

นิติจุลชีววิทยา: ตามล่าหาตัวแสบแอนแทรกซ์ Forensic Microbiology: Anthrax Investigation

บุญเรือง คำศรี¹

Boonruang Khamstri¹

บทคัดย่อ

นิติจุลชีววิทยาเป็นสาขาวิชาใหม่ที่ประกอบด้วยจุลชีววิทยาและนิติวิทยาศาสตร์ เป็นการสืบค้นหาแหล่งที่มาของจุลินทรีย์บางชนิดหรือบางกลุ่มโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ใกล้ชิดกัน การพิสูจน์หลักฐานทางจุลชีววิทยาจำเป็นต้องใช้กระบวนการและเทคโนโลยี อาทิ ที่เกิดเหตุและลูกโซ่ การเก็บรักษาตัวอย่าง การเก็บตัวอย่าง การรักษาสภาพวัตถุพยาน จีโนมิกส์ และการวิเคราะห์ทางสถิติ เป็นต้น ผลการวิเคราะห์จะทำให้ทราบว่ามีการใช้จุลินทรีย์ในการก่อการร้ายทางชีวภาพโดยเจตนาหรือการแพร่กระจายโดยบังเอิญของจุลินทรีย์ที่น่าสะพรึงกลัวและมีนัยสำคัญทางสาธารณสุข โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ทำให้พิสูจน์ทราบแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ การสอบสวนกรณีเหตุการณ์การจู่โจมการกระจายสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ผ่านทางระบบไปรษณีย์ที่สหรัฐอเมริกาเมื่อปี ค.ศ. 2001 (เหตุการณ์ 9/11) เป็นหนึ่งในการประยุกต์ใช้นิติจุลชีววิทยาที่ได้รับการยอมรับ

คำสำคัญ

นิติจุลชีววิทยา, อาวุธชีวภาพ, แอนแทรกซ์, เทคโนโลยีดีเอ็นเอ

Abstract

Forensic microbiology is a new discipline combining microbiology and forensic science. It associates the source of causative agent with a specific individual or group by measuring molecular variations between related

¹ อาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยเนศวร



microbial strains. Processes and technology, e.g., crime scenes and chain of custody, sample collection, preservation of forensic evidence, genomics, and statistical analysis are required for microbial forensic investigation. Results from such analyses may be related to the intentional use of microbial agents for bioterrorism or the accidental release of any offensive microorganisms of public health significance, specifically for the purpose of determining the origin. One of the proven applications of forensic microbiology is the Amerithrax investigation.

Key words : Forensic Microbiology, Biological Weapon, Anthrax, DNA Technology

บทนำ

การใช้จุลินทรีย์ก่อโรคเป็นอาวุธในความขัดแย้งของมนุษย์มีประวัติศาสตร์ที่ยาวนาน และมีหลักฐานเป็นลายลักษณ์อักษรมากกว่าหลายศตวรรษ ไม่ว่าจะเป็นโดยเจตนาหรือไม่เจตนาก็ตาม ในยุคแรกของการใช้อาวุธชีวภาพ เริ่มต้นตั้งแต่สมัยโบราณทั้งที่ขณะนั้นมนุษย์ยังไม่มีวิทยาการทางด้านวิทยาศาสตร์ที่เจริญก้าวหน้า จนกระทั่งปัจจุบันซึ่งมีวิทยาศาสตร์ที่ทันสมัยมากยิ่งขึ้น และการใช้จุลินทรีย์ก่อโรคในการก่อการร้ายมีแนวโน้มสูงขึ้น แม้จะมีอนุสัญญาห้ามอาวุธชีวภาพก็ตาม ตัวอย่างที่ชัดเจน คือการก่อวินาศกรรมในประเทศสหรัฐอเมริกาเมื่อปี ค.ศ. 2001 (เหตุการณ์ 9/11) ซึ่งเป็นเหตุการณ์ที่ก่อความตื่นตระหนกให้กับประชาชนเป็นอย่างมาก ฉะนั้น การสอบสวนเพื่อหาแหล่งที่มาของเชื้อก่อโรคที่ถูกแพร่กระจายนับเป็นการตอบสนองที่เร่งด่วนและต้องรีบดำเนินการ เพื่อลดการแพร่กระจายและพิสูจน์ทราบเชื้อก่อโรคนั้นๆ เพื่อดำเนินการรักษาและป้องกันโรคในผู้ที่ได้รับเชื้อและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อการรับเชื้อเหล่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพื่อนำผลการวิเคราะห์ไปประกอบการพิจารณาตีความในชั้นศาล การวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบย้อนกลับไปหาแหล่งที่มาของเชื้อก่อโรคนั้น จำเป็นต้องใช้องค์ความรู้ทางด้านจุลชีววิทยาและโดยเฉพาะอย่างยิ่งความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์ของจุลินทรีย์

นิติจุลชีววิทยา

นิติจุลชีววิทยา เป็นสาขาวิชาที่ว่าด้วยระเบียบวิธีทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หลักฐานจากการก่อการร้ายทางชีวภาพ การก่ออาชญากรรมทางชีวภาพ หรือการแพร่กระจายจุลินทรีย์หรือสารพิษโดยไม่ตั้งใจ เพื่อกำหนดลักษณะหรือระบุชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในวัตถุพยานและ/หรือที่เกิดเหตุซึ่งการกำหนดลักษณะต้องอาศัยเอกลักษณ์เฉพาะที่เรียกว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ของจุลินทรีย์เป็นสำคัญ (Budowle, 2004) หรืออาจหมายถึง การตรวจสอบความแตกต่างในระดับโมเลกุลด้วยวิธีที่น่าเชื่อถือระหว่างสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใกล้เคียงกันซึ่งอาจใช้เพื่ออ้างถึงจุดกำเนิดและช่องทางการติดต่อของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการระบาดของโรคติดเชื้อว่าเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือจากการใช้อาวุธชีวภาพ (Cummings and Relman, 2002, pp. 1976-1979) โดยรวมแล้วนิติจุลชีววิทยานับเป็นศาสตร์ที่เกิดขึ้นใหม่เพื่อตอบสนองวัตถุประสงค์ของกฎหมายหรือเกี่ยวข้องกับงานทางด้านกระบวนการยุติธรรม ซึ่งนำเอาความรู้ด้านจุลชีววิทยา รวมทั้งวิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ มาประยุกต์เพื่อประโยชน์แก่กระบวนการยุติธรรม เพื่อช่วยในการสืบสวนในส่วนที่เป็นงานด้านจุลชีววิทยา ตลอดจน

การใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบต่างๆ อย่างมีประสิทธิภาพ ขั้นตอนต่างๆ และการใช้ข้อมูลทั้งหมดของการสอบสวนแบบนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น ตั้งแต่การเก็บตัวอย่างไปจนถึงการสรุปผลการตรวจวิเคราะห์ การสืบสวนและการตัดสินใจจากผลการสอบสวนแบบนิติจุลชีววิทยาสามารถนำไปใช้ฟ้องร้องและหาอาชญากรได้ ซึ่งอาจเป็นอาชญากรรมระดับชาติหรือนานาชาติ โดยนักนิติจุลชีววิทยาต้องมั่นใจได้ว่าวิธีการและผลการวิเคราะห์นั้นจะเป็นที่ยอมรับได้ในชั้นศาล และต้องเป็นที่ยอมรับของประชาคมอีกด้วย เพื่อทำการตัดสินใจและวินิจฉัยได้อย่างถูกต้อง

องค์ความรู้ที่จำเป็นสำหรับนิติจุลชีววิทยา อาทิเช่น จุลชีววิทยา ระบาดวิทยา พื้นฐาน ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล วิวัฒนาการ สถิติ โรคติดเชื้อ เป็นต้น นอกจากนี้ ความซับซ้อนทางชีวภาพและนิเวศวิทยาเป็นสาระที่มีมากในวัตถุดิบทางชีวภาพ นักนิติจุลชีววิทยาต้องอาศัยหลักการบูรณาการองค์ความรู้ด้านต่างๆ เข้าด้วยกันเพื่อการวิเคราะห์และสรุปสิ่งที่สงสัยต่างๆ การวิเคราะห์โดยใช้เพียงแค่หนึ่งวิธีก็มีประสิทธิภาพแต่อย่างไรก็ตาม วิธีที่ต้องใช้หลายๆ วิธีนั้นยังจะต้องนำมาใช้เพื่อยืนยันกับสิ่งที่กำลังคุกคามอยู่ กับสถานการณ์ที่จำเพาะ โดยที่ในแต่ละกรณีกระบวนการทางวิทยาศาสตร์และการสอบสวนจะต้องมีข้อยืนยัน 2 วิธี หรือมากกว่านั้น เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์นั่นเอง

กระบวนการและเทคโนโลยี

อุปกรณ์ที่มีความซับซ้อน (เทคโนโลยี) ที่อยู่ในห้องปฏิบัติการเป็นเพียงส่วนหนึ่งของกระบวนการเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เชื่อถือได้และมีความหมายเท่านั้น กระบวนการเริ่มต้นด้วยการเก็บตัวอย่างและดำเนินการบรรจุ จัดเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง และจบลงที่ขั้นตอนการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ ทุกขั้นตอนมีความสำคัญและต้องบูรณาการอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อให้มีความเชื่อมั่นสูงในผลการทดสอบ กระบวนการและเทคโนโลยีที่มีความสำคัญสำหรับนิติจุลชีววิทยา มีดังต่อไปนี้ (Schutzer, Budowle, and Keim, 2011, pp.667-680)

1. ที่เกิดเหตุและลูกใช้การเก็บรักษาตัวอย่าง

หลังจากที่ตระหนักว่าการก่อการร้ายทางชีวภาพหรือการก่ออาชญากรรมทางชีวภาพเกิดขึ้น การกำหนดที่เกิดเหตุเป็นสิ่งแรกที่สำคัญของการสอบสวน เมื่อที่เกิดเหตุถูกระบุและกั้นอาณาเขตเอาไว้ จำเป็นต้องมีการวางแผนในการเก็บและรักษาหลักฐาน

ให้อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์และจัดส่งไปเพื่อวิเคราะห์ตามลำดับต่อไป รวมทั้งต้องมีวิธีปฏิบัติที่ลดการปนเปื้อนของหลักฐาน การปนเปื้อนจุลินทรีย์เป็นสิ่งที่แตกต่างกันไปจากการปนเปื้อนแบบอื่นๆ เพราะจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนสามารถเพิ่มจำนวนและรบกวนผลการตรวจวิเคราะห์ การสอบสวนทางนิติจุลชีววิทยาเป็นการเพิ่มความละเอียดให้กับการสอบสวนที่เกิดเหตุแบบดั้งเดิม โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลักฐานประเภทที่มีธรรมชาติเป็นสิ่งที่อันตราย การจัดทำเอกสารนับเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการรักษาหลักฐานให้คงความสมบูรณ์เอาไว้ ที่จุดเกิดเหตุอาจมีความวุ่นวายและเกิดความผิดพลาดในการจัดทำเอกสารขึ้นได้ ฉะนั้น เพื่อเป็นการบริหารความเสี่ยงควรมีขั้นตอนการจัดทำเอกสารและปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด ความจำเป็นอีกอย่างหนึ่งก็คือ ตัวอย่างวิเคราะห์ต้องมีสภาพคงเดิม ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสภาพเดิมที่เกิดจากที่เกิดเหตุ จนกระทั่งไปถึงขั้นตอนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เพราะจะมีผลต่อการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ วิธีการปฏิบัตินี้เรียกว่า ลูกโซ่ของการเก็บรักษาตัวอย่าง ประกอบด้วย การติดฉลากและประทับตราตัวอย่าง สมุดจดรายการในภาคสนาม การบันทึกลูกโซ่ของการเก็บรักษาตัวอย่าง หนังสือคำขอให้วิเคราะห์ตัวอย่าง และการส่งตัวอย่างให้ห้องปฏิบัติการ ส่วนการบันทึกลูกโซ่ของการเก็บรักษาตัวอย่าง ประกอบด้วย การจดบันทึกแต่ละตัวอย่างหรือกลุ่มของตัวอย่าง การบันทึกประกอบด้วยข้อมูลดังนี้ จำนวนตัวอย่าง ลายเซ็นผู้เก็บตัวอย่าง ลายเซ็นผู้รับผิดชอบของการเก็บรักษาตัวอย่าง (Sample custodian) หน่วยงานจะต้องมีการแต่งตั้งผู้เก็บและดูแลรักษาตัวอย่างเพื่อให้ปลอดภัยจากบุคคลอื่น โดยเก็บตัวอย่างไว้ในที่หวงห้าม และผู้เก็บรักษาตัวอย่างสามารถอธิบายที่มาและลักษณะของตัวอย่างได้เป็นอย่างดี ตลอดจนพร้อมที่จะอธิบายให้กับบุคคลที่เกี่ยวข้อง เช่น นักกฎหมาย และผู้พิพากษา เป็นต้น นักนิติจุลชีววิทยาต้องศึกษาการสอบสวนที่เกิดเหตุร่วมด้วย เพื่อที่จะเรียนรู้พื้นฐานของนิติวิทยาศาสตร์และปฏิบัติงานได้อย่างเต็มศักยภาพ (U. S. Department of Justice, Federal Bureau of Investigation, Laboratory Division. 2007)

