

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์เครื่องมือ

1. เครื่องฉีดน้ำยาเข้าหลอดเลือด (AIRLAB/C1, อิตาลี)
2. เครื่องวัดสี (Colour Quest XE; HunterLab, สหรัฐอเมริกา)
3. เครื่องวัดแรงดึง (5565 H1591, Instron, อังกฤษ)
4. เครื่องวัดออสโมลาริตี (Osmomat 030, Gonotec, เยอรมันนี)
5. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า (สยามเครื่องชั่งและวิศวกรรม จำกัด ,ไทย)
6. เครื่องดูดถ่ายสารเคมีอัตโนมัติ (Rainin, สหรัฐอเมริกา)
7. เครื่องชั่ง (Trade Mark, พลภัณฑ์, ไทย)
8. คีมมีดผ่าตัด เบอร์ 4 (MIRA, เยอรมันนี)
9. กรรไกรตัดเนื้อเยื่อ (KRUUSE, เยอรมันนี)
10. กรรไกรตัดกระดูก (MIRA, เยอรมันนี)
11. ปากคีบแบบเขี้ยว (MIRA, เยอรมันนี)
12. ปากคีบแบบธรรมดา (MIRA, เยอรมันนี)
13. คีบหนีบหลอดเลือด (MIRA, เยอรมันนี)
14. กระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร (Pylex, สหรัฐอเมริกา)
15. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร (Pylex, สหรัฐอเมริกา)
16. กระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร (Pylex, สหรัฐอเมริกา)
17. กระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร (Pylex, สหรัฐอเมริกา)
18. ถังน้ำพลาสติกขนาด 57 แกลลอน (Superstar, ไทย)
19. ใบบีมมีดผ่าตัดขนาด 22 (MIRA, เยอรมันนี)
20. Pipette tip (ไทย)
21. Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (Hycon, ไทย)

3.1.2 สารเคมี	เกรด	บริษัท	ประเทศ
1. 37% formaldehyde	technical grad	อีเทอนัลเรซิง จำกัด	ไทย
2. Sodium Chloride	dried refined salt	TIRS	ไทย
3. Denatured ethyl alcohol 95%	technical grade	อีเทอนัลเรซิง จำกัด	ไทย
4. Propylene glycol	Pharmaceutical grad	ADEKA	ไทย
5. Phenol crystal (Carboric acid)	technical grad	MAHCO	ไทย
6. calibrate solution standard	Analytical grad	Gonotec	เยอรมนี

3.2 การเตรียมน้ำยารักษาสภาพซากสุนัข

การทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาเตรียมน้ำยารักษาสภาพซากสุนัขจำนวน 5 กลุ่ม แต่ละกลุ่มทดสอบกับซากสุนัข 5 ตัว โดยเตรียมน้ำยารักษาสภาพซากสุนัขที่มีความเข้มข้นของฟอร์มาลินและเกลือแกงแตกต่างกัน 4 กลุ่ม ที่มีเกลือแกงร้อยละ 18 และ ร้อยละ 25 กับฟอร์มาลินร้อยละ 0.1 และ ร้อยละ 1 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีฟอร์มาลินร้อยละ 10 และไม่มีเกลือ (ตารางที่ 1) (เดิมสารเคมีที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการรักษาสภาพซาก คือ ฟีนอล (Phenol) ร้อยละ 3 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) ร้อยละ 8 และ โพรไพลีนไกลคอล (Propylene glycol) ร้อยละ 10 ลงในน้ำยาทุกกลุ่ม)

ตารางที่ 1 กลุ่มน้ำยาที่ใช้ในการทดลอง

กลุ่มน้ำยา	อัตราความเข้มข้นของสารเคมี (เปอร์เซ็นต์)	
	เกลือแกง	ฟอร์มาลิน
1 (0/10) (กลุ่มควบคุม)	0	10
2 (18/1)	18	1
3 (25/1)	25	1
4 (14/0.1)	18	0.1
5 (25/0.1)	25	0.1

การเตรียมน้ำยารักษาสภาพซากโดยการละลายเกลือแกงในน้ำประปาตามสูตรที่กำหนดไว้ แล้วจึงเติม โพรไฟลีนไกลคอล ปริมาตร 1 ลิตร เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 842 มิลลิลิตร ฟีนอล ปริมาตร 300 มิลลิลิตร และ ฟอรัมาลลินตามสูตร คนให้เข้ากัน ก่อนที่จะปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำประปาให้ครบ 10 ลิตร

3.3 การเตรียมซากสุนัข

3.3.1 คุณสมบัติของซากสุนัข

ซากสุนัขทั้งหมดได้รับจากการบริจาคร่างกายจากเจ้าของสัตว์ตามโครงการ “การใช้ซากสัตว์เพื่อการเรียนการสอนทางสัตวแพทยศาสตร์” หน่วยพรีคลินิกทางสัตวแพทย์ ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโรงพยาบาลสัตว์หรือคลินิกสัตวแพทย์เอกชน ในจังหวัดเชียงใหม่ ที่เข้าร่วมโครงการรับบริจาคซากสัตว์ โดยเป็นซากสุนัขละเพศ (เพศผู้ 8 ตัว เพศเมีย 17 ตัว) ระยะเวลาพันธุ์ (คือกเกอร์สเปเนียล โกลเด้นรีทริฟเวอร์ ชิสุ ไชบีเรียสฮัสกี้ มินเจอร์ ร็อตไวเลอร์ พุดเดิ้ล และพันธุ์ผสม) และระยะเวลา (6.74±4.92 ปี) น้ำหนักประมาณ 5-30 กิโลกรัม (13.12±7.11 กิโลกรัม) ต้องมีอวัยวะครบและไม่ตายด้วยโรคสัตว์สู่คน อุบัติเหตุ หรือผ่านการศัลยกรรม จำนวน 25 ตัว โดยซากสุนัข ตายมาแล้วไม่เกิน 24 ชั่วโมง (12.42±7.53 ชั่วโมง)

3.3.2 การเตรียมซากสุนัขก่อนฉีดน้ำยา

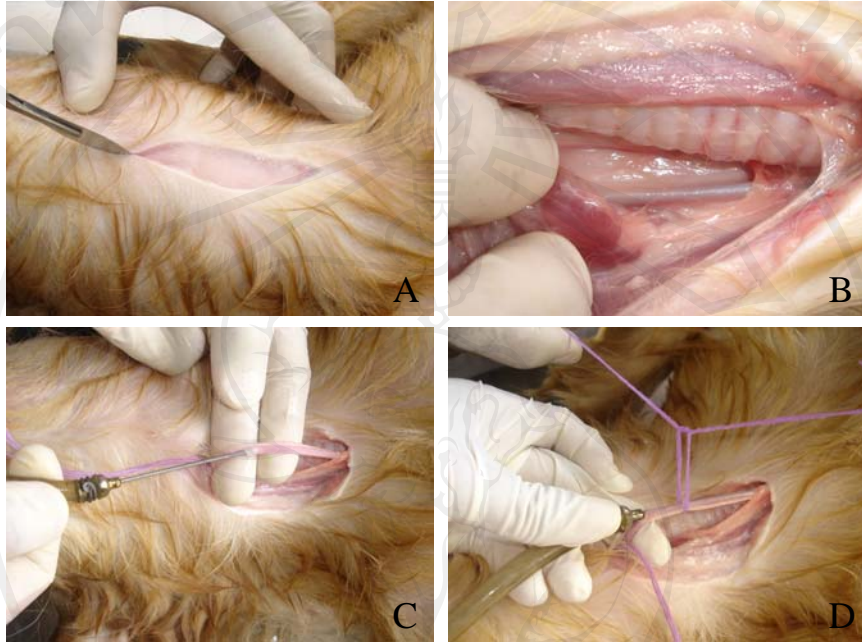
ทำการขังน้ำหนักร่างกายสุนัขเพื่อใช้คำนวณปริมาณน้ำยารักษาสภาพซาก แล้วทำความสะอาดร่างกายด้วยแชมพูอาบน้ำสุนัข ถัดล้างบริเวณช่องปาก จมูก และทวารหนักให้สะอาด จากนั้นจับสุนัขนอนหงาย เปิดผิวหนังบริเวณลำคอด้วยมีดผ่าตัดกรีดเป็นเส้นตรงตั้งแต่ตำแหน่งของกล่องเสียง (Larynx) จนถึงส่วนโคนของกล้ามเนื้อ sternocephalicus ซ้ำแหละหาหลอดเลือดแดง common carotid ทางด้านขวา ซึ่งวางตัวขนานกับหลอดเลือดทางด้านบนติดกับเส้นประสาท vagosympathetic trunk กำจัดเอาไขมันและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบหลอดเลือดออกด้วยปากกิบ จากนั้นใช้คัตเตอร์หลอดเลือดแดง common carotid รวมกับเส้นประสาท vagosympathetic trunk ให้ชิดกล่องเสียง เพื่อให้เหลือพื้นที่ในการฉีดน้ำยารักษาสภาพให้มากที่สุด แล้วใช้กรรไกรตัดประมาณ 1/3 ของหลอดเลือดให้เป็นรูปร่างปากฉลาม เพื่อใช้ฉีดน้ำยารักษาสภาพซาก (รูปที่ 1)

3.3.3 การฉีดน้ำยารักษาสภาพซาก

บรรจุน้ำยารักษาสภาพที่ผสมตามกลุ่มไม้ถึงฉีดน้ำยา จับซากสุนัขให้นอนตะแคงในท่าธรรมชาติ โดยหันทางขวาขึ้นด้านบน จับขาทั้งสี่ข้างให้เหยียดตึง ดึงปากให้อ้าออก พร้อมทั้งดึงลิ้นออกมาจากปาก จากนั้นสอดเข็มฉีดน้ำยาเข้าไปในหลอดเลือดแดง common carotid ด้านขวา แล้วใช้ค้ายผูกหลอดเลือดคให้แน่น เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำยาไหลออกจากหลอดเลือดในขณะที่ฉีดน้ำยา (รูปที่ 1D) ปล่อน้ำยารักษาสภาพเข้าหลอดเลือดด้วยความดัน 4 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เมื่อน้ำยาไหลเข้าสู่ซากจนทั่วร่างกายจะสังเกตเห็นน้ำยาไหลออกจากปากหรือจมูกของสุนัข เริ่มจับเวลาเมื่อมีน้ำยาไหลออกมา โดยระยะเวลาการฉีดจะขึ้นอยู่กับน้ำหนักตัวของสุนัข (ตารางที่ 2) หยุดฉีดน้ำยาเมื่อครบเวลาที่กำหนด แล้วดึงเข็มออก จากนั้นให้ดึงเชือกที่มัดเส้นเลือดไว้แต่เดิมให้แน่น เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำยาไหลย้อนออกมาจากหลอดเลือด จากนั้นวางซากสุนัขทดลองที่ฉีดน้ำยารักษาสภาพเรียบร้อยแล้วไว้ 24 ชั่วโมง แล้วจึงฉีดสีโปสเตอร์ผสมกาวยางพาราเข้าไปในหลอดเลือดแดง common carotid โดยปริมาณสีที่ฉีดคิดตามน้ำหนักตัวในอัตรา 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อรอให้สีแห้ง จากนั้นจึงนำซากสุนัขลงแช่ในถังน้ำพลาสติกที่มีฝาปิด บรรจุน้ำยาแช่ซากซึ่งมีส่วนประกอบของฟอร์มาลินและเกลือแกงเท่ากับที่ใช้ในน้ำยาที่ใช้ฉีดเข้าไปในหลอดเลือด โดยแช่ซากไว้เป็นเวลา 100 วัน จึงจะนำซากขึ้นมาประเมินคุณภาพ

ตารางที่ 2 แสดงเวลาที่ใช้ในการฉีดน้ำยารักษาสภาพซาก

น้ำหนักซากสุนัข (กิโลกรัม)	ระยะเวลาที่ฉีดน้ำยา (นาที)
30	30
25-29	25
20-24	20
15-19	15
5-14	10



รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนการชำแหละซากสุนัขเพื่อฉีดน้ำยารักษาสภาพซาก ; A : กรีดผิวหนังบริเวณลำคอ ด้านล่าง ; B : ชำแหละหาหลอดเลือดแดง common carotid ด้านขวา ; C : สอดเข็มที่ต่อกับ เครื่องฉีดน้ำยา ; D : ตรึงหลอดเลือดกับเข็ม

3.4 การประเมินคุณภาพซากสุนัข

3.4.1 การชำแหละซากสุนัข

นำซากสุนัขออกจากถังแช่ซากแล้วเปิดน้ำไหลผ่านในภาชนะนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นแช่ซากสุนัขไว้ในน้ำนาน 1 คืน แล้วจึงทำการชำแหละซาก โดยการนำซากสุนัขวางบนโต๊ะปฏิบัติการ ในท่านอนหงายแล้วใช้มีดผ่าตัดกรีดผิวหนังในแนวกึ่งกลางลำตัวตั้งแต่ปลายคางจนถึงทวารหนัก จากนั้นเลาะผิวหนังทางด้านซ้ายของลำตัวของซากสุนัข เปิดช่องอกโดยใช้กรรไกรตัดกระดูก ระหว่างกระดูกอ่อนปิดช่องอก (Sternum) บริเวณที่ต่อกับกระดูกซี่โครง (Rib) ตัดส่วนโคนของกระดูกซี่โครงทุกซี่ให้หัก แล้วดันช่องอกให้พลิกเปิดออก เปิดช่องท้องด้วยกรรไกรตัดกล้ามเนื้อ บริเวณท้องไปจนถึงบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ขนานกับแนวกลางลำตัว (Mid line) ทำการถ่ายรูปอวัยวะภายใน แล้วตัดเก็บกล้ามเนื้อ triceps brachii ส่วน long head และ accessory head กล้ามเนื้อ

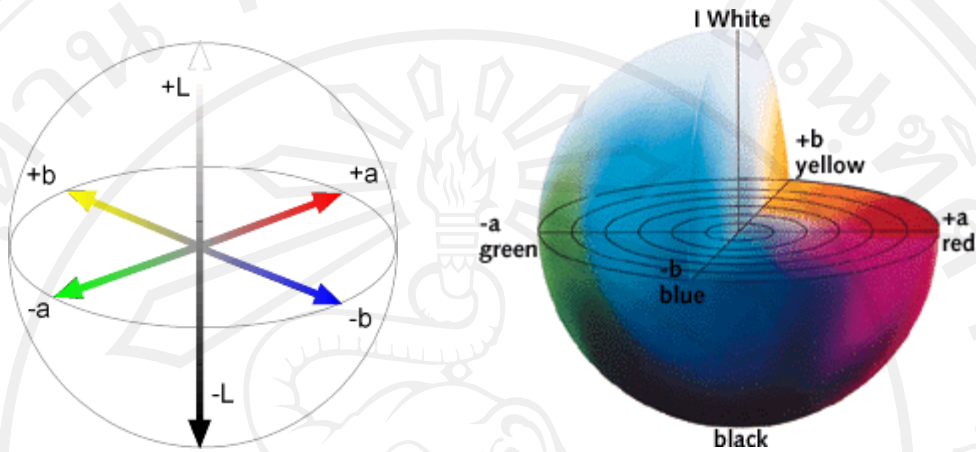
bicep feromis และกล้ามเนื้อ rectus femoris ให้มีขนาดความยาว 2 นิ้ว เพื่อนำไปประเมินสีและผิวสัมผัสของกล้ามเนื้อต่อไป

3.4.2 การประเมินการเน่า (Decomposition) ของซากสุนัข

ทำการประเมินการเน่าของอวัยวะทั่วร่างกาย ทั้งอวัยวะภายนอกและอวัยวะภายใน จำนวน 25 อวัยวะ ได้แก่ ผิวหนัง (Skin) กล้ามเนื้อ (Muscle) หลอดลม (Trachea) ปอด (Lung) หัวใจ (Heart) หลอดเลือดแดงใหญ่ (Aorta) หลอดเลือดแดงขาหลัง (Femoral artery) หลอดเลือดดำขาหน้า (Cephalic vein) ลิ้น (Tongue) ต่อมน้ำลาย (Mandibular salivary gland) หลอดอาหาร (Esophagus) กระเพาะอาหาร (Stomach) ตับ (Liver) ลำไส้ (Intestine) ตับอ่อน (Pancrease) ต่อมไทรอยด์ (Thyroid) ต่อมไทมัส (Thymus) ม้าม (Spleen) ต่อมน้ำเหลือง (Submandibular lymphnode) ไต (Kidney) กระเพาะปัสสาวะ (Urinary bladder) อวัยวะสืบพันธุ์ (Genital organ) กระดูกอก (Sternum) กระดูกซี่โครง (Rib) และเส้นประสาท (Phrenic nerve) โดยพิจารณาการเน่าของอวัยวะ (Decomposition) เมื่อพบการเปลี่ยนสีของอวัยวะเป็นสีเขียวเข้ม (Greenish discoloration) หรือมีกลิ่นเน่า (Foul-smelling amine) หรือเกิดการลอกของผิว (Skin slip) หรือการเกิดแก๊ส (Gas) (2) โดยผลการประเมินเกิดจากฐานนิยมของผู้ประเมินจำนวน 3 คน แล้วคำนวณอัตราการเน่าของอวัยวะเป็นร้อยละ โดยผู้ทำการประเมินเป็นอาจารย์ที่สอนวิชากายวิภาคศาสตร์ และทำการประเมินโดยไม่ทราบว่าซากสุนัขนั้นคงด้วยกรรมวิธีเทคนิคการปกปิด (Blind technique)

3.4.3 การประเมินสี (Color) ของกล้ามเนื้อ

ทำการประเมินสีของกล้ามเนื้อ จำนวน 4 มัด คือ long head ของ tricep brachii และ bicep femoris ใช้เป็นตัวแทนของกล้ามเนื้อระดับตื้น (Superficial muscles) และ accessory head ของ tricep brachii และ rectus femoris ใช้เป็นตัวแทนของกล้ามเนื้อชั้นลึก (Deep muscles) โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อจากกล้ามเนื้อทั้งสี่มัด วัดสีด้วยเครื่องวัดสี (Colour Quest XE, HunterLab) รายงานเป็นค่า L* คือค่าความสว่างของสี (Lightness) จากสีดำ (-L*) ถึงสีขาว (+L*) a* คือค่าสีแดง (Redness) จากสีเขียว (-a*) ถึงสีแดง (+a*) b* คือค่าสีเหลือง (Yellowness) จาก สีน้ำเงิน (-b*) ถึงสีเหลือง (+b*) โดยการวัดสีจะวัด 3 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วหาค่าเฉลี่ย จากนั้นจึงนำกล้ามเนื้อทั้งสี่มัดไปประเมินผิวสัมผัสต่อไป



รูปที่ 2 แสดงวงกลมสี ตามระบบ CIE Lab

ที่มา : <http://www.jiscdigitalmedia.ac.uk> และ <http://www.sapdesignguild.org>

3.4.4 การประเมินผิวสัมผัส (Texture) ของกล้ามเนื้อ

นำกล้ามเนื้อทั้งสี่มัดที่ผ่านการวัดสีแล้วมาวัดค่าแรงกดของกล้ามเนื้อด้วยเครื่องวัดแรงดึง (5565 H1591, Instron, อังกฤษ) ใช้แกนสแตนเลสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.25 เซนติเมตร แรงกด 0.5 นิวตัน และอัตราเร็ว 100 มิลลิเมตรต่อนาที โดยจะวัด 3 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่างแล้วหาค่าเฉลี่ย โดยค่าแรงกดที่ได้นี้ใช้เป็นตัวแทนบอกความนุ่มของมัดกล้ามเนื้อที่ได้จากการทดลอง

3.4.5 การประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ซาก

การประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ซากโดยการใช้แบบสอบถามความพึงพอใจ ผู้ประเมินประกอบด้วยคณาจารย์และนักศึกษาคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 87 คน การประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ซากอาศัยเทคนิคการปกปิด (Blind technique) โดยไม่ทราบว่าเป็นซากสุนัขนั้นคงด้วยกรรมวิธีใด โดยกำหนดดัชนีความพึงพอใจแบ่งเป็นลักษณะทางกายภาพ 4 ลักษณะ ได้แก่ สี (Color) กลิ่น (Odor) ผิวสัมผัส (Texture) และความยืดหยุ่น (Flexibility) แบ่งระดับความพึงพอใจเป็น 5 ระดับ คือ มากที่สุด (5) มาก (4) ปานกลาง (3) น้อย (2) และไม่พึงพอใจ (1) ตามลำดับ

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 16 (Statistical Package for Social Science for windows version 16) โดยทำการวิเคราะห์สองแบบ คือ การเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างกลุ่มการทดลองทั้ง 5 กลุ่ม และการวิเคราะห์ทีละคู่ โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มแรกเป็นกลุ่มที่มีปริมาณฟอร์มาลินแตกต่างกันแต่เกลือแคงเท่ากัน ประกอบด้วยกลุ่มที่ 2 (เกลือแคงร้อยละ 18 และฟอร์มาลินร้อยละ 1; 18/1) กับกลุ่มที่ 4 (เกลือแคงร้อยละ 18 และฟอร์มาลินร้อยละ 0.1; 18/0.1) และกลุ่มที่ 3 (เกลือแคงร้อยละ 25 และฟอร์มาลินร้อยละ 1; 25/1) กับกลุ่มที่ 5 (เกลือแคงร้อยละ 25 และฟอร์มาลินร้อยละ 0.1; 25/0.1) ส่วนกลุ่มที่สอง คือกลุ่มที่มีปริมาณเกลือแคงแตกต่างกันแต่ฟอร์มาลินเท่ากัน คือ กลุ่มที่ 2 (เกลือแคงร้อยละ 18 และฟอร์มาลินร้อยละ 1; 18/1) กับกลุ่มที่ 3 (เกลือแคงร้อยละ 25 และฟอร์มาลินร้อยละ 1; 25/1) และกลุ่มที่ 4 (เกลือแคงร้อยละ 18 และฟอร์มาลินร้อยละ 0.1; 18/0.1) กับกลุ่มที่ 5 (เกลือแคงร้อยละ 25 และฟอร์มาลินร้อยละ 0.1; 25/0.1)

โดยผลการนำของอวัยวะต่างๆ ของซากสุนัขใช้ค่าฐานนิยม (Mode) จากผู้ประเมิน 3 คน แล้วนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย Fisher's exact test ทั้งการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มและเปรียบเทียบทีละคู่ ส่วนการนำของซากโดยรวมคิดอัตราการนำของอวัยวะในแต่ละกลุ่ม ในการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลองนำอัตราการนำของแต่ละกลุ่มมาวิเคราะห์ทางสถิติแบบ One-WAY ANOVA เช่นเดียวกับค่าสีของกล้ามเนื้อ และแรงกดกล้ามเนื้อ จากนั้นทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่มด้วยวิธี Multiple comparison แบบ turkey's test ส่วนการเปรียบเทียบทีละคู่ใช้การวิเคราะห์ด้วย T-Test การวิเคราะห์การประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ซากใช้ค่าฐานนิยม (Mode) โดยการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลองใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Nonparametric test ด้วย K Related Samples แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างแบบ Friedman's test ส่วนการเปรียบเทียบทีละคู่ใช้ 2 Related Sample แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างแบบ Friedman's