

วารสาร

อาหารและยา

THAI FOOD AND DRUG JOURNAL



สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administration



บทความวิชาการ

แนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น เพื่อเป็นข้อเสนอเบื้องต้นสำหรับประเทศไทย

บทความวิจัย

การรายงานการเกิดเหตุการณ์ ไม่พึงประสงค์จากวัคซีนป้องกัน โควิด-19 ในโรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู

การเปรียบเทียบการหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 โดยการนับ จำนวนการเกิดผลึกและการทดสอบการติดเชื้อ โฆเซลล์เพาะเลี้ยง 50%

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ Charge Variants โยฮาอะคาลิบูแบบ โดยวิริโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ

ความรู้ และทัศนคติการเลือกซื้อ เนื้อหมูปลอดกัญของผู้นับถือ

ความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารโดยวิธี Pour plate ของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี





วารสารอาหารและยา

นโยบายของวารสารอาหารและยา

วารสารอาหารและยา เป็นวารสารด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยมีบทความวิจัย และบทความวิชาการ ฉบับละ 6-10 เรื่อง กำหนดตีพิมพ์วารสารปีละ 3 ฉบับ ได้แก่

ฉบับ เดือนมกราคม – เมษายน

ฉบับ เดือนพฤษภาคม – สิงหาคม

ฉบับ เดือนกันยายน – ธันวาคม

วัตถุประสงค์

เพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัย และบทความวิชาการ ด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้แก่ อาหาร ยา เครื่องสำอาง เครื่องมือแพทย์ วัตถุอันตราย และวัตถุเสพติด

ขอบเขตการรับตีพิมพ์

รับตีพิมพ์บทความคุณภาพในด้านการคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ โดยมีกลุ่มเป้าหมายคือ นักวิชาการ นักวิจัย และนักศึกษา

การส่งประเมินบทความ (peer review)

บทความต้นฉบับกองบรรณาธิการจะพิจารณาทบทวนเบื้องต้นเกี่ยวกับประเด็น เนื้อหา และความถูกต้องของรูปแบบทั่วไป ถ้าไม่ผ่านการพิจารณาจะส่งให้ผู้นิพนธ์กลับไปแก้ไข ถ้าผ่านจะเข้าสู่การพิจารณาของผู้ทรงคุณวุฒิผู้พิจารณาทบทวน ในสาขาที่เกี่ยวข้องจำนวน 2-3 ท่าน และการส่ง จะทำการปิดบังชื่อ (double-blinded) และหน่วยงานของเจ้าของบทความไว้ ซึ่งไม่มีส่วนได้ส่วนเสียกับผู้นิพนธ์

ลิขสิทธิ์และกรรมสิทธิ์ของบทความ

ลิขสิทธิ์ของบทความเป็นของเจ้าของบทความ ทั้งนี้บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ถือเป็นทัศนะของผู้เขียนโดยที่กองบรรณาธิการไม่จำเป็นต้องเห็นด้วย และไม่รับผิดชอบต่อบทความนั้น

การส่งบทความลงตีพิมพ์

1. ผู้นิพนธ์สามารถส่งต้นฉบับ โดยผ่านระบบ online-submission ของระบบ ThaiJo ได้ที่ <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>

2. ผู้นิพนธ์ลงทะเบียนในระบบ (โดยศึกษาขั้นตอนจากคู่มือการใช้งานระบบวารสารอิเล็กทรอนิกส์) พร้อมส่งแบบฟอร์มส่งตีพิมพ์

ออกแบบโดย

บริษัท บอร์น ภูเก็ต พับลิชซิ่ง จำกัด

ที่ปรึกษา

- นพ.ไพศาล ดั่นคุ้ม
- นพ.วิทิต สฤษฏีชัยกุล
- ภก.วีระชัย นลวชัย
- ภก.เลิศชาย เลิศวุฒิ

ที่ปรึกษาด้านวิชาการ

- ภก.มรกต จรูญวรรณะ
- ภญ.สุภัทรา บุญเสริม
- ดร.ภญ.ธารกมล จันทร์ประภาพร
- ภญ.นุชนาฏ กิตติวรนันท์
- น.ส.อรสุรางค์ ชีระวัฒน์
- ดร.ภญ.ณิชา วิมุตติโกศล
- ภญ.อัมพร พุฒิอังกฤษ
- ภญ.กรพินธุ์ ณ ระนอง
- ภญ.สุนันทา พันธุ์วรรณ
- ดร.ภญ.พรทิพย์ เจริญสุขชน
- ภญ.ธามน วิภูมิต
- ภญ.อรัญญา เทพพิทักษ์
- น.ส.นฤมล ฉัตรสง่า
- นายวชิรวิทย์ เจริญพิริยะ

บรรณาธิการบริหาร

- ภก.ปิยะ ฉิมมณีวงศ์

บรรณาธิการ

- นายชนกฤษ ประเสริฐสาร

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

- ดร.ภญ.รัตพรพรณ พุกกะเวริตานนท์

กองบรรณาธิการ

- ผศ.ดร.ภญ.สุนทรี วัชรดำรงกุล
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ผศ.ดร.ภญ.สมหญิง พุ่มทอง
มหาวิทยาลัยมหิดล
- ผศ.ดร.ภญ.นิภาพรณ มະลိซ้อน
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
- ดร.ภญ.เบญจพร ศิลารักษ์
โรงพยาบาลขอนแก่น
- ดร.ภญ.อัญชลี จุฑะพุทธิ
กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก
- ดร.ภญ.วรัญญา อรุโณทยานันท์
วิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข
กาญจนานิกะ
- ดร.จุฬาร กระทบ
สำนักวิชาการสาธารณสุข

- ดร.ภญ.อาจารย์ ราชะนาคร
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ร.ต.ดร.เรวัต รักแก้ว
สำนักงานสาธารณสุข
- ดร.นภชา สิงห์วีธรรม
สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
- ดร.ภก.ปรีชา หนูทิม
กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก

ผู้ทรงคุณวุฒิประจำฉบับ

- ผศ.ภญ.ดร.สมหญิง พุ่มทอง
มหาวิทยาลัยมหิดล
- ดร.ภญ.ดร.ณิชา หงษ์วิเศษ
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- รศ.ดร.โยธิน แสงดี
มหาวิทยาลัยมหิดล
- รศ.ดร.กฤษณ์ รักชาติเจริญ
มหาวิทยาลัยมหิดล
- ดร.ภก.วิรัตน์ ทองรอด
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
- ดร.ภก.กิตติพงศ์ สิทธิสินธุ์
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
- ดร.ภญ.ธารกมล จันทร์ประภาพร
สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
- ดร.ภญ.รัชดา โตนันต์
สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
- ภญ.วิมล สุวรรณเกษวงษ์ นักวิชาการอิสระ นนทบุรี

เลขานุการ

- ดร.ภก.อดุลย์ โมฮารา

ผู้ช่วยเลขานุการ

- ภญ.เจตสุภา ลลิตอนันต์พงศ์

ผู้จัดการวารสาร

- น.ส.ณัฐฐานันท์ ปันสุวรรณ

ติดต่อกองบรรณาธิการ

กลุ่มวิจัยและนวัตกรรม กองยุทธศาสตร์และแผนงาน
สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ถนนติวานนท์
ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
โทร. 02-590-7256
email: academic@fda.moph.go.th
website: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>

บทบรรณาธิการ	3
บทความวิชาการ	
แนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น เพื่อเป็นข้อเสนอเบื้องต้นสำหรับประเทศไทย <i>พัชราพรรณ กิจพันธ์</i>	5
บทความวิจัย	
การรายงานการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากวัคซีนป้องกันโควิด-19 โรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู <i>ชมชนก โพธิ์เสนา นันทวัฒน์ บินตะคุ</i>	19
การเปรียบเทียบการหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 โดยการนับจำนวนการเกิดพลัคและการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% <i>สกาลิน ไตรศิริวานิชย์ สมปอง ทรัพย์สุทธิภาสกร กรณิกา กุลบุตร อัสมะ ยูโซะ สุภาพร ภูมิอมร</i>	33
การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ Charge Variants ในยาอะดัลิฟูแมบ โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ <i>เกวลิน รักษาสรณ์ สุดาทิพย์ สุนลิน สายวรุฬ จตุรกิตตินันท์</i>	49
ความรู้ และทัศนคติการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยของผู้บริโภค <i>พิมพ์มาดา คุณปลื้ม ปรินทร ชลายนานนท์ ชยุต วงศ์วิชัยภรณ์ ทัฬฬสาร สุขสุธรรมวงศ์ นลัศตรา กันแก้ว ณัฐรัฐวิฑิต ไชยอรนนท์ ศุภชัย เสงจิตตระกูล อีอันทรา จิระสานต์ บุญนิสา คิคมงคล ชนาลีน คิคมงคล ปณณทัต อรุณพัลลภ ศุภจิน มังคลรังษี</i>	68
ความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารโดยวิธี Pour plate ของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี <i>วิภาวดี รากแก่น สุจิตรา แสนทวีสุข สุดารัตน์ แก้วมณี สุทธิพงษ์ แสงโชติ</i>	83
คำแนะนำสำหรับผู้นิพนธ์	98

สถานการณ์ COVID-19 ของโลกตั้งแต่ 31 ธันวาคม 2562 ถึง 21 มิถุนายน 2566 จากข้อมูลสรุป ของ WHO ได้ระบุจำนวนผู้ติดเชื้อทั่วโลกรวม 768 ล้านคน และเสียชีวิต 6.9 ล้านคน ซึ่งมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ ได้มีการฉีดวัคซีนแล้วกว่า 13,461 ล้านโดสทั่วโลก โดยที่ประชากรของประเทศส่วนใหญ่รวมถึงประเทศไทยได้รับการฉีดวัคซีนแล้วอย่างน้อย 1 เข็ม ซึ่ง WHO ได้ประกาศยุติภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขโลกของโรค COVID-19 แล้ว แต่เน้นย้ำยังคงต้องมีมาตรการในการรับมือให้ดีเพราะโรคไม่หายไปไหน ทั้งนี้ ประกาศดังกล่าวสอดคล้องกับสถานการณ์ในประเทศไทยที่ได้ประกาศปรับลดระดับโรค COVID-19 เป็นโรคติดต่อที่ต้องเฝ้าระวัง และกำหนดให้มีการฉีดวัคซีนประจำปี ปีละ 1 เข็ม เพื่อป้องกันการเจ็บป่วยรุนแรงและการเสียชีวิต โดยให้เริ่มฉีดก่อนเข้าสู่ฤดูฝน คือตั้งแต่เดือนเมษายน 2566 เป็นต้นไป ล่าสุดมียอดการเสียชีวิตรายใหม่ทั่วโลกเฉลี่ยในช่วง 7 วันอยู่ที่ 1,161 ราย ขณะที่ไทยมีจำนวนผู้เสียชีวิต 36 ราย เฉลี่ย 5 รายต่อวัน จากจำนวนผู้ป่วยเฉลี่ย 236 รายต่อวัน ดังนั้น การฉีดวัคซีนป้องกันโรค COVID-19 จึงยังคงมีความสำคัญอย่างยิ่ง

วารสารอาหารและยาฉบับนี้ มีบทความที่สร้างองค์ความรู้ใหม่ ๆ ที่น่าสนใจ เช่น บทความวิจัยเกี่ยวกับ การเปรียบเทียบการหาค่าปริมาณไวรัส SARS-COV-2 โดยการนับจำนวนการเกิดพลาซม (Plaques) และการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% บทความการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากวัคซีนป้องกัน COVID-19 ที่โรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู ประเทศไทย และบทความวิชาการว่าด้วยข้อเสนอเบื้องต้นสำหรับแนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงสำหรับประเทศไทย เป็นต้น

ท้ายนี้ ขอให้ทุกท่านรักษาสุขภาพ สวมหน้ากากอนามัย เว้นระยะห่างตามความเหมาะสม หมั่นล้างมือ และมาตรการอื่น ๆ รวมทั้งการฉีดวัคซีน COVID-19 ประจำปีครับ

ชนกฤช ประเสริฐสาร
บรรณาธิการวารสารอาหารและยา

Global COVID-19 situation since 31 December 2019 to 21 June 2023, according to the WHO report, was found that the total number of infections worldwide was 768 million cases, with approximately 6.9 million deaths. This trend seems decline continuously. Over 13,461 million vaccine doses have been administered in most of the population, including Thailand. WHO has declared an end to the global public health emergency of COVID-19, however it is emphasized that good measures to cope with the disease is still necessary because the disease does not get to extinction. This is in line with the public health announcement of Thailand on downgrading the disease to “a communicable disease under surveillance” and an annual vaccination of one dose per year to prevent severe illness and death is highly recommended. The vaccination could begin before rainy season, starting from April 2023 onward. Recently, the number of new deaths worldwide in the seven-day period was 1,161 cases, while in Thailand, this was 36 cases; the average of 5 death cases per day, from an average of 236 infection cases per day. Therefore, the COVID-19 vaccination is still extremely important.

In this issue of the Food and Drug Administration journal, there were interesting new articles to learn from, for example, a research article on the comparison of SAR-COV-2 viral load determination by counting the number of plaques and testing for infection in cultured cells by 50%, an article on the occurrence of adverse events from the COVID-19 vaccine at Sribunruang Hospital, Nong Bua Lamphu Province, and an academic article on the preliminary proposal for guidelines for the approval of high-risk medical product registration in Thailand.

Lastly, we, editors, would like to encourage everyone to stay healthy, wear medical masks in public or close areas, keep proper physical distancing, wash hands frequently, and take other measures, including the annual COVID-19 vaccination.

Thanakrish Prasertsarn
Thai Food and Drug Administration Journal Editor

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 (2566): พฤษภาคม - สิงหาคม
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 30 No. 2 (2023): May - August

แนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น เพื่อเป็นข้อเสนอบื้องต้นสำหรับประเทศไทย

พัชรพรพรรณ กิจพันธ์¹¹กองยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา นนทบุรี

ที่อยู่ติดต่อ: พัชรพรพรรณ กิจพันธ์ กองยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา 88/24 ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000 patcharaphun_k@yahoo.com

Guidance of marketing authorizations for Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs) in The USA The EU and JAPAN for a pre-requisite in Thailand

Patcharaphun kidpun¹¹Medicines Regulation Division, Food and Drug Administration, Thailand

Contact address: Patcharaphun Kidpun, Medicines Regulation Division, Food and Drug Administration 88/24 Tambon Talad Khwan, Amphoe Mueang Nonthaburi Nonthaburi 11000, Thailand, patcharaphun_k@yahoo.com

Received: 28 May 2023, Revised: 20 June 2023, Accepted: 22 June 2023

ปัจจุบันแนวทางการรักษามีความก้าวหน้าไปอย่างมาก โดยการนำองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี ชีววิทยา มาประยุกต์ใช้ร่วมกับเซลล์ หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต หรือการปรับปรุงพันธุกรรม ในระดับยีนของมนุษย์เพื่อใช้ในการบำบัด บรรเทา พิ้นฟู หรือรักษาความเจ็บป่วยของมนุษย์ ด้วยรูปแบบการรักษาแบบใหม่นี้โดยมีความมุ่งหมายเพื่อเป็นทางเลือกในการรักษาโรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถรักษาให้หายเป็นปกติหรือไม่มีประสิทธิภาพที่เพียงพอ โดยเฉพาะโรคที่มีพยาธิสภาพอยู่ที่เซลล์ หรือ ยีนโดยตรง เช่น การรักษาด้วยผลิตภัณฑ์จากเซลล์บำบัด ผลิตภัณฑ์เซลล์

ต้นกำเนิด ผลิตภัณฑ์จากยีน และผลิตภัณฑ์จากวิศวกรรมเนื้อเยื่อ หรือที่เรียกว่าผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง (Advanced Therapy Medicinal Products; ATMPs) สำหรับประเทศไทยจัดให้ผลิตภัณฑ์นี้เป็นยาตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 และฉบับแก้ไขเพิ่มเติม นอกจากนี้ได้กำหนดนิยามของผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง (ATMPs) หมายถึงผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์สำหรับมนุษย์ที่มีส่วนผสมของ ยีน เซลล์ หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต ที่มุ่งหมายสำหรับใช้ในการวินิจฉัย บำบัด บรรเทา รักษา หรือ ป้องกันโรคหรือความเจ็บป่วยของมนุษย์ หรือมุ่งหมายสำหรับให้เกิดผลแก่สุขภาพ โครงสร้าง

หรือกระทำหน้าที่ใด ๆ ของร่างกายของมนุษย์ ประกอบไปด้วยผลิตภัณฑ์เซลล์บำบัด (Cell Therapy Medicinal Product), ผลิตภัณฑ์ ยีนบำบัด (Gene Therapy Medicinal Product), ผลิตภัณฑ์วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue Engineered Product) และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ขั้นสูง แบบผสม (Combined ATMPs) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ เซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ประกอบกับเครื่องมือแพทย์¹ จากทบทวนวรรณกรรมพบว่า จำนวนการศึกษา ที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์เซลล์ ยีน หรือวิศวกรรม เนื้อเยื่อ มีจำนวนมากขึ้นในแต่ละช่วงปี เช่น ปี ค.ศ. 1999-2003 มีจำนวน 34 การศึกษา ปี ค.ศ. 2004-2010 มีจำนวน 333 การศึกษา ปี ค.ศ. 2011-2015 มีจำนวน 572 การศึกษา ถัดมาในปี ค.ศ. 2016 มีจำนวน 939 การศึกษา² และในปี ค.ศ. 2019 มีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง เพิ่มมากขึ้นถึง 1,052 การศึกษา³ จนปัจจุบัน สามารถพัฒนาและผลิตผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง ออกวางจำหน่ายได้สำเร็จในหลายประเทศ

สำหรับประเทศไทยเริ่มมีการนำผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูงมาใช้เพื่อการบำบัดโรค เช่น การ ปลูกถ่าย สเต็มเซลล์เยื่อบุผิวกระจกตา (Limbal Stem Cells) ในโรคกระจกตาเสื่อม และการดัดแปลง พันธุกรรมของ T cells เพื่อการรักษาโรคมะเร็ง เม็ดเลือดขาว แต่ขณะนี้ยังคงเป็นการศึกษาวิจัย หรือการรักษาเพื่อผู้ป่วยเฉพาะรายภายใต้การดูแล ของผู้ประกอบการวิชาชีพเวชกรรม^{4,5} ปัจจุบันประเทศไทย ยังไม่มีการผลิตผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงออกวาง

จำหน่ายสู่ท้องตลาด แต่เชื่อได้ว่าในอนาคตหลังจาก มีหลักฐานเชิงประจักษ์ที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพ และความปลอดภัยจากการรักษาด้วยผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูง อาจมีหน่วยงานทางการศึกษา ร่วมกับภาคเอกชน หรือผู้ประกอบการในอุตสาหกรรม ยา ร่วมกันผลักดันเทคโนโลยีการรักษาด้วยผลิตภัณฑ์ จากเซลล์ ยีน หรือวิศวกรรมเนื้อเยื่อ จนได้ผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูงออกวางจำหน่ายอย่างเป็นทางการ เหมือนประเทศ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และ ญี่ปุ่น หรืออาจมีบริษัทยาต่างประเทศนำหรือส่ง ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงเข้ามาในราชอาณาจักรไทย เพื่อการบำบัด บรรเทา หรือรักษาโรค

บทความวิชาการฉบับนี้จะขอกล่าวถึง เฉพาะประเด็นแนวทางการอนุมัติทะเบียนยา ที่เป็นผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง เนื่องจากการอนุมัติ ทะเบียนของผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงอาจไม่สามารถ ใช้วิธีการอนุมัติทะเบียนแบบผลิตภัณฑ์ยาดั้งเดิมได้ อย่างสมบูรณ์ เพราะผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้บางครั้ง เป็นการผลิตเพื่อผู้ป่วยเฉพาะราย รูปแบบของ การวิจัยทางคลินิกอาจไม่สามารถเป็นการทดลอง แบบสุ่มซึ่งถือว่าเป็นมาตรฐานการดำเนินการวิจัย และไม่สามารถปกปิดการรักษาแก่ผู้ป่วย จำนวน ผู้ป่วยน้อยรายอาจไม่สามารถแสดงถึงประสิทธิภาพ และความปลอดภัยได้อย่างชัดเจนจากการคำนวณ ค่าทางสถิติที่ได้จากการศึกษาได้⁶⁻⁸ ดังนั้นผู้เขียน จึงมุ่งหมายในการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับ แนวทางการอนุมัติทะเบียนยาที่เป็นผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูงสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และ

ญี่ปุ่น เพื่อให้เกิดความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับการอนุมัติทะเบียนยาที่เป็นผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงของทั้งสามประเทศซึ่งถือว่าเป็นประเทศชั้นนำในด้านการควบคุม กำกับ ดูแลผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อนำมาเป็นแนวทาง แนวคิด หรือถอดบทเรียนนำไปสู่การได้ข้อเสนอนะเบื้องต้นเกี่ยวกับแนวทางการอนุมัติทะเบียนยาที่เป็นผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงที่เหมาะสมกับบริบทของประเทศไทย

การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง

ผลิตภัณฑ์จากเซลล์ ยีน และวิศวกรรมเนื้อเยื่อจากสิ่งมีชีวิต ในแต่ละประเทศมีชื่อเรียกที่เฉพาะเจาะจงลงไป เช่น สหภาพยุโรป เรียกว่า ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง (ATMPs)⁹ สหรัฐอเมริกา เรียกว่า ผลิตภัณฑ์ชีววัตถุ ชนิดเซลล์ หรือยีน¹⁰ และญี่ปุ่น เรียกว่า เวชศาสตร์ฟื้นฟู (Regenerative medicine (RM))¹¹⁻¹² สำหรับประเทศไทยเรียกผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ว่า ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง (ATMPs) ปัจจุบันประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่นสามารถพัฒนาและผลิตผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงออกวางจำหน่ายได้สำเร็จ การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงของทั้งสามประเทศมีส่วนที่เหมือนและแตกต่างกัน จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง สามารถแบ่งได้เป็น 5 ประเภท¹³⁻²⁰ (ดังตารางที่ 1) คือ

1. การอนุมัติแบบปกติ มีข้อมูลการวิจัยในมนุษย์ ตั้งแต่ระยะที่ 1-3 นำข้อมูลด้านคุณภาพ

ประสิทธิภาพ และความปลอดภัย เพื่อพิจารณาการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงออกสู่ท้องตลาด

2. การอนุมัติแบบเร่งด่วน กรณีที่ข้อมูลด้านประสิทธิภาพ และความปลอดภัย แสดงอย่างมีนัยสำคัญว่าผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงมีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยง เมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาที่มีอยู่ในปัจจุบัน เช่น การอนุมัติทะเบียนแบบ Priority review (ชื่อเรียกใน The United States Food and Drug Administration: US FDA) และ Accelerated assessment (ชื่อเรียกใน The European Medicines Agency: EMA) โดยมีระยะเวลาในการพิจารณาอนุมัติทะเบียนสั้นกว่าปกติ

3. การอนุมัติแบบมีเงื่อนไขในการออกสู่ท้องตลาด (Condition approval (ชื่อเรียกใน EMA) หรือ Accelerated approval (ชื่อเรียกใน US FDA)) กรณีที่ข้อมูลด้านประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงไม่สมบูรณ์หรือน้อยกว่าการขึ้นทะเบียนแบบปกติ แต่มีข้อมูลด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผลลัพธ์ที่เป็นตัวแทนทางคลินิก (intermediate endpoint) ว่ามีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยง

4. การอนุมัติแบบเร่งรัดออกสู่ท้องตลาด (Expedite approval) เช่น ทางการอนุมัติแบบ Fast track designation และ Breakthrough therapy designation ในประเทศสหรัฐอเมริกา Priority medicine scheme (PRIME) และ Adaptive pathway ในสหภาพยุโรป และ Sakigake

designation ในประเทศญี่ปุ่น เพื่อเป็นการสนับสนุน ส่งเสริมผลิตภัณฑ์ที่เป็นนวัตกรรม และมีข้อมูล ในระยะเริ่มต้นว่าผลิตภัณฑ์นั้นจะมีประโยชน์ต่อการรักษาโรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถรักษา ให้หายหรือไม่มีประสิทธิภาพที่เพียงพอ

5. การอนุมัติเฉพาะกรณีของผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูงเท่านั้น เช่น Condition time limited approval ในประเทศญี่ปุ่น และ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation ในประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อ สนับสนุนการพัฒนา วิจัย ผลิตภัณฑ์การแพทย์ ขั้นสูงเพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคที่การรักษา ในปัจจุบันไม่สามารถรักษาให้หายหรือยังไม่มี ประสิทธิภาพที่เพียงพอ

หมายเหตุ

-การขึ้นทะเบียนตำรับยาอาจจะใช้ช่องทาง ดังกล่าวได้มากกว่า 1 ช่องทาง

-การขึ้นทะเบียนตำรับยาในช่องทางดังกล่าว อาจจะถูกยกเลิก หากตำรับยานั้นไม่เข้าตามเกณฑ์ ของแต่ละช่องทาง

บทความนี้จะขอขยายความในส่วนของ การอนุมัติทะเบียนที่เป็นกรณีเฉพาะสำหรับ ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงเท่านั้น คือ Condition time limited approval ในประเทศญี่ปุ่น และ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation ในประเทศสหรัฐอเมริกา เนื่องจาก เป็นรูปแบบการอนุมัติทะเบียนรูปแบบใหม่ที่เกิดขึ้น สำหรับผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงเท่านั้น

ประเทศสหรัฐอเมริกา

The United States Food and Drug Administration (US FDA) เป็นหน่วยงานรัฐบาล กลางของประเทศสหรัฐอเมริกา มีหน้าที่ปกป้อง ควบคุม และสนับสนุนด้านสาธารณสุข พร้อมทั้ง ควบคุม กำกับ ดูแลผลิตภัณฑ์สุขภาพ เช่น ยา อาหาร เครื่องมือแพทย์ สารกัมมันตรังสี ผลิตภัณฑ์ยาสูบ รวมทั้งการประเมินด้านวิชาการและการศึกษาวิจัย ทดลองในมนุษย์ของผลิตภัณฑ์สุขภาพก่อนออกสู่ ตลาด และติดตามภายหลังออกสู่ตลาด²¹

การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ก่อน ออกสู่ตลาดของผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง ภายใต้กฎหมายยาชีววัตถุ²²

ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ขั้นสูงไม่ว่าจะเป็น ผลิตภัณฑ์ที่มาจากยีน เซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต อยู่ภายใต้การกำกับ ดูแล ควบคุม ของกฎหมาย ยาชีววัตถุ ต้องขอรับการขึ้นทะเบียนผ่านช่องทาง ของการขึ้นทะเบียนเป็นยาชีววัตถุใหม่ภายใต้ หน่วยงาน Office of Tissues and Advanced Therapies (OTAT) และ The Centre for Biologics Evaluation and Research (CBER) ที่กำกับ ดูแล ควบคุมผลิตภัณฑ์ในกลุ่มยาชีววัตถุ หมายรวมถึง ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงด้วย ก่อนที่ผู้รับอนุญาต จะยื่นการประเมินทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง หรืออยู่ระหว่างการทดลอง วิจัย สามารถขอรับ คำปรึกษา หรือคำแนะนำเกี่ยวกับการขึ้นทะเบียน ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง จากหน่วยงาน OTAT (pre-IND meetings)

การอนุมัติทะเบียน Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation สำหรับผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงในประเทศสหรัฐอเมริกา

ในปี 2016 ได้เกิดการอนุมัติทะเบียนของผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง เรียกว่า Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation²³ การอนุมัติทะเบียนนี้ถูกออกแบบเพื่อช่วยเร่งการพัฒนาผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง โดยเฉพาะการรักษาด้วยยีน เซลล์ และวิศวกรรมเนื้อเยื่อนำมาวิศวกรรมชนิดใหม่มามีส่วนร่วมในการรักษา เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ภายใต้กฎหมาย The 21st Century Cures Act (Cures Act) โดยมีหลักเกณฑ์ ดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์ถูกพัฒนามาจากเซลล์ ยีน วิศวกรรมเนื้อเยื่อ หรือผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมระหว่างเซลล์ ยีน วิศวกรรมเนื้อเยื่อกับเครื่องมือแพทย์ ยกเว้นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ภายใต้ Section 361 of the Public Health Service Act and part 1271

2. ผลิตภัณฑ์นำมาใช้ในการรักษาในโรคที่เป็นอันตรายร้ายแรง หรือภาวะคุกคามต่อชีวิต

3. มีหลักฐานเบื้องต้นทางคลินิก (preliminary clinical) ว่าผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงมีศักยภาพในการรักษาโรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถรักษาให้หายหรือไม่มีประสิทธิภาพที่เพียงพอ

การอนุมัติภายใต้ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation มีความยืดหยุ่น

ทางคลินิก สามารถเก็บข้อมูลผู้ป่วยเพิ่มเติมหลังจากการอนุมัติทะเบียนให้ออกสู่ตลาด การยื่นการอนุมัติ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation ต้องดำเนินการพร้อมกับการยื่นเอกสาร Investigational New Drug application เพื่อขออนุมัติทะเบียนยาชีววัตถุใหม่ ข้อดีที่เห็นได้อย่างชัดเจนและเป็นข้อได้เปรียบในการอนุมัติทะเบียนแบบ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation คือ ไม่ต้องเปรียบเทียบการรักษาของผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงกับการรักษาเดิมที่มีอยู่ก่อนหน้า เพียงแต่แสดงข้อมูลว่าผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงมีศักยภาพในการรักษาโรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถทำได้หรือการรักษาในปัจจุบันไม่มีประสิทธิภาพที่เพียงพอ การพิจารณาทะเบียนอาจเป็นในรูปแบบ rolling review submission ก็อาจเป็นไปได้

ประเทศญี่ปุ่น

ประเทศญี่ปุ่นมี 2 หน่วยงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกำกับ ดูแล ควบคุมผลิตภัณฑ์ทางยาสำหรับมนุษย์ คือ

1. กระทรวงสาธารณสุข แรงงาน และสวัสดิการ (Ministry of Health, Labour and Welfare; MHLW)²⁴

2. หน่วยงานอิสระที่เรียกว่า Pharmaceutical and Medical Devices Agency (PMDA, KIKO) หน่วยงาน PMDA ก่อตั้งขึ้นเมื่อวันที่ 1 เมษายน ค.ศ. 2004

การกำกับ ดูแล ควบคุมผลิตภัณฑ์ยา

ตั้งแต่การวิจัยและพัฒนาจนออกวางจำหน่าย ในประเทศญี่ปุ่น ประกอบด้วยขั้นตอนของการวิจัยและพัฒนา ผู้ผลิตจะต้องมีการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับ เกสชีววิทยา พิษวิทยา เกสัชจลนศาสตร์ เป็นต้น ซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องกับหน่วยงาน PMDA ในการ ให้คำแนะนำและประเมินข้อมูลทางวิชาการ แล้วเข้าสู่ ขั้นตอนอนุมัติทะเบียนตำรับยาโดยหน่วยงาน MHLW

การอนุมัติทะเบียน Condition-time limited Approve สำหรับผลิตภัณฑ์ Regenerative medicine ในประเทศญี่ปุ่น²⁵

การอนุมัติรูปแบบนี้จะเกิดขึ้นเฉพาะผลิตภัณฑ์ Regenerative medicine (RM) เท่านั้น ภายใต้กฎหมาย Pharmaceutical Medical Device And Other Therapeutic Product Act (PMD Act) ฉบับเพิ่มเติม ในปี 2013 ได้มีการอนุมัติ ให้ผลิตภัณฑ์ RM สามารถวางจำหน่ายในตลาดได้ ถ้าผลการวิจัยทางคลินิกสามารถทำนายประสิทธิภาพ หรือความปลอดภัยในการใช้ผลิตภัณฑ์ RM (“likely to predict efficacy”) หรือแสดงให้เห็นถึงผลลัพธ์ที่ดีในการรักษาที่เป็นตัวแทน (intermediate endpoint) ซึ่งถือเป็นลักษณะเฉพาะของการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ RM เท่านั้น ส่งเสริม การพัฒนา วิจัย ด้านนวัตกรรมทางการแพทย์ เพื่อก่อให้เกิดการ เข้าถึงผลิตภัณฑ์นวัตกรรมยาของผู้ป่วยในการรักษา โรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถรักษาให้หาย หรือมีประสิทธิภาพที่ไม่เพียงพอในระยะเวลาที่ รวดเร็ว ประกอบกับการรักษาด้วยผลิตภัณฑ์ RM

มีจำนวนผู้ป่วยน้อยราย การทดลองหรือการวิจัย อาจเกิดขึ้นได้เพียงการทดลองในระยะที่ 2 (Phase II) จึงได้เกิดแนวความคิดการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ เพื่อวางจำหน่ายแบบ conditional time limited approval การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ RM แบบ conditional time limited approval มีข้อกำหนด ให้บริษัทยาหรือผู้มีอำนาจทางการตลาดต้องเก็บ ข้อมูลด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย หลังจาก การวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์ RM ภายในระยะเวลา ที่ได้ทำการตกลงกับ MHLW แต่ระยะเวลาไม่เกิน 7 ปี เมื่อครบกำหนดระยะเวลาดังกล่าว บริษัทยาหรือ ผู้มีอำนาจทางการตลาดผลิตภัณฑ์ RM ต้องรวบรวม ข้อมูลด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย ในการใช้ผลิตภัณฑ์ RM เพื่อนำมาประเมินและ ขออนุมัติทะเบียนเพื่อจำหน่ายผลิตภัณฑ์ RM โดยไม่มีเงื่อนไข (re-apply for a market authorization) อย่างไรก็ตามหากพบว่าข้อมูล ความปลอดภัยและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ RM ไม่เพียงพอหรือข้อมูลที่รวบรวมไม่สามารถแสดง ให้เห็นถึงประโยชน์ที่มากกว่าความเสี่ยงของผลิตภัณฑ์ RM ก็สามารถที่จะถูกถอนทะเบียนผลิตภัณฑ์ ภายหลังจากการวางจำหน่ายได้

ข้อดีและข้อจำกัดของการอนุมัติทะเบียนที่เป็นกรณีเฉพาะสำหรับผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง

การอนุมัติทะเบียนที่เป็นกรณีเฉพาะ สำหรับผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูงที่เกิดขึ้น ในประเทศญี่ปุ่นคือ Condition time limited

approval และ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นรูปแบบการอนุมัติทะเบียนรูปแบบใหม่ที่เกิดขึ้นสำหรับผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงเท่านั้น เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถเข้าถึงการรักษาที่มีความจำเป็นต่อชีวิต หรือการรักษาที่ในปัจจุบันยังไม่มีประสิทธิภาพที่เพียงพอ หรือยังไม่มีวิธีการรักษามาตรฐานในขณะนี้ ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการรักษาที่เป็นนวัตกรรมใหม่ในเวลาที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามก็ตามข้อพิจารณาที่สำคัญก่อนที่จะอนุมัติทะเบียนคือข้อมูลด้านคุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่เพียงพอตามหลักฐานทางวิชาการที่สนับสนุนว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยงที่ผู้ป่วยจะได้รับจากการรักษา

เนื่องจากการดำเนินการวิจัยในมนุษย์อาจเกิดขึ้นเพียงการทดลองในระยะที่ 2 ดังนั้นข้อมูลด้านคุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์อาจยังไม่สมบูรณ์ โดยเฉพาะด้านความปลอดภัยระยะยาว จึงเป็นความท้าทายของผู้กำกับดูแลด้านยาในการพิจารณาข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจ อย่างไรก็ตามข้อแตกต่างที่ชัดเจนของ Condition time limited approval และ Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation คือ Condition time limited approval มีระยะเวลาที่ชัดเจนในการประเมินข้อมูลด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยเพื่อขออนุมัติทะเบียนเพื่อจำหน่ายผลิตภัณฑ์ RM โดยไม่มีเงื่อนไข

ตารางที่ 1 สรุปแนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา ประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น

หัวข้อพิจารณา	สหรัฐอเมริกา	สหภาพยุโรป	ญี่ปุ่น
หน่วยงานที่กำกับดูแล ควบคุม ผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูง	Office of Tissues and Advanced Therapies (OTAT) อยู่ภายใต้การทำงาน ของ The Centre for Biologics Evaluation and Research (CBER)	The Committee for Advanced Therapies (CAT) อยู่ภายใต้การทำงาน ของ The European Medicines Agency (EMA)	1. Ministry of Health, Labour, and Welfare (MHLW) และ 2. Pharmaceutical and Medical Devices Agency (PMDA)
ชื่อผลิตภัณฑ์ที่มาจากยีน เซลล์หรือเนื้อเยื่อของ สิ่งมีชีวิต	ยาชีววัตถุ (biologics product) ที่มีส่วนประกอบ จากยีน เซลล์ หรือเนื้อเยื่อ	ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง (Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs))	เวชศาสตร์ฟื้นฟู Regenerative medicine (RM)
การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา			
Priority review	มี	มี	มี
- คุณสมบัติ	(ลดระยะเวลาการพิจารณา จาก 10 เดือน เหลือ 6 เดือน) 1. การรักษาโรคที่มีร้ายแรง หรือ มีภาวะคุกคามต่อชีวิต 2. มีหลักฐานเชิงประจักษ์ที่ชัดเจน ด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย เหนือกว่าการรักษาที่มีในปัจจุบัน	(ลดระยะเวลาการพิจารณา จาก 210 วัน เหลือ 150 วัน) 1. เป็นการรักษาโรคที่มีผลกระทบ หรือประโยชน์ต่อสาธารณสุขและ ผู้ป่วย 2. มีหลักฐานเชิงประจักษ์ที่ชัดเจน ด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย เหนือกว่าการรักษาที่มีในปัจจุบัน	(ลดระยะเวลาการพิจารณา จาก 9 เดือน เหลือ 6 เดือน) 1. การรักษาโรคที่มีภาวะคุกคาม หรือร้ายแรงต่อชีวิต 2. มีหลักฐานเชิงประจักษ์ที่ชัดเจน ด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย เหนือกว่าการรักษาที่มีในปัจจุบัน 3. ยาแก้ปวด

ตารางที่ 1 สรุปแนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา ประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น (ต่อ)

หัวข้อพิจารณา	สหรัฐอเมริกา	สหภาพยุโรป	ญี่ปุ่น
Orphan Designation - คุณสมบัติ	มี การอนุมัติทะเบียนยาที่ใช้ในการรักษาโรค วินิจฉัย หรือป้องกันโรคที่เกิดขึ้นน้อย โดยมีจำนวนผู้ป่วยน้อยกว่า 200,000 คน ในประเทศสหรัฐอเมริกา	มี การอนุมัติทะเบียนยาที่มีศักยภาพในการวินิจฉัย รักษาหรือป้องกันโรคจากการคุกคามชีวิตหรือทำให้สุขภาพทรุดโทรมนอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ในการรักษาซึ่งมีจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคนั้นๆ ไม่เกิน 5 คน ใน 10,000 คนในสหภาพยุโรป	มี การอนุมัติทะเบียนยาที่มีความจำเป็นต่อผู้ป่วยและปริมาณผู้ป่วยน้อยกว่า 50,000 คนในประเทศญี่ปุ่น
การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา			
Accelerated หรือ Condition Approval - คุณสมบัติ	มี 1. เป็นการรักษา ป้องกันโรคที่ร้ายแรงหรือรุนแรงถึงแก่ชีวิต หรือ มีภาวะคุกคามต่อชีวิต 2. ข้อมูลด้านผลิตภัณฑ์ยาอาจไม่สมบูรณ์หรือน้อยกว่าการขึ้นทะเบียนแบบปกติ หรือแสดงข้อมูลได้เพียง intermediate endpoint 3. ข้อมูลในปัจจุบันแสดงให้เห็นประโยชน์มากกว่าความเสี่ยงของผลิตภัณฑ์ (ต้องเก็บข้อมูลด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยเพิ่มเติมหลังวางจำหน่าย)	มี 1. เป็นการรักษา ป้องกันโรคที่ร้ายแรงหรือรุนแรงถึงแก่ชีวิต หรือสำหรับสถานการณ์ฉุกเฉิน 2. ข้อมูลด้านผลิตภัณฑ์ยาอาจไม่สมบูรณ์หรือน้อยกว่าการขึ้นทะเบียนแบบปกติ หรือแสดงข้อมูลได้เพียง intermediate endpoint 3. ข้อมูลในปัจจุบันแสดงให้เห็นประโยชน์มากกว่าความเสี่ยงของผลิตภัณฑ์ (ต้องเก็บข้อมูลด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยเพิ่มเติมหลังวางจำหน่าย)	มี 1. เฉพาะผลิตภัณฑ์เวชศาสตร์ฟื้นฟู (Regenerative medicine (RM)) 2. ต้องรวบรวมข้อมูลของผลิตภัณฑ์ RM ด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย ภายในระยะเวลาที่ได้ตกลงกับทาง MHLW โดยมีระยะเวลาไม่เกิน 7 ปี เพื่อนำข้อมูลมาประเมินอีกครั้ง
การอนุมัติทะเบียนภายใต้สถานการณ์พิเศษ ²⁶ (Marketing authorization under exceptional circumstances) - คุณสมบัติ	ไม่มี	มี 1. ไม่สามารถแสดงข้อมูลทางคลินิกได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากเป็นโรคที่อุบัติการณ์เกิดน้อย มีข้อจำกัดด้านการเก็บข้อมูล หรือ องค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ ณ ปัจจุบัน ไม่สามารถแสดงข้อมูลทางวิชาการได้อย่างครอบคลุมหรือมีอย่างจำกัด 2. โรคที่มีภาวะคุกคามหรือโรคร้ายแรงต่อชีวิต	ไม่มี

ตารางที่ 1 สรุปแนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา ประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น (ต่อ)

หัวข้อพิจารณา	สหรัฐอเมริกา	สหภาพยุโรป	ญี่ปุ่น
<p>การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา</p> <p>Expedite program</p> <p>- คุณสมบัติ</p>	<p>มี</p> <p>Fast track designation</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. การรักษาโรคที่มีร้ายแรง อันตราย หรือ มีภาวะคุกคามต่อชีวิต 2. แสดงให้เห็นตั้งแต่ระยะไม่ใช้คลินิก หรือ คลินิก ว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีประสิทธิภาพ ความปลอดภัย ที่เหนือกว่าการรักษาที่มีในปัจจุบัน <p>Breakthrough therapy designation</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. การรักษาโรคที่มีภาวะ คุกคามต่อชีวิต หรืออันตราย ต่อชีวิต 2. แสดงข้อมูลทางคลินิกเบื้องต้น (preliminary clinical evidence) ที่ชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่ายาทำให้ ผลการรักษาดีขึ้นอย่างมาก ณ จุด สิ้นสุดของการรักษา (clinically significant endpoint) และดีกว่า การรักษาอื่นที่มีอยู่ในปัจจุบัน การส่งผลของข้อมูลทางการวิจัย ไม่ควรช้ากว่าระยะที่ 2 (phase II) 	<p>มี</p> <p>Priority medicines (PRIME)</p> <p>มีแนวโน้มว่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วย</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ผลผลิตภัณฑ์ทางยาที่เป็นนวัตกรรมที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วย 2. เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องใช้ในการรักษาโรคที่ร้ายแรงที่การรักษาในปัจจุบัน ยังไม่สามารถรักษาได้ 3. การรักษาด้วยวิธีใหม่มีข้อได้เปรียบ มากกว่าการรักษาที่มีอยู่ในปัจจุบัน ไม่ว่าจะเป็นด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย <p>Adaptive pathway</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. การอนุมัติผลิตภัณฑ์ทางยา เพื่อ การเข้าถึงยาใหม่ที่มีความต้องการ ทางการแพทย์สูง ในระยะเวลาที่เหมาะสม 2. ข้อมูลด้านประสิทธิภาพและ ความปลอดภัยที่มีอยู่แสดงให้เห็นถึง ประโยชน์มากกว่าความเสี่ยง 3. มีการวางแผนการติดตามผู้ป่วย หลังจากใช้ผลิตภัณฑ์ (real world evidence) 4. มีการประเมิน HTA ควบคู่ไปกับการอนุมัติทะเบียนตำรับยา 	<p>มี</p> <p>Sakigake designation system</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ผลผลิตภัณฑ์ทางยาและเครื่องมือ แพทย์ ที่เป็นนวัตกรรมที่พัฒนา หรือวิจัยในประเทศญี่ปุ่น 2. เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องใช้ในการรักษาโรคที่ร้ายแรงที่การรักษา ในปัจจุบันยังไม่สามารถรักษาได้ หรือมีผลกระทบต่อสาธารณสุข ของประเทศ 3. การศึกษาทางคลินิกระยะแรก หรือการศึกษาที่ไม่ใช่ทางคลินิก ที่มีประสิทธิภาพ ประสิทธิผล ที่ชัดเจนต่อการรักษา
<p>การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา</p> <p>การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ ที่เป็นกรณีเฉพาะของผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูง</p> <p>- คุณสมบัติ</p>	<p>มี</p> <p>Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ผลิตภัณฑ์ที่ถูกพัฒนามาจาก เซลล์ ยีน วิศวกรรมเนื้อเยื่อ หรือ ผลิตภัณฑ์ที่มีการผสมระหว่างเซลล์ ยีน พันธุวิศวกรรมเนื้อเยื่อ กับ เครื่องมือแพทย์ (combination product) ยกเว้นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ ภายใต้ Section 361 of the Public Health Service Act and part 1271 	<p>ไม่มี</p>	<p>มี</p> <p>conditional time limited approval</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. เฉพาะผลิตภัณฑ์เวชศาสตร์ฟื้นฟู (Regenerative medicine (RM)) 2. ต้องรวบรวมข้อมูลผลิตภัณฑ์ RM ด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย ภายในระยะเวลาที่ได้ตกลงกับทาง MHLW โดยมีระยะเวลาไม่เกิน 7 ปี

ตารางที่ 1 สรุปแนวทางการอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ยา ประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่น (ต่อ)

หัวข้อพิจารณา	สหรัฐอเมริกา	สหภาพยุโรป	ญี่ปุ่น
	2. นำมาใช้ในการรักษาในโรคที่เป็นอันตรายร้ายแรงต่อชีวิต 3. มีหลักฐานเบื้องต้นทางคลินิกว่าผลิตภัณฑ์นี้มีศักยภาพในการรักษาโรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถทำได้ โดยไม่ต้องเปรียบเทียบกับการรักษาที่มีอยู่ก่อนหน้านี้		
จำนวนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงที่ได้รับการอนุมัติ ²⁷⁻²⁹	29 ชนิด	25 ชนิด	16 ชนิด

บทสรุป

ประเทศสหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป และญี่ปุ่นสามารถพัฒนาและผลิตผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงออกวางจำหน่ายได้สำเร็จ ผลิตภัณฑ์ขั้นสูงถูกพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาเป็นทางเลือกในการรักษาโรคที่การรักษาในปัจจุบันไม่สามารถรักษาให้หายเป็นปกติหรือไม่มีประสิทธิภาพที่เพียงพอ โดยเฉพาะโรคที่มีพยาธิสภาพอยู่ที่เซลล์ หรือ ยีนโดยตรง การอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงของทั้งสามประเทศจะมีส่วนที่เหมือนและแตกต่างกันดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น วัตถุประสงค์ของบทความวิชาการนี้เป็นแนวทาง แนวคิด หรือ ถอดบทเรียนนำไปสู่การประยุกต์การอนุมัติทะเบียนยาที่เป็นผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงที่เหมาะสมกับบริบทของประเทศไทย และยังคงมีมาตรการที่คุ้มครองประชาชนจากผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงที่ไม่ปลอดภัย รวมถึงการสนับสนุนนวัตกรรมการรักษาแบบใหม่ที่มีประโยชน์ต่อผู้ป่วยอย่างแท้จริง เนื่องจากผลิตภัณฑ์

ขั้นสูงมีลักษณะเฉพาะและมีความซับซ้อนตั้งแต่กระบวนการผลิตจนนำไปใช้กับผู้ป่วย ดังนั้นประเทศไทยอาจพิจารณาหลักการของการอนุมัติทะเบียนแบบมีเงื่อนไขในการออกสู่ท้องตลาด (Condition approval หรือ Accelerated approval) เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถเข้าถึงการรักษาที่เป็นนวัตกรรมที่มีความปลอดภัยได้ในเวลาที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามต้องมีข้อมูลทางวิชาการสนับสนุนว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยงที่ผู้ป่วยจะได้รับอย่างชัดเจน อีกทั้งต้องมีระบบที่เข้มแข็งในการติดตามผู้ป่วยภายหลังการใช้ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูงอย่างใกล้ชิดและมีระยะเวลาเหมาะสมที่จะติดตามอาการไม่พึงประสงค์ในระยะยาว (delayed adverse effect) สามารถนำแผนการจัดการความเสี่ยง (Risk management plan) มาเป็นเครื่องมือเพื่อเก็บข้อมูล ด้านประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และ กำหนดมาตรการลดความเสี่ยงทั้งก่อนและหลัง

การใช้ผลิตภัณฑ์การแพทย์ขั้นสูง นอกจากนั้น ยังก่อให้เกิดความมั่นใจในการเข้าถึงและใช้ผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูงที่เป็นนวัตกรรมชนิดใหม่ในการ รักษาโรค อย่างไรก็ตามต้องคำนึงถึงความปลอดภัย ประสิทธิภาพและประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นกับผู้ป่วย เป็นสำคัญในการพิจารณาอนุมัติทะเบียนผลิตภัณฑ์ การแพทย์ขั้นสูง

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. แนวทาง การขึ้นทะเบียนตำรับยาที่เป็นผลิตภัณฑ์การแพทย์ ขั้นสูงชนิดผลิตภัณฑ์เซลล์บำบัด [อินเทอร์เน็ต]. 2561 [เข้าถึงเมื่อ 25 ม.ค. 2562]; เข้าถึงได้ จาก: <http://www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/Law04-Notification-ThFDA/FDA-20180510.pdf>
2. Hanna E, Rémuzat C, Auquier P, Toumi M. Advanced therapy medicinal products: current and future perspectives. *Journal of market access health policy* 2016;4 (1):310-36.
3. Alliance for Regenerative Medicine. State of the Industry [Internet]. 2019 [cited 2019 May 29]. Available from: <https://alliancerm.org/publication/q3-2019-data-report/>
4. Prabhasawat P, Ekpo P, Uiprasertkul M, Chotikavanich S, Tesavibul N. Efficacy of cultivated corneal epithelial stem cells for ocular surface reconstruction. *Clin Ophthalmol* 2012;6:1483-492.
5. Prasongtanakij S, Anurathapan U, Vanichapol T, et al. Production and characterization of haploidentical CD19 CAR T cells: validated to induce a continuous complete remission in a patient with relapsed refractory B-cell ALL [published online ahead of print, 2020 Sep 24]. *Asia Pac J Clin Oncol* 2020;18(1):44-51.
6. European Medicines Agency. GUIDELINES on Good Clinical Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products [Internet]. 2019 [cited 2019 May 19]. Available from: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-10/atmp_guidelines_en.pdf
7. European Medicines Agency. Draft Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials [Internet]. 2019 [cited 2019 May 10]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-non-clinical-clinical-requirements-investigational-advanced-therapy_en.pdf

8. United State Food and Drug Administration. Considerations for the Design of Early-Phase Clinical Trials of Cellular and Gene Therapy Products [Internet]. 2015 [cited 2019 May 9]. Available from: <https://www.fda.gov/media/106369/download>
9. European Medicines Agency. Regulation (EC) No 1394/2007 Of The European Parliament And Of The Council [Internet]. Official Journal of the European Union. 2007 [cited 2019 May 9]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:324:0121:0137:en:PDF>
10. United State food and drug administration. Cellular & Gene Therapy Products [Internet]. 2019 [cited 2019 Jun 10]. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products>
11. Azuma K. Regulatory Landscape of Regenerative Medicine in Japan. *Current Stem Cell Reports* 2015;1(2):118 - 28.
12. Okada K, Koike K, Sawa Y. Consideration of and expectations for the Pharmaceuticals, Medical Devices and Other Therapeutic Products Act in Japan. *Regen Ther* 2015; 1:80-3.
13. Nagai S. Flexible and Expedited Regulatory Review Processes for Innovative Medicines and Regenerative Medical Products in the US, the EU, and Japan. *Int J Mol Sci.* 2019 3;20(15):3801.
14. United state Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for Industry Expedited Programs for Serious Conditions – Drugs and Biologics [Internet]. 2014 [cited 2019 Jan 24] Available from: <https://www.fda.gov/media/86377/download>
15. The European Medicines Agency. Guideline on the scientific application and the practical arrangements necessary to implement Commission Regulation (EC) No 507/2006 on the conditional marketing authorisation for medicinal human use falling within the scope of Regulation (EC) No 726/2004. [Internet]. 2016. [cited 2019 Jan 24] Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-scientific-application-practical-arrange>

- ments-necessary-implement-commission-regulation-ec/2006-conditional-marketing-authorisation-medicinal-products-human-use-falling_en.pdf
16. The European Medicines Agency. Accelerated Assessment [Internet]. [cited 2019 Jan 25] Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/marketing-authorisation/accelerated-assessment>
 17. The European Medicines Agency. PRIME: priority medicines. [Internet]. [cited 2019 Jan 25] Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/prime-priority-medicines>
 18. The European Medicines Agency. Pilot project on adaptive licensing. [Internet]. 2014. [cited 2019 Jan 25] Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2014/03/WC500163409.pdf
 19. The European Medicines Agency. Guidance for companies considering the adaptive pathways approach [Internet]. 2016 [cited 2019 Jan 25] Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/guidance-companies-considering-adaptive-pathways-approach_en.pdf
 20. Ministry of Health, Labour, and Welfare. Strategy of SAKIGAKE. [Internet]. 2014. [cited 2019 Jan 24] Available from: <https://www.mhlw.go.jp/english/policy/health-medical/pharmaceuticals/140729-01.html>
 21. Schothorst M V, Krijn J W, Oortwijn W S, Hoekman J, Coppens D. Study on the regulation of advanced therapies in selected jurisdictions. [Internet]. 2016 [cited 2019 May 9] Available from: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/human-use/docs/20147306_rfs_chafea_2014_health_24_060516.pdf
 22. United State food and drug administration. Interactions with Office of Tissues and Advanced Therapies [Internet]. [updated 2022 Jun 23; cited 2023 May 20] Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/interactions-office-tissues-and-advanced-therapies>
 23. United state Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Biologics

- Evaluation and Research. Guidance for Industry Expedited Programs for Serious Conditions-Drugs and Biologics [Internet]. 2014 [cited 2019 Jan 24] Available from: <https://www.fda.gov/media/86377/download>
24. Japan Pharmaceutical Manufacturers Association. INFORMATION ON JAPANESE REGULATORY AFFAIRS Regulatory Information Task Force Japan [Internet]. 2018 [cited 2019 Jan 25] Available from: <http://www.jpma.or.jp/english/parj/whole.html>
25. Okura H, Matsuyama AJJoSCR. History of development and regulations for regenerative medicines in Japan. *J Stem Cell Res Ther* 2017;7(1):1-7.
26. The European Medicines Agency. Guideline on procedures for the granting of a marketing authorisation under exceptional circumstances, pursuant to article 14 (8) of regulation (EC) no 726/2004. [Internet]. 2005. [cited 2019 Jan 24] Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/guideline-procedures-granting-marketing-authorisation-under-exceptional-circumstances-pursuant/2004_en.pdf
27. United State food and drug administration. Approved Cellular and Gene Therapy Products [Internet]. 2023 [cited 2023 May 20] [Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>
28. Pharmaceutical and Medical Devices Agency. Review Reports: Regenerative Medical Products [Internet]. 2023 [cited 2023 May 20]. Available from: <http://www.pmda.go.jp/english/review-services/reviews/approved-information/0004.html>.
29. The European Medicines Agency. CAT quarterly highlights and approved ATMPs January 2023 [Internet]. 2023 [cited 2023 May 26]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/cat-quarterly-highlights-approved-atmps-january-2023_en.pdf

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 (2566): พฤษภาคม - สิงหาคม
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 30 No. 2 (2023): May - August

การรายงานการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากวัคซีนป้องกันโควิด-19 โรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู

ชมชนก โพธิ์เสนา¹ นันทวัฒน์ บินตะคุ¹¹โรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภูที่อยู่ติดต่อ: ชมชนก โพธิ์เสนา โรงพยาบาลศรีบุญเรือง ถนนสายราษฎร์บูรณะ เมืองใหม่ อำเภอศรีบุญเรือง หนองบัวลำภู
ประเทศไทย phosena.phar@gmail.com

Reporting of Adverse Events due to the COVID-19 Vaccine at Sriboonruang Hospital in Nong Bua Lamphu Province, Thailand

Chomchanok Phosena¹ Nantawat Bintaku¹¹Sriboonruang Hospital, Nong Bua Lumpoo**Contact address:** Chomchanok Phosena, Sriboonruang Hospital, Mueang Mai, Si Bun Rueang District,
Nong Bua Lam Phu 39180, Thailand, phosena.phar@gmail.com**Received:** 7 June 2022, **Revised:** 14 March 2023, **Accepted:** 15 May 2023

Abstract

Background: The increasing COVID-19 pandemic has prompted more vaccinations. These vaccines were being developed and produced urgently. There was still limited information, as well as a lack of information on its use in clinical practise, especially in Thailand, including available adverse event information that was only available from the manufacturer. The researchers therefore foresee the benefit of the adverse event data found in each vaccine for surveillance and protection.

Objective: To research the frequency and attribute of adverse event following COVID-19 immunization.

Methods: This research was a cross-sectional descriptive study from 1 June to 1 December 2021, using adverse event data recorded from the Patient Monitoring Services Information System database (HOSxP) of Sriboonruang Hospital, Nong Bua Lamphu Province, Thailand. It was analyzed by breaking down the data into frequency and percentage.

Results: A total of 82,349 doses were recruited, and 646 cases were reported following immunisation. The prevalence was 784.47 cases per 100,000 doses. AstraZeneca® was the most frequent; the prevalence of AstraZeneca® was 843.39 cases per 100,000 doses. A total of 37 serious adverse events were identified: 19 (51.3%) cases related with Coronavac®, 16 (43.2%) cases from Aztrazeneca®, and 2 (5.4%) cases from Comirnaty™. Two deaths-acute liver failure associated with the AstraZeneca® vaccine, and acute leukemia (severe thrombocytopenia) from Coronavac®, were considered probable. In addition, most common serious adverse events were stroke: 12 cases, from Coronavac® 8 (66.7%), and 4 cases from Aztrazeneca® (33.33%). The first dose found more severe adverse events than other doses. A total of 609 non-serious adverse events were identified, of which 1,251 symptoms were reported. The top 10 most common adverse events were classified as dizziness, accounting for 11.26% of the total number of events. It was followed by headache (9.90), nausea (9.27), myalgia (7.75), colic (7.59), chest tightness (6.47), numbness (4.48), fever (4.71), injection site pain (3.91), and rash (3.43), respectively.

Conclusion: Prevalence of adverse events occurring after the COVID-19 vaccination compared to the amount of vaccine injected was low. The majority of adverse events were non-serious. However, serious adverse events, although rare, were life-threatening and caused disability. Therefore, it is necessary to follow up and be vigilant in order to prevent incident that may occur.

Keywords: COVID-19, vaccination, adverse events following immunisation

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: สถานการณ์โควิด-19 ที่ระบาดมากขึ้นส่งผลให้มีการกระตุ้นให้ฉีดวัคซีนป้องกันมากขึ้นตาม ซึ่งวัคซีนที่ใช้เหล่านี้ มีการพัฒนาผลได้อย่างรวดเร็ว ยังมีข้อมูลจำกัด ทั้งยังขาดข้อมูลการใช้ในเวชปฏิบัติ โดยเฉพาะประเทศไทย รวมถึงข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่มี มีเฉพาะข้อมูลจากทางผู้ผลิตเท่านั้น คณะผู้วิจัยจึงมองเห็นประโยชน์ของข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่พบจากวัคซีนแต่ละชนิด เพื่อการเฝ้าระวัง และป้องกัน

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความชุก และลักษณะของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นหลังได้รับวัคซีนป้องกันเชื้อโควิด-19

วิธีวิจัย: การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาแบบตัดขวาง ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน - 1 ธันวาคม 2564 โดยใช้ข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่บันทึกจากฐานข้อมูลระบบสารสนเทศงานบริการตรวจรักษาผู้ป่วย (ระบบ HOSxP) ของโรงพยาบาลศรีบุญเรือง มาวิเคราะห์โดยแจกแจงข้อมูลเป็นความถี่ และร้อยละ

ผลการศึกษา: จากผู้เข้ารับบริการทั้งหมดจำนวน 82,349 โดส พบว่าหลังเข้ารับบริการฉีดวัคซีนพบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทั้งหมด 646 ราย เมื่อคำนวณความชุกพบว่า 784.47 เหตุการณ์ต่อ 100,000 โดส โดยวัคซีนที่พบมากที่สุดได้แก่ Astrazeneca® ความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์เป็น 843.39 เหตุการณ์ต่อ 100,000 โดส พบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทั้งหมด 646 เหตุการณ์ เป็นเหตุการณ์รุนแรงทั้งหมด 37 ราย สัมพันธ์กับวัคซีน Coronavac® จำนวน 19 ราย (51.3%) Astrazeneca® 16 ราย (43.2%) และ Comirnaty™ จำนวน 2 (5.4%) โดยพบเสียชีวิตจำนวน 2 ราย โดยจากอาการ Acute liver failure สัมพันธ์กับวัคซีน Astrazeneca® 1 ราย และอาการ Acute leukemia (Severethrombocytopenia) จาก Coronavac® 1 ราย นอกจากนั้นอาการที่พบมากที่สุด Stroke จำนวน 12 ราย จาก Coronavac® 8 ราย (66.7%) และ Aztrazeneca® 4 ราย (33.33%) พบว่าเกิดในเพศหญิง จำนวน 26 ราย รวมถึงพบว่าผู้เข้ารับบริการที่ฉีดเข็มที่ 1 พบอาการรุนแรงที่พบมากกว่าเข็มอื่น ๆ และเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่ไม่รุนแรงทั้งหมด 609 เหตุการณ์ ซึ่งพบอาการไม่พึงประสงค์ทั้งหมด 1,251 อาการ โดยพบว่าอาการไม่พึงประสงค์ 10 อันดับแรกที่พบมากที่สุด ได้แก่ วิงเวียนศีรษะ ร้อยละ 11.26 เทียบกับจำนวนอาการทั้งหมด รองลงมาได้แก่ ปวดศีรษะ (9.90) คลื่นไส้ (9.27) ปวดกล้ามเนื้อ (7.75) จุกเสียดแน่นท้อง (7.59) แน่นหน้าอก (6.47) มีนชา (4.48) ไข้ (4.71) ปวดบริเวณฉีด (3.91) และผื่น (3.43) ตามลำดับ

สรุปผล: ความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 เมื่อเทียบกับปริมาณวัคซีนที่ฉีดพบว่าเกิดน้อย ส่วนใหญ่เป็นเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ชนิดไม่รุนแรงเป็นไปตามที่ระบุในเอกสารกำกับยา อย่างไรก็ตามมีเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์รุนแรงแม้จะพบน้อยแต่ก่อให้เกิดอันตรายต่อชีวิต หรือเกิดทุพพลภาพได้ จึงจำเป็นต้องติดตาม ฝ้าระวัง เพื่อป้องกันเหตุการณ์ที่อาจจะเกิดขึ้น

คำสำคัญ: โควิด-19 การฉีดวัคซีน เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์หลังได้รับวัคซีน

บทนำ

สถานการณ์โรคติดเชื้อโควิด-19 ในวันที่ 31 พฤษภาคม 2564 จำนวนผู้ติดเชื้อสะสมทั่วโลกที่ 171,056,233 ราย เสียชีวิตสะสม 3,557,413 ราย โดยในประเทศไทยมีผู้ป่วยสะสม 130,929 ราย เป็นผู้ป่วยรายใหม่ 5,485 ราย เพิ่มขึ้นร้อยละ 4.19¹ ทั้งนี้จากสถานการณ์การติดเชื้อในปัจจุบัน ส่งผลให้กระทรวงสาธารณสุขมีการกระตุ้นให้ประชาชนฉีดวัคซีนมากขึ้น ซึ่งวัคซีนที่เริ่มใช้ในประเทศไทยตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุขในช่วงต้นปี 2564 มีการนำเข้าวัคซีนเชื้อตาย ซึ่งได้แก่ Coronavac® และ Covilo® หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อวัคซีน Sinovac และวัคซีน Sinopharm จากนั้นเริ่มมีการนำวัคซีนที่ใช้ไวรัสเวกเตอร์ ได้แก่ COVID-19 Vaccine AstraZeneca® หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อวัคซีน AstraZeneca และวัคซีนเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA vaccine) ได้แก่ Comirnaty™ หรือวัคซีน Pfizer และ Spikevax™ หรือวัคซีน Moderna วัคซีนที่ใช้เหล่านี้ มีการพัฒนาผลิตอย่างเร่งด่วน ยังมีข้อมูลจำกัด และได้รับอนุมัติใช้ในภาวะฉุกเฉิน (emergency use authorization)

เท่านั้น อีกทั้งยังขาดข้อมูลการใช้ในเวชปฏิบัติ โดยเฉพาะประเทศไทย รวมถึงเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดมีเพียงข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น (Adverse Events: AE) มีเฉพาะข้อมูลจากทางผู้ผลิตเท่านั้น โดยข้อมูลภายหลังวัคซีนออกสู่ท้องตลาดในประเทศไทยยังไม่มีรายงานมากนัก มีเพียงรายงานจากกรมการแพทย์ที่บางส่วนเป็นการรายงานโดยตัวผู้ป่วยเองผ่าน application หมอพร้อม ไม่ได้ผ่านการวิเคราะห์หรือประเมินความสัมพันธ์ของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ต่อวัคซีนโดยบุคลากรทางการแพทย์ ทั้งนี้ การประเมินอาการ/เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นหลังการได้รับยา วัคซีน อาหาร สมุนไพร โดยบุคลากรทางการแพทย์นั้น ทำให้ข้อมูลมีความน่าเชื่อถือกว่าการที่ผู้ป่วยรายงานเอง ซึ่งเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค (Adverse Events Following Immunization: AEFI) หมายถึง เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นภายหลังได้รับการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค อาจเป็นอาการไม่สบาย หรือมีผล

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการผิดปกติ โดยไม่จำเป็นต้องมีสาเหตุจากการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค อาการส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นภายใน 30 วันภายหลังจากการได้รับวัคซีน²

อำเภอศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู ในเดือนพฤษภาคม 2564 มีรายงานผู้ป่วยติดเชื้อโควิด 124 ราย และมีรายงานเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดหนองบัวลำภูจึงได้มีการกระตุ้นการฉีดวัคซีนป้องกันเชื้อโควิด-19 โดย ณ จุดบริการฉีดวัคซีนโรงพยาบาลศรีบุญเรือง มีการให้บริการวัคซีนทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ Coronavac® Covilo® Astrazeneca® Comirnaty™ และ Spikevax™ ในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ซึ่งได้มีการติดตาม เฝ้าระวังเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์หลังฉีดวัคซีน โดยโรงพยาบาลมีการติดตาม ตั้งแต่หลังฉีดวัคซีนจนถึง 30 วันหลังได้รับวัคซีน หากพบอาการที่สงสัยว่าสัมพันธ์กับวัคซีนจะทำการส่งปรึกษาเภสัชกรทุกกรณี โดยเภสัชกรจะทำการประเมินความสัมพันธ์ของเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นกับวัคซีน โดยใช้เครื่องมือ Thai's algorithm และรายงานแพทย์หรือพยาบาลทราบเพื่อดำเนินการรักษาต่อไป ในกรณีที่เหตุการณ์ที่เกิดขึ้น ผลการประเมินอยู่ในระดับตั้งแต่ possible ขึ้นไป (possible, probable และ certainly) จะมีการเก็บข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ดังกล่าว โดยจะทำการบันทึกข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น ชนิดของวัคซีนที่ฉีด จำนวนเข็มที่ได้รับ และเพศ โดยสรุปลงในฐานข้อมูลระบบสารสนเทศงานบริการตรวจรักษาผู้ป่วย (ระบบ HOSxP) และรายงาน

สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด (สสจ.)

เครื่องมือ Thai's algorithm เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์กับยา อาหาร หรือวัคซีน เป็นเครื่องมือที่ผลิตโดย ศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ เนื่องจาก Naranjo's algorithm มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ค่าถามบางข้อ ไม่สอดคล้องกับแนวปฏิบัติทางคลินิกของประเทศไทย บางข้อมีการตีความที่แตกต่างกันระหว่างผู้ประเมิน จึงได้มีการพัฒนา Thai's algorithm โดยการประยุกต์จากเกณฑ์การอนามโยโลกในรูปแบบใหม่ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ certainly, probable, possible และ unlikely ตามระดับความสัมพันธ์ โดยมีค่าความไว และความจำเพาะในการประเมินรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ใกล้เคียงกับ Naranjo algorithm³⁻⁴

ทั้งนี้เนื่องจากโรงพยาบาลศรีบุญเรือง มีการเก็บข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์เป็นงานประจำ แต่การที่มีการฉีดวัคซีนป้องกันเชื้อโควิด-19 ซึ่งเป็นวัคซีนใหม่ และมีข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ไม่มาก งานวิจัยนี้จึงนำข้อมูลดังกล่าวมา รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่พบจากวัคซีนแต่ละชนิด เพื่อการเฝ้าระวังและป้องกันเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่จะเกิดในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความชุก และลักษณะของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นหลังได้รับวัคซีนป้องกันเชื้อโควิด-19

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาแบบตัดขวาง (descriptive cross-sectional study) โดยใช้ข้อมูลตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน - 1 ธันวาคม 2564 ที่มีการบันทึกจากฐานข้อมูลระบบสารสนเทศงานบริการตรวจรักษาผู้ป่วย (ระบบ HOSxP) ของโรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู

ประชากรกลุ่มตัวอย่าง

เป็นผู้ที่ได้รับวัคซีน Coronavac®, Covilo®, Astrazeneca®, Comirnaty™ หรือ Spikevax™ ป้องกันเชื้อโควิด-19 อายุตั้งแต่ 12 ปีขึ้นไป และสงสัยว่าเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ขึ้น ณ จุดบริการวัคซีน โรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู โดยมีเกณฑ์คัดเลือกคือ

1. เป็นผู้ที่ถูกประเมินความสัมพันธ์ของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์-วัคซีน ได้ตั้งแต่ possible ขึ้นไป โดยเครื่องมือ Thai's algorithm ได้แก่ possible, probable และ Certain

2. เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นภายใน 30 วันหลังได้รับวัคซีน

เครื่องมือ

ระบบสารสนเทศงานบริการตรวจรักษาผู้ป่วย (ระบบ HOSxP) ซึ่งเป็นซอฟต์แวร์แอปพลิเคชันสำหรับสถานพยาบาล สถานีอนามัย และโรงพยาบาล เพื่อใช้สนับสนุนการทำงานต่าง ๆ เช่น การเก็บประวัติข้อมูลผู้ป่วย เป็นต้น โดยหลังจากที่มีการประเมินความสัมพันธ์ของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

แล้ว จะมีการลงข้อมูลไว้ในส่วนของการให้คำปรึกษาด้านยา (drug counselling) เพื่อการสามารถติดตามรายงานประวัติข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วย

การรวบรวมข้อมูล

เก็บข้อมูลจากระบบสารสนเทศงานบริการตรวจรักษาผู้ป่วย (HOSxP) ซึ่งได้รับการลงข้อมูลไว้ในช่วงที่ทำการศึกษา โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น ระดับความรุนแรงที่เกิด ระดับความสัมพันธ์ของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์กับวัคซีนที่ได้รับ จำนวนเข็มที่ได้รับ และเพศ

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์เชิงปริมาณแจกแจงข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ความถี่ และร้อยละ จำแนกตามวัคซีน เพศ จำนวนเข็มที่ได้รับ และเปรียบเทียบจำนวนเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นในแต่ละชนิดของวัคซีน

2. วิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ แจกแจงลักษณะของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดของวัคซีน และระบุความรุนแรงตามเกณฑ์ของ The National Coordinating Council for Medication Error Reporting and Prevention (NCC MERP) แบ่งเป็น 9 ระดับ A - I⁶ โดยกำหนดให้ระดับ A-E เป็นระดับไม่รุนแรง ระดับ F-I คือระดับรุนแรง โดยแต่ละระดับมีความหมาย ได้แก่

A เป็นผลกระทบที่ยังไม่มีความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นแต่มีโอกาสเป็นความเสี่ยง B หมายถึงผลกระทบที่เกิดความคลาดเคลื่อนแต่ยังไม่ถึง

ผู้ป่วย เช่น ผู้ที่ได้รับวัคซีนแล้วไม่มีอาการแสดงใด C เป็นผลกระทบที่เกิดความคลาดเคลื่อนถึงผู้ป่วย แต่ไม่เกิดอันตราย D เกิดความคลาดเคลื่อนถึงผู้ป่วยและทำให้ต้องมีการเฝ้าระวังเพื่อจะไม่เกิดอันตราย เช่น ผู้ที่ได้รับวัคซีนมีอาการผิดปกติ และได้รับการสังเกตอาการผิดปกติ โดยไม่ได้รับการรักษาใด ๆ E เป็นผลกระทบที่เกิดความคลาดเคลื่อนทำให้ต้องมีการรักษาเพิ่มเติม F หมายถึงผลกระทบที่เกิดความคลาดเคลื่อนทำให้ต้องมีการนอนรักษาตัวในโรงพยาบาล เช่น ผู้ที่ได้รับวัคซีนแล้วมีอาการผิดปกติ แล้วได้รับการรักษา หรือได้รับการนอนโรงพยาบาลเพื่อสังเกตอาการ G เป็นผลกระทบที่เกิดความคลาดเคลื่อน ทำให้พิการถาวร H หมายถึงเกิดความคลาดเคลื่อนทำให้ต้องมีการช่วยฟื้นคืนชีพ และ I หมายถึงเกิดความคลาดเคลื่อนทำให้เสียชีวิต เช่น ผู้ที่ได้รับวัคซีนแล้วทำให้เกิดความพิการ ต้องช่วยฟื้นคืนชีพ หรือเสียชีวิต

3. วิเคราะห์ความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 ต่อจำนวนผู้เข้ารับบริการฉีดวัคซีนทั้งหมด โดยจำแนกตามผู้ป่วย และเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่สัมพันธ์กับวัคซีนแต่ละชนิด

ผลการศึกษา

1. ข้อมูลผู้รับวัคซีนป้องกันเชื้อโควิด-19

ข้อมูลการเข้ารับบริการฉีดวัคซีนป้องกันเชื้อโควิด-19 ณ จุดให้บริการฉีดวัคซีน โรงพยาบาล

ศรีบุญเรืองจังหวัดหนองบัวลำภู ในช่วงวันที่ 1 มิถุนายน ถึง 1 ธันวาคม 2564 ซึ่งมีวัคซีน ณ จุดบริการ 5 ชนิด ได้แก่ Coronavac®, Covilo®, AstraZeneca®, Comirnaty™ และ Spikevax™ พบมีการฉีดวัคซีนจำนวนทั้งสิ้น 82,349 โดส โดยวัคซีนที่ได้รับการฉีดมากที่สุด ได้แก่ Astrazeneca® ร้อยละ 51.84 ของจำนวนโดสทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ Coronavac®, Comirnaty™, Covilo® และ Spikevax™ ตามลำดับ ซึ่งผู้เข้ารับบริการส่วนใหญ่ เป็นเพศหญิง ร้อยละ 67.99

เมื่อพิจารณาถึงจำนวนการได้รับวัคซีน พบว่า เป็นการรับบริการฉีดวัคซีนเข็มที่ 1 มากที่สุด ร้อยละ 59.49 รองลงมาได้แก่เข็มที่ 2 และ 3 ร้อยละ 39.67 และ 0.84 ตามลำดับ จากจำนวนการฉีดทั้งหมด 82,349 โดส พบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ในภาพรวมร้อยละ 0.78 โดยผู้ได้รับวัคซีนเข็มที่ 3 จะพบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์สูงกว่าเข็มที่ 2 และ 1 โดยพบร้อยละ 2.16, 0.86 และ 0.70 ตามลำดับ พบในเพศหญิงมากกว่าเพศชายเล็กน้อย (พบร้อยละ 0.81 และ 0.72)

เมื่อจำแนกชนิดของวัคซีนกับการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์โดยเทียบจำนวนโดสกับการเกิดเหตุการณ์ของวัคซีนชนิดนั้น ๆ พบว่า AstraZeneca®, Comirnaty™, Covilo® และ Coronavac® เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ใกล้เคียงกันคือร้อยละ 0.84, 0.76, 0.75 และ 0.72 ยกเว้น Spikevax™ ที่พบน้อยที่สุดในกลุ่มคือพบร้อยละ 0.16 (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนและร้อยละของการได้รับวัคซีนและการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

รายการ	จำนวน (โดส)	ร้อยละ ^A	จำนวน (AE)	ร้อยละ ^B
ชนิดวัคซีน				
AstraZeneca®	42,685	51.84	360	0.84
Coronavac®	29,007	35.22	209	0.72
Comirnaty™	9,095	11.04	69	0.76
Covilo®	934	1.34	7	0.75
Spikevax™	628	0.56	1	0.16
เข็ม				
เข็มที่ 1	48,997	59.49	345	0.70
เข็มที่ 2	32,677	39.67	286	0.86
เข็มที่ 3	695	0.84	15	2.16
เพศ				
หญิง	55,997	67.99	455	0.81
ชาย	26,352	32.01	191	0.72
รวม	82,349	100.00	646	0.78

A คือ ร้อยละของจำนวนผู้ได้รับวัคซีนแต่ละประเภท เทียบกับจำนวนผู้ได้รับวัคซีนทั้งหมด

B คือ ร้อยละของจำนวนผู้ที่ได้รับวัคซีนและเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ เทียบกับจำนวนผู้ที่ได้รับวัคซีนชนิดนั้น ๆ

2. ความชุกของการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

เมื่อคำนวณความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากวัคซีนพบว่า ความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์มากที่สุด ได้แก่ วัคซีน Astrazeneca® เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ 360 ราย จากผู้ได้รับวัคซีนชนิดนี้ทั้งหมด 42,685 โดส คิดเป็น 843.39 รายต่อ 100,000 โดส รองลงมาได้แก่วัคซีน Comirnaty™ เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ 69 ราย จากได้รับวัคซีนชนิดนี้ทั้งหมด 9,095 โดส คิดเป็น 758.65 รายต่อ 100,000 โดส ตามด้วย Covilo®

เกิดเหตุการณ์ ไม่พึงประสงค์ 7 ราย จากได้รับวัคซีนชนิดนี้ทั้งหมด 934 โดส คิดเป็น 749.46 รายต่อ 100,000 โดส ตามด้วย Coronavac® เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ 209 ราย จากผู้ได้รับวัคซีนชนิดนี้ทั้งหมด 29,007 โดส คิดเป็น 720.52 รายต่อ 100,000 โดส และสุดท้าย Spikevax™ เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ 1 ราย จากผู้ได้รับวัคซีนชนิดนี้ทั้งหมด 628 โดส คิดเป็น 159.24 รายต่อ 100,000 โดส (ดังตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์และความรุนแรงตามชนิดวัคซีน

ชนิดวัคซีน	จำนวนจริง			ความชุกต่อ 100,000 โดส	
	โดส	AE	AE รุนแรง	AE	AE รุนแรง
AstraZeneca®	42,685	360	16	843.39	37.48
Coronovac®	29,007	209	19	720.52	65.50
ComirnatyTM	9,095	69	2	758.66	21.99
Covilo®	934	7	-	749.46	-
SpikevaxTM	628	1	-	159.24	-
รวม	82,349	646	37	784.47	44.93

3. เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

จากผู้เข้ารับบริการทั้งหมด 82,349 โดส หากวิเคราะห์ถึงระดับความรุนแรงจากเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นทั้งสิ้น 646 เหตุการณ์ พบว่าเป็นเหตุการณ์ไม่รุนแรงระดับ A-E จำนวน 609 ราย (ร้อยละ 94.27 ของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทั้งหมด) เหตุการณ์รุนแรงระดับ F-I จำนวน 37 ราย (ร้อยละ 5.73) โดยเป็นความรุนแรงระดับ F 35 ราย ผลการประเมินความสัมพันธ์เชิงสาเหตุอยู่ในระดับ possible 12 ราย และ probable 23 ราย และระดับ I จำนวน 2 ราย ประเมินความสัมพันธ์เชิงสาเหตุอยู่ในระดับ probable ทั้ง 2 ราย

เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์รุนแรงทั้งหมด 37 ราย พบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ 37 อาการ (พบเสียชีวิตจำนวน 2 ราย โดยเป็นผู้ป่วยเพศชาย เกิด Acute leukemia (Severe Thrombocytopenia) สัมพันธ์กับการได้รับวัคซีน Coronovac® 1 ราย และผู้ป่วยหญิง Acute liver failure สัมพันธ์กับการได้รับวัคซีน AstraZeneca® 1 ราย

โดยผลการประเมินตาม Thai algorithm อยู่ในระดับ probable ทั้ง 2 ราย

นอกจากนั้นเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์รุนแรงที่เกิด พบว่าส่วนใหญ่สัมพันธ์กับผู้ฉีดวัคซีน Coronovac® จำนวน 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.35 ของจำนวนเหตุการณ์รุนแรงทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ AstraZeneca® 16 ราย (ร้อยละ 43.24) และสุดท้ายคือ ComirnatyTM จำนวน 2 ราย (ร้อยละ 5.40) โดยเหตุการณ์ที่พบมากที่สุดเป็น stroke (ไม่รวม minor stroke) จำนวน 12 ราย มีความสัมพันธ์ในระดับ probable 7 ราย และ possible 5 ราย

อีกทั้งพบว่าเกิดในเพศหญิง จำนวน 26 ราย ซึ่งมากกว่าเพศชายที่เกิด 11 ราย แต่ทั้งนี้อาจเนื่องจาก ผู้เข้ารับบริการส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง รวมถึงพบว่าผู้เข้ารับบริการที่ฉีดเข็มที่ 1 พบอาการรุนแรงมากกว่าเข็มอื่น ๆ อาจเนื่องมาจากผู้เข้ารับบริการเข็มที่ 2 และ 3 มีจำนวนที่น้อยกว่าเข็มที่ 1 (ดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ ระดับความรุนแรง จำนวนผู้เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ จำแนกตามประเภทของวัคซีน และเพศ

	ระดับความเสี่ยง : เหตุการณ์	ระดับความสัมพันธ์ (จำนวน)	ชนิดวัคซีน (จำนวน)				เพศ	
			รวม	SV	AZ	PZ	ชาย	หญิง
เข็มที่ 1	F: Unstable angina	Probable (1)	1	1	-	-	-	1
	F: Stroke	Probable (9)	9	7	2	-	2	6
	F: Acute pericarditis	Probable (1)	1	-	-	1	1	-
	F: Lf. Palalysis	Probable (1)	1	-	1	-	1	-
	F: Minor Stroke	Probable (1)	1	1	-	-	1	-
	F: Leptospirosis	Probable (1)	1	1	-	-	1	-
	F: IRFI	Probable (1)	1	1	-	-	-	1
	F: ITP	Possible (1)	1	1	-	-	-	1
	F: Melioidosis	Possible (1)	1	1	-	-	-	1
	F: ISRR	Probable (3)	3	2	-	1	-	3
	F: Rash/Urticaria	Probable (2)	2	1	1	-	-	2
	F: Malaise/fatigue	Possible (1)	1	-	1	-	-	1
	I: Acute leukemia (Severe Thrombocytopenia)	Probable (1)	1	1	-	-	1	-
เข็มที่ 2	F: Malaise/fatigue	Possible (1)	1	-	1	-	-	1
	F: Fever & Chill	Possible (1)	1	-	1	-	-	1
	F: Stroke	Probable (2)	2	-	2	-	2	-
	F: Acute Myocardial infarction	Probable (1)	1	-	1	-	-	1
	F: Cellulitis	Probable (1)	1	-	1	-	-	1
	F: LGIB	Probable (1)	1	-	1	-	-	1
	F: Severe Nausea/Vomiting	Possible (1)	1	1	-	-	-	1
	F: Severe headache	Possible (1)	1	1	-	-	-	1
	F: Severe Thrombocytopenia	Probable (1)	1	-	1	-	1	-
	F: AOSD	Probable (1)	1	-	1	-	1	-
I: Acute liver failure	Probable (1)	1	-	1	-	-	1	
เข็มที่ 3	F: Stroke	Probable (1)	1	-	1	-	-	1
รวม			37	19	16	2	11	26

SV= Coronavac[®] vaccine, AZ= AstraZeneca[®], IRFI=Immunization related focal neurological syndrome, AOSD=Adult-onset Still's disease, PZ=Comirnaty[™] vaccine, ISRR= Immunization Stress Related Response, ITP= immune thrombocytopenia, LGIB= lower Gastrointestinal bleeding

เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่ไม่รุนแรงทั้งหมด 609 รายพบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทั้งหมด 1,251 อาการ (ใน 1 ราย สามารถเกิดได้มากกว่า 1 อาการ) เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ 10 อันดับแรกที่พบมากที่สุด ได้แก่ วิงเวียนศีรษะ จำนวน 141 ราย (ร้อยละ 11.26) โดยพบในผู้ที่ได้รับวัคซีน AstraZeneca® มากที่สุดจำนวน 71 เหตุการณ์ (ร้อยละ 50.35) รองลงมาได้แก่อาการปวดศีรษะ 124 เหตุการณ์ พบในผู้ที่ได้รับวัคซีน AstraZeneca® มากที่สุดจำนวน 86 เหตุการณ์ (ร้อยละ 69.35) ตามด้วยอาการคลื่นไส้ ปวดกล้ามเนื้อ จุกเสียดแน่นท้อง แน่นหน้าอก มีนชาไข้ ปวดบริเวณขี้ด และผื่น ตามลำดับ

เมื่อจำแนกตามชนิดของวัคซีนจะพบว่า ผู้เข้ารับบริการวัคซีน AstraZeneca® จะพบ

อาการปวดศีรษะมากที่สุด โดยเกิดทั้งหมด 86 อาการ ตามด้วยอาการวิงเวียนศีรษะ จำนวน 71 อาการ วัคซีน Coronavac® อาการที่พบมากที่สุดได้แก่ อาการวิงเวียนศีรษะ 56 อาการ ตามด้วย จุกเสียดแน่นท้อง 43 และอาการคลื่นไส้ ที่ใกล้เคียงกัน ที่ 43 และ 41 อาการตามลำดับ วัคซีน Comirnaty™ อาการที่พบมากที่สุดได้แก่ อาการปวดกล้ามเนื้อ จำนวน 33 อาการ รองลงมาได้แก่อาการปวดศีรษะ จำนวน 21 อาการ ส่วนวัคซีน Covilo® อาการที่พบมากที่สุดได้แก่ อาการมีนชา 5 อาการ และ Spikevax™ มีอาการปวดกล้ามเนื้อ จุกเสียดแน่นท้อง และไข้ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากวัคซีน Covilo® และ Spikevax™ ณ จุดบริการยังไม่มีการฉีดมากนัก (ดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ไม่รุนแรงที่เกิดขึ้น 10 อันดับแรกแบ่งตามชนิดของวัคซีน

อาการ	จำนวน	ร้อยละ	AstraZeneca®	CoronaVac®	Covilo®	Comirnaty™	Spikevax™
1. วิงเวียนศีรษะ	141	11.26	71 (50.35)	56 (39.72)	1 (0.71)	13 (9.22)	-
2. ปวดศีรษะ	124	9.90	86 (69.35)	17 (13.71)	-	21 (16.94)	-
3. คลื่นไส้	116	9.27	59 (50.86)	41 (35.34)	2 (1.72)	14 (12.07)	-
4. ปวดกล้ามเนื้อ	97	7.75	42 (43.3)	21 (21.65)	-	33 (34.02)	1 (1.03)
5. จุกเสียดแน่นท้อง	95	7.59	34 (35.79)	43 (45.26)	2 (2.11)	15 (15.79)	1 (1.05)
6. แน่นหน้าอก	81	6.47	27 (33.33)	38 (46.91)	3 (3.70)	12 (14.81)	-
7. มีนชา	61	4.87	12 (19.67)	40 (65.57)	5 (8.20)	4 (6.56)	-
8. ไข้	59	4.71	34 (57.63)	10 (16.95)	2 (3.39)	12 (20.33)	1 (1.69)
9. ปวดบริเวณขี้ด	49	3.91	35 (71.43)	6 (12.24)	-	8 (16.33)	-
10. ผื่น	43	3.43	8 (18.60)	33 (76.74)	-	2 (4.65)	-

หมายเหตุ:

หน่วยนับ คือ จำนวนการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ (ร้อยละ)

A คือ ร้อยละการเกิดอาการไม่พึงประสงค์เทียบกับอาการทั้งหมด (จำนวน 1,251 อาการ)

B คือ ร้อยละการเกิดอาการไม่พึงประสงค์เทียบกับอาการนั้น ๆ

อภิปรายผล

ผลลัพธ์งานวิจัยนี้ชี้ชัดให้เห็นว่าความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทั้งหมด เท่ากับ 784.74 เหตุการณ์ต่อแสนโดส วัคซีนที่เกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์มากที่สุด ได้แก่ Astrazeneca® พบ 843.39 เหตุการณ์ต่อ 100,000 โดส รองลงมาเป็น Comirnaty™ Covilo® Coronavac® และ Spikevax™ ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาโดย Public Health Ontario ในประเทศแคนาดาที่พบว่าวัคซีน Astrazeneca® มีรายงานการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์มากที่สุด โดยคิดเป็น 146.2 เหตุการณ์ต่อ 100,000 โดส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเก็บข้อมูลและกลุ่มประชากรที่แตกต่างกันจึงทำให้มีความชุกที่แตกต่างกัน⁷ เช่นเดียวกับการศึกษาโดย British Columbia for Disease Control ซึ่งพบว่าวัคซีนที่เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์มากที่สุดได้แก่ Astrazeneca® ที่มีความชุกที่ 82.63 เหตุการณ์ต่อ 100,000 คน ซึ่งในการศึกษาดังกล่าววัคซีนที่ใช้ส่วนมากเป็น Spikevax™ Comirnaty™ และ AstraZeneca® จึงไม่มีข้อมูลวัคซีน Covilo® และ Coronavac®⁸ เช่นเดียวกับงานวิจัยเรื่องเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 ณ โรงพยาบาลหาดใหญ่ ที่พบว่าวัคซีน Astrazeneca® พบมากที่สุดโดยความชุกเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์อยู่ที่ 59.5 เหตุการณ์ต่อ 10,000 โดส⁹

เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทั้งหมดความชุกเป็น 784.47 เหตุการณ์ต่อ 100,000 โดส เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์รุนแรงคิดเป็นความชุก 44.93 รายต่อ 100,000 โดส ในขณะที่เดียวกับการศึกษาเรื่อง

เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 ณ โรงพยาบาลหาดใหญ่ เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์รุนแรง 4.3 เหตุการณ์ต่อ 10,000 โดส ซึ่งมีความใกล้เคียงกัน⁹ จำนวนเข็มที่ได้รับ พบว่ามีผลต่อการเกิดรายไม่พึงประสงค์ โดยเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ของผู้เข้ารับบริการเข็มที่ 1, 2 และ 3 คิดเป็นร้อยละ 0.70, 0.86 และ 2.16 ตามลำดับ ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาโดย British Columbia for Disease Control พบว่าเกิดเข็มที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 90.3, 33.4, 12.6 และ 4.1 เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดใน 100,000 โดส ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการเก็บข้อมูล กลุ่มประชากร และวัคซีนที่ใช้ศึกษามีความแตกต่างกัน⁸ เช่นเดียวกับการศึกษาเรื่องเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 ณ โรงพยาบาลหาดใหญ่ พบว่าร้อยละเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นเกิดมากที่สุดเข็มที่ 1 มากกว่าเข็มที่ 2 และ 3 ที่ 67.3, 28.3 และ 4.4 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจมีวิธีการเก็บข้อมูลที่แตกต่างกัน⁹

เมื่อวิเคราะห์ความชุกของเพศหญิงจะมีเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น คิดเป็นร้อยละ 0.81 มากกว่าผู้ชายที่พบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ คิดเป็นร้อยละ 0.72 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Subedi และคณะ ที่พบว่าในเพศหญิงมีความชุกของการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์มากกว่าเพศชาย โดยพบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ในเพศหญิงและชายที่ 837.04 และ 735.22 ของต่อ 1,000 โดส ตามลำดับ 10 เช่นเดียวกับงานวิจัยเรื่องเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

ภายหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 ณ โรงพยาบาลขนาดใหญ่ พบว่าในเพศหญิงเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้อยละ 75.3 และเพศชาย 24.79

เหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ไม่รุนแรงที่พบมากที่สุดได้แก่ อาการเวียนศีรษะ ซึ่งพบว่าข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ต่าง ๆ มีความสอดคล้องกับข้อมูลในเอกสารกำกับยาของวัคซีนแต่ละชนิด

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ การศึกษาฉบับนี้จัดทำโดยการเก็บข้อมูลจากโรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภูเพียงที่เดียว ชนิดของวัคซีนที่ใช้ในโรงพยาบาลนี้ถูกจัดตามนโยบายขององค์การเภสัชกรรม และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดหนองบัวลำภูเท่านั้น ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็น CoronaVac® และAstrazeneca® ทำให้มีข้อมูลของวัคซีนกลุ่ม mRNA ที่มีค่อนข้างน้อย รวมถึงระยะเวลาในการเก็บข้อมูลที่ค่อนข้างน้อย รวมถึงข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ในการศึกษานี้ส่วนมากเป็นการเก็บข้อมูลเชิงรับ โดยจะทำการเก็บข้อมูลเฉพาะในผู้ป่วยที่มาโรงพยาบาล ไม่ได้มีการติดตามอาการหลังได้รับวัคซีนเนื่องจากจำนวนของผู้ใช้บริการที่มีจำนวนมาก อีกทั้งในการศึกษานี้ ไม่ได้นำข้อมูลในส่วนของช่วงอายุ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ร่วม อีกทั้งในระยะแรกของการฉีดวัคซีน จะแนะนำให้ฉีดเป็นสูตรไขว้ ในการศึกษานี้ยังไม่ได้ศึกษาถึงจุดดังกล่าว

สรุปผล

ความชุกของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 เมื่อเทียบกับปริมาณวัคซีนที่ฉีดพบว่าเกิดน้อย ส่วนใหญ่เป็นเหตุการณ์

ไม่พึงประสงค์ชนิดไม่รุนแรง และมีระบุอยู่ในเอกสารกำกับยา ส่วนเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์รุนแรงแม้จะพบน้อยแต่ก่อให้เกิดอันตรายต่อชีวิต หรือเกิดทุพพลภาพได้

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการพัฒนาต่อยอด ควรมีการเก็บข้อมูลในส่วนของวัคซีนกลุ่ม mRNA มากขึ้น ระยะเวลาในการเก็บข้อมูลมากขึ้น ความสัมพันธ์กับช่วงอายุ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ร่วม รวมถึงการเก็บข้อมูลเหตุการณ์หากมีการเก็บข้อมูลในเชิงรุก ร่วมกับข้อมูลที่ได้รับอาจมีความแตกต่างกัน รวมถึงรูปแบบการฉีดวัคซีน ชนิดเดียวกัน หรือต่างชนิดกัน เช่น การฉีดวัคซีนไขว้ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมโรค, กระทรวงสาธารณสุข. รายงานสถานการณ์โรคติดต่อไวรัสโคโรนา 2019 [อินเทอร์เน็ต]. 2564 [เข้าถึงเมื่อ 25 ต.ค. 2564]. เข้าถึงได้จาก: <https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/situation/situation-no514-310564.pdf>
2. วิมล สุวรรณเกษาวงษ์, ภควดี ศรีภิรมย์, ปราโมทย์ ตระกูลเพียรกิจ, ชญานิษฐ์ เพ็ชรรัตน์, วรสิทธิ์ ศรศรีวิชัย. การประเมินการใช้ Thai Algorithm สำหรับการติดตามอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา. วารสารวิชาการสาธารณสุข 2559; 25(4): 673-82.
3. กรมควบคุมโรค, กองระบาดวิทยา. แนวทางการเฝ้าระวังและสอบสวนเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

- ภายหลังได้รับวัคซีนป้องกันโรคโควิด-19 (ฉบับปรับปรุงวันที่ 17 มิ.ย. 2564) [อินเทอร์เน็ต]. 2564 [เข้าถึงเมื่อ 25 ต.ค. 2564]. เข้าถึงได้จาก: https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/g_srrt/g_srrt_170664.pdf
4. World Health Organization. Causality assessment of an adverse event following immunization (AEFI): user manual for the revised WHO classification, 2nd ed., 2019 update [Internet]. 2021 [cited 2021 Oct 25]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241516990>
 5. กรมควบคุมโรค. แนวทางปฏิบัติสำหรับอาการไม่พึงประสงค์หลังการได้รับวัคซีนป้องกันโรคกรณีปฏิกิริยาที่สัมพันธ์กับความเครียดจากการฉีดวัคซีน กลุ่มอาการคล้ายภาวะหลอดเลือดสมอง [อินเทอร์เน็ต]. 2564 [เข้าถึงเมื่อ 25 ต.ค.2564]. เข้าถึงได้จาก: https://apps-doe.moph.go.th/boe/software/file/ISRR_25Apr2021.pdf
 6. National Coordinating Council for Medication Error Report and Prevention (NCC MERP). About Medication Errors [Internet]. 2017 [cited 2021 Oct 25]. Available from: <http://www.nccmerp.org/about-medication-errors>
 7. Public Health Ontario. Adverse Events Following Immunization (AEFIs) for COVID-19 in Ontario [Internet]. 2022 [cited 2021 Oct 25]. Available from: https://www.publichealthontario.ca/-/media/documents/ncov/epi/covid-19-aeFI-report.pdf?sc_lang=en
 8. BC Centre for disease Control, Provincial Health Service. British Columbia Report Adverse Events Following Immunization with COVID-19 Vaccines [Internet]. 2022 [cited 2021 Oct 25]. Available from: http://www.bccdc.ca/Documents/COVID19_AEFI_Monthly_Report_2022-11-24.pdf
 9. รุ่งนภา ทรงศิริพันธ์ุ, สิริวรรณ หวังวโรดม. งานวิจัยเรื่องเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีนโควิด-19 ณ โรงพยาบาลหาดใหญ่. ข่าวสารด้านยาผลิตภัณฑ์สุขภาพ 2554;24(4);64-74.
 10. Subedi P, Yadav G. K, Paudel B, Regmi A, Pyakurel P. Adverse events following the first dose of Covishield (ChAdOx1 nCoV-19) vaccination among health workers in selected districts of central and western Nepal: A cross-sectional study. PloS one 2021;16(12).

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 (2566): พฤษภาคม - สิงหาคม
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 30 No. 2 (2023): May - August

การเปรียบเทียบการหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 โดยการนับจำนวนการเกิดพลาไคและการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50%

สกาลิน ไตรศิริวานิชย์¹ สมปอง ทรัพย์สุทธิภาสน์¹ กรณิกา กุลบุตร¹ อัสมะ ยูโซะ¹ สุภาพร ภูมิอมร¹¹สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรีที่อยู่ติดต่อ: สกาลิน ไตรศิริวานิชย์ สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
sakalin.t@dmsc.mail.go.th

Comparison of the Plaque Assay and 50% Cell Culture Infectious Dose Assay Methods for Quantification Measuring SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 Strain Infectivity

Sakalin Trisiriwanich¹, Sompong Sapsutthipas¹, Kornnika Kullabutr¹, Ashma Yuso¹, Supaporn Phumiamorn¹¹Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences**Contact address:** Sakalin Trisiriwanich, Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health Tivanon Rd, Nonthaburi 11000, Thailand. sakalin.t@dmsc.mail.go.th**Received:** 3 January 2023, **Revised:** 16 May 2023, **Accepted:** 18 May 2023

Abstract

Background: The Corona Virus Disease 2019 (COVID-19), which causes from the Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus (SAR-CoV-2), is an emerging disease that several organizations have tried to develop vaccines against the viruses and therapeutic medicines, including specific anti-viral drugs. Therefore, viral cultivation and quantification are necessary for the laboratory testing. Most of common methods to quantify the viral titer are the Plaque and CCID₅₀ assays.

Objective: To compare the quantity of the SAR-CoV-2 and the consumption resources test between the plaque and CCID50 assays (original strain).

Methods: This study was an experimental research from March to June 2020 by comparing the quantification of the SAR-CoV-2 between both methods using the same virus set at 80 tests in the same period.

Results: The results showed that the geometric means of viral titers determined by the plaque and CCID50 assays were 5.97 log PFU/ml and 6.00 log CCID50/ml, respectively. The percentages of the coefficient of variance of the methods were 4.09 and 3.29, respectively. The statistical analysis by the Paired-t test showed no statistically significant difference between these two methods at a 95% confidence interval. In addition, the ratio of viral titers of the mean over the geometric mean ranged between 0.87 and 1.13. However, the CCID50 assay was faster by requiring only 4 days of testing and more cost-effective by using fewer materials, equipment, and medium.

Conclusions: The determination of SARS-CoV-2 virus counting by the plaque counting method and the 50% cell culture infection test showed no difference in results, but testing for 50% infection in cell cultures was faster and more cost-effective. It revealed that both methods can be used to quantify the SARS-CoV-2 titer, which can be applied to detect immune responses in COVID-19 patients as well as in COVID-19 vaccine testing further in animals and humans.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, plaque assay, CCID50 assay

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา-2019 (โควิด-19) ที่เกิดจากเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 เป็นโรคอุบัติใหม่ที่หลายองค์กรพยายามพัฒนาวัคซีนหรือยาด้านไวรัสที่จำเพาะ จึงจำเป็นต้องมีการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนและหาค่าปริมาณไวรัสเพื่อนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ การหาปริมาณไวรัสที่นิยมใช้กันมากมี 2 วิธีคือ การนับจำนวนการเกิดพลาค์ และการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50%

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบและหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 และความเปลี่ยนแปลงทรัพยากรที่ทำการทดสอบโดยวิธีการนับจำนวนการเกิดพลาค์ และการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50%

วิธีการวิจัย: เป็นการวิจัยเชิงทดลองระหว่างเดือนมีนาคม - มิถุนายน 2563 โดยเปรียบเทียบการหาปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 ระหว่างทั้งสองวิธีโดยใช้เชื้อไวรัสชุดเดียวกัน ทดสอบในช่วงเวลาเดียวกัน จำนวน 80 การทดสอบ

ผลการศึกษา: พบว่าผลจากการนับจำนวนการเกิดพลัค และการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% มีค่าปริมาณไวรัสเฉลี่ยเท่ากับ 5.97 log PFU/ml และ 6.00 log CCID50/ml ตามลำดับ ทั้งสองวิธีมีค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของผลการทดสอบเท่ากับ 4.09 และ 3.29 ตามลำดับ จากการทดสอบทางสถิติด้วย paired - t test พบว่าทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value > 0.5 โดยค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณไวรัสจากวิธีทั้งสองทั้งค่าเฉลี่ยเลขคณิตและค่าเฉลี่ยเรขาคณิตอยู่ระหว่าง 0.88 ถึง 1.14 โดยการทดสอบด้วยการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% มีความรวดเร็วโดยใช้เวลาทดสอบเพียง 4 วันและประหยัดค่าใช้จ่ายในการใช้วัสดุ อุปกรณ์ และอาหารเลี้ยงเซลล์ที่น้อยกว่า

สรุปผล: การหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 ด้วยวิธีการนับจำนวนการเกิดพลัค และการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% ให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่การทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% มีความรวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่ายกว่า สามารถนำวิธีทั้งสองไปใช้ในการหาปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 และพัฒนาการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ในผู้ป่วย รวมถึงเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันโรคโควิด-19 ทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์ต่อไปได้

คำสำคัญ: SARS-CoV-2 โควิด-19 วิธีนับจำนวนการเกิดพลัค วิธีทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50%

บทนำ

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา-2019 (Corona Virus Disease 2019: COVID-19) ที่เกิดจากเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์กลุ่มอาการทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2: SARS-CoV-2) ซึ่งเป็นเชื้ออุบัติใหม่ มีรายงานตรวจพบผู้ป่วยรายแรก

ในเมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ในปลายเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 และแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว องค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) จึงประกาศเป็นการระบาดใหญ่หลังจากเชื้อลุกลามไปอย่างรวดเร็วในทุกภูมิภาคของโลก¹⁻⁴ ซึ่งการดูแลรักษาเป็นไปอย่างฉุกเฉิน

ทำให้หลายประเทศรวมทั้งประเทศไทยวิจัยพัฒนาวัคซีนโควิด-19 อย่างเร่งด่วนในรูปแบบต่าง ๆ อาทิ วัคซีนเชื้อตาย DNA, mRNA, viral vector, protein subunit และ virus-like particle เป็นต้น⁵⁻⁹ ปัจจุบันมีวัคซีนที่ได้รับการอนุมัติการขึ้นทะเบียนในทั่วโลก 49 ผลิตภัณฑ์¹⁰ และอยู่ระหว่างการศึกษารวิจัยในสัตว์ทดลองและการศึกษาวิจัยในมนุษย์อย่างน้อย 20 ชนิด¹¹ ซึ่งในการพัฒนาการผลิตวัคซีนต้องอาศัยเชื้อไวรัสต้นแบบสำหรับการพัฒนารวมถึงการใช้เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อไวรัส SARS-CoV-2 ในสัตว์หรือในคนที่ได้รับวัคซีนต้นแบบ มีความจำเป็นต้องมีการแยกเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 จากผู้ป่วย ทำการเพิ่มจำนวนไวรัสให้ได้ปริมาณมากในเซลล์เพาะเลี้ยง และตรวจหาปริมาณไวรัสเพื่อใช้ศึกษาวิจัย

วิธีการทดสอบหาปริมาณไวรัสนิยมทำในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีความไวต่อเชื้อไวรัสที่ถือเป็นวิธีมาตรฐานคือการนับจำนวนการเกิดพลาคว (plaque assay) และการทดสอบการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง 50% (50% Cell Culture Infectious Dose: CCID₅₀)^{6-9,12-19} ซึ่งทั้งสองวิธีเป็นการทดสอบทางชีววิธี (bioassay) โดยตรวจนับปริมาณไวรัสที่มีชีวิตและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ Cytopathic Effects (CPE) ซึ่ง plaque assay อาศัยหลักการที่เชื้อไวรัสเพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีความจำเพาะต่อเชื้อและทำให้เซลล์ตายเมื่อเจือจางปริมาณเชื้อไวรัสใส่ไปในเซลล์เพาะเลี้ยงที่เป็น monolayer ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ ไวรัส

1 อนุภาคจะเข้าไปในเซลล์และเพิ่มจำนวนทำให้เซลล์ตาย เกิดเป็นช่องว่างใน monolayer เรียกว่า plaque นับจำนวน plaque นำมาคำนวณปริมาณไวรัส^{8-9,12-14,16,17} ส่วนวิธี CCID₅₀ เป็นการหาค่าปริมาณไวรัสในระดับการเจือจางไวรัสสุดท้าย (end point) ที่ทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงเกิด CPE ที่ 50% โดยนับจำนวนหลุมที่เซลล์เกิด CPE นำมาคำนวณหาระดับการเจือจางไวรัสที่ทำให้ลายเซลล์ 50% ^(7,9,11-13,17) แม้ทั้งสองวิธีการเป็นที่นิยมใช้ในการหาปริมาณไวรัส และมีการศึกษาหาความสัมพันธ์ของการทดสอบทั้งสองวิธีในเชื้อไวรัสต่าง ๆ เช่น mumps virus filovirus^{9,19} เป็นต้น แต่ยังไม่พบรายงานความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 ที่มีหน่วยเป็น Plaque Forming Unit (PFU)/ml และ CCID₅₀/ml มาก่อน ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ของผลการทดสอบ และความสิ้นเปลืองทรัพยากรระหว่างวิธีการทดสอบหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 โดยวิธี Plaque Assay และวิธี CCID₅₀ Assay ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเปรียบเทียบค่าระหว่างห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีที่แตกต่างกัน และจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาความสัมพันธ์ของการทดสอบระดับภูมิคุ้มกันโดยวิธี plaque reduction neutralization test และ microneutralization test ในการหาระดับภูมิคุ้มกันเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน รวมถึงการคัดเลือกวิธีที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 จากการทดสอบโดยวิธี plaque assay และ CCID₅₀ assay
2. เพื่อเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงทรัพยากรในการทดสอบโดยวิธี plaque assay และ CCID₅₀ assay

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงทดลองระหว่างเดือนมีนาคม - มิถุนายน 2563 โดยทำการทดสอบหาค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1 ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยภายในประเทศ และเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero โดยวิธี plaque assay และวิธี CCID₅₀ assay ทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลการทดสอบทั้ง 2 วิธี และหาความสัมพันธ์ของค่าที่ได้ โดยการเตรียมเซลล์เพาะเลี้ยงและเตรียม reagent ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการชีวอนามัยระดับ 2 ของสถาบันชีววัตถุ และทดสอบค่าปริมาณไวรัสที่ชีวอนามัยระดับ 3 ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กลุ่มตัวอย่าง

ไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ Wuhan-Hu-1(hCoV-19/Thailand/74/2020) ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วย

เพศหญิง อายุ 74 ปี ที่เดินทางมาจากเมืองอู่ฮั่น ประเทศจีน ที่พิสูจน์คุณลักษณะแล้วด้วยวิธี Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)16 นำมาเพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero และแบ่งบรรจุปริมาตร 0.12 ml ในหลอดพลาสติกขนาด 2.0 ml จำนวน 700 หลอด เก็บที่อุณหภูมิ -70 °C ในการศึกษานี้ทำการสุ่มไวรัสจำนวน 80 หลอดเพื่อทำการทดสอบ

เครื่องมือ

1. ตู้ชีวนิรภัย ระดับ 2 (biological safety cabinet class II)
2. ห้องชีวนิรภัย ระดับ 2 และ 3 (biosafety level 2 and 3) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
3. ตู้บเพาะเชื้ออุณหภูมิ 37 °C ที่มี 5% CO₂ (37 °C incubator, 5% CO₂)
4. ตู้ดูดควันสารเคมี (chemical fume hood)

ขั้นตอนการศึกษา

1. เพาะเลี้ยงเซลล์ Vero ในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 225 cm² ใช้อาหารเลี้ยงเซลล์สำเร็จรูป Minimum Essential Medium (MEM) โดยเติม 1% L-glutamine (Gibco) และ 10% fetal bovine serum (HyClone) ที่ถูก inactivated ที่อุณหภูมิ 56 °C นาน 30 นาที ในตู้บอุณหภูมิ 37 °C แบบใช้ 5% CO₂ เมื่อเซลล์เพิ่มจำนวนเป็น monolayer มากกว่าร้อยละ 90 ของพื้นที่ขวดเพาะเลี้ยง ทำการ passage ในอัตราส่วน 1:10 ในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่ขนาดเท่าเดิม เพาะเลี้ยง

เซลล์เป็นเวลา 3 วัน จะได้เซลล์เป็น monolayer พร้อมใช้ทดสอบ และทำการ passage โดยสุ่มตรวจ การปนเปื้อนเชื้อไมโครพลาสมาเป็นระยะ 18-22 และจำกัดการใช้เซลล์ไม่เกิน 20 passages นับจากการเริ่มใช้ครั้งแรกที่ได้รับเซลล์มา

2. เพิ่มจำนวนไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero ในขวดพลาสติกขนาด 25 cm² ที่อุณหภูมิ 37 °C แบบใช้ 5% CO₂ นาน 20-24 ชั่วโมง จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้งและเติมไวรัส SARS-CoV-2 ลงในเซลล์ Vero อบที่ 37 °C นาน 1-2 ชั่วโมง จากนั้นเติม MEM 7 ml ที่มี 2% FBS อบที่อุณหภูมิ 37 °C แบบใช้ 5% CO₂ นาน 4-5 วัน สังเกต Cytopathic Effect (CPE) ที่เกิดขึ้นหลังการติดเชื้อไวรัสในเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์เทียบกับขวดที่เลี้ยงเซลล์ Vero โดยไม่มีไวรัส เมื่อเกิด CPE ในเซลล์ประมาณ 80-90% เก็บไวรัสโดยการดูดเป่าเซลล์ขึ้นลงหลายครั้ง และทำการ freeze-thaw 2 ครั้งที่อุณหภูมิ -70 °C และ 37 °C จากนั้นเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อปั่นแยกเซลล์กับไวรัสที่ระดับความเร็ว (relative centrifuge force) 500 x g นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C นำส่วนใสที่มีไวรัสมาขยายเพิ่มจำนวนในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 175 cm² ด้วยวิธีการเดียวกัน จัดเก็บส่วนใสที่มีไวรัสไว้ที่อุณหภูมิ -70 °C เพื่อสำหรับใช้ในการศึกษา

3. ทดสอบหาปริมาณไวรัส โดยผู้วิเคราะห์ 3 คนทำการทดสอบขั้นตอนที่เหมือนกัน โดยวิธี Plaque Assay และ CCID50 Assay ที่เป็นอิสระต่อกัน (independent test) ทดสอบวิธีละ 10-20 ครั้ง รวมวิธีละ 40 ครั้ง

3.1 ทดสอบหาปริมาณไวรัส ด้วยวิธี plaque assay โดยเติมเซลล์เพาะเลี้ยง Vero จำนวน 2 x 10⁵ เซลล์/ml ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่มี 10% FBS ปริมาตร 3 ml/หลุม ลงในเพลท 6 หลุม บ่มนาน 1 วัน ที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มี 5% CO₂ จากนั้นเติมไวรัส SARS-CoV-2 ที่ระดับความเจือจาง 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ และ 10⁻⁶ ตามลำดับ ในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่มี 2% FBS ปริมาตร 200 ml/หลุม ทำอย่างน้อย 2 ซ้ำในแต่ละความเจือจาง นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ดูดเอาไวรัสส่วนเกินออกจากเซลล์ และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 1% L-glutamine, 2% FBS และ 1.2 % carboxy methyl cellulose ลงไปปริมาตร 3 ml/หลุม นำไปบ่มที่ 37 °C ที่มี 5% CO₂ นาน 6-7 วัน ตรวจนับจำนวน plaque ในแต่ละหลุม เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณไวรัส ในรูป PFU/ml โดยจำนวน plaque ที่นำมาคำนวณ ต้องมีค่าระหว่าง 10-150 plaque /หลุม^{6,13,23}

3.2 ทดสอบหาปริมาณไวรัส ด้วยวิธี CCID₅₀ Assay โดยนำไวรัส SARS-CoV-2 มาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM ที่มี 2% FBS ที่ระดับความเจือจาง 10⁻¹, 10^{-1.5}, 10⁻², ..., 10⁻⁶ เติมแต่ละความเจือจางลงในเพลท 96 หลุม ปริมาตร 50 µl/หลุม ความเจือจางละ 8 หลุม จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 50 µl/หลุม และเซลล์เพาะเลี้ยง Vero จำนวน 2 x 10⁵ เซลล์/ml ปริมาตร 100 µl/หลุม โดยมีหลุมควบคุมที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเซลล์ นำไปบ่มที่ 37 °C, 5% CO₂ นาน 4 วัน ตรวจนับจำนวน CPE ที่เกิดขึ้นในแต่ละหลุม และ

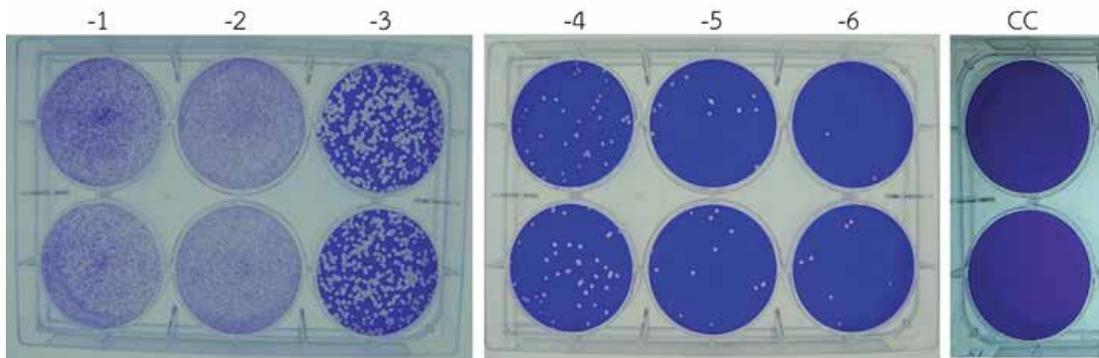
3. หาค่าความสัมพันธ์ของค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 ระหว่างวิธี plaque assay และ CCID50 assay โดยนำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ ข้อมูลเชิงปริมาณเปรียบเทียบกัน ใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (mean) ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric Mean: GM) ค่ามัธยฐาน (median) ค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (percent of Coefficient of Variance: %CV) หาอัตราส่วน ผลการทดสอบระหว่างวิธี และ paired t-test²⁵

ผลการศึกษา

1. การทดสอบหาปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 โดยวิธี Plaque Assay

การเกิด plaque ในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero หลังการติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 นาน 6 วัน ภายหลังจากยัดเซลล์ให้ติดกันหลุมด้วย 10% formaldehyde และย้อมเซลล์ด้วย 0.5% crystal violet จำนวน plaque ลดลงตามลำดับการเจือจาง ดังแสดงในรูปที่ 1

ไวรัสถูกเจือจางตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-1} ถึง 10^{-6} (เรียงลำดับภาพจากซ้ายมือมาขวามือ ตามลำดับ) โดยเซลล์ควบคุมปกติ (cell control: CC) ไม่เกิด plaque



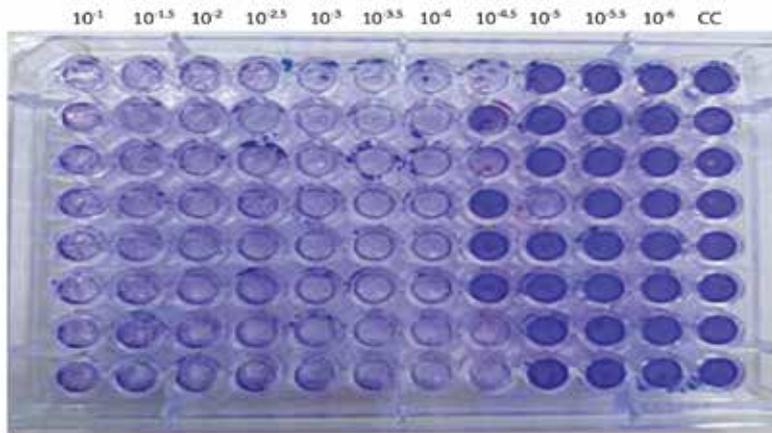
รูปที่ 1 ผลการทดสอบปริมาณ plaque ของไวรัส SARS-CoV-2 ในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero โดยวิธี Plaque Assay

2. การทดสอบหาปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 โดยวิธี CCID₅₀ Assay

การเกิด CPE ในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero หลังการติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 นาน 4 วัน ภายหลังจาก fix ย้อมด้วย 10% formaldehyde

และย้อมเซลล์ด้วย 0.5% crystal violet ทำให้เห็น เซลล์หลุดลอกจากเพลทชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 2

ไวรัสถูกเจือจางตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-1} ถึง 10^{-6} (เรียงลำดับภาพจากซ้ายมือมาขวามือ ตามลำดับ) โดยเซลล์ควบคุมปกติ (CC) ไม่เกิด plaque



รูปที่ 2 ผลการทดสอบปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 โดย CCID₅₀ assay ในเซลล์เพาะเลี้ยง Vero

3. ค่าความสัมพันธ์ของค่าปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 ระหว่างวิธี Plaque Assay และ CCID₅₀ Assay

การทดสอบโดยวิธี plaque assay และ CCID₅₀ assay จำนวนวิธีละ 40 ครั้ง จากนักวิเคราะห์

3 คน ให้ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (GM) เท่ากับ 5.97 log PFU/ml และ 6.00 log CCID₅₀/ml โดยให้ค่า %CV ของ plaque assay และ CCID₅₀ assay เท่ากับ 4.09 และ 3.29 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบผลการทดสอบปริมาณไวรัสระหว่างวิธี Plaque Assay และ CCID₅₀ Assay

	log PFU/ml		log CCID ₅₀ /ml	
	5.77	5.48	5.99	6.18
	5.92	6.22	5.93	6.18
	5.92	6.14	6.18	5.99
	5.70	6.05	5.55	5.93
	5.77	6.03	5.55	6.18
	5.94	6.42	5.61	5.92
	6.04	6.28	5.86	6.07
	5.69	6.21	6.11	6.07
	5.97	6.43	5.99	5.86
	5.87	6.23	6.24	5.92
	5.70	6.03	5.99	6.09
	5.67	6.01	6.43	6.19
	5.82	6.08	6.18	5.84
	5.68	6.35	6.05	6.12
	5.93	6.24	5.99	6.03
GM	5.98		6.00	
S.D.	0.24		0.20	
%CV	4.09		3.29	

หมายเหตุ log log PFU หมายถึง ลอการิทึมของ plaque performing unit
log CCID₅₀ หมายถึง ลอการิทึมของ 50% cell culture infectious dose

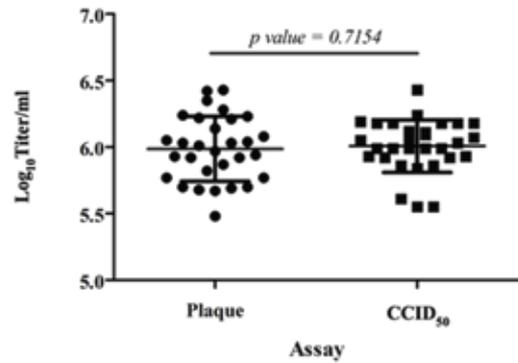
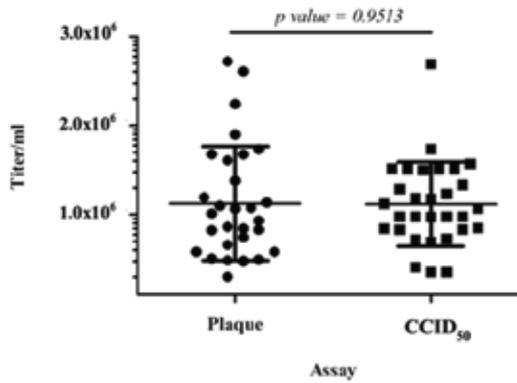
การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณเปรียบเทียบ พบว่าวิธี plaque assay มีค่าสูงสุดและต่ำสุดที่ 23.00×10^5 และ 4.05×10^5 PFU/ml ค่าเฉลี่ยเลขคณิต เท่ากับ 10.26×10^5 PFU/ml ค่า GM เท่ากับ 8.92×10^5 PFU/ml และค่ามัธยฐาน เท่ากับ 9.35×10^5 PFU/ml ส่วนโดยวิธี CCID₅₀ Assay มีค่าสูงสุดและต่ำสุดที่ 26.92×10^5 และ 3.56×10^5 CCID₅₀/ml ค่าเฉลี่ยเลขคณิต เท่ากับ 11.39×10^5 CCID₅₀/ml ค่า GM เท่ากับ 10.16×10^5 CCID₅₀/ml และค่ามัธยฐาน เท่ากับ 10.22×10^5 CCID₅₀/ml เมื่อวิเคราะห์อัตราส่วนความสัมพันธ์ของค่า PFU/ml ต่อค่า CCID₅₀/ml ของค่าเฉลี่ยเลขคณิต เท่ากับ 0.90 และค่า GM เท่ากับ 0.88 ในทำนองเดียวกันค่าอัตราส่วนความสัมพันธ์ของค่า

CCID₅₀/ml ต่อค่า PFU/ml ของค่าเฉลี่ยเลขคณิต เท่ากับ 1.11 และ ค่า GM เท่ากับ 1.14 และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณไวรัสที่เป็นค่าลอการิทึม (logarithm) อัตราส่วนความสัมพันธ์ของค่า log PFU/ml ต่อ ค่า log CCID₅₀/ml ของค่าเฉลี่ยเลขคณิต และค่า GM เท่ากับ 0.99 ส่วนอัตราส่วนความสัมพันธ์ของค่า log CCID₅₀/ml ต่อค่า log PFU/ml ของค่าเฉลี่ยเลขคณิต และค่า GM เท่ากับ 1.01 ซึ่งผลการทดสอบของทั้ง 2 หน่วยทดสอบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นที่ 95% ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อดูค่าการกระจายตัวของข้อมูลของทั้ง 2 วิธี พบว่าทั้ง 2 วิธีมีการกระจายของข้อมูลไม่แตกต่างกัน (p -value > 0.05) ดังแสดงในรูปที่ 3

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ข้อมูล

พารามิเตอร์	PFU (P)/ml	log PFU/ ml	CCID ₅₀ (C)/ml	log CCID ₅₀ /ml
1. ค่าต่ำสุด	3.01×10^5	5.48	3.56×10^5	5.55
2. ค่าสูงสุด	27.21×10^5	6.22	26.92×10^5	6.43
3. ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (mean)	11.24×10^5	5.86	11.16×10^5	6.01
4. ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (GM)	9.67×10^5	5.86	10.18×10^5	6.00
5. ค่ามัธยฐาน	9.72×10^5	5.89	10.22×10^5	5.99
6. อัตราส่วนค่าเฉลี่ยเลขคณิต	P/C = 1.01	P/C = 1.00	C/P = 1.00	C/P = 1.02
7. อัตราส่วนค่าเฉลี่ยเรขาคณิต	P/C = 0.95	P/C = 0.98	C/P = 1.00	C/P = 1.02
8. Paired-t-test (p=0.05)	PFU-CCID ₅₀ = 0.95		log PFU - log CCID ₅₀ = 0.72	

หมายเหตุ log log PFU หมายถึง ลอการิทึมของ plaque performing unit
log CCID₅₀ หมายถึง ลอการิทึมของ 50% cell culture infectious dose



การกระจายข้อมูลในหน่วย PFU และ CCID₅₀

การกระจายข้อมูลในหน่วย log PFU และ log CCID₅₀

รูปที่ 3 การกระจายของข้อมูลจากผลการทดสอบโดยวิธี plaque assay และ CCID₅₀ assay

3. ความสิ้นเปลืองทรัพยากรในการทดสอบด้วยวิธี Plaque Assay และ CCID₅₀ Assay

เมื่อนำวิธีทั้ง 2 มาเปรียบเทียบขั้นตอนวัสดุและความสิ้นเปลืองในการวิเคราะห์ พบว่าทั้ง 2 วิธีมีการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงและอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเดียวกัน มีความแตกต่างตรงปริมาณและปริมาตร

การใช้ มีวิธีการทดสอบที่แตกต่างกันทำให้ระยะเวลาของการทดสอบและการอ่านผลแตกต่างกัน ซึ่งวิธี CCID₅₀ assay เป็นการทดสอบที่รวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายและในเวลาที่เท่ากันสามารถทำการทดสอบได้หลายตัวอย่างกว่าวิธี plaque assay ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบขั้นตอน วัสดุ และความสิ้นเปลืองระหว่างวิธี Plaque Assay และ CCID₅₀ Assay

พารามิเตอร์	Plaque assay	CCID ₅₀ assay
เพลทเพาะเลี้ยงเซลล์	6-หลุม	96-หลุม
ปริมาณเซลล์	2 X 10 ⁵ เซลล์/ml	2 X 10 ⁵ เซลล์/ml
ปริมาตรเซลล์ต่อหลุม	3.0 ml	0.1 ml
อาหารเลี้ยงเซลล์	MEM + 10% FBS	MEM + 2% FBS
การลงเซลล์ก่อนทดสอบ	24 ชั่วโมง	0
ปริมาณไวรัส	0.1 ml/หลุม	0.05 ml/หลุม
จำนวนซ้ำของการทดสอบ	2 หรือ 3 หลุม/ความเจือจาง	8-10 หลุม/ความเจือจาง
ความเจือจางต่อ 1 เพลท	2 - 3 ความเจือจาง	7 - 11 ความเจือจาง
จำนวนเพลทต่อ 1 ตัวอย่าง	3 เพลท	1 เพลท
ระยะเวลาบ่มให้ไวรัสเข้าเซลล์	1 ชั่วโมง	0
Semisolid medium	1% carboxy methyl cellulose ใน MEM + 2% FBS	0

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบขั้นตอน วัสดุ และความสัมพันธ์เปลี่ยนระหว่างวิธี Plaque Assay และ CCID₅₀ Assay (ต่อ)

พารามิเตอร์	Plaque assay	CCID ₅₀ assay
การบ่ม	37 °C, 5% CO ₂	37 °C, 5% CO ₂
ระยะเวลาการทดสอบ	6-7 วัน	4-5 วัน
ขั้นตอนการย้อมสี	Fix เซลล์ ด้วย 10% formaldehyde	Fix เซลล์ ด้วย 10% formaldehyde
	ปริมาตร 3.0 ml/หลุม 30 นาที	ปริมาตร 0.1 ml/หลุม 30 นาที
	สี crystal violet	สี crystal violet
	ปริมาตร 1.0 ml/หลุม 30 นาที	ปริมาตร 0.1 ml/หลุม 30 นาที
การอ่านผล	นับจำนวน plaque/well/dilution	นับจำนวน well ที่เกิด CPE ทั้งหมด
ระยะเวลาการอ่านผล	5 นาที/เพลท	1 นาที/เพลท

อภิปรายผล

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าทั้งวิธี plaque assay และ CCID₅₀ assay มีความสม่ำเสมอ มีการกระจายของผลการทดสอบต่ำ ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลทั้ง 80 ผลการทดสอบที่เป็นอิสระต่อกัน (independent test) จากผู้วิเคราะห์ 3 คน มีค่า %CV 3.48 และ 3.61 ตามลำดับ โดยต่ำกว่าค่าที่กำหนดไว้ที่ 5% แสดงถึงความเที่ยงของการทดสอบซ้ำในคนเดียว และระหว่างคนของทั้ง 2 วิธี จากผลการศึกษาหาปริมาณไวรัส พบว่า plaque assay มีการกระจายตัวของผลการทดสอบใกล้เคียงกับ CCID₅₀ assay แต่มีแนวโน้มการกระจายตัวมากกว่า ทั้งสองวิธีมีค่าต่ำสุดและสูงสุดรวมทั้งค่า mean ที่ใกล้เคียงกัน แต่ค่า GM และค่ามัธยฐานของ CCID₅₀ assay สูงกว่าเล็กน้อย จึงมีแนวโน้มว่าค่า CCID₅₀ สูงกว่า PFU จากผลการเปรียบเทียบค่า GM ของ plaque assay ต่อ CCID₅₀ assay ได้ประมาณ 0.88 แต่ทั้งนี้ในภาพรวมของการเปรียบเทียบทั้งค่า mean และค่า GM

ทั้งสองมีความใกล้เคียงกันมาก เมื่อแปลงหน่วยเป็นลอการิทึม โดยอัตราความสัมพันธ์ค่า log PFU/ml ต่อ log CCID₅₀/ml และค่า log CCID₅₀/ml ต่อ log PFU/ml ใกล้เคียง 1.00 เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดสอบทั้งสองวิธีโดยสถิติ paired-t-test พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน (p>0.05) สามารถกล่าวได้ว่า 1 PFU/ml เท่ากับ 1 CCID₅₀/ml ปัจจุบันวิธี plaque assay เป็นวิธีมาตรฐานและใช้กันโดยกว้างขวางกว่า CCID₅₀ assay มีการศึกษาเปรียบเทียบทั้ง 2 วิธีนี้ในการหาปริมาณไวรัสหลายชนิด และมีอัตราส่วนความสัมพันธ์ต่างกันไป ในไวรัสแต่ละชนิด โดยบางรายงานพบว่า CCID₅₀ assay ให้ค่าที่สูงกว่า เช่น Smither S.J และคณะ พบว่าในการหาปริมาณ Filovirus ค่าจาก CCID₅₀ assay สูงกว่า plaque assay ประมาณ 10 เท่า¹⁹ หรือ Forcic D. และคณะ พบว่าอัตราส่วนปริมาณไวรัส Mumps ระหว่าง CCID₅₀ และ plaque assay อยู่ระหว่าง 0.66 ถึง 10⁹ ซึ่งหากพิจารณาตามลักษณะผลการเกิด CPE ใน CCID₅₀ assay นั้นเป็นการ

วัดเชิงคุณภาพ หากมีไวรัส 1 อนุภาคเมื่อเกิด CPE จะนับเป็น 1 positive well ส่วน plaque assay เป็นการนับ plaque ของไวรัสแต่ละอนุภาค จึงเป็นการนับเชิงปริมาณโดยตรง และเมื่อจำกัด การเคลื่อนที่โดยการเติม semi-solid medium อาจมีไวรัสถูกจำกัดการเคลื่อนที่ทำให้โอกาสเห็น plaque เพิ่มขึ้นได้ยาก จึงเป็นไปได้ที่ค่า CCID₅₀ จะสูงกว่า

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นข้อบ่งชี้ว่า การหาปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 โดยวิธี plaque และวิธี CCID₅₀ assay สามารถนำมาใช้ได้ในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้ผู้วิจัยได้วิเคราะห์ห้วงองค์ประกอบ ความคุ้มค่าของทั้งสองวิธี เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการตัดสินใจเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมแต่ละห้องปฏิบัติการ การทดสอบโดย plaque assay ต้องใช้ เซลล์ อาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาณมาก ทำการทดสอบ ได้ช่วงการเจือจางน้อยกว่า อาจต้องใช้เวลาที่ต่อหาระดับการเจือจางที่เหมาะสมที่ครอบคลุมการเกิด plaque 10-100 PFU/well เพื่อให้การนับจำนวน plaque ที่แม่นยำขึ้น¹³ ใช้จำนวนเพลทมากกว่า ในหนึ่งการทดสอบ และใช้เวลาในการทดสอบ นานกว่า CCID₅₀ assay ดังนั้น CCID₅₀ assay อาจเหมาะสมในกรณีที่ต้องการผลการทดสอบ ที่เร่งด่วน มีปริมาณตัวอย่างจำนวนมาก อีกทั้ง มีค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่า ทั้งนี้หากทำการทดสอบกับไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์อื่นผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ระหว่าง 2 วิธีอาจมีค่าแตกต่างไปจากการศึกษานี้ เนื่องด้วยคุณลักษณะเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์

ที่จะมีผลทำให้ระยะเวลาการเจริญเพิ่มจำนวนของ ไวรัสและขนาด plaque ที่แตกต่างกัน

ปัจจุบันการทดสอบเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 มีวิธีที่หลากหลาย มีเทคโนโลยีการวิเคราะห์ปริมาณ เชื้อไวรัสที่จำเพาะ สะดวกและรวดเร็วขึ้น เช่น การทดสอบ plaque assay โดยใช้ไวรัสเทียม (pseudo virion) การทำ microtitration ด้วยการ ย้อม fluorescent การวิเคราะห์ด้วย Quantitative Real time PCR, Sandwich ELISA, mass spectrometry หรือ flow cytometer เป็นต้น ที่สามารถทำการทดสอบในห้องชีวนิรภัยระดับ 2 ได้²⁶⁻²⁷ แต่ทั้งนี้ยังไม่พบการศึกษาเปรียบเทียบ ผลการทดสอบระหว่างวิธีต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม วิธีที่ทั่วโลกใช้อ้างอิงเป็นมาตรฐานยังคงเป็นวิธี plaque assay โดยไวรัสเชื้อเป็นอยู่ การศึกษา ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีและเลือกใช้วิธีที่มีความ สิ้นเปลืองต่ำกว่าจะสามารถลดค่าใช้จ่าย ในห้องปฏิบัติการได้

สรุปผล

ผลการทดสอบปริมาณไวรัสระหว่างวิธี Plaque assay และ CCID₅₀ assay มีข้อมูล ไปในทิศทางเดียวกัน และผลจากการวิเคราะห์ ข้อมูลพบว่าทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน ของค่าปริมาณไวรัส อีกทั้งมีความแม่นยำที่มีค่า ใกล้เคียงกันที่แสดงโดยค่า %CV จากผลการศึกษา สามารถนำวิธีทั้งสองไปใช้ในการหาปริมาณไวรัส SARS-CoV-2 และการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัส

SARS-CoV-2 ในผู้ป่วย รวมถึงเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันโรค COVID-19 ต่อไปได้ ทั้งนี้การทดสอบโดย CCID₅₀ assay มีความสิ้นเปลืองทรัพยากรน้อยกว่าทั้งอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ จำนวนเพลท และระยะเวลาการทดสอบ จึงเป็นวิธีที่ควรนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ

ข้อเสนอแนะ

ตลอดระยะเวลาการระบาดตั้งแต่ปลายปี 2562 จนถึงปัจจุบัน ไวรัส SARS-CoV-2 เปลี่ยนแปลงสายพันธุ์อย่างรวดเร็ว ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบการหาปริมาณไวรัสทั้งสองวิธีเพิ่มเติมในแต่ละสายพันธุ์ รวมถึงศึกษาความสัมพันธ์ของการทดสอบระดับภูมิคุ้มกันโดยวิธี plaque reduction neutralization test และ micro neutralization test ต่อไปเพื่อเป็นวิธีทางเลือก และสามารถลดต้นทุนค่าใช้จ่ายได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ hCoV-19/Thailand/47/2020 และสถาบันวัคซีน ที่สนับสนุนทุนวิจัยที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Hui DS, I Azhar E, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O, Ippolito G, Mchugh TD,

Memish ZA, Drosten C, Zumla A, Petersen E. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health-The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis* 2020;91:264-66.

2. Wong ACP, Li X, Lau SKP, Woo PCY. Global Epidemiology of Bat Coronaviruses. *Viruses* 2019;11(2):174.

3. Sexton NR, Smith EC, Blanc H, Vignuzzi M, Peersen OB, Denison MR. Homology-Based Identification of a Mutation in the Coronavirus RNA-Dependent RNA Polymerase That Confers Resistance to Multiple Mutagens. *J Virol* 2016;90(16): 7415-7428.

4. World Health Organization. WHO announces COVID-19 outbreak a pandemic [Internet]. WHO; 2020 [cited 2020 Jun 12]. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/news/news/2020/3/who-announces-covid-19-outbreak-a-pandemic>

5. Steenhuisen, Julie; Kelland, Kate. "With Wuhan virus genetic code in hand, scientists begin work on a vaccine". Thomson 25 January 2020). [cited 12 June 20]; [screens]. Available from:

- URL: Available from: <https://www.reuters.com/article/us-china-health-vaccines/with-wuhan-virus-genetic-code-in-hand-scientists-begin-work-on-a-vaccine-idUSKBN1ZN2J8>
6. Fukuda A, Sengün F, Sarpay HE, Konobe T, Saito S, Umino Y, Kohama T. Parameters for plaque formation in the potency assay of Japanese measles vaccines. *J Virol Methods* 1996;61(1-2):1-6.
 7. World Health Organization. WHO. Requirements for varicella vaccine (live). Technical Report Series No. 848. 1994; Annex 1.
 8. Husson-van Vliet J, Colinet G, Yane F, Lemoine P. A simplified plaque assay for varicella vaccine. *J Virol Methods* 1987;18(2-3):113-20.
 9. Forcic D, Kosutić-Gulija T, Santak M, Jug R, Ivancic-Jelecki J, Markusic M, Mazuran R. Comparisons of mumps virus potency estimates obtained by 50% cell culture infective dose assay and plaque assay. *Vaccine* 2010;17;28(7):1887-92.
 10. Covid 19 Vaccine tracker. Approved Vaccines; [update 2022 Oct 28; cite 2022 Oct 30]. Available from: <https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/approved/#vaccine-list>
 11. กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม. อว. เผยความก้าวหน้าของการวิจัยวัคซีนโควิด 19 โดยนักวิจัยไทยความคาดหวังของประเทศ [อินเทอร์เน็ต]. 2564 [วันที่ปรับปรุง 15 เม.ย. 2564; เข้าถึงเมื่อ 30 ต.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก: https://www.mhesi.go.th/index.php/en/content_page/item/4228-168641.html
 12. Recommendation for Japanese encephalitis vaccine (inactivated) for human use (revised 2007). WHO Expert Committee on Biological Standardization.2007; Annex 1
 13. Guidelines for the production and control of Japanese Encephalitis vaccine (live) for human use. Technical Report Series No. 910. 2002; Annex 3.
 14. Requirements for measles, mumps and rubella vaccines and combined vaccines (live). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO Technical Report Series No. 840. 1994; 102-201.
 15. Requirements for poliomyelitis vaccine (Oral). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO Technical Report Series No. 800. 1990.
 16. Cooper PD. The plaque assay of animal viruses. *Adv Virus Res* 1961;8:319-78.

17. Yan C, Cui J, Huang L, Du B, Chen L, Xue G, et al. Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clin Microbiol Infect* 2020;26(6):773-779.
18. Shurtleff AC, Bloomfield HA, Mort S, Orr SA, Audet B, Whitaker T, et al. Validation of the Filovirus Plaque Assay for Use in Preclinical Studies [Internet]. 2016 [cited 12 Jun 2020]; [screens]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4848606/>
19. Smither SJ, Lear-Rooney C, Biggins J, Pettitt J, Lever MS, Olinger GG Jr. Comparison of the plaque assay and 50% tissue culture infectious dose assay as methods for measuring filovirus infectivity. *J Virol Methods*. 2013 Nov;193(2):565-71.
20. Freshey RI. Culture of animal cells: A Manual of Basic Technology (4th ed), Wiley-Liss, Inc 1994;290-96.
21. Low IE. Mycoplasma in tissue culture: Overview of detection methods. *Health Lab Sci* 1976; 13(2):129-36.
22. Chen TR. In situ detection of mycoplasma contamination in cell cultures by fluorescent Hoechst 33258 stain. *Exp Cell Res* 1977;104(2): 255-62.
23. Shurtleff AC, Biggins JE, Keeney AE, Zumbrun EE, Bloomfield HA, Kuehne A, et al. Standardization of the Filovirus Plaque Assay for Use in Preclinical Studies. *Viruses* 6;4(12):3511-30.
24. Ramakrishnan MA. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World J Virol* 2016;5(2):85-6.
25. Niroumand H, Zain MFM, Jamil M. Statistical methods for comparison of data sets of construction methods and building evaluation. *Procedia Soc Behav Sci* 2013;89:218-21.
26. Onen EA, Sonmez k, Yildirim F, Demirci EK, Gurel A. Development, analysis, and preclinical evaluation of inactivated vaccine candidate for prevention of Covid-19 disease. *All Life* 2022; 15(1): 771-93.
27. Saadi J, Oueslati S, Bellanger L, Gallais F, Dortet L, Roque – Afonso AM, et al. Quantitative Assessment of SARS-CoV-2 Virus in Nasopharyngeal Swabs Stored in Transport Medium by a Straightforward LC-MS/MS Assay Targeting Nucleocapsid, Membrane, and Spike Proteins. *J Proteome Res*. 2021;20(2):1434–443.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 (2566): พฤษภาคม - สิงหาคม
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 30 No. 2 (2023): May - August

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ Charge Variants ในยาอะดาลิมูแมบ โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ

เกวลิน รักษาสรณ์¹ สุดาทิพย์ สุนสิน¹ สายวรุฬ จตุรภิตตินันท์¹¹สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรีที่อยู่ติดต่อ: เกวลิน รักษาสรณ์ สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
Kawalin.r@dmsc.mail.go.th

Method Validation for Determination of Charge Variants in Adalimumab by Ion-Exchange Chromatography

Kawalin Raksasorn¹, Sudatip Sunsini¹, Saiwarul Jadoonkittinan¹¹Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Nonthaburi, Thailand

Contact address: Kawalin Raksasorn, Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Mueang District, Nonthaburi, 11000, Thailand, Kawalin.r@dmsc.mail.go.th

Received: 17 August 2022, Revised: 19 May 2023, Accepted: 29 May 2023

Abstract

Background: Adalimumab, fully human recombinant immunoglobulin G1, is a highly specific monoclonal antibody that binds to Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and prevents its interaction with receptors. Currently, all versions of adalimumab both originator and biosimilar, are widely used to treat rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases. During its commercial manufacturing, adalimumab is produced by biotechnological techniques that may change the charge variants on biomolecules. These modifications may impact on biological activity, immunogenicity, and stability. Consequently, the quality control of these drugs is significant in order to ensure that patients receive quality drugs according to the international standard. Characterization of protein charge variants using ion-exchange chromatography, including ionic strength condition or pH gradient mode, is useful for qualitative and quantitative analysis.

Objectives: This study aimed to validate a method for the determination of charge variants in adalimumab by ion-exchange chromatography according to the International Conference on Harmonization (ICH) guidelines and to be used as a standard protocol in laboratory quality control of marketed adalimumab prior to release for supply in the country.

Method: Validation for the determination of charge isoforms in adalimumab was performed by a pH-gradient cation-exchange chromatography with testing parameters including specificity, precision, accuracy, linearity, limit of quantitation, limit of detection, and robustness.

Results: The results indicated that the method was specific for adalimumab determination with linearity over the concentration range of 1.00 to 10.00 mg/ml. The percentage of relative standard deviations of repeatability and intermediate precision were less than 5%. The percentage of recovery in the accuracy range was 90% to 110%, while the limits of quantitation and detection were 2.50 and 0.70 mg/ml, respectively. The method demonstrates robustness when changing the shelf life of the mobile phase.

Conclusions: The results of the study suggested that this method had specificity, precision, accuracy, linearity, and robustness. Hence, it is suitable for a standard method in quality control of adalimumab products for registration purposes in Thailand.

Keywords: monoclonal antibody, adalimumab, ion-exchange chromatography

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: ยาอะดาลิมีแอมบชนิด fully human recombinant immunoglobulin G1 ออกฤทธิ์ในการยับยั้ง TNF- α ปัจจุบันนี้มีทั้งยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึง ใช้รักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์และการอักเสบต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งผลิตโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ มีโอกาสที่จะได้ประจุของยา (charge

variants) ที่แตกต่างกันในแต่ละครั้งของการผลิต การเปลี่ยนแปลงอาจส่งผลกระทบต่อออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ระบบภูมิคุ้มกันและความคงตัวของผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้นการควบคุมคุณภาพจึงมีความสำคัญเพื่อให้ผู้ป่วยได้รับยาตามมาตรฐาน การวิเคราะห์ charge variants มักใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ โดยใช้หลักการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ หรือเพิ่ม pH เพื่อแยกสารตามประจุที่แตกต่างกัน ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

วัตถุประสงค์: ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ charge variants ของยาอะดาลิมีแอม ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ ตาม ICH guidelines เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ยาอะดาลิมีแอม

วิธีการวิจัย: ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ เช่น ความจำเพาะ ความเที่ยง ความแม่นยำ ความเป็นเส้นตรง การตรวจวัดเชิงปริมาณและขีดจำกัดในการตรวจพบ และความคงทนของวิธี

ผลการศึกษา: พบว่ามีวิธีนี้มีความจำเพาะ ความเป็นเส้นตรงในช่วง 1.00 ถึง 10.00 mg/ml มี %RSD ของการทำซ้ำในวันเดียวกันและต่างวัน ไม่เกิน 5 มีค่าความเที่ยงอยู่ในช่วง 90-110% และสามารถตรวจวัดเชิงปริมาณได้ 2.50 mg/ml มีขีดจำกัดของการตรวจพบ 0.70 mg/ml และวิธีมีความคงทนเมื่อเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการเก็บรักษาสารละลายเฟสเคลื่อนที่

สรุป: วิธีนี้มีความจำเพาะ ความแม่นยำ ความเที่ยง ความเป็นเส้นตรงตลอดช่วงที่วิเคราะห์และวิธีมีความคงทนเหมาะสมนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพของยาอะดาลิมีแอมเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนจำหน่ายในประเทศ

คำสำคัญ: โมโนโคลนอลแอนติบอดี อะดาลิมีแอม โครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ

บทนำ

ยาโมโนโคลนอลแอนติบอดีชนิดอะดาลิมีแอม (adalimumab) มีโครงสร้างเป็น fully human recombinant immunoglobulin G1 (IgG1) ที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงในการยับยั้ง tumor

necrosis factor-alpha (TNF- α) ทำให้ไม่สามารถจับกับ TNF- α receptor ที่อยู่บนผิวเซลล์ได้¹ ส่งผลให้ลดการหลั่ง TNF- α ซึ่งเป็น cytokine ที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการอักเสบ² ดังนั้น

ยาอะดอลิมุแมบจึงมีบทบาทสำคัญในการใช้รักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันและด้านการอักเสบที่มีประสิทธิภาพและมีอาการข้างเคียงต่ำ เช่น โรคข้ออักเสบ รูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) โรคข้ออักเสบเรื้อรังโดยไม่ทราบสาเหตุ (juvenile idiopathic arthritis) โรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) โรคกระดูกสันหลังอักเสบยึด (ankylosing spondylitis) โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรังของระบบทางเดินอาหาร หรือโรคโครห์น (Crohn's disease) โรคลำไส้ใหญ่อักเสบเรื้อรัง (ulcerative colitis) โรคม่านตาอักเสบ (uveitis) โรคผิวหนังที่มีการอักเสบของต่อมเหงื่อ (hidradenitis suppurativa) เป็นต้น³ โดยยา Humira® เป็นยาอะดอลิมุแมบต้นแบบหรือยาชีววัตถุต้นแบบ (originator product) ของบริษัท แอ็บบอต ลาบอแรตอรีส์ ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นครั้งแรกจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. FDA) เมื่อ ค.ศ. 2002⁴

เมื่อยาต้นแบบหมดสิทธิบัตรลง มีการผลิตยาชีววัตถุคล้ายคลึง (biosimilars) ของยาอะดอลิมุแมบ เพิ่มมากขึ้น เช่น Exemptia®, 5 Amgevita®, Cyltezo®, Hyrimoz®, Hadlima® Abrilada®, Hulio® และ Yusimry® เป็นต้น⁶ ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ (recombinant DNA technology) ในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian cell expression system) ที่มีความจำเพาะ ใช้กระบวนการทางห้องปฏิบัติการที่ซับซ้อน เนื่องจากองค์ประกอบหลักของยาเป็นโปรตีนขนาดใหญ่ที่มี

ความซับซ้อน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 1,330 ตัว และมีน้ำหนักโมเลกุล 148 kDa¹ จึงต้องมีการควบคุมการผลิตเป็นอย่างดี ตั้งแต่สารอาหารกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ สารเคมี วิตามิน แร่ธาตุและฮอร์โมนที่ใช้ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (cell culture media) ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ในการผลิตสารสำคัญที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ⁷ กระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (purification process) และสุดท้าย คือ การควบคุมสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (storage condition) หากไม่สามารถควบคุมกระบวนการผลิตให้มีความสม่ำเสมอและเหมาะสมได้ จะทำให้ได้โมเลกุลของโปรตีนและประจุของยา (charge variants or charge isoforms) ที่แตกต่างกันเนื่องจากเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างหรือโมเลกุลของโปรตีน เช่น การเกิดกระบวนการ glycosylation, oxidation, deamination, isomerization และ fragmentation เป็นต้น⁸⁻¹⁰ อาจส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะสำคัญ (critical quality attributes) ของตัวยา รวมทั้งความคงตัว (stability) การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) และอาจส่งผลกระทบต่อความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ (immunogenicity)¹⁰⁻¹²

ดังนั้นการควบคุม charge variants จึงมีความสำคัญเพื่อให้ได้ยาที่มีคุณภาพตรงตามเกณฑ์ที่กำหนดของแต่ละผลิตภัณฑ์ แต่เนื่องจากปัจจุบันยังมีข้อมูลด้านนี้อย่างจำกัด จึงต้องติดตามตรวจสอบ

ความสม่ำเสมอของคุณลักษณะประจุโมเลกุลของยา โดยตำรายาสากลแนะนำให้ตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะ charge isoforms ของประจุนยา เพื่อบ่งบอกถึงความเป็นเอกลักษณ์และลักษณะโครงสร้างของยา (structural integrity) ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกันมากกว่า 1 วิธี โดยวิธีที่เลือกใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของโมโนโคลนอลแอนติบอดี เช่น peptide mapping, isoelectric focusing, ion-exchange chromatography, hydrophobic interaction chromatography, oligosaccharide mapping, monosaccharide content และ mass spectrometry เป็นต้น เพื่อให้มั่นใจว่าผลการวิเคราะห์เป็นไปตามข้อกำหนดและสอดคล้องกัน¹³ เทคนิคที่นิยมใช้ในปัจจุบัน พิจารณาจากคุณสมบัติประจุที่แตกต่างกันตามจุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point: pI) ได้แก่ วิธีวิเคราะห์หือเล็กโทรโฟริซิสแบบแคปิลลารี (Capillary Electrophoresis: CE) ชนิด Isoelectric Focusing (cIEF) และวิธีโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ (Ion-exchange Chromatography: IEC)¹⁴⁻¹⁵ แสดงค่า pI ออกมาในรูปแบบของ charge isoforms ประกอบด้วย acidic variants (acidic peaks) ซึ่งปรากฏออกมา ก่อนหน้าพีคหลัก (main peak) และ basic variants (basic peaks) จะปรากฏหลังจาก main peak¹⁶ โดยค่าประจุของโปรตีนจะแปรผันตามความเข้มข้นของเกลือในสารละลายบัฟเฟอร์ (salt concentration) ที่ใช้ในการชะประจุออกจากเรซินภายในคอลัมน์ ซึ่งวิธีนี้ี้จะมีความจำเพาะต่อการแยกโมเลกุลของ

โปรตีนที่แตกต่างกัน นอกจากนี้มีการใช้เทคนิคการแยกประจุของโปรตีนตามค่า pH (pH gradient) ซึ่งเป็นวิธีที่เริ่มนิยมใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถใช้ในการวิเคราะห์ประจุของโปรตีนได้หลากหลายชนิด เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ และมีความสามารถในการแยกที่ดี (high resolution) ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบ (charge isoforms) ของตัวอย่างนั้น ๆ ได้¹⁷⁻²⁰ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงพัฒนาหาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ charge variants ในยาอะดาลิฟูแมบ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตาม ICH Q2(R1) guidelines²¹ เพื่อพิสูจน์ความเหมาะสม ความน่าเชื่อถือ และสามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการในการควบคุมผลิตภัณฑ์ยาต้นแบบ (originator) และยาชีววัตถุคล้ายคลึง (biosimilars) ของยาอะดาลิฟูแมบ ประกอบการขึ้นทะเบียนจำหน่ายในประเทศไทยต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ charge variants ของยาอะดาลิฟูแมบ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ
2. เพื่อนำวิธีมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพยาอะดาลิฟูแมบทั้งยาต้นแบบ และยาชีววัตถุคล้ายคลึง เพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนจำหน่ายในประเทศไทย

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีการวิจัย

เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (experimental research) ระหว่างเดือนมกราคมถึงสิงหาคม 2564 โดยดำเนินการศึกษาพัฒนาวิธีหาสภาวะที่เหมาะสม และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีในการวิเคราะห์ charge variants ในยาอะดาลิฟูแมบ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ

กลุ่มตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างยาที่จัดซื้อจากบริษัทผู้ผลิต ได้แก่ ยาต้นแบบเป็นยาชีววัตถุอ้างอิง (reference biological medicinal product) ของยาอะดาลิฟูแมบ ขนาด 40 mg/0.80 ml จำนวน 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิฟูแมบ จำนวน 1 ยี่ห้อ (กำหนดเป็นชื่อยี่ห้อ A) ขนาด 40 mg/0.80 ml จำนวน 1 ตัวอย่าง และตัวอย่างยาชีววัตถุคล้ายคลึงชนิดทรานซูซูแมบ ขนาด 150 mg จำนวน 1 ตัวอย่าง

สภาวะที่ใช้ในการศึกษาโครมาโทกราฟีแบบ

แลกเปลี่ยนประจุ (IEC)

เฟสเคลื่อนที่ A คือ 20 mM phosphate buffer, pH 7.30 และเฟสเคลื่อนที่ B คือ 20 mM phosphate buffer, pH 8.70 เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อการฉีดสาร 1 ครั้ง เท่ากับ 57 นาที โดยใช้ gradient elution ในการแยกสาร เริ่มจากเฟสเคลื่อนที่ A 100% และเฟสเคลื่อนที่ B 0% และลดความเข้มข้นของเฟสเคลื่อนที่ A เป็น 0% และเพิ่มความเข้มข้นของเฟสเคลื่อนที่ B เป็น 100%

ในระยะเวลา 57 นาที อัตราการไหล 0.80 mL/min อุณหภูมิคอลัมน์ 30 °C ปริมาณการฉีดสารในการวิเคราะห์ คือ 50 µg และความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดสารที่ 280 nm

เครื่องมือ

1. น้ำ ชนิด HPLC grade และสารเคมี AR grade (Sigma-aldrich) ได้แก่ sodium dihydrogen phosphate monohydrate และ disodium hydrogen phosphate anhydrous

2. เครื่อง HPLC Shimadzu รุ่น Prominence สำหรับตรวจวัดสารแบบไดโอดอะเรย์ (Photo Diode Array: PDA) วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม LabSolutions คอลัมน์ชนิด Ion Exchange ProPac™WCX-10 Analytical column (Thermo fisher scientific) (4×250 mm ขนาด 10 µm) เครื่องซั่ง 2 ตำแหน่ง และ 5 ตำแหน่ง เครื่องวิเคราะห์ที่ไอออน (pH meter) และแผ่นกรองไนลอนขนาด 0.20 µm

ขั้นตอนดำเนินการ

1. เตรียมยาชีววัตถุอ้างอิงและตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ รวมทั้งการทดสอบ system suitability โดยเจือจางยาชีววัตถุอ้างอิงและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิฟูแมบยี่ห้อ A ด้วยละลายเฟสเคลื่อนที่ A ให้มีความเข้มข้น 5 mg/ml แล้วนำไปกรองด้วยแผ่นกรองไนลอนขนาด 0.20 µm

2. ทดสอบ system suitability ยาต้นแบบอะดาลิฟูแมบ จำนวน 6 ซ้ำ โดยผลวิเคราะห์ที่ได้ คือ โครมาโทแกรมของ charge variants ประกอบด้วย

acidic peaks, main peak และ basic peaks ค่า Retention Time (RT) ของ main peak นำมาคำนวณ %RSD ต้องไม่เกิน 5.00 และค่า resolution ระหว่าง main peak และ basic peaks ต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.50

3. ตรวจสอบความถูกต้องของวิธี (method validation)

3.1 การทดสอบความจำเพาะของวิธี (specificity) ของตัวอย่างยาต้นแบบและยาชีววัตถุ คล้ายคลึงอะดาลิมูแมบ ยี่ห้อ A, formulation buffer ของยาอะดาลิมูแมบ ตัวอย่างยาชีววัตถุ คล้ายคลึงชนิดทราสทูซูแมบ ยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิมูแมบ ยี่ห้อ A ที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 1 ชั่วโมง (stress condition) ผลการวิเคราะห์ของยาต้นแบบและยาชีววัตถุ คล้ายคลึงอะดาลิมูแมบ ยี่ห้อ A ที่ได้ต้องให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ chromatographic profile คล้ายคลึงกันโดยไม่มีการรบกวนของสารอื่นในตัวอย่าง และในสภาวะ stress condition พบลักษณะ โครมาโทแกรมที่แตกต่างไปจากสภาวะปกติ

3.2 การทดสอบความเที่ยง (precision) ยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิมูแมบ ยี่ห้อ A จำนวน 9 ซ้ำ ภายในวันเดียวกัน (repeatability) และวิเคราะห์ต่างวัน จำนวน 3 ซ้ำ 3 วัน โดยนักวิเคราะห์ 2 คน (intermediate precision) แล้วคำนวณค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% Relative Standard Deviation: %RSD)

ของพื้นที่ acidic peaks และ basic peaks ต้องไม่เกิน 10.00 และ main peak ต้องไม่เกิน 5.00 แล้วเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ต่างวัน โดยใช้สถิติ one-way ANOVA และระหว่างนักวิเคราะห์ 2 คน โดยใช้สถิติ independent-sample T-Test

3.3. ทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ยาต้นแบบอะดาลิมูแมบ ความเข้มข้น 1.00, 2.50, 5.00, 7.50, 10.00 mg/ml จำนวน 3 ซ้ำ นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของยาต้นแบบและค่าเฉลี่ยพื้นที่ของ acidic peaks, main peak และ basic peaks ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination: R²) ควรมีค่าใกล้เคียง 1 หรือค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient: r) มีค่า ≥ 0.999 ²²

3.4 ทดสอบความแม่นยำ (accuracy) โดยการเติมยาต้นแบบอะดาลิมูแมบ ความเข้มข้น 1.00, 2.00 และ 4.00 mg/ml ลงใน formulation buffer ทำการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วคำนวณค่าร้อยละของการกลับคืน (% recovery) โดยค่าที่ได้ต้องอยู่ในช่วง 90.00-110.00

3.5 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation: LOQ) เจือจางยาต้นแบบอะดาลิมูแมบ แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยค่า LOD คือ ความเข้มข้นของสารที่ให้ค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน (Signal-to-noise ratio: S/N) เท่ากับ 3:1 และ LOQ คือ ความเข้มข้น

ของสารที่ให้ค่า S/N เท่ากับ 10:1 และจากนั้นทำการวิเคราะห์ความเที่ยง (precision) และความถูกต้อง (accuracy) เพื่อยืนยันค่า LOQ

3.6. ทดสอบความคงทนของวิธี (Robustness) การทดสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์สำหรับเทคนิควิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีตาม ICH Q2(R1) guideline ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่างของเฟสเคลื่อนที่ องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ ยี่ห้อของคอลัมน์รวมทั้งรุ่นการผลิต (lot number) ของคอลัมน์ที่แตกต่างกัน อุณหภูมิ และอัตราการไหล 21 ดังนั้นในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์นี้ ทำการวิเคราะห์ยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิμουแมบ เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของคอลัมน์ จากอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสตามสภาวะที่เลือกไว้ เป็น 20 และ 40 °C และเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการเก็บรักษาเฟสเคลื่อนที่ A และ B จากเดิมเก็บได้นาน 1 สัปดาห์ เปลี่ยนเป็นเก็บได้นาน 2 และ 4 สัปดาห์ และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยพื้นที่ main peak โดยใช้สถิติ one way-ANOVA

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. วิเคราะห์ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation, %RSD) ใช้สูตร

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

\bar{X} = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด

2. วิเคราะห์ค่าร้อยละของการกลับคืน (% recovery) ใช้สูตร

$$\% \text{ recovery} = \frac{(C1 - C2)}{C3} \times 100$$

เมื่อ C1 คือ ความเข้มข้นของสารใน formulation buffer ที่วัดได้หลังจากเติมยาต้นแบบอะดาลิμουแมบ

C2 คือ ความเข้มข้นของสารใน formulation buffer ที่ไม่ได้เติมยาต้นแบบอะดาลิμουแมบ

C3 คือ ความเข้มข้นของยาต้นแบบอะดาลิμουแมบที่ทราบค่า

นิยามศัพท์เฉพาะ²³

ยาต้นแบบ หรือยาชีววัตถุต้นแบบ (originator product) หมายถึง ยาชีววัตถุที่ได้รับการขึ้นทะเบียนภายใต้เงื่อนไขการขึ้นทะเบียนด้วยเอกสารอย่างเต็มรูปแบบทั้งด้านคุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพ โดยเป็นผลิตภัณฑ์แรกในโลก

ยาชีววัตถุอ้างอิง (reference biological medicinal product) หมายถึง ยาชีววัตถุที่นำมาใช้อ้างอิงในการศึกษาเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกันกับยาชีววัตถุคล้ายคลึงโดยตรง และเป็นยาชีววัตถุต้นแบบที่มีการขึ้นทะเบียนในประเทศไทยอย่างเต็มรูปแบบ

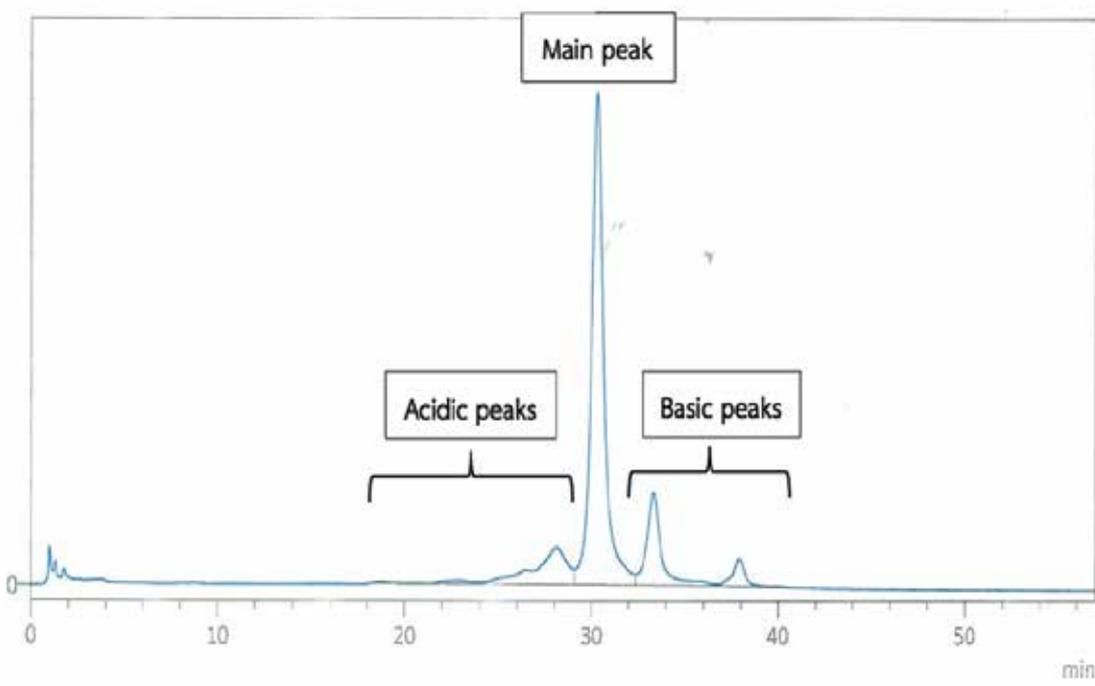
ยาชีววัตถุคล้ายคลึง (biosimilars) หมายถึง ยาชีววัตถุที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันในแง่คุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพ เมื่อเปรียบเทียบกับยาชีววัตถุอ้างอิงที่ได้รับการขึ้นทะเบียนแล้ว

อย่างเต็มรูปแบบ โดยยาชีววัตถุคล้ายคลึงต้องมี International Nonpropriety Name (INN) เดียวกันกับยาชีววัตถุอ้างอิง

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบ System Suitability

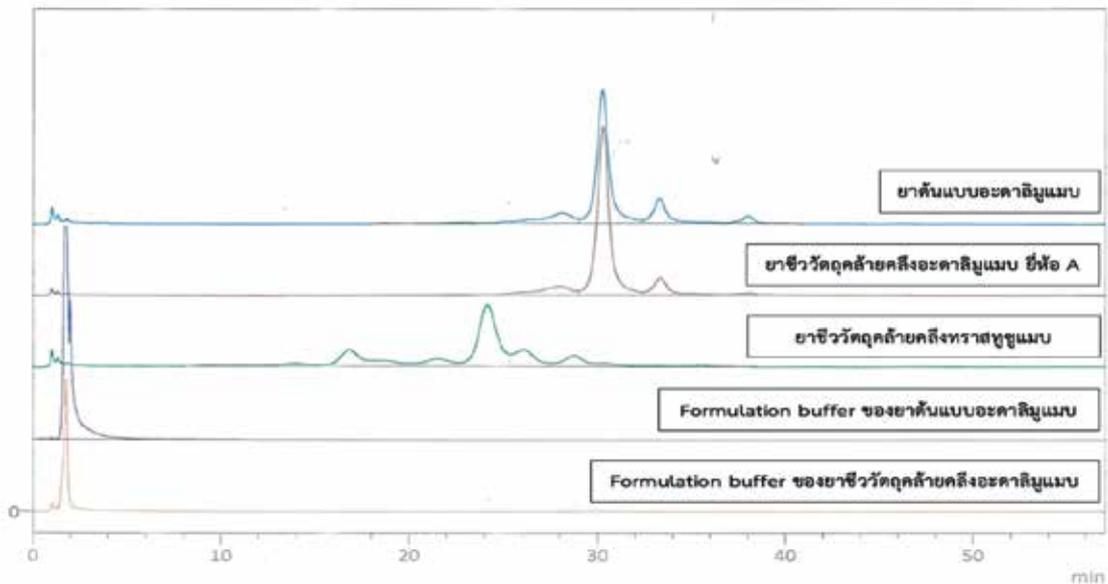
ผลวิเคราะห์ system suitability ของยาดันแบบอะดาลิมูแมบ จำนวน 6 ซ้ำ พบว่า โครมาโทแกรม ประกอบด้วย acidic peaks, main peak และ basic peaks และผลวิเคราะห์ RT ของ main peak มีค่า % RSD เท่ากับ 0.15 และค่า resolution มีค่าเท่ากับ 2.74 ซึ่งไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ดังรูปที่ 1



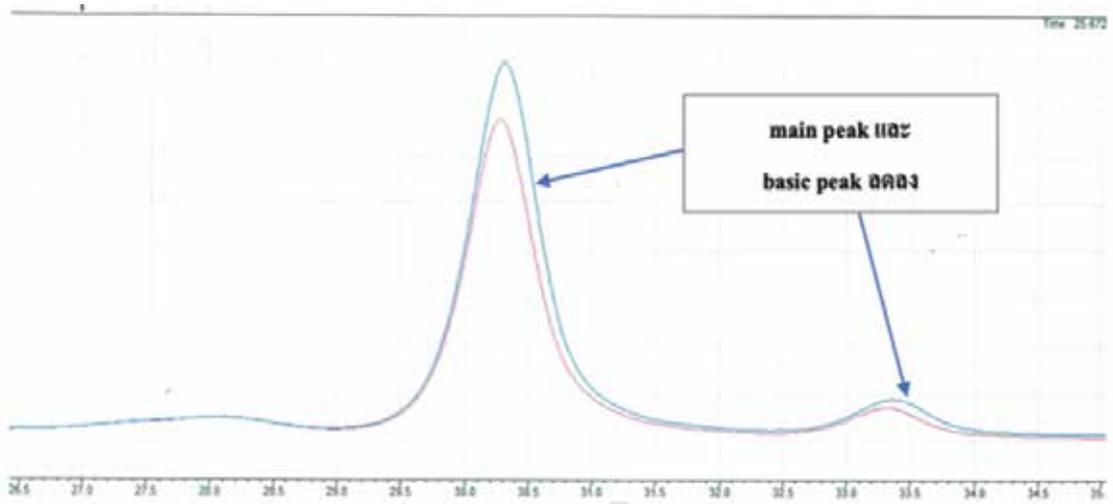
รูปที่ 1 โครมาโทแกรมของยาดันแบบอะดาลิมูแมบ

ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี

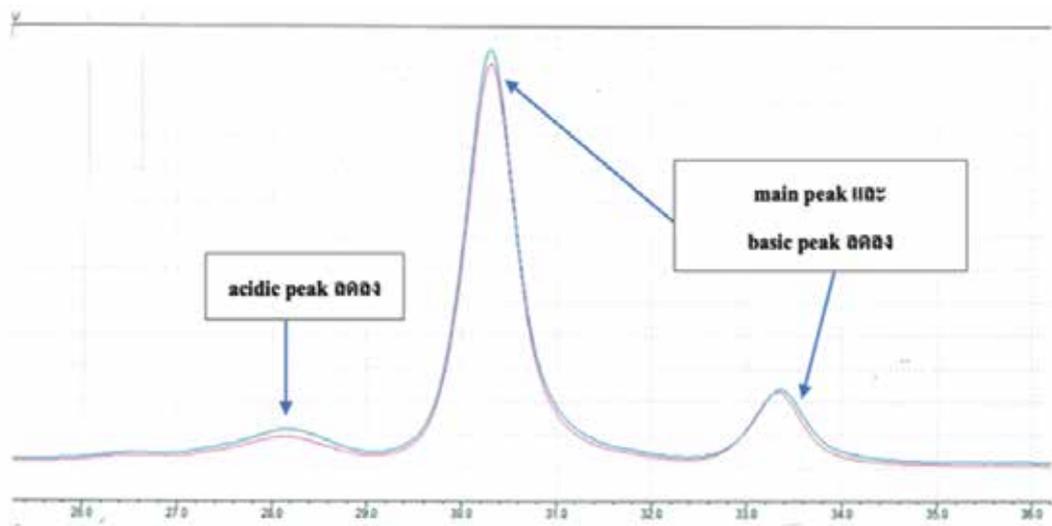
ความจำเพาะเจาะจง วิเคราะห์ยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ ยี่ห้อ A, formulation buffer ของยาอะดาลิบูแมบ ตัวอย่างยาชีววัตถุคล้ายคลึงชนิดทรานสฟูซูแมบ แล้วเปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมที่ได้ พบว่ามี chromatographic profile คล้ายคลึงกันโดยไม่มีการรบกวนของสารอื่นในตัวอย่าง และ main peak ของยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ ยี่ห้อ A แยกออกจากยาชีววัตถุคล้ายคลึงชนิดทรานสฟูซูแมบอย่างชัดเจน และไม่ปรากฏ peak ในสาร formulation buffer แสดงดังรูปที่ 2 ยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบยี่ห้อ A ในภาวะ stress condition ปรากฏลักษณะโครมาโทแกรมที่แตกต่างไปจาก โครมาโทแกรมปกติ ดังรูปที่ 3



รูปที่ 2 โครมาโทแกรมของยาต้นแบบอะดาลิบูแมบ ยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ ยี่ห้อ A ยาชีววัตถุคล้ายคลึงชนิดทรานสฟูซูแมบ formulation buffer ยาต้นแบบอะดาลิบูแมบ และ formulation buffer ยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ



(A)



(B)

รูปที่ 3 (A) โครมาโทแกรมของยาต้นแบบอะดอลิมีนแมบ และ (B) ยาชีววัตถุคล้ายคลึง ยี่ห้อ A ในสภาวะปกติและสภาวะ stress condition

หมายเหตุ: สีน้ำเงิน แสดงภาวะปกติ และสีแดง แสดงภาวะ stress condition

ความเที่ยง ผลการวิเคราะห์ยาต้นแบบ อะดาลิอูแมบ จำนวน 9 ซ้ำ ภายในวันเดียวกัน (repeatability) มีค่า %RSD ของพื้นที่ acidic peaks, main peak และ basic peaks เท่ากับ 0.55, 0.20 และ 1.05 ตามลำดับ และยาชีววัตถุ คล้ายคลึงอะดาลิอูแมบ ยี่ห้อ A มีค่า %RSD ของพื้นที่ acidic peaks, main peak และ basic peaks เท่ากับ 1.94, 0.61 และ 1.40 ตามลำดับ ซึ่งผลผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด สำหรับการวิเคราะห์ ต่างวันและต่างนักวิเคราะห์ (intermediate precision) ในยาต้นแบบอะดาลิอูแมบ มีค่า %RSD ของพื้นที่ acidic peaks, main peak และ basic peaks ของนักวิเคราะห์คนที่ 1 เท่ากับ 1.28, 0.45 และ 1.94 ตามลำดับ และนักวิเคราะห์คนที่ 2 มีค่า %RSD เท่ากับ 1.29, 0.48 และ 1.66 ตามลำดับ ซึ่งผลผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์พื้นที่ main peak ระหว่างวัน ในยาต้นแบบอะดาลิอูแมบ โดยใช้สถิติ One-way ANOVA ของนักวิเคราะห์คนที่ 1 และคนที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.16$ และ $p=0.32$ ตามลำดับ) และเมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์พื้นที่ main peak ระหว่างนักวิเคราะห์ ทั้ง 2 คน โดยใช้สถิติ Independent-Sample T Test พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.08$) สำหรับการวิเคราะห์ต่างวันและต่างนักวิเคราะห์ ในยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิอูแมบ ยี่ห้อ A มีค่า %RSD ของพื้นที่ acidic peaks, main peak และ basic peaks ของนักวิเคราะห์คนที่ 1 เท่ากับ 3.74,

0.34 และ 2.43 ตามลำดับ และนักวิเคราะห์คนที่ 2 มีค่า %RSD เท่ากับ 2.09, 0.44 และ 1.61 ตามลำดับ ซึ่งผลผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์พื้นที่ main peak ระหว่างวัน ในยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิอูแมบ ยี่ห้อ A โดยใช้สถิติ One-way ANOVA ของนักวิเคราะห์คนที่ 1 และคนที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.56$ และ $p=0.06$ ตามลำดับ) และเมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์พื้นที่ main peak ระหว่างนักวิเคราะห์ ทั้ง 2 คน โดยใช้สถิติ Independent-Sample T Test พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p=0.24$)

การทดสอบความแม่นยำ ผลวิเคราะห์ % recovery ที่ได้อยู่ในช่วง 90.00-110.00 เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่า %recovery จากการทดสอบความแม่นยำ ในยาต้นแบบอะดาลิอูแมบ (Adalimumab originator)

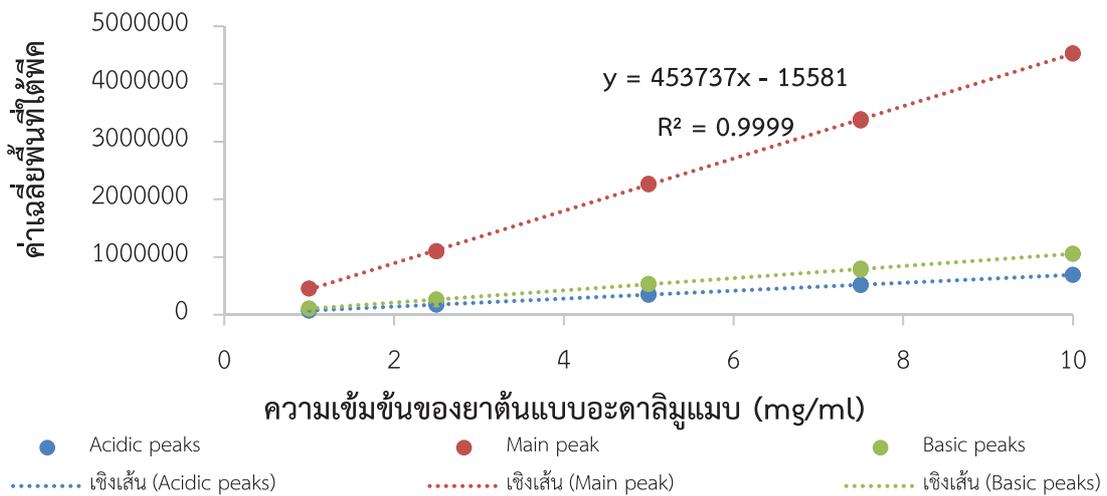
	Spiked 1.00 mg/ml	Spiked 2.00 mg/ml	Spiked 4.00 mg/ml
1	100.28	97.73	98.47
2	100.24	98.93	100.05
3	99.03	99.52	99.70
Mean	99.85	98.73	99.41
Overall Mean	99.33		

ขีดจำกัดของการตรวจพบ และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ผลการทดสอบที่ได้ พบว่า ความเข้มข้นของยาต้นแบบอะดาลิอูแมบที่น้อยที่สุดที่ยังคงปรากฏ main peak และให้ค่า S/N รบกวนใกล้เคียง 3 คือ 0.70 mg/ml (S/N เท่ากับ 3.04

โดยมี %RSD เท่ากับ 0.50) และความเข้มข้นของยาต้นแบบอะดาลิบูแมบ ที่ให้ค่า S/N ใกล้เคียง 10 คือ 2.50 mg/ml (S/N เท่ากับ 10.26 โดยมี %RSD เท่ากับ 2.22) และยืนยันค่า LOQ ที่ได้โดยทำการวิเคราะห์ความเที่ยง จำนวน 9 ซ้ำในวันเดียวกัน และคำนวณค่า %RSD ของค่าเฉลี่ยพื้นที่ acidic peaks, main peak และ basic peaks เท่ากับ 4.67, 0.44 และ 3.48 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์ที่กำหนด และคำนวณค่าความถูกต้อง

ของค่า LOQ มีค่า %recovery เท่ากับ 97.85 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ 90.00-110.00

การทดสอบความเป็นเส้นตรง กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของยาต้นแบบอะดาลิบูแมบ ที่ 1.00 – 10.00 mg/ml และค่าเฉลี่ยพื้นที่ acidic peaks, main peak และ basic peaks ผลการศึกษาแสดงเป็นกราฟเส้นตรง (ดังรูปที่ 4) และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ใกล้เคียง 1



รูปที่ 4 ค่าเฉลี่ยมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของยาต้นแบบอะดาลิบูแมบ ที่ 1.00 – 10.00 mg/ml จำแนกตาม acidic peaks, main peak และ basic peaks

การทดสอบความคงทนของวิธี เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของคอลัมน์และเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการเก็บรักษาเฟสเคลื่อนที่ A และ B ในการวิเคราะห์ยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ ยี่ห้อ A ค่าเฉลี่ยพื้นที่ main peak ที่ได้ แสดงดังตารางที่ 2 เมื่อนำค่าเฉลี่ยพื้นที่ main peak ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของคอลัมน์ในยาต้นแบบ และยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ ยี่ห้อ A ไปคำนวณเปรียบเทียบ

ผลการวิเคราะห์ พบว่า มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p = 0.01$ และ $p = 0.01$ ตามลำดับ) และเมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยพื้นที่ main peak เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงระยะเวลาในการเก็บรักษาเฟสเคลื่อนที่ A และ B ในยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิบูแมบ ยี่ห้อ A พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p = 0.10$ และ $p=0.06$ ตามลำดับ)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยพื้นที่ main peak ในยาต้นแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิมีแอมบ ยี่ห้อ A

สถานะที่มีการเปลี่ยนแปลง	ตัวอย่าง		ค่าเฉลี่ยพื้นที่ main peak	%RSD	เปรียบเทียบความแตกต่าง
อุณหภูมิของคอลัมน์	ยาต้นแบบ	20°C	2984798.00	0.32	$p = 0.01$
		30°C	2923891.44	0.39	
		40°C	2953999.33	0.81	
	ยาชีววัตถุคล้ายคลึง ยี่ห้อ A	20°C	3867701.44	0.88	$p = 0.01$
		30°C	3736056.89	0.17	
		40°C	3784452.56	1.16	
ระยะเวลาการเก็บรักษาเฟสเคลื่อนที่ A และ B	ยาต้นแบบ	1 สัปดาห์	2923891.44	0.39	$p = 0.10$
		2 สัปดาห์	2976881.67	0.74	
		4 สัปดาห์	2962966.22	1.22	
	ยาชีววัตถุคล้ายคลึง ยี่ห้อ A	1 สัปดาห์	3736056.89	0.17	$p = 0.06$
		2 สัปดาห์	3744770.11	0.15	
		4 สัปดาห์	3732058.11	0.08	

อภิปรายผล

วิธีโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ (IEC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกโปรตีนโดยอาศัยคุณสมบัติของประจุที่แตกต่างกันตามค่า pI โดยเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ ชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน (cation exchange) และแอนไอออน (anion exchange) ซึ่งหลักในการเลือกชนิดของเฟสอยู่กับที่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารตัวอย่างเป็นประจุบวกหรือลบตามค่า pI ของสารชนิดนั้น ๆ ซึ่งในการศึกษานี้เลือกใช้โครมาโทกราฟีชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน (cation exchange) เนื่องจากตัวอย่างยาอะดาลิมีแอมบมีค่า pI เท่ากับ 8.7024 มีความเป็นเบส มีโมเลกุลเป็นประจุบวก สามารถแลกเปลี่ยนประจุกับเฟสอยู่กับที่ ซึ่งภายในคอลัมน์เป็นสารที่มีประจุลบได้

ซึ่งในปัจจุบันการวิเคราะห์หลักลักษณะของ charge isoforms ของยาอะดาลิมีแอมบ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ ยังไม่ได้มีกำหนดเป็นวิธีมาตรฐานในตำรายาสากล การศึกษานี้จึงได้พัฒนาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิคการแยกประจุของโปรตีนตามค่า pH โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น phosphate buffer ที่มีการปรับค่า pH ให้สามารถวิเคราะห์ charge variants ของยาได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bandyopadhyay และคณะ ในปี ค.ศ. 2014 ได้ศึกษาลักษณะทางเคมี-ฟิสิกส์และการออกฤทธิ์ในยาชีววัตถุคล้ายคลึงอะดาลิมีแอมบ ZRC-3197 โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น phosphate buffer เช่นเดียวกัน²⁴ เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตาม ICH Q2(R1)

guideline²¹ การศึกษาความจำเพาะของวิธีครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายาชีววัตถุคล้ายคลึงยี่ห้อ A ให้ผล chromatographic profile ไปในทิศทางเดียวกับ ยาดัชนีแบบ ไม่มีการรบกวนจากสารอื่นๆ ในตัวอย่าง (formulation buffer) รวมทั้งไม่ปรากฏ peak ที่ RT เดียวกันกับตัวอย่างชีววัตถุคล้ายคลึงชนิด ทราสทุซูแมบ เมื่อวิเคราะห์ยาดัชนีแบบและยาชีววัตถุ คล้ายคลึงยี่ห้อ A ในภาวะ stress condition พบลักษณะโครมาโทแกรมที่แตกต่างไปจาก โครมาโทแกรมปกติ แสดงให้เห็นว่าวิธีนี้มีความ จำเพาะในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ เมื่อทดสอบยาดัชนีแบบและยาชีววัตถุคล้ายคลึงยี่ห้อ A จำนวน 9 ซ้ำในวันเดียวกัน พร้อมทั้งทดสอบ ต่างวัน และต่างนักวิเคราะห์ ให้ผลวิเคราะห์อยู่ใน เกณฑ์ที่กำหนดและไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง นักวิเคราะห์ แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงสูง การตรวจสอบ ความเป็นเส้นตรงของวิธีโดยการสร้างกราฟ มาตรฐานระหว่างพื้นที่ของ acidic peaks, main peak และ basic peaks และความเข้มข้นของยา ดัชนีแบบ แสดงให้เห็นว่าเป็นวิธีที่มีความเป็นเส้น ตรงในช่วงความเข้มข้นของยาดัชนีแบบ 1.00-10.00 mg/ml มีค่า R² ใกล้เคียง 1 การทดสอบความแม่นยำ ของวิธี พบว่า %recovery ที่ได้อยู่ในช่วง 90.00- 110.00 เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด สำหรับค่า LOD และ LOQ ที่มีความเที่ยงและความแม่นยำในยาดัชนีแบบ มีค่าเท่ากับ 0.70 และ 2.50 mg/ml

นอกจากนี้มีการเปลี่ยนแปลงสถานะต่างๆ ที่อาจจะส่งผลต่อการวิเคราะห์ เช่น การเปลี่ยนแปลง

pH ของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ และการเปลี่ยนแปลง อุณหภูมิของคอลัมน์²⁵ ทำให้ไม่สามารถใช้วิธีนี้ ในการวิเคราะห์ charge variants ของยาอะดาลิ มูแมบได้ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมสถานะที่ใช้ ในการวิเคราะห์ให้ดี โดยในการศึกษานี้พบว่า วิธีนี้มีความคงทนในการวิเคราะห์ให้ผลการทดสอบ ที่น่าเชื่อถือแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงระยะเวลา ในการเก็บรักษาเฟสเคลื่อนที่ A และ B พบว่า สามารถเก็บได้นานถึง 4 สัปดาห์ โดยผลการวิเคราะห์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก มีการเก็บรักษาสารละลายเฟสเคลื่อนที่ที่อุณหภูมิ 25 °C ซึ่งส่งผลน้อยต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ สอดคล้องกับทฤษฎี ที่ระบุว่า การเปลี่ยนแปลงค่า pH จะลดลงเมื่อ อุณหภูมิสูงขึ้น²⁶ นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษา การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของคอลัมน์ พบว่า ผลวิเคราะห์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของ คอลัมน์มีผลต่อการวิเคราะห์ เนื่องจากส่งผลต่อ ความสามารถในการแยกสาร (peak capacity or resolution)²⁷ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมอุณหภูมิตาม chromatographic condition ที่กำหนดไว้ คือ 30 °C เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิส่งผล ต่อการแยกของตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้ขัดแย้งกับงานวิจัยของ Rea และคณะ ในปี ค.ศ. 2011 ที่ศึกษาความคงทนของวิธีวิเคราะห์ charge variants ในยาโมโนโคลนอลแอนติบอดี เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของคอลัมน์ จากเดิม

30 °C เป็นอุณหภูมิ 28 และ 32 °C พบว่า ให้ผล การศึกษาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ²⁵ ทั้งนี้ ในการศึกษาต่อไปควรทำการเปลี่ยนแปลง อุณหภูมิที่แตกต่างกันไม่เกิน 5 °C เพื่อทดสอบ ความคงทนของวิธีวิเคราะห์

เนื่องจากในการศึกษานี้มีการเลือกใช้ชนิด ของคอลัมน์ในการวิเคราะห์เพียงยี่ห้อเดียว ซึ่ง ในอนาคตอาจมีการศึกษาเพิ่มเติมในการเลือกใช้ คอลัมน์ยี่ห้ออื่น เพื่อสามารถนำมาใช้ทดแทนได้ ในกรณีที่บริษัทที่จัดจำหน่ายคอลัมน์ เกิดการขนส่ง ล่าช้า หรือหยุดการผลิตในอนาคต เพื่อจะได้มีคอลัมน์ หลากหลายยี่ห้อ ที่สามารถนำมาใช้ทดแทนในการ วิเคราะห์ charge variants โดยวิธีโครมาโทกราฟี แบบแลกเปลี่ยนประจุได้ในอนาคต

สรุปผล

จากผลการตรวจสอบความถูกต้องทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ charge variants ของ ยาอะดาลิมีแอมบ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยน ประจุ เป็นวิธีที่มีความจำเพาะ ความแม่นยำ ความเที่ยง และมีความคงทน มีความน่าเชื่อถือ เหมาะสม สำหรับนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ เพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนและควบคุมคุณภาพ ยาอะดาลิมีแอมบ์ที่จำหน่ายในประเทศไทยได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรใช้การตรวจสอบความถูกต้องของ วิธีวิเคราะห์ Charge Variants ในยาอะดาลิมีแอมบ์

ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ เป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้อง ปฏิบัติการประกอบการขึ้นทะเบียนและควบคุม คุณภาพยาในประเทศไทย

2. การศึกษาครั้งต่อไปควรเพิ่มการเลือกใช้ คอลัมน์ยี่ห้ออื่น เพื่อให้สามารถนำมาใช้ทดแทน กรณีที่บริษัทที่จัดจำหน่ายคอลัมน์เกิดการขนส่ง ล่าช้าหรือหยุดการผลิต

เอกสารอ้างอิง

1. Vena GA, Cassano N. Drug focus: adalimumab in the treatment of moderate to severe psoriasis. *Biologics* 2007;1(2):93-103.
2. Lu X, Hu R, Peng L, Liu M, Sun Z. Efficacy and safety of adalimumab biosimilars: Current Critical Clinical Data in Rheumatoid Arthritis. *Frontiers in immunology* 2021;12.
3. Ellis CR, Azmat CE. Adalimumab. In: StatPearls [Internet]. 2022 [cite 2022 Jul 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557889/>
4. Accessdata.fda.gov. [Internet]. 2022 [cited 2022 Jul 31]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drug_satfda_docs/label/2008/125057s0110lbl.pdf

5. Exemptia Adalimumab EMPOWERING YOU. Exemptia - World's First Adalimumab Biosimilar [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 14]. Available from: <https://exemptia.com/>
6. U.S. Food and Drug Administration. Biosimilar Drug Information [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 14]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/biosimilars/biosimilar-product-information>
7. Kaur R, Borgayari D, Rathore A. Impact of media components on CQAs of monoclonal antibodies. *BioPharm International* 2017;30(9):40-6.
8. Harris R, Shire S, Winter C. Commercial manufacturing scale formulation and analytical characterization of therapeutic recombinant antibodies. *Drug Development Research* 2004;61(3):137-54.
9. Huang L, Lu J, Wroblewski V, Beals J, Riggin R. In Vivo Deamidation Characterization of Monoclonal Antibody by LC/MS/MS. *Analytical Chemistry* 2005; 77(5):1432-439.
10. Khawli L, Goswami S, Hutchinson R, Kwong Z, Yang J, Wang X et al. Charge variants in IgG1. *mAbs* 2010;2(6):613-24.
11. Singh S, Narula G, Rathore A. Should charge variants of monoclonal antibody therapeutics be considered critical quality attributes?. *Electrophoresis* 2016;37(17-18):2338-46.
12. Hermeling S, Crommelin D, Schellekens H, Jiskoot W. Structure-immunogenicity relationships of therapeutic proteins. *Pharmaceutical Research* 2004;21(6): 897-903.
13. Monoclonal antibodies for human use. In: *European pharmacopoeia 10.0th ed.* Strasbourg: EDQM Council of Europe; 2020. P.878-880
14. Santora L, Krull I, Grant K. Characterization of recombinant human monoclonal tissue necrosis factor- α antibody using cation - exchange HPLC and capillary isoelectric focusing. *Analytical Biochemistry* 1999;275(1): 98-108.
15. Ahrer K, Jungbauer A. Chromatographic and electrophoretic characterization of protein variants. *Journal of Chromatography B* 2006;841(1-2):110-22.
16. Du Y, Walsh A, Ehrick R, Xu W, May K, Liu H. Chromatographic analysis of the

- acidic and basic species of recombinant monoclonal antibodies. *mAbs* 2012;4(5):578-85.
17. Fekete S, Beck A, Fekete J, Guillaume D. Method development for the separation of monoclonal antibody charge variants in cation exchange chromatography, Part II: pH gradient approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2015;102:282-9.
18. Farnan D, Moreno G. Multiproduct High-Resolution Monoclonal Antibody Charge Variant Separations by pH Gradient Ion-Exchange Chromatography. *Analytical Chemistry* 2009;81(21):8846-857.
19. Talebi M, Nordborg A, Gaspar A, Lacher N, Wang Q, He X et al. Charge heterogeneity profiling of monoclonal antibodies using low ionic strength ion-exchange chromatography and well-controlled pH gradients on monolithic columns. *Journal of Chromatography A* 2013;1317:148-54.
20. Ahamed T, Nfor B, Verhaert P, van Dedem G, van der Wielen L, Eppink M et al. pH-gradient ion-exchange chromatography: An analytical tool for design and optimization of protein separations. *Journal of Chromatography A* 2007;1164(1-2):181-88.
21. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology (Q2(R1)). London: European Medicines Agency; 2005.
22. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Reviewer guidance, validation of Chromatographic methods [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; [cited 2023 Feb 22]. Available from: <https://www.fda.gov/media/75643/download>
23. สำนักยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. คู่มือและหลักเกณฑ์การขึ้นทะเบียนตำรับยาชีววัตถุคล้ายคลึง (Biosimilars). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2561.
24. Bandyopadhyay S, Mahajan M, Mehta T, Singh AK, Gupta AK, Parikh A, et al. Physicochemical and functional characterization of a biosimilar adalimumab ZRC-3197. *Biosimilars* 2015;5:1-18.
25. Rea JC, Moreno GT, Lou Y, Farnan D. Validation of a pH gradient-based ion-exchange chromatography method for high-resolution monoclonal antibody charge variant separations. *Journal of*

- Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2011;54(2):317–23.
26. Mohan C. A guide for the preparation and use of buffers in biological systems [Internet]. [cited 2023 Feb 26]. Available from: https://www.med.unc.edu/pharm/sondeklab/wp-content/uploads/sites/868/2018/10/buffers_calbiochem.pdf
27. Fekete S, Beck A, Veuthey J, Guillarme D. Ion-exchange chromatography for the characterization of biopharmaceuticals. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2015;113:43-55.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 (2566): พฤษภาคม - สิงหาคม
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 30 No. 2 (2023): May - August

ความรู้และทัศนคติการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยของผู้บริโภค

พิมพ์มาดา คุณปลื้ม¹, ปริณทร ชลายนานนท์², ชยุต วงศ์วิชัยภรณ์³, ทัพพสาร สุขสุธรรมวงศ์³, นลัคสร่า กันแก้ว⁴,
ณัฐวิวิท ไชยอรนันท์⁵, ศุภชัย เสงจิตตระกุล⁶, อีอันตรา จิระสานต์⁷, บุญนิสา คิตดมงคล⁸, ชนาสิน คิตดมงคล⁸,
ปณณทัต อรุณพัลลภ⁹, ศุจิมน มังคลรังษี¹⁰

¹โรงเรียนสาธิตพัฒนาฝ่ายมัธยม ²โรงเรียนประชาคมนานาชาติ ³โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษา ⁴โรงเรียนสามัคคีวิทยาคม

⁵โรงเรียนนานาชาติเอกมัย ⁶โรงเรียนบดินทรเดชา (สิงห์ สิงหเสนี) ⁷โรงเรียนนานาชาติสิงคโปร์ กรุงเทพฯ

⁸โรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการศึกษา ⁹โรงเรียนกรุงเทพคริสเตียนวิทยาลัย

¹⁰มหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ

ที่อยู่ติดต่อ: ศุจิมน มังคลรังษี มหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ บางนา-ตราด กม.26 บางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ 10570
khunsujimon@gmail.com

Knowledge and Attitude on Buying Safety Pork for Consumers

Pimmada Koonpluem¹, Printorn Chalainanont², Chayut Wongvichayaporn³, Tappasarn Suksuthamwong³,
Nalaksara Kankaew⁴, Natwithit Chairranan⁵, Suppachai Hengchittrakool⁶, Thi-Antra Chirasarn⁷,
Bunnisa Kidmongkhol⁸, Chanasin Kidmongkhol⁸, Punnatut Aroonpanlop⁹, Sujimon Mungklarungsi¹⁰

¹Satit Pattana School, ²International Community School, ³Triam Udom Suksa School, ⁴Samakkehi Witthayakhom School,

⁵Ekamai International School, ⁶Bodindecha (Sing Singhaseni) School, ⁷Singapore International School of Bangkok,

⁸Kasetsart University Laboratory School Center for Educational Research and development, ⁹Bangkok Christian College,

¹⁰Assumption University, Bangkok

Contact address: Sujimon Mungklarungsi, Assumption University, Na-Trad Km 26, Bangsaothong, Samuthprakarn, 10570, Thailand, khunsujimon@gmail.com

Received: 11 January 2023, **Revised:** 9 Jun 2023, **Accepted:** 27 June 2023

Abstract

Background: Pork is an important meat ingredient because most people consume it. Consumers prefer to buy pork with a red colour since they believed that the pork is fresh. This caused some groups of pig farmers to inject Ractopamine or beta-agonist to pigs which it was a prohibited substance used in animal feed. Whether the human body is exposed to these red meat accelerator chemicals, it can cause health problems. Hence, this study aimed to assess the level of knowledge and attitude regarding buy safety pork among consumers.

Objectives: To assess knowledge and attitude towards buying safe pork and to study factors that influence consumers' attitudes.

Methods: This study was a survey research. Data were collecting with the Google Form online questionnaire during October-November 2022. Sample group aged between 18 and 60 years old who lived in Bangkok, Thailand, and accessed the internet. The number of samples was set at 345 with a 95% confidence level; a total of 710 samples were collected. The data was analysed using descriptive statistics including frequency, mean, percentage, and standard deviation, as well as inferential statistic by multiple regression analysis.

Result: In the 710 respondents, a majority were female (59.0%), aged 40–49 years old (38.3%), were full-time employees (36.2%), had a monthly household income of more than 35,000 baht (49.9%), had a family of 4-6 people (51.5%), and had a family of 4-6 people (50.4%). Sources that bought pork found that most of them buy pork at super markets. 52.3% of the most frequently purchased pork was red meat 20.7%. When studying the knowledge score on buying safe pork, it was found to be in the middle level, averaging 3.80 out of 5. The top two most correct questions were knowledge about buying safe fresh pork and being aware of contaminants that may accompany pork, with 91.97% and 81.27% answered correctly, respectively. But the least correctly answered question is red meat accelerators and their health hazards. 66.62%. The next issue was that the study of attitudes towards buying safe pork found that the average intermediate level was 18.62 units in total of 25. The subjects paid more attention to the characteristics of the pork, such as flexibility and no bruising, than the colour of fresh pork. Statistically significant factors that predict attitudes towards safe pork selection are monthly family income and the number of times to buy fresh pork per week, with a p-value of <0.05.

Conclusion: The subjects living in Bangkok had knowledge and attitudes towards buying pork at an intermediate level. Knowledge of red meat accelerators and health hazards was still unknown, including factors such as monthly family income and where to buy pork most often. Therefore, public relations should be done to educate more people and promote safe buying.

Keywords: knowledge, attitude, safety pork, beta-agonist, consumers

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: เนื้อหมูเป็นวัตถุดิบอาหารเนื้อสัตว์ที่สำคัญ เพราะประชาชนส่วนใหญ่นิยมบริโภคเนื้อหมู ผู้บริโภคต้องการนิยมเลือกซื้อเนื้อสัน มีสีแดง เพราะทำให้รู้สึกว่าเป็นเนื้อหมูสวย และสด ทำให้ผู้เลี้ยงหมูบางกลุ่มได้มีการฉีดสารเร่งโตพามีน (สารเร่งเนื้อแดง) ในหมูที่เลี้ยงไว้ หากร่างกายได้รับสารเร่งเนื้อแดง อาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพได้ งานวิจัยนี้ศึกษาระดับความรู้ และทัศนคติในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยของผู้บริโภค

วัตถุประสงค์: เพื่อวัดความรู้และทัศนคติในการเลือกซื้อเนื้อหมู และศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อทัศนคติในการเลือกซื้อเนื้อหมู

วิธีการศึกษา: การศึกษารั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงสำรวจ เก็บข้อมูลด้วยแบบสอบถามออนไลน์ Google Form ในช่วงเดือนตุลาคม - พฤศจิกายน พ.ศ. 2565 เลือกกลุ่มตัวอย่างโดยสุ่มแบบบังเอิญ (accidental sampling) จากตัวอย่างอายุระหว่าง 18-60 ปี ที่อาศัยอยู่ในกรุงเทพมหานครที่เข้าถึงอินเทอร์เน็ตได้ กำหนดจำนวนตัวอย่างที่ 345 ตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้งสิ้น 710 ตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติเชิงอนุมาน สมการถดถอยพหุคูณ

ผลการศึกษา: จากผู้ตอบแบบสอบถามจำนวน 710 คน คุณลักษณะของตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง ร้อยละ 59.0 อายุ 40-49 ปี ร้อยละ 38.3 ประกอบอาชีพพนักงานประจำ ร้อยละ 36.2 สถานภาพสมรส ร้อยละ 49.9 มีรายได้ครอบครัวต่อเดือนมากกว่า 35,000 บาท ร้อยละ 51.5 ขนาดของครอบครัว 4-6 คน ร้อยละ 50.4 สำหรับแหล่งที่ซื้อเนื้อหมูพบว่า ส่วนใหญ่เลือกซื้อเนื้อหมูที่ซูเปอร์มาร์เก็ต ร้อยละ 52.3 ส่วนของเนื้อหมูที่เลือกซื้อบ่อยสุดคือเนื้อแดง ร้อยละ 20.7 เมื่อศึกษาถึงคะแนนความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อ

เนื้อหมูปลอดภัยพบว่าอยู่ในระดับกลาง เฉลี่ย 3.80 จากคะแนนเต็ม 5 ส่วนข้อความที่ตอบถูกมากที่สุด 2 อันดับแรกคือความรู้เกี่ยวกับการซื้อเนื้อหมูปลอดภัย และตระหนักถึงสารปนเปื้อนที่อาจมากับเนื้อหมู โดยตอบถูกร้อยละ 91.97 และ 81.27 ตามลำดับ แต่คำถามที่ตอบถูกต่อน้อยที่สุดคือสารเร่งเนื้อแดง กับอันตรายต่อสุขภาพ ร้อยละ 66.62 ประเด็นต่อมาคือการศึกษาทัศนคติต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย พบว่าอยู่ในระดับกลางเฉลี่ย 18.62 หน่วย จากคะแนนเต็ม 25 โดยผู้กลุ่มตัวอย่างให้ความสำคัญกับคุณลักษณะของเนื้อหมู เช่น มีความยืดหยุ่น ไม่มีรอยชำ หรือจ้ำมากกว่าสีของเนื้อหมูสด ส่วนปัจจัยที่มีอำนาจทำนายทัศนคติต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ รายได้ครอบครัวต่อเดือน และจำนวนครั้งในการซื้อเนื้อหมูสดต่อสัปดาห์ ที่ p -value <0.05)

สรุปผล: กลุ่มตัวอย่างที่อาศัยในกรุงเทพมหานครมีความรู้และทัศนคติในการเลือกซื้อเนื้อหมูในระดับกลาง ความรู้เกี่ยวกับสารเร่งเนื้อแดงกับอันตรายต่อสุขภาพยังมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่รู้ ส่วนปัจจัยด้านรายได้ ครอบครัวต่อเดือน และสถานที่เลือกซื้อเนื้อหมูบ่อยสุด ส่งผลต่อทัศนคติการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย ดังนั้น ควรประชาสัมพันธ์ให้ความรู้ประชาชนให้มากขึ้นเพื่อส่งเสริมการเลือกซื้อปลอดภัยที่ถูกต้องต่อไป

คำสำคัญ: ความรู้ ทัศนคติ เนื้อหมูปลอดภัย สารเร่งเนื้อแดง ผู้บริโภค

บทนำ

เนื้อหมูเป็นหนึ่งในวัตถุดิบอาหาร เนื่องจากมีรสชาติดี และมีคุณค่าทางโภชนาการ เนื้อหมูเป็นสินค้าอาหารสำคัญมีการบริโภคทั้งในประเทศ และส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ โดยในปี พ.ศ. 2565 มีปริมาณการบริโภคเนื้อหมู 1.15 ล้านตัน ซึ่งร้อยละ 99 เป็นสุกรที่ผลิตได้ภายในประเทศ และมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์เนื้อหมูจากต่างประเทศ ปริมาณ 267 ตัน¹ ผลิตภัณฑ์เนื้อหมูมีทั้งที่เป็นเนื้อสด เนื้อแช่แข็ง และเนื้อที่แปรรูปแล้ว เช่น เนื้อกระป๋อง แฮม เบคอน และไส้กรอก เป็นต้น สำหรับประเทศไทยเนื้อหมูเป็นวัตถุดิบอาหารเนื้อสัตว์ที่สำคัญ เพราะประชาชนส่วนใหญ่นิยมบริโภคเนื้อหมู² จึงทำให้เนื้อหมูเป็นที่ต้องการของตลาดอย่างมาก ผู้บริโภคต้องการนิยมเลือกซื้อ

เนื้อสัน มีสีแดง เพราะทำให้รู้สึกว่าเป็นเนื้อหมูสวยและสด ทำให้ผู้เลี้ยงหมูบางกลุ่มได้มีการฉีดสารแรคโตพามีนหรือสารเร่งเนื้อแดง (Ractopamine) ในหมูที่เลี้ยงไว้ เนื่องจากหมูที่ได้รับสารเร่งเนื้อแดงจะมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นโดยใช้อาหารน้อยลง ตัวอย่างเช่น หมูที่ได้รับแรคโตพามีนจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นจาก 60 kg เป็น 100 kg ได้เร็วกว่าปกติ 4 วัน ในขณะที่ให้อาหารน้อยลง 18.5 kg และมีน้ำหนักกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 3 kg นี่เป็นแรงจูงใจอย่างดีให้ผู้เลี้ยงหมูใช้สารเร่งเนื้อแดงเพื่อเพิ่มผลผลิต ลดต้นทุนการเลี้ยง และผลิตเนื้อหมูให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภค³⁻⁴

สารเร่งเนื้อแดง เป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ (Beta-agonist) มีด้วยกันหลายชนิด

เช่น เคลนบูเทอรอล (Clenbuterol) ซิลปาเทอรอล (Zilpaterol) และแรคโตพามีน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ส่งเสริมการเปลี่ยนไขมันเป็นกล้ามเนื้อ และลดการสะสมไขมันในเนื้อเยื่อ จึงถูกนำมาใช้ผสมในอาหารสัตว์ที่ใช้เลี้ยงวัว ไก่วง และหมู เพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อแดงและลดไขมันลง ตอบโจทย์ความนิยมของผู้บริโภคที่รักสุขภาพที่ไม่ต้องการบริโภคเนื้อสัตว์ติดไขมัน และความนิยมบริโภคเนื้อหมูสีแดงสวย³ แต่การบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีสารเร่งเนื้อแดงตกค้างอยู่ มีผลต่อการทำงานของระบบประสาทที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด หลอดลม และ กระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น อาจมีอาการมือสั่น กล้ามเนื้อกระตุก ปวดศีรษะ หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ ภาวะนอนกรนหายใจสั้น หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ ภาวะนอนกรนหายใจสั้น บางรายมีอาการเป็นลม นอนไม่หลับ คลื่นไส้ อาเจียน มีอาการทางจิตประสาท และเป็นอันตรายมากสำหรับหญิงมีครรภ์และผู้ที่เป็โรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และโรคไฮเปอร์ไทรอยด์⁵ ในต่างประเทศเคยมีการรายงานพบผู้ป่วยได้รับพิษจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีสารเร่งเนื้อแดงปนเปื้อนจนทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยทางร่างกายหลายต่อหลายครั้ง ครั้งแรกที่มีการรายงานเกิดขึ้นในยุโรปช่วงปี ค.ศ. 1990 พบผู้ได้รับพิษมีอาการกล้ามเนื้อสั่น ใจสั่น หัวใจเต้นผิดปกติ ปวดศีรษะ อาเจียน มีไข้ ต่อมาเมื่อมีการพบผู้ป่วยมีอาการลักษณะเดียวกันจากการได้รับพิษในอีกหลายประเทศทั้งในยุโรปและเอเชียต่อเนื่องมาอีกหลายปี โดยสารที่คาดว่าก่อให้เกิดพิษคือเคลนบูเทอรอล ซึ่งออกฤทธิ์ระยะยาว ตกค้างอยู่ในอาหารได้นานกว่าสารเร่งเนื้อแดงชนิดอื่น ๆ ทำให้เกิดอาการพิษแบบเฉียบพลัน แม้พิษจากเคลนบูเทอรอลจะไม่ส่งผลร้ายแรงถึงชีวิต แต่หากได้รับในปริมาณที่สูงกว่าการใช้รักษาทางการแพทย์ก็อาจทำให้เกิดอันตราย

พ.ศ. 2546 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารเคมีกลุ่มบีตา-อะโกนิสต์ กำหนดให้อาหารทุกชนิดมีมาตรฐานโดยตรวจไม่พบการปนเปื้อนสารเคมีกลุ่มบีตา-อะโกนิสต์ และเกลือของสารกลุ่มนี้ รวมถึงสารในกระบวนการสร้างและสลายหรือเมแทบอไลต์ (Metabolite) ของสารดังกล่าวด้วยการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนสารเคมีตามวรรคหนึ่งให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ เงื่อนไขและวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางวิชาการที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศ โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหารและยา ซึ่งมีความผิดตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2525 มาตรา 6 (5), 57⁶

มีการตรวจพบสารเร่งเนื้อแดงในเนื้อหมูที่นำมาจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภค^{4,7-8} ทำให้ประชาชนต้องเสี่ยงกับการได้รับสารเร่งเนื้อแดง และสารปนเปื้อนอื่น ๆ จากปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยจึงศึกษาความรู้ และทัศนคติต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย โดยใช้ทฤษฎี ความรู้ ทัศนคติ และการปฏิบัติ (KAP model) ที่ให้ความสำคัญกับตัวแปร 3 ตัว คือ ความรู้ (knowledge) ทัศนคติ (attitude) และการยอมรับปฏิบัติ (practice) ของผู้รับสาร อันมีผลกระทบต่อพฤติกรรมจากการรับสารนั้น ๆ การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นในลักษณะต่อเนื่อง กล่าวคือ เมื่อผู้รับสารได้รับสารจะทำให้เกิดความรู้ เมื่อเกิดความรู้จะส่งผลต่อทัศนคติ และส่งผลต่อการปฏิบัติ

ในการศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดความรู้ และทัศนคติ ในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย และศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อทัศนคติ ในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย ของประชาชนอายุ 18-60 ปี ที่อาศัยอยู่ในกรุงเทพมหานคร เนื่องจากกลุ่มอายุนี้เป็นกลุ่มที่สามารถดูแลตัวเอง

เรื่องอาหารการกิน และเนื่องจากกรุงเทพมหานคร เป็นเมืองหลวงของประเทศไทย และเป็นพื้นที่ที่มี ประชากรอาศัยอยู่มากที่สุดของประเทศ เนื่องจาก มีผู้ที่อาศัยอยู่มากจึงมีความต้องการบริโภคอาหาร ในปริมาณมากเมื่อเทียบกับจังหวัดอื่น ๆ ในประเทศ ไทย จึงทำให้มีวัตถุดิบอาหารต่าง ๆ รวมทั้ง เนื้อสัตว์ จากต่างพื้นที่เข้ามาจำหน่ายสำหรับผู้บริโภค ในกรุงเทพมหานครเป็นจำนวนมาก และผลการ ศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลในการเสริมสร้างพฤติกรรม การเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอย่างถูกต้อง เพื่อ หลีกเลี่ยงปัญหาสุขภาพที่อาจตามมาเนื่องจาก การบริโภคเนื้อหมูไม่ปลอดภัย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความรู้และทัศนคติในการ เลือกซื้อเนื้อหมู
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อทัศนคติ ในการเลือกซื้อเนื้อหมู

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิง สำรวจ (survey research) ระหว่าง 1 พฤศจิกายน- 25 ธันวาคม พ.ศ. 2565

กลุ่มตัวอย่าง

เป็นกลุ่มตัวอย่างประชาชนที่อาศัยอยู่ ในกรุงเทพมหานคร อายุระหว่าง 18-60 ปี ที่สามารถ เข้าถึงอินเทอร์เน็ตได้ โดยสุ่มตัวอย่างแบบบังเอิญ

(accidental sampling) คำนวณจำนวนตัวอย่าง ซึ่งไม่ทราบจำนวนประชากร (infinite population) ด้วยสูตรของ Cochran⁹ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างจำนวน 345.744 ตัวอย่าง โดยได้เก็บตัวอย่างทั้งสิ้นจำนวน 710 ตัวอย่าง

เครื่องมือที่ใช้

แบบสอบถามออนไลน์กูเกิ้ลฟอร์ม (Google form) ที่ตรวจสอบโดยผู้เชี่ยวชาญด้านวิทยาศาสตร์ อาหาร 3 ท่าน และทดสอบกับตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง มีค่า IOC เท่ากับ 0.8 แบบสอบ ประกอบด้วย 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลส่วนบุคคล ได้แก่ เพศ อายุ อาชีพ สถานภาพสมรส รายได้ จำนวนสมาชิก ในครอบครัว สถานที่เลือกซื้อเนื้อหมู และส่วนของ เนื้อหมูที่ซื้อ

ส่วนที่ 2 ระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมู มี 5 ข้อ ครอบคลุมหัวข้อ เกี่ยวกับสารเคมีปนเปื้อนในเนื้อหมู อันตรายจาก การได้รับสารเคมีปนเปื้อนจากการบริโภค และการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย โดยลักษณะคำถาม มี 3 ตัวเลือก โดยมีข้อที่ถูกต้องเพียง 1 ข้อ โดย คะแนนที่ตอบจะถูกนำมารวมกัน

ส่วนที่ 3 ทัศนคติที่ต้องต่อการเลือกซื้อ เนื้อหมูปลอดภัย มีทั้งหมด 5 ข้อ ครอบคลุมประเด็น เกี่ยวกับทัศนคติต่อคุณลักษณะของเนื้อหมู และ ตรารับรองคุณภาพสินค้า ลักษณะคำถามเป็น ตัวเลือกแบบ มาตราวัดแสดงความคิดเห็น (Likert

scale) 5 ระดับ คือ 5 เห็นด้วยที่สุด 4 เห็นด้วย 3 เฉยๆ 2 ไม่เห็นด้วย และ 1 ไม่เห็นด้วยที่สุด

การรวบรวมข้อมูล

ส่งแบบสอบถาม Google form ผ่านกลุ่มสื่อสังคมออนไลน์ เช่น กลุ่มไลน์ Open chat กลุ่มเฟซบุ๊ก เช่น กลุ่มตลาดซื้อขายสินค้า กลุ่มการศึกษา กลุ่มท่องเที่ยว กลุ่มหางาน กลุ่มการลงทุน กลุ่มกีฬา ระหว่างวันที่ 15-30 ตุลาคม พ.ศ. 2565 รวม 15 วัน จากนั้นคัดเข้าเฉพาะผู้ตอบแบบสอบถามที่อาศัยในกรุงเทพมหานคร

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์ข้อมูลของผู้ตอบแบบสอบถามด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติเชิงอนุมาน (inferential statistics) โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้น (multiple regression analysis) กำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} > 0.05$

2. การแปลผลคะแนนความรู้การเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยจากพิษของคะแนนระหว่าง 0-5 คะแนน โดยที่คะแนนตั้งแต่ร้อยละ 80 (4.00-5.00 คะแนน) ขึ้นไปหมายถึงมีความรู้ระดับสูง คะแนนร้อยละ 60-79 (3.00-3.99 คะแนน) หมายถึงระดับกลาง และต่ำกว่าร้อยละ 60 (ต่ำกว่า 3.00 คะแนน) หมายถึงระดับต่ำ

3. การแปลผลคะแนนทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย จากมาตรวัด 5 ระดับ ระดับ 5 คือมีทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยสูงสุด และมีทัศนคติถูกต้องต่ำสุดคือระดับ 1 คะแนนที่ได้จะถูกนำมารวมกัน พิสัย

ของคะแนนรวมทั้งหมดเท่ากับ 5-25 คะแนน โดยคะแนนตั้งแต่ร้อยละ 80 (20-25 คะแนน) ขึ้นไป หมายถึงมีทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยระดับสูง คะแนนร้อยละ 60-79 (15-19 คะแนน) หมายถึงมีทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอยู่ระดับกลาง และคะแนนต่ำกว่าร้อยละ 60 (ต่ำกว่า 19 คะแนน) หมายถึงมีทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอยู่ระดับต่ำ

นิยามศัพท์

หมูเนื้อแดง หมายถึง หมูสันในมีลักษณะเป็นสีชมพูอ่อน

ตลาดสด หมายถึง สถานที่ซึ่งปกติจัดไว้ให้ผู้ค้าใช้เป็นที่ชุมนุมเพื่อจำหน่ายสินค้าประเภทสัตว์เนื้อสัตว์ ผัก ผลไม้ หรืออาหารอันมีสภาพเป็นของสด ประกอบหรือปรุงแล้ว หรือของเสียง่าย

ซูเปอร์มาร์เก็ต หมายถึง ร้านค้าสมัยใหม่ (modern trade) อยู่ในห้างสรรพสินค้า หรือเป็นร้านสะดวกซื้อปรับอากาศ

ผลการศึกษา

1. ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

จากผู้ตอบแบบสอบถามจำนวน 710 คน เป็นเพศหญิงร้อยละ 59.00 ส่วนใหญ่อายุ 40-49 ปี ร้อยละ 38.30 อาชีพพนักงานประจำ ร้อยละ 36.20 รองลงมาเป็นนักเรียนนักศึกษา และเจ้าของธุรกิจ ร้อยละ 19.00 และ 18.20 สถานภาพแต่งงาน ร้อยละ 49.90 มีรายได้ต่อเดือนมากกว่า 35,000 บาท ร้อยละ 51.50 รองลงมาต่ำกว่า 15,000 บาท ร้อยละ 25.40 มีจำนวนสมาชิกในครอบครัว 4-6 คน ร้อยละ 50.40 ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เลือกซื้อ

เนื้อหมูส่วนใหญ่จากซูเปอร์มาร์เก็ต ร้อยละ 52.30 และส่วนของเนื้อหมูที่เลือกซื้อบ่อยสุดคือเนื้อหมูปด ร้อยละ 22.70 (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ตัวแปร	จำนวน	ร้อยละ
เพศ ชาย	291	41.0
หญิง	419	59.0
อายุ <20 ปี	125	17.6
20-29 ปี	52	7.3
30-39 ปี	85	12.0
40-49 ปี	272	38.3
มากกว่า 49 ปี	176	24.8
อาชีพ พนักงานประจำ	257	36.2
นักเรียน/นักศึกษา	135	19.0
เจ้าของธุรกิจ	129	18.2
ครู/อาจารย์	64	9.0
แม่บ้าน	58	8.2
อื่น ๆ	67	9.4
สถานภาพ แต่งงาน	354	49.9
โสด	323	45.5
หย่าร้าง/ แยกทาง	33	4.6
รายได้/เดือน <15,000 บาท	180	25.4
15,001-25,000 บาท	97	13.7
25,001-35,000 บาท	67	9.4
>35,000 บาท	366	51.5
สมาชิกครอบครัว 1-3 คน	284	40.0
4-6 คน	358	50.4
>6 คน	68	9.6
สถานที่ซื้อบ่อยที่สุด		
ซูเปอร์มาร์เก็ต	371	52.3
ตลาดสด	305	43.0
อื่น ๆ	34	4.8
ส่วนของเนื้อหมูที่ซื้อบ่อยที่สุด		
หมูปด	161	22.7
หมูเนื้อแดง	147	20.7
สันคอหมู	115	16.2
หมูสันใน	109	15.4
หมูสามชั้น	96	13.5
หมูสันนอก	82	11.5
รวม	710	100

2. ความรู้ในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย

จากการทดสอบระดับความรู้ความเข้าใจในกลุ่มตัวอย่างต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูเกี่ยวกับความรู้ด้านสารเคมีปนเปื้อนในเนื้อหมู อันตรายจากการได้รับสารเคมีปนเปื้อนจากการบริโภค และการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย พบว่าส่วนใหญ่มีความรู้ในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอยู่ระดับสูง ร้อยละ 66.48 รองลงมาเป็นระดับกลาง และต่ำ ร้อยละ 22.97 และ 10.28 (ดังตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ระดับความรู้ในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย

จำนวน	ร้อยละ	คะแนน	ระดับ
472	66.48	4.00-5.00	สูง
163	22.97	3.00-3.99	กลาง
73	10.28	< 3.00	ต่ำ

เมื่อวิเคราะห์ความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยจำแนกเป็นรายข้อจาก 5 ข้อ พบว่า 2 คำถามที่มีผู้ตอบถูกมากที่สุด ได้แก่ เลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยทำได้อย่างไรบ้าง (คำตอบที่ถูกต้องคือ ควรเลือกที่มีสีชมพูอ่อนธรรมชาติ ไม่แดงเกินไป ไม่ซีดเกินไป กัดแล้วเป็นรอยบุ๋ม) และสารเคมีใดบ้างที่พบว่าปนเปื้อนในเนื้อหมูปดและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (คำตอบที่ถูกต้องคือ สารเร่งเนื้อแดง) โดยตอบถูกร้อยละ 91.97 และ 81.27 ตามลำดับ คำถามที่มีผู้ตอบถูกน้อยที่สุดคือ สารเร่งเนื้อแดงมีอันตรายต่อสุขภาพอย่างไร (คำตอบที่ถูกต้องคือ มีอาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน หัวใจเต้นเร็ว ผิดปกติ บางรายมีอาการเป็นลม เป็นอันตรายอย่างยิ่ง ต่อหญิงมีครรภ์และยังเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งได้) ร้อยละ 66.62 (ดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ตัวแปร	จำนวน	ร้อยละ
1. การเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยทำได้ อย่างไรบ้าง	653	91.97
2. สารเคมีที่พบว่าปนเปื้อนในเนื้อหมู บ่อยที่สุด และเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค	577	81.27
3. หากรับประทานเนื้อหมูมีสารเร่ง เนื้อแดงในปริมาณสูงจะมีอาการอย่างไร	520	73.24
4. สารเร่งเนื้อแดงคืออะไร	478	68.32
5. สารเร่งเนื้อแดงมีเป็นอันตรายต่อ สุขภาพอย่างไร	437	66.62

3. ทักษะที่ต้องต้องการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย

ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่มีระดับทักษะที่ต้องต้องการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย อยู่ระดับกลาง ร้อยละ 47.46 รองลงมา มีทักษะที่ต้องต้องการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยระดับสูง ร้อยละ 41.13 และมีทักษะที่ต้องต้องการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยระดับต่ำ 11.41 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างที่มีทัศนคติที่ถูกต้องในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยในแต่ละระดับ (n=710)

จำนวน	ร้อยละ	คะแนน	ระดับ
292	41.13	20-25	สูง
337	47.46	15-19	กลาง
81	11.41	< 15	ต่ำ

ผลการวิเคราะห์ทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยจำแนกเป็นรายข้อ พบว่า คำถามเกี่ยวกับทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยที่มีผู้เห็นด้วยที่สุดจำนวนมากที่สุด คือ เนื้อหมูที่มีกลิ่น มีรอยชำ จำเป็นเลือกจุด ๆ เป็นเนื้อหมูที่ไม่มีคุณภาพ ไม่ควรซื้อมาบริโภค ร้อยละ 73.9 รองลงมา โดยมีคะแนนเฉลี่ย 4.37 เต็ม 5.0 ลำดับถัดมาเป็นข้อ เนื้อหมูที่คุณภาพดี คือเนื้อหมูที่มีความยืดหยุ่น กัดแล้วไม่มีรอยบุ๋ม เนื้อไม่แข็งจนเกินไป ร้อยละ 45.8 มีคะแนนเฉลี่ย 4.15 ส่วนทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยที่มีผู้เห็นด้วยที่สุดจำนวนน้อยที่สุด คือ เนื้อหมูที่มีสีแดงสดจะมีรสชาติที่ดีกว่าเนื้อหมูที่มีสีซีด หรือสีชมพู ร้อยละ 18 และเนื้อหมูที่มีสีแดงคือเนื้อหมูที่สดใหม่ มีคุณภาพ ร้อยละ 19.6 โดยมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 3.23 (ดังตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวน ร้อยละ และค่าเฉลี่ยของทัศนคติต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยจำแนกรายข้อ

ทัศนคติต่อการเลือกซื้อ	จำนวน	เห็นด้วยที่สุด	เห็นด้วย	เฉย ๆ	ไม่ค่อยเห็นด้วย	ไม่เห็นด้วย	ค่าเฉลี่ย	SD
1. เนื้อหมูที่มีสีแดงคือเนื้อหมูที่สดใหม่ มีคุณภาพ	710	19.6	23.7	32.1	9.9	14.8	3.23	1.287
2. การเลือกซื้อเนื้อหมูที่มีตรารับรองคุณภาพ "Q" บนบรรจุภัณฑ์จะได้เนื้อหมูที่มีคุณภาพดี ปราศจากสารปนเปื้อนกว่าซื้อที่ตลาดสด	650	34.8	31.6	24.9	3.52	5.2	3.87	1.091
3. เนื้อหมูที่คุณภาพดี คือเนื้อหมูที่มีความยืดหยุ่น กัดแล้วไม่มีรอยบุ๋ม เนื้อไม่แข็งจนเกินไป	710	45.8	31.8	17.5	1.6	3.4	4.15	0.988
4. เนื้อหมูที่มีกลิ่น มีรอยชำ จำเป็นเลือกจุด ๆ เป็นเนื้อหมูที่ไม่มีคุณภาพ ไม่ควรซื้อมาบริโภค	710	73.9	9.0	6.1	2.7	8.3	4.37	1.231
5. เนื้อหมูที่มีสีแดงสด จะมีรสชาติที่ดีกว่าเนื้อหมูที่มีสีซีด หรือสีชมพู	710	18.0	6.7	32.3	12.3	20.1	2.99	1.357
รวม	710						3.72	0.745

4. ปัจจัยที่ส่งผลต่อทัศนคติในการเลือกซื้อเนื้อหมู

เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ถดถอย (Beta) จากการวิเคราะห์ข้อมูลทั้ง 9 ตัวแปร พบว่า รายได้ครอบครัวต่อเดือน (Beta =0.222, t=4.035, p-value <0.05) และสถานที่ซื้อเนื้อหมูบ่อยสุด (Beta =0.79, t=2.109, p-value <0.05) เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อ

ตารางที่ 6 ปัจจัยที่ส่งผลต่อทัศนคติการเลือกซื้อเนื้อหมู

ตัวแปร	B	Standard Error	Beta	t	p-Value
เพศ	.414	.285	.055	1.453	.147
อายุ	-.710	.175	-.266	-4.054	.000
อาชีพ	.206	.107	.087	1.930	.054
สถานภาพสมรส	-.261	.292	-.041	-.8960	.371
รายได้ครอบครัวต่อเดือน	.642	.159	.222	4.035	.000
จำนวนสมาชิกในครอบครัว	.286	.218	.049	1.310	.191
สถานที่ซื้อเนื้อหมูบ่อยสุด	.514	.244	.079	2.109	.035
ส่วนของเนื้อหมูสดที่ซื้อบ่อยสุด	-.056	.081	-.026	-.6940	.488
ความรู้การเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย	.069	.136	.019	.5100	.610

ทัศนคติต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นผลเชิงบวก ส่วน เพศ อายุ อาชีพ สถานภาพสมรส จำนวนสมาชิกในครอบครัว ส่วนของเนื้อหมูที่ซื้อบ่อยสุด และความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย เป็นปัจจัยที่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 6

อภิปรายผล

จากผู้ตอบแบบสอบถามจำนวน 710 คน ส่วนใหญ่มีรายได้ครอบครัวต่อเดือนมากกว่า 35,000 บาท มีขนาดของครอบครัวที่ 4-6 คน ใกล้เคียงกับข้อมูลสำนักงานสถิติแห่งชาติ พ.ศ. 2564 เฉลี่ย 39,047 บาท¹⁰ การศึกษานี้เก็บข้อมูลจากผู้ที่ใช้ถึงอินเทอร์เน็ตได้ ดังนั้นผู้ตอบแบบสอบถามมีสมาร์ทโฟนหรืออุปกรณ์ที่เข้าถึงอินเทอร์เน็ตได้ อาจแสดงให้เห็นระดับรายได้ที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยทั่วไป และแสดงถึงความเป็นคนทันสมัยในเรื่องเทคโนโลยี และวิถีในการใช้ชีวิตที่แตกต่างจากผู้ที่ไม่ได้ใช้อินเทอร์เน็ต ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่ร้อยละ 52.3 เลือกซื้อเนื้อหมู

จากซูเปอร์มาร์เก็ต อาจเป็นเพราะในกรุงเทพมหานครเป็นเมืองที่มีประชากรอาศัยอยู่อย่างหนาแน่น มีร้านค้าปลีกสมัยใหม่ (modern trade) เช่น โลตัส บิ๊กซี แมคโคร รวมทั้งซูเปอร์มาร์เก็ตเติบโตเพิ่มจำนวนกระจายในพื้นที่ต่าง ๆ มากขึ้นทุกปี¹¹ ทำให้สะดวกต่อการเดินทางไปซื้อเนื้อหมูสด ประกอบกับการค้าปลีกบางรายขายในราคาที่ไม่ได้สูงกว่าราคาทั่วไป⁴ อาจทำให้ผู้บริโภคนิยมเลือกซื้อเนื้อหมูจากซูเปอร์มาร์เก็ต ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของสุวิมล ฉัตรานุกูล ที่ระบุว่าความสะดวกคือปัจจัยสำคัญในการเลือกซื้อเนื้อหมู¹⁴

ทางด้านความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย พบว่า ส่วนใหญ่มีคะแนนความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยในระดับสูง แต่มีทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยที่ระดับกลาง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง ประกอบกับผลการศึกษาชี้ว่าเพศหญิงมีคะแนนความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยและทัศนคติที่ถูกต้องต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูสูงกว่าเพศชาย และในสังคมไทยโดยส่วนใหญ่เพศหญิงรับบทบาทเป็นผู้ดูแลเรื่องอาหารการกินของครอบครัว นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงตัวแปรอื่นได้แก่กลุ่มอายุที่พบว่าช่วงอายุ 40-49 ปี อาชีพแม่บ้าน ครู/อาจารย์ และพนักงานบริษัท เป็นกลุ่มที่มีคะแนนเฉลี่ยความรู้และทัศนคติเกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยสูงสุด อาจเป็นเพราะเป็นกลุ่มที่ดูแลตนเองและหรือดูแลครอบครัวในเรื่องอาหารจำเป็นต้องศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้ออาหารปลอดภัยรวมถึงการเลือกซื้อวัตถุดิบอาหารปลอดภัยเพื่อนำมาประกอบอาหาร รวมถึงขนาดของครอบครัวที่พบว่าครอบครัวที่มีสมาชิก 6 คนขึ้นไปมีทัศนคติต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยสูงสุด อาจเป็นเพราะครอบครัวใหญ่นิยมปรุงอาหารรับประทานกันเองภายในครอบครัวเนื่องจากประหยัดค่าใช้จ่าย และ/หรือสบายใจกว่าเนื่องจากสะอาดและถูกสุขอนามัย

การศึกษาครั้งนี้พบว่า ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่มีความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยในระดับกลาง สอดคล้องกับบรรพ อ๊ะพุกษ์¹⁵

ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความรู้ ทัศนคติ ด้านความปลอดภัยของเนื้อสัตว์และพฤติกรรมการเลือกซื้อเนื้อจากตลาดสดของผู้บริโภคในจังหวัดราชบุรีเมื่อ พ.ศ. 2556 ที่พบว่าผู้ตอบมีระดับความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อสัตว์ปลอดภัยในระดับกลาง ขณะที่ทัศนคติด้านความปลอดภัยของเนื้อสัตว์อยู่ระดับสูง โดยกลุ่มตัวอย่างได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับความปลอดภัยของเนื้อสัตว์จากสื่อสารมวลชน สื่อสิ่งพิมพ์ และเจ้าหน้าที่ภาครัฐ แสดงให้เห็นว่าการได้รับข้อมูลข่าวสารส่งผลโดยตรงกับระดับความรู้ความเข้าใจและทัศนคติต่ออาหารปลอดภัย เช่นเดียวกับผลการศึกษาปัจจัยการรับรู้และการปฏิบัติด้านการป้องกันการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารสดในอำเภอหนองปรือ จังหวัดชลบุรี เมื่อ พ.ศ. 2553 พบว่า ปัจจัยที่ความสัมพันธ์กับการปฏิบัติด้านการป้องกันการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารสด ได้แก่ การศึกษา รายได้ สุขภาพ และช่องทางการได้รับความรู้¹⁵

จากการวิเคราะห์รายคำถาม เช่น ความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูสดปลอดภัย และทราบถึงสารเคมีใดบ้างที่พบว่าปนเปื้อนในเนื้อหมูป่วยที่สุดและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ที่กลุ่มตัวอย่างร้อยละ 91.97 และ 81.27 มีความรู้ถูกต้อง อาจเป็นเพราะการสื่อสารและการประชาสัมพันธ์ความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยทางสื่อประชาสัมพันธ์ต่าง ๆ แก่ผู้บริโภค อย่างไรก็ตามที่เกี่ยวกับสารเร่งเนื้อแดงคืออะไร และสารเร่งเนื้อแดงเป็นอันตรายต่อสุขภาพอย่างไร เป็นคำถามที่ผู้ตอบแบบสอบถามตอบถูกน้อยที่สุดคือ

ร้อยละ 68.32 และ 66.62 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ ความรู้ที่เฉพาะเจาะจงลึกกว่าความรู้ทั่วไป ในขณะที่ ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่ได้รับข้อมูลคำแนะนำ ว่าควรต้องเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยอย่างไร แต่ เหตุผลเชิงลึกหรือข้อมูลเฉพาะ เช่น ผลกระทบ ต่อสุขภาพ หรือ ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คนส่วนใหญ่ อาจจะไม่ทราบ

ในด้านการศึกษาทัศนคติต่อการเลือกซื้อ เนื้อหมูปลอดภัย พบว่าผู้ตอบแบบสอบถามเห็นด้วย อย่างยิ่งต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย ต่อ คุณลักษณะของเนื้อหมุมากกว่าสีของเนื้อหมู เช่น เนื้อหมูที่มีกลิ่น มีรอยชำ จำเป็นเลือกจุด ๆ เป็น เนื้อหมูที่ไม่มีคุณภาพ ไม่ควรซื้อมาบริโภค ร้อยละ 73.9 และคำถามเนื้อหมูที่คุณภาพดี คือเนื้อหมู ที่มีความยืดหยุ่น กัดแล้วไม่มีรอยบุ๋ม เนื้อไม่แข็ง จนเกินไป ร้อยละ 45.8 ในทางกลับกันการเลือกซื้อ เนื้อหมูปลอดภัยเกี่ยวกับสีของเนื้อหมูสด เช่น เนื้อหมูที่มีสีแดงสด จะมีรสชาติที่ดีกว่าเนื้อหมูที่มี สีซีด หรือสีชมพู และเนื้อหมูที่มีสีแดงคือเนื้อหมู ที่สดใหม่ มีคุณภาพ มีผู้เห็นด้วยอย่างยิ่งเป็นจำนวน น้อยสุด ร้อยละ 19.6 และ 18.0 แสดงให้เห็นว่า ผู้บริโภคมีความตระหนักเกี่ยวกับสารเร่งเนื้อแดง ที่อาจปนเปื้อนมาในเนื้อหมูสด ในขณะที่ตรารับรอง คุณภาพ “Q” บนบรรจุภัณฑ์ที่รับรองเนื้อหมูที่มี คุณภาพดี ปราศจาก สารปนเปื้อน ผู้บริโภคส่วนใหญ่ ยังไม่ให้ความสำคัญ จึงไม่ได้ตระหนักถึงสัญลักษณ์ คุณภาพนี้มาก่อน สอดคล้องกับ เออวดี เปรมัชเชียร และ ณัฐพล พจณาประเสริฐ¹⁶

จากการวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อทัศนคติ ต่อการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยของผู้ตอบแบบ สอบถามพบว่า ปัจจัยด้านรายได้ และ สถานที่ ที่เลือกซื้อเนื้อหมูปวยสุด ส่งผลต่อทัศนคติต่อ การเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะรายได้เป็นหนึ่งใน ตัวแปรสำคัญในการเลือกซื้อเนื้อหมูที่กำหนดว่า จะสามารถเลือกซื้อสินค้าแบบไหน คุณภาพระดับ ไต¹⁷ ซึ่งสินค้าคุณภาพที่แตกต่างกันอาจมีระดับ ราคาที่แตกต่างกัน ในขณะที่แนวคิดส่วนประสม ทางการตลาดได้อธิบายเกี่ยวกับ ปัจจัยด้านสถานที่ จัดจำหน่ายส่งผลต่อความรู้สึกและการตัดสินใจ ซื้อสินค้าของผู้ลูกค้า

อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดของการศึกษานี้ เป็นการเก็บข้อมูลจากผู้เข้าถึงอินเทอร์เน็ตได้ จึงไม่ครอบคลุมประชากรที่ไม่สามารถเข้าถึง อินเทอร์เน็ต และไม่ได้ศึกษาถึงประเด็นความถี่ ในการซื้อหมูมาปรุงอาหารของประชาชน และ การจำแนกถึงผู้ประกอบการปรุงอาหารจำหน่าย

สรุปผล

ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่มีคะแนน ความรู้เกี่ยวกับการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย อยู่ระดับกลาง ($M=3.80$, $SD=1.04$) ส่วนใหญ่ มีความรู้เกี่ยวกับการซื้อเนื้อหมูสดปลอดภัย ตระหนักถึงสารปนเปื้อนที่อาจมากับเนื้อหมู แต่ส่วนใหญ่ยังตอบคำถามเกี่ยวกับสารเร่งเนื้อแดง ไม่ถูกต้อง ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่มีทัศนคติ

อยู่ระดับกลาง ($M=18.62$, $SD=3.73$) ให้ความสำคัญกับคุณลักษณะของเนื้อหมู เช่น มีความยืดหยุ่น ไม่มีรอยชำ หรือจ้ำ มากกว่าสีของเนื้อหมูสด ทางด้านปัจจัยที่สามารถทำนายทัศนคติในการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัย ได้แก่ รายได้ครอบครัวต่อเดือน ($Beta = 0.222$, $t=4.035$, $p\text{-value} < 0.001$) และสถานที่ซื้อเนื้อหมูปวยสุด ($Beta = 0.79$, $t=2.109$, $p\text{-value} < 0.05$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรให้ความรู้ผู้บริโภคเกี่ยวกับเครื่องหมายมาตรฐานอาหารต่าง ๆ ที่รับรองคุณภาพของสินค้าอาหารสด มากขึ้นเพื่อให้ผู้บริโภคตระหนักถึงการเลือกซื้อเนื้อหมูปลอดภัยเพิ่มมากขึ้น
2. ควรมีการรณรงค์ให้ผู้จำหน่ายสินค้าหันมาจำหน่ายสินค้าที่มีเครื่องหมายมาตรฐานรับรองมากขึ้น เพื่อเป็นสร้างความตระหนักเรื่องอาหารปลอดภัยให้ทั้งกับผู้จำหน่าย ผู้บริโภค และผู้ผลิตสินค้า

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. สถานการณ์สินค้าสุกร และแนวโน้ม ปี 2566 [อินเทอร์เน็ต]. สมุทรปราการ: สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ; 2565 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.swinethailand.com/#:~:text=ปี%202561%20-%202565%20ความต้องการ,บริโภคเนื้อสุกรมากที่สุด>
2. มูลนิธิโครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ. การเลี้ยงหมู

[อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: มูลนิธิโครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน; 2562 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก : <https://saranukromthai.or.th/sub/book/book.php?book=18&chap=9&page=t18-9-infodetail01.html>

3. The101.world. สารเร่งเนื้อแดงในหมู [อินเทอร์เน็ต]. 256 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.the101.world/racetopamine-on-pork/>
4. ปรมเมศร์ อัครเรืองพิภพ, ชลิตา ศรีนวล, โอปอล์ สุวรรณเมฆ, อภิวรรต กรมเมือง, ณรงค์ฤทธิ์ อัครเรืองภพ. พฤติกรรมการซื้อและเจตคติที่มติดต่อการบริโภคชิ้นส่วนสุกรของผู้บริโภคในประเทศไทย. วารสารสหศาสตร์ศรีปทุมชลบุรี ปีที่ 7 [อินเทอร์เน็ต]. 2564 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565] ;7(1):30-46. เข้าถึงได้จาก : <https://so04.tci-thaijo.org/index.php/ISCJ/article/view/250033>
5. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, เกียรติคุณ รัตนานพนธ์, นิธิยา รัตนานพนธ์. สารเร่งเนื้อแดง [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหาร; 2562 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2091/beta-agonist#:~:text=การบริโภคเนื้อสัตว์ที่,กลับ%20คลื่นไส้%20อาเจียน%20มีอาการ>
6. สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา. พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2525 [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: ราชกิจจานุเบกษา

- เล่ม 99/ตอนที่ 111/ฉบับพิเศษ หน้า 25/11 สิงหาคม 2525. [เข้าถึงเมื่อ 1 มิ.ย. 2566]. เข้าถึงได้จาก : <http://web.krisdika.go.th/data/law/law2/%A421/%A421-20-9998-update.pdf>
7. นพดล มีมาก, สิริลักษณ์ สายหงษ์. การตรวจพบสารกลุ่มเบต้าอะโกนินในสุกรจากฟาร์ม และโรงฆ่าสัตว์ในภาคตะวันตกของประเทศไทย. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย [อินเทอร์เน็ต]. 2552 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]; (1)1: 13-9. เข้าถึงได้จาก: https://kukrdb.lib.ku.ac.th/proceedings/index.php?/KUCON/search_detail/result/10881
 8. จีรศักดิ์ เพิ่มฉลาด, หนึ่งฤทัย เสนาราชภูรี, ถนอม ทาทอง, พิทักษ์พล พรอเนก. คุณภาพและความปลอดภัยของเนื้อสุกรที่จัดจำหน่ายในจังหวัดอำนาจเจริญ. วารสารแก่นเกษตร 2564; 2: 826-32.
 9. Chanuan Uakarn, et. al. Sample size estimation using Yamane and Cochran and Krejcie and Morgan and Green Formulas and Cohen Statistical Power Analysis by G*Power and Comparisons. APHEIT INTERNATIONAL JOURNAL 2021: 76-88
 10. สำนักงานสถิติแห่งชาติ. สถิติรายได้และรายจ่ายของครัวเรือน [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: สำนักงานสถิติแห่งชาติ; 2565 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก: <http://statbbi.nso.go.th/staticreport/page/sector/th/08.aspx>
 11. นรินทร์ ต้นไพบูล. แนวโน้มธุรกิจ อุตสาหกรรม ปี 2564-2566 ธุรกิจร้านค้าปลีกสมัยใหม่ [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: ธนาคารกรุงศรีอยุธยา; 2564 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.krungsri.com/th/research/industry/industry-outlook/wholesale-retail/modern-trade/io/io-modern-trade-21>
 12. ทรุไอดี. ราคาอาหารสดวันนี้ 7 กุมภาพันธ์ 2566 ราคาหมู เนื้อสัตว์ ไก่ไก่ ผัก [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: ทรุ ดิจิทัล; 2566 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก: <https://food.trueid.net/detail/ykWgQrz4R7Pk>
 13. แม็คโคร. ผลิตภัณฑ์ เนื้อหมู [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: บริษัท สยามแม็คโคร จำกัด; 2566 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.makro.pro/en/c/meat/pork>
 14. สุวิมล ฉัตรานุกูล. ปัจจัยการรับรู้และการปฏิบัติด้านการป้องกันการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารสดของประชาชน ตำบลหนองปรือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี. [ปริญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต]. นนทบุรี: มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช; 2560.
 15. วรพร แฮ้พฤกษ์. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความรู้และทัศนคติด้านความปลอดภัยของเนื้อสัตว์ต่อพฤติกรรมการซื้อเนื้อสัตว์จาก

- ตลาดสดของผู้บริโภคในจังหวัดราชบุรี. [ปริญา
ศิลปศาสตร์มหาบัณฑิต]. นครปฐม: มหาวิทยาลัย
ศิลปากร; 2556.
16. เออวดี เปรมัชฌีเยร, ณัฐพล พจณาประเสริฐ.
คุณลักษณะด้านความปลอดภัยที่ส่งผลต่อ
การตัดสินใจซื้อเนื้อสุกร: การแบ่งกลุ่มผู้บริโภค.
วารสารเศรษฐศาสตร์และกลยุทธ์การจัดการ
[อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 1 ม.ค.
2565] ;7(2):158-76 เข้าถึงได้จาก: [https://
kuojs.lib.ku.ac.th/index.php/jems/article/
download/3166/1896/](https://kuojs.lib.ku.ac.th/index.php/jems/article/download/3166/1896/)
17. สมยศ นนทะพุทธ. พฤติกรรมการเลือกซื้อ
เนื้อสุกรของผู้บริโภคในเขตเทศบาลนคร
หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา [ปริญาบริหารธุรกิจ
มหาบัณฑิต]. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลา
นครินทร์; 2559.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 (2566): พฤษภาคม - สิงหาคม
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 30 No. 2 (2023): May - August

ความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร โดยวิธี Pour plate ของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี

วิภาวดี รากแก่น¹ สุจิตรา แสนทวีสุข¹ สุดารัตน์ แก้วมณี¹ สุทธิพงษ์ แสงโชติ¹¹ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานีที่อยู่ติดต่อ: วิภาวดี รากแก่น ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี 82 ถ.คลังอาวุธ ต.ขามใหญ่ อ.เมือง
จ.อุบลราชธานี 34000 wipawadee.r@dmsc.mail.go.th

Uncertainty of Total Bacterial Count in Food by the Pour Plate Technique of the Microbiological Laboratory, Regional Medical Sciences Centre 10, Ubonratchathani

Wiphawadi Rakkaen¹, Suchittra Saentaweek¹, Sudarat Kaewmanee¹, Suttipong Saengchot¹¹Regional Medical Sciences Center 10, UbonratchathaniContact address: Wiphawadi Rakkaen, Regional Medical Sciences Center 10, Ubonratchathani, 82 KlungArwut Road,
Tambon Khamyai, Muaeng, Ubonratchathani, 34000, Thailand, wipawadee.r@dmsc.mail.go.th

Received: 25 October 2022, Revised: 19 May 2023, Accepted: 30 June 2023

Abstract

Background: Total Bacterial Count Analysis is a standard criterion to indicate food spoilage. If the amount of Total Bacterial Count is high, it causes many diseases especially in the children who get low immunities; such as, stomachache, nauseous, vomit, and fever. The Ministry of Public Health that is specified in many types of food. The microbiological laboratory Medical Sciences Center 10, Ubon Ratchathani analyzed

samples using the BAM Online. Chapter 3. 2001 with Pour plate technique. The standard required laboratories to evaluate measurement uncertainty to show the accuracy from ISO 19036:2009 standards. The standard required laboratories to evaluate measurement uncertainty to show only deviation standard of reproduction. Since the standard ISO 19036:2019 in the new version required Pour plate technique, it obtained to calculate the 3 uncertainty components; Technical uncertainty, Matrix uncertainty, and Distribution uncertainty. Thus, the microbiological laboratory Medical Sciences Center 10, Ubon Ratchathani had to indicate the uncertainty concerning with the standard in the present time.

Objectives: This research was aimed to evaluate the results of Intralaboratory reproducibility standard deviation (S_{IR}), and to calculate the expanded uncertainty analysis's result

Methods: This experimental research was in The microbiological laboratory Medical Sciences Center 10, Ubon Ratchathani during August-October, 2020. There were 4 analyzers in the laboratory analyzed of total bacteria count in food with 10 different samples by using the BAM Online (2001) Chapter 3 standard method. The samples were Vietnamese noodles, milk, prickled fish, sauces, ingredient powder, ice-cream, sausages, Isan prickled pork, sushi, and others with lyophilize sample. Then, the results were calculated from Standard deviation, SIR or Technical Uncertainty (U_{tech}) referred to uncertainty of procedure analysis in the microbiology laboratories; Matrix Uncertainty (u_{matrix}) referred to uncertainty of the samples' characteristics and bacteria's spreading in the samples; and Distributional Uncertainty ($u_{poisson}$) referred to uncertainty of total colonies counting analysis to the results' report.

Results: Based on the analysis of total bacteria count in 10 different food samples from 4 analyzers and covered in normal, routine and naturally contaminated samples that the estimated results were not different in statistical significance (p -value) = 0.9989.

The standard deviation of reproducibility (S_{IR}) value was 0.0946. This was used to calculate the expanded uncertainty for the report on the total bacterial counts in food to show the extent of the error of the results at the 95% confidence level.

Conclusions: The results of uncertainty estimation from intralaboratory reproducibility standard deviation (S_{IR}) appropriated to find the results of the uncertainty of the total bacterial count in the sampling food. However, the laboratory should experiment the other kinds of food to test or aware in S_{IR} value which should not higher than the laboratory's limitation with 0.1 value. If higher, the laboratory should analyze other factors, and improve in the case of changing the analyzers with the new up-to-date S_{IR} value.

Keywords: uncertainty estimation, total bacterial count, pour plate technique, laboratory of the medical science

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การเน่าเสียของอาหาร หากปริมาณเชื้อมีจำนวนมากอาจส่งผลให้เกิดความเจ็บป่วยได้โดยเฉพาะในเด็กที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น อาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และมีไข้ กระทรวงสาธารณสุขจึงกำหนดเกณฑ์มาตรฐานไว้ในอาหารหลายประเภท ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี เป็นหน่วยงานที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 ตรวจสอบวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร โดยใช้วิธีมาตรฐานสากล BAM (online) Chapter 3. 2001 ด้วยเทคนิค Pour plate และได้หาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์เพื่อแสดงถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO 19036: 2009 ซึ่งมาตรฐานฉบับนี้กำหนดค่าความไม่แน่นอนจากผลลัพธ์ของความเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้เท่านั้น แต่เนื่องจากมาตรฐาน ISO 19036: 2019 ฉบับใหม่กำหนดให้เทคนิค pour plate ต้องคำนวณค่าความไม่แน่นอนจาก 3 องค์ประกอบคือ Technical uncertainty, Matrix uncertainty และ Distribution uncertainty มาคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยาย ด้วยเหตุนี้ศูนย์ ฯ จึงต้องศึกษาหาค่าความไม่แน่นอนเพื่อให้สอดคล้องกับมาตรฐานฉบับปัจจุบัน

วัตถุประสงค์: เพื่อหาผลลัพธ์ของการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR}) และนำมาใช้ในการคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายของการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์

วิธีการวิจัย: เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ระหว่างเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2563 มีผู้วิเคราะห์จำนวน 4 คน ตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างอาหารชนิดเดียวกันที่ตรวจเป็นงานประจำของห้องปฏิบัติการตามวิธีมาตรฐาน BAM Online (2001) Chapter 3 จำนวน 10 ตัวอย่าง ได้แก่ เส้นกวยจั๊บน้ำร้อน นม น้ำปลาร้า ซอส ผงปรุงรส ไอศกรีม ไส้กรอก แหนม ชูชิ และตัวอย่างทดสอบชนิด lyophilize นำผลการตรวจวิเคราะห์ของทุกคนมาหาค่า S_{IR} หรือ Technical Uncertainty (u_{tech}) คำนวณค่าความไม่แน่นอนจากผลรวมของ u_{tech} , Matrix Uncertainty (u_{matrix}) และ Distributional Uncertainty ($u_{poisson}$) เพื่อคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายสำหรับใช้รายงานผลการทดสอบ

ผลการศึกษา: ผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารจำนวน 10 ตัวอย่างของผู้วิเคราะห์จำนวน 4 คน พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของการตรวจวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างให้ผลใกล้เคียงกันทุกตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} = 0.9989$) ผลการคำนวณค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR}) = 0.0946 ซึ่งนำมาใช้ในการคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายสำหรับรายงานในใบรายงานผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารเพื่อแสดงขอบเขตความคลาดเคลื่อนของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สรุป: ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR}) มีความเหมาะสมในการนำมาใช้หาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร แต่ห้องปฏิบัติการควรมีการทดสอบชนิดตัวอย่างอาหารเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบหรือเผื่อาระวังค่า S_{IR} ไม่ให้สูงเกินเกณฑ์ที่ห้องปฏิบัติการกำหนดไว้คือไม่เกิน 0.1 หากมีค่าเกินเกณฑ์ห้องปฏิบัติการต้องวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ และทำการปรับปรุงแก้ไข กรณีที่มีการเปลี่ยนผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต้องมีการหาค่า S_{IR} ใหม่ให้ทันสมัย

คำสำคัญ: ความไม่แน่นอน จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา วิธี pour plate

บทนำ

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความสะอาดและเน่าเสียของอาหาร โดยทั่วไปจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดสี กลิ่น และรสที่ผิดปกติ ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมีประมาณ 10⁶ -10⁹ โคลนิต่อกรัมหรือต่อมิลลิลิตร (CFU/g หรือ ml)¹ จำนวนแบคทีเรียที่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กฎหมายกำหนดอาจทำให้ผู้บริโภคเกิดความเจ็บป่วยได้โดยเฉพาะในเด็กที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น อาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และเป็นไข้ ซึ่งความรุนแรงขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่ได้รับ ดังนั้น อาหารที่มีความปลอดภัยปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จึงมีความสำคัญ กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดเกณฑ์ของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นมโคสดหรือนมโคพลาสเจอร์ไรส์ 1 ml ไม่เกิน 10,000 CFU/ml อาหารกึ่งสำเร็จรูปประเภท กวายนึ่ง กวยจั๊บ เส้นหมี่และวุ้นเส้นไม่เกิน 30,000 CFU/g และประเภทบะหมี่ไม่เกิน 100,000 CFU/g เป็นต้น²⁻³ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ได้รับการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ การตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดใช้วิธีมาตรฐานสากล BAM (online) Chapter 3. 2001⁴⁻⁵ เทคนิค Pour plate อย่างไรก็ตามแม้ว่าวิธีทดสอบจะไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่ความถูกต้องแม่นยำขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น

การเตรียมตัวอย่าง การเจือจางตัวอย่าง การบ่มเพาะเชื้อ การนับเชื้อ ความสามารถของผู้ทดสอบ และการวิเคราะห์ข้อมูล เป็นต้นในมาตรฐาน ISO 17025: 2017 กำหนดให้ห้องปฏิบัติการต้องหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์เพื่อแสดงความสามารถของห้องปฏิบัติการและใช้ในการพัฒนาคุณภาพของห้องปฏิบัติการ การหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณด้านจุลชีววิทยาไม่สามารถหาค่าจริง (true value) ของระดับเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างได้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงและแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลาและจำแนกออกเป็น strain species และ genera แตกต่างกันทำให้ความคลาดเคลื่อนของการวัดเกิดขึ้นเสมอ⁶ มาตรฐาน ISO 19036: 2009 หาค่าความไม่แน่นอนจากผลลัพธ์ของความเบี่ยงเบนมาตรฐานของความซ้ำซ้ำได้ (Standard deviation of reproducibility, S_R) เท่านั้น แต่มาตรฐาน ISO 19036:2019 กำหนดวิธีการหาค่าความไม่แน่นอนด้านจุลชีววิทยาของเทคนิค pour plate จาก 3 องค์ประกอบ คือ องค์ประกอบที่ 1 Technical Uncertainty (u_{tech}) โดยใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการซ้ำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (inter laboratory reproducibility standard deviation: S_R) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญและมีผลต่อความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์มากที่สุด เกิดจากขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ การชักตัวอย่างของห้องปฏิบัติการ การเตรียมตัวอย่าง การเจือจาง

ตัวอย่าง การถ่ายเชื้อ การบ่มเพาะเชื้อ การนับจำนวนโคโลนี⁸ องค์ประกอบที่ 2 Matrix Uncertainty (u_{matrix}) เกิดจากลักษณะของตัวอย่างและการกระจายของเชื้อในตัวอย่างซึ่งจะส่งผลต่อการทดสอบ ดังนั้นการผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน เช่น ตัวอย่างที่เป็นของเหลว ได้แก่ นม น้ำ เครื่องดื่ม เป็นต้น จะทำให้ค่าความไม่แน่นอนน้อย ส่วนตัวอย่างที่เป็นของแข็งซึ่งทำการผสมเป็นเนื้อเดียวกันยากอาจทำให้ค่าความไม่แน่นอนสูงซึ่งห้องปฏิบัติการสามารถลดค่าความไม่แน่นอนด้วยการชั่งตัวอย่างจำนวนมากขึ้น และองค์ประกอบที่ 3 Distributional Uncertainty ($u_{poisson}$) เกิดจากการนับจำนวนโคโลนีทั้งหมดในตัวอย่างแต่ละครั้งที่ตรวจวิเคราะห์และนำมาใช้ในการรายงานผลจำนวนแบคทีเรีย⁷⁻⁸ ด้วยเหตุนี้ศูนย์ฯ จึงต้องดำเนินการศึกษาหาค่าความไม่แน่นอนให้สอดคล้องกับมาตรฐานฉบับปัจจุบัน

วัตถุประสงค์

เพื่อหาผลลัพธ์ของการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (SIR) และนำมาใช้ในการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนขยายของการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) ระหว่างเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2563

โดยมีผู้วิเคราะห์ทั้งหมดในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาจำนวน 4 คน ดำเนินการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันตามวิธีมาตรฐาน BAM (online) Chapter 3. 2001⁵

กลุ่มตัวอย่าง

คัดเลือกชนิดตัวอย่างที่มีการตรวจวิเคราะห์เป็นประจำ ได้แก่ เส้นกวยจั๊บ นม น้ำปลาร้า ซอสผงปรุงรส ไอศกรีม ไส้หอก แหนม ซูชิ และตัวอย่างทดสอบชนิด Lyophilize ตัวอย่างอาหารแห้งแบบเยือกแข็ง (ตัวอย่างทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง) อย่างละ 1 ตัวอย่างรวม 10 ตัวอย่าง ตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO 19036: 2019 กำหนดให้เลือกชนิดอาหารให้ครอบคลุมตัวอย่างปกติที่เป็นงานประจำของห้องปฏิบัติการและมีการปนเปื้อนตามธรรมชาติ (national contamination) ไม่น้อยกว่า 10 ตัวอย่าง⁷

เครื่องมือ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปเตรียมตามสูตรและวิธีที่ผู้ผลิตระบุ ได้แก่ Plate Count Agar (PCA agar) และ Phosphate-buffer dilution water (diluent)
2. สารเคมี เอทานอลความเข้มข้น 70 %
3. วัสดุ อุปกรณ์ ได้แก่ หลอดแก้วทดลองขนาด 16 x 150 ml พร้อมฝา ขวดแก้ว Duran ขนาด 500 ml จานเพาะเชื้อขนาด 15 x 100 ml พร้อมฝา ไปเปตต์ (transfer pipette) ขนาด 5 และ 1 ml ถุงสโตมซ์เซอร์ปลอดเชื้อ ปากคีบปลอดเชื้อ และกรรไกรปลอดเชื้อ

4. เครื่องตีผสมอาหาร เครื่องนับจำนวน จุลินทรีย์ และเครื่องมือที่ผ่านการสอบเทียบและ มีการประเมินผลการสอบเทียบ ได้แก่ เครื่องชั่ง ไฟฟ้าความละเอียด 0.01 g เครื่องนึ่งทำลายเชื้อ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง และตู้อบเพาะเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 35 °C สำหรับตัวอย่าง อาหารทั่วไป และ 32 °C สำหรับตัวอย่างนม

ขั้นตอนดำเนินการ

1. เตรียมตัวอย่างอาหารทางจุลชีววิทยา โดยชั่งตัวอย่างอาหารชนิดที่เป็นของแข็งได้แก่ ซอส ผลปรุงรส ไอศกรีม ไส้กรอก และซูชิ จำนวน 50 ± 0.1 g ใส่ลงไปในเครื่องตีผสมอาหารที่ปลอดเชื้อ และ/หรือไปเปตต์ ตัวอย่างอาหารที่เป็นของเหลว ได้แก่ นม น้ำปลาร้า และตัวอย่างทดสอบชนิด Lyophilize ที่เจือจางด้วย Phosphate buffer แล้ว จำนวน 50 ± 0.1 ml ใส่ลงไปในถุงสโตมซ์เซอร์ที่ปลอดเชื้อ แล้วเติม phosphate buffer จำนวน 450 ml ทำการตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมอาหาร ประมาณ 1-2 นาที จะได้ความเจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1} แล้วทำการเจือจางแบบเพิ่มขึ้นครั้งละ 10 เท่า (10 fold serial dilution) ให้ได้ระดับความเจือจางตามที่ต้องการ

2. ใช้ไปเปตต์ดูดสารละลายตัวอย่างอาหาร ที่ความเจือจางต่าง ๆ จำนวน 1 ml ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ระดับความเจือจางละ 2 จาน (duplicate) เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA agar ที่หลอมละลายแล้ว และมีอุณหภูมิประมาณ 45 °C ลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 15-20 ml ผสมให้เข้ากัน โดย

การหมุนไปตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา เคลื่อนจานขึ้น-ลง และเคลื่อนจานไปทางซ้าย-ขวา ให้เชื้อผสมและกระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นลงจนกระทั่งอุ่นแข็งตัว

3. นำไปบ่มในตู้อบเพาะเชื้อ โดยการคว่ำจานเป็นเวลา 48 + 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ $35 + 1$ °C (ถ้าเป็นตัวอย่างนม บ่มที่ $32 + 1$ °C)

4. เมื่อครบเวลา นำมานับจำนวนโคโลนี ด้วยเครื่องนับโคโลนี แล้วคำนวณเป็นจำนวน CFU/g หรือ ml

5. ผู้วิเคราะห์แต่ละคนนับจำนวนแบคทีเรียในเพลทของตัวอย่างที่ตนเองวิเคราะห์ โดยจำนวนแบคทีเรียในเพลทต้องอยู่ในช่วง 25-250 CFU และคำนวณจำนวน CFU/g หรือ ml ด้วยสมการ⁹

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1x n_1) + (0.1x n_2)] \times d}$$

เมื่อ N = จำนวน CFU/g หรือ ml

ΣC = ผลรวมของจำนวนโคโลนีทั้งหมด ที่นับได้ของทุกจาน

n_1 = จำนวนของจานใน dilution แรกที่เริ่มนับ n_2 = จำนวนของจานใน dilution ที่สองที่นับ

d = dilution ของจานที่เริ่มนับ ครั้งแรก

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. คำนวณผลลัพธ์ของการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR}) หรือ U_{tech} นำข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์

ของผู้วิเคราะห์แต่ละคนมาเปลี่ยนเป็นค่า \log_{10} ให้เป็น normal distribution คำนวณค่า S_{IR} โดยใช้สมการ

$$S_{IR} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^p (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n p_i - 1}}$$

เมื่อ i = จำนวนตัวอย่าง, $i=1$ ถึง n ($n \geq 10$)

j = ค่าที่ได้จากการชักตัวอย่างของ

นักวิเคราะห์ในตัวอย่างเดียวกัน

ค่า Matrix Uncertainty (u_{matrix}) กำหนดให้ $u_{matrix} = 0.1 \log_{10}$ CFU/g หรือ ml เนื่องจากตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์มีการผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

ค่า distributional uncertainty (Poisson uncertainty: $u_{poisson}$) นำมาจากจำนวนโคโลนีทั้งหมด (Σc) ที่นับได้จากการตรวจวิเคราะห์

คำนวณค่า $u_{poisson}$ จากสมการ

$$u_{poisson} = \frac{1/\ln(10)}{\sqrt{\Sigma c}} = \frac{0.4343}{\Sigma c}$$

กรณีที่ $\Sigma c = 0$ ค่า $u_{poisson} = 0.4343$

กรณีที่ $u_{poisson} / u_{tech}$ น้อยกว่า 0.2 จะไม่นำค่า

$u_{poisson}$ มาใช้คำนวณ

ค่า Combined standard uncertainty, $u_c(y)$ เป็นการรวมองค์ประกอบของความไม่แน่นอนเข้าด้วยกันโดยใช้สมการ

$$u_c(y) = \sqrt{u_{tech}^2 + u_{matrix}^2 + u_{Poisson}^2}$$

2. วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการด้วยสถิติ One-way Anova กำหนดสมมุติฐาน

$H_0 \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$ และ $H_1 \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$ อย่างน้อย 1 คู่

โดย $\mu_1, \mu_2, \mu_3, \mu_4$ หมายถึง ผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ A, B, C และ D ตามลำดับ

ผลการศึกษา

1. ผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดด้วยวิธี Pour Plate

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างชนิดเดียวกันเพื่อหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดตามมาตรฐาน BAM (online) Chapter 3. 2001 โดยนักวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการจำนวน 4 คน (A, B, C, D) พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของการตรวจวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างให้ผลใกล้เคียงกันในทุกตัวอย่าง (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

ตัวอย่างที่	A	B	C	D
1	460	490	410	520
2	470	360	410	500
3	610	550	870	470
4	740	400	610	660
5	1,800	1,400	1,900	1,600

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (ต่อ)

ตัวอย่างที่	A	B	C	D
6	15,000	16,000	16,000	14,000
7	19,000	17,000	17,000	14,000
8	4,500	3,100	3,300	6,200
9	5,100	4,400	4,600	5,800
10	4,900	11,000	5,000	5,600

หน่วย: CFU/g หรือ ml

เมื่อนำข้อมูลค่าเฉลี่ยผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมาเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยสถิติ One-way ANOVA พบว่า ผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทั้ง 4 คน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} > 0.05$) หรือผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทั้ง 4 คนไม่แตกต่างกัน (ดังตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ผู้วิเคราะห์	จำนวนตัวอย่าง	ผลรวม	ค่าเฉลี่ย	ความแปรปรวน
A	10	33.7506	3.3751	0.3739
B	10	33.3459	3.33469	0.4582
C	10	33.5440	3.3544	0.3702
D	10	33.7069	3.37079	0.3752

Source of Variation	SS	df	MS	F	p-value	F crit
Between Groups	0.0101	3	0.0034	0.0085	0.9989	0.2.8663
Within Groups	14.1977	36	0.3944			
Total	14.2078	39				

2. ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_R)

ตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์เป็นตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อระหว่าง $1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^4$ ซึ่งเป็นช่วงที่ครอบคลุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์ของงานประจำ เมื่อผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของผู้วิเคราะห์ทั้ง 4 คน เมื่อคำนวณตามสูตรข้อ 1.1 ได้ค่า S_R ได้เท่ากับ 0.0946 (ดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การคำนวณหาค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR})

ตัวอย่างที่	ผู้วิเคราะห์	จำนวนแบคทีเรีย (CFU/g หรือ ml)	จำนวนแบคทีเรีย (\log_{10}/g หรือ ml)	ค่าเฉลี่ย(Diff)	กำลังสองของ ค่าเฉลี่ย	n_i-1
1	A	460	2.6628	2.6704	0.0587	
	B	490	2.6902		0.0728	
	C	410	2.6128		0.0370	
	D	520	2.7160		0.0021	
2	A	470	2.6721	2.6350	0.0014	
	B	360	2.5563		0.0062	
	C	410	2.6128		0.0005	
	D	500	2.6990		0.0041	
3	A	610	2.7853	2.7843	0.0000	
	B	550	2.7404		0.0019	
	C	870	2.9395		0.0241	
	D	470	2.6721		0.0126	
4	A	740	2.8692	2.7690	0.0100	
	B	400	2.6021		0.0279	
	C	610	2.7853		0.0003	
	D	660	2.8195		0.0026	
5	A	1,800	3.2553	3.2211	0.0012	
	B	1,400	3.1461		0.0056	
	C	1,900	3.2788		0.0033	
	D	1,600	3.2041		0.0003	
6	A	15,000	4.1761	4.1826	0.0000	
	B	16,000	4.2041		0.0005	
	C	16,000	4.2041		0.2720	
	D	14,000	4.1461		0.2148	
7	A	19,000	4.2788	4.2214	0.0033	
	B	17,000	4.2304		0.0001	
	C	17,000	4.2304		0.0001	
	D	14,000	4.1461		0.0057	
8	A	4,500	3.6532	3.6139	0.0015	
	B	3,100	3.4914		0.0150	
	C	3,300	3.5185		0.0091	
	D	6,200	3.7924		0.0319	

ตารางที่ 3 การคำนวณค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR}) (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผู้วิเคราะห์	จำนวนแบคทีเรีย (CFU/g หรือ ml)	จำนวนแบคทีเรีย (log ₁₀ /g หรือ ml)	ค่าเฉลี่ย(Diff)	กำลังสองของ ค่าเฉลี่ย	n _i -1
9	A	5,100	3.7076	3.6943	0.0002	3
	B	4,400	3.6435		0.0026	
	C	4,600	3.6628		0.0010	
	D	5,800	3.7634		0.0048	
10	A	4,900	3.6902	3.7947	0.0109	3
	B	11,000	4.0414		0.0609	
	C	5,000	3.6990		0.0092	
	D	5,600	3.7482		0.0022	
sum Diff ²					0.2683	
$S_{IR} = (\text{sum Diff}^2 / (n_i - 1))^{1/2}$					0.0946	

3. การหาค่าความไม่แน่นอนขยายเพื่อใช้ในการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างอาหาร

จากตารางที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างที่ 1 (ตัวอย่างนม) ของผู้ตรวจวิเคราะห์ A เท่ากับ 460 CFU/ml หรือ 2.66 log₁₀ CFU/ml นำมาคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

$$u_c(y) = \sqrt{u_{\text{tech}}^2 + u_{\text{matrix}}^2 + u_{\text{Poisson}}^2}$$

$$u_{\text{tech}} = S_{IR} = 0.0946 \log_{10} \text{ CFU/ml}$$

$$u_{\text{matrix}} = 0.1 \log_{10} \text{ CFU/ml}$$

ผลตรวจวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียในตัวอย่างได้ $\sum c = 460$ โคโลนี

$$u_{\text{poisson}} = \frac{0.4343}{\sqrt{\sum c}} = \frac{0.4343}{\sqrt{460}} = 0.0202$$

ตรวจสอบค่า u_{poisson}

$u_{\text{poisson}} / u_{\text{tech}} = 0.0202 / 0.0946 = 0.2135$ ซึ่งมากกว่า 0.2 จึงต้องนำค่า u_{poisson} มาคำนวณค่าความไม่แน่นอน

ดังนั้น

$$u_c(y) = \sqrt{(0.0946)^2 + (0.1)^2 + (0.0202)^2}$$

$$= 0.1391$$

$$U = 2 \times 0.1391 \quad (k=2 \text{ ที่ความเชื่อมั่น } 95\%)$$

$$= 0.2783 \log_{10} \text{ CFU/ml}$$

เมื่อ U คือ ค่าความไม่แน่นอนขยาย

การนำค่าความไม่แน่นอนไปใช้ในการรายงานผล

การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ ศูนย์ฯ รายงานเฉพาะจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่นับได้ในใบรายงานผลการทดสอบเป็น CFU/g หรือ ml ส่วนค่าความไม่แน่นอนจะนำมาใช้ใน 2 กรณี คือ

1. กรณีลูกค้าส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ และประสงค์รายงานค่าความไม่แน่นอนในใบรายงานผลการทดสอบ ศูนย์ฯ กำหนดรูปแบบการรายงานดังนี้

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด = $2.66 \log_{10}$ CFU/ml [2.38, 2.94] หรือ

จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด = 460 CFU/ml [240; 871]

2. กรณีลูกค้าส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ และประสงค์ให้ห้องปฏิบัติการตัดสินใจความสอดคล้องตามเกณฑ์ของผลิตภัณฑ์

สำหรับการตัดสินใจความสอดคล้องตามเกณฑ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มีแนวทางการใช้กฎการตัดสินใจการทดสอบ/สอบเทียบและการรายงานความสอดคล้องกับเกณฑ์ของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดความเสี่ยงในการตัดสินใจยอมรับผลิตภัณฑ์ที่หลุดเกณฑ์ (Probability of False Accept: PFA) ต้องไม่เกินร้อยละ 2 เมื่ออัตราส่วนของเกณฑ์ยอมรับกับค่าความไม่แน่นอนของการวัดขยายที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Test Uncertainty Ratio: TUR) มากกว่า $4.6:1^{10}$ เช่น ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมโค

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดให้ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียในน้ำนมโคสดหรือน้ำนมพลาสเจอร์ไรส์ 1 ml ไม่เกิน 10,000 CFU/ml ณ แหล่งผลิต หรือ $4 \log_{10}$ CFU/ml ดังนั้นการคำนวณค่า TUR = เกณฑ์ผลิตภัณฑ์/ค่าความไม่แน่นอนของห้องปฏิบัติการ = $4/0.2783 = 14.37$ จากกฎการตัดสินใจ ตัวอย่างนี้ผลการตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด = $2.66 \log_{10}$ CFU/ml [2.38, 2.94] หรือ 460 CFU/ml [240, 871] จึงสอดคล้องตามเกณฑ์ของผลิตภัณฑ์หรือรายการทดสอบนี้ผ่านมาตรฐาน

อภิปรายผล

การตรวจวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธี pour plate พบว่าผลการตรวจวิเคราะห์ของนักวิเคราะห์ทั้ง 4 คนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ (S_{IR}) ภายในห้องปฏิบัติการเดียวกันตามมาตรฐาน ISO 19036:2019 ของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา เท่ากับ 0.0946 ซึ่งค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาเกิดจาก 3 ส่วนคือ

1. Technical Uncertainty (U_{tech}) ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาต้องมีการควบคุมคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์ในทุกขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมตัวอย่าง การเจือจางตัวอย่าง การควบคุมอุณหภูมิในการบ่มตัวอย่าง และขั้นตอนอื่น ๆ ของการทดสอบ แต่ความไม่สม่ำเสมอก็สามารถเกิดขึ้นได้ เช่น ขั้นตอนการชั่งตัวอย่าง การไปเปิดตัวอย่าง การเจือจางตัวอย่าง การเตรียม

อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิด Technical Uncertainty ขึ้น แต่ละห้องปฏิบัติการ จะมีค่า Technical Uncertainty ต่างกัน เช่น การศึกษาของพรทิพย์ ศรีศร และคณะ¹¹ ได้ค่า การทำซ้ำได้ (S_{IR}) ของการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์น้ำพริกพร้อมบริโภค และขนมเท่ากับ 0.1462 และ 0.1970 ตามลำดับ และ Yunxia Wang และคณะ¹² คำนวณหาค่า การทำซ้ำได้ (S_{IR}) การตรวจวิเคราะห์ Aerobic Plate Count ในตัวอย่างนมได้ค่า S_{IR} เท่ากับ 0.0291

2. Matrix Uncertainty (U_{matrix}) เกิดจากความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างที่นำมาทดสอบ การผสมตัวอย่างทดสอบที่ไม่สมบูรณ์ ทำให้ปริมาณ ของระดับเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนที่ทดสอบ มีการ กระจายแบบ poor reproducibility ซึ่งจะมีค่าสูง ในตัวอย่างที่เป็น solid matrix โดยเฉพาะ ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีอาหารหลายอย่างเป็นส่วน ประกอบ เช่น อาหารประเภท ready to eat ต่าง ๆ การศึกษาผลกระทบของเนื้อสารตัวอย่าง และประเภทของแบคทีเรียที่มีผลต่อค่าความ ไม่แน่นอนของการทดสอบทางจุลชีววิทยาของ กิจดิศักดิ์ ยศอินทร์ พบว่าการความเป็นเนื้อเดียวกัน ของตัวอย่างมีผลกระทบต่อค่าความไม่แน่นอน ของการทดสอบ และพบว่าชนิดของแบคทีเรีย ไม่มีผลต่อค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบทาง จุลชีววิทยา ดังนั้น ตัวอย่างที่เป็น heterogeneous material ค่าความไม่แน่นอนสามารถลดลงได้ โดยการใช้ปริมาณตัวอย่างทดสอบเพิ่มขึ้น¹³

3. Distributional Uncertainty แม้ว่า อาหารที่มีการเตรียมตัวอย่างเป็น homogenous material การกระจายของเชื้อจุลินทรีย์แบบ random distribution ทำให้เกิด distribution uncertainty ได้ในกระบวนการดูดตัวอย่างเพื่อทำการเจือจาง และ pour plate เป็นต้น

สรุปผล

การประมาณค่าความไม่แน่นอนจาก ผลลัพธ์ของการเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำซ้ำได้ ภายในห้องปฏิบัติการ (S_{IR}) ตามมาตรฐาน ISO 19036:2019 ของการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ในตัวอย่างอาหารด้วยวิธี pour plate ของห้อง ปฏิบัติการจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ 10 อุบลราชธานี ได้ค่า $S_{IR} = 0.0946$ มีความ เหมาะสมในการนำไปใช้ในการหาค่าความไม่แน่นอน ขยายในการรายงานผลการทดสอบให้ลูกค้า ที่ต้องการทราบค่าความไม่แน่นอน และใช้ประกอบการ ตัดสินผลและการรายงานความสอดคล้องกับ เกณฑ์มาตรฐาน

ข้อเสนอแนะ

ห้องปฏิบัติการควรตรวจวิเคราะห์ชนิด ตัวอย่างอื่น ๆ เพิ่มเติมเพื่อให้มีผลการตรวจวิเคราะห์ ของตัวอย่างที่หลากหลายชนิด แล้วนำผลการตรวจ วิเคราะห์ของผู้วิเคราะห์ทุกคนในห้องปฏิบัติการ มาคำนวณหาค่า S_{IR} ใหม่เพื่อให้ได้ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐานของการทำซ้ำที่แม่นยำมากขึ้น และ

มีการตรวจสอบเผ่าระวางค่า S_{IR} ไม่ให้สูงเกินเกณฑ์ที่ห้องปฏิบัติการกำหนดไว้คือ 0.1 หากมีค่าเกินเกณฑ์ห้องปฏิบัติการต้องวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ และทำการปรับปรุงแก้ไข รวมถึงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงผู้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการควรมีตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างและคำนวณค่า S_{IR} ใหม่เพื่อให้ได้ค่าความไม่แน่นอนที่เป็นปัจจุบัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณศุภวรรณ เกตุอินทร์ ที่ให้คำปรึกษาด้านการเขียนผลงาน และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานอาหาร และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานีที่ช่วยสนับสนุนการดำเนินงานให้ประสบความสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหาร. การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ [อินเทอร์เน็ต]. 2563 [เข้าถึงเมื่อ 15 พ.ย. 2565]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1856/การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์-microbial-spoilage>
2. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 350) พ.ศ. 2556 เรื่อง นมโค. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 130, ตอนพิเศษ 87 ง (ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556).

3. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 210) พ.ศ. 2543 เรื่อง อาหารกึ่งสำเร็จรูป. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไปเล่มที่ 118, ตอนพิเศษ 6 ง (ลงวันที่ 24 มกราคม 2544).
4. ISO/ IEC 17025: 2017 General Requirement for the Competence of Testing and Calibration Laboratories. 2017(E); 2017.
5. U.S. Food and Drug. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 3. Aerobic plate count; 2017 [cited 2017 Jan 14]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>
6. รวีวรรณ อาจสำอาง. ความแตกต่างของการหาความไม่แน่นอน ของการทดสอบทางเคมีและจุลชีววิทยา.วารสารสำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ (บร.) 2552;6(16-17):5-7.
7. ISO/IEC GUIDE 98-3:2008 Uncertainty of measurement Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995); 2008 [cited 2022 Jul 3]. Available from: https://www.bsigroup.com/contentassets/fb7f1499fa6f43c6b9084be8c2378bc9/iso_iec_guide_98-3_2008e---uncertainty-of-measurement---part-3-guide-to-the-expression-of-uncertainty-in-measurement-gum1995.pdf

8. ISO 19036: 2019 (E). Microbiological of Food and Animal Feeding Stuffs - Guide lines for the Estimation of Measurement Uncertainty for Quantitative Determinations; 2019
9. ISO 7218:2007/AMD.1:2013(E). Microbiological of food and animal feeding Stuffs – General Requirements and guidance for microbiological examinations [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 31]. Available from: https://masm.gov.mn/masmj/wp-content/uploads/2019/09/ISO_7218_2007_Amd_1_201328E29-Character_PDF_document.pdf
10. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวทางการใช้กฎการตัดสินผลการทดสอบ/สอบเทียบและการรายงานความสอดคล้องกับเกณฑ์ของผลิตภัณฑ์; 2564.
11. พรทิพย์ ศรีศรี, มุทิตา คณา, จำรัส พูลแก้ว. การศึกษาเพื่อพัฒนาความสามารถของห้องปฏิบัติการสำหรับการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำพริกพร้อมบริโภคและขนม. วารสารอาหารและยา 2557;21(1):49-58.
12. Yunxia, W. and et al. Evaluation of Uncertainty of Detection Results of Aerobic Plate Count. Asian Agricultural Research [Internet]. 2021 [cited 2022 Jul 3]; 13(6): 59-63. Available from: <https://ageconsearch.umn.edu/record/316960>
13. กิจศักดิ์ ยศอินทร์. การศึกษาผลกระทบของเนื้อสารตัวอย่างและประเภทของแบคทีเรียที่มีผลต่อค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบทางจุลชีววิทยา. วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ กรมวิทยาศาสตร์บริการ 2556;2(2):77-83.

คำแนะนำสำหรับผู้นิพนธ์บทความวิจัยและบทความวิชาการ

วารสารอาหารและยา เป็นวารสารด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นสื่อกลางและเป็นเวทีทางวิชาการในการเผยแพร่ผลงานวิจัย และบทความวิชาการด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพของนักวิชาการ ภาครัฐ มหาวิทยาลัย องค์กรเอกชน และประชาชน มีกำหนดพิมพ์เผยแพร่วารสารปีละ 3 ฉบับ คือ ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-เมษายน ฉบับที่ 2 เดือนพฤษภาคม-สิงหาคม และฉบับที่ 3 เดือนกันยายน-ธันวาคม โดยมีข้อกำหนดการพิจารณารับและเผยแพร่บทความวิจัย และบทความวิชาการดังนี้

1. เป็นบทความที่ไม่เคยตีพิมพ์ เปิดเผย หรือเผยแพร่ด้วยสื่อหรือวิธีการใด ๆ และที่ใดมาก่อน
2. เป็นผลงานที่มีระยะเวลาดำเนินการแล้วเสร็จนับถึงวันที่ส่งเรื่องไว้พิจารณาไม่เกิน 5 ปี
3. กรณีที่ผู้นิพนธ์ต้องการยกเลิกหรือไม่ประสงค์ลงตีพิมพ์ ต้องแจ้งพร้อมทั้งส่งแบบฟอร์มยกเลิกการตีพิมพ์ส่งมาที่กองบรรณาธิการ
4. กองบรรณาธิการ ขอสงวนสิทธิ์ในการเปลี่ยนแปลงและตัดสินใจในการรับเรื่องไว้พิจารณา ตรวจสอบ ตีพิมพ์ หรือลำดับการตีพิมพ์ตามความสำคัญก่อนหลังตามความเหมาะสม

การส่งต้นฉบับ

ส่งบทความออนไลน์ผ่านเว็บไซต์วารสารอาหารและยา <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index> หรือ QR Code เท่านั้น โดยทำการสมัครสมาชิก และเข้าสู่ระบบ เพื่อส่งต้นฉบับและแบบฟอร์มลงตีพิมพ์



วารสารอาหารและยา กำหนดรูปแบบตัวอักษรต้นฉบับตามที่วารสารกำหนด จัดพิมพ์ด้วยโปรแกรม Microsoft Word ขนาดกระดาษ A4 แบบแนวตั้ง ใช้ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 point (ยกเว้นหัวข้อใหญ่ใช้ 18 point) และใส่เลขหน้าด้านขวาล่าง

การจัดทำชื่อบทความและข้อมูลผู้นิพนธ์

1. ชื่อบทความ

ให้ใช้ภาษาเป็นทางการ ความยาวไม่เกิน 125 ตัวอักษร ขนาด 18 point ด้วยตัวอักษรหนา ชิดขอบด้านซ้าย โดยที่ชื่อบทความควรให้กระชับ ไม่ใช่คำฟุ่มเฟือย สอดคล้องกับเนื้อหาที่ชัดเจน ตรงไปตรงมา ครอบคลุมประเด็นของเรื่อง สื่อสารถึงเนื้อหาของเรื่องก่อน preposition และ article

2. ข้อมูลผู้นิพนธ์

ใช้ตัวอักษรขนาด 14 point ประกอบด้วย

- 2.1 ชื่อและนามสกุลจริง (first name and family name) โดยไม่ใส่คำนำหน้าชื่อ ให้เรียงลำดับความสำคัญชื่อแรกเป็นผู้นิพนธ์หลัก ตามด้วยชื่อผู้นิพนธ์ลำดับรองจนครบ และใส่ตัวเลข

ยกขึ้น (superscript) แสดงหน่วยงานต้นสังกัดไว้ท้ายชื่อผู้นิพนธ์ ทั้งนี้ สำหรับชื่อภาษาอังกฤษให้ใส่เครื่องหมายจุลภาค (,) ด้านหลังชื่อผู้นิพนธ์แต่ละคน

2.2 หน่วยงานต้นสังกัด ให้ใส่ตัวเลขยกขึ้นหน้าชื่อหน่วยงานเรียงลำดับเริ่มจากเลข 1 โดยแสดงชื่อหน่วยงานระดับรอง และหน่วยงานหลัก ตามด้วยจังหวัด ส่วนภาษาอังกฤษ ให้มีเครื่องหมายจุลภาค (,) คั่นในแต่ละข้อความ และมี Thailand ต่อท้ายจังหวัด และใส่เครื่องหมาย full stop (.) ด้านท้ายของแต่ละคน ยกเว้นชื่อผู้นิพนธ์ลำดับสุดท้ายไม่ต้องใส่เครื่องหมาย full stop

2.3 ที่อยู่ติดต่อ และ Contact address: ให้แสดงชื่อผู้ติดต่อหลักตามด้วยหน่วยงาน ถนน อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์ และอีเมล ส่วนภาษาอังกฤษ ให้เพิ่ม Thailand หลังรหัสไปรษณีย์

การเขียนบทความวิจัย

เป็นงานวิจัยที่เป็นองค์ความรู้ โดยมีเนื้อหาความยาวไม่ควรเกิน 10-13 หน้า ประกอบด้วย

1. Abstract ภาษาอังกฤษ และบทคัดย่อภาษาไทย

ความยาวของแต่ละภาษาไม่ควรเกิน 350-450 คำ เป็นการย่อสาระสำคัญเฉพาะที่จำเป็น ระบุตัวเลขทางสถิติที่สำคัญ ไม่ต้องมีเชิงอรรถอ้างอิง ใช้ภาษาที่รัดกุมด้วยประโยคสมบูรณ์ มีการเขียน tense ไวยากรณ์ภาษาอังกฤษเป็นแบบ past tense (ยกเว้นข้อเสนอแนะ) บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษต้องมีเนื้อหาที่ถูกต้องตรงกัน (ตัวอย่างบทความวิจัยหน้าเว็บไซต์)

Tips:

1. ตัวอย่างวัตถุประสงค์ เช่น The purposes of this study were to examine/ investigate/explore/find out/compare ..., ..., and
2. วิธีการวิจัย เป็นการนำเสนอข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบการวิจัย ประชากร กลุ่มตัวอย่าง เครื่องมือวิจัย และการรวบรวมข้อมูล ตัวอย่างการเขียน เช่น The study was a quantitative/ qualitative/documentary/survey/experimental research....
3. ผลการวิจัย เพื่อนำเสนอข้อค้นพบหรือผลวิจัยหลัก ๆ ที่เป็นคำตอบของงานวิจัย โดยนำเสนอเป็นข้อ ๆ ให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ไม่ต้องนำเสนอเกี่ยวกับข้อมูลทั่วไปของประชากรหรือกลุ่มตัวอย่าง ยกเว้นเป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับคุณลักษณะของประชากรหรือกลุ่มตัวอย่างโดยตรง

ตัวอย่าง The result (s) was/were as follow: ..., ..., and
The study revealed that ..., ..., and

4. สรุป เป็นการสรุปผลการศึกษาที่เป็นข้อค้นพบสำคัญ พร้อมทั้งอาจมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเพื่อการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ นำเสนอเฉพาะที่เห็นว่าสำคัญเป็นข้อ ๆ

ตัวอย่าง The study suggested that ...
It was recommended that ...

5. คำสำคัญ หรือ key words 3-5 คำ หมายถึง คำหรือวลีที่แสดงประเด็นหรือสาระในระดับกว้างที่ผู้นิพนธ์กำหนดขึ้นเพื่อใช้แทนเนื้อหาใจความสำคัญของงานวิจัย ให้ง่ายต่อการสืบค้น ทำให้อ่านสามารถคัดเลือกบทความวิจัย หรือจัดกลุ่มเอกสารวิจัยตามประเภทหรือใจความสำคัญได้รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ

2. บทนำ

ความยาวประมาณ 1 หน้าครึ่ง เป็นการเสนอปัญหา เหตุผล หรือที่มาของงานวิจัย มีข้อมูลทฤษฎีที่ชี้ให้เห็นปัญหา โดยอาจยกสถานการณ์มาประกอบเหตุผลของการนำมาแก้ไขปัญหานั้น ๆ และเน้นเหตุผลที่ศึกษาเพื่อนำเข้าสู่การศึกษาให้ได้ผลเพื่อแก้ปัญหา การวิจัยหรือตอบคำถามที่ตั้งไว้

3. วัตถุประสงค์

ระบุเป็นข้อ

4. ระเบียบวิธีการวิจัย

ความยาวประมาณ 1 หน้าครึ่ง อธิบายวิธีการวิจัย ระยะเวลา การศึกษา พื้นที่ แหล่งที่มาของข้อมูล ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง เครื่องมือในการวิจัย การรวบรวมข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การใช้สถิติ และนิยาม (กรณีจำเป็นต้องมี)

5. ผลการศึกษา

ความยาวประมาณ 5 หน้าครึ่ง อธิบายสิ่งที่ได้จากการวิจัย โดยเสนอหลักฐาน และข้อมูลอย่างเป็นระเบียบ ไม่ซับซ้อน บรรยาย เป็นร้อยแก้ว มีลำดับการนำเสนอผลการศึกษาดำเนินการตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ด้วยภาษาที่เข้าใจง่าย หากมีตัวเลขและตัวแปรมากควรใช้ ตารางหรือรูป โดยให้อธิบายความหมายของผลที่ค้นพบหรือ วิเคราะห์ข้อมูลสำคัญที่ต้องการนำเสนอ อาจมีการอภิปรายผล ไปพร้อมกันได้ โดยที่ชื่อตาราง ให้อยู่บนตาราง และชื่อรูปให้อยู่ ใต้รูป ทั้งนี้ จำนวนตารางและรูปรวมกันไม่ควรเกิน 5 ภาพ

6. อภิปรายผล

ความยาวประมาณ 1 หน้าครึ่ง เป็นการแปลผลข้อค้นพบ จากผลการศึกษาในลักษณะการตีความและประเมินผลการวิจัย เพื่อยืนยันผลที่ได้ว่าน่าเชื่อถือ ถูกต้อง เป็นจริงหรือไม่ อย่างไร ทำให้ไม่ผลจึงเป็นอย่างนี้ และเขียนอภิปรายโดยอาศัยแนวคิด ทฤษฎี และผลการวิจัยคนอื่นเพื่อชี้ให้เห็นว่าผลวิจัยไปสอดคล้องหรือ ขัดแย้งกับผลการวิจัยของผู้อื่นอย่างไร สอดคล้องในประเด็นใด ขัดแย้งประเด็นใดซึ่งต้องหาสาเหตุหรือเหตุผลมาอธิบาย ทำไม จึงเป็นเช่นนั้น ซึ่งหลักการเขียนที่สำคัญมี 4-5 ประการคือ (1) ศึกษาอะไร เพื่อบอกวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานให้ทราบ (2) ผลที่ได้รับเป็นอย่างไร เพื่อบอกข้อค้นพบว่าเจออะไรบ้าง (3) เป็นเพราะอะไร เพื่อให้เหตุผลว่าเกิดขึ้นได้อย่างไร ทำไมจึง เป็นเช่นนั้น (4) สอดคล้องกับใคร เพื่อบอกว่าข้อค้นพบนี้มีใคร ที่ทำวิจัยแล้วพบในลักษณะเดียวกันบ้างหรือขัดแย้งกับใครบ้าง (5) มีข้อจำกัดหรือไม่ (ถ้ามี) เพื่อให้ผู้อ่านตัดสินใจเรื่องความเที่ยงตรง (validity) ของผลวิจัยและข้อจำกัดที่จะนำไปสู่การให้ข้อเสนอแนะ เพื่อการวิจัยครั้งต่อไปและการนำผลวิจัยไปใช้

Tips: การเขียนให้หน้าอ่าน ควรเขียนเป็นลำดับขั้นตอน เพื่อให้ผู้อ่านเข้าใจง่าย ดังนี้

1. ไม่ควรอภิปรายผลจากการวิจัยทั้งหมด แต่ควรเลือกเฉพาะ ประเด็นสำคัญหรือสิ่งที่เราสนใจในแต่ละประเด็น เพื่ออภิปรายผลเชิงลึกในแต่ละด้าน

2. ควรเริ่มต้นอภิปรายด้วยผลการวิจัยเชิงปริมาณ ตามด้วย เชิงคุณภาพ

3. ควรให้เหตุผลร้อยเรียงกันไปและอ้างอิงงานวิจัยของ คนอื่นอย่างน้อย 3 คน ในแต่ละประเด็น

7. สรุปผล

การสรุปผลวิจัยต้องได้อรรถาธิบายใหม่ โดยที่ผู้เขียนต้องสรุป เนื้อหาประเด็นและสาระสำคัญหรือข้อค้นของงานวิจัยสั้น ๆ ด้วย ภาษาที่ชัดเจนและรัดกุม ว่าตอบโจทย์วัตถุประสงค์ หรือที่มาของ ปัญหา หรือสมมติฐาน หรือคำถามการวิจัยหรือไม่อย่างไร

8. ข้อเสนอแนะ

ความยาวประมาณครึ่งหน้า เป็นการเขียนเพื่อให้ข้อมูล คำแนะนำ แนวทาง หรือวิธีการใด ๆ แก่ผู้เกี่ยวข้อง เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ในด้านต่าง ๆ อาทิ การพัฒนา การปรับปรุง การเปลี่ยนแปลง หรือ เพิ่มประสิทธิภาพการดำเนินการ ซึ่งมีหลักการเขียน 2 ประการคือ (1) ข้อเสนอแนะจากผลการวิจัย โดยอาจเสนอแนะในเชิงนโยบาย หรือในเชิงปฏิบัติการก็ได้ (2) ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยครั้งต่อไป เพื่อให้ผู้อื่นที่สนใจในหัวข้อใกล้เคียงกันสามารถนำไปศึกษาวิจัย เพิ่มเติมในอนาคต เช่น ขยายขอบเขตการวิจัย เพิ่มตัวแปร หรือศึกษา ประชากรในกลุ่มอื่น หรือการศึกษาเปรียบเทียบ เป็นต้น

9. เอกสารอ้างอิงแบบ Vancouver

การอ้างอิงไม่ควรเกิน 20 อ้างอิง ผู้นิพนธ์ต้องมีการค้นคว้า รวบรวมสารสนเทศจากแหล่งต่าง ๆ โดยเฉพาะวารสาร เอกสาร ที่มีความสำคัญจริง ๆ เป็นการนำรายการอ้างอิงจากท้ายบทความ ใส่เชิงบรรณอ้างอิงทั้งหมดตามที่ปรากฏในเนื้อเรื่อง มารวบรวม เขียนไว้ที่ท้ายบทความโดยเรียงลำดับและต้องสอดคล้องกับลำดับที่ ในรายการอ้างอิงท้ายบทความ

การเขียนบทความวิชาการ

เป็นข้อเขียนเชิงสาระที่ผู้เขียนตั้งใจหยิบยกประเด็นใดประเด็นหนึ่ง หรือปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในแวดวงวิชาการ วิชาชีพ เพื่อวิเคราะห์ หรือวิพากษ์หรือมีทัศนะหรือให้แนวคิดใหม่ ให้ผู้อ่านทราบหรือ ปรับเปลี่ยนแนวคิด ความเชื่อมาสู่แนวคิดของผู้เขียน โดยเน้นการให้ ข้อมูลความรู้เป็นสำคัญ และต้องมีข้อมูลทางวิชาการ เอกสารอ้างอิง และเหตุผลที่พิสูจน์ได้ เพื่อสร้างความน่าเชื่อถือให้แก่ผู้อ่าน ประกอบด้วย

1. บทนำ

เป็นส่วนที่ดึงดูดใจผู้อ่านให้เกิดความสนใจ อาจกล่าวถึงวัตถุประสงค์ ของการเขียน หรือบอกที่มาของการเขียน และระบุขอบเขตของ บทความนั้น ๆ เพื่อให้ผู้อ่านไม่คาดหวังเกินขอบเขตที่กำหนดไว้ ซึ่งจะช่วยในการปูพื้นฐานหรือกรอบแนวคิดให้ผู้อ่านเข้าใจเนื้อหาสาระ ของบทความที่จะนำเสนอ (ไม่ต้องเขียน “บทนำ”)

2. เนื้อเรื่อง

เป็นการนำเสนอข้อมูลเนื้อหาสาระที่เข้าใจง่ายและรวดเร็ว การนำเสนอเนื้อเรื่องอาจแบ่งเป็นประเด็น หรือหัวข้อย่อย หรือลำดับ เหตุการณ์ตามความเหมาะสมของบทความนั้น ๆ อาจมีการวิเคราะห์ วิพากษ์ วิจัยด้วยข้อมูลอ้างอิงที่น่าเชื่อถือ

3. บทสรุป

ให้เขียนหัวข้อ “บทสรุป” โดยเป็นการสรุปประเด็นสำคัญของ บทความอย่างสั้น ๆ ท้ายบท ซึ่งอาจบอกถึงผลลัพธ์ว่า สิ่งที่กำลังกล่าวมา มีความสำคัญอย่างไร จะนำไปใช้อะไรได้บ้าง จะทำให้เกิดอะไรต่อไป หรืออาจตั้งประเด็นคำถามหรือประเด็นทิ้งท้ายเพื่อกระตุ้นให้ผู้อ่าน ได้แสวงหาความรู้ หรือคิดค้นพัฒนาเรื่องนั้นต่อไป

4. การเขียนเอกสารอ้างอิงแบบ Vancouver

คำแนะนำการเขียนเอกสารอ้างอิงแบบ Vancouver

การเขียนอ้างอิงเอกสาร เป็นสิ่งที่แสดงถึงหลักฐานความน่าเชื่อถือของผลงาน และแหล่งความรู้ที่สามารถสืบค้นเพื่อตรวจสอบความถูกต้องและค้นคว้าเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจ และการศึกษาต่อยอดในเรื่องที่อ้างอิงนั้น ๆ ซึ่งบทความในวารสารอาหารและยา เป็นวารสารทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงกำหนดให้ใช้การอ้างอิงแบบ Vancouver เนื่องจากเป็นที่ยอมรับจากคณะกรรมการบรรณาธิการวารสารทางการแพทย์นานาชาติ (International Committee of Medical Journal Editors: ICMJE) โดยมีรูปแบบการเขียนเอกสารอ้างอิง 2 ส่วน คือ การอ้างอิงในเนื้อหาหรือเชิงบรรณ และการอ้างอิงท้ายเล่ม

1. อ้างอิงในเนื้อหาหรือเชิงบรรณ (in-text citation)

เมื่อนำข้อมูลผลงานของบุคคลอื่นมาอ้างอิงในผลงานวิจัยหรือผลงานวิชาการ การเขียนให้ใส่ตัวเลขตามลำดับของการอ้างอิง ยกขึ้น (superscript) หลังข้อความหรือชื่อผู้เขียน และใช้เลขลำดับเดิมเมื่ออ้างอิงซ้ำทุกครั้ง โดยมีวิธีอ้างอิง ได้แก่

1.1 การอ้างอิงเน้นผู้เขียน ให้ใส่หมายเลขลำดับการอ้างอิง หลังชื่อผู้เขียนเจ้าของผลงาน

ตัวอย่าง จากการศึกษาของ Mitsu และ Appavu¹ และ AHSP² กล่าวว่า การขาดความรู้และการฝึกทักษะอาจนำไปสู่การเกิดความคลาดเคลื่อนทางยาได้

1.2 การอ้างอิงเน้นเนื้อหา ให้ใส่หมายเลขลำดับการอ้างอิง หลังข้อความ

1) อ้างอิงรายการเดียว

ตัวอย่าง เชื้อ *P. aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ และเคลื่อนที่ได้ พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อุจจาระ และบนพื้นผิววัสดุอินทรีย์ที่สัมผัส¹

2) อ้างอิงหลายรายการพร้อมกัน กรณีที่เลขลำดับการอ้างอิงเป็นลำดับที่ต่อเนื่องกันให้ใช้เครื่องหมายติดังค์ (-) คั่นระหว่างตัวเลข แต่หากลำดับไม่ต่อเนื่องกันให้ใช้เครื่องหมายจุลภาค (,) คั่นระหว่างตัวเลขโดยไม่ต้องเน้นช่องว่าง

ตัวอย่าง องค์การอนามัยโลกได้เล็งเห็นถึงวิกฤตของปัญหาของคุณภาพยาเพราะพบยาที่มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานพบได้ทั่วโลก แม้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว โดยผลสำรวจขององค์การอนามัยโลกพบปัญหาคุณภาพยาทั่วโลกร้อยละ 10 โดยร้อยละ 50 พบในทวีปเอเชียและทวีปแอฟริกา^{1,2}

ตัวอย่าง สาเหตุของการใช้ไนเตรทที่พบจากตัวอย่างสถานที่ในการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื่องจากเป็นสถานที่ที่มีการจำหน่ายอยู่เป็นประจำ ผู้จัดการจำหน่ายผลิตภัณฑ์จะรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปมาจากพ่อค้าคนกลางอีกที ดังนั้นเพื่อเป็นการลดค่าขนส่งและสามารถเก็บไว้ได้นาน จึงต้องมีการใส่ไนเตรทอายุของผลิตภัณฑ์ โดยไนเตรทจะเข้าไปชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคต่าง ๆ อีกทั้งยังช่วยในการตรึงสีหรือทำให้สีเกิดความเสถียรเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความน่ารับประทานอีกด้วย โดยจะเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปประเภทกลุ่มเนื้อหมักต่าง ๆ เช่น แฮมและแฮม เป็นต้น^{2,9}

2. การอ้างอิงท้ายเล่มหรือบรรณานุกรม

เป็นการนำรายการที่อ้างอิงในเนื้อหา มารวบรวมไว้ในส่วนท้ายของบทความภายใต้หัวข้อเอกสารอ้างอิง เรียงตัวเลขเป็นลำดับ 1, 2, 3, ชิดขอบซ้าย โดยที่ตัวเลขต้องตรงตามลำดับการอ้างอิงในเนื้อหา ซึ่งการเขียนเอกสารอ้างอิงจะมีความแตกต่างกันตามประเภทของเอกสารที่นำมาอ้างอิง เช่น หนังสือ บทความวารสาร เอกสารจากอินเทอร์เน็ต

หลักการทั่วไปของการเขียนเอกสารอ้างอิง

1. ชื่อผู้เขียน (authors)

ชื่อผู้เขียนคนไทย ให้ใช้ชื่อตามด้วยนามสกุล ส่วนภาษาอังกฤษ ให้ใช้นามสกุลขึ้นต้น (family name) ตามด้วยอักษรย่อชื่อต้นตัวแรก (first name) และอักษรย่อชื่อกลาง (ถ้ามี) กรณีผู้เขียนเป็นนิติบุคคล เช่น หน่วยงาน องค์กร สถาบัน ให้ใส่ชื่อหน่วยงาน ตามด้วยหน่วยงานรองตามลำดับ (ถ้ามี) โดยมีเครื่องหมายมหภาคภาคคั่น (.) เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. กองยา.

2. ชื่อเรื่อง (title)

2.1 ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ อักษรตัวแรกให้ใช้ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ นอกนั้นใช้ตัวพิมพ์เล็ก ยกเว้นเป็นชื่อเฉพาะ เช่น ชื่อคน ชื่อประเทศ ชื่อเมือง ชื่อสารเคมี

2.2 กรณีมีชื่อเรื่องย่อ ให้ใช้เครื่องหมายทวิภาค (:) หลังชื่อหลัก และเว้น 1 ตัวอักษร

3. ครั้งที่พิมพ์ (edition) ของหนังสือ

ใส่เฉพาะการจัดพิมพ์ตั้งแต่ครั้งที่ 2 เป็นต้นไป โดยใส่ต่อจากชื่อเรื่อง ตามด้วยเครื่องหมายมหภาค (.) และเว้น 1 ตัวอักษร **ตัวอย่าง** พิมพ์ครั้งที่ 2. หรือ 2nd ed.

4. สถานที่พิมพ์ หรือสำนักพิมพ์ของหนังสือ (place or publisher)

4.1 มีรูปแบบคือ ชื่อจังหวัดหรือชื่อเมือง: สถานที่พิมพ์; ปีที่พิมพ์ **ตัวอย่าง** กรุงเทพฯ: บอร์น ทู บี; 2563. ทั้งนี้ กรณีหนังสือภาษาอังกฤษที่มีชื่อเมืองไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายให้ระบุชื่อรัฐกำกับไว้ในวงเล็บด้วย เช่น St Louis (MO) Mosby; 2020.

4.2 ให้ตัดคำประกอบอื่นในชื่อสำนักพิมพ์ออก เช่น ห้างหุ้นส่วนจำกัด บริษัท จำกัด Publisher, Limited (Ltd.), Co., Incorporated (Inc.), and company, and sons

4.3 กรณีเป็นหน่วยงานหรือสถาบันเป็นผู้จัดพิมพ์ ให้ใช้ชื่อหน่วยงานรอง ตามด้วยหน่วยงานใหญ่ โดยเว้น 1 ตัวอักษร เช่น นนทบุรี: กองยุทธศาสตร์และแผนงาน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา; 2563.

4.4 หากไม่ปรากฏสถานที่พิมพ์ ให้ใช้ [place unknown] หรือไม่ปรากฏสถานที่พิมพ์]

5. ปีที่พิมพ์ (year)

ให้ใส่ตัวเลขปี พ.ศ. หรือปี ค.ศ. ตามด้วยเครื่องหมายมหภาค (.)

6. เลขหน้า (page)

เลขหน้าของบทความวารสาร บทใดบทหนึ่งในหนังสือ หรือเอกสารประกอบการประชุม ให้ใส่ตัวเลขหน้าแรก-หน้าสุดท้าย โดยใช้ตัวเต็มสำหรับหน้าแรก และตัดตัวเลขข้อต่อสำหรับหน้าสุดท้าย เช่น หน้า 2536-49

รูปแบบการอ้างอิงแต่ละประเภทของแหล่งข้อมูล

1. หนังสือ

1.1 หนังสือและตำรา

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อหนังสือ. ครั้งที่พิมพ์ หรือ ed. สถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีพิมพ์.

ตัวอย่าง

1. รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. พืชเครื่องเทศ และสมุนไพร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์; 2540.
2. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik, M. Immunobiology. 5th ed. New York: Garland Publishing; 2001.

1.2 หนังสือที่มีผู้เขียนเฉพาะบท และมีบรรณาธิการ

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อบท. ใน/In: ชื่อบรรณาธิการ, บรรณาธิการ. ชื่อหนังสือ. ครั้งที่พิมพ์. เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีพิมพ์. หน้า/p. หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ตัวอย่าง

1. เกียรติศักดิ์ จีระแพทย์. การให้สารน้ำและเกลือแร่. ใน: มนตรี ตูจันทา, วินัย สุวดี, อรุณ วงษ์จิราษฎ์, ประอร ขวลิธธำรง, พิภพ จิรภิญโญ, บรรณาธิการ. กุมารเวชศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: เรือนแก้วการพิมพ์; 2540. หน้า 424-78.
2. Hamera J. Performance ethnography. In: Lincoln YS, Denzin NK, editors. Strategies of qualitative inquiry. Thousand Oaks (CA): Sage; 2013. P. 205-31.

2. การอ้างอิงบทความในวารสารทางวิชาการ (Journal article)

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร ปีพิมพ์;ปีที่(เล่มที่):หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ทั้งนี้ ชื่อวารสารให้ใช้ชื่อย่อตามมาตรฐานสากลที่กำหนดไว้ใน Index Medicus โดยตรวจสอบได้จาก เว็บไซต์ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> และคลิกที่ Journals in NCBI Databases

ตัวอย่าง

1. อรุณรัตน์ อรุณเมือง. การพัฒนาคุณภาพการให้บริการงานควบคุม กำกับผลิตภัณฑ์และบริการสุขภาพก่อนออกสู่ตลาด สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดชัยนาท. วารสารอาหารและยา 2561;25(1): 53-63.
2. Kane RA, Kane RL. Effect of genetic testing for risk of Alzheimer's disease. N Engl J Med 2009;361:298-9.

3. เอกสาร

3.1 เอกสารการประชุม/รายงานการประชุม

ชื่อบรรณาธิการ, บรรณาธิการ. ชื่อเรื่อง. ชื่อการประชุม; ปี เดือน วันที่ประชุม; สถานที่จัดประชุม. เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีพิมพ์. p. หรือหน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ตัวอย่าง

1. สุขเกษม โฆษิตเศรษฐ, รัตนา เดียงทิพย์. การหาโปรตีนในปัสสาวะ ที่บ่งชี้โรคไตด้วยวิธีโปรตีนโนมิคส์. ใน: ขจร ลักษณะขยปรณ, บรรณาธิการ. ประชุมวิชาการคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย

ธรรมศาสตร์ ประจำปี 2552 Changes: new trends in medicine; วันที่ 14-17 กรกฎาคม 2552; ณ ห้องประชุมแพทย์โดม 2. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2552. หน้า 23-40.

2. Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress in Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland, Amsterdam: North-Holland; 1992. P. 1561-5.

3.2 บทความที่นำเสนอในการประชุม

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อบทความ. ใน/In: ชื่อบรรณาธิการ, บรรณาธิการ. ชื่อเรื่อง. ชื่อการประชุม;ครั้งที่ประชุม. วันเดือนปีที่ประชุม; สถานที่ประชุม: เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีที่พิมพ์. หน้า.

ตัวอย่าง

1. ชีระ ฤๅชตระกูล. Coagulopathy in liver diseases. ใน: ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์, ทวีศักดิ์ แทนวันดี, อุนชิต จุฑาพุทธิ, บรรณาธิการ. Vascular of the liver. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 4 Vascular diseases of the liver; 12-14 มี.ค.2552; เพชรบุรี. [กรุงเทพฯ]: สมาคมโรคตับ (ประเทศไทย); 2552. หน้า 1-13.
2. Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

3.3 เอกสารวิทยานิพนธ์

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อเรื่อง [ประเภท/ระดับปริญญา]. เมืองที่พิมพ์: มหาวิทยาลัย; ปีที่ได้ปริญญา.

ตัวอย่าง

1. พงษ์พัฒน์ เวชสิทธิ์. การศึกษาโปรตีนจากพิษงูแมวเซาที่มีผลต่อการทำงานของไตในหนูขาว [ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2542.
2. Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [Dissertation]. St. Louis, (MO): Washington University; 1995.

3.4 เอกสารกฎหมาย

ชื่อหน่วยงานเจ้าของกฎหมาย. ชื่อกฎหมาย และปี. หนังสือที่เผยแพร่ เล่มที่, ตอนที่ (ลงวันที่).

ตัวอย่าง

1. พระราชกฤษฎีกาเงินสวัสดิการเกี่ยวกับการรักษาพยาบาล พ.ศ. 2521. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 95, ตอนที่ 30 ก ฉบับพิเศษ (ลงวันที่ 16 มีนาคม 2521).
2. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ. 2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 121, ตอนที่พิเศษ 97 ง (ลงวันที่ 6 กันยายน 2547).

4. เอกสารอิเล็กทรอนิกส์

4.1 หนังสืออิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อหนังสือ [อินเทอร์เน็ต/Internet]. ครั้งที่พิมพ์. เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีที่พิมพ์ [เข้าถึงเมื่อ วันเดือนปีหรือ cited year month date]. เข้าถึงได้จากหรือ Available from: <http://> (ไม่มีจุด full stop)

ตัวอย่าง

1. ศุภศิลป์ สุทธรา. ผลของวิตามินดีต่อการเกิด การป้องกันและการรักษาโรคกระดูกพรุน [อินเทอร์เน็ต]. ขอนแก่น: กลุ่มศึกษาวิจัยโรคกระดูกพรุน คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2557 [เข้าถึงเมื่อ 8 ก.ย. 2557]. เข้าถึงได้จาก: http://www.osteokku.com/osteokku_o/ebook/vitamind.html
2. Foley KM, Improving palliative care for cancer [Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: http://www.nap.edu/catalog/10149/improving_palliative_care_for_cancer

4.2 บทความวารสารอิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร [อินเทอร์เน็ต/Internet]. ปีพิมพ์ [เข้าถึงเมื่อ วันเดือนปี หรือ cited year month date]; ปีที่(ฉบับที่):หน้าแรก- สดท้าย. เข้าถึงได้จาก หรือ Available from: <http://> (ไม่มีจุด full stop)

ตัวอย่าง

1. มรกต จรุงวรรณชน. สถานการณ์และปัญหาการเข้าถึงยากกลุ่มโอปิออยด์ กรณีศึกษา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. วารสารอาหารและยา [อินเทอร์เน็ต]. 2563 [เข้าถึงเมื่อ 30 มิ.ย. 2563]; 27(1):13-27. เข้าถึงได้จาก: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/article/view/243292/165179>
2. Annas GJ. Resurrection of a stem-cell funding barrier-Dickey-Wicker in court. N Engl J Med [Internet]. 2010 [cited 2011 Jun 15]; 363:1687-9. Available from: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMp1010466>

4.3 วารสารอิเล็กทรอนิกส์ที่มีหมายเลข Digital Object Identifier (DOI)

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร ปี;ปีที่:เลขหน้า (ที่มี e กำกับ). doi: xxxxxxxxxx.หมายเลขประจำเอกสารในฐานข้อมูล PubMed (PubMed PMID): xxxxxxxx.

ตัวอย่าง

1. Zhang M, Holman CD, Price SD, Sanfilippo FM, Preen DB,

Bulsara MK. Comorbidity and repeat admission to hospital for adverse drug reactions in older adults: retrospective cohort study. BMJ 2009;338:a2752. doi: 10.1136/bmj.a2752.

4.4 เอกสารจากอินเทอร์เน็ต (อ้างอิงทั้งเว็บไซต์)

ชื่อผู้จัดทำหรือหน่วยงาน. ชื่อเรื่อง [อินเทอร์เน็ต]. เมือง: ชื่อหน่วยงาน; ปีที่เผยแพร่ [เข้าถึงเมื่อ วัน เดือน ปี หรือ cited year month date]. เข้าถึงได้จาก หรือ Available from: <http://>

ตัวอย่าง

1. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ขนมะจืด (มผช. 500/2547). [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม; 2547 [เข้าถึงเมื่อ 10 ต.ค. 2562]. เข้าถึงได้จาก: http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps500_47.pdf
2. Ranchon F, Salles G, Späth HM, Schwiertz V, Vantard N, Parat S, et al. Chemotherapeutic errors in hospitalised cancer patients: attributable damage and extra costs [Internet]. 2011 [cited 2016 August 9]. Available from: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-11-478>

4.5 เอกสารจากส่วนหนึ่งของ homepage หรือ website

ชื่อเว็บไซต์ [อินเทอร์เน็ต/Internet]. เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีพิมพ์. ชื่อเรื่องที่น่าสนใจ; ปีพิมพ์ของเรื่องที่น่าสนใจ [วันที่ปรับปรุง/updated ปี เดือน วัน; เข้าถึงเมื่อ/cited ปี เดือน วัน]; [ประมาณ...น./about screens/p.]. เข้าถึงได้จาก หรือ Available from: <http://>

ตัวอย่าง

1. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา [อินเทอร์เน็ต]. นนทบุรี: สำนักงาน; c2020. แนวทางการปฏิบัติ ด้านการจัดเตรียมสถานที่ การเก็บรักษาและการควบคุมการใช้สำหรับผู้ซื้อใบอนุญาตปลูก ซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 เฉพาะกัญชา; [เข้าถึงเมื่อ 6 ม.ค. 2564]; [ประมาณ 1 น.]. เข้าถึงได้จาก: <https://cannabis.fda.moph.go.th/form/form-farm/>
2. AMA: helping doctors help patients [Internet]. Chicago: American Medical Association; c1995-2007. Medical liability crisis map; [update 2006 Dec 20; cited 2007 Mar 20]. [about 2 screens]. Available from: <http://www.ama-assn.org/ama/noindex/category/11871.html>

หลักเกณฑ์การพิจารณาตีพิมพ์บทความ

1. เป็นบทความที่ไม่เคยตีพิมพ์ที่ไหนมาก่อน หรือไม่อยู่ระหว่างเสนอตีพิมพ์ในวารสารอื่น เว้นแต่เป็นการเรียบเรียงหรือเพิ่มองค์ความรู้ใหม่
2. เป็นบทความที่มีคุณค่าทางวิชาการ ส่งเสริมให้เกิดการค้นคว้าต่อยอดงานวิจัยและงานวิชาการ และใช้อ้างอิงได้
3. กองบรรณาธิการจะประเมินบทความเบื้องต้นโดยพิจารณาความสอดคล้องของขอบเขตของวารสารกับเนื้อหาบทความ และรูปแบบการพิมพ์ตามข้อกำหนด
4. กองบรรณาธิการจะส่งบทความที่พิจารณาเบื้องต้นหรือบทความที่ผู้พิมพ์แก้ไขเบื้องต้นส่งให้ผู้ทรงคุณวุฒิ (peer review) 2-3 คนพิจารณาเป็นแบบ (double blind)
5. บทความที่รับตีพิมพ์ต้องผ่านการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิ
6. เนื้อหาหรือข้อความในบทความในวารสารเป็นความคิดเห็นของผู้พิมพ์ ดังนั้นสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และกองบรรณาธิการวารสารฯ ไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องหรือรับผิดชอบ
7. สัดส่วนจำนวนเรื่องในการตีพิมพ์แต่ละฉบับ กำหนดให้สัดส่วนผู้พิมพ์ภายในหน่วยงานต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ ผู้พิมพ์ภายนอก ตามหลักเกณฑ์ TCI
8. การรับตีพิมพ์จะเรียงลำดับจากวันที่ส่งบทความ ยกเว้นมีบทความที่เข้ากับสถานการณ์หรือประเด็นเร่งด่วน
9. การตีพิมพ์แต่ละฉบับ ผู้พิมพ์หลักสามารถลงได้ฉบับละ 1 เรื่อง

จริยธรรมในการตีพิมพ์ผลงานในวารสารอาหารและยา (Publication Ethics)

บทบาทและหน้าที่ของบรรณาธิการวารสาร

1. บรรณาธิการขอพิจารณาบทความ ที่มีรูปแบบครบถ้วนตามข้อกำหนดเท่านั้น หากบทความนั้นไม่ตรงตามข้อกำหนดกองบรรณาธิการฯ มีสิทธิ์ในการปฏิเสธตีพิมพ์
2. บรรณาธิการต้องไม่มีส่วนได้ส่วนเสียกับผู้พิมพ์
3. บรรณาธิการไม่รับตีพิมพ์บทความที่เคยตีพิมพ์มาก่อนแล้ว
4. บรรณาธิการสามารถออกหนังสือตอบรับการตีพิมพ์ให้ในกรณีที่บทความนั้นส่งผู้ประเมินแล้วพร้อมจะตีพิมพ์

บทบาทและหน้าที่ของผู้พิมพ์

1. ผู้พิมพ์ต้องส่งบทความมาลงตีพิมพ์ที่ไม่เคยส่งวารสารอื่นมาก่อน และจะไม่นำบทความส่งวารสารอื่นระหว่างที่รอพิจารณาตีพิมพ์
2. ผู้พิมพ์ต้องเขียนบทความตามคำแนะนำของผู้พิมพ์ที่วารสารกำหนด
3. ผู้พิมพ์ต้องส่งบทความที่ไม่มีการคัดลอก เลียนแบบ ผลงานของท่านอื่น
4. ผู้พิมพ์ต้องตรวจสอบการเขียนเอกสารอ้างอิงทั้งหมดก่อนส่งมาตีพิมพ์

บทบาทและหน้าที่ของผู้ทรงคุณวุฒิ

1. ผู้ทรงคุณวุฒิต้องไม่มีส่วนได้ส่วนเสียกับผู้พิมพ์
2. ผู้ทรงคุณวุฒิไม่ควรแสดงความคิดเห็นส่วนตัวในการประเมินบทความในการตัดสินใจ
3. ผู้ทรงคุณวุฒิจะต้องคำนึงถึงคุณภาพของบทความ และประเมินด้วยความเข้มข้น
4. ผู้ทรงคุณวุฒิเป็นผู้มีความเชี่ยวชาญ มีความรู้ความเข้าใจในเนื้อหาบทความที่ประเมินอย่างแท้จริง

รับตีพิมพ์บทความคุณภาพ
ในด้านการคุ้มครองผู้บริโภค
ด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ
โดยมีกลุ่มเป้าหมายคือ
นักวิชาการ นักศึกษา และ
บุคลากรที่สนใจ
ทั้งในและนอกหน่วยงาน

เชิญชวนส่ง บทความวิจัยและ บทความวิชาการ

หากสนใจโปรดส่งไปยัง <https://www.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal> โดยทำการสมัครสมาชิก หรือ login และทำการส่งต้นฉบับบทความผ่านระบบ Online Submission



รับรองระหว่างปี 2020 - 2024

วารสารอาหารและยา ได้รับการรับรองโดยศูนย์อ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index Centre - TCI) สาขาวารสารสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในระดับที่ 2 มีระยะเวลารับรองถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2567



สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
FOOD AND DRUG ADMINISTRATION



สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
กองยุทธศาสตร์และแผนงาน วารสารอาหารและยา

88/24 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
โทร.02-590-7256, 02-590-7254
<https://www.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal>
<http://www.fda.moph.go.th>