2. การเก็บตัวอย่าง

สิ่งหนึ่งที่จะต้องเข้าใจคือ เครื่องมือที่สามารถใช้ในการเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อจำกัดในขั้นตอนการเก็บและเครื่องมือ ขณะที่วิธีการส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่เครื่องมือการเก็บรวบรวม การพิจารณากลยุทธ์การสุ่มตัวอย่างเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องมากที่สุดเป็นสิ่งสำคัญมาก ซึ่งเกี่ยวข้องกับการวางแผนเชิงกลยุทธ์ โลจิสติกส์ และสถิติ สภาวะ

ที่เหมาะสมในการเก็บรวบรวมและ/หรือการเก็บรักษาจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่น และวัตถุดิบแบบดั้งเดิม เช่น ดีเอ็นเอของมนุษย์ ลายพิมพ์นิ้วมือ และวัสดุร่องรอย ยกตัวอย่างเช่น เชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารที่มักจะรวบรวม โดยสภาวะที่เก็บรักษาสภาพวัตถุดิบอาจส่งเสริมให้แบคทีเรียในธรรมชาติเจริญได้ในผลิตภัณฑ์อาหาร และการเจริญที่มากกว่าปกติอาจไปทำลายหรือปิดบังจุลินทรีย์ที่มาจากอาวุธชีวภาพ เครื่องมือและสารรักษาสภาพตัวอย่างที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการตรวจสอบเพื่อการเก็บที่มีประสิทธิภาพและต้องมั่นใจว่าจะไม่ทำปฏิกิริยากับสิ่งที่เป้าหมาย การเก็บตัวอย่างเป็นเรื่องที่จริงจังและต้องใช้ข้อควรตระหนักและข้อควรระวังยึดถือในการปฏิบัติเป็นสำคัญ

3. การรักษาสภาพวัตถุดิบ

ในกระบวนการเก็บตัวอย่างหรือวัตถุดิบ สิ่งหลักที่หลีกเลี่ยงไม่ได้คือ การป้องกันวัตถุดิบไม่ให้มีการถูกทำลาย ซึ่งสภาวะที่ใช้สำหรับการรักษาสภาพวัตถุดิบมีความสำคัญทั้งในแง่การบรรจุหีบห่อและการขนส่ง เพื่อเก็บรักษาวัตถุดิบเอาไว้ที่ห้องปฏิบัติการ และการเก็บภายหลังจากการวิเคราะห์ วิธีปฏิบัติต้องเป็นไปตามหลักการและแนวปฏิบัติที่เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการรักษาสภาพวัตถุดิบในแต่ละประเภท หากมีการดัดแปลงวิธีหรือพัฒนาวิธี ต้องมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีนั้นๆ ก่อนนำมาใช้

4. การสกัดเซลล์หรือโมเลกุลเป้าหมายจากวัตถุดิบ

การสกัดเซลล์หรือโมเลกุลเป้าหมายจากวัตถุดิบอย่างมีประสิทธิภาพต้องคำนึงถึงทั้งปริมาณและคุณภาพ ขั้นตอนดังกล่าวต้องมั่นใจว่าได้เซลล์หรือโมเลกุลเป้าหมายในปริมาณที่เพียงพอ ในทางปฏิบัติมักจะสกัดเซลล์หรือโมเลกุลเป้าหมายออกมาให้ได้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ เพื่อเป็นการเก็บเกี่ยวหลักฐานที่สำคัญจากวัตถุดิบนั้นๆ สิ่งที่เป็นเป้าหมายจากวัตถุดิบ ได้แก่ เซลล์ กรดนิวคลีอิก โปรตีน สารอาหาร สารเร่งการเจริญเติบโต และธาตุต่างๆ เป็นต้น

5. กล้องจุลทรรศน์ที่ทันสมัย

การสังเกตวัตถุดิบอาจใช้กล้องจุลทรรศน์ได้หลากหลายชนิด ตั้งแต่กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไปจนถึงกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม

ซึ่งนักวิทยาศาสตร์สามารถใช้กล้องเหล่านี้ในการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ได้ วิธีการดังกล่าว เป็นวิธีการที่รวดเร็วและสามารถใช้ในการระบุชนิดของจุลินทรีย์ที่คาดว่า จะเป็นสาเหตุของภัยคุกคามพร้อมทั้งการไม่สนใจสิ่งหลอกลวง

6. โปรตีโอมิกส์

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่ชัดเจนของสิ่งที่ทำให้เกิดโรคทางชีวภาพเป็น ข้อมูลที่ทำให้ทราบว่าสิ่งนั้นถูกผลิตอย่างไรและเมื่อไหร่ และยังสามารถใช้ในการวินิจฉัย ได้อีกว่าตัวอย่างจุลินทรีย์ 2 ชนิดถูกผลิตด้วยกระบวนการเดียวกันหรือไม่ โปรตีโอมิกส์ เป็นการศึกษาระดับความรู้ขององค์ประกอบโปรตีนของระบบทางชีววิทยาที่ช่วงเวลา หนึ่งหรือในระยะที่แตกต่างกันของจุลินทรีย์โปรตีนหลายชนิดมีคุณสมบัติคงที่และสามารถใช้ ในการพิสูจน์โดยทั่วไปได้ ในขณะที่โปรตีนอื่นๆ อาจมีการแสดงออกตามการกระตุ้น ทางสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญ หรือสภาวะในการเจริญ การแสดงออกของโปรตีน เป็นข้อมูลที่เหนือกว่าการวิเคราะห์ทางจีโนมเพราะบ่งบอกถึงสภาวะของอาวุธชีวภาพ ก่อนที่จะมีการแพร่กระจายไปยังกลุ่มเป้าหมาย

