

บทความทั่วไป

การผลิตวัคซีนและตรวจสอบคุณภาพ Vaccine Production and Quality Approval

นงลักษณ์ สีหาปัญญา*

การผลิตวัคซีนในปัจจุบันมีการพัฒนาเพื่อให้เกิดความปลอดภัย มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้ดียิ่งขึ้น ดังจะเห็นได้จากการนำเทคโนโลยีใหม่ๆ เช่น recombinant DNA technology เข้ามาใช้ในการผลิตวัคซีน พัฒนาการของการใช้วัคซีนในคนตั้งแต่ ศตวรรษที่ 18 จนถึงปัจจุบันได้มีผู้สรุปไว้ดังตารางที่ 1

วัคซีนที่ทำให้เกิดภูมิคุ้มกันมี 2 แบบ คือ 1) แบบ active จะกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสร้างแอนติบอดี และ/หรือ ภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ที่จำเพาะต่อเชื้อ (Cellular immune response) และ 2) แบบ passive เป็นแอนติบอดีที่สามารถจับเชื้อก่อโรคได้ทันทีเมื่อเข้าไปในร่างกาย การผลิตวัคซีนจะมีวัตถุประสงค์ในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันแบบ active มากกว่า แบบ passive

คุณสมบัติสำคัญของวัคซีนคือต้องไม่ก่อโรค จากตัวของวัคซีนเองและสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สร้างแอนติบอดี และ/หรือภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ที่จำเพาะต่อเชื้อ ก่อโรคได้ในปริมาณสูง และมีอายุอยู่ในร่างกายได้นาน

ชนิดและหลักการในการผลิตวัคซีน

วัคซีนที่ใช้อยู่ในปัจจุบันแบ่งเป็น 4 ชนิด คือ

1) Killed หรือ inactivated vaccine เป็นวัคซีนที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียหรือไวรัสตายก่อนนำมาเตรียมเป็นวัคซีน ตัวอย่างเช่น Typhoid vaccine, Pertussis vaccine และ Cholera vaccine ข้อดีของการผลิตวัคซีนชนิดนี้คือ มีความจำเพาะในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อที่ต้องการป้องกัน, สามารถสร้างวัคซีนต่อเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว, มีราคาถูก และ ผลิตง่าย ข้อเสียของวัคซีนชนิดนี้คือ ต้องใช้วัคซีนปริมาณมากในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อโรค และภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้น มีระดับต่ำและอายุสั้น

2) Attenuated live vaccine เป็นวัคซีนที่เชื้อจุลินทรีย์มีชีวิตอยู่แต่ทำให้อ่อนฤทธิ์ลงโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือ เซลล์หลายๆ ครั้ง จนทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์ไม่ก่อโรคแต่มีแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ บางครั้งสามารถใช้เชื้อสายพันธุ์ใกล้เคียงมาเตรียมวัคซีนนี้ได้ เช่น *Mycobacterium bovis* ใช้เตรียม

* ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตารางที่ 1 พัฒนาการของการใช้วัคซีนในคน¹

Live Attenuated	Killed Whole Organism	Purified Protein or Polysaccharide	Genetically Engineered
Eighteenth Century			
Smallpox, 1798			
Nineteenth Century			
Rabies, 1885	Typhoid, 1896		
	Cholera, 1896		
	Plague, 1897		
Early Twentieth Century			
Bacille Calmette-Guerin (tuberculosis), 1927	Pertussis, 1926	Diphtheria, 1923	
Yellow fever, 1935	Influenza, 1936	Tetanus, 1927	
	Rickettsia, 1938		
After World War II			
Polio (oral)	Polio (injected)	Pneumococcus	Hepatitis B recombinant
Measles	Rabies (new)	Meningococcus	(Yeast - or mammalian
Mumps	Japanese encephalitis	<i>Haemophilus influenzae</i> PRP	cell - derived)
Rubella	Hepatitis A	Hepatitis B (plasma derived)	
Adenovirus		Tick-Borne encephalitis	
Typhoid (<i>Salmonella</i> Ty21a)		<i>H. influenzae</i> PRP-protein	
Varicella		(conjugate)	
		Typhoid-Vi	
		Acellular pertussis	

