

A study of bacterial growth with age of bloodstain for forensic application

*Nuwara Jumnonggit, Parinya Seelanan

Faculty of Forensic Science, Royal Police Cadet Academy

*Corresponding author: ab7757402@gmail.com

Received
13/01/2024

Reviewed
26/04/2024

Revised
30/04/2024

Accepted
30/04/2024

Abstract

This research is a study of the relationship of bacteria growth in bloodstain with the age of the blood to use for the estimated time of the incident in forensic investigation. The experimental study was performed by comparison analysis of the bacteria counted number detected in the bloodstain from different conditions at varied duration. Blood samples were collected from a volunteer and dropped to the tested cement surface for 100 microliters and then stored in 3 conditions: indoor, outdoor and with ultraviolet source (UVC). Each test was left for 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes, 1 hour, 2 hours, 4 hours, 8 hours, 1 day, 2 days, 3 days, 4 days, 5 days, 6 days, and 7 days after the blood was dropped. Then, numbers of bacteria were counted on the Plate Count Agar (PCA) medium using pour plate method. Data were examined and analyzed using the statistical tools of F-Test. The results revealed that the number of bacteria discovered from blood stains in indoor and natural outdoor environments did not differ substantially at the 0.05 level. When comparing the numbers of bacteria discovered under UV conditions, the results were significant at the 0.05 level.

Keyword: Age estimation; Bloodstain; Bacteria growth; Crime scene

การศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกับอายุของคราบเลือด สำหรับงานทางนิติวิทยาศาสตร์

*ณัฐรา จ่านกกิจ และ ปริญญญา สีลนันทน์
คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ
*ผู้นิพนธ์หลัก: ab7757402@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดเพื่อหาความสัมพันธ์กับอายุของคราบเลือดซึ่งเกิดขึ้นในพื้นที่จำลอง เพื่อใช้เป็นข้อมูลตรวจสอบย้อนกลับหาระยะเวลาที่เหตุเกิดในทางนิติวิทยาศาสตร์ เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยการศึกษาความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดที่สภาวะแตกต่างกัน จากตัวอย่างคราบเลือดที่ทิ้งไว้ในระยะเวลาต่างๆ ทำการทดลองโดยใช้เลือดจากอาสาสมัครปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนพื้นปูนซีเมนต์เพื่อจำลองพื้นที่เกิดเหตุและทดลองใน 3 สภาวะ ได้แก่ ในร่ม กลางแจ้งธรรมชาติ และสภาวะที่มีรังสียูวี ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที, 30 นาที, 45 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 8 ชั่วโมง, 1 วัน, 2 วัน, 3 วัน, 4 วัน, 5 วัน, 6 วัน และ 7 วัน โดยตรวจนับปริมาณแบคทีเรียในแต่ละสภาวะด้วยเทคนิคเทเพลท (pour plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) นำไปวิเคราะห์ผลการทดลองโดยสถิติ F-Test ผลการวิจัย พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบจากคราบเลือดในสภาวะในร่มและสภาวะกลางแจ้งธรรมชาติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในสภาวะที่มียูวีพบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

คำสำคัญ: การประมาณอายุ; คราบเลือด; การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย; สถานที่เกิดเหตุ

บทนำ

ประเทศไทยมีคดีประทุษร้ายต่อชีวิตร่างกายและเพศเกิดขึ้นจำนวนมาก เช่น คดีฆ่าผู้อื่นโดยเจตนา คดีการกระทำโดยประมาทเป็นเหตุให้ผู้อื่นถึงแก่ความตาย คดีพยายามฆ่า คดีทำร้ายร่างกายและคดีข่มขืนกระทำชำเรา มีรายงานเปรียบเทียบสถิติการรับแจ้งคดีอาญาของตำรวจระหว่างปี พ.ศ. 2564 กับ พ.ศ. 2565 จากเดิมในปี พ.ศ. 2564 รับแจ้ง 15,582 คดี เพิ่มขึ้นในปี พ.ศ. 2565 เป็น 18,073 คดี หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 15.99 (National Crime Prediction Center, 2022)

โดยในสถานที่เกิดเหตุอาจเกี่ยวข้องกับเหตุที่พบศพหรือไม่พบศพ แต่ในการก่อเหตุคนร้ายมักทิ้งร่องรอยและหลักฐานไว้ในสถานที่เกิดเหตุ โดยเฉพาะหลักฐานที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับคดีและสามารถใช้เชื่อมโยงไปยังตัวผู้กระทำความผิดได้ (Saferstein, R., 2009) เช่น ปลายกระสุนปืน ภาพจากกล้องวงจรปิด เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีวัตถุพยานทางชีวภาพที่มีความสำคัญในการคลี่คลายคดี ได้แก่ ร่างของศพ เส้นผม สารคัดหลั่ง และคราบเลือด เป็นต้น (Laohabutr, 2016) เมื่อกกล่าวถึงคราบเลือด (bloodstain) ประกอบด้วย พลาสมา (plasma) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเลือด มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองใส ประกอบไปด้วย อัลบูมิน (albumin) โกลบูลิน (globulin) และอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดต่างๆ ที่มีความสำคัญในการรักษาปริมาณน้ำภายในหลอดเลือดต่อต้านเชื้อโรค และช่วยในการแข็งตัวของเลือด ส่วนของเม็ดเลือด ซึ่งประกอบด้วย เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) รูปร่างกลม ตรงกลางเว้าเข้าหากันทั้งสองด้าน ภายในเม็ดเลือดห่อหุ้มฮีโมโกลบิน (hemoglobin) เอนไซม์ (enzyme) และพวกโอออน ส่วนเม็ดเลือดขาว (leukocyte) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ประกอบด้วย ชนิดที่มีแกรนูล (granule) หรือที่มีนิวเคลียส (nucleus) หลายแบบ ได้แก่ นิวโทรฟิล (neutrophil) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) เบโซฟิล (basophil) และชนิดที่ไม่มีแกรนูล (granule) หรือมีนิวเคลียส (nucleus) แบบเดียว ได้แก่ โมโนไซต์ (monocyte) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) (Basu & Kulkarni, 2014) นอกจากนี้ยังประกอบด้วย ระบบคอมพลีเมนต์ (complement) ซึ่งทั้งเม็ดเลือดขาวและระบบคอมพลีเมนต์ (complement) มีหน้าที่สำคัญในการทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย เช่น แบคทีเรีย (bacteria) และส่วนของเกล็ดเลือด (thrombocyte) ถือเป็นองค์ประกอบของเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด และไม่มีนิวเคลียส ทำหน้าที่เกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด (De Gaetano 2001)

ในทางนิติวิทยาศาสตร์สามารถใช้เลือดเพื่อตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรม (DNA) เพื่อระบุเอกลักษณ์บุคคล (Bond & Phil, 2007) และนำมาใช้ในการประมาณระยะเวลาหลังจากเกิดเหตุได้ โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ เพื่อศึกษาความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดสภาวะต่าง ๆ และเพื่อประมาณอายุของคราบเลือดจากปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่คราบเลือดถูกทิ้งไว้ อายุของคราบเลือดนำไปสู่การประมาณระยะเวลาของการเกิดเหตุและสามารถศึกษาความสัมพันธ์เชิงปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการตรวจนับที่ระยะเวลาแตกต่างกันเพื่อประมาณอายุของคราบเลือดที่พบในสถานที่เกิดเหตุได้

วิธีการวิจัย

1. รูปแบบของการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ จะศึกษาจากตัวอย่างเลือดอาสาสมัครเพศหญิง อายุ 29 ปี จำนวน 1 คน โดยการหยดเลือดลงบนพื้นปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภท 1 และเก็บไว้เป็นระยะเวลา 15 นาที, 30 นาที, 45 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 8 ชั่วโมง, 1 วัน, 2 วัน, 3 วัน, 4 วัน, 5 วัน, 6 วัน และ 7 วัน โดยเก็บใน 3 สภาวะ คือ สภาวะในร่ม สภาวะกลางแจ้งธรรมชาติ และสภาวะกลางแจ้งยูวี เมื่อเก็บตัวอย่างครบตามเวลาแล้วจึงทำการนับจำนวนแบคทีเรีย และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เครื่องมือ F-Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ผ่านโปรแกรมทางสถิติสำเร็จรูป

2. วิธีการทดลอง

2.1) การเตรียมตัวอย่างเลือด

ทำการเจาะเลือดจากอาสาสมัครเพศหญิง อายุ 29 ปี ที่ไม่มีประวัติได้รับสารปฏิชีวนะก่อนการเจาะเลือดอย่างน้อย 7 วัน บรรจุเลือดลงในหลอดเก็บตัวอย่าง โดยไม่ใส่เติมสารกันการแข็งตัวของเลือดในตัวอย่าง (Figure 1) จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส



Figure 1 Blood sample collected from a volunteer and stored in pasteurized plastic tube.

2.2) การเตรียมพื้นผิวที่ทดลอง

ทำการเตรียมพื้นปูน โดยใช้ปูนธรรมดาจากซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ประเภท 1 มีขนาดหนา 3 เซนติเมตรกว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร ผึ่งลมทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 5 วัน แล้วนำมาแบ่งตารางเป็นช่องสี่เหลี่ยม ขนาด 2 x 2 เซนติเมตร เพื่อหยดเลือดตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงบนพื้นปูนในแต่ละช่อง จากนั้นทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่กำหนด (Figure 2)

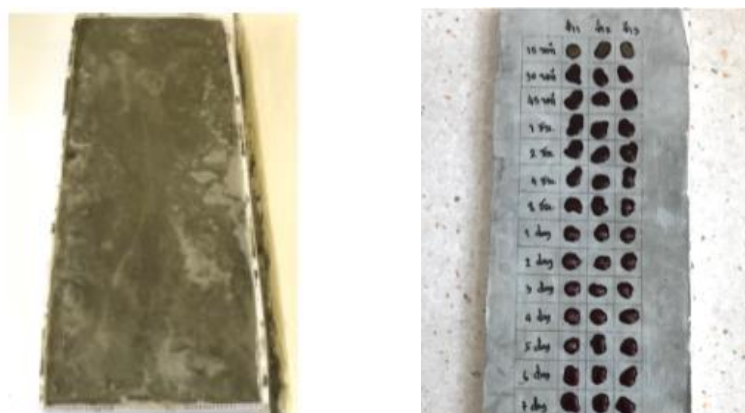


Figure 2 Portland Cement Type I plate with 3 x 15 x 60 cm³ (left) and the 100 microliters drop of bloodstain on prepared area within 2 x 2 cm² (right).

2.3) ขั้นตอนการทดลอง

(1) หยดเลือดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนพื้นปูนที่เตรียมไว้ จากนั้นทิ้งไว้ 15 นาที, 30 นาที, 45 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 8 ชั่วโมง, 1 วัน, 2 วัน, 3 วัน, 4 วัน, 5 วัน, 6 วันและ 7 วัน โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

(2) เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโดยการขีดเก็บด้วยก้านสำลีปลอดเชื้อ พร้อมชุดส่วนบริเวณเลือดที่แข็งตัวบนพื้นผิวทั้งหมด ละลายใน 0.9% Normal Saline Solution (NSS) ปริมาตร 10 มิลลิตร ทำการละลาย (vortex mixer) ให้คราบเลือดละลายจนหมด

(3) ปิเปตสารละลายที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิตร หยดลงบนจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) และทำกระบวนการ pour plate

(4) นำ plate ที่ทำการ pour plate เรียบร้อยแล้วไปบ่มในตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำมาตรวจนับจำนวนโคโลนี และบันทึกผล

(5) ทำการทดลองซ้ำในแต่ละสภาวะ (ในร่ม กลางแจ้งธรรมชาติ และมีหลอดรังสียูวี)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ทางสถิติด้วยการทดสอบ F-Test วิเคราะห์ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

งานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ (IRB) คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ เลขที่ 650211-005

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียสภาวะต่าง ๆ เทียบกับสภาวะควบคุมแสดงดัง Table 1

Table 1 The counted number of bacteria in tested conditions (Indoor, Outdoor, with UVC) compared with the control in different periods.

