

การจำแนกหนดอนแมลงวันที่พบบนศพ โดยอาศัยข้อมูลทางซีวิทยา และอนุวิทยา

นาย ธีรกมล เฟ็งสกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

IDENTIFICATION OF MAGGOTS COLLECTED FROM CORPSES BY USING BIOLOGY AND
MOLECULAR INFORMATIONS

Mr. Theerakamol Pongsakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medical Science

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การจำแนกहनอนแมลงวันที่พบบนศพ โดยอาศัยข้อมูลทางชีววิทยาและอนุวิทยา
โดย	นาย ธีรกมล เพ็งสกุล
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เต้จ สิริยะเสถียร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นันทนา ศิริทรัพย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้ันวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติศร ภัทราดุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วิไล ชินนเนศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เต้จ สิริยะเสถียร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นันทนา ศิริทรัพย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(พลตำรวจโท เลี้ยง หุยประเสริฐ)

ธีรภมล เพ็งสกุล : การจำแนกหนอนแมลงวันที่พบบนศพ โดยอาศัยข้อมูลทางชีววิทยา และอณูวิทยา. (IDENTIFICATION OF MAGGOTS COLLECTED FROM CORPSES BY USING BIOLOGY AND MOLECULAR INFORMATIONS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.นพ.ดร. เเผด็จ สิริยะเสถียร, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ.พญ. นันทนา ศิริทรัพย์, 145 หน้า.

หนอนแมลงวันบนศพเป็นข้อมูลที่สำคัญทางนิติเวชศาสตร์ในการประมาณเวลาตาย และบางกรณียังสามารถใช้เป็นหลักฐานเมื่อศพถูกเคลื่อนย้ายจากพื้นที่ซึ่งมีแมลงวันบางชนิดอาศัยอยู่ไปยังแหล่งอื่น ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นที่ต้องจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันให้ได้ การศึกษานี้ได้ทำการเก็บหนอนแมลงวันจากศพ จำนวน 49 ศพ จากสถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ ช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2551 โดยเป็นศพที่ส่งมาจากจังหวัดต่างๆ ในภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันตก ของประเทศ การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของหนอนแมลงวัน แมลงวันตัวเต็มวัน และการศึกษาทางอณูวิทยา สามารถจำแนกหนอนแมลงวันได้ 6 ชนิด ได้แก่ *Chrysomya megacephala* พบจำนวน 68%, *Chrysomya ruffifacies* พบจำนวน 14%, *Sarcophaga ruficornis* พบจำนวน 12%, *Chrysomya nigripes* พบจำนวน 2%, *Sarcophaga javanica* พบจำนวน 2% และ *Sarcophaga peregrina* พบจำนวน 2% ตามลำดับ การศึกษาข้อมูลการเจริญเติบโตพบว่าการเจริญมีความแตกต่างกันระหว่างการเจริญของหนอนแมลงวันหัวเขียว และหนอนแมลงวันหลังลาย การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน cytochrome oxidase ของแมลงวันที่ได้กับข้อมูลในฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความแตกต่างประมาณ 1% นอกจากนี้บนศพที่มีการย่อยสลายไปมากแล้วยังตรวจพบแมลงชนิดอื่นบนศพด้วยคือ Black soldier (*Hermetia illucens*), Hide beetle (*Dermestes sp.*), Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) และ Hister beetles (*Saprinus sp.*) ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในการประกอบการชันสูตรพลิกศพ เพื่อประมาณระยะเวลาการตายของศพช่วยให้ผู้ชันสูตรพลิกศพสามารถประมาณระยะเวลาการตายได้ใกล้เคียงยิ่งขึ้น

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนิติ.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

507 47833 30 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEYWORDS: MAGGOT / BLOW FLIES / FLESH FLIES / CYTOCHROME OXIDASE

THEERAKAMOL PENGSAKUL: IDENTIFICATION OF MAGGOTS COLLECTED FROM CORPSES BY USING BIOLOGY AND MOLECULAR INFORMATIONS. ADVISOR: ASSOC. PROF. PADET SIRIYASATIEN, MD. PhD, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. NANTANA SIRISUP, MD, 145 pp.

Maggot collected from corpse is an essential data for estimating post mortem interval (PMI). In some cases, maggot can be used as an evident when corpses have been moved from area of a predominant fly species to another area, therefore it is importance to identify maggot species accurately. In this study, we collected maggots from 49 corpses which were transferred to Institute of Forensic science, Police Hospital during May to September 2008. The corpses were found in various areas including, central, eastern, north eastern and western of Thailand. Morphological and molecular studies of maggot and adult flies found six species of fly including *Chrysomya megacephala* (68%), *Chrysomya rufifacies* (14%), *Sarcophaga ruficornis* (12%), *Chrysomya nigripes* (2%), *Sarcophaga javanica* (2%), and *Sarcophaga peregrina* (2%). Comparison of growth rate between blow flies and flesh flies using Iso-morphen graph showed significant different. Nucleotide sequences of the cytochrome oxidase gene of the maggots compared to data from the GenBank reveled approximately 1% different. Apart from this, other insects have been collected from advance stage of corpse decomposition such as Black soldier (*Hermetia illucens*), Hide beetle (*Dermestes sp.*), Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) and Hister beetles (*Saprinus sp.*) were found. This study would assist forensic entomologist to estimate PMI more accurately.

Field of Study: Medical Science

Academic Year: 2008

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่งในความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร อาจารย์ที่ปรึกษา และ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นันทนา ศิริทรัพย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ ความช่วยเหลือ ถ่ายทอดทักษะในการเป็นนักวิจัยที่ดี และให้โอกาสในการศึกษางานวิจัยนี้ ตลอดจนการช่วยตรวจสอบ และให้คำแนะนำในการแก้ไขจุดบกพร่องต่างๆในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ พลตำรวจโท เลี้ยง หุยประเสริฐ นายแพทย์ใหญ่ (สบ.8) โรงพยาบาลตำรวจ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเข้าเก็บตัวอย่างหนองวันบงศพ ณ สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ และกรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ได้อำนวยความสะดวกในการทำการทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆในห้องปฏิบัติการ ภาควิทยาทางการแพทย์ ที่ได้ช่วยเหลือสนับสนุน และเป็นกำลังใจ ในการทำการศึกษาวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้โอกาสทางการศึกษา รับฟังความคิดเห็น และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา คุณค่าและประโยชน์ที่การศึกษาวิจัยนี้พึงมี ผู้วิจัยขออุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญภาพ.....	ฏ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	5
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	5
1.4 สมมติฐาน.....	5
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	6
1.6 คำสำคัญ.....	7
1.7 การให้คำนิยามในเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย.....	7
1.8 สถานที่ดำเนินการวิจัย.....	8
1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	8
1.10 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการศึกษา.....	8
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
2.1 นิติกฎหมาย.....	10
2.2 ประวัติการศึกษาทางด้านนิติวิทยาศาสตร์.....	11
2.3 การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต และการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิต	15
2.3.1 การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงต้น.....	16
2.3.2 การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงท้าย.....	17
2.3.2.1 การแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากการเสียชีวิต (post-mortem rigidity, rigor mortis).....	17
2.3.2.2 การตกสู่เบื้องต่ำของเลือด (post-mortem hypostasis, livor mortis).....	19

2.3.2.3 การลดลงของอุณหภูมิภายในร่างกายภายหลังการเสียชีวิต (post-mortem body cooling, algor mortis).....	21
2.3.2.4 กระบวนการเน่าของศพ (decomposition of the body).....	23
2.4 แมลงที่มีความสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์.....	26
2.5 วงจรชีวิตของแมลงวัน.....	27
2.6 การใช้กราฟการเจริญเติบโตของแมลงวันเพื่อประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต	28
2.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวัน.....	32
2.7.1 ส่วนหัวแมลงวัน.....	32
2.7.2 หนวดแมลงวัน.....	33
2.7.3 ปากแมลงวัน.....	34
2.7.4 ส่วนอกแมลงวัน.....	38
2.7.5 ปีกแมลงวัน.....	40
2.7.6 ขาแมลงวัน.....	41
2.7.7 ส่วนท้องแมลงวัน.....	41
2.8 แมลงวันที่มีความสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์.....	42
2.8.1 แมลงวันบ้าน (House flies).....	42
2.8.2 แมลงวันหัวเขียว (Blow flies).....	46
2.8.2.1 แมลงวันหัวเขียว <i>Chrysomya megacephala</i>	47
2.8.2.2 แมลงวันหัวเขียว <i>Phaenicia sericata</i>	48
2.8.3 แมลงวันหลังลาย (Flesh flies).....	50
2.9 การเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันบนศพจากสถานที่เกิดเหตุ.....	51
2.9.1 วิธีการเก็บแมลงวันจากศพ.....	51
2.9.2 วิธีการบันทึกข้อมูล.....	51
2.10 การเตรียมตัวอย่างแมลงวันเพื่อวิเคราะห์ในห้องทดลอง.....	52
2.11 การประยุกต์ใช้ความรู้ทางด้านอนุวิทยาในการระบุสายพันธุ์ของแมลงวัน.....	54
2.11.1 สารพันธุกรรม หรือ DNA (Deoxy Ribonucleic Acid).....	54
2.11.2 ปฏิกริยา PCR (Polymerase Chain Reaction).....	56
2.11.3 การวิเคราะห์ถึงลักษณะ DNA ของแมลงวัน เพื่อระบุสายพันธุ์ ของ แมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์.....	59
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	60

	หน้า
3.1 กลุ่มประชากรเป้าหมาย.....	60
3.2 การเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวัน และการเตรียมตัวอย่างหนอนแมลงวัน.....	60
3.3 ขนาดของประชากรตัวอย่าง.....	61
3.4 รูปแบบการวิจัย.....	61
3.5 การออกแบบงานวิจัย.....	62
3.6 อุปกรณ์.....	63
3.7 วัสดุ.....	64
3.8 สารเคมี.....	65
3.9 หนอนแมลงวัน.....	66
3.9.1 การจำแนกหนอนแมลงวันทางสัณฐานวิทยา.....	66
3.9.2 การเลี้ยงหนอนแมลงวันจากศพ เพื่อจำแนกชนิดของแมลงวันตัวเต็ม วัย.....	66
3.9.3 การเตรียมสไลด์ posterior spiracle เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐาน วิทยาของหนอนแมลงวัน.....	68
3.9.4 การวิเคราะห์ทางอณูชีววิทยา.....	70
3.9.4.1 การสกัด DNA.....	70
3.9.4.2 ปฏิกริยา Polymerase Chain Reaction (PCR).....	71
3.9.4.3 การวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยวิธี agarose gel electrophoresis.....	72
3.9.4.4 การทำให้ DNA บริสุทธิ์จากผลิตภัณฑ์ PCR.....	72
3.9.4.5 การวัดหาปริมาณ DNA โดยใช้ spectrophotometer.....	73
3.9.4.6 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA.....	74
3.10 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	75
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	76
4.1 ข้อมูลเบื้องต้นของศพและหนอนแมลงวัน.....	76
4.2 ผลการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ.....	83
4.3 ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันแต่ละชนิด ที่พบบน ศพ.....	97
4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน.....	104
4.5 แมลงชนิดอื่นที่พบบนศพ.....	106

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	112
5.1 ชนิดนอนแมลงวันที่พบบนศพ.....	112
5.2 ความสัมพันธ์ของชนิดของแมลงวัน และข้อมูลของศพ.....	114
5.3 ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์นอนแมลงวันแต่ละชนิดที่พบบนศพ.....	118
5.4 แนวทางการวิเคราะห์ ชนิดของนอนแมลงวันบนศพ.....	119
5.5 แมลงชนิดอื่นที่พบบนศพ.....	122
5.6 ข้อเสนอแนะ.....	123
รายการอ้างอิง.....	124
ภาคผนวก.....	134
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	145

สารบัญญัตราสาร

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ primers ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค PCR.....	57
3.1	แสดงส่วนประกอบของสารละลายสำหรับปฏิกิริยา PCR.....	72
4.1	แสดงจำนวนศพที่พบหนองแมลงวันในแต่ละจังหวัดในประเทศไทย.....	78
4.2	แสดงข้อมูลเพศของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	79
4.3	แสดงข้อมูลเปรียบเทียบจำนวนศพที่พบหนองแมลงวันในช่วงเดือน พฤษภาคม ถึง กันยายน พ.ศ.2551.....	79
4.4	แสดงข้อมูลสาเหตุการเสียชีวิตของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	80
4.5	แสดงข้อมูลสภาพการสวมเสื้อผ้าของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	80
4.6	แสดงข้อมูลลักษณะการมีบาดแผลของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	80
4.7	แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (เขตชนบท/ในเมือง) ของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	81
4.8	แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (ศพเสียชีวิตในบ้าน/นอกบ้าน) ของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	81
4.9	แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (พบศพในป่า/ในชุมชน) ของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	82
4.10	แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (พบศพบนบก/ในน้ำ) ของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	82
4.11	แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (ศพถูกฝัง/ไม่ถูกฝัง) ของศพที่พบหนองแมลงวัน.....	82
4.12	แสดงจำนวนศพ ที่พบหนองแมลงวันแต่ละระยะ.....	83
4.13	แสดงผลการจำแนกชนิดของหนองแมลงวันที่พบบนศพ.....	96
5.1	แสดงจังหวัดที่มีการพบหนองแมลงวันบนศพ และจำนวนศพที่พบในแต่ละจังหวัด.....	115
5.2	แสดงลักษณะการตายของศพ และชนิดของหนองแมลงวันที่พบในแต่ละศพ....	116

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า	
2.1	แสดงถึงการค้นพบลูกกิ้งที่ประกอบด้วยรูปสัตว์ต่างๆและมีแมลงวันรวมอยู่ด้วย ในสมัยเมโสโปเตเมีย (2,000 ปี ก่อนคริสตกาล).....	12
2.2	แสดงถึงบทที่ 5 ในหนังสือจีน ชื่อ Sung Tzu's Chinese book ซึ่งได้บรรยาย กรณีศึกษาในการใช้แมลงวันเพื่อตรวจหาเลือดบนอาวุธ.....	14
2.3	แสดงภาพพิมพ์จาก Dances of the Death ที่พรรณนาถึงการศึกษาเริ่มต้นใน กลไกของการย่อยสลายของศพ.....	15
2.4	แสดงลักษณะของ tache noir sclerotique ซึ่งเป็น แถบสีน้ำตาลเข้มเป็นแนว ขวางตรงผิวของเยื่อตาขาวและกระจกตา.....	17
2.5	แสดงถึง lividity ที่สามารถบ่งบอกท่าของศพก่อนที่จะเสียชีวิต.....	21
2.6	แสดงถึง Electronic Thermometer และ Rectal probe รุ่น ของบริษัท Alaris® รุ่น TEMP•PLUS™ II ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวัดอุณหภูมิของศพ.....	23
2.7	แสดงลักษณะของศพ ซึ่งแสดงลักษณะของผลจากแก๊สที่ได้จากการเน่า ทำให้เกิด แรงดันภายในร่างกายศพ และลักษณะของการเน่าที่เกิดการปล่อยเอนไซม์ที่อยู่ ภายในเซลล์.....	25
2.8	แสดงลักษณะวงจรชีวิตของแมลงวัน ในระยะต่างๆ ซึ่งประกอบด้วย ระยะไข่ ระยะหนอนแมลงวัน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย.....	28
2.9	แสดงถึงกราฟการเจริญเติบโตของแมลงวันของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ <i>Lucilia</i> <i>sericata</i> ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความยาวของตัวหนอนแมลงวัน กับ อุณหภูมิ.....	30
2.10	แสดงถึง Isomegalen-diagram ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ <i>Lucilia sericata</i> โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลาของการเจริญเติบโตของ ตัวหนอนแมลงวัน.....	31
2.11	แสดงถึง Isomorphen-diagram ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ <i>Lucilia sericata</i> โดยจะแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลาที่ใช้ในการ เจริญเติบโตของแมลงวัน.....	32
2.12	แสดงลักษณะส่วนหัวด้านหน้าของแมลงวัน.....	33

รูปที่	หน้า
2.13 แสดงลักษณะของปากแบบซั้บดูด (sponging type) ของแมลงวันบ้าน <i>Musca domestica</i> (L).....	34
2.14 แสดงลักษณะของปากแบบเจาะดูด (piercing-sucking type) ของแมลงวันคอกสัตว์ <i>Stomoxys calcitrans</i> (L).....	35
2.15 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของส่วนปากแมลงวัน ที่มีปากแบบซั้บดูด...	37
2.16 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปส่วนอกด้านข้างของแมลงวัน.....	38
2.17 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปส่วนอกด้านบนของแมลงวัน.....	39
2.18 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปส่วนปีกของแมลงวัน.....	40
2.19 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปของขาแมลงวัน.....	41
2.20 แสดงลักษณะทางสั้ณฐานวิทยาของแมลงวันบ้าน ตัวเต็มวัย.....	43
2.21 แสดงลักษณะพื้นที่ ที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวันบ้าน.....	45
2.22 แสดงลักษณะทางสั้ณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว <i>Chrysomya megacephala</i> ตัวเต็มวัย.....	47
2.23 แสดงลักษณะทางสั้ณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว <i>Phaenicia sericata</i> ตัวเต็มวัย.....	49
2.24 แสดงลักษณะทางสั้ณฐานวิทยาของ แมลงวันหลังลาย <i>Parasarcophaga</i> sp. ตัวเต็มวัย.....	50
2.25 แสดงลักษณะของการวัดขนาดความยาวของหนอนแมลงวัน ที่ทำการวัดค่าความยาวหลังจากการแช่น้ำร้อนโดยทันที.....	53
2.26 แสดงตำแหน่งยีน CO I และ CO II ใน mtDNA ของหนอนแมลงวันที่ทำการศึกษาและทิศทางของ primers ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค PCR.....	56
2.27 แสดงถึงวิธี agarose gel electrophoresis ในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR.....	58
3.1 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพ.....	61
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดด้วยวะ ของหนอนแมลงวันเพื่อนำมาศึกษาลักษณะสั้ณฐานวิทยา.....	66
3.3 แสดงภาชนะที่ใช้เลี้ยงหนอนแมลงวัน และการเลี้ยงหนอนแมลงวันในภาชนะดังกล่าว.....	68

รูปที่	หน้า
3.4 แสดงอุปกรณ์และขั้นตอนกระบวนการ dehydrated.....	69
3.5 แสดงแผนภาพ สรุปภาพรวมขั้นตอนการวิเคราะห์ทางอณูชีววิทยา.....	70
4.1 แสดงแผนที่ของจังหวัดที่พบศพที่มีหนอนแมลงวัน.....	77
4.2 แสดงลักษณะเฉพาะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ <i>Chrysomya megacephala</i>	84
4.3 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ <i>Sarcophaga ruficornis</i>	85
4.4 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ <i>Chrysomya rufifacies</i>	86
4.5 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ <i>Sarcophaga peregrina</i>	87
4.6 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ <i>Chrysomya nigripes</i>	88
4.7 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ <i>Sarcophaga javanica</i>	89
4.8 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ <i>Chrysomya megacephala</i>	90
4.9 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ <i>Sarcophaga ruficornis</i>	91
4.10 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ <i>Chrysomya rufifacies</i>	92
4.11 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ <i>Sarcophaga peregrina</i>	93
4.12 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ <i>Chrysomya nigripes</i>	94
4.13 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ <i>Sarcophaga javanica</i>	95
4.14 แสดงผลการวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยเทคนิค Agarose gel electrophoresis เมื่อทำการย้อมด้วย Ethidium Bromide.....	97
4.15 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ <i>Chrysomya megacephala</i> ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (DQ119587.1).....	98
4.16 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ <i>Chrysomya rufifacies</i> ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (DQ328666.1).....	99

รูปที่	หน้า	
4.17	แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ <i>Chrysomya nigripes</i> ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (AY842620.1).....	100
4.18	แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ <i>Sarcophaga ruficornis</i> ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405941.1).....	101
4.19	แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ <i>Sarcophaga javanica</i> ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405926.1).....	102
4.20	แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ <i>Sarcophaga peregrina</i> ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405928.1).....	103
4.21	แผนภูมิเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับ ระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน <i>Chrysomya megacephala</i>	104
4.22	แผนภูมิเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับ ระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน <i>Chrysomya rufifacies</i>	105
4.23	แผนภูมิเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับ ระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน <i>Sarcophaga ruficornis</i>	105
4.24	แสดงตัวอย่างศพที่ 1 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน.....	106
4.25	แสดงตัวอย่างศพที่ 2 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน.....	107
4.26	แสดงตัวอย่างศพที่ 3 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน.....	108
4.27	แสดงตัวอย่างศพที่ 4 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน.....	109
4.28	แมลง Black soldier fly (<i>Hermetia illucens</i>) ระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัย.....	110
4.29	แมลง Red-Legged Ham Beetle (<i>Necrobia rufipes</i>) ระยะตัวเต็มวัย.....	110
4.30	แมลง Hide beetle (<i>Dermestes sp.</i>) ระยะตัวเต็มวัย.....	111
4.31	แมลง Hister beetles (<i>Saprinus sp.</i>) ระยะตัวเต็มวัย.....	111
5.1	แผนภูมิวงกลม แสดงจำนวนร้อยละ ของชนิดหนอนแมลงวันที่พบบนศพ.....	113
5.2	แสดงลักษณะของ posterior spiracle ของหนอนแมลงวันทั้ง 6 สายพันธุ์.....	120
5.3	สรุปแนวทางของวิธีการวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันจากศพ.....	122

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การประมาณเวลาการตาย (Post-Mortem Interval, PMI) เป็นข้อมูลที่สำคัญทางนิติเวชศาสตร์ในการชันสูตรพลิกศพที่ตายโดยผิดธรรมชาติ ตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา พ.ศ. 2477 มาตรา 148 และ 154 บัญญัติไว้ว่า “ให้ผู้ชันสูตรพลิกศพทำความเห็นเป็นหนังสือ แสดง เหตุและพฤติการณ์ที่ตาย ผู้ตายเป็นใคร ตายที่ไหน เมื่อใด ถ้าตายโดยคนทำร้ายให้กล่าวหาใคร หรือสงสัยว่าใครเป็นผู้กระทำผิดเท่าที่จะทราบได้” วัตถุประสงค์ที่สำคัญของการชันสูตรพลิกศพที่กำหนดไว้ในกฎหมายก็คือ การระบุเวลาตาย ดังนั้นการหาหลักฐานมาสนับสนุนเพื่อประมาณเวลาการตายจึงมีความสำคัญมากสำหรับแพทย์และบุคลากรทางนิติเวช (Benecke, 2001; Greenberg, 2002) สำหรับการประมาณเวลาตายในระยะแรกนั้นสามารถใช้ข้อมูลจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของศพ เช่น การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ อุณหภูมิของศพ การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของน้ำในลูกนัยน์ตาเป็นต้น แต่ในกรณีที่ศพเสียชีวิตมานานกว่า 48 ชั่วโมงแล้ว การอาศัยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของศพจะมีความแม่นยำน้อยลง จึงมีความจำเป็นต้องหาหลักฐานอื่นมาสนับสนุน ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อได้มีการแก้ไขเพิ่มเติม ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา (ฉบับที่ 21) พ.ศ. 2542 ที่มีความโดยสรุป ให้แพทย์มีหน้าที่ออกไปชันสูตรพลิกศพ ณ สถานที่เกิดเหตุ แพทย์จึงมีความจำเป็นต้องสังเกต ค้นหาพยานหลักฐานที่จะเป็นข้อสนับสนุนการวินิจฉัยเวลาตาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่ศพเน่า ปัจจุบันความรู้ทางนิติกีฏวิทยา (Forensic Entomology) มีการพัฒนาไปอย่างมากและได้มีการนำมาประยุกต์ในการประมาณเวลาตาย แมลงที่มีบทบาทมากในกรณีนี้คือแมลงวันหัวเขียว (Blow flies) และแมลงวันหลังลาย (Flesh flies) ซึ่งมีนิสัยที่ชอบตอมสิ่งปฏิกูลรวมทั้งซากศพ แมลงวันทั้งสองชนิดเป็นแมลงวันที่อาศัยใกล้ชิดและกับคน (synanthropic flies) ด้วยเหตุนี้แมลงวันสองชนิดนี้จึงเป็นแมลงกลุ่มแรกที่เข้ามาเกี่ยวข้องกับศพและสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกเวลาการตายได้ใกล้เคียงมาก (Greenberg, 1991; Catts and Goff, 1992; Introna, 1998 ; Benecke, 1998 and Turchetto, 2001)

การที่เราจะนำข้อมูลของแมลงวันมาใช้ประโยชน์ได้เต็มที่จำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับรูปร่างลักษณะและวงจรชีวิตของแมลงวันเป็นอย่างดี แมลงวันหัวเขียว (Blow flies) เป็นชื่อสามัญของแมลงวันที่มีลำตัวสีเขียวหรือน้ำเงิน ซึ่งมีอยู่หลายชนิด (species) ชนิดที่พบมากที่สุดในประเทศไทยคือ *Chrysomya megacephala* (Sucharit and Tumrasvin, 1981) ลักษณะโดยทั่วไปของแมลงวันหัวเขียวคือมีลำตัวค่อนข้างกลม ส่วนอกมีขนาดใหญ่ มีขนขนาดใหญ่ปก

กลุ่มตัว ตัวประกอบขนาดใหญ่ ตัวเต็มวัยมักอาศัยในบริเวณบ้านและตอมสิ่งปฏิกูลเป็นอาหาร ตัวเมียวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 50-100 ฟอง ประมาณ 12 ชั่วโมงไข่จึงฟักออกเป็นหนอนวัยที่ 1 (1st stage larva หรือ 1st instar larva) หนอนแมลงวันมักจะใช้คำเรียกเฉพาะว่า maggot ลักษณะของหนอนแมลงวันคือส่วนหัวมีขนาดเล็กมีอวัยวะที่ใช้กินอาหารเรียกว่า hook อยู่ 1 คู่ ส่วนท้ายของหนอนมีลักษณะป้านโดยมีท่อหายใจอยู่ 1 คู่เรียกว่า posterior spiracle รูปร่างลักษณะของ posterior spiracle นี้ใช้ช่วยในการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันได้ หนอนจะลอกคราบ 2 ครั้ง เป็นหนอนวัยที่ 2 และ 3 ตามลำดับ หนอนวัยที่ 1 ใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมงเพื่อเจริญเป็นหนอนวัยที่ 2 และหนอนวัยที่ 2 ใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง เพื่อเจริญเป็นหนอนวัยที่ 3 เมื่อหนอนวัยที่ 3 โตเต็มที่ (peak feeding) หนอนแมลงวันระยะนี้จะหยุดกินอาหารและหาที่มืดและแห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ต่อไป หนอนวัยที่ 3 ใช้เวลาจนกระทั่งเป็นดักแด้ (pupa) ประมาณ 4-5 วัน ภายในดักแด้ตัวหนอนจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อเป็นแมลงวันตัวเต็มวัยโดยใช้เวลาในดักแด้ประมาณ 5-7 วัน ทั้งนี้ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของหนอนแต่ละระยะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่นอุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณอาหาร ความหนาแน่นของหนอนแมลงวัน แต่ปัจจัยที่มีความสำคัญมากที่สุดคืออุณหภูมิ (Wells and Kurahashi, 1994; Grassberger and Reiter, 2001) ส่วนแมลงวันหลังลายเป็นแมลงวันที่มีขนาดใหญ่กว่าแมลงวันหัวเขียว ส่วนท้องด้านบนที่ลายคล้ายตาหมากรุกจึงเรียกว่าแมลงวันหลังลาย การเจริญเติบโตของแมลงวันชนิดนี้คล้ายแมลงวันหัวเขียว แต่บางชนิดสามารถออกลูกเป็นตัวได้ จากการสำรวจของ Sucharit และคณะในปี ค.ศ. 1976 พบแมลงวันหลังลายในเขตกรุงเทพมหานคร 4 ชนิดคือ *Sarcophaga peregrina*, *S. ruficornis*, *S. orchidae* และ *S. albiceps* (Sucharit et al, 1976) แต่แมลงวันหลังลายทั่วประเทศนั้นพบได้ 48 ชนิด (Tumrasvin et al, 1979)

ในสภาวะที่เหมาะสมเช่นอุณหภูมิที่พอเหมาะ แมลงวันเพศเมียจะไปวางไข่บนศพภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมงหลังการตาย โดยแมลงวันเพศเมียจะเลือกวางไข่บริเวณบาดแผลหรือบริเวณเยื่อตามช่องต่างๆของร่างกาย เช่น โพงงจมูก ปาก ลูกตาเป็นต้น เนื่องจากไข่และตัวหนอนที่ฟักจากไข่นั้นต้องการความชื้นในการเจริญเป็นแมลงวันตัวเต็มวัย ในการกินอาหารหนอนแมลงวันจะหลั่งน้ำลายซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่มีฤทธิ์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes) ออกมาและเนื่องจากแมลงวันจะวางไข่ครั้งละมากๆจึงทำให้สามารถพบหนอนแมลงวันจำนวนมาก ซึ่งทำให้ได้น้ำลายออกมาได้ปริมาณมาก น้ำลายที่หลั่งออกมาแบบนี้จะช่วยทำให้เนื้อเยื่อสลายตัวได้รวดเร็วยิ่งขึ้น หนอนแมลงวันกินอาหารโดยอาศัย hook ซึ่งอยู่บริเวณส่วนหัว หนอนแมลงวันจะลอกคราบ 2 ครั้ง จึงจะเจริญเต็มที่ที่เป็นหนอนแมลงวันระยะที่ 3 เมื่อหนอนวัยที่ 3 กินอาหารเต็มที่แล้วก็จะ

เคลื่อนย้ายออกจากศพไปหาที่ซึ่งแห้งและมีดเพื่อเข้าดักแด้เช่นในดินหรือใต้พรมเป็นต้น ภายในดักแด้นั้น หนอนจะมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเป็นแมลงวัน (Siriyasatien and Sirisup, 2005)

ในการประมาณระยะเวลาการตายของศพ (PMI) โดยอาศัยความยาวของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ ซึ่งจะวัดจากตัวหนอนที่มีขนาดใหญ่และยาวที่สุดเนื่องจากเป็นหนอนแมลงวันที่มีอายุมากที่สุดแต่ทั้งนี้ต้องทำก่อนที่หนอนจะเข้าสู่ระยะ peak feeding เพราะหลังจากระยะนี้แล้ว หนอนจะไม่กินอาหารทำให้น้ำหนักและขนาดลำตัวไม่เพิ่มขึ้นแต่จะลดลงเพราะเป็นระยะที่เตรียมเข้าดักแด้ ดังนั้นเมื่อนำหนอนระยะที่ 3 มาประมาณค่า PMI จะต้องดูว่าหนอนเข้าสู่ระยะ peak feeding แล้วหรือไม่ เพราะอาจทำให้เกิดความผิดพลาดในการคะเนค่า PMI จากการใช้ความยาวของหนอนเป็นเกณฑ์ได้ นอกจากการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ปัจจัยที่มีความสำคัญมากคืออุณหภูมิ ดังนั้นการประมาณค่า PMI จะต้องต้องมีข้อมูลของอุณหภูมิมาประกอบด้วยเสมอ และลักษณะสภาพแวดล้อมที่มีฝนตกในช่วงของการตายจะมีผลต่อปริมาณความชื้นและอุณหภูมิซึ่งจะต้องนำมาร่วมพิจารณาด้วยเช่นกัน

จากการศึกษาของ Grassberger และ Reiter ในปี 2002 ถึงผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Protophormia terraenovae* ตั้งแต่เป็นไข่ ตัวหนอนและดักแด้ (Grassberger and Reiter, 2002) พบว่าอุณหภูมามีผลต่อระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญของแมลงวันทุกระยะ โดยผู้วิจัยได้ศึกษาผลของอุณหภูมิตั้งที่ 15, 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเขียนกราฟโดยแนวนอนเป็นเวลาหลังจากฟักออกจากไข่และแนวตั้งเป็นความยาวของหนอนแมลงวัน จากกราฟจะพบว่าตำแหน่งสูงสุดของกราฟคือระยะ peak feeding โดยกราฟจะสิ้นสุดเมื่อแมลงวันเข้าสู่ระยะดักแด้ จากการวิเคราะห์กราฟพบว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่หนอนแมลงวันใช้เวลาเจริญตั้งแต่เริ่มออกจากไข่จนเป็นดักแด้นานที่สุด และเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้นระยะเวลาที่แมลงวันใช้ในการเจริญเติบโตรวมทั้งระยะเวลาที่ฟักออกจากไข่จะสั้นลง หลังจากระยะ peak feeding ความยาวของหนอนแมลงวันจะลดลง ดังนั้นหากนำหนอนระยะที่ 3 มาประมาณค่า PMI ต้องสังเกตว่าหนอนเข้าสู่ระยะ peak feeding แล้วหรือไม่ ประโยชน์ของกราฟนี้คือเมื่อเราเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพมาวัดขนาดโดยมีข้อมูลของอุณหภูมิเฉลี่ยในที่เกิดเหตุมาประกอบแล้วลากเส้นลงมายังแกนเวลาเราก็สามารถประมาณวันที่เสียชีวิตได้ อย่างไรก็ตามการใช้กราฟนี้ยังมีข้อจำกัดอยู่เช่นอุณหภูมิซึ่งในสภาวะปกติจะมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ดังนั้นหากศพอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมากเช่นในที่โล่ง การใช้กราฟนี้ประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตจะไม่แม่นยำเท่าที่ควร แต่หากศพอยู่ในที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิไม่มากเช่นในห้องหรือภายในบ้านการใช้กราฟช่วยประมาณจะมีความแม่นยำมากขึ้น นอกจากนี้ Grassberger และ Reiter ยังนำข้อมูลที่ได้มาเขียนเป็นกราฟที่เรียกว่า "Isomorphen-diagram"

โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญในแต่ละระยะของแมลงวัน ตั้งแต่ระยะไข่ (egg) จนถึงระยะฟักเป็นตัวหนอน (hatching) เข้าสู่ระยะดักแด้ (pupariation) และระยะที่แมลงวันออกจากดักแด้ (adult emergence หรือ eclosion) ประโยชน์ของ Isomorphen-diagram คือสามารถนำมาใช้ในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตโดยใช้ระยะของแมลงวันที่พบ มาคำนวณย้อนหลังกลับไปสู่ช่วงเวลาเริ่มวางไข่บนศพ การนำข้อมูลที่ได้จากแมลงวัน มาเป็นตัวบ่งบอกเวลาการตายนับว่ามีประโยชน์อย่างมาก กล่าวคือมีความแม่นยำสูงและไม่มี ความยุ่งยากในการคำนวณระยะเวลา อย่างไรก็ตามมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการเจริญของ แมลงวันซึ่งจะไปมีผลต่อการประมาณค่า PMI เช่นอุณหภูมิ รวมถึงความชื้น และที่สำคัญที่สุดคือ ประสบการณ์ของผู้ออกไปชันสูตรในการเก็บตัวอย่างแมลงวันเพราะหากเก็บเพียงแต่หนอนจาก ศพโดยไม่ตรวจสอบว่ามีแมลงวันที่เป็นดักแด้อยู่ตามพื้นหรือใต้พรมแล้วจะทำให้การประมาณค่า PMI ผิดพลาดไปมาก ทำให้ไม่สามารถนำข้อมูลมาใช้ได้ นอกจากนี้แมลงวันแต่ละชนิดใช้เวลาในการ เจริญที่แตกต่างกัน การศึกษาวงจรชีวิตของแมลงวันและนำมาสร้างกราฟดังกล่าวเป็นของ แมลงวัน *Protophormia terraenovae* (Grassberger and Reiter, 2002) ซึ่งเป็นแมลงวันหัวเขียว ที่พบในเขตหนาวแต่เนื่องจากแมลงวันแต่ละชนิดจะมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ทำให้ การศึกษาข้อมูลของแมลงวัน *Protophormia terraenovae* จึงไม่สามารถนำมาใช้กับแมลงวันหัว เขียวในประเทศไทยได้ ดังนั้นการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตโดยใช้แมลงวันจึงต้องใช้ข้อมูลที่ ตรงกับแมลงวันชนิดเดียวกันจึงจะได้ค่า PMI ที่ใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุด

จากการศึกษาของประเทศแถบเอเชีย ยกตัวอย่างเช่นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงโมเลกุล จำแนกสายพันธุ์แมลงวันมีความสำคัญในงานนิติเวชศาสตร์ที่ประเทศไต้หวัน (Chen, 2004) ได้มี การเริ่มทำการศึกษาก่อนปี ค.ศ. 2000 พบว่ามีหนอนแมลงวันที่พบบนศพที่ได้ทำการระบุจำแนก สายพันธุ์อย่างสมบูรณ์แล้วจำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chrysomya megacephala* (Fabricius), *Chrysomya pinguis* (Walker), *Chrysomya rufifacies* (Macquart), *Hemipyrellia ligurriensis* (Wiedemann), *Lucilia bazini* (Seguy), *Lucilia cuprina* (Wiedemann), *Lucilia hainanensis* (Fan) และ *Lucilia prophyrina* (Walker) ส่วนในประเทศเพื่อนบ้านมาเลเซีย ได้ทำการศึกษาเพื่อ ระบุสายพันธุ์ช่วงระหว่างปี ค.ศ. 1993-1996 (Lee, 1996) พบว่าแมลงวันที่พบบนศพส่วนใหญ่ถึง 73.7% เป็นแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya sp.* นอกจากนั้นยังชนิดอื่นอีกที่พบบนศพ เช่น *Sarcophaga sp.*, *Lucilia sp.* และ *Hermetia sp.* เป็นต้น และการศึกษาในประเทศญี่ปุ่นศึกษา ในเมืองวาตะ (Saigusa, 2005) พบว่าส่วนใหญ่เป็นแมลงวันหัวเขียว รองลงมาเป็นแมลงวันหลัง ลาย ส่วนการศึกษาทางนิติเวชศาสตร์ในประเทศไทยได้มีการรายงานการพบหนอนแมลงวันบนศพ ลอยน้ำครั้งแรก (Sukontason, 2005) บริเวณริมแม่น้ำในจังหวัดลำปาง เป็นชายไม่ทราบชื่อและ

ไม่ทราบอายุ จากการชันสูตรและเก็บตัวอย่าง พบหนอนระยะที่ 3 (3rd instar larvae) ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* (F) และ *Chrysomya rufifacies* (Macquart) และเมื่อนำตัวอย่างที่ได้ไปเข้ากระบวนการพิสูจน์วงศ์พบว่าตายมาประมาณ 7 วัน และมีงานวิจัยที่เป็นการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับสายพันธุ์หนอนแมลงวันที่เก็บได้จากศพวันที่พบในแถบภาคเหนือของประเทศไทยตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000-2006 (Sukontason, 2007) พบว่าสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือแมลงวันหัวเขียว เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลว่าแมลงวันที่พบบนศพในประเทศไทยว่าเป็นชนิดใดบ้าง และมีการเจริญเติบโตอย่างไร ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาชนิดของแมลงวันที่พบบนศพในพื้นที่ประเทศไทย โดยอาศัยลักษณะของ posterior spiracle ซึ่งเป็นอวัยวะในการหายใจของหนอนแมลงวัน และเป็นอวัยวะที่มีลักษณะจำเพาะในหนอนแมลงวันแต่ละกลุ่ม ทำให้สามารถจำแนกกลุ่มของหนอนแมลงวันในเบื้องต้นได้ รวมทั้งการนำหนอนแมลงวันจากศพมาทำการเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยเพื่อทำการศึกษาลักษณะของตัวเต็มวัยและการเจริญเติบโต และทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA บนยีน cytochrome oxidase ในขั้นตอนสุดท้ายจะทำการเลือกแมลงวันที่พบได้บ่อยบนศพมาทำการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตเพื่อใช้ประโยชน์ในการประมาณค่า PMI ต่อไป

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก หนอนแมลงวันชนิดใดบ้างที่เจริญเติบโตบนศพที่พบในประเทศไทย

คำถามรอง หนอนแมลงวันในแต่ละชนิดที่พบเจอบนศพมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญเติบโต และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA บนยีน cytochrome oxidase เป็นอย่างไร

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันที่เก็บได้จากศพโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และอณูชีววิทยา

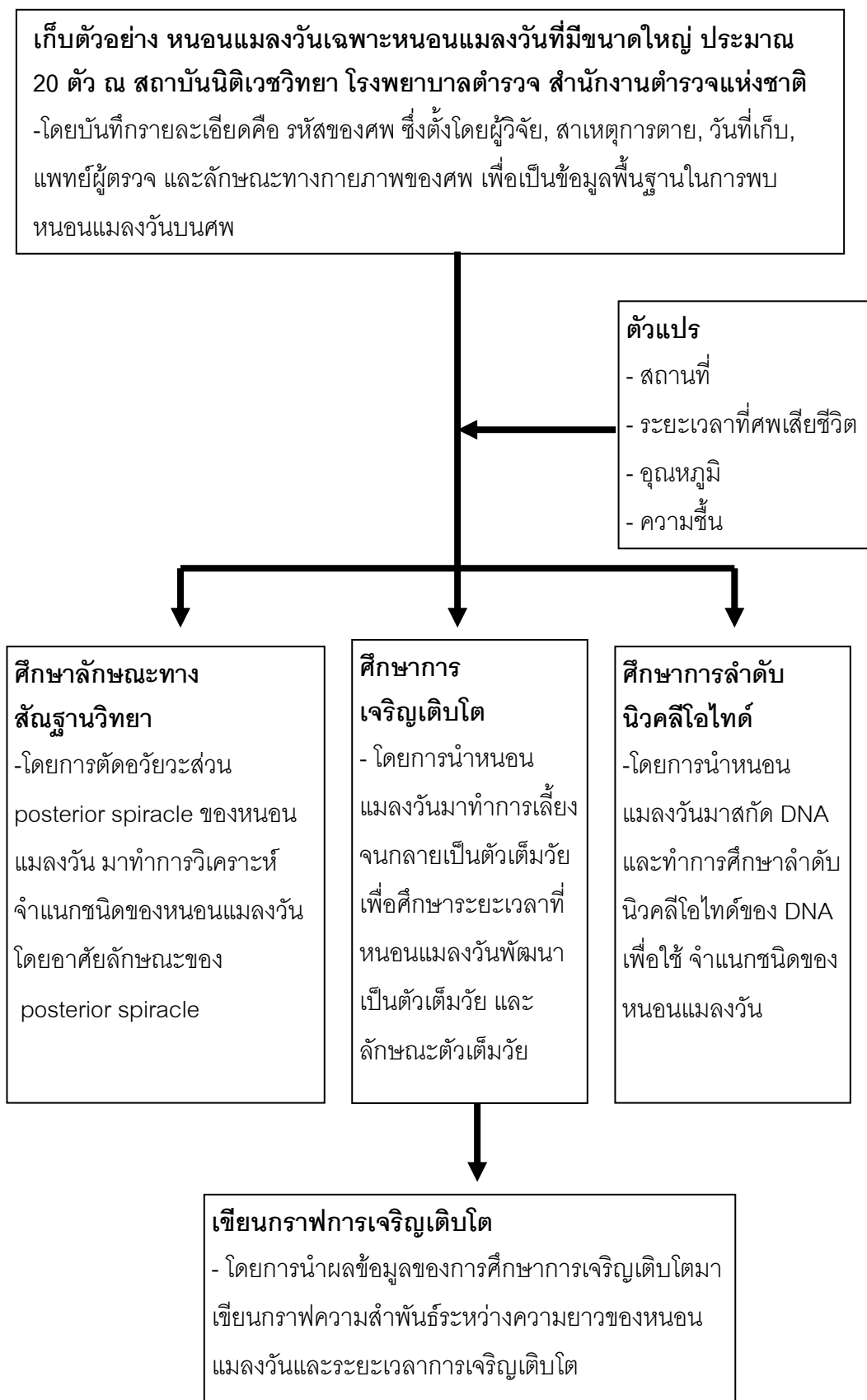
2. เพื่อศึกษาการเจริญของหนอนแมลงวันบนศพที่พบบ่อยในประเทศไทย

1.4 สมมติฐาน

1. หนอนแมลงวันที่พบบนศพในประเทศไทยมีหลายชนิด

2. การเจริญของหนอนแมลงวันแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



1.6 คำสำคัญ

Maggot, Blow flies, Flesh flies, Cytochrome oxidase, PMI

1.7 การให้คำนิยามในเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

Maggot คือ หนอนแมลงวัน ซึ่งเป็นตัวอ่อนของแมลงวัน

Blow flies คือ ชื่อสามัญของแมลงวันหัวเขียว เนื่องจากส่วนอกและส่วนท้องของมีลักษณะแวววาวเหมือนผิวโลหะ ซึ่งอาจเป็นสีเขียว สีน้ำเงิน ตารวมของแมลงวันกลุ่มนี้มีสีแดงขนาดใหญ่ เห็นได้ชัดเจน และมีหนวด (arista) ฟูแบบขนนก แมลงวันกลุ่มนี้มี 2 สายพันธุ์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ และพบบ่อยในประเทศไทย คือ *Chrysomya megacephala* และ *Chrysomya rufifacies*

Flesh flies คือ ชื่อสามัญของแมลงวันหลังลาย เนื่องจากแมลงกลุ่มนี้ชอบตอมเนื้อสดๆ สาเหตุที่เรียกว่าแมลงวันหลังลาย เนื่องจากส่วนท้องมีลวดลายคล้ายตารางหมากรุก ปัจจุบันสายพันธุ์ของแมลงวันหลังลาย พบแล้วกว่า 200 สายพันธุ์ทั่วโลก บางชนิดเป็นปรสิตของแมลงด้วยกัน บางชนิดเป็นปรสิตของหอยและสัตว์มีกระดูกสันหลัง ตัวเมียออกลูกเป็นตัว (larviparous หรือ viviparous) แมลงวันกลุ่มนี้สามารถพบได้หลายสายพันธุ์ในประเทศไทย แต่สายพันธุ์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ และพบบ่อยในประเทศไทยคือ *Sarcophaga ruficornis*

Cytochrome oxidase คือ ยีนที่อยู่ใน Mitochondrial DNA ซึ่งเป็นยีนที่เหมาะสมกับการศึกษาทางวิวัฒนาการ และพันธุศาสตร์ประชากร เนื่องจากยีนส่วนนี้มีความผันแปรมากทำให้เราทราบถึงสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันของหนอนแมลงวันแต่ละชนิดได้

PMI (Post Mortem Interval) คือ ระยะเวลาหลังการเสียชีวิตของศพ ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญในการชันสูตรพลิกศพ

1.8 สถานที่ดำเนินการวิจัย

- 1.ห้องปฏิบัติการภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 2.ศูนย์เลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 3.ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 4.สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ

1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ประยุกต์ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการจำแนกหรือระบุชนิดของหนอนแมลงวันอย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ
2. สามารถนำข้อมูลไปใช้ การประมาณเวลาตายของศพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.10 อุปสรรคที่อาจจะเกิดขึ้นระหว่างการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างอาจไม่ได้ตามเป้าที่กำหนด เนื่องจากข้อจำกัดทางด้านระยะเวลาในการทำวิจัย และสภาพภูมิอากาศในสถานที่ที่พบศพ เช่น ฝนตกในช่วงฤดูฝน เป็นต้น

การศึกษาทางสัณฐานวิทยา ต้องอาศัยความระมัดระวังและความอดทนเป็นอย่างสูงในการคัดเลือกตัวอย่างหนอนแมลงวัน โดยเฉพาะการตัดชิ้นส่วนอวัยวะของหนอนแมลงวันบริเวณ posterior spiracle ของหนอนแมลงวันให้ได้บางที่สุด และมีรายละเอียดครบสมบูรณ์

การสกัด DNA จำเป็นต้องอาศัยความระมัดระวังเป็นอย่างมาก เพราะ DNA มีการสลายตัวได้ง่าย จึงไม่ควรนำออกจากตู้ปรับอุณหภูมิหลายครั้ง นอกจากนี้ยังต้องระวังการปนเปื้อนของ DNA ระหว่างสิ่งตัวอย่าง ในกรณีที่มีการสกัด DNA หลายตัวอย่างในครั้งเดียวกัน

กระบวนการ PCR ในกระบวนการเพิ่มจำนวน DNA โดยกระบวนการ PCR เป็นวิธีการทดสอบที่มีความไวสูงมากกว่าวิธีอื่น อย่างไรก็ตามข้อเสียของวิธีการนี้ คือ มีราคาแพง และเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ทำให้ต้องอาศัยความชำนาญ และความรอบคอบในการทำการศึกษาเป็น

อย่างมาก ส่วนการวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยอาศัยวิธี Agarose Gel Electrophoresis ต้องอาศัยความระมัดระวังเป็นอย่างมาก เพราะต้องใช้สารละลาย Ethidium Bromide ในการทดสอบ ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง และขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยรังสี UV ก็เป็นอันตรายต่อร่างกายเช่นเดียวกัน จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาในทุกขั้นตอนอย่างระมัดระวัง

การเลี้ยงหมอนแมลงวัน การเลี้ยงหมอนแมลงวันให้เจริญเป็นตัวเต็มวัยอาจไม่สามารถทำได้ทุกตัวอย่างเนื่องจากหมอนแมลงวันอาจตายไประหว่างเคลื่อนย้ายศพก่อนการเก็บหมอนแมลงวันตัวอย่าง และควรมีการควบคุมสภาวะแวดล้อม และอาหาร ให้เหมาะสม ไม่เช่นนั้นหมอนแมลงวันอาจตาย ทำให้ข้อมูลที่ต้องการขาดหายไปได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การนำความรู้ในทางด้านวิทยาศาสตร์ ในการเก็บและพิสูจน์หลักฐาน ตรวจร่างกาย และ วัตถุพยานเพื่อช่วยในการค้นหาความจริงในการสืบสวนคดีอาชญากรรม เป็นที่รู้จักกันดีในชื่อ “นิติ วิทยาศาสตร์” ซึ่งความรู้เหล่านี้เป็นการใช้ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์บริสุทธิ์ และวิทยาศาสตร์ ประยุกต์ เช่น ชีววิทยา ฟิสิกส์ กายวิภาคศาสตร์ เคมี คอมพิวเตอร์ และกีฏวิทยา เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อ ประโยชน์ในการสืบสวน และดำเนินคดีทางกฎหมายเพื่อช่วยกระบวนการยุติธรรมในการพิสูจน์ หลักฐานและชี้นำไปสู่ผู้กระทำความผิดอาญา ในปัจจุบันได้มีการนำความรู้ทางด้านนิติ วิทยาศาสตร์มาใช้ควบคู่กับกระบวนการยุติธรรม ซึ่งมีความสำคัญมากขึ้นทั้งในประเทศไทยและ ต่างประเทศ ทั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อลดการโต้แย้ง ความหวาดระแวง ระหว่างผู้ควบคุมกฎหมายกับ ผู้ถูกกล่าวหา เนื่องด้วยสาเหตุที่ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์เป็นการศึกษาและอ้างอิงถึงหลักการ และเหตุผลที่เป็นจริงสามารถพิสูจน์ได้

สำหรับความรู้เกี่ยวกับสัตว์ขาปล้อง (arthropods) ที่พบบนศพ หรือที่เรียกได้ว่า นิติกีฏ วิทยา (forensic entomology) การศึกษาถึงสัตว์ขาปล้องที่พบบนศพ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สัตว์ขา ปล้องในกลุ่มแมลง (insects) จำพวกแมลงวัน ซึ่งความรู้ดังกล่าวถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการ ชันสูตรพลิกศพ และประโยชน์ที่สำคัญที่สุดคือ การนำข้อมูลมาใช้ในการประมาณระยะเวลาการ ตาย (post-mortem interval หรือ PMI) ซึ่งวิธีการนี้ใช้ได้ผลดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่ศพเน่า หรือศพที่ไม่สามารถประเมินระยะเวลาหลังการตายได้โดยวิธีการอื่นได้ (Byrd, 2000)

2.1 นิติกีฏวิทยา

นิติกีฏวิทยา คือ การศึกษาเกี่ยวกับสัตว์ขาปล้อง เพื่อนำมาใช้ประกอบกับการพิจารณาคดี ความทางกฎหมาย นิติกีฏวิทยาเป็นสาขาที่มีการศึกษาเกี่ยวกับสัตว์ขาปล้องที่กว้างขวาง และได้ มุ่งเน้นไปในกลุ่มแมลงที่ใกล้ชิดกับคน (synanthropic) และสามารถพบได้บ่อย เพื่อประโยชน์ ทางด้านการพิจารณาคดีทางกฎหมาย การนำความรู้ทางด้านกีฏวิทยามาใช้ประโยชน์นั้นมีหลาย แง่มุม เริ่มต้นจากการมีข้อพิพาทกันในการเกษตรกรรม และการได้รับความเสียหายจากการ บุกรุกของแมลงทั้งทรัพย์สิน และสุขภาพของผู้ได้รับผลกระทบจากแมลง ยกตัวอย่างเช่น การก่รัง แก่รังกัน โดยการปล่อยแมลงศัตรูพืชไปทำลายผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของคู่แข่ง นำไปสู่การ ฟ้องร้องเรียกความเสียหาย หรือ การที่บุคคลได้รับอันตรายทางสุขภาพจากการรบกวนของตัวอ่อน แมลงวันที่ก่อให้เกิดโรค myiasis นำไปสู่การฟ้องร้องทางคดีความ เพื่อเรียกเอาเงินประกันสุขภาพ จากบริษัทประกันชีวิต รวมไปถึงการนำข้อมูลการเจริญเติบโตของแมลงวันที่พบบนศพ มา

ประกอบการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาคดีที่เกี่ยวข้องกับอาชญากรรม หรือกฎหมายที่เกี่ยวกับทนายทรมต ดังนั้นจึงต้องอาศัยนักกีฏวิทยาที่มีความเชี่ยวชาญ ให้ข้อมูลที่ถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือ เพื่อประกอบการพิจารณาคดีของศาล

ในปัจจุบัน การศึกษาทางด้านนิติกีฏวิทยา ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะการศึกษากีฏวิทยาทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับอาชญากรรม (medicocriminal entomology) เนื่องจากข้อมูลทางด้านนี้มีความสำคัญต่อผลประโยชน์ของผู้เสียชีวิต และหลักฐานที่ได้จะสามารถนำไปสู่การคลี่คลายคดีทางกฎหมายได้ ซึ่งอาชญากรรมที่พบได้บ่อยนั้นที่สุดก็คืออาชญากรรมที่เกี่ยวข้องกับการใช้ความรุนแรง ข้อมูลทางนิติกีฏวิทยาเป็นข้อมูลที่มีความสัมพันธ์กับข้อมูลทางอาชญากรรมที่น่าสนใจหลายด้าน ยกตัวอย่างเช่น ความสัมพันธ์ที่ทำให้ทราบถึงกลอุบายของการฆาตกรรม ความสัมพันธ์ต่อกระบวนการเน่าเปื่อยของศพ รวมไปถึงลักษณะของการเสียชีวิตของศพ และข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือ ซึ่งสามารถนำไปหักล้างได้ในกรณีเกิดการไม่สอดคล้องกันในเรื่องข้อมูลที่ได้จากการบอกเล่ากับข้อมูลในทางวิทยาศาสตร์ ไม่เพียงแต่ใช้ในการประกอบการพิจารณาคดีความเท่านั้น การศึกษาทางด้านกีฏวิทยายังสามารถใช้ในการตอบคำถามเกี่ยวกับการเสียชีวิตของสัตว์อื่น ๆ นอกเหนือจากมนุษย์ ยกตัวอย่างเช่น สัตว์ที่ได้รับการเลี้ยงดูในปศุสัตว์ หรือสัตว์ป่าประเภทคุ้มครองที่ใกล้จะสูญพันธุ์ได้อีกด้วย

แม้ว่าการศึกษาทางด้านนิติกีฏวิทยา จะสามารถใช้ในการหาข้อมูลที่มีความน่าเชื่อถือมาประกอบในการพิจารณาคดีได้ แต่ข้อมูลในด้านนี้จะยังไม่สามารถตัดสินถึงสาเหตุการเสียชีวิตของศพได้ในทันที เพราะข้อมูลที่ได้จะเป็นเพียงการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตเท่านั้น จึงจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลทางด้านนิติวิทยาศาสตร์อื่นๆ มาประกอบกัน เพื่อที่จะสามารถหาผู้กระทำผิดมาดำเนินคดีได้ โดยข้อมูลจากการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตโดยใช้ความรู้ทางด้านนิติกีฏวิทยา ก็เป็นข้อมูลหนึ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

2.2 ประวัติการศึกษาทางด้านนิติกีฏวิทยา

ในสมัยเมโสโปเตเมีย (2,000 ปี ก่อนคริสตกาล) ได้มีหลักฐานยืนยันถึงการอยู่ร่วมกันของแมลงวันกับคนมาเป็นเวลานาน โดยมีการค้นพบลูกกิ้งที่ประกอบด้วยรูปสัตว์ต่างๆ และมีแมลงวันรวมอยู่ด้วย และเมื่อประมาณ 1,600 ปี ก่อนคริสตกาล ได้ค้นพบหลักฐานการบันทึกด้วยอักษรรูปเล่มที่กล่าวถึงแมลงวันชนิดต่างๆ ถึง 10 ชนิด ไว้ในตำราดินเหนียวที่ชื่อว่า Har-ra-Hubulla (Greenberge and Kunich, 2002) ส่วนในการศึกษาประวัติการศึกษาทางด้านนิติกีฏวิทยานั้น (Benecke, 2001) พบว่าได้มีการรายงานกรณีศึกษาแรกเริ่มมาจากประเทศจีน (ศตวรรษที่ 13) และภายหลังการศึกษาเกี่ยวกับศิลปะโบราณ ซึ่งเป็นการสำรวจครั้งแรกพบแมลงและ สัตว์ขาข้ออื่นๆ ที่อธิบายเป็นสัญลักษณ์โบราณ โดยศิลปะเหล่านี้ถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน

และฝรั่งเศส ในปี ค.ศ. 1880 คือ Reinhard และ Hofmann หลังจากนั้นสิ่งตีพิมพ์ในฝรั่งเศสคือ Megnin's popular book ได้ตีพิมพ์ลักษณะของแมลงที่พบบนศพที่ใช้ในด้านกีฏนิเวศวิทยา ซึ่งทำให้แนวคิดนี้ได้แพร่ออกอย่างรวดเร็วไปสู่ประเทศ แคนาดา และ สหรัฐอเมริกา ในอดีตมีการยอมรับว่ามีการขาดการสังเกตอย่างเป็นระบบของการอธิบายการเกิดขึ้นของแมลงที่สำคัญในทางนิติเวชศาสตร์ ที่สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงช่วงระยะเวลาการเสียชีวิตในการชันสูตรศพ แต่ความก้าวหน้าของวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันต่อการแบ่งประเภทของแมลง และความรู้ทางชีววิทยาของแมลง สามารถช่วยในการเติมเต็มช่องว่างเหล่านี้มาก



รูปที่ 2.1 แสดงถึงการค้นพบลูกกิ้งกัที่ประกอบด้วยรูปลักษณ์ต่างๆและมีแมลงวันรวมอยู่ด้วย ในสมัยเมโสโปเตเมีย (2,000 ปี ก่อนคริสตกาล) ซึ่งเป็นหลักฐานยืนยันถึงการอยู่ร่วมกันของแมลงวันกับคนมาเป็นเวลานาน (Greenberg and Kunich, 2002)

กรณีศึกษามากมายในตอนแรกเริ่มมีการรายงานบ่อยมากเกี่ยวกับการอ้างถึงการศึกษาดังกล่าวถึงการฆาตกรรมในเด็ก แสดงให้เห็นได้ว่า นิติกีฏวิทยาสามารถมีส่วนช่วยในการพิจารณาคดีความเกี่ยวข้องกับการฆาตกรรมเด็ก เมื่อหลังจากสงครามโลก มีนักนิติกีฏวิทยาจำนวนน้อยที่ได้ศึกษาในด้านนี้ ในระยะเวลาจากปี ค.ศ. 1960 ถึงปี ค.ศ. 1980 Leclecq และ Nuorteva เป็นผู้รวบรวมเกี่ยวกับ

พื้นฐานที่สำคัญในยุโรปกลาง และได้ให้ความสนใจในงานที่เกี่ยวข้องกับปัญหาสังคม ตั้งแต่นั้นมา งานวิจัยในประเทศสหรัฐอเมริกา รัสเซีย และแคนาดา ได้มีการนำเสนอวิธีที่ใช้เป็นหลักเกณฑ์ของการใช้ความรู้ด้านกีฏวิทยาในการสอบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ หรือที่เรียกว่า นิติกีฏวิทยา

มีสัตว์ขาช้อมากกว่า 100 ชนิดที่สามารถพบอยู่บนศพได้ ยกตัวอย่างเช่น primarily flies (Diptera) beetles (Coleoptera) และตัวอ่อนของแมลงทั้ง 2 กลุ่มนี้ เช่นเดียวกับสัตว์ในกลุ่มของเห็บ หมัด เหา ไร และ ตัวหนอนพยาธิ ซึ่งสัตว์เหล่านี้จะกิน อาศัย หรือ ผสมพันธุ์บนศพ โดยจะพึ่งพาอาศัยในระบบนิเวศวิทยาที่เหมาะสม และสภาพของการเน่าเปื่อยผุพัง เนื่องมาจากสัตว์ขาช้อ มีความหลากหลายทางสายพันธุ์ และมีจำนวนมากที่สุดบนโลก ซึ่งมีจำนวนมากที่สุดแม้เทียบกับพืช พวกมันสามารถถูกพบในทุกสถานที่ และทุกตำแหน่งที่ประกอบอยู่ในสถานที่เกิดเหตุ การที่จะทราบถึงข้อมูลเหล่านี้ในการใช้สำหรับงานด้านกีฏนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งจะมีการตรวจสอบชนิดของแมลง และ สัตว์ขาช้ออื่นๆ ที่ได้มาจากสถานที่เกิดเหตุ และบนศพ

ในประเทศจีนยุคกลาง ซึ่งสามารถค้นพบข้อมูลแรกของกรณีศึกษาทางนิติกีฏวิทยา เป็นการรายงานโดยนักกฎหมายชาวจีน และ ผู้สำรวจ ชื่อ Sung Tzu ซึ่งเป็นผู้สอบสวนการตาย ในศตวรรษที่ 13 ในหนังสือกฎหมายทางการแพทย์ชื่อ His Yuan Chi Lu ซึ่งอาจจะเป็นการแปลจาก The Washing Away of Wrongs ได้อธิบายกรณีของคดีที่มีการใช้อาวุธแทงกันใกล้ๆกับทุ่งข้าวหนึ่งวันหลังจากเกิดฆาตกรรม โดยผู้สอบสวนได้บอกผู้ที่อยู่ในเหตุการณ์ทั้งหมดให้วางอุปกรณการทำงาน ซึ่งก็คือเคียวที่ใช้เกี่ยวข้าว วางไว้บนพื้นดิน ซึ่งจะมีร่องรอยที่มองไม่เห็นของเลือดบนเคียว แต่ร่องรอยที่มองไม่เห็นเหล่านี้ สามารถดึงดูดแมลงวันหัวเขียวมาที่เคียวได้ ต่อมาการเผชิญหน้ากับเจ้าของเครื่องมือได้สารภาพถึงอาชญากรรมของเขาที่ได้กระทำไป (ดังแสดงข้อความบันทึกเป็นภาษาจีนในรูปที่ 2.2) Leclercq และ Lambert ได้ปฏิบัติอีกครั้งในการสังเกตถึงสิ่งที่ชอบของแมลงวันหัวเขียว ที่เกิดขึ้นในเลือดในปี 1976 พวกเขาพบว่ามียาพิษสายพันธุ์ *Calliphora vomitoria* ถูกพบบนศพ 6 ชั่วโมงหลังจากการชันสูตร และมีการวางไข่ภายในเลือด แต่ไม่ได้วางบนแผลของผู้ตาย

宋提刑洗冤集錄卷之二

(五) 疑難雜說下

有檢驗被殺屍在路傍，始疑盜者殺之，及點檢沿身衣物俱在，遍身鑊刀砍傷十餘處。檢官曰：「盜只欲人死取財，今物在傷多，非冤讎而何！」遂屏左右，呼其妻問曰：「汝夫自來與甚人有冤讎最深？」應曰：「夫自來與人無冤讎，只近日有某甲來做債，不得，曾有尅期之言。然非冤讎深者。」檢官默識其居，遂多差人分頭告示：「側近居民各家所有鑊刀盡底將來，只今呈驗。如有隱藏，必是殺人賊，當行根勘。俄而，居民齊到鑊刀七八十張。令布列地上。時方盛暑，內鑊刀一張，蠅子飛集。檢官指此鑊刀問：「爲誰者？」忽有一人承當，乃是做債尅期之人。就擒訊問，猶不伏。檢官指刀令自看，衆人鑊刀無蠅子，今汝殺人，血腥氣猶在，蠅子集來，豈可隱耶？左右環視者失聲嘆服，而殺人者叩首服罪。昔有深池中溺死人，經久，事屬大家因讎事發。體究官見皮肉盡無，惟獨骸骨

รูปที่ 2.2 แสดงถึงบทที่ 5 ในหนังสือจีน ชื่อ Sung Tzu's Chinese book ซึ่งได้บรรยายกรณีศึกษาในการใช้แมลงวันเพื่อตรวจหาเลือดบนอาวุธ (Benecke, 2001)

นอกจากนี้ผู้เชี่ยวชาญทางการแพทย์ และกฎหมาย ช่างแกะสลัก ช่างทาสี และกวี มีการสังเกตอย่างใกล้ชิดในการเน่าเปื่อยของร่างกายมนุษย์ โดยมีการบันทึกอย่างจำเพาะในผลของการกินอาหารของหนอนแมลง ซึ่งข้อมูลเริ่มแรกได้มีการอธิบายตัวอย่างหนอนแมลงบนศพจนถึงช่วงวัยกลาง ประกอบด้วยภาพพิมพ์จาก Dances of the Death (ศตวรรษที่ 15, รูปที่ 2.3) และภาพแกะสลักงาช้างที่ขุดขึ้นจาก Skeleton in the Tumba (ศตวรรษที่ 16) ตัวอย่างศิลปะทั้งหลายในอดีตเหล่านี้ ได้มีความแม่นยำในการพรรณนาถึง กลไกของแมลงในการย่อยสลายศพ หรือ การลดลงของมวลร่างกาย ซึ่งความจำเพาะของ early skeletonization ของกะโหลกและมีการลดลงของอวัยวะภายใน กับส่วนขนาดใหญ่ของผิวหนังที่ยังคงเหลืออยู่อย่างสมบูรณ์ บทกวีที่ชื่อ Une Charogne โดย Charles Baudelaire นักกวีชาวฝรั่งเศสจะต้องกล่าวถึงในบทนี้ด้วย ตั้งแต่มันบรรจุอย่างชัดเจนซึ่งมีการสังเกตบนการเน่าเปื่อยของร่างกาย ครอบคลุมถึงหนังสืออ้างอิงอย่าง

แม่นยำต่อสภาพของมวลหนอนแมลงบนศพ ชื่อ Like water and the wind running/Or corn that a Winnower in rhythmic motion/Fans with fiery cunning ในศตวรรษแรกๆ ใน ค.ศ. 1767 Carl von Linné นักชีววิทยาได้มีการรายงานข้อมูลว่าแมลงวัน 3 ชนิด มีความสามารถในการย่อยสลายซากของไม้ได้เร็วกว่า กับซากของสิงโต



รูปที่ 2.3 แสดงภาพพิมพ์จาก Dances of the Death ที่พรรณนาถึงการศึกษาเริ่มต้นในกลไกของการย่อยสลายของศพ โดยมีการระบุถึงหนอนแมลงวันที่พบบนศพ (Benecke, 2001)

ในการศึกษาถึงประวัติการศึกษานี้ จะพบว่า Benecke ไม่ได้ทำการชี้ชัดว่านิติวิทยาศาสตร์ หากแต่เพียงแค่นั้นเป็นการนำความรู้ทางด้านกีฏวิทยาเป็นเสมือนเครื่องมือในทางนิติเวชศาสตร์ เครื่องมือหนึ่งท่ามกลางเครื่องมืออื่นๆ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตต่อไป

2.3 การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต และการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิต

ในทางนิติเวชศาสตร์ การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตนั้น เป็นเรื่องที่ต้องกระทำอยู่เสมอในศพที่ผ่านการชันสูตรทุกราย ซึ่งสามารถประมาณได้ว่าศพแต่ละรายเสียชีวิตมาแล้ว เป็นเวลานานเท่าไร ข้อมูลดังกล่าวนี้สามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังการเสียชีวิต ดังนั้นแพทย์ที่ทำการตรวจชันสูตรศพหรือผู้เกี่ยวข้องควรมีความรู้ในเรื่องข้อมูลของการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตเป็นอย่างดี เพื่อการให้ความเห็นทางด้านการประมาณ

ระยะเวลาการเสียชีวิต อยู่บนพื้นฐานทางด้านวิทยาศาสตร์ ซึ่งสามารถพิสูจน์ได้ และข้อมูลดังกล่าวจะมีความสำคัญในการสืบสวนทางกระบวนการยุติธรรมต่อไป

ในข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันพบว่า การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตจะมีความแม่นยำที่สุด ถ้าการเสียชีวิตนั้นเกิดขึ้นในเวลาไม่นาน และยิ่งเวลาการเสียชีวิตเกิดขึ้นมานานมากเท่าไร ความแม่นยำในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตก็จะยิ่งลดน้อยลงไปด้วย ยกตัวอย่างเช่น ผู้ชันสูตรสามารถประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพที่ยังไม่เน่าได้ดีกว่าศพที่มีการเน่า หรือเหลือเพียงแต่โครงกระดูก และเป็นการยากมากที่จะสามารถบอกเวลาการเสียชีวิตได้เป็นจุดเวลาที่จำเพาะ ดังนั้นในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตทุกครั้ง จึงเป็นการประมาณเป็นช่วงเวลา โดยเราจะแบ่งช่วงเวลาการเปลี่ยนแปลงของศพภายหลังการเสียชีวิตเป็น 2 ช่วงเวลา (Haglund and Sorg, 1996) คือ การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงต้น (early post-mortem changes) และการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงท้าย (late post-mortem changes)

2.3.1 การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงต้น

เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วง 2 ชั่วโมงแรกหลังจากเสียชีวิต โดยจะพบว่า ผิวหนังโดยทั่วไปจะเริ่มซีด เนื่องจากการที่เนื้อเยื่อ และเซลล์ขาดเลือดมาเลี้ยง ซึ่งเป็นผลมาจากการหยุดทำงานของระบบหัวใจและระบบไหลเวียนเลือด ผู้ชันสูตรจะสามารถสังเกตเห็นได้ภายหลังจากการเสียชีวิตประมาณ 15-30 นาที ซึ่งจะเห็นได้ง่ายในศพที่มีผิวหนัง และในช่วงเวลาเดียวกันนี้ กล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อที่เป็นส่วนประกอบของหูรูด (sphincters) จะเริ่มคลายตัว ทำให้ถ้ามีการขยับหรือเคลื่อนไหวศพในช่วงเวลาดังกล่าวนี้ อาจจะมีเศษอาหารออกมาจากทางปาก หรือ อุจจาระออกมาจากช่องทวารหนักได้

ในด้านของการเปลี่ยนแปลงที่ลูกตาทั้งลักษณะภายนอก และภายใน ผู้ชันสูตรมักตรวจพบแถบสีน้ำตาลเข้มเป็นแนวขวางตรงผิวของเยื่อบุตาขาวและกระจกตา (tache noir sclerotique) ดังรูปที่ 2.4 ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ เกิดจากการที่กล้ามเนื้อควบคุมการปิด และเปิดหนังตา คลายตัว (orbicularis oculi muscles) ดังนั้นจึงส่งผลให้เยื่อบุตาขาว และกระจกตาแห้งจากการสัมผัสกับอากาศ ถ้าหากมีการตรวจภายในดวงตาด้วยเครื่องมือตรวจตา (ophthalmoscope) จะพบได้ว่า เลือดจะเกิดการแข็งตัวภายในหลอดเลือดเรตินา (retinal vessels) ซึ่งจะมีลักษณะเป็นกระเปาะ หรือเป็นท่อน หรือที่เรียกลักษณะนี้ว่า sausaging หรือ boxcarring เลือดและองค์ประกอบของเลือดต่างๆจะมีความเป็นกรดสูงขึ้นภายหลังจากการเสียชีวิต ผลดังกล่าวมาจากการสะสมของ คาร์บอนไดออกไซด์ และสารองค์ประกอบต่างๆที่เกิดขึ้นจากการที่เซลล์เริ่มย่อยสลาย (Cotran *et al.*, 1994) การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นกระบวนการแข็งตัวของเลือด (intrinsic coagulation mechanism) ทำให้เลือดที่อยู่ทั้งในหลอดเลือดแดง และหลอดเลือดดำ เกิดการ

แข็งตัวทั่วร่างกาย และภายหลังกระบวนการดังกล่าว ก็เกิดการกระตุ้นกระบวนการสลายลิ่มเลือดตามมา (fibrinolysis) ทำให้เลือดกลายเป็นของเหลวอีกครั้ง



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะของ tache noir sclerotique ซึ่งเป็น แถบสีน้ำตาลเข้มเป็นแนวขวางตรงผิวของเยื่อตาขาวและกระจกตา (จาก http://www.asdk12.org/staff/mason_brian/CALENDAR/67048_changes_in_death.pdf)

2.3.2 การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงท้าย

เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาตั้งแต่ 2-4 ชั่วโมงเป็นต้นไป ซึ่งลักษณะที่ผู้ชันสูตรสามารถตรวจพบในบางครั้งอาจจะพบได้รวดเร็วกว่าช่วงเวลาดังกล่าว เพราะอาจเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยหลายอย่างที่เข้ามาเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหลังจากการเสียชีวิต สำหรับการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเสียชีวิตในช่วงท้าย มีลักษณะดังนี้

2.3.2.1 การแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังการเสียชีวิต (post-mortem rigidity, rigor mortis)

ภายหลังการเสียชีวิตในช่วงต้น กล้ามเนื้อต่างๆภายในร่างกาย จะเกิดการอ่อนตัวลง (flaccidity) และหลังจากนั้นจะเกิดกระบวนการแข็งตัวของกล้ามเนื้อตามมา ซึ่งระยะเวลาการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อต่างๆนั้น จะใช้เวลาไม่เกิน 3-6 ชั่วโมงภายหลังจากการเสียชีวิต เว้นแต่ในประเทศแถบเขตร้อนอาจจะพบว่า ระยะเวลาดังกล่าวจะสั้นลง (1/2 -2 ชั่วโมง) เป็นผลมาจากสภาวะอุณหภูมิที่สูง ซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สามารถเร่งกระบวนการการเปลี่ยนแปลงหลังจากการเสียชีวิต

ในทางปฏิบัติผู้ชันสูตรมักตรวจพบการแข็งตัวของกลุ่มกล้ามเนื้อที่มีขนาดเล็กก่อน ในกลุ่มของกล้ามเนื้อที่มีขนาดใหญ่ ยกตัวอย่างเช่น กล้ามเนื้อที่กรามซึ่งมีขนาดเล็ก มักจะตรวจพบว่ามีอาการแข็งตัวก่อนกล้ามเนื้อใหญ่ ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อที่มีขนาดใหญ่ เป็นต้น ซึ่งการตรวจพบดังกล่าว ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่า กลุ่มกล้ามเนื้อขนาดเล็กจะเกิดการแข็งตัว

ก่อนกลุ่มกล้ามเนื้อขนาดใหญ่เสมอไป ทำให้ในปัจจุบันได้มีนักวิจัยหลายท่าน ได้พยายามทำการทดลองเพื่ออธิบายถึงปรากฏการณ์ดังกล่าว

ดังนั้นการตรวจพบลำดับของการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากการเสียชีวิต จึงสามารถช่วยในการประมาณระยะเวลาหลังจากการเสียชีวิตได้ ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว การแข็งตัวของกล้ามเนื้อหลังจากการเสียชีวิต จะเกิดขึ้นอย่างเต็มที่กับกล้ามเนื้อทั่วร่างกาย ภายในระยะเวลาประมาณ 12 ชั่วโมงหลังจากการเสียชีวิต และจะมีการคงสภาพของการแข็งตัวของกล้ามเนื้อไปจนกระทั่งเซลล์ของกล้ามเนื้อเริ่มตาย (autolysis) ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อ เป็นลำดับเช่นเดียวกับการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ หลังจากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการของการเน่าต่อไป (decomposition process)

เมื่อร่างกายมีการแข็งตัวเต็มที่แล้ว ถ้ามีการขยับหรือเคลื่อนไหวย้ายศพที่ส่งผลให้เกิดการคลาย หรือ ยึดกันของกล้ามเนื้อเกิดขึ้น การแข็งตัวของกล้ามเนื้อนั้นก็จะมีผลคลายไป แต่อย่างไรก็ตาม ถ้ามีการคลายตัวของกล้ามเนื้อก่อนเกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อเต็มที่ จะสามารถพบว่ากระบวนการแข็งตัวของกล้ามเนื้อหลังจากการเสียชีวิต ก็จะสามารถนำเนินต่อไปอีกได้จนเกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อทั้งหมด

ปัจจัยที่รบกวนทั้งภายใน และภายนอกร่างกาย จะส่งผลทำให้การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตจากการสังเกตการณ์แข็งตัวของกล้ามเนื้อหลังจากการเสียชีวิต จะคลาดเคลื่อนไปไม่เป็นไปตามลำดับปกติ ซึ่งปัจจัยเหล่านั้น ได้แก่

ปัจจัยด้านอุณหภูมิ (temperature) ในอุณหภูมิที่สูงขึ้นทั้งจากภายใน และภายนอกร่างกาย จะมีผลทำให้มีการเกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากเสียชีวิตเกิดขึ้นรวดเร็วกว่าปกติ ดังนั้นในศพที่ทราบว่ามีประวัติการเป็นไข้มาก่อน หรือมีอาการชัก (seizure) ก่อนเสียชีวิต มีกิจกรรมซึ่งเป็นสภาพการเพิ่มเมตาบอลิซึมของร่างกายก่อนการเสียชีวิต หรืออุณหภูมิความร้อนของสิ่งแวดล้อมที่สูงขึ้น เป็นต้น ก็จะมีผลทำให้พบการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากเสียชีวิตที่ได้รวดเร็วกว่าปกติ

ปัจจัยด้านสภาพของร่างกายในขณะที่มีชีวิต (body status) ยกตัวอย่างเช่น ในเด็ก คนสูงอายุ และในคนที่มีรูปร่างผอมแห้ง ลักษณะของร่างกายดังกล่าว ส่งผลให้ผู้ชันสูตรจะตรวจพบการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากการเสียชีวิตได้ค่อนข้างยาก หรืออาจจะตรวจไม่พบเลย เนื่องจากในกลุ่มคนดังกล่าว มีขนาดของกล้ามเนื้อต่างๆ ที่มีขนาดค่อนข้างเล็ก ทำให้เป็นการยากต่อการประมาณการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ

ปัจจัยด้านสารพิษ หรือยาบางชนิด (toxic substances) ปัจจัยนี้ มีผลให้เกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากการเสียชีวิต ที่เร็ว หรือช้าลงนั้น ก็ขึ้นอยู่กับชนิดของสารพิษ เช่น เช่นการเกิดพิษของสาร strychnine จะทำให้เกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ

ภายหลังการเสียชีวิตได้เร็วกว่าปกติ และในทางตรงกันข้าม การได้รับพิษของ carbon monoxide อาจจะทำให้เกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังการเสียชีวิตได้ช้ากว่าปกติ

ปัจจัยอื่นๆ เช่น การเสียชีวิตด้วยกระแสไฟฟ้า จะทำให้พบการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังการเสียชีวิต ได้รวดเร็วกว่าการเสียชีวิตปกติ

นอกจากนี้ ผู้ชันสูตรยังสามารถตรวจพบการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากการเสียชีวิตได้จากส่วนอื่นๆอีก เช่น การตรวจดูขนาดของรูม่านตาที่มีขนาดขยายเนื่องมาจากการเกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ iris การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ erector pili ซึ่งติดอยู่กับรูขุมขนใต้ผิวหนัง ส่งผลให้เกิดลักษณะที่คล้ายขนลุก (goose-flesh appearance) การเกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ dartos ในลูกอัณฑะ ร่วมกับการแข็งตัวของกล้ามเนื้อบริเวณต่อมลูกหมาก และ seminal vesicles ทำให้เกิดการบีบและขับน้ำอสุจิออกมาทางปลายของท่อปัสสาวะได้ เป็นต้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางชีวโมเลกุลของการแข็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังจากการเสียชีวิต โดยปรากฏการณ์ดังกล่าว จะสามารถอธิบายได้จากการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีภายในร่างกาย คือ กล้ามเนื้อต่างๆจะมีการใช้พลังงานจากกระบวนการ glycolysis ในช่วงเวลาสั้นๆ และจากกระบวนการนี้ พลังงานที่อยู่ในรูปของ ATP ก็จะถูกเปลี่ยนให้เป็น ADP และกรดแลกติก (lactic acid) ซึ่งทำให้สภาวะในร่างกาย มีความเป็นกรดสูงขึ้น เมื่อร่างกายปราศจาก ATP และสภาพความเป็นกรดในร่างกายสูงขึ้น ทั้งสองกระบวนการนี้ จะส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ locking chemical bridges ระหว่างองค์ประกอบทางโปรตีนภายใน 2 ชนิดของกล้ามเนื้อที่สำคัญ คือ แอกติน (actin) และไมโอซิน (myosin)

2.3.2.2 การตกลูบเบื้องต่ำของเลือด (post-mortem hypostasis, livor mortis)

สำหรับการตกลูบเบื้องต่ำของเลือดนั้น เกิดขึ้นได้จากการที่ระบบไหลเวียนเลือด และระบบหัวใจหยุดทำงาน ทำให้เลือดและองค์ประกอบภายในหลอดเลือดหยุดการเคลื่อนที่ เลือดจะตกไปอยู่ในหลอดเลือดบริเวณที่ต่ำที่สุดของร่างกาย ยกตัวอย่างเช่น ถ้าก่อนเสียชีวิต ผู้ตายอยู่ในท่านอนหน้าหงาย หัวไหล่ ก้น และน่อง จะเป็นบริเวณที่สัมผัสกับพื้นผิว เมื่อเกิดปรากฏการณ์นี้ ผู้ชันสูตรจะพบว่าเลือดจะตกไปอยู่ในส่วนที่ต่ำกว่าคือบริเวณหลัง เรียกลักษณะนี้ว่า lividity แต่ในบริเวณที่รองรับน้ำหนักหรือสัมผัสกับพื้นผิว จะไม่พบ lividity ทั้งนี้ปรากฏการณ์ดังกล่าวอาจจะเกิดขึ้นได้ในคนที่ยังไม่เสียชีวิต ที่มีปัญหาในระบบหัวใจ และระบบไหลเวียนเลือด ที่ต้องนอนอยู่ที่เดิมมานานๆ ซึ่งจรดต้นขา ทำให้ไม่มีการเคลื่อนไหวของเลือดในหลอดเลือดขนาดเล็ก ทำให้อาจจะพบลักษณะการตกลูบเบื้องต่ำของเลือดบริเวณหลังได้

การกดจากแรงภายนอกบนผิวหนังที่เกิด lividity หรือจากการที่อวัยวะบางส่วนของศพสัมผัสกับพื้นผิว จะส่งผลให้เกิดการกดและไล่เลือดออกจากหลอดเลือด ทำให้

ผิวหนังบริเวณนั้น มีสีจางหรือซีดลง รวมถึงถ้าศพสวมเสื้อที่รัดรูป เข็มขัด ชุดชั้นใน ถุงเท้า ฯลฯ ก็ สามารถที่จะพบสีที่จางลงของผิวหนังในบริเวณนั้น ซึ่งเกิดจากการกดรัดได้

การกระจายตัวของ lividity นั้น ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของร่างกายภาย หลังจากการเสียชีวิต ในศพที่มีสภาพการเสียชีวิตในท่ายืน ยกตัวอย่างเช่น ในศพที่มีการเสียชีวิต จากการแขวนคอ จะพบ lividity ที่บริเวณเท้า ขา ปลายมือ และแขนท่อนปลาย เป็นต้น ในกรณี ที่ ศพมีการเสียชีวิตจากกระแสไฟฟ้าดูด ผู้ชันสูตรจะสามารถพบ lividity เกิดเป็นแนวระดับ และมีความสัมพันธ์กับระดับน้ำที่ศพแช่อยู่

ผู้ชันสูตรจะเริ่มตรวจพบ lividity ได้ตั้งแต่ $\frac{1}{2}$ - 2 ชั่วโมงหลังจากการ เสียชีวิต และสามารถตรวจจากการกดโดยตรงที่ผิวหนังศพ บริเวณที่มีการตกลูกสูบเบื้องต้นของเลือด เมื่อกดแล้วผิวหนังบริเวณนั้นจะจางซีดลง จนกระทั่ง ประมาณ 12 ชั่วโมงหลังจากเสียชีวิต เมื่อทำ การกดอีกครั้งจะพบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากหลอดเลือดเริ่มเนา ทำให้เลือดออกมาอยู่ใน เนื้อเยื่อรอบๆของหลอดเลือด และจะคงอยู่อย่างนี้จนกระทั่งศพเริ่มเข้าสู่กระบวนการเนา ในช่วง เวลาดังกล่าว เป็นการยากที่จะทำการแยกความแตกต่างระหว่างบาดแผลฟกช้ำ กับการตกลูกสูบเบื้องต้นของเลือด แต่จะสามารถแยกสภาวะทั้งสองได้จากการตรวจหา glycophorin A ซึ่งเป็นโปรตีนที่ อยู่บนผิวเม็ดเลือดแดง ในตำแหน่งที่สงสัยว่าเป็นแผลฟกช้ำ

โดยปกติสีของ lividity จะมีสีแดงม่วง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะความเข้มข้น ของออกซิฮีโมโกลบินในเลือดก่อนเสียชีวิต ในภาวะขาดอากาศ หรือภาวะคั่งเลือด สีของ lividity มักจะมีความเข้มมากขึ้น เป็นผลมาจากการลดลงของฮีโมโกลบินในหลอดเลือด อย่างไรก็ตาม สี ของ lividity ในศพเดียวกัน อาจจะให้สีที่ต่างกันได้ ขึ้นกับว่าเกิดที่อวัยวะส่วนใดของร่างกาย โดย จะพบได้ชัดในศพที่มีผิวหนังบางขาว

การแยกของสี lividity ยกตัวอย่างเช่น สีม่วงแดงของ lividity ที่เกิดขึ้น ผู้ ชันสูตรจะพบว่าบริเวณขอบมักจะมีสีที่จางลงเป็นสีแดงชมพู ซึ่งการแยกของสีลักษณะดังกล่าว สามารถเกิดขึ้นได้ และจะเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาภายหลังการเสียชีวิต ตัวอย่างในกรณีของ ศพทั่วไปถ้านำศพไปแช่ในห้องเย็นเป็นระยะเวลาหนึ่ง จะพบว่าสีของ lividity จะมีทั้งสีม่วงแดง และขอบสีชมพูแดง ซึ่งกลไกของการเกิดลักษณะแบบนี้ยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างชัดเจน แต่น่าจะ เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของออกซิฮีโมโกลบิน โดยบริเวณที่มีการรวมกลุ่มกันของเม็ดเลือดแดง อย่างหนาแน่นนั้น โดยเฉพาะบริเวณผิวหนังที่มีสีม่วงแดง ความสามารถในการเกิดออกซิ ฮีโมโกลบิน จะไม่ดีเท่าบริเวณที่มีเม็ดเลือดแดงอยู่น้อย ทำให้บางภาวะสีของ lividity จะสามารถ บ่งบอกถึงสภาวะการตายบางอย่างได้

นอกจากสภาพของผิวหนังภายนอกที่จะพบแล้ว การเปลี่ยนแปลงนี้ยัง เกิดขึ้นกับอวัยวะภายในด้วย ยกตัวอย่างเช่น ปอด หัวใจ ตับ และลำไส้ เป็นต้น ที่ผิวของปอด

บางครั้งอาจจะตรวจพบการตกสู่เบื้องต่ำของเลือดเป็นลักษณะคล้ายจุดเลือดออกขนาดเล็กกระจายที่ผิวหนัง โดยส่วนมากมักจะตรวจพบบริเวณรอยต่อระหว่างกลีบปอด รู้จักในชื่อเฉพาะว่า tardieu spots ซึ่งในอาจจะเรียกรวมถึงการเปลี่ยนแปลงที่พบเป็นลักษณะเดียวกัน แต่เกิดที่ผิวหนังด้วยเช่นกัน



รูปที่ 2.5 แสดงถึง lividity ที่สามารถบ่งบอกท่าของศพก่อนที่จะเสียชีวิต ตามรูป จะพบว่าศพน่าจะอยู่ในท่านอนหงาย เนื่องจากมีสีที่ซีดจางลงของ lividity อยู่ในส่วนหลังและก้น ซึ่งเกิดจากการกดทับ (จาก <http://www.deep-six.com/Deathweb/PAGE221.htm>)

2.3.2.3 การลดลงของอุณหภูมิภายในร่างกายภายหลังการเสียชีวิต (post-mortem body cooling, algor mortis)

ตามหลักการทั่วไปนั้น อุณหภูมิของร่างกายภายหลังจากการเสียชีวิตจะลดลงเมื่ออุณหภูมิภายในร่างกายเท่ากับอุณหภูมิภายนอก บางครั้งอาจจะพบว่าในช่วงระยะเวลาประมาณ 3 ชั่วโมงแรกภายหลังจากเสียชีวิต อุณหภูมิภายในร่างกายจะยังไม่ได้ลดลงในทันที ทั้งนี้เนื่องมาจากการที่มีแบคทีเรียภายในร่างกาย และเนื้อเยื่อต่างๆยังคงมีเมตาบอลิซึมอยู่ จึงทำให้ยังเกิดความร้อนภายในร่างกายอยู่ได้ และได้มีการนำค่าอุณหภูมิที่วัดได้มาหาความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเสียชีวิต ดังนั้นจะพบว่ามีสูตรที่ใช้ในการคำนวณอยู่จำนวนมาก เพื่อให้หาระยะเวลาการเสียชีวิต ยกตัวอย่างเช่น

1. อุณหภูมิของร่างกายจะลดลงเรื่อยๆในอัตรา 1.5 °F ต่อชั่วโมง (16.94 °C) ภายในช่วงเวลาไม่เกิน 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นอุณหภูมิจะลดลงในอัตรา 1 °F ต่อชั่วโมง (17.22 °C) ในช่วงระยะเวลา 12-18 ชั่วโมงต่อมา (Di Maio, 2001)

2. Moritz's formula (Verica *et al*, 2007);

$$\text{ระยะเวลาการเสียชีวิต (ชั่วโมง)} = (98.6 \text{ }^{\circ}\text{F} - \text{อุณหภูมิจากทวารหนัก (}^{\circ}\text{F)}) / 1.5$$

3. Henssge's nomogram method (Verica *et al*, 2007)

เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจ โดยทั่วไปจะใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบอ่านค่าเป็นตัวเลข และตำแหน่งที่ใช้ในการตรวจต้องเป็นตำแหน่งหรืออวัยวะที่สามารถใช้แทนอุณหภูมิกลางของร่างกายได้ (core temperature) ยกตัวอย่างเช่น ทวารหนัก ตับ และเนื้อสมอง เป็นต้น

อย่างไรก็ตามก็มีปัญหาที่เกิดขึ้นจากการคำนวณระยะเวลาการเสียชีวิต โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิต่างกัน อันเนื่องมาจากปกติแล้วอุณหภูมิของร่างกายโดยการวัดทางปากมีค่าประมาณ 97-99 $^{\circ}\text{F}$ (36.11-37.22 $^{\circ}\text{C}$) วัดทางทวารมีค่า 99-100 $^{\circ}\text{F}$ (37.22-37.78 $^{\circ}\text{C}$) ซึ่งค่าอุณหภูมิดังกล่าวขึ้นอยู่กับภาวะของบุคคลนั้นๆ และค่าดังกล่าวในคน คนหนึ่งอาจจะมีค่าไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับช่วงเวลาระหว่างวัน (diurnal variation) การออกกำลังกายอย่างหนักสามารถทำให้อุณหภูมิในทวารหนักเพิ่มขึ้นได้มากถึง 101-104 $^{\circ}\text{F}$ (38.33-40 $^{\circ}\text{C}$) และยังมีโรคหรือภาวะอื่นอีกจำนวนมาก ที่ทำให้ร่างกายมีอุณหภูมิสูงขึ้นมากกว่าปกติ ยกตัวอย่างเช่น ภาวะหัวใจวาย ภาวะต่อมไทรอยด์เป็นพิษ การติดเชื้อต่างๆในร่างกาย การบาดเจ็บทางศีรษะ เลือดออกในเนื้อสมอง การชัก ยาเสพติด (โคเคน หรือ แอมเฟตตามีน) และการที่ศพอยู่ในสถานที่ที่มีแสงแดดนานๆ อาจทำให้อุณหภูมิในศพสูงขึ้นได้อีกด้วย ในทางกลับกันมีภาวะของร่างกาย ซึ่งจะทำให้อุณหภูมิในร่างกายหลังจากการเสียชีวิตลดต่ำกว่าปกติ ยกตัวอย่างเช่น การช็อกหมดสติจากการตีศีรษะ การใช้ยาเสพติดในกลุ่มอนุพันธ์ของฝิ่น เป็นต้น จะเห็นได้ว่าถ้าเรานำค่าอุณหภูมิจากภาวะดังกล่าวมาใช้ในการประมาณหาระยะเวลาการตาย อาจจะทำให้ได้ค่าที่คลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริง โดยทั่วไปแล้ว อุณหภูมิของศพจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงจากกระบวนการที่ร่างกายสูญเสียความร้อน ซึ่งประกอบด้วย

1. Conduction คือ ความสามารถในการนำพาความร้อน ของวัตถุที่สัมผัสกับศพ
2. Radiation คือ ความสามารถในการแผ่รังสีความร้อน ในรูปของรังสีอินฟราเรด
3. Convection คือ ความสามารถในการนำพาความร้อน โดยอาศัยการเคลื่อนไหวของอากาศที่อยู่รอบๆศพ

จากปรากฏการณ์ดังกล่าว ศพที่อยู่ในน้ำ จะทำให้มีอุณหภูมิที่ลดลงอันเนื่องมาจากการนำพาความร้อนของน้ำ และศพที่มีร่างกายอ้วน หรือใส่เสื้อผ้าที่มีลักษณะหนา จะทำให้อุณหภูมิของศพลดลงในอัตราที่ช้ากว่าปกติ เนื่องจากทั้งเสื้อผ้า และไขมัน จะทำหน้าที่

เปรียบเสมือนเกาะที่หุ้มร่างกายอยู่ ซึ่งส่งผลให้ร่างกายไม่สามารถแผ่รังสีความร้อนได้ เป็นต้น ทั้งนี้การศึกษาในเรื่องของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของศพภายหลังจากการเสียชีวิต อาจจะไม่ตรงกันกับในทางปฏิบัติของประเทศในแถบเขตร้อน เพราะอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมภายนอกสูงกว่าอุณหภูมิภายในร่างกายมาก ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงในด้านการลดลงของอุณหภูมิภายในร่างกายอาจจะได้นำมาใช้ในประเทศไทย อันเนื่องมาจากเหตุผลข้างต้น



รูปที่ 2.6 แสดงถึง Electronic Thermometer และ Rectal probe รุ่น ของบริษัท Alaris® รุ่น TEMP-PLUS™ II ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวัดอุณหภูมิของศพ โดยใช้การวัดอุณหภูมิที่ทวารหนัก (จาก http://www.alarismed.co.uk/products/d/alaris_thermometer)

2.3.2.4 กระบวนการเน่าของศพ (decomposition of the body)

สำหรับกระบวนการเน่าของศพนั้น เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการเสียชีวิตของศพทุกราย โดยระยะเวลาที่ศพจะเน่าเร็วหรือช้า ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ดังที่จะกล่าวต่อไปนี้ ซึ่งโดยทั่วไปในประเทศไทย จะพบว่า ศพจะเริ่มเข้าสู่กระบวนการเน่าจนสามารถรับรู้ได้ด้วยตาเปล่า เมื่อเวลาผ่านไปแล้วประมาณ 24 ชั่วโมง การเน่าของศพนั้น ในความหมายโดยรวม มักใช้คำว่า decomposition ซึ่งประกอบด้วยกระบวนการ 2 รูปแบบ คือ putrefaction และ autolysis

Putrefaction คือ การเน่าที่เกิดจากการย่อยสลาย โดยจุลินทรีย์ภายในร่างกาย ซึ่งโดยส่วนมากจะเกิดจากแบคทีเรีย ยกตัวอย่างเช่น *E.coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในร่างกาย ซึ่งมีอยู่ภายในร่างกายจำนวนมาก ที่ระบบทางเดินอาหารภายในลำไส้ โดย

ภายหลังจากการเสียชีวิต แบคทีเรียจะอาศัยเลือดเป็นอาหารในการเจริญ และเพิ่มจำนวน จะทำให้ฮีโมโกลบินในเลือดเปลี่ยนแปลงรูปแบบกลายเป็น bilirubin, biliverdin และ urobilinogen เป็นต้น ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นในหลอดเลือด ดังนั้นอวัยวะ หรือตำแหน่งใดในร่างกายที่มีหลอดเลือด หล่อเลี้ยงอยู่มาก ก็จะมีโอกาสที่จะเน่าได้รวดเร็วกว่า ซึ่งในความเป็นจริงมักพบว่าในศพทั่วไป การเปลี่ยนแปลงแรกที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า คือ ผิวหนังบริเวณท้อง เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียว (greenish discoloration of skin) และโดยส่วนมากพบว่าบริเวณท้องน้อยข้างขวามักพบผิวหนังเป็นลายคล้ายหินอ่อน (marbling of skin) ซึ่งเชื่อว่าผิวหนังบริเวณดังกล่าว อยู่ใกล้กับลำไส้เล็กมากกว่าที่อื่น

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดการเน่าได้รวดเร็วยิ่งขึ้นมีหลายปัจจัย ซึ่งมีทั้งปัจจัยภายนอก และภายในร่างกายของศพ ยกตัวอย่างเช่น อุณหภูมิ ทั้งของศพก่อนเสียชีวิต และของสิ่งแวดล้อมรอบตัวศพ คือ อุณหภูมิที่สูงจะทำให้เกิดการเน่าได้รวดเร็วยิ่งขึ้น ในบริเวณที่มีเลือดคั่งอยู่มาก ยกตัวอย่างเช่น ในศพที่เสียชีวิตจากการผูกคอต มักพบว่าใบหน้าเหนือรอยรัดมักจะคั่งเลือดมากกว่าปกติ ซึ่งเมื่อเข้าสู่กระบวนการเน่า จะมีผลทำให้ใบหน้ามีการเน่าได้เร็วกว่าอวัยวะอื่น เป็นต้น

กลิ่นที่ได้จากศพที่เน่า ประกอบด้วยแก๊สหลายชนิดผสมกัน ยกตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ มีเทน แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น นอกจากนี้ ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการย่อยสลาย ยกตัวอย่างเช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันที่ถูกเปลี่ยนแปลง รวมถึงการสร้างแอลกอฮอล์จากจุลินทรีย์บางชนิด ยกตัวอย่างเช่น *Candida sp.* ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในการตรวจหาแอลกอฮอล์จากศพเน่าได้ เพราะจะมีแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นผลผลิตจากจุลินทรีย์มาปะปนกัน

ผลจากแก๊สที่ได้จากการเน่า (รูปที่ 2.7) ทำให้เกิดแรงดันภายในร่างกายศพ ซึ่งเมื่อตรวจศพจะพบว่า ลูกตาถลน ลิ้นจุกปาก ผนังช่องทรวงอกของเหลวในร่างกาย รวมถึงน้ำเลือดเน่า ถูกดันออกจากปาก และรูจมูก (purge fluids) รวมถึงบริเวณที่เคยมีการผ่าตัดมาก่อน หรือเป็นแผลเป็นจากการผ่าตัด ซึ่งมักเป็นจุดที่ขาดความยืดหยุ่นของผิวหนัง เมื่อเกิดแรงดันจากแก๊สภายใน บางครั้งอาจจะพบว่า อวัยวะข้างใต้ หรืออวัยวะภายในจะถูกดันออกมาจากบาดแผลดังกล่าวได้



รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะของศพ ซึ่งแสดงลักษณะของผลจากแก๊สที่ได้จากการเน่า ทำให้เกิดแรงดันภายในร่างกายศพ ซึ่งสังเกตที่บริเวณส่วนหัว และลักษณะของการเน่าที่เกิดการปล่อยเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ ส่งผลให้มีลักษณะดังภาพที่บริเวณหน้าอก โดยมีการพองเป็นถุงน้ำของผิวหนังขึ้นนอก

Autolysis คือ การเน่าที่เกิดจากการที่เซลล์ในร่างกายที่เกิดการปล่อยเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ ทำให้เกิดการย่อยภายในเซลล์ และเนื้อเยื่อ จะสังเกตได้ว่ากระบวนการเน่าแบบดังกล่าว คือการเน่าโดยปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจากกระบวนการดังกล่าว ในอวัยวะใดที่มีการสร้างเอนไซม์มาก ก็จะเน่าเร็วกว่าอวัยวะอื่น ยกตัวอย่างเช่น เชื่อกันว่าตับอ่อน (pancreas) เป็นอวัยวะที่เน่าได้เร็วที่สุด เนื่องจากมีการสร้างเอนไซม์ได้มากที่สุด ส่วนมดลูกในเพศหญิง และต่อมลูกหมากในเพศชาย จะเน่าได้ช้าที่สุด

จากกระบวนการดังกล่าวพบได้ว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ และเกิดในช่วงเวลาที่พร้อมกับการเกิด putrefaction แต่ผู้ชันสูตรสามารถตรวจพบได้ด้วยตาเปล่า คือ การเริ่มพบการหลุดลอก และพองเป็นถุงน้ำของผิวหนังขึ้นนอก (vesicle and skin slippage) (รูปที่ 2.7)

จะสามารถเห็นได้ว่า การประมาณระยะเวลาการตายจะเป็นไปได้ยากมากขึ้น ความแม่นยำในการประมาณระยะเวลาการตายก็จะน้อยลง ในกรณีที่ศพเน่าเหลือแต่โครงกระดูก ดังนั้นการประมาณระยะเวลาการตายจึงต้องอาศัยปัจจัยอื่นๆ ยกตัวอย่างเช่น หลักฐานในสถานที่เกิดเหตุ จากพยานผู้พบเห็นผู้เสียชีวิตเป็นครั้งสุดท้าย หรืออาศัยข้อมูลวงจรชีวิตของหนอน

แมลงวันสายพันธุ์ที่พบบนศพ มาเป็นข้อมูลประกอบกับการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตให้มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น สำหรับการผ่าชันสูตรก็สามารถช่วยในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตได้ ยกตัวอย่างเช่น การตรวจดูอาหารภายในกระเพาะอาหาร ว่าเป็นอาหารที่ยังไม่มีการย่อย หรือ เป็นอาหารที่ย่อยสมบูรณ์แล้ว เป็นต้น

2.4 แมลงที่มีความสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

แมลงนับได้ว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนมากที่สุดในโลก และแมลงหลายชนิดสามารถปรับตัวให้เข้ากับการอาศัยร่วมกับคนได้ ซึ่งแมลงเหล่านี้มีความสำคัญทั้งในด้านบวกและด้านลบ แมลงบางชนิดมีประโยชน์ และบางชนิดเป็นโทษต่อมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเป็นพาหะก่อให้เกิดโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุข สำหรับแมลงที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์นั้น ได้มีการศึกษาถึงชนิดของแมลงที่มีความสำคัญทางการแพทย์ โดย Lee และคณะ (Lee et al., 2004) ซึ่งได้ทำการรวบรวมข้อมูลการพบแมลงบนศพระหว่างปี ค.ศ. 1972 ถึงปี ค.ศ. 2002 ในประเทศมาเลเซีย โดยรวบรวมข้อมูลศพได้จำนวน 448 ศพ ซึ่งแมลงที่พบบนศพนั้นสามารถพบได้ทั้งแมลงวัน และแมลงชนิดอื่นที่ไม่ใช่แมลงวัน Lee และคณะ ได้ทำการรายงานเป็นจำนวนร้อยละของชนิดแมลงที่พบบนศพ ประกอบด้วยกลุ่มของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ *Chrysomya megacephala* (Fabricius) จำนวน 47.99% *Chrysomya rufifacies* (Masquart) จำนวน 29.46% *Chrysomya villeneuvi* (Patton) จำนวน 2.23% *Chrysomya nigripes* จำนวน 1.56% *Chrysomya bezziana* (Villeneuve) จำนวน 0.89% *Chrysomya pinguis* (Walker) จำนวน 0.22% และแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya sp.* ที่ไม่สามารถระบุ species ได้ จำนวน 10.49% และยังประกอบด้วยกลุ่มของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga sp.* จำนวน 6.25% แมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Lucilia sp.* จำนวน 4.69% นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของแมลง Black Soldier Fly สายพันธุ์ *Hermetia sp.* จำนวน 3.35% *Hermetia illucens* (Linnaeus) จำนวน 0.22% *Hemipyrellia liguriens* (Wiedemann) จำนวน 0.67% *Hemipyrellia sp.* จำนวน 0.45% *Ophyra spinigera* จำนวน 0.22% *Ophyra sp.* จำนวน 1.34% และกลุ่มของแมลงวัน Blue-bottle Fly สายพันธุ์ *Calliphora sp.* จำนวน 5.36% กลุ่มของแมลงวันสายพันธุ์ *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp) จำนวน 0.22% และแมลงสายพันธุ์ *Eristalis sp.* จำนวน 0.22% นอกจากนี้ Lee และคณะ ยังระบุกลุ่มของแมลงสายพันธุ์อื่นที่ไม่ใช่แมลงวันที่สามารถพบบนศพได้ อีก 2 ชนิด คือ เหาสายพันธุ์ *Pthirus pubis* (Linnaeus) จำนวน 0.45% และกลุ่มของแมลงด้วงหนังสัตว์ ลำดับ Coleoptera (Beetles) จำนวน 0.22%

จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้น เป็นการศึกษาที่มีประโยชน์ ต่อการวิจัยในครั้งนี้นี้มาก เพราะการศึกษาถึงชนิดของแมลงที่พบบนศพของ Lee และคณะ เป็นการศึกษาในประเทศมาเลเซีย ซึ่ง