PRP, phosphorylribitol phosphate

วัคซีนป้องกันวัณโรค (BCG) ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *M. tuberculosis* เป็นต้น ตัวอย่างของวัคซีนประเภทนี้ได้แก่ Oral polio vaccine, Measles vaccine, Mumps vaccine เป็นต้น ข้อดีของวัคซีนชนิดนี้คือ กระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันในระดับสูง มีอายุอยู่ในร่างกายได้นาน และการรับวัคซีนบางชนิดทำได้ง่ายโดยการรับประทาน แต่ข้อเสียคือ วิธีการเตรียมอาจทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์จนไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อเชื้อที่ต้องการป้องกันได้

3) Toxoids เป็นวัคซีนที่ทำการการสกัดเอาโปรตีนที่เป็นพิษชนิด exotoxin ของแบคทีเรียมาทำปฏิกิริยากับ formaldehyde แล้ว toxin protein จะมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ทำให้ไม่เป็นพิษ แต่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะได้ เรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า toxoids ข้อดีคือ toxin ที่แยกสกัดออกมาได้มีความบริสุทธิ์สูง, มีผลข้างเคียงต่ำ และกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะสูง ข้อเสียคือ โมเลกุลของ toxoids มีขนาดเล็กทำให้ต้องเติมสารช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (adjuvant)

เช่น aluminum hydroxide ตัวอย่างวัคซีนชนิดนี้ได้แก่ Tetanus vaccine, Diphtheria vaccine

4) Subunit vaccine เป็นวัคซีนที่เตรียมจากโมเลกุลที่มีความสำคัญในการก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรียหรือไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนในการกระตุ้นการสร้าง แอนติบอดีและ/หรือการสร้างภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ที่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรคนั้น วัคซีนชนิดนี้มีผลข้างเคียงจากการให้วัคซีนต่ำกว่าวัคซีนชนิดอื่น ๆ มีวิธีการเตรียมได้ 3 วิธี คือ

4.1 DNA recombinant technique โดยการนำยีนที่ควบคุมการสร้างแอนติเจนที่สำคัญในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันสอดแทรกเข้าไปใน expression vector แล้วนำ vector ใส่เข้าไปในเซลล์ที่เหมาะสม เช่น *E. coli*, ยีสต์, bucculo virus และ เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพื่อให้เซลล์เหล่านั้นผลิตโปรตีนที่เป็นแอนติเจนที่ต้องการออกมาในปริมาณสูง หลังจากนั้นนำแอนติเจนที่ได้ไปผ่านกระบวนการผลิตวัคซีน ตัวอย่างของวัคซีน ได้แก่ *M. tuberculosis* vaccine, Herpes simplex vaccine และ Hepatitis vaccine เป็นต้น

4.2 Extraction technique เป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อแล้วสกัดแยกเอาส่วนที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนจากเชื้อออกมาเพื่อนำมาเตรียมเป็นวัคซีน ตัวอย่างเช่น *Haemophilus influenzae* b vaccine, Vi - capsular polysaccharide, acellular pertussis vaccine

4.3 Synthetic peptide technique เป็นการสังเคราะห์เปปไทด์เฉพาะส่วนที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนของเชื้อที่ก่อโรคนั้นมาในหลอดทดลองแล้วนำมาใช้เตรียมวัคซีน ตัวอย่างเช่น Malaria vaccine, HIV vaccine และ Breast

cancer vaccine เป็นต้น วัคซีนชนิดนี้เป็นวัคซีนที่ให้เพียงครั้งเดียว แต่สามารถป้องกันเชื้อได้หลายสายพันธุ์ โดยการสร้าง epitope หลายชนิดแล้วนำไปใส่ใน polymer backbone เพื่อเตรียมเป็นวัคซีนต้านทานต่อหลาย epitope นั้น

ข้อดีของวัคซีนชนิด Subunit vaccine คือ มีความบริสุทธิ์สูง, มีผลข้างเคียงจากการให้วัคซีนต่ำ, มีการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะสูง, และมีความปลอดภัยเนื่องจากการมีการนำ genetic engineering techniques มาใช้ในการผลิตวัคซีน ข้อเสียคือ ในกระบวนการเตรียมวัคซีนต้องการสารที่เป็นตัวช่วยในการสร้างภูมิคุ้มกัน เช่น การเติมสาร adjuvant หรือ ทำ conjugation กับ Phospholipid membrane fragments

วิธีการอื่นที่มีการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการผลิตวัคซีน

ในปัจจุบันได้มีการนำวิทยาการสมัยใหม่เข้าใช้ในการผลิตวัคซีนเพื่อให้ได้วัคซีนที่มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูง การพัฒนาวัคซีนโดยใช้วิทยาการสมัยใหม่ได้แก่

1) Nucleic acid vaccines เป็นวัคซีนที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการให้ Naked DNA เข้าไปในร่างกายโดยตรง โดยการสอดแทรกยีนที่สร้างแอนติเจนของเชื้อที่ต้องการเข้าไปใน plasmid vector ที่มี Strong promoters แล้วนำมาเตรียมเป็นวัคซีน หลังจากนั้นฉีดวัคซีนเข้าทางกล้ามเนื้อ plasmid DNA จะถูกจับกินโดย antigen presenting cells (APC) เมื่อมีการสร้างแอนติเจนขึ้นมาในเซลล์ ส่วนแอนติเจน จะถูกนำออกมาแสดงที่ผิวเซลล์ โดย MHC class I หรือ MHC class II กระตุ้นให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันทั้งทางด้าน HMI และ CMI โดยเฉพาะกระตุ้นให้เกิดการสร้าง cytotoxic T lymphocyte (CTL) ตัวอย่างวัคซีนที่กำลังมีการพัฒนา ได้แก่ Influenza vaccine,

Malaria vaccine, HBV vaccine และ Human papilloma vaccine เป็นต้น

2) Mutagenesis เป็นการทำให้จุลชีพเกิดการกลายพันธุ์โดยใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรมตัดยีนในตำแหน่งที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคออกหรือทำการแทรกยีนบางชนิดเข้าไป เพื่อให้เชื้อไม่ก่อโรค

แต่ยังคงกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เนื่องจากยีนที่สร้างแอนติเจนยังคงอยู่ ตัวอย่างเชื้อที่นำไปทำการผลิตเป็นวัคซีนด้วยวิธีนี้ ได้แก่ Salmonella และ Cholera ตำแหน่งยีนที่ตัดออกและส่วนของเชื้อที่มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไปแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตำแหน่ง nucleic acid base sequences ของเชื้อ Salmonella และ *V. cholerae* ที่ถูกตัดออกไป และผลที่ทำให้เชื้อไม่ก่อโรค³

Agent	Deletion or designation	Properties of modified agent
Salmonella	Δ aro A	Requires <i>p</i> - aminobenzoic acid
	Δ aro A, C, D	Effective as single-dose immuno-gens
	Δ cya Δ crp	Genes for adenylate cyclase and cAMP receptor protein
	Δ phoP	Genes that regulate genes necessary for intracellular survival
	Δ cdt	Genes which control ability to colonize deep tissues
Cholera	CVD103HGR (inabastrain)	Produces B toxin subunit, is mercury resistant
	Peru 14 (El Tor strain)	Deletion that encodes virulence factors, RSI*; inclusion of B subunit of toxin
	Bengal-15 (0139 strain)	Deletion of multiple copies of toxin DNA; inclusion of DNA for B subunit of toxin

*RSI is the target site for the insertion of other genetic elements.

3) Reassortant การทำให้ไวรัสต่าง subtype สองชนิดเข้าติดเชื้อในโฮสต์ชนิดเดียวกัน เกิดการแลกเปลี่ยนยีน (genetic reassortment)

โดย เชื้อชนิดแรกเป็นสาเหตุให้เกิดโรคในปัจจุบัน ส่วนอีกชนิดเป็นเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรค การแลกเปลี่ยนยีนกันของเชื้อสอง subtype ทำให้เกิดการ

เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเชื้อที่ก่อโรคไป ทำให้ไม่มีการเพิ่มจำนวนในโฮสต์อีกต่อไป² แต่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้ เช่น Influenza vaccine

4) Live viral vectors เป็นการผลิตวัคซีนโดยใช้ไวรัสที่สร้างขึ้น โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรมมาใช้เป็น expression vector เพื่อนำยีนที่ต้องการให้สร้างโปรตีนเข้าไปในเซลล์ที่จำเพาะของโฮสต์ แล้วโปรตีนที่สร้างขึ้นมีคุณสมบัติที่จำเพาะในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรค โดย viral vector ที่สร้างขึ้นต้องมีคุณสมบัติคือ 1) สามารถเข้าติดเชื้อในเซลล์ที่จำเพาะและกระตุ้นการสร้างโปรตีนของยีนที่สอดแทรกเข้าไปใน vector ได้ 2) Vector ไม่มีการเพิ่มจำนวน หรือสร้างโปรตีนที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคแก่โฮสต์ และ 3) ยีนขนาดใหญ่สามารถสอดแทรกเข้าไปใน vector ได้

