การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการเก็บและรูปแบบการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมนุษย์ที่เกิดจากการสัมผัสบนระเบิดแสวงเครื่อง

Systematic Studies On Human DNA Analysis from Improvised Explosive Devices (IEDs): from Collection to STR Profiling

สุกัญญา เพชรเพ็ง

Sukanya Phetpeng

วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Forensic Science
Prince of Songkla University
2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการเก็บและรูปแบบการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมนุษย์ที่เกิดจากการสัมผัสบนระเบิดแสวงเครื่อง

Systematic Studies On Human DNA Analysis from Improvised Explosive Devices (IEDs): from Collection to STR Profiling

สุกัญญา เพชรเพ็ง

Sukanya Phetpeng

วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Forensic Science
Prince of Songkla University
2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการเก็บและรูปแบบการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมนุษย์ที่เกิดจากการสัมผัสบนระเบิดแสวงเครื่อง

ผู้เขียน ร้อยตำรวจเอกหญิงสุกัญญา เพชรเพ็ง

สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภูวดล ธนะเกียรติไกร)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐิติกา กิจพิพิธ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภูวดล ธนะเกียรติไกร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐิติกา กิจพิพิธ)

.....กรรมการ

(ดร.เครือวัลย์ ยุนรัมย์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำหรับการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภูวดล ธนะเกียรติไกร)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐิติกา กิจพิพิธ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ.....
(ร้อยตำรวจเอกหญิงสุกัญญา เพชรเพ็ง)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(ร้อยตำรวจเอกหญิงสุกัญญา เพชรเพ็ง)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการเก็บและรูปแบบการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมนุษย์ที่เกิดจากการสัมผัสบนระเบิดแสวงเครื่อง
ผู้เขียน ร้อยตำรวจเอกหญิงสุกัญญา เพชรเพ็ง
สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา 2559

บทคัดย่อ

ระเบิดแสวงเครื่องหรือระเบิดประกอบเองจากวัสดุในท้องถิ่น ได้ถูกนำมาใช้ก่อการร้ายในหลายประเทศทั่วโลก ระเบิดชนิดนี้มีโอกาสที่จะพบร่องรอยของดีเอ็นเอจากผู้ประกอบวางจรระเบิด แต่ดีเอ็นเอดังกล่าวมักถูกทำลายโดยความร้อนและปฏิกิริยาที่เกิดจากการระเบิด งานวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพที่สุดจากชิ้นส่วนหลักฐานระเบิดแสวงเครื่อง เพื่อเพิ่มโอกาสในการได้รับลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้ประกอบระเบิด ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ทดลองหยดเซลล์เม็ดเลือดขาว (buffy coat) บนวัสดุที่นิยมใช้ประกอบระเบิดแสวงเครื่อง จากนั้นตรวจเก็บดีเอ็นจากวัสดุดังกล่าว 3 วิธี คือ 1) ใช้ไม้พันสำลีและสารละลาย ตรวจเก็บดีเอ็นเอก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัดดีเอ็นเอ ทั้งนี้ได้ศึกษาประเภทของไม้พันสำลีและสารละลายอย่างละ 6 ชนิด 2) ใช้เทปกาว (tape-lifting) ตรวจเก็บดีเอ็นเอก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัดดีเอ็นเอ โดยศึกษาชนิดของเทปกาว 3 ยี่ห้อ และ 3) นำวัสดุประกอบระเบิดแสวงเครื่องไปสกัดดีเอ็นเอโดยตรง ผลการศึกษา พบว่า วิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพที่สุดในแต่ละวิธีให้ผลคุณภาพดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวจะแตกต่างกันในแต่ละอุปกรณ์ประกอบระเบิด จากผลการศึกษารูปแบบการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย จากวัสดุประกอบระเบิดประเภทต่างๆ นั้น พบว่าประเภทไม้พันสำลี สารละลาย และชนิดของอุปกรณ์ประกอบระเบิด ล้วนแล้วแต่ส่งผลต่อปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บคืนมาได้ โดยประเภทของไม้พันสำลีส่งผลกระทบมากที่สุด วิธีการที่ดีที่สุดที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ (Post-study protocol) ได้นำไปใช้วิเคราะห์ดีเอ็นเอจากวัตถุพยานระเบิดแสวงเครื่องจากคดีจริงจำนวน 195 ชิ้น เพื่อเปรียบเทียบผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับวิธีการดั้งเดิม (Pre-study protocol) ผลการศึกษา พบว่าวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นให้ผลคุณภาพลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สมบูรณ์ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความจำเป็นที่จะต้องมีการประเมินวิธีการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอทั้งระบบอย่างต่อเนื่องและให้เหมาะสมกับประเภทของวัตถุพยานหลักฐานต่างๆ

Thesis Title	Systematic studies on human DNA analysis from Improvised Explosive Devices (IEDs): from collection to STR profiling
Author	Police Captain Sukanya Phetpeng
Major Program	Forensic Science
Academic Year	2016

Abstract

Improvised explosive devices (IEDs) made from household items are encountered in terrorist attacks worldwide. Assembling an IED leaves trace DNA on its components, but deflagration degrades DNA. To maximize the amount of DNA recovered, a systematic evaluation of DNA collection methods was carried out and the most efficient methods were implemented with IED casework evidence as a validation exercise. Six swab types and six moistening agents were used to collect dried buffy coat stains on four common IED substrates. The most efficient swab/moistening agent combinations were then compared with tape-lifting using three brands of adhesive tape and also with direct DNA extraction from evidence. The most efficient collection methods for different IED substrates (post-study protocol) were then implemented for IED casework and compared with the pre-study protocol using 195 pieces of IED evidence. There was no single best swab type or moistening agent. Swab type had the largest effect on DNA recovery percentages, but moistening agents, substrates, and the interactions between factors all affected DNA recovery. The most efficient swab/moistening agent combinations performed equally well when compared with the best adhesive tape and direct extraction. The post-study protocol significantly improved STR profiles obtained from IED evidence. This paper outlines a comprehensive study of DNA collection methods for trace DNA and the validation of the most efficient collection methods with IED evidence. The findings from both parts of this study emphasize the need to continuously re-evaluate standard operating protocols with empirical studies.

กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภูวดล ธนะเกียรติไกร ที่ได้ให้คำปรึกษาเสียสละเวลาในการให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ตลอดจนเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐิติกา กิจพิพิธ เป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำปรึกษาเสียสละเวลาในการให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร.เครือวัลย์ ยุนรัมย์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ เป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำปรึกษาเสียสละเวลาในการให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ตลอดจนเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พล.ต.ท.สฤษฎ์ชัย อเนกเวียง อดีตผู้ช่วยผู้บัญชาการสำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูงที่ให้โอกาสเข้าศึกษาข้อมูลด้านวัตถุระเบิดในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ในเชิงลึก

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พล.ต.ต.ปรีดี พงศ์เศรษฐสันต์ รองผู้บัญชาการสำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูงที่อนุญาตให้สามารถทำการศึกษาวิจัยในขณะปฏิบัติงาน สนับสนุนการวิจัยและนำข้อมูลคดีจริงมาใช้ประกอบการวิจัยเพื่อพัฒนางานได้

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พล.ต.ต.จรูญ งดงาม อดีตผู้บังคับการ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูง ที่อนุญาตให้เข้ารับการศึกษาระดับปริญญาโทแบบไม่ต้องลาเรียนในครั้งนี้ ตลอดจนสนับสนุนให้ได้รับทุนการศึกษาในระหว่างการศึกษา

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พล.ต.ต.ชัยศักดิ์ เอื้อกฤดาธิการ ผู้บังคับการ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูง ที่อนุญาตให้ลาเขียนวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และให้การสนับสนุนกำลังใจในระหว่างการศึกษา

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พ.ต.อ.กฤษฎากร เชวงศักดิ์โสภาคย์ อดีตผู้กำกับการกลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำปรึกษา และให้การสนับสนุนกำลังใจในระหว่างการศึกษา

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พ.ต.อ.หญิงสุเจตนา โสตถิพันธ์ อดีตผู้กำกับการ กลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำปรึกษา และให้การสนับสนุนกำลังใจในระหว่างการศึกษา

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ พ.ต.อ.หญิงวรรณรัตน์ พงษ์สุวรรณ ผู้กำกับการ กลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ เป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำปรึกษา และให้การสนับสนุนกำลังใจในระหว่างการศึกษา

ขอขอบพระคุณทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ทุนวิจัยเลขที่ SCI5700555S และบัณฑิตวิทยาลัย คณะวิทยาศาสตร์ ที่ได้มอบทุนผู้ช่วยวิจัย (RA)

ดิฉันขอขอบพระคุณผู้บังคับบัญชา และเจ้าหน้าที่เก็บกู้วัตถุระเบิด ของศูนย์ข้อมูลวัตถุระเบิด ศูนย์ปฏิบัติการตำรวจจังหวัดชายแดนภาคใต้ ที่ได้อนุเคราะห์ข้อมูลและความรู้ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับวัตถุระเบิด

ดิฉันขอกราบขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 ทุกท่านเป็นอย่างสูงที่ให้คำแนะนำ ปรึกษา เสียสละเวลา และสนับสนุนข้อมูลเพื่อใช้ในการจัด ทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

สุดท้ายความสำเร็จและดีงามในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบความดีงามให้กับเจ้าหน้าที่ผู้ซึ่งปฏิบัติงานในพื้นที่จังหวัดชายแดนภาคใต้ ที่ได้เสียสละแรงกาย แรงใจ หรือเสียสละชีวิตเพื่อทำหน้าที่ปกป้องให้ความปลอดภัยแก่ประชาชนในเหตุการณ์ความไม่สงบต่างๆ ซึ่งเป็นแรงบันดาลใจให้ข้าพเจ้าได้ศึกษาและจัดทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ขึ้น และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าองค์ความรู้ที่มีอยู่ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้จักเป็นประโยชน์แก่ประชาชน และเป็นอีกทางหนึ่งที่ช่วยลดการสูญเสียจากเหตุระเบิด หรือสามารถจับกุมผู้กระทำความผิดในเหตุระเบิดได้เพิ่มมากขึ้น

สุกัญญา เพชรเพ็ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(9)
สารบัญตาราง	(11)
สารบัญรูป	(12)
รายงานผลการตีพิมพ์	(13)
List of permissions	(14)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ผลและวิเคราะห์ผล	3
เอกสารอ้างอิง	17
ภาคผนวก	20
ประวัติผู้เขียน	30

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่อง โดยใช้ไม้พันสำลีและสารละลาย ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ได้จากการศึกษา	5
2	แสดงวัตถุพยานอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่องที่ส่งตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมายังกลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10	12
3	แสดงผลการเปรียบเทียบการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากวัตถุพยานด้วยวิธีที่ได้จากการทดลองครั้งนี้กับวิธีการตรวจเก็บที่ใช้แบบดั้งเดิม ในอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่องจากคดีจริง	12
4	แสดงวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอที่ได้จากผลการศึกษา และนำไปใช้ตรวจเก็บดีเอ็นเอบน วัตถุพยานอุปกรณ์ประกอบระเบิดจริง จากคดีที่เกิดขึ้นจริง	13

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงแผนการวิจัยในส่วนของการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ด้วยวิธีการศึกษาประสิทธิภาพของชนิดไม้พันสำลีและชนิดของสารละลาย	4
2	แสดงค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้จากอุปกรณ์ประกอบระเบิดและ 95% nonparametric bootstrapped confidence intervals จากไม้พันสำลี 6 ชนิด	6
3	แสดงแผนการวิจัยในส่วนของการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยการเปรียบเทียบวิธีการตรวจเก็บดีเอ็เอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย กับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้เทปดึง (Tape lifting)	7
4	แสดงค่าร้อยละของดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ และค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ จากวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย กับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้เทปดึง (Tape lifting) โดยแกนแนวนอน คือ ประเภทของวัสดุที่ใช้ในการตรวจ เก็บดีเอ็นเอจากพื้นผิวพลาสติกพีวีซี	8
5	แสดงแผนการวิจัยในส่วนของการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยการเปรียบเทียบวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลี และสารละลาย กับวิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยตรง	9
6	แสดงค่าร้อยละของดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ และค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ด้วยวิธีกาสกัดดีเอ็นอโดยตรงบนอุปกรณ์ประกอบระเบิด 2 ชนิด และวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab โดยเทปกาวสีดำยี่ห้อ 3M จะใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab ร่วมกับสารละลายไอโซโพพานอล และสายไฟขดลวดทองแดง (Copper wire) จะใช้ไม้พันสำลี EO cotton swab ร่วมกับสารละลายพีบีเอส	10
7	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (STR profile) ที่สามารถตรวจเก็บได้โดยใช้วิธีการสกัดโดยตรง และสามารถใช้พยานหลักฐานดังกล่าวเชื่อมโยงผู้กระทำความผิดได้	15

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
8	แสดงตำแหน่งของปมเทปพันสายไฟ ซึ่งเป็นเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M ที่ต่อออกจากวิทยุสื่อสารไปยังแบตเตอรี่ที่สามารถตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยวิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยตรง และเชื่อมโยงสู่ผู้กระทำความผิดได้	16

รายงานผลการตีพิมพ์

1. Phetpeng, S., *et al.*, Touch DNA collection from improvised explosive devices: A comprehensive study of swabs and moistening agents. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 2013. 4(1): p. e29-e30.

2. Phetpeng, S., Kitpipit T., Thanakiatkrai P., Systematic study for DNA recovery and profiling from common IED substrates: From laboratory to casework. Forensic Science International: Genetics, 2015. 17: p. 53-60.