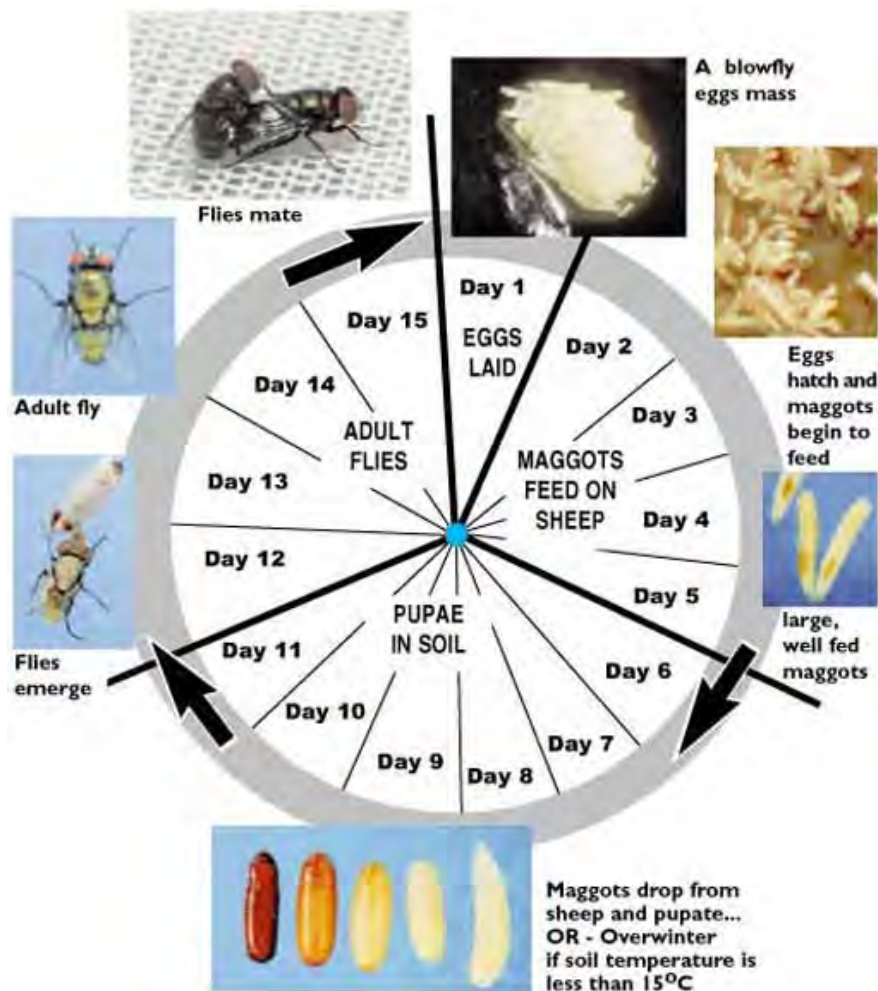
เป็นประเทศเพื่อนบ้านของประเทศไทย ทำให้มีสภาพแวดล้อม และอุณหภูมิ ที่มีความใกล้เคียงกับประเทศไทย ซึ่งปัจจัยนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงชนิดต่างๆเป็นอย่างมาก และสืบเนื่องจากการศึกษาข้างต้น ทำให้เห็นได้ว่า กลุ่มของแมลงที่พบบนศพมากที่สุดคือ กลุ่มของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya sp.* และนอกจากนั้นยังมีแมลงวันชนิดอื่นๆอีก ยกตัวอย่างเช่น *Sarcophaga sp.*, *Lucilia sp.* และ *Hermetia sp.* เป็นต้น ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ถึงความสำคัญในการศึกษาชีววิทยา และอนุวิทยา ของหนอนแมลงวันบนศพ ที่ผู้วิจัยได้ทำการวิจัยในครั้งนี้

2.5 วงจรชีวิตของแมลงวัน

ในประเทศไทยมีแมลงวันอาศัยอยู่หลายสายพันธุ์ และแมลงที่คนไทยรู้จักกันดีที่สุดคือแมลงวันบ้าน (house fly: *Musca domestica*) และแมลงวันหัวเขียว (blow fly หรือ metallic fly) แมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวจัดอยู่ในอันดับ (order) Diptera อันดับย่อย (suborder) Brachycera และ infraorder Muscomorpha (เดิมคือ Cyclorrhapha) แมลงวันบ้านจัดอยู่ในวงศ์ (family) Muscidae และแมลงวันหัวเขียวจัดอยู่ในวงศ์ Calliphoridae แมลงวันมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) โดยมี 4 ระยะในวงจรชีวิตคือ ไข่ (egg) ตัวอ่อนหรือตัวหนอน (larva หรือ maggot) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult)

การที่เราจะนำข้อมูลของแมลงวันมาใช้ประโยชน์ได้เต็มทีนั้น จำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับลักษณะวงจรชีวิตของแมลงวันเป็นอย่างดี แมลงวันหัวเขียว (Blow flies) เป็นชื่อสามัญของแมลงวันที่มีลำตัวสีเขียวหรือน้ำเงิน ซึ่งมีอยู่หลายชนิด (species) ชนิดที่พบมากที่สุดในประเทศไทยคือ *Chrysomya megacephala* (Sucharit and Tumrasvin, 1981) ลักษณะโดยทั่วไปของแมลงวันหัวเขียวคือ มีลำตัวค่อนข้างกลม ส่วนอกมีขนาดใหญ่ มีขนขนาดใหญ่ปกคลุมทั่วตัว ตาประกอบมีขนาดใหญ่ ตัวเต็มวัยมักอาศัยในบริเวณบ้านและตอมสิ่งปฏิกูลเป็นอาหาร ตัวเมียวางไข่เป็นกลุ่มประมาณ 50-100 ฟอง ประมาณ 12 ชั่วโมงไข่จึงฟักออกเป็นหนอนวัยที่ 1 (1st stage larva หรือ 1st instar larva) หนอนแมลงวันมักจะใช้คำเรียกเฉพาะว่า maggot ลักษณะของหนอนแมลงวันคือส่วนหัวมีขนาดเล็กมีอวัยวะที่ใช้กินอาหารเรียกว่า hook อยู่ 1 คู่ ส่วนท้ายของหนอนมีลักษณะป้านโดยมีท่อหายใจอยู่ 1 คู่เรียกว่า posterior spiracle รูปร่างลักษณะของ posterior spiracle นี้ใช้ช่วยในการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันได้ หนอนแมลงวันจะลอกคราบ 2 ครั้งเพื่อกลายเป็นหนอนวัยที่ 2 และ 3 ตามลำดับ โดยหนอนวัยที่ 1 ใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมงเพื่อเจริญเป็นหนอนแมลงวันวัยที่ 2 และหนอนแมลงวันวัยที่ 2 ใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง เพื่อเจริญเป็นหนอนแมลงวันวัยที่ 3 เมื่อหนอนแมลงวันวัยที่ 3 โตเต็มที่ (peak feeding) จะหยุดกินอาหารและเคลื่อนที่เข้าหาที่มืดและแห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ต่อไป ซึ่งหนอนแมลงวันวัยที่ 3 ใช้เวลาตั้งแต่ฟักออกจากไข่จนกระทั่งเป็นดักแด้ (pupa) ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน ภายในดักแด้ของตัวหนอน

แมลงวันจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อเจริญไปเป็นแมลงวันตัวเต็มวัยโดยใช้ระยะเวลาเวลาดำรงตัวประมาณ 5-7 วัน ทั้งนี้ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของหนอนแต่ละระยะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ยกตัวอย่างเช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณอาหาร ความหนาแน่นของหนอนแมลงวัน แต่ปัจจัยที่มีความสำคัญมากที่สุดก็คือ อุณหภูมิ (Wells and Kurahashi,1994)



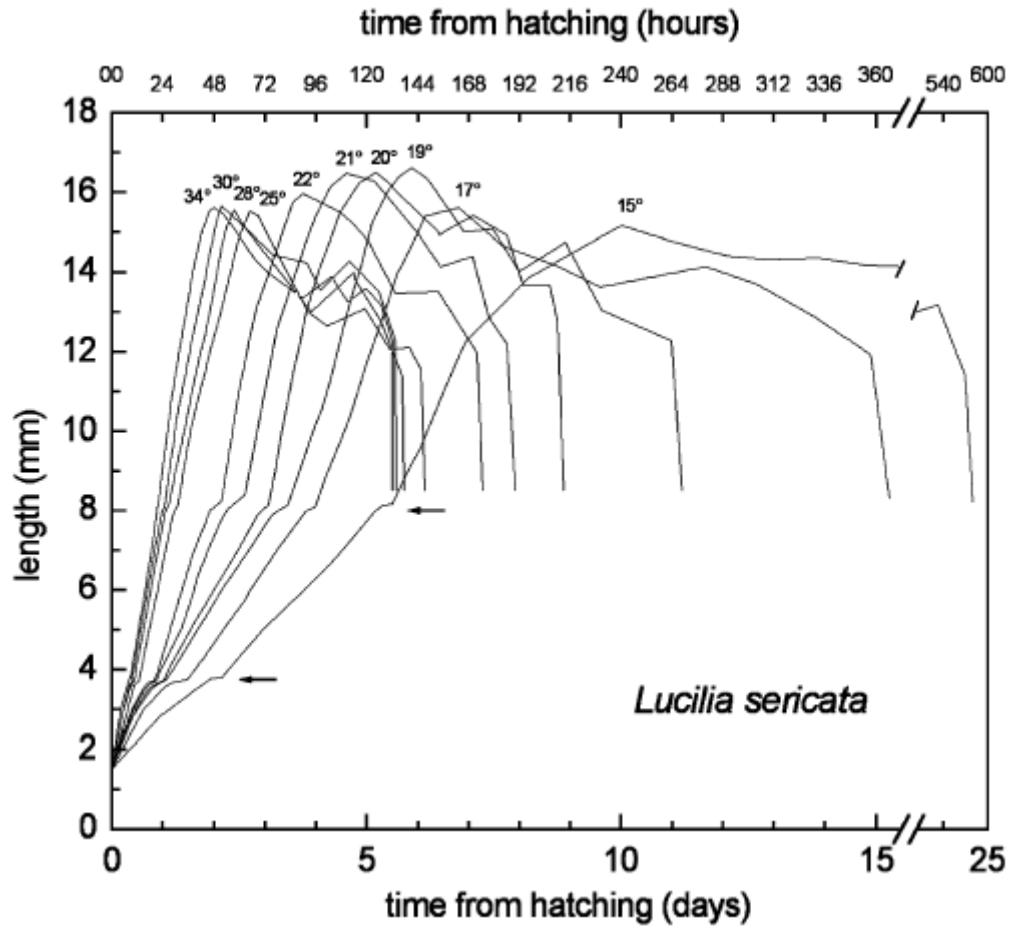
รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะวงจรชีวิตของแมลงวัน ในระยะต่างๆ ซึ่งประกอบด้วย ระยะไข่ ระยะหนอนแมลงวัน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย

(จาก http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/image/0020/180380/blow-fly-lifecycle.jpg)

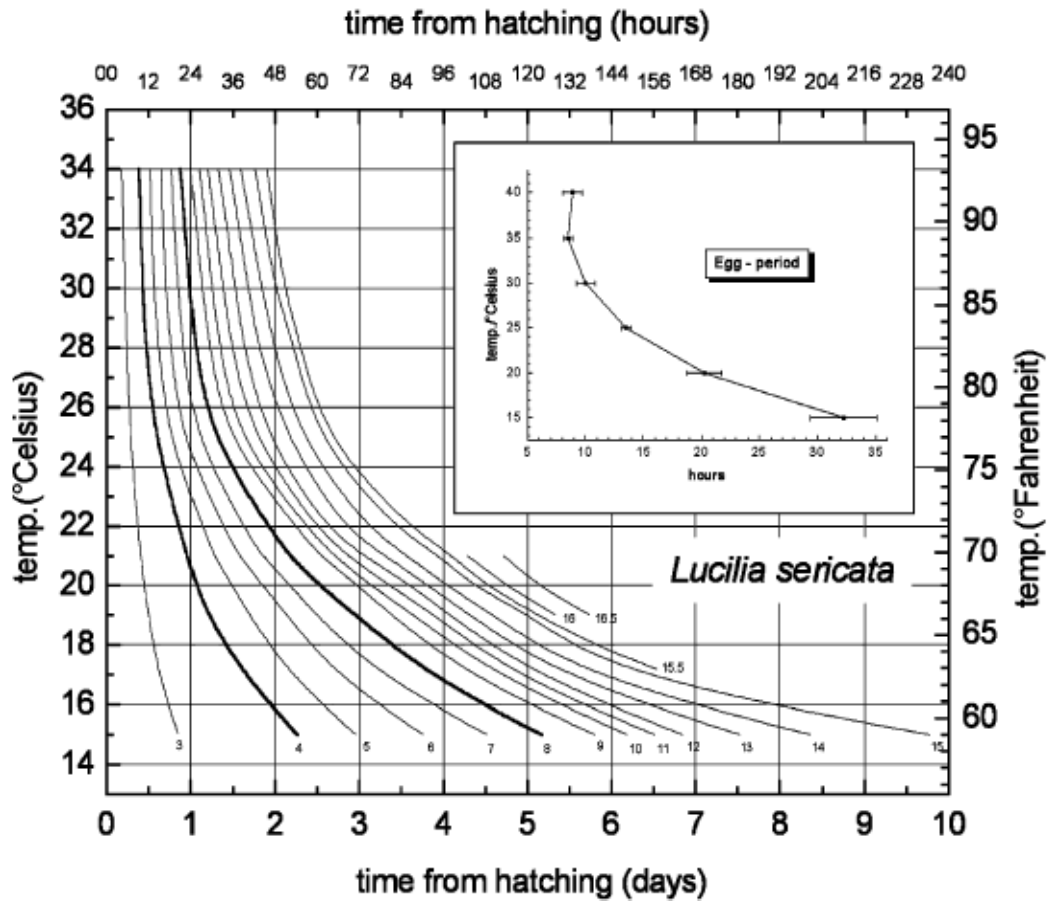
2.6 การใช้กราฟการเจริญเติบโตของแมลงวันเพื่อประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต

การพบศพที่มีหนอนแมลงวันในสภาวะที่มีอุณหภูมิที่ผันผวน ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ วงจรชีวิตของแมลงวัน สามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาได้ ซึ่งภายใต้การควบคุมอุณหภูมิ และสิ่งแวดล้อม เมื่อนำหนอนแมลงวันมาทำการวัดขนาด โดยก่อนหน้านั้นจะนำไปต้มในน้ำร้อน ซึ่งขนาดความยาวของหนอนแมลงวันนี้ จะสอดคล้องกับระยะเวลาที่หนอน

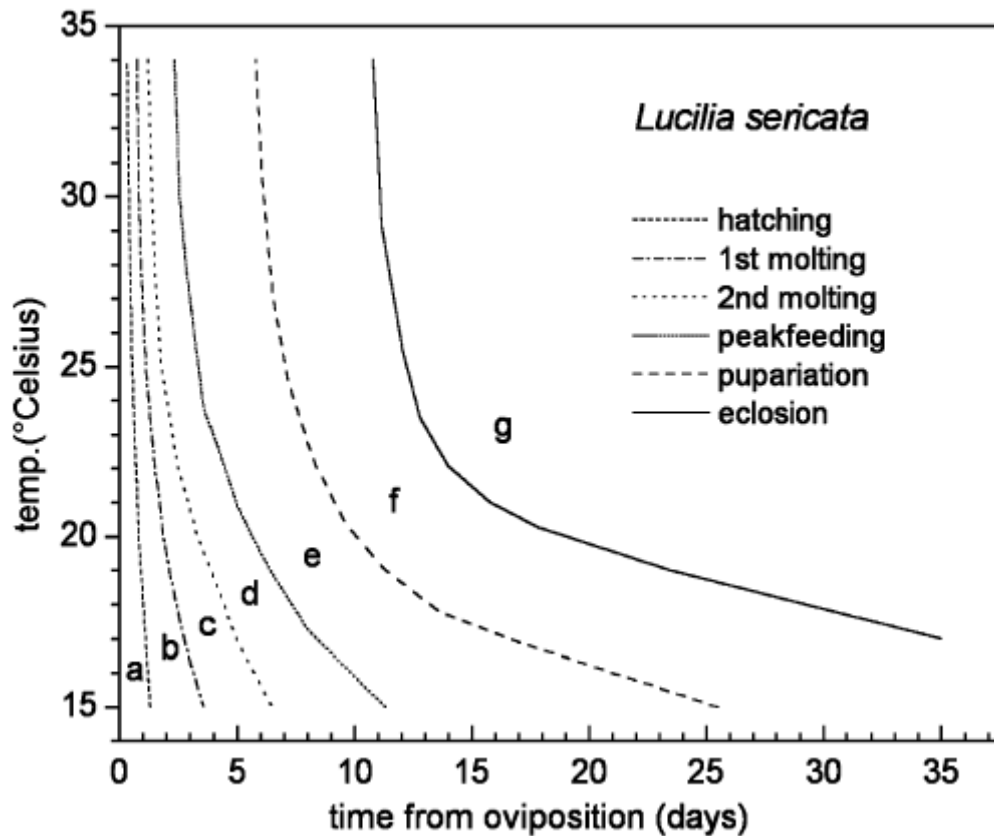
แมลงวันออกจากไข่ จากการศึกษาของ Grassberger และ Reiter (Grassberger and Reiter, 2001) ได้นำข้อมูลของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Lucilia sericata* มาทำการเขียนกราฟการเจริญเติบโตของแมลงวัน ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความยาวของตัวหนอนแมลงวัน กับ อุณหภูมิต่างๆกัน (ดังรูป 2.9) โดยกราฟที่ได้ก็จะมาจากการทดลองแมลงวันตัวอย่างในห้องทดลองที่อุณหภูมิต่างๆ ซึ่งจะมีความจำเพาะต่อขนาดความยาวของแมลงวันแต่ละชนิด จากนั้น Grassberger และ Reiter ก็นำข้อมูลการเจริญเติบโตมาเปรียบเทียบกับกราฟอีก 2 กราฟที่ Grassberger และ Reiter ได้ออกแบบขึ้น นั่นคือ Isomegalen-diagram และ Isomorphen-diagram โดยกราฟทั้งคู่จะมีความแตกต่างกันดังนี้ คือ Isomegalen-diagram (ดังรูปที่ 2.10) จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลาของการเจริญเติบโตของตัวหนอนแมลงวัน ตั้งแต่ออกจากไข่ ไปจนถึงระยะ peak feeding ซึ่งก็คือระยะของหนอนแมลงวันวัยที่ 3 ที่โตเต็มที่ โดยจะมีการหยุดกินอาหาร ซึ่งจะเคลื่อนที่เข้าหาที่มืดและแห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ต่อไป ส่วนกราฟ Isomorphen-diagram (ดังรูปที่ 2.11) จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของแมลงวันแต่ละระยะ โดยจะแบ่งเป็น ระยะไข่จนถึงฟักออกจากไข่ ระยะที่ 1 และ 2 ของหนอนแมลงวัน ระยะที่ 3 ของหนอนแมลงวันจนถึงระยะ peak feeding ระยะที่หนอนแมลงวันกลายเป็นดักแด้ และระยะที่ตัวเต็มวัยแยกออกจากดักแด้ โดย Grassberger และ Reiter ได้ให้ข้อมูลไว้ว่า สามารถนำข้อมูลการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันที่ได้จากศพ มาเขียนกราฟการเจริญเติบโต เพื่อนำมาเทียบกับ Isomegalen-diagram และ Isomorphen-diagram คำนวณย้อนกลับเพื่อประมาณระยะเวลาที่แมลงวันเริ่มวางไข่บนศพ และสามารถประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพได้ แต่อย่างไรก็ตาม กราฟที่ใช้จะต้องเป็นข้อมูลของแมลงวันชนิดเดียวกันเท่านั้น เนื่องจากแมลงวันที่ต่างชนิดกันก็จะมี การเจริญเติบโตที่ต่างกัน



รูปที่ 2.9 แสดงถึงกราฟการเจริญเติบโตของแมลงวันของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Lucilia sericata* ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความยาวของตัวหนอนแมลงวัน กับ อุณหภูมิ ต่างๆกัน 10 ค่า โดยลูกศรจะแสดงถึงจุดที่หนอนแมลงวันเจริญเติบโตจาก ระยะที่ 1 ไปเป็นระยะที่ 2 และจุดที่หนอนแมลงวันเจริญเติบโตจาก ระยะที่ 2 ไปเป็นระยะที่ 3 ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001)



รูปที่ 2.10 แสดงถึง Isomegalen-diagram ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Lucilia sericata* โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลาของการเจริญเติบโตของตัวหนอนแมลงวัน ตั้งแต่ออกจากไข่ ไปจนถึงระยะ peak feeding ซึ่งก็คือระยะของหนอนแมลงวันวัยที่ 3 ที่โตเต็มที่ โดยจะมีการหยุดกินอาหาร ซึ่งจะเคลื่อนที่เข้าหาที่มีดและแห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ต่อไป โดยกราฟขนาดเล็กจะแสดงถึงระยะเวลาที่ไข่มีการฟักเป็นตัวหนอนแมลงวัน ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15 °C และ 40 °C (Grassberger and Reiter, 2001)



รูปที่ 2.11 แสดงถึง Isomorphen-diagram ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Lucilia sericata* โดยจะแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ กับ ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของแมลงวันแต่ละระยะ โดยจะแบ่งเป็นระยะดังรูป คือ ระยะไข่จนถึงฟักออกจากไข่ (a) ระยะที่ 1 และ 2 ของหนอนแมลงวัน (b และ c) ระยะที่ 3 ของหนอนแมลงวัน (d) จนถึงระยะ peak feeding (e) ระยะที่หนอนแมลงวันกลายเป็นดักแด้ (f) และระยะที่ตัวเต็มวัยแยกออกจากดักแด้ (g) (Grassberger and Reiter, 2001)

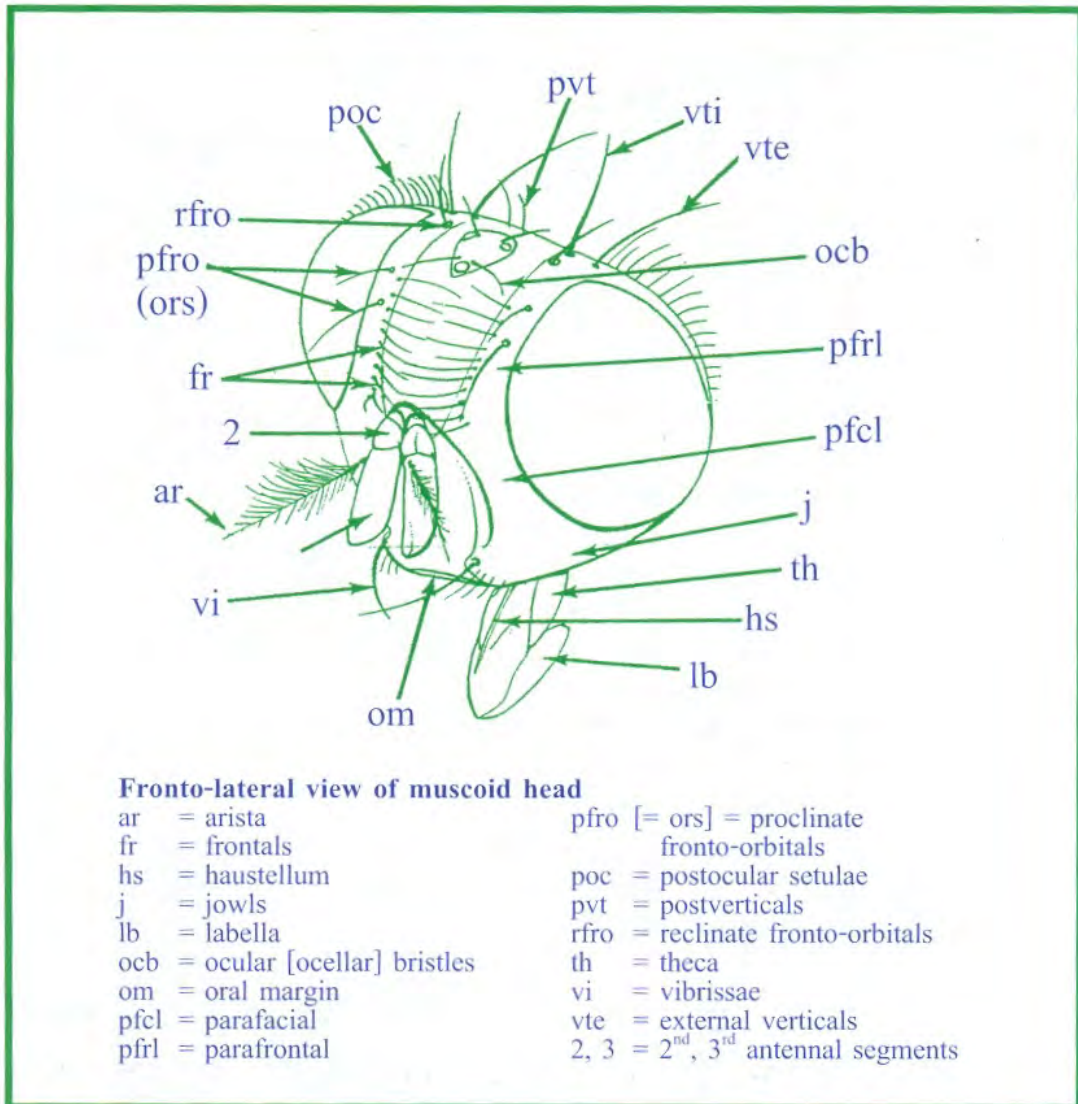
2.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวัน

ตามปกติทั่วไป ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันจะมีโครงสร้างภายนอกร่างกายหลักคล้ายกับแมลงทั่วไป กล่าวคือ ส่วนลำตัวประกอบด้วยส่วนหัว ออก และส่วนท้อง ขนาดลำตัวยาว 0.5-16 มิลลิเมตร ตามลำตัวมักมีขนแข็งขึ้นปกคลุม จึงสามารถนำพาเชื้อโรคไปยังส่วนต่างๆ ได้ดี

2.7.1 ส่วนหัวแมลงวัน

เป็นที่ตั้งของตารวม (compound eyes) ที่มีขนาดใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงวันตัวผู้ จะมีตารวมที่ตั้งอยู่ส่วนหน้าของหัว หากตารวมทั้งสองข้างตั้งอยู่ชิดกันมากจะเรียก

ลักษณะของหัวชนิดว่า holoptic head พบได้ในแมลงวันตัวผู้หลายชนิด แต่หากตารวมอยู่แยกจากกันอย่างเห็นได้ชัดเจนจะเรียกลักษณะของหัวชนิดนี้ว่า dichoptic head ส่วนบนของหัวจะพบตาเดี่ยว (ocelli) จำนวน 3 ตา ซึ่งตั้งเรียงกันเป็นรูปสามเหลี่ยม ด้านล่างของส่วนหัวจะเป็นที่ตั้งของปากซึ่งมีลักษณะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ โดยอาจจะเป็นปากแบบดูดซับ (sponging type) หรือ แบบเจาะดูด (piercing-sucking type) ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวัน



รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะส่วนหัวด้านหน้าของแมลงวัน (Greenberg, 1971)

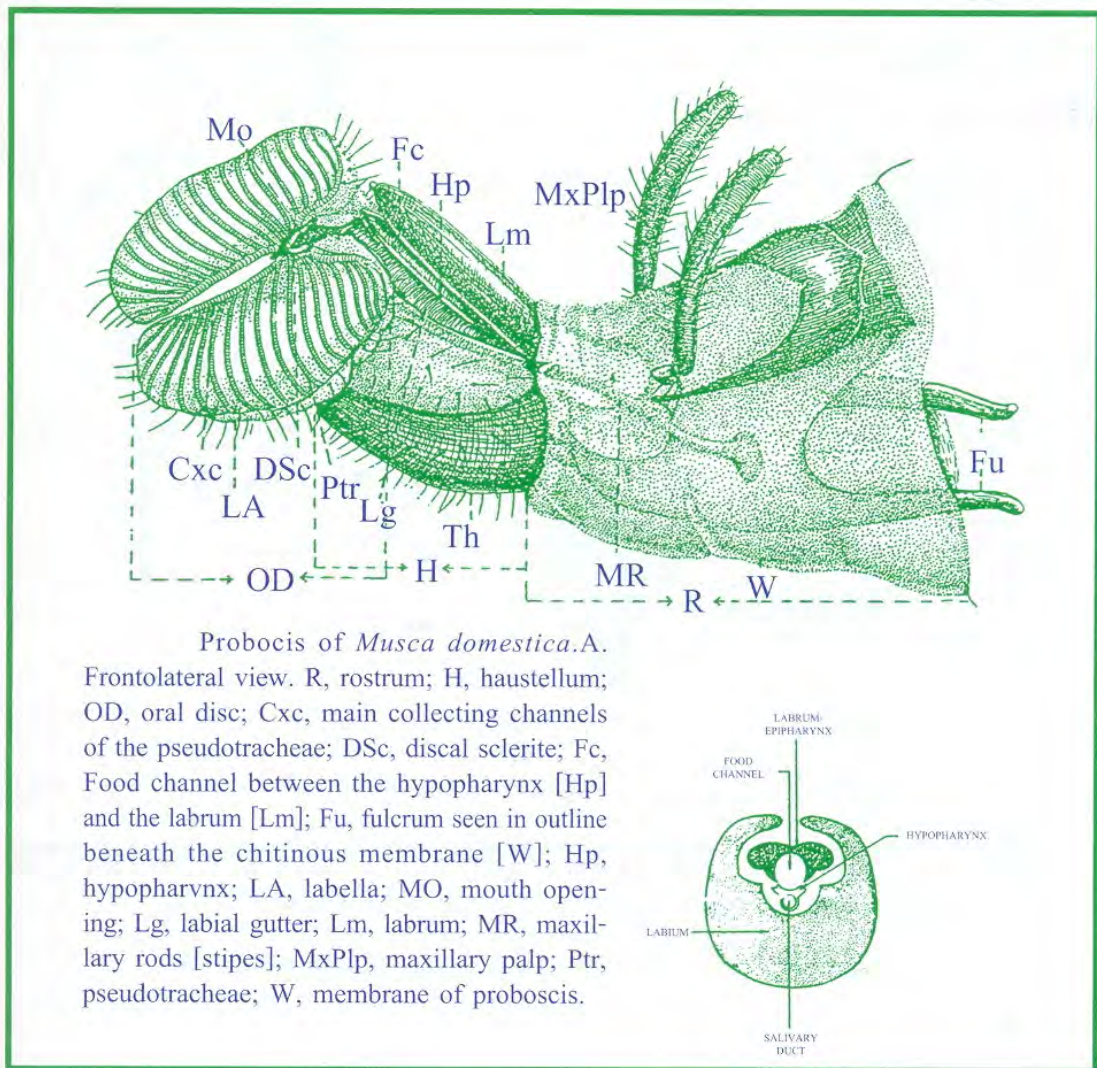
2.7.2 หนวดแมลงวัน

โดยทั่วไปแล้ว แมลงวันจะมีหนวดประกอบด้วยปล้องจำนวน 3 ปล้อง ซึ่งปล้องแรก que ติดอยู่กับส่วนหัวจะเรียกว่า scape ปล้องที่สองจะเรียกว่า pedicel ส่วนปล้องสุดท้ายจะเรียกว่า flagellum ซึ่งมีขนาดใหญ่มาก และมีขน (arista) อยู่ด้านบนของ flagellum โดยหน้าที่สำคัญของหนวดของแมลงวันนั้น จะทำหน้าที่ในการรับกลิ่น และการตอบสนองต่อสารเคมีต่างๆ

2.7.3 ปากแมลงวัน

ปากของแมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์นั้น แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

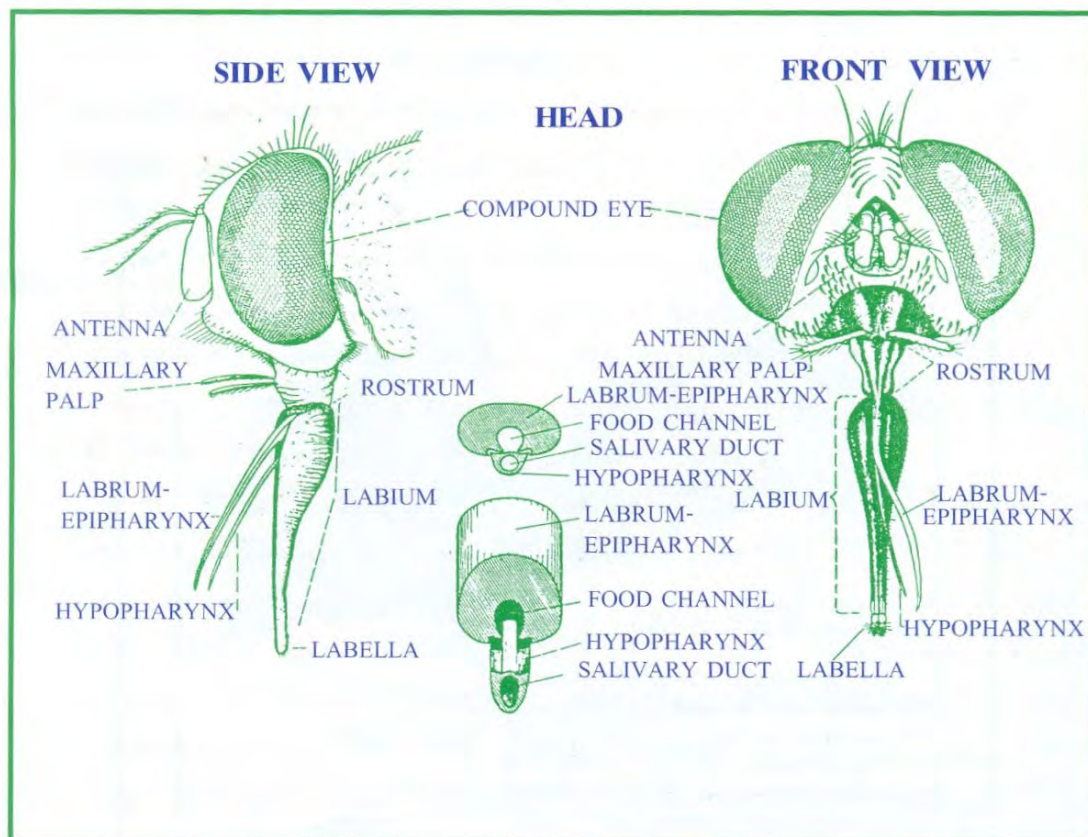
1. ปากแบบซัปเดตูด (sponging type) มีส่วนของ labium เห็นได้ชัดเจน ตรงปลายเป็น labella labium จะโค้งงอเข้าหากันเป็นท่อ ทางด้านบนมี labrum-epipharynx และ hypopharynx ปิดอยู่ ส่วนโคนของ labium มี maxillary palpi ที่เห็นได้ชัด การกินอาหารจะใช้ labella หรือ pseudotracheae ดูดซัปเดตูดของเหลวขึ้นมา ซึ่งปากชนิดนี้พบในแมลงวันหลายชนิด ได้แก่ แมลงวันบ้าน แมลงวันหัวเขียว แมลงวันหลังลาย เป็นต้น



รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะของปากแบบซัปเดตูด (sponging type) ของแมลงวันบ้าน *Musca domestica* (L) (Greenberg, 1973)

2. ปากแบบเจาะดูด (piercing-sucking type) นับว่าเป็นรูปแบบที่มีวิวัฒนาการมาก ซึ่งประกอบด้วย labium ที่แข็งแรง และภายในมี stylets 2 อัน คือ labrum-epipharynx อยู่ด้านบนใหญ่และแข็งแรง และ hypopharynx ทางด้านล่างมีขนาดเล็กและเป็นทางออกของน้ำลาย ทั้งสองอันนี้ประกบกันเป็น food canal ทางโคนของ proboscis พบ

maxillary palpi 2 อัน การกินอาหารจะใช้ส่วนปลายของ labium แทงเข้าไปในผิวหนัง host ก่อน จะกินเลือด ปากชนิดนี้พบในแมลงวันคอกสัตว์ซึ่งดูดกินเลือดเป็นอาหาร



รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะของปากแบบเจาะดูด (piercing-sucking type) ของแมลงวันคอกสัตว์ *Stomoxys calcitrans* (L) (Greenberg, 1973)

ลักษณะการดูดกินอาหารของตัวเต็มวัยแมลงวัน

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของส่วนปากของแมลงวันที่มีปากแบบ ชับดูด (sponging type) ที่ใช้ในการดูดกินอาหาร แบ่งออกได้ดังนี้

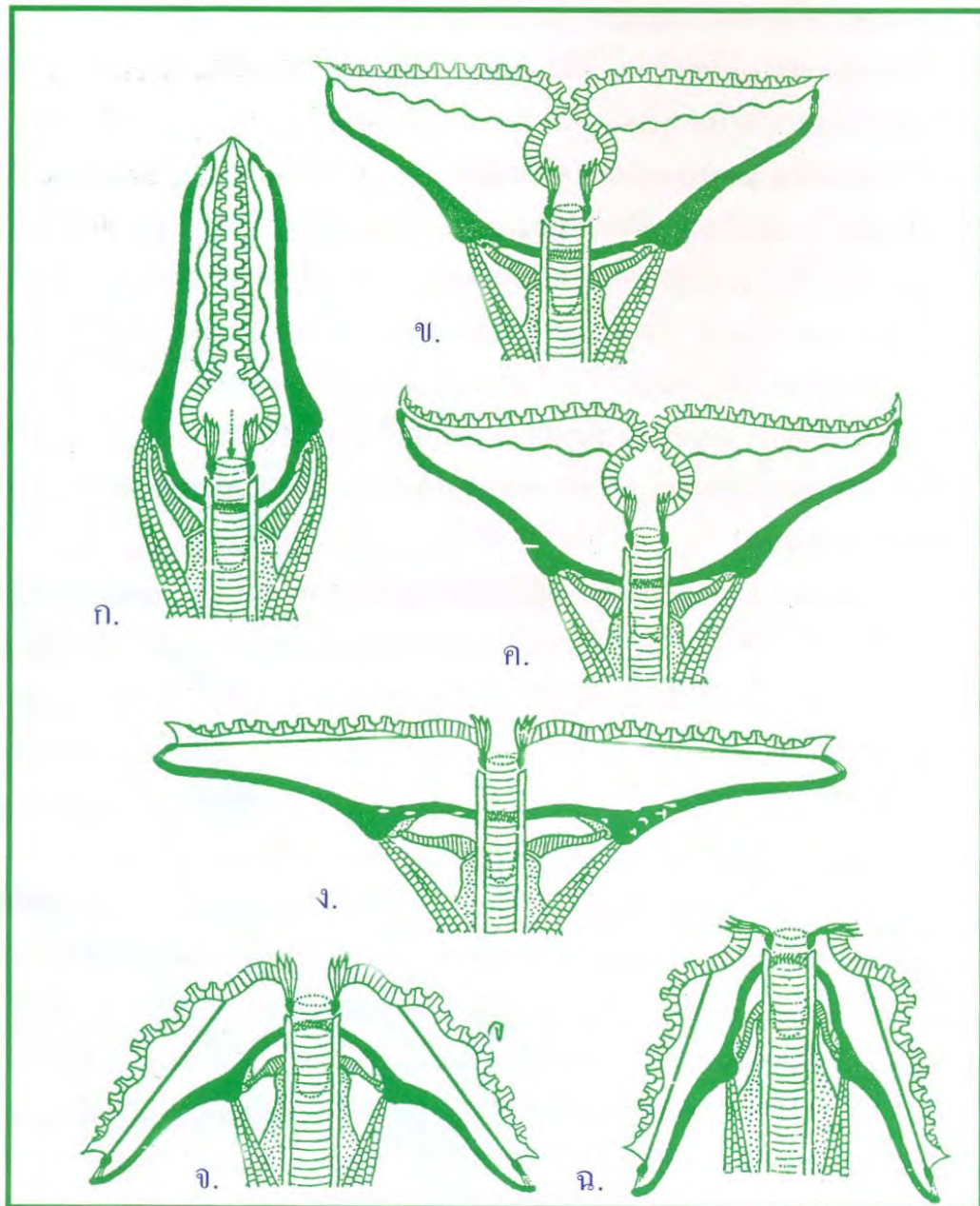
1. **Resting position** คือ ลักษณะของแมลงวันที่อยู่ในท่าพัก ไม่ได้ดูดกินอาหาร ส่วนผิว pseudotracheae ของ labellum จะหุบเข้าประกบกัน
2. **Filtering position** คือ ลักษณะของการดูดกินอาหารที่เป็นของเหลวที่มีลักษณะเป็นฟิล์มบางๆ เช่น นมหรือน้ำหวาน ส่วนผิว pseudotracheae ของ labellum จะถูกกดลงบนอาหาร เป็นแผ่นแบนราบ และจะดูดซับอาหารเข้าสู่ช่องทางเดินอาหารต่อไป
3. **Cupping position** คือ ลักษณะการดูดกินอาหารที่เป็นของเหลวที่มีลักษณะเป็นหยด เช่น หยดน้ำเชื่อมหรือหยดน้ำเหลือง ส่วนผิว pseudotracheae ของ labellum จะโค้งครอบอาหารนั้น

4. **Intermediate position** คือ ลักษณะการดูดกินอาหารที่เป็นของเหลว มีลักษณะเป็นฟิล์มเหนียวหนืด นอกจากนี้จะใช้ส่วนผิว pseudotracheae ของ labellum กดทับอาหารแล้วจำเป็นต้องยื่นอวัยวะที่ทำหน้าที่เป็นฟันเรียกว่า prestomal teeth มาช่วยดูดอาหารบางส่วน

5. **Scraping position** คือ ลักษณะการดูดกินอาหารที่เป็นของแข็งหรือแห้ง เช่น เนยแข็ง เลือดที่แข็งตัว ส่วนผิว pseudotracheae ของ labellum จะโค้งขึ้น prestomal teeth จะถูกยื่นสัมผัสกับอาหาร ชูดกับอาหารและปล่อยน้ำย่อยออกมาย่อยอาหาร เพื่อให้อาหารกลายเป็นของเหลว เมื่ออาหารเหลวแล้วจึงใช้ pseudotracheae ของ labellum ดูดกินอาหารต่อไป

6. **Direct feeding position** คือ ลักษณะการดูดกินอาหารที่เป็นของเหนียวข้น เช่น อุจจาระของคนและสัตว์ แมลงวันจะยื่นส่วน labellum ลงไปในอาหาร ส่วนผิว pseudotracheae ของ labellum จะโค้งงอขึ้น ฟันที่เรียกว่า prestomal teeth จะไม่ทำงาน การดูดแบบนี้ อาหารจะดูดเข้าช่องอาหารโดยตรง โดยไม่ต้องมีการดูดกรองโดย pseudotracheae

สำหรับอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ เช่น ไซยาไนด์ จะถูกกินโดยวิธี direct feeding position แมลงวันบ้านสามารถกินอนุภาคที่มีขนาดไม่เกิน 40 ไมครอน ขณะที่แมลงวันหัวเขียวและแมลงวันหลังลายจะกินอนุภาคที่ไม่เกิน 50 ไมครอน และแมลงวัน *Fannia sp.* จะสามารถกินอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 30 ไมครอน



รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของส่วนปากแมลงวัน ที่มีปากแบบซั้บดูด (Sponging)

ก. Resting position

ข. Filtering position

ค. Cupping position

ง. Intermediate position

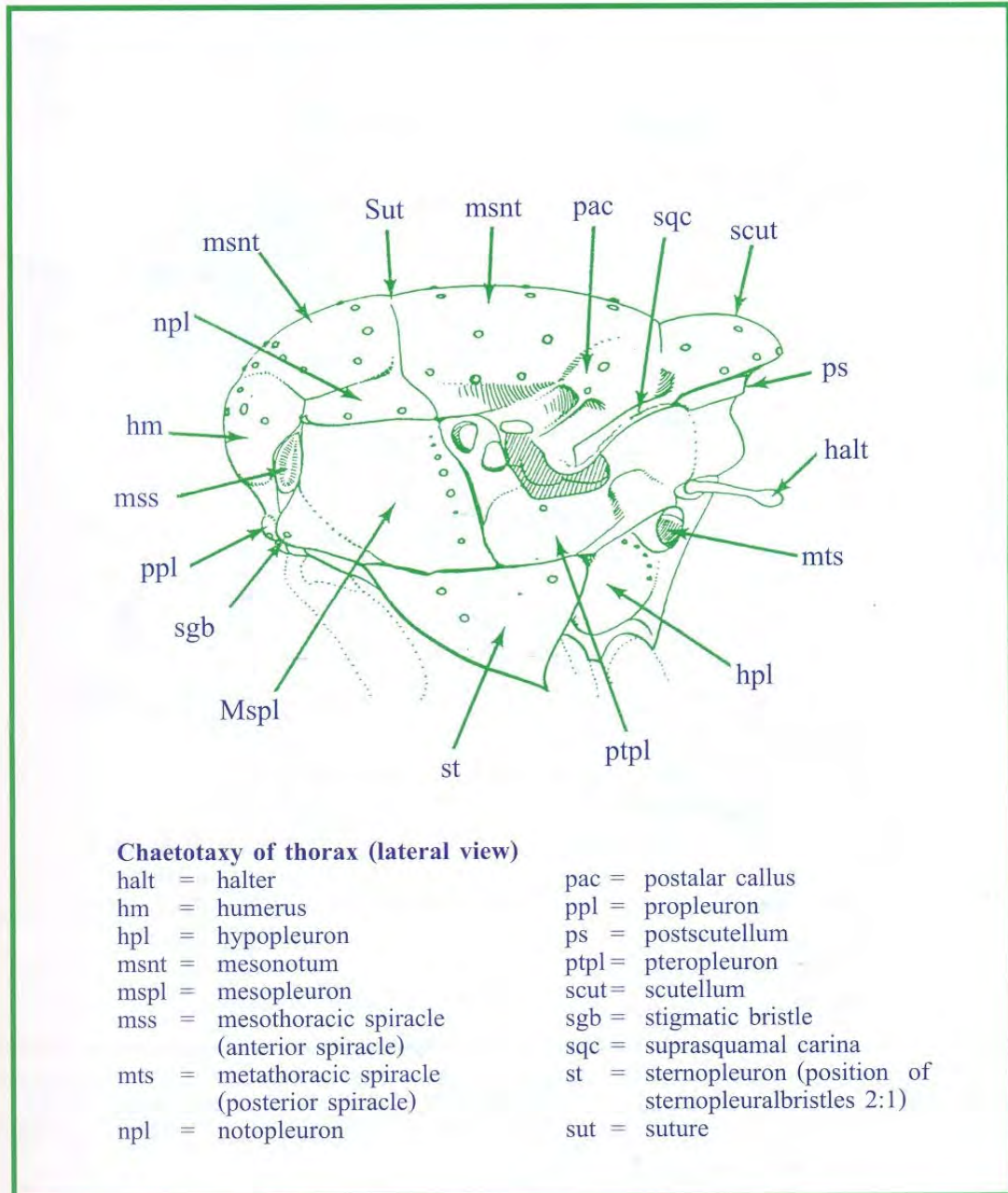
จ. Scraping position

ฉ. Direct feeding position

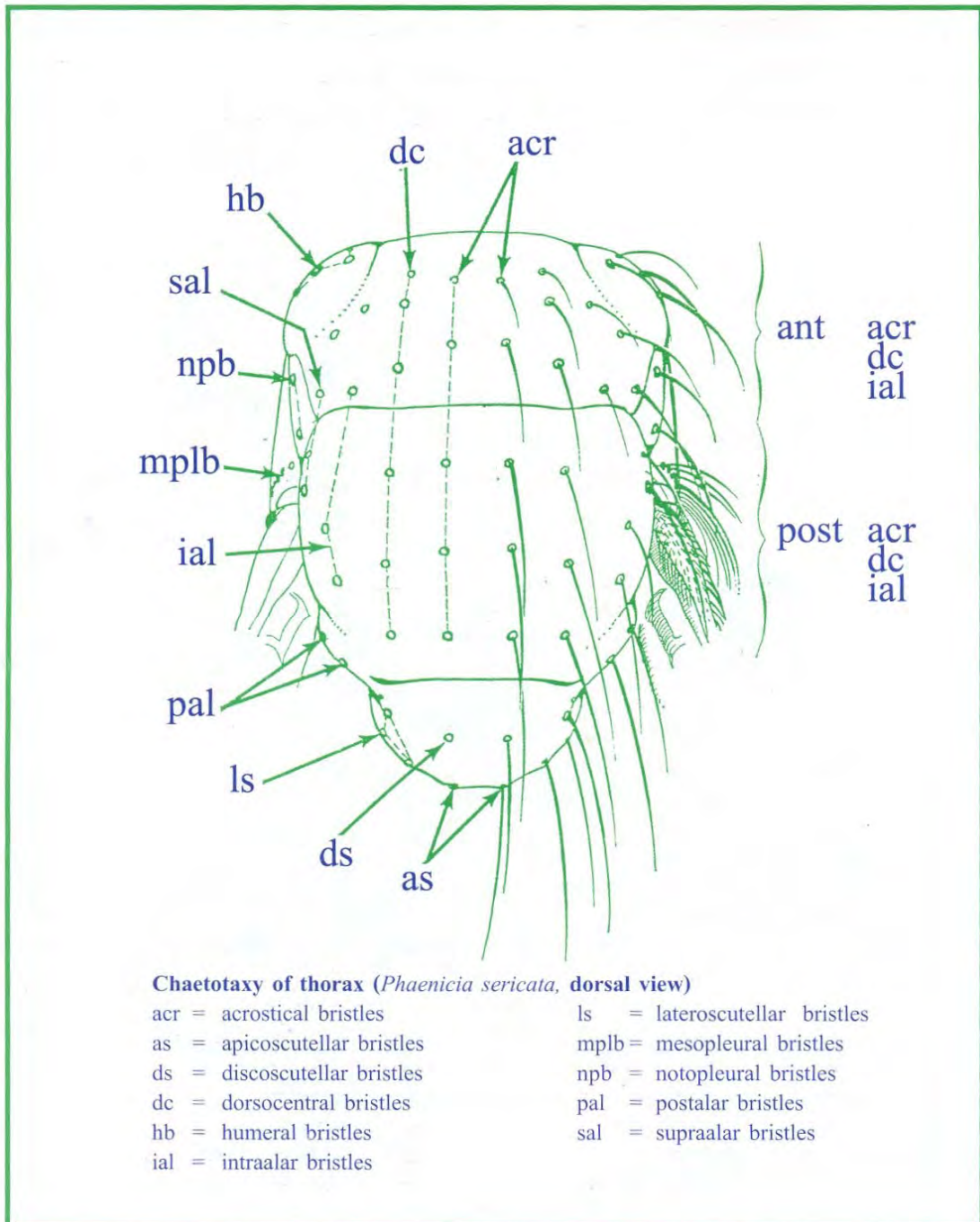
(Greenberg, 1973)

2.7.4 ส่วนอกแมลงวัน

อกแมลงวันประกอบด้วยปล้องจำนวน 3 ปล้อง โดยแต่ละปล้องจะเป็นที่ตั้งของขา 1 คู่ สำหรับอกปล้องกลางเป็นที่ตั้งของปีก ส่วนอกปล้องท้ายลดรูปไปเป็นอวัยวะช่วยในการพยุงลำตัวขณะบินเรียกว่า halters มีรูหายใจ (spiracles) ตั้งอยู่ด้านข้างของอกปล้องกลางและปล้องท้องปล้องละคู่ เส้นขนที่ส่วนอกมีส่วนสำคัญในการจำแนกแมลงวันชนิดต่างๆ



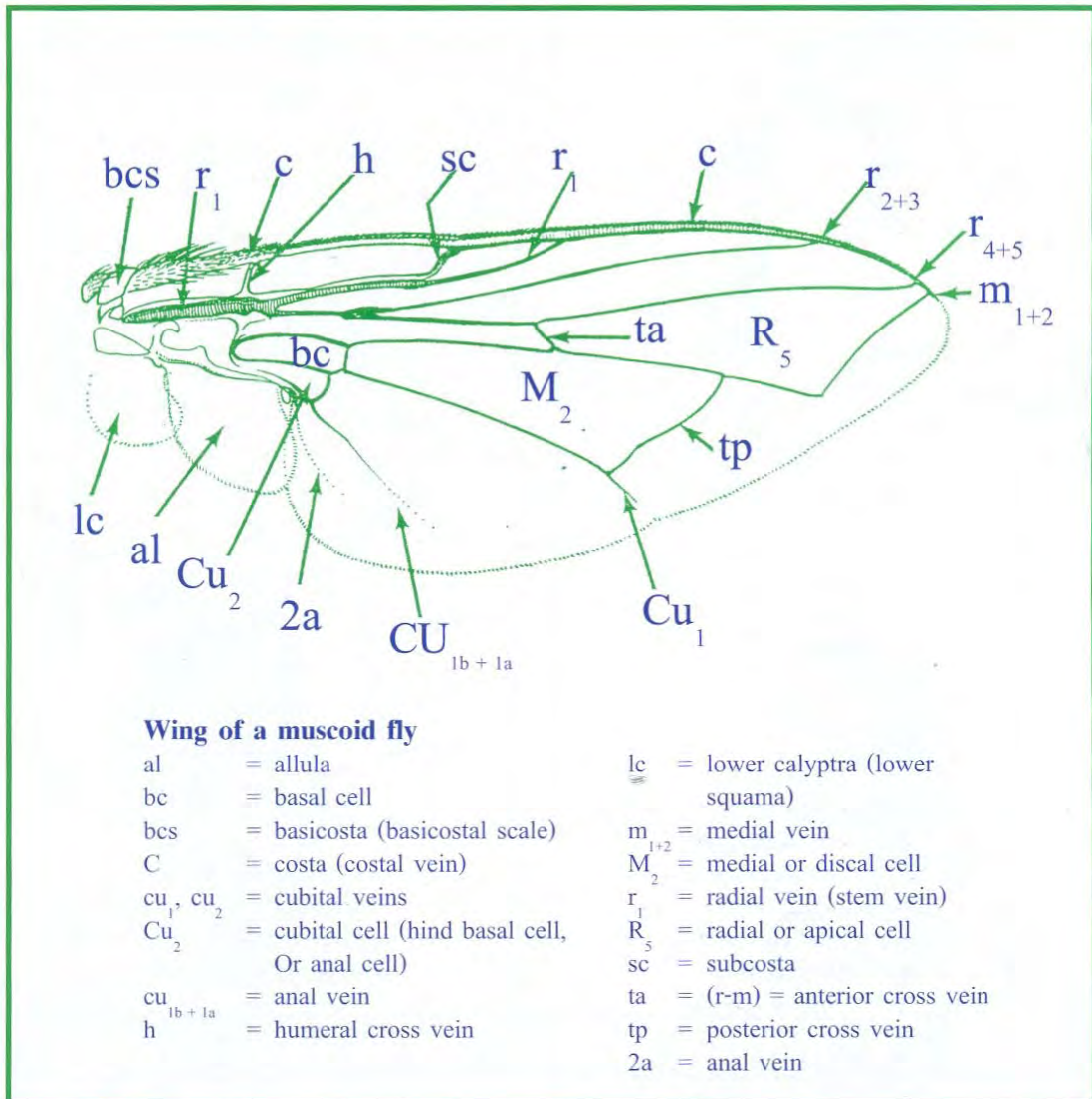
รูปที่ 2.16 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปส่วนอกด้านข้างของแมลงวัน (Greenberg, 1971)



