แนวคิดในการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีเพื่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา
Concept of Short Tissue Processing for Histopathology

อภิสิทธิ์ บุญทรง[1]
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุทธนา สุดเจริญ[2]
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ (พิเศษ) พลตำรวจโท ดร.ณรงค์ กุลนิเทศ[3]
[1]นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
Email: zutchbellman@gmail.com
[2]อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
Email: yultana.su@ssru.ac.th
[3]ประธานหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
Email: Narong.kulnides@gmail.com

บทคัดย่อ

การตรวจด้านพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อเยื่อที่ได้จากผู้เสียชีวิต จากการตายผิดธรรมชาติ นำไปสู่การชันสูตรศพนั้น จะต้องนำมาผ่านกระบวนการด้านพยาธิวิทยา มีหลักปฏิบัติดังนี้คือ การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อการตรวจ, การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี, การทำบล็อกชิ้น, การตัดบล็อกชิ้นเนื้อ, การย้อมชิ้นเนื้อ จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงหรือเครื่องสแกนสไลด์ชิ้นเนื้ออัตโนมัติ เพื่อที่จะศึกษาพยาธิสภาพของโรคและการวินิจฉัยและสรุปสาเหตุการเสียชีวิต

ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิดด้านการชันสูตรศพ แนวคิดด้านการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยาในงานด้านพยาธิวิทยา แนวคิดด้านปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการซึมแทรกของน้ำยาเคมีต่างๆ ในการเตรียมชิ้นเนื้อ และแนวคิดการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ ซึ่งการเตรียมชิ้นเนื้อมีขั้นตอนและระยะเวลาที่นาน แต่หากสามารถที่จะลดระยะเวลาในการปฏิบัติงานให้สั้นลง จะช่วยให้การวินิจฉัยและสรุปสาเหตุการเสียชีวิตได้รวดเร็วขึ้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาคือ ลดระยะเวลาการเตรียม

คำสำคัญ การเตรียมชิ้นเนื้อ, เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ, จุลพยาธิวิทยา

Abstract

Pathological examination of tissue samples from deaths from natural deaths. Led to the autopsy It must be brought through the pathology process. There is a practice. Preparation of Tissue, Tissue Processing, Embedding in Paraffin, Paraffin Section, Tissue Staining. Then scanned by optical microscope or automatic slide scanner. To study the pathology of the disease and diagnose and summarize causes of death.

Researchers have studied the concept of autopsy. Practical Pathology in Pathology The concept of factors influencing the rate of impregnation in tissue processing and concept of Tissue preparation with automatic tissue processing. Tissue processing has a long time

process. If you can shorten the operation time. It helps to diagnose and summarize causes of death faster. The purpose of the study is Short Processing.

Keyword Tissue Processing, Automatic Tissue Processing, Histopathology

บทนำ

การเสียชีวิตของมนุษย์ในปัจจุบันนี้แบ่งออกเป็นการเสียชีวิตหรือตายโดยธรรมชาติ และการเสียชีวิตหรือตายโดยผิดธรรมชาติ ประเทศต่างๆ ที่พัฒนาแล้วส่วนใหญ่ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา อังกฤษ สิงคโปร์ และญี่ปุ่น จะมีการแบ่งพฤติการณ์ของการเสียชีวิต (Mannar of death) ออกเป็น 5 อย่างดังต่อไปนี้ (1) Natural Death (ตายโดยธรรมชาติ) (2) Accident (ตายโดยอุบัติเหตุ) (3) Suicide (ฆ่าตัวตาย) (4) Homicide (ถูกผู้อื่นทำให้ตาย) (5) Undetermined (ตายโดยยังมิปรากฏเหตุ) ในประเทศไทยเรานี้ ตามกฎหมายไทยจะมีพฤติการณ์ของการเสียชีวิตมากกว่าต่างชาติ โดยเพิ่มเติมพฤติการณ์ที่ว่า ถูกสัตว์ทำร้ายตายเข้าไปด้วย ตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 148 บัญญัติเหตุที่ต้องทำการชันสูตรพลิกศพไว้ว่า "เมื่อปรากฏแน่ชัด หรือมีเหตุอันควรสงสัยว่า บุคคลใดตายโดยผิดธรรมชาติหรือตายในระหว่างควบคุมของเจ้าพนักงานให้มีการชันสูตรพลิกศพ เว้นแต่ตายโดยประหารชีวิตตามกฎหมาย (ธำรง จิรจริยาเวช, 2548)