ตัวอย่างของเชื้อที่ผลิตโดยวิธีนี้ ได้แก่ HIV vaccine โดยมี Vaccinia virus หรือ Bacille Calmette – Guein (BCG) เป็น vector, HBV และ Measles vaccine มี recombinant adenoviruses เป็น vector เป็นต้น

ข้อดีของวิธีนี้คือ ใช้ปริมาณ viral vector น้อย แต่สามารถสร้างโปรตีนออกมาเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อเชื้อได้ปริมาณสูง และสามารถสอดแทรกยีนที่จำเพาะต่อเชื้อเข้าไปใน vector ได้หลายชนิด ข้อเสียคือในกระบวนการสอดแทรกยีนเข้าไปใน vector ทำได้ยาก

กระบวนการผลิตวัคซีน

การผลิตวัคซีนโดยทั่วไปมีกระบวนการในการผลิต 4 ขั้นตอน คือ

1) การเลือกวัตถุดิบและวิธีการเพื่อใช้ในการผลิตวัคซีน ได้แก่

1.1 การเลือก vaccine strains คือ

การเลือกสายพันธุ์ของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคที่ต้องการผลิตวัคซีน

1.2 การเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อหรือโฮสต์ที่เหมาะสมเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียหรือไวรัส โฮสต์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสเพื่อการผลิตวัคซีนแสดงในตารางที่ 3

1.3 การเลือกสัตว์ทดลองเพื่อนำมาใช้ในการทดสอบวัคซีนในขั้น Preclinical ก่อนนำวัคซีนไปทดสอบขั้น Clinical Trial ในคน

1.4 การเลือกวิธีการที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการผลิตวัคซีนให้ได้ประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูงสุด

2) การทำวัคซีนให้บริสุทธิ์โดยกำจัดส่วนประกอบต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตวัคซีน เช่น อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย หรือ เซลล์ที่ใช้เลี้ยงไวรัส วิธีที่ใช้ในการทำวัคซีนให้บริสุทธิ์ ได้แก่ การกรอง, การปั่น และการตกตะกอนด้วยเกลือ หรือ เอทธานอล เป็นต้น

3) การเตรียมหรือการปรับแต่งวัคซีนให้เหมาะสมก่อนนำไปใช้มักดำเนินการดังนี้คือ เติมนสารกันเสียหรือยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย เติมนสารเพิ่มความคงตัว และ เติมนสาร adjuvant เพื่อเพิ่มความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันของวัคซีนได้ดีขึ้น

4) การแบ่งวัคซีนหลังการเตรียมเรียบร้อยแล้วใส่ในภาชนะบรรจุให้มีปริมาตรเหมาะสมกับการใช้ โดยเตรียมวัคซีนให้อยู่ในรูปของเหลว หรือ เป็นผง (lyophilized form) ขึ้นอยู่กับความคงตัวของวัคซีนนั้นๆ เมื่อทำการบรรจุเสร็จจะให้หมายเลขที่จำเพาะต่อแต่ละการผลิต (lot) โดยวัคซีนที่ผลิตออกมาในคราวเดียวกันจะให้หมายเลขเดียวกัน แต่ถ้ากระบวนการแบ่ง หรือ ทำให้แห้งทำคนละครั้งจะให้หมายเลขการผลิตต่างกัน และถ้าในการผลิตเดียวกันแต่ถ้ามีการแบ่งปริมาณต่างกัน

ตารางที่ 3 ชนิดของโฮสต์ที่ใช้ในการผลิตวัคซีนต่อต้านเชื้อไวรัส*

Host		Inactivated vaccine	Lived vaccine
Animal	Egg	Influenza	
	Mouse	Japanese encephalitis	
Cell culture	Chick embryo	Rabies	Measles, Mumps
	Quail embryo		Rubella
	Rabbit renal cells		Rubella
	Simian renal cells		Polio
	Human diploid cells		Varicella
	CHO cells*	Recombinant hepatitis B	

*Ovary cells of Chinese hamster

จะให้หมายเลขต่างกัน เมื่อกระบวนการการผลิตเสร็จสิ้นจะมีการตรวจสอบคุณภาพของวัคซีนโดยหน่วยงานที่ทำหน้าที่ในการตรวจสอบคุณภาพโดยตรงของประเทศนั้นๆ ก่อนนำออกไปใช้จริง

