Research Article

การทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในสารละลายยาฉีดเซฟไตรอะโซน

วิมลรัตน์ เจนวิถีสุข[1], อภิญญา บุญเป็ง[2]*

[1] งานผลิตยา กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี

[2] สายวิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ สาขาวิชาบริบาลเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

*** ติดต่อผู้นิพนธ์:** อภิญญา บุญเป็ง สายวิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ สาขาวิชาบริบาลเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา
19 หมู่ 2 ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000 อีเมลล์: apinya.bo@up.ac.th

บทคัดย่อ

การทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในสารละลายยาฉีดเซฟไตรอะโซน

วิมลรัตน์ เจนวิถีสุข[1], อภิญญา บุญเป็ง[2]*

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2567; 20(3) : 58-66

รับบทความ: 6 พฤษภาคม 2565 **แก้ไขบทความ:** 22 มีนาคม 2567 **ตอบรับ:** 18 กันยายน 2567

เซฟไตรอะโซนเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 3 ที่นิยมสั่งจ่ายสำหรับรักษาโรคติดเชื้อหลายชนิดในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ถึงแม้ว่าสารละลายเซฟไตรอะโซนจะมีความคงสภาพทางเคมีนาน 2-10 วัน แต่วันหมดอายุของยาถูกจำกัดอยู่ที่ 24 ชม. เท่านั้น เนื่องจากไม่มีข้อมูลความคงสภาพทางจุลชีววิทยาหลังจากช่วงเวลานี้ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในสารละลายเซฟไตรอะโซนที่เก็บเป็นระยะเวลานานกว่า 24 ชม. เพื่อใช้ข้อมูลในการกำหนดวันหมดอายุของยาที่เหมาะสม **วิธีการดำเนินงานวิจัย:** ดำเนินการผสมยาเซฟไตรอะโซนภายใต้ระบบ laminar airflow จนได้ความเข้มข้น 10-20 mg/mL จากนั้นแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบไปด้วยสารละลายเซฟไตรอะโซน 10 mg/mL จำนวน 20 ตัวอย่าง เก็บที่อุณหภูมิห้อง (28–30 ºซ) กลุ่มที่ 2 และ 3 คือ สารละลาย 20 mg/mLกลุ่มละ 20 ตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิห้อง (28–30 ºซ) และในตู้เย็น (2–8 ºซ) และกลุ่มที่ 4 จำนวน 15 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นยาที่ได้รับคืนจากหอผู้ป่วย ซึ่งเก็บในตู้เย็น (2–8 ºซ) ไม่เกิน 48 ชม. หลังผสม สำหรับการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพ ทำโดยวิธี direct inoculation โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ fluid thioglycolate media บ่มที่อุณหภูมิ 30-35 ºซ สำหรับตรวจหาแบคทีเรียชนิดพึ่งอากาศและไม่พึงอากาศ และ soybean-casein digest บ่มที่อุณหภูมิ 20-25 ºซ สำหรับตรวจหาเชื้อรา จากนั้นติดตามการเจริญของเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน **ผลการวิจัย:** หลังจากผสมและเก็บรักษายาเป็นระยะเวลา 10 วัน ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพในสารละลายเซฟไตรอะโซน 10-20 mg/mL ในกลุ่มทดลองที่ 1, 2 และ 3 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างยาเหลือใช้ในกลุ่มที่ 4 **สรุปผลศึกษา:** สารละลายเซฟไตรอะโซน 10-20 mg/mL มีความคงตัวทางจุลชีววิทยาอย่างน้อย 10 วัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากข้อจำกัดด้านความคงตัวทางเคมี จึงแนะนำให้กำหนดวันสิ้นอายุของยาเป็น 30 ชม. เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 28-30 °ซ และ 48 ชม. เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 °ซ และยาอาจมีอายุถึง 10 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °ซ

คำสำคัญ: การปนเปื้อนของเชื้อ, ภาวะปราศจากเชื้อ, ความคงตัว, เซฟไตรอะโซน, ห้องผสมยาฉีด

Microbial Contamination Test of Ceftriaxone Infusion Solutions

Wimonrat Jenwitheesuk[1], Apinya Boonpeng[2]*

[1]Pharmaceutical Production Department, Banpong Hospital, Ratchaburi, Thailand

[2]Division of Pharmacy Practice, Department of Pharmaceutical Care, School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao, Thailand

***Corresponding author:** Apinya Boonpeng, Division of Pharmacy Practice, Department of Pharmaceutical Care, School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao, 19 Moo 2 Tambon Maeka Amphur Muang Phayao 56000 Thailand. Email: apinya.bo@up.ac.th

Abstract

Microbial Contamination Test of Ceftriaxone Infusion Solutions

Wimonrat Jenwitheesuk[1], Apinya Boonpeng[2]*

IJPS, 2024; 20(3) : 58-66

Received: 6 May 2022 **Revised:** 22 March 2024 **Accepted:** 18 September 2024

Ceftriaxone is an antibiotic belonging to the third generation of cephalosporins. It is commonly prescribed to treat various infectious diseases in hospitalized patients. While ceftriaxone infusion solution is chemically stable for 2–10 days, the expiration date is limited to approximately 24 hours due to a lack of data on microbiological stability beyond this period. Therefore, this study aimed to investigate the microbial contamination of ceftriaxone infusion solutions stored beyond 24 hours to establish an appropriate expiration date. **Methods:** Ceftriaxone infusion solution was prepared under a laminar airflow environment to achieve final concentrations of 10–20 mg/mL. There were four groups of ceftriaxone solutions. Group 1 comprised 20 samples of a 10 mg/mL ceftriaxone solution stored at room temperature (28–30 ºC). Groups 2 and 3 included 20 samples each of 20 mg/mL ceftriaxone stored at room temperature (28–30 ºC) and under refrigeration (2–8 °C), respectively. Group 4 consisted of 15 samples of 48-hour-old leftover ceftriaxone solutions stored in a refrigerator (2–8 ºC) at hospital wards. Microbial contamination was determined using the direct inoculation method; fluid thioglycolate media was incubated at 30–35 ºC for the detection of aerobic and anaerobic bacteria, while soybean-casein digest media was incubated at 20–25 ºC for the detection of fungi, and both were observed for a period of 14 days. **Results:** After a 10-day period of preparation and storage, all ceftriaxone test samples in groups 1, 2, and 3 were negative for microbial growth. Similarly, the leftover ceftriaxone solutions in Group 4 exhibited no bacterial contamination. **Conclusion:** Ceftriaxone infusion solutions 10–20 mg/mL demonstrated biological stability for at least ten days post-preparation. However, considering the limitations of chemical stability, the recommended expiration dates for ceftriaxone solutions are 30 hours when stored at 28-30 ºC, 48 hours when stored at 25 ºC, and up to 10 days when stored at 2-8 ºC.

Keywords: Microbial contamination, stability, sterility, ceftriaxone, intravenous admixture unit

บทนำ

หน่วยผสมยาฉีดที่ให้ทางหลอดเลือดดำ (intravenous admixture units) เป็นหน่วยงานย่อยในแผนกเภสัชกรรม ประจำโรงพยาบาล ซึ่งทำหน้าที่ในการจัดเตรียมและผสมยาฉีด (intravenous admixture) อาหารปราศจากเชื้อที่ให้ทางหลอดเลือดดำ (parenteral nutrition) รวมไปถึงยาปราศจากเชื้ออื่นๆ สำหรับผู้ป่วยเฉพาะราย จากการศึกษาอัตราการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในยาฉีดที่ผสมสารละลายสำหรับบริหารทางหลอดเลือดดำทั้งหมด 13 การศึกษา พบว่ายาและอาหารที่เตรียมโดยหน่วยผสมยาฉีดปราศจากเชื้อประจำโรงพยาบาล มีอัตราการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 0 – 0.66 ซึ่งน้อยกว่าการเตรียมยาฉีด ณ สถานที่อื่นๆในโรงพยาบาลซึ่งพบถึงร้อยละ 1.09 – 20.7 (Larmené-Beld *et al.*, 2019) นอกจากนี้ ระยะเวลาในการจัดเตรียมและค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นมีค่าน้อยกว่าการจัดเตรียมที่หอผู้ป่วยอีกด้วย (Plumridge *et al.*, 1993) ดังนั้น การผสมยาฉีดโดยหน่วยผสมยาฉีดปราศจากเชื้อ จึงนิยมจัดตั้งและดำเนินการอย่างแพร่หลายมากขึ้นในประเทศไทย สำหรับปริมาณการจัดเตรียมยาและอาหารปราศจากเชื้อในแต่ละครั้งของหน่วยผสมยาฉีด อาจแตกต่างกันในแต่ละโรงพยาบาลขึ้นกับปริมาณการสั่งใช้และอายุของยาแต่ละชนิด โดยทั่วไปยาปฏิชีวนะรูปแบบฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำเมื่อผสมสารละลายแล้วมักมีอายุและความคงตัวสั้น จึงนิยมจัดเตรียมวันละครั้งตามจำนวนคำสั่งใช้ยาในแต่ละวัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากสภาวะโรคของผู้ป่วยที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ส่งผลให้มีการปรับเปลี่ยนแผนการใช้ยาปฏิชีวนะระหว่างวัน ดังนั้น ยาปฏิชีวนะเดิมที่ผสมและจัดเตรียมไว้แล้ว จึงไม่ได้นำไปบริหารให้กับผู้ป่วย และถูกส่งคืนให้กับหน่วยผสมยาฉีดจำนวนมาก โดยยาปฏิชีวนะที่ผสมพร้อมใช้แต่ถูกส่งคืนเป็นลำดับต้นๆของโรงพยาบาลบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี ประจำปีงบประมาณ 2564 คือสารละลายเซฟไตรอะโซน

เซฟไตรอะโซนเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 3 มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้กว้างและเป็นยาที่มีความปลอดภัยสูง จึงนิยมใช้เป็นยาลำดับแรกในการรักษาโรคติดเชื้อหลายชนิด โดยขนาดยาทั่วไปสำหรับผู้ใหญ่แนะนำให้ใช้ 1-2 กรัม บริหารโดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำหรือทางกล้ามเนื้อวันละ 1-2 ครั้ง ซึ่งการบริหารทางหลอดเลือดดำต้องดำเนินการละลายและผสมผงยาในน้ำเกลือที่เข้ากันได้จนมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10-40 mg/mL จากนั้นนำไปบริหารโดยการหยดเข้าหลอดเลือดดำในเวลา 30-60 นาที โดยสารละลายเซฟไตรอะโซนที่ผสมแล้วมีความคงตัวทางเคมีและกายภาพนาน 2 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง และ 10 วันเมื่อเก็บรักษาในตู้เย็น (Ceftriaxone FDA label information, 2018) อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากวันหมดอายุที่ผู้ผลิตกำหนดไว้ในฉลาก ความคงสภาพทางเคมีและกายภาพแล้ว การกำหนดวันหมดอายุของยาฉีดปราศจากเชื้อที่ผสมกับสารละลายแล้วจะต้องพิจารณาถึงความคงสภาพของยาทางจุลชีววิทยาหลังผสมร่วมด้วย อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาถึงความคงตัวทางจุลชีววิทยาหรือการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสารละลายเซฟไตรอะโซนหลังผสม ส่งผลให้สารละลายเซฟไตรอะโซนที่ถูกส่งคืนมายังหน่วยผสมยาฉีด ไม่สามารถเก็บรักษาหรือนำไปใช้ต่อได้ และถูกทำลายทิ้งก่อนระยะเวลา 2 วัน จำนวนมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในสารละลายเซฟไตรอะโซนสำหรับฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ หลังผสมภายใต้ระบบ laminar airflow และเก็บเป็นระยะเวลานานกว่า 24 ชม. เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดวันสิ้นอายุของยาที่เหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มทดลองและสภาวะการเก็บรักษาสารละลายเซฟไตรอะโซน

หน่วยผสมยาฉีดทำการเตรียมยาในตู้ปลอดเชื้อ (biological safety cabinet class II) โดยการละลายผงยา Ceftriaxone sodium powder for injection (NPCP Hebei Huamin Pharmaceutical Co., Ltd. Lot number: D06501001) ใน 0.9% NaCl ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาเท่ากับ 10 และ 20 mg/mL โดยจำนวนตัวอย่างของสารละลายเซฟไตรอะโซนที่ดำเนินการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในการศึกษานี้แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามสภาวะการเก็บรักษา ดังนี้

กลุ่มที่ 1 สารละลายเซฟไตรอะโซน 10 mg/mL จำนวน 20 ตัวอย่าง เก็บที่อุณหภูมิห้อง 28-30 ºซ ดำเนินการเก็บตัวอย่างไปเพาะเชื้อที่เวลา 24 และ 48 ชม. หลังผสม

กลุ่มที่ 2 สารละลายเซฟไตรอะโซน 20 mg/mL จำนวน 20 ตัวอย่าง เก็บที่อุณหภูมิห้อง 28-30 ºซ ดำเนินการเก็บตัวอย่างไปเพาะเชื้อที่เวลา 0 – 10 วัน หลังผสม

กลุ่มที่ 3 สารละลายเซฟไตรอะโซน 20 mg/mL จำนวน 20 ตัวอย่าง เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 ºซ และดำเนินการเก็บตัวอย่างไปเพาะเชื้อที่เวลา 0 – 10 วัน หลังผสม

กลุ่มที่ 4 สารละลายเซฟไตรอะโซน 20 mg/mL จำนวน 15 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างยาเหลือใช้ที่ได้รับคืนมาจากหอผู้ป่วยศัลยกรรม หอผู้ป่วยอายุรกรรม และหออภิบาลผู้ป่วยหนัก อย่างละ 5 ตัวอย่าง ที่เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 ºซ ณ หอผู้ป่วย เป็นระยะเวลาไม่เกิน 48 ชม.หลังผสม