การชันสูตรศพ คือ การตรวจศพเพื่อหาสาเหตุของการเสียชีวิต ซึ่งในกฎหมายไทยเรียกเต็มๆ ว่า การชันสูตรพลิกศพ โดยศัพท์คำนี้แปลว่าจากคำภาษาอังกฤษว่า Postmortem Examination หรือ Autopsy หมายถึง การตรวจหลังตาย ขบวนการในการตรวจศพ หรือ ชันสูตรศพประกอบไปด้วยการดูภายนอก การผ่าศพดูพยาธิสภาพภายใน การเก็บเลือดหรือน้ำคัดหลั่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ควรตัดชิ้นเนื้อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ รวมถึงการตรวจพิเศษอีกมากมาย ซึ่งต้องใช้ความรู้พื้นฐานของวิชาพยาธิวิทยาคือ พยาธิวิทยากายวิภาค (Anatomical Pathology) อันประกอบด้วยการตรวจชิ้นเนื้อของผู้ป่วย (Clinical Pathology) (พรทิพย์ โรจนสุนันท์, 2546)

ในการตัดชิ้นเนื้อเพื่อการวินิจฉัยสาเหตุการตาย ขั้นตอนคร่าวๆ คือ การดูภาพนอกของอวัยวะต่างๆ ว่ามีพยาธิสภาพอะไรบ้าง เกี่ยวข้องหรือไม่เกี่ยวข้องกับการตาย จากนั้นต้องตัดชิ้นเนื้อตรวจโดยแช่ในน้ำยาฟอร์มาลีน ความเข้มข้น 10% เพื่อเตรียมเป็นสไลด์ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อเยื่อ จะประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญๆ คือ การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อการตรวจ (Preparation Tissue), การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue Processing), การตัดบล็อกชิ้นเนื้อ (Paraffin Section), การทำบล็อกชิ้นเนื้อ (Paraffin Block or Embedding in Paraffin) และการย้อมสีชิ้นเนื้อ (Tissue Staining)

ในกรณีที่มีงานที่ต้องการความเร่งด่วน ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะลดระยะเวลาการปฏิบัติงานให้สั้นลง เพื่อให้ได้ผลการวินิจฉัยได้เร็วขึ้นทั้งนี้เพื่อเพิ่มความรวดเร็วในการสรุปสาเหตุการเสียชีวิตและเพื่อสนับสนุนกระบวนการยุติธรรมได้อย่างแท้จริง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาถึงแนวทางในการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีเพื่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

ขอบเขตเนื้อหา

การศึกษาแนวคิดในครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงปริมาณ การศึกษานี้มุ่งเน้นศึกษากระบวนการและขั้นตอน แนวคิดด้านการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยาในงานด้านพยาธิวิทยา แนวคิดด้านปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการซึมแทรกของน้ำยาเคมีต่างๆ ในการเตรียมชิ้นเนื้อ และแนวคิดการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ

แนวคิดด้านการชันสูตรพลิกศพ

การชันสูตรศพ คือ การตรวจศพเพื่อหาสาเหตุของการเสียชีวิต ซึ่งในกฎหมายไทยเรียกเต็มๆ ว่า การชันสูตรพลิกศพ โดยศัพท์คำนี้แปลว่าจากคำภาษาอังกฤษว่า Postmortem Examination หรือ Autopsy หมายถึง การตรวจหลังตาย ขบวนการในการตรวจศพ หรือ ชันสูตรศพประกอบไปด้วยการดูภายนอก การผ่าศพดูพยาธิสภาพภายใน การเก็บเลือดหรือน้ำคัดหลั่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ควรตัดชิ้นเนื้อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ รวมถึงการตรวจพิเศษอีกมากมาย ซึ่งต้องใช้ความรู้พื้นฐานของวิชาพยาธิวิทยาคือ พยาธิวิทยากายวิภาค (Anatomical Pathology) อันประกอบด้วยการตรวจชิ้นเนื้อของผู้ป่วย (Clinical Pathology) การดำเนินการในลักษณะดังกล่าว อาจทำได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับข้อจำกัด หรือเงื่อนไขในการผ่าศพ ซึ่งขนวนการในการตรวจศพมีรูปแบบที่นิยมใช้ ดังนี้