รูปที่ 2.17 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปส่วนอกด้านบนของแมลงวัน (Greenberg, 1971)

2.7.5 ปีกแมลงวัน

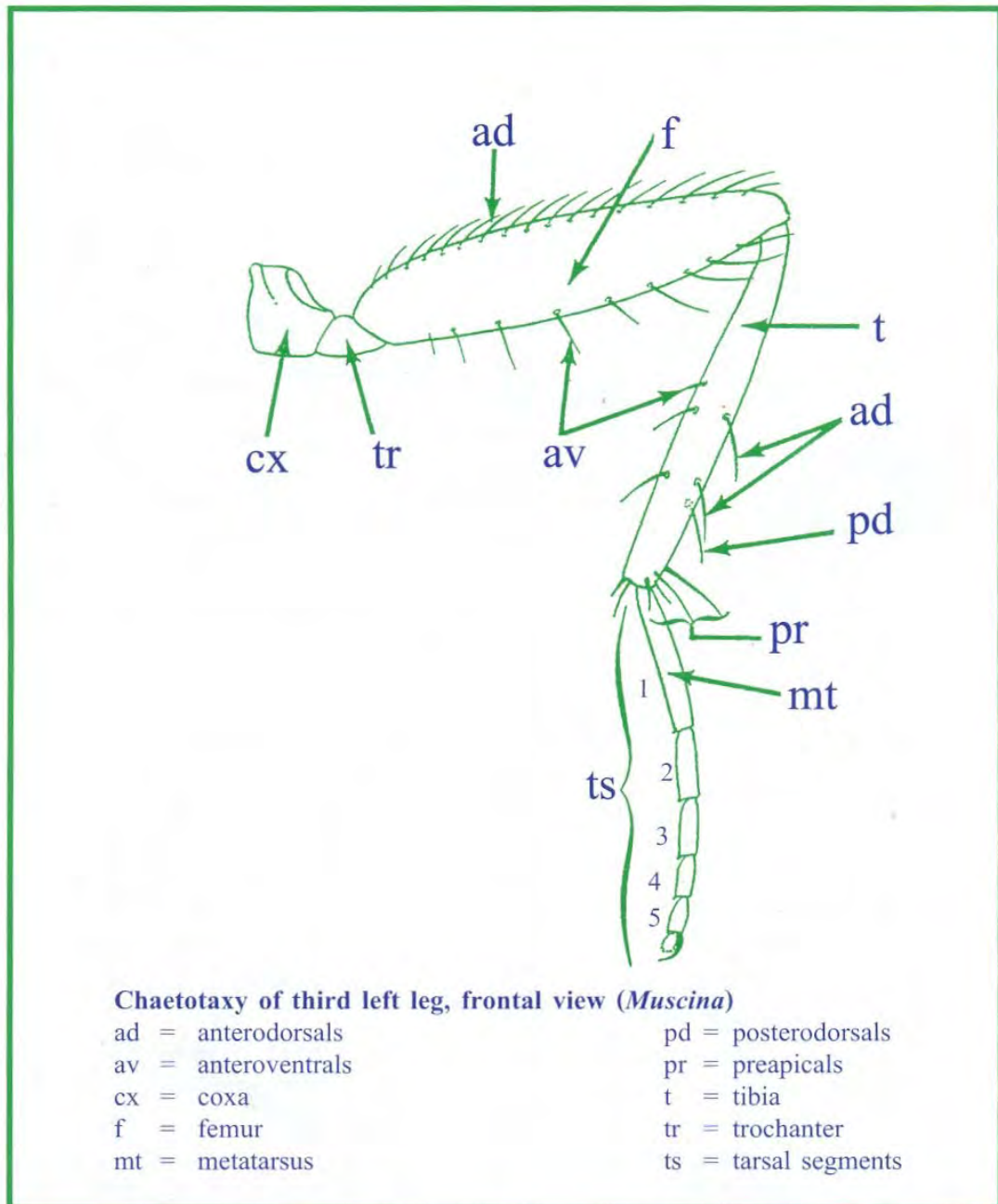
แมลงวันจะมีปีกเพียง 1 คู่ ตั้งอยู่ด้านข้างของอกปล้องกลาง สำหรับปีกคู่หลังมีวิวัฒนาการเปลี่ยนรูปร่างไปเป็นอวัยวะที่ช่วยในการทรงตัวขณะบิน เช่นเดียวกับยุง เรียกว่า halteres เมื่อเปรียบเทียบกับปีกของยุงเส้นปีกของแมลงวันจะมีจำนวนเส้นปีกที่น้อยกว่า การเรียงตัวของเส้นปีกมีส่วนสำคัญที่ใช้ในการวินิจฉัยแยกชนิดของแมลงวัน



รูปที่ 2.18 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปส่วนปีกของแมลงวัน (Greenberg, 1971)

2.7.6 ขาแมลงวัน

ขาแมลงวันจะแบ่งเป็น 5 ส่วน ประกอบด้วย coxa, trochanter, femur, tibia และ tarsi มี 5 ปล้อง ที่ปลาย tarsi ปล้องที่ 5 จะมีเล็บ (claw) ช่วยในการยึดจับและมี pulvilli อยู่ระหว่างเล็บ



รูปที่ 2.19 แสดงลักษณะโครงสร้างทั่วไปของขาแมลงวัน (Greenberg, 1971)

2.7.7 ส่วนท้องแมลงวัน

ประกอบด้วยปล้องท้องจำนวน 8 ปล้องสำหรับตัวผู้ และ 9 ปล้องสำหรับตัวเมียที่เห็นชัดเจนเพียง 4 ปล้อง สำหรับปล้องท้ายๆจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นอวัยวะสืบพันธุ์ ส่วนท้องมีความสำคัญในการจำแนกชนิดแมลงวันน้อยกว่าส่วนนอก

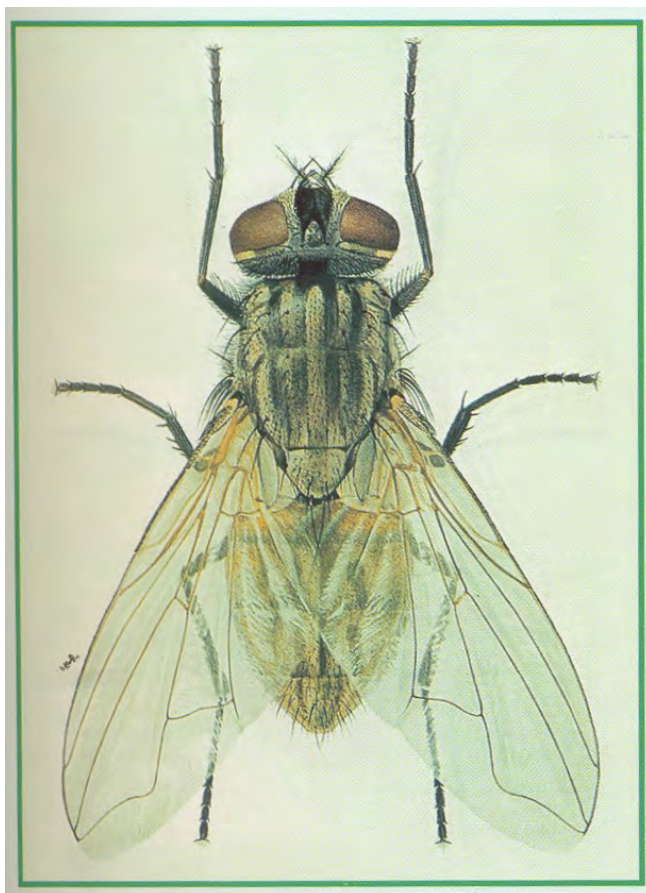
2.8 แมลงวันที่มีความสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

แมลงวันที่มีความสำคัญในทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทยมีหลายสายพันธุ์ที่สามารถพบได้บนศพ ความรู้ทางด้านข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาของแมลงวันกลุ่มนี้มีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อที่จะนำข้อมูลนี้มาประกอบกับข้อมูลการเจริญเติบโตของแมลงวันที่พบบนศพ และนำมาประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพได้อย่างแม่นยำ โดยจะกล่าวถึงข้อมูลพื้นฐานของแมลงวันที่มีความสำคัญด้านนิติวิทยาศาสตร์ ดังต่อไปนี้

2.8.1 แมลงวันบ้าน (House flies)

แมลงวันบ้านจัดอยู่ใน Family Muscidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musca domestica* และมีชื่อสามัญว่า common house fly เป็นแมลงวันที่มีการแพร่กระจายทั่วโลก สามารถพบได้ทั้งเขตร้อน เขตอบอุ่น รวมทั้งเขตหนาวบางพื้นที่ จัดว่าเป็นแมลงวันที่มีความใกล้ชิดกับคน และแมลงวันบ้านมีความสำคัญมากในทางการแพทย์และสัตวแพทย์ โดยเป็นพาหะนำเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคหลายชนิด ดังตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังเป็นตัวนำไข่พยาธิชนิดต่างๆ และเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิตัวกลมหลายชนิดในสัตว์

ลักษณะโดยทั่วไปของแมลงวันบ้านตัวผู้มีความยาวประมาณ 5.6-6.5 มิลลิเมตร และตัวเมียจะมีความยาวประมาณ 6.5-7.5 มิลลิเมตร ลำตัวของแมลงวันบ้านไม่มีสีสะท้อนแสง แต่จะมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีเข้ม การแพร่กระจายของแมลงวันบ้านสามารถพบแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในทุกจังหวัดของประเทศไทย ซึ่งพบจำนวนมากในช่วงฤดูร้อน ในคอกสัตว์ที่มีอาหารหล่นบนพื้นคอก และมีกองอุจจาระสัตว์ หรือมีสิ่งปฏิกูลอยู่ในบริเวณใกล้คอก มีหลายพื้นที่ที่จะพบแมลงวันบ้านจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น คอกสุกร คอกไก่ โดยแมลงวันเหล่านี้จะรบกวนสัตว์ตลอดเวลา ทำให้สัตว์พักผ่อนไม่ได้เต็มที่ และกินอาหารลดลงซึ่งอาจจะเป็นผลทำให้ผลผลิตจากสัตว์ลดลงด้วย



รูปที่ 2.20 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันบ้าน ตัวเต็มวัย (Greenberg, 1971)

ชีววิทยาของแมลงวันบ้าน

วงจรชีวิต (Life cycle)

แมลงวันบ้านมีวงจรชีวิต 4 ระยะคือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย

1.ระยะไข่ แมลงวันบ้านจะวางไข่บนมูลสัตว์ และสิ่งปฏิกูลที่มีความชื้นสูง ไข่มีรูปร่างค่อนข้างเรียวยาวคล้ายกล้วยหอม (banana shape) มีขนาดเล็กยาวประมาณ 1.0-1.2 มิลลิเมตร สีขาวขุ่นหรือสีครีม ซึ่งระยะไข่ต้องการความชื้นประมาณ 90% เพื่อฟักตัวกลายเป็นตัวหนอนแมลงวันต่อไป โดยระยะเวลาของการเจริญจากไข่ไปเป็นตัวหนอนขึ้นอยู่กับอาหารและอุณหภูมิ โดยทั่วไปไข่จะฟักภายใน 6-12 ชั่วโมง

2.ระยะตัวหนอน ระยะตัวหนอนมี 3 ระยะ ในส่วนของลำตัวประกอบด้วยปล้องจำนวน 12 ปล้อง มีการลอกคราบ 2 ครั้งโดยระยะที่ 1 มีขนาดความยาวประมาณ 1-3 มิลลิเมตร ระยะที่ 2 ยาวประมาณ 3-5 มิลลิเมตร และระยะที่ 3 ยาวประมาณ 5-13 มิลลิเมตร ตัวหนอนแมลงวันจะมีลักษณะเป็นทรงกลมยาวรีคล้ายเม็ดข้าวสาร ส่วนหัวค่อนข้างแบน แต่ส่วนท้ายจะกลม ไม่มีลักษณะของรยางค์ ตัวหนอนแมลงวันระยะที่ 1 จนถึงระยะที่ 3 จะมีลำตัวค่อนข้างใส ก่อนที่จะเข้าระยะดักแด้ จะมีสีขาวหรือสีเหลืองเล็กน้อย ตัวหนอนแมลงวันระยะ

สุดท้ายของระยะที่ 3 อาจเรียกว่า prepupae ซึ่งตัวหนอนจะมีปากที่มีอวัยวะคล้ายตะขอเรียกว่า mouth hook ทำหน้าที่ในการกินอาหารและการเคลื่อนย้ายตัว ตัวหนอนระยะที่ 1,2 และ 3 ในตอนต้นเป็นระยะตัวหนอนที่กินอาหารที่อยู่ในธรรมชาติ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และเศษสิ่งปฏิกูลที่มีโปรตีนและวิตามิน ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ที่ประมาณ 35 องศาเซลเซียส และต้องการความชื้นสูงมาก โดยตัวหนอนแมลงวันระยะที่ 1 ต้องการความชื้นสูงกว่า 97 % ตัวหนอนแมลงวันเหล่านี้จะไม่ชอบแสงและจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน ส่วนตัวหนอนแมลงวันในระยะที่ 3 ช่วงท้ายสุดจะหยุดกินอาหาร และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นระยะก่อนเข้าดักแด้ ตัวหนอนแมลงวันระยะนี้ไม่ชอบกลิ่นเหม็น และต้องการความแห้ง จึงจะมีการเคลื่อนตัวขึ้นสู่พื้นผิวอาหารที่มีความแห้ง และเข้าสู่ระยะดักแด้ต่อไป

3.ระยะดักแด้ เมื่อตัวหนอนระยะที่ 3 เจริญเต็มที่แล้ว จะกลายเป็นดักแด้ โดยดักแด้ที่เจริญเต็มที่แล้วจะมีความยาวประมาณ 6-8 มิลลิเมตร ซึ่งดักแด้จะมีลักษณะคล้ายกับถังเบียร์ (barrei-shape) ในระยะแรกของดักแด้จะมีสีเหลืองครีม แต่เมื่อเริ่มแห้งจะกลายเป็นสีแดง และในที่สุดจะมีสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งในช่วงระยะดักแด้จะใช้เวลานานประมาณ 14-24 วัน ก่อนที่จะกลายเป็นตัวเต็มวัย

4.ระยะตัวเต็มวัย ในระยะตัวเต็มวัยของแมลงวันบ้าน จะออกจากดักแด้โดยการดันส่วนปลายด้านหน้าของดักแด้ออกมาด้วยอวัยวะที่เรียกว่า ptilinal sac ซึ่งอวัยวะดังกล่าวจะมีการขยายออก โดยความดันของถุงดักแด้นี้จะทำให้เกิดรอยแยกตามแนวอกรอบๆดักแด้ที่ระดับของปล้องที่ 5 ของผิวดักแด้เดิม ถ้าแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยไหล่ออกมาจากถุงดักแด้ในระดับที่ลึกๆ แมลงจะไผ่ผ่านขึ้นมาที่พื้นผิวโดยการพองตัวและหดตัวของ ptilinal sac

พฤติกรรมการกินอาหาร (Feeding behavior)

แมลงวันบ้านสามารถกินอาหารของคนได้ทุกชนิด ตลอดจนมูลของคนและสัตว์ ซึ่งจะสามารถมีชีวิตอยู่ได้เมื่อได้รับน้ำ และน้ำตาล หรือ คาร์โบไฮเดรต โดยตัวเมียจะต้องการอาหารประเภทโปรตีน เพื่อใช้ในการพัฒนาของไข่ การเข้าหาแหล่งอาหารจะเข้าหาอาหารโดยการบินสู่ม และสิ่งที่ช่วยกระตุ้นคือการมองเห็น และการได้รับกลิ่นของอาหาร การรับรู้อาหารจะใช้ส่วนปากและส่วนขา โดยจะดูดกินอาหารที่เป็นของเหลว แต่ถ้าเป็นอาหารแข็ง แมลงวันตัวเต็มวัยจะปล่อยน้ำลายออกมาช่วยทำให้อาหารอ่อนตัวก่อนที่จะดูดกิน

แหล่งเพาะพันธุ์ (Breeding site)

แหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวันบ้านมีหลายประเภท ซึ่งจะสามารถแบ่งออกได้เป็นดังนี้

1. มูลสัตว์ ซึ่งแมลงวันบ้านจะมีการวางไข่ในมูลสัตว์ต่างชนิดกันในแต่ละภูมิภาค โดยมูลวัวเป็นแหล่งวางไข่ที่สำคัญในหลายภูมิภาคของโลก นอกจากนี้ยังมีมูลสัตว์อื่นๆที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ ได้แก่ ลา แพะ แกะ กระต่าย กระบือ อูฐ ส่วนในประเทศไทยมีแหล่งเพาะพันธุ์ที่ดีของแมลงวันบ้านคือ มูลสุกร และมูลไก่ เป็นต้น
2. เศษอาหารและสิ่งปฏิกูลจากกรรมวิธีการผลิตอาหาร ยกตัวอย่างเช่น เปลือกผลไม้บางชนิด หรือเศษของอาหารที่ทิ้งหลังจากการแปรรูป นอกจากนี้ดินที่เปียกด้วยเศษอาหารก็สามารถเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ได้เช่นเดียวกัน
3. อินทรีย์วัตถุอื่นๆ ยกตัวอย่างเช่น ปลาป่น กระดูกป่น กากจากสารสกัดน้ำมันพืชบางชนิด เป็นต้น
4. ท่อระบายน้ำโสโครกจากบ่อบำบัดน้ำเสีย ในตัวเมืองหรือ ตามโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ



รูปที่ 2.21 แสดงลักษณะพื้นที่ ที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวันบ้าน (house flies)

นิเวศวิทยาของตัวเต็มวัย (Ecology of adult flies)

แหล่งเกาะพัก (Resting places) การเกาะพักในตอนกลางวัน

ถ้ามีแหล่งอาหารที่ไม่สมบูรณ์ แมลงวันจะเกาะพักบนพื้น ผนัง เพดานห้อง ในส่วนนอกบ้านจะเป็นรั้ว บันได ขยะ กระป๋อง ราวตากผ้า กอหญ้า และวัชพืช แต่โดยทั่วไปการเกาะพักของแมลงวันจะ

อยู่ใกล้กับแหล่งอาหาร เช่น บริเวณแหล่งกำจัดขยะมูลฝอยที่ไม่ถูกสุขลักษณะ เป็นต้น ส่วนการเกาะพักในตอนกลางคืนนั้น แหล่งเกาะพักที่มักพบแมลงวันบ้านคือ เพดาน แต่ถ้าในอุณหภูมิสูง แมลงวันจะเกาะบริเวณรั้ว ราวตากผ้า สายไฟฟ้า เชือก กอหญ้า และวัชพืช ซึ่งแหล่งเกาะพักในตอนกลางคืนอาจเป็นบริเวณเดียวกับตอนกลางวันได้

ความชุกชุม (Fluctuation) ความชุกชุมของแมลงวันจะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของแหล่งเพาะพันธุ์ที่แมลงวันอาศัยอยู่ และความสามารถในการขยายพันธุ์ของตัวแมลงวันเอง นอกจากนี้ อุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญเช่นกัน อุณหภูมิที่มีความหนาแน่นของแมลงวันบ้านสูงสุดจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 20-25 °C และจะไม่สามารถพบแมลงวันบ้านที่อุณหภูมิสูงกว่า 45 °C และต่ำกว่า 10 °C

พฤติกรรมและการแพร่กระจายของแมลงวันบ้าน

(Behavior and distribution) โดยทั่วไปแมลงวันบ้านจะอยู่ใกล้แหล่งอาหาร และแหล่งเพาะพันธุ์ ซึ่งแมลงวันบ้านจะมีการเคลื่อนไหวตัวตลอดเวลา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความชื้น กระแสลม แสง และสีของสิ่งแวดล้อม แมลงวันบ้านจะมีการเกาะพักที่อุณหภูมิ 35-40 °C ส่วนพฤติกรรมการวางไข่ การผสมพันธุ์ การกินอาหาร และการบิน โดยจะมีการหยุดกิจกรรมที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 °C ซึ่งการเคลื่อนไหวของแมลงวันบ้านนั้น จะมีการเคลื่อนไหวในบริเวณที่มีความชื้นต่ำ ในบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 20 °C แมลงวันบ้านจะเกาะพักบริเวณนอกบ้าน หรือที่มีร่มเงาใกล้บริเวณที่โล่งแจ้ง เป็นต้น

2.8.2 แมลงวันหัวเขียว (Blow flies)

แมลงวันหัวเขียวจัดอยู่ใน family Calliphoridae แมลงวันใน family นี้ มีหลายชนิดมาก ซึ่งตัวอ่อนของแมลงวันกลุ่มนี้มีพฤติกรรมชอบกินซากของสัตว์ที่ตายแล้ว นอกจากนี้ยังสามารถพบแมลงวันกลุ่มนี้เป็นปรสิตของสัตว์ขาปล้องหลายชนิดด้วยกัน โดยลักษณะของแมลงวันใน family นี้ จะมีลำตัวที่ใหญ่ทะอะทะ และสามารถพบขนแข็ง (bristle) ตามลำตัวเป็นจำนวนมาก ใน family นี้ จะประกอบด้วยหลาย subfamily แต่กลุ่มที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ ได้แก่ subfamily Calliphorinae และ subfamily Chrysomyinae ดังนี้

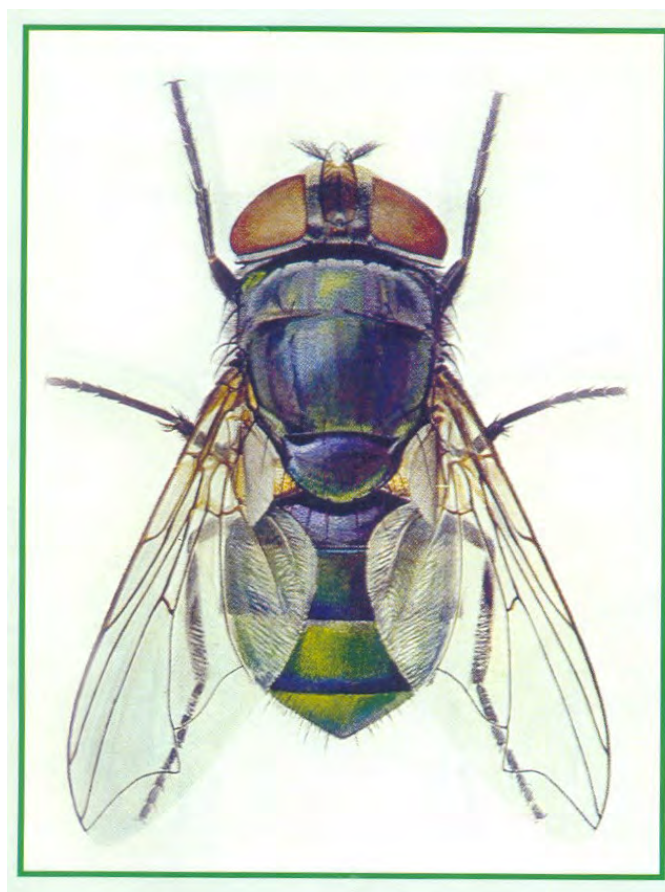
1. Subfamily Chrysomyinae มีลักษณะที่สำคัญดังนี้ คือ ขนแข็ง (bristle) บนอกปล้องกลาง (mesonotum) จะมีการเจริญไม่ดัดนัก ส่วนของเส้นปีก stem vein จะไม่มีขนขึ้นเป็นแถว โดยตระกูลที่พบมากได้แก่ *Chrysomya sp.* เป็นแมลงวันที่มีสีเขียวจนถึงสีน้ำเงิน
2. Subfamilies Calliphorinae มีลักษณะสำคัญดังนี้ คือ ขนแข็ง (bristle) บนอกปล้องกลาง (mesonotum) จะมีการเจริญที่สมบูรณ์ ส่วนของเส้นปีก stem vein จะไม่มีขนขึ้นเป็นแถว โดยตระกูลที่พบมากได้แก่ *Luicilia sp.*, *Phaenicia sp.* และ *Calliphora sp.* โดยแมลงวัน *Luicilia sp.* และ *Phaenicia sp.* ส่วนอกและส่วนท้องจะมีสีเขียวเป็นเงา เขียว

ทองแดง หรือทองแดง แต่ขณะที่แมลงวัน *Calliphora sp.* ส่วนอกจะมีสีดำ ส่วนท้องมีสีน้ำเงินปนดำ หรือสีน้ำเงินมันวาวสะท้อนแสง

แมลงวันหัวเขียวที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยมีหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น *Chrysomya megacephala* *Chrysomya rufifacies* *Phaenicia sericata* และ *Phaenicia cuprina*

2.8.2.1 แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

แมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จัดอยู่ใน subfamily Chrysomyinae พบว่ามีการแพร่กระจายทั่วไปในแถบภูมิภาคตะวันออก และออสเตรเลีย อย่างกว้างขวาง แต่ไม่มีรายงานการพบในเขตแอฟริกา ซึ่งแมลงวันชนิดนี้เป็นแมลงวันที่พบมากที่สุดในประเทศไทย แมลงวันชนิดนี้จะมีขนาดใหญ่ โดยส่วนของลำตัวมีขนาดใหญ่ประมาณ 8-12 มิลลิเมตร ลำตัวมันวาวมีสีน้ำเงินเขียว



รูปที่ 2.22 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ตัวเต็มวัย ซึ่งจะสังเกตเห็นลำตัวที่มันวาว และมีสีน้ำเงินเขียว (Greenberg, 1971)

วงชีวิต (Life cycle) เริ่มจากไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะทำการฟักเป็นตัวหนอนแมลงวันภายในระยะเวลา 9-10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 24-28 °C และสามารถวางไข่ได้ประมาณ 200-250 ฟอง โดยตัวหนอนแมลงวันจะเจริญได้ดีในอาหารเหลว ตัวหนอนแมลงวัน

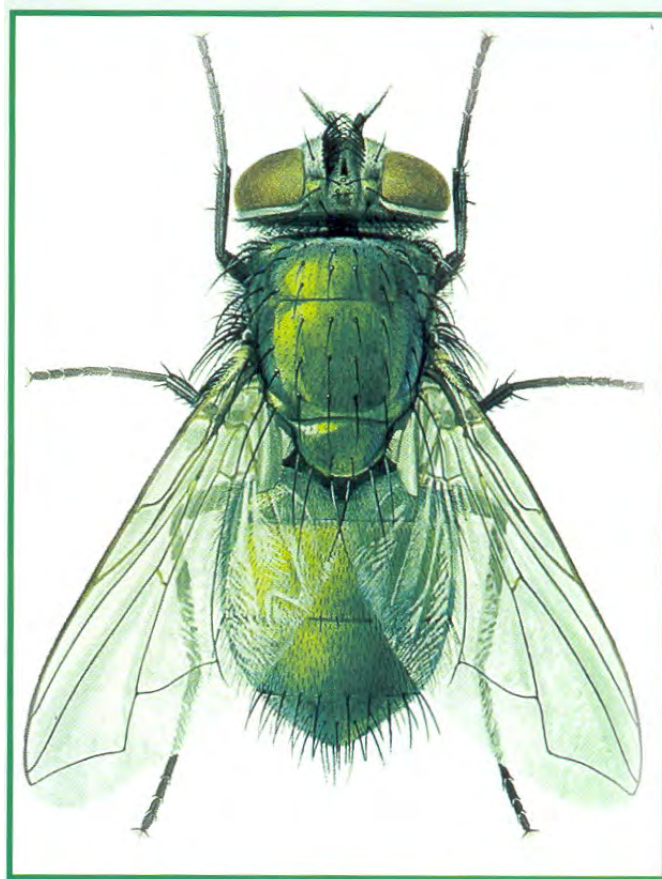
จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มบริเวณส่วนบนของอาหาร เนื่องจากต้องการอากาศสำหรับหายใจ โดยตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จะพบมากในมูลของสัตว์กินเนื้อ ส่วนมูลของสัตว์ที่กินพืชชนิดนั้น จะพบได้น้อยมาก และเมื่อตัวหนอนเจริญเต็มที่แล้ว จะเคลื่อนที่เข้าหาที่แห้งเพื่อการเข้าสู่ระยะดักแด้ และเข้าสู่ระยะแมลงวันตัวเต็มวัยในช่วงต่อไป

พฤติกรรมกรรมการกินอาหาร (Feeding behavior) แมลงวันหัวเขียวจะพบมากบริเวณแหล่งอาหารที่มีโปรตีนสูง เช่น โรงฆ่าสัตว์ แหล่งขायปลา ขายเนื้อสัตว์ โดยแมลงวันหัวเขียวจะดูดกินอาหารบนเนื้อสัตว์และปลา และนอกจากนี้ยังสามารถพบแมลงวันหัวเขียวได้บริเวณกองขยะบริเวณตลาด แหล่งกำจัดขยะมูลฝอยที่มีความชื้นสูง บริเวณเศษอาหาร และผลไม้ที่เริ่มสุกหวาน เป็นต้น

พฤติกรรมและการแพร่กระจายของแมลงวันหัวเขียว (Behavior and distribution) โดยแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จะสามารถพบแพร่กระจายทั่วไปตามแหล่งอาหาร และแหล่งเพาะพันธุ์ที่มีความชื้นสูงกว่าแมลงวันบ้าน ส่วนความเย็นยาวของอายุนั้น จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และความชื้นของแหล่งที่อยู่อาศัย ในธรรมชาติแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จะวางไข่ในอุจจาระคน นอกจากนี้ยังชอบวางไข่ในซากสัตว์ที่ตายแล้ว

2.8.2.2 แมลงวันหัวเขียว *Phaenicia sericata*

แมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จัดอยู่ใน subfamilies Calliphorinae มีลักษณะที่สำคัญคือ ขนแข็ง (bristle) บนอกปล้องกลางมีการเจริญที่สมบูรณ์ และส่วนของปีก stem vein จะไม่มีขนขึ้นเป็นแถว เนื่องจากแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้เป็นแมลงวันที่มีลำตัวมันวาวสีเขียวสด จึงมีชื่อภาษาอังกฤษว่า green bottles โดยส่วนของลำตัวจะมีขนาดประมาณ 5-10 มิลลิเมตร



รูปที่ 2.23 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว *Phaenicia sericata* ตัวเต็มวัย ซึ่งจะสังเกตเห็นลำตัวที่มีขนยาว และมีสีเขียวสด (Greenberg, 1971)

พฤติกรรมการกินอาหาร (Feeding behavior) แมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ จะมีการดูดกินอาหารเหลวจากแหล่งเพาะพันธุ์ โดยดูดกินส่วนที่หวานของของเหลว ซึ่งจะเป็นของเหลวที่เกิดจากการหมัก ยกตัวอย่างเช่น น้ำหวานจากเกสรดอกไม้ โดยตัวเต็มวัยที่เป็นเพศเมีย จะมีความต้องการโปรตีนเพื่อใช้ในการพัฒนาของไข่ต่อไป

แหล่งเกาะพัก (Resting places) การเกาะพักของแมลงวันชนิดนี้ในช่วงเวลากลางวันจะมีการเกาะพักในนอกบ้านตามบริเวณต้นพืช ส่วนการเกาะพักในช่วงเวลากลางคืนจะมีการเกาะพักในบริเวณที่ใกล้เคียงกับแหล่งที่หากินในเวลากลางวัน

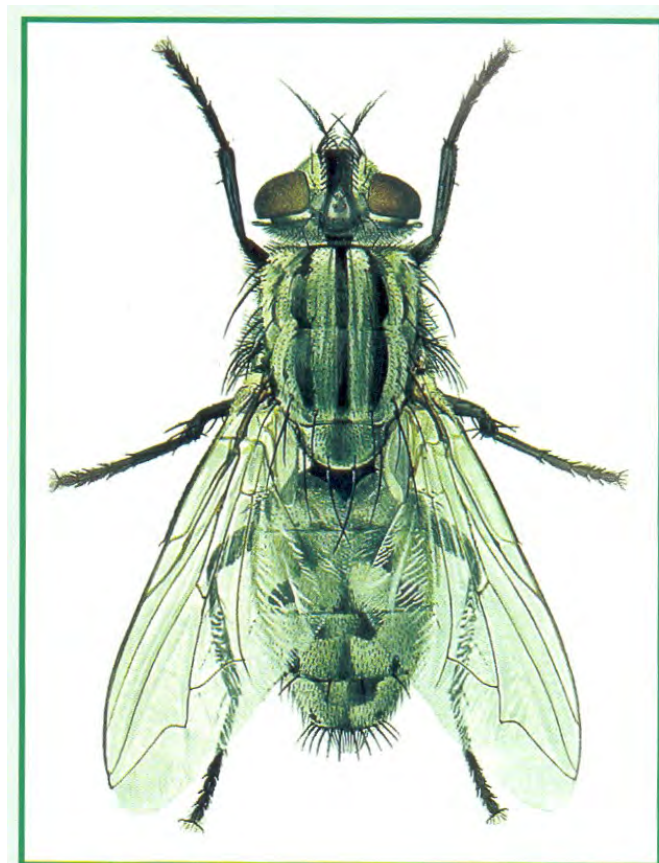
พฤติกรรมและการแพร่กระจายของแมลงวันหัวเขียว (Behavior and distribution) พฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ คือ มีการผสมพันธุ์หลังจากออกจากดักแด้แล้วประมาณ 3-8 วัน จากนั้นเมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ประมาณ 8-14 วัน ก็จะเริ่มการวางไข่โดยเลือกพื้นที่ผิวที่มีความชื้นสูง ชอบวางไข่บนซากสัตว์หรือเนื้อสัตว์ที่เน่าเหม็น โดยการวางไข่ในแต่ละครั้งจะทำการวางไข่ประมาณ 80-170 ฟอง

2.8.3 แมลงวันหลังลาย (Flesh flies)

แมลงวันหลังลายเป็นแมลงวันที่จัดอยู่ใน family Sarcophagidae โดยจะมีขนาดตั้งแต่ขนาดกลางไปจนถึงใหญ่ โดยทั่วไปจะมีขนาดใหญ่กว่าแมลงวันบ้าน และแมลงวันหัวเขียว โดยส่วนของลำตัวจะมีสีเทา ส่วนสาเหตุที่เรียกว่าแมลงวันหลังลายนั้น เนื่องจากปล้องส่วนท้องด้านบนของแมลงวันหลังลายจะมีลักษณะเป็นลายคล้ายตราหมากรุก ซึ่งแมลงวันหลังลายบางครั้งจะมีการออกลูกเป็นตัวอ่อนในทันที โดยอาจจะวางตัวอ่อนในบาดแผลของสัตว์ หรือซากที่เน่าเปื่อยของสัตว์ โดยตัวอ่อนของแมลงวันพวกนี้เจริญได้ดีในบาดแผล ซึ่งแมลงวันหลังลายบางชนิดวางตัวอ่อนบนเนื้อสัตว์ที่กำลังเน่า หรือวางตัวอ่อนในสิ่งเน่าเปื่อยผุพังอื่นๆ ตัวอ่อนของแมลงวันหลังลายหลายชนิดนั้น จะสามารถเป็นสาเหตุของโรค myiasis ของคนและสัตว์เลี้ยงได้ นอกจากนี้ยังเป็นปรสิตภายนอกของร่างกายของสัตว์มีกระดูกสันหลังหลายชนิดด้วยเช่นกัน

แมลงวันหลังลาย *Parasarcophaga ruficornis*

เป็นแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ที่สามารถพบกระจายได้ทั่วไปในประเทศไทย แต่มีความหนาแน่นต่ำกว่าแมลงวันบ้าน และแมลงวันหัวเขียว



รูปที่ 2.24 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ แมลงวันหลังลาย *Parasarcophaga* sp. ตัวเต็มวัย ซึ่งจะสังเกตเห็นลักษณะเป็นลายคล้ายตราหมากรุกบนท้องด้านบน (Greenberg, 1971)

วงจรชีวิต (Life cycle) แมลงวันหลังลายชนิดนี้วางไข่ในแต่ละครั้งจะมีจำนวนประมาณ 3-36 ฟอง และบางครั้งออกลูกเป็นตัว (larviparous) มีจำนวนประมาณ 3-11 ตัวต่อครั้ง โดยอุณหภูมิจะมีผลต่อน้ำหนักตัวของแมลงวัน ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป จะทำให้แมลงวันมีขนาดเล็กลง เนื่องจากจะส่งผลให้น้ำหนักของดักแด้ และตัวเต็มวัยน้อยลง และที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป จะทำให้แมลงวันหลังลายชนิดนี้มีโอกาสรอดชีวิตที่น้อยลง ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อแมลงวันชนิดนี้มากที่สุด คือ 22-28 °C

พฤติกรรมการกินอาหาร (Feeding behavior) แมลงวันหลังลายแต่ละชนิดจะกินอาหารที่แตกต่างกันไป บางชนิดชอบกินอาหารตามมูลสัตว์ และซากสัตว์เน่าเปื่อยหรือ บริเวณที่มีอาหารเน่าเปื่อย ส่วนบางชนิดจะชอบกินเนื้อสัตว์ บางชนิดชอบอาหารที่มีรสหวาน และบางชนิดชอบอาหารทะเล หรือ ผลไม้ตากแห้ง สำหรับแมลงวันหลังลาย *P.ruficornis* พบว่ามีพฤติกรรมที่ชอบกินอาหารที่เป็นมูลคนและสัตว์ ซากสัตว์ รวมทั้งอาหารตากแห้ง และชอบดูดกินน้ำหวานจากเกสรดอกไม้

2.9 การเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันบนศพจากสถานที่เกิดเหตุ

ในการเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากสถานที่เกิดเหตุ นั้น จำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานทางด้านหลักการเก็บสิ่งตัวอย่างจากศพที่เสียชีวิต ซึ่งต้องมีวิธีการเก็บหนอนแมลงวันในระยะต่างๆ จากศพ พร้อมทั้งวิธีการบันทึกข้อมูลดังนี้ (Gennard, 2007)

2.9.1 วิธีการเก็บแมลงวันจากศพ

หนอนแมลงวันที่อยู่บนตัวศพ ส่วนใหญ่จะพบได้ตาม บาดแผล และอวัยวะส่วนบนของร่างกาย ได้แก่ ดวงตา หู จมูก และปาก เริ่มต้นจะต้องทำการสำรวจหนอนแมลงวันทั้งหมดก่อน เพื่อหาหนอนแมลงวันที่มีระยะการเจริญเติบโตที่มากที่สุด โดยการเก็บหนอนแมลงวันจะใช้ไม้พันสำลีที่สะอาด ซึ่งต้องทำการเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันด้วยความระมัดระวังที่สุด ทั้งนี้เพื่อลดการกระทบกระเทือนต่อหนอนแมลงวัน และศพ ให้มากที่สุด และทำการเก็บใส่จาน หรือ ภาชนะปากกว้าง จำนวนหนอนแมลงวันต่อภาชนะประมาณ 20-30 ตัวต่อภาชนะ เพื่อป้องกันหนอนแมลงวันเสียชีวิตเพราะความหนาแน่นของหนอนแมลงวันในภาชนะมากเกินไป และลักษณะการเก็บหนอนแมลงวันนั้น หากพบหนอนแมลงวันบนศพที่อวัยวะต่างกัน ควรจะทำการเก็บแยกภาชนะกันด้วย โดยจะต้องมีการบันทึกข้อมูลอย่างละเอียด เมื่อทำการเก็บตัวอย่างของหนอนแมลงวันบนศพเสร็จเรียบร้อยแล้วจึงนำหนอนแมลงวันเข้าสู่กระบวนการเตรียมตัวอย่างแมลงวันเพื่อวิเคราะห์ในห้องทดลองในขั้นตอนต่อไป

2.9.2 วิธีการบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูลของหนอนแมลงวันที่พบบนศพนั้น ในที่นี้จะอ้างอิงตามวิธีการของ Gennard (Gennard, 2007) โดยเริ่มแรกจะต้องทำการบันทึกวันที่ เวลาที่พบศพ และชื่อของ

ศพ โดยชื่อของศพนั้นจะต้องทำการเขียนเป็นรหัสที่ออกแบบโดยผู้ทำการชันสูตรเอง หากมีข้อมูลอื่น ๆ เช่น วันและเวลาที่ พบเห็นผู้เสียชีวิต ครั้งสุดท้าย ก็ให้เพิ่มข้อมูลดังกล่าวไปด้วย ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความแม่นยำของการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต จากนั้นก็ทำการบันทึกชื่อของผู้เก็บตัวอย่าง หนองแมลงวัน และแพทย์ผู้ชันสูตรศพ พร้อมด้วยลงวันที่ทำการเก็บตัวอย่างหรือชันสูตรศพด้วย เพราะในบางครั้งวันเวลาในการเก็บสิ่งตัวอย่าง กับวันเวลาที่พบศพในการบันทึกข้างต้นอาจจะเป็นคนละวันกัน และข้อมูลที่สำคัญที่สุดก็คือการบันทึกข้อมูลสถานที่เกิดเหตุ ยกตัวอย่างเช่น ศพที่พบอยู่ในพื้นที่ชนบท หรือพื้นที่ในเมือง ถ้าพบในบ้านประตูและหน้าต่างของบ้านมีการปิด หรือ เปิดอยู่ หรือ ถ้าพบนอกบ้านสถานที่นั้นเป็นสถานที่กลางแจ้ง หรือ สถานที่ในร่ม หรือในกรณีที่ศพถูกฝังอำพราง หรือ ทิ้งไว้บนพื้นดิน ศพที่พบมีบาดแผลหรือไม่ ถ้าหากมีบาดแผลเป็นบาดแผลที่อวัยวะส่วนใดของร่างกาย ลักษณะการสวมเสื้อผ้าเพื่อระบุตัวตนของผู้เสียชีวิต และเป็นข้อมูลประกอบการคาดคะเนการวางไข่ของแมลงวัน ในขั้นตอนสุดท้ายให้ทำการบันทึกข้อมูลของศพที่พบเห็นโดยรวม โดยหากสามารถบันทึกเป็นรูปภาพ หรือ ภาพวาด จะช่วยบ่งบอกลักษณะที่พบศพได้มากยิ่งขึ้น

2.10 การเตรียมตัวอย่างแมลงวันเพื่อวิเคราะห์ในห้องทดลอง

สำหรับการวิเคราะห์แมลงวันในห้องทดลองนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะการบันทึกความยาวของตัวหนอนแมลงวันที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่พบบนศพ ซึ่งการวัดขนาดความยาวนี้สามารถนำมาใช้ในการประเมินอายุของหนอนแมลงวันที่แก่ที่สุดที่พบบนศพ และนำไปประกอบกับการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพ ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการวัดขนาดของหนอนแมลงวันคือ การเตรียมตัวอย่างแมลงวันเพื่อวิเคราะห์ และการเก็บรักษาหนอนแมลงวัน เป็นต้น และเป็นที่เข้าใจกันดีว่า การวัดขนาดความยาวของหนอนแมลงวันนั้น จะทำโดยการใช้วิธีการนำตัวหนอนแมลงวันไปแช่ในน้ำร้อน หรือที่เรียกวิธีการนี้ว่า hot water killed (HWK) โดยจะทำให้ตัวหนอนแมลงวันเกิดการยืดตัวถึงที่สุด ซึ่งจะช่วยให้การวัดขนาดของหนอนแมลงวันมีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น และสามารถนำไปวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการวิจัยของ Adams และ Hall (Adams and Hall, 2002) ได้ทำการวิจัยถึงวิธีที่จะวิเคราะห์และเก็บรักษาตัวอย่างหนอนแมลงวัน ใน 2 สายพันธุ์ คือ *Calliphora vomitoria* และ *Lucilia sericata* ซึ่งเป็นตัวหนอนแมลงวันระยะที่ 3 ทำการศึกษาโดยจะนำตัวหนอนแมลงวัน ทั้ง 2 สายพันธุ์ข้างต้น มาแช่ในอ่างน้ำร้อน ซึ่งมีน้ำเดือด หลังจากนั้นนำมาแช่ไว้ในสารละลายที่ต่างกัน ยกตัวอย่างเช่น สารละลาย 80% ethanol และสารละลาย 10% formaldehyde หรือทำการแช่หนอนแมลงวันที่มีชีวิตไว้ในสารที่เป็นสารเก็บรักษาตัวอย่างโดยทันที โดยเฉพาะในการเก็บรักษาหนอนแมลงวันทั้ง 2 สายพันธุ์นั้น ตัวเล็กของสารกันเก็บรักษาตัวอย่าง และกระบวนการของการฆ่าหนอนแมลงวันมีความสำคัญเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เพื่อผลของความยาวของหนอนแมลงวันที่ได้หลังจากการตรวจวิเคราะห์นั้น สิ่งเหล่านี้มีนัยสำคัญร่วมกันในการตรวจวิเคราะห์ ในแง่ของ

การตอบสนองที่เหมือนกัน ต่อกระบวนการฆ่าหนอนแมลงวัน และการเก็บรักษาหนอนแมลงวัน ในการทดลองของ Adams และ Hall ที่เพิ่มขึ้นมาคือ การนำหนอนแมลงวันมาแช่ในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 80 °C และ 100 °C ที่เวลาที่ต่างกันของแต่ละตัวอย่าง ได้แก่ 1, 30, 60 และ 90 วินาที และได้พบว่าอุณหภูมิทั้งคู่ และระยะเวลาดังกล่าว มีความสำคัญต่อผลของความยาวของหนอนแมลงวันที่ได้ในการชันสูตร ซึ่งผลของความยาวที่ได้ค่ามากที่สุดนั้น จะได้ในการแช่อย่างน้อยที่สุดเป็นเวลา 60 วินาที การเนาเปื่อยของตัวหนอนแมลงวันหลังจากการวิเคราะห์ จะสามารถยับยั้งได้จากการนำไปวางในสารที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างหนอนแมลงวัน โดยจะเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาได้จากการ เพิ่มระยะเวลาของการแช่ หรือการแช่สารในน้ำที่เพิ่มอุณหภูมิ



รูปที่ 2.25 แสดงลักษณะของการวัดขนาดความยาวของหนอนแมลงวัน ที่ทำการวัดค่าความยาว หลังจากการแช่ในน้ำร้อนโดยทันที โดยแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 30 วินาที ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าหนอนแมลงวันมีการยึดตัวดังแสดงในรูป

สำหรับหนอนแมลงวันที่แช่ในน้ำร้อน ควรจะทำการวัดค่าความยาวของหนอนแมลงวัน หลังจากการแช่ในน้ำร้อนโดยทันที และจึงนำมาแช่ในสารเก็บรักษาตัวอย่างหนอนแมลงวันต่อไป จากการทดลองของ Adams และ Hall นั้น ได้แสดงว่าสารที่เก็บรักษาหนอนแมลงวัน คือ สารละลาย 80% ethanol สามารถใช้เป็นสารเก็บรักษาหนอนแมลงวันได้ดี แต่จะทำให้ตัวอย่างหนอนแมลงวันมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นหลังจากแช่ในสารสำหรับเก็บรักษาตัวอย่างหนอนแมลงวันนี้ โดย Adams และ Hall ได้ทำการทดลองแช่ตัวอย่างหนอนแมลงวันในน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 100 °C

เป็นเวลา 30 วินาที และได้ทำการวัดขนาดความยาวโดยทันที หลังจากแช่ในน้ำร้อนแล้ว จากนั้นก็นำไปแช่ใน สารละลาย 80% ethanol เป็นระยะเวลาที่ต่างกัน ได้แก่ 3, 6, 9, 12, 24, 27, 30 และ 33 ชั่วโมง และทำการวัดขนาดอีกทีหลังจากแช่เป็นเวลานานตามระยะเวลาดังกล่าว พบผลว่า ที่หนอนแมลงวันมีการขยายขนาดยาวที่สุดที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และจะมีอัตราการเพิ่มขนาดที่สูงที่สุดใน 3 ชั่วโมงแรกหลังจากแช่ในสารดังกล่าว นอกจากนี้ หลังจากเก็บรักษาตัวอย่างมาเป็นเวลานาน 290 วัน พบว่าสามารถพบกลุ่มหนอนแมลงวันที่มีความยาวที่มากกว่าความยาวหลังจากการวัดโดยทันทีหลังจากแช่ในน้ำร้อน โดยมีความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 0.7% ในทางกลับกัน หลังจากการเก็บรักษาตัวอย่างเป่าเวลานาน 28 วัน ได้พบกลุ่มของหนอนแมลงวันที่มีการหดตัว กล่าวคือมีความยาวน้อยกว่าความยาวหลังจากการวัดโดยทันทีหลังจากแช่ในน้ำร้อน ซึ่งมีความยาวเฉลี่ยลดลง 0.6% จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่า ในการวัดขนาดความยาวของหนอนแมลงวัน ควรจะทำการวัดค่าความยาวของหนอนแมลงวันหลังจากการแช่ในน้ำร้อนโดยทันที เพราะถ้าหากวัดความยาวหลังจากการแช่ลงในสารที่เก็บรักษาหนอนแมลงวันแล้ว ความยาวที่ได้จะมีค่าที่ไม่แน่นอน ส่งผลให้การแปลผลการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต อาจจะได้ค่าที่คลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริง

2.11 การประยุกต์ใช้ความรู้ทางด้านอณูวิทยาในการระบุสายพันธุ์ของแมลงวัน

2.11.1 สารพันธุกรรม หรือ DNA (Deoxy Ribonucleic Acid)

สารพันธุกรรม หรือ DNA (Deoxy Ribonucleic Acid) เป็นกรด nucleic ที่ทำหน้าที่เก็บข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต DNA ส่วนใหญ่อยู่ในรูป chromosome วางตัวอยู่ในส่วนนิวเคลียสภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ผู้ค้นพบ DNA คือ Miescher ในปี ค.ศ. 1869 (Harbers, 1969.) โดยสามารถทำการแยกสารประกอบชนิดหนึ่งออกมาจากนิวเคลียสของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ซึ่งสารประกอบชนิดนี้ คือกรด nucleic เป็นชนิด deoxyribonucleic หรือ DNA แต่อย่างไรก็ตาม Miescher ยังไม่สามารถทราบได้ว่ามีโครงสร้างอย่างไร จนในปี ค.ศ. 1953 Watson และ Crick (Watson and Crick, 1953) เป็นผู้อธิบายโครงสร้างของ DNA โดยประกาศการค้นพบโครงสร้าง DNA ว่า DNA มีลักษณะเป็นสายคู่ที่บิดพับเป็นเกลียวคล้ายบันไดเวียนแบบที่เรียกว่า double helix ซึ่งนับเป็นจุดเริ่มต้นของยุคเทคโนโลยีทาง DNA

DNA มีหน้าที่สำคัญ 2 ประการ คือ

1. การจำลองตัวเอง (DNA replication) DNA ของสิ่งมีชีวิตมีความสามารถสร้างและจำลองตัวเอง ขณะเกิดกระบวนการแบ่งเซลล์ เพื่อสร้าง DNA ให้แก่เซลล์ใหม่ ทำให้เกิด DNA ของเซลล์ใหม่ที่เหมือนเดิมทุกประการ

2. การถ่ายทอดข้อมูลผ่าน RNA (transcription) DNA สามารถถูกถอดรหัสเพื่อสร้างเป็น RNA (ribonucleic acid) RNA ที่ได้นี้จะทำหน้าที่กำหนดการเรียงตัวของ

กรดอะมิโนในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งโปรตีนที่ได้นั้น จะถูกนำมาเป็นส่วนประกอบสำคัญในโครงสร้างขององค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ และเป็นสารเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีหรือ enzyme ในสิ่งมีชีวิต

ด้วยหน้าที่ทั้ง 2 ประการของ DNA จึงทำให้สิ่งมีชีวิตสามารถสืบทอดลักษณะประจำพันธุ์ และดำรงเผ่าพันธุ์อยู่ได้

DNA ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ซึ่งเป็นสารประกอบ nitrogenous base แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม purine ได้แก่ thymine (T) และ cytosine (C) กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่ม pyrimidine ได้แก่ adenine (A) และ guanine (G) โดยสารประกอบ nitrogenous base นี้จะรวมตัวกับน้ำตาล deoxyribose และกรด phosphoric acid เป็นนิวคลีโอไทด์อยู่ใน DNA นิวคลีโอไทด์จึงมีอยู่ 4 ชนิดตามชนิดของ nitrogenous base คือ adenosine triphosphate (ATP) guanosine triphosphate (GTP) cytosine triphosphate (CTP) และ thymidine triphosphate (TTP) การเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ ทั้ง 4 ชนิด ส่งผลต่อการเกิดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต และสร้างความแตกต่างในลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย DNA ซึ่งมีความจำเพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

โครงสร้างของ DNA ประกอบไปด้วย สายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของนิวคลีโอไทด์หลายๆหน่วย ด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเตอร์ โดยเกิดจากสายโพลีนิวคลีโอไทด์จำนวน 2 สายเรียงตัวขนานกันในทิศทางตรงกันข้าม เข้าคู่และพันกันเป็นเกลียวเวียนขวาลายบันไดเวียน ที่เรียกว่า doublehelix การเข้าคู่หรือการเข้าจับกันของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ทั้ง 2 สาย เกิดจากการเข้าคู่กันระหว่าง purine base และ pyrimidine base ด้วยพันธะไฮโดรเจน โดย A ทำการสร้างพันธะจำนวน 2 พันธะเข้าจับกับ T (A=T) และ G ทำการสร้างพันธะ จำนวน 3 พันธะเข้าจับกับ C (G=C) โดยมีน้ำตาลและหมู่ฟอสเฟตทำหน้าที่เป็นแกนอยู่ด้านนอกของโมเลกุล

สารพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง เช่น ในพืช สัตว์ และมนุษย์ อยู่ในรูปของประกอบด้วยส่วนที่เป็น DNA และโปรตีนประเภท histone ที่เข้าเกาะกันและทำการพันเกลียวเพิ่มขนาดขึ้นจนมีลักษณะที่เป็น chromosome อยู่ภายในนิวเคลียสของเซลล์ chromosome และมีความสามารถในการถ่ายทอดจากรุ่นพ่อแม่ไปยังรุ่นลูกได้ โดยที่ลูกจะได้รับ chromosome ชุดหนึ่งจากพ่อและอีกชุดหนึ่งจากแม่ ลูกจึงมีลักษณะต่างๆ ที่เหมือนกับพ่อและแม่

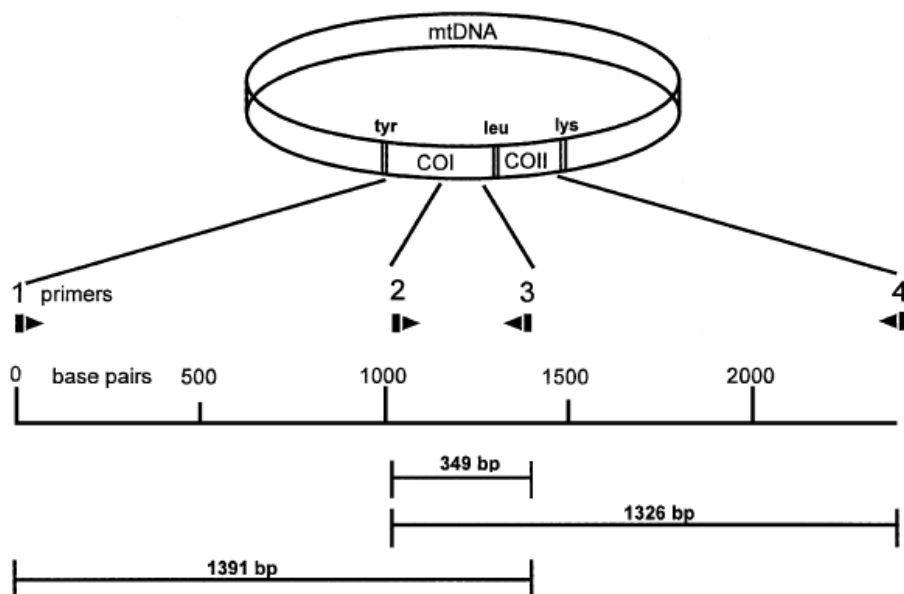
ส่วนในสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ เช่น แบคทีเรีย มีสารพันธุกรรม หรือ DNA ในรูปวงแหวน สายคู่อยู่ภายในเซลล์ ส่วนไวรัสอาจมีสารพันธุกรรมเป็น DNA หรือ RNA สายคู่หรือสายเดี่ยวก็ได้ แล้วแต่ชนิดของไวรัสนั้นๆว่าเป็น DNA ไวรัส หรือ RNA ไวรัส

สารพันธุกรรม หรือ DNA ทั้งหมดที่มีอยู่ภายในเซลล์ ของสิ่งมีชีวิตถูกเรียกว่า genome ข้อมูลใน genome จึงเป็นข้อมูลทางพันธุกรรมทั้งหมดที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งแตกต่างและมีความจำเพาะในแต่ละสิ่งมีชีวิต

นอกจากนี้ DNA ยังมีคุณสมบัติในการเสียสภาพ (denaturation) และการคืนสภาพ (renaturation) ได้ เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างนิวคลีโอไทด์เป็นพันธะอ่อน DNA จึงสามารถแยกออกเป็นเส้นเดี่ยวได้เมื่ออยู่ในสภาพที่มีอุณหภูมิ หรือความเป็นกรดเป็นด่างสูงมากๆ และมีความสามารถในการคืนสู่สภาพเดิมได้เมื่อมีการปรับอุณหภูมิ หรือความเป็นกรดเป็นด่างให้ลดลง การเข้าคู่ของ DNA จะเป็นในรูปแบบเดิมคือ A จับกับ T และ G จับกับ C ด้วยคุณสมบัติของ DNA ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้

2.11.2 ปฏิกริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

เป็นขั้นตอนการเพิ่มจำนวน DNA ที่เราสนใจโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase เพื่อเพิ่มจำนวน DNA ให้มีจำนวนมากพอที่จะนำไปวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์เพื่อจำแนกสายพันธุ์ต่อไป การกำหนด primer นั้น เลือกใช้ primer ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งจะมีความสามารถไปจับที่ยีน COI และ COII ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกันในหลายสายพันธุ์ของหนอนแมลงวัน primer ที่ใช้สามารถให้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาดดังรูปที่ 2.26 โดยในการศึกษานี้จะใช้ primer 2F และ 3R ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 349 คู่เบส ตามการศึกษาของ Klotzbach และคณะ (Klotzbach *et al*, 2003) ซึ่งเป็นคู่ primer ที่มีขนาดสั้นที่สุดที่จะสามารถจำแนกชนิดของ DNA ของหนอนแมลงวันได้ ทำให้สะดวกต่อการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อจำแนกสายพันธุ์ต่อไป



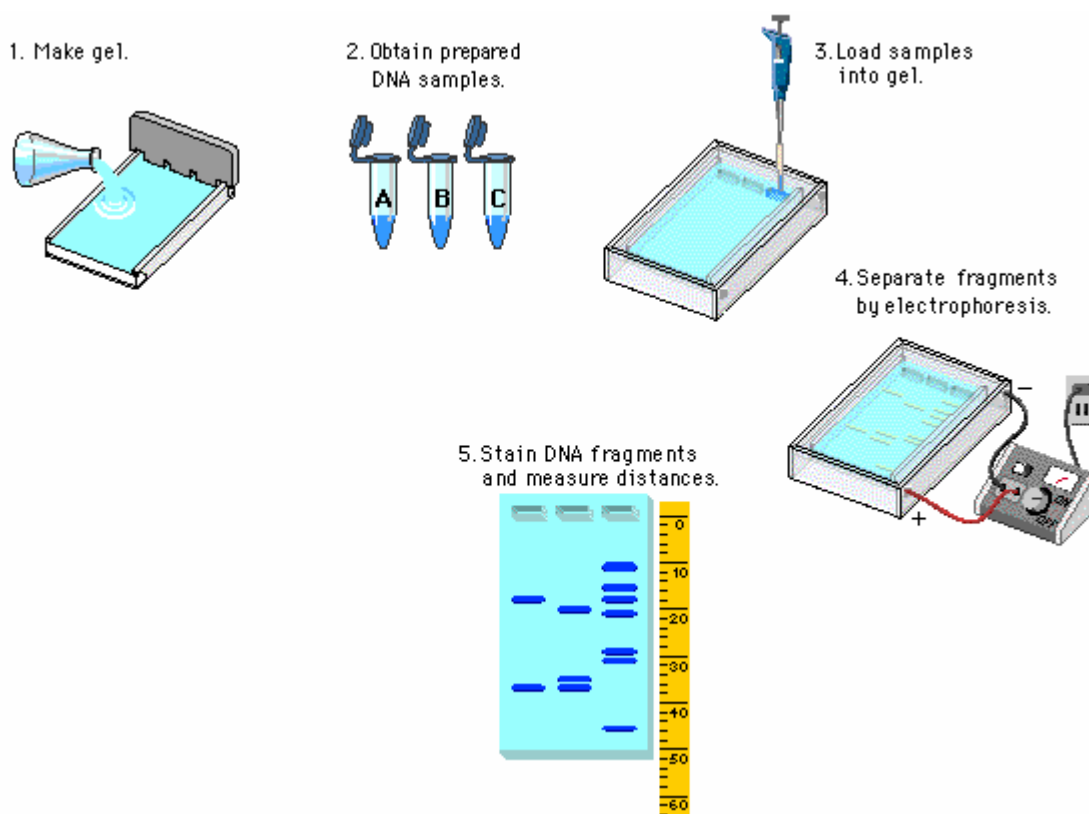
รูปที่ 2.26 แสดงตำแหน่งยีน CO I และ CO II ใน mtDNA ของหนอนแมลงวันที่ทำการศึกษาและทิศทางของ primers ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค PCR (Klotzbach *et al*, 2003)

Primer	Primer sequence (5'-3')
Primer 1F	TACAATTTATCGCCTAAACTTCAGCC
Primer 2F	CAGCTACTTTATGAGCTTTAGG
Primer 3R	CATTTCAAGCTTGTAAGCATC
Primer 4R	GAGACCATTACTTGCTTTTCAGTCATCT

ตารางที่ 2.1 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ primers ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค PCR (Klotzbach *et al*, 2003)

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR

เมื่อปฏิกิริยา PCR เสร็จสิ้นลงแล้ว ขั้นตอนต่อไปก็คือ การทำการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ PCR ซึ่งมีหลายวิธี แต่วิธีที่สะดวกและเป็นที่ยอมรับ คือ การใช้วิธี agarose gel electrophoresis และย้อมด้วยสารเรืองแสง ethidium bromide ซึ่ง ethidium bromide จะแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างคู่สาย DNA ดังนั้นเมื่อนำ agarose gel ที่มี ผลิตภัณฑ์ PCR ไปส่องด้วยแสง UV (ultraviolet) จากเครื่อง ultraviolet transilluminator จะทำให้สามารถมองเห็นแถบ DNA ใน gel ได้ และสามารถบันทึกได้โดยการถ่ายภาพ โดยทั่วไปขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR จะทราบได้โดยการเปรียบเทียบกับ DNA ที่ทราบขนาด (DNA marker) โดยที่ DNA ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน จะเคลื่อนไปใน gel เป็นระยะทางที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงสามารถตรวจสอบว่า ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มีขนาดตามที่ต้องการหรือไม่



รูปที่ 2.27 แสดงถึงวิธี agarose gel electrophoresis ในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR (จาก http://www.phschool.com/science/biology_place/labbench/lab6/images/overview.gif)

เนื่องจากปฏิกิริยา PCR เป็นวิธีที่มีความไวในการตรวจสอบมาก ซึ่งอาจจะเกิดผลบวกปลอมปรากฏขึ้นได้ ทำให้ผลที่ได้เป็นผลที่ทำให้มีการวิเคราะห์ที่ผิดพลาดได้ สาเหตุสำคัญของ การเกิดผลบวกปลอม คือการปนเปื้อนของ DNA จากตัวอย่าง หรือ ปฏิกิริยาที่ทำมาก่อน ยกตัวอย่างเช่น การหา HIV genome ในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย ซึ่งหากมีการปนเปื้อนจากเลือดที่เป็นบวกสู่เลือดที่เป็นลบ แม้ว่าจะเป็น 1 ในล้านส่วน ก็จะทำให้เกิดผลบวกในปฏิกิริยาที่เป็นลบได้ ทำให้การอ่านผลผิดพลาดเกิดเป็นผลบวกปลอมขึ้นได้ ด้วยเหตุที่ปฏิกิริยา PCR นั้นมีความไวมาก ดังนั้นจึงกลายเป็นข้อดีและข้อเสียในตัว ข้อดีคือสามารถตรวจสอบได้แม้มี DNA ในปริมาณน้อยๆ แต่ข้อเสียก็คือ การง่ายต่อการปนเปื้อน ทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ง่ายเช่นกัน หากไม่ระมัดระวัง ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานในการทำปฏิกิริยา PCR ควรใช้ความระมัดระวังและความละเอียดรอบคอบเป็นอย่างมาก ในระหว่างการทำงานจึงควรระวังการปนเปื้อน เพื่อไม่ให้ผลิตภัณฑ์ PCR ติดปนเปื้อนไปในที่ต่างๆ

2.11.3 การวิเคราะห์ถึงลักษณะ DNA ของแมลงวัน เพื่อระบุสายพันธุ์ ของแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ (Gennard, 2007)

การวิเคราะห์ DNA โดยใช้วิธี RAPD (Random amplified polymorphic DNA) เป็นการตรวจสอบความแตกต่าง หรือ ความหลากหลายของชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งถูกทำให้เพิ่มปริมาณโดยปฏิกิริยา PCR แบบสุ่ม สามารถทำให้สาร DNA จำลองตัวเองได้ในหลอดทดลอง (in vitro) โดยมีองค์ประกอบสำคัญคือ Taq DNA polymerase enzyme DNA ต้นแบบ (DNA template) primer และ dNTPs เนื่องจาก primer ที่ใช้เป็นนิวคลีโอไทด์รหัสเริ่มต้นมีขนาดที่สั้น (ประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์) จึงสามารถเข้าคู่กับ DNA ต้นแบบได้หลายตำแหน่งโดยการสุ่ม หากการเข้าคู่นั้นเกิดขึ้นในทิศทางที่เหมาะสมก็จะทำให้เกิดการจำลองตัวของ DNA ซึ่งความแตกต่างของ DNA ที่ได้นี้ ก่อให้เกิดความแตกต่างในความสามารถของการเกิดการจำลองตัวและขนาด DNA ที่ถูกจำลองตัว ซึ่งเป็นลักษณะที่จำเพาะในแต่ละสายพันธุ์ของแมลงวัน

การวิเคราะห์ DNA ของแมลง โดยใช้วิธี RFLP (Restriction fragment length polymorphism) เป็นการตรวจสอบความแตกต่างหรือความหลากหลายของ DNA หลังจากถูกย่อยด้วย enzyme ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ซึ่ง DNA ของสิ่งมีชีวิตต่างสายพันธุ์กันย่อมมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันไม่มากนัก โดยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ อาจเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ตามธรรมชาติ ซึ่งมีผลให้ตำแหน่งจดจำ (recognition site) ของ enzyme เปลี่ยนแปลงไป โดยหลักการเข้าคู่ (hybridization) ของเส้น DNA คู่สม (complementary) โดยอาศัยชิ้น DNA ตรวจสอบ หรือ ที่เรียกกันว่า probe จะทำให้สามารถตรวจพบความเปลี่ยนแปลงนั้นได้ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะนำไปวิเคราะห์ถึงความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละสายพันธุ์ของแมลงวันต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาชีววิทยา และอนุวิทยาของหนอนแมลงวันบนศพที่พบในประเทศไทย โดยเริ่มจากการสำรวจข้อมูลเบื้องต้นของศพ และเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพ มาแบ่งเป็น 3 ส่วน สำหรับวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาของหนอนแมลงวัน ศึกษาการเจริญเติบโตไปเป็นตัวเต็มวัยของหนอนแมลงวัน และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ข้อมูล ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการประมาณเวลาการตายของศพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3.1 กลุ่มประชากรเป้าหมาย

ศพที่ได้ส่งมาทำการชันสูตร ณ สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนกันยายน พ.ศ.2551

3.2 การเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวัน และการเตรียมตัวอย่างหนอนแมลงวัน

การเก็บตัวอย่างแมลงวัน โดยเลือกเก็บหนอนแมลงวันที่มีขนาดใหญ่ที่สุดประมาณ 20 ตัว ซึ่งจะทำให้การเลือกเก็บตามเนื้อเยื่อต่างๆ หรือพื้นที่ต่างๆของศพที่มีหนอนแมลงวันอาศัยอยู่ เก็บหนอนแมลงวันลงในกระบอกพลาสติกใสสะอาดมีฝาปิด โดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง เขียนรายละเอียดคือ รหัสของศพ ซึ่งกำหนดโดยผู้วิจัยเอง วันที่เก็บ และแพทย์ผู้ตรวจ ติดไว้บนข้างขวดเสมอ ส่วนรายละเอียดการพบศพ รวมถึงสภาพแวดล้อมของการพบศพ เช่น อุณหภูมิ สภาพแวดล้อม และบาดแผลที่พบหนอนแมลงวัน โดยให้แนบมาคู่กัน

เมื่อเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันมาแล้วก่อนที่จะนำตัวหนอนแมลงวันไปทำการวิเคราะห์ ในขั้นตอนต่อไปจำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างหนอนแมลงวัน เริ่มโดยแบ่งหนอนแมลงวันเป็นสองส่วน ส่วนแรกสำหรับเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัย ส่วนที่ 2 สำหรับทำการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ หนอนแมลงวันส่วนแรกสำหรับเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยให้แยกออกมาใส่ไว้ในภาชนะที่เตรียมไว้สำหรับเลี้ยงหนอนแมลงวัน ซึ่งจะกล่าวในข้อต่อไป ส่วนหนอนแมลงวันส่วนที่ 2 จะนำหนอนแมลงวันมาต้มในน้ำร้อนโดยวิธี HWK (hot water killed) ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 วินาที เพื่อที่จะให้หนอนแมลงวันเกิดการยึดตัวให้มากที่สุดเพื่อทำการวัดขนาดความยาวของหนอนแมลงวัน และทำการบันทึกผล ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการของ Adams และ Hall

(Adams and Hall, 2003) จากนั้นจึงนำไปเก็บไว้ใน 80% Ethanol เพื่อรักษาสภาพของสัณฐานวิทยาและ DNA เพื่อทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 3.1 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพ

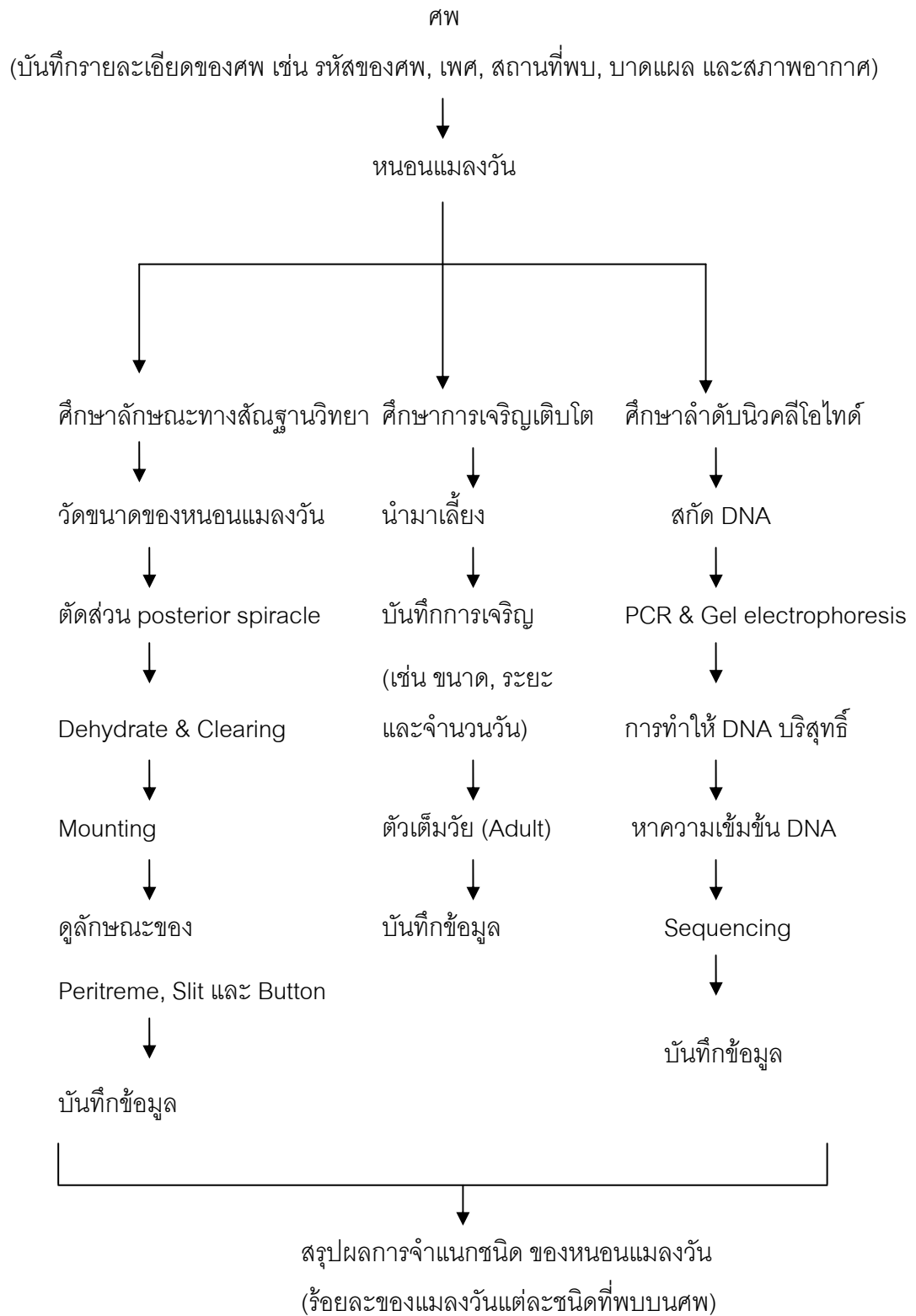
3.3 ขนาดของประชากรตัวอย่าง

เนื่องจากยังไม่มีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ในประเทศไทย จึงไม่สามารถหาข้อมูลอ้างอิงเพื่อใช้ในการคำนวณขนาดของประชากรตัวอย่างได้ และเนื่องจากข้อจำกัดทางด้านระยะเวลาในการวิจัยและงบประมาณในการสนับสนุนการวิจัย ผู้วิจัยจึงได้กำหนดขนาดของประชากรตัวอย่างจากการคาดคะเนจำนวนศพที่จะสามารถพบหนอนแมลงวันได้ในช่วงระยะเวลา 3 เดือน โดยคาดหวังว่าจะทำการเก็บหนอนจากศพประมาณ 50 ศพ ที่ได้ส่งมาทำการชันสูตร ณ สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ ซึ่งศพจะถูกส่งมาจากพื้นที่ทั่วประเทศไทย

3.4 รูปแบบการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงพรรณนา (Descriptive study)

3.5 การออกแบบงานวิจัย



3.6 อุปกรณ์

High speed refrigerated microcentrifuge (Tomy)

Light microscope (Olympus)

Spectrophotometer SmartSpec TM 3000 (Bio-Rad)

Stereomicroscope (Olympus)

เครื่อง Centrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร x 12 MICRO12 (HANIL)

เครื่อง Gel Photodocumentation System (Bio-Rad)

เครื่องเพิ่มลดอุณหภูมิ (Thermal cycler)

เครื่องแยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้า, Electrophoresis (Bio-Rad)

เครื่องกรองน้ำ Millipore (Milli-Q PF Plus)

เครื่องการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DNA (Spectrophotometer)

เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียดอ่านได้ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa)

เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียดอ่านได้ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa)

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

ไมโครปิเปตต์อัตโนมัติ (Automatic adjustable micropipette) ขนาด 0.5-10,
20 -200 และ 100 -1000 ไมโครลิตร (GIBTHAI)

ตู้เย็น -40°C (Puffer Hubbard) และตู้เย็น 4°C (LG)

ตู้ไมโครเวฟ (Microwave)

ตู้ปรับอุณหภูมิ (Memmert)

หม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูง (BECThai)

3.7 วัสดุ

Cuvettes เพื่อใช้ในการวัดค่าความเข้มข้นของ DNA

เข็มฉีดยา (Needle)

ใบมีด

ไม้บรรทัด

กล่องแมลงวันฝ้าย ขนาด 30 x 30 x 30 เซนติเมตร

กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)

กระจกสไลด์ ขนาด 2.5 x 7.5 เซนติเมตร

กระดาษชำระ เพื่อเช็ดทำความสะอาด

กระตักน้ำแข็ง

กระบอกตวง ขนาด 10, 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

กระป๋องทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร และสูง 15 เซนติเมตร

กระป๋องพลาสติกมีฝาปิด สำหรับใส่แมลงวัน

ขวดแก้วสำหรับใส่สารเคมี (Schott Duran)

ใยมะพร้าวที่ผ่านการกรองและอบฆ่าเชื้อ

ดับหมุดเพื่อใช้ในการเลี้ยงหนอนแมลงวัน

ตาข่ายผ้าชนิดบาง

ถาดพลาสติก ขนาด 20x 30 x 6 เซนติเมตร

ถุงมือยาง (Latex gloves)

ที่วางหลอดทดลอง ขนาด 0.1, 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตร

นาฬิกาจับเวลา

ปิเกตอร์ ขนาด 50, 100, 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

ปากคีบ (Forceps)

ปิเปตต์ทิป (Pipette tip) ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

ผ้าขนหนู ขนาด 64 x 34 เซนติเมตร

สมุดบันทึก

หลอดทดลองขนาดเล็กชนิดมีฝาปิด (Micro tube) ขนาดความจุ 1.5 มิลลิลิตร

หลอดหยด (Dropper)

3.8 สารเคมี (ภาคผนวก)

สารเคมีชุดแยก DNA ให้บริสุทธิ์จากผลิตภัณฑ์ PCR ชุด NucleoSpin[®] Extract II ของบริษัท MACHERY-NAGEL

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสไลด์ถาวร posterior spiracle ของหนอนแมลงวัน

สารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างหนอนแมลงวัน เพื่อสกัด DNA

สารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reaction) ของบริษัท Invitrogen

สารเคมีที่ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อ

สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงแมลงวันตัวเต็มวัย

สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงหนอนแมลงวัน

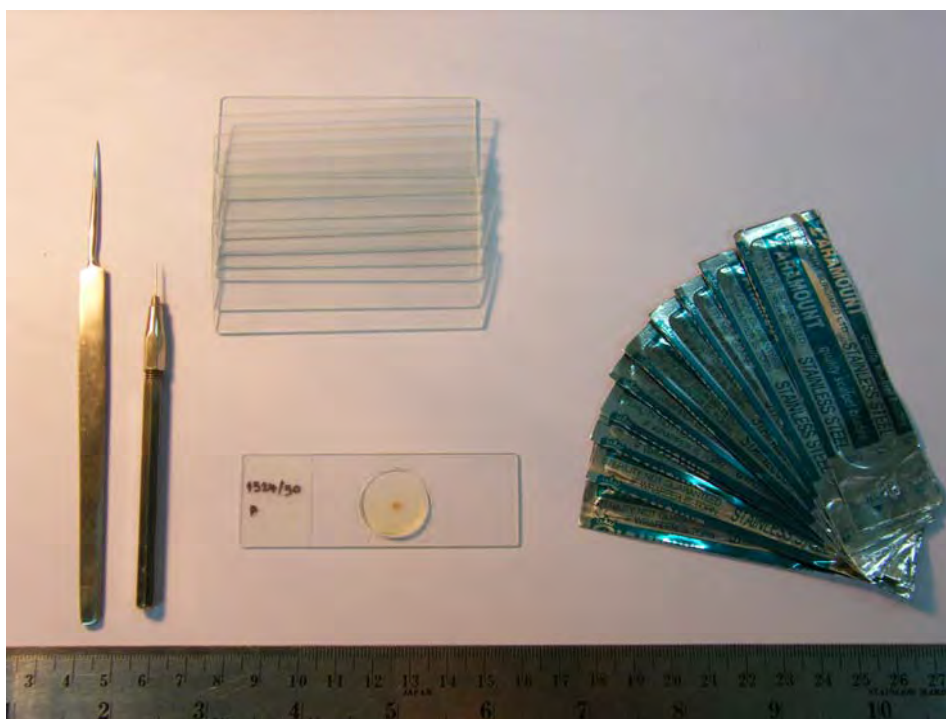
สารเคมีและชุดสกัด Genomic DNA DNeasy Tissue Kit ของบริษัท QIAGEN[®]

สารละลายที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ขนาดของ DNA ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR

3.9 หนอนแมลงวัน

3.9.1 การจำแนกหนอนแมลงวันทางสัณฐานวิทยา

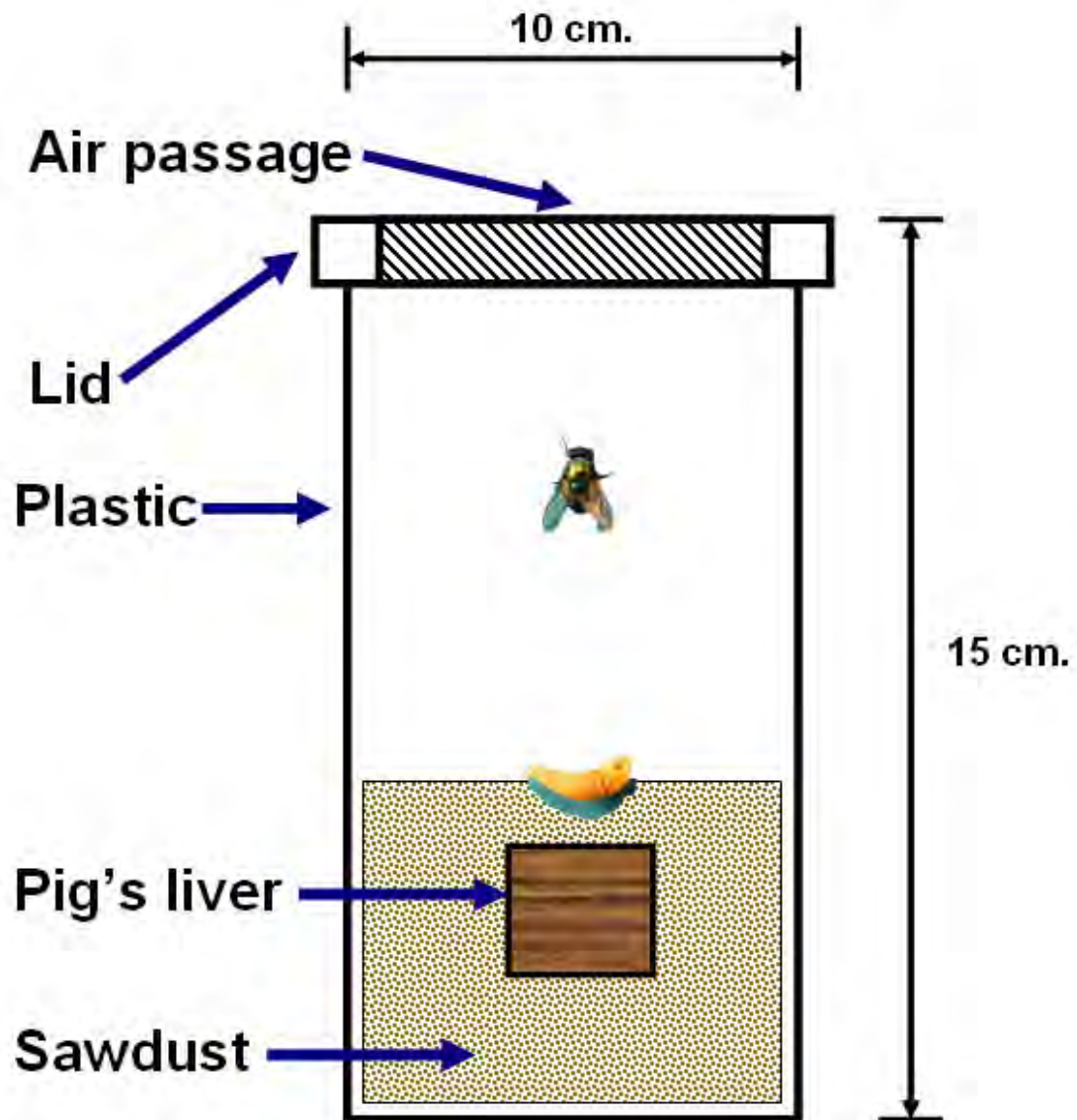
เป็นการจำแนกในขั้นต้นจากลักษณะสัณฐานของอวัยวะ posterior spiracle ของหนอนแมลงวัน ซึ่งเป็นท่อลมของหนอนแมลงวันมีจำนวน 2 ข้างอยู่บริเวณด้านท้าย ความแตกต่างของ posterior spiracle นี้ สามารถจำแนกชนิดของสายพันธุ์แมลงวันอย่างพอสังเขปในระดับหนึ่ง เริ่มจากการนำหนอนแมลงวันที่เก็บมาตัดตามขวาง (cross section) บริเวณด้านท้ายของตัวหนอนในส่วนของ posterior spiracle และนำชิ้นส่วนที่ได้มาทำเป็นสไลด์ถาวรและถ่ายรูปผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อเก็บข้อมูลไว้เพื่อการวิเคราะห์ในขั้นตอนการเปรียบเทียบต่อไป โดยทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบตามวิธีการของ Greenberg และ Kunich (Greenberg and Kunich, 2002)



รูปที่ 3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดอวัยวะ ของหนอนแมลงวันเพื่อนำมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

3.9.2 การเลี้ยงหนอนแมลงวันจากศพ เพื่อจำแนกชนิดของแมลงวันตัวเต็มวัย

เมื่อเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพได้แล้ว หากมีหนอนแมลงวันที่ยังมีชีวิตอยู่ จะเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจำนวนหนึ่งมาทำการเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย โดยดัดแปลงวิธีการเลี้ยงจากวิธีของ Ronal และ Frederic (Ronal and Frederic, 1996) เพื่อเปรียบเทียบกับการจำแนกหนอนแมลงวันโดยวิธีอื่น เพื่อให้แน่ใจว่าการระบุสายพันธุ์ของหนอนแมลงวันที่ได้นั้น เป็นชนิดที่ถูกต้อง และเป็นชนิดเดียวกัน ซึ่งจะทำให้การจดบันทึกระยะของหนอนแมลงวันที่เริ่มเลี้ยง และจำนวนวันในการเลี้ยงตลอดจนกลายเป็นตัวเต็มวัย โดยนำหนอนแมลงวันมาเลี้ยงในภาชนะทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร ดังภาพที่ 3.2 และใส่ใยมะพร้าวที่กรองผ่านตะแกรงละเอียดและผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร $\frac{1}{4}$ ของความสูงของภาชนะทรงกระบอกที่ใช้เลี้ยงแมลงวัน และภาชนะควรมีช่องว่างเพื่อรองรับการกลายเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันด้วย เนื่องจากหนอนแมลงวันต้องการความชื้นที่สูง ซึ่งจะควบคุมความชื้นโดยการฉีดพรมน้ำบ่อยๆทุกวัน และต้องระวังมิให้มีความชื้นมากหรือน้อยเกินไป โดยต้องดูแลอย่างใกล้ชิดทุกวัน สำหรับอาหารของตัวหนอนแมลงวันจะใช้เป็น พวกเนื้อปลาสดหรือตับสด ส่วนอาหารของตัวเต็มวัยจะใช้กระดาษทิชชูที่ชุ่มด้วย 10% น้ำตาลกลูโคส และ 10% นมผง ละลายในน้ำที่สะอาด โดยจะต้องพรมให้ทั่วกระดาษทิชชู เนื่องจากการกินอาหารจากส่วนปากของแมลงวันตัวเต็มวัยจะเป็นแบบดูดซับ ซึ่งจำเป็นจะต้องคอยเติมอาหารให้เพียงพออยู่เสมอ เมื่อหนอนแมลงวันเจริญเป็นตัวเต็มวัยแล้วจึงนำมาศึกษาทางสัณฐานวิทยาต่อไป โดยใช้วิธีการของ Greenberg และ Kunich (Greenberg and Kunich, 2002) และเมื่อได้หนอนแมลงวันที่กลายเป็นตัวเต็มวัยแล้ว ก็จะนำมาเลี้ยงต่อไปเพื่อให้แมลงวันตัวเต็มวัยออกไข่ และกลายเป็นหนอนแมลงวัน จึงนำหนอนแมลงวันในรุ่นต่อไปที่ได้นี้ มาทำการศึกษา posterior spiracle เพื่อยืนยันว่าการศึกษาลักษณะของ posterior spiracle ในขั้นตอนแรก มีลักษณะตรงกันหรือไม่ เพื่อเป็นการยืนยันว่าได้นำหนอนแมลงวันชนิดเดียวกันมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

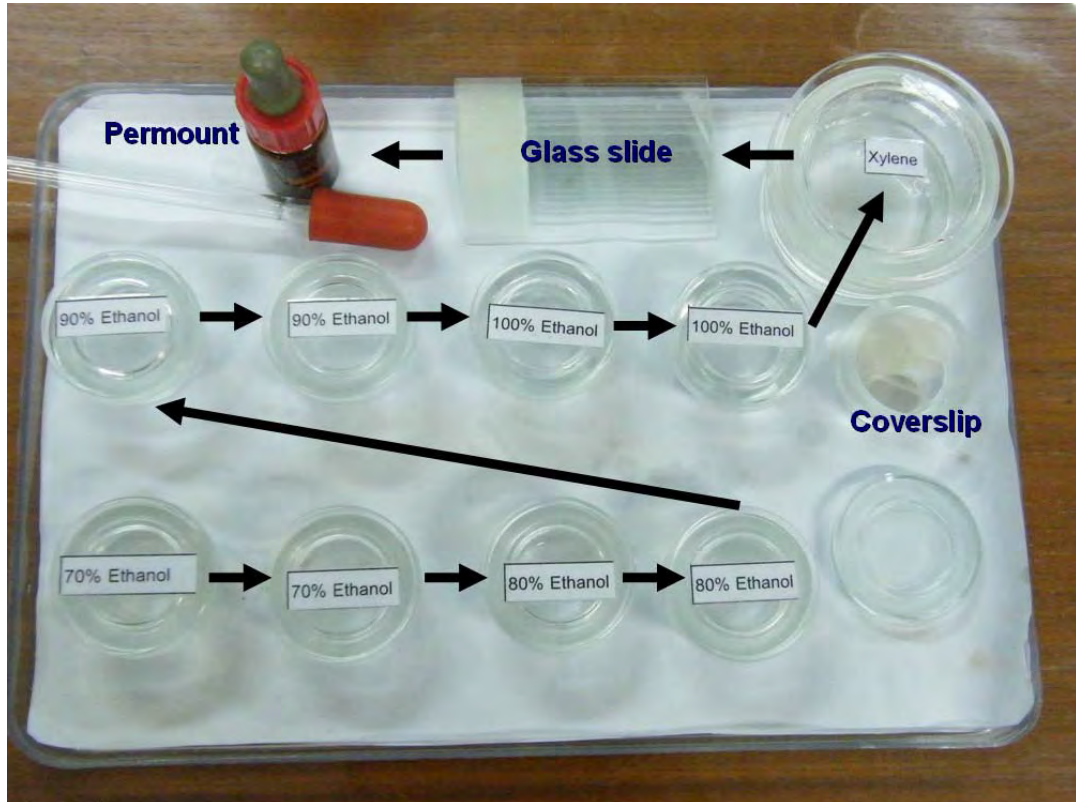


รูปที่ 3.3 แสดงภาชนะที่ใช้เลี้ยงหนอนแมลงวัน และการเลี้ยงหนอนแมลงวันในภาชนะดังกล่าว

3.9.3 การเตรียมสไลด์ posterior spiracle เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหนอนแมลงวัน

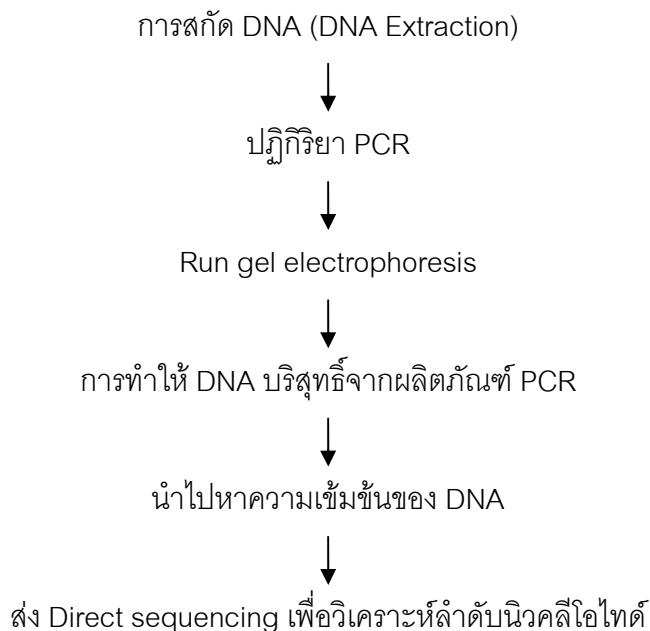
เริ่มต้นด้วยการเก็บหนอนแมลงวันจากศพ ที่มีอายุมากที่สุด โดยสังเกตจากขนาดเมื่อได้มาแล้วนำมาตัดแยกเป็นสองส่วน โดยส่วนหัวจะนำไปสกัด DNA ต่อไป และส่วนท้ายจะนำมาเตรียมสไลด์ posterior spiracle โดยตัดส่วน posterior spiracle ออกมา พร้อมทั้งตั้งรหัสและหมายเลข ที่ตรงกับข้อมูลที่เก็บไว้ นำตัวอย่างมาตกแต่งเบื้องต้นด้วยใบมีดผ่านทางกล้องจุลทรรศน์ เมื่อได้ลักษณะเป็นที่พอใจแล้วจึงเข้าสู่กระบวนการ fix ด้วย 70% Ethanol อย่างน้อย 30

นาที หลังจากนั้นจึงจะเข้าสู่กระบวนการ dehydrated โดยใช้ serial ethanol (70%, 80% และ 90%) และ xylene ขั้นตอนละ 30 นาที ดังรูปที่ 3.4 แล้วนำไปเคลือบด้วยน้ำยา par mount บน สไลด์ และปิดด้วยแผ่นกระจกใส (cover slip) ที่งัดจนแข็งตัวแล้วจึงเก็บเป็นข้อมูลประวัติเพื่อ วิเคราะห์ต่อไป



รูปที่ 3.4 แสดงอุปกรณ์และขั้นตอนกระบวนการ dehydrated

3.9.4 การวิเคราะห์ทางอณูชีววิทยา



รูปที่ 3.5 แสดงแผนภาพ สรุปภาพรวมขั้นตอนการวิเคราะห์ทางอณูชีววิทยา

3.9.4.1 การสกัด DNA โดยใช้ DNeasy Tissue Kit ของบริษัท QIAGEN®

เป็นขั้นตอนสกัด Genomic DNA จากส่วนหัวของหนอนแมลงวัน เนื่องจากส่วนหัวของหนอนแมลงวันเป็นส่วนที่มี DNA จำนวนมาก เนื่องจากส่วนหัวของหนอนแมลงวันมีการเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา โดยขั้นตอนการสกัดจะทำตามที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำดังนี้

เริ่มต้นด้วยการ ตัดส่วนหัวของหนอนแมลงวันที่ต้องการด้วยใบมีด และนำมาใส่ในหลอดทดลองพลาสติกขนาดเล็กชนิดมีฝาปิด (micro tube) ขนาดความจุ 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุ PBS จำนวน 180 ไมโครลิตร และทำการบดให้ละเอียดด้วยอุปกรณ์สำหรับการบดชิ้นเนื้อ (plastic pestle) ซึ่งจะมีรูปร่างพอดีกับหลอดทดลองพลาสติก 1.5 มิลลิลิตร ทำการบดจนแห้งละเอียด แล้วเติมสาร proteinase K จำนวน 20 ไมโครลิตร และ AL (lysis buffer ที่มี guanidine hydrochloride) จำนวน 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสาร (vertex) นำไปป้อนที่ 70 °C โดยแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติม 100% Ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสารอีกครั้ง เมื่อสารผสมกันดี ให้ดูดส่วนผสมที่ได้ลงใน column ที่สวมทับด้วยหลอดทดลองพลาสติกขนาดเล็ก นำไปปั่นที่ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วทิ้งส่วนที่ถูกกรองออกไป หลังจากนั้นทำการย้าย column ลงหลอดใหม่ และเติม AW1 (wash buffer 1 ที่มี guanidine hydrochloride) จำนวน 500 ไมโครลิตร

และนำไปปั่นที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C ที่ส่วนที่ถูกกรองออกไป และย้าย column ลงหลอดใหม่ แล้วเติม AW2 (wash buffer 1 ที่มี sodium azide) จำนวน 500 ไมโครลิตร และปั่นที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C ที่ส่วนที่ถูกกรองออกมา แล้วย้าย column ลงหลอดใหม่ซึ่งจะเป็นหลอดที่จะทำการเก็บตัวอย่าง DNA หลังจากนั้นจะเติมสาร AE (elution buffer) จำนวน 200 ไมโครลิตร และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที ก่อนจะนำไปปั่นที่ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วจึงเก็บสารละลาย DNA ที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปใช้ในขั้นตอนปฏิกิริยา PCR ต่อไป

3.9.4.2 ปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

การเกิดปฏิกิริยา PCR ต้องอาศัยสารละลายที่มีส่วนประกอบดังตารางที่ 3.2 และสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมดังนี้ โดยใช้เครื่องปรับเพิ่มลดอุณหภูมิ GeneAmp 2400 PCR Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA) เริ่มต้นด้วยขั้นตอน initial denaturation ทั้งนี้เพื่อเป็นการกระตุ้นในการเข้าสู่ขั้นตอน denature ของปฏิกิริยา PCR อย่างสมบูรณ์ โดยใช้อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 3 นาที และขั้นตอนแรกจะเข้าสู่ขั้นตอน denature ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 45 วินาที จากนั้นเป็นขั้นตอน annealing ซึ่งใช้อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 45 วินาที ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงและจะทำให้ primer ซึ่งเป็น DNA สายสั้น ๆ (ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ จำนวน 20-30 เบส) ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นคู่สมกับ DNA ที่เป็นต้นแบบเพื่อจับคู่กัน จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอน extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ DNA สายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 5' ของ primer ตามข้อมูลบน DNA ที่เป็นต้นแบบแต่ละสาย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ซึ่งใช้อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที ซึ่งทั้ง 3 ขั้นตอนนี้จะทำซ้ำกัน 40 รอบ จากที่นั้นใช้อุณหภูมิที่ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที 1 รอบเพื่อเป็นการสังเคราะห์ DNA สายใหม่อย่างสมบูรณ์ เมื่อจบทุกขั้นตอน DNA ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ PCR จะถูกเก็บไว้ที่ 4 °C เพื่อรอการวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยวิธี agarose gel electrophoresis ต่อไป

สาร	ปริมาตร(ไมโครลิตร)
10XPCR buffer	2.5
25 mM MgCl ₂	2.5
2mM dNTP	2.5
0.5 μM Primer Forward (2F)	1.25
0.5 μM Primer Reverse (3R)	1.25
Taq DNA polymerase (1 U/μl)	0.2
Template (DNA 10-50 ng/μl)	5
น้ำกลั่น	9.8
รวม	25

ตารางที่ 3.1 แสดงส่วนประกอบของสารละลายสำหรับปฏิกิริยา PCR

3.9.4.3 การวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยวิธี agarose gel electrophoresis

(Klotzbach *et al*, 2003)

หลังจากปฏิกิริยา PCR เสร็จสิ้น ขั้นตอนต่อไปจะทำการตรวจและวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ PCR โดยใช้วิธี agarose gel electrophoresis โดยให้ DNA เคลื่อนที่ในเจลที่มีกระแสไฟฟ้า ซึ่ง DNA ที่มีประจุเป็นลบจะเคลื่อนที่ไปสู่ด้านที่มีประจุบวก โดย DNA ที่มีขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ในเจลได้เร็วกว่า DNA ที่มีขนาดใหญ่ จากนั้นนำเจลที่ได้มาทำการย้อมด้วย ethidium bromide ซึ่งเป็นสารเรืองแสง โดย ethidium bromide จะเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างคู่สาย DNA เมื่อนำเจล ไปส่องด้วยแสง UV (Ultraviolet) จะทำให้สามารถมองเห็นแถบ DNA ในเจลได้ และจะทำการบันทึกผล โดยการถ่ายภาพเก็บไว้ โดยทั่วไปขนาดของ DNA จะทราบได้โดยการเปรียบเทียบกับ DNA marker ที่ทราบขนาด โดย DNA ที่มีขนาดใกล้เคียงกันจะเคลื่อนที่ไปในเจลในระยะทางใกล้เคียงกัน เราจึงสามารถตรวจสอบได้ว่าผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้มีขนาดถูกต้องตามที่ต้องการหรือไม่

3.9.4.4 การทำให้ DNA บริสุทธิ์จากผลิตภัณฑ์ PCR (NucleoSpin® Extract

II ของบริษัท MACHEREY-NAGEL)

เป็นขั้นตอนการทำให้ DNA บริสุทธิ์ เพื่อเตรียมตัวอย่างให้พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป เริ่มต้นด้วยการเติม NT buffer จำนวน 200 ไมโครลิตร ลง

ใน หลอดทดลองพลาสติกขนาดเล็กชนิดมีฝาปิด (micro tube) ขนาดความจุ 1.5 มิลลิลิตร พร้อมด้วยใส่ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ PCR จำนวน 100 ไมโครลิตร จากนั้นผสมสารโดยปิดฝาหลอดและเขย่าเบาๆขึ้นลงประมาณ 10 ครั้ง และย้ายไปสู่ silica membrane column ที่สวมทับอยู่กับ collection tube นำไปปั่นที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ที่ซึ่งส่วนที่ถูกกรองออกมาสวมทับ column ใน collection tube เดิมอีกครั้ง แล้วเติม NT3 buffer จำนวน 600 ไมโครลิตร ลงใน column นำไปปั่นที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ที่ซึ่งส่วนที่ถูกกรองออกมาและทำการปั่นหลอดทดลองเปล่าอีกครั้งหนึ่งเป็นเวลา 2 นาที ที่ความเร็วรอบเดิม เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มี buffer ตกค้าง และสวมทับ column ในหลอดทดลองขนาดเล็กชนิดมีฝาปิด (micro tube) ขนาดความจุ 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติม elution buffer จำนวน 15-50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงนำไปปั่นที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที เก็บสารละลาย DNA ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป โดยใช้ความเข้มข้น 1-100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

3.9.4.5 การวัดหาปริมาณ DNA โดยใช้ spectrophotometer

การวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) โดยใช้ spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร โดย DNA สามารถดูดกลืนแสงได้มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย DNA จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของ DNA (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = A_{260} \times 50 \times \text{dilution factor}$$

ถ้าค่า A_{260} ที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่ามีความเข้มข้นของ DNA สายคู่ (double-stranded DNA; ds-DNA) เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่า A_{260} / A_{280} ที่อยู่ในช่วง 1.65-1.85 แสดงว่า DNA ที่สกัดได้บริสุทธิ์หรือมีคุณภาพดี แต่ถ้าค่าต่ำกว่า 1.65 แสดงว่ามีโปรตีนและฟีนอลปะปนอยู่ในสารละลาย หรือถ้ามากกว่า 1.85 แสดงว่ามี RNA ปนอยู่ในสารละลาย

หากพบว่า DNA สกัดได้ไม่บริสุทธิ์ หรือค่าความเข้มข้นของ DNA น้อยเกินไป จำเป็นต้องตกตะกอน DNA ใหม่ เมื่อได้ค่าที่ยอมรับได้แล้วจะต้องปรับความเข้มข้นสุดท้ายของ DNA ให้ได้เท่ากับ 400 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรก่อนส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

3.9.4.6 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA (บริษัท WARDMEDIC)

ในปัจจุบัน การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์สามารถทำได้ 2 วิธี (สุรงค์ นุชประยูร และคณะ, 2546) วิธีแรกคือ Dideoxy chain termination method โดย Sanger และ Coulson ส่วนวิธีที่ 2 คือ Chemical degradation method โดย Maxam และ Gilbert ทั้ง 2 วิธีนี้มีความแตกต่างกันในหลักการวิเคราะห์ แต่ผลที่ได้ก็มีความใกล้เคียงกัน ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยวิธี Dideoxy chain termination method ซึ่งวิธีนี้อาศัยหลักการเลียนแบบกระบวนการ DNA replication คือการสร้าง DNA สายใหม่จาก DNA ต้นแบบสายเดี่ยว ใช้การทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ทำหน้าที่สังเคราะห์สาย DNA สายใหม่ที่มีนิวคลีโอไทด์คู่สมกับ DNA แม่แบบ ซึ่งจะนำนิวคลีโอไทด์ปกติ (dGTP, dATP, dCTP และ dTTP) และนิวคลีโอไทด์ที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสี มาสร้าง DNA สายใหม่สำหรับนิวคลีโอไทด์ที่ติดฉลากมักใช้เพียงชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น ที่นิยมใช้คือ dATP (^{32}P -dATP) การทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase นั้นต้องการ primer ในการเริ่มต้น จากนั้นจะนำนิวคลีโอไทด์เข้าต่อที่ปลาย 3'OH ของปฏิกิริยา (ทิศทางการสังเคราะห์ คือ $5' \rightarrow 3'$) ซึ่งการสร้าง DNA สายใหม่จะสิ้นสุดลงโดยจะเกิดขึ้นในตำแหน่งของ dideoxy nucleotide (ddGTP, ddATP, ddCTP และ ddTTP) ซึ่งเป็นนิวคลีโอไทด์ที่ขาดหมู่ 3'OH ทำให้ไม่สามารถสร้างพันธะ phosphodiester กับนิวคลีโอไทด์ตัวถัดไปได้ ขั้นตอนการทำ DNA sequencing ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลักดังนี้คือ

1. การเตรียม DNA ต้นแบบที่ต้องการหาลำดับนิวคลีโอไทด์
2. การเตรียมปฏิกิริยา sequencing
3. การทำ gel eletrophoresis
4. การอ่านและแปลผลข้อมูล

ซึ่งการวิจัยในครั้งนี้ ได้นำ DNA ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์จากผลิตภัณฑ์ PCR ส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ณ First BASE Laboratories ประเทศมาเลเซีย โดยมีบริษัท Ward Medic Ltd. เป็นตัวกลางในการจัดส่ง โดยกระบวนการ sequencing จะใช้ primer คู่เดียวกับปฏิกิริยา PCR ข้างต้น คือ 2F และ 3R โดยวิเคราะห์ 2 ครั้งโดยใช้ ทั้ง 2 primer เพื่อนำผลที่ได้มาวิเคราะห์เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แท้จริง ก่อนจะนำมาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีในฐานข้อมูล GenBank และนำข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ผล และแสดงผลการวิจัยต่อไป

3.10 การวิเคราะห์ข้อมูล

แสดงอัตราการพบหนองแมลงวันแต่ละชนิดเป็นร้อยละ และหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของหนองแมลงวันกับข้อมูลเบื้องต้นของศพที่พบหนองแมลงวัน ยกตัวอย่างเช่น สภาพแวดล้อมของศพที่พบหนองแมลงวันเปรียบเทียบในเขตพื้นที่ต่าง และทำการคำนวณเป็นร้อยละของชนิดของแมลงวันที่พบ และแสดงการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างหนองแมลงวันแต่ละชนิดที่พบบนศพ โดยใช้ โปรแกรม GeneDoc (Multiple Sequences Aligement Editor & Shading Utility Version 2.6.002 by Karl Nicholas) กับข้อมูลใน GenBank

บทที่ 4

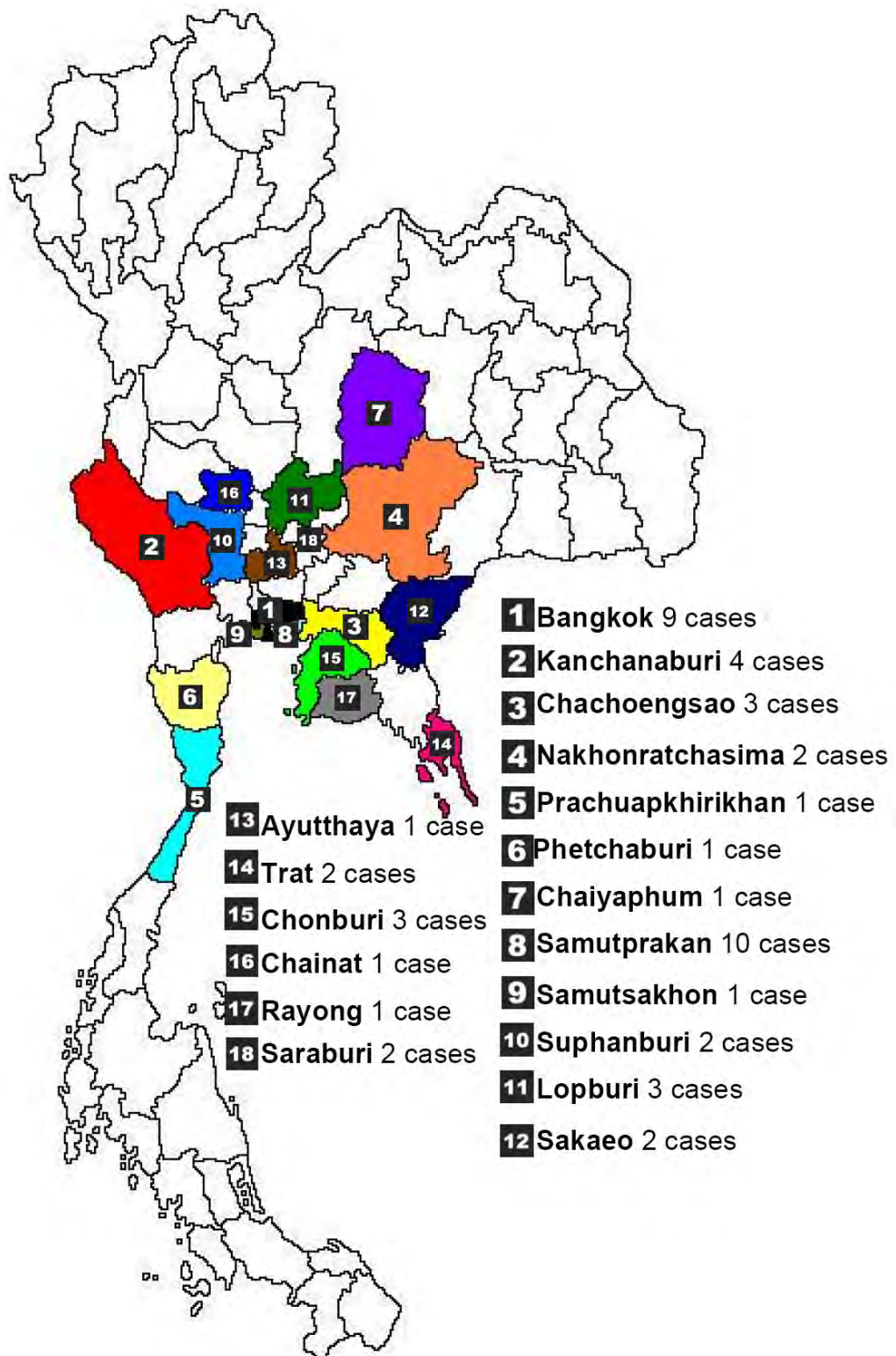
ผลการทดลอง

การเก็บหนอนแมลงวันจากศพในการวิจัยนี้ได้ทำการเก็บบันทึกข้อมูลเบื้องต้นของศพ โดยใช้แบบบันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติกีฏวิทยา (ภาคผนวก) หลังจากนั้นนำตัวอย่างหนอนแมลงวันไปวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาจากลักษณะของ posterior spiracle และนำหนอนแมลงวันอีกส่วนหนึ่งไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย ทั้งนี้เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของหนอนแมลงวัน ในขั้นตอนสุดท้ายจะทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันแต่ละชนิดที่พบบนศพ จากข้อมูลที่ได้จากขั้นตอนทั้งหมดจะนำไปวิเคราะห์ถึงชนิดของหนอนแมลงวันที่พบได้บ่อยบนศพในประเทศไทย และจะสามารถนำข้อมูลการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันที่พบบ่อยแต่ละชนิดนำไปประกอบกับการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพได้ต่อไป

4.1 ข้อมูลเบื้องต้นของศพและหนอนแมลงวัน

ผลของการเก็บข้อมูลเบื้องต้นของศพที่พบหนอนแมลงวันจำนวน 49 ศพ ในช่วงเวลา ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2551 ซึ่งในเดือนพฤษภาคมนั้น พบศพจำนวน 14 ศพ เดือนมิถุนายนจำนวน 13 ศพ เดือนกรกฎาคมจำนวน 14 ศพ เดือนสิงหาคมจำนวน 4 ศพ และเดือนกันยายนจำนวน 4 ศพ โดยศพทั้ง 49 ศพ จะพบในต่างพื้นที่กัน ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.1 โดยมีการพบศพในพื้นที่จำนวน 18 จังหวัด ซึ่งได้แก่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดฉะเชิงเทรา จังหวัดชลบุรี จังหวัดชัยนาท จังหวัดชัยภูมิ จังหวัดตราด จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดลพบุรี จังหวัดสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดสระแก้ว จังหวัดสระบุรี และจังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งได้แสดงถึงจำนวนของศพที่พบในแต่ละจังหวัดดังตารางที่ 4.1 โดยจากการสำรวจพบว่าศพเป็นเพศชายจำนวน 38 ศพ และศพเพศหญิงจำนวน 11 ศพ ซึ่งศพที่พบส่วนใหญ่จำนวน 30 ศพ เป็นศพที่ไม่ทราบสาเหตุการเสียชีวิต ส่วนการเสียชีวิตด้วยสาเหตุทางน้ำจำนวน 10 ศพ มีศพที่เสียชีวิตจากการถูกฆ่าหรือถูกทำร้ายจำนวน 5 ศพ ศพที่เสียชีวิตจากการผูกคอตายจำนวน 3 ศพ และมีศพที่เสียชีวิตด้วยอุบัติเหตุทางไฟฟ้าเป็นจำนวน 1 ศพ ในการสำรวจสภาพของศพนั้น มีการพบทั้งศพที่สวมเสื้อผ้าและไม่สวมเสื้อผ้า โดยมีการพบศพที่สวมเสื้อผ้าจำนวน 37 ศพ ส่วนศพที่ไม่สวมเสื้อผ้านั้น มีจำนวนจำนวน 12 ศพ ในแง่ของการพบบาดแผลบนตัวศพ พบว่าศพที่มีบาดแผลมีจำนวน 21 ศพ และพบศพที่เสียชีวิตโดยไม่มีบาดแผลจำนวน 28 ศพ ซึ่งการพบบาดแผลของศพทุกรายนั้น

จะพบที่บริเวณส่วนท่อนบนของร่างกายทั้งสิ้น ซึ่งข้อมูลข้างต้นมีการแสดงข้อมูลในตารางที่ 4.1-4.6



รูปที่ 4.1 แสดงแผนที่ของจังหวัดที่พบศพที่มีหนอนแมลงวัน

จังหวัดที่พบศพ	จำนวนศพ
กรุงเทพมหานคร	9
กาญจนบุรี	4
ฉะเชิงเทรา	3
ชลบุรี	3
ชัยนาท	1
ชัยภูมิ	1
ตราด	2
นครราชสีมา	2
ประจวบคีรีขันธ์	1
พระนครศรีอยุธยา	1
เพชรบุรี	1
ระยอง	1
ลพบุรี	3
สมุทรปราการ	10
สมุทรสาคร	1
สระแก้ว	2
สระบุรี	2
สุพรรณบุรี	2

ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนศพที่พบหนองแมลงวันในแต่ละจังหวัดในประเทศไทย

เพศของศพ (หญิง/ชาย)	จำนวน (ศพ)
ชาย	38
หญิง	11
รวม	49

ตารางที่ 4.2 แสดงข้อมูลเพศของศพที่พบหนองแมลงวัน

เดือน	จำนวน (ศพ)
พฤษภาคม	14
มิถุนายน	13
กรกฎาคม	14
สิงหาคม	4
กันยายน	4
รวม	49

ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบจำนวนศพที่พบหนองแมลงวันในช่วงเดือน พฤษภาคม ถึง กันยายน พ.ศ.2551

สาเหตุการเสียชีวิตของศพ	จำนวน (ศพ)
ไม่ทราบสาเหตุการเสียชีวิต	30
ถูกฆ่าหรือถูกทำร้าย	5
จมน้ำ	10
ผูกคอต	3
ไฟฟ้าดูด	1
รวม	49

ตารางที่ 4.4 แสดงข้อมูลสาเหตุการเสียชีวิตของศพที่พบหนองแมลงวัน

สภาพการสวมเสื้อผ้าของศพ	จำนวน (ศพ)
สวมเสื้อผ้า	37
ไม่สวมเสื้อผ้า	12
รวม	49

ตารางที่ 4.5 แสดงข้อมูลสภาพการสวมเสื้อผ้าของศพที่พบหนองแมลงวัน

การมีบาดแผลของศพ	จำนวน (ศพ)
มีบาดแผล	21
ไม่มีบาดแผล	28
รวม	49

ตารางที่ 4.6 แสดงข้อมูลลักษณะการมีบาดแผลของศพที่พบหนองแมลงวัน

ในประเด็นของการสำรวจข้อมูลของศพ ในแง่ของข้อมูลสภาพแวดล้อมที่พบศพ มีการพบศพที่เสียชีวิตในเขตพื้นที่ชนบทจำนวน 31 ศพ และเสียชีวิตในเขตเมืองจำนวน 18 ศพ นอกจากนี้ยังมีการพบศพที่เสียชีวิตในบ้านจำนวน 15 ศพ และเสียชีวิตนอกบ้านจำนวน 34 ศพ สำหรับพื้นที่ที่พบศพเสียชีวิตนั้น พบว่ามีข้อมูลของศพที่พบในพื้นที่ป่าจำนวน 10 ศพ และพบในเขตชุมชนที่ไม่ใช่พื้นที่ป่าจำนวน 39 ศพ ส่วนตำแหน่งของศพที่พบนั้น มีการพบศพอยู่บนบกจำนวน 33 ศพ และอยู่ในน้ำ 16 ศพ โดยการอำพรางศพนั้น พบว่าศพถูกอำพรางโดยฝังใต้ดินจำนวน 3 ศพ และมีการพบศพที่อยู่บนพื้นดินปกติโดยไม่มีการฝัง 46 ศพ ซึ่งแสดงข้อมูลในตารางที่ 4.7 - 4.11

สภาพแวดล้อม (เขตชนบท/ในเมือง)	จำนวน (ศพ)
พบศพในเขตชนบท	31
พบศพในเขตเมือง	18
รวม	49

ตารางที่ 4.7 แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (เขตชนบท/ในเมือง) ของศพที่พบ
หนองแมลงวัน

สภาพแวดล้อม (ศพเสียชีวิตในบ้าน/นอกบ้าน)	จำนวน (ศพ)
พบศพเสียชีวิตในบ้าน	15
พบศพเสียชีวิตนอกบ้าน	34
รวม	49

ตารางที่ 4.8 แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (ศพเสียชีวิตในบ้าน/นอกบ้าน) ของศพ
ที่พบหนองแมลงวัน

สภาพแวดล้อม (พบศพในป่า/ในชุมชน)	จำนวน (ศพ)
พบศพในป่า	10
พบศพในเขตชุมชน	39
รวม	49

ตารางที่ 4.9 แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (พบศพในป่า/ในชุมชน) ของศพที่พบ
หนองแม่หลวงวัน

สภาพแวดล้อม (พบศพบนบก/ในน้ำ)	จำนวน (ศพ)
พบศพบนบก	33
พบศพในน้ำ	16
รวม	49

ตารางที่ 4.10 แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (พบศพบนบก/ในน้ำ) ของศพที่พบ
หนองแม่หลวงวัน

สภาพแวดล้อม (ศพถูกฝัง/ไม่ถูกฝัง)	จำนวน (ศพ)
ศพถูกฝังใต้ดิน	3
พบศพบนพื้นดิน	46
รวม	49

ตารางที่ 4.11 แสดงข้อมูลลักษณะสภาพแวดล้อม (ศพถูกฝัง/ไม่ถูกฝัง) ของศพที่พบ
หนองแม่หลวงวัน

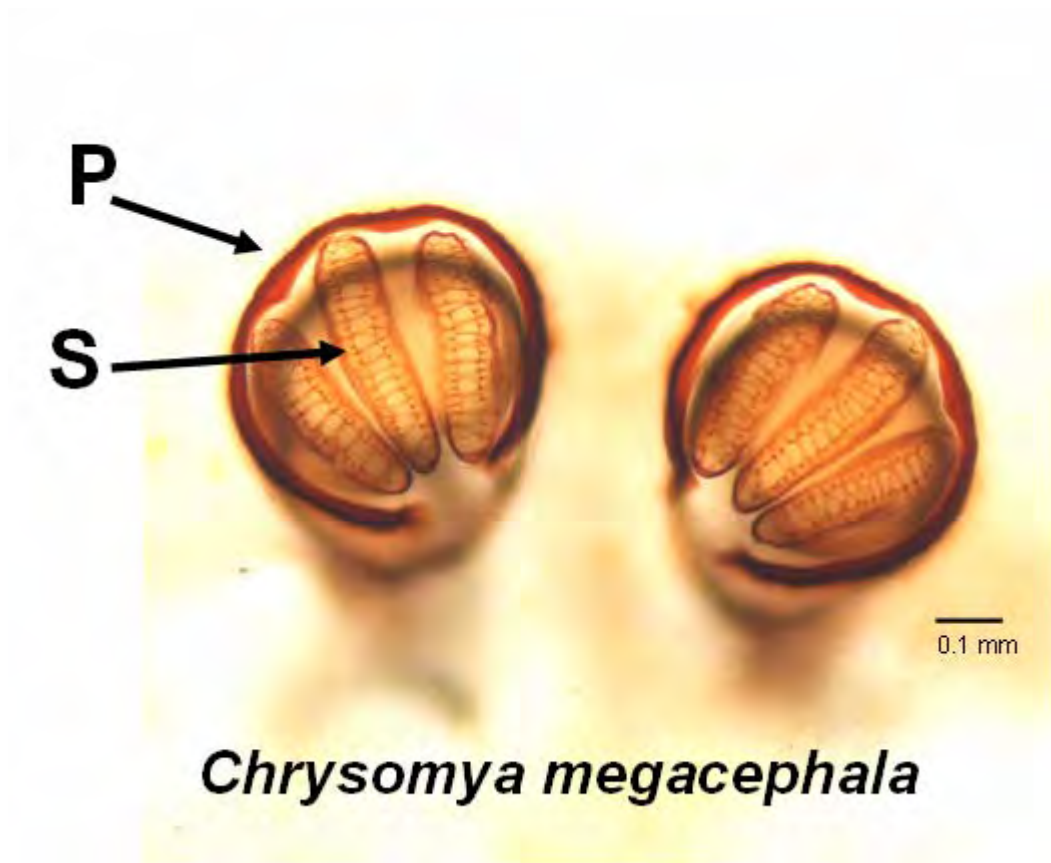
จากการสำรวจถึงระยะของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ พบว่ามีแมลงวันระยะไข่ที่พบบนศพจำนวน 10 ศพ พบหนอนแมลงวันระยะที่ 1 บนศพจำนวน 7 ศพ พบหนอนแมลงวันระยะที่ 2 บนศพจำนวน 12 ศพ พบหนอนแมลงวันระยะที่ 3 บนศพจำนวน 19 ศพ และพบหนอนแมลงวันระยะดักแด้บนศพจำนวนเพียง 1 ศพ ดังแสดงข้อมูลระยะของหนอนแมลงวันที่พบบนศพในตารางที่ 4.12

ระยะของหนอนแมลงวัน (ระยะ)	จำนวน (ศพ)
ระยะไข่	10
หนอนแมลงวันระยะที่ 1	7
หนอนแมลงวันระยะที่ 2	12
หนอนแมลงวันระยะที่ 3	19
ระยะดักแด้	1
รวม	49

ตารางที่ 4.12 แสดงจำนวนศพ ที่พบหนอนแมลงวันแต่ละระยะ

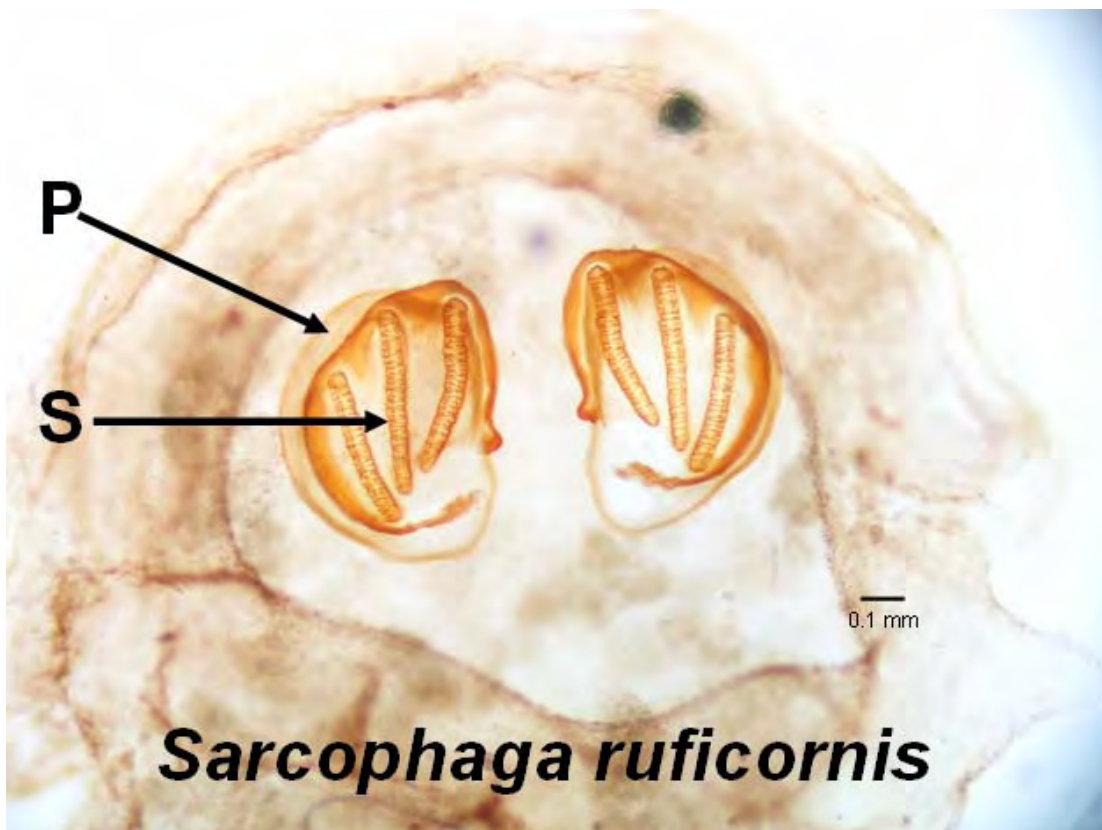
4.2 ผลการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ

จากตัวอย่างของหนอนแมลงวันที่เก็บได้จากศพ เมื่อนำมาจำแนกในขั้นต้นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ posterior spiracle ของหนอนแมลงวัน โดยจำแนกตามวิธีของ Greenberg และ Kunich (Greenberg and Kunich, 2002) ซึ่ง posterior spiracle เป็นท่อลมของหนอนแมลงวันที่มีลักษณะจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์ มีจำนวน 2 อัน โดยจะอยู่ตรงบริเวณส่วนท้ายของหนอนแมลงวัน ซึ่งได้ผลการจำแนกลักษณะตามสายพันธุ์ ดังรูปที่ 4.2 - 4.7

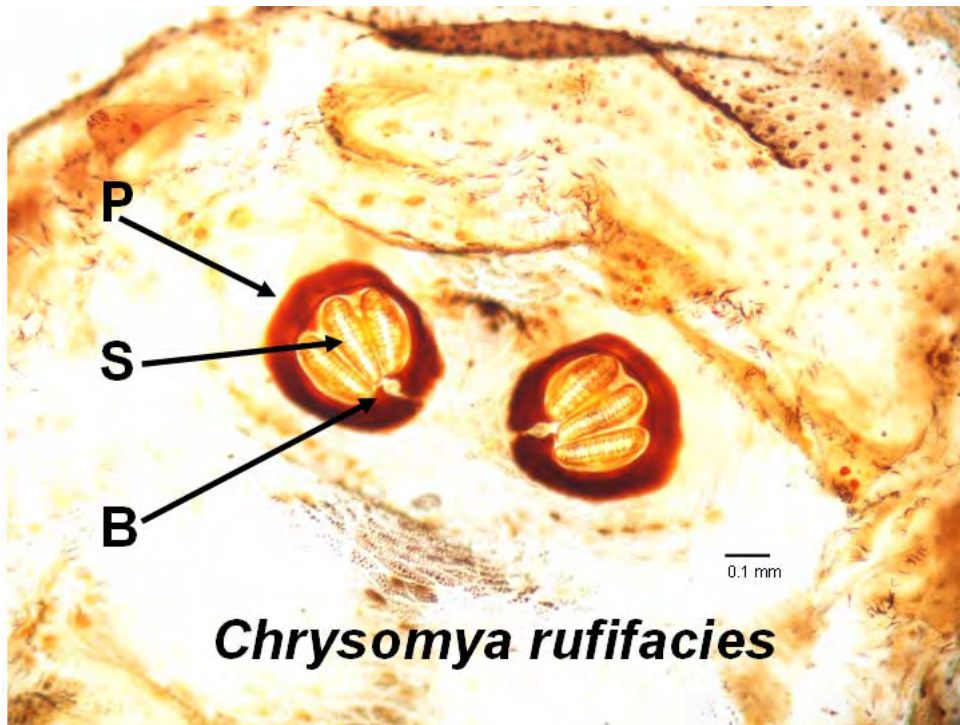


Chrysomya megacephala

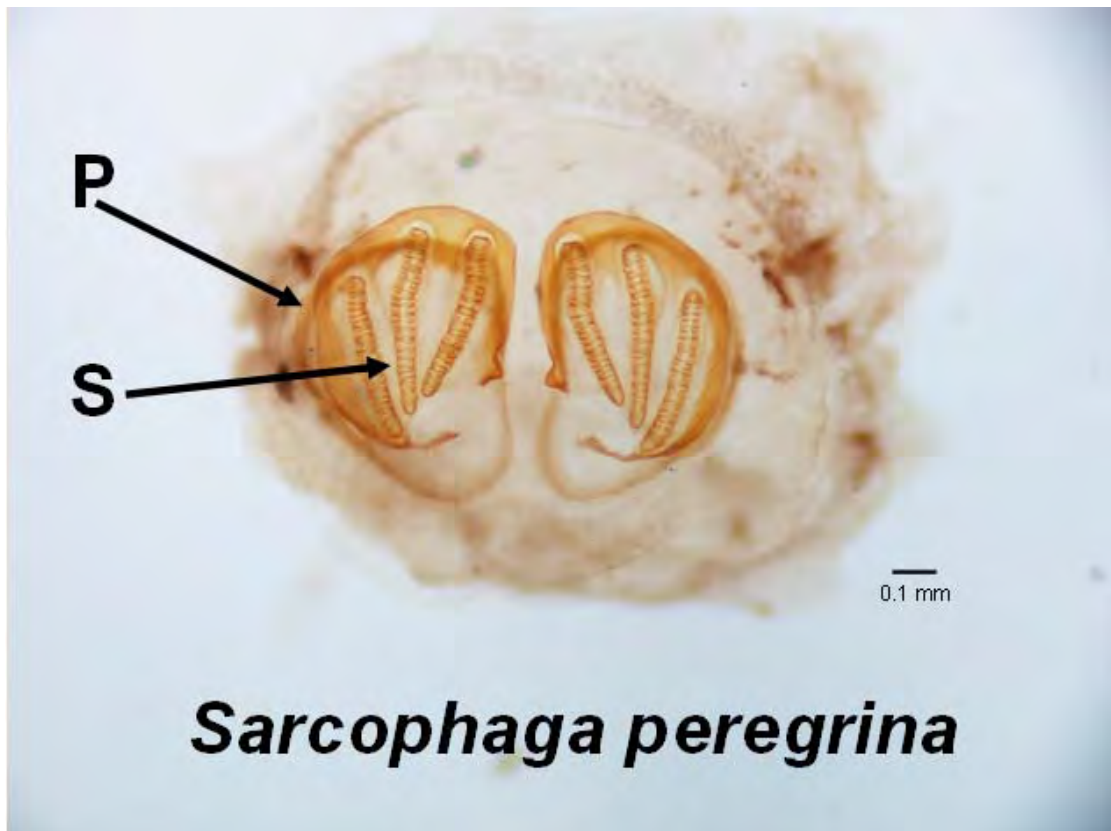
รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะเฉพาะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* โดยมีส่วนประกอบดังนี้ คือ P: peritrem, S: slit จะเห็นได้ว่า มีลักษณะของ peritrem ที่หนา ไม่คลุมรอบวง และมี slit 3 เส้น ที่มีขนาดใหญ่และสั้น ส่วน button จะไม่ปรากฏให้เห็น



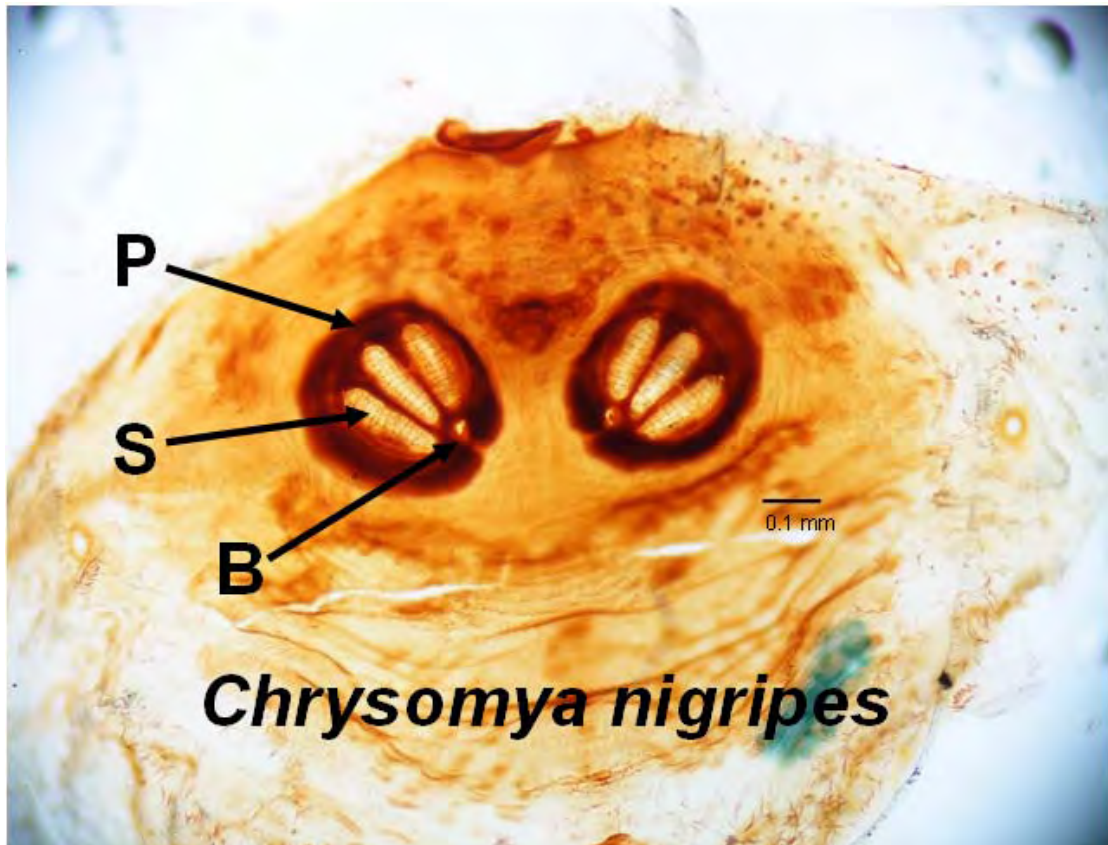
รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis* โดยมีส่วนประกอบดังนี้ P: peritrem, S: slit จะเห็นได้ว่า จะเห็นได้ว่า มีลักษณะของ peritrem ที่บางแผ่กระจายสู่ด้านใน ไม่คลุมรอบวง และมี slit 3 เส้น ที่มีขนาดเรียวยาวเล็กและยาว ส่วน button จะไม่ปรากฏให้เห็น



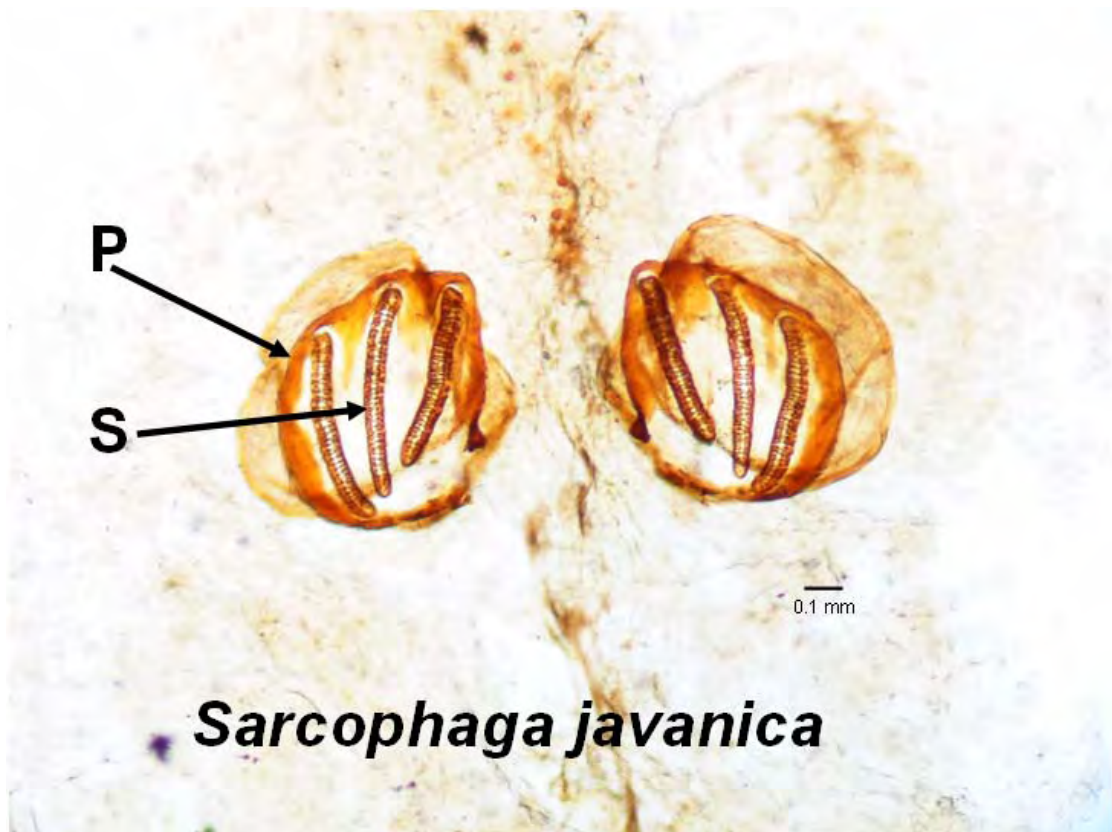
รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* โดยมีส่วนประกอบดังนี้ P: peritrem, S: slit, B: button จะเห็นได้ว่ามีลักษณะของ peritrem ที่หนามาก คลุมรอบวง และมี slit 3 เส้น ที่มีขนาดใหญ่และสั้น ส่วน button จะปรากฏให้เห็นเป็นจุดกลมชัดเจน



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* โดยมีส่วนประกอบดังนี้ P: peritrem, S: slit จะเห็นได้ว่า จะเห็นได้ว่า มีลักษณะของ peritrem ที่บางแผ่กระจายสู่ด้านใน ไม่คลุมรอบวง และมี slit 3 เส้น ที่มีขนาดเรียงเล็กและยาว ส่วน button จะไม่ปรากฏให้เห็น

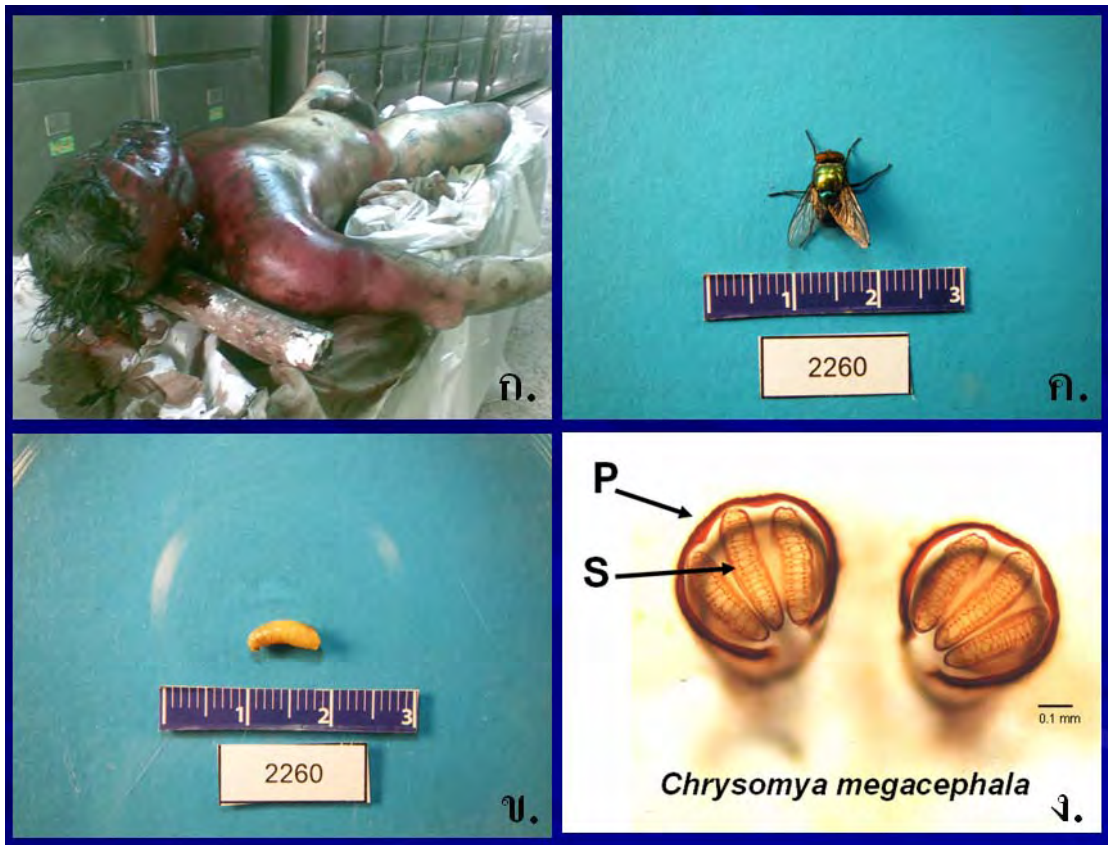


รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes* โดยมีส่วนประกอบดังนี้ P: peritrem, S: slit, B: button จะเห็นได้ว่ามีลักษณะของ peritrem ที่หนา มาก คลุมรอบวง และมี slit 3 เส้น ที่มีขนาดใหญ่และสั้น ส่วน button จะปรากฏให้เห็นเป็นจุดกลมชัดเจน



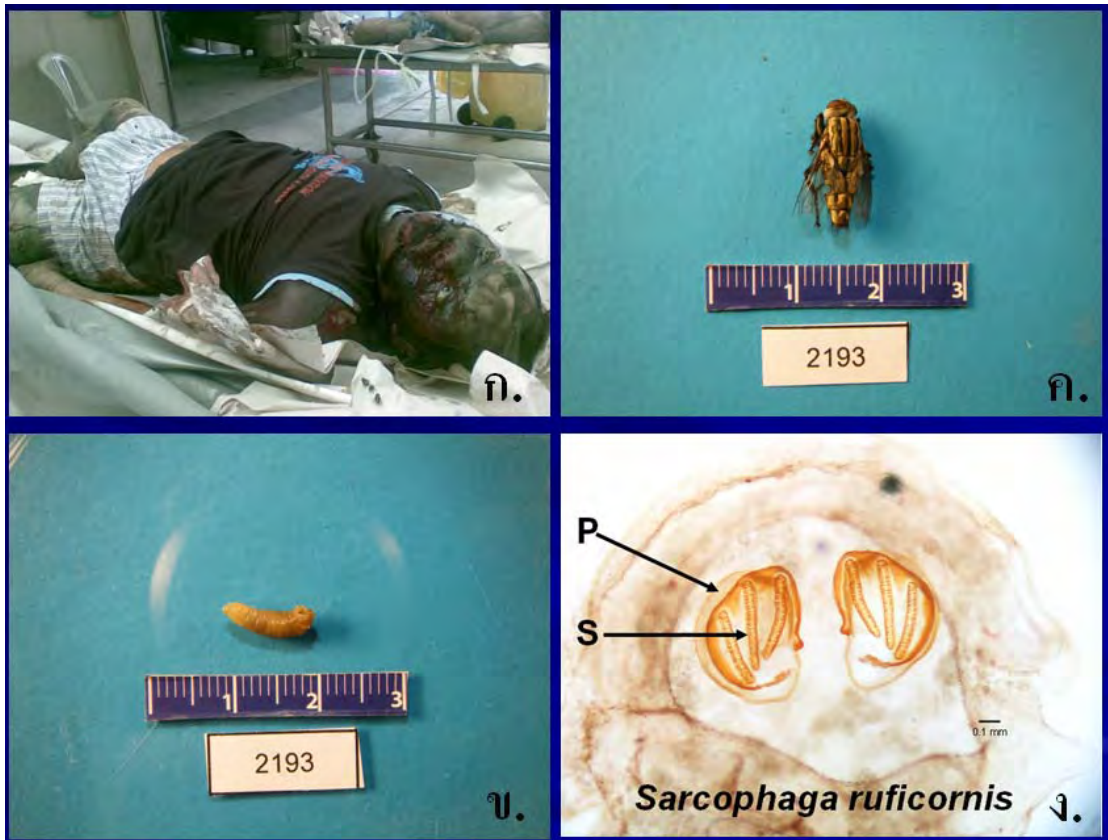
รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ในสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* โดยมีส่วนประกอบดังนี้ P: peritrem, S: slit จะเห็นได้ว่า จะเห็นได้ว่า มีลักษณะของ peritrem ที่บางแผ่กระจายสู่ด้านใน ไม่คลุมรอบวง และมี slit 3 เส้น ที่มีขนาดเรียวยาวเล็กและยาว ส่วน button จะไม่ปรากฏให้เห็น

เมื่อเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพมาได้แล้ว จะนำไปศึกษาลักษณะของ posterior spiracle และนำหนอนแมลงวันมาทำการเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย โดยดัดแปลงวิธีการเลี้ยงจากวิธีของ Ronal และ Frederic (Ronal and Frederic, 1996) ได้ผลรวมการศึกษาทั้งหมดดังที่กล่าวข้างต้น โดยจะสามารถแบ่งได้เป็น 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya rufifacies*, *Sarcophaga ruficornis*, *Chrysomya nigripes*, *Sarcophaga javanica* และ *Sarcophaga peregrina* ดังแสดงในรูปที่ 4.8 - 4.13



รูปที่ 4.8 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* จากรูป

- ก. ตัวอย่างศพที่พบหนอนแมลงวัน
- ข. ตัวหนอนแมลงวันที่พบบนศพ
- ค. แมลงวันตัวเต็มวัยหลังจากนำหนอนแมลงวันไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย
- ง. ลักษณะ posterior spiracle ของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ



รูปที่ 4.9 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หอนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis*

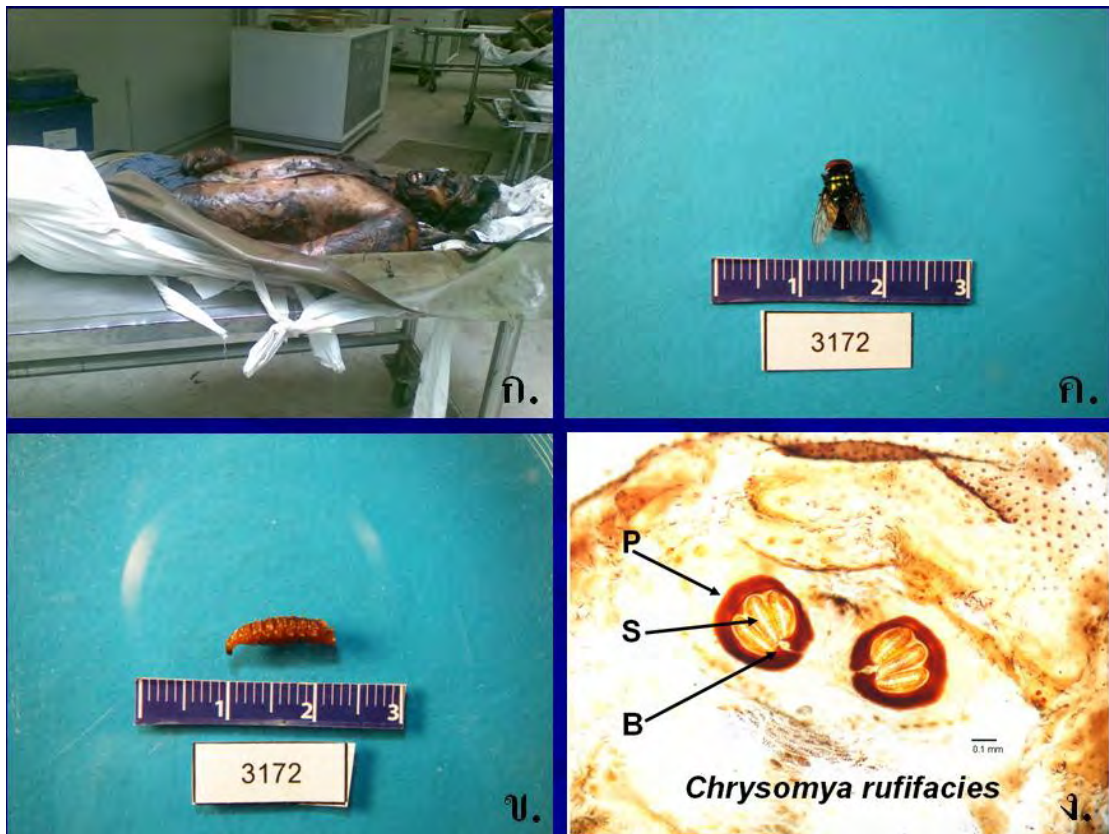
จากรูป

ก. ตัวอย่างศพที่พบหอนอนแมลงวัน

ข. ตัวหอนอนแมลงวันที่พบบนศพ

ค. แมลงวันตัวเต็มวัยหลังจากนำหอนอนแมลงวันไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย

ง. ลักษณะ posterior spiracle ของหอนอนแมลงวันที่พบบนศพ



รูปที่ 4.10 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies*

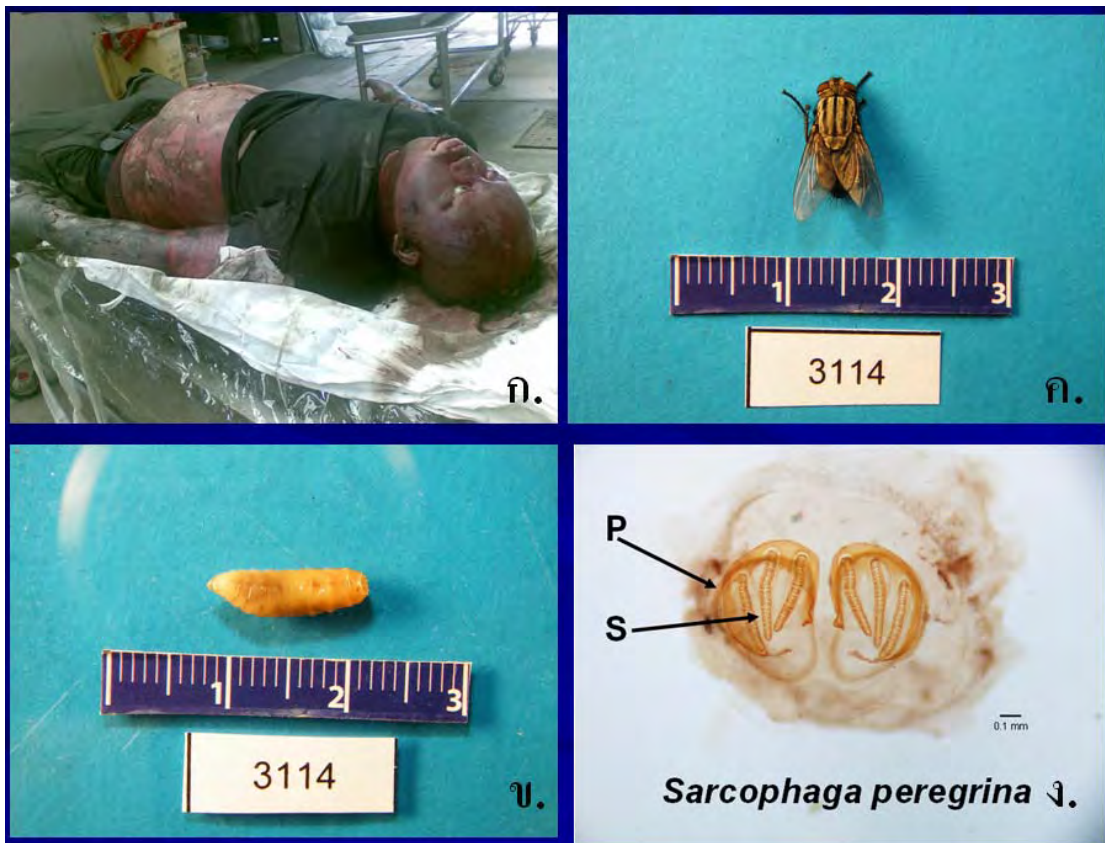
จากรูป

ก. ตัวอย่างศพที่พบหนอนแมลงวัน

ข. ตัวหนอนแมลงวันที่พบบนศพ

ค. แมลงวันตัวเต็มวัยหลังจากนำหนอนแมลงวันไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย

ง. ลักษณะ posterior spiracle ของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ



รูปที่ 4.11 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หอนอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* จากรูป

ก. ตัวอย่างศพที่พบหอนอนแมลงวัน

ข. ตัวหอนอนแมลงวันที่พบบนศพ

ค. แมลงวันตัวเต็มวัยหลังจากนำหอนอนแมลงวันไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย

ง. ลักษณะ posterior spiracle ของหอนอนแมลงวันที่พบบนศพ



รูปที่ 4.12 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ *Chrysomya nigripes*

จากรูป

ก. ตัวอย่างศพที่พบหอนแมลงวัน

ข. ตัวหอนแมลงวันที่พบบนศพ

ค. แมลงวันตัวเต็มวัยหลังจากนำหอนแมลงวันไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย

ง. ลักษณะ posterior spiracle ของหอนแมลงวันที่พบบนศพ



รูปที่ 4.13 แสดงรูปผลการวิเคราะห์หอนแมลงวันจากศพ สายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* จากรูป

ก. ตัวอย่างศพที่พบหอนแมลงวัน

ข. ตัวหอนแมลงวันที่พบบนศพ

ค. แมลงวันตัวเต็มวัยหลังจากนำหอนแมลงวันไปเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย

ง. ลักษณะ posterior spiracle ของหอนแมลงวันที่พบบนศพ

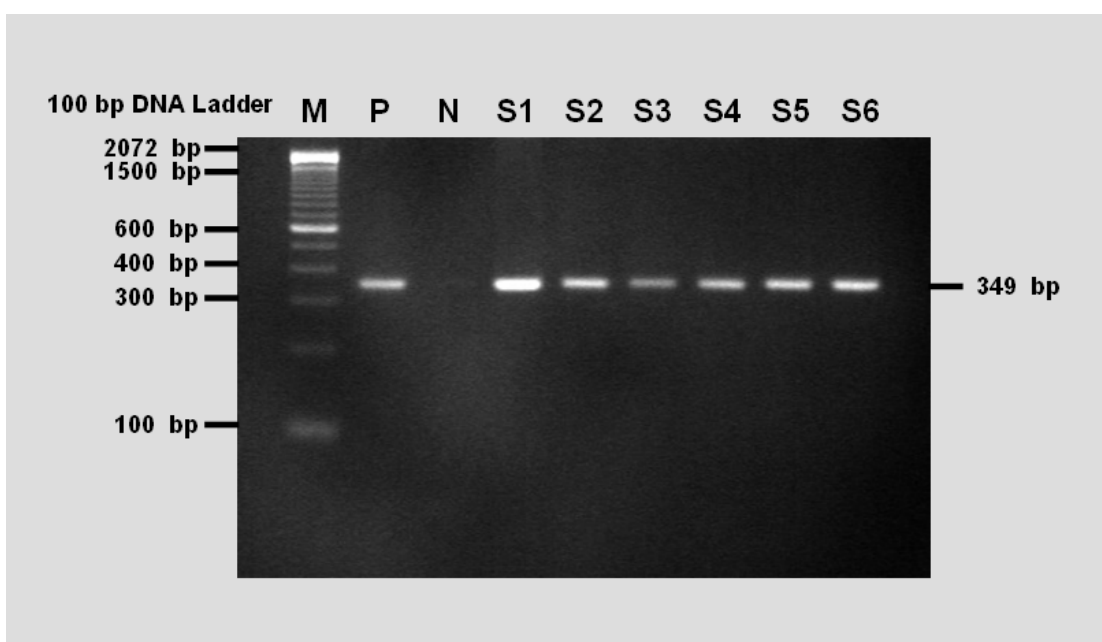
จากการเก็บหนอนแมลงวันบนศพจำนวน 49 ศพ เมื่อได้ทำการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวัน ได้ผลของการจำแนกชนิดได้ 6 สายพันธุ์ คือ เป็นแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* ซึ่งพบแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์นี้บนศพจำนวน 39 ศพ เป็นแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* ซึ่งพบแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์นี้บนศพจำนวน 8 ศพ เป็นแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes* ซึ่งพบแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์นี้บนศพจำนวน 1 ศพ เป็นแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis* ซึ่งพบแมลงวันหลังลายสายพันธุ์นี้บนศพจำนวน 7 ศพ เป็นแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* ซึ่งพบแมลงวันหลังลายสายพันธุ์นี้บนศพจำนวน 1 ศพ และ เป็นแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* ซึ่งพบแมลงวันหลังลายสายพันธุ์นี้บนศพจำนวน 1 ศพ โดยศพบางราย สามารถพบหนอนแมลงวันได้มากกว่า 1 ชนิด ซึ่งจากการเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพจำนวน 49 ศพ พบว่าสามารถพบหนอนแมลงวันได้มากที่สุดต่อ 1 ศพ จำนวน 3 ชนิด และน้อยที่สุดจำนวน 1 ชนิด โดยศพที่พบหนอนแมลงวัน 3 ชนิด คือศพรหัส 2614 ซึ่งเป็นศพที่พบในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ภาคผนวก)