List of permission

(Paper 1)

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Dec 19, 2016

This Agreement between Sukanya Phetpeng ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4012520329679
License date	Dec 19, 2016
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Forensic Science International: Genetics Supplement Series
Licensed Content Title	Touch DNA collection from improvised explosive devices: A comprehensive study of swabs and moistening agents
Licensed Content Author	Sukanya Phetpeng,Thitika Kitpipit,Vatee Asavutmangkul,Weawgarn Duangshatome,Wannarat Pongsuwan,Phuvadol Thanakiatkrai
Licensed Content Date	2013
Licensed Content Volume Number	4
Licensed Content Issue Number	1
Licensed Content Pages	2
Start Page	e29
End Page	e30
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	full article
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	Yes
Will you be translating?	No
Order reference number	
Title of your thesis/dissertation	Systematic Studies On Human DNA Analysis from Improvised Explosive Devices (IEDs): from Collection to STR Profiling
Expected completion date	Dec 2016
Estimated size (number of pages)	20
Elsevier VAT number	GB 494 6272 12
Requestor Location	Sukanya Phetpeng DNA analysis center, Scientific Crime Detection Division 10, Royal Thai Police Hatyai, Songkhla 90110 Thailand Attn: Sukanya Phetpeng
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

List of permission

(Paper 2)

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Dec 19, 2016

This Agreement between Sukanya Phetpeng ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4012810761918
License date	Dec 19, 2016
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Forensic Science International: Genetics
Licensed Content Title	Systematic study for DNA recovery and profiling from common IED substrates: From laboratory to casework
Licensed Content Author	Sukanya Phetpeng,Thitika Kitpipit,Phuvadol Thanakiatkrai
Licensed Content Date	July 2015
Licensed Content Volume Number	17
Licensed Content Issue Number	n/a
Licensed Content Pages	8
Start Page	53
End Page	60
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Intended publisher of new work	other
Portion	full article
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	Yes
Will you be translating?	No
Order reference number	
Title of your thesis/dissertation	Systematic Studies On Human DNA Analysis from Improvised Explosive Devices (IEDs): from Collection to STR Profiling
Expected completion date	Dec 2016
Estimated size (number of pages)	20
Elsevier VAT number	GB 494 6272 12
Requestor Location	Sukanya Phetpeng DNA analysis center, Scientific Crime Detection Division 10, Royal Thai Police Hatyai, Songkhla 90110 Thailand Attn: Sukanya Phetpeng
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

บทที่ 1
บทนำ

การก่อการร้าย (Terrorism) นับเป็นปัญหาสำคัญที่สร้างความเสียหายในชีวิตและทรัพย์สินให้แก่มนุษยชาติ จากรายงานสถิติการก่อการร้ายจากทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2553 พบว่า เกิดการก่อการร้ายขึ้นทั่วโลกใน 72 ประเทศ กว่า 11,500 เหตุ เป็นเหตุให้มีผู้เสียชีวิตและบาดเจ็บมากกว่า 63,000 คน ในจำนวนนี้ประเทศไทยจัดเป็นอันดับหนึ่งของประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีรายงานการก่อการร้ายมากที่สุด รองลงมา คือ ประเทศฟิลิปปินส์ ประเทศอินโดนีเซีย และประเทศพม่า [1] และนับตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2547-24 ธันวาคม พ.ศ.2557 ได้เกิดเหตุการณ์ความไม่สงบในพื้นที่จังหวัดชายแดนภาคใต้ถึง 14,688 เหตุการณ์ [2] ซึ่งส่งผลกระทบต่อความมั่นคง เศรษฐกิจ การเมืองการปกครองของประเทศเป็นอย่างยิ่ง รัฐบาลจึงทุ่มงบประมาณระหว่างปี พ.ศ. 2547-พ.ศ. 2557 เป็นเงินกว่า 208,323 ล้านบาทเพื่อแก้ไขปัญหาความไม่สงบในพื้นที่ดังกล่าว [3]

หนึ่งในรูปแบบการก่อการร้ายที่ผู้ก่อการร้ายนิยมนำมาใช้ก่อเหตุในทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย คือ การใช้ระเบิดในรูปแบบของระเบิดแสวงเครื่องหรือระเบิดดัดแปลงประกอบเอง (Improvised Explosive Device, IED) [4] ซึ่งผู้ประกอบระเบิดจะใช้อุปกรณ์ทดแทนต่างๆ ที่สามารถจัดหามาได้เพื่อประกอบเป็นระเบิด และจากรายงานการข่าวของศูนย์ปฏิบัติการสำนักงานตำรวจแห่งชาติส่วนหน้า [5] กล่าวว่า รูปแบบของระเบิดแสวงเครื่องที่ใช้ในการการก่อการร้ายมีหลากหลายประเภทขึ้นอยู่กับสภาพภูมิประเทศที่ต้องการวางระเบิด ตำแหน่งของเป้าหมาย และระยะเวลาในการสังหารเป้าหมาย เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลให้การออกแบบการจุดฉนวนระเบิดแตกต่างกันออกไปด้วย อย่างไรก็ตามอุปกรณ์เบื้องต้นที่ใช้สำหรับการประกอบระเบิดแสวงเครื่องที่พบทั่วโลกมีลักษณะคล้ายคลึงกันอันประกอบไปด้วย 1) ภาชนะบรรจุระเบิด มักนิยมใช้เป็นกล่องเหล็ก พลาสติกพีวีซี หรือกล่องกระดาษ 2) ตัวจุดระเบิด (เชื้อประทุ) คือ สารเคมีสำหรับเริ่มปฏิกิริยาระเบิด บรรจุในภาชนะที่ถูกดัดแปลง เช่น ท่อพลาสติกพีวีซี ท่อเหล็ก หรือท่ออลูมิเนียม 3) พลังงาน โดยแหล่งพลังงานมักเป็นแบตเตอรี่ขนาดต่างๆ 4) ระบบสวิตซ์ มักใช้เป็นสวิตซ์เปิดปิดสำเร็จรูปทำจากพลาสติก หรือการใช้วิทยุสื่อสารโทรศัพท์มือถือ ก็จัดเป็นส่วนหนึ่งของระบบสวิทซ์ในวงจรระเบิดและ 5) ดินระเบิด ซึ่งเป็นสารเคมีบรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุ นอกจากนี้สายไฟขดลวดทองแดง และปลั๊ก เป็นองค์ประกอบของวงจรที่สำคัญที่ใช้เชื่อมต่อกระแสไฟฟ้าจากองค์ประกอบต่างๆ ของวงจรทำให้ระเบิดสามารถทำงานได้ (ข้อมูลจากศูนย์ข้อมูลวัตถุระเบิด กองกำลังตำรวจ จังหวัดชายแดนภาคใต้)

เนื่องจากการประกอบระเบิดแสวงเครื่องนั้น ผู้ประกอบระเบิดจะต้องสัมผัสกับอุปกรณ์เหล่านี้ในขณะประกอบระเบิด [6, 7] ซึ่งการสัมผัสในแต่ละครั้งมีโอกาสเกิดการโอนถ่ายเซลล์ผิวหนัง

บนอุปกรณ์ต่างๆที่ผ่านการสัมผัส [8, 9] และสามารถตรวจเก็บเซลล์ที่ติดอยู่กับอุปกรณ์เหล่านั้นมาตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเพื่อการระบุตัวบุคคลได้ ด้วยประการนี้งานตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการเชื่อมโยงผู้กระทำความผิดกับพยานหลักฐานในเหตุระเบิด ในปัจจุบันเทคนิคการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเพื่อการระบุบุคคล โดยใช้วิธีการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งมี 5 ขั้นตอน ประกอบด้วย การตรวจเก็บตัวอย่างชีวภาพหรือดีเอ็นเอจากวัตถุพยาน การสกัดดีเอ็นเอ การวัดปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตำแหน่งที่สนใจ และการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยพบว่าวิธีการตรวจเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอ ชนิดและลักษณะพื้นผิวของวัตถุพยานเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ [10-14] ซึ่งการใช้ไม้พันสำลี (Swab) หรือเทปกาว (Tape lift) ที่ต่างกันเพื่อเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอนั้น ส่งผลให้ปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บคืนมาได้จากพื้นผิวของวัตถุพยานแตกต่างกันออกไป [15] และสำหรับการเก็บดีเอ็นเอบนระเบิดแสวงเครื่องมักได้รับผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ไม่สมบูรณ์หรือได้อัลลีลไม่ครบทุกตำแหน่ง เนื่องจากความร้อนที่เกิดจากการการระเบิด และองค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้ประกอบระเบิด มีผลต่อการทำลายดีเอ็นเอที่ติดอยู่บนอุปกรณ์เหล่านั้น และนอกจากนี้ความรุนแรงจากการระเบิดส่งผลให้ระเบิดแสวงเครื่องแตกออกเป็นชิ้นส่วนขนาดเล็กและกระจายไปทุกทิศทาง ทำให้การเก็บรวบรวมชิ้นส่วนอุปกรณ์ประกอบระเบิดเพื่อรวบรวม ดีเอ็นเอให้ได้มากที่สุดกระทำได้ยากขึ้นอีกด้วย [7, 16, 17]

จากปัญหาดังกล่าวจึงนำมาสู่การวิจัยเพื่อพัฒนาการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการสัมผัสบนวัตถุพยานหลักฐานประเภทระเบิดแสวงเครื่อง โดยเน้นศึกษาวิธีการเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่สามารถกู้คืนดีเอ็นเอจากการสัมผัสบนวัสดุประกอบระเบิดแสวงเครื่องต่างๆ ได้มากที่สุด ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้สืบสวนคดีการลอบวางระเบิดแสวงเครื่องรูปแบบต่างๆ ที่เกิดขึ้นในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ได้จริง และเพิ่มโอกาสในการเชื่อมโยงข้อมูลจากหลักฐานไปสู่ผู้กระทำความผิดภายหลังได้ อีกทั้งยังสามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักของพยานหลักฐานในชั้นศาลเพื่อใช้ในการพิจารณาคดีตัดสินลงโทษผู้กระทำความผิดต่อไปได้

บทที่ 2
ผลและวิเคราะห์ผล

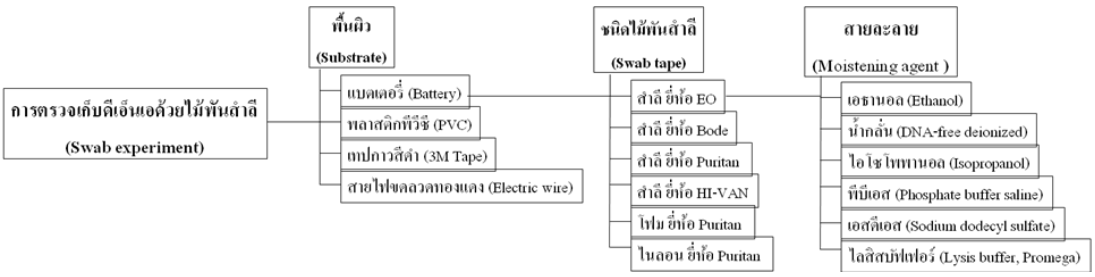
การศึกษาวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วยการทดลอง 2 ส่วน คือ 1) การทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 2) การทดลองใช้วิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ได้จากการทดลองแรกมาตรวจเก็บดีเอ็นเอจากวัตถุพยานในวงจรระเบิดแสวงเครื่องจากคดีจริง

2.1 ผลการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากวัตถุพยานอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด

2.1.1 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของชนิดไม้พันสำลี และชนิดของสารละลาย

การทดลองนี้ทำการหยดเซลล์เม็ดเลือดขาว (buffy coat) ปริมาณ 0.3 ไมโครลิตรลงบนพื้นผิวอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่องจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เทปพันสายไฟ ซึ่งเป็นเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M, แบตเตอรี่ขนาด 9 โวลต์, สายไฟที่มีลวดทองแดง และพลาสติกพีวีซี วางทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ไม้พันสำลีสะอาดปราศจากเชื้อเก็บดีเอ็นเอจากพื้นผิวดังกล่าว โดยการทดลองใช้ไม้พันสำลี 6 ชนิด คือ Bode Forensic SecurSwab™ (BC), Puritan DNA-Free Cotton Tipped Applicator (PC), EO cotton swab (EC), HI-VAN Lab cotton swab (HVC), Puritan Foam Tipped Applicator (PF) และ Puritan nylon flocked swab (PN) สำหรับไม้พันสำลีแต่ละชนิดจะทำให้เปียกก่อนการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยจุ่มสารละลายต่างๆ 6 ชนิดได้แก่ น้ำกลั่น (DNA-free deionized water), สารละลายพีบีเอส (Phosphate buffered saline), เอธานอล (100% Ethanol), สารละลายเอสดีเอส (1%w/v Sodium dodecyl sulfate), ไอโซโพพานอล (100% Isopropanol), และสารละลายไลสิสบัฟเฟอร์ (Promega DNA IQ™ lysis buffer Promega Corporation, USA) โดยในแต่ละชุดของการทดลองจะทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ดังแสดงในรูปที่ 1 จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดน้ำยาสกัด DNA IQ™ system Database-Protocol (Promega Corporation) [18] และหาปริมาณดีเอ็นเอด้วยชุดน้ำยา Quantifiler™ Human DNA Quantification Kit (Applied Biosystems, USA) [19] โดยปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ในแต่ละชุดของการทดลองจะถูกนำเสนอในรูปแบบร้อยละของปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ (Percent DNA recovered) โดยนำปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้หารด้วยค่าเฉลี่ยของปริมาณดีเอ็นเอทำการหยดลงบนพื้นผิวต่างๆ (0.56 ng/ul) จากนั้นนำค่าร้อยละของปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ มาทำการบูทสแตร๊ป (Bootstrap หรือการสุ่มตัวอย่างกลุ่มเป้าหมาย

แบบคืนที่) เพื่อคำนวณช่วงความเชื่อมั่น (Confidence Interval) แบบ Nonparametic โดยหากช่วงความเชื่อมั่นที่ได้นั้นมีการซ้อนทับกันของช่วงความเชื่อมั่น สามารถอนุมานได้ว่ากลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 1 แสดงแผนการวิจัยในส่วนของการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ด้วยวิธีการศึกษาประสิทธิภาพของชนิดใช้ไม้พันสำลีและชนิดของสารละลาย

ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยทุกปัจจัยที่ทำการศึกษา ซึ่งได้แก่ ชนิดไม้พันสำลี ชนิดของสารละลาย และชนิดของพื้นผิวอุปกรณ์ประกอบระเบิด ทั้งหมดมีปฏิสัมพันธ์กัน (รูปที่ 2) กล่าวคือ ไม่มีไม้พันสำลี และสารละลายชนิดใดชนิดหนึ่ง ที่สามารถตรวจเก็บดีเอ็นเอได้ดีที่สุดในทุกอุปกรณ์ประกอบระเบิด ชนิดของไม้พันสำลีและสารละลายสำหรับตรวจเก็บดีเอ็นเอให้ได้ปริมาณมากที่สุด มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพื้นผิวของอุปกรณ์ประกอบระเบิด โดยสรุปได้ ดังนี้ 1) พื้นผิวแบตเตอรี่เหมาะกับการใช้ไม้พันสำลีชนิด Puritan Cotton (PC) และน้ำกลั่น 2) พื้นผิวเทปกาวสีดำเหมาะกับการใช้ไม้พันสำลีชนิด Bode Cotton (BC) และสารละลายไลซิสบัฟเฟอร์ 3) พื้นผิวที่เป็นสายไฟขดลวดทองแดงเหมาะกับการใช้ไม้พันสำลีชนิด Puritan Cotton (PC) และสารละลายพีบีเอส และ 4) พื้นผิวพลาสติกพีวีซีเหมาะกับการใช้ไม้พันสำลีชนิด Puritan Foam (PF) และสารละลายเอสดีเอส (ตารางที่ 1) ส่วนไม้พันสำลียี่ห้อ HI-VAN Lab cotton swab (HVC) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ และไม้พันสำลีชนิด Puritan Nylon (PN) จะให้ปริมาณดีเอ็นเอที่น้อยมากในทุกๆพื้นผิวของการทดลองไม่ว่าจะใช้กับสารละลายชนิดใด จากผลการศึกษาดังกล่าวช่วยให้เจ้าหน้าที่ผู้ตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอสามารถเลือกชนิดไม้พันสำลีและสาร ละลาย ให้เหมาะสมกับประเภทของอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่องแต่ละชนิด เพื่อเพิ่มโอกาสในการได้รับลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สมบูรณ์ หรือจำนวนตำแหน่งอัลลีลที่เพิ่มมากขึ้น

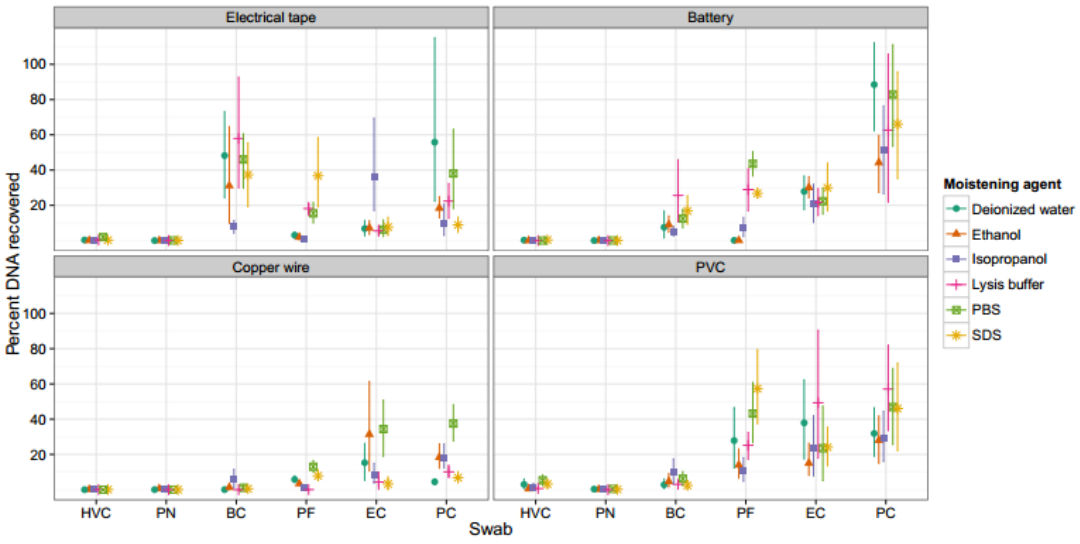
ตารางที่ 1 แสดงวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่อง โดยใช้ไม้พันสำลีและสารละลาย ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ได้จากการศึกษา

พื้นผิว (Substrates)	ไม้พันสำลี (Swab)	สารละลาย (Moistening agent)
แบตเตอรี่	Puritan Cotton (PC)	น้ำกลั่น
เทปกาวสีดำ	Bode Cotton (BC)	ไลซิสบัฟเฟอร์
สายไฟขดลวดทองแดง	Puritan Cotton (PC)	พีบีเอส
พลาสติกพีวีซี	Puritan Foam (PF)	เอสดีเอส

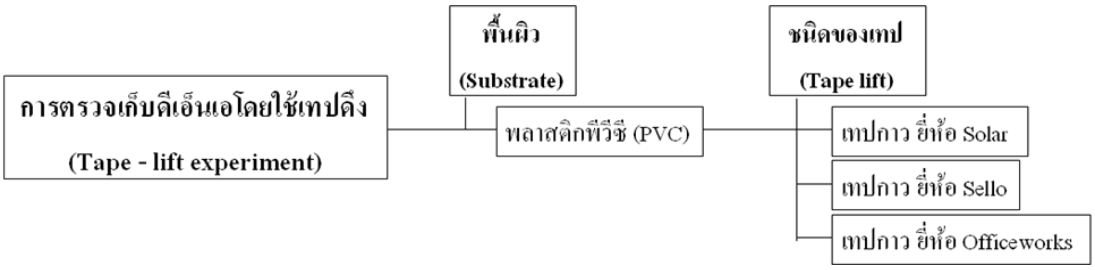
2.1.2 ผลการศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย กับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้เทปดึง (Tape lifting)

ทำการหยดเซลล์เม็ดเลือดขาว ปริมาณ 0.3 ไมโครลิตรหยดลงบนท่อพลาสติกพีวีซี วางทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยเทปกาว 3 ยี่ห้อ คือ Office works Invisible Tape (Office works, Australia), Sello tape golden original clear tape (Sell tape, United Kingdom) และ Solar tape (Solar, Thailand) ก่อนทำการทดลองนำเทปแต่ละยี่ห้อผ่านการทำลายดีเอ็นเอด้วยรังสียูวี จากนั้นตัดเทปขนาดประมาณ 2.0 × 2.5 เซนติเมตร ใช้ด้านเหนียวของเทปดึงเซลล์เม็ดเลือดขาวบนพื้นผิวพลาสติกพีวีซีขึ้นลง ประมาณ 50 ครั้ง หรือจนความเหนียวของเทปหมด โดยในแต่ละชุดการทดลองจะทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ดังแสดงในรูปที่ 3 จากนั้นนำเทปดังกล่าวไปสกัดดีเอ็นเอ และหาปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธีเดียวกันกับหัวข้อ 2.1.1 แล้วเปรียบเทียบร้อยละของปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ (Percent DNA recovered) ด้วยวิธีใช้เทปดึง กับร้อยละของปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ (Percent DNA recovered)ด้วยวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยไม้พันสำลีและสารละลายตามผลการศึกษาที่ดีที่สุดจากหัวข้อที่ 2.1.1

การคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้วิธีแบบนอนพาราเมตริก (Non-parametic method) เนื่องจากข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวไม่เป็นแบบปกติ (Non-normal distribution) สำหรับการศึกษาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยวิธีเทปดึง ได้วิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบปริมาณดีเอ็นเอที่เก็บได้โดยใช้เทปทั้ง 3 ยี่ห้อและ EO cotton swab โดยวิธีการ Kruskal-Wallis test และใช้การเปรียบเทียบแบบ Pairwise ด้วย Wilcoxon signed-rank test กับ Holm-Bonferroni correction) เพื่อปรับระดับนัยสำคัญกรณีที่มีการทำการเปรียบเทียบหลายกลุ่ม (Multiple correction)

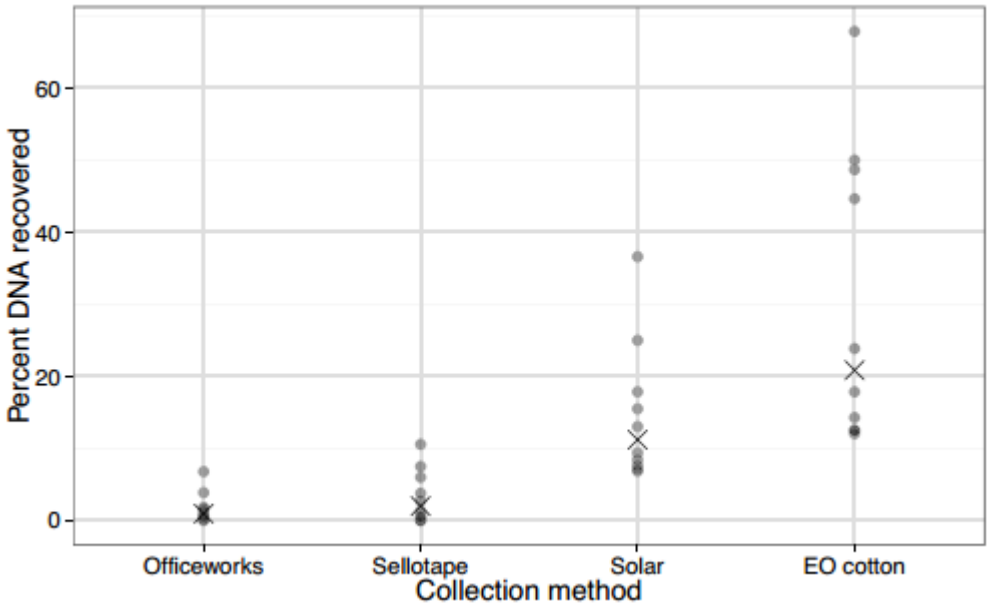


รูปที่ 2 แสดงค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้จากอุปกรณ์ประกอบระเบิดและ 95% nonparametric bootstrapped confidence intervals จากไม้พันสำลี 6 ชนิด ได้แก่ ไม้พันสำลีชนิด HI-VAN Lab cotton swab (HVC), Puritan nylon flocked swab (PN), Bode Forensic SecurSwab™ (BC), Puritan Foam Tipped Applicator (PF), EO cotton swab (EC), and Puritan DNA-Free Cotton Tipped Applicator (PC) สารละลาย 6 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น (Deionized water), เอธานอล (Ethanol), ไอโซโพพานอล (Isopropanol), สารละลายไลสิสบัฟเฟอร์ (Lysis buffer), สารละลายพีบีเอส (PBS) และสารละลายเอสดีเอส (SDS) ที่ตรวจเก็บบนพื้นผิวอุปกรณ์ประกอบระเบิด 4 ชนิดได้แก่ เทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M (Electrical tape), แบตเตอรี่ขนาด 9 โวลต์ (Battery), สายไฟที่มีลวดทองแดง (Copper wire) และพลาสติกพีวีซี (PVC)



รูปที่ 3 แสดงแผนการวิจัยในส่วนของการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยการเปรียบเทียบวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย กับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้เทปดึง (Tape lifting)

ผลการศึกษา พบว่า ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab ให้ปริมาณดีเอ็นเอเฉลี่ยที่ตรวจเก็บได้ร้อยละ 20.8 ซึ่งไม่แตกต่างกับปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้จาก Solar tape อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ต่างจากปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้จาก Sello tape และ Office work tape ซึ่งใช้ในห้องปฏิบัติการของตำรวจสหพันธ์ออสเตรเลีย (Australian Federal Police, AFP) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4) และเมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab และสารละลาย ไลสิสบัฟเฟอร์ กับ Solar tape พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

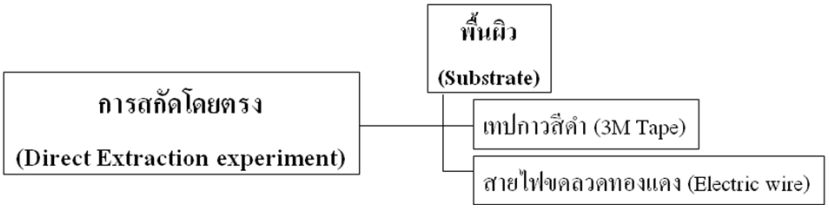


รูปที่ 4 แสดงค่าร้อยละของดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ และค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ จากวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย กับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้เทปดึง (Tape lifting) โดยแกนแนวนอน คือ ประเภทของวัสดุที่ใช้ในการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากพื้นผิวพลาสติกพีวีซี

2.1.3 ผลการศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย moistening agent กับวิธีการนำวัตถุพยานไปสกัดดีเอ็นเอโดยตรง

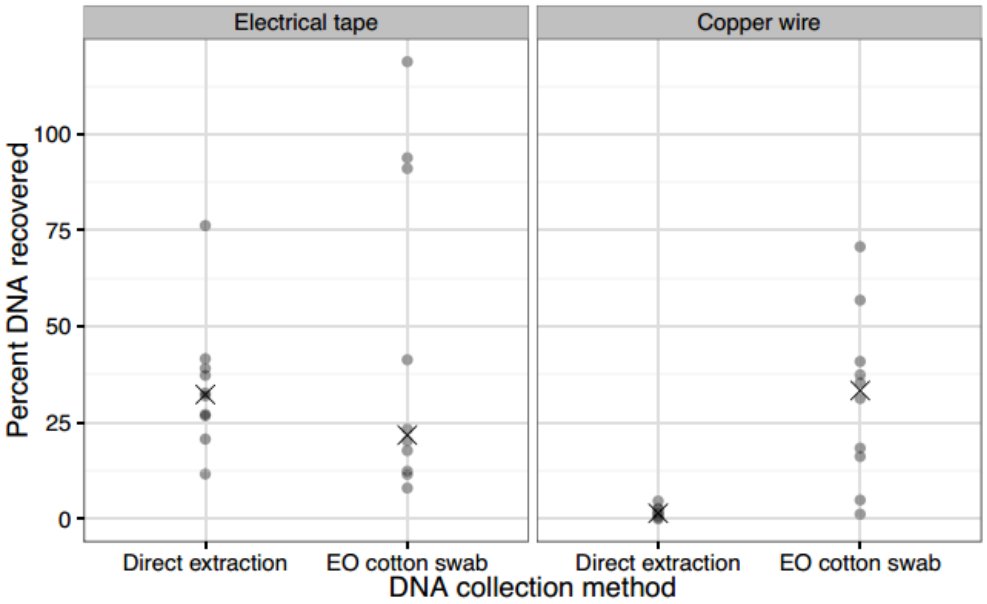
การทดลองนี้ศึกษา โดยใช้วัสดุประกอบระเบิดแสวงเครื่อง 2 ชนิด คือ เทปกาวสีดำยี่ห้อ 3M (ตัดความยาว 4 เซนติเมตร) และขดลวดทองแดง (ตัดฉนวนหุ้มขดลวดออกความยาว 1 เซนติเมตร) โดยทำการหยดเซลล์เม็ดเลือดขาว (Buffy coat) ปริมาณ 0.3 ไมโครลิตรลงบนพื้นผิวทั้ง 2 ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยในแต่ละชุดการทดลองจะทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ดังแสดงในรูปที่ 5 จากนั้นนำเทปพันสายไฟ และขดลวดทองแดงไปสกัดดีเอ็นเอ และวัดปริมาณดีเอ็นเอ เพื่อหาร้อยละของปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ (Percent DNA recovered) ด้วยวิธีสกัดดีเอ็นเอโดยตรง เปรียบเทียบกับร้อยละของปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ (Percent DNA recovered) ด้วยวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยไม้พันสำลีและสารละลาย ตามผลการศึกษาที่ดีที่สุดจากหัวข้อที่ 2.1.1

สำหรับการสกัดโดยตรง จะใช้ Wilcoxon signed-rank test เพื่อศึกษาปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้จากการสกัดโดยตรงกับวิธีการใช้ไม้พันสำลี EO cotton swab ว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่



รูปที่ 5 แสดงแผนการวิจัยในส่วนของการทดลองเพื่อหาวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากอุปกรณ์ประกอบระเบิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยการเปรียบเทียบวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลีและสารละลาย กับวิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยตรง

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บด้วยการสกัดดีเอ็นเอโดยตรงจากเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M กับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab และสารละลายไอโซโพพานอล ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ประมาณร้อยละ 20 - 35 อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณดีเอ็นเอที่วัดได้จากเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M ด้วยวิธีการใช้ไม้พันสำลี มีความผันแปรของผลการทดลองสูงมากกว่าวิธีการสกัดโดยตรง ดังนั้นการสกัดโดยตรงจึงเหมาะสมกับการนำไปใช้ตรวจเก็บดีเอ็นเอบนเทปพันสายไฟ ซึ่งเป็นเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M มากกว่า ในขณะที่การวัดปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บบนขดลวดทองแดง ด้วยไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab และสารละลายพีบีเอส จะให้ปริมาณดีเอ็นเอกลับคืนมากกว่าการสกัดดีเอ็นเอโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 6) ซึ่งพบว่าในขั้นตอนการวัดปริมาณดีเอ็นเอจำนวนรอบของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ Internal positive control (IPC) มีค่าสูงกว่าปกติ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยไอออนของทองแดง จะเข้าไปแย่งจับกับไอออนของแม็กนีเซียม ทำให้เอ็นไซน์ดีเอ็นเอพอลิเมอเลสที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอในปฏิกิริยาทำงานไม่สมบูรณ์ เป็นผลให้ปริมาณดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้จากสายไฟขดลวดน้อยกว่าพื้นผิวชนิดอื่นๆ [20, 21]



รูปที่ 6 แสดงค่าร้อยละของดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ และค่ามัธยฐาน (Median) ของร้อยละดีเอ็นเอที่ตรวจเก็บได้ด้วยวิธีกาสกัดดีเอ็นเอ โดยตรงบนอุปกรณ์ประกอบระเบิด 2 ชนิด และวิธีการตรวจ เก็บดีเอ็นเอโดยใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab โดยเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M จะใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab ร่วมกับสารละลายไอโซโพพานอล และสายไฟขดลวดทองแดง (Copper wire) จะใช้ไม้พันสำลี EO cotton swab ร่วมกับสารละลายพีบีเอส

หนึ่งในข้อจำกัดของงานวิจัยนี้คือ การใช้เซลล์เม็ดเลือดขาว (Dried buffy coat) แทนการใช้ดีเอ็นเอจากการสัมผัส (Touch DNA) ดังนั้น ผลการทำงานวิจัยนี้เมื่อนำไปใช้ในคดีจริงอาจมีความคาดเคลื่อนเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองเพื่อควบคุมตัวแปรอื่นๆให้มากที่สุด เช่น การใช้เซลล์เม็ดเลือดขาวจากแหล่งที่มาเดียวกันในการทดลอง ในขณะเดียวกัน การใช้ ดีเอ็นเอจากการสัมผัสก็มีข้อจำกัดเช่นกัน เนื่องจากการปริมาณดีเอ็นเอที่เกิดจากการสัมผัสมีความแปรผันมากทั้งในบุคคลเดียวกันและระหว่างบุคคล เพราะความสามารถที่ผิวหนังชั้นนอกสุดจะหลุดลอกออกของแต่ละบุคคลคนมีไม่เท่ากัน (Shedder status) นอกจากนี้ความผันแปรยังมีสาเหตุมาจาก อุปนิสัยส่วนตัว เช่น การถูหน้า หรือมีการล้างมือก่อนการสัมผัส และนอกจากนี้ลักษณะพื้นผิวที่สัมผัสก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโอกาสการโอนถ่ายปริมาณ ดีเอ็นเอจากผู้สัมผัสไปยังผิวสัมผัสได้แตกต่างกัน [8, 22, 23] อีกทั้งในงานวิจัยนี้มีการออกแบบการทดลองทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ต่อแต่ละสภาวะการทดลอง ซึ่งสามารถช่วยลดความคาดเคลื่อนดังกล่าวได้