1.Autopsy หรือ Postmortem Examination หมายถึง การตรวจศพที่มีการผ่าตรวจดูอวัยวะภายใน มีการตัดชิ้นเนื้อมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยทั่วไปควรตรวจโดยสมบูรณ์ทั้งร่างกายแต่หากมีการอนุญาตให้ตรวจได้บางส่วน เช่น อนุญาตให้ตรวจเฉพาะสมองหรือเฉพาะช่องท้อง จะเรียกว่า Limited Autopsy จะมีเทคนิคในการลงมีดหลายรูปแบบ มีการตัดซี่โครงเปิดช่องอก การตัดเลาะอวัยวะต่างๆ มาตรวจ ซึ่งสาขาเฉพาะทางของแพทย์ที่สามารถดำเนินการได้คือ พยาธิวิทยากายวิภาค (Anatomical Pathology) นิติพยาธิ (Forensic Pathology) และ นิติเวชศาสตร์ (Forensic Medicine) การดำเนินการชันสูตรโดยสมบูรณ์จึงไม่อาจดำเนินการได้โดยแพทย์ทั่วไป เนื่องจากเป็นงานที่ต้องใช้ความเชี่ยวชาญพิเศษ แต่จำนวนของพยาธิแพทย์และแพทย์นิติเวชในประเทศไทยมีน้อยไม่เพียงพอที่จะให้บริการได้ทั่วถึง จึงทำให้การชันสูตรไม่สามารถทำได้โดยสมบูรณ์

2.Necropsy เป็นการตรวจศพในกรณีที่ญาติไม่ยินยอมให้มีการผ่าศพ แต่แพทย์มีความจำเป็นที่จะดูพยาธิสภาพในศพก็อาจกระทำโดยการใช้เข็มเจาะดูดชิ้นเนื้อจากอวัยวะที่ต้องการศึกษา เช่น ต้องการดูตับ ก็เรียกว่า Liver Necropsy แล้วนำชิ้นเนื้อมาตรวจทางพยาธิวิทยา การทำ Necropsy นี้ แพทย์ผู้รักษาทั่วไปสามารถดำเนินการได้เอง ซึ่งเมื่อได้ชิ้นเนื้อจากศพแล้วก็ดำเนินการส่งตรวจทางพยาธิวิทยาเหมือนการส่งชิ้นเนื้อจากการผ่าตัดคนไข้ (พรทิพย์ โรจนสุนันท์, 2546)

แนวคิดการชันสูตรศพคดี

ปัญหาในเรื่องการชันสูตรศพคดีของประเทศไทยมีมานานเนื่องจากผู้ร่างกฎหมายอาจจะไม่ทราบขั้นตอนทั้งหมดของการชันสูตรศพ ดังจะเห็นได้ว่า การแก้ปัญหามักจะเน้นที่มาตรา 150 ซึ่งเป็นเพียงการดูที่เกิดเหตุเท่านั้น ความจริงแล้วขั้นตอนในการชันสูตรศพมีหลายขั้นตอนดังนี้

1.การตรวจสถานที่เกิดเหตุที่มีการพบศพ (Scene Investigation) ในการตายที่เป็นลักษณะผิดธรรมชาติ การตรวจสถานที่เกิดเหตุอาจช่วยให้เข้าใจประเด็นได้ดีกว่าการตรวจศพเพียงอย่างเดียว เช่น การตรวจดูร่องรอยการต่อสู้ ดูลักษณะท่าทางของศพ ดูสภาพเสื้อผ้าในที่เกิดเหตุ หากเป็นศพหญิงอาจบ่งชี้ว่าน่าจะมีการกระทำผิดทางเพศร่วมด้วยหรือไม่ ในการฆ่าตัวตายด้วยอาวุธควรตรวจดูว่ามีอาวุธในที่เกิดเหตุหรือไม่ อยู่

ในลักษณะใด หากไม่พบอาวุธ ก็ไม่ใช่การฆ่าตัวตายแน่นอน คดีที่ควรตรวจสถานที่เกิดเหตุเป็นอย่างยิ่ง คือ ถูกฆ่าตาย (Homicide) และสงสัยว่าอาจถูกฆ่าตาย (Suspected Homicide)