Time	Indoor		Outdoor		With UVC	
	Control (CFU/ml)	Bloodstain (CFU/ml)	Control (CFU/ml)	Bloodstain (CFU/ml)	Control (CFU/ml)	Bloodstain (CFU/ml)
15 min.	55.33	10.00	56.33	9.33	0.00	0.00
30 min.	50.00	12.33	49.67	6.00	0.00	0.00
45 min.	47.67	8.67	62.67	9.67	0.00	0.00
1 hr.	59.00	12.67	47.00	10.00	0.00	0.00
2 hr.	48.33	9.67	52.67	7.33	0.00	0.00
4 hr.	54.00	12.00	60.33	11.00	0.00	0.00
8 hr.	60.00	9.33	49.00	9.00	0.00	0.00
1 days	47.00	15.67	44.00	13.67	0.00	0.00
2 days	58.00	17.33	34.33	14.00	0.00	0.00
3 days	54.33	31.33	41.00	24.67	0.00	0.00
4 days	63.67	19.00	36.67	15.33	0.00	0.00
5 วัน	49.00	22.00	32.33	18.67	0.00	0.00
6 วัน	57.00	21.00	42.00	18.33	0.00	0.00
7 วัน	52.00	20.33	35.00	17.33	0.00	0.00

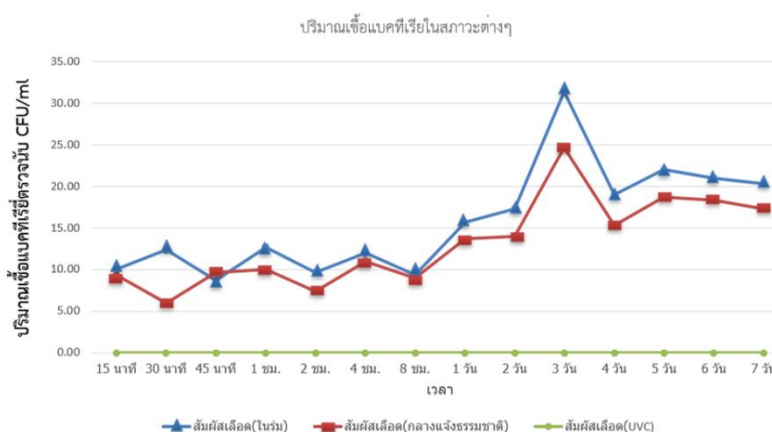


Figure 3 Number of bacteria in different conditions versus time; indoor (▲), outdoor (■) and with UVC (●).

เมื่อนำค่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ มาทำการพลอตลงในกราฟที่ระยะเวลาต่าง ๆ ที่กำหนด เพื่อดูแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงทั้ง 3 สภาวะ ประกอบด้วย สภาวะในร่ม สภาวะกลางแจ้งธรรมชาติ และสภาวะที่มีรังสียูวีที่ได้แสดงดัง Figure 3 จากนั้นทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในสภาวะเดียวกัน ทุกช่วงเวลา ผลการศึกษาแสดงดัง Table 2

Table 2 The number of bacteria in different conditions in all experiments.

Condition		N (time)	Mean (CFU/ml)	S.D.	F-test	Sig. (2-tailed)
1) Indoor	Outdoor	14	15.81	6.44	43.667	0.15
	UVC	14				0.00*
2) Outdoor	Indoor	14	13.17	5.24		0.15
	UVC	14				0.00*
3) UVC	Indoor	14	0.00	0.00		0.00*
	Outdoor	14				0.00*

