugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) ที่มีผลต่อไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดในช่วงอายุต่างๆในวัยที่มีประจำเดือนและวัยหมดประจำเดือน ซึ่งกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นเพศหญิงจำนวน 200 คน โดยเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอดด้วยเทคนิคการตรวจภายใน (Pap smear) โดยสูตินารีแพทย์ เสมียร์ตัวอย่างบนสไลด์ นำมาทดสอบหาไกลโคเจนด้วย วิธีLugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อช่วยในการนับจำนวนเซลล์ที่เกิดไกลโคเจนที่ปรากฏขึ้นในแต่ละวิธี

โดยนับจำนวนเซลล์ที่เกิดไกลโคเจนที่นับได้มาแปรผลทางสถิติ โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for Social Science) โดยใช้ตัวสถิติ chi-square (χ^2 -test) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นคือ ช่วงอายุและการมีประจำเดือน และตัวแปรตาม คือ จำนวนไกลโคเจน และหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้ตัวสถิติ Kendall's tau-b

สรุปผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์เกิดไกลโคเจนตาม วิธีการที่ใช้ในการทดลอง ช่วงอายุ วัยที่มีประจำเดือน และวัยหมดประจำเดือน ซึ่งผลการวิเคราะห์ตามวิธีการที่ใช้ในการทดลอง พบว่า วิธี Lugol's Iodine Staining เกิดไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดได้ผลดี ส่วนวิธี Periodic Acid Schiff staining (PAS) ไม่สามารถตรวจหาเซลล์ไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดได้ ซึ่งวิธีนี้ใช้ในการทดสอบเซลล์ไกลโคเจนของชิ้นเนื้อ (Pathology)

การวิเคราะห์เกิดไกลโคเจนตามช่วงอายุพบว่า กลุ่มตัวอย่างอยู่ในช่วงอายุ 41 – 60 ปี มากที่สุด (จำนวน104 คน) รองลงมาคือ ช่วงอายุ 21 – 40 ปี (จำนวน73 คน) ช่วงอายุ ≥ 61 ปี (จำนวน 14คน) ช่วงอายุ ≤ 20 ปี (จำนวน11คน) ตามลำดับ

การวิเคราะห์การเกิดไกลโคเจนตามการมีประจำเดือนพบว่าสามารถตรวจพบเซลล์ไกลโคเจนได้ดีและมากที่สุดในกลุ่มตัวอย่างวัยมีประจำเดือน(จำนวน 144 คน) ส่วนในวัยหมดประจำเดือนยังสามารถพบได้ (จำนวน 56 คน) และตรวจไม่พบ (จำนวน 19 คน)

2. การทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนและช่วงอายุ ,จำนวนไกลโคเจนในวัยมีประจำเดือน และจำนวนไกลโคเจนในวัยหมดประจำเดือน

พบว่า เมื่อทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนและช่วงอายุ พบว่า ทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กัน (χ^2 -test = 37.213) โดยที่ความสัมพันธ์ของทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กันเชิงลบ เพราะ ค่า Kendall's tau-b = -.341 (มีค่าเป็นลบ) หมายถึง เมื่อกลุ่มตัวอย่างมีอายุที่มากขึ้นจำนวนไกลโคเจนที่พบจะน้อยลง (* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05)

พบว่าเมื่อทดสอบสมมติฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไกลโคเจนในวัยมีประจำเดือนวัยหมดประจำเดือน พบว่า ทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กัน (χ^2 -test = 78.090) โดยที่ความสัมพันธ์

ของทั้ง 2 ตัวแปรนี้มีความสัมพันธ์กันเชิงบวก เพราะ ค่า Kendall's tau-b = .611 (มีค่าเป็นบวก) หมายถึง เมื่อกลุ่มตัวอย่างของวัยมีประจำเดือนพบจำนวนไกลโคเจนได้มากกว่ากลุ่มตัวอย่างของวัยที่หมดประจำเดือน

การอภิปรายผล

ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเพื่อศึกษาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดด้วย วิธี Lugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) ในช่วงอายุต่างๆในวัยที่มีประจำเดือนและหมดประจำเดือน ซึ่งกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นเพศหญิง จำนวน 200 คน ทำการทดลองและนับจำนวนเซลล์ที่ติดไกลโคเจนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่นับได้นำ มาแปลผลทางสถิติ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นคือ ช่วงอายุและการมีประจำเดือนของวัย และตัวแปรตาม คือ จำนวนไกลโคเจน ซึ่งพิจารณาได้ดังนี้

1. วิธีการที่ใช้ในการทดลองทั้ง 2 วิธี คือ Lugol's Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff Staining (PAS) พบว่าจำนวนไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของวิธี Lugol's Iodine Staining สามารถตรวจพบไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดได้เนื่องจากมี Glycogen หรือแป้งใน Cytoplasm ของเซลล์ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ Iodine เกิดเป็นสีน้ำตาลขึ้นโดยวิธีนี้มีความจำเพาะสูงมาก เซลล์เยื่อบุจากที่อื่น ๆ ได้แก่ จากกระพุ้งแก้ม ช่องจมูก ช่องหู เยื่อบุทวารหนัก เยื่อบุปลายอวัยวะเพศชาย จะไม่ตรวจพบไกลโคเจนได้ สอดคล้องกับการทดลองของ ปิ่นนารี สังกรธนกิจ ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของเอสโตรเจนและไกลโคเจนในเยื่อบุช่องคลอดของหญิงไทยพบว่าปริมาณของไกลโคเจนและระดับของเอสโตรเจนมีความสัมพันธ์กันและวัฒนะ อันพนิช ที่ศึกษาเรื่องการตรวจหาเยื่อบุช่องคลอดจากอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศชายหลังระยะเวลาเวลาผ่านไปพบว่าสามารถตรวจหาไกลโคเจนจากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดโดยแบ่งเป็นชั่วโมงแรกสามารถตรวจพบอยู่ในระดับ 4 มีจำนวนถึง 21 รายจากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 37 ราย หลังจาก 12 ชั่วโมงสามารถตรวจพบจำนวน 7 รายและ 24 ชั่วโมง 3 ราย โดยทั้ง 2 ใช้วิธี Lugol's Iodine Staining ในการทดลองส่วนวิธีการตรวจหาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดโดยใช้ Periodic Acid Schiff Staining (PAS) เป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางด้านตรวจหาไกลโคเจนของชิ้นเนื้อผู้วิจัยจึงสนใจนำมาทดลองในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดโดยอ้างอิงขั้นตอนการทดสอบมาใช้ แต่ในการวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถทำให้เกิดเซลล์ที่ติดไกลโคเจนได้อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชุด Control (slide จากเซลล์ตับ) ที่ติดไกลโคเจนได้อย่างชัดเจน วิธี Periodic Acid Schiff Staining (PAS)

2. ไกลโคเจนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่แบ่งตามช่วงอายุที่กำหนดขึ้นสามารถตรวจพบไกลโคเจนได้ในทุกช่วงของอายุ (อายุน้อยสุดที่ 15 ปี ,อายุมากที่สุดที่ 78 ปี) เป็นผลมาจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นสำคัญฮอร์โมนนี้เป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์ของเยื่อบุช่องคลอดสร้างสารไกลโคเจนและสะสมอยู่ที่เซลล์เยื่อบุช่องคลอดดังนั้นเพศหญิงที่ยังมีฮอร์โมนเอสโตรเจนอยู่จะสามารถตรวจพบสารไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดได้แต่เนื่องจากฮอร์โมนชนิดนี้จะพบระดับสูงในหญิงวัยเจริญพันธุ์ช่วงอายุ 13-45 ปี และจะเริ่มลดลงเรื่อยๆเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลองช่วงอายุ ≤ 20 ปี ช่วงอายุ 21 – 40 ปี , ช่วง

อายุ 41 – 60 ปี ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ยังมีฮอร์โมนเอสโตรเจนอยู่จึงตรวจพบเซลล์ไกลโคเจนในกลุ่มตัวอย่างที่ระดับ ≥ 10 เซลล์ถึง 167 คน (จากกลุ่มตัวอย่าง 200 คน)

3. ผลของไกลโคเจนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่แบ่งตามวัยที่มีประจำเดือนและวัยที่หมดประจำเดือนสามารถตรวจพบไกลโคเจนได้ในกลุ่มตัวอย่างของวัยที่มีประจำเดือนมากที่สุด ส่วนในวัยที่หมดประจำเดือนยังสามารถตรวจพบไกลโคเจน แสดงให้เห็นว่าในวัยที่ยังมีประจำเดือนอยู่จะสามารถตรวจพบไกลโคเจนในระดับที่สูงเนื่องจากการมีประจำเดือนเป็นอิทธิพลมาจากฮอร์โมนที่เป็นตัวควบคุมประจำเดือนและที่สำคัญคือเอสโตรเจนฮอร์โมนนี้เป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์ของเยื่อบุช่องคลอดสร้างสารไกลโคเจนเช่นเดียวกับวัยที่หมดประจำเดือนเนื่องมาจากขาดฮอร์โมนที่เป็นควบคุมการมีประจำเดือนจึงทำให้พบไกลโคเจนได้น้อยลงหรือไม่พบเลยในวัยที่หมดประจำเดือนไปแล้วจากผลการทดลองที่พบจำนวน 0 เซลล์ หมายถึงไม่พบเลยจำนวน 19 คนในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 56 คน สอดคล้องกับการทดลองของ ปิ่นนารี สังกรณกิจ ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของเอสโตรเจนและไกลโคเจนในเยื่อบุช่องคลอดของหญิงไทยพบว่าปริมาณของไกลโคเจนและระดับของเอสโตรเจนมีความสัมพันธ์กันโดยจากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 223 ราย นำมาทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์กับเอสโตรเจน ในวัยที่หมดประจำเดือนจะไม่มีฮอร์โมนเอสโตรเจน แต่ในการวิจัยครั้งนี้จะสังเกตได้ว่ายังสามารถตรวจหาไกลโคเจนได้นั้นเนื่องมาจากปัจจัยบางประการเช่นการรับประทานฮอร์โมนเพื่อปรับสภาพร่างกายในผู้ป่วยบางรายในการรักษาทางการแพทย์

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. การวิจัยเป็นการศึกษาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดจาก 2 คือ วิธี Lugol Iodine Staining และ Periodic Acid Schiff staining (PAS) ที่มีผลต่อไกลโคเจนในเยื่อบุช่องคลอด ในช่วงอายุต่างๆ และในวัยที่มีประจำเดือนและหมดประจำเดือนแล้ว เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์หรือทดสอบกับพยานหลักฐานที่ได้จากคดีขึ้นชั้นกระทำชำเราเช่นอวัยวะเพศชาย เซลล์ที่ติดกับถุงยางอนามัย เป็นต้น ทั้งนี้ผู้วิจัยขอเสนอแนะ ดังนี้

2. วิธีการตรวจหาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดด้วยวิธี Lugol's Iodine Staining เป็นวิธีที่สามารถตรวจหาไกลโคเจนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดได้ดีเนื่องจากเกิดเซลล์ติดไกลโคเจนให้เห็นอย่างชัดเจนทั้งในจำนวนเซลล์ที่ค่อนข้างมีจำนวนน้อยก็ตาม ส่วนวิธี Periodic Acid Schiff stain (PAS) นั้นในการทดลองใช้ในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดไม่สามารถทำให้เกิดเซลล์ที่ติดไกลโคเจนได้ ซึ่งวิธีนี้ปัจจุบันใช้ในงานทางด้านวิเคราะห์หาไกลโคเจนในชิ้นเนื้อ (Pathology) เช่น ตับ เป็นต้น ขั้นตอนรวมถึงเทคนิควิธีการและน้ำยาสารเคมีที่ใช้ในการทดลองกับชิ้นเนื้อจากตับ ดังนั้นเมื่อนำมาทดลองในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดจึงต้องอาศัยการนำมาปรับปรุงแก้ไขในส่วนของขั้นตอนรวมถึงเทคนิควิธีการและน้ำยาสารเคมีเพื่อให้เหมาะสมต่อไกลโคเจนในช่องคลอดของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดแต่มีข้อดีของวิธีนี้คือสามารถเก็บสไลด์ไว้ได้นานเนื่องจากเป็นสไลด์ Permanence เป็นประโยชน์ในการพิจารณาหาเซลล์ไกลโคเจนในภายหลังได้ต่างจาก

วิธี Lugol's Iodine Staining ที่ต้องทำการหาเซลล์ที่ติดไอโอดีนในเวลาจำกัดเนื่องจากถ้าปล่อยไว้เกินเวลาจะทำให้สไลด์และเซลล์แห้งอาจทำให้แปลผลผิดได้

3. การตรวจหาไอโอดีนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่แบ่งตามช่วงอายุที่กำหนดขึ้นให้ผลที่สามารถพบเซลล์ที่ติดไอโอดีนได้ในทุกกลุ่มช่วงอายุจากวิธี Lugol's Iodine Staining แต่เนื่องจากการบางช่วงอายุมีทั้งวัยที่ยังมีประจำเดือนและหมดประจำเดือนไปแล้วดังนั้นการนำไปประยุกต์ใช้จึงต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่นๆประกอบด้วยเช่นในรายที่มีการรับประทานฮอร์โมนในวัยทองเป็นต้น และต้องระวังในกรณีของผู้ที่มีเอสโตรเจนต่ำ ได้แก่ หญิงวัยก่อนมีประจำเดือน วัยชรา หรือหญิงที่อยู่ในภาวะมีไอโอดีนต่ำ เช่น เป็นวัณโรค ภาวะไทรอยด์สูง(Hyperthyroidism) เป็นต้น ในกรณีเหล่านี้อาจตรวจไม่พบไอโอดีนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดได้ สำหรับระยะเวลาที่สามารถตรวจพบเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่ปลายอวัยวะเพศชายเฉลี่ยประมาณ 3 วันหลังการร่วมเพศ แต่หากมีการอาบน้ำทำความสะอาดร่างกายตามปกติก็อาจตรวจไม่พบได้แม้ระยะเวลาจะไม่ถึง 3 วัน ในทางตรงข้ามระยะเวลาที่ตรวจพบอาจนานขึ้นกรณีมีภาวะผนังหุ้มปลายอวัยวะเพศรูดยาก (Paraphimosis)

4. การตรวจหาไอโอดีนของเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่แบ่งตามวัยที่มีประจำเดือนและวัยที่หมดประจำเดือนนั้นอาจไม่ได้ผลในช่วงของวัยที่หมดประจำเดือนขึ้นอยู่กับสุขภาพร่างกายของแต่ละคนจึงควรพิจารณาเกี่ยวกับปัจจัยอื่นๆร่วมด้วยเช่นในรายที่มีการรับประทานฮอร์โมนหรือในวัยที่มีประจำเดือนอยู่แต่อยู่ในช่วงหลังคลอดเป็นต้น

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

1. ในการตรวจหาไอโอดีนในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดควรใช้วิธี Lugol's Iodine Staining
2. ควรเพิ่มจำนวนของกลุ่มอย่างและความถี่ในช่วงของอายุ
3. ควรศึกษาเพิ่มเติมในวิธีของ Periodic Acid Schiff staining (PAS) ในการหาไอโอดีนในเหมาะสมกับเยื่อบุช่องคลอด

เอกสารอ้างอิง

ศิवालัย ธนภัทร และคณะ.เซลล์วิทยา – นรีเวช.กรุงเทพฯ:รจิกานต์,2534

พรทิพย์ โรจน์สุนันท์.นิติเวชศาสตร์ “การชันสูตรศพ”.กรุงเทพฯ:วิญญูชน,2543

อรรถพล แซ่มสุวรรณวงศ์และคณะ, พล.ต.ท. นิติวิทยาศาสตร์ 2 เพื่อการสืบสวนสอบสวน (Forensic Science 2 for Crime Investigation). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ. 2544.

T.J. Rothwell, K.J. Harvey , “The Limitations of the Lugol's Iodine Staining Technique for the Identification of Vaginal Epithelial Cells.” Journal of the Forensic Science Society, no 18 (1978):181-184.

ปิ่นนารี สักรธกรกิจ. “ความสัมพันธ์ของเอสโตรเจนและไกลโคเจนในเยื่อช่องคลอดของหญิงไทย.”

วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยมหิดล,
2535.

Hanpanich ,Wattana. “Finging of vaginal epithelium from male genital organ according to
elapsed of time after coitus.” Thesis Master of science, Mahidol University, 1982.

ดร.วิฑูร ขาวสุข. “การย้อมสี carbohydrate ด้วยวิธี Periodic Acid -Schiff และ blue” ภาควิชา
วิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยบูรพา, 2551

เลียงชัย จัตุรัส. การตรวจในห้องปฏิบัติการในคดีทางเพศ(ออนไลน์). เข้าถึงเมื่อ 20 สิงหาคม

2554. <http://www.google.com/การตรวจในห้องปฏิบัติการในคดีทางเพศ>

ระบบสืบพันธุ์เพศหญิง(ออนไลน์). เข้าถึงเมื่อ 20 สิงหาคม 2554 <http://www.google.com/ระบบสืบพันธุ์เพศหญิง>

วัตถุพยานทางนิติเวชศาสตร์(ออนไลน์). เข้าถึงเมื่อ 22 สิงหาคม 2554 [http://www.google.com/](http://www.google.com/วัตถุพยานทางนิติเวชศาสตร์)

วัตถุพยานทางนิติเวชศาสตร์

Periodic Acid -Schiff stain (Online). Accessed 30 August 2011. Available from

[http://www.google.com/Wikipedia/ Periodic Acid -Schiff stain](http://www.google.com/Wikipedia/Periodic%20Acid%20-%20Schiff%20stain)

Lugol's iodine (Online). Accessed 30 August 2011. Available from

[http://www.google.com/Wikipedia/.org/wiki/Lugol's iodine](http://www.google.com/Wikipedia/.org/wiki/Lugol's_iodine)