การรับรองคุณภาพของวัคซีน

ก่อนนำวัคซีนไปใช้ในคนทั่วไปต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยในสัตว์ทดลองก่อนนำไปทดสอบในคนกลุ่มเล็กๆ และกลุ่มใหญ่ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงสามารถทำการผลิตเพื่อใช้กับคนทั่วไปได้ ในกระบวนการผลิตวัคซีนสิ่งที่มีความสำคัญอีกประการหนึ่ง คือ การควบคุมคุณภาพของวัคซีนในทุกขั้นตอนการผลิต การควบคุมคุณภาพของวัคซีนเป็นหน้าที่ความรับผิดชอบของหน่วยงานที่ทำหน้าที่ในการควบคุมคุณภาพโดยตรงของประเทศนั้นๆ วัคซีนต้องผ่านการทดสอบคุณภาพก่อนที่จะสามารถจดทะเบียน

ขออนุญาตใช้และจำหน่าย การควบคุมคุณภาพของวัคซีนดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1) การควบคุมและทดสอบขั้นตอนในกระบวนการผลิตวัคซีน โดยการควบคุมและทดสอบต้องทำในทุกขั้นตอน เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายที่มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูงสุด ตัวอย่างหน่วยงานที่นำกระบวนการควบคุมและทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัคซีน (Good Manufacturing Practice, GMP) มาใช้และประสบความสำเร็จคือ Perfectural pharmaceutical affairs inspectors ประเทศญี่ปุ่นซึ่งผลของการทำ GMP operation ในช่วงแรกแสดงให้เห็นข้อบกพร่องของขั้นตอนการทำให้ปราศจากเชื้อ ซึ่งนำไปสู่การปรับปรุงกระบวนการผลิต ต่อมากระบวนการ GMP ได้ถูกนำไปใช้ในหลายแห่ง เช่น N.I.H., pharmaceutical affairs Bureau และ Food and Drug Administration (FDA)

ของสหรัฐอเมริกา

2) การควบคุมประสิทธิภาพของวัคซีน ทำโดยการประเมินกระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ในแต่ละขั้นตอน การตรวจสอบจะดำเนินการภายใต้มาตรฐานของ Minimum Requirement of Biological Product ได้แก่ จำนวนและชนิดของสัตว์ทดลองที่ใช้ในการทดสอบหลากหลายเพียงพอ โดยเทคนิคและวิธีการที่นำมาใช้ทดสอบมีความเหมาะสม ส่วนการประเมินผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย ทำโดยการนำวัคซีนที่ผลิตได้ไปทดลองใช้กับสัตว์ทดลองเพื่อตรวจสอบระยะเวลาที่สัตว์ทดลองสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อว่าเกิดขึ้นในเวลาที่เหมาะสมหรือไม่ และตรวจสอบว่าสัตว์ทดลองมีการติดเชื้อชนิดที่ต้องการป้องกันจากธรรมชาติหรือไม่⁵

3) การควบคุมความปลอดภัยของวัคซีน ดำเนินการในขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ ทดสอบการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆ ในวัตถุดิบที่นำมาใช้เลี้ยงแบคทีเรีย หรือไวรัส เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ หรือ เซลล์ ในบางครั้งอาจทดสอบการปนเปื้อนของสารหรือเชื้ออื่นในสัตว์ทดลองก่อนนำวัตถุดิบเหล่านี้มาใช้ และสิ่งที่สำคัญคือการทดสอบผลข้างเคียงของวัคซีนที่อาจเกิดจากพิษของสารเคมีที่ใช้เติมลงไปในการกระบวนการเตรียมวัคซีนก่อนนำไปใช้ มักทำในสัตว์ทดลองโดยใช้ปริมาณของวัคซีนที่มีความเข้มข้นทั้งหมด 5 ความเข้มข้นแล้วสังเกตดูสุขภาพทั่วไปและน้ำหนักของสัตว์ที่ใช้ทดลอง⁶ นอกจากนี้ ในกรณีผลิตวัคซีนโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงยังต้องทดสอบ ว่าเซลล์ที่นำมาใช้เลี้ยงไวรัสมีคุณสมบัติในการก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองหรือไม่