สายพันธุ์ของหนอนแมลงวัน	จำนวนที่พบบนศพ (ศพ)	ร้อยละ (%)
<i>Chrysomya megacephala</i>	39	68
<i>Chrysomya rufifacies</i>	8	14
<i>Chrysomya nigripes</i>	1	2
<i>Sarcophaga ruficornis</i>	7	12
<i>Sarcophaga javanica</i>	1	2
<i>Sarcophaga peregrina</i>	1	2
รวม	57	100

ตารางที่ 4.13 แสดงผลการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันที่พบบนศพจำนวน 6 สายพันธุ์ และจำนวนของศพที่พบหนอนแมลงวันสายพันธุ์ต่างๆ และจำนวนร้อยละของชนิดหนอนแมลงวันที่พบบนศพ

4.3 ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันแต่ละชนิด ที่พบบนศพ

จากผลการทดลองในขั้นต้น โดยเริ่มจากการ เพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้เทคนิค PCR และ ทำการวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยเทคนิค agarose gel electrophoresis ได้ผล ดังรูปที่ 4.14 โดยขนาดของ DNA ที่เป็น PCR product จะมีขนาดประมาณ 349 คู่นิวคลีโอไทด์ จากการใช้คู่ primer 2F และ 3R ตามการศึกษาของ Klotzbach และคณะ (Klotzbach *et al*, 2003) ที่สามารถ ไปจับที่ยีน CO I ได้ ซึ่งคู่ของ primer นี้ เป็นคู่ของ primer ที่ให้ PCR product ที่มีขนาดสั้นที่สุดที่จะสามารถจำแนกชนิดของ DNA หนอนแมลงวันได้



รูปที่ 4.14 แสดงผลการวิเคราะห์ขนาดของ DNA โดยเทคนิค Agarose gel electrophoresis เมื่อทำการย้อมด้วย Ethidium Bromide แสดงผลจากรูปดังนี้ 100 bp DNA Ladder (M), Negative Control (N), Positive Control (P), DNAของตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพขนาด 349 bp (S1-S6:349 bp)

หลังจากนั้น จะเข้าสู่กระบวนการ การทำให้ DNA บริสุทธิ์จากผลิตภัณฑ์ PCR โดยใช้ชุด NucleoSpin[®] Extract II และทำการวัดหาปริมาณ DNA โดยใช้ spectrophotometer เพื่อส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (บริษัท WARDMEDIC) โดยใช้ primer คู่เดิมคือ 2F และ 3R เพื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีในฐานข้อมูล GenBank จะได้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวัน ที่มีความแตกต่างกันที่ยีน CO I ได้ 6 สายพันธุ์ คือแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* แมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* แมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes* แมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis*

แมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* และแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* ซึ่งแมลงวันทั้ง 6 สายพันธุ์มีผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ยีน CO I ดังนี้ คือ

แมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala*

CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC
GGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCAATTGACATTATTTACATGATACATATTATGTAGTAG
CTCACTTCCATTATGTTCTATCAATGGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTC
ATTGATTCCCTCTATTTACTGGATTAACTTTAAATAGCAAGTTATTAAGAGTCAATTTGC
TATTATATTTATCGGAGTAAATTTAACATTCTTCCCTCAACATTTCTTAGGATTAGCAGGT
ATACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA

จากผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* ได้นำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (DQ119587.1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* ที่ได้ทำการศึกษาโดย Shama และคณะ (ภาคผนวก) ในประเทศอินเดีย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน 348 นิวคลีโอไทด์จากทั้งหมด 349 นิวคลีโอไทด์ คิดเป็น 99% ดังแสดงในรูปที่ 4.15

```
>gb|DQ119587.1| Chrysomya megacephala isolate C.M95MIS cytochrome oxidase subu:
I (COI) gene, partial cds; mitochondrial
Length=503

Score = 640 bits (346), Expect = 2e-180
Identities = 348/349 (99%), Gaps = 0/349 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC 60
      |||
Sbjct 155 CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC 214

Query 61 TTGTTTTAGCTAATTCATCAATTGACATTATTTACATGATACATATTATGTAGTAGCTC 120
      |||
Sbjct 215 TTGTTTTAGCTAATTCATCAATTGACATTATTTACATGATACATATTATGTAGTAGCTC 274

Query 121 ACTTCCATTATGTTCTATCAATGGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTTCATT 180
      |||
Sbjct 275 ACTTCCATTATGTTCTATCAATGGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTTCATT 334

Query 181 GATTCCCTCTATTTACTGGATTAACTTTAAATAGCAAGTTATTAAGAGTCAATTTGCTA 240
      |||
Sbjct 335 GATTCCCTCTATTTACTGGATTAACTTTAAATAGCAAGTTATTAAGAGTCAATTTGCTA 394

Query 241 TTATATTTATCGGAGTAAATTTAACATTCTTCCCTCAACATTTCTTAGGATTAGCAGGTA 300
      |||
Sbjct 395 TTATATTTATCGGAGTAAATTTAACATTCTTCCCTCAACATTTCTTAGGATTAGCAGGTA 454

Query 301 TACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA 349
      |||
Sbjct 455 TACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA 503
```

รูปที่ 4.15 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya*

megacephala ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (DQ119587.1)

แมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies*

CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC
 TGGAGTAGTATTAGCTAATTCATCTATTGATATTATTTTACATGACACATACTATGTAGTA
 GCTCACTTCCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTA
 CATTGATTCCCATTATTTACTGGATTAACCTTTAAATAATAAAAATACTAAAAAGTCAATTTG
 CTATTATATTTATTGGAGTAAATTTAACATTCTTCCCTCAACATTTTTTTAGGACTAGCTGG
 TATACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA

จากผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* ได้นำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (DQ328666.1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* ที่ได้ทำการศึกษาโดย Yin และคณะ (ภาคผนวก) ในประเทศจีน ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน 347 นิวคลีโอไทด์จากทั้งหมด 348 นิวคลีโอไทด์ คิดเป็น 99% ดังแสดงในรูปที่ 4.16

```
>gb|DQ328666.1| Chrysomya rufifacies isolate Zhongshan 3 cytochrome oxidase subunit
I (COI) gene, partial cds; mitochondrial
Length=348

Score = 638 bits (345), Expect = 6e-180
Identities = 347/348 (99%), Gaps = 0/348 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1      CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAACTGGAG 60
            |||
Sbjct 1      CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAACTGGAG 60

Query 61     TAGTATTAGCTAATTCATCTATTGATATTATTTTACATGACACATACTATGTAGTAGCTC 120
            |||
Sbjct 61     TAGTATTAGCTAATTCATCTATTGATATTATTTTACATGACACATACTATGTAGTAGCTC 120

Query 121    ACTTCCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTACATT 180
            |||
Sbjct 121    ACTTCCATTATGTTCTTTCAATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTACATT 180

Query 181    GATTCCCATTTATTTACTGGATTAACCTTTAAATAATAAAAATACTAAAAAGTCAATTTGCTA 240
            |||
Sbjct 181    GATTCCCATTTATTTACTGGATTAACCTTTAAATAATAAAAATACTAAAAAGTCAATTTGCTA 240

Query 241    TTATATTTATTGGAGTAAATTTAACATTCTTCCCTCAACATTTTTTTAGGACTAGCTGGTA 300
            |||
Sbjct 241    TTATATTTATTGGAGTAAATTTAACATTCTTCCCTCAACATTTTTTTAGGACTAGCTGGTA 300

Query 301    TACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 348
            |||
Sbjct 301    TACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 348
```

รูปที่ 4.16 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (DQ328666.1)

แมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes*

CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC
 TGGAGTTGTTTTAGCTAACTCTTCAATTGATATTATTCTACACGATACATATTATGTAGTT
 GCTCATTCCACTATGTACTATCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTT
 CACTGATTCCCTTTATTTACAGGATTAACATTAAATAGCAAGCTTTTAAAGAGTCAATTT
 GCTATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTCTTCCCTCAACATTTCTTAGGATTAGCCG
 GAATACCTCGACGATATTCTGATTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA

จากผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes* ได้นำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (AY842620.1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes* ที่ได้ทำการศึกษาโดย Wallman และคณะ (ภาคผนวก) ในประเทศออสเตรเลีย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน 346 นิวคลีโอไทด์จากทั้งหมด 348 นิวคลีโอไทด์ คิดเป็น 99% ดังแสดงในรูปที่ 4.17

```
> gb|AY842620.1| Chrysomya nigripes voucher ABTC78496 cytochrome oxidase subunit
1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial
Length=801

Score = 632 bits (342), Expect = 3e-178
Identities = 346/348 (99%), Gaps = 0/348 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAACTGGAG 60
      |||
Sbjct 287 CAGCTACTTTATGAGCAFTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAACTGGAG 346

Query 61 TTGTTTTAGCTAACTCTTCAATTGATATTATTCTACACGATACATATTATGTAGTTGCTC 120
      |||
Sbjct 347 TTGTTTTAGCTAACTCTTCAATTGATATTATTCTACACGATACATATTATGTAGTTGCTC 406

Query 121 ATTTCCACTATGTACTATCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTCACT 180
      |||
Sbjct 407 ATTTCCACTATGTACTATCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTCACT 466

Query 181 GATTCCCTTTATTTACAGGATTAACATTAAATAGCAAGCTTTTAAAGAGTCAATTTGCTA 240
      |||
Sbjct 467 GATTCCCTTTATTTACAGGATTAACATTAAATAGCAAGCTTTTAAAGAGTCAATTTGCTA 526

Query 241 TTATATTATTGGAGTAAATATAACATTCTTCCCTCAACATTTCTTAGGATTAGCCGGAA 300
      |||
Sbjct 527 TTATATTATTGGAGTAAATATAACATTCTTCCCTCAACATTTCTTAGGATTAGCCGGAA 586

Query 301 TACCTCGACGATATTCTGATTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 348
      |||
Sbjct 587 TACCTCGACGATATTCTGATTATCCAGATGCTTACACAGCAFTGAAATG 634
```

รูปที่ 4.17 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes*

ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (AY842620.1)

แมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis*

CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGGTTTGTATTCTTATTTACAGTAGGAGGATTAAC
 TGGAGTTGTTTTAGCTAACTCATCAATTGACATTATCTTACATGACACATATTATGTAGTA
 GCTCATTTCATTATGTACTGTCAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTT
 CACTGATACCCTTTATTTACTGGATTAACATTAAATGCAAAAATACTAAAAAGTCAATTTA
 CTATTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTCCACAACATTTTTTAGGGCTTGCAGG
 AATACCTCGACGATACTCAGATTACCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA

จากผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis* ได้นำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405941.1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis* ที่ได้ทำการศึกษาโดย Tan และคณะ (ภาคผนวก) ในประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน 344 นิวคลีโอไทด์ จากทั้งหมด 346 นิวคลีโอไทด์ คิดเป็น 99% ดังแสดงในรูปที่ 4.18

```
>gb|EF405941.1| Sarcophaga ruficornis voucher SY5 cytochrome oxidase subunit
I (COI) gene, partial cds; tRNA-Leu gene, complete sequence;
and cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds;
mitochondrial
Length=2305

Score = 628 bits (340), Expect = 4e-177
Identities = 344/346 (99%), Gaps = 0/346 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 3      GCTACTTTATGAGCTTTAGGGTTTGTATTCTTATTTACAGTAGGAGGATTAAC 62
            ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 1009    GCTACTTTATGAGCTTTAGGGTTTGTATTCTTATTTACAGTAGGAGGATTAAC 1068

Query 63     GTTTTAGCTAACTCATCAATTGACATTATCTTACATGACACATATTATGTAGTAGCTCAT 122
            ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 1069    GTTTTAGCTAACTCATCAATTGACATTATCTTACATGACACATATTATGTAGTAGCTCAT 1128

Query 123    TTCCATTATGTACTGTCAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTCACTGA 182
            ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 1129    TTCCATTATGTACTGTCAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAGCAGGATTTGTTCACTGA 1188

Query 183    TACCCTTTATTTACTGGATTAACATTAATGCAAAAATACTAAAAAGTCAATTTACTATT 242
            ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 1189    TACCCTTTATTTACTGGATTAACATTAATGCAAAAATACTAAAAAGTCAATTTACTATT 1248

Query 243    ATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTCCACAACATTTTTTAGGGCTTGCAGGAATA 302
            ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 1249    ATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTCCACAACATTTTTTAGGGCTTGCAGGAATA 1308

Query 303    CCTCGACGATACTCAGATTACCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 348
            ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 1309    CCTCGACGATACTCAGATTACCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 1354
```

รูปที่ 4.18 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga*

ruficornis ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405941.1)

แมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica*

CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTCACAGTAGGGGGATTAAC
 TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACATACTATGTAGTA
 GCACATTTCCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGGCCGGATTTGTT
 CATTGATACCCTCTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAATATTA AAAAGTCAATTTA
 CTATTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCCAACACTTCTTAGGTCTAGCAGG
 GATACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA

จากผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* ได้นำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405926.1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* ที่ได้ทำการศึกษาโดย Tan และคณะ (ภาคผนวก) ในประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน 338 นิวคลีโอไทด์ จากทั้งหมด 348 นิวคลีโอไทด์ คิดเป็น 97% ดังแสดงในรูปที่ 4.19

```
>gb|EF405926.1| Sarcophaga javanica voucher S40 cytochrome oxidase subunit I
(COI) gene, partial cds; tRNA-Leu gene, complete sequence; and
cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds; mitochondrial
Length=2303

Score = 588 bits (318), Expect = 6e-165
Identities = 338/348 (97%), Gaps = 0/348 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTCACAGTAGGGGGATTAACGGAG 60
Sbjct 1007 CAGCTACTTCATGAGCCTTAGGATTTGTATTCTTATTTCACAGTAGGGGGATTAACGGAG 1066

Query 61 TTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACATACTATGTAGTAGCAC 120
Sbjct 1067 TTGTTTTAGCTAATTCATCTATCGATATTATCTTACATGACACATACTATGTAGTAGCAC 1126

Query 121 ATTTCCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGSCCGGATTTGTTTCATT 180
Sbjct 1127 ATTTCCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGSCCGGATTTGTTTCATT 1186

Query 181 GATACCCCTTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAATATTA AAAAGTCAATTTACTA 240
Sbjct 1187 GATACCCCTTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAATATTA AAAAGTCAATTTACTA 1246

Query 241 TTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCCAACACTTCTTAGGTCTAGCAGGGA 300
Sbjct 1247 TTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCCAACACTTCTTAGGTCTAGCAGGGA 1306

Query 301 TACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 348
Sbjct 1307 TACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 1354
```

รูปที่ 4.19 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405926.1)

แมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina*

CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTACAGTAGGGGGATTAAC
 TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACATACTATGTAGTA
 GCACATTTCCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGGCCGGATTTGTT
 CATTGATATCCTCTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAATATTA AAAAGTCAATTTA
 CTATTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCCAACACTTCTTAGGTCTAGCAGG
 GATACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATGA

จากผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* ได้นำผลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405928.1) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับฐานข้อมูลของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* ที่ได้ทำการศึกษาโดย Tan และคณะ (ภาคผนวก) ในประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน 338 นิวคลีโอไทด์จากทั้งหมด 348 นิวคลีโอไทด์ คิดเป็น 97% ดังแสดงในรูปที่ 4.20

```
>gb|EF405928.1| Sarcophaga peregrina voucher S-CH9 cytochrome oxidase subunit
I (COI) gene, partial cds; tRNA-Leu gene, complete sequence;
and cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds;
mitochondrial
Length=2303

Score = 590 bits (319), Expect = 2e-165
Identities = 338/348 (97%), Gaps = 0/348 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1      CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTACAGTAGGGGGATTAACGGAG 60
Sbjct 1007   CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTACAGTAGGGGGATTAACGGAG 1066

Query 61     TTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACATACTATGTAGTAGCAC 120
Sbjct 1067   TTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACATACTATGTAGTAGCAC 1126

Query 121    ATTTCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGGCCGGATTTGTTTCATT 180
Sbjct 1127   ATTTCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGGCCGGATTTGTTTCATT 1186

Query 181    GATATCCTCTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAATATTA AAAAGTCAATTTACTA 240
Sbjct 1187   GATATCCTCTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAATATTA AAAAGTCAATTTACTA 1246

Query 241    TTATATTTATAGGGTAAATTTAACTTTCTTTCCCAACACTTCTTAGGTCTAGCAGGGA 300
Sbjct 1247   TTATATTTATAGGGTAAATTTAACTTTCTTTCCCAACACTTCTTAGGTCTAGCAGGGA 1306

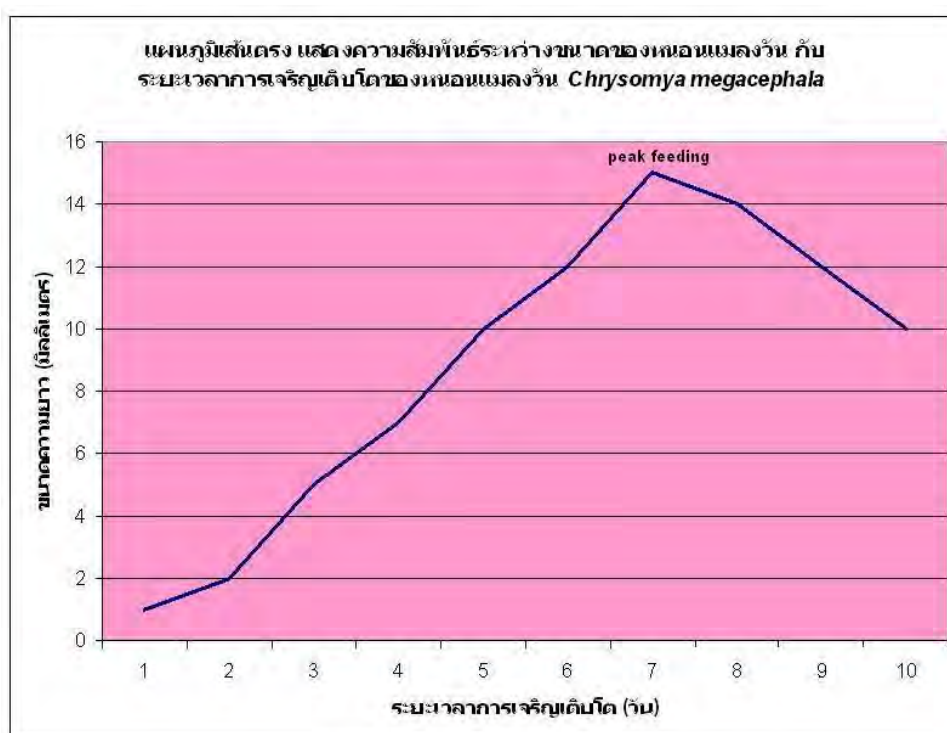
Query 301    TACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 348
Sbjct 1307   TACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATGCTTACACAGCTTGAAATG 1354
```

รูปที่ 4.20 แสดงผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga*

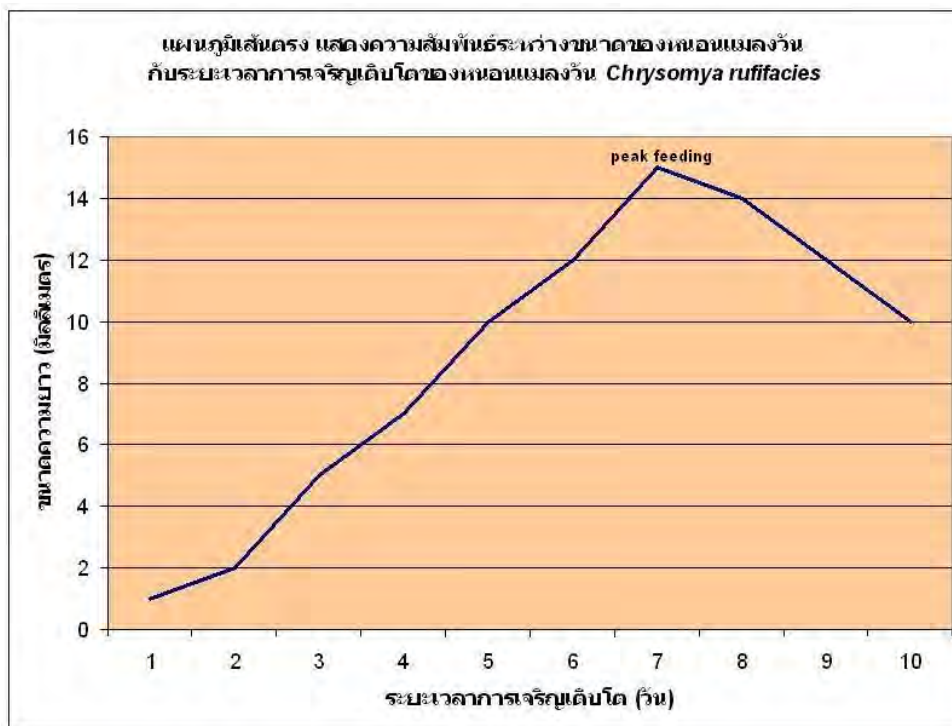
peregrina ที่ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank (EF405928.1)

4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน

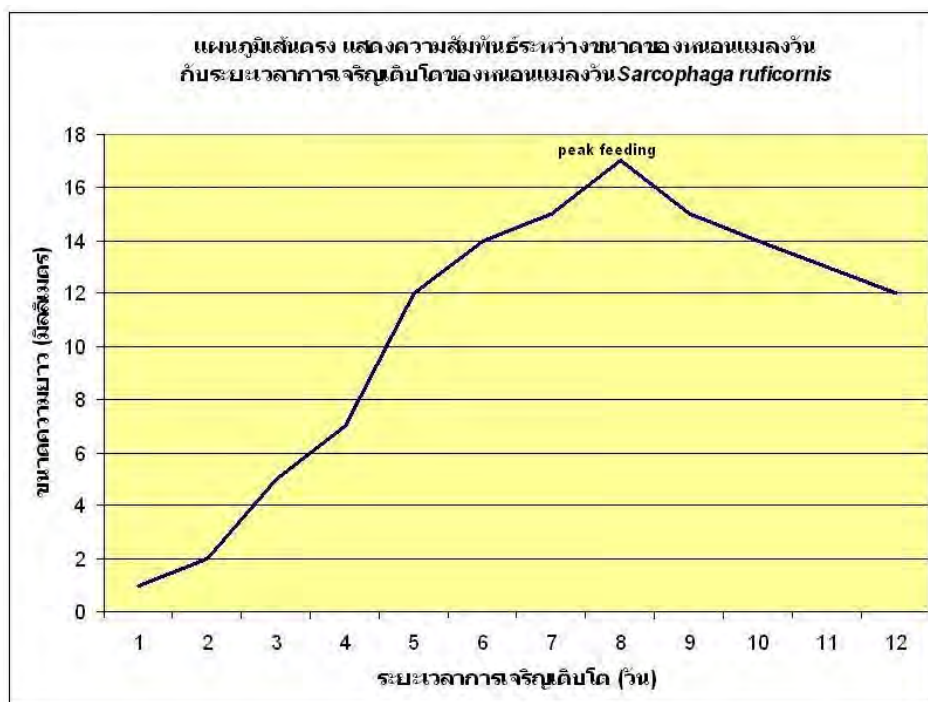
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันที่พบจากศพ ที่ทำการเลี้ยงในตู้ควบคุม ที่มีอุณหภูมิ 33 °C โดยสามารถสร้างกราฟเส้นความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับ ระยะเวลาการเจริญเติบโต ในหนอนแมลง 3 ชนิด ซึ่งเป็นชนิดที่พบได้บ่อย คือ *Chrysomya megacephala* *Chrysomya rufifacies* และ *Sarcophaga ruficornis* ทั้งนี้เพื่อสามารถนำข้อมูลที่จะสามารถพบได้บ่อย นำไปประยุกต์ใช้ในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพที่พบในเขตพื้นที่ประเทศไทยได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.21-4.23



รูปที่ 4.21 แผนภูมิเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน *Chrysomya megacephala*



รูปที่ 4.22 แผนภูมิเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน *Chrysomya rufifacies*



รูปที่ 4.23 แผนภูมิเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของหนอนแมลงวัน กับระยะเวลาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน *Sarcophaga ruficornis*

4.5 แมลงชนิดอื่นที่พบบนศพ

จากการเก็บตัวอย่างแมลงบนศพ ได้ผลการเก็บตัวอย่างแมลงที่พบบนศพนอกเหนือจากแมลงวันจำนวน 4 ศพ ซึ่งมีข้อมูลดังนี้

1. ศพเพศชาย ทราบชื่อ ผูกคอ อยู่ใต้ต้นไม้ ในป่า เขตพื้นที่ อ.กลางดง จ.นครราชสีมา มีผมยาวถึงกลางหลัง ไม่สวมเสื้อผ้า ลักษณะผูกคอ และเสียชีวิตมาเป็นเวลานาน ส่วนร่างกายแห้งเหลือแต่หนังหุ้มกระดูก ส่วนลำคอฉีกตีสืบเพราะเชือกรัด ร่างกายภายในกลวงเพราะถูกแมลงกัดกินญาติแจ้งว่าหายไปจากบ้านประมาณ 2-3 สัปดาห์ แมลงที่พบ คือ Hide beetle (*Dermestes* sp.) ประมาณ 10-20 ตัว Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ประมาณ 10-20 ตัว รวมทั้งหนอนแมลงวันทั่วทั้งร่างกาย



รูปที่ 4.24 แสดงตัวอย่างศพที่ 1 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน โดยแมลงที่พบ คือ Hide beetle (*Dermestes* sp.) ประมาณ 10-20 ตัว Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ประมาณ 10-20 ตัว รวมทั้งหนอนแมลงวันทั่วทั้งร่างกาย

2. ศพเพศชาย ไม่ทราบชื่อ และไม่ทราบสาเหตุการเสียชีวิต ลอยอยู่ในน้ำ พื้นที่ เขต อุดมสุข จ.กรุงเทพมหานคร คาดว่าเนื่องจากลายนํ้ามานานร่างกายเน่ามีเนื้อและหนังติดกระดูกอยู่บางส่วน และพบพืชน้ำติดอยู่ตามศพบางส่วน สวมเสื้อยืดคอปกสีดำ และกางเกงขายาวสีดำ แมลงที่พบคือ หนอนแมลงวัน ประมาณ 5-10 ตัว Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) ประมาณ 5-10 ตัว



รูปที่ 4.25 แสดงตัวอย่างศพที่ 2 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน โดยแมลงที่พบคือ หนอนแมลงวัน ประมาณ 5-10 ตัว Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) ประมาณ 5-10 ตัว

3. ศพเพศชายไม่ทราบชื่อ และไม่ทราบสาเหตุการเสียชีวิต โดยเสียชีวิตในบ้านพัก เขตพื้นที่ อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา เหลือแต่หนังหุ้มกระดูก พบรอยแตกเป็นวงกลมรอยใหญ่ตรงกะโหลกขวา แพทย์ประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตประมาณ 4-5 สัปดาห์ สวมเสื้อยืดสีดำ และกางเกงสีน้ำเงิน แผลงที่พบคือ หนองแมลงวันระยะที่ 3 และ ระยะดักแด้ ตรงกลางลำตัว ประมาณ 30-50 ตัว Hide beetle (*Dermestes sp.*) ประมาณ 5-10 ตัว Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ประมาณ 3-5 ตัว



รูปที่ 4.26 แสดงตัวอย่างศพที่ 3 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนองแมลงวัน โดยแมลงที่พบคือ หนองแมลงวันระยะที่ 3 และ ระยะดักแด้ ประมาณ 30-50 ตัว Hide beetle (*Dermestes sp.*) ประมาณ 5-10 ตัว Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ประมาณ 3-5 ตัว

4. ศพเพศชายไม่ทราบชื่อ โดยพบเป็นชิ้นส่วนโครงกระดูก (เริ่มหลุดร่วง) พร้อมเขี้ยวผูกคอต้อยอยู่บนต้นไม้ในป่า เขตพื้นที่ อ.บางละมุง จ.ชลบุรี คาดว่าเสียชีวิตมานานมากแล้ว พบกระดูกโคนขาขวามีเหล็กตามอยู่ เจ้าหน้าที่สงสัยว่าอาจจะผูกคอตัวเอง หรือโดนฆาตกรรม แพทย์ประมาณว่าเสียชีวิตมานานเป็นปีแล้ว แมลงที่พบคือ Hide beetle (*Dermestes sp.*) ประมาณ 5-10 ตัว Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ประมาณ 3-5 ตัว Hister beetles (*Saprinus sp.*) ประมาณ 5-10 ตัว



รูปที่ 4.27 แสดงตัวอย่างศพที่ 4 ที่มีการพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากหนอนแมลงวัน โดยแมลงที่พบคือ Hide beetle (*Dermestes sp.*) ประมาณ 5-10 ตัว Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ประมาณ 3-5 ตัว Hister beetles (*Saprinus sp.*) ประมาณ 5-10 ตัว

แมลงที่สามารถจำแนกชนิดของสายพันธุ์ได้ทั้ง 4 ชนิดนั้น คือ Black soldier (*Hermetia illucens*), Hide beetle (*Dermestes sp.*), Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) และ Hister beetles (*Saprinus sp.*) แสดงให้เห็นลักษณะ ดังรูปที่ 4.21-4.24 ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนี้



รูปที่ 4.28 แมลง Black soldier fly (*Hermetia illucens*) ระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัย

Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*): ตัวเต็มวัยมีสีดำ มีขนาดประมาณ 15-20 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.21 ปีกมีสีขุ่น ปล้องส่วนท้องมีลักษณะเรียบ ตัวอ่อนมีลักษณะคล้ายลูกกระสุน (torpedo-shaped) ซึ่งผิวหนังของตัวอ่อนมีลักษณะหนาและแข็ง



รูปที่ 4.29 แมลง Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) ระยะตัวเต็มวัย

Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*): ลักษณะแสดงดังรูปที่ 4.22 ตัวเต็มวัยมีขนาดประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ส่วนบนของแมลง (head, thorax, elytra) มีลักษณะแข็งมันวาว สะท้อนแสง สีเขียวเข้ม ส่วนท้องมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนขา มีสีส้มปนน้ำตาล หนวดมีสีเดียวกับขาและมีลักษณะคล้ายกระบอง และมีขนเล็กน้อยด้านข้างลำตัว



รูปที่ 4.30 แมลง Hide beetle (*Dermestes* sp.) ระยะตัวเต็มวัย

Hide beetle (*Dermestes* sp.): ลำตัวกลมรีรูปไข่ ลักษณะดังรูปที่ 4.23 มีขนาดประมาณ 5.5-10.0 มิลลิเมตร ผิวหนังด้านบนมีสีน้ำตาลปนดำ ส่วนด้านล่างมีลักษณะเป็นขนสีขาวอมเหลือง หนวดสั้นเล็กมีลักษณะคล้ายกระบอก



รูปที่ 4.31 แมลง Hister beetles (*Saprinus* sp.) ระยะตัวเต็มวัย

Hister beetles (*Saprinus* sp.): มีลักษณะดังรูปที่ 4.24 แมลงชนิดนี้จะมีเปลือกที่มีลักษณะเป็นมันวาวสะท้อนแสง พบแมลงซ่อนอยู่ใต้ศพในเวลากลางวัน และจะเคลื่อนไหวในเวลากลางคืน เพื่อจะจับหนอนแมลงวันที่อยู่บนตัวศพกินเป็นอาหาร

บทที่ 5

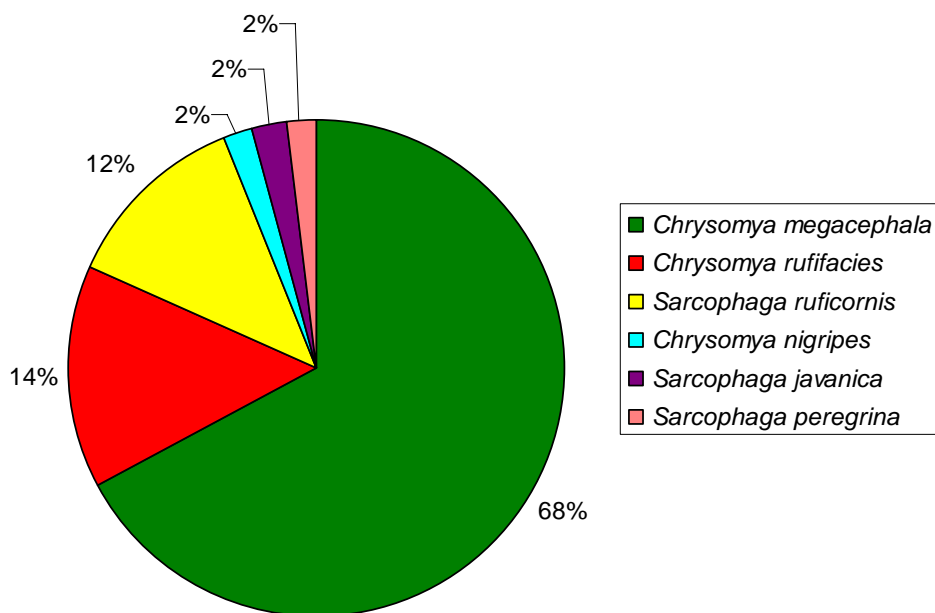
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาชีววิทยาและอนุวิทยาของหนอนแมลงวันบนศพ สามารถสรุปผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัยได้ดังนี้

5.1 ชนิดหนอนแมลงวันที่พบบนศพ

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าหนอนแมลงวันชนิด *Chrysomya megacephala* พบได้มากที่สุด คือ 68% ดังรูปแผนภูมิวงกลม ที่ 5.1 ในขณะที่หนอนแมลงวันชนิดอื่นที่พบได้แก่ *Chrysomya rufifacies*, *Sarcophaga ruficornis*, *Chrysomya nigripes*, *Sarcophaga javanica* และ *Sarcophaga peregrina* ซึ่งพบได้ 14%, 12%, 2%, 2% และ 2% ตามลำดับ ผลการศึกษานี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sucharit และ Tumrasvin ในปี 1981 (Sucharit and Tumrasvin, 1981) ซึ่งได้ทำการสำรวจ ชนิดของแมลงวันตัวเต็มวัยที่พบได้ในประเทศไทย พบว่าเป็นชนิด *Chrysomya megacephala* มากที่สุด และสอดคล้องกับผลการสำรวจชนิดของหนอนแมลงวันบนศพในการศึกษาของ Sukontason และคณะ (Sukontason et al, 2007) พบหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* มากที่สุดเช่นกัน สำหรับการศึกษาหนอนแมลงวันบนศพ ในต่างประเทศนั้น จากการศึกษาของ Lee ในประเทศมาเลเซีย (Lee, 1996) ที่ได้ทำการรวบรวม ข้อมูลชนิดของแมลงต่างๆ ที่พบบนศพในประเทศมาเลเซีย ระหว่างปี 1993 ถึง 1996 พบแมลงวันหัวเขียวมากที่สุด 2 ลำดับคือ *Chrysomya megacephala* และ *Chrysomya rufifacies* ตามลำดับ สำหรับการศึกษาการจำแนกหนอนแมลงวันที่พบบนศพในประเทศไต้หวัน (Chen et al, 2004) พบ 3 ชนิด คือ ตามลำดับ จะเห็นว่า *Chrysomya megacephala* เป็นแมลงวันหัวเขียวที่ชอบตอมสิ่งปฏิกูลและของเน่าเสียซึ่งพบมากในแถบเอเชีย และผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ ผลการศึกษาที่ผ่านมา ส่วนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* พบมากเป็นอันดับ 2 ในประเทศไทย และประเทศมาเลเซีย แต่พบเป็นอันดับ 3 ในประเทศไต้หวัน และแมลงวันชนิด *Chrysomya pinguis* ที่พบเป็นอันดับ 2 ในไต้หวันนั้น ไม่พบในการศึกษานี้

สำหรับแมลงวันหลังลายในการศึกษานี้ พบ 3 ชนิด คือ แต่ชนิด *Sarcophaga ruficornis* เป็นชนิดที่พบมากที่สุดมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sucharit และ Tumrasvin (Sucharit and Tumrasvin, 1981) และการศึกษาของ Sukontason และคณะ (Sukontason et al, 2007) ที่พบแมลงวันหลังลายชนิดดังกล่าวรองลงมาจาก แมลงวันหัวเขียว ชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Chrysomya rufifacies* และการศึกษาในประเทศมาเลเซีย (Lee, 1996) ก็มีการพบแมลงวันหลังลายชนิด *Sarcophaga ruficornis* มากที่สุดเช่นกัน



รูปที่ 5.1 แผนภูมิวงกลม แสดงจำนวนร้อยละ ของชนิดหนอนแมลงวันที่พบบนศพ

จากแผนภูมิวงกลมที่ 5.1 จะเห็นได้ว่าหนอนแมลงวันที่พบได้มากที่สุด 3 ชนิด ในการศึกษาครั้งนี้คือ แมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* (68%), *Chrysomya rufifacies* (14%) และแมลงวันหลังลายชนิด *Sarcophaga ruficornis* (12%) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวเป็น เป็นตัวชี้วัดเป็นอย่างดีถึงความสำคัญในการศึกษาถึงการเจริญเติบโตของแมลงวันชนิดดังกล่าว เพื่อนำมาใช้ในการเขียนกราฟการเจริญเติบโต และนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นฐานข้อมูลหลักของประเทศไทย ในการเปรียบเทียบระยะเวลาของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ และนำไปสู่การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต สำหรับผลการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันที่พบบ่อยที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้มีข้อมูลงานวิจัยที่สนับสนุนถึงความสำคัญของแมลงวันชนิดดังกล่าวคือ บทความของ Siriyasatien และ Sirisup (Siriyasatien and Sirisup, 2005) ที่ได้กล่าวถึงการประมาณเวลาการตายโดยอาศัยข้อมูลวงจรชีวิตของแมลงวันบนศพ โดยระบุถึงแมลงวันที่มีบทบาทมากที่สุดก็คือ แมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ คือ หนอนแมลงวันที่พบบนศพมากที่สุดก็คือ หนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* เช่นเดียวกัน แสดงว่าการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มีความถูกต้อง เชื่อถือได้ และมีความสอดคล้องกับผลของงานวิจัยที่มีก่อนหน้านี้ นอกเหนือจากบทความดังกล่าว ยังมีรายงานของ Sukontason และคณะ (Sukontason et al, 2005) ซึ่งเป็นรายงานแรกที่กล่าวถึง การนำความรู้ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในการชันสูตรศพ เป็นครั้งแรกในประเทศไทย เป็นกรณีที่พบหนอนแมลงวันบนศพที่ลอยน้ำอยู่ โดยพบหนอนแมลงวันระยะที่ 3 ของหนอนแมลงวัน 2

ชนิด คือ แมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Chrysomya rufifacies* และผลการชันสูตรศพดังกล่าวพบว่า เสียชีวิตมาแล้วประมาณ 7 วัน โดยอาศัยข้อมูลจากหนอนแมลงวันดังกล่าวที่พบบนศพ ซึ่งชนิดของหนอนแมลงวันที่ได้รายงานนั้น เป็นหนอนแมลงวันที่พบบนศพมากที่สุดเป็น 2 อันดับแรกในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ด้วย ซึ่งจากงานวิจัยที่ได้กล่าวถึงมานี้ เป็นตัวช่วยยืนยันความสำคัญของแมลงวันในการช่วยเป็นข้อมูลในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพได้อย่างดี

5.2 ความสัมพันธ์ของชนิดของแมลงวัน และข้อมูลของศพ

จากผลการศึกษาถึงจำนวนศพที่พบหนอนแมลงวันในแต่ละจังหวัดในการศึกษานี้ จำนวน 18 จังหวัด (ภาคผนวก) พบว่าจังหวัดที่มีการพบหนอนแมลงวันบนศพมากที่สุดคือ จังหวัดสมุทรปราการ (10 ศพ) จังหวัดกรุงเทพมหานคร (9 ศพ) และจังหวัดกาญจนบุรี (4 ศพ) ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 5.1 ซึ่งจังหวัดสมุทรปราการ เป็นจังหวัดที่พบหนอนแมลงวันบนศพมากที่สุดโดยศพที่พบหนอนแมลงวันส่วนใหญ่เสียชีวิตโดยไม่ทราบสาเหตุ (50%) มีลักษณะการเสียชีวิตในบ้านที่อยู่ในเขตเมือง (80%) และหนอนแมลงวันชนิดที่พบมากที่สุดคือ หนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* ซึ่งผลของชนิดของหนอนแมลงวันที่พบบนศพดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้กล่าวมาก่อนหน้านี้

จากข้อมูลการพบหนอนแมลงวันบนศพในแต่ละศพ จะพบว่า มีศพที่สามารถพบหนอนแมลงวันได้มากกว่า 1 ชนิด ซึ่งจะพบหนอนแมลงวันได้ 1-3 ชนิด โดยศพที่พบหนอนแมลงวัน 3 ชนิด มี 1 ศพ ซึ่งเป็นศพที่พบในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และศพที่พบหนอนแมลงวันบนศพจำนวน 2 ชนิด มี 6 ศพ ซึ่งเป็นศพที่พบในจังหวัดสมุทรปราการ 2 ศพ จังหวัดกรุงเทพมหานคร 1 ศพ จังหวัดฉะเชิงเทรา 1 ศพ จังหวัดนครราชสีมา 1 ศพ และจังหวัดสระบุรี 1 ศพ ส่วนในศพอื่นๆ นอกเหนือจากนี้ พบหนอนแมลงวัน 1 ชนิด ดังแสดงให้เห็นใน ตารางที่ 5.1

ลำดับที่	จังหวัด	จำนวนศพ	หนอนแมลงวันที่พบบนศพ
1	สมุทรปราการ	10	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Sarcophaga ruficornis</i> <i>Chrysomya rufifacies</i>
2	กรุงเทพมหานคร	9	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Chrysomya rufifacies</i> <i>Sarcophaga ruficornis</i>
3	กาญจนบุรี	4	<i>Chrysomya megacephala</i>
4	ฉะเชิงเทรา	3	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Chrysomya rufifacies</i>
5	ชลบุรี	3	<i>Chrysomya megacephala</i>
6	ลพบุรี	3	<i>Chrysomya megacephala</i>
7	ตราด	2	<i>Chrysomya megacephala</i>
8	นครราชสีมา	2	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Chrysomya rufifacies</i>
9	สระแก้ว	2	<i>Chrysomya nigripes</i> <i>Sarcophaga javanica</i>
10	สระบุรี	2	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Sarcophaga ruficornis</i>
11	สุพรรณบุรี	2	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Chrysomya rufifacies</i>
12	ชัยนาท	1	<i>Chrysomya megacephala</i>
13	ชัยภูมิ	1	<i>Sarcophaga peregrine</i>
14	ประจวบคีรีขันธ์	1	<i>Chrysomya megacephala</i> <i>Chrysomya rufifacies</i> <i>Sarcophaga ruficornis</i>
15	พระนครศรีอยุธยา	1	<i>Chrysomya megacephala</i>
16	เพชรบุรี	1	<i>Chrysomya megacephala</i>
17	ระยอง	1	<i>Chrysomya megacephala</i>
18	สมุทรสาคร	1	<i>Chrysomya megacephala</i>

ตารางที่ 5.1 แสดงจังหวัดที่มีการพบหนอนแมลงวันบนศพ และจำนวนศพที่พบในแต่ละจังหวัด

จากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นของศพ และการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันบนศพ ทำให้สามารถสรุปตารางแสดงลักษณะการตายของศพ และชนิดของหนอนแมลงวันที่พบในแต่ละศพ โดยเรียงลำดับตามจังหวัดที่พบศพ ดังนี้

ที่	จังหวัดที่พบศพ	เพศ	จมน้ำ	บาดแผล	สวมเสื้อผ้า	ชนิดของหนอนแมลงวัน
1	กรุงเทพมหานคร	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. ruffacies</i>
2	กรุงเทพมหานคร	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>S. ruficornis</i>
3	กรุงเทพมหานคร	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>S. ruficornis</i>
4	กรุงเทพมหานคร	หญิง	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
5	กรุงเทพมหานคร	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
6	กรุงเทพมหานคร	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
7	กรุงเทพมหานคร	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
8	กรุงเทพมหานคร	หญิง	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>S. ruficornis</i>
9	กรุงเทพมหานคร	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
10	กาญจนบุรี	หญิง	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
11	กาญจนบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
12	กาญจนบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
13	กาญจนบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
14	ฉะเชิงเทรา	ชาย	จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>C. ruffacies</i>
15	ฉะเชิงเทรา	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
16	ฉะเชิงเทรา	หญิง	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
17	ชลบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
18	ชลบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
19	ชลบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
20	ชัยนาท	ชาย	จมน้ำ	มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
21	ชัยภูมิ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>S. peregrina</i>
22	ตราด	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>

ที่	จังหวัดที่พบศพ	เพศ	จมน้ำ	บาดแผล	สวมเสื้อผ้า	ชนิดของหนอนแมลงวัน
23	ตราด	หญิง	จมน้ำ	มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
24	นครราชสีมา	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>C. rufifacies</i>
25	นครราชสีมา	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
26	ประจวบคีรีขันธ์	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>C. rufifacies</i> <i>S. ruficornis</i>
27	พระนครศรีอยุธยา	หญิง	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
28	เพชรบุรี	ชาย	จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
29	ระยอง	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
30	ลพบุรี	ชาย	จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
31	ลพบุรี	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
32	ลพบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
33	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>C. rufifacies</i>
34	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>S. ruficornis</i>
35	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
36	สมุทรปราการ	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
37	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>S. ruficornis</i>
38	สมุทรปราการ	หญิง	จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
39	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
40	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
41	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. rufifacies</i>
42	สมุทรปราการ	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>S. ruficornis</i>
43	สมุทรสาคร	ชาย	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
44	สระแก้ว	ชาย	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>S. javanica</i>

ที่	จังหวัดที่พบศพ	เพศ	จมน้ำ	บาดแผล	สวมเสื้อผ้า	ชนิดของหนอนแมลงวัน
45	สระแก้ว	หญิง	จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. nigripes</i>
46	สระบุรี	หญิง	ไม่จมน้ำ	มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
47	สระบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i> <i>S. ruficornis</i>
48	สุพรรณบุรี	หญิง	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	ไม่สวมเสื้อผ้า	<i>C. megacephala</i>
49	สุพรรณบุรี	ชาย	ไม่จมน้ำ	ไม่มีบาดแผล	สวมเสื้อผ้า	<i>C. rufifacies</i>

ตารางที่ 5.2 แสดงลักษณะการตายของศพ และชนิดของหนอนแมลงวันที่พบในแต่ละศพ

จากผลของข้อมูลลักษณะการตายของศพ ดังแสดงในตารางที่ 5.2 พบว่าความแตกต่างของลักษณะสภาพแวดล้อมของแต่ละศพ เช่น ลักษณะการมีบาดแผลของศพ การสวมเสื้อผ้าของศพ และการจมน้ำของศพ ได้ผลชนิดของหนอนแมลงวันบนศพไม่แตกต่างกัน และจะสามารถพบหนอนแมลงวันชนิดเดียวกันได้ โดยพบหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* มากที่สุด รองลงมาคือ หนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya rufifacies* และหนอนแมลงวันหลังลายชนิด *Sarcophaga ruficornis* ตามลำดับ

ข้อมูลของลักษณะสภาพแวดล้อมของศพที่พบหนอนแมลงวัน มีจุดที่น่าสนใจคือ ลักษณะของศพที่พบอยู่ในน้ำ เนื่องจากศพที่พบอยู่ในน้ำจะทำให้การประมาณเวลาการตายล่าช้ากว่าปกติประมาณ 24 ชั่วโมง (Gennard, 2007) โดยจากการศึกษานี้พบว่ามีการพบศพที่แช่น้ำอยู่จำนวน 16 ศพ จากทั้งหมด 49 ศพ (33%) โดยหนอนแมลงวันจากศพที่แช่น้ำอยู่ เป็นหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* จำนวน 14 ศพ จากศพที่แช่อยู่ในน้ำทั้งหมด 16 ศพ (88%) แสดงให้เห็นว่า หนอนแมลงวันชนิดดังกล่าวมีความสำคัญมากต่อการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต ในกรณีที่พบศพแช่อยู่ในน้ำ

5.3 ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์หนอนแมลงวันแต่ละชนิดที่พบบนศพ

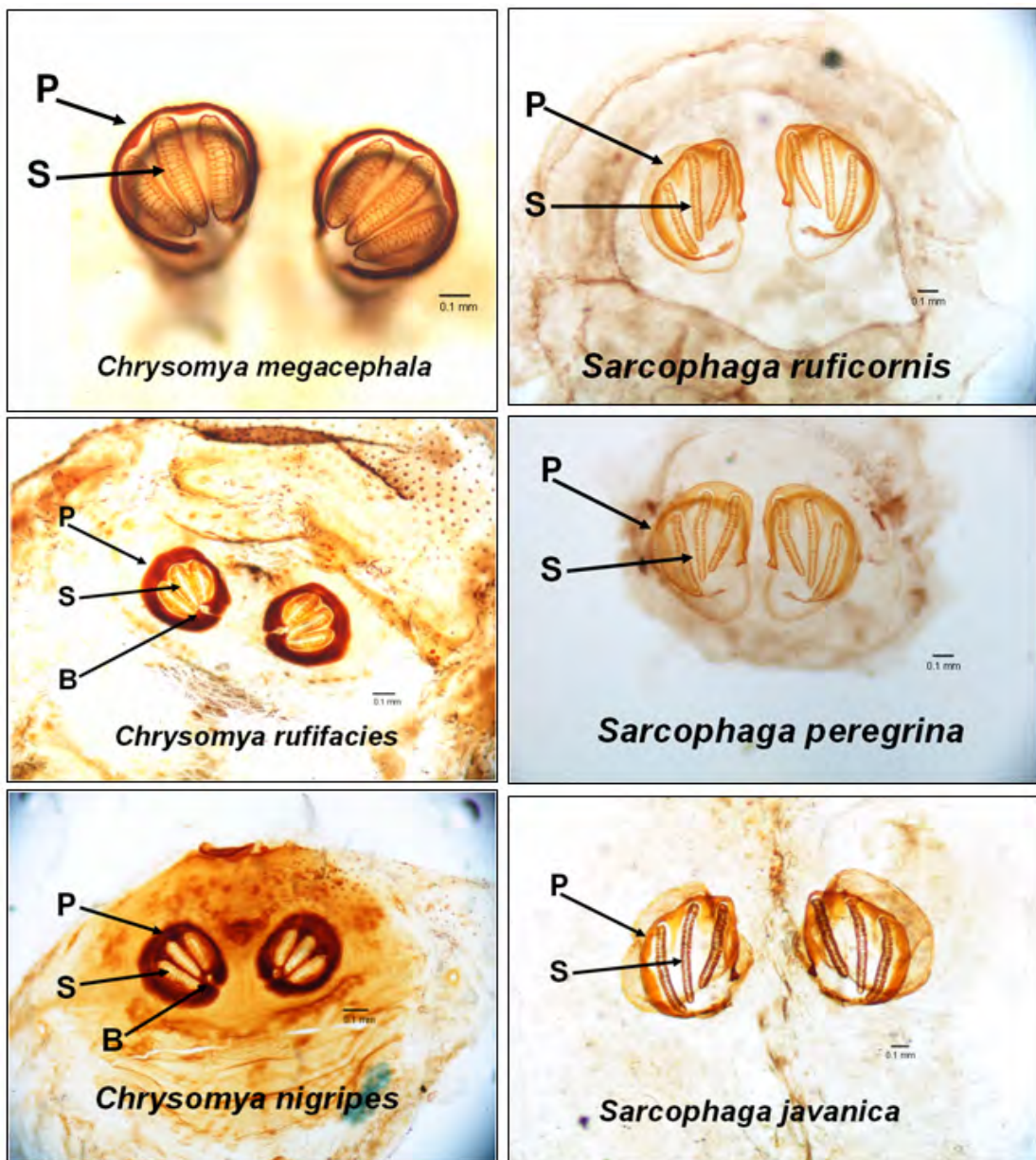
จากผลการศึกษาหนอนแมลงวันแต่ละชนิดที่พบบนศพ จากข้อมูลได้พบว่า มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญเติบโต และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน cytochrome oxidase ของหนอนแมลงวันแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน และจากการศึกษารายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (ภาคผนวก) พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ

หนอนแมลงวันส่วนใหญ่ (DQ119587.1, DQ328666.1, AY842620.1 และ EF405941.1) มีความคล้ายกัน 99% ยกเว้นหนอนแมลงวันหลังลาย 2 ชนิด คือ *Sarcophaga javanica* และ *Sarcophaga peregrina* ซึ่งมีความคล้ายของลำดับนิวคลีโอไทด์ในการศึกษาครั้งนี้กับฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ใน GeneBank (EF405926.1 และ EF405928.1) จำนวน 97% และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank มีแหล่งที่มาจากบริเวณที่ต่างกัน คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* (DQ119587.1) เป็นข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาในประเทศอินเดีย ลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya rufifacies* (DQ328666.1) เป็นข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาในประเทศจีน และลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya nigripes* (AY842620.1) เป็นข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาในประเทศออสเตรเลีย และลำดับนิวคลีโอไทด์ของหนอนแมลงวันหลังลายชนิด *Sarcophaga ruficornis* (EF405941.1), *Sarcophaga javanica* (EF405926.1) และ *Sarcophaga peregrina* (EF405928.1) เป็นข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาในประเทศมาเลเซีย ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวได้แสดงถึงความจำเพาะในพื้นที่ที่แมลงวันที่สามารถพบได้พบศพ เป็นชนิดที่มีการกระจายตัวเฉพาะในแถบพื้นที่ทวีปเอเชียเป็นส่วนใหญ่ โดยพบในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เป็นสำคัญ ยกเว้นเพียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya rufifacies* (DQ328666.1) เท่านั้นที่เป็นข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาในประเทศจีน ทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ว่าการศึกษาถึงชนิดของหนอนแมลงวันที่พบบนศพนั้น จำเป็นต้องทำการศึกษาอย่างจำเพาะในพื้นที่แต่ละประเทศ เพราะปัจจัยหลักที่สำคัญในการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของแมลงวันแต่ละชนิด คือสภาพภูมิอากาศ และสภาพภูมิประเทศในแต่ละพื้นที่ ซึ่งการศึกษาชีววิทยาและอนุวิทยาของหนอนแมลงวันบนศพ รวมถึงความรู้ทางนิติภูมิวิทยา ทำให้ทราบถึงการนำข้อมูลของหนอนแมลงวันจากศพ มาใช้ประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพในการชันสูตรพลิกศพ และการศึกษาวิจัยนี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญเกี่ยวกับหนอนแมลงวันที่พบบนศพในประเทศไทย ซึ่งได้ระบุถึง ชนิดของหนอนแมลงวันที่พบได้บนศพ ข้อมูลการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน และลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ของหนอนแมลงวัน ที่จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญ ในการประยุกต์เทคนิคทางอนุวิทยา มาใช้ในงานทางด้านนิติภูมิวิทยาในอนาคต

5.4 แนวทางการวิเคราะห์ ชนิดของหนอนแมลงวันบนศพ

จากการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหนอนแมลงวันโดยสังเกตจากลักษณะ posterior spiracle ของหนอนแมลงวันที่พบบนศพ ดังรูปที่ 5.3 แสดงให้เห็นได้ว่าการจำแนกชนิด

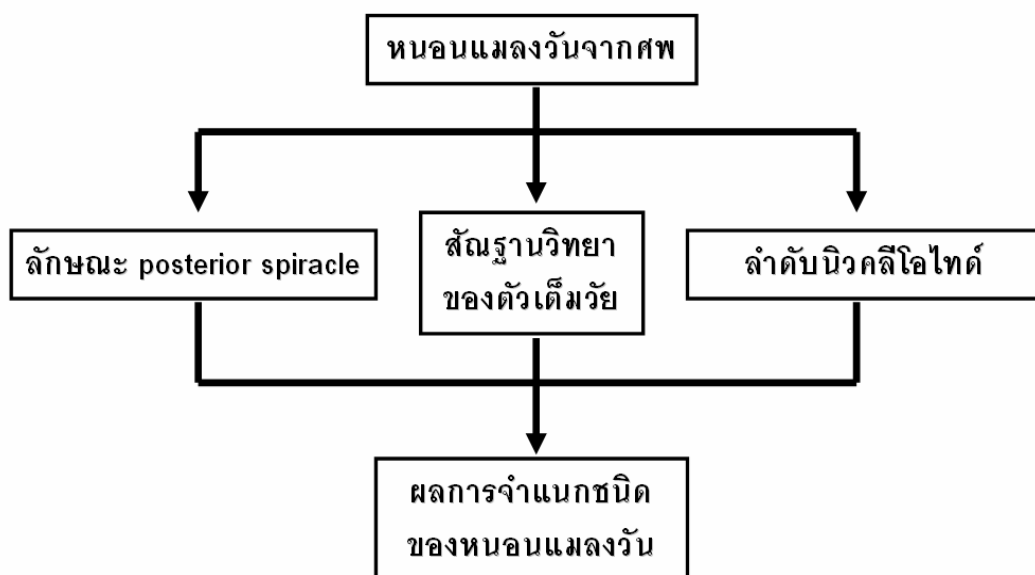
ของหนอนแมลงวันโดยอาศัยลักษณะ posterior spiracle เพียงอย่างเดียวนั้น ไม่สามารถระบุถึงชนิดโดยละเอียดได้ จากรูปจะเห็นว่า หนอนแมลงวันใน genus เดียวกัน มีความคล้ายคลึงกันในลักษณะของ posterior spiracle เป็นอย่างมาก ยกตัวอย่างเช่น ระหว่างหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya rufifacies* กับ *Chrysomya nigripes* และระหว่างหนอนแมลงวันหลังลายชนิด *Sarcophaga ruficornis* กับ *Sarcophaga peregrina* และ *Sarcophaga javanica* เป็นต้น ทำให้สามารถจำแนกได้เพียงคร่าวๆเท่านั้น จึงจำเป็นต้องอาศัยการศึกษาด้านอื่นด้วย



รูปที่ 5.2 แสดงลักษณะของ posterior spiracle ของหนอนแมลงวันทั้ง 6 ชนิด จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

สำหรับการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาของแมลงวันตัวเต็มวัย ที่ได้จากการเลี้ยงหนอนแมลงวันที่เก็บจากศพจนกลายเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งการศึกษาในด้านนี้มีความแม่นยำเป็นอย่างมาก แต่มีความจำเป็นต้องอาศัยนักกีฏวิทยาผู้วิเคราะห์ที่มีความชำนาญมากในด้านสรีรวิทยาของแมลงวันตัวเต็มวัย และอาจจะไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ถ้าหากหนอนแมลงวันที่ทำการเลี้ยงเสียชีวิตก่อนที่จะกลายเป็นตัวเต็มวัย รวมทั้งการศึกษาด้านนี้ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์เนื่องจากจำเป็นต้องทำการเลี้ยงหนอนแมลงวันจนกลายเป็นตัวเต็มวัยซึ่งต้องอาศัยระยะเวลาสำหรับการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดในด้านอณูวิทยาของหนอนแมลงวัน การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA บนยีน cytochrome oxidase เป็นวิธีการที่มีความแม่นยำในการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันมากที่สุด มีความรวดเร็วกว่า 2 วิธีข้างต้นมาก แต่วิธีการนี้ มีค่าใช้จ่ายสูง และต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างมาก เพราะ DNA มีการสลายตัวได้ง่าย รวมทั้งเป็นวิธีที่มีความไวสูง ทำให้สามารถเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ซึ่งถ้าหากเกิดการปนเปื้อนก็จะทำให้เกิดการวิเคราะห์ที่ผิดพลาดได้

จากวิธีการวิเคราะห์ชนิดของหนอนแมลงวันดังกล่าวข้างต้น ทำให้สามารถสรุปแนวทางของวิธีการวิเคราะห์ ดังแสดงในรูปที่ 5.4 เพื่อจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันให้ได้ผลที่มีความแม่นยำ และเที่ยงตรงมากที่สุด โดยจำเป็นต้องอาศัยการศึกษาทั้ง 3 วิธีการควบคู่กัน คือ การศึกษาทางด้านสรีรวิทยาของหนอนแมลงวันโดยอาศัยลักษณะของ posterior spiracle รวมถึงการศึกษาทางสรีรวิทยาของแมลงวันตัวเต็มวัย ที่ได้จากการเลี้ยงหนอนแมลงวันในห้องทดลองจนกลายเป็นตัวเต็มวัย และการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA บนยีน cytochrome oxidase เมื่อได้ผลของการศึกษาทั้ง 3 วิธี จึงนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์เพื่อสรุปผลของการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันที่ได้จากศพ โดยผลของการศึกษาที่ได้ทั้ง 3 วิธี จะต้องได้ผลที่สอดคล้องกัน เพื่อนำผลสรุปของการจำแนกชนิดมาเปรียบเทียบกับข้อมูลการเจริญเติบโต ซึ่งจะนำไปสู่การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพที่ใกล้เคียงกับเหตุการณ์จริงมากที่สุด



รูปที่ 5.3 สรุปแนวทางของวิธีการวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันจากศพ

5.5 แมลงชนิดอื่นที่พบบนศพ

จากการเก็บตัวอย่างแมลงบนศพพบว่า นอกจากหนอนแมลงวันแล้วยังพบแมลงชนิดอื่นนอกเหนือจากแมลงวัน ซึ่งเป็นแมลงที่จะพบได้บนศพที่เสียชีวิตมาเป็นเวลานานกว่า 3 สัปดาห์ คือ Black soldier (*Hermetia illucens*) Hide beetle (*Dermestes sp.*) Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) และ Hister beetles (*Saprinus sp.*) โดยเฉพาะแมลง Black soldier (*Hermetia illucens*) จะพบได้ว่าลักษณะโดยทั่วไปของตัวหนอนแมลงชนิดนี้จะเป็นระยะที่เติบโตในน้ำ จึงทำให้พบแมลงชนิดนี้อยู่บนศพที่จมน้ำ ผลของการพบแมลงชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากแมลงวันที่พบบนศพจากการศึกษาในครั้งนี้ มีความสอดคล้องกับผลของการศึกษาของ Lee ที่ได้กล่าวถึงแมลงที่พบบนศพ โดยแมลง Black soldier (*Hermetia illucens*) Hide beetle (*Dermestes sp.*) Red-Legged Ham Beetle (*Necrobia rufipes*) และ Hister beetles (*Saprinus sp.*) ได้มีรายงานการพบบนศพในประเทศมาเลเซียเช่นเดียวกัน (Lee, 1996) เนื่องจากสภาพภูมิประเทศ และสภาพภูมิอากาศ ซึ่งเป็นปัจจัยหลักในการเจริญเติบโตของแมลงที่พบบนศพระหว่างประเทศไทยกับประเทศมาเลเซีย มีความคล้ายคลึงกัน ทำให้ผลการพบชนิดของแมลงบนศพมีความคล้ายคลึงกันด้วย และจากการศึกษานี้พบว่าในช่วงปลายของการเสียชีวิตของศพ จะมีการพบแมลงวันน้อยมาก แต่จะมีการพบแมลงชนิดอื่น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกจะเป็นแมลงจำพวกตัวหนังสือสัตว์ที่เข้ามากินซากศพ และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มของแมลงนักล่า เช่น แมลงเต่าทอง ที่เข้ามา

กินนอนแมลงวัน หรือแมลงชนิดอื่น ที่อยู่บนศพ จากข้อมูลการวิเคราะห์ข้างต้นจะช่วยให้ผู้ทำการเก็บตัวอย่างแมลงบนศพ สามารถวางแผนการเก็บตัวอย่างแมลงบนศพได้อย่างถูกต้อง ส่งผลให้ผู้ทำการชันสูตรศพ สามารถทำการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตได้ใกล้เคียงเหตุการณ์จริงมากที่สุด

5.6 ข้อเสนอแนะ

ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้ เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถจะนำไปประยุกต์ใช้ในการชันสูตรพลิกศพ โดยสามารถแยกกลุ่มแมลงวันเป็นกลุ่มของแมลงวันหัวเขียว และกลุ่มของแมลงวันหลังลาย และใช้ประมาณระยะเวลาการตาย (PMI) ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ อย่างไรก็ตามหากต้องการจำแนก species ของนอนแมลงวัน โดยเฉพาะแมลงวันหลังลาย ยังมีข้อจำกัดอยู่เนื่องจากลักษณะทาง สัณฐานวิทยาของนอนแมลงวันหลังลาย มีความคล้ายคลึงกันมาก ทำให้ยากแก่การวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางอนุวิธานมาประกอบกันในการจำแนก species และข้อมูลของแหล่งที่พบแมลงวันแต่ละ species ยังมีอยู่จำกัดเนื่องจากในการศึกษานี้ ทำการศึกษาเพียง 49 ตัวอย่าง การที่จะนำมาเป็นข้อมูลสนับสนุนว่าศพได้มีการเคลื่อนย้ายจากแหล่งหนึ่งไปยังอีกแหล่งหนึ่ง จึงยังไม่สามารถทำได้ ดังนั้นในอนาคตจึงควรมีการศึกษาถึงชนิดของแมลงวันในแต่ละพื้นที่เพื่อนำมาเป็นข้อมูลประกอบ และควรทำการศึกษา กลุ่มตัวอย่างของศพให้ครอบคลุมพื้นที่มากกว่านี้

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา พ.ศ. 2477

ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญาแก้ไขเพิ่มเติม (ฉบับที่ 21) พ.ศ. 2542

พิสัย ทรัพย์วิเชียร. 2534. *ปรสิตวิทยาทางการแพทย์*. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สัมฤทธิ์ สิงห์อาษา. 2537. *กีฏวิทยา-อะคาไรวิทยา การแพทย์และสัตว์แพทย์*. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุรางค์ นุชประยูร จินตนา จิรถาวร และ ฤทธิงูญา หิรัญกาญจน์. 2546. *เวชศาสตร์โมเลกุล*. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Adams Z. J. O. and Hall M. J. R. 2003. Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effects on post-mortem larval length. *Forensic Science International*. 138: 50 -61.

Amendt J., Krettek R., Niess C., Zehner R. and Bratzke H. 2000. Forensic Entomology in Germany. *Forensic Science International*. 113: 309 -314.

Amendt J., Krettek R. and Zehner R. 2004. Forensic Entomology. *Naturwissenschaften* 91: 51 -65.

Ames C. and Turner B. 2003. Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. *Medical and Veterinary Entomology*. 17: 178 -186.

Anderson G. S. 1997. The use of insects to determine time of decapitation: A case-study from British Columbia. *Journal of Forensic Sciences*. 42 (5): 947 -950.

Anderson G. S. 1995. The use of insects in death investigations: an analysis of forensic entomology cases in British Columbia over a five year period. *Canadian Society of Forensic Sciences Journal*. 28 (4): 277 -292.

Anderson G. S. 2001. Forensic entomology in British Columbia: a brief history. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*. 98: 127 -135.

- Archer M. A. and Wallman J. F. 2002. A new distribution record from Victoria for the blowfly, *Chrysomya incisuralis* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). *Proceedings of the Royal Society of Victoria*. 114: 59 -60.
- Arnaldos M. I., Garcia M. D., Romera E., Presa J. J. and Luna A. 2005. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International*. 149: 57 -65.
- Baumgartner D. L. and Greenberg B. 1984. The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the new world. *Journal of Medical Entomology* 21 (1): 105 -113.
- Baumgartner D. L. 1993. Review of *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) *Journal of Medical Entomology*. 30: 338 -352.
- Benecke M. 2004. Forensic Entomology Special Issue. *Anil Aggrawal's Internet Journal for Forensic Medicine and Toxicology*. 5 (1): 1 -59.
- Benecke M. 2001. A Brief History of Forensic Entomology. *Forensic Science International*. 120: 2 -14.
- Benecke M. 2001. Forensic entomology: The Next Step. *Forensic Science International*. 120: 1.
- Byrd J. H. and Butler J. F. 1997. Effects of temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology*. 34 (3): 353 -358.
- Byrd J. H. and Butler J. F. 1996. Effects of temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology*. 33 (6): 901 -905.
- Byrd J. H. and Butler J. F. 1998. The Effects of Temperature on *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Diptera: Sarcophagidae) Development. *Journal of Medical Entomology*. 35 (5): 694 -698.
- Byrd J. H. and Castner J. L. 2000. *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Inc.
- Campobasso C. P., Di Vella G. and Introna F. Jr. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*. 120: 18 -27.

- Campobasso C. P., Linville J., Wells J. and Introna F. 2005. Forensic Genetic Analysis of Insect Gut Contents. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 26 (2): 161 -165.
- Carter D. O., Yellowlees D. and Tibbett M. 2007. Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. *Naturwissenschaften*. 94 (1): 12 -24.
- Carvalho L. M. L. and Linhares A. X. 2001. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in Southeastern Brazil. *Journal of Forensic Sciences*. 46: 604 -608.
- Carvalho L. M. L., Thyssen P. J., Goof M. L. and Alinhares X. 2004. Observations on the Succession Patterns of Necrophagous Insects on a Pig Carcass in a Urban Area of Southeastern Brazil. *Anil Aggarwal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*. 5 (1): 33 -39.
- Catts E. P. 1992. Problems in estimating the postmortem interval in death investigations. *Journal of Agricultural Entomology*. 9 (4): 245 - 255.
- Catts E. P. and Goff M. L. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology*. 37: 253 -272.
- Centeno N., Maldonado M. and Oliva A. 2002. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Science International*. 126: 63 -70.
- Chen W. Y., Hung T. H. and Shiao S. F. 2004. Molecular identification of forensically important blow fly species (Diptera: Calliphoridae) in Taiwan. *J Med Entomol*. 41 (1): 47.
- Dadour I. R., Cook D. F., Fissioli J. N. and Bailey W. J. 2001. Forensic entomology: application, education and research in Western Australia. *Forensic Science International*. 120: 48 -52.
- Davidson J. 1942. On speed of development of insect eggs at constant temperatures. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci*. 20: 233 -239.
- Davis W. T. 1928. *Lucilia* flies anticipating death. *Bulletin of the Brooklyn Entomological Society*. 23: 118.
- Devinder S. and Meenakshi B. 2000. Forensically important blow flies (Diptera: Calliphoridae) of Punjab (India). *Uttar Pradesh Journal of Zoology*. 20: 249-251.

- Di Maio D. J. and Di Maio V. J. M. 2001. *Forensic pathology*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press LLC.
- Dunn L. H. 1916. *Hermetia illucens* breeding in a human cadaver. *Entomological News*. 27: 59 -61.
- Easton A. M. and Smith K. G. V. 1970. The entomology of the cadaver. *Medicine, Science and the Law*. 10: 208 -215.
- Erzinclioglu Y. Z. 1983. The application of entomology to forensic medicine. *Medicine, Science and the Law*. 10: 208 -215.
- Erzinclioglu Z. 1989. Entomology and the forensic scientist: how insects can solve crimes. *Journal of Biology and Education*. 23: 300 -302.
- Gennard D. E. 2007. *Forensic entomology: an introduction*. Chichester, England: John Wiley and Sons Ltd.
- Goddard J. 2007. *Physician's Guide to Arthropods of Medical Importance*. 5^{Ed}. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor and Francis Group.
- Goff M. L. 2003. The maggot and the law. In: *Being Human: science, culture and fear*. The Royal Society of New Zealand, Miscellaneous Service 63: 45 -51.
- Goff M. L. and Flynn M. M. 1991. Determination of postmortem interval by arthropod succession: A case study from the Hawaiian Islands. *Journal of Forensic Sciences*. 36 (2): 607 -614.
- Goff M. L. 1993. Estimation of the postmortem interval using arthropod development and successional patterns. *Forensic Science Review*. 5: 81 -94.
- Goff M. L., Omori A. I. and Gunatilake K. 1988. Estimation of postmortem interval by arthropod succession. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 9 (3): 220 -225.
- Grassberger M. 2003. Temperature-related development of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* as forensic indicator. *Medical and Veterinary Entomology*. 17: 257.
- Grassberger M. and Reiter C. 2001. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Science International*. 120: 32 -36.

- Grassberger M., Friedrich E. and Reiter C. 2003. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International Journal of Legal Medicine*. 117: 75 -81.
- Greenberg B. and Kunich JC. 2002. *Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Greenberg B. 1971. *Flies and Disease Volume I: Ecology, Classification and Biotic Association*. Princeton (NJ): Princeton University Press.
- Greenberg B. 1973. *Flies and Disease Volume II: Biology and Disease Transmission*. Princeton (NJ): Princeton University Press.
- Greenberg B. 1991. Flies as forensic indicators. *Journal of Medical Entomology*. 28(5): 565 -577.
- Haglund, W. D. and Sorg, M. H. 1996. *Forensic Taphonomy: the postmortem fate of human remains*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Inc.
- Hall M. J. and Amendt J. 2007. Forensic Entomology: Scientific foundations and applications. Proceedings of the 6th International Congress of the Baltic Medico-Legal Association. New Technologies in Forensic Medicine. *Forensic Sci. Int.* 169 (1): S27.
- Harbers E. 1969. On the discovery of DNA by Friedrich Miescher 100 years ago. *Ger Med Mon.* Oct; 14 (10):517 -518.
- Hart A. J. and Whitaker A.P. 2006. Forensic Entomology: insect activity and its role in the decomposition of human cadavers. *Antenna* 2006; 30 (4): 159 -164.
- Harvey M. L., Dadour I. R. and Gaudieri S. 2003. Mitochondrial DNA cytochrome oxidase I gene: potential for distinction between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in western Australia. *Forensic Science International*. 131: 134 -139.
- Harvey M. L., Gaudieri S., Villet M. H. and Dadour I. R. 2008. A global study of forensically significant calliphorids: Implications of Identification. *Forensic Sci. Int.* 177: 66 -76.
- Hobischak N. R. and Anderson G. S. 2002. Time of submergence using aquatic invertebrate succession and decompositional changes. *Journal of Forensic Sciences*. 47: 142 -151.

- Introna F. J., Campobasso C. P. and Di-Fazio A. 1998. Three case studies in forensic entomology from southern Italy. *Journal of Forensic Sciences*. 43 (1): 210 -214.
- Jiron L. F. and Cartin V. M. 1981. Insect succession in the decomposition of a mammal in Costa Rica. *New York Entomological Society*. 89:158 -165.
- Keh B. 1985. Scope and applications of forensic entomology. *Annual Review of Entomology*. 30: 137 -54.
- Kirkpatrick R. S. and Olson J. K. 2002. Summer succession of necrophagous and other arthropod fauna associated with fresh and frozen pig carcasses at a rural site in central Texas. Texas A&M University. *Undergraduate Journal of Science*. 2: 17 -21.
- Lamotte L. R. and Wells J. D. 2000. P-values for postmortem intervals from arthropod succession data. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*. 5: 58 -68.
- Lee H. L., Krishnasamy M., Abdullah A. G. and Jeffery J. 2004. Review of forensically important entomological specimens in the period of 1972 - 2002. *Trop Biomed*. 21 (2): 69 -75.
- Lee H. L. 1996. Recovery of forensically important insect larvae from human cadavers in Malaysia (1993-1996). *Malays J Pathol*. 18 (2):125 -127.
- Lertthamnongtham S., Sukontason K. L., Sukontason K., Piangjai S., Choochote W., Vogtsberger R.C. and Olson J.K. 2003. Seasonal fluctuations in populations of the two most forensically important fly species in northern Thailand. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 97: 87 -91.
- Levot G. W. 2003. Insect fauna used to estimate the post-mortem interval of deceased persons. *General and Applied Entomology*. 32: 31 -39.
- Levot G.W. 2003. Insect fauna used to estimate the post-mortem interval of deceased persons. *General and Applied Entomology*. 32: 31 -39.
- Liu D. and Greenberg B. 1989. Immature stages of some flies of forensic importance. *Annals of the Entomological Society of America*. 82: 80 -93.
- Lord W. D. and Stevenson J. R. 1986. Directory of forensic entomologist, 2nd ed., Defense Pest Management Information Analysis Center, Walter Reed Army Medical Center, Washington, D.C.

- Lord W. D., Goff M. L., Adkins T. R. and Haskell N. H. 1994. The Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) as a potential measure of human postmortem interval: Observations and case histories. *Journal of Forensic Sciences*. 39: 215 -222.
- Manlove J. D. and Disney R. H. L. 2007. The use of *Megaselia abdita* (Diptera: Phoridae) in forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* DOI. 10:1016. 175 (1): 83 - 84.
- Marchenko M. I. 2001. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. *Forensic Science International*. 120: 89 -109.
- Merritt R. W., Snider R., de Jong J. L., Benbow M. E., Kimbirauskas R. K. and Kolar R. E. 2007. Collembola of the grave: A cold case history involving arthropods 28 years after death. *J. Forensic Sci.* 52: 1359 -1361.
- Nabity P. D., Higley L. G. and Heng Moss T. M. 2006. Effects of Temperature on Development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) and Use of Developmental Data in Determining Time Intervals in Forensic Entomology. *Journal of Medical Entomology*. 43 (6): 1276 -1286.
- Nelson L. A., Wallman J. F. and Downton M. 2007. Using COI Barcodes to Identify Forensically and Medically Important Blowflies. *Journal of Medical and Veterinary Entomology*. 21: 44 -52.
- Nuorteva P. 1987. Empty puparia of *Phormia terraenovae* R.-D. (Diptera: Calliphoridae) as forensic indicators. *Annales Entomologici Fennici*. 33: 53 -56.
- O' Brien R. C., Forbes S. L., Meyer J. and Dadour I. R. 2007. A preliminary investigation into the scavenging activity on pig carcasses in Western Australia. *Forensic Sci. Med. Pathol.* 3 (3): 194 -199.
- Oliva A. 2001. Insects of forensic significance in Argentina. *Forensic Science International*. 120: 145 -154.
- Ozdemir M. H. A., Aksoy U., Akisu C., Sonmez E. and Cakmak M. A. 2003. Investigating *Demodex* in forensic autopsy cases. *Forensic Science International*. 135: 226 -231.
- Pankaj K. and Satpathy D. K. 2001. Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Science International*. 120: 15 -17.

- Payne J. A. and King E. W. 1972. Insect succession and decomposition of pig carcasses in water. *Journal of the Georgia Entomological Society*. 73: 153 -162.
- Payne J. A., King E. W. and Beinhart G. 1968. Arthropod succession and decomposition of buried pigs. *Nature*. 219: 1180 -1181.
- Putman R. J. 1978. The role of carrion-frequenting arthropods in the decay process. *Ecological Entomology*. 3: 133 -139.
- Rodriguez W. C. and Bass W. M. 1983. Insect Activity and its Relationship to Decay Rates of Human Cadavers in East Tennessee. *Journal of Forensic Sciences*. 28: 423 -432.
- Ronal A. S. and Frederic A. W. 1996. Low-cost, Low-maintenance rearing of maggots in hospitals, clinics and schools. *Am.J.Trop.Med.Hyg* 54 (1): 38 -41.
- Saigusa K., Takamiya M. and Aoki Y. 2005. Species identification of the forensically important flies in Iwate prefecture, Japan based on mitochondrial cytochrome oxidase gene subunit I (COI) sequences. *Leg Med (Tokyo)* 7 (3): 175 -178.
- Schroeder H., Klotzbach H., Oesterhelweg L. and Puschel K. 2002. Larder beetles (Coleoptera, Dermestidae) as an accelerating factor for decomposition of a human corpse. *Forensic Science International*. 127: 231 -236.
- Schroeder H., Klotzbach H., Elias S., Augustin C. and Puschel K.. 2003. Use of PCR-RFLP for differentiation of calliphorid larvae (Diptera, Calliphoridae) on human corpses. *Forensic Science International*. 132: 76 -81.
- Siriyasatien P. and Sirisup N. 2005. Estimation of post-mortem interval (PMI) using data from lifecycle of flies on corpses. *Chula Med J* 49 (4): 195 -200.
- Smith K. G. V. 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. London, Ithaca, British Museum of Natural History, Cornell Univ. Press.
- Sperling F. A. H., Anderson G. S. and Hickey D. A. 1994. A DNA-based approach to the identification of insect species used for postmortem interval estimation. *Journal of Forensic Sciences*. 39 (2): 418 -427.
- Stevens J. R. and Wall R. 2001. Genetic relationships between blowflies (Calliphoridae) of forensic importance. *Forensic Science International*. 120: 116 -123.

- Stevens J. R., West H. and Wall R. 2008. Mitochondrial genomes of the sheep blowfly, *Lucilia sericata*, and the secondary blowfly, *Chrysomya megacephala*. *Medical and Veterinary Entomology*. 22: 89 -91.
- Sucharit S. and Tumrasvin W. 1981. The survey of flies of medical and veterinary importance in Thailand, *Jap. J. Sant. Zool* 3: 281.
- Sucharit S., Tumrasvin W. and Vutikes S. 1976. A survey of house flies in Bangkok and neighboring provinces. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth* 7(1): 85 -90.
- Sukontason K., Sukontason K., Vichairat K., Piangjai S., Lertthamngtham S., Vogtsberger R.C. and Olson J.K. 2001. The first documented forensic entomology case in Thailand. *Journal of Medical Entomology*. 38: 746 -748.
- Sukontason K., Sukontason K., Narongchai P., Lertthamngtham S., Piangjai S. and Olson J. K.. 2001. *Chrysomya rufifacies* (Macquart) as a forensically-important fly species in Thailand: A case report. *Journal of Vector Ecology*. 26: 162 -164.
- Sukontason K. L., Narongchai P., Sukontason K., Methanitikorn R. and Piangjai S. 2005. Forensically important fly maggots in a floating corpse: the first case report in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 88(10):1458-1461.
- Sukontason K., Narongchai P., Kanchai C., Vichairat K., et. al. 2007. Forensic entomology cases in Thailand: A review of cases from 2000 to 2006. *Parasitol. Res.* 101 (5): 1417 -1423.
- Thyssen P., Lessinger A. C., Azeredo-Espin A. M. L. and Linhares A.X. 2005. The Value of PCR-RFLP Molecular Markers for the Differentiation of Immature Stages of Two Necrophagous Flies (Diptera: Calliphoridae) of Potential Forensic Importance. *Neotropical Entomology*. 34 (5): 777 -783.
- Thyssen P. J. and Linhares A. X. 2007. First description of the immature stages of *Hemilucilia segmentaria* (Diptera: Calliphoridae). *Biol Res*. 40: 271 -280.
- Tumrasvin W. and Kano R. 1979. Studies on medically important flies in Thailand. VI. Report on 48 species of sarcophagid flies, including the taxonomic keys (Diptera: Sarcophagidae) *Bull. Tokyo. Med. Dent. Univ* 26 (2): 149 -179.
- Turchetto M. and Vanin S. 2004. Forensic entomology and climatic change. *Forensic Science International*. 146: 207 -209

- Turchetto M., Lafisca S. and Costantini G. 2001. Postmortem interval (PMI) determined by study sarcophagous biocenoses: three cases from the province of Venice (Italy). *Forensic Science International*. 120: 28 -31.
- Vanlaerhoven S. L. and Anderson G. S. 2001. Implications of using development rates of blow fly (Diptera: Calliphoridae) eggs to determine postmortem interval. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*. 98: 191-196.
- Varatharajan R. S. 2000. A role of entomology in forensic sciences. *Current Science*. 78: 544 -545.
- Verica P., Janeska B., Gutevska A. and Duma A. 2007. Post mortem cooling of the body and estimation of time since death. *Soud Lek*. 52 (4): 50 -6.
- Voss S. C., Forbes S. L. and Dadour I. R. 2008. Decomposition and insect succession on cadavers inside a vehicle environment. *Forensic Sci. Med. Pathol*. 4: 22 -32.
- Wallman J. F. and Adams M. 2001. The forensic application of allozyme electrophoresis to the identification of blowfly larvae (Diptera: Calliphoridae) in southern Australia. *Journal of Forensic Sciences*. 46: 681 -684.
- Watson J. D. and Crick F. H. C. 1953. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*. April 25 (171): 737 -738.
- Wells J. D. and Sperling F. A. H. 2001. DNA-based identification of forensically important *Chrysomyinae* (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International*. 120: 109 -114.
- Wells J. D., Introna F. G., Di Vella G., Campobasso C. P., Hayes J. and Sperling F. A. H. 2001. Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *Journal of Forensic Sciences*. 46: 685 -687.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

1. สารเคมีชุดแยก DNA ให้บริสุทธิ์จากผลผลิต PCR (NucleoSpin[®] Extract II) ของบริษัท MACHEREY-NAGEL

- 1.1 Binding Buffer NT
- 1.2 Wash Buffer NT3 (Concentrate)
- 1.3 Elution Buffer NE
- 1.4 NucleoSpin[®] Extract II Columns (yellow rings)
- 1.5 Collection Tubes (2 ml)

2. สารเคมีที่ใช้ในการการเตรียมสไลด์ posterior spiracle ของหนอนแมลงวัน

- 2.1 30% Ethanol
- 2.2 50% Ethanol
- 2.3 70% Ethanol
- 2.4 90% Ethanol
- 2.5 100% Ethanol
- 2.6 Xylene
- 2.7 น้ำยา per mount

3. สารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างหนอนแมลงวัน เพื่อสกัด DNA

- 3.1 70% Ethanol
- 3.2 5% formaldehyde

4. สารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction, PCR) ของบริษัท Invitrogen[®]

- 4.1 Taq DNA polymerase
- 4.2 10X PCR Buffer minus Mg
- 4.3 25 mM Magnesium Chloride
- 4.4 2 mM dNTP

5. สารเคมีที่ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อ

- 5.1 70% Ethanol

6. สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงแมลงวันตัวเต็มวัย

6.1 10% น้ำตาลกลูโคส ในน้ำกลั่น

6.2 10% นมผง ในน้ำกลั่น

นำมาผสมกันแล้วเทใส่ภาชนะ ชักด้วยกระดาษเยื่อ เพื่อให้อาหารแมลงวัน

7. สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงหนอนแมลงวัน

7.1 ขุยมะพร้าว กรองละเอียด (กรองผ่านตะแกรง) ผสมน้ำกลั่นให้ค่าความชื้นอยู่ที่ 80%

7.2 ตับหมู หั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ 3 X 3 X 3 เซนติเมตร หรือ เนื้อปลาสดขนาดเดียวกัน

8. สารเคมีและชุดสกัดจีโนมิก DNA (DNeasy Tissue Kit) ของบริษัท QIAGEN®

8.1 Phosphate Buffered Saline (PBS) ปริมาตร 1 ลิตร

NaCl	8.3	กรัม
KCl	0.2	กรัม
Na ₂ HPO ₄	1.15	กรัม
KH ₂ PO ₄	0.2	กรัม

ละลายส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น ปรับ pH 7.4 ด้วย NaOH หรือ HCl แล้วปรับปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ทำให้ปลอดเชื้อโดยการนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8.2 ATL (tissue lysis buffer)

8.3 proteinase K

8.4 AL (lysis buffer ที่มี guanidine hydrochloride)

8.5 AW1 (wash buffer 1 ที่มี guanidine hydrochloride)

8.6 AW2 (wash buffer 1 ที่มี sodium azide)

8.7 AE (elution buffer)

8.8 spin column

9. สารละลายที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ DNA โดยวิธีแยกขนาด DNA ในอะกาโรสเจลภายใต้กระแสไฟฟ้า (Agarose gel electrophoresis)

9.1 สารละลาย 10 เท่า TAE ปริมาตร 1 ลิตร

Tris-Cl	48	กรัม
CH ₃ COONa ₃ H ₂ O	16.4	กรัม
Na ₂ EDTA	7.44	กรัม

ละลายส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น ปรับ pH 7.7 ด้วย glacial acetic acid แล้วปรับปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร

9.2 สารละลาย Loading buffer

Bromophenol blue	0.01	กรัม
Tris-HCl (pH 6.8)	1.25	มิลลิลิตร
Glycerol	5	มิลลิลิตร

ผสม bromophenol blue และ tris-HCl ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 5 มิลลิลิตร แล้วเติม glycerol 5 มิลลิลิตร เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

9.3 DNA มาตรฐาน 100 เบส ของบริษัท Invitrogen®

10. แบบบันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ (Gennard, 2007)

FORENSIC ENTOMOLOGY QUESTIONS TO BE ASKED AT THE CRIME SCENE

Location of the crime scene Date and time body found Name of victim if known _____

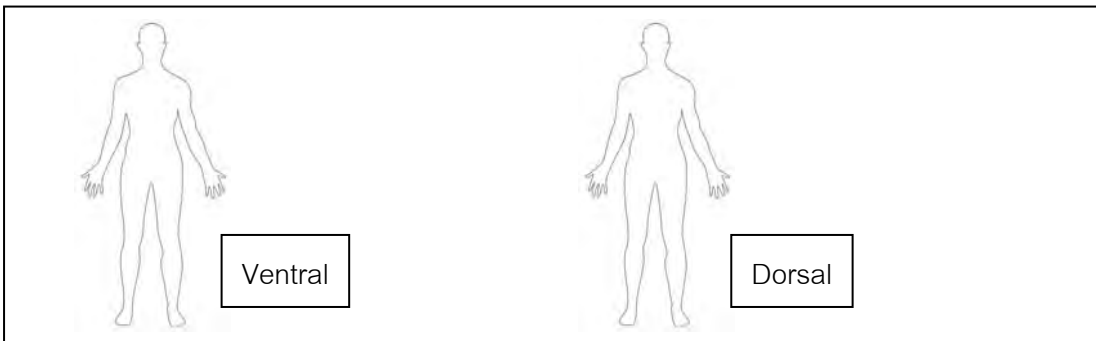
Date and time last seen _____

Who is the collector of the specimens? _____ Date of collection _____

Who is the officer in charge, or the person instructing you to investigate the scene? _____

What is the scene of death like, i.e. is it rural or urban; if inside, are any windows open or closed; if outside, in shade or full sunlight, what is the vegetation like, is the body buried or on the soil surface?(Photographs are valuable)

What is the position of the body (sketch)?



Is the body clothed? If so, describe the nature and condition of the clothing?

What is the state of decomposition?

11. แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ของหนอนแมลงวัน จำนวน 6 สายพันธุ์ ตรงตำแหน่ง cytochrome oxidase I gene (COI) ซึ่งใช้ primer 2 คู่ คือ primers 2F and 3R ได้แก่ *Chrysomya megacephala* *Chrysomya rufifacies* *Sarcophaga ruficornis* *Chrysomya nigripes* *Sarcophaga javanica* และ *Sarcophaga peregrina*

```

                *           20           *           40           *
C_megaceph : CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC : 55
C_nigripes  : CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC : 55
C_rufifaci  : CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACTGTAGGAGGATTAAC : 55
S_javanica  : CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACAGTAGGGGGATTAAC : 55
S_peregrin  : CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGATTTGTATTCTTATTTACAGTAGGGGGATTAAC : 55
S_ruficorn  : CAGCTACTTTATGAGCTTTAGGGTTTGTATTCTTATTTACAGTAGGAGGATTAAC : 55

                60           *           80           *           100           *
C_megaceph : TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCAATTGACATTATTTTACATGATACATATTAT : 110
C_nigripes  : TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCAATTGATATTATCTACACGATACATATTAT : 110
C_rufifaci  : TGGAGTAGTATTAGCTAATTCATCTATTGATATTATTTTACATGACACACTACT : 110
S_javanica  : TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACACTACT : 110
S_peregrin  : TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCTATTGATATTATCTTACATGACACACTACT : 110
S_ruficorn  : TGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCAATTGACATTATCTTACATGACACACTACT : 110

                120           *           140           *           160
C_megaceph : GTAGTAGCTCACTTCCATTATGTCTATCAATGGGAGCTGTATTTGCTATTATAG : 165
C_nigripes  : GTAGTTGCTCACTTCCACTATGTACTATCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAG : 165
C_rufifaci  : GTAGTAGCTCACTTCCATTATGTCTTTTCAATAGGAGCTGTATTTGCTATTATAG : 165
S_javanica  : GTAGTAGCACATTTCCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGG : 165
S_peregrin  : GTAGTAGCACATTTCCATTATGTACTTTCTATAGGAGCTGTATTTGCTATTATGG : 165
S_ruficorn  : GTAGTAGCTCACTTCCATTATGTACTGTCAATAGGAGCCGTATTTGCTATTATAG : 165

                *           180           *           200           *           220
C_megaceph : CAGGATTTGTTCATTGATTCCCTCTATTTACTGGATTAACTTAAATAGCAAGTT : 220
C_nigripes  : CAGGATTTGTTCACTGATTCCCTTTATTTACAGGATTAACATTAATAGCAAGCT : 220
C_rufifaci  : CAGGATTTGTACATTGATTCCCATTTACTGGATTAACTTAAATAATAAAAT : 220
S_javanica  : CCGGATTTGTTCATTGATACCCTCTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAAT : 220
S_peregrin  : CCGGATTTGTTCATTGATATCCCTCTATTTACAGGATTAACATTAACACTAAAAT : 220
S_ruficorn  : CAGGATTTGTTCACTGATACCCTTTATTTACTGGATTAACATTAATGCAAAAAT : 220

                *           240           *           260           *
C_megaceph : ATTAAAGAGTCAATTTGCTATTATATTTATCGGAGTAAATTTAACATTTCTCCCT : 275
C_nigripes  : TTTAAAGAGTCAATTTGCTATTATATTTATTGGAGTAAATATAACATTTCTCCCT : 275
C_rufifaci  : ACTAAAAAGTCAATTTGCTATTATATTTATTGGAGTAAATTTAACATTTCTCCCT : 275
S_javanica  : ATTAAAAAGTCAATTTACTATTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCC : 275
S_peregrin  : ATTAAAAAGTCAATTTACTATTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCC : 275
S_ruficorn  : ACTAAAAAGTCAATTTACTATTATATTTATAGGAGTAAATTTAACTTTCTTTCCA : 275

                280           *           300           *           320           *
C_megaceph : CAACATTTCTTAGGATTAGCAGGTATACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATG : 330
C_nigripes  : CAACATTTCTTAGGATTAGCCGGAATACCTCGACGATATTCTGATTATCCAGATG : 330
C_rufifaci  : CAACATTTTTTAGGACTAGCTGGTATACCTCGACGATACTCAGACTATCCAGATG : 330
S_javanica  : CAACACTTCTTAGGTCTAGCAGGGATACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATG : 330
S_peregrin  : CAACACTTCTTAGGTCTAGCAGGGATACCTCGACGATACTCTGACTATCCAGATG : 330
S_ruficorn  : CAACATTTTTTAGGGCTTGCAGGAATACCTCGACGATACTCAGATTACCCAGATG : 330

                340
C_megaceph : CTTACACAGCTTGAAATGA : 349
C_nigripes  : CTTACACAGCTTGAAATGA : 349
C_rufifaci  : CTTACACAGCTTGAAATGA : 349
S_javanica  : CTTACACAGCTTGAAATGA : 349
S_peregrin  : CTTACACAGCTTGAAATGA : 349
S_ruficorn  : CTTACACAGCTTGAAATGA : 349

```

12. แสดงรายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (DQ119587.1) ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya megacephala* ซึ่งมีความคล้ายกัน 99%

LOCUS DQ119587 503 bp DNA linear INV 12-APR-2006
 DEFINITION *Chrysomya megacephala* isolate C.M9SMIS cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.
 ACCESSION DQ119587
 VERSION DQ119587.1 GI:76365116
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion *Chrysomya megacephala* (oriental latrine fly)
 ORGANISM [Chrysomya megacephala](#)
 Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta; Pterygota; Neoptera; Endopterygota; Diptera; Brachycera; Muscomorpha; Oestroidea; Calliphoridae; Chrysomyinae; *Chrysomya*.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 503)
 AUTHORS Sharma,S., Singh,D. and Giroti,R.
 TITLE DNA-based identification of forensically important blowfly species (Diptera: Calliphoridae) in India
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 503)
 AUTHORS Sharma,S., Singh,D. and Giroti,R.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (08-JUL-2005) Department of Zoology, Punjabi University, Patiala, Punjab 147002, India

13. แสดงรายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (DQ328666.1) ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya rufifacies* ซึ่งมีความคล้ายกัน 99%

LOCUS DQ328666 348 bp DNA linear INV 14-JAN-2006
 DEFINITION *Chrysomya rufifacies* isolate Zhongshan 3 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.
 ACCESSION DQ328666
 VERSION DQ328666.1 GI:84627173
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion *Chrysomya rufifacies* (hairy maggot blowfly)
 ORGANISM [Chrysomya rufifacies](#)
 Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta; Pterygota; Neoptera; Endopterygota; Diptera; Brachycera; Muscomorpha; Oestroidea; Calliphoridae; Chrysomyinae; *Chrysomya*.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 348)
 AUTHORS Yin,X.-H., Wang,J.-F. and Chen,Y.-C.
 TITLE Molecular identification of some species of Calliphoridae, an interest in forensic entomology in China
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 348)
 AUTHORS Yin,X.-H., Wang,J.-F. and Chen,Y.-C.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (08-DEC-2005) Department of Medical Jurisprudence, School of Pre-Clinical Medicine, Sun Yat-sen University, Zhongshanerlu. No 74, Guangzhou, Guangdong 510080, China

14. แสดงรายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (AY842620.1) ของแมลงวันหัวเขียวสายพันธุ์ *Chrysomya nigripes* ซึ่งมีความคล้ายกัน 99%

```

LOCUS      AY842620                801 bp    DNA     linear   INV 11-MAY-2005
DEFINITION Chrysomya nigripes voucher ABTC78496 cytochrome oxidase subunit 1
            (COI) gene, partial cds; mitochondrial.
ACCESSION  AY842620
VERSION    AY842620.1  GI:61652293
KEYWORDS   .
SOURCE     mitochondrion Chrysomya nigripes
ORGANISM   Chrysomya nigripes
            Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta; Pterygota;
            Neoptera; Endopterygota; Diptera; Brachycera; Muscomorpha;
            Oestroidea; Calliphoridae; Chrysomyinae; Chrysomya.
REFERENCE  1 (bases 1 to 801)
AUTHORS    Wallman, J.F., Leys, R. and Hogendoorn, K.
TITLE      Molecular systematics of Australian carrion-breeding blowflies
            (Diptera: Calliphoridae) based on mitochondrial DNA
JOURNAL    Invertebr. Syst. 19, 1-15 (2005)
REFERENCE  2 (bases 1 to 801)
AUTHORS    Wallman, J.F., Leys, R. and Hogendoorn, K.
TITLE      Direct Submission
JOURNAL    Submitted (01-DEC-2004) Evolutionary Biology Unit, South Australian
            Museum, North Terrace, Adelaide, South Australia 5000, Australia
  
```

15. แสดงรายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (EF405941.1) ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga ruficornis* ซึ่งมีความคล้ายกัน 99%

```

LOCUS      EF405941                2305 bp   DNA     linear   INV 26-SEP-2008
DEFINITION Sarcophaga ruficornis voucher SY5 cytochrome oxidase subunit I
            (COI) gene, partial cds; tRNA-Leu gene, complete sequence; and
            cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds;
            mitochondrial.
ACCESSION  EF405941
VERSION    EF405941.1  GI:126165409
KEYWORDS   .
SOURCE     mitochondrion Sarcophaga ruficornis (Parasarcophaga ruficornis)
ORGANISM   Sarcophaga ruficornis
            Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta; Pterygota;
            Neoptera; Endopterygota; Diptera; Brachycera; Muscomorpha;
            Oestroidea; Sarcophagidae; Sarcophaga; Liopygia.
REFERENCE  1 (bases 1 to 2305)
AUTHORS    Tan, S.H., Mohd-Aris, E., Omar, B., Johari, S., Kurahashi, H. and
            Mohamed, Z.
TITLE      DNA-based characterization of forensically important fly species in
            Malaysia
JOURNAL    Unpublished
REFERENCE  2 (bases 1 to 2305)
AUTHORS    Tan, S.H., Mohd-Aris, E., Omar, B., Johari, S., Kurahashi, H. and
            Mohamed, Z.
TITLE      Direct Submission
JOURNAL    Submitted (27-JAN-2007) Division of Genetics and Molecular Biology,
            Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of
            Malaya, Jalan Lembah Pantai, Kuala Lumpur 50603, Malaysia
  
```

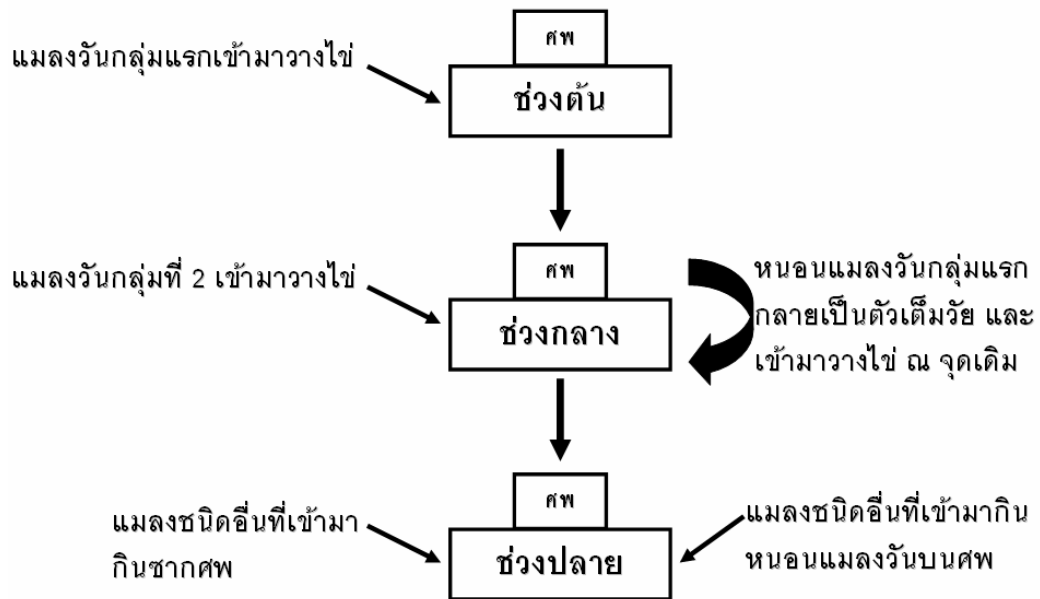
16. แสดงรายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (EF405926.1) ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga javanica* ซึ่งมีความคล้ายกัน 97%

LOCUS EF405926 2303 bp DNA linear INV 26-SEP-2008
 DEFINITION *Sarcophaga javanica* voucher S40 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; tRNA-Leu gene, complete sequence; and cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds; mitochondrial.
 ACCESSION EF405926
 VERSION EF405926.1 GI:126165364
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion *Sarcophaga javanica* (Boettcherisca javanica)
 ORGANISM [Sarcophaga javanica](#)
 Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta; Pterygota;
 Neoptera; Endopterygota; Diptera; Brachycera; Muscomorpha;
 Oestroidea; Sarcophagidae; Sarcophaga; Boettcherisca.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 2303)
 AUTHORS Tan,S.H., Mohd-Aris,E., Omar,B., Johari,S., Kurahashi,H. and Mohamed,Z.
 TITLE DNA-based characterization of forensically important fly species in Malaysia
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 2303)
 AUTHORS Tan,S.H., Mohd-Aris,E., Omar,B., Johari,S., Kurahashi,H. and Mohamed,Z.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (27-JAN-2007) Division of Genetics and Molecular Biology, Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya, Jalan Lembah Pantai, Kuala Lumpur 50603, Malaysia

17. แสดงรายละเอียดของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ได้ทำการเปรียบเทียบในฐานข้อมูล GeneBank (EF405928.1) ของแมลงวันหลังลายสายพันธุ์ *Sarcophaga peregrina* ซึ่งมีความคล้ายกัน 97%

LOCUS EF405928 2303 bp DNA linear INV 26-SEP-2008
 DEFINITION *Sarcophaga peregrina* voucher S-CH9 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; tRNA-Leu gene, complete sequence; and cytochrome oxidase subunit II (COII) gene, partial cds; mitochondrial.
 ACCESSION EF405928
 VERSION EF405928.1 GI:126165370
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion *Sarcophaga peregrina*
 ORGANISM [Sarcophaga peregrina](#)
 Eukaryota; Metazoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta; Pterygota;
 Neoptera; Endopterygota; Diptera; Brachycera; Muscomorpha;
 Oestroidea; Sarcophagidae; Sarcophaga; Boettcherisca.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 2303)
 AUTHORS Tan,S.H., Mohd-Aris,E., Omar,B., Johari,S., Kurahashi,H. and Mohamed,Z.
 TITLE DNA-based characterization of forensically important fly species in Malaysia
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 2303)
 AUTHORS Tan,S.H., Mohd-Aris,E., Omar,B., Johari,S., Kurahashi,H. and Mohamed,Z.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (27-JAN-2007) Division of Genetics and Molecular Biology, Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya, Jalan Lembah Pantai, Kuala Lumpur 50603, Malaysia

18. แสดงถึงรูปแบบของแมลง ในการเข้าถึงศพระยะต่างๆ



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นามสกุล	นายธีรภมร เพ็งสกุล
วัน เดือน ปีเกิด	29 พฤศจิกายน พ.ศ.2526
ที่อยู่	บ้านเลขที่ 104 หมู่ที่ 9 ตำบลบ้านลำนาว อำเภอบางขัน จังหวัดนครศรีธรรมราช รหัสไปรษณีย์ 80360
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2544 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย (แผนกวิทย์-คณิต) จากโรงเรียนสุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี พ.ศ.2549 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (เทคนิค การแพทย์) คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัด กรุงเทพมหานคร พ.ศ.2550 ผลงานวิจัยเรื่อง การจำแนกชนิดของเลือดในยุงลาย บ้าน (<i>Aedes aegypti</i>) ที่จับจากภาคสนามโดยวิธี multiplex PCR (IDENTIFICATION OF BLOOD MEALS FROM FIELD CAUGHT <i>Aedes aegypti</i> MOSQUITOES BY MULTIPLEX PCR) พ.ศ.2551 ผลงานวิจัยเรื่อง INSECTS COLLECTED FROM LATE STAGE OF CORPSE DECOMPOSITION