N = Number of collection

จาก Table 2 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในสภาวะเดียวกันทุกช่วงเวลา สภาวะในร่ม สภาวะกลางแจ้งธรรมชาติ และสภาวะที่มีรังสียูวี โดยเก็บในเวลา 15 นาที, 30 นาที, 45 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 8 ชั่วโมง, 1 วัน, 2 วัน, 3 วัน, 4 วัน, 5 วัน, 6 วัน และ 7 วัน เมื่อทำการทดสอบทางสถิติด้วย F-Test แสดงให้เห็นว่าที่สภาวะในร่มและสภาวะกลางแจ้งธรรมชาติ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสภาวะที่มีรังสียูวี มีค่านัยสำคัญทางสถิติต่ำกว่า 0.05 กล่าวคือแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่า จำนวนเชื้อแบคทีเรียในสภาวะในร่มและสภาวะกลางแจ้งธรรมชาติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับสภาวะที่มีรังสียูวีพบว่า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

จากผลการศึกษาการประมาณอายุคราบเลือดจากการตรวจสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนพื้นปูนซีเมนต์ที่ระยะเวลาต่างๆ ผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากคราบเลือดแต่ละสภาวะ ซึ่งผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในสภาวะที่แตกต่างกันมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ เป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพที่เกี่ยวข้องและส่งผลกระทบต่อปริมาณของแบคทีเรีย เช่น อุณหภูมิความชื้น ลมและเวลา

งานวิจัยนี้ใช้เทคนิคเทเพลท (pour plate) ในการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย เป็นเทคนิคเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการประมาณอายุคราบเลือดโดยวิธีทางจุลชีววิทยา (Pleethong *et al.*, 2018) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการประมาณอายุของคราบเลือดจากการเจริญของแบคทีเรียโดยเทคนิค spread plate สำหรับการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (Ngamsamer, 2010) ข้อดีของ plate count technique คือ เป็นการตรวจนับเฉพาะแบคทีเรียที่มีชีวิต ทำได้ง่าย รวดเร็ว แต่ใน

ขณะเดียวกันก็มีข้อจำกัดในการพิจารณาคุณสมบัติของแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพราะอาจไม่ได้เกิดมาจากเซลล์เดียว แต่เป็นจากหลายๆ เซลล์ที่อยู่ใกล้กัน มีการเจริญและทวีจำนวนเกิดเป็นกลุ่มเซลล์เดียวกัน จำนวนแบคทีเรียที่นับได้อาจน้อยลง อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยได้ศึกษาเปรียบเทียบกับจากสถานะควบคุมประกอบกัน โดยงานวิจัยนี้ทำการปิเปตสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงบนจานแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ ก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงบนจานแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ และใช้วิธีเทเพลท (pour plate) โดยไม่ได้ทำการเจือจาง ในการตรวจนับปริมาณของแบคทีเรีย ควรมีปริมาณอยู่ในเกณฑ์ 30-300 Colony forming unit/ml การเจือจางจะทำให้ตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้ยากเนื่องจากปริมาณน้อยเกินไป และยังเป็นการรักษาสมดุลขององค์ประกอบต่าง ๆ ของเลือด จึงเลือกใช้ 0.9% Normal Saline Solution เนื่องจากเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ ความเข้มข้นของสารน้ำในเซลล์ร่างกายของมนุษย์ที่มีสุขภาพปกติ ซึ่งเป็นตัวทำลายชนิดเดียวกันกับการประมาณอายุของคราบเลือดจากการเจริญของแบคทีเรีย (Ngamsamer, 2010) และการประมาณอายุคราบเลือดโดยวิธีทางจุลชีววิทยา (Pleethong *et al.*, 2018) ที่ผ่านมา อย่างไรก็ตาม ในงานนี้ ได้ใช้เลือดตามสภาวะจริง กำหนดตัวแปรใกล้เคียงกับสถานการณ์และสถานที่เกิดเหตุให้มากที่สุด เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ใช้ข้อมูลด้านภูมิคุ้มกันวิทยาและข้อมูลทางทฤษฎีที่เกี่ยวข้องมารวมวิเคราะห์ได้

เมื่อวิเคราะห์ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดอายุ 15 นาที ถึง 7 วัน จาก Figure 3 ในสภาวะในร่มและกลางแจ้งธรรมชาติ นั้น พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดอายุ 15 นาที ถึง 2 วัน ใกล้เคียงกัน และปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดอายุ 3 วัน มีปริมาณสูงขึ้นและตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้สูงที่สุด ส่วนปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดที่มีอายุ 4 วัน ถึง 7 วัน จะค่อย ๆ ลดลง เมื่อพิจารณาเฉพาะปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดที่มีอายุ 15 นาที ถึง 4 ชั่วโมง พบว่า การเปลี่ยนแปลงและปริมาณเชื้อแบคทีเรียมีความใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่ได้ตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดอายุ 5 นาที ถึง 5 ชั่วโมง เช่นกัน (Ngamsamer, 2010) เมื่อพิจารณาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดที่มีอายุ 1 วัน ถึง 5 วัน พบว่าผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยเกี่ยวกับการประมาณอายุคราบเลือดโดยวิธีทางจุลชีววิทยาเช่นกัน (Pleethong *et al.*, 2018)

จากความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับเมื่อระยะเวลาผ่านไป สามารถอธิบายได้ดังนี้ กล่าวคือ เมื่อคราบเลือดสัมผัสกับพื้นผิวปูนซีเมนต์ ทำให้คราบเลือดสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บนพื้นผิวปูนซีเมนต์ ในระยะแรกๆ นั้นระบบคอมพลีเมนต์และเม็ดเลือดขาวที่อยู่ในคราบเลือดมีประสิทธิภาพในการทำงานได้ดี จะสังเกตได้จากปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดอายุ 15 นาที ถึง 8 ชั่วโมง ที่มีปริมาณค่อนข้างน้อยกว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับที่ระยะเวลาอื่นๆ เนื่องจากระบบคอมพลีเมนต์และเม็ดเลือดขาวยังสามารถทำงานได้ดี จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียบางส่วนถูกทำลายและไม่สามารถใช้เลือดเพื่อการเจริญและเพิ่มจำนวนได้ ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอายุคราบเลือด 1 วัน ถึง 2 วัน พบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจนับได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดมาจากระบบคอมพลีเมนต์และเม็ดเลือดขาวถูกรบกวนจากปัจจัยภายนอก ส่งผลให้ไม่สามารถทำงานได้ดีเท่าเดิม เมื่อนำผลการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือดอายุ 15 นาที ถึง 8 ชั่วโมง

เปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในคราบเลือด 1 วัน ถึง 2 วัน จึงพบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรียมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่คราบเลือดอายุ 3 วัน พบว่า เป็นวันที่สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุด นั้นหมายถึงปัจจัยแวดล้อมส่งเสริมการเจริญและการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียมากขึ้น กล่าวคือ ระบบคอมพลีเมนต์และเม็ดเลือดขาวไม่สามารถทำงานได้ดีเหมือนเดิม จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถอยู่รอดได้ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียมีการเจริญและเพิ่มจำนวนด้วย

เมื่อพิจารณาผลการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียของวันที่ 4 ถึง วันที่ 7 พบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรียมีปริมาณลดลง เนื่องจากคราบเลือดถูกทิ้งไว้บนพื้นปูนซีเมนต์เป็นระยะเวลาหลายวันจึงทำให้ความชื้นในคราบเลือดมีปริมาณน้อยลงจากการที่น้ำมีการระเหยออกไป นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องอีกด้วย เช่น อุณหภูมิและลม เมื่อปัจจัยภายนอกเป็นอุปสรรคในการเจริญและเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียบางส่วนไม่สามารถมีชีวิตอยู่ต่อไปได้ ส่วนจำนวนที่เหลือที่อยู่รอดสามารถทำได้เพียงใช้อาหารจากเลือดแต่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ จึงทำให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลง

เนื่องจากงานวิจัยนี้ศึกษาการประมาณอายุคราบเลือดจากปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ใน 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะในร่ม สภาวะกลางแจ้งธรรมชาติและสภาวะที่มีแสงยูวีตามแต่ละช่วงเวลา โดยผลการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียของแต่ละสภาวะจะเทียบกับปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากพื้นผิวที่ปราศจากคราบเลือดใช้เป็นพื้นที่ควบคุม โดยผลที่ได้จะเป็นตามสภาพธรรมชาติซึ่งส่งผลต่ออุณหภูมิ ความชื้นและสภาพอากาศตามการจำลองสภาพแวดล้อมจริงในขณะตรวจเก็บตัวอย่าง และแปลผลการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียตามปัจจัยทางชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรีย ในส่วนสภาวะที่มีแสงยูวีนั้น ความเข้มแสงเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยตรง จึงเตรียมตู้ใส่ตัวอย่างที่ทำจากไม้และติดหลอดไฟฆ่าเชื้อโรคกำลังไฟฟ้า 20 วัตต์ ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ผลการทดลองพบว่า แสงยูวีที่สภาวะ UVC ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด และเห็นผลตั้งแต่ช่วงระยะเวลาแรกของเงื่อนไขระยะเวลาในการทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งได้มีการศึกษาวิเคราะห์ความว่องไวของแบคทีเรียต่อสภาพแวดล้อมที่มีรังสียูวี (Coohill & Sagripanti, 2008)

สรุปผลการวิจัย

จำนวนเชื้อแบคทีเรียในสภาวะในร่มและสภาวะกลางแจ้งธรรมชาติในพื้นที่ที่สัมผัสคราบเลือดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแบคทีเรียกับสภาวะที่มีรังสียูวีพบว่า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ทำให้ทราบความสัมพันธ์ของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกับสภาวะต่างๆในเบื้องต้น สามารถใช้เป็นข้อมูลในการตรวจสอบย้อนกลับเพื่อประมาณเวลาของเหตุที่เกิด โดยพิจารณาข้อมูลของพฤติกรรมจากการสืบสวนสอบสวนร่วมกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเหตุคดีที่มีการตรวจพบคราบเลือด ซึ่งเป็นพยานหลักฐานที่สำคัญต่อการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณร้อยตำรวจเอก นิรันดร์ฤทธิ์ จ่านงกิจ ผู้เป็นบิดา และครอบครัวที่ช่วยสนับสนุนผู้วิจัยในทุก ๆ ด้าน ขอบคุณคณาจารย์และสิ่งสนับสนุนการเรียนรู้ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ สำหรับความรู้ อุปกรณ์และเครื่องมือทางห้องปฏิบัติการ ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนงานวิจัย

References

- Basu, D., Kulkarni, R. (2014). Overview of blood components and their preparation. *Indian Journal of Anaesthesia*. 58(5): 529–537.
- Bond, John W., Phil, D. (2007). Value of DNA Evidence in Detecting Crime. *Journal of Forensic Sciences*. 52(1): 128-136.
- Coohill, T. P., & Sagripanti, J. L. (2008). Overview of the inactivation by 254 nm ultraviolet radiation of bacteria with particular relevance to biodefense. *Photochemistry and photobiology*, 84(5), 1084-1090.
- De Gaetano, G. (2001). Historical overview of the role of platelets in hemostasis and thrombosis. *haematologica*, 86(4), 349-356.
- Laohabutr, P. (2016). Estimation of the age of bloodstain on cloth by the method of image analysis. *Veridian E-journal Science and Technology Silpakorn University*. 4(4),65-77. (in Thai)
- National Crime Prediction Center. (2022). White Paper on Crime and Justice 2022. Bangkok: The Office of Justice Affairs. (in Thai)
- Ngamsamer, P. (2010). Age determination of blood stain by bacterial growth. *Veridian E-Journal, Silapakorn University (Humanities, Social Sciences and arts)*. 4(1),819-838. (in Thai)
- Pleethong, J. Sinloyma, P., Suthirawut, S. (2018). Age Estimation of Bloodstain by Microbiology Method. *Suan Dusit Graduate School Academic Journal*. 14(3), 1-14. (in Thai)
- Saferstein, R. (2009). *Forensic Science: From the Crime Scene to the Crime Lab* (1st ed.). New Jersey: Pearson: Prentice Hall.