การทดสอบคุณภาพของวัคซีนทางด้านคลินิก

การทดสอบคุณภาพทางด้านคลินิกของวัคซีน

ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนดังนี้

1) Preclinical trial เป็นการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัคซีนในสัตว์ทดลองโดยสังเกตอาการทางคลินิกของสัตว์ทดลองหลังให้วัคซีนไปแล้ว ก่อนจะนำไปใช้ทดสอบในคน การทดสอบวัคซีนในสัตว์ทดลองใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 5 ความเข้มข้น เพื่อหาความเข้มข้นที่ปลอดภัยไปใช้ทดสอบในคนต่อไป

2) Clinical trial การทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัคซีนในคนแบ่งเป็น 4 ระยะดังแสดงในตารางที่ 4

2.1 ระยะที่ 1 เป็นการศึกษาความปลอดภัยและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเบื้องต้นโดยศึกษาในอาสาสมัครที่มีร่างกายแข็งแรงไม่มีการติดเชื้อใดๆ จำนวน 10-100 คน

2.2 ระยะที่ 2 เป็นการศึกษาความปลอดภัยและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระยะสั้นโดยศึกษาในอาสาสมัครจำนวนมากขึ้นประมาณ 50 - 500 คน โดยมีการแยกกลุ่มควบคุมเทียบกับกลุ่มทดสอบ

2.3 ระยะที่ 3 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันโรค โดยใช้อาสาสมัครจำนวนมาก 10,000-50,000 คน มีการแบ่งกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดสอบวัคซีนและในกลุ่มที่ทดสอบวัคซีนจะแบ่งเป็นกลุ่มที่ให้วัคซีนจริงและวัคซีนปลอม โดยทั้งคู่ถูกทดสอบ และเจ้าหน้าที่จะไม่มีใครทราบว่าตัวเองอยู่กลุ่มใด

2.4 ระยะที่ 4 เป็นการศึกษา ถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพ ของวัคซีนหลังจากจดทะเบียนอนุญาตให้และใช้ในคนทั่วไปแล้ว โดยศึกษาถึงระบาดวิทยาของการเกิดโรคเมื่อมีการอนุญาตให้วัคซีนแล้ว

ตารางที่ 4 ขั้นตอนการทดสอบคุณภาพของวัคซีนในคน⁶

Main characteristics				
Stage	Rationale	Primary outcome	Subjects	Design
Phase I	First trials in humans	Safety and Immunogenicity	Adult volunteers Typical study Size: 10-100	Controlled or Uncontrolled
Phase II	Initial evaluation in target population	Safety and Immunogenicity	Target population Typical study Size: 50-500	Randomized, Double - blind, Controlled trial
Phase III	Full evaluation in target population	Protective Efficacy	Target population Typical study Size: 1000-50,000	Randomized, Double-blind, Controlled trial
Phase IV	Postlicensure surveillance	Safety and effectiveness	Vaccinees Variable study size	Epidemiologic studies

วิธีให้วัคซีนกับคน⁷

การให้วัคซีนเข้าไปในร่างกายทำได้ 4 ทาง คือ

- 1) การรับประทาน ให้โดยวิธีการรับประทานในกรณีที่ต้องการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ เช่น Oral Polio, Oral typhoid vaccine
- 2) การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เป็นวิธีการให้วัคซีนที่ต้องการให้มีการดูดซึมได้ดี ส่วนมากใช้กับวัคซีนที่มีการเติม adjuvant เข้าไปในวัคซีน เช่น Rabies vaccine, Hepatitis vaccine
- 3) การฉีดเข้าชั้นผิวหนัง ใช้ในกรณีต้องการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันแบบ cell mediated immune response วิธีนี้จะใช้วัคซีนน้อยทำให้

ประหยัดค่าใช้จ่าย

- 4) การฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ใช้กับวัคซีนที่อาจเกิดปฏิกิริยาในร่างกายรุนแรงถ้าดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณสูงทันที การฉีดเข้าใต้ผิวหนังจะช่วยให้วัคซีนดูดซึมช้าลง ตัวอย่างวัคซีนชนิดนี้ เช่น Measles, Mumps, Rubella vaccine (MMR)
- ประเทศไทยมีนโยบายการให้วัคซีนแก่ชุมชนเพื่อเป็นการสร้างเสริมภูมิคุ้มกัน ลดอัตราการตายของพลเมืองจากโรคติดต่อ องค์การอนามัยโลกได้แนะนำให้วัคซีนแก่เด็กแรกเกิดในขวบปีแรกเพื่อสร้างเสริมภูมิคุ้มกันต่อ โรคคอตีบ, ไอกรน และบาดทะยัก, โรคโปลิโอ, โรคคางทูม, หัด หัดเยอรมัน, และวัณโรค สำหรับประเทศไทยมีกำหนดการให้วัคซีนแก่เด็กดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การให้วัคซีนแก่เด็กตั้งแต่แรกเกิดหรือเริ่มภายในอายุขวบปีแรก⁷

อายุ	วัคซีนที่ให้	ข้อแนะนำ
แรกเกิด	BCG, HBV 1	1. HBV 1 ควรให้ภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด 2. ถ้าคลอดที่บ้านหรือนอกโรงพยาบาล ควรให้เร็วที่สุดที่พบเด็กไม่ควรเกิน 7 วัน 3. กรณีที่แม่เป็นพาหะควรให้ HBIG ด้วย 4. ไม่ควรให้ BCG ในเด็กที่มีอาการของโรคเอดส์
2 เดือน	DTP 1, OPV 1 HBV 2	กรณีที่แม่เป็นพาหะของ HBsAg ควรให้ HBV2 เมื่ออายุ 1 เดือน
4 เดือน	DTP 2, OPV 2	
6 เดือน	DTP 3, OPV 3 HBV 3	
9-12 เดือน	MMR 1	1. ฉีดได้ทุกอายุแม้ว่าหลัง 9-12 เดือน ไปแล้ว 2. ถ้าไม่ฉีดวัคซีน MMR ให้ฉีดวัคซีนหัดอย่างเดียวก็ได้
1 1/2 ปี	DTP 4, OPV 4 JE 1. JE 2	1. ควรให้ห่างกัน 1-2 สัปดาห์หรือนานกว่านี้ก็ได้ ถ้าไม่มาตามกำหนดนัด 2. ใช้ในเฉพาะท้องถิ่นที่มีโรคนี้ชุกชุม
2 1/2 ปี	JE 3	1. เป็นการฉีดกระตุ้น 2. ใช้ในท้องถิ่นที่มีโรคนี้ชุกชุม
4-6 ปี	DTP 5, OPV 5 MMR 2	ถ้าอายุเกิน 6 ปี ให้ใช้ dT แทน DTP ถ้าไม่มี MMR ให้ใช้วัคซีนหัดเยอรมันอย่างเดียว
12-16 ปี	dT	

BCG = Bacillus Calmette-Guerin vaccine

HBV = Hepatitis B vaccine

DTP = Diphtheria Tetanus and Pertussis vaccine

OPV = Oral Polio vaccine

MMR = Measles Mumps and Rubella vaccine

JE = Japanese encephalitis vaccine

dT = Diphtheria and Tetanus vaccine (มี diphtheria toxoid ในปริมาณต่ำคือ 2 Lf ของ purified diphtheria toxoid)

เอกสารอ้างอิง

1. Plotkin SA, Mortimer EA . VACCINES . Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1994:1-8.2.
2. Held at the Paul - ehrlich - institut December 16-17 . 1998. "live reassortant influenza vaccines" . (online). Available at [http://www . Pei.de/downloads / caiven. Pdf](http://www.Pei.de/downloads/caiven.Pdf) (10 september 2001).
3. Add G, Ramsay A. Vaccines, vaccination and the Immune Response. Philadelphia : Lippincott - Raven Publishers, 1997.
4. Researcher's Associates the National Institute of Healh. Vaccine Handbook. Tokyo: Maruzen CO., Ltd , 1996.
5. University of California Center for Animal Alternatives. 1996 . "Mouse in science : Vaccines". (online) . Available [http:// www. Vetmed. Ucdavis. Edu / Animal _ Allernatives / Vaccines . htm](http://www.Vetmed.Ucdavis.Edu/Animal_Allernatives/Vaccines.htm) (5 September 2001).
6. Robinson A, Farrar GH, Wiblin CN. Vaccinc Protocols. New Jersey: Humana Press Inc., 1996.
7. ปรีมเจนิยน มุ่งการดี, พจนีย์ สุริยะวงศ์, อารมณ พงษ์พันธุ์ (บรรณาธิการ). การพัฒนาวัคซีน และการประยุกต์ใช้. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดไทยมิตรการพิมพ์, 2540.