

วารสาร

อาหารและยา

THAI FOOD AND DRUG
JOURNALสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administration

บทความวิชาการ

การใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์เพื่อปกป้องซีสต์ของเซลล์และประเมินความปลอดภัย
จุลินทรีย์โพรไบโอติก

บทความวิจัย

การวิเคราะห์สถานการณ์
การเฝ้าระวังความปลอดภัย
ของยาใหม่ในโรงพยาบาลการพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์
และสร้างเครือข่ายเฝ้าระวังคุณภาพอาหารกับภาคเอกชน
ในประเทศไทยประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อในหมัน
ในกระบวนการผลิตยาแผนไทยด้วย
ไอโซนการตรวจสอบความเป็นพิษเฉพาะจากเชื้อไวรัสโคโรนาที่หลงเหลือ
ในวัคซีนรวมที่มีโอโรนชนิดไรโซลัสเป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์
เพาะเลี้ยงของเซลล์สิ่งให้หนูแฮมสเตอร์จีนการพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์
ของวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่แบบชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค
Indirect ELISA



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 และการส่งจะทำการปิดบังชื่อ (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
3. ไม่มีค่าใช้จ่ายในการตีพิมพ์

ออกแบบโดย

บริษัท บอร์น ภูเก็ต จำกัด

วารสารอาหารและยา จัดทำขึ้นโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข

ที่ปรึกษา	นพ.ณรงค์ อภิกุลวณิช	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
	นพ.วิฑิต สฤกษ์ชัยกุล	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
	ภก.วีระชัย นลวชัย	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
	ภก.เลิศชาย เลิศวุฒิ	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
บรรณาธิการบริหาร	ภก.วรารุณ เสริมสินสิริ	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
บรรณาธิการ	นายธนภุช ประเสริฐสาร	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
กองบรรณาธิการ	ผศ.ดร.ภญ.สุนทรี วัชรดำรงกุล	คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
	ผศ.ดร.ภญ.สมหญิง พุ่มทอง	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
	ผศ.ดร.นิภาพรรม มณีซ้อน	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
	ผศ.ดร.ภญ.อาจารย์ รายนาค	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
	ดร.ภญ.วรัญญา อรุโณทยานันท์	วิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนาภิเษก สถาบันบรมราชชนก
	ดร.นภชา สิงห์วีระธรรม	คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
	ภญ.พรพรรณ สุนทรธรรม	วิทยาลัยการคุ้มครองผู้บริโภคด้านยาและสุขภาพแห่งประเทศไทย สภาเภสัชกรรม
	ดร.ภญ.เบญจพร ศิลารักษ์	กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น
	ดร.ภก.ปรีชา หนูทิม	กองพัฒนายาแผนไทยและสมุนไพร และ รพ.การแพทย์แผนไทย และการแพทย์ผสมผสาน กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ ทางเลือก
	ภญ.ศรินวล กรกชกร	นักวิชาการอิสระ
ผู้จัดการวารสาร	ภก.ชาพล รัตนพันธุ์	นักวิชาการอิสระ
	ดร.ภญ.ธารกมล จันทร์ประภาพ	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
	ดร.วรวิทย์ พูลสวัสดิ์	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
	นางสาวณัฐฐานันท์ ปันสุวรรณ	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
	ศูนย์วิทยบริการ กองยุทธศาสตร์และแผนงาน	
สำนักงาน	สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	
ติดต่อ	โทร. 02-590-7000 ต่อ 97256	
	email: academic@fda.moph.go.th	
	website: https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index	

บทบรรณาธิการ	3
บทความวิชาการ	
การใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์เพื่อบ่งชี้เอกลักษณ์สายพันธุ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์ โพรไบโอติก วรรณัน ศรีสุวรรณ นินา โชคลักษณ์วาทิ จารุวรรณ ลิทธิพล ปณณธร ทวีไทพไทกุล ธิดาทิพย์ วงศ์สุรวัฒน์	5
บทความวิจัย	
การวิเคราะห์สถานการณ์การเฝ้าระวังความปลอดภัยของยาใหม่ในโรงพยาบาล กานตพัฒน์ พ่วงหลาย วิมล สุวรรณเกษางษ์ ภูมิ อนันตโชติ โอสธ เนระพูสี	22
การพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ และสร้างเครือข่ายเฝ้าระวัง คุณภาพอาหารกัญชากัญชงในประเทศไทย ทองสุข ปายะนันท์ สุกุลรัตน์ สมสันติสุข อัจฉรี อินแก้ว วิทวัส วังแก้วหิรัญ กัญญารัตน์ เชื้อกุลชาติ อุบลวรรณ รอดประดิษฐ์	34
ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อในขม้นในกระบวนการผลิตยาแผนไทยด้วยโอโซน ด้าย บัณฑิตศักดิ์ นันทพันธ์ นภัทรนันท์ กฤษฎา พชรสิทธิ์	52
การตรวจสอบความเป็นพิษเฉพาะจากที่อกชินไเกอร์นที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไเกอร์น ชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงของเซลล์รังไข่หนูแฮมสเตอร์จีน อภิชัย ศุภสารสาทร สุภาภรณ์ ชุมพล สุกัลยาณี ไชยมี วิริยามาศย์ เจริญคุณธรรม สุภาพร ภูมิอมร	66
การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกัน โรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA สุภาภรณ์ ชุมพล สุกัลยาณี ไชยมี อภิชัย ศุภสารสาทร สุภาพร ภูมิอมร	79
คำแนะนำสำหรับผู้นิพนธ์	98

สภาพอากาศร้อนและสภาวะอุณหภูมิสูงขึ้นกำลังเป็นปัญหาระดับโลก ซึ่งทวีความรุนแรงมากขึ้นทุกขณะ ซึ่งหนึ่งในสาเหตุการเกิดนั้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ โดยอุณหภูมิผิวโลกที่ได้รับพลังงานความร้อนจากดวงอาทิตย์และพลังงานที่แผ่กลับไปในอวกาศถูกก๊าซเรือนกระจกในชั้นบรรยากาศกักเก็บความร้อนไว้ ทำให้โลกร้อนขึ้น ส่วนประเทศไทยเราตั้งอยู่ในเขตร้อนใกล้เส้นศูนย์สูตร อากาศมีลักษณะร้อนขึ้น อุณหภูมิเฉลี่ย 18 – 38 องศาเซลเซียส ซึ่งช่วงนี้เป็นช่วงฤดูร้อน โดยจะร้อนสุดในเดือนเมษายน บางจังหวัดอาจพบสถิติมากกว่า 40 องศาเซลเซียส ตั้งแต่ต้นฤดู อย่างไรก็ตาม แม้ไทยจะไม่มีคลื่นความร้อนสูง (heat wave) แต่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพทำให้เจ็บป่วยด้วยโรคที่เกิดจากความร้อน โดยเฉพาะกลุ่มทารก ผู้สูงอายุ และผู้ออกกำลังกายหรือผู้ทำงานกลางแจ้ง เช่น โรคลมแดด อาหารเป็นพิษ อหิวาตกโรค ท้องเสีย โรคบิด ไทฟอยด์ที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรีย เราจึงควรดื่มน้ำสะอาดให้มากขึ้น พยายามอยู่ในที่ร่มและอากาศถ่ายเทสะดวก โดยเฉพาะในช่วงกลางวันถึงบ่าย เน้นทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ ๆ รักษาอุณหภูมิร่างกายด้วยการอาบน้ำเย็นหรือใช้ผ้าชุบน้ำเย็นเช็ดหน้าและตามร่างกาย ลดการออกกำลังกายที่ใช้แรงมาก ๆ สวมเสื้อผ้าที่มีลักษณะโปร่ง บางเบาและระบายอากาศได้ดีเพื่อช่วยลดอุณหภูมิร่างกายให้เกิดสมดุล เพื่อป้องกันการเกิดสภาวะร่างกายทนทานต่อความร้อนของสภาพอากาศภายนอกไม่ได้จนเกิดอาการไม่สบายหรือเจ็บป่วย

วารสารอาหารและยาฉบับนี้ เข้าสู่ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 มีบทความที่น่าสนใจเป็นอย่างมากอาทิ บทความวิชาการเกี่ยวกับการบ่งชี้เอกลักษณ์สายพันธุ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้เทคโนโลยี นาโนพอร์ ของวรรธน์ เครือสุวรรณ และคณะ รวมถึงอีกหลายบทความวิจัยเช่น การเฝ้าระวังความปลอดภัยของยาใหม่ ในโรงพยาบาลที่มีข้อค้นพบน่าสนใจ การคิดค้นกระบวนการผลิตยาแผนไทยด้วยโอโซน เพื่อจะเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อในขมิ้น เป็นต้น

ท้ายนี้ รักษาสุขภาพร่างกายให้แข็งแรง และปฏิบัติตามคำแนะนำเพื่อรับมือกับอากาศร้อนกันนะครับทุกท่าน

ธนฤช ประเสริฐสาร
บรรณาธิการวารสารอาหารและยา

Global warming has been widely spread all over the world and getting worse. One of the causes is climate change due to temperature of the earth's surface increasing by heat radiated from the sun. Then this thermal energy is trapped by greenhouse effect in the atmosphere. As for Thailand, it is located in the tropical zone, near the equator. The air temperature is high and full of humidity with the average temperature of 18–38 degrees Celsius. This is during the summer time of Thailand, where the hottest month is in April. Some provinces may break records by more than 40 degrees Celsius. Even though Thailand did not have a phenomenon, so-called “heat wave week”, with this much heat in summer at the moment, it may affect health, causing heat-related illnesses such as heatstroke, food poisoning, cholera, diarrhoea, dysentery, and typhoid caused by eating food that contains bacteria, especially for the people at risk e.g. infants, elderly, and those who exercise or mostly work outdoors. Therefore, we should drink more clean water, eat only freshly cooked food, maintain our body’s temperature by taking a cool shower or using a cool washcloth to wipe our faces and bodies, reduce vigorous or too heavy exercise, and also wear light and airy clothing to help reducing our body temperature.

This Food and Drug Administration Journal is entering its 31st year with this first issue. There are interesting articles, such as the academic articles on strain identification and safety assessment of probiotic microorganisms using nanopore technology by Worarat Kruasuwan et. al. In addition, many more research articles such as Surveillance of new drug safety in hospitals that suggests remarkable findings on inventing the process of producing traditional Thai medicine with ozone in order to increase the efficiency of eliminating germs in turmeric, etc.

Finally, please stay cool and do as the recommendation to support your health during this hot weather.

Thanakrish Prasertsarn
Thai Food and Drug Administration Journal Editor



วารสารอาหารและยา
ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 (2567): มกราคม - เมษายน
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>

THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 31 No. 1 (2024): January - April



การใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์เพื่อบ่งชี้เอกลักษณ์สายพันธุ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติก

วรรัตน์ เครือสุวรรณ¹ นิภา โชคสัจจะวาท² จารุวรรณ สิทธิพล³ ปันณธร ทวีเทพไทกุล³ ธิดาทิพย์ วงศ์สุวรรณ¹

¹คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร ²ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ปทุมธานี ³ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ปทุมธานี

ที่อยู่ติดต่อ: วรรัตน์ เครือสุวรรณ ห้องปฏิบัติการ Siriraj Long-read Lab (Si-LoL) หน่วยชีวสารสนเทศทางการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล บางกอกน้อย กรุงเทพมหานคร 10700 worarat.kru@mahidol.edu

Utilizing of Nanopore Technology for Species Identification and Safety Evaluation of Probiotics

Worarat Kruasuwan¹, Nipa Chokesajjawatee², Jaruwan Sitdhipol³, Punnathorn Thaveetheptaikul³, Thidathip Wongsurawat¹

¹Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok. ²National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand Science Park, Pathum Thani.

³Biodiversity Research Centre, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathum Thani, Thailand

Contact address: Worarat Kruasuwan, Siriraj Long-read Lab (Si-LoL), Division of Medical Bioinformatics, Research Department, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, 10700, Thailand, worarat.kru@mahidol.edu

Received: 6 October 2023, **Revised:** 13 March 2024, **Accepted:** 14 March 2024

การใช้ประโยชน์จุลินทรีย์โพรไบโอติกในรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพสำหรับมนุษย์และสัตว์พบมีอุปสงค์ของผู้บริโภคโดยเฉพาะตลาดโพรไบโอติกในเอเชียเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน ส่งผลให้ผู้ผลิต หรือผู้ประกอบการมีการคิดค้น วิจัย และศึกษาจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ใหม่ ๆ มากขึ้นเพื่อรองรับความต้องการของผู้บริโภค ทั้งนี้การพัฒนาจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ใหม่ ๆ เพื่อใช้เป็นอาหารนั้น ต้องมั่นใจว่าจุลินทรีย์นั้นมีความปลอดภัย และได้รับการขึ้นทะเบียนอนุญาต

ให้ใช้อย่างถูกต้องโดยหน่วยงานที่กำกับดูแล สำหรับประเทศไทยมีการกำหนดรายชื่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่อยู่ในรายการที่ได้รับอนุญาต หรือผ่านการประเมินความปลอดภัยและคุณสมบัติโพรไบโอติกแล้วตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข การที่จะใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกอื่น ๆ จึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจเอกลักษณ์ การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก และประเมินความปลอดภัยเพิ่มเติม¹

ปัญหาหนึ่งของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่พบได้ค่อนข้างบ่อยคือ ข้อมูลบนฉลากผลิตภัณฑ์

โพรไบโอติกที่ไม่ตรงกับข้อเท็จจริงของตัวผลิตภัณฑ์ ความผิดพลาดที่สำคัญคือการระบุชนิด (species) ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ไม่ถูกต้อง²⁻⁴ ซึ่งอาจมีสาเหตุจากการเลือกใช้วิธีการ ฐานข้อมูล และ/หรือ เทคนิคในการวิเคราะห์ที่ล้าสมัย อาทิ การตรวจยีน เป้าหมายเพียง 1–2 ยีน เพื่อใช้ระบุชนิดของ จุลินทรีย์ เป็นต้น ปัจจุบันเทคโนโลยีด้านการหาลำดับพันธุกรรมมีการพัฒนามากขึ้นทั้งในส่วนของเครื่องมือ วิธีการตรวจ รวมถึงฐานข้อมูลที่ครอบคลุมมากขึ้น ส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์มีความรวดเร็ว แม่นยำ และถูกต้องมากขึ้น เช่น เทคโนโลยีการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาวนาโนพอร์ ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลรหัสพันธุกรรมแบบสายยาว ทำให้เพิ่มโอกาสได้ข้อมูลจีโนมที่สมบูรณ์ ลดการขาดแหว่งของยีนหรือโครงสร้างของยีนที่สำคัญต่าง ๆ⁵ ด้วยข้อได้เปรียบดังกล่าวเป็นผลให้หลาย ๆ ประเทศกำหนดให้ใช้ข้อมูลลำดับจีโนมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคโนโลยีด้านการหาลำดับพันธุกรรมสมัยใหม่ในการระบุสายพันธุ์ และประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมากขึ้น⁶

ทั้งนี้เพื่อส่งเสริมให้มีการใช้เทคโนโลยีด้านการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาวนาโนพอร์ในการประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกมากขึ้น บทความนี้มีวัตถุประสงค์ให้ผู้อ่านได้เรียนรู้และเข้าใจถึงจุลินทรีย์โพรไบโอติก ทิศทางแนวโน้มตลาดและผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในประเทศไทย รวมถึงแนวทางการใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์ร่วมกับวิธีการทางชีวสารสนเทศในการบ่งชี้เอกลักษณ์สายพันธุ์และประเมินความปลอดภัย

จุลินทรีย์โพรไบโอติก เพื่อเป็นข้อมูลให้ผู้เกี่ยวข้องทั้งผู้ประกอบการในการเตรียมข้อมูลเพื่อขออนุญาตใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการปรับปรุงแก้ไขข้อกำหนดให้เท่าทันการเกิดขึ้นของเทคโนโลยีและยกระดับมาตรการควบคุมความปลอดภัยของอาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) ตามคำนิยามขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (The Food and Agriculture Organization: FAO) และองค์การอนามัยโลก (The World Health Organization: WHO) ปี ค.ศ. 2012 หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งถ้ามีจำนวนมากพอจะก่อให้เกิดประโยชน์แก่สุขภาพได้⁷ และตามคำนิยามของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ของประเทศไทย หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งใช้ในอาหารและจะเกิดผลต่อสุขภาพก็ต่อเมื่อผู้บริโภคได้รับในปริมาณที่เพียงพอ⁸ โดยจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นโพรไบโอติกพบส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียผู้ผลิตกรดแลคติกหรือแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria)⁹ บิฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacterium) และยีสต์หรือในบางกรณีอาจเป็นแบคทีเรียในสกุลบาซิลลัส (Bacillus) จุลินทรีย์โพรไบโอติกพบมีการใช้กันทั่วโลกด้านการดูแลสุขภาพของมนุษย์และปศุสัตว์ ในรูปของอาหาร เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือใช้ในการรักษาโรค เป็นต้น รายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีคุณสมบัติ

ช่วยในการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด¹⁰ การป้องกันโรคสำไส้อักเสบเรื้อรัง การป้องกันโรคในช่องปาก และกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน¹¹⁻¹² ส่งผลให้ผู้บริโภคจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีความสามารถในการต้านทานหรือลดความรุนแรงของโรคได้ดีขึ้น จากคุณสมบัติข้างต้นเป็นผลให้ผู้บริโภคสนใจผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกและมีการใช้จุลินทรีย์ โพรไบโอติกเป็นอาหารเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน

ทิศทางแนวโน้มตลาดและผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีศักยภาพสูงอย่างยิ่งในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หรือเป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร รายงานปี ค.ศ. 2022 ของ Grand View Research ระบุว่า ตลาดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีมูลค่าประมาณ 77.12 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ และมีแนวโน้มที่จะสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยคาดว่าจะมีอัตราการเติบโตที่ 14 เปอร์เซ็นต์ภายในช่วงปี ค.ศ. 2023-2030¹³ และในปีเดียวกันนี้ Gut Health Test and Nutrition Market รายงานถึงความต้องการของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพว่ามีปริมาณเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในตลาดในแถบเอเชียแปซิฟิก มีการคาดการณ์ความต้องการพบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้น 27.2 เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 2030¹⁴ สำหรับประเทศไทย อัตราการเจริญเติบโตของตลาดโพรไบโอติกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น 12.2 เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 2021-2026¹⁵ นั้นแสดงให้เห็นถึงอุปสงค์ของตลาดที่พร้อมซื้อ ซึ่งผู้ประกอบการในปัจจุบัน

ยังผลิตสินค้ามารองรับความต้องการนี้ไม่เพียงพอ ประกอบกับแผนยุทธศาสตร์ของกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ในส่วนของ Food Innopolis และยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมไทย 4.0 ระยะ 20 ปี (ค.ศ. 2017-2036) ของกระทรวงอุตสาหกรรม กำหนดให้อุตสาหกรรมการแปรรูปอาหารเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมเป้าหมายที่เป็นกลไกขับเคลื่อนเศรษฐกิจเพื่ออนาคต เป็นผลทำให้ตลาดโพรไบโอติกในประเทศไทยยังมีความน่าสนใจต่อไปในอนาคต

จุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ครอบคลุมอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ หรือพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายประเภท รวมถึงอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ด้วย การบริโภคจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่จะได้รับผ่านทางอาหาร เช่น นมเปรี้ยว เป็นต้น หรือบริโภคโดยตรงในรูปแบบอาหารเสริม ไม่ว่าจะเป็นแบบผงบรรจุซองหรือในรูปแบบแคปซูล และปัจจุบันมีการจำหน่ายจุลินทรีย์โพรไบโอติกในหลากหลายรูปแบบ ทั้งแบบอาหารเสริมแบบสายพันธุ์เดียวหรือผสมหลายสายพันธุ์ หรือผสมในอาหารและเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ เพื่อเพิ่มทางเลือกให้แก่ผู้บริโภค และโอกาสทางธุรกิจของผู้ผลิตอาหาร อย่างไรก็ตาม ความเข้าใจที่คลาดเคลื่อนเรื่องคุณสมบัติของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ทำให้ผู้บริโภคมักจะเข้าใจว่าอาหารหมักบางชนิดที่ยังคงมีจุลินทรีย์มีชีวิตอยู่นั้นเป็นอาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติก อาทิ อาหารหรือเครื่องดื่มบางชนิดที่หมักโดยวิธีการทางธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นกิมจิหรือซาวหมักที่เป็นการหมักที่เกิดขึ้น

โดยจุลินทรีย์ที่มีตามธรรมชาติ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านั้นอาจมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกหรือไม่ก็ได้ จนกว่าจะได้พิสูจน์ทราบแล้วว่าจุลินทรีย์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ในอาหารเหล่านั้นมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก การเรียกอาหารเหล่านั้นว่าเป็นอาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกจึงยังไม่ถูกต้องนัก ตัวอย่างที่ค่อนข้างชัดเจนคือ ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตซึ่งเกิดจากการหมักนมด้วยจุลินทรีย์ต้นเชื้อสองชนิดคือ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* โดยผู้บริโภคส่วนใหญ่มักเข้าใจว่าเป็นอาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติก แต่ในความเป็นจริงแล้วจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ส่วนใหญ่มีความสามารถในการอยู่รอดในทางเดินอาหารของมนุษย์ได้น้อย เช่น ตรวจพบปริมาณของ *S. thermophilus* เท่ากับ 6.3×10^4 ซีเอฟยู และ 7.2×10^4 ซีเอฟยูสำหรับ *L. delbrueckii* ต่อกรัมของอุจจาระในการผู้อาสาสมัครช่วงอายุ 25 ถึง 45 ปี ที่ได้รับการกินโยเกิร์ตเป็นระยะเวลา 12 วัน อย่างต่อเนื่อง¹⁶ ดังนั้นในกรณีโยเกิร์ตหรืออาหารหมักอื่น ๆ ที่ต้องการโฆษณาว่ามีจุลินทรีย์โพรไบโอติก จึงต้องมีการเติมจุลินทรีย์ที่ได้รับการพิสูจน์ว่ามีคุณสมบัติโพรไบโอติกเพิ่มเติมเข้าไป โดยส่วนมากจะเป็นกลุ่มบิฟิโดแบคทีเรีย เช่น *Bifidobacterium bifidum* *Bifidobacterium breve* *Bifidobacterium longum* และ *Bifidobacterium animalis* และอาจมีการใช้ร่วมกับแบคทีเรียผู้ผลิตกรดแลคติกอื่น ๆ โดยโพรไบโอติกที่เป็นที่นิยมเช่น *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 เป็นกลุ่มที่มีความสามารถมีชีวิตรอดและคงอยู่ในระบบทางเดินอาหารมนุษย์ได้ดี

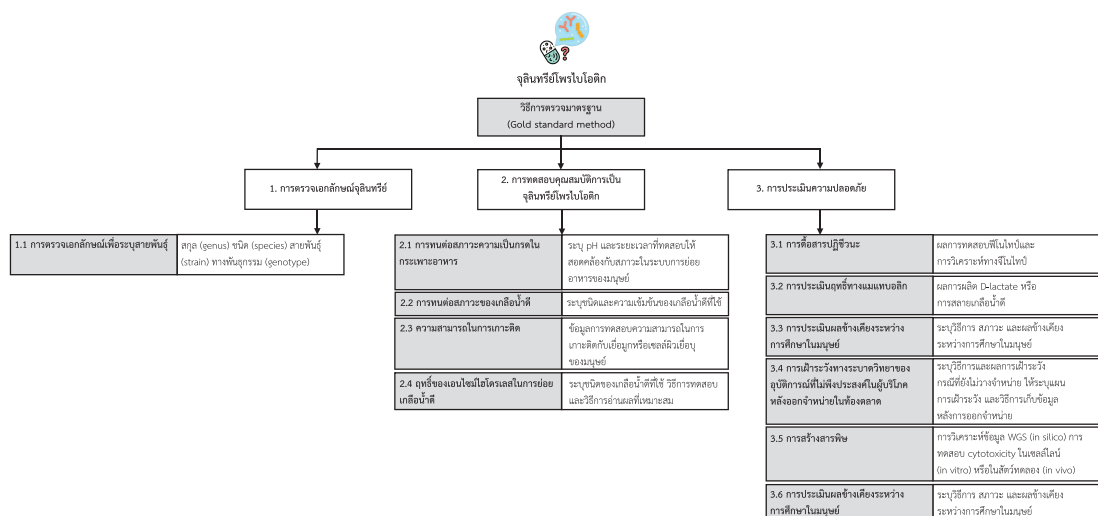
และไม่ทำให้กลืนรสหรือเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเมื่อใช้ในปริมาณมาก¹⁷

โดยทั่วไปจุลินทรีย์โพรไบโอติกต้องมีคุณสมบัติที่จำเป็นสองข้อกล่าวคือ 1) มีความสามารถในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดและเกลือแร่ที่ดี ทำให้สามารถมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหารได้ และ 2) สามารถยึดเกาะกับเนื้อเยื่อบุผิวในลำไส้ (human epithelial cells) ทำให้คงอยู่ในร่างกายได้เป็นระยะเวลาที่เพียงพอที่จะส่งผลประโยชน์ โดยตั้งอยู่บนพื้นฐานว่า จุลินทรีย์สายพันธุ์นั้นต้องมีความปลอดภัยและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ¹⁸⁻¹⁹ แม้ว่าคุณสมบัติด้านความปลอดภัยเป็นคุณสมบัติโดยรวมของจุลินทรีย์นั้น ๆ เช่น กลุ่มแบคทีเรียผู้ผลิตกรดแลคติกที่พบทั่วไปในธรรมชาติ เป็นที่ยอมรับว่ามีความปลอดภัย และบางชนิดได้รับการยอมรับแล้วว่าเมื่อได้รับในปริมาณที่มากพอสามารถช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้โดยไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์ในระดับชนิดหรือสายพันธุ์ แต่ก็ยังมีคุณสมบัติเฉพาะตัวบางอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านความปลอดภัยเกี่ยวกับการดื้อยาปฏิชีวนะ ซึ่งแม้จะเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่จัดว่ามีความปลอดภัยก็อาจมีบางสายพันธุ์ที่มียีนไม่พึงประสงค์ เช่น ยีนดื้อยาที่ได้รับมาจากภายนอกและอาจส่งต่อให้แก่แบคทีเรียก่อโรคอื่น ๆ ทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อก่อโรคต่อไปได้ เพื่อเป็นการนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกไปใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพอย่างยั่งยืน การตรวจสอบความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกจึงเป็นหัวใจสำคัญในการพัฒนาและขับเคลื่อนธุรกิจการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ เพื่อสร้างโอกาสทางธุรกิจให้ผู้ประกอบการ และสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภค

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นอาหารให้กับสิ่งมีชีวิตนั้นต้องได้รับการประเมินประสิทธิผลและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกอ้างอิงตามกฎเกณฑ์สากลในการใช้จุลินทรีย์และ/หรือเกณฑ์อ้างอิงของประเทศนั้น ๆ สำหรับประเทศไทยนั้นมีประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องจำนวน 2 ฉบับ ได้แก่ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร ลงวันที่ 27 มิถุนายน พ.ศ. 2554 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 346) พ.ศ. 2555 เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 25 ตุลาคม พ.ศ. 2555^{1,8} ในการดำเนินการตรวจสอบความปลอดภัยก่อนนำมาใช้กับสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะมนุษย์ได้ ซึ่งนอกจากเป็นจุลินทรีย์ที่มีรายชื่ออยู่ในรายการที่ได้รับอนุญาต

หรือผ่านการประเมินความปลอดภัยและคุณสมบัติโพรไบโอติกแล้ว ต้องมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่คงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10⁶ ซีเอฟยูต่อกรัมอาหาร ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหาร ซึ่งการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกอื่น นอกเหนือจากที่กำหนดไว้ตามประกาศนี้จำเป็นต้องมีการตรวจสอบคุณสมบัติเพื่อยื่นขออนุญาตการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกตามหลักการใน Guidelines for The Evaluation of Probiotics in Food, Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for The Evaluation of Probiotics in Food ปี ค.ศ. 2002²⁰ ซึ่งข้อมูลต้องมีรายละเอียดของข้อมูล ได้แก่ การบ่งชี้เอกลักษณ์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระดับสกุล ชนิด และสายพันธุ์ การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก และการประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อมนุษย์^{1,8} (ดังรูปที่ 1)



รูปที่ 1 วิธีการตรวจมาตรฐานในการตรวจเอกลักษณ์เพื่อระบุสายพันธุ์และประเมินความปลอดภัยเพื่อขออนุญาตการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก [ดัดแปลงจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2554;2555^{1,8}]

ปัญหาหนึ่งที่พบมากในการตรวจประเมินผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารทั่วโลกคือ การระบุฉลากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ไม่ถูกต้อง (mislabelling) ซึ่งพบรายงานในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่จำหน่ายในประเทศแคนาดา เบลเยียม อิตาลี สหราชอาณาจักร สหรัฐอเมริกา รวมถึงประเทศไทย เป็นต้น โดยมีสาเหตุจากทั้งการระบุชนิดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ไม่ถูกต้อง มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อื่น รวมถึงมีปริมาณของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่คงเหลือไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด²¹⁻²² การตรวจเอกลักษณ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกอย่างละเอียดถี่ถ้วนถึงในระดับชนิด หรือสายพันธุ์จึงจัดเป็นหนึ่งในหลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัยที่มีความจำเป็นในการใช้เป็นข้อมูลประกอบการยื่นขออนุญาตการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก การตรวจเอกลักษณ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อระบุชนิด จุลินทรีย์นั้นสามารถใช้หลากหลายวิธีการ เช่น การตรวจเอกลักษณ์โดยเทคนิคการเพิ่มปริมาณยีนเป้าหมาย (PCR amplification) เทคนิค pulsed field gel electrophoresis (PFGE) เทคนิค multilocus sequence typing (MLST) หรือเทคนิค ribotyping ทั้งนี้วิธีการเหล่านี้มีความยุ่งยากซับซ้อน ใช้เวลานานสิ้นเปลืองทรัพยากร และอาจมีประสิทธิภาพต่ำ อีกทั้งไม่สามารถนำข้อมูลการตรวจมาวิเคราะห์ต่อด้านอื่น ๆ ได้²³⁻²⁵ ด้วยความสามารถของเทคโนโลยี หรือเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจประเมินที่มีความสามารถในการแยกแยะที่ต่ำ (low-resolution) อาจเป็นหนึ่งในสาเหตุที่ทำให้การระบุฉลากของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ถูกต้อง

รายงานการวิจัยก่อนหน้าของ Merenstein และคณะ²⁶ ซึ่งเกิดจากการประชุมกันของ International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) ประจำปี พ.ศ. 2565 ได้ให้ความเห็นถึงปัญหาของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่พบทั่วโลกว่าควรมีแนวทางในการปฏิบัติและผ่านการพิจารณาอย่างเข้มข้นในด้านความปลอดภัย โดยให้ความสำคัญกับ 3 ปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย 1) สายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotic strains) 2) การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก (probiotic product quality and safety) และ 3) การบริหารจัดการผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก (probiotic product administration) โดยที่ปัจจัยแรกมีผลด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์คือ สายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติก กล่าวคือ ควรมีข้อมูลลำดับจีโนมที่สมบูรณ์ เพื่อความแม่นยำในการระบุสายพันธุ์ และประเมินความปลอดภัยด้านอื่น ๆ ทั้งนี้ข้อมูลลำดับจีโนมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นหนึ่งในข้อมูลที่จำเป็นในการตรวจประเมินในหลายประเทศทั่วโลก แต่ขึ้นอยู่กับกฎระเบียบ และชนิดของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างออกไปในแต่ละพื้นที่ ตัวอย่างเช่น ข้อมูลลำดับจีโนมของจุลินทรีย์ไม่ถือเป็นข้อมูลจำเป็น (optional required) สำหรับการขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์ในประเทศอิตาลี ในขณะที่ประเทศบราซิล จีน แคนาดา และสหภาพยุโรป (EU) จำเป็นต้องใช้ข้อมูลลำดับจีโนมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในการตรวจสอบเพื่อใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับเป็นผลิตภัณฑ์⁶ ประกอบกับหน่วยงานตรวจสอบความปลอดภัย

ด้านอาหารแห่งสหภาพยุโรป (European Food Safety Authority หรือ EFSA) ได้กำหนดให้ใช้ข้อมูลจีโนม (whole-genome sequence) ในการพิสูจน์ยืนยันเอกลักษณ์จุลินทรีย์สำหรับใช้ในห่วงโซ่อาหารสำหรับแบคทีเรียและยีสต์ แต่ยังอนุญาตสำหรับราเส้นใยให้ใช้ข้อมูลจากยีนที่จำเพาะในการพิสูจน์เอกลักษณ์ได้²⁷ ข้อยกเว้นนี้อาจเนื่องจากจีโนมของราเส้นใยมีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรียและยีสต์ ทำให้การหาข้อมูลทั้งจีโนมยังมีข้อจำกัดเนื่องจากทำได้ยากและราคาแพง

สำหรับประเทศไทยคณะกรรมการประเมินความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ได้จัดทำข้อกำหนดขั้นต่ำและหลักเกณฑ์การประเมินความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารตามแนวทางการตามข้อกำหนดของ EFSA โดยกำหนดให้ข้อมูลจีโนมเป็นหนึ่งในข้อมูลที่ต้องนำเสนอเพื่อขึ้นทะเบียนโพรไบโอติกสายพันธุ์ใหม่ที่อยู่นอกเหนือจากรายชื่อโพรไบโอติกที่กำหนดไว้แล้ว รวมถึงการใช้ข้อมูลจีโนมในการวิเคราะห์เอกลักษณ์จุลินทรีย์ หายีนที่เกี่ยวข้องกับสารพิษและสารไม่พึงประสงค์ และการมีอยู่ของยีนดื้อยา²⁸ สำหรับหลักฐานผลการประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกนั้น จำเป็นต้องมีการทดสอบนอกกาย (in vitro) หรือในสัตว์ (in vivo) และการศึกษาในมนุษย์เพื่อประเมินความปลอดภัย รวมถึงปฏิกิริยาของร่างกายต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

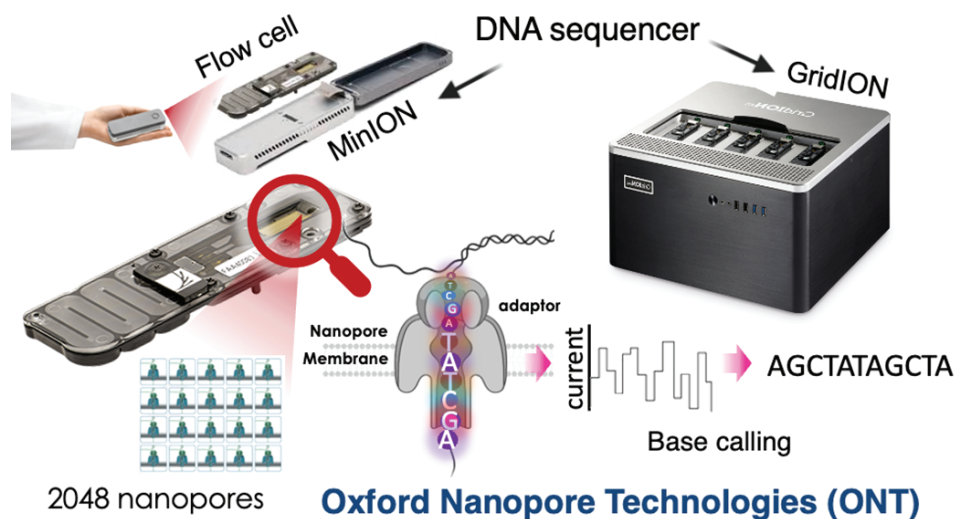
โดยประเมินจากผลการตรวจคุณสมบัติ 6 ประการ ดังแสดงตามรูปที่ 1 ก่อนหน้าการตรวจประเมินดังกล่าวอาศัยการทดสอบในห้องปฏิบัติการตามวิธีการมาตรฐานสากล แต่ทั้งนี้ยังมีข้อจำกัดบางประการที่ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยผลการทดสอบดังกล่าว อาทิ สาเหตุของการดื้อสารปฏิชีวนะในจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์ในสกุล หรือชนิดเดียวกัน เป็นต้น สำหรับการดื้อสารปฏิชีวนะ (ข้อ 3.1 รูปที่ 1) จะอาศัยข้อมูลการตรวจทางด้านฟีโนไทป์ (phenotype) ซึ่งทำให้โดยทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (minimum inhibitory concentration: MIC) โดยวิธี microdilution method ตามมาตรฐานสากล แต่ทั้งนี้ผลการทดสอบดังกล่าวไม่สามารถใช้อธิบายถึงผลของการเกิดดื้อสารปฏิชีวนะได้ ดังนั้นจึงเป็นเหตุให้ต้องศึกษาเชิงลึกผ่านข้อมูลจีโนมที่สมบูรณ์ หรือการตรวจด้านจีโนไทป์ (genotype) ควบคู่กันไปเพื่อใช้อธิบายสาเหตุการเกิด และโอกาสที่จะถ่ายทอดไปยังจุลินทรีย์อื่นที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ นอกจากนี้การได้มาซึ่งข้อมูลจีโนมที่สมบูรณ์นั้นยังใช้ในการประเมินฤทธิ์ทางแม่แบบอลิก (ข้อ 3.2 รูปที่ 1) โดยดูตรวจดูยีนที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับการผลิต D-lactate หรือการสลายเกลือน้ำดี หรือการสร้างสารพิษ (ข้อ 3.5 รูปที่ 1) ผ่านการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารพิษและสารไม่พึงประสงค์ เป็นต้น ทั้งนี้ในปัจจุบันเทคโนโลยีการหาลำดับดีเอ็นเอ (DNA sequencing) มีความก้าวหน้าเป็นอย่างมาก สามารถถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนม

ของแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว เป็นเหตุให้สามารถนำข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่มีความจำเพาะกับสายพันธุ์มาใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะตัวของสายพันธุ์ได้อย่างครบถ้วนรอบด้าน ด้วยเหตุนี้ เป็นผลให้คณะกรรมการประเมินความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (สวทช.) ซึ่งได้รับมอบหมายจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ให้เป็นหน่วยประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ไม่อยู่ในรายการจุลินทรีย์โพรไบโอติกของ อย. ส่งเสริมให้มีการใช้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนม ซึ่งไม่เพียงแต่ช่วยยืนยันเอกลักษณ์ ยังสามารถใช้ประกอบการประเมินความปลอดภัยในกระบวนการพิจารณาอนุญาตการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย

เทคโนโลยีนาโนพอร์กับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เทคโนโลยีนาโนพอร์ (nanopore sequencing technology) เป็นหนึ่งในเทคโนโลยีการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาว (long-read sequencing) เทคโนโลยีนาโนพอร์พัฒนาโดยบริษัท อ็อกซ์ฟอร์ดนาโนพอร์เทคโนโลยี (Oxford Nanopore Technologies: ONT) ประเทศอังกฤษ ซึ่งอาศัยการตรวจวัดหรือทดสอบอัตลักษณ์ของ

สารที่ต้องการ ผ่านการเปลี่ยนแปลงของกระแสไอออนที่ไหลผ่านนาโนพอร์โปรตีนซึ่ง สามารถใช้ถอดรหัสพันธุกรรมของโมเลกุลที่ตรวจวัดได้ (รูปที่ 2) เทคโนโลยีนาโนพอร์เป็นเทคโนโลยีที่ถูกนำมาใช้ในการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาว ซึ่งเป็นข้อดีของเทคโนโลยีนี้ การได้ข้อมูลรหัสพันธุกรรมสายยาวนั้นทำให้เพิ่มโอกาสได้ข้อมูลจีโนมที่สมบูรณ์ ลดการขาดแห่งของยีนหรือโครงสร้างของยีนที่สำคัญต่าง ๆ นอกจากนี้มีขั้นตอนในการเตรียมดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA library) ค่อนข้างง่าย และใช้เวลาสั้นกว่าเทคโนโลยี แบบสายสั้น (short-read) ทำให้ข้อมูลที่ใช้ในการเปรียบเทียบเพื่อระบุชนิดของแบคทีเรียมีความรวดเร็ว และมีความจำเพาะมากกว่าข้อมูลที่อ่านได้ด้วยเทคโนโลยีแบบสายสั้น ส่งผลให้ได้ผลได้อย่างถูกต้อง แม่นยำกว่าในการจำแนกอนุกรมวิธาน ทั้งนี้เพราะเทคโนโลยีแบบสายสั้นนั้นให้ผลการอ่านลำดับพันธุกรรมครอบคลุมบางส่วนของยีน อาทิ ครอบคลุม ~500 คู่เบสของยีน 16S rRNA ในแบคทีเรีย ในขณะที่เทคโนโลยีนาโนพอร์สามารถอ่านลำดับพันธุกรรมครอบคลุมได้ตลอดทั้งยีน (~1,500 คู่เบส) ซึ่งเมื่อนำลำดับพันธุกรรมมาวิเคราะห์ด้วยวิธีทางชีวสารสนเทศ และอ้างอิงกับฐานข้อมูลด้านพันธุกรรมที่เก็บรวบรวมข้อมูลจากสิ่งมีชีวิตทั่วโลก (National Center for Biotechnology Information) ทำให้ได้ผลตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์จุลินทรีย์ในระดับชนิดและสายพันธุ์ที่แม่นยำกว่า²⁹



รูปที่ 2 เทคโนโลยีการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาวนาโนพอร์ (nanopore sequencing technology) ผ่านการเปลี่ยนแปลงของกระแสไอออนที่ไหลผ่านนาโนพอร์โปรตีน

ปัจจุบันเทคโนโลยีการอ่านลำดับพันธุกรรมแบบสายยาวที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือเทคโนโลยีที่ผลิตโดยบริษัท Pacific Biosciences และบริษัท Oxford Nanopore Technologies โดยที่เทคโนโลยีแพคไบโอ (PacBio) นั้นอาศัยเทคโนโลยีหลักแบบเรียลไทม์โมเลกุลเดี่ยว (SMRT, single molecule real-time) ในการอ่านที่มีความยาวหลายสิบกิโลเบสของลำดับพันธุกรรม การวิเคราะห์หาลำดับพันธุกรรมโดยเทคโนโลยีนาโนพอร์ มีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับเทคโนโลยีการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาวแพคไบโอประการหนึ่งคือ ข้อมูลที่ได้จากเทคโนโลยีนาโนพอร์จะมีความครบถ้วน สามารถให้ข้อมูลของชิ้นส่วนขนาดเล็กที่อยู่ในจีโนม เช่น พลาสมิดขนาดเล็กได้ ในขณะที่เทคโนโลยีแพคไบโอมีขั้นตอนการกรองคัดเลือกขนาดของดีเอ็นเอที่จะทำการวิเคราะห์ ทำให้โดยทั่วไปจะไม่สามารถตรวจพบดีเอ็นเอ

ขนาดเล็กได้ ตัวอย่างเช่น การขาดหายของชุดลำดับพันธุกรรมพลาสมิดขนาด 2.2 กิโลเบส ในต้นกล้าเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* BCC9546 จากข้อมูลการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาวโดยใช้เทคโนโลยีแพคไบโอ³⁰ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันข้อมูลพันธุกรรมที่ได้จากเทคโนโลยีนาโนพอร์เพียงเทคโนโลยีเดียว ยังมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากความผิดพลาดในการอ่านค่าลำดับเบสในบางกรณี เช่น ในกรณีที่เบสซ้ำหลาย ๆ เบส ทำให้อ่านค่าได้มากหรือน้อยกว่าความจริง เป็นต้น ทำให้รหัสพันธุกรรมยังไม่ถูกต้อง 100 เปอร์เซ็นต์³¹ ซึ่งสามารถปรับปรุงได้โดยการนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมแบบสายสั้นมาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อปรับแต่งข้อมูลจีโนมที่ได้ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่ให้ความแม่นยำสูง แต่ได้ความยาวสั้น จึงไม่สามารถใช้เป็นเทคโนโลยีหลักในการประกอบ

จีโนมได้ ซึ่งเทคโนโลยีการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายสั้นนี้มีหลายเทคโนโลยี เช่น Illumina, Ion Torrent และ BGI เป็นต้น ซึ่งมีค่าใช้จ่ายที่ถูกลงกว่าการหาลำดับพันธุกรรมแบบสายยาว จึงไม่เป็นการเพิ่มภาระค่าใช้จ่ายมากสำหรับผู้ประกอบการ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังคงมีการพัฒนาเทคโนโลยีนาโนพอร์อย่างต่อเนื่อง โดยคาดว่าในอนาคตความถูกต้องของลำดับพันธุกรรมที่ได้จากเทคโนโลยีนาโนพอร์จะมีการพัฒนาให้มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น มีความเป็นไปได้ในการสร้างจีโนมที่มีคุณภาพสูงโดยอาศัยเพียงเทคโนโลยีเดียวตามรายงานของ Sereika และคณะ⁵

ปัญหาของการขึ้นทะเบียนจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ใหม่ที่อยู่นอกเหนือรายการที่อนุญาตสำหรับผู้พัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกในประเทศคือความสามารถในการจัดหาข้อมูลที่จำเป็นในการขึ้นทะเบียน รวมถึงความสามารถของหน่วยบริการวิเคราะห์ทดสอบ เป็นเหตุให้การได้มาของข้อมูลที่สมบูรณ์เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาอนุญาตการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นไปได้ยากมากขึ้น หนึ่งในข้อมูลที่ต้องใช้ประกอบเพื่อขออนุญาตสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ไม่อยู่ในรายการของ อย. คือ หลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัย ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่จะทำให้เกิดข้อกังวลด้านความปลอดภัย เช่น การตรวจหาพิษ สารก่อภูมิแพ้ หรือสารไม่พึงประสงค์ที่อาจพบในจุลินทรีย์ และยีนดื้อยาปฏิชีวนะที่อาจส่งต่อไปยังเชื้อก่อโรคที่เป็นปัญหา

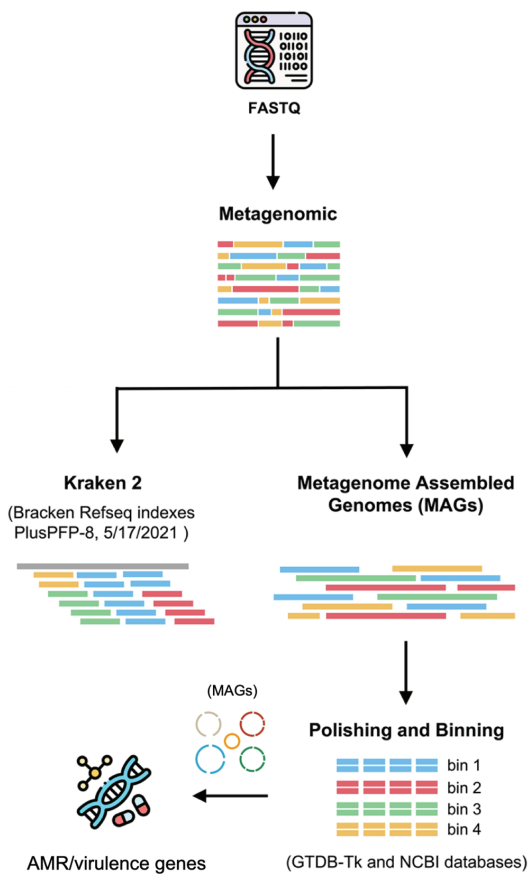
สำคัญทางด้านสาธารณสุขทั่วโลก ตัวอย่างการประยุกต์เทคโนโลยีนาโนพอร์เพื่อตรวจประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติกนั้น พบมีรายงานการใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์ในการสร้างข้อมูลจีโนมของแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactiplantibacillus plantarum* สายพันธุ์ IS-10506 และประเมินความปลอดภัยผ่านการศึกษาข้อมูลจีโนมไทป์ของยีนดื้อยาปฏิชีวนะและยีนสร้างสารอื่น ๆ ที่เป็นอันตราย (potential harmful) ด้วยวิธีการทางชีวสารสนเทศ³² นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยการหาข้อมูลจีโนมทั้งหมด (whole genome) ของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกจำนวน 7 ผลิตภัณฑ์ ที่วางจำหน่ายในประเทศจีน โดยใช้เทคโนโลยีแบบสายสั้นควบคู่กับเทคโนโลยีนาโนพอร์ ผลการศึกษาพบชนิดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ไม่สอดคล้องกับการติดฉลากผลิตภัณฑ์ และจุลินทรีย์โพรไบโอติกบางสายพันธุ์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์พบยีนสำหรับการผลิตสารเมตาบอไลต์ที่เป็นพิษ (toxin) และยีนของความรุนแรง (virulence) รวมถึงยีนที่แสดงการดื้อยาหลายขนานด้วย ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพได้³³ สำหรับในประเทศไทยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์สำหรับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบมีการใช้งานมากขึ้นแต่ยังครอบคลุมในกลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติกบางกลุ่มเท่านั้น ได้แก่ การทำข้อมูลจีโนมของต้นกล้าเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับการผลิตหมั่น³⁰ หรือจุลินทรีย์โพรไบโอติกสัตว์³⁴ และใช้ตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัย

ของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกสำหรับสัตว์²² เป็นต้น เห็นได้ว่าการอ่านลำดับพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยี นาโนพอร์และการวิเคราะห์ทางชีวสารสนเทศ สามารถให้ข้อมูลเชิงลึกผ่านการวิเคราะห์รหัส พันธุกรรมทั้งในส่วนการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ได้อย่างแม่นยำในระดับชนิด (ข้อที่ 1 ภาพที่ 1) รวมถึงการประเมินความปลอดภัย (ข้อที่ 3 รูปที่ 1) ด้วย นอกจากนี้ประเด็นด้านความปลอดภัยแล้ว ข้อมูลที่ได้ยังสามารถใช้ในการค้นหายีนที่เกี่ยวข้อง กับคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์หรือน่าสนใจอื่น ๆ เช่นการสร้างวิตามินและโคเอนไซม์ต่าง ๆ หรือ ยีนที่เกี่ยวข้องกับการลดคอเลสเตอรอล เป็นต้น³⁵

ชีวสารสนเทศศาสตร์กับการประเมิน ความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติก

วิธีทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) มีความสำคัญอย่างมากในการวิเคราะห์รหัส พันธุกรรมทั้งจีโนมของจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยข้อมูลลำดับเบสปริมาณมาก (raw sequences) ที่ได้จากการหาลำดับพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยี นาโนพอร์ จะถูกนำมาคัดกรอง (data filtering) เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีคุณภาพดี ซึ่งจะนำไปใช้ใน ขั้นตอนการประกอบจีโนม (genome assembly) จากนั้นตรวจสอบคุณภาพจีโนมที่ถูกสร้างขึ้น อีกครั้งด้วยเครื่องมือต่าง ๆ ทางชีวสารสนเทศ หลังจากได้ข้อมูลจีโนมที่มีคุณภาพสูงแล้วจะถูก นำไประบุชนิดจุลินทรีย์ รวมถึงวิเคราะห์อื่น ๆ เพื่อใช้ประกอบการประเมินความปลอดภัยต่อไป

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมีแนวโน้ม ที่จะผสมจุลินทรีย์หลากหลายชนิดทั้งในระดับชนิด และสายพันธุ์เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ โดยอาจมีมากถึง 7-10 สายพันธุ์ ในผลิตภัณฑ์เดียวกัน ทำให้การ วิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์โดยวิธีการเพาะเลี้ยง หรือการตรวจเฉพาะยีนเป้าหมาย (16S rRNA หรือ ITS) มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการควบคุม ตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ ดังนั้น สำหรับผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผสมเหล่านี้ สามารถใช้ เทคโนโลยีการวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบสายยาว ร่วมกับเทคนิคที่เรียกว่าเมตาจีโนม (metagenome) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์จีโนมของจุลินทรีย์ ทั้งหมดที่มีในหนึ่งชุมชนเข้ามาช่วยในการวิเคราะห์ ได้^{36,37} โดยการสกัดดีเอ็นเอของจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่อยู่ในตัวอย่างและวิเคราะห์หาลำดับพันธุกรรม ทั้งหมดในตัวอย่างโดยตรงโดยไม่มีการเพิ่มปริมาณ (amplification) เป็นผลให้ได้ข้อมูลจุลินทรีย์ ทั้งหมดโดยไม่มี bias จากการเพิ่มปริมาณ ทำให้ ทราบโครงสร้างประชากรที่ถูกต้องมากขึ้น อีกทั้ง การวิเคราะห์ทางชีวสารสนเทศผ่านข้อมูลเมตาจีโนม ยังสามารถประกอบข้อมูลจีโนมของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ใน ตัวอย่างนั้น ๆ ทำให้ทราบถึงจำนวนชนิดและ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างได้ นอกจากนี้ข้อมูลเมตาจีโนมที่ได้จะสามารถใช้ในการ ระบุเอกลักษณ์จุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีในผลิตภัณฑ์แล้ว ยังสามารถใช้ในการประเมินความปลอดภัย ผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบในภาพรวม ได้อีกด้วย (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 การตรวจเอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคเมตาจีโนมิกส์ผ่านเทคโนโลยีนาโนพอร์และการวิเคราะห์ทางชีวสารสนเทศ [ดัดแปลงจาก Kruasuwan และคณะ^{13]}

ตัวอย่างการนำเทคโนโลยีนาโนพอร์ร่วมกับเทคนิคเมตาจีโนมมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในรูปแบบผสม ดังแสดงในการศึกษาของ Kruasuwan และคณะ ในปี ค.ศ. 2023 ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์หาลำดับพันธุกรรมของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่ในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกสำหรับสัตว์ที่วางขายในท้องตลาดในประเทศไทย พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์

อื่นนอกเหนือจากจุลินทรีย์ชนิดที่ระบุไว้บนฉลากผลิตภัณฑ์ หรือในบางกรณีตรวจไม่พบจุลินทรีย์ชนิดตามที่ระบุบนฉลาก นอกจากนี้ยังตรวจพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาปฏิชีวนะอยู่ในจีโนมที่วิเคราะห์ได้ โดยพบยีนดื้อยาในกลุ่ม aminoglycosides [*ant(4)-Ib* และ *aadK*], chloramphenicol (*cat4*), macrolides [*erm(34)*, *erm(D)* และ *mphK*], quinolone (*qnrD1*) และ tetracycline [*tet(L)*] ที่ระดับความเหมือน (identity) 87.3–99.8 เปอร์เซ็นต์ และสัดส่วนความยาวของยีนที่อ้างอิงในฐานข้อมูล (coverage) 98.7–100 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ²² ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการมีเทคโนโลยีที่เหมาะสมและทันสมัย เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกทั้งในระดับการผลิต และการควบคุมดูแลหลังการวางจำหน่าย การใช้เทคโนโลยีนาโนพอร์และวิธีทางชีวสารสนเทศสามารถนำมาใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัยทั้งสำหรับตัวจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์บริสุทธิ์ และสำหรับตรวจติดตามคุณภาพและความปลอดภัยผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีการผสมจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ สามารถใช้ในการตรวจสอบควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ทั้งในระดับผู้ผลิต และสำหรับตรวจติดตามหลังการจำหน่ายโดยหน่วยงานที่มีหน้าที่กำกับดูแล เพื่อเป็นการประกันความปลอดภัยของผู้บริโภค เพิ่มความมั่นใจ และเพิ่มศักยภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกและความสามารถในการแข่งขันของประเทศได้อีกด้วย

สถาบันที่ให้ความสนใจร่วมกันพัฒนา วิธีการประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์ โพรไบโอติก

ในประเทศไทย ห้องปฏิบัติการ Siriraj Long-read Lab หรือ Si-LoL ภายใต้หน่วยชีวสารสนเทศทางการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล นำเทคโนโลยีนาโนพอร์และชีวสารสนเทศมาใช้สำหรับงานทางด้านจุลินทรีย์โพรไบโอติก มีเป้าหมายในการเพิ่มศักยภาพของประเทศไทยให้สามารถวิเคราะห์หารหัสพันธุกรรมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้อย่างถูกต้องรวดเร็ว โดยไม่จำเป็นต้องส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ยังต่างประเทศ ช่วยลดเวลาการขนส่ง ลดความเสี่ยงของการรั่วไหลของข้อมูล และมีความคุ้มค่าที่ต่ำกว่า ให้ความร่วมมือกับผู้ประกอบการ โดยให้คำปรึกษาเกี่ยวกับวิธีการทดสอบที่เหมาะสม วิธีการแปลผลการวิเคราะห์ หรือข้อสงสัยอื่น ๆ ที่อาจมีความจำเพาะเฉพาะกรณีได้อย่างสะดวกรวดเร็ว

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) เป็นหน่วยงานที่รวมผู้เชี่ยวชาญด้านจุลินทรีย์ ได้พัฒนาเทคนิคและกระบวนการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์และประเมินความปลอดภัยจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีความจำเพาะในระดับสายพันธุ์

ศูนย์นวัตกรรมการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่ออุตสาหกรรม (ICPIM) ภายใต้ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) เป็นศูนย์ขับเคลื่อนเทคโนโลยีจุลินทรีย์โพรไบโอติกให้กับ

ผู้ประกอบการแห่งแรกของประเทศ ICPIM ให้บริการสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติก มากกว่า 50 สายพันธุ์ ให้บริการวิเคราะห์ทดสอบคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติก-โพรไบโอติก เพื่อขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์และการส่งออก บริการทดสอบคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของจุลินทรีย์ และบริการวิจัยพัฒนาจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอุตสาหกรรมอาหารด้วยระบบการผลิตที่ได้มาตรฐานสากล ซึ่งจัดเป็นศูนย์แห่งการขับเคลื่อนเทคโนโลยีสู่เชิงพาณิชย์อย่างเป็นรูปธรรม

บทสรุป

การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอุตสาหกรรมอาหารมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิต และเพิ่มประสิทธิภาพในการประเมินความปลอดภัย โดยใช้หลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัยที่จะพิสูจน์ทราบได้ทั้งในเรื่องของการบ่งชี้เอกลักษณ์สายพันธุ์ที่แม่นยำและความเสี่ยงด้านความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติก รวมถึงการเฝ้าระวังระบาดวิทยาของอุบัติการณ์ที่ไม่พึงประสงค์ในผู้บริโภคหลังจากจำหน่ายในท้องตลาดเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภค ดังนั้นจึงควรมีการส่งเสริมให้มีการใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่ในการอ่านข้อมูลจีโนมควบคู่กันกับวิธีการมาตรฐานในการประเมินความปลอดภัยดังกล่าว ซึ่งเทคโนโลยีนาโนพอร์เป็นเทคโนโลยีการอ่านลำดับพันธุกรรมแบบสายยาว พบว่าช่วยให้ข้อมูลที่ถูกต้อง แม่นยำในการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในระดับสกุล ชนิด หรือสายพันธุ์ ใช้เป็นองค์ประกอบส่วนหนึ่งของการประเมินความปลอดภัยในด้าน

การตรวจยีนดื้อยาปฏิชีวนะ และสารไม่พึงประสงค์ต่าง ๆ ทั้งในส่วนของจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดอยู่ในรูปแบบผสมได้ ทั้งนี้ความร่วมมือระหว่างภาคอุตสาหกรรมภาครัฐ และผู้เชี่ยวชาญเกี่ยวกับความปลอดภัยในการใช้จุลินทรีย์ ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์จีโนมและชีวสารสนเทศ จะช่วยให้บริษัทผู้ผลิตเพิ่มศักยภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกและสามารถแข่งขันได้มากขึ้นในตลาดโพรไบโอติกที่กำลังเติบโตและมีผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับในระดับสากล อันจะนำไปสู่การพัฒนาของประเทศในรูปแบบต่าง ๆ ทั้งด้านวิทยาศาสตร์ ด้านเศรษฐกิจชีวภาพ (bioeconomy) และด้านสุขภาพของประชาชนไทย

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. (คัดลอกจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 346) พ.ศ. 2554 เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128, ตอนพิเศษ 86ง (ลงวันที่ 3 สิงหาคม 2554).
- Hamilton-Miller JMT, Shah S. Deficiencies in microbiological quality and labelling of probiotic supplements. *Int J Food Microbiol* 2002;72:175–76.
- Chen T, Wu Q, Li S, Xiong S, Jiang S, Tan Q, et al. Microbiological quality and characteristics of probiotic products in China. *J Sci Food Agric* 2014;94:131–38.
- Temmerman R, Pot B, Huys G. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int J Food Microbiol* 2003;81:1–10.
- Sereika M, Kirkegaard RH, Karst SM, Michaelsen TY, Sørensen EA, Wollenberg RD, et al. Oxford Nanopore R10.4 long-read sequencing enables the generation of near-finished bacterial genomes from pure cultures and metagenomes without short-read or reference polishing. *Nat Methods* 2022;19:823–26.
- Roe AL, Boyte ME, Elkins CA, Goldman VS, Heimbach J, Madden E, et al. Considerations for determining safety of probiotics: A USP perspective. *Regul Toxicol Pharmacol* 2022;136:105266. doi:10.1016/j.yrtph. 2022.105266
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506–14.
- กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. (คัดลอกจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 346) พ.ศ. 2555 เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128, ตอนพิเศษ 86ง (ลงวันที่ 25 ตุลาคม 2555).

9. สิริจินดา ยุ่นฉลาด, สุจิตรา ทนสูงเนิน. การผลิต D-lactic acid โดยแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อผลิตพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ. วารสารศูนย์บริการวิชาการ 2552;17(1-4):16–23.
10. Sivamaruthi BS, Kesika P, Chaiyasut CA. Mini-review of human studies on cholesterol-lowering properties of probiotics. *Sci Pharm* 2019;87:26. <https://doi.org/10.3390/scipharm87040026>
11. Latif A, Shehzad A, Niazi S, Zahid A, Ashraf W, Iqbal MW, et al. Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Front Microbiol* 2023;14:1216674. doi:10.3389/fmicb. 2023.1216674.
12. Mazziotta C, Tognon M, Martini F, Torreggiani E, Rotondo JC. Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells* 2023;12:184. doi:10.3390/cells 12010184.
13. Grand View Research, Probiotics market size, share & trends analysis report by product (food & beverages, dietary supplements), by ingredient (bacteria, yeast), by distribution channel, by end-use, by region, and segment forecasts, 2023–2030 [Internet]. 2023 [cited 2023 Jan 21]. Available from: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/probiotics-market>
14. InsightAce Analytic. Human microbiome-based gut health test and nutrition market size, share & trends analysis report by product (D2C gut health test, probiotic supplements, personalized nutrition, microbiome modulators), by end-user, by region, and segment forecasts, 2023–2030 [Internet]. 2023 [cited 2023 May 18]. Available from: <https://www.insightaceanalytic.com/report/global-human-microbiome-based-gut-health-test-and-nutrition-market/1221>
15. Research and Markets. Thailand probiotics market - forecasts from 2021 to 2028. Report No. 5350974 [Internet]. 2023 [cited 2023 Jun 10]. Available from: <https://www.researchandmarkets.com/reports/5350974/thailand-probiotics-market-forecasts-from-2023>
16. Mater DD, Bretigny L, Firmesse O, Flores MJ, Mogenet A, Bresson JL, et al. *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yogurt. *FEMS Microbiol Lett* 2005;250:185–87.
17. Mättö J, Fondén R, Tolvanen T, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Satokari R, et al. Intestinal survival and persistence of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains administered in triple-strain yoghurt. *Int Dairy J* 2006; 16:1174–180.

18. Ganguly NK, Bhattacharya SK, Sesikeran B, Nair GB, Ramakrishna BS, Sachdev HPS, et al. ICMR-DBT guidelines for evaluation of probiotics in food. *Indian J Med Res* 2011;134:22–25.
19. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health* 2014;11:4745–767.
20. FAO/WHO. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food; 2002 [Internet]. [cited 2023 May 18]. Available from: https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakusho-kuhinkyoku-Soumuka/000019_7343.pdf
21. Fusco V, Fanelli F, Chieffi D. Authenticity of probiotic foods and dietary supplements: A pivotal issue to address. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2022;62:6854–871.
22. Kruasuwan W, Jenjaroenpun P, Arigul T, Chokesajjawatee N, Leekitcharoenphon P, Foongladda S, et al. Nanopore sequencing discloses compositional quality of commercial probiotic feed supplements. *Sci Rep* 2003;13:4540. doi:10.1038/s41598-023-31626-4.
23. Briczinski EP, Roberts RF. Technical note: a rapid pulsed-field gel electrophoresis method for analysis of bifidobacteria. *J Dairy Sci* 2006;89:2424–27.
24. Ramachandran P, Lacher DW, Pfeiler EA, Elkins CA. Development of a tiered multilocus sequence typing scheme for members of the *Lactobacillus acidophilus* complex. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79:7220–228.
25. Tynkkynen S, Satokari R, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Saxelin M. Comparison of ribotyping, randomly amplified polymorphic DNA analysis, and pulsed-field gel electrophoresis in typing of *Lactobacillus rhamnosus* and *L. casei* strains. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65:3908–914.
26. Merenstein D, Pot B, Leyer G, Ouwehand AC, Preidis GA, Elkins CA, et al. Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut Microbes* 2023;15:2185034. doi:10.1080/19490976.2023.2185034
27. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Rychen G, Aquilina G, Bastos ML, Christensen H, Dusemund B, et al. Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms. *EFSA J* 2018; 16:e05206. doi:10.2903/j.efsa.2018.5206.
28. คณะกรรมการประเมินความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหาร. ข้อกำหนดขั้นต่ำ (minimum requirement) และหลักเกณฑ์การประเมินความปลอดภัยของการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหาร. [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 30 มิ.ย. 2566]; เข้าถึงได้จาก: <https://www.biotec.or.th/biosafety/index.php/guideline>

29. Portik DM, Brown CT, Pierce-Ward NT. Evaluation of taxonomic classification and profiling methods for long-read shotgun metagenomic sequencing datasets. *BMC Bioinformatics* 2022;23:541. doi:10.1186/s12859-022-05103-0
30. Chokesajjawatee N, Santiyanont P, Chantarasakha K, Kocharin K, Thammarongtham C, Lertampaiporn S, et al. Safety assessment of a nham starter culture *Lactobacillus plantarum* BCC9546 via whole-genome analysis. *Sci Rep* 2020;10:10241. doi:10.1038/s41598-020-66857-2
31. Weirather JL, de Cesare M, Wang Y, Piazza P, Sebastiano V, Wang XJ, et al. Comprehensive comparison of Pacific Biosciences and Oxford Nanopore Technologies and their applications to transcriptome analysis. *F1000Research* 2017;6:100. doi:10.12688/f1000research.10571.2
32. Umanets A, Surono IS, Venema K. I am better than I look: genome based safety assessment of the probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* IS-10506. *BMC Genomics* 2023;24:518. doi: 10.1186/s12864-023-09495-y
33. Wang Y, Liang Q, Lu B, Shen H, Liu S, Shi Y, et al. Whole-genome analysis of probiotic product isolates reveals the presence of genes related to antimicrobial resistance, virulence factors, and toxic metabolites, posing potential health risks. *BMC Genomics* 2021;22:210. doi: 10.1186/s12864-021-07539-9
34. Dekham K, Jones SM, Jitrakorn S, Charoonnart P, Thadtapong N, Intuy R, et al. Functional and genomic characterization of a novel probiotic *Lactobacillus johnsonii* KD1 against shrimp WSSV infection. *Sci Rep* 2023;13:21610. doi: 10.1038/s41598-023-47897-w
35. Mollova D, Gozmanova M, Apostolova E, Yahubyan G, Iliev I, Baev V. Illuminating the genomic landscape of *Lactiplantibacillus plantarum* PU3-A novel probiotic strain isolated from human breast milk, explored through nanopore sequencing. *Microorganisms* 2023;11:2440. doi: 10.3390/microorganisms11102440
36. Sudjai A, Suriye K, Kruasuwan W, Jenjaroenpun P, Foongladda S, Wongsurawat T, et al. Long-read 16S rRNA amplicon and metagenomic data of swine feed-additive probiotics product. *Microbiol Resour Announc* 2022;11: e0039722. doi:10.1128/mra.00397-22
37. Khongchatee A, Wongsurawat T, Suriye K, Jenjaroenpun P, Leekitcharoenphon P, Kruasuwan W, et al. Full-length 16S rRNA gene amplicon and metagenome taxonomic profiling of beneficial microbes in poultry and swine probiotic product. *Microbiol Resour Announc* 2022;11: e0069022. doi:10.1128/mra.00690-22

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 (2567): มกราคม – เมษายน
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 31 No. 1 (2024): January – April

การวิเคราะห์สถานการณ์การเฝ้าระวังความปลอดภัยของยาใหม่ ในโรงพยาบาล

กานตพจน์ พ่วงหลาย¹ วิมล สุวรรณเกษาวงษ์² ภูมิ อนันตโชติ³ โอสถ เนระพูสี^{2,3}¹กองบริหารคุณภาพงานทะเบียน องค์การเภสัชกรรม ²วิทยาลัยการบริหารเภสัชกิจแห่งประเทศไทย สภาเภสัชกรรม³คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**ที่อยู่ติดต่อ:** กานตพจน์ พ่วงหลาย แผนกเฝ้าระวังความปลอดภัยผลิตภัณฑ์ กองบริหารคุณภาพงานทะเบียน 75/1 ถนนพระรามที่ 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400 kantapat.pua@gpo.or.th

Situation analysis of safety monitoring program of new drugs in the hospital

Kantapat Puanglai¹, Wimon Suwankesawong², Puree Anantachoti³, Osot Nerapusee^{2,3}¹Pharmacovigilance Section, Government Pharmaceutical Organization. ²College of administration the Pharmacy Council of Thailand. ³Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University**Contact address:** Kantapat Puanglai, Pharmacovigilance Section, Government Pharmaceutical Organization. 75/1 Rama VI Road, Thung Phaya Thai, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand, kantapat.pua@gpo.or.th**Received:** 25 July 2023, **Revised:** 8 February 2024, **Accepted:** 29 February 2024

Abstract

Background: The Thai FDA announced the new guideline of the risk-based approach of a safety monitoring program in 2017, which required a different approach to safety monitoring for drugs with different risk levels. Currently, there are no new drug guidelines under the Safety Monitoring Program (SMP) for collaboration between hospitals and entrepreneurs.

Objectives: The study was to investigate the current situation of the Safety Monitoring Programme of new drugs (SMP) and explore the collaboration activities between marketing authorisation holders and hospitals for new drugs with SMP conditions.

Methods: It was qualitative research by selecting public hospitals in Bangkok and its vicinity with a capacity of not less than 400 beds that have been used under SMP conditions in the hospital's drug inventory for the past two years. Then, it collected data between 1-31 September 2022 through in-depth interviews as using a semi-structured questionnaire. Six or more hospital pharmacists were interviewed; participants were invited until we had no new information.

Results: Six participants participated in the study, it is found that all of them Report Adverse Events (AEs) in a similar working process to each other. The hospital pharmacists assessed the causal relationship that covered new drugs and SMP-decommissioned drugs, then recorded it in the hospital database system and reported it to the Health Product Vigilance Center (HPVC). There was one hospital that only referred serious adverse events due to its heavy workload. When asked about the feasibility of operators participating in monitoring the safety of new drugs together with hospitals, it was found that most of them pointed it out as possible but were unable to provide support due to concerns about the Personal Data Protection Act and that collaboration would require permission from the hospital director or hospital board.

Conclusion: The safety monitoring program of new drugs among hospital samples has similar approach but may differ in practice. Hospital pharmacists need important safety data of new drugs and all new information updated whenever available from entrepreneurs.

Keywords: new drug, SMP, safety monitoring, hospital, pharmacist

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: สืบเนื่องจากประกาศของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเรื่อง แนวทางติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ตามระดับความเสี่ยง พ.ศ. 2560 ซึ่งกำหนดให้มีแนวทางการติดตามความปลอดภัยที่แตกต่างกันตามระดับความเสี่ยงของยา พบว่า ยังไม่มีแนวทางปฏิบัติด้านความร่วมมือระหว่างโรงพยาบาลและผู้ประกอบการเกี่ยวกับยาใหม่ภายใต้โปรแกรมติดตามความปลอดภัย (Safety Monitoring Program; SMP)

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาสถานการณ์การติดตามข้อมูลความปลอดภัยของยาใหม่ตามลักษณะความเสี่ยงระดับต่าง ๆ ในโรงพยาบาล และศึกษาการมีส่วนร่วมของผู้ประกอบการในการติดตามความปลอดภัยของยาเหล่านี้ในโรงพยาบาล

วิธีวิจัย: เป็นการวิจัยเชิงคุณภาพ คัดเลือกโรงพยาบาลรัฐบาลในเขตกรุงเทพและปริมณฑลที่มีขนาดไม่น้อยกว่า 400 เตียงที่มีการใช้ยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP ในบัญชีรายการยาของโรงพยาบาลในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา จากนั้นสุ่มตัวอย่างโรงพยาบาลแบบเฉพาะเจาะจง (purposive sampling) เก็บข้อมูลระหว่างวันที่ 1-31 สิงหาคม 2565 ด้วยการสัมภาษณ์เชิงลึกโดยใช้แบบสอบถามคำถามกึ่งโครงสร้าง สัมภาษณ์เภสัชกรตัวแทนโรงพยาบาลในพื้นที่กรุงเทพและปริมณฑล ทั้งหมดไม่น้อยกว่า 6 แห่ง หรือจนกว่าข้อมูลจะอิ่มตัว

ผลการวิจัย: จากโรงพยาบาลที่เข้าร่วมการศึกษา 6 แห่ง พบว่ากระบวนการรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ของทุกโรงพยาบาลมีความคล้ายคลึงกัน คือ เภสัชกรจะเป็นผู้ประเมินความสัมพันธ์เชิงสาเหตุที่ครอบคลุมถึงยาใหม่และยาที่ถูกปลด SMP และบันทึกข้อมูลลงในฐานข้อมูลของโรงพยาบาล แล้วรายงานไปยังศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ (Health Product Vigilance Center, HPVC) โดยมี 1 โรงพยาบาลส่งเฉพาะเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ระดับร้ายแรงเท่านั้น เนื่องจากภาระงานที่มากเมื่อสอบถามถึงความเป็นไปได้ของผู้ประกอบการในการมีส่วนร่วมติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ร่วมกับโรงพยาบาลพบว่า ส่วนใหญ่เห็นว่ามีความเป็นไปได้แต่ไม่สามารถให้การสนับสนุนได้เนื่องจากข้อกังวลเกี่ยวกับพระราชบัญญัติคุ้มครองข้อมูลส่วนบุคคล และการทำงานร่วมกันจะต้องได้รับอนุญาตจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลหรือคณะกรรมการโรงพยาบาล นอกจากนี้เพื่ออำนวยความสะดวกให้โรงพยาบาลควรกำหนดให้มีการแจ้งสถานะของ SMP เมื่อยาได้รับการคัดเลือกเข้าโรงพยาบาล และเมื่อยาถูกปลด SMP รวมถึงควรสรุปข้อมูลความปลอดภัยที่สำคัญของยาใหม่ SMP และให้ข้อมูลแก่ผู้มีส่วนได้ส่วนเสียที่เกี่ยวข้องในโรงพยาบาล

สรุปผล: หลักการของการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่แบบมีเงื่อนไขของโรงพยาบาลมีความคล้ายคลึงกันแต่อาจแตกต่างกันในการปฏิบัติ สิ่งที่โรงพยาบาลต้องการจากผู้ประกอบการคือการสนับสนุนข้อมูลความปลอดภัยที่สำคัญของยา และข้อมูลใหม่ต่าง ๆ ของยาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง

คำสำคัญ: ยาใหม่ SMP การติดตามข้อมูลความปลอดภัย โรงพยาบาล เภสัชกร

บทนำ

ยาที่ได้รับอนุมัติทะเบียนและจำหน่ายออกสู่ท้องตลาดนั้นมีประสิทธิภาพและความปลอดภัยต่อการใช้อย่างอิงตามหลักฐานการศึกษาวิจัยทางคลินิกในขั้นตอนการพัฒนา ยา แต่พบว่ายังมีความเสี่ยงที่ไม่สามารถค้นพบได้ในขั้นตอนการศึกษาดังกล่าวเนื่องจากข้อจำกัดหลายปัจจัย เช่น ข้อจำกัดด้านระยะเวลาที่ทำการศึกษาและไม่ได้ศึกษากับประชากรบางกลุ่ม ซึ่งแตกต่างจากการใช้ในเวชปฏิบัติ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องกำหนดให้มีการติดตามความปลอดภัยจากการใช้ยาหลังจากที่ได้วางจำหน่ายออกไปแล้ว เพื่อติดตามความปลอดภัยจากการใช้ยาในชีวิตจริง โดยเฉพาะยาใหม่

นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ได้ปรับปรุงระบบการขึ้นทะเบียนสำหรับยาใหม่ โดยในช่วงแรกเป็นการอนุมัติทะเบียนแบบมีเงื่อนไข คือผู้ประกอบการที่เป็นผู้รับอนุญาตผลิต นำหรือส่งยาใหม่เข้ามาในราชอาณาจักร มีหน้าที่ดำเนินการตามมาตรการติดตามความปลอดภัยคือ ดำเนินโปรแกรมติดตามความปลอดภัย (Safety Monitoring Program: SMP) เป็นระยะเวลา 2 ปี ก่อนยื่นขอรับการอนุมัติแบบไม่มีเงื่อนไขในลำดับถัดมา แต่เนื่องจากรูปแบบการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่นั้น ไม่มีการแบ่งระดับความเสี่ยงของแต่ละตำรับยา จึงมีการปรับปรุงการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP¹ ในปี พ.ศ. 2560 ตามประกาศสำนักคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เรื่อง หลักเกณฑ์การติดตามความปลอดภัย

ผลิตภัณฑ์ยาตามลักษณะความเสี่ยง (risk-based approach safety monitoring program) โดยแบ่งรูปแบบและระยะเวลาการติดตามความปลอดภัยออกเป็น 4 ระดับตามประเภทความเสี่ยงของยา และยังกำหนดให้ผู้ประกอบการต้องมีหน้าที่สื่อสารข้อมูลด้านความปลอดภัยของยาใหม่ให้กับบุคลากรทางการแพทย์ 1 เดือนก่อนยาใหม่จำหน่ายให้สถานพยาบาลนั้น ๆ ทั้งนี้ เพื่อส่งเสริมการใช้ยาอย่างเหมาะสม โดยจะมีการเฝ้าเดือนทุก ๆ 2 เดือนจนครบ 6 เดือนหลังจากยาถูกจำหน่าย และสรุปผลการติดตามให้ อย. ภายในเวลาที่กำหนด¹⁻² นอกจากนี้ ยังกำหนดให้ผู้ประกอบการต้องแต่งตั้งผู้ประสานงานความปลอดภัยด้านยา (contact person for pharmacovigilance) กำหนดความเสี่ยงสำคัญที่ต้องติดตาม (watch list) ตลอดจนสนับสนุนและรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับความปลอดภัยของการใช้ยาใหม่ เช่น ข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่ได้รับโดยตรงจากบุคลากรทางการแพทย์ บันทึกในแบบรายงานที่กำหนด เพื่อรายงานศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ (Health Product Vigilance Center: HPVC) รวมถึงผลการประเมินความเสี่ยง การปรับปรุงข้อมูลความปลอดภัยของยาใหม่ หรือแผนจัดการความเสี่ยงนั้น ๆ (ถ้ามี) เพื่อรายงานให้ HPVC ทราบตามแนวทางที่กำหนด³

ระบบการติดตามความปลอดภัยด้านยาของโรงพยาบาลในประเทศไทย พบว่ามีเภสัชกรเป็นผู้ประสานงานหลัก รูปแบบและวิธีการเก็บข้อมูลที่แตกต่างกัน อ้างอิงแนวทางปฏิบัติงาน

ติดตามอาการอันไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา โดยมีการประยุกต์ปรับเปลี่ยนไปตามบริบทของ โรงพยาบาล⁴ จากการสำรวจเภสัชกรประจำ โรงพยาบาลต่าง ๆ ในประเทศไทยพบว่า เภสัชกร ส่วนใหญ่มีความตระหนักถึงความสำคัญของการติดตามความปลอดภัยยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP และร้อยละ 46 ของเภสัชกรโรงพยาบาล ให้ความเห็นว่า บริษัทยาหรือผู้ประกอบการ ควรรับผิดชอบในการเฝ้าระวังติดตามอาการ ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาต่อยาตัวใหม่ด้วย⁵

นับตั้งแต่มีการปรับปรุงหลักเกณฑ์ การติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ภายใต้ เงื่อนไข SMP ในปี 2560 ยังไม่พบแนวทางปฏิบัติ ที่เสนอการดำเนินงานร่วมกันระหว่างเภสัชกรซึ่งเป็น ผู้รับผิดชอบหลักในโรงพยาบาลกับผู้ประกอบการ และยังไม่ปรากฏผลการศึกษาที่สำรวจเภสัชกร ประจำโรงพยาบาลหลังจากการปรับปรุงหลักเกณฑ์ ดังกล่าว ดังนั้นการศึกษานี้จึงดำเนินการสำรวจ ความคิดเห็นจากเภสัชกรโรงพยาบาลเกี่ยวกับ แนวทางปฏิบัติ หรือความร่วมมือกับผู้ประกอบการ เพื่อนำความคิดเห็น และข้อเสนอแนะที่ได้จาก การศึกษา มาเป็นข้อมูลสนับสนุน และพัฒนา แนวทางปฏิบัติในการติดตามความปลอดภัยยา ร่วมกันในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสถานการณ์ข้อมูลความปลอดภัย ของยาใหม่ที่ต้องติดตามความปลอดภัยตามลักษณะ ความเสี่ยงในโรงพยาบาล

ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงคุณภาพ (qualitative research) ดำเนินการศึกษาในช่วงระหว่าง 1-31 สิงหาคม 2565

กลุ่มตัวอย่าง

การศึกษานี้คัดเลือกโรงพยาบาลรัฐบาล ในเขตกรุงเทพและปริมณฑลที่มีขนาดไม่น้อยกว่า 400 เตียงที่มีการใช้ยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP อยู่ในบัญชีรายการยาของโรงพยาบาลในช่วง 2 ปี ที่ผ่านมา จากนั้นสุ่มตัวอย่างโรงพยาบาลแบบ เฉพาะเจาะจง (purposive sampling) และ สัมภาษณ์เภสัชกรผู้รับผิดชอบการติดตามความ ปลอดภัยของยาในโรงพยาบาล ซึ่งโรงพยาบาล คัดเลือกและมอบหมายให้เป็นผู้ให้ข้อมูล กำหนด จำนวนตัวอย่างโรงพยาบาลไม่น้อยกว่า 6 แห่ง หรือจนกว่าข้อมูลมีความอิ่มตัว ได้ตัวอย่างทั้งสิ้น 6 ตัวอย่าง

การรวบรวมข้อมูล

ดำเนินการเก็บข้อมูลภายหลังจากได้รับ อนุญาตจากผู้บริหารโรงพยาบาล และทราบว่า ต้องสัมภาษณ์เภสัชกรท่านใด โดยเก็บรวบรวม ข้อมูลระหว่างวันที่ 1-31 สิงหาคม 2565 ด้วย การสัมภาษณ์เชิงลึกผ่านระบบ Zoom online meeting หรือทางโทรศัพท์ด้วยแบบสอบถาม คำถามกึ่งโครงสร้างที่พัฒนาขึ้น โดยขออนุญาต บันทึกลงเสียงขณะสัมภาษณ์เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ ครบถ้วน

เครื่องมือ

แบบสอบถามคำถามกึ่งโครงสร้าง (semi-structure questionnaire) ซึ่งตรวจสอบความตรงโดยผู้เชี่ยวชาญด้านงานเฝ้าระวังความปลอดภัยผลิตภัณฑ์สุขภาพ รวมทั้งหมด 3 ท่าน แบบสอบถามครอบคลุม 4 ประเด็นได้แก่ ความรู้เกี่ยวกับยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP ทศนคติต่อการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ แนวทางการปฏิบัติงานเกี่ยวกับยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP รูปแบบการทำงานของโรงพยาบาล โดยมีรายละเอียดคำถาม (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แนวคำถามสำหรับการสัมภาษณ์

ข้อ	คำถาม
1	เกณฑ์ยาใหม่ที่ต้องติดตามความปลอดภัย คืออะไร
2	โรงพยาบาลมีระบบ แนวทาง หรือนโยบายรองรับการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ดังกล่าวหรือไม่ อย่างไร
3	การติดตามความปลอดภัยยาใหม่มีความสำคัญหรือไม่ อย่างไร
4	ขั้นตอนการทำงานเมื่อพบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ของยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP เป็นอย่างไร • ใครเป็นผู้แจ้ง • ช่องทางการรับแจ้ง • ใครคือผู้ประเมินความสัมพันธ์เชิงสาเหตุ (Causality assessment) • การบันทึกข้อมูล • การส่งรายงาน ADR ให้ผู้เกี่ยวข้อง (ภายในรพ. และภายนอก รพ. เช่น อย. ผู้ประกอบการ)
5	ควรมีการพัฒนา ปรับปรุงระบบการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่อย่างไร
6	ความเป็นไปได้ และแนวทางในการที่ผู้ประกอบการจะเข้ามามีส่วนร่วมในการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่
7	สิ่งที่รพ. ต้องการการสนับสนุนจากผู้ประกอบการเพื่อทำให้การติดตามความปลอดภัยของยาใหม่มีประสิทธิภาพมากขึ้น

การวิเคราะห์ข้อมูล

ดำเนินการสกัดข้อมูลโดยผู้วิจัย 2 คน เพื่อลดความเอนเอียงในสกัดข้อมูล หากพบความแตกต่าง จะมีการพูดคุยพร้อมกันระหว่างผู้สกัดข้อมูลทั้ง 2 คน และหนึ่งในผู้ร่วมวิจัยเพื่อตัดสินคำตอบ เมื่อสกัดข้อมูลเรียบร้อยแล้ว มีการทวนสอบความถูกต้องโดยผู้วิจัยอ่านข้อมูลที่สกัดได้และเปรียบเทียบกับบทสัมภาษณ์ และข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาเรียบเรียง และวิเคราะห์ด้วยวิธี content analysis จัดหมวดหมู่ให้เข้าใจง่าย และชัดเจน เพื่อเปรียบเทียบความคิดเห็น

ผลการศึกษา

จากการประสานงานกับโรงพยาบาล 14 แห่งในกรุงเทพ และปริมณฑลที่มีขนาดใหญ่กว่า 400 เตียง มีโรงพยาบาลที่ถูกคัดออก 8 แห่ง เนื่องจากไม่มียาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP ในบัญชียาโรงพยาบาล 2 แห่ง และไม่สามารถให้สัมภาษณ์ได้ในเวลาที่กำหนด 6 แห่ง คงเหลือโรงพยาบาลที่ผ่านเกณฑ์ และยินดีให้สัมภาษณ์ทั้งหมด 6 แห่ง ลักษณะของโรงพยาบาล และเภสัชกรที่เข้าร่วมการศึกษา (ดังตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 คุณลักษณะโรงพยาบาล และเภสัชกรที่เข้าร่วมการศึกษา

โรงพยาบาล	ประเภทเภสัชกร		รวม
	ระดับหัวหน้างาน/ ผู้ดูแลระบบ	ระดับปฏิบัติการ	
โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย (a, b, c, d)	3	1	4
โรงพยาบาลเฉพาะทาง (e)	1	0	1
โรงพยาบาลศูนย์ (f)	1	0	1
รวม	5	1	6

*(a-f) คือ สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นตัวแทนของโรงพยาบาลที่ให้การสัมภาษณ์

ผลการสัมภาษณ์พบว่าโรงพยาบาลทุกแห่งมีแนวทางและกระบวนการทำงานในการรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่คล้ายคลึงกัน คือ เมื่อแพทย์หรือผู้ป่วยแจ้งการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา เภสัชกรจะเป็นผู้ประเมินความสัมพันธ์เชิงสาเหตุ แจ้งผลการประเมินให้ผู้ที่เกี่ยวข้องทราบ จากนั้นจะบันทึกข้อมูลที่สรุปได้ในฐานข้อมูลของแต่ละโรงพยาบาลซึ่งสามารถเก็บข้อมูลในลักษณะไฟล์ excel ได้ และโรงพยาบาลส่วนใหญ่จะส่งข้อมูลเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ทุกกรณีที่เกิดขึ้นในรูปแบบ HPVC form-1 ไปยังศูนย์ HPVC ซึ่งเป็นฐานข้อมูลรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ของประเทศไทย (Thai Vigibase) โดยมี 1 โรงพยาบาลส่งเฉพาะรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ระดับร้ายแรง (Serious Adverse Event: SAE) เท่านั้น ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะครอบคลุมถึง ยาใหม่ และยาที่ถูกปลด SMP แล้ว

ผู้ให้สัมภาษณ์ทุกคนมีความตระหนักรู้ที่ดีในการติดตามความปลอดภัยยาใหม่ กล่าวคือ

ทราบว่ายาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP คือ ยาใหม่ที่ได้รับอนุมัติทะเบียน และมีระยะเวลาการศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยค่อนข้างสั้น และอาจไม่ได้ศึกษากับประชากรบางกลุ่ม จึงมีความจำเป็นต้องติดตามความปลอดภัยเพิ่มเติมเมื่อมีการใช้ในทางเวชปฏิบัติในประชากรกลุ่มใหญ่ อย่างไรก็ตามพบว่าส่วนใหญ่ยังไม่ทราบรายละเอียดหลักเกณฑ์และเงื่อนไขการติดตามความปลอดภัยของยาตามลักษณะความเสี่ยง³ ด้วยภาระงานที่มากและบุคลากรไม่เพียงพอ ทำให้งานติดตามความปลอดภัยไม่ถูกจัดเป็นงานที่มีความสำคัญอันดับต้นของโรงพยาบาล ทำให้ยังไม่มีนโยบายรองรับการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ ในขณะที่โรงพยาบาลอีกจำนวนหนึ่งมีนโยบายรองรับการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ โรงพยาบาลบางแห่งได้ดำเนินการเกี่ยวกับการติดตามความปลอดภัยร่วมกับระบบสารสนเทศของโรงพยาบาล ซึ่งทำให้ผู้เกี่ยวข้องทราบ ช่วยอำนวยความสะดวกบุคลากรการแพทย์ในการติดตาม ADR (ดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ความรู้และทัศนคติของผู้ให้สัมภาษณ์เกี่ยวกับการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่

ประเด็น	ความเห็น
ความตระหนักถึงความสำคัญในการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่	เข้าใจถึงความสำคัญของการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP (n=6) - “เนื่องจากยาที่ได้รับการวางขายในท้องตลาดมานาน และมีข้อจำกัดด้านระยะเวลาที่ทำการรักษาและไม่ได้ศึกษากับประชากรบางกลุ่ม จึงต้องติดตามผลข้างเคียงหรือความปลอดภัยเพิ่มเติม เพื่อเก็บข้อมูลความปลอดภัยจากการใช้จริงในผู้ป่วยเพิ่มเติมจากการศึกษาที่ได้รับทะเบียน” (a,b,c,d,e,f)
ความหมายของยาใหม่ใต้เงื่อนไข Risk based SMP ตามประกาศเรื่อง หลักเกณฑ์การติดตามความปลอดภัยผลิตภัณฑ์ตามลักษณะความเสี่ยง ³	ทราบความหมายของยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข Risk based SMP (n=1) - “ยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข Risk based SMP แบ่งออกเป็น 4 ระดับความเสี่ยง และแต่ละระดับความเสี่ยงมีระยะเวลา รวมถึงรูปแบบการติดตามความปลอดภัยที่แตกต่างกัน เช่น เกลือเอสเทอร์จะอยู่ความเสี่ยงระดับ 2” (d)
แนวทางการปฏิบัติงานเกี่ยวกับยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP	ไม่มีแนวทางรองรับ (n=2) - “เคยจัดทำการวางแผนการรองรับไว้แล้ว แต่ไม่ได้มีการดำเนินการตามแผนเนื่องจากมีข้อจำกัดด้านกำลังคน” (b, e) มีแนวทางรองรับ (n=4) - “เมื่อมียาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP จะมีการแจ้งข้อมูลรายการยาใหม่ผ่านส่วนกลางเพื่อให้แต่ละหน่วยงานดำเนินการตามแนวทางของหน่วยงานนั้น ๆ” (a, c, d, f)
รูปแบบการทำงานของโรงพยาบาล	ไม่มีระบบอิเล็กทรอนิกส์ช่วยเหลือ (n=4) - “ใช้หนังสือเวียนแจ้งไปยังแต่ละหน่วยงาน” (a, c, d, f) มีระบบอิเล็กทรอนิกส์ช่วยเหลือ (n=2) - “ที่ฉลากยามีคำว่า SMP ต่อท้ายชื่อยา” (c, f) - “เมื่อแพทย์สั่งใช้ยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP จะมีแบบฟอร์มกระดาษออกมาจากคอมพิวเตอร์ที่แพทย์สั่งยา เพื่อบันทึกข้อมูลขณะตรวจผู้ป่วยแล้วส่งให้เภสัชกร” (c)
ข้อเสนอแนะต่อระบบการรายงานไปยัง ศูนย์ HPVC	ปรับปรุงรูปแบบการรายงาน ADR ไป ศูนย์ HPVC ตามแบบฟอร์มที่กำหนดให้มีความไม่ซับซ้อน (n=4) - “เคยบันทึกผ่านกระดาษที่มีให้ใส่ข้อมูล 1 หน้า ⁶ มันง่ายมากกว่าแบบ Online ที่มีหลายหน้า ⁷ ” (b, c, d, e)

สำหรับการมีส่วนร่วมของผู้ประกอบการ ในการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่ร่วมกับ โรงพยาบาล พบว่า ส่วนใหญ่เห็นว่ามีความเป็นไปได้ ในการช่วยส่งต่อข้อมูลไปยังศูนย์ HPVC หากได้รับ

การเห็นชอบจากผู้บริหารหรือคณะกรรมการยา ของโรงพยาบาล นอกจากนี้เภสัชกรโรงพยาบาล ต้องการรับการสนับสนุนข้อมูลความปลอดภัย ของยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP (ดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การมีส่วนร่วมในการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่

ประเด็น	รายละเอียด
ผู้ประกอบการมีส่วนร่วมบันทึก ข้อมูลอยู่ในแบบฟอร์ม HPVC form-1 กำหนด และส่งข้อมูล รายงานยาใหม่ภายใต้เงื่อนไข SMP ไป ศูนย์ HPVC	มีความเป็นไปได้ และมีเงื่อนไขคือ ผู้ประกอบการต้องประชุมปรึกษากับ คณะกรรมการของโรงพยาบาลก่อนมีการดำเนินการใด ๆ (n=4) - ผู้ประกอบการนำข้อมูลจาก excel ของโรงพยาบาลมาช่วยกรอกใส่ HPVC form-1 แล้วส่งไปยังศูนย์ HPVC แต่ทั้งนี้ควรได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการ ของโรงพยาบาลก่อน (a, c, e, f)
สิ่งที่ทางโรงพยาบาลต้องการให้ ผู้ประกอบการสนับสนุนเพิ่มเติม	1. แจ้งสถานะของยา ในขณะที่ยังติดเงื่อนไข SMP และทันทีที่มีการปลด SMP แล้ว (n=2) (d, f) 2. ข้อมูลสรุปย่อ คำเตือน ข้อควรระวังและอาการข้างเคียงที่สำคัญ ของยาใหม่ ภายใต้เงื่อนไข SMP (n=5) (b, c, d, e, f) 3. รายงานข้อมูล ADR ของยาใหม่ ที่แพทย์ในโรงพยาบาลรายงานไปยัง ผู้ประกอบการโดยตรง (n=2) (b, d) 4. แจ้งคำเตือน ADR ของยาใหม่ที่มีการปรับปรุงใหม่ให้โรงพยาบาลทราบทันที (n=2) (c, f)

อภิปรายผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรก ที่ศึกษา สถานการณ์การติดตาม ADR ของยาใหม่หลังจาก มีการเรื่อง หลักเกณฑ์การติดตามความปลอดภัย ผลิตภัณฑ์ตามลักษณะความเสี่ยง³ และเป็นการ ศึกษาแรกที่สำรวจความต้องการและความร่วมมือ ระหว่างหน่วยงานที่รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ ของโรงพยาบาล และผู้ประกอบการ

จากผลการสัมภาษณ์เภสัชกรโรงพยาบาล ทำให้ทราบว่าเภสัชกรจากทั้ง 6 โรงพยาบาล มีความตระหนักถึงความสำคัญของการติดตาม ความปลอดภัยของยาใหม่ และในทางปฏิบัติอาจจะ มีรายละเอียดแตกต่าง หรือข้อจำกัดตามปัจจัยและ โครงสร้างของแต่ละโรงพยาบาล อย่างไรก็ตาม โรงพยาบาลเป็นจุดเริ่มต้นในการเก็บข้อมูล

แม้เภสัชกรจะให้ความสำคัญกับเรื่องของการติดตาม ADR แต่เภสัชกรส่วนใหญ่ยังไม่ทราบถึงรายละเอียดเกี่ยวกับการจำแนกระดับความเสี่ยงของยาใหม่ ภายใต้เงื่อนไข SMP ตามประกาศเรื่อง หลักเกณฑ์ การติดตามความปลอดภัยผลิตภัณฑ์ตามลักษณะ ความเสี่ยง³ ซึ่งในอนาคตจะมีประโยชน์ต่อระบบ การเฝ้าระวังอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา หากศูนย์ HPVC จะจัดประชุม ชี้แจง หลักเกณฑ์ ใหม่นี้ให้เภสัชกรโรงพยาบาล เพื่อให้มีความเข้าใจ และเห็นความสำคัญในแนวทางเดียวกันต่อไป

นอกจากนี้ พบว่าแบบฟอร์มรายงาน อาการไม่พึงประสงค์ผ่านช่องทาง online มีคำถาม จำนวนมาก และคำถามบางคำถามมีความซับซ้อน ทำให้เภสัชกรในบางโรงพยาบาลเลือกที่จะส่งข้อมูล ADR ที่มีการบันทึกอยู่ในรูปแบบ excel ให้กับศูนย์ HPVC แทน โดยแต่ละโรงพยาบาลจะใช้รูปแบบ การบันทึกข้อมูล เป็นของโรงพยาบาลนั้น ๆ เอง ซึ่งอาจทำให้ข้อมูลไม่ตรงตามข้อกำหนดของ อย. ได้ สำหรับประเด็นนี้หากมีการทำงานร่วมกันในอนาคต ระหว่างศูนย์ HPVC และโรงพยาบาลที่จะพัฒนา ปรับปรุงแบบฟอร์มข้อมูลให้มีความกระชับ หรือ ตลอดจนพัฒนาระบบการเชื่อมข้อมูล ADR จาก ฐานข้อมูลของโรงพยาบาลไปยัง ศูนย์ HPVC ได้ โดยตรง จะช่วยเป็นการสนับสนุนระบบเฝ้าระวัง และลดภาระงานคัดลอกข้อมูลซ้ำซ้อนของผู้ที่มี หน้าที่เกี่ยวข้องต่อไป

สำหรับผู้ประกอบการ เภสัชกรโรงพยาบาล มีความเห็นว่าสามารถมีส่วนร่วมในการติดตาม ADR ได้ แต่ยังไม่มียูนิฟอร์มความร่วมมือที่ชัดเจน เบื้องต้นเภสัชกรได้เสนอให้มีสนับสนุนข้อมูลสถานะ

การติด SMP และการปรับปรุงข้อมูลด้านความ ปลอดภัย และการจัดทำข้อมูล safety watch list ที่สำคัญเกี่ยวกับยานั้น ๆ ให้กับโรงพยาบาล ซึ่งจะช่วยลดภาระงานเภสัชกรในการค้นหา และเตรียมข้อมูลจากเอกสารกำกับยาฉบับเต็ม และสามารถแจกจ่ายไปยังหน่วยงานภายใน โรงพยาบาลสำหรับการใช้ประกอบการติดตาม ความปลอดภัยได้ทันที และหากผู้ประกอบการ มีการทำสื่อเพื่อลดความเสี่ยงหรือส่งเสริมความ ปลอดภัยในการใช้ยาสำหรับผู้ป่วยในรูปแบบ แผนภาพโปสเตอร์ หรือ แผ่นพับ จะเป็นการช่วย ให้ผู้ป่วยที่กำลังใช้ยาสามารถสังเกตเรียนรู้ได้ด้วย ตนเองได้ง่ายขึ้น สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้จะมีประโยชน์ ในการส่งเสริมงานเฝ้าระวังอาการไม่พึงประสงค์ จากการใช้ยาในโรงพยาบาล

ส่วนการประสานช่วยส่งต่อรายงานอาการ ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาระหว่างโรงพยาบาล และศูนย์ HPVC นั้น ควรได้รับการอนุมัติจาก คณะกรรมการยาในโรงพยาบาลก่อนเริ่มดำเนินการ อย่างไรก็ตามก็ดีผู้ประกอบการอาจทำเรื่องขอข้อมูล รายงานทั้งหมดเหล่านี้โดยตรงจากศูนย์ HPVC ได้ในภายหลัง

ผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่า โรงพยาบาล ทั้งหมดที่เข้าร่วมให้ข้อมูลครั้งนี้ มีความตื่นตัว ในการรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา แม้ว่าจะยังไม่ทราบรายละเอียดของแนวทางการ เฝ้าระวังความปลอดภัยผลิตภัณฑ์ยาตามลักษณะ ความเสี่ยง หลายโรงพยาบาลมีความพยายาม พัฒนาเทคโนโลยีที่จะคอยแจ้งเตือนให้แพทย์ผู้สั่งยา หรือ ผู้ป่วยตระหนักถึงรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์

จากการใช้ยา แต่ผู้ให้สัมภาษณ์ส่วนใหญ่ยอมรับว่ายังทำได้ไม่ทั่วถึง ด้วยกำลังคนที่มีน้อย จำนวนรายการยาที่มาก และใบสั่งยาที่เข้ามาที่ห้องยาในแต่ละวัน สำหรับประเด็นนี้การพัฒนาเทคโนโลยีมาช่วยในงานเฝ้าระวังในระดับโรงพยาบาลน่าจะมีประโยชน์อย่างมากต่อระบบที่เป็นอยู่ในขณะนี้

การศึกษาวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดอยู่บางประการ เช่น ไม่ได้ครอบคลุมโรงพยาบาลทุกประเภทและตัวแทนโรงพยาบาลทั่วประเทศ รวมทั้งไม่ได้มีโอกาสสัมภาษณ์ แพทย์ผู้ให้ยา ผู้ป่วย และศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพการซึ่งงานวิจัยต่อไปในอนาคตที่จะขยายกรอบการคัดเลือกโรงพยาบาลเพิ่มเติมให้ครอบคลุมทั้งภาครัฐและเอกชน และ รพ. ในภูมิภาค และผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในระบบงานเฝ้าระวัง จะทำให้เกิดข้อเสนอแนะเพิ่มประสิทธิภาพในระบบการรายงานให้มากขึ้นได้

สรุปผล

หลักการของการติดตามความปลอดภัยของยาใหม่แบบมีเงื่อนไขของโรงพยาบาลมีความคล้ายคลึงกันแต่อาจแตกต่างกันในการปฏิบัติขึ้นอยู่กับนโยบายของโรงพยาบาลนั้น ๆ และสิ่งที่โรงพยาบาลต้องการจากผู้ประกอบการมากที่สุด คือ การสนับสนุนข้อมูลความปลอดภัยที่สำคัญเกี่ยวกับยาให้กับโรงพยาบาลสำหรับการนำไปใช้งาน รวมถึงการแจ้งข้อมูล หรือข่าวสารที่สำคัญเกี่ยวกับยาชนิดนั้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงข้อมูล

ข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลการศึกษาประเด็นการส่งข้อมูล ADR ของโรงพยาบาลที่มีการบันทึกอยู่ในรูปแบบ excel ให้กับศูนย์ HPVC หากมีการทำงานร่วมกันในอนาคตระหว่างศูนย์ HPVC และโรงพยาบาลที่จะพัฒนาปรับปรุงแบบฟอร์มข้อมูลให้มีความกระชับ หรือตลอดจนพัฒนาระบบการเชื่อมข้อมูล ADR จากฐานข้อมูลของโรงพยาบาลไปยังศูนย์ HPVC ได้โดยตรง จะเป็นการสนับสนุนระบบเฝ้าระวัง และลดภาระงานคัดลอกข้อมูลซ้ำซ้อนของผู้ที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. วิมล สุวรรณเกษาวงษ์, พัทรียา โภคะกุล. การพัฒนาหลักเกณฑ์การติดตามความปลอดภัยผลิตภัณฑ์ยาใหม่ตามลักษณะความเสี่ยงในประเทศไทย. วารสารอาหารและยา 2562; 26(3):11-24.
2. ประกาศสำนักคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง หลักเกณฑ์การติดตามความปลอดภัยผลิตภัณฑ์ยาตามลักษณะความเสี่ยง (Risk-Based Approach Safety Monitoring Program). (ลงวันที่ 9 ตุลาคม 2560).
3. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง แนวทางสำหรับผู้รับอนุญาตในการรายงานความปลอดภัย ของยาที่ใช้ในมนุษย์ยาเสพติด และวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทที่ใช้ทางการแพทย์ภายหลังออกสู่ตลาด (ลงวันที่ 18 ธันวาคม 2558).

4. ศูนย์ติดตามอาการอันไม่พึงประสงค์จากการใช้ผลิตภัณฑ์สุขภาพ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. สำนักคณะกรรมการอาหารและยา. แนวทางปฏิบัติงานการติดตามอาการอันไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา. นนทบุรี; 2543.
5. N. Jarernsiripornkul, J. Krska, M. Pongmanachai, et al. Hospital pharmacists' activities and attitudes regarding the Thai safety monitoring program for new drugs. *Pharmacoepidemiology and drug safety* 2009; 18: 837–841. DOI: 10.1002/pds.1790.
6. ศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ. แบบรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากการใช้ผลิตภัณฑ์สุขภาพ (HPVC Form-1) (one page). [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 10 ก.ย. 2565]. เข้าถึงได้จาก: https://hpcvth.fda.moph.go.th/form_download/
7. ศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ. แบบรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์จากการใช้ผลิตภัณฑ์สุขภาพ (HPVC Form-1) (New). [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 10 ก.ย. 2565]. เข้าถึงได้จาก: <https://hpcvth.fda.moph.go.th/hpvc-form-1-แบบรายงานเหตุการณ์ไม่-8/>



วารสารอาหารและยา
ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 (2567): มกราคม – เมษายน
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>

THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 31 No. 1 (2024): January – April



การพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ และสร้างเครือข่าย เฝ้าระวังคุณภาพอาหารกัญชา กัญชงในประเทศไทย

ทองสุข ปายะนันท์¹ สกุลรัตน์ สมสันติสุข¹ อัจฉรี อินแก้ว¹ วิทวัส วังแก้วศิริ¹ กัญญารัตน์ เชื้อกุลชาติ¹ อุบลวรรณ รอดประดิษฐ์¹

¹สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี

ที่อยู่ติดต่อ: ทองสุข ปายะนันท์ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 88/7 ซอยบำราศนราดูร ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 thongsuk.p@dmsc.mail.go.th

Developing The Capabilities of Laboratories and Creating a Network to Enhance The Efficiency of Monitoring The Quality of Cannabis and Hemp Products in Thailand

Thongsuk Payanan¹, Sakulrat Somsuntisuk¹, Atcharee Inkaew¹, Witthawat Wangkaewhiran¹, Kanyarat Chuakunchat¹,
Ubonwan Rodpradit¹

¹Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Nonthaburi, Thailand.

Contact address: Thongsuk Payanan, Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences,
88/7 Soi Bamrasnaradura, Talat Kwan, Mueang Nonthaburi District, Nonthaburi 11000, Thailand
thongsuk.p@dmsc.mail.go.th

Received: 18 September 2023, **Revised:** 22 February 2024, **Accepted:** 23 February 2024

Abstract

Background: Surveillance and control of the quality of cannabis foods for consumer protection required laboratory analysis, and the analysis method was an important issue that directly affected the efficiency of surveillance.

Objectives: To enhance the laboratory capacity of the Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, and regional laboratories in four regions of Thailand

Methods: Developing the analytical methods for cannabinoids in foods according to the laws, establishing the project to enhance the capacity of regional laboratories, evaluating by providing the sample for interlaboratory comparison, and onsite visiting.

Result: In 2021, the analytical method for cannabinoids in foods was developed to support the Ministry of Public Health Announcement No. 425, covering all 11 types of food, and other methods were continuously developed in response to the Ministry of Public Health Announcement No. 427, 428, 429, 437, 438, and 439. Eventually, in 2022, the laboratory was accredited according to ISO/IEC 17025: 2017 for the analysis methods of ready-to-eat food, beverage (with and without cannabis ingredient), and cannabis plant (fresh and dried plant, excluding cannabis flower), which was the first laboratory in Thailand. Then, in 2022-2023, there has been a project to develop the regional network laboratories, enhancing laboratory capacity in all 4 regions of Thailand. The scope of analytes was complied with the related laws for the surveillance and registration of the local products. In 2023, there has been an evaluation of the analytical method of regional laboratories by interlaboratory testing, and the results of THC and CBD testing were satisfied for 92.9% and 92.3%, respectively. Finally, the project has continuously supported the regional laboratories by onsite visiting, advising, and solving the challenges.

Conclusion: The outcome of this project can be beneficial for both public and private sectors, extend the capacity to monitor the quality and safety of foods for the regional laboratories, be able to handle the local products, provide more service areas for the customers, and acquired the analytical results as a big data that could be used to plan the food safety surveillance, continuously and systematically. Also, the data could be communicated to the related agencies for further use.

Key words: Food, Cannabis, Develop laboratory capability, Analysis, Surveillance

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: การเฝ้าระวังและควบคุมคุณภาพอาหารที่มีกัญชากัญชงเป็นส่วนประกอบให้ได้มาตรฐาน เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคจำเป็นต้องอาศัยการตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ และวิธีการตรวจวิเคราะห์ถือเป็นประเด็นสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเฝ้าระวังโดยตรง

วัตถุประสงค์: พัฒนาขีดความสามารถห้องปฏิบัติการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และศูนย์เครือข่ายครอบคลุมทั้ง 4 ภูมิภาค

วิธีการวิจัย: พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ในอาหารตามที่กฎหมายกำหนด จัดทำโครงการเพื่อพัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่ายในส่วนภูมิภาค ติดตามประเมินผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยการส่งตัวอย่างเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการไปยังศูนย์เครือข่าย และจัดทีมนิเทศงานลงพื้นที่เพื่อแก้ไขปัญหา

ผลการศึกษา: ปี พ.ศ. 2564 สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ในอาหารเพื่อรองรับประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 425 ครอบคลุมอาหารทั้ง 11 ประเภท และฉบับที่ 427, 428, 429, 437, 438 และ 439 และในปี พ.ศ. 2565 ได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 ในขอบข่ายอาหารพร้อมบริโภค เครื่องดื่ม (ที่มีและไม่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง) และพืชกัญชา กัญชง (สดและแห้ง ยกเว้นช่อดอก) เป็นแห่งแรกของประเทศไทย ต่อมาในปี พ.ศ. 2565-2566 ได้จัดทำโครงการเพื่อพัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่ายในส่วนภูมิภาค จนขยายศักยภาพได้ครอบคลุมทั้ง 4 ภูมิภาคของประเทศไทย เพื่อรองรับการตรวจเฝ้าระวังและขึ้นทะเบียนอาหารในระดับท้องถิ่น ประเมินผลการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการเครือข่ายด้วยการส่งตัวอย่างเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการในปี 2566 ซึ่งผลการวิเคราะห์ THC และ CBD อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ ร้อยละ 92.9 และ 92.3 ตามลำดับ ส่งเสริมเครือข่ายทั้ง 4 ภูมิภาคให้มีการพัฒนาความสามารถอย่างต่อเนื่องโดยการลงพื้นที่ในสถาน ให้คำปรึกษา และช่วยแก้ไขปัญหา

สรุป: จากผลการดำเนินการของโครงการดังกล่าว สามารถสร้างความคุ้มค่าสมประโยชน์ทั้งภาครัฐและเอกชน โดยสามารถขยายภารกิจการเฝ้าระวังคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารไปยังระดับภูมิภาค รองรับปริมาณตัวอย่างที่ผลิตในระดับท้องถิ่น ขยายพื้นที่การให้บริการต่อผู้รับบริการ อีกทั้งได้ข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ในภาพรวมของประเทศ (big data) สำหรับมาใช้วางแผนการเฝ้าระวังความปลอดภัยด้านอาหารอย่างต่อเนื่องและเป็นระบบ รวมถึงสื่อสารให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

คำสำคัญ: อาหาร กัญชากัญชง พัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการ การตรวจวิเคราะห์ การเฝ้าระวัง

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยนิยมนำกัญชามาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด เพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ จึงเป็นประเด็นทางธุรกิจที่ผู้ประกอบการจำนวนมากให้ความสนใจ ข้อมูลจาก grand view research¹ รายงานว่าตลาดกัญชาในประเทศไทยปี พ.ศ. 2564 มีมูลค่า 80.3 ล้านดอลลาร์สหรัฐ และคาดการณ์ว่าระหว่างปี พ.ศ. 2565-2573 จะมีอัตราการขยายตัวแบบทบต้นโดยเฉลี่ยต่อปี (compound annual growth rate, CAGR) อยู่ที่ร้อยละ 58.4 หลังจากกระทรวงสาธารณสุขได้ปลดล็อกทุกส่วนของพืช

กัญชากัญชงให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์โดยไม่จัดเป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 ยกเว้นสารสกัดที่มีปริมาณสาร tetrahydrocannabinol (THC) เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ที่ยังคงเป็นยาเสพติดให้โทษนั้น ถือเป็นโอกาสทางเศรษฐกิจและสร้างรายได้ให้กับประชาชน โดยการนำบางส่วนของพืชกัญชากัญชงมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ยา อาหาร เครื่องสำอาง และเป็นการต่อยอดภูมิปัญญาไทยและความรู้ของปราชญ์ชาวบ้าน ซึ่งแต่เดิมมีการใช้กัญชาเป็นพืชสมุนไพรในการรักษาโรค เช่น ตำรับยาบรรเทาอาการเจ็บปวด

นอนไม่หลับ การปลดล็อกในครั้งนี้เป็นการจุดกระแสความสนใจในวงกว้างโดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร ด้วยคุณสมบัติของกัญชาซึ่งอุดมไปด้วยไฟเบอร์ สารต้านอนุมูลอิสระ กรดกลูตามิก (glutamic acid) ที่ช่วยเพิ่มรสชาติอาหาร สารกลุ่มเทอร์ปีน (terpenes) เพิ่มกลิ่นหอมของอาหาร และสารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ เช่น tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เมื่อรับประทานไปแล้วมีความอยากอาหารมากขึ้น โดยตำรับยาหมอพื้นบ้านมีบันทึกไว้ว่า การใช้ใบกัญชาปรุงอาหารให้คนไข้ที่มีอาการเบื่ออาหาร ทำให้เจริญอาหารและทานข้าวได้มากขึ้นโดยไม่รู้ตัว² ซึ่งถ้าบริโภคกัญชาอย่างถูกต้องสามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ แต่ถ้าบริโภคมากเกินไปหรือใช้กับผู้บริโภคที่เป็นกลุ่มเสี่ยง อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพได้ โดยผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น เช่น คลื่นไส้ อาเจียน กระหายน้ำ หัวใจเต้นเร็ว ไม่สามารถควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกายได้ กระวนกระวาย เหงื่อออก ดังนั้นการใช้พืชกัญชาจึงเป็นส่วนประกอบในอาหารจึงต้องมีการกำหนดปริมาณสารสำคัญกัญชาตามข้อบัญญัติของกฎหมายเพื่อให้อาหารนั้นมีคุณภาพหรือมาตรฐานก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เพื่อยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารจากกัญชาให้ได้มาตรฐาน สร้างโอกาสในการแข่งขันทางการค้าทั้งภายในประเทศและระหว่างประเทศ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กระทรวงสาธารณสุข (สธ.) จึงได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข เพื่อกำกับการใช้สารสำคัญ

กัญชา กัญชง โดยเฉพาะสาร THC และ CBD ครอบคลุมกลุ่มอาหารประเภทต่าง ๆ ซึ่งมีประกาศ สธ. ที่เกี่ยวข้องดังนี้ ฉบับที่ 425³ และ 437⁴ กำหนดมาตรฐานปริมาณสาร Total THC และ CBD สำหรับวัตถุดิบกัญชงและกัญชงที่ผ่านกระบวนการผลิตเป็นอาหาร ฉบับที่ 427⁵ และ 438⁶ เป็นข้อกำหนดสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง ซึ่งครอบคลุมถึงอาหารและเครื่องดื่มทั่วไปที่มีวัตถุประสงค์นำกัญชา กัญชง มาเป็นส่วนประกอบ ฉบับที่ 429⁷ และ 439⁸ เป็นข้อกำหนดสำหรับการใช้สารสกัด CBD หรือผลิตภัณฑ์สารสกัด CBD ที่มีการผสมกับวัตถุดิบอื่น และฉบับที่ 428⁹ เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนชนิดสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอลและสารแคนนาบิไดออล ซึ่งคำนึงถึงความปลอดภัยในอาหารที่ไม่ควรมีการปนเปื้อนของกัญชา กัญชง เช่น อาหารสำหรับทารกและเด็กเล็ก ระบุว่าต้องตรวจไม่พบสาร THC ทั้งหมด (Total THC) และ CBD

ในการกำกับดูแลตามข้อกำหนดดังกล่าว จำเป็นต้องอาศัยการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ กัญชา กัญชง และนำข้อมูลนั้นมาประเมินผล สื่อสารและจัดการความเสี่ยงต่อสุขภาพต่อไป ดังนั้น สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร (สคอ.) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงได้พัฒนาความสามารถของห้องปฏิบัติการเพื่อรองรับประกาศ สธ. ในแต่ละฉบับ อย่างไรก็ตาม ในระยะเริ่มต้น ห้องปฏิบัติการยังไม่สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์ได้ครอบคลุมทุกกลุ่มตัวอย่างอาหาร (matrix) และมีเพียงห้องปฏิบัติการของ สคอ. เพียงแห่งเดียว

ที่สามารถตรวจวิเคราะห์และเปิดให้บริการวิเคราะห์สารสำคัญจากพืชในอาหารและเครื่องดื่มได้ เนื่องจากห้องปฏิบัติการเอกชนยังไม่สามารถให้บริการได้จากเงื่อนไขทางกฎหมายของคณะกรรมการควบคุมยาเสพติดให้โทษ เรื่อง คุณสมบัติของห้องปฏิบัติการที่สามารถตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสาร THC¹⁰ ทำให้เป็นปัญหาเรื่องการขาดแคลนห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์ที่มีไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้รับบริการ ผู้ประกอบการที่ต้องการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อขึ้นทะเบียนกับ อย. ในขณะเดียวกันผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและมีความหลากหลายของประเภทอาหารตามท้องถิ่นของแต่ละภูมิภาค ทำให้เกิดข้อเรียกร้องจากผู้ประกอบการถึงสัดส่วนของปริมาณตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นในท้องตลาดกับปริมาณห้องปฏิบัติการที่ให้บริการวิเคราะห์ไม่สมดุล นอกจากนี้ภาครัฐเองยังเสียโอกาส ขาดช่องทางในการได้ข้อมูลเพื่อเฝ้าระวังสถานการณ์การใช้ปริมาณสารสำคัญจากพืชเกินค่าความปลอดภัยซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพประชาชนได้

ภายใต้ภารกิจหลักของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านอาหารและการคุ้มครองผู้บริโภคดังกล่าว จึงได้ดำเนินการพัฒนาศักยภาพและเพิ่มขีดความสามารถห้องปฏิบัติการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์สารสำคัญจากพืชได้ครอบคลุมประกาศ สธ. ที่เกี่ยวข้อง ครอบคลุมกลุ่มอาหารตามที่กฎหมายกำหนดไว้ รวมทั้งถ่ายทอดความรู้และเทคโนโลยีให้กับห้องปฏิบัติการเครือข่ายในส่วนภูมิภาค รองรับงานด้านคุ้มครองผู้บริโภคให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น สำหรับการสร้าง

เครือข่าย ในเบื้องต้นเป็นการวางเป้าหมายขยายชนิดสารที่จำเป็นในการตรวจวิเคราะห์เนื่องจากพืชจากพืชมีสารเคมีที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะ ได้แก่ สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ (cannabinoids)¹¹ โดยสารที่สามารถออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทมากที่สุด ได้แก่ tetrahydrocannabinol (THC) และยังมีอนุพันธ์อื่น ๆ ที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท แต่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีประโยชน์ เช่น cannabidiol (CBD), tetrahydrocannabinolic acid (THCA) และ cannabinol (CBN) โดยวางกรอบการพัฒนาห้องปฏิบัติการให้สามารถตรวจสอบได้ตามประกาศ สธ. ที่กำหนด จากนั้นพิจารณาข้อมูลชนิดอาหารที่กลุ่มผู้ผลิตและผู้บริโภคส่วนใหญ่ในท้องถิ่นให้ความสนใจ และวางแผนพัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่ายให้มีความสามารถในการวิเคราะห์ด้วยคุณภาพและมาตรฐานเดียวกัน ด้วยการจัดทำแผนการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparison) ซึ่งเป็นกิจกรรมหนึ่งที่ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องใช้เพื่อควบคุมภาพผลวิเคราะห์

วัตถุประสงค์

1. พัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการด้านวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนผสมของพืชจากพืชของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทั้งชนิดสารและชนิดตัวอย่างครอบคลุมประกาศ สธ. ที่เกี่ยวข้อง เพื่อรองรับการคุ้มครองผู้บริโภคและการพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์สำหรับขึ้นทะเบียนอาหารของผู้ประกอบการ

2. พัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่าย (ห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ส่วนภูมิภาค) และจัดทำแผนเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์สารสำคัญจากพืชกัญชา (interlaboratory comparison) เพื่อขยายความสามารถห้องปฏิบัติการเครือข่ายในการตรวจวิเคราะห์สารสำคัญกลุ่มแคนนาบินอยด์ในผลิตภัณฑ์อาหารในระดับพื้นที่ อีกทั้งทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยการทำ interlaboratory comparison

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีวิจัย

งานวิจัยนี้จัดเป็นการวิจัยประยุกต์ (applied research) เริ่มดำเนินงานในปี พ.ศ. 2564 ขอบเขตการดำเนินงานแบ่งเป็น 4 ระยะ ดังนี้ ระยะเริ่มต้น (ปี พ.ศ. 2564) สคอ. พัฒนาระบบการสกัดและตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่ม cannabinoids เพื่อให้ได้ค่าขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้เป็นแนวทางในการพิจารณา กำหนดค่ามาตรฐานทางกฎหมาย ประกาศ สธ. ฉบับที่ 425³, 427⁵, 428⁹ และ 429⁷ พ.ศ. 2564 โดยครอบคลุมสารเป้าหมายทั้งสิ้น 6 สาร ได้แก่ delta 8 -tetrahydrocannabinol (Δ 8-THC), delta 9 -tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC), tetrahydrocannabinolic acid (THCA), tetrahydrocannabivarin (THCV), cannabidiol (CBD) และ cannabinol (CBN) ในตัวอย่างอาหาร วิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารด้วยเครื่อง high performance liquid chromatograph with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) โดยเมื่อได้วิธีการที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการทดสอบ

ความถูกต้องของวิธี (method validation) พร้อมขอการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025:2017 ระยะที่ 2 (ปี พ.ศ. 2565) ถ่ายทอดองค์ความรู้และพัฒนาห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ส่วนภูมิภาค ให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยตนเอง เพื่อรองรับงานในส่วนภูมิภาค พร้อมจัดทำแผนการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินความสามารถของนักวิเคราะห์และบ่งชี้ประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ ในระยะที่ 3 (ปี พ.ศ. 2566) ขยายจำนวนเครือข่ายการตรวจวิเคราะห์เพิ่มมากขึ้นให้ครบทั้งหมด 15 แห่ง และทบทวน พื้นพ่องค์ความรู้ให้เครือข่ายเก่า ในขณะเดียวกันยังคงจัดทำแผนการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ ระยะที่ 4 นิเทศงาน (ปี พ.ศ. 2566) โดยลงพื้นที่ให้คำแนะนำ แก้ไขปัญหาที่พบ เพื่อให้การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการ เป็นไปอย่างสมบูรณ์

ประชากรกลุ่มตัวอย่าง

1. ประเภทอาหารโดยอ้างอิงจากหมวดอาหารตามบัญชีหมายเลข 1 แนบท้ายประกาศ สธ. ฉบับที่ 425³ และ 437⁴ ซึ่งมีทั้งสิ้น 11 ประเภท กลุ่มอาหารตามประกาศ สธ. ฉบับที่ 428⁹ กลุ่มอาหารตามประกาศ สธ. ฉบับที่ 429⁷ และ 439⁸ กลุ่มอาหารตามประกาศ สธ. ฉบับที่ 427⁵, 438⁶ ทั้งนี้การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ได้มีการจัดกลุ่มอาหารเพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละกลุ่มในการทดสอบความใช้ได้ของวิธี

2. ห้องปฏิบัติการเครือข่ายประกอบด้วยห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ส่วนภูมิภาค ทั้ง 15 แห่งทั่วประเทศ ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่, ที่ 1/1

เชียงราย, ที่ 2 พิชณุโลก, ที่ 3 นครสวรรค์, ที่ 4 สระบุรี, ที่ 5 สมุทรสงคราม, ที่ 6 ชลบุรี, ที่ 7 ขอนแก่น, ที่ 8 อุรธานี, ที่ 9 นครราชสีมา, ที่ 10 อุบลราชธานี, ที่ 11 สุราษฎร์ธานี, ที่ 11/1 ภูเก็ต, ที่ 12 สงขลา, ที่ 12/1 ตรัง แต่ทั้งนี้เมื่อต้องเปิดให้บริการวิเคราะห์จะมุ่งเน้นห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทั้งด้านทรัพยากร กำลังคน และปริมาณตัวอย่างของพื้นที่เป็นหลัก

การรวบรวมข้อมูล

1. รวบรวมข้อมูลผลการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการ สคอ. สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์ในแต่ละกลุ่มอาหารและชนิดสารที่ตรวจวิเคราะห์ได้โดยค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) ตอบวัตถุประสงค์ตามข้อกำหนดของกฎหมาย

2. รวบรวมข้อมูลผลวิเคราะห์จากการที่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายที่เข้าร่วมเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparison) เพราะสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถห้องปฏิบัติการในการให้บริการตรวจวิเคราะห์ได้

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณซึ่งการพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม cannabinoids ในอาหาร สถิติที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ เช่น ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (arithmetic mean) ค่าแปรปรวน (variance) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error) โดยศึกษาและ

พัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้สามารถวิเคราะห์สารกลุ่ม cannabinoids ครบคลุมทั้งชนิดสารเป้าหมายและกลุ่มอาหารตามที่กฎหมายกำหนด อีกทั้งวิธีที่พัฒนาต้องได้รับการยอมรับว่ามีความน่าเชื่อถือทางวิชาการ สำหรับการพัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่าย และจัดทำแผนเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการนั้น จะมีสถิติที่ต้องนำมาใช้ในการประเมินด้านต่าง ๆ เช่น การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity test) การทดสอบความคงตัว (stability testing) การประเมินผลการวิเคราะห์ด้วย ค่า assigned value ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่า assigned value ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมาย (target value for standard deviation: σ) เป็นต้น โดยเริ่มจากสคอ.จัดอบรมหลักสูตรทั้งภาคทฤษฎีและปฏิบัติให้เครือข่ายทั้ง 15 แห่ง และกำหนดเป้าหมายห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทั้งด้านทรัพยากร กำลังคน และปริมาณตัวอย่างในพื้นที่นั้น ๆ เปิดให้บริการวิเคราะห์ และมีการส่งตัวอย่างเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparison) วิเคราะห์สารสำคัญ THC และ CBD ในเครื่องดื่ม ซึ่งเป็นกิจกรรมหนึ่งที่ห้องปฏิบัติการที่เตรียมความพร้อมในการขอการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 จำเป็นต้องใช้เพื่อควบคุมคุณภาพผลวิเคราะห์และติดตามประสิทธิภาพของวิธีในกรณีที่ไม่สามารถเข้าร่วมกิจกรรมการทดสอบความชำนาญ (proficiency testing, PT) ที่มีแผนทดสอบความชำนาญ (PT scheme) ที่เหมาะสมทั้งชนิดสาร (analyte) และชนิดตัวอย่าง (matrix)

ที่ต้องการได้ นอกจากนั้นการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการยังมีประโยชน์ในการประเมินความสามารถของนักวิเคราะห์และใช้บ่งชี้ประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น จากนั้นจัดทำโครงการตรวจวิเคราะห์ผลงานด้านอาหารในพื้นที่วัตถุประสงค์ของการนิเทศงานเพื่อรับฟังประเด็นปัญหาและช่วยแก้ไขปัญหของแต่ละพื้นที่ อีกทั้งช่วยสนับสนุนให้เจ้าหน้าที่สามารถทำงานได้ตามเป้าหมายและมาตรฐานที่กำหนด เสริมสร้างความรู้ด้านวิชาการ รวบรวมและศึกษาข้อมูลต่าง ๆ ซึ่งได้จากการนิเทศงาน อันจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาและปรับปรุงงานต่อไป

ผลการศึกษา

1. พัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม cannabinoids ในอาหาร

หลังจากประเทศไทยได้มีการยกเลิกประกาศ สธ. เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2561¹² และประกาศ สธ. เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2562¹³ แล้วออกประกาศ สธ. เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2563¹⁴ ที่มีการยกเว้นการใช้ส่วนของพืชกัญชาและกัญชง รวมถึงสารสกัดที่มีสาร CBD เป็นส่วนประกอบ อีกทั้งประกาศ สธ. (ฉบับที่ 424) พ.ศ. 2564 ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย¹⁵ ระบุสามารถใช้ชิ้นส่วนของพืชกัญชากัญชงได้ ยกเว้นใบที่มียอดหรือช่อดอกติดมาด้วย สารสกัดที่มีสาร CBD เป็นส่วนประกอบและต้องมีสาร THC ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักพืชแห้ง จนมาถึง

ปัจจุบันได้มีประกาศ สธ. เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2565 ซึ่งมีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 9 มิถุนายน 2565 ที่ผ่านมา ทำให้ทุกส่วนของกัญชา กัญชง ไม่เป็นยาเสพติด ยกเว้นสารสกัดที่มีสาร THC เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักที่ยังคงเป็นยาเสพติดนั้น¹⁶ ในปี พ.ศ. 2564

ระยะที่ 1 ห้องปฏิบัติ สคอ. ได้มีการพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์อาหารที่มีสารสำคัญกัญชากัญชง โดยในช่วงแรกได้พัฒนาวิธีเพื่อรองรับกับประกาศ สธ. ฉบับที่ 425³ ตามบัญชีหมายเลข 2 แนบท้ายประกาศฯ ที่ระบุประเภทอาหารที่ต้องตรวจวิเคราะห์ พร้อมทั้งกำหนดปริมาณปนเปื้อนสูงสุด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ในแต่ละประเภทอาหาร ซึ่งมีทั้งสิ้น 11 ประเภท โดยอ้างอิงจากหมวดอาหารตามประกาศ สธ. ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร และตรวจสอบเป้าหมายตามบัญชีหมายเลข 1 แนบท้ายประกาศฯ ซึ่งระบุเป็น The total THC content of the substances Δ 8-THC, Δ 9-THC and THC content ซึ่งสามารถวิเคราะห์ชนิดตัวอย่างได้ครอบคลุมประเภทอาหารตามที่กำหนด โดยใช้การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-MS/MS ครอบคลุมสารประกอบด้วย Δ 8-THC, Δ 9-THC, THCA, THCV, CBD และ CBN ด้วยศักยภาพและประสิทธิภาพของห้องปฏิบัติการของ สคอ. สามารถตรวจวิเคราะห์สารเป้าหมายได้เกินกว่าที่กฎหมายกำหนด ในส่วนของประเภทอาหารนั้น ประสิทธิภาพวิธี limits of detection (LOD) จะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้เพื่อรองรับนโยบายเร่งด่วนของรัฐบาลในการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากกัญชากัญชง ประหยัดเวลา วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และเป็นไปตามข้อมูลเชิงวิชาการ จึงได้

จัดกลุ่มประเภทอาหารตามบัญชีหมายเลข 2 พิจารณาตามองค์ประกอบที่ส่งผลกระทบต่อขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์นอกจากนี้ด้วยขอบข่ายของตัวอย่างประเภทผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (food supplements) และเครื่องดื่มจากธัญชาติ ซึ่งเป็นข้อกำหนดของประกาศ สธ. ฉบับที่ 429⁷ ที่ได้มีการกำหนดปริมาณสูงสุดของสาร CBD และ THC ที่คำนวณสภาพพร้อมบริโภค ทำให้สามารถนำไปใช้ในการตรวจกลุ่มอาหารภายใต้ประกาศฉบับนี้ได้ด้วย (ดังตารางที่ 1)

ระยะที่ 2 ห่องปฏิบัติได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญกัญชากัญชง เพื่อให้ค่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ประสิทธิภาพวิธีจะสามารถตรวจวิเคราะห์ได้เพื่อนำไปกำหนดหลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการตรวจวิเคราะห์ และออกประกาศ สธ. ฉบับที่ 428⁹ ซึ่งเป็นเรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนชนิดสาร THC และ CBD สำหรับอาหารทารกและเด็กเล็ก เนื่องด้วยอาหารประเภทนี้ต้องตรวจไม่พบทั้ง THC และ CBD ภายใต้เงื่อนไขคำว่า “ไม่พบ” ต้องเป็นไปตามหลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางวิชาการที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศ ซึ่งเป็นความสำคัญที่ต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพวิธีการตรวจวิเคราะห์ให้ได้ค่าต่ำที่สุดเท่าที่เครื่องมือและวิธีวิเคราะห์จะสามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ ทั้งนี้ห่องปฏิบัติการ สคอ. สามารถพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์กลุ่มอาหารสำหรับทารกและเด็กเล็ก โดยต้องมีค่า LOD น้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ อย. ได้นำไปใช้กำหนดในเงื่อนไข โดยระบุ “ไม่พบ” คือ ตรวจวิเคราะห์ได้น้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับการตรวจวิเคราะห์ THC ทั้งหมด (Total THC)

ระยะที่ 3 ห่องปฏิบัติได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญกัญชากัญชง ตามประกาศ สธ. ฉบับที่ 427⁵ เรื่อง ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง ซึ่งในประกาศฉบับนี้ครอบคลุมทุกชนิดอาหารที่คนไทยบริโภค ภายใต้ข้อกำหนดผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง ต้องตรวจพบสาร THC ไม่เกิน 1.6 มิลลิกรัมต่อหน่วยบรรจุ และ CBD ไม่เกิน 1.41 มิลลิกรัมต่อหน่วยบรรจุ ซึ่งเป็นความท้าทายของผู้วิเคราะห์เนื่องด้วยในประเทศไทยมีการนำกัญชากัญชงมาใช้ในอาหารหลากหลายประเภท โดยเฉพาะอาหารของแต่ละท้องถิ่นซึ่งมีความแตกต่างกัน ดังนั้นผู้วิเคราะห์จึงวางแผนพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์อาหารโดยอิงตามแนวทางการจัดหมวดอาหาร 17 ประเภทที่ อย. กำหนด และเอกสารหมายเลข 1 แนบท้ายประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 425³ ซึ่งห่องปฏิบัติการของ สคอ. สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์ประเภทอาหารได้ครอบคลุมตามเอกสารหมายเลข 1 แนบท้ายประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 425 รวมถึงประเภทผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก ลูกชิ้น อาหารพร้อมบริโภค เช่น ข้าวผัดกะเพรา กลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ใช้ปรุงแต่งเพื่อเพิ่มกลิ่นและรสให้กับอาหาร ได้แก่ เครื่องปรุงรส ซอส เครื่องปรุงรสจากถั่วเหลือง และกลุ่มอาหารท้องถิ่นซึ่ง ได้แก่ น้ำปลาร้าปรุงรส ผสมใบกัญชา น้ำพริกกัญชา (ดังตารางที่ 1) ด้วยตัวอย่างอาหารประเภทนี้การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญอย่างมากในการสกัดให้ได้สารเป้าหมายคืนกลับสูง และทำให้สารสกัดบริสุทธิ์เพียงพอ ไม่มีสารรบกวนมากเกินไป ซึ่งประสิทธิภาพวิธีที่สามารถวิเคราะห์หมีค่าเท่ากับกลุ่มอาหารกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ใช้ปรุงแต่งเพื่อเพิ่มกลิ่น

และรสให้กับอาหาร ดังนั้นห้องปฏิบัติการ สคอ. จึงสามารถรองรับตามประกาศ สธ. ฉบับที่ 4275 ได้

ระยะที่ 4 จากกัญชาและกัญชงที่อยู่ภายใต้พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษมาตลอดระยะเวลา ยาวนาน จนกระทั่งวิทยาการทางการแพทย์ก้าวหน้ามากขึ้น มีการวิจัยพบว่ากัญชาใช้เป็นยารักษาโรคได้ อีกทั้งคุณค่าทางโภชนาการของใบกัญชา จนมีการผลักดันให้แก้ไขกฎหมายเพื่อนำกัญชามาใช้ทางการแพทย์ และส่งเสริมอุตสาหกรรมด้านอาหาร ได้สำเร็จและมีประกาศ สธ. ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ฉบับต่าง ๆ เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคตามมา นับเป็นความท้าทายสำหรับหน่วยบริการตรวจวิเคราะห์ที่ต้องพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์หรือรับอาหารที่มีความหลากหลาย ผลการวิเคราะห์ต้องมีความถูกต้องเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ซึ่งการได้รับ

การรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 จึงเป็นช่องทางหนึ่งที่ช่วยสร้างความเชื่อมั่นในความสามารถของการทดสอบและผลการทดสอบได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับในระดับสากลได้ ห้องปฏิบัติการของ สคอ.ได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในชนิดผลิตภัณฑ์ประเภทอาหารพร้อมบริโภค (ที่มีและไม่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง) ประเภทเครื่องดื่ม (ที่มีและไม่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง) และพืชกัญชา กัญชง (สดและแห้ง ยกเว้นช่อดอก) โดยมีการเริ่มใช้ตราสัญลักษณ์การรับรอง ISO/IEC 17025: 2017 ในวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2565 ซึ่งเป็นแห่งแรกของประเทศไทย

ตารางที่ 1 แสดงค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) ของสาร Δ 8-THC, Δ 9-THC, THCA, THCV, CBD และ CBN ในแต่ละประเภทอาหาร

ประเภทตัวอย่าง	ขีดจำกัดของการตรวจพบ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
ประเภททั่วไป ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ธัญชาติสำหรับอาหารเข้า ผลิตภัณฑ์ขนมอบชนิดหวาน/ไม่หวาน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ขนมขบเคี้ยวที่มีมันฝรั่ง ธัญชาติแปงหรือสตาร์ชเป็นส่วนประกอบหลัก ขนมขบเคี้ยวที่มีถั่วเป็นส่วนประกอบหลัก หรือเมล็ดพืชที่ผ่านกระบวนการแปรรูป และแต่งกลิ่นรสเป็นส่วนประกอบหลัก ประเภทที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก (high fat content) ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์นมไขมันสูงประเภทน้ำในน้ำมัน สำหรับใช้ทาหรือป้ายหรือใช้เป็นวัตถุดิบ สลัดและผลิตภัณฑ์ทาแซนด์วิช ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (food supplements—oil supplement) ประเภทอาหารในกลุ่มน้ำมันจากเมล็ดกัญชง (hemp seed oil) ใช้บริโภคโดยตรง	0.025
ประเภทเครื่องดื่ม เช่น เครื่องดื่มจากธัญชาติ เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิทที่มี/ไม่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนผสม เครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ พืชหรือผัก ไม่ว่าจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนผสมอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตาม	0.002
ประเภทผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก ลูกชิ้น อาหารพร้อมบริโภค เช่น ข้าวผัดกะเพรา กลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ใช้ปรุงแต่งเพื่อเพิ่มกลิ่นและรสให้กับอาหาร ได้แก่ เครื่องปรุงรส ซอส เครื่องปรุงรสจากถั่วเหลือง กลุ่มอาหารท้องถิ่นซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าว อาหารที่นิยมนำกัญชาหรือกัญชงมาเป็นส่วนประกอบมากและเป็นที่ยอมรับ ได้แก่ น้ำปลาร้าปรุงรสผสมใบกัญชา น้ำพริกกัญชา	0.075

2. พัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่ายในส่วนภูมิภาค และจัดทำแผนการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ

ในปี พ.ศ. 2565-2566 เพื่อขยายภารกิจ การเฝ้าระวังคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร ขยายพื้นที่การให้บริการต่อผู้ประกอบการ เพิ่มขีดความสามารถในการตรวจอาหารในระดับภูมิภาค รองรับปริมาณตัวอย่างที่ผลิตในระดับท้องถิ่น สะดวกต่อผู้รับบริการ สคอ. จึงจัดอบรมหลักสูตร ทั้งภาคทฤษฎีและปฏิบัติ เพื่อพัฒนาบุคลากรของ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อย่างต่อเนื่อง 2 ปี ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2565-2566 รวมทั้งมีการส่งตัวอย่าง เปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ ประจำปี โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ ตั้งเป้าหมายเพิ่มหน่วยบริการตรวจวิเคราะห์อาหาร ที่มีสารสำคัญกัญชากัญชง ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในส่วนภูมิภาคให้ครบ 4 ภูมิภาคของ ประเทศ โดยพิจารณาจากความพร้อมของทรัพยากร บุคลากร และปริมาณตัวอย่างในพื้นที่ ซึ่งมีห้องปฏิบัติการศูนย์ฯ ที่สามารถเปิดให้บริการได้เพิ่มขึ้น ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่, ที่ 2 สระบุรี, ที่ 6 ชลบุรี, ที่ 7 ขอนแก่น, ที่ 8 อุตรดิตถ์, ที่ 9 นครราชสีมา และที่ 12 สงขลา ส่วนห้องปฏิบัติการศูนย์ฯ ที่ยังไม่เปิดให้บริการ วิเคราะห์นั้นได้เข้าร่วมการเปรียบเทียบผลระหว่าง ห้องปฏิบัติการและผลการประเมิน $|Z| \leq 2$ ผลการวิเคราะห์น่าพอใจ (satisfactory) แต่สาเหตุ ที่ยังไม่เปิดให้บริการตรวจวิเคราะห์เกิดจากในพื้นที่ นั้นไม่มีตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารจากกัญชากัญชง ดังนั้น การมีหน่วยบริการครบทั้ง 4 ภูมิภาคของ

ประเทศ ทำให้สามารถรองรับงานด้านคุ้มครอง ผู้บริโภคได้เพิ่มขึ้น

ในปี พ.ศ. 2565 สคอ. ได้จัดทำโครงการ นำร่องแผนทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ สารสำคัญ THC และ CBD ในตัวอย่างเครื่องดื่ม วัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถและส่งเสริม พัฒนาห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพและ ความปลอดภัยอาหารที่มีส่วนผสมของกัญชาหรือ กัญชง นำผลที่ได้มาวิเคราะห์และพัฒนาความสามารถ ห้องปฏิบัติการให้สอดคล้องกับความต้องการนำ กัญชาหรือกัญชงมาเป็นส่วนประกอบในอาหาร โดยการตรวจปริมาณสารสำคัญ ตามประกาศ คณะกรรมการควบคุมยาเสพติดให้โทษซึ่งระบุว่า ห้องปฏิบัติการต้องมีระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 หรือห้องปฏิบัติการ ตรวจวิเคราะห์ที่ผ่านการทดสอบความชำนาญ หรือเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการกับ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โครงการนำร่องแผน ทดสอบความชำนาญครั้งนี้ มีห้องปฏิบัติการที่สมัคร เข้าร่วมทดสอบทั้งหน่วยงานภายนอกและศูนย์ เครือข่ายกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์รวมทั้งสิ้น 24 แห่ง ทั้งนี้เป็นห้องปฏิบัติการศูนย์เครือข่ายฯ จำนวน 12 แห่ง

การเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ ตรวจวิเคราะห์สารสำคัญ THC และ CBD ใน เครื่องดื่ม โดยใช้ค่ากำหนด (assigned value) เป็นค่าพ้องจากห้องปฏิบัติการสมาชิก (consensus value from participants) ซึ่งมีห้องปฏิบัติการ สมาชิกตอบผลกลับ จำนวน 24 แห่ง จากการใช้สถิติ Robust analysis: algorithm A และค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (σ_{pt}) ที่คำนวณจาก Horwitz equation

(ดังสมการที่ 1) รวมกับค่าความไม่แน่นอนของค่ากำหนด (assigned value) (สมการที่ 2) ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิก ซึ่งค่ากำหนดของปริมาณสาร THC และ CBD มีค่าเท่ากับ 366 และ 383 $\mu\text{g/kg}$ ตามลำดับ (ดังตารางที่ 2) และค่า σ_{pt} เท่ากับ 76 และ 78 $\mu\text{g/kg}$ ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3) เมื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิก แสดงเป็นค่า z'-score (สมการที่ 3) พบว่าห้องปฏิบัติการสมาชิกทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ ร้อยละ 78.3 และ 75.0 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4) เมื่อพิจารณา กลุ่มเป้าหมายหลักที่เป็นห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 12 แห่ง พบว่าห้องปฏิบัติการที่แสดงความสามารถในการวิเคราะห์สารสำคัญทั้ง 2 ชนิด อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ คิดเป็นร้อยละ 83.3 จำนวน 10 แห่ง อยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย คิดเป็นร้อยละ 8.3 จำนวน 1 แห่ง และมีห้อง

ปฏิบัติการ 1 แห่ง ที่มีผลการวิเคราะห์ของสาร CBD อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ ส่วน THC อยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย ซึ่งผลการประเมินในภาพรวมเฉพาะกลุ่มห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ไม่พบว่ามีห้องปฏิบัติการใดอยู่ในเกณฑ์ไม่น่าพอใจ

การคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมาย (target standard deviation, σ) ใช้ Horwitz equation ดังสมการที่ 1

$\sigma = 0.02 c^{0.8495}$ (สมการที่ 1) เมื่อ c เป็น concentration ratio ที่ $1.2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0.138$

การคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่า assigned value (Standard uncertainty of the assigned value, $u(x_{pt})$) ดังสมการที่ 2

$u(x_{pt}) = 1.25 \times \frac{s^*}{\sqrt{p}}$ (สมการที่ 2) เมื่อ s^* คือ robust standard deviation คำนวณโดยใช้ robust algorithm A, และ p คือ จำนวนข้อมูล

ตารางที่ 2 สรุปค่าพ้องจากห้องปฏิบัติการสมาชิกโดยใช้สถิติต่าง ๆ ของ THC และ CBD ในตัวอย่างเครื่องดื่ม

Analytes ($\mu\text{g/kg}$)	Data points (n)	Assigned value (x_{pt})	Target standard deviation (σ)	Standard uncertainty of assigned value, $u(x_{pt})$	Expanded uncertainty, ($k=2$) , $U(x_{pt})$	0.3σ	$u(x_{pt}) < 0.3\sigma$
THC	19	366	68	34	68	20	No
CBD	20	383	71	32	64	21	No

หมายเหตุ: เนื่องจากค่า $u(x_{pt}) > 0.3\sigma$ จึงใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจาก Horwitz equation รวมกับค่าความไม่แน่นอนของค่ากำหนดเป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการประเมินผล (Standard deviation for proficiency assessment, σ_{pt})

ตารางที่ 3 ข้อมูลทางสถิติที่ใช้ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิก

Analytes	Data points (n)	Assigned value with expanded uncertainty $X_{pt} \pm U$	Standard deviation for proficiency assessment σ_{pt}
THC ($\mu\text{g/kg}$)	19	366 ± 68	76
CBD ($\mu\text{g/kg}$)	20	383 ± 64	78

หมายเหตุ: - U (Expanded uncertainty) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, $k=2$
- σ_{pt} คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการประเมินผล เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมายคำนวณจาก Horwitz equation รวมกับค่าความไม่แน่นอนของค่ากำหนด

การประเมิน ค่า Z'-score ของห้องปฏิบัติการ
คำนวณจาก ดังสมการที่ 3

$$Z' = \frac{x - x_{pt}}{\sqrt{\sigma^2 + u^2(x_{pt})}} \quad (\text{สมการที่ 3})$$

เมื่อ σ เมื่อ target standard deviation
ที่คำนวณจาก Horwitz equation
 X คือ reported result x_{pt} คือ
assigned value
 $u(x_{pt})$ คือ the standard uncertainty of
the assigned value (เนื่องจาก
 $u(x_{pt}) > 0.3\sigma$)

โดยใช้เกณฑ์ในการตัดสิน คือ

$|z'| \leq 2.0$ แสดงว่า ผลการวิเคราะห์
อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ
(satisfactory)

$2.0 < |z'| < 3.0$ แสดงว่า ผลการวิเคราะห์
อยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย
(questionable)

$|z'| \geq 3.0$ แสดงว่า ผลการวิเคราะห์
อยู่ในเกณฑ์ไม่น่าพอใจ
(unsatisfactory)

ตารางที่ 4 สรุปผลการประเมิน Z'-score ของห้องปฏิบัติการสมาชิกที่รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณ
สารสำคัญ THC และ CBD ในตัวอย่างเครื่องดื่ม

Analyte	จำนวนที่รายงาน	จำนวนห้องปฏิบัติการ (%)		
		$ z' \leq 2.0$	$2.0 < z' < 3.0$	$ z' \geq 3.0$
THC	23	18 (78.3)	3 (13.0)	2 (8.7)
CBD	24	18 (75.0)	3 (12.5)	3 (12.5)

โครงการนำร่องแผนทดสอบความชำนาญ
ในครั้ง นี้ ได้ดำเนินการเป็นครั้งแรก พบปัญหา
และอุปสรรคเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารเป้าหมาย
ในเรื่องความคงตัว (stability) ของสาร ทั้งนี้จึงได้
กำหนดให้ห้องปฏิบัติการทำการวิเคราะห์ในช่วงเวลา
ที่กำหนดเพื่อลดผลกระทบจากความไม่คงตัวของสาร
รวมทั้งนำผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการสมาชิก
ในช่วงเวลาดังกล่าวมาเท่านั้นมาเป็นข้อมูลในการ
คำนวณค่ากำหนดจากค่าพ้องของสมาชิกเพื่อใช้
ในการประเมินผล อย่างไรก็ตามโครงการนี้ถือเป็น
การประเมินความสามารถเบื้องต้นของห้องปฏิบัติ
การวิเคราะห์ THC และ CBD เพื่อส่งเสริมการ

พัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการในการเตรียม
ความพร้อมในการให้บริการตรวจวิเคราะห์สารสำคัญ
กัญชาในอาหารประเภทเครื่องดื่มต่อไป

ในปี พ.ศ. 2566 ได้จัดทำโครงการ
แผนการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ
วิเคราะห์สารสำคัญ THC และ CBD ในตัวอย่าง
เครื่องดื่ม โดยได้มีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจ
ส่งผลกระทบกับค่าความคงตัวของสาร THC และ
CBD เช่น อุณหภูมิ ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่าง
แสงแดด เป็นต้น และได้มีการกำหนดช่วงเวลา
ที่วิเคราะห์ โดยกลุ่มเป้าหมายคือห้องปฏิบัติการ
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ได้รับการฝึกอบรม

การวิเคราะห์การตรวจปริมาณสารสำคัญในอาหารจาก สคอ. ซึ่งการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการในครั้งนี้ มีห้องปฏิบัติการสมัครเข้าร่วมจำนวน 15 แห่ง ห้องปฏิบัติการสมาชิกตอบผลกลับจำนวน 14 แห่ง (ร้อยละ 93.3) และไม่รายงานผล CBD จำนวน 1 แห่ง การประเมินผลการวิเคราะห์ THC และ CBD ใช้ค่ากำหนด (assigned value) ที่เป็นค่าห้องของสมาชิก คำนวณจาก robust mean และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป้าหมาย (target value for standard deviation, σ) จาก Horwitz equation ประเมินผลโดยใช้ค่า z-score (สมการที่ 4) พบว่าห้องปฏิบัติการสามารถรายงานผลการวิเคราะห์ THC และ CBD อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ จำนวน 13 (ร้อยละ 92.9) และ 12 แห่ง (ร้อยละ 92.3) ตามลำดับ และอยู่ในเกณฑ์มีปัญหาสำหรับสาร THC จำนวน 1 แห่ง (ร้อยละ 7.1) และ CBD จำนวน 1 แห่ง (ร้อยละ 7.7)

การประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งประเมินด้วยค่า z-score ซึ่งคำนวณจากสูตร

$$z = \frac{(x_i - x)}{\sigma} \quad (\text{สมการที่ 4})$$

เมื่อ x_i = ผลการวิเคราะห์ของสมาชิก
 X = ค่า assigned value
 σ = target value for standard deviation (Horwitz equation)

3. จัดทำโครงการตรวจนิเทศงานด้านอาหารในพื้นที่

สคอ. ได้จัดทำโครงการนิเทศงานด้านอาหารภายใต้โครงการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการเครือข่ายด้านอาหาร หลังจากที่ได้มีการฝึกอบรมทางภาคทฤษฎีและปฏิบัติ รวมถึงส่งตัวอย่างเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการแล้วนั้น การตรวจนิเทศงานมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการเครือข่ายสามารถตรวจวิเคราะห์และสามารถเปิดให้บริการได้ สนับสนุนให้ห้องปฏิบัติการเครือข่ายได้รับการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17025: 2017 ตลอดจนให้คำปรึกษาและคำแนะนำ ซึ่งการดำเนินการประกอบด้วย จัดส่งแบบสำรวจความต้องการสำหรับนิเทศงานติดตามงานด้านอาหาร ไปยังศูนย์เครือข่ายเพื่อรับทราบความต้องการของแต่ละพื้นที่ และเป็นการเตรียมความพร้อมสำหรับทีมผู้นิเทศให้สามารถตอบสนองได้ตรงตามวัตถุประสงค์ หลังจากนั้นนำข้อมูลตอบกลับที่ได้ มาเตรียมทีมนิเทศลงพื้นที่ในลำดับต่อไป โดยกำหนดแผนปฏิบัติงานระหว่างเดือนพฤษภาคม - มิถุนายน 2566 ซึ่งมีศูนย์เครือข่ายแสดงความสนใจในด้านการตรวจวิเคราะห์อาหารที่มีกัญชากัญชงเป็นส่วนประกอบทั้งหมด 3 แห่ง และผลการดำเนินการสามารถสรุปประเด็นที่พบได้แก่ เครื่องมือและอุปกรณ์ไม่เพียงพอ ต้องการคำแนะนำสำหรับขั้นตอนวิธีการเตรียมตัวอย่างการสกัด และการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ ทั้งนี้เมื่อดำเนินการนิเทศแล้วเสร็จ สคอ. ได้จัดส่งรายงานสรุปประเด็นปัญหาที่พบตลอดจนข้อเสนอแนะแนวทางแก้ไขปัญหากลับคืนยังศูนย์เครือข่ายเพื่อให้ศูนย์ฯ ทราบถึงประเด็นที่เกิดขึ้น และดำเนินการพัฒนาให้สมบูรณ์ต่อไป

อภิปรายผล

ด้วยวัฒนธรรมการรับประทานอาหารของคนไทยมีเอกลักษณ์ที่แตกต่างกันไปตามภูมิภาค ดังนั้นการนำกัญชาที่กฎหมายเป็นส่วนหนึ่งในตำหรับอาหารนั้น มักจะนิยมนำมาผสมในเมนูอาหารที่มีรสเผ็ดร้อนจัดจ้าน เช่น ต้มยำ แกงป่า น้ำพริก ข้าวผัดกะเพรา ก๋วยเตี๋ยวรสเด็ด คณะผู้วิจัยจึงได้เลือกผลิตภัณฑ์อาหารที่มีทุกภูมิภาคของประเทศ มีจำหน่ายทั่วไป ขณะเดียวกันผู้บริโภคให้ความสนใจเป็นจำนวนมาก ได้แก่อาหารพร้อมบริโภคประเภท ข้าวผัดกะเพรา และเครื่องต้ม เป็นตัวแทนเบื้องต้น ในการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการเครือข่าย อีกทั้งผลิตภัณฑ์ประเภทนี้มีสารรบกวนในขบวนการตรวจวิเคราะห์ที่สูงถือเป็นความท้าทายของผู้วิเคราะห์ เนื่องจากถ้าประสิทธิภาพวิธีสามารถรองรับตัวอย่างที่มีสิ่งรบกวนระบบสูงได้แล้วนั้น หมายความว่าตัวอย่างที่มีส่วนประกอบในอาหารไม่มาก การวิเคราะห์ก็สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายขึ้น ซึ่งการเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด จึงมีความสำคัญอย่างมากในการสกัดให้ได้เปอร์เซ็นต์สารเป้าหมายออกมามากที่สุด (% recovery) และทำให้สารสกัดบริสุทธิ์มากที่สุด แล้วนำมาตรวจวัดชนิดและปริมาณ ซึ่งเทคนิคหลักที่นิยมใช้ได้แก่ gas chromatography (GC) และ liquid chromatography (LC) แต่มีข้อดีและข้อจำกัด บางประการโดย GC ไม่สามารถแยกอนุพันธ์ cannabinoids ในรูปกรดและกลาง เช่น THCA และ THC ออกจากกันได้เนื่องจากในการวิเคราะห์ต้องใช้ความร้อนสูง จึงทำให้ THCA เกิดการ decarboxylation กลายเป็น THC และผลการวิเคราะห์ที่ได้จะเป็นผลรวมในรูปของ Total THC ดังนั้นหากต้องการวิเคราะห์โดยแยกชนิดสารควรใช้เทคนิค HPLC ซึ่งมี detector ที่สามารถใช้ร่วมกัน

ได้แก่ mass spectrometry (MS), UV/VIS spectrophotometer (UV) และ diode-array detection (DAD) สำหรับวิธีมาตรฐานที่ใช้ตรวจยืนยันสารกลุ่ม cannabinoids ได้มีการระบุในประกาศ สธ. ฉบับที่ 425 ให้ใช้เครื่องมือที่อาศัยหลักการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) หรือสูงกว่า ซึ่งคณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาการตรวจวัดชนิดและปริมาณด้วย เทคนิค LC-MS/MS ซึ่งมีความไวและจำเพาะกับสารเป้าหมายที่ต้องการ เนื่องจากเป็นการตรวจวัด m/z ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของสาร สามารถตรวจอนุพันธ์ cannabinoids ได้ ทำให้งานพัฒनावิธีสามารถทำได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ และพัฒนาควบคู่ไปกับเทคนิค HPLC เพื่อสำหรับศูนย์เครือข่ายบางแห่งที่ยังไม่มีเครื่อง LC-MS/MS นอกจากนั้นการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ทั้งการควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control, IQC) และการควบคุมคุณภาพภายนอก (external quality control, EQC) ถือเป็นหัวใจหลักของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ เพื่อความเชื่อมั่นว่าการตรวจวิเคราะห์เป็นไปอย่างมีคุณภาพ และผลการทดสอบมีความถูกต้อง ดังนั้นการเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ เป็นหนึ่งในการควบคุมคุณภาพภายนอกที่สำคัญ แต่ทั้งนี้หน่วยงานผู้จัดตัวอย่างทดสอบ (provider) ด้านอาหารและเครื่องดื่มยังไม่มีหน่วยงานให้บริการทดสอบความชำนาญในประเทศไทยและหายากมาก ในต่างประเทศ อาจเนื่องด้วยคุณสมบัติของสารที่มีความคงตัวต่ำ มีปัจจัยหลายอย่างที่สามารถส่งผลกระทบต่อค่าความคงตัวของสาร อีกทั้งการตรวจวิเคราะห์อาหารที่มีกัญชาที่กฎหมายเป็นส่วนประกอบผู้วิเคราะห์ต้องมีทักษะ องค์ความรู้

เข้าใจคุณสมบัติของสารเป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการขยายผลการศึกษา ต่อยอดองค์ความรู้ เรื่องกัญชา กัญชง สคอ.กำลังดำเนินโครงการ การศึกษาความคงตัวและปัจจัยที่อาจเพิ่มความคงตัว ของสาร CBD และ THC ในเครื่องต้มกัญชา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติความคงตัว และปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารกลุ่ม cannabinoids อีกทั้งต้องการพัฒนาต่อยอดสู่ ผู้ดำเนินแผนทดสอบความชำนาญในประเทศ สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายของห้องปฏิบัติการ ในการเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญกับ หน่วยงานต่างประเทศ ทั้งยังแสดงถึงความสามารถ พึ่งพาตนเองของประเทศด้วย

สรุปผล

1. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สามารถตรวจวิเคราะห์ สารสำคัญจากกัญชา กัญชงได้ทั้งสิ้น 6 ชนิด ได้แก่ สาร Δ^8 -THC, Δ^9 -THC, THCA, THCV, CBD และ CBN ภายใต้กลุ่มอาหาร 11 ประเภท โดยอ้างอิง จากหมวดอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร และยังสามารถ ตรวจวิเคราะห์อาหารประเภทผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ กลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ใช้ปรุงแต่งเพื่อเพิ่มกลิ่นและรส ให้กับอาหาร ทั้งนี้ครอบคลุมประกาศ สร. ฉบับที่ 425³, 427⁵, 428⁹, 429⁷, 437⁴, 438⁶, และ 439⁸ และห้องปฏิบัติการได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025: 2017 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในชนิดผลิตภัณฑ์ประเภทอาหารพร้อมบริโภค เครื่องดื่ม และพืชกัญชา กัญชง (สดและแห้ง ยกเว้น ช่อดอก)

2. สามารถพัฒนาห้องปฏิบัติการศูนย์ วิทยาศาสตร์การแพทย์ส่วนภูมิภาคได้ครบทั้ง

15 แห่งทั่วประเทศ และสามารถเปิดให้บริการ 4 ภูมิภาคของประเทศ ภาคเหนือ ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ภาคตะวันออก เฉียงเหนือ ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ 7 ขอนแก่น, ที่ 8 อุดรธานี, ที่ 9 นครราชสีมา ภาคกลาง ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 สระบุรี ภาคตะวันออก ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์ที่ 6 ชลบุรี ภาคใต้ ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา อย่างไรก็ตามศูนย์ฯ ที่ไม่ได้เปิดให้บริการทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าว ไม่มีตัวอย่างมารับบริการวิเคราะห์เพราะเมื่อพิจารณา ความคุ้มค่าคุ้มทุนแล้วไม่คุ้มค่า และถ้าในอนาคต มีตัวอย่างสามารถส่งตัวอย่างต่อมายังศูนย์ฯที่เปิด ให้บริการต่อไปได้

3. ประเมินผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยการ ส่งตัวอย่างเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ ไปยังศูนย์เครือข่ายพบว่าในรอบแรกปี พ.ศ. 2565 มีห้องปฏิบัติการศูนย์ฯ เข้าร่วม จำนวน 12 แห่ง วิเคราะห์สารสำคัญทั้ง 2 ชนิด THC และ CBD อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ คิดเป็นร้อยละ 83.3 และ รอบ 2 ปี พ.ศ. 2566 มีห้องปฏิบัติการศูนย์ฯ เข้าร่วม จำนวน 15 แห่ง รายงานผลการวิเคราะห์ THC และ CBD อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ ร้อยละ 92.9 และร้อยละ 92.3 ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

ด้วยตัวอย่างอาหารที่มีในประเทศไทย มีหลากหลายประเภท แต่ละประเภทมีองค์ประกอบ ไม่เหมือนกันเป็นปัญหาและอุปสรรคคือไม่สามารถ นำทุกชนิดตัวอย่างอาหารมาทดสอบประสิทธิภาพ ของวิธีได้ทั้งหมด ดังนั้นผู้วิเคราะห์ต้องทำความเข้าใจหลักการพื้นฐานของกระบวนการวิเคราะห์ และข้อจำกัดของวิธีการทดสอบและพิจารณา

คัดเลือก จัดกลุ่มอาหารตามองค์ประกอบของอาหารที่มีผลกระทบกับการวิเคราะห์เพื่อเป็นตัวแทนในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation) ในแต่ละกลุ่มอาหาร เพื่อให้ครอบคลุมทุกประเภทอาหารได้ แต่ทั้งนี้ต้องได้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องภายในขอบเขตการใช้งานและเป็นไปตามเงื่อนไขของการทดสอบประสิทธิภาพวิธี ยิ่งไปกว่านั้นในปัจจุบันทั่วโลกให้ความสนใจกับนวัตกรรมบริการแบบใหม่ๆที่เข้าถึงผู้บริโภคได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว แต่ยังคงคุณภาพและมาตรฐานภายใต้การกำกับดูแลของภาครัฐ เช่น นวัตกรรมการตรวจวิเคราะห์สำหรับตรวจคัดกรองเบื้องต้น (screening test) จึงเป็นอีกช่องทางหนึ่งที่เป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับประชาชน เกษตรกร ผู้ประกอบการ รวมทั้งหน่วยงานที่มีหน้าที่กำกับดูแลทางกฎหมายสามารถดำเนินการได้เพิ่มขึ้นในระดับพื้นที่ รวมทั้งกลุ่มชุมชนสามารถนำไปใช้ดูแลชุมชนให้ปลอดภัยได้อย่างยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ภายใต้โครงการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณ ท่านเลขา ปราสาททอง ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ให้คำปรึกษาและวางแนวทางการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์อาหารจนทำให้งานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. บังอร ศรีพานิชกุลชัย. การใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2562;15(4):1-26.

2. Kapook.com. กัญชาในอาหาร กินแล้วจะเมาไหม กินได้แค่ไหนไม่อันตรายต่อสุขภาพ [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 9 ก.ย. 2566]. เข้าถึงได้จาก: <https://health.kapook.com/view241034.html>
3. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 425) พ.ศ. 2564 เรื่อง เมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง โปรตีนจากเมล็ดกัญชง และผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของเมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง หรือโปรตีนจากเมล็ดกัญชง. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 49 ง (ลงวันที่ 4 มีนาคม 2564).
4. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 437) พ.ศ. 2565 เรื่อง เมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง โปรตีนจากเมล็ดกัญชง และผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของเมล็ดกัญชง น้ำมันจากเมล็ดกัญชง หรือโปรตีนจากเมล็ดกัญชง (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 139, ตอนพิเศษ 251 ง (ลงวันที่ 21 ตุลาคม 2565).
5. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 427) พ.ศ. 2564 เรื่อง ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 168 ง (ลงวันที่ 23 กรกฎาคม 2564).
6. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 438) พ.ศ. 2565 เรื่อง ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของส่วนของกัญชาหรือกัญชง (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 251 ง (ลงวันที่ 21 ตุลาคม 2565).

7. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 429) พ.ศ. 2564 เรื่อง ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารสกัดแคนนาบิไดออลเป็นส่วนประกอบ. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 198 ง (ลงวันที่ 27 สิงหาคม 2564).
8. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 439) พ.ศ. 2564 เรื่อง ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีสารสกัดแคนนาบิไดออลเป็นส่วนประกอบ (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 251 ง (ลงวันที่ 21 ตุลาคม 2565).
9. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 428) พ.ศ. 2564 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนชนิดสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล และสารแคนนาบิไดออล. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 168 ง (ลงวันที่ 23 กรกฎาคม 2564).
10. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศคณะกรรมการควบคุมยาเสพติดให้โทษ เรื่อง หองปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (Tetrahydrocannabinol, THC) ในกัญชง (Hemp) พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 30 ง (ลงวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2564).
11. Newton DE, editor. Marijuana A REFERENCE HANDBOOK. 2nd ed. California: ABC-CLIO; 2017.
12. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2561. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 135, ตอนพิเศษ 205 ง (ลงวันที่ 24 สิงหาคม 2561).
13. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2562. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 136, ตอนพิเศษ 218 ง (ลงวันที่ 30 สิงหาคม 2562).
14. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2563. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 137, ตอนพิเศษ 290 ง (ลงวันที่ 14 ธันวาคม 2563).
15. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับ 424) พ.ศ. 2564 เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 138, ตอนพิเศษ 45 ง (ลงวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2564).
16. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ. 2565. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 139, ตอนพิเศษ 35 ง (ลงวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2565).

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administration

วารสารอาหารและยา

THAI FOOD AND DRUG JOURNAL

ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 (2567): มกราคม – เมษายน

Vol. 31 No. 1 (2024): January – April

<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>

ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อในขมิ้นในกระบวนการผลิตยาแผนไทยด้วยโอโซน

ด้าย บัณฑิตศักดิ์¹ นันทพันธ์ นภทรานันท์¹ กฤษฎา พชรสิทธิ์¹¹คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

ที่อยู่ติดต่อ: ด้าย บัณฑิตศักดิ์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง 222 หมู่ที่ 2 ตำบลบ้านพร้าว อำเภอบาปะรัง ยอม จังหวัดพัทลุง 93210 tai.b@tsu.ac.th, bandisak.t@gmail.com

Efficiency of turmeric germs elimination in the traditional Thai medicine production process with ozone

Tai Bandisak¹, Nunthapan Naphattaranun¹, Kritsada Phatcharasit¹¹Faculty of Engineering, Thaksin University, Thailand**Contact address:** Tai Bandisak, Faculty of Engineering, Thaksin University, 222 Moo. 2, Baan Prao Sub-District, Papayom District, Phatthalung, Thailand, tai.b@tsu.ac.th, bandisak.t@gmail.com**Received:** 22 October 2023, **Revised:** 1 March 2024, **Accepted:** 5 March 2024

Abstract

Background: Herbal medicinal products are accepted in modern medicine circles as alternatives that are increasingly being used to treat disease. It is important to control the quality of raw materials to control the growth of germs in drug production, such as by baking them with low heat at a temperature of 50 degrees Celsius and sending them for irradiation before being sold, which takes time and costs. Therefore, large quantities must be sent in order to cover the operating costs. However, it is found that currently there are studies that use ozone to control the growth of germs in herbal products and the food industry, but no studies have been found on turmeric. This research therefore proposes a method for eliminating germs in herbs and increasing efficiency in the production of herbal medicines with ozone as an alternative to producing standardized Thai traditional medicines.

Objectives: To study the process of germs eliminating by drying the traditional method, we created a turmeric germs elimination device using ozone that does not affect the important substances in the herb for Thai traditional medicine production and studied to compare the amount of the important substance *curcumin* and the efficiency of germs eliminating in the decontamination process by drying and using ozone.

Methods: Turmeric powder (200 g) was treated with ozone with a production capacity of 60 g/h for a period of 120 minutes in a closed system. Samples of Turmeric powder that was disinfected using ozone were analyzed for the amount of microorganisms (FDA BAM online 2001 (Chapter 3)), yeasts and mold (FDA BAM online 2001 (Chapter 18)). Thin -layer Chromatography was used to indicate the curcumin level with silica gel GF254 for stationary phase and Toluene: chloroform: ethanol (49:49:2) for mobile phase. The curcumin level was investigated in normal light, UV 254 nm, UV 366 nm and Vanillin-sulfuric acid test solution.

Results: Results show that the turmeric powder that has been eliminated by heat treatment (conventional method) found that Microbial levels were at 4.3×10^2 CFU/g, yeast and mold levels were at 1.4×10^2 CFU/g, respectively, while turmeric powder that was treated with ozone for 120 minutes was found to have microbial levels at <250 EAPC. CFU/g, levels of yeast and mold were <10 CFU/g, respectively. The thin-layer chromatography results were confirmed that ozone treatment in turmeric did not affect the curcumin level.

Conclusions: Ozone treatment is effective to eliminate germs in turmeric powder and does not affect the important substance curcumin in turmeric that will be used in the Thai traditional medicine production.

Keywords: sanitization machine, dried herb, ozone, turmeric

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: ผลกระทบจากสมุนไพรเป็นที่ยอมรับในวงการแพทย์แผนปัจจุบันซึ่งเป็นทางเลือกที่ถูกนำมาใช้การรักษาโรคมามากขึ้น ขมิ้นนับเป็นหนึ่งในสารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตยาแผนไทยหลายตำรับ ซึ่งการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบเพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อในการผลิตยาจึงเป็นเรื่องสำคัญ เช่น การอบด้วยความร้อนต่ำที่อุณหภูมิ 50°C และการส่งไปฉายรังสีก่อนวางจำหน่ายซึ่งต้องใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายจึงต้องส่งในปริมาณมากเพื่อให้คุ้มกับค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ อย่างไรก็ตาม พบว่าปัจจุบันมีผลการศึกษาที่มีการนำโอโซนมาใช้ควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรและอุตสาหกรรมอาหาร แต่ยังไม่พบการศึกษาของขมิ้นชัน งานวิจัยนี้จึงเสนอวิธีการกำจัดเชื้อสำหรับสมุนไพรและเพิ่มประสิทธิภาพสำหรับการผลิตยาสมุนไพรด้วยโอโซน เพื่อเป็นทางเลือกในการผลิตยาแผนไทยที่ได้มาตรฐาน

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษากระบวนการกำจัดเชื้อด้วยการอบแห้งแบบดั้งเดิมและสร้างอุปกรณ์กำจัดเชื้อในหมื่นด้วยโอโซนที่ไม่กระทบต่อสารสำคัญในสมุนไพรสำหรับใช้ทำยาแผนไทย และศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการให้สารสำคัญ *curcumin* และประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อของหมื่นในกระบวนการกำจัดเชื้อด้วยการอบแห้งและการใช้โอโซน

วิธีการวิจัย: เป็นการวิจัยประยุกต์ดำเนินการตั้งแต่เดือนเมษายนถึงตุลาคม 2566 คัดเลือกตัวอย่างวิธีเจาะจง (purposive sampling) โรงงานผลิตยาแผนไทยที่มีกระบวนการอบแห้งหมื่นชั้นด้วยกรรมวิธีตากแดด 1 แห่ง จากนั้นออกแบบและสร้างเครื่องกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรหมื่นแบบโอโซนปริมาณ 60 g/h ในพื้นที่ปิดโดยมีการหมุนเวียนโอโซนเพื่อการกระจายทั่วถึง ดำเนินการเก็บตัวอย่างหมื่นชั้นในพื้นที่อำเภอนวม จังหวัดสุราษฎร์ธานีมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาด 1 cm ปริมาณ 2 kg นำไปตากจนแห้งด้วยวิธีการอบแห้งด้วยแสงแดดธรรมชาติแบบดั้งเดิมที่อุณหภูมิ 50°C นำมาบดละเอียดแล้วแบ่งผงหมื่นเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมที่ผ่านการอบแห้งด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C และกลุ่มทดลองที่กำจัดเชื้อด้วยการอบโอโซน กลุ่มละ 1 kg และสุ่มดักตัวอย่างหมื่นผงปริมาณ 200 g เพื่อทดสอบเปรียบเทียบการให้สารสำคัญด้วยวิธี Thin-layer Chromatography ในสถานะที่แตกต่างกัน และเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์และประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อทั้ง 2 กลุ่มด้วยวิธี FDA BAM online 2001 โดยที่กลุ่มทดลองได้มีการอบด้วยโอโซนที่กำลังการผลิต 60g/h เป็นระยะเวลา 120 นาที

ผลการศึกษา: กระบวนการอบแห้งและกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรหมื่นผงในการผลิตยาแผนไทยของกลุ่มตัวอย่างควบคุม พบว่า มีขั้นตอนกระบวนการเริ่มจาก 1.นำหมื่นมาล้างทำความสะอาดและทำการหั่นเป็นชิ้นมีความหนา 1 cm 2.นำหมื่นที่ผ่านการล้างทำความสะอาดไปอบแห้งด้วยความร้อน 50°C 3.นำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดแบบลูกกลิ้งและนำไปผสมตามสูตรต่อไป และ เมื่อสร้างเครื่องกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรหมื่นแบบโอโซนปริมาณ 60 g/h ในพื้นที่ปิดโดยได้เพิ่มกระบวนการต่อจากกระบวนการของกลุ่มควบคุม ซึ่งผลการเปรียบเทียบพบว่า กลุ่มควบคุมมีข้อจำกัดของการอบแห้งขึ้นอยู่กับฤดูหรือสภาพอากาศเช่นฤดูฝนจึงต้องใช้กระบวนการให้ความร้อนด้วยไฟฟ้าซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสารสำคัญในหมื่น ขณะที่การโอโซนใช้ระยะเวลาสั้นกว่าและมีประสิทธิภาพมากกว่า แต่ความสามารถกำจัดเชื้อเฉพาะบริเวณพื้นผิวเท่านั้น สำหรับผลทดสอบการให้สารสำคัญหมื่นผง พบว่า กลุ่มควบคุมมีระดับจุลินทรีย์ ยีสต์และเชื้อราที่ 4.3×10^2 และ 1.4×10^2 CFU/g ขณะที่กลุ่มทดลอง < 250 EAPC CFU/g และ < 10 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งผลทั้ง 2 กลุ่มพบเข้ามาตรฐานที่กำหนด ส่วนการทดสอบปริมาณสาร *Curcumin* ในสถานะแสงปกติ ภายใต้ UV 254 nm ภายใต้ UV 366 nm และ Vanillin-sulfuric acid test solution พบว่า ตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มมีการกำจัดเชื้อในหมื่นไม่ส่งผลต่อปริมาณสาร *Curcumin*

สรุป: การใช้กระบวนการอบแบบโอโซนในหมื่นชั้นมีประสิทธิภาพกำจัดเชื้อในปริมาณที่สูงกว่าในระยะเวลาที่สั้นกว่ากระบวนการกำจัดเชื้อด้วยวิธีอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสารสำคัญ *Curcumin* นอกจากนั้น สามารถควบคุมปัจจัยด้านฤดูกาลได้ดีกว่า รวมถึงใช้เวลาและค่าใช้จ่ายน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการกำจัดเชื้อแบบดั้งเดิม

คำสำคัญ: การกำจัดเชื้อ ยาสมุนไพร หมื่น โอโซน

บทนำ

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพร เป็นที่ยอมรับในวงการแพทย์แผนปัจจุบันซึ่งเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ถูกนำมาใช้การรักษาโรคมามากขึ้น โดยเห็นได้อย่างชัดเจนในช่วงที่ประเทศไทยเผชิญกับสถานการณ์ COVID-19 อีกทั้งมีการผลิตยาจากสมุนไพรเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งขมิ้นถือเป็นหนึ่งในสารตั้งต้นการผลิตยาแผนไทยหลายตำรับ การควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบในการผลิตยาสมุนไพรจึงเป็นเรื่องที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการผลิตที่ได้มาตรฐานควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อที่อาจจะเกิดขึ้นประกอบด้วย การอบด้วยความร้อนต่ำที่อุณหภูมิ 50°C เพื่อให้วัตถุดิบแห้งซึ่งสามารถกำจัดเชื้อที่อาจจะเกิดขึ้นได้ และส่งไปทำการฉายรังสีที่สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) ซึ่งสามารถเลือกกระดับการฉายรังสีได้ตามวัตถุประสงค์ในกรณีที่เป็นยาแผนไทยได้แก่ ลดปริมาณจุลินทรีย์และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (ปริมาณรังสีดูดกลืน 2-20 kGy) และการปลอดเชื้อ (sterilization) (ปริมาณรังสีดูดกลืน 15-50 kGy) แต่การส่งไปกำจัดเชื้อด้วยรังสีแกมมาก่อนที่จะวางจำหน่ายต้องใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการขนส่ง ดังนั้นการส่งไปทำการกำจัดเชื้อในแต่ละครั้งจึงต้องส่งในปริมาณมากเพื่อให้คุ้มกับค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ

เมื่อพิจารณาถึงกระบวนการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยวิธีอื่น เช่น การใช้โอโซน ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีการใช้โอโซนอย่างแพร่หลาย อาทิ การศึกษาการใช้งานในผลิตภัณฑ์อาหาร พบว่าโอโซนมีศักยภาพของในการลดและกำจัดเชื้อ *Salmonella*

บนออริกาโนแห้ง โดยการบำบัดด้วยโอโซนสูงสุด 120 นาที ที่ระดับความเข้มข้นของโอโซนคงที่สองแบบ (2.8 และ 5.3 mg/l) ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในการนับเพลตแอโรบิกและยีสต์และจำนวนเชื้อราหลังใช้โอโซนที่ 2.8 mg/l เป็นเวลา 120 นาทีตามลำดับ การทำโอโซนที่ 5.3 mg/l เป็นเวลา 90 นาที พบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ลดลง ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบำบัดด้วยโอโซนเป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในออริกาโนแห้ง¹ นอกจากนี้ ได้มีการศึกษาการใช้โอโซนในการกำจัดเชื้อในอุตสาหกรรมสมุนไพรและเครื่องเทศ ซึ่งรากชะเอม และใบสะระแหน่ มีอัตราการเกิดเชื้อราสูงที่สุดในขณะที่ยี่หระดำ และยี่หระมีอัตราการเกิดเชื้อราต่ำที่สุด ซึ่งได้ทำการศึกษาการเกิดเชื้อราและต้านเชื้อราในสมุนไพร และเครื่องเทศตากแห้ง 9 ชนิด พบว่าการใช้โอโซนที่ความเข้มข้น 3 ppm ที่เวลา 280 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อราได้ ร้อยละ 96.39 ถึง 98.26 และพบว่าการผลิตสปอร์ของ *A. humicola* และ *Trichoderma viride* ลดลงเมื่อสัมผัสกับก๊าซโอโซน 210 นาที มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ² อีกทั้งการศึกษาศักยภาพการกำจัดเชื้อในเครื่องเทศ หัวหอม และพริกไทยดำซึ่งเป็นส่วนผสมที่ใช้กันทั่วไปในการปรุงอาหารที่บ้าน³ โดยใช้การผสมผสานเทคโนโลยีการบำบัดด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต โอโซน และแสงอินฟราเรด เพื่อทำการประเมินประสิทธิภาพในการจัดการปนเปื้อนของหัวหอม และพริกไทยดำ โดยทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งผลการศึกษาพบว่าเทคโนโลยีการบำบัดด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต โอโซน และ

แสงอินฟราเรด มีประสิทธิภาพมากในการจัดการปนเปื้อนของเครื่องเทศ รวมถึงอาหารแห้ง⁴ และสามารถใช้ในการดำเนินการจัดการปนเปื้อนของแบคทีเรียหลายสายพันธุ์

การศึกษาการใช้โอโซนในเทคโนโลยีการแปรรูปอาหารที่ไม่ใช้ความร้อนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม⁵⁻⁶ และมีความคุ้มค่า ซึ่งใช้แทนความร้อนในกระบวนการผลิตธัญพืช เนื่องจากสามารถใช้ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์และย่อยสลายสารพิษจากเชื้อราในธัญพืช และช่วยเพิ่มการงอกของเมล็ด⁷ ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่า การใช้โอโซนสามารถสร้างมั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์ขั้นตอนสุดท้ายปลอดภัยและความสามารถยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ดังนั้น โอโซนจึงเป็นเทคโนโลยีที่มีคุณสมบัติในรักษาคุณภาพของเมล็ดธัญพืช และผลิตภัณฑ์จากธัญพืช^{6,8} รวมถึงสามารถกำจัดเชื้อและแมลงศัตรูพืชได้อีกด้วย⁹ นอกจากนั้นโอโซนถูกนำมาใช้ในเห็ดหลินจือ (*G. lucidum*) โดยพบว่าการใช้โอโซนความเข้มข้นของโอโซน 5 ppm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีผลในการเสริมสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดหลินจือ เช่น ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ และกรดกาโนเดอริกมีค่าเพิ่มขึ้น¹⁰

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงกระบวนการผลิตแผ่นไทยโดยใช้หมั่นชั้นอบด้วยพลังงานแสงแดดแบบดั้งเดิม และสร้างกระบวนการอบหมั่นชั้นด้วยวิธีการอบโอโซน เพื่อเปรียบเทียบสารสำคัญของ Curcumin และประสิทธิภาพของการกำจัดเชื้อของหมั่นชั้นในกระบวนการผลิตแผ่นไทยทั้งสองแบบ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษากระบวนการกำจัดเชื้อด้วยการอบแห้งแบบดั้งเดิมและสร้างอุปกรณ์กำจัดเชื้อในหมั่นด้วยโอโซนที่ไม่กระทบต่อสารสำคัญในสมุนไพรสำหรับใช้ทำยาแผนไทย
2. เพื่อศึกษาปริมาณการให้สารสำคัญ Curcumin ของหมั่นชั้นในกระบวนการกำจัดเชื้อด้วยการอบแห้งและการใช้โอโซน
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อในหมั่นสำหรับใช้ทำยาแผนไทยเปรียบเทียบระหว่างการกำจัดเชื้อด้วยวิธีอบแห้งและการใช้โอโซน

ระเบียบวิธีการวิจัย

วิธีวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยประยุกต์ดำเนินการตั้งแต่เดือนเมษายน - ตุลาคม 2566

กลุ่มตัวอย่าง

1. คัดเลือกตัวอย่างสถานที่ผลิตยาแผนไทยที่มีกระบวนการอบแห้งแบบใช้พลังงานแสงอาทิตย์ โดยคัดเลือกใช้วิธีเจาะจง (purposive sampling) จากสถานที่ผลิต 1 แห่ง คือ โรงงานผลิตยาแผนไทย พระพรหมโอสถคลินิกการแพทย์แผนไทย อ.พระพรหม จ.นครศรีธรรมราช
2. ใช้ตัวอย่างหมั่น จากแหล่งปลูกในพื้นที่ อ.พนม จ.สุราษฎร์ธานี จำนวน 2 kg เพื่อทำการตัดอบแห้ง และบดละเอียด กำหนดคุณลักษณะของหมั่นตัวอย่างที่คัดเลือกได้แก่ ไม่มีรอยแตก ไม่มีตำหนิที่ผิว ในกรณีที่มีตำหนิต้องมองเห็นได้ไม่ชัดเจน และไม่มีผลกระทบต่อลักษณะภายนอกของหมั่นชั้น

3. แบ่งกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการอบแห้งและกำจัดเชื้อเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมที่อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ด้วยอุณหภูมิ 50°C เพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ด้วยอุณหภูมิ 50°C ร่วมกับการอบโอโซน (กลุ่มทดลอง) กลุ่มละ 1 kg มาสุ่มตัวอย่างผงขมิ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์ในปริมาณกลุ่มละ 200 g

เครื่องมือ

1. การศึกษาดูงานใช้เครื่องมือในการบันทึก ซึ่งประกอบด้วยแบบบันทึกน้ำหนักขมิ้นและระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษากระบวนการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน

2. อุปกรณ์ผลิตโอโซนปริมาณ 60 g/h ในพื้นที่ปิดขนาดกว้าง 0.75 m ยาว 0.70 m สูง 1.50 m และมีการออกแบบระบบการหมุนเวียนโอโซน เพื่อเพิ่มการกระจายตัวของโอโซนนำไปสู่การเพิ่มพื้นที่สัมผัสของโอโซนและขมิ้นผง

3. อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ ได้แก่ ห้องอบสมุนไพรด้วยความร้อนจากพลังงานแสงอาทิตย์

4. อุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ เครื่องชั่งน้ำหนักและตะแกรงสำหรับกรองผงขมิ้น

ขั้นตอนดำเนินการ

1. ศึกษากระบวนการอบแห้งและกำจัดเชื้อที่ใช้ในการผลิตยาแผนไทยในปัจจุบันโดยการลงพื้นที่ไปศึกษา ณ โรงงานผลิตยาแผนไทย พระพรหมโอสถคลินิกการแพทย์แผนไทย อ.พระพรหม จ.นครศรีธรรมราช เพื่อทำการศึกษาและวิเคราะห์ขั้นตอนการทำงาน

2. ออกแบบและสร้างเครื่องกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงแบบโอโซนปริมาณ 60 g/h ในพื้นที่ปิด ซึ่งการออกแบบให้โอโซนมีการหมุนเวียนเพื่อการกระจายที่ทั่วถึง เพื่อประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อของโอโซน

3. นำตัวอย่างขมิ้นที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ อ.พนม จ.สุราษฎร์ธานี มาล้างทำความสะอาดหั่นเป็นชิ้นขนาดความหนา 1 cm ในปริมาณ 2 kg นำไปตากจนแห้งด้วยวิธีการอบแห้งด้วยพลังแสงอาทิตย์แบบดั้งเดิมที่อุณหภูมิ 50°C จนขมิ้นมีลักษณะแห้ง จากนั้นนำเข้าสู่กระบวนการบดละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร จากนั้นแบ่งตัวที่บดละเอียดแล้วอย่างเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 1 kg ได้แก่ กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มตัวอย่างที่จะถูกนำไปกำจัดเชื้อด้วยการอบโอโซน เป็นระยะเวลา 120 นาที (กลุ่มทดลอง)

4. วิเคราะห์และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ โดย

- วัดระดับของจุลินทรีย์ (Aerobic Plate Count) ด้วยวิธี FDA BAM online 2001 (Chapter 3)(11)

- วัดปริมาณ *Escherichia coli* ด้วยวิธี AOAC(2019) 991.14¹²

- วัดปริมาณ *Salmonella spp* ด้วยวิธี ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020(E)¹³

5. วิเคราะห์ Yeasts และ Molds ด้วยวิธี FDA BAM online 2001 (Chapter 18)¹⁴

6. ทดสอบ Curcumin และผลการกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นต่อสารสำคัญที่ใช้เป็นตัวยาโดยวิธี

ทางเภสัชศาสตร์นำสมุนไพรที่ผ่านการกำจัดเชื้อด้วยโอโซนไปทำการทดสอบด้วยวิธี Thin-layer Chromatography โดยใช้ silica gel GF254 เป็นวัฏภาคคงที่และใช้ Toluene: chloroform: ethanol (49:49:2) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยจะตรวจสอบผลด้วยการสังเกตภายใต้แสงปกติ, ภายใต้แสง UV 254 nm, ภายใต้แสง UV 366 nm และสเปรย์ด้วย Vanillin-sulfuric acid Test solution¹⁵

การวิเคราะห์ข้อมูล

เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ โดย

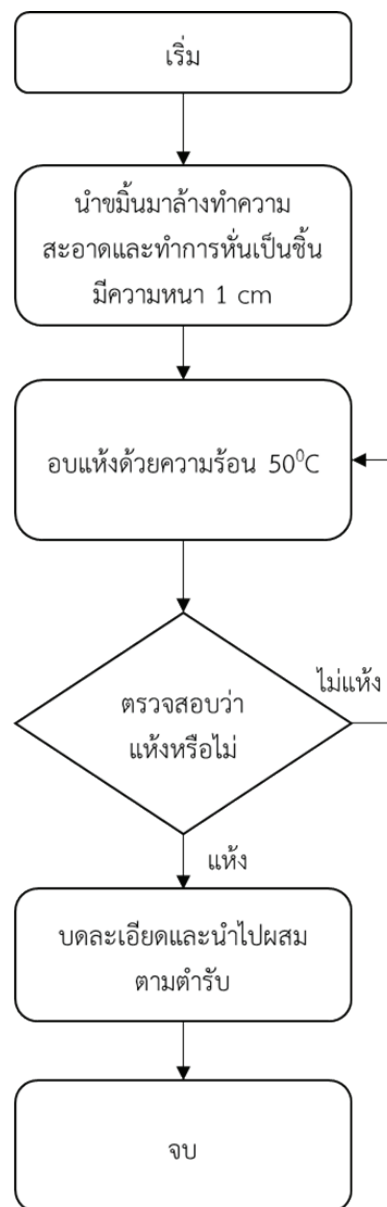
- กำหนดค่าสารสำคัญมาตรฐานของผงขมิ้น ที่ 1 mg/1 ml methanol
- วิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ โดยกำหนดค่ามาตรฐานจุลินทรีย์ Aerobic plate count ไม่มากกว่า 5×10^4 CFU/g ค่า Yeasts และ Molds ไม่มากกว่า 5×10^2 CFU/g ต้องไม่พบ เชลล์โมเนลลา (*Salmonella spp.*) ใน 25 g หรือ 25 ml และไม่พบเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*)¹⁶ ใน 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร

ผลการศึกษา

1. กระบวนการอบแห้งและกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงในการผลิตยาแผนไทย

จากการศึกษากระบวนการอบแห้งและกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงในการผลิตยาแผนไทยของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา พบว่ามีขั้นตอนกระบวนการเริ่มจาก 1.นำขมิ้นมาล้างทำความสะอาดและทำการหั่นเป็นชิ้นมีความหนา 1 cm 2.นำขมิ้นที่ผ่านการล้างทำความสะอาด

ไปอบแห้งด้วยความร้อน 50°C 3.นำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดแบบลูกกลิ้งและนำไปผสมตามสูตรตำรับต่อไป (ดังรูปที่ 1)



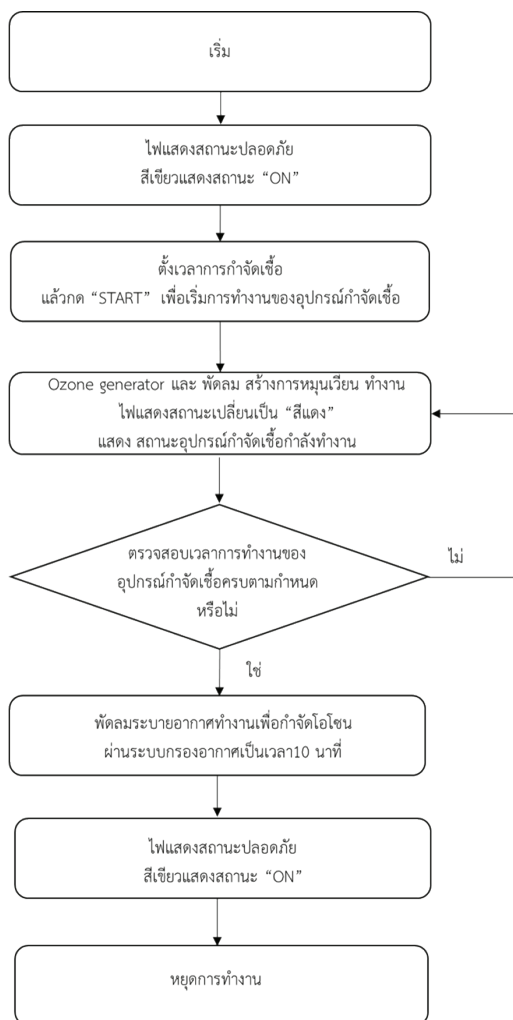
รูปที่ 1 กระบวนการอบและกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงในการผลิตยาแผนไทย

2. อุปกรณ์ที่สร้างขึ้นในกระบวนการรอบโดยใช้โอโซนกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงในการผลิตยาแผนไทย

สร้างอุปกรณ์ในกระบวนการการรอบโดยใช้โอโซนเพื่อการศึกษาในครั้งนี้ โดยอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นคือ อุปกรณ์กำจัดเชื้อด้วยโอโซนซึ่งเป็นอุปกรณ์กำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงด้วยโอโซนปริมาณ 60 g/h ในพื้นที่ปิดที่ทำหน้าที่กำจัดเชื้อที่ปนเปื้อนในขมิ้นผง (ดังรูปที่ 2) สำหรับกระบวนการรอบโดยใช้โอโซนและกำจัดเชื้อเริ่มจาก 1.นำขมิ้นมาล้างทำความสะอาดและทำการหั่นเป็นชิ้นมีความหนา 1 เซนติเมตร 2.นำขมิ้นที่ผ่านการล้างทำความสะอาดไปอบแห้งด้วยความร้อน 50°C 3.นำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดแบบลูกกลิ้ง 4.นำขมิ้นผงไปอบด้วยโอโซน 5.นำขมิ้นผงไปผสมตามสูตรตำรับต่อไป (ดังรูปที่ 3)



รูปที่ 2 อุปกรณ์ที่สร้างขึ้นในกระบวนการรอบโดยใช้โอโซนและกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงในการผลิตยาแผนไทย



รูปที่ 3 กระบวนการอบแห้งและกำจัดเชื้อในยาสมุนไพรขมิ้นผงในการผลิตยาแผนไทย

เมื่อเปรียบเทียบขั้นตอนกระบวนการรอบทั้งสองวิธี (ดังตารางที่ 1) พบว่า ในกระบวนการการอบแห้งด้วยแสงแดด มีข้อดีของการอบแห้งคือสามารถทำให้สมุนไพรแห้ง และสามารถกำจัดเชื้อได้ด้วยไม่ส่งผลกระทบต่อสารสำคัญในขมิ้น แต่มีข้อจำกัดของการอบแห้ง คือประสิทธิภาพของกระบวนการอบแห้งขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ เช่น

เมื่ออยู่ในฤดูฝน ก็จะทำให้กระบวนการนี้ไม่สามารถดำเนินการได้ ทางผู้ผลิตยาสมุนไพรจำเป็นต้องใช้กระบวนการให้ความร้อนด้วยไฟฟ้า ซึ่งอาจจะส่งผลต่อสารสำคัญในขมิ้น

ส่วนกระบวนการหรือขั้นตอนกรรมวิธีการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน พบว่า มีข้อดีของการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน คือ สามารถทำได้ในระยะเวลาอันสั้น

และมีประสิทธิภาพ เมื่อเทียบกับการกำจัดเชื้อด้วยแสงแดดธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการกำจัดเชื้อด้วยโอโซนคือ โอโซนมีความสามารถในการกำจัดเชื้อบริเวณพื้นผิวเท่านั้น ไม่มีความสามารถในการทะลุทะลวงได้ ดังนั้นสมุนไพรที่จะนำมากำจัดเชื้อด้วยโอโซนควรจะเป็นลักษณะเป็นชิ้นเล็ก ๆ

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบขั้นตอนกระบวนการกำจัดเชื้อแบบอบแห้งและการใช้โอโซน

ขั้นตอนกระบวนการกำจัดเชื้อ	ระยะเวลาที่ใช้	ข้อดี	ข้อจำกัด
การอบแห้งด้วยแสงธรรมชาติ	ไม่สามารถระบุได้ขึ้นกับสภาพอากาศ ซึ่งในทางปฏิบัติจะทำการอบด้วยความร้อนจนแห้ง	สามารถดำเนินการอบแห้งพร้อมกับการกำจัดเชื้อได้พร้อมกัน	- ใช้เวลานาน ไม่สามารถทำนายได้ - ทั้งนี้ขึ้นกับสภาพอากาศ
การใช้โอโซน (ในกรณีที่วัตถุดิบได้รับการอบแห้งมาแล้ว)	120 นาที	สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่า	- สามารถกำจัดได้เฉพาะบริเวณพื้นผิว ไม่สามารถทะลุทะลวงได้ - ไม่สามารถในการใช้ออบแห้งได้ - สามารถกำจัดเชื้อได้เฉพาะพื้นผิว ไม่สามารถทะลุทะลวงได้

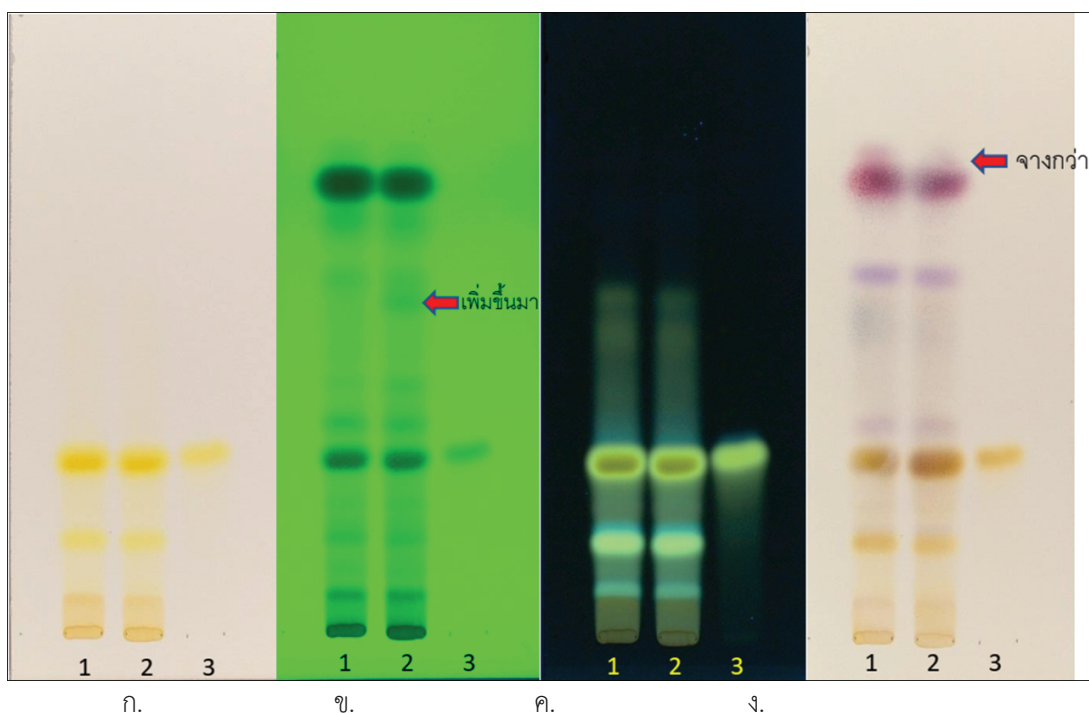
3. ผลทดสอบการให้สารสำคัญและประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อในขมิ้น

3.1 การให้สารสำคัญหรือการเปลี่ยนแปลงของสาร *Curcumin*

ผลการทดสอบการให้สารสำคัญของสาร *Curcumin* และผลการกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นต่อสารสำคัญที่ใช้เป็นตัวยาโดยวิธีทางเภสัชศาสตร์ด้วยวิธี Thin-layer Chromatography ในกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างควบคุม (ตัวอย่างขมิ้นผงที่ได้รับการกำจัดเชื้อด้วยความร้อน 50°C) กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง (ตัวอย่างขมิ้นผงที่ได้รับการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน) และกลุ่มที่ 3 *Curcumin* (Standard) ซึ่งถูกนำมาใช้ในการอ้างอิง โดยทดสอบในสถานะที่แตกต่างกัน 4 สถานะ ได้แก่ ก.การสังเกตภายใต้แสงปกติ ข.การสังเกตภายใต้แสง UV 254 nm ค.การสังเกต

ภายใต้แสง UV 366 nm และ ง.การสเปรย์ด้วย Vanillin-sulfuric acid Test solution เพื่อทำการเปรียบเทียบการมีอยู่ของสาร *Curcumin* ในสถานะที่แตกต่างกัน พบว่ากระบวนการกำจัดเชื้อในขมิ้นทั้ง 2 วิธีไม่ส่งผลต่อปริมาณสาร *Curcumin* เมื่อเปรียบเทียบกับ standard

อย่างไรก็ตามพบว่ามีเปลี่ยนแปลงของสารบางตัวที่มีการเพิ่มขึ้นและลดลงซึ่งไม่สามารถระบุได้ด้วยวิธี Thin-layer Chromatography (ดังรูปที่ 4) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการทดสอบในสถานะที่ 2 (รูปที่ 4 ข.) จะพบสารบางตัวที่เพิ่มขึ้นและในการทดสอบในสถานะที่ 4 (รูปที่ 4 ง.) มีสารบางตัวที่ลดลง ในตัวอย่างกลุ่มที่ใช้โอโซนในการกำจัดเชื้อ



รูปที่ 4 ผลทดสอบสาร Curcumin ในขมิ้นผงด้วยวิธี Thin-layer Chromatography ในสถานะที่แตกต่างกัน

3.2 ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อ

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อโดยการวัดปริมาณ *Escherichia coli* ด้วยวิธี AOAC(2019) 991.14¹² ในตัวอย่างกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างควบคุม และกลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง พบว่ามีค่า <10 CFU/g ในตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด¹⁶

เมื่อทดสอบการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อโดยการวัดปริมาณ *Salmonella spp.* ด้วยวิธี ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020(E)¹³ ในกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม พบว่าไม่สามