

คู่มือการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ป่าและพันธุ์พืช

ข้อแนะนำการใช้ชุดเครื่องมือเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ป่าและพันธุ์พืช

[front page footer]

คู่มือนี้ ออกแบบเพื่อใช้กับชุดเครื่องมือเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ป่าและพันธุ์พืช จัดทำโดย TRACE Wildlife Forensics Network.

สารบัญ

1. บทนำ
2. สุขภาพและความปลอดภัยในการใช้
3. การปนเปื้อน
4. ชุดเครื่องมือ
5. การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษา
6. การส่งตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
7. ข้อมูลติดต่อ

1. บทนำ

ข้อแนะนำที่แนบมากับคู่มือชุดนี้ เป็นส่วนหนึ่งของชุดเครื่องมือเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ป่าและพันธุ์พืช ควรปฏิบัติตามอย่างระมัดระวังเมื่อใช้ในการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอสัตว์ป่าและพันธุ์พืชจากพื้นที่เกิดเหตุ

ผู้ที่ใช้เครื่องมือชุดนี้ ได้รับการคาดหวังว่าจะเป็นผู้ที่มีความรู้ในการรวบรวมหลักฐาน การติดฉลาก และการจัดลำดับหลักฐาน ตามเวลาและที่มา เพราะการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอเหล่านี้ สิ่งที่สำคัญมากคือลำดับขั้นตอนของหลักฐานที่ต้องมีการดำเนินการอย่างเคร่งครัด

การใช้ชุดเครื่องมือ

ชุดเครื่องมือนี้ได้ออกแบบเพื่อการใช้งานของเจ้าหน้าที่ควบคุมสัตว์ป่าและพันธุ์พืช การวิเคราะห์ดีเอ็นเออาจมีความเหมาะสมต่อการจำแนกชนิดพันธุ์ จำแนกประเภท เพศ และความเกี่ยวข้องอื่นๆ ต่อสัตว์ป่าและพันธุ์พืช เมื่อใดก็ตามที่ต้องใช้ดีเอ็นเอจากสัตว์ที่มีชีวิต สัตวแพทย์เท่านั้นที่ควรเป็นผู้เก็บตัวอย่าง

เนื่องจากหลักฐานจากดีเอ็นเอมีการปนเปื้อนและเสื่อมสภาพได้อย่างรวดเร็วในสภาวะแวดล้อมต่างๆ จึงมีความสำคัญมากที่จะต้องเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอให้เร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ ตามด้วยการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุ

2. สุขภาพและความปลอดภัยในการใช้

ความระมัดระวังและความใส่ใจต่อสุขภาพและความปลอดภัย เป็นเรื่องที่ต้องคำนึงถึงขณะเก็บตัวอย่าง แหล่งที่มาของหลักฐานดีเอ็นเอบางชนิดอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ข้อความข้างล่างนี้ ได้ระบุข้อควรระวังเบื้องต้นไว้ แต่ขอย้ำว่าผู้เก็บตัวอย่างยังคงเป็นผู้รับผิดชอบต่อสุขภาพและความปลอดภัยเมื่อใช้ชุดเครื่องมือ นอกจากนี้ ห้องปฏิบัติการชั้นสูงตรวจหาปฏิเสธรับตัวอย่าง หากตัวอย่างนั้นอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อเจ้าหน้าที่ของห้องปฏิบัติการได้

ข้อควรระวังต่อสุขภาพและความปลอดภัยเบื้องต้น

- สวมถุงมือที่แนบมากับชุดเครื่องมือตลอดเวลาที่จัดการกับตัวอย่าง
- ห้ามรับประทานอาหาร สูดบุหรี่ ดื่มน้ำ หรือสัมผัสใบหน้าเวลาทำการเก็บตัวอย่าง หรือจนกว่าจะล้างมืออย่างสะอาดแล้ว
- จำกัดความเสี่ยงจากของมีคมด้วยความระมัดระวังและควรบรรจุในกล่องแยก

3. การปนเปื้อน

การปนเปื้อนของตัวอย่างดีเอ็นเอเป็นเรื่องที่ควรเคร่งครัดมากในการเก็บและขนส่งหลักฐานเพื่อการชันสูตร ถึงแม้ว่าปัญหาการปนเปื้อนจากมนุษย์จะถูกจำกัดลดน้อยลงในกรณีของการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอสัตว์ป่าและพันธุ์พืช แต่ยังคงมีความจำเป็นที่จะต้องป้องกันการปนเปื้อนจากแหล่งชีวภาพอื่นๆ หรือพื้นผิวอื่นๆ ที่อาจสัมผัสกับตัวอย่างหลักฐานได้ จึงควรปฏิบัติตามข้อแนะนำต่อไปนี้ เพื่อลดความเสี่ยงในการปนเปื้อน

- หยิบจับตัวอย่าง อย่างระมัดระวังและน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้
- บันทึกลงและแยกตัวอย่างแต่ละชนิดในภาชนะบรรจุที่ปิดผนึกเสมอ แม้หลักฐานเหล่านั้นจะดูเหมือนว่ามาจากแหล่งเดียวกัน
- ถ้าเป็นไปได้ ควรใช้อุปกรณ์แบบใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งในการเก็บหลักฐาน
- อุปกรณ์ที่นำมาใช้ซ้ำได้อีกต้องผ่านการฆ่าเชื้อก่อนใช้

4. ชุดเครื่องมือ

อุปกรณ์แต่ละชิ้นในชุดเครื่องมือนี้ ออกแบบมาเพื่อการใช้งานครั้งเดียว หากฝืนใช้ของอุปกรณ์ชิ้นใดชิ้นขาด หรือไม่ได้นำส่งวิเคราะห์ ให้กำจัดทิ้งอย่างปลอดภัย อุปกรณ์แต่ละชิ้นในชุดเครื่องมือนี้ อาจสั่งเพิ่มได้จากส่วนกลางหรือจากผู้ผลิต

ของบรรจุภายใน

รายการ	จำนวน	การใช้
1. ถุงมือ	1 คู่	ป้องกันมือ ลดการปนเปื้อน
2. ที่คีบ	1 คู่	เก็บตัวอย่าง
3. มีดผ่าตัด	1 ด้าม	ตัดตัวอย่าง
4. สำลีพันก้าน	6 ชิ้น	เก็บตัวอย่าง (ทั้งสดและแห้ง)
5. น้ำกลั่นบริสุทธิ์	1 หลอด	ใช้ชุบสำลีก่อนเก็บตัวอย่างแห้ง
6. ถุงเก็บหลักฐาน	2 ถุง	ถุงบรรจุตัวอย่างและเพื่อความปลอดภัย
7. หลอดเก็บตัวอย่าง	2 หลอด	เก็บตัวอย่าง
8. แคปซูลซิลิกา	2 ชิ้น	ใช้ดูดความชื้นในหลอดเก็บตัวอย่าง
9. ปากกาเคมี	1 ด้าม	เขียนฉลาก
10. คู่มือเล่มเล็ก	1 เล่ม	ข้อมูล

5. การเก็บตัวอย่างและการรักษา

ประเภทของตัวอย่าง

ก่อนลงมือ ควรตัดสินใจเลือกประเภทของตัวอย่างที่จะเก็บ ซึ่งประเภทของตัวอย่างที่ระบุข้างล่างนี้ ได้เรียงตามลำดับทางเลือกที่เหมาะสมในการพิสูจน์ดีเอ็นเอ ควรเลือกเก็บตัวอย่างที่ดีที่สุดที่มีให้เลือก

1. เนื้อเยื่อ (กล้ามเนื้อ)
2. เลือด
3. ขน
4. น้ำลาย (กวาดจากช่องปาก)
5. ฟัน
6. กระดูก
7. น้ำลาย (เก็บจากสิ่งแวดล้อม)
8. มูลสัตว์

ขั้นตอนการเก็บ

เมื่อตัดสินใจได้แล้วว่าชิ้นส่วนนั้นๆ สามารถเก็บแยก รักษาสภาพ และขนส่งได้ โดยยังคงสภาพของหลักฐาน สามารถหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน และคงสภาพดีเอ็นเอ ถ้าเป็นไปได้ ควรแช่แข็งตัวอย่าง จึงควรคำนึงถึงพื้นที่ในการแช่แข็ง ตัวอย่างสดควรปล่อยให้แห้งตามธรรมชาติก่อนบรรจุใส่ถุงเก็บหลักฐาน *ขอคำปรึกษาในกรณีที่ไม่แน่ใจเกี่ยวกับวิธีที่ดีที่สุดในการเก็บและรักษาหลักฐานทางดีเอ็นเอ*

หากสามารถตัดชิ้นตัวอย่างได้อย่างปลอดภัย ให้ติดฉลาก เก็บรักษาอย่างถูกต้อง และนำส่งห้องปฏิบัติการ

หากไม่สามารถตัดชิ้นตัวอย่างได้อย่างปลอดภัย ปฏิบัติตามขั้นตอนการเก็บและรักษาดังต่อไปนี้

แหล่งที่มาของดีเอ็นเอ	การเก็บตัวอย่าง	การเก็บรักษา
1. เนื้อเยื่อ	สวมถุงมือ ใช้มีดผ่าตัด ตัดชิ้นเนื้อเยื่อสดเล็กๆ (ขนาด 1 ซม.) ใช้ที่คีบคีบชิ้นเนื้อเยื่อใส่ในหลอดเก็บตัวอย่าง ใส่แคปซูลซิลิกา ปิดฝาหลอดเก็บตัวอย่าง และใส่หลอดในถุงเก็บหลักฐาน ปิดผนึกและบันทึกรายละเอียดของตัวอย่างด้วยปากกาเคมี	แช่แข็ง
2. เลือด	สวมถุงมือ ใช้สำลีพันก้านในการเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่ใช้ได้ ต้องเก็บตัวอย่างจากการป้าย 3 ครั้ง ป้ายครั้งที่ 1 = Sample Swab ตัวอย่างเพื่อผู้ดีเอ็นเอเป้าหมาย ป้ายครั้งที่ 2 = Background Swab เพื่อทดสอบดีเอ็นเอจากสิ่งแวดล้อม ป้ายครั้งที่ 3 = Control Swab ตัวควบคุม <i>ป้ายครั้งที่ 1</i> ตัวอย่างเลือดสด หยดตัวอย่างเลือดลงบนสำลีพันก้าน (1 ถึง 2 หยด) ตัวอย่างเลือดแห้ง ชุบสำลีด้วยน้ำกลั่นบริสุทธ์ (หลอดสีส้ม) แล้วจึงป้ายสำลีไปมาบนเลือดแห้ง ปล่อยให้สำลีแห้ง แล้วจึงใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างปิดผนึก และติดฉลาก <i>ป้ายครั้งที่ 2</i> เป็นตัวทดสอบดีเอ็นเอที่พบตามวัตถุในสิ่งแวดล้อม ไม่ใช่จากตัวอย่างเลือด ชุบสำลีด้วยน้ำกลั่นบริสุทธ์ แล้วจึงป้ายสำลีไปมาบนตัวอย่างที่พบ แต่ไม่ใช่เลือด ปล่อยให้สำลีแห้ง แล้วจึงใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างปิดผนึก และติดฉลาก <i>ป้ายครั้งที่ 3</i> เป็นตัวควบคุม เพื่อทดสอบดีเอ็นเอปนเปื้อนในสำลีหรือในน้ำกลั่นบริสุทธ์ ชุบสำลีด้วยน้ำกลั่นบริสุทธ์ ปล่อยให้สำลีแห้ง แล้วจึงใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างปิดผนึก และติดฉลาก	แช่แข็ง
3. ขน	สวมถุงมือ ใช้ที่คีบดึงขนหรือเก็บตัวอย่างประมาณ 20 เส้น โดยที่ยังมีรากขนติดอยู่ ในการหยิบจับ ให้จับที่ปลายขน ไม่จับที่โคนราก แล้วใส่ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง ใส่แคปซูลซิลิกาลงไป ปิดฝา ใส่หลอดเก็บตัวอย่างในถุงเก็บหลักฐาน ปิดผนึก แล้วติดฉลาก	แช่แข็งและเก็บแห้ง

4. น้ำลาย (กวาดจากช่องปาก)	สัตว์มีชีวิต: การเก็บตัวอย่างน้ำลายจากปากควรกระทำโดยสัตวแพทย์ สัตว์ที่ตายแล้ว: ห้ามใช้ตัวอย่างน้ำลายจากปาก ให้ใช้เนื้อเยื่อหรือขน	แช่แข็ง
5. ฟัน	สวมถุงมือ เก็บฟันใส่ในหลอดเก็บตัวอย่าง ใส่แคปซูลซิลิกาลงไป ปิดฝา ใส่หลอดเก็บตัวอย่างในถุงเก็บหลักฐาน ปิดผนึก แล้วติดฉลาก	แช่แข็งและเก็บแห้ง
6. กระดูก	ปฏิบัติตามขั้นตอนการเก็บตัวอย่างฟัน	แช่แข็งและเก็บแห้ง
7. น้ำลาย (ไม่ได้กวาดจากปาก)	ปฏิบัติตามขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเลือด	แช่แข็ง
8. มูลสัตว์	สวมถุงมือ ใส่มูลสัตว์ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง ห้ามใส่เกินครึ่งหลอด พื้นผิวด้านบนของมูลสัตว์เป็นส่วนที่มีดีเอ็นเอเป้าหมาย จึงควรระมัดระวัง ในการเก็บผิวบนของมูลสัตว์ด้วย ใส่แคปซูลซิลิกาลงไป ปิดฝา ใส่หลอด เก็บตัวอย่างในถุงเก็บหลักฐาน ปิดผนึก แล้วติดฉลาก	แช่แข็ง
*อาเจียน	สวมถุงมือ ใส่ตัวอย่างจากของภายในกระเพาะลงในหลอดเก็บตัวอย่าง เก็บวัสดุแปลกปลอมที่น่าสนใจ เช่น ขน เนื้อเยื่อ ที่พบในอาเจียนด้วย	แช่แข็ง

6. การส่งตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ก่อนดำเนินการส่งตัวอย่าง ควรติดต่อห้องปฏิบัติการที่จะรับตัวอย่างเพื่ออธิบายลักษณะของตัวอย่างและวัตถุประสงค์ที่ชัดเจนในการทดสอบ การขนส่งตัวอย่าง ควรปฏิบัติตามคำแนะนำของห้องปฏิบัติการและใช้แบบนำส่งที่เหมาะสม

7. ข้อมูลติดต่อ

รายชื่อห้องปฏิบัติการที่รับชั้นสูงตรการวิเคราะห์ดีเอ็นเอของสัตว์ป่าและพันธุ์พืชในเขตอาเซียน มีอยู่ในเว็บไซต์ของ ASEAN-WEN Wildlife Forensics Network: www.asean-wfn.org.