7. จีโนมิกส์

หนึ่งในสาขาวิชาที่เติบโตเร็วที่สุดและมีประโยชน์สำหรับการพิสูจน์หลักฐาน ที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ คือ จีโนมิกส์ ประมาณหนึ่งทศวรรษที่ผ่านมา มีการนำเทคนิค การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์แบบรวดเร็วและในเชิงลึกมาใช้กันอย่าง แพร่หลาย ซึ่งเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้ในการตรวจสอบการโจมตีด้วยจดหมายที่บรรจุ ผงแอนแทรกซ์ดูเหมือนว่าจะล้าสมัยสำหรับวันนี้ การวิเคราะห์ทางพันธุกรรมจะยังคง เป็นสิ่งจำเป็นในการระบุพืช สัตว์ พันธุ์ สายพันธุ์ที่แยกได้และในแต่ละตัวอย่างเพื่อช่วย ในการตรวจสอบทางนิติวิทยาศาสตร์ของจุลินทรีย์ การเพิ่มศักยภาพและประสิทธิภาพ ในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์อย่างรวดเร็ว ซึ่งสามารถหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ จุลินทรีย์ได้ภายในหนึ่งวันที่ครอบคลุมลึกมาก เป็นการยกระดับความสำคัญของการสืบ่ งทางพันธุกรรม อาจจะเป็นวิธีการที่สำคัญของการพิสูจน์หลักฐานของจุลินทรีย์ในการโจมตี อีกด้วยจุลินทรีย์ใดๆ ค่าใช้จ่ายของการหาลำดับจีโนมทั้งหมดได้ลดลงอย่างน้อย 100 เท่า ในเพียงไม่กี่ปี เทคโนโลยีนี้จะเป็นหนึ่งในวิธีทดสอบทางเลือกในการตรวจสอบโครงสร้าง ทางพันธุกรรมของเชื้อโรคบางชนิดและในการระบุเอกลักษณ์เหล่านั้นมีความเกี่ยวข้อง ทางนิติวิทยาศาสตร์ ในทำนองเดียวกัน การวิเคราะห์ทางโปรตีโอมิกส์สามารถกำหนด

ได้อย่างครอบคลุมว่ามีโปรตีนอะไรอยู่ในตัวอย่างและจะสร้างความสำคัญในการพิสูจน์หลักฐาน ผู้ที่ประกอบวิชาชีพทางกฎหมายต้องมีความเข้าใจพื้นฐานของความสามารถและข้อจำกัด ที่จะประสบความสำเร็จในห้องพิจารณาคดี เช่นเดียวกับสิ่งที่จำเป็นสำหรับการพิสูจน์หลักฐานดีเอ็นเอของมนุษย์

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ การแปลความหมาย และความเชื่อมั่น

การวิเคราะห์ทางสถิติของผลการวิจัยถือเป็นสิ่งสำคัญของการตีความ ซึ่งควรจะดำเนินการเพื่อให้มีนัยสำคัญของผลหรือในการถ่ายทอดความแข็งแกร่งของผลการพิสูจน์หลักฐานประกอบ วิธีการทางสถิติมีหลากหลายวิธีและจำเป็นที่จะต้องทำความเข้าใจว่าวิธีใดเหมาะที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์และการตีความในแต่ละแบบ การแปลความหมายอาจจะเป็นแบบง่าย ๆ ตั้งแต่เป็นบวกหรือลบ ไปจนถึงการประเมินผลที่ซับซ้อนมากโดยใช้ข้อจำกัดของการตรวจสอบ และกลไกที่ซับซ้อนสำหรับการระบุและการจำแนกองค์ประกอบโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งอาจมีคำถามเพิ่มเติมเกิดขึ้นจากการตีความข้อมูล

ทั้งนักวิทยาศาสตร์และนักวิเคราะห์ทางกฎหมายต้องเข้าใจผลการทดสอบและนัยสำคัญ นอกจากนี้ ระดับของความเชื่อมั่นที่กำหนดไว้ต้องเป็นไปตามหลักทางวิชาการเพื่อให้คำแนะนำของการวิเคราะห์เปรียบเทียบเป็นไปอย่างน่าเชื่อถือ สถิติพื้นฐานความน่าจะเป็น และพันธุศาสตร์ประชากรมีความต้องการที่สำคัญต่อหลักสูตรใดๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ทางนิติวิทยาศาสตร์จากหลักฐานทางชีวภาพ

9. ชีวสารสนเทศ

คำว่า “ชีวสารสนเทศ” เป็นผลมาจากโครงการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมมนุษย์ (Human Genome Project) เนื่องจากมีข้อมูลจำนวนมากจึงมีความจำเป็นที่จะต้องจัดเก็บอย่างเป็นระบบเพื่อให้นักชีววิทยาสามารถเข้าถึงข้อมูลได้อย่างทั่วถึง ชีวสารสนเทศเป็นการรวมกันของการจัดเก็บข้อมูลทางชีววิทยากับการวิเคราะห์ข้อมูลอย่างเป็นระบบ ซึ่งเป็นการเชื่อมโยงระหว่างงานด้านชีววิทยากับการคำนวณที่มีศักยภาพสูง ในฐานะที่เป็นตรวจสอบทางวิทยาศาสตร์และการขยายการสร้างข้อมูลที่มีความละเอียดสูง การหาลำดับจีโนมของจุลินทรีย์ในเชิงลึก และการวิเคราะห์ทางโปรตีโอมิกส์ขนาดใหญ่ การวิเคราะห์โดยวิธีคำนวณจะมีความจำเป็นมากขึ้นกว่าที่

ผ่านมา รายวิชานี้จะมีประโยชน์ในรูปแบบที่ง่ายสำหรับนักชีววิทยาหรือรูปแบบที่ซับซ้อนมากขึ้นสำหรับนักวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องทางด้านคอมพิวเตอร์

นักวิทยาศาสตร์และบุคคลที่มีความสนใจในนิติจุลชีววิทยาจะต้องมีการฝึกอบรมความรู้ขั้นพื้นฐานด้านสถิติและเครื่องมือชีวสารสนเทศ