2.2 การนำผลการศึกษาไปใช้ในการตรวจสอบดีเอ็นเอจากวัตถุพยานในคดีจริง

ผู้วิจัยตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอจากวัตถุพยานในคดีระเบิดรวม 195 รายการ จากคดีระเบิด 56 คดี (ปี พ.ศ. 2555-พ.ศ. 2556) โดยจะมีรูปแบบระเบิด การบรรจุหรือจัดวางในภาชนะที่แตกต่างกันคือ ระเบิดบรรจุในถังแก๊ส ระเบิดแบบเหยียบ ระเบิดบรรจุในกล่องพลาสติก ระเบิดบรรจุในกล่องเหล็ก ระเบิดบรรจุในรถจักรยานยนต์ ระเบิดบรรจุในท่อเหล็ก ระเบิดบรรจุในรถยนต์ ระเบิดบรรจุในกล่องกระดาษลัง ระเบิดสำเร็จรูปทางทหาร และระเบิดบรรจุในขวดพลาสติกแกลลอน (ตารางที่ 2) โดยมีจำนวน 74 รายการที่ใช้วิธีการดั้งเดิม คือ 1) การตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยไม้พันสำลียี่ห้อ HI-VAN และน้ำกลั่นในทุกพื้นผิวของวัตถุพยานที่เป็นอุปกรณ์ประกอบระเบิด 2) การตัดเทปกาวจากวงจรระเบิดใส่ในหลอดพลาสติกขนาดบรรจุ 15-50 มิลลิลิตร พร้อมแช่ด้วยสารละลายพีบีเอสจนท่วมเนื้อเทปกาวก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัดดีเอ็นเอ วัดปริมาณดีเอ็นเอ และทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เป็นต้น ในขณะที่ 121 รายการ ใช้วิธีที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ โดยนำผลของจำนวนอัลลีลที่ได้จากการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากวัตถุพยานในคดีจริงทั้งที่ใช้วิธีการดั้งเดิม และใช้วิธีที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มาเปรียบเทียบกัน ดังแสดงผลในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 แสดงวัตถุพยานอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่องที่ส่งตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมายัง กลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10 จำนวน 195 รายการ จากคดีระเบิด 56 คดี โดยจะมีรูปแบบระเบิดที่แตกต่างกัน ซึ่งระเบิดประกอบด้วยอุปกรณ์พื้นฐาน 4 ชนิด คือ เทปพันสายไฟ แบตเตอรี่ พลาสติกพีวีซี

รูปแบบคดี	**เทปพันสายไฟ**	**แบตเตอรี่**	**พีวีซี**	**สายไฟขดลวดทองแดง**	**อื่นๆ**	**รวม**
ถังแก๊ส (28)	61	9	7	8	9	94
ระเบิดแบบเหยียบ (2)	27	2	0	0	0	29
กล่องพลาสติก (1)	10	1	0	0	0	11
กล่องเหล็ก (1)	10	0	0	0	0	10
ระเบิดแบบท่อ (5)	6	0	2	0	0	8
ระเบิดรถจักรยานยนต์ (3)	8	0	0	1	0	9
ระเบิดรถยนต์ (2)	5	2	0	0	0	5
ระเบิดทางทหาร (1)	4	0	0	0	0	0
ถังพลาสติก (1)	1	0	1	0	0	1
กล่องกระดาษ (1)	2	1	0	0	2	5
อื่นๆ (6)	12	1	0	0	1	14
รวม (56)	146	16	10	9	14	195

ตารางที่ 3 แสดงผลการเปรียบเทียบการตรวจเก็บดีเอ็นเอจากวัตถุพยานด้วยวิธีที่ได้จากการทดลองครั้งนี้กับวิธีการตรวจเก็บที่ใช้แบบดั้งเดิม ในอุปกรณ์ประกอบระเบิดแสวงเครื่องจากคดีจริง

จำนวนอัลลีล	ผลการตรวจก่อนการศึกษาทดลอง (74 ตัวอย่าง)	ผลการตรวจหลังใช้วิธีจากการศึกษาทดลอง (121 ตัวอย่าง)
32 อัลลีล (full profile)	1 (1.4%)	9 (7.4%)
16-31 อัลลีล (Hight partial)	2 (2.7%)	10 (8.3%)
1-15 อัลลีล (Low partial)	6 (8.1%)	21 (17.4%)
ตรวจไม่พบ (No profile)	65 (87.8%)	81 (66.9%)

เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จะพบว่าวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอที่ได้พัฒนาขึ้นจากการศึกษาในครั้งนี้ จะให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีคุณภาพสูงกว่าวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอแบบดั้งเดิมก่อนการทดลอง โดยจะเห็นได้ชัดว่าวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอหลังจากการทดลอง จะลดจำนวนของผลตรวจไม่พบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (No profile) ลงประมาณร้อยละ 20 และมีจำนวนอัลลีลต่อลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าวิธีการที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้สามารถตรวจเก็บดีเอ็นเอจากวัตถุพยานระเบิดได้มากขึ้น ส่งผลให้ได้รับลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สมบูรณ์มากขึ้นในคดีที่เกิดขึ้นของพื้นที่สามจังหวัดชายแดนภาคใต้ของไทย และสามารถสรุปวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอได้ดังนี้ 1) พื้นผิวแบตเตอรี่เหมาะกับการใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab (EC) และน้ำกลั่น 2) พื้นผิวเทปกาวสีดำเหมาะกับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอ 2 วิธี คือการใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab (EC) และสารละลายไอโซโพพานอล หรือสามารถใช้วิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยตรง 3) พื้นผิวที่เป็นสายไฟขดลวดทองแดงเหมาะกับการใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab (EC) และสารละลายพีบีเอส และ 4) พื้นผิวพลาสติกพีวีซีเหมาะกับวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอ 2 วิธี คือการใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab (EC) และสารละลายไลซิสบัพเฟอร์ หรือสามารถตรวจเก็บดีเอ็นเอโดยวิธีเทปดึง ซึ่งใช้ Solar tape ในการตรวจเก็บดีเอ็นเอได้อีกทางหนึ่ง (ตารางที่ 4)

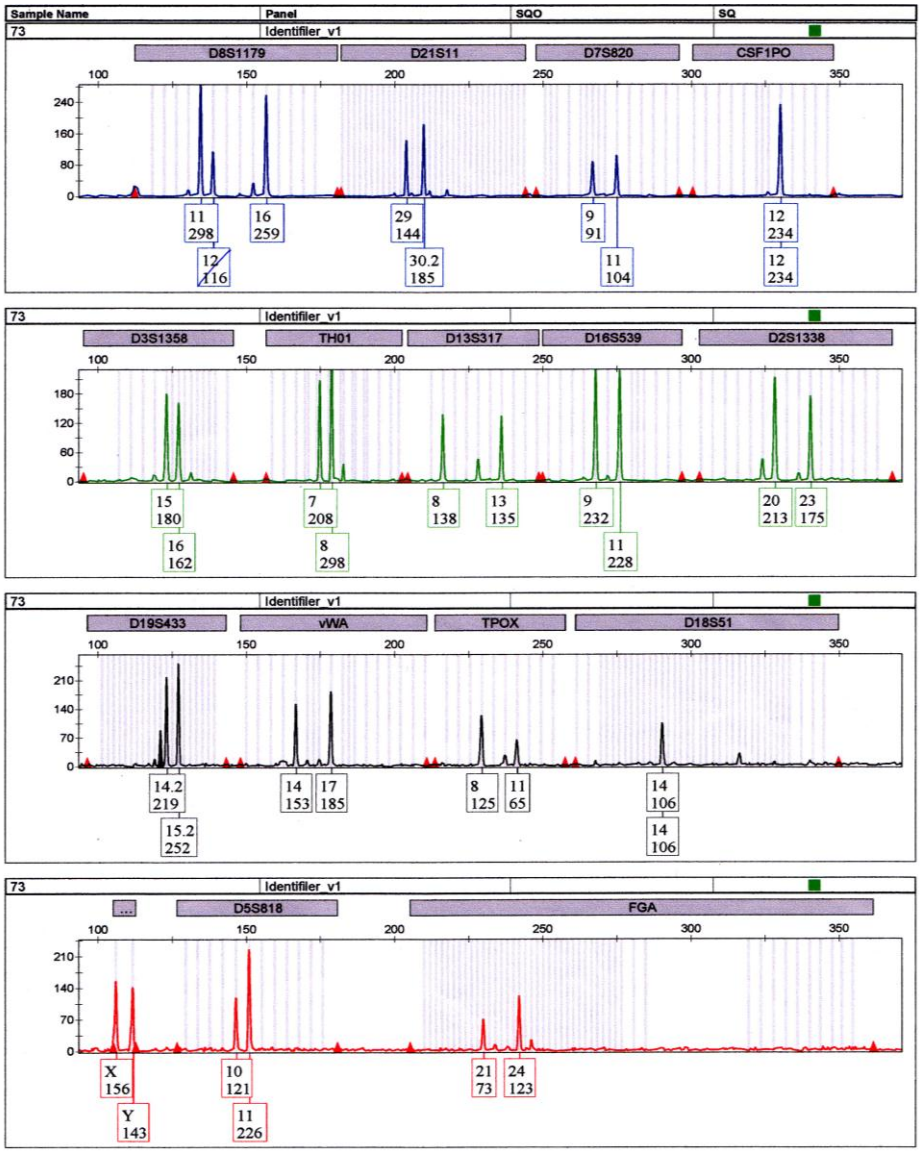
ตารางที่ 4 แสดงวิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอที่ได้จากผลการศึกษา และนำไปใช้ตรวจเก็บดีเอ็นเอบนวัตถุพยานอุปกรณ์ประกอบระเบิดจริง จากคดีที่เกิดขึ้นจริง

พื้นผิว (Substrates)	**วิธีการตรวจเก็บดีเอ็นเอ**	
	ไม้พันสำลีและสารละลาย	**วิธีการอื่นๆ**
แบตเตอรี่	EO cotton swab (EC) และน้ำกลั่น	-
เทปกาวสีดำ	EO cotton swab (EC) และไอโซโพพานอล	การสกัดดีเอ็นเอโดยตรง
สายไฟขดลวดทองแดง	EO cotton swab (EC) และพีบีเอส	-
พลาสติกพีวีซี	EO cotton swab (EC) และไลซิสบัพเฟอร์	การใช้เทปดึง (Solar tape)

2.3 ตัวอย่างคดีที่นำผลการวิจัยมาใช้ประโยชน์

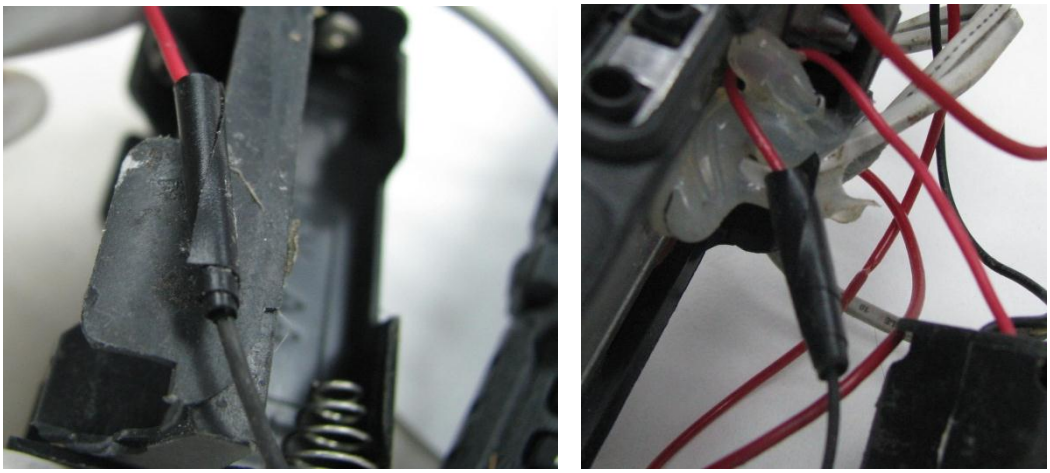
2.3.1 ตัวอย่างคดีที่ 1 เกิดเหตุระเบิดในพื้นที่ อ.มายอ จ.ปัตตานี เป็นเหตุให้เจ้าหน้าที่ทหารสองนายเสียชีวิต จากการตรวจสอบในที่เกิดเหตุคนร้ายได้ฝังระเบิดขนาดประมาณ 15 กิโลกรัม ไว้ใต้ถนน แรงระเบิดทำให้เกิดหลุมระเบิดขนาดใหญ่เกือบ 4 เมตรลึก 1.5 เมตร และห่างกัน 3 เมตร พบซากรถยนต์กระบะ 4 ประตูยี่ห้อโตโยต้า สีบรอนซ์ นอกจากนี้พบสายไฟยาว ประมาณ 100 เมตร ลากเข้าไปในป่า ชิ้นส่วนระเบิดแสวงเครื่องและสะเก็ดระเบิดกระจายไปทั่วบริเวณ

เหตุดังกล่าวพบว่าวงจรระเบิดหลักถูกทำลายเนื่องจากระเบิดมีการเผาไหม้ที่สมบูรณ์ วัตถุพยานที่สามารถตรวจดีเอ็นเอได้คือเทปพันสายไฟที่คนร้ายใช้พันสายไฟที่ลากยาวกว่า 100 เมตร เพื่อเชื่อมต่อวงจรระเบิดหลักกับตำแหน่งที่กดระเบิด ห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอจึงวิเคราะห์ชิ้นส่วนวัตถุพยาน และเลือกใช้วิธีการสกัดโดยตรงที่ได้จากการศึกษามาใช้กับเทปพันสายไฟสีดำที่พบในคดีนี้ ผลการตรวจพิสูจน์พบว่าสามารถตรวจหาดีเอ็นเอได้จากชิ้นส่วนของเทปดังกล่าว และในเวลาต่อมา ปี พ.ศ. 2556 เจ้าหน้าที่ตำรวจได้ตรวจเก็บดีเอ็นเอของบุคคลที่เป็นกลุ่มเสี่ยง และเป็นแนวร่วมในการก่อการร้ายมาเก็บในฐานข้อมูลดีเอ็นเอ และทำให้ดีเอ็นเอของบุคคลดังกล่าวเชื่อมโยงกับดีเอ็นเอที่สามารถเก็บกู้ได้ที่เทปพันสายไฟในเหตุดังกล่าว (รูปที่ 7) และเมื่อวันที่ 19 มี.ค. พ.ศ. 2558 ศาลจังหวัดปัตตานี ได้พิพากษา (ชั้นต้น) ประหารชีวิตจำเลยดังกล่าว



รูปที่ 7 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (STR profile) ที่สามารถตรวจเก็บได้โดยใช้วิธีการสกัดโดยตรง และสามารถใช้พยานหลักฐานดังกล่าวเชื่อมโยงผู้กระทำความผิดได้

2.3.2 ตัวอย่างคดีที่ 2 เจ้าหน้าที่ทหารชุดเดินลาดตระเวนฐานปฏิบัติการของบ้านโต๊ะบาลา ได้พบวัตถุต้องสงสัยคล้ายระเบิดแสวงเครื่อง จึงได้แจ้งเจ้าหน้าที่ หน่วยเก็บกู้วัตถุระเบิดและพิสูจน์หลักฐานเข้าตรวจสอบ เมื่อเจ้าหน้าที่ไปถึงพบภาชนะบรรจุระเบิด เจ้าหน้าที่จึงยิงทำลายระเบิด และส่งวัตถุพยานที่เหลือมายังห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอพบว่าวัตถุพยานที่สามารถตรวจเก็บได้ เช่น ชิ้นส่วนวิทยุสื่อสาร ชิ้นส่วนแผงวงจร แบตเตอรี่ และสายไฟ ซึ่งน่าจะมีดีเอ็นเอของผู้ประกอบระเบิดหลงเหลืออยู่ การตรวจเก็บดีเอ็นเอจากวัตถุพยานจึงเลือกใช้ตามวิธีการที่ศึกษาและสามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ 2 บริเวณ คือ บริเวณแผงวงจรที่ทำการเก็บดีเอ็นเอด้วยการใช้ไม้พันสำลีชนิด EO cotton swab และน้ำกลั่นเป็นสารละลาย และบริเวณเทปพันสายไฟสีดำต่อออกจากวิทยุสื่อสารที่ใช้วิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยตรง จากนั้นเมื่อวันที่ 30 มกราคม พ.ศ. 2557 เจ้าหน้าที่ตำรวจได้ตรวจเก็บดีเอ็นเอของบุคคลที่เป็นกลุ่มเสี่ยง และเป็นแนวร่วมในการก่อการร้ายมาเก็บในฐานข้อมูลดีเอ็นเอ และทำให้ดีเอ็นเอของบุคคลดังกล่าวเชื่อมโยงกับดีเอ็นเอที่สามารถเก็บกู้ได้ที่เทปพันสายไฟในเหตุดังกล่าว (รูปที่ 8) และเมื่อวันที่ 2 ธันวาคม พ.ศ. 2557 ศาลจังหวัดปัตตานี ได้พิพากษา (ชั้นต้น) ให้จำเลยดังกล่าวจำคุกตลอดชีวิต แต่เนื่องจากคำให้การในชั้นสอบสวนของจำเลยมีประโยชน์ต่อการพิจารณาคดี มีเหตุให้บรรเทาโทษลดโทษให้จำคุกเป็นเวลา 37 ปี 6 เดือน



รูปที่ 8 แสดงตำแหน่งของปมเทปพันสายไฟ ซึ่งเป็นเทปกาวสีดำ ยี่ห้อ 3M ที่ต่อออกจากวิทยุสื่อสารไปยังแบตเตอรี่ที่สามารถตรวจเก็บดีเอ็นเอด้วยวิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยตรงและเชื่อมโยงสู่ผู้กระทำความผิดได้

เอกสารอ้างอิง

[1] National Counterterrorism Center, 2010 NCTC Report on Terrorism, Washington DC, 2011.

[2] สุภาพร พนัสนาซี และคณะ, สรุปสถิติเหตุการณ์ความไม่สงบในพื้นที่จังหวัดชายแดนภาคใต้ประจำปี 2557: ปีที่มีจำนวนเหตุการณ์น้อยที่สุดในรอบ 11 ปี. คณะทำงานฐานข้อมูลเหตุการณ์ชายแดนใต้. ศูนย์เฝ้าระวังสถานการณ์ภาคใต้, Deep South Incident Database (DSID), 2557.

[3] กองศึกษาวิจัยทางยุทธศาสตร์และความมั่นคง, สรุปสถานการณ์ ๑๐ ปี ไฟใต้ :แนวทางนำสันติภาพคืนสู่ปลายด้ามขวาน, ศูนย์ศึกษายุทธศาสตร์สถาบันป้องกันประเทศ, บทความวิเคราะห์สถานการณ์ยุทธศาสตร์และความมั่นคงของประเทศรายสัปดาห์ ฉบับที่ 15/57, 2557.

[4] Organization, Joint improvised explosive device defeat organization, Attack the network-defeat the device-train the force. Attacking the IED network NDIA global EOD conference, Frederick gaghan, 2011

[5] พันตำรวจโทกิติ อริยานนท์, ปัญหาความไม่สงบในจังหวัดชายแดนภาคใต้: สู้ด้วยยุทธศาสตร์และเข็มมุ่งใหม่สำหรับรัฐไทย. วิชาเอกสารศึกษา หลักสูตรผู้กำกับการ รุ่นที่ 77, วิทยาลัยการตำรวจ กองบัญชาการศึกษา สำนักงานตำรวจแห่งชาติ, 2554.

[6] Foran, D.R., Gehring, M.E., Stallworth, S.E., The recovery and analysis of mitochondrial DNA from exploded pipe bombs. J Forensic Sci, 2009. 54(1): p. 90-4.

[7] Ramasamy, S., Houspian A., Knott F., Recovery of DNA and fingermarks following deployment of render-safe tools for vehicle-borne improvised explosive devices (VBIED). Forensic Sci Int, 2011. 210(1-3): p. 182-7.

[8] Phipps, M., Petricevic, S., The tendency of individuals to transfer DNA to handled items. Forensic Sci Int, 2007. 168(2-3): p. 162-8.

[9] Quinones, I., Daniel, B., Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces. Forensic Sci Int, 2012. 6(1): p. 26-30.

[10] Barash, M., Reshef A., Brauner, P., The use of adhesive tape for recovery of DNA from crime scene items. J Forensic Sci, 2010. 55(4): p. 1058-64.

[11] Ryan S.R., Touch DNA. What is it? Where is it? How much can be found? And How can it impact my case. Forensic DNA Consulting, 2012.

[12] Daly, D.J., Sean, C.M., McDermott, D., The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. Forensic Sci Int, 2012. Genetics 6: p. 41-46.

[13] Linacre, A., Pekarek,V., Yuvaneswari C. S., Tobe, S. S., Generation of DNA profiles from fabrics without DNA extraction. Forensic Sci Int, 2010.Genetics 4: p. 137-141.

[14] May, R.,Thomson, J., Optimisation of cellular DNA recovery from tape - lift, Forensic Sci Int, Genetics Supplement Series 2: 2009.p. 191-192.

[15] Williamson, A.L., Touch DNA: Forensic collection and application to investigations. association for crime scene reconstruction, 2012. 18(1): p. 1-5.

[16] Esslinger, K.J., Siegel, J.A., Spillane, H., Stallworth, S., Using STR analysis to detect human DNA from exploded pipe bomb devices. J Forensic Sci 2004, 2004. 49(3).

[17] Hoffmann, S.G., Stallworth, S.E., Foran, D.R., Investigative Studies into the Recovery of DNA from Improvised explosive device containers. J Forensic Sci, 2012. 57: p. No. 3.

[18] Promega Corporation, DNA IQ™ System-database protocol. Technical bulletin, 2010.

[19] Applied biosystems corporation, Quantifiler kits user's manual applied biosystems, 2010. Copyright 2006.

[20] Matheson, C.D., *et al.*, Technical note: removal of metal ion inhibition encountered during DNA extraction and amplification of copper-preserved archaeological bone using size exclusion chromatography. Am J Phys Anthropol, 2009. 140(2): p. 384-91.

[21] Aruoma, O.I., Halliwell, B., Gajewski, E., Dizdaroglu, M., Copper-ion dependent damage to the bases in DNA in the presence of hydrogen peroxide. Biochem. J., 1991. 273: p. 601-604.

[22] Daly, D.J., Murphy, C., McDermott, S.D., The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. Forensic Sci Int, 2012. 6(1): p. 41-6.

[23] Wickenheiser, R.A., Trace DNA: A review, Discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. Laboratory director, Acadiana Criminalistics laboratory, New iberia, Louisiana., 2002

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

Forensic Science International: Genetics 17 (2015) 53–60

Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsig

Systematic study for DNA recovery and profiling from common IED substrates: From laboratory to casework

Sukanya Phetpeng [a,b], Thitika Kitpipit [b], Phuvadol Thanakiatkrai [b,*]

[a] DNA Analysis Center, Scientific Crime Detection Division 10, Royal Thai Police, Thailand
[b] Forensic Science Program, Department of Applied Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:
Received 26 May 2014
Received in revised form 20 January 2015
Accepted 11 March 2015

Keywords:
DNA collection and recovery
Swabbing
Moistening agents
Tape-lifting
Trace DNA
Improvised explosive devices (IEDs)

ABSTRACT

Improvised explosive devices (IEDs) made from household items are encountered in terrorist attacks worldwide. Assembling an IED leaves trace DNA on its components, but deflagration degrades DNA. To maximize the amount of DNA recovered, a systematic evaluation of DNA collection methods was carried out and the most efficient methods were implemented with IED casework evidence as a validation exercise.

Six swab types and six moistening agents were used to collect dried buffy coat stains on four common IED substrates. The most efficient swab/moistening agent combinations were then compared with tape-lifting using three brands of adhesive tape and also with direct DNA extraction from evidence. The most efficient collection methods for different IED substrates (post-study protocol) were then implemented for IED casework and compared with the pre-study protocol using 195 pieces of IED evidence.

There was no single best swab type or moistening agent. Swab type had the largest effect on DNA recovery percentages, but moistening agents, substrates, and the interactions between factors all affected DNA recovery. The most efficient swab/moistening agent combinations performed equally well when compared with the best adhesive tape and direct extraction. The post-study protocol significantly improved STR profiles obtained from IED evidence.

This paper outlines a comprehensive study of DNA collection methods for trace DNA and the validation of the most efficient collection methods with IED evidence. The findings from both parts of this study emphasize the need to continuously re-evaluate standard operating protocols with empirical studies.

© 2015 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Terrorism has become a serious and unrelenting problem worldwide. Bombings and explosions account for 62% of all terrorist attacks in the most recent Country Reports on Terrorism [1] and result in the highest fatalities (50%) [2]. Improvised explosive devices (IEDs), homemade bombs made from household items, are the weapon of choice for terrorists [3]. IEDs are cheap, easy to construct, and easy to conceal. Commonly encountered post-detonation IED evidence includes both IED parts, such as electrical tapes, electrical wires, batteries, watches, and mobile phones; and containers, such as backpacks and gas tanks (personal communications, Royal Thai Police).

Contact leaves DNA on the touched surfaces [4]. Forensic DNA analysis is thus a crucial tool to identify the perpetrators who may have assembled an IED. However, STR profiling from IEDs has a low success rate [5–7]. Foran et al. [8] and Hoffman et al. [5] both suggested that heat generated from explosive detonation and deflagration could degrade the trace DNA available. The number of terrorism-related deaths in Thailand ranks among the top ten in the world [2], but only 256 in 7680 cases over the past eight years reached a verdict in court, with unknown offender being the main reason for this failure (76.5%) [9]. As such, maximizing the information gained from evidence—even in the form of a partial STR profile—should benefit the criminal justice process.

Studies have been conducted on the deposition, transfer, and persistence of trace DNA, as well as on factors affecting trace DNA on various substrates, including potential IED components [4,5,10–12]. Maximizing the amount of DNA recovered should increase the likelihood of obtaining a high-quality STR profile, yet a systematic study on the best collection method for trace DNA is lacking. Two small studies compared a few swab types [13,14], and two other studies investigated alternative moistening agents for

* Corresponding author at: Forensic Science Program, Department of Applied Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand. Tel.: +66 74 288 565.
E-mail addresses: pthanakiatkrai@gmail.com, phuvadol.t@psu.ac.th (P. Thanakiatkrai).

http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.007
1872-4973/© 2015 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

swabs [15,16]. Only Verdon et al. [17] simultaneously evaluated swab types and moistening agents by using different types of swabs, body fluids and substrates. In addition to swabbing, tape-lifting has been proposed as a good tool for DNA collection [18–22], but again no study has compared swabbing to tape-lifting for trace DNA recovery on other substrates except fabrics and skin [18,23]. These previous studies suggest that swab types, moistening agents, tape types, and substrates all interplay to influence DNA recovery. However, no study has simultaneously investigated all these factors and fully validated the most efficient protocols for reliable use in casework.

Therefore, the aim of this study was to systematically evaluate the most efficient methods for trace DNA collection from four common IED substrates. We utilized a full-factorial design to simultaneously determine the most efficient combinations of swab types and moistening agents for each common IED substrate. Tape-lifting and DNA extraction from IED parts without prior swabbing (i.e. direct extraction without soaking) were also compared with swabbing as alternative DNA collection methods. The most efficient methods were used to process IED evidence from a number of cases, and the results were compared to the previously used protocol as a validation exercise.

2. Materials and methods

2.1. Overview

Four experiments were conducted: three controlled experiments to systematically determine the most efficient collection methods and a casework confirmatory experiment in which the most efficient methods were implemented. A total of 3432 quantifications and 196 STR amplifications were carried out, excluding negative and positive controls. The first control experiment was conducted to determine the effect of swab types, moistening agents, and substrates on DNA collection. The second control experiment was done to compare the most efficient swab/moistening agent combination with tape-lifting using three adhesive tape brands. The third control experiment was conducted to compare the most efficient swab/moistening agent combination with direct extraction without soaking. Finally, in the casework confirmatory experiment, the most efficient DNA collection methods for different substrates determined from the controlled experiments (collectively termed "post-study protocol") were implemented, and the resulting DNA quantities and STR profiles were compared with the pre-study protocol.

2.2. Sample preparation and collection

All substrates were irradiated with UV light for 1 h to ensure no background DNA contamination. At least two negative collection controls were collected from all substrates and subjected to the same downstream protocols. Three positive controls, in which 0.3 μL buffy coat (about 1.8×10^3 cells as counted using a hemocytometer) was added to the lysis buffer and extracted, were used for the non-casework experiments.

2.2.1. Swab, moistening agent, and substrate experiment

In this experiment, 360 stains of 0.3 μL buffy coat were deposited using a Sartorius Proline Plus micropipette and smeared on each of the four substrates: PVC pipe section, 9 V battery, electrical tape, and copper wire ($N = 1440$). As a very small volume was used, the following strategies were used to minimize pipetting error: reverse pipetting, pre-wetting of tips, changing tips between stains, and equilibrating all pipettes, tips, and liquids to room temperature. The stains were left to dry for 24 h. Ten stains were collected using each swab/moistening agent combination ($N = 10$ per treatment). Four types of cotton swabs, one type of nylon swab, and one type of foam swab were used: Bode Forensic SecurSwab™ (Bode Technology, USA), Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator (Puritan Medical, USA), HI-VAN Lab cotton swab (MTT Marketing, Thailand), EO cotton swab (Thai Gauze, Thailand), Puritan nylon flocked swab (Puritan Medical, USA), and Puritan foam tipped applicator (Puritan Medical, USA). Six moistening agents (DNA-free deionized water, phosphate-buffered saline, 100% ethanol, 1% w/v sodium dodecyl sulfate, 100% isopropanol, and Promega DNA IQ™ lysis buffer (Promega Corporation, USA)) were used. All moistening agents except the lysis buffer were analytical grade and purchased from Sigma–Aldrich (Sigma–Aldrich, USA). Swabbing was carried out by swabbing in one direction while rotating the swab twenty times and then in another direction at a right angle to the first direction, rotating twenty more times.

2.2.2. Tape-lift experiment

In this experiment, 40 stains of 0.3 μL buffy coat were pipetted and smeared onto PVC pipe sections then left to dry for 24 h. Ten stains were collected with Officeworks Invisible Tape (Officeworks, Australia), Sellotape golden original clear tape (Sellotape, United Kingdom) or Solar tape (Solar, Thailand), or with an EO cotton swab using lysis buffer as the moistening agent. Tape-lifting was carried out by repeated sampling of the stains using a 2.0×2.5 cm piece of tape until the tape lost its stickiness. EO cotton swab with lysis buffer was chosen based on the previously determined most efficient swab/moistening agent combinations for PVC in the "swab, moistening agent, and substrate experiment".

2.2.3. Direct extraction experiment

In this experiment, 20 stains of 0.3 μL buffy coats were pipetted and smeared onto electrical tape and another 20 on copper wire. They were then left to dry for 24 h. Ten stains from

Table 1
The number of IED cases submitted to the DNA Analysis Center and the number of samples categorized by substrate.

Case type (N)	Electrical tape	Battery	PVC	Copper wire	Others	Total samples
Gas tank (28)	61	9	7	8	9	94
Landmine (2)	27	2	0	0	0	29
Unknown (6)	12	1	0	0	1	14
Plastic box (1)	10	1	0	0	0	11
Metal box (1)	10	0	0	0	0	10
Motorcycle bomb (3)	8	0	0	1	0	9
Pipe bomb (5)	6	0	2	0	0	8
Car bomb (2)	5	2	0	0	0	7
Cardboard box (1)	2	1	0	0	2	5
Military explosive (1)	4	0	0	0	0	4
Plastic gallon (1)	1	0	1	0	2	4
Total (56)	146	16	10	9	14	195

each substrate were cut and added to a microcentrifuge tube (direct extraction without soaking). The remaining ten stains on electrical tape were collected using EO cotton swabs moistened with isopropanol, while the remaining ten stains on copper wire were collected using EO cotton swabs moistened with PBS. The moistening agents for these two substrates were selected as in the "tape-lift experiment".

2.2.4. Casework samples

A total of 56 IED cases yielding 195 samples were used for the comparison of pre- and post-study protocols (Table 1). To increase the likelihood of obtaining a single source profile, we targeted areas where it was most likely that only one person had touched, e.g., the tape ends of a strip of electrical tape wrapped around a 9 V battery or wiring joint.

The pre-study DNA collection protocol for casework samples was as follows: (1) double-swabbing using HI-VAN Lab swabs with deionized water for visible stains, electrical tape, and batteries; (2) tape-lifting with Officeworks Invisible Tape for certain areas of large evidence such as PVC and metal parts; and (3) direct extraction with soaking—placing the evidence in a 15 mL tube and adding sufficient PBS (usually 100–400 μL) to submerge the item—for some small items.

With the data obtained from the controlled experiments, the DNA Analysis Center switched to (1) double-swabbing using EO cotton swabs with different moistening agents, (2) tape-lifting with Solar tape, and (3) direct extraction without soaking—adding the evidence to a microcentrifuge tube and performing an IQ™ extraction protocol. These techniques were collectively termed the post-study protocol.

2.3. DNA extraction

DNA was extracted using the DNA IQ™ system (Promega Corporations) using the small sample casework protocol per the manufacturer's recommendation. For casework items soaked in PBS (direct extraction with soaking; pre-study protocol), an equivalent amount of lysis buffer to PBS was added instead of the recommended amount. DNA was eluted in 20 μL elution buffer and stored at −20 °C until used. A negative extraction control was included with each set.

2.4. DNA quantification

Extracted samples were quantified using the ABI Quantifiler® Human DNA Quantification Kit (Applied Biosystems, USA) per the manufacturer's protocol with the exception of half reaction volumes being used. DNA standards and negative controls were included with each plate. A total reaction volume of 12.5 μL containing 6.25 μL PCR Reaction Mix, 5.25 μL Human Primer Mix, and 1 μL standard or unknown sample, was used. Each sample was quantified in duplicate using the following PCR condition: 95 °C for 10 min followed by 40 cycles of 95 °C for 15 s and 60 °C for 1 min. The results were analyzed using the 7500 SDS software and exported to the R statistical program for further analysis.

2.5. STR profiling and DNA detection

STR profiles were obtained using the ABI Identifiler® Plus Kit (Applied Biosystems) following the manufacturer's protocol with the exception of half reaction volumes being used. Two replicates were performed for all casework samples. Positive and negative controls were included with every set of reactions. A total reaction volume of 12.5 μL was used, containing 5 μL DNA Identifiler® Plus Master Mix, 2.5 μL PCR Primer Mix, and variable amounts of DNA template and DNA-free deionized water. The PCR condition was as follows: initial denaturation at 95 °C for 11 min, 28 cycles of 94 °C for 20 s and 59 °C for 3 min, and a final extension at 60 °C for 10 min.

PCR products were analyzed on an ABI Prism 3130*xl* Genetic Analyzer (Applied Biosystems) using POP-4 polymer and the manufacturer's recommended protocol. Raw data were analyzed with GeneMapper 3.2.1 and a detection threshold of 50 RFU. A single peak of over 200 RFU at a locus was declared as homozygous (corresponding to 0.01 drop-out probability [24]). Consensus profiling was used to obtain a single profile for all samples and to account for allelic drop-ins. Alleles that were not detected in both replicates were discarded. Mixed profiles, assessed using Caragine et al. criteria [25], were excluded from further statistical analyses. Alleles and peak heights were exported to the R statistical program.

2.6. Statistical analyses

For the three controlled experiments, the amounts of DNA recovered using each collection method were expressed as percentages of the initial amount deposited. This was done by dividing the amounts of DNA recovered by the average amount of DNA in the positive controls (0.56 ng/uL).

Due to the possibility of effects caused by interaction between the factors studied, as seen in Verdon et al. study [17], a parametric method was applied to the data from the swab, moistening agent, and substrate experiment. DNA quantities were transformed by taking the fifth root to obtain normally distributed data. Analysis of variance (ANOVA) was used to determine the variance in DNA quantity explained by the three main factors and the second- and third-order interactions.

For all the other experiments, non-parametric statistics was employed to deal with the non-normality of the data, the small sample size, and any outliers. For the tape-lifting experiment, the Kruskal–Wallis test was used to compare the DNA quantities collected using the three tape types and EO cotton swabs. Pairwise comparisons were carried out using the Wilcoxon signed-rank test with Holm–Bonferroni correction for multiple comparisons. The Holm–Bonferroni correction sequentially inflates the *p*-values of the hypothesis tests. For the direct extraction experiment, the Wilcoxon signed-rank test was employed to determine if the quantities of DNA recovered using direct extraction without soaking and the EO cotton swabs were significantly different.

Proportional odds logistic regression (POLR) was used to model the results of the pre- and post-study protocols. This was done to determine the influence of protocols (pre-study vs. post-study) and collection methods (swab vs. tape-lift vs. direct extraction without soaking) on the number of alleles detected. Only single-source profiles were used for the model. Alleles were binned to four categories: full profile (32 alleles), high partial (16–31 alleles), low partial (1–15 alleles) and no profile (0 alleles).

All confidence intervals were calculated using 5000 nonparametric bootstraps. Non-overlapping bootstrapped confidence intervals were approximated to a *p*-value of 0.01 [26]. Statistical significance for all tests was declared when the *p*-value is less than 0.05.

3. Results and discussion

3.1. Effect of swab, moistening agent, and substrate on DNA collection: an overview

All factors—swab types, moistening agents, substrates, and their second- and third-order interactions—affected the amount of DNA recovered to a varying degree (Table 2; all $p < 0.001$). The effect size of each factor varied: swab type accounted for 47% of the variance in DNA quantity, followed by the interaction between swab type and substrate (6%) and the third-order interaction (6%).

Table 2
Output from ANOVA procedure using the full model. DNA quantity used as the dependent variable and swab, moistening agent, and substrate used as independent variables. All interaction terms were included. DF = degrees of freedom, SS = sum squares, MS = mean squares, *F* = *F*-value, and %Var = percent of variance explained.

Source	DF	SS	MS	*F*	*p*	% Var
Response: DNA quantity						
Swab	5	65.53	13.11	388.99	<0.001	47
Substrate	3	4.83	1.61	47.82	<0.001	3
Moistening agent	5	1.83	0.36	10.86	<0.001	1
Swab:substrate	15	8.83	0.59	17.47	<0.001	6
Moistening agent:swab	25	4.48	0.18	5.32	<0.001	3
Moistening agent:substrate	15	1.98	0.13	3.92	<0.001	1
Moistening agent:swab: substrate	75	8.53	0.11	3.37	<0.001	6
Residuals	1296	43.67	0.03			31

All the other factors accounted for less than 1% of the variance. Unexplained variance of 31% could be from confounding variables such as the pipettes used, buffy coat deposition process, variation in drying temperatures, and lot-to-lot variations of the swabs and moistening agents.

Since a full factorial design (6 by 6 by 4) was used, the interactions between the three factors could be investigated thoroughly. The significant second- and third-order interactions showed that some swabs combined better with some moistening agents on certain substrates (Table 2 and Fig. 1), a finding echoed in Verdon et al. evaluation of ten swabs using different substrates and sample types [17]. Forensic investigators should therefore choose swab/moistening agent combinations that suit the IED evidence obtained, for example, the Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator with deionized water for electrical tape and the EO cotton swab with lysis buffer for PVC pipe sections.

3.1.1. Swab types

Among the three main factors, swab type was the most influential. Some swab types could be used with various moistening agents and substrates while some swab types were not suitable for collection of dried stains (Fig. 1 and Supplementary Table 1). HI-VAN Lab swab and Puritan nylon flocked swab were the two poorest performing swab types; they recovered almost no DNA regardless of which moistening agents or substrates were used. Bode Forensic SecurSwab™, Puritan Foam Tipped Applicator, and EO cotton swab were suitable only for some substrates and when used with certain moistening agents. For example, EO cotton swab could be used with all moistening agents to collect buffy coat stains on PVC sections and batteries, but it only worked well on electrical tape when moistened with ethanol. Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator was the most versatile swab.

The weave and construction of the swabs could have influenced the collection and release of DNA. The construction of the HI-VAN swab was the least robust. The cotton bud part of this brand was only loosely glued to the wooden shaft and often came apart during vigorous swabbing. Our Puritan nylon flocked swab results agree with Verdon et al. [17], but are in contrast to findings in three previous studies [14,27,28]. The differences seen could be due to the high amounts of DNA available in their samples. Similar to Brownlow et al. [14], we found that the flexible plastic shaft made the nylon swabs difficult to handle. The low absorbency of nylon also made wetting the swab difficult and the dried buffy coat stains were not readily absorbed. Our results with the Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator are similar to Verdon et al. results with the Puritan Fab-Swab (another cotton swab made by Puritan) [17].

3.1.2. Moistening agents

Of the three main factors, moistening agents had the least influence on DNA recovery. No clear trend was observed (Fig. 1 and

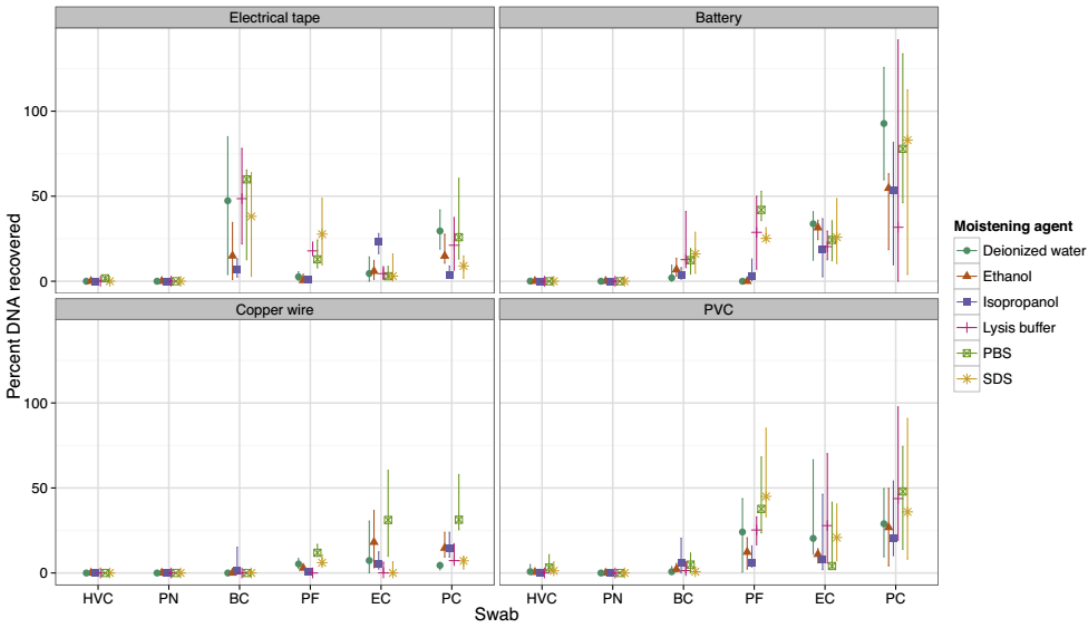


Fig. 1. Median DNA recovery percentage and 95% nonparametric bootstrapped confidence intervals from six swabs, four substrates, and six moistening agents showing the second- and third-order interaction in play. *N* = 10 for each treatment combination. HVC = HI-VAN Lab cotton swab, PN = Puritan nylon flocked swab, BC = Bode Forensic SecurSwab™, PF = Puritan Foam Tipped Applicator, EC = EO cotton swab, and PC = Puritan DNA-Free Cotton Tipped Applicator.

Supplementary Table 1). In other words, it was only possible to explain the influence of moistening agents when swab types and substrates were considered at the same time.

In the case of a simple-matrix sample like buffy coat or touch DNA, each moistening agent could have affected DNA collection in its own way. Deionized water could have lysed cells through osmotic shock, although this would happen relatively slowly (3–40 times slower) for the white blood cells in the buffy coat, as compared with red blood cells [29,30]. The IQ™ lysis buffer and SDS could have broken down lipids, amino acids, and cell membranes [15]. PBS could have rehydrated the cells and made them easier for the swabs to pick up. In contrast, ethanol and isopropanol could have dehydrated the cells. It should be noted that both alcohols evaporated from the substrates quickly when the moistened swabs were used to rub the dried stains. Thomasma and Foran [15] tested other moistening agents not included in this study using only Puritan medical swabs. They found that SDS and Triton-X recover more DNA from glass when compared with other moistening agents [15]. The differences between our results and theirs could be due to the differences in sample size and factors tested. Additionally, May and Thomson [19] demonstrated that xylene could be used to swab samples bound to glue on adhesive tapes. Xylene and Triton-X were not evaluated in this study because they were not readily available in our molecular laboratory.

3.1.3. Substrates

In general, we were able to recover more DNA from PVC sections, batteries, and electrical tape as opposed to copper wire (Fig. 1 and Supplementary Table 1). Batteries were the only substrate in which some swab/moistening agent combinations had median DNA recovery percentages of over 60%. Those combinations were Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator moistened with PBS, SDS, and deionized water. In contrast, almost all combinations recovered less than 20% of the DNA deposited on copper wire. Only Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator and EO cotton swab moistened with PBS recovered about 30% of the DNA deposited.

As batteries and PVC have non-porous hard surfaces, stains could easily be collected with many swab types and moistening agents. The lower DNA recovery percentages from electrical tape were most likely due to the buffy coat stains sticking to the glue on the tape. For copper wire, the low DNA recovery percentages were probably due to traces of copper picked up and co-extracted with the samples. Copper is a known PCR inhibitor [31] and could interfere with real-time quantitative PCR. Without any inhibition, the threshold cycles (Ct's) of the internal positive control (IPC) were approximately 25 cycles. The IPC results in all the substrates except copper wire were normal. However, the Ct's of most samples deposited on copper wire and collected using HI-VAN Lab swab, Puritan nylon flocked swab, and Bode SecurSwab™ were over 40 cycles, indicating that the samples contained inhibitors. EO cotton swab partially picked up inhibitors (slightly higher Ct's than normal) from copper wire, while Puritan Foam Tipped Applicator and Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator did not pick up any inhibitors (IPC normal).

3.2. Tape-lifting vs. swabbing

EO cotton swab had the highest median DNA recovery percentage (20.8%), followed by Solar tape (11.2%), Sellotape (2.0%), and Officeworks tape (0.95%) (Fig. 2). Solar tape was more consistent in the DNA recovery percentages when compared with EO cotton swab, as shown by the narrower spread in the raw data (Fig. 2). Swabbing with EO cotton swab and tape-lifting with Solar tape recovered significantly more DNA than Officeworks tape and Sellotape ($p < 0.05$). EO cotton swab did not significantly differ from Solar tape ($p = 1.00$), and Officeworks tape and Sellotape did not differ statistically ($p = 1.00$).

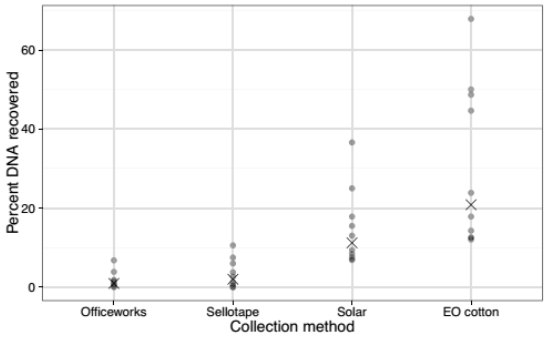


Fig. 2. DNA recovery percentages and median DNA recovery percentage (shown as X) from buffy coat on PVC using three brands of tape and EO cotton swab with lysis buffer ($N = 10$ for each treatment). Each dot represents one datum.

Preliminary experiments with 10 brands of adhesive tape readily available in Thailand revealed that Solar tape was a good candidate for further studies (data not shown). Other brands encountered various problems during the DNA extraction process using both a spin-column protocol and Promega DNA IQ™, including adhesives clogging the spin-column membranes. Officeworks Australian tape and Sellotape were chosen for comparison as the former had been recommended by the Australian Federal Police during training workshops at our center and the latter had been used in published studies [32,33]. Solar tape outperformed the two other tapes in our comparison, but it was not statistically different from EO cotton swab with lysis buffer.

Therefore, either Solar tape and EO cotton swab could be used when PVC is encountered.

3.3. Direct extraction without soaking vs. swabbing

Both direct extraction without soaking and swabbing yielded median DNA recovery percentages of approximately 20–35%, except for direct extraction without soaking from copper wire (Fig. 3). With electrical tape, the two methods did not differ ($p > 0.05$), although swabbing yielded a wider spread of the raw data. With copper wire, swabbing was significantly better at recovering DNA than direct extraction without soaking ($p < 0.01$).

Direct extraction without soaking could be used for electrical tape. However, the size of the microcentrifuge tube limits how much electrical tape could be added. Alternatively, swabbing could be used to cover a large area of tape and circumvent this limitation. Direct extraction without soaking from copper wire was consistently unsuccessful, most likely due to inhibition by copper ions. The IPC Ct's of these samples were either undetermined or close to 40 cycles.

One limitation in the controlled experiments above is the use of dried buffy coat stains as a substitute for touch DNA. This is an artificial system and might not reflect touch DNA deposition and collection. However, touch DNA deposition through hand contact would not allow a robust comparison between the DNA collection methods, as the amount of DNA deposited varies greatly within and between individuals. This is because the process is influenced by many factors such as shedder status, behaviors such as face-rubbing, the amount of time elapsed between hand-washing and deposition, and even substrate [11,34–36]. As this study aimed to

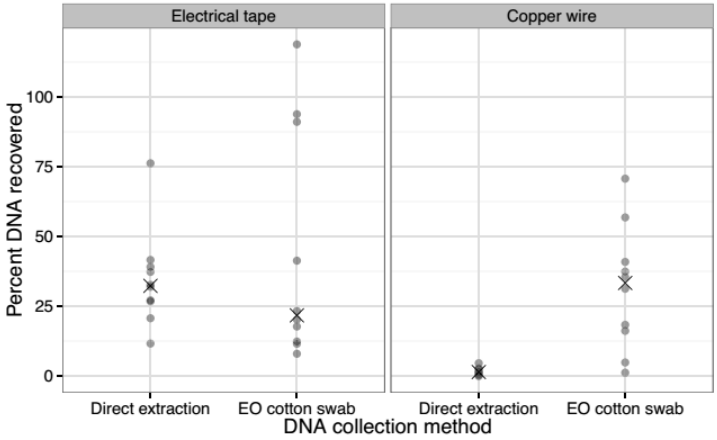


Fig. 3. DNA recovery percentages and median DNA recovery percentage (shown as X) using direct extraction without soaking and swabbing. The substrates were electrical tape and copper wire ($N = 10$ for each treatment). EO cotton swab moistened with isopropanol was used for electrical tape and EO cotton swab moistened with PBS was used for copper wire. Each dot represents one datum.

compare different DNA collection methods, we used a within-subject design, in which one buffy coat sample was used for all controlled experiments, to minimize the effects of the above confounding variables associated with touch DNA deposition. Raymond et al. used a similar approach in two studies [37,38]. The amount of DNA deposited (10.8 ng) reflects the high end of the range of touch DNA amounts found in Daly et al. [11]. Another limitation is the possible variation in the amount of buffy coat deposited. Pipetting 0.3 μL is more error-prone than pipetting larger volumes. However, a larger volume would complicate the deposition of stains onto copper wire. Although best efforts were used to minimize these variations, as described in the materials and methods, these pipetting errors could explain the few DNA recovery percentages of over 100%.

The sample size used in this study was 10 per treatment combination. Compared to other studies with similar objectives, our sample size is greater than four studies [15,17,23,39], the same as one study [40], and smaller than another one [11]. A larger sample size should provide a more precise estimate and increase the probability of detecting a small effect, but the cost of conducting such a study would be prohibitive if many factors are investigated simultaneously; thus, to validate the results found in the controlled experiments, the most efficient collection methods were used for casework samples in the following comparison of pre- and post-study protocols.

3.4. Comparison of pre-study protocol and post-study protocol using IED casework samples

Fig. 4 shows the DNA quantities recovered from 195 IED samples (56 IED cases; only single source profiles) using the pre-study and post-study protocols and their resulting DNA profiles. Most samples yielded no quantifiable DNA, as shown by the cluster of data points at 0 ng/uL, and produced no STR profile, which was expected as touching deposits low DNA amounts and the heat from deflagration may have degraded the DNA on the surfaces. The results also showed that DNA quantity was not a reliable predictor of the number of alleles obtained (Pearson's $R = 0.14$ and 0.52 for pre-study and post-study protocols, respectively). This was probably due to the overestimation of amplifiable DNA in the degraded samples by the Quantifiler® kit [41,42]. Employing the newer Quantifiler® Duo or Trio kit with their longer targets should

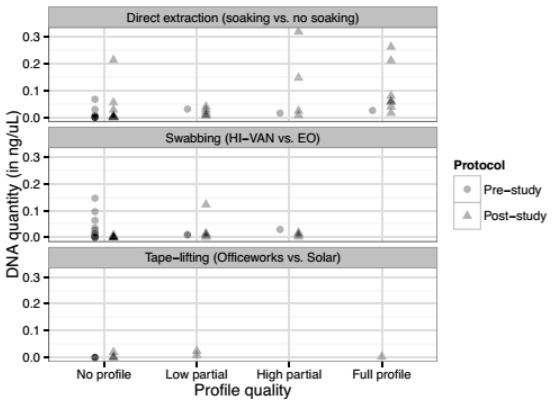


Fig. 4. The DNA quantity (in ng/uL) obtained from casework IED evidence and their resulting STR profiles using the pre-study (circle) and post-study (triangle) protocols of direct extraction, swabbing, and tape-lifting as described in Section 2.2.4. Each dot represents one datum.

improve the correlation between DNA quantity and STR profile quality, as their PCR products are similarly sized to those found in STR kits.

Comparison of DNA profiles showed that the post-study protocol produced better DNA profiles (Fig. 4 and Table 3). There was a significant difference in the quality of the profiles obtained between the pre- and post-study protocols ($p = 0.01$; Fisher's exact test). In general, the post-study protocol reduced the number of no profiles by about 20%. The average number of alleles per profile increased from 1.63 to 6.02 alleles. POLR showed that the protocol

Table 3
Genotyping results in four categories from casework IED evidence using previous standard operating protocol (pre-study) and the improved protocol (post-study). Total $N = 195$ (excluding mixed profiles).

Category (no. of alleles)	Pre-study ($N = 74$)		Post-study ($N = 121$)	
Full profile (32)	1	(1.4%)	9	(7.4%)
High partial (16–31)	2	(2.7%)	10	(8.3%)
Low partial (1–15)	6	(8.1%)	21	(17.4%)
No profile	65	(87.8%)	81	(66.9%)

used (pre- vs. post-study) was statistically significant ($p < 0.01$; 95% CI odds ratio: 1.53–7.78) while collection technique was not ($p > 0.05$; 95% CI odds ratio: 0.27–5.01).

The results achieved in the validation exercise confirmed the findings of the controlled experiments. For swabbing and tape-lifting, the increase in the number of alleles detected was most likely due to the strong difference in performance between the swab types and tapes used. For direct extraction with soaking (pre-study) and direct extraction without soaking (post-study), the increase in alleles could be attributed to the smaller volume of liquid used in the post-study protocol.

We chose the EO cotton swab (a local brand) instead of the Puritan DNA-Free Forensic Cotton Tipped Applicator, even though the latter recovered significantly more DNA from batteries than the former (Fig. 1). Puritan DNA-Free Forensic Cotton Applicator costs about 0.37 USD per swab (including shipping) while EO cotton swab costs only 0.03 USD. Given the high number of swabs used annually and the non-significant differences in three of four substrates (Fig. 1), it was more practical for us to implement the EO cotton swabs for casework.

Our DNA profiling success rates from IED evidence are lower than published studies [7,8]. The bomb assemblers in those controlled studies deliberately did not wear gloves while assembling the bombs (mock casework). Since we used actual casework samples, there were more uncontrollable factors. For example, in our experience, we often encountered boxes of sterile latex gloves when collecting evidence from terrorist hideouts in Thailand. Moreover, casework samples were often contaminated with soil, as the IEDs were usually buried under roads in order to topple Humvees and cars. Soil contains humic acid, which is a known PCR inhibitor [43].

The strength of this study is in the large amount of casework IED evidence used to validate the post-study protocol. To our knowledge, this is one of the most comprehensive evaluations of DNA collection methods. Further work should include investigating different DNA extraction methods as DNA extraction protocol has been shown to interact with swabs and substrates to influence DNA recovery [14,44]. Performing a confirmatory study by increasing the sample size for the most efficient DNA collection methods and using touch DNA should result in a more precise estimate of DNA recovery percentages. Nonetheless, this does not detract from the most important finding of this work: standard operating protocols must be continuously re-evaluated as new knowledge is gained through empirical studies.

4. Conclusion

A systematic evaluation of the DNA collection methods, from different swab types and moistening agents to tape-lifting and direct extraction, revealed that every factor influences the recovery of DNA to a certain degree. There was no single best swab type or moistening agent for all substrates. Rather, different combinations were more suitable for different substrates. EO cotton swab, with its low cost and versatility, could be used to consistently recover trace DNA from casework IED evidence. Solar tape and direct extraction without soaking also recovered more DNA than Office-works tape and direct extraction with soaking, respectively. The results of this study significantly improved the DNA profiles obtained from IED evidence. The findings from both parts of this study emphasize the need to re-evaluate standard operating protocols, even at the most basic level like DNA collection, with knowledge gained from empirical studies.

Acknowledgements

This research was funded by the Prince of Songkla University Research Grant (Government Budget Fund (NRCT) no. SCI570055S).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.007.

References

[1] National Consortium for the Study of Terrorism and Responses to Terrorism, Annex of Statistical Information: Country Reports on Terrorism 2012, Office of the Coordinator for Counterterrorism, Maryland, 2013.
[2] National Counterterrorism Center, 2010 NCTC Report on Terrorism, Washington DC (2011).
[3] Bureau of Counterterrorism, Country Reports on Terrorism 2013, U.S. Department of State, Maryland, 2013.
[4] R.A. Van Oorschot, K.N. Ballantyne, R.J. Mitchell, Forensic trace DNA: a review, Invest. Genet. 1 (2010) 14.
[5] S.G. Hoffmann, S.E. Stallworth, D.R. Foran, Investigative studies into the recovery of DNA from improvised explosive device containers, J. Forensic Sci. 57 (2012) 602–609.
[6] A. Berti, F. Barni, A. Virgili, C. Colozza, M. Maiorino, F. Tocca, The recovery of DNA profiles from saliva and touch evidences after postal bomb explosion, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 3 (2011) e471–e472.
[7] K.J. Esslinger, J.A. Siegel, S. Spillane, H. Stallworth, Using STR analysis to detect human DNA from exploded pipe bomb devices, J. Forensic Sci. 49 (2004) 481–484.
[8] D.R. Foran, M.E. Gehring, S.E. Stallworth, The recovery and analysis of mitochondrial DNA from exploded pipe bombs, J. Forensic Sci. 54 (2009) 90–94.
[9] P. Worasiri, U. Taechutrakun, K. Supawattanakul, No justice, no end to the Southern insurgencies (in Thai), in: C. Kanchanachitra (Ed.), Thai health 2011: HIA – mechanism for public policy development, Amarin Printing and Publishing P.C.L, Nakorn Pathom, 2011.
[10] R.A. Van Oorschot, G. Glavich, R.J. Mitchell, Persistence of DNA deposited by the original user on objects after subsequent use by a second person, Forensic Sci. Int. Genet. 8 (2014) 219–225.
[11] D.J. Daly, C. Murphy, S.D. Mcdermott, The transfer of touch DNA from hands to glass: fabric and wood, Forensic Sci. Int. Genet. 6 (2012) 41–46.
[12] B. Quinones, I. Daniel, Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces, Forensic Sci. Int. Genet. 6 (2012) 26–30.
[13] M. Prinz, L. Schiffner, J.A. Sebestyen, E. Bajda, J. Tamariz, R.C. Shaler, T. Baum, H. Caragine, Maximization of STR DNA typing success for touched objects, Int. Congr. 1288 (2006) 651–653.
[14] R.J. Brownlow, K.E. Dagnall, C.E. Ames, A comparison of DNA collection and retrieval from two swab types (cotton and nylon flocked swab) when processed using three QIAGEN extraction methods, J. Forensic Sci. 57 (2012) 713–717.
[15] S.M. Thomasma, D.R. Foran, The influence of swabbing solutions on DNA recovery from touch samples, J. Forensic Sci. 58 (2) (2012) 465–469.
[16] S. Phetpeng, T. Kitpipit, V. Asavutmangkul, W. Duangshatome, P. Pongsuwan, W. Thanakiakrai, Touch DNA collection from improvised explosive devices: a comprehensive study of swabs and moistening agents, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 4 (2013) e29–e30.
[17] T.J. Verdon, R.J. Mitchell, R.A. Van Oorschot, Swabs as DNA collection devices for sampling different biological materials from different substrates, J. Forensic Sci. 59 (2014) 1080–1089.
[18] K.G. De Bruin, S.M. Verheij, T. Veenhoven, M. Sijen, Comparison of stubbing and the double swab method for collecting offender epithelial material from a victim's skin, Forensic Sci. Int. Genet. 6 (2012) 219–223.
[19] J. May, R. Thomson, Optimisation of cellular DNA recovery from tape-lifts, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 2 (2009) 191–192.
[20] S. Verheij, J. Harteveld, T. Sijen, A protocol for direct and rapid multiplex PCR amplification on forensically relevant samples, Forensic Sci. Int. Genet. 6 (2012) 167–175.
[21] M. Barash, A. Reshef, P. Brauner, The use of adhesive tape for recovery of DNA from crime scene items, J. Forensic Sci. 55 (2010) 1058–1064.
[22] R.C. Li, H.A. Harris, Using hydrophilic adhesive tape for collection of evidence for forensic DNA analysis, J. Forensic Sci. 48 (2003) 1318–1321.
[23] T.J. Verdon, R.J. Mitchell, R.A. Van Oorschot, Evaluation of tapelifting as a collection method for touch DNA, Forensic Sci. Int. Genet. 8 (2014) 179–186.
[24] T. Tvedebrink, P.S. Eriksen, H.S. Mogensen, N. Morling, Estimating the probability of allelic drop-out of STR alleles in forensic genetics, Forensic Sci. Int. Genet. 3 (2009) 222–226.
[25] T. Caragine, R. Mikulasovich, J. Tamariz, E. Bajda, J. Sebestyen, H. Baum, M. Prinz, Validation of testing and interpretation protocols for low template DNA samples using AmpFlSTR (R) identifiler (R), Croat. Med. J. 50 (2009) 250–267.
[26] G. Cumming, F. Fidler, D.L. Vaux, Error bars in experimental biology, J. Cell Biol. 177 (2007) 7–11.
[27] T. Barkham, BioRobot EZ1 workstation compares well with manual spin kits for extraction of viral RNA from sera and saves substantial staff time, J. Clin. Microbiol. 44 (2006) 1598.
[28] P. Daley, S. Castriciano, M. Chernesky, M. Smieja, Comparison of flocked and rayon swabs for collection of respiratory epithelial cells from uninfected volunteers and symptomatic patients, J. Clin. Microbiol. 44 (2006) 2265–2267.

[29] P. Sethu, L.L. Moldawer, M.N. Mindrinos, P.O. Scumpia, C.L. Tannahill, J. Wilhelmy, P.A. Efron, B.H. Brownstein, M. Tompkins, R.G. Toner, Microfluidic isolation of leukocytes from whole blood for phenotype and gene expression analysis, Anal. Chem. 78 (2006) 5453–5461.
[30] V. Parichehreh, R. Estrada, S.S. Kumar, K.K. Bhavanam, V. Raj, P. Raj, A. Sethu, Exploiting osmosis for blood cell sorting, Biomed. Microdevices 13 (2011) 453–462.
[31] C.D. Matheson, T.E. Marion, S. Hayter, N. Esau, R. Fratpietro, K.K. Vernon, Technical note: removal of metal ion inhibition encountered during DNA extraction and amplification of copper-preserved archaeological bone using size exclusion chromatography, Am. J. Phys. Anthropol. 140 (2009) 384–391.
[32] J. Kenna, M. Smyth, L. Mckenna, C. Dockery, S.D. Mcdermott, The recovery and persistence of salivary DNA on human skin, J. Forensic Sci. 56 (2011) 170–175.
[33] L. Forster, S. Thomson, S. Kutranov, Direct comparison of post-28-cycle PCR purification and modified capillary electrophoresis methods with the 34-cycle low copy number (LCN) method for analysis of trace forensic DNA samples, Forensic Sci. Int. Genet. 2 (2008) 318–328.
[34] R.A. Wickenheiser, Trace DNA: a review discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact, J. Forensic Sci. 47 (2002) 442–450.
[35] R.W. Allen, J. Pogemiller, J. Joslin, J. Gulick, P. Pritchard, Identification through typing of DNA Recovered from touch transfer evidence: parameters affecting yield of recovered human DNA, J. Forensic Ident. 58 (2008) 33–41.
[36] S. Phipps, M. Petricevic, The tendency of individuals to transfer DNA to handled items, Forensic Sci. Int. 168 (2007) 162–168.
[37] J.J. Raymond, R.A. Van Oorschot, P.R. Gunn, C. Walsh, S.J. Roux, Trace evidence characteristics of DNA: a preliminary investigation of the persistence of DNA at crime scenes, Forensic Sci. Int. Genet. 4 (2009) 26–33.
[38] J.J. Raymond, S.J. Walsh, R.H. a. Van Oorschot, P.R. Gunn, L. Evans, C. Roux, Assessing trace DNA evidence from a residential burglary: abundance, transfer and persistence, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 1 (2008) 442–443.
[39] J. Abaz, S.J. Walsh, J.M. Curran, D.S. Moss, J. Cullen, J.A. Bright, G.A. Crowe, S.L. Cockerton, T.E. Power, Comparison of the variables affecting the recovery of DNA from common drinking containers, Forensic Sci. Int. 126 (2002) 233–240.
[40] K. Phillips, L. Mccallum, N. Welch, A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100(R) and the QIAGEN DNA Investigator Kit (manual and automated), Forensic Sci. Int. Genet. 6 (2012) 282–285.
[41] J.A. Nicklas, T. Noreault-Conti, E. Buel, Development of a real-time method to detect DNA degradation in forensic samples, J. Forensic Sci. 57 (2012) 466–471.
[42] W.R. Hudlow, M.D. Chong, K.L. Swango, M.D. Timken, M.R. Buoncristiani, A quadruplex real-time qPCR assay for the simultaneous assessment of total human DNA, human male DNA, DNA degradation and the presence of PCR inhibitors in forensic samples: a diagnostic tool for STR typing, Forensic Sci. Int. Genet 2 (2008) 108–125.
[43] S.B. Seo, H.Y. Lee, A.H. Zhang, H.Y. Kim, D.H. Shin, S.D. Lee, Effects of humic acid on DNA quantification with quantifiler(R) human DNA quantification kit and short tandem repeat amplification efficiency, Int. J. Legal Med. 126 (2012) 961–968.
[44] T.J. Verdon, R.J. Mitchell, R.A. Van Oorschot, Evaluating the efficiency of DNA extraction methods from different substrates, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series 3 (2011) e93–e94.

ภาคผนวก ข.

G Model
FSIGSS-816; No. of Pages 2
ARTICLE IN PRESS

Forensic Science International: Genetics Supplement Series xxx (2013) e1–e2

Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International: Genetics Supplement Series

journal homepage: www.elsevier.com/locate/FSIGSS

Touch DNA collection from improvised explosive devices: A comprehensive study of swabs and moistening agents

Sukanya Phetpeng [a,b], Thitika Kitpipit [b], Vatee Asavutmangkul [c], Weawgarn Duangshatome [d], Wannarat Pongsuwan [d], Phuvadol Thanakiatkrai [b,*]

[a] DNA Analysis Center, Scientific Crime Detection Division 10, Royal Thai Police, Thailand
[b] Forensic Science Program, Department of Applied Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Thailand
[c] Institute of Forensic Medicine, Royal Thai Police, Thailand
[d] Central Scientific Crime Detection Division, Royal Thai Police, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:
Received 3 September 2013
Accepted 2 October 2013

Keywords:
Touch DNA
Swab
Moistening agent
Bombing case

ABSTRACT

Improvised explosive devices (IEDs) are used in devastating terrorist attacks worldwide and daily in Thailand. Touch DNA deposited during IED assembly are subjected to intense heat and pressure, resulting in rare events of usable DNA profiles obtained from real casework. No study has simultaneously evaluated both swab brands and moistening agents for touch DNA collection from substrates encountered in IED evidence. In this study, we investigated the effects of swab brands and moistening agents on DNA collection from adhesive tape, a common IED substrate. A full factorial design using four cotton swab brands (two forensic and two medical cotton swabs) and six moistening agents (DNA-free water, phosphate-buffered saline, ethanol, sodium dodecyl sulfate, isopropanol, and lysis buffer) was employed (24 total combinations). Using buffy coats, we found that DNA recovery depended on both swab brands and moistening agents ($p < 0.05$). The optimal method recovered significantly higher DNA amount from real IED cases compared to the standard Royal Thai Police method. Percentages of high partial profiles also increased. Our results changed the standard operating protocol of the Thai police. Other commonly found substrates from IED cases are being investigated to maximize the evidential value obtained from touch DNA.

© 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In Thailand three southern-most provinces, IED bombings happen daily. One routine analysis is swabbing of IED evidence for touch DNA deposited by the insurgents, especially on adhesive tapes in IEDs as the stickiness of the tape makes it cumbersome to use with gloved hands. In our experience, DNA analysis of the tapes from detonated and undetonated IEDs have yielded sporadic partial and rarely full DNA profiles. The reason for this low DNA yield is probably degradation due to heat/pressure and low initial DNA amount deposited.

If one could maximize the amount of DNA collected from IED evidence, the chance of obtaining a more complete DNA profile should increase. It has been found that both cotton swab brands and moistening agents influence DNA collection and extraction yield [1], but a review of the literature shows that a comprehensive study that evaluates swabs, moistening agents, and their interactions simultaneously is still limited. In order to maximize the amount of DNA collected from touched IED parts, the effect of four brands of cotton swabs and six moistening agents on DNA yield was investigated in this study.

2. Materials and methods

Five 0.5 μl buffy coats were dropped onto 5 cm × 1 cm adhesive tape, left to dry for 24 h, and collected using four cotton swabs (two forensic – Bode SecurSwab™ (Bode Technology, USA) and Puritan DNA-Free Cotton Tipped Applicator (Puritan Medical, USA) and two medical swabs – HI-VAN Lab swab (MTT Marketing, Thailand) and EO swab (Thai Gauze, Thailand)) and six moistening agents (DNA-free water, phosphate-buffered saline, ethanol, sodium dodecyl sulfate, isopropanol, and IQ lysis buffer (Promega Corporations)). All reagents except the lysis buffer were analytical grade and purchased from Sigma–Aldrich. DNA was extracted using DNA IQ™ system (Promega Corporations). DNA extracts were quantified using the Quantifiler™ Human DNA Quantification Kit (Applied Biosystems). Casework samples prior to this experiment were swabbed using HI-VAN Lab swab while casework samples processed after this experiment were swabbed with EO

* Corresponding author. Tel.: +66 74 288 565; fax: +66 74 446 681.
E-mail addresses: pthanakiatkrai@gmail.com, phuvadol.t@psu.ac.th (P. Thanakiatkrai).

1875-1768/$ – see front matter © 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2013.10.014

Please cite this article in press as: S. Phetpeng, et al., Touch DNA collection from improvised explosive devices: A comprehensive study of swabs and moistening agents, Forensic Sci. Int. Gene. Suppl. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2013.10.014

G Model
FSIGSS-816; No. of Pages 2
ARTICLE IN PRESS

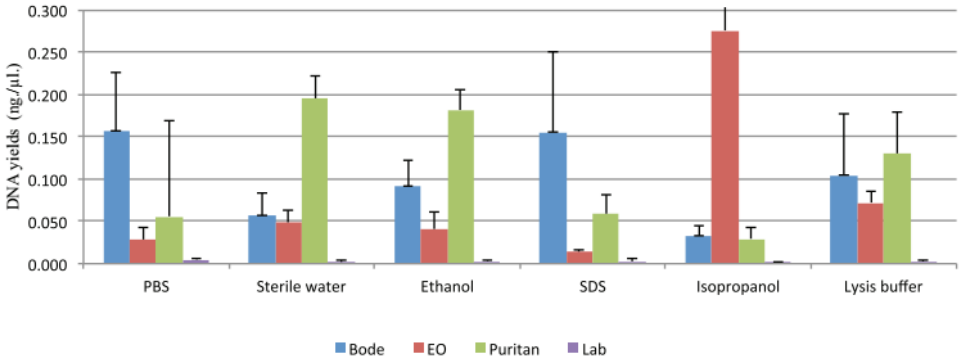


Fig. 1. Mean DNA yields from buffy coat on adhesive tape collected using various types of swabs and moistening agents. Error bars denote standard errors of the mean ($n = 5$).

swab. The quantities of DNA in each experimental treatment, and the number of alleles detected from actual IED cases were compared.

3. Results and discussion

Different combinations of swabs and moistening agents yielded different DNA amounts from cells deposited on adhesive tape ($p < 0.05$ for both factors). For commercial forensic swab, Puritan swab recovered the highest DNA amount for three moistening agents: DNA-free water, ethanol, and lysis buffer while Bode SecurSwab™ was best used with PBS and SDS (Fig. 1). Surprisingly, the local Thai medical swab brand – EO swab – showed the highest DNA concentration of 0.276 ng/µl when used with isopropanol. The EO swab also performed equally well with Bode SecurSwab™ when used with DNA-free water. HI-VAN Lab swab, despite being routinely used in the DNA Analysis Center, recovered unexpectedly low amount of DNA. The result corresponded to the study of Thomasma and Foran [2], who reported that there is no single best moistening agent for DNA collection, i.e. certain agents combine better with certain cotton swabs.

For casework analysis, the DNA Analysis Center changed from the Lab swab to the EO swab as a result of this experiment. The DNA profiling results of sixty adhesive tapes from sixty cases showed that the number of cases with low partial and high partial profiles was higher when the EO swab was used (Fig. 2). No full profiles were observed with both swab brands, probably due to DNA degradation by heat and pressure from the explosion, as well as the low initial DNA deposited on the tapes. The EO swab was chosen because it is roughly 50–100 times cheaper than the Bode and Puritan swab: two cents per swab compared to two USD per swab. As we process more than 7000 samples per year, opting for the EO swab helps us keep our running cost manageable while significantly improving our chances of obtaining a usable DNA profile when compared to the HI-VAN Lab swab previously used.

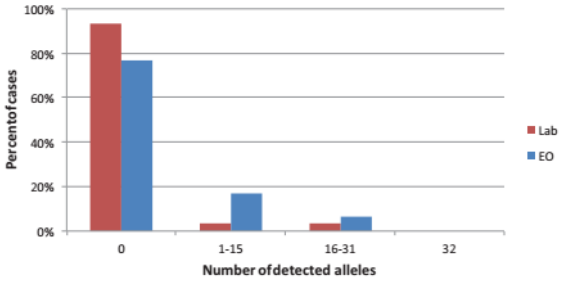


Fig. 2. The percent of cases (one tape sample per case) categorized by the number of alleles detected using the Identifiler® Plus Kit (Applied Biosystems). Two collection swabs were compared and EO swab performed slightly better than the Lab swab.

4. Conclusion

This study clearly demonstrated that both cotton swabs and moistening agents affect the DNA collection process. There was no single best swab brand or moistening agent; however, the EO swab showed the highest yield with isopropanol as the moistening agent and the HI-VAN Lab swab consistently underperformed when compared with the other swab brands. This study emphasizes the importance of validating all components and procedures used in a forensic laboratory in order to maximize the evidential value from crime scene evidence, particularly from degraded or low-template DNA samples.

Role of funding

Graduate Studies Research Grant, Prince of Songkla University.

Conflict of interest

None.

Acknowledgements

We appreciate the help of the Bomb Data Center, Command Center, Royal Thai Police, for knowledge and data about IEDs.

References

[1] R.J. Brownlow, K.E. Dagnall, C.E. Ames, A comparison of DNA collection and retrieval from two swab types (cotton and nylon flocked swab) when processed using three QIAGEN extraction methods, J. Forensic Sci. 57 (2012) 713–717.
[2] S.M. Thomasma, D.R. Foran, The influence of swabbing solutions on DNA recovery from touch samples, J. Forensic Sci. (2012).

Please cite this article in press as: S. Phetpeng, et al., Touch DNA collection from improvised explosive devices: A comprehensive study of swabs and moistening agents, Forensic Sci. Int. Gene. Suppl. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2013.10.014

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล ร้อยตำรวจเอกหญิงสุกัญญา เพชรเพ็ง

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5510220160

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2552

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนผู้ช่วยวิจัย (RA) ประจำปีงบประมาณ 2555

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

นักวิทยาศาสตร์ (สบ1) กลุ่มงานตรวจชีววิทยาและดีเอ็นเอ ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 10
สำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

1. Phetpeng, S., *et al.*, Touch DNA collection from improvised explosive devices: A comprehensive study of swabs and moistening agents. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 2013. 4(1): p. e29-e30.
2. Phetpeng, S., Kitpipit T., Thanakiatkrai P., Systematic study for DNA recovery and profiling from common IED substrates: From laboratory to casework. Forensic Science International: Genetics, 2015. 17: p. 53-60.