2.การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต โดยการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตต้องอาศัยความรู้ของการเปลี่ยนแปลงหลังการตาย ซึ่งมีขั้นตอนการเรียงลำดับดังนี้คือ

2.1 ALGOR MORTIS อุณหภูมิของร่างกายเย็นลงหลังจากการเสียชีวิต ซึ่งลดลงโดยเฉลี่ยหนึ่งองศาเซนติเกรดต่อหนึ่งชั่วโมง

2.2 LIVOR MORTIS หรือ hypostasis คือ การที่ผิวหนังร่างกายในส่วนที่อยู่ต่ำเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง เนื่องจากมีเลือดไหลลงสู่ส่วนต่ำของร่างกายตามแรงโน้มถ่วงของโลก

2.3 RIGOR MORTIS หรือ Postmortem Rigidity เป็นการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งเกิดจากโปรตีนในกล้ามเนื้อจับตัวตกตะกอน

3.การรวบรวมประวัติ

พยาธิสภาพที่ปรากฏในศพจากสาเหตุหลายอย่างที่แตกต่างกัน อาจปรากฏออกมาเหมือนกัน เช่น การเสียชีวิตจากไฟฟ้าดูด อาจมีจุดเลือดออกที่อวัยวะภายในโดยเฉพาะหัวใจเหมือนการขาดอากาศจากไม่มีอากาศหายใจและการเสียชีวิตในลักษณะ ไหลตาย ดังนั้นการซักประวัติการตาย เช่น นอนหลับไปเฉยๆ ฟุบขณะดูทีวี ใครเป็นผู้พบศพ ผู้ตายอาศัยอยู่กับใคร หรือประวัติการเจ็บป่วยก่อนตายจะทำให้แพทย์สรุปแนวทางในการชันสูตรได้คร่าวๆ แต่ในการตายผิดธรรมชาติโดยมากมักปราศจากผู้พบเห็นเหตุการณ์ชัดเจน จึงทำให้แพทย์ต้องระมัดระวังความผิดพลาด หรือการหลงประเด็นเป็นอย่างมาก อีกทั้งยังต้องประเมินความน่าเชื่อถือของประวัติด้วย

4.การผ่าศพ (Autopsy)

ขั้นตอนในการชันสูตรศพเพื่อหาสาเหตุการตายจากการดูศพนั้นประกอบด้วยขั้นตอน 3 ลำดับ คือ

4.1 การตรวจภายนอก

4.2 การตรวจภายใน

4.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

5. การเขียนรายงานชันสูตรศพที่สมบูรณ์ (พรทิพย์ โรจนสุนันท์, 2546)

แนวคิดด้านการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยา

การปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อเยื่อ จะประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญๆ ดังนี้

1. การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อการตรวจ (Preparation Tissue) หมายถึง การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อที่ได้จากการทำไบอ๊อปซี่, การผ่าตัด หรือวิธีอื่นๆ ด้วยขบวนการต่างๆ เพื่อที่จะนำไปตรวจ และวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ และนำผลการวินิจฉัยนั้นไปเป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยได้ถูกต้อง ขบวนการต่างๆ แบ่งในขั้นต้นได้ดังนี้ (1) การแช่น้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้อ (fixation) (2) การตรวจด้วยตาเปล่าและการตัดชิ้นเนื้อ (Gross examination) (3) การเตรียมชิ้นเนื้อที่เป็นกระดูก (The preparation of Bone section)

2. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue Processing) หมายถึงการที่เรานำชิ้นเนื้อเยื่อที่ผ่านการ fixed และการตรวจวินิจฉัยด้วยตาเปล่า (gross examination) มาอย่างดีแล้วไปผ่านขบวนการ (processing) ทางเคมีเพื่อให้ชิ้นเยื่อนั้นมีความแข็งแรงพอที่จะตัดออกเป็นชิ้นบางๆ (Paraffin section) ขนาด 3-5 ไมครอน (Micron) ได้ง่ายและสะดวกยิ่งขึ้น

3. การทำบล็อกชิ้นเนื้อ (Paraffin Block or Embedding in Paraffin) เพื่อช่วยให้การตัด paraffin section กระทำได้ง่าย, สะดวกได้ paraffin section เป็นแถบยาวๆ (ribbon) และมีความบาง (thin section) ตามที่ต้องการ

4. การตัดบล็อกชิ้นเนื้อ (Paraffin Section) เป็นการนำเอาชิ้นเนื้อที่ผ่านการ embedded ลงในพาราฟินบล็อกเรียบร้อยแล้วมาตัดออกเป็นเนื้อเยื่อแผ่นบางๆ (paraffin section) ด้วยเครื่องมือเฉพาะที่เรียกว่าเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Rotary microtome) โดยปกติ เราจะตัดให้ได้เนื้อเยื่อแผ่นบางๆ ขนาด 3-5 ไมครอน (1 ไมครอน เท่ากับ 1/100 มม.)

5. การย้อมสีชิ้นเนื้อ (Staining, Tissue Staining) เพื่อเป็นการแยกส่วนประกอบต่างๆ ของเซลล์และชนิดเนื้อเยื่อ (Tissue Structure) โดยอาศัยปฏิกริยาการติดสี (กัลยา ผลากรกุล, 2534)

แนวคิดด้านปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการซึมแทรกของน้ำยาเคมีต่างๆ ในการเตรียมชิ้นเนื้อ

การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีขณะที่เตรียมจะมีสิ่งหรือปัจจัยต่างๆ เข้ามาเกี่ยวข้องและมีผลกระทบต่อการซึมแทรกของน้ำยาเข้าไปในส่วนต่างๆของชิ้นเนื้อเยื่อ โดยมีดังนี้

1.การกวน (Agitation) หมายถึงการหมุนเวียนของน้ำยาเคมีต่างๆ โดยจะช่วยในการซึมแทรก (infiltration/impregnation) ของน้ำยาเข้าไปในชิ้นเนื้อเยื่อได้ดีและตลอดชิ้นเนื้อเยื่อยิ่งขึ้นโดยการทำให้น้ำยาเกิดการหมุนเวียนในอัตราที่เหมาะสมและสม่ำเสมอไม่ช้าหรือเร็วเกินไป แต่ในทางตรงกันข้ามถ้าแช่ชิ้นเนื้อเยื่อไว้ในน้ำยานิ่งๆ โดยไม่มีการหมุนเวียนของน้ำยาแล้ว การซึมแทรกของน้ำยาต่างๆก็จะเกิดขึ้นบริเวณผิว (surface) และด้านข้างของชิ้นเนื้อเยื่อเท่านั้นจะไม่ไปถึงตรงกลางของชิ้นเนื้อเยื่อได้เลย

จากหลักการนี้เอง เราจะพบว่าเครื่องเตรียมชิ้นเนื้อแบบอัตโนมัติ (Automatic Tissue Processor) ที่ใช้ในงานเตรียมชิ้นเนื้อของห้องปฏิบัติการจุลพยาธิ (Histopathology laboratory) ได้ถูกออกแบบในส่วนของที่ใช้เกี่ยวหรือแขวนภาชนะที่บรรจุตลับชิ้นเนื้อ (เป็น basket ที่ใช้บรรจุ tissue cassette) แล้วแขวนหรือเกี่ยวยึดกับแกนเหล็ก ซึ่งติดอยู่กับฝาครอบเครื่อง โดยส่วนที่เป็นแกนนี้จะเคลื่อนที่และทำให้ภาชนะที่บรรจุตลับชิ้นเนื้อเคลื่อนที่ตามไปด้วย ขณะเดียวกันน้ำยารอบๆ ภาชนะที่บรรจุอยู่ในโถน้ำยา (beaker) ก็จะเกิดการหมุนเวียนขึ้น ซึ่งช่วยให้การแทรกซึมเป็นไปอย่างดีและตลอดทั่วชิ้นเนื้อเยื่อมากขึ้น การเคลื่อนที่ของแกนเหล็กนี้ มี 2 ลักษณะ คือ

1.1 Circular horizontal เป็นการเคลื่อนที่ในแนวระดับหรือแนวนอนโดยการเหวี่ยง (rotate) รอบๆแกนในลักษณะไป-มาเป็นวงกลมหรือครึ่งวงกลมลักษณะนี้เราจะเห็นว่าภาชนะ (basket) ที่บรรจุตลับชิ้นเนื้อเยื่อหมุนรอบตัวเองในแนวระดับหรือแนวนอนเป็นรูปวงกลม (หรือครึ่งวงกลม) แล้วน้ำยารอบๆ ภาชนะนั้นก็เกิดการหมุนเวียนขึ้น การหมุนเหวี่ยงของภาชนะนี้ ประมาณ 10-12 ครั้งต่อนาที

1.2 Vertical เป็นการเคลื่อนที่ในแนวตั้งหรือแนวดิ่งโดยที่แกนเหล็กจะมีการเคลื่อนที่ขึ้น-ลง (up-down) ซึ่งฝาครอบเครื่องฯ จะเคลื่อนที่ตามไปด้วยซึ่งแบบแรกฝาครอบเครื่องฯ ไม่มีการเคลื่อนที่ ลักษณะนี้จะเราจะเห็นว่าภาชนะที่บรรจุตลับชิ้นเนื้อเยื่อเคลื่อนที่ขึ้น-ลง ซึ่งการเคลื่อนที่นี้ประมาณ 10-12 ครั้งต่อนาทีเช่นกัน แล้วน้ำยารอบๆ ภาชนะนั้น ก็จะมีการแทรกซึมในลักษณะจากล่าง-บน, บน-ล่าง ซึ่งพบว่าการซึมแทรกจะดีกว่าลักษณะแรก (circular horizontal) โดยเฉพาะชิ้นเนื้อเยื่อที่มีขนาดโตๆ ประเภทก้อนเนื้อและกล้ามเนื้อ เป็นต้น ส่วนชิ้นเนื้อเยื่อขนาดเล็กๆ เช่นพวก biopsy, curettage จะไม่ค่อยแตกต่างกันทั้ง 2 แบบ

การเคลื่อนที่ทั้ง 2 แบบดังกล่าว อัตราการเคลื่อนที่ของแกน ซึ่งทำให้น้ำยาเคลื่อนที่ตามด้วยนั้นต้องอยู่ในอัตราที่เหมาะสมสม่ำเสมอไม่ช้าหรือเร็วเกินไป เมื่อใดก็ตามที่อัตราการเคลื่อนที่ของแกนเปลี่ยนไปหรือเสียไปต้องรีบดำเนินการแก้ไขทันที มิฉะนั้นผลเสียหายต่อชิ้นเนื้อจะเกิดขึ้นได้

2.ความร้อน (Heat)

ความร้อนจะเข้ามาช่วยเร่งการแทรกซึมของน้ำยาต่างๆที่ใช้ในการเตรียมชิ้นเนื้อ โดยใช้ความร้อนมาช่วยในช่วงเวลาหนึ่งๆเท่านั้น ไม่ได้ใช้ทุกขั้นตอน โดยที่ความร้อนนี้ไม่ทำลายหรือทำให้เกิดผลเสียต่อชิ้นเนื้อเยื่อและส่วนประกอบต่างๆ ของชิ้นเนื้อแต่อย่างใด แม้กระทั่งทำให้ประสิทธิภาพของน้ำยา (Medium) ที่ใช้ความร้อนนั้นลดลง

ดังนั้น เราต้องใช้ความร้อนให้เหมาะสมกับขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อตามความจำเป็นจริงๆ และเลือกใช้ระดับอุณหภูมิและระยะเวลาในการใช้ให้ถูกต้องด้วย บางขั้นตอนจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องใช้ความร้อนเข้ามาช่วย มิฉะนั้นแล้วการแทรกซึมของน้ำยาต่างๆ จะเข้าไปในชิ้นเนื้อไม่ดีเท่าที่ควรหรือไม่สามารถแทรกซึมได้เลย ขั้นตอนที่สำคัญยิ่ง ได้แก่ ขั้นตอน infiltration จำเป็นต้องใช้ความร้อนช่วย ความร้อนยังสามารถช่วยในการ fixed ชิ้นเนื้อได้อย่างรวดเร็วขึ้นกว่าอุณหภูมิปกติ (อุณหภูมิห้อง) โดยใช้ความร้อนประมาณ 60 ºC เป็นเวลาประมาณ 30 นาที ซึ่งช่วยเร่งการ fixed ชิ้นเนื้อดังกล่าว ในส่วนของความร้อนที่เข้ามาช่วยในการแทรกซึมของน้ำยาต่างๆ นี้ ต้องระมัดระวังในเรื่องของระดับอุณหภูมิอย่าใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไป และเวลานานเกินไป เพราะจะเกิดผลเสียต่อชิ้นเนื้อ ชิ้นเนื้อเยื่อจะแข็งเกินไป และจะทำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเปราะ (brittle) มากขึ้นและเป็นสาเหตุให้ชิ้นเนื้อหดตัวบิดงอ (shrinkage) ส่วนประกอบต่างๆของชิ้นเนื้อเยื่อเสียไปจากการใช้ความร้อนสูงมากเกินไป (over heat) และทำให้การติดสีของเซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ที่จะตามมาภายหลังไม่ดีผิดไปจากปกติไป

3.ความหนืด (Viscosity)

ในการเตรียมชิ้นเนื้อ ความหนืด (viscosity) เข้ามาเกี่ยวข้องอย่างมากในขั้นตอน infiltration (impregnation) ซึ่งเป็นตัวกลาง (Medium) ที่เราใช้จะเป็นพวกขี้ผึ้ง (wax) เช่น ไขพาราฟิน (Paraffin wax) เพราะโดยสภาพปกติของ wax จะอยู่ในรูปของแข็ง แต่เมื่อนำมาใช้ในขั้นตอน infiltration จะต้องเปลี่ยนสภาพให้เป็นของเหลวซึ่งต้องใช้ความร้อนเข้าช่วย โดยต้องคำนึงจุดหลอมเหลว (melting point) ของขี้ผึ้งนั้นๆ เป็นสิ่งสำคัญและเลือกระดับอุณหภูมิและเวลาให้เหมาะสมกัน เพื่อป้องกันผลเสียอันอาจจะเกิดขึ้นกับชิ้นเนื้อเยื่อได้ เมื่อเราใช้ความร้อนระดับหนึ่งเข้ามาช่วยในการซึมแทรกของตัวกลาง พวกขี้ผึ้งแล้วก็จะสดความหนืดลงไปได้มาก

4.สูญญากาศ (Vacuum)

Vacuum มีส่วนช่วยในการแทรกซึมของน้ำยา โดยใช้ในรูปของเครื่องละลายพาราฟินชนิดมีเครื่องทำสูญญากาศ (Paraffin Dispenser with Vacuum) เพราะเครื่องทำสุญญากาศนี้จะลดแรงต้านในการซึมแทรกของตัวกลางที่เป็นขี้ผึงเหลวได้อย่างดี และสามารถลดเวลาในการแทรกซึมได้ประมาณครึ่งหนึ่งของเวลาปกติอีกด้วยเพราะตัวกลางที่เป็นขี้ผึงเหลวจะซึมแทรกเข้าไปในชิ้นเนื้อได้เร็วยิ่งขึ้น และตลอดชิ้นเนื้อเยื่อนั้น ซึ่งบางครั้งเราจะใช้ในงานเร่งด่วนและใช้สำหรับชิ้นเนื้อเยื่อบางประเภทที่มีลักษณะเยื่ออัดตัวกันอย่างหนาแน่น (กัลยา ผลากรกุล, 2534)

แนวคิดการเตรียมชิ้นเนื้อโดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ

การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องมืออัตโนมัติที่เรียกว่า เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อแบบอัตโนมัติ (Automatic Tissue Processer) ซึ่งเครื่องได้ออกแบบมาใช้สำหรับงานเตรียมชิ้นเนื้อ (Tissue Processing) โดยเฉพาะของห้องปฏิบัติการจุลพยาธิวิทยา (Histopathology Laboratory) ได้นิยมใช้กันแพร่หลายสำหรับปฏิบัติงานประจำในห้องปฏิบัติการ เพราะเป็นไปตามสัดส่วนความสัมพันธ์ที่เหมาะสม

ลักษณะการทำงานโดยสังเขปของเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ

1. เป็นเครื่องมือที่มีการทำงานโดยอัตโนมัติ
2. ตัวเครื่องประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

2.1. ตัวเครื่องจะประกอบด้วยส่วนทำงานต่างกันออกไปด้วยระบบกลไก (Mechanic) และอิเล็กทรอนิค (Electronic) สามารถควบคุมการทำงานได้ที่แผงควบคุมด้านหน้าของตัวเครื่อง ให้เริ่มทำงานและสิ้นสุดเองโดยอัตโนมัติ

2.2. มีชั้นวางโถน้ำยา (reagent beaker) ตามลักษณะการใช้งานในแต่ละขั้นตอนของการเตรียมชิ้นเนื้อ (12 หรือ 24 โถ แล้วแต่แบบที่เลือกใช้ ซึ่งงานประจำจะเป็นแบบ 12 โถน้ำยา)

2.3. มีฝาครอบโถน้ำยาและที่แขวนตะกร้าใส่ตลับชิ้นเนื้อ (tissue basket) ติดอยู่กับฝาครอบน้ำยาที่ป้องกันการระเหยของน้ำยาต่างๆ ขณะที่ใช้งาน

3. การทำงานจะเปลี่ยนการแช่น้ำยาเองโดยใช้แผ่นควบคุมเวลาและกลไกทางอิเล็กทรอนิค ส่งการทำงานซึ่งอยู่ด้านหน้าของเครื่อง

4. โถน้ำยาสำหรับการเตรียมชิ้นเนื้อจะถูกแบ่งใช้ครบทุกขั้นตอนคือ fixation, dehadration, clearing และ infiltration

เวลา : การใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อแบบอัตโนมัติ สำหรับการเตรียมชิ้นเนื้อนั้น จะใช้เวลาประมาณ 16 ชั่วโมง ตลอดกระบวนการ ซึ่งจะแยกได้ในแต่ละขั้นตอนดังนี้

1.	Fixation	ใช้เวลาประมาณ 8 ชั่วโมง
2.	Dehydration	ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง
3.	Clearing	ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง
4.	Infiltration	ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง
		รวม 16 ชั่วโมง

น้ำยาที่ใช้ (Reagent) การเลือกใช้น้ำยาต่างๆ ในแต่ละขั้นตอนรวมทั้งการเรียงลำดับความเข้มข้นต่างๆของน้ำยา ต้องพิจารณาถึง

1. ประเภทและขนาดของชิ้นเนื้อเยื่อ
2. ความหนาบางของชิ้นเนื้อเยื่อ

บทสรุป

แนวคิดในการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีเพื่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา อันประกอบด้วย แนวคิดด้านการชันสูตรศพ แนวคิดด้านการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยาในงานด้านพยาธิวิทยา แนวคิดด้านปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการซึมแทรกของน้ำยาเคมีต่างๆ ในการเตรียมชิ้นเนื้อ และแนวคิดการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ

แนวความคิดนั้นกล่าวที่ผู้วิจัยได้นำเสนอนี้ เป็นแนวคิดที่มีผลต่อการลดระยะเวลาการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะลดระยะเวลาการปฏิบัติงานในขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีให้สั้นลง เพื่อให้ได้ผลการวินิจฉัยได้เร็วขึ้นทั้งนี้เพื่อเพิ่มความรวดเร็วในการสรุปสาเหตุการเสียชีวิตและเพื่อสนับสนุนกระบวนการยุติธรรมได้อย่างแท้จริง

รายการอ้างอิง

พรทิพย์ โรจนสุนันท์. (2546). การชันสูตรศพ (พิมพ์ครั้งที่ 5). วิญญูชน

กัลยา ผลกรกุล. (2534). หลักการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยา. เนื้อเยื่อพื้นฐานของร่างกายและหลักการปฏิบัติงานด้านพยาธิวิทยา (พิมพ์ครั้งที่1). ดีไซร์

K Gordon P’Bradbyry. (1977). Tissue Processing. Theory and Practice of Histological Technique. Churchill liveing stone Edinburgh London and New York

C.F.A culling, R.T.Allison and W.T.barr. (1985). Processing. Cellura Pathology Technique. Butter worth&Co.

Denze C.Sheehan, Barbara B.Hrapchak. Processing of tissue. Theory and practice of Histotechnology Second edition

Ann Preece, H.T. (ASCP). (1972). Dehydration, Clearing and Infiltration of Tissue. Praraffin-Tissue-Processing Method. A Manual for Histological Technicians