10. ตัวบ่งชี้ของการดัดแปลงทางพันธุกรรม

ด้วยการพัฒนาอย่างรวดเร็วในอณูชีววิทยาเพื่อประโยชน์ของมนุษยชาติ ยังมาพร้อมศักยภาพที่ดีสำหรับการจัดการผลิตจุลินทรีย์ที่ใช้ในทางลบ จุลินทรีย์ที่สามารถออกแบบให้มีศักยภาพมากขึ้นและจุลินทรีย์ที่หายาก อาจถูกสังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการ จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบไม่เพียงแต่หาจุลินทรีย์เท่านั้น แต่ต้องวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบว่าจุลินทรีย์ถูกดัดแปลงพันธุกรรมหรืออาจเป็นลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ ชีววิทยาสังเคราะห์ การจัดทำ หรือการสังเคราะห์เอกลักษณ์อาจถูกตรวจพบผ่านการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และชีวสารสนเทศ ทักษะและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการดัดแปลงจีโนมของจุลินทรีย์อาจเป็นกุญแจสำคัญในการระบุผู้กระทำผิดและระดับของเชื้อราที่ใช้ในการพัฒนาอาวุธชีวภาพ ความสามารถนี้ควรจะเป็นที่สนใจของหน่วยงานที่มีการบังคับใช้กฎหมายและหน่วยสืบราชการลับเพื่อรองรับการนำไปสู่การสืบสวน

11. พันธุศาสตร์ของประชากรจุลินทรีย์

พันธุศาสตร์ของประชากรจุลินทรีย์เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการทำความเข้าใจความหายากของรายละเอียดทางพันธุกรรม (และโปรตีนบางครั้ง) ที่ได้มาจากตัวอย่างหลักฐาน ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลจะถูกนำมาประยุกต์ใช้ในหลักการทางพันธุศาสตร์ของประชากรและวิวัฒนาการของเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น การเข้าใจองค์ประกอบของประชากรกลุ่มตัวอย่างมากกว่าการเก็บตัวอย่าง วิธีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) สิ่งที่สำคัญหรือน้ำหนักที่จะใช้กับเครื่องหมายทางพันธุกรรม อัตราการกลายพันธุ์ของเครื่องหมาย และวิธีการรวมน้ำหนักของตัวบ่งชี้หลายตัว สิ่งเหล่านี้ถือเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องทำความเข้าใจ การฝึกอบรมของนักศึกษาในสาขาวิชานี้จะต้องมีหลักสูตรพื้นฐานทางพันธุศาสตร์และเพิ่มเติมหลักสูตรขั้นสูงในการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ วัสดุการศึกษาดังกล่าวจะพบในพันธุศาสตร์ของประชากรและโปรแกรมชีววิทยาเชิงวิวัฒนาการและระบบ

12. วิธีทางกายภาพ

การจำแนกจุลินทรีย์ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือทางเคมีสามารถใช้วิธีทางกายภาพได้อย่างกว้างขวาง ตั้งแต่การใช้กล้องจุลทรรศน์ไปจนถึงเคมีพื้นฐาน การประยุกต์ใช้เคมีวิเคราะห์ ตัวอย่างที่ชัดเจน ได้แก่ การสอบสวนหาแหล่งที่มาของผงสปอร์แอนแทรกซ์ที่ส่งผ่านระบบไปรษณีย์ในสหรัฐอเมริกา ซึ่งแสดงให้เห็นความสำคัญของวิธีทางกายภาพในการตรวจติดตามตัวอย่างสารชีวะ การสืบค้นเพื่อหาคำตอบว่าผงสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ ถูกผลิตอย่างไร เมื่อไหร่ และใช้วัสดุอุปกรณ์อะไร นั้น ได้ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์หลากหลายวิธี อาทิ แมส สเปกโตรเมทรี (mass spectrometry), สเปกโตรสโคปี (spectroscopy) และอื่นๆ เป็นต้น จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเหล่านั้น ทำให้ทราบข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบหลักฐานกับตัวอย่างอ้างอิงโดยตรง หรือทางอ้อม เพื่อสรุปว่าเป็นกระบวนการที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง การรักษา และ/หรือการแพร่กระจายอาวุธชีวภาพนั้น

องค์ประกอบที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จของการประยุกต์ใช้นิติจุลชีววิทยา

การประยุกต์ใช้นิติจุลชีววิทยาในการตรวจสอบย้อนกลับหาแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ให้ประสบความสำเร็จนั้น ต้องอาศัยองค์ประกอบ ดังต่อไปนี้ (Budowle et al., 2005)

1. การตรวจหาและการสืบ

หากต้องการการดำเนินการอย่างมีประสิทธิภาพ ต้องมีการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีศักยภาพและนำมาใช้อย่างจริงจัง ควรมีการสนับสนุนให้มีการพัฒนาวิธีทดสอบที่เพิ่มทั้งความไว ความจำเพาะ และศักยภาพในการทดสอบที่กว้างขวางมากขึ้น วิธีการทดสอบต้องสามารถทำได้ภายในเวลาที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ การใช้เทคโนโลยีดีเอ็นเอ (DNA technology) รวมทั้งการวิเคราะห์ทางเคมี การวิเคราะห์ทางกายภาพ การเพาะเลี้ยง การวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการทางภูมิคุ้มกันวิทยา และการทดสอบทางชีววิทยาในสัตว์ทดลองและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. ข้อมูลและฐานข้อมูล

ข้อมูลและฐานข้อมูลมีบทบาทสำคัญในงานทางนิติจุลชีววิทยา ข้อมูลที่สำคัญ ได้แก่ ข้อมูลทางด้านชีววิทยา เป็นต้น การพัฒนาคุณภาพและการเข้าถึงฐานข้อมูลที่เกี่ยวข้องและมีการขยายตัวของตัวอย่างอย่างรวดเร็ว เช่น ฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์ ฐานข้อมูลโปรตีนของจุลินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้ ฐานข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ฐานข้อมูลบทความวิจัย เว็บไซต์ที่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เป็นต้น

3. การจัดเก็บสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

ศูนย์หรือหน่วยงานที่เป็นแหล่งกลางสำหรับรวบรวม เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ เป็นหน่วยงานที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อการตรวจสอบและชี้บ่งสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่อยู่ในวัตถุดิบ เนื่องจากต้องมีการวิเคราะห์เพื่อระบุชนิดของจุลินทรีย์ อาจด้วยวิธีการดั้งเดิมหรือวิธีการที่ทันสมัย เช่น การเทียบเคียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่พบในวัตถุดิบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ในฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ เพื่อตรวจสอบว่าเป็นสายพันธุ์เดียวกันหรือไม่ เป็นต้น กรณีนี้ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการเก็บรวบรวมข้อมูลของจุลินทรีย์อ้างอิงไว้

4. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการทดสอบตัวอย่างไม่ว่าจะเป็นตัวอย่างทางคลินิกหรือวัตถุดิบโดยใช้วิธีการทดสอบที่ผ่านการตรวจสอบมาแล้วและให้ผลการทดสอบที่เชื่อถือได้ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเป็นการยืนยันโดยดูข้อมูลหลักฐานที่ได้จากการทดสอบว่าเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการใช้งานตามที่กำหนดไว้ ห้องปฏิบัติการต้องมั่นใจว่าผลการทดสอบความแม่นยำ ค่าพิสัย และค่าต่างๆ ได้แก่ ค่าปริมาณต่ำสุดที่ตรวจได้ ค่าความเฉพาะเจาะจง ค่าความเป็นเส้นตรง ค่าการวิเคราะห์หลายซ้ำในคราวเดียว และการวิเคราะห์หลายซ้ำในเงื่อนไขที่ตรงกันที่ได้จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี หากมีผลการทดสอบที่ผิดปกติต้องทราบได้ทันที ห้องปฏิบัติการต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ดังนี้ วิธีที่ไม่ได้เป็นวิธีมาตรฐาน วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นเอง วิธีมาตรฐานที่นำไปใช้เกินขอบข่ายของวัตถุประสงค์ วิธีมาตรฐานที่ถูกละเลยไปขยายผลหรือดัดแปลง การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีต้องเป็นไปตามสาขาที่นำไปประยุกต์ใช้ ห้องปฏิบัติการต้องบันทึกผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี วิธีทดสอบที่ใช้สำหรับตรวจดูความใช้ได้ และข้อความที่แสดงว่าวิธีนั้นเหมาะสมที่จะนำมาใช้ ถ้าหากใช้วิธีทดสอบดังกล่าวในการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบที่จะนำไปเสนอในการพิจารณาตีความทางศาลห้องปฏิบัติการต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวิเคราะห์ให้เสร็จก่อนส่งผลการทดสอบหรือผ่านการพิจารณาโดยผู้เชี่ยวชาญเฉพาะสาขาเพื่อยืนยันความถูกต้องของวิธีและประเมินข้อจำกัดของผลการทดสอบ

5. การประกันคุณภาพ

การประกันคุณภาพ คือการกำหนดแผนการดำเนินงานอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้มาซึ่งความเชื่อมั่นของข้อมูลที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับ เช่น มีการดูแลรักษาเครื่องมือ อุปกรณ์มีการสอบเทียบเครื่องมือ การตรวจสอบ และทวนสอบผลการวิเคราะห์



เป็นต้น การควบคุมคุณภาพ คือการดำเนินการเพื่อให้มั่นใจว่ารายงานหรือข้อมูลมีความถูกต้องแม่นยำตรงตามข้อกำหนดที่ระบุไว้มากที่สุด เพื่อให้เกิดการปฏิบัติงานที่บรรลุวัตถุประสงค์ของงานห้องปฏิบัติการนิติจุลชีววิทยา คือ สนับสนุนกระบวนการยุติธรรมอย่างมีประสิทธิภาพและเป็นระบบ ดังนั้น การจัดการระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการนิติจุลชีววิทยาจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เป็นการยืนยันความถูกต้องของขั้นตอนและเส้นทางการปฏิบัติงานในการรับส่งพยานหลักฐาน และผลการตรวจพิสูจน์ เพื่อให้เกิดความมั่นใจกับผู้เกี่ยวข้องในการอำนวยความสะดวกด้วยความถูกต้อง โปร่งใสและตรวจสอบได้ ตามหลักธรรมาภิบาล นอกจากนี้ยังมีความสำคัญโดยทำให้มั่นใจว่าเครื่องมือ หรืออุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์มีความเหมาะสม สามารถตรวจวัดได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เป็นการควบคุมมาตรฐานการปฏิบัติงานของบุคลากร หรือเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง และสามารถตรวจสอบย้อนกลับไปยังข้อมูลดิบได้ในกรณีที่ยังสงสัยข้อมูลนั้น

กรณีเหตุการณ์การจงใจกระจายสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ผ่านทางระบบไปรษณีย์ที่ประเทศสหรัฐอเมริกาเมื่อ กันยายน-ตุลาคม ปี ค.ศ. 2001 (เหตุการณ์ 9/11)

ภายหลังเหตุการณ์วินาศกรรมเพียงไม่กี่วัน มีการจงใจกระจายสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ผ่านทางระบบไปรษณีย์ โดยการส่งซองจดหมายที่บรรจุสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ไปยังสำนักข่าวและผู้นำในรัฐบาล เป็นสาเหตุให้มีผู้ติดเชื้อ 22 ราย และเสียชีวิต 5 ราย (Lane and Fauci, 2010, p.68) นับจากมีผู้เสียชีวิตรายแรก คณะทำงานของ Federal Bureau of Investigation (FBI) และ United States Postal Inspection Service (USPIS) ของสหรัฐอเมริกา ได้จัดตั้งคณะดำเนินงานขึ้นมาโดยทันทีเพื่อตรวจสอบและสอบสวนอาชญากรรม และตั้งชื่อคดีนี้ว่า อเมริแทรกซ์ (Amerithrax) ซึ่งใช้เวลาในการคลี่คลายคดีทั้งสิ้น 7 ปี (The United States Department of Justice. 2010: Website)

วิธีการตรวจหาและบ่งชี้ชนิดของเชื้อแอนแทรกซ์จากกรณีนี้ ดำเนินการโดยศาสตราจารย์ Keim และคณะ ซึ่งเป็นนักจุลชีววิทยาสังกัดมหาวิทยาลัยนอร์ทเทิร์นแคลิฟอร์เนีย มลรัฐแคลิฟอร์เนีย ร่วมกับ Fraser-Liggett และคณะ ซึ่งขณะนั้นดำรงตำแหน่งประธานสถาบัน The Institute for Genomic Research (TIGR) เมืองรีอคิวิลล์ มลรัฐแมรี่แลนด์ เริ่มต้นจากการที่ศาสตราจารย์ Keim ได้รับการติดต่อจาก Doug Beecher ซึ่งเป็นนักวิทยาศาสตร์สังกัดสถาบัน FBI ว่ามีผู้ติดเชื้อแอนแทรกซ์ที่มลรัฐฟลอริดา คือ Robert Stevens พนักงานของบริษัท American Media และในที่สุดสิ่งส่งตรวจจาก

ผู้ติดเชื้อแอนแทรกซ์รายนี้ถูกส่งไปยังห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim โดยเครื่องบินส่วนบุคคล การรับ-ส่งสิ่งตรวจเป็นไปตามหลักการของกฎข้อการเก็บรักษาตัวอย่าง เมื่อสิ่งส่งตรวจถึงห้องปฏิบัติการก็เริ่มต้นจากการสกัดดีเอ็นเอจากสิ่งส่งตรวจ วิเคราะห์ด้วยเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ที่ใช้สำหรับการตรวจหาเอกลักษณ์เฉพาะในระดับดีเอ็นเอของสายพันธุ์จุลินทรีย์ โดยการนำรูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อแอนแทรกซ์ที่พบในซองจดหมายไปเทียบเคียงกับรูปแบบดีเอ็นเอของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลทางพันธุกรรม ผลการตรวจสอบพบว่าเป็นเชื้อแอนแทรกซ์สายพันธุ์ Ames ซึ่งผลการตรวจสอบได้ผลสอดคล้องกับการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการของ Centers for Disease Control and Prevention (CDC) เมืองแอตแลนตา ในขณะที่ทราบผลการชันสูตรนั้น Stevens ยังคงมีชีวิตอยู่ หลังจากนั้นไม่กี่วันหนึ่งชั่วโมงผู้ติดเชื้อก็เสียชีวิต การส่งซองจดหมายที่บรรจุสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ไปยังสถานที่อื่นยังเกิดขึ้นอีก แม้นักวิทยาศาสตร์ที่ทำหน้าที่วิเคราะห์เชื้อแอนแทรกซ์จะอยู่ในภาวะตื่นตระหนกด้วยหน้าที่และความรับผิดชอบก็ต้องทำงานต่อไป CDC ต้องการให้มีการเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการเพื่อรับมือกับสถานการณ์ซึ่งมีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน ห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์เชื้อแอนแทรกซ์ จึงทำงานแบบร่วมมือกันกับ CDC ในขณะที่ FBI ต้องการห้องปฏิบัติการที่มีความอิสระ เพื่อนำผลการวิเคราะห์ไปประกอบการพิจารณาตีความและเป็นพยานในศาล ดังนั้น ห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim จึงถูกกำหนดให้เป็นห้องปฏิบัติการของ FBI เนื่องจาก FBI ไม่มีห้องปฏิบัติการสำหรับวิเคราะห์เชื้อแอนแทรกซ์ ส่วนสถาบันวิจัยโรคติดเชื้อหน่วยแพทย์กองทัพกองสหรัฐอเมริกา (United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases: USAMRIID) ที่ฟอร์ท เดทริค มลรัฐแมรีแลนด์ แม้จะมีห้องปฏิบัติการดังกล่าว แต่ไม่มีบุคลากรที่มีทักษะในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim ต้องปฏิบัติหน้าที่ในฐานะนักวิเคราะห์เชื้อแอนแทรกซ์ในระดับดีเอ็นเอซึ่งถูกส่งเกตและติดตามโดยเจ้าหน้าที่ของ FBI เพื่อการตรวจสอบสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์ทำ ด้วยเหตุที่จะต้องได้รับผลการวิเคราะห์ซึ่งสามารถนำไปใช้ที่ศาลและเป็นพยานได้ ในขณะนั้นเจ้าหน้าที่ของ FBI ที่มีความรู้และทักษะด้านเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมนุษย์ก็อยู่ปฏิบัติงานร่วมกับนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim ตลอดเวลาสำหรับการวิเคราะห์ผงสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์โดยตรงนับว่ามีอันตรายสูงมาก ไม่นิยมทำ จึงนำผงสปอร์ดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงให้เป็นแบคทีเรียก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอ



หน่วยงานที่ทำหน้าที่เพาะเลี้ยงแบคทีเรีย คือ USAMRIID และเมื่อได้แบคทีเรียแอนแทรกซ์แล้วจึงส่งไปที่ห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่สกัดจากสิ่งส่งตรวจด้วยเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ทำให้ทราบว่าเป็นสายพันธุ์ Ames แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าแตกต่างจากสายพันธุ์ Ames ชนิดอื่นๆ อย่างไร ฉะนั้นทางคณะผู้ดำเนินการวิเคราะห์เชื้อแอนแทรกซ์จึงทำงานร่วมกับ Fraser-Liggett และคณะ ที่ TIGR โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมของเชื้อแอนแทรกซ์ที่เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของ Robert Stevens และเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ ไม่พบความแตกต่างทางพันธุกรรม จึงไม่สามารถแยกออกจากกันได้ จากการจำแนกโดยเทคนิคทางพันธุกรรมครั้งนี้ ทำให้ไม่สามารถหาคำตอบได้

จากการแบ่งความรับผิดชอบของหน่วยงานต่างๆ ในกรณีนี้ USAMRIID ทำหน้าที่เพาะเลี้ยงเชื้อแอนแทรกซ์โดยการนำผงสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์ไปเพาะเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการเจริญของเชื้อและปรากฏลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือสัณฐานวิทยาของกลุ่มเชื้อ (โคโลนี) ซึ่ง Terry Abshire และ Pat Worsham ซึ่งเป็นนักวิทยาศาสตร์ที่สังกัด USAMRIID พบว่า ลักษณะของโคโลนีไม่คงที่ บางโคโลนีมีลักษณะและสีแตกต่างออกไป จึงทำการแยกเชื้อจากโคโลนีดังกล่าว และได้เชื้อแอนแทรกซ์ที่มีความบริสุทธิ์สูงที่สุดในที่สุด นับเป็นกุญแจสำคัญของการตรวจสอบย้อนกลับถึงแหล่งที่มาของผงสปอร์เชื้อแอนแทรกซ์ ในระหว่างการตรวจสอบนี้ FBI ได้ดำเนินการออกหมายศาลและไปค้นทุกห้องปฏิบัติการที่มีการครอบครองเชื้อแอนแทรกซ์สายพันธุ์ Ames อยู่ หากพบว่าห้องปฏิบัติการใดมีเชื้อดังกล่าว ให้ทำการเพาะเลี้ยง โดย 1 สายพันธุ์และแบ่งเป็น 2 ชุด และนำส่งหน่วยงาน FBI ซึ่งจะถูกส่งต่อไปยัง USAMRIID จากนั้นทำการติดฉลากตัวอย่างโดยใส่หมายเลขเพื่อปกปิดแหล่งที่มาของเชื้อ ชุดแรกถูกเก็บไว้ที่ USAMRIID อีกชุดหนึ่งถูกส่งต่อไปยังห้องปฏิบัติการของศาสตราจารย์ Keim ซึ่งเมื่อได้รับตัวอย่างก็ทำการสกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย จากนั้นดีเอ็นเอที่สกัดได้ถูกส่งต่อไปยัง TIGR เพื่อทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมโดย Fraser-Liggett และคณะ ผลการวิเคราะห์พบว่า เชื้อแอนแทรกซ์ที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อจากผงสปอร์ในซองจดหมาย มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างด้วย และโดยเฉพาะอย่างยิ่ง มีลักษณะสปอร์ที่จำเพาะอีกด้วย จากผลการสังเกตครั้งนี้ ทำให้ FBI ตีกรอบการสอบสวนให้แคบลง และง่ายต่อการสอบย้อนกลับหาแหล่งที่มาของเชื้อจริง ๆ

เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแอนแทรกซ์ที่ส่งมาจากห้องปฏิบัติการต่างๆ ทั้งหมด 1,070 ตัวอย่าง พบว่า มี 7 ตัวอย่างที่ตรงกับเชื้อแอนแทรกซ์ที่มาจากซองจดหมาย และตรวจสอบย้อนกลับจากสมุดบันทึกตัวอย่างและพยานหลักฐานพบว่า ถูกส่งมาจากห้องปฏิบัติการแห่งหนึ่ง และเมื่อตรวจสอบย้อนกลับต่อไปอีก พบว่า มาจากแหล่งตัวอย่างที่เดียวกัน คือจากการเตรียมเชื้อแอนแทรกซ์ด้วยขบวนการที่กำหนดรหัส RMR-1029 ซึ่งเป็นการผลิตสปอร์ของเชื้อแอนแทรกซ์เพื่อนำไปพัฒนาวัคซีนที่อยู่ในกระบวนการควบคุมและดูแลของ Bruce E. Ivins นักวิทยาศาสตร์ที่สังกัด USAMRIID การพิสูจน์ทราบ การสอบสวน และการตรวจสอบย้อนกลับในกรณีนี้ นำมาซึ่งการตัดสินใจเพื่อควบคุมตัว Ivins ในฤดูร้อน ปี ค.ศ. 2008 ด้วยข้อกล่าวหาเป็นผู้กระทำผิดตามกฎหมายการใช้อาวุธที่มีอานุภาพทำลายล้างสูง (Weapon of Mass Destruction) โดยละเมิดมาตรา 18 ข้อ 2332a ของประเทศสหรัฐอเมริกา รวมทั้งข้อหาอื่นๆ อย่างไรก็ดีตาม เมื่อเดือนกรกฎาคม ค.ศ. 2008 Ivins ก็เสียชีวิตจากการใช้ยาเกินขนาด (Frontline, 2011)

บทสรุป

การพิสูจน์หลักฐานทางจุลชีววิทยานับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการยุติธรรมที่เกี่ยวข้องกับเหตุการณ์ก่อการร้ายด้วยอาวุธเชื้อโรค การดำเนินงานเพื่อระบุหรือชี้บ่งสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่พบในสถานที่เกิดเหตุ วัตถุพยาน หรือสิ่งส่งตรวจจากผู้ติดเชื้อที่สงสัยว่าไม่ได้เกิดการแพร่ระบาดของโรคตามธรรมชาติ เป็นงานที่เร่งด่วน เริ่มจากขั้นตอนการวางแผนเก็บรวบรวม การรักษาสภาพ การขนส่ง การวิเคราะห์ และการสรุปผล การวิเคราะห์วัตถุพยาน ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ต้องปฏิบัติตามลูกโซ่การเก็บรักษาตัวอย่างและมาตรฐานห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด เพื่อตรวจสอบย้อนกลับหาแหล่งที่มาของเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุ นิติจุลชีววิทยา จึงนับว่าเป็นงานที่ท้าทายและจำเป็นสำหรับกระบวนการยุติธรรมอย่างมาก ฉะนั้น การเตรียมความพร้อมทั้งในด้านห้องปฏิบัติการ กระบวนการดำเนินงาน และบุคลากรจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง นักวิทยาศาสตร์และบุคลากรที่เกี่ยวข้องต้องมีความรู้ความเข้าใจและมีทักษะทางนิติจุลชีววิทยา เพื่อให้การปฏิบัติงานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผล



บรรณานุกรม

- Budowle, B. (2004). "Genetics and Attribution Issues that Confront the Microbial Forensics Field." **Forensic Science International**. 146S: S185-S188.
- Budowle, B., Burans, J.P., Breeze, R.G., Wilson, M.R., and Chakraborty, R. (2005). "Microbial Forensics." In **Microbial Forensics**: p.1-23. Breeze, R.G., Budowle, B., and Schutzer, S. (eds.). London: Elsevier Academic Press.
- Cummings, C.A. and Relman, D.A. (2002). Microbial Forensics--"Cross-Examining Pathogens". **Science**. 296 (5575): pp.1976-1979.
- Frontline. (2011). **Paul Keim: We Were Surprised It Was the Ames Strain**. Retrieved: April 3, 2012, From www.pbs.org/wgbh/pages/frontline/criminal-justice/anthrax-files/paul-keim-we-were-surprised-it-was-the-ames-strain/.
- Lane, H.C. and Fauci, A.S. (2010). "Microbial Bioterrorism." In **Harrison's Infectious Diseases**, p. 66-80. Kasper, D.L. and Fauci, A.S. (eds.). Columbus: The McGraw-Hill Companies, Inc.,
- Schutzer, S.E., Budowle, B., and Keim, P.S. (2011). "Microbial Forensics: Educating the Workforce and the Community." In **Microbial Forensics**, p. 667-680. Budowle, B., Schutzer, S.E., Breeze, R.G., Keim, P.S., and Morse, S.A. (eds.). 2nd edition. London: Elsevier Academic Press.
- The United States Department of Justice. (2010). **Amerithrax Investigative Summary: Released Pursuant to the Freedom of Information Act**. Retrieved: April 3, 2012, From www.justice.gov/amerithrax/docs/amx-investigative-summary.pdf.
- U. S. Department of Justice, Federal Bureau of Investigation, Laboratory Division. **Handbook of Forensic Services (revised 2007)**. Retrieved: April 3, 2012, From <http://www.fbi.gov/about-us/lab/handbook-of-forensic-services-pdf/view>.