โดยผู้วิจัยจะดำเนินการควบคุมบันทึกอุณหภูมิการเก็บรักษายาทุกวันตลอดระยะเวลาดำเนินการวิจัย

2. การทดสอบความปราศจากเชื้อ

การทดสอบความปราศจากเชื้อของสารละลายเซฟไตรอะโซนที่เตรียมจากหน่วยผสมยาฉีด ทำโดยวิธี direct inoculation ตาม Thai pharmacopeia II, 2011 โดยมีรายละเอียด ดังนี้

2.1) สารละลายเซฟไตรอะโซนในกลุ่มที่ 1 ทำการทดสอบโดยนำตัวอย่าง 0.1 มล. เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ fluid thioglycolate media สำหรับตรวจหาเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดพึ่งอากาศ (aerobic bacteria) และไม่พึ่งอากาศ (anaerobic bacteria) ดำเนินการกำจัดฤทธิ์ของยาเซฟไตรอะโซนโดยวิธีการเพิ่มปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อให้มากขึ้นจนความเข้มข้นของเซฟไตรอะโซนในอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยกว่าค่า minimum inhibitory concentration (MIC) breakpoint ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium species* ซึ่งเท่ากับ 8 µg/mL และ 16 µg/mL ตามลำดับ (Clinical and laboratory standard institute (CLSI), 2010) จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 ºซ และติดตามการเจริญของเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน สำหรับการตรวจหาเชื้อราในตัวอย่างทำโดยการนำตัวอย่าง 1 มล. เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ soybean–casein digest บ่มที่อุณหภูมิ 20-25 ºซ และติดตามผลเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยในการทดสอบทั้งหมดจะดำเนินการทำ growth promotion test และ negative control ควบคู่ไปด้วยเพื่อเปรียบเทียบผลการศึกษา

2.2) สารละลายเซฟไตรอะโซนในกลุ่มที่ 2-4 ทำการทดสอบโดยนำตัวอย่าง 1 มล. เติมในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth หรือ soybean-casein digest broth สำเร็จรูปปริมาณ 30 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 35 ºซ จากนั้นทำการติดตามการเจริญของเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อนี้มีสาร resin สำหรับดูดซับยา เพื่อช่วยสะเทินฤทธิ์ (neutralize) ของยาปฏิชีวนะ และได้ผ่านการทดสอบ growth promotion test เพื่อยืนยันคุณภาพของอาหารแล้วว่าเหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 66032, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Neisseria meningitidis* ATCC13090, *Haemophilus influenzae* ATCC 19418, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 19615, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Alcaligenes faecalis* ATCC 8750, *Candida glabrata* ATCC 66032

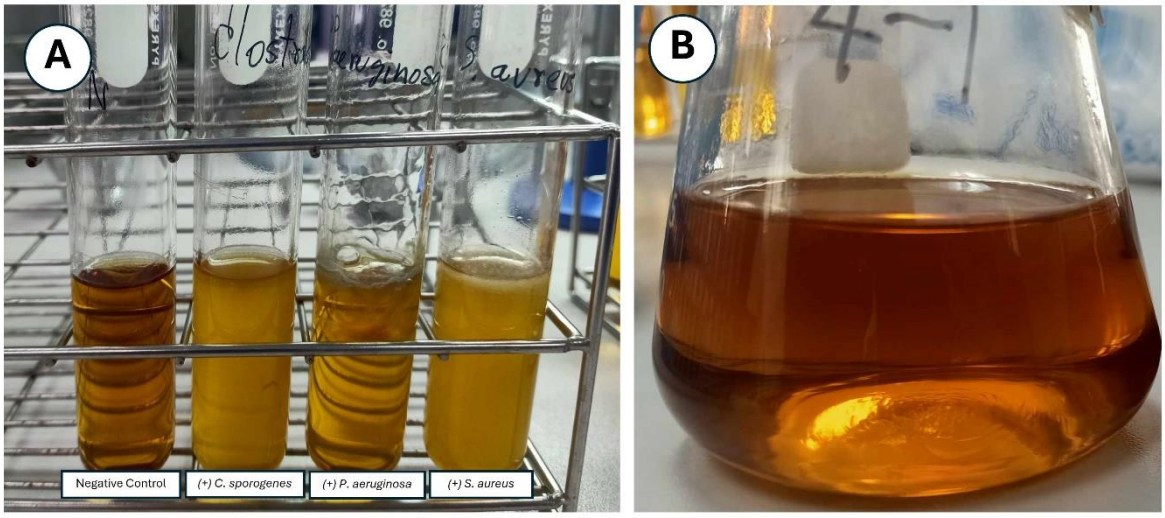
2.3) Growth promotion test ดำเนินการทดสอบโดยการเติมเชื้อ *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* และ *Clostridium sporogenes* จำนวน 100 cfu ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ fluid thioglycolate media บ่มที่อุณหภูมิ 30-35 ºซ และดำเนินการเติมเชื้อ *Candida albicans* จำนวน 100 cfu ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด soybean–casein digest บ่มที่อุณหภูมิ 20-25 ºซ จากนั้นทำการติดตามการเจริญของเชื้อเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยทำควบคู่ไปกับตัวอย่างที่จะทดสอบ

2.4) Negative control ดำเนินการทดสอบโดยเติม 0.9%NaCl แทนสารละลายเซฟไตรอะโซนในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นติดตามการเจริญเติบโตของเชื้อ

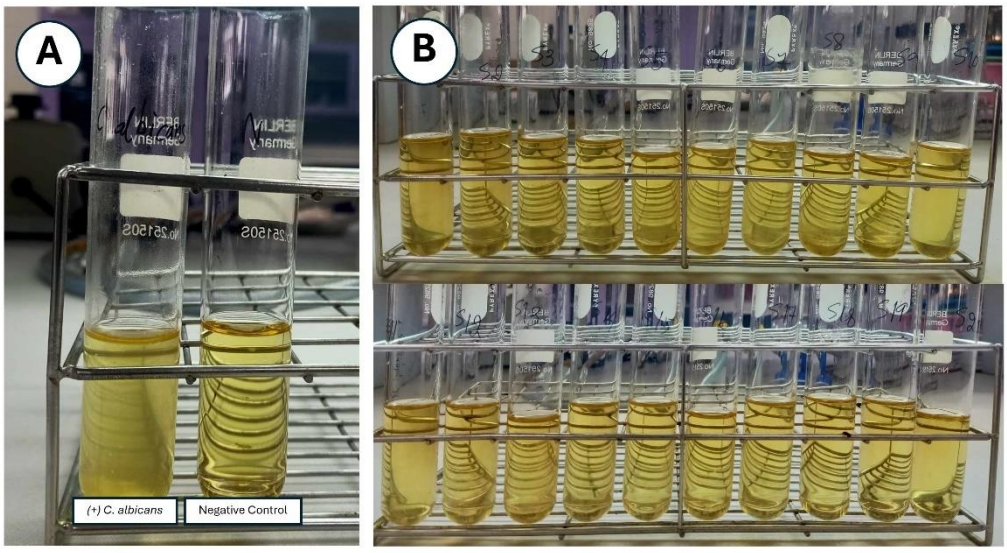
ผลการวิจัย

ผลการทดสอบความปราศจากเชื้อของสารละลายเซฟไตรอะโซนในกลุ่มทดลองที่ 1 ซึ่งเก็บเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชม. พบว่า ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดพึ่งอากาศ ไม่พึ่งอากาศ และเชื้อรา ในกลุ่มตัวอย่างหลังติดตามเป็นระยะเวลา 14 วัน และเมื่อตรวจสอบความถูกต้องโดยเทียบผลกับชุดควบคุมไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อใน negative control และพบว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Clostridium sporogenes* และ *Candida albicans* ในชุด growth promotion test แสดงว่าอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่ใช้มีความเหมาะสมสามารถสนับสนุนการเจริญของเชื้อจุลชีพได้ ดังแสดงในรูปที่ 1-2 และตารางที่ 1

สำหรับผลการทดสอบความปราศจากเชื้อของสารละลายเซฟไตรอะโซนในกลุ่มทดลองที่ 2-4 พบว่า ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดพึ่งอากาศจากทั้ง 4 กลุ่มทดลอง เมื่อติดตามเป็นระยะเวลา 14 วัน ดังแสดงในตารางที่ 1-2



รูปที่ 1 ผลการทดสอบความปราศจากเชื้อของสารละลายเซฟไตรอะโซนความเข้มข้น 10 mg/mL เก็บที่อุณหภูมิห้อง 28-30 ºซ เป็นระยะเวลา 48 ชม. ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด fluid thioglycolate media บ่มที่อุณหภูมิ 30-35 ºซ โดยภาพ A คือ ชุดควบคุม ประกอบไปด้วย negative control และ growth promotion test ของเชื้อ *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* และ *Clostridium sporogenes* ภาพ B คือ ตัวอย่างผลการติดตามการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เวลา 14 วัน



รูปที่ 2 ผลการทดสอบความปราศจากเชื้อของสารละลายเซฟไตรอะโซนความเข้มข้น 10 mg/mL เก็บที่อุณหภูมิห้อง 28-30 ºซ เป็นระยะเวลา 48 ชม. ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด soybean–casein digest บ่มที่อุณหภูมิ 20-25 ºซ โดยภาพ A คือ ชุดควบคุม ประกอบไปด้วย negative control และ growth promotion test ของเชื้อ *Candida albicans* ภาพ B คือ ผลการติดตามการเจริญของเชื้อราที่เวลา 14 วัน

ตารางที่ 1 ผลการติดตามการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารละลายเซฟไตรอะโซน 10-20 mg/mL หลังผสมยาโดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง 28-30 ºซ และในตู้เย็น 2-8 ºซ เป็นระยะเวลา 10 วัน

ระยะเวลาหลังผสม	Ceftriaxone 10 mg/mL เก็บที่ 28-30 ºซ (n=20)		Ceftriaxone 20 mg/mL เก็บที่ 28-30 ºซ (n=20)	Ceftriaxone 20 mg/mL เก็บที่ 2-8 ºซ (n=20)
	Fluid thioglycolate บ่มที่ 30-35 °ซ	Soybean-casein digest บ่มที่ 20-25 °ซ	Tryptic soy broth บ่มที่ 35 °ซ	Tryptic soy broth บ่มที่ 35 °ซ
วันที่ 1	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 2	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 3	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 4	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 5	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 6	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 7	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 8	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 9	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ
วันที่ 10	-	-	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ

ตารางที่ 2 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารละลายเซฟไตรอะโซนความเข้มข้น 20 mg/mL เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 ºซ ที่รับคืนจากหอผู้ป่วย ในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth บ่มที่ 35 ºซ

ระยะเวลาหลังผสม	หอผู้ป่วยอายุรกรรม (n=5)		หอผู้ป่วยศัลยกรรม (n=5)		หอผู้ป่วยวิกฤต (n=5)	
	Negative control	Ceftriaxone solution	Negative control	Ceftriaxone solution	Negative control	Ceftriaxone solution
ภายใน 48 ชม	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ	ไม่พบเชื้อ

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ทำการทดสอบความปราศจากเชื้อของสารละลายเซฟไตรอะโซนหลังผสมภายใต้ laminar air flow โดยหน่วยผสมยาฉีดประจำโรงพยาบาล พบว่าตลอดระยะเวลาที่ทำการติดตาม ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในทุกตัวอย่างที่ทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอัตราการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในประเทศเอธิโอเปีย ซึ่งดำเนินการสุ่มตรวจการปนเปื้อนในยาฉีดแบบ single และ multiple-dose injection vials พบว่าในยาฉีดเซฟไตรอะโซนจำนวน 107 ขวด ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียหลังเปิดใช้ (Tabor *et al.,* 2023)

โดยทั่วไปอัตราการปนเปื้อนของยาเตรียมสำหรับฉีดนั้นพบได้ประมาณร้อยละ 0 – 20 ขึ้นอยู่กับชนิดของยา วิธีการเตรียมยา และสถานที่จัดเตรียมยา (Larmené-Beld *et al.,* 2019, Austin *et al.,* 2015) จากศึกษาวิเคราะห์อภิมานซึ่งรวบรวมผลลัพธ์จาก 13 การศึกษา พบว่าการเตรียมสารละลายสำหรับฉีด ณ ห้องผสมยาฉีด พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพเพียงร้อยละ 0.08 เปรียบเทียบกับร้อยละ 7.85 เมื่อเตรียม ณ จุดให้บริการทางคลินิก (clinical environment) เช่น หอผู้ป่วย ห้องฉุกเฉิน เป็นต้น (Larmené-Beld *et al.*, 2019) นอกจากนี้ การเตรียมยาที่มีการเพิ่มตัวยาสำคัญหรือส่วนประกอบอื่นมากกว่า 1 ชนิด เช่น parenteral nutrition หรือการใช้ยาที่เป็น multiple-

dose vials เช่น insulin มีความเสี่ยงในการเกิดการปนเปื้อนเพิ่มขึ้น 2 เท่า (Austin *et al.,* 2015) ซึ่งสารละลายเซฟไตรอะโซนที่ใช้ในการศึกษานี้ ดำเนินการผสมตามหลักการปราศจากเชื้อ (sterile technique) ภายใต้ laminar airflow work station ซึ่งจัดเป็นการเตรียมยาภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพที่ต่ำ และกระบวนการเตรียมยายังจัดเป็นการเตรียมยาประเภทความเสี่ยงต่ำต่อการปนเปื้อน เนื่องจากเป็นสารละลายที่มีตัวยาสำคัญเพียงชนิดเดียว ที่เตรียมจากบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ครั้งเดียว (single-dose vial) ใช้อุปกรณ์เพียงแค่เข็มและกระบอกฉีดยาที่ปราศจากเชื้อในการถ่ายปริมาณสารในระบบปิด (ASHP, 2014) จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น น่าจะเป็นปัจจัยสนับสนุนให้สารละลายเซฟไตรอะโซนที่ทดสอบในการศึกษานี้ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียยาวนานเป็นระยะเวลาถึง 10 วัน หลังผสม

ถึงแม้ว่ายาต้านจุลชีพมีโอกาสในการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพน้อยกว่าผลิตภัณฑ์อื่นๆ (Larmené-Beld *et al.,* 2019, Austin *et al.,* 2015, Tabor *et al.,* 2023) แต่สารละลายสำหรับฉีดที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพอาจไม่ได้มีความปราศจากเชื้อเสมอไป เนื่องจากยาอาจยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพในหลอดทดลอง แต่เชื้อที่อยู่รอดอาจจะสามารถกลับมาเจริญเติบโตและก่อให้เกิดโรคได้เมื่อถูกฉีดเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้น ในการทดสอบความปราศจากเชื้อจึงต้องทำการกำจัดฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพก่อน โดยตามเกณฑ์ของ Thai Pharmacopeia II แนะนำวิธีการกำจัดฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพไว้หลายวิธี ได้แก่ การเติมสาร neutralizing agents เช่น β-lactamase การเพิ่มปริมาตรสารเจือจางหรือปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อจนกว่าฤทธิ์ของยาจะหมดไป การใช้วิธี membrane filtration หรือใช้หลายวิธีร่วมกัน โดยหากทดสอบแล้วไม่มีวิธีใดที่สามารถกำจัดฤทธิ์ของยาได้เลย แสดงว่าตัวอย่างหรือยานั้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบบ microbicidal activity ซึ่งบ่งชี้ว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีโอกาสน้อยมากที่จะถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อที่จะทดสอบ (Thai pharmacopeia II, 2011) ในการศึกษานี้ได้ดำเนินการกำจัดฤทธิ์ของยาเซฟไตรอะโซนโดยวิธีการเพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อจนมีความเข้มข้นของเซฟไตรอะโซนในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 0.002 mg/mL หรือ 2 µg/mL ซึ่งเป็นค่าที่น้อยกว่า MIC breakpoint ของเชื้อเป้าหมายของการทดสอบความปราศจากเชื้อ ดังนั้น สภาวะดังกล่าวจึงสามารถใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในสารละลายเซฟไตรอะโซนได้ อย่างไรก็ตาม สารละลายเซฟไตรอะโซนที่เตรียมได้ มีโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียต่ำโดยพื้นฐาน เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในทางเวชปฏิบัติมีค่าอยู่ในช่วง 10 – 40 mg/mL หรือ 10,000 – 40,000 µg/mL ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่า minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal bactericidal concentrations (MBC) ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ รวมไปถึงแบคทีเรียที่ไม่พึ่งอากาศที่มีรายงานการปนเปื้อนในยาได้บ่อย เช่น *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Serratia marcescens, Klebsiella* spp., *Escherichia coli, Enterobacter* spp. (Austin *et al.,* 2015) โดยเชื้อข้างต้นมีค่า MIC และ MBC ในช่วง 0.25 - 256 µg/mL (EUCAST, 2024; Shin *et al.,* 2021) จากสภาวะข้างต้นส่งผลให้แบคทีเรียหลายชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตและถูกทำลายในสารละลายเซฟไตรอะโซนความเข้มข้นสูง

ผลการศึกษานี้พบว่าสารละลายเซฟไตรอะโซน มีความปราศจากเชื้อหรือความคงสภาพทางจุลชีววิทยายาวนานถึง 10 วันหลังผสม แต่การกำหนดวันหมดอายุของยาจะต้องพิจารณาถึงความคงสภาพของยา ทั้งความคงสภาพทางเคมีและทางกายภาพร่วมด้วย โดยข้อมูลจากเอกสารกำกับยาพบว่าสารละลายเซฟไตรอะโซนความเข้มข้น 10-40 mg/mL มีความคงตัวทางเคมีและกายภาพเป็นระยะเวลา 2 วัน และ 10 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 ºซ และ 2-8 ºซ ตามลำดับ (Ceftriaxone FDA label information, 2018) อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิห้องเฉลี่ยในประเทศไทยมักสูงกว่า 25 ºซ จึงอาจส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายทางเคมีของยามากขึ้น โดยจากการศึกษาความคงตัวของสารละลายเซฟไตรอะโซน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่า 25 ºซ พบว่ายามีความคงตัวทางเคมีเพียง 30 ชม. ที่อุณหภูมิ 30 ºซ และ 11-27 ชม. ที่อุณหภูมิ 37 ºซ เท่านั้น (Esteban *et al.* 1990, Herrera-Hidalgo *et al.,* 2020) ดังนั้น ถึงแม้ว่าสารละลายเซฟไตรอะโซนจะมีความปราศจากเชื้อเป็นระยะเวลา 10 วันหลังผสม แต่เนื่องจากข้อจำกัดด้านความคงตัวทางเคมี ยาจึงมีอายุการเก็บรักษาหลังผสมเพียง 30 ชม. เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 28-30 ºซ และ 48 ชม. เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ºซ และอาจมีอายุถึง 10 วันหลังผสม เมื่อเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 ºซ

การศึกษานี้ให้ข้อมูลสนับสนุนการเก็บรักษาสารละลายเซฟไตรอะโซนซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์ในการนำไปกำหนดแนวทางการเก็บรักษายาได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษามีข้อจำกัดหลายประการ คือ 1. การปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในการศึกษานี้คลอบคลุมเฉพาะเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเท่านั้น ไม่ได้ทดสอบการปนเปื้อนของ endotoxin หรือ pyrogen จึงควรมีการศึกษา

เพิ่มเติม 2. ถึงแม้ว่าตามรายงานการศึกษาก่อนหน้าสารละลายเซฟไตรอะโซน 10-40 mg/mL จะมีความคงตัวทางเคมียาวนานถึง 10 วัน เมื่อเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 ºซ แต่เนื่องจากในขั้นตอนของการเตรียมยาและจัดส่งยาไปยังหอผู้ป่วยในเวชปฏิบัติจริง ดำเนินการภายใต้อุณหภูมิ 28-30 ºซ ซึ่งอาจจะส่งผลให้มีการเสื่อมสลายของยาบางส่วนก่อนเก็บรักษาในตู้เย็น และอาจทำให้ยามีความคงตัวน้อยกว่า 10 วัน ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาความคงสภาพทางเคมีและกายภาพของสารละลายเซฟไตรอะโซนในสภาวะดังกล่าวเพิ่มเติม เพื่อยืนยันผลลัพธ์การศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

References

American Society of Health-System Pharmacists. ASHP guidelines on compounding sterile preparations. *Am J Health Syst Pharm.* 2014;71(2):145-66.

Austin PD, Hand KS, Elia M. Systematic review and meta-analysis of the risk of microbial contamination of parenteral doses prepared under aseptic techniques in clinical and pharmaceutical environments: an update. *J Hosp Infect.* 2015;91(4):306-18.

Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Microbiological tests: Sterility test. 2011. In: Thai Pharmacopeia II [Internet]. [Cited 2024 March 22]. Available from: https://www.bdn.go.th/tp/ebook/qQqcA3t0pR9gC3q0GT5gMJq0qT5co3uw.

Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Microbiological tests: Microbial limit tests. 2011. In: Thai Pharmacopeia II [Internet]. [Cited 2024 March 22]. Available from: https://www.bdn.go.th/tp/ebook/qQMcA3t0pR9gC3q0GT5gMJq0qT5co3uw.

Ceftriaxone for injection [package insert]. U.S. Food and Drug Administration. Revised July 2018 [Cited Feb 2024]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&ApplNo=050585.

Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standard for antimicrobial susceptibility testing. 34th ed. Wayne, PA: Clinical and laboratory standard institute; 2024.

Esteban MJ, Cantón E, Rius F. Influence of temperature on degradation kinetics of ceftriaxone in diluted and undiluted human serum. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34(6):1268-70.

European Committee on Antimicrobial Susceptiblity Testing (EUCAST). MIC and zone diameter distributions and ECOFFs [Internet]. 2024 [Cited 18 March 2024]. Available from: https://mic.eucast.org/.

Herrera-Hidalgo L, López-Cortes LE, Luque-Márquez R, Gálvez-Acebal J, de Alarcón A, López-Cortes LF, et al. Ampicillin and ceftriaxone solution stability at different temperatures in outpatient parenteral antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(7):e00309-20.

Larmené-Beld KHM, Frijlink HW, Taxis K. A systematic review and meta-analysis of microbial contamination of parenteral medication prepared in a clinical versus pharmacy environment. *Eur J Clin Pharmacol.* 2019;75(5):609-17.

Larmené-Beld KHM, Frijlink HW, Taxis K. A systematic review and meta-analysis of microbial contamination of parenteral medication prepared in a clinical versus pharmacy environment. *Eur J Clin Pharmacol.* 2019;75(5):609-17.

Plumridge RJ, Maher M. Justification of a pharmacy intravenous admixture service in an Australian hospital. *Am J Hosp Pharm.* 1993;50(3):463-6.

Shin H-J, Yang S, Lim Y. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* with different degrees of biofilm formation. *J Anal Sci Technol.* 2021;12(1):41.

Tabor A, Shalemariam Z, Alemu Y, Gorems K. Bacterial contamination of single and multiple-dose parenteral injection vials after opening and antibiotic susceptibility of isolates at Jimma Medical Center, Jimma, Southwest Ethiopia. *Infect Prev Pract.* 2023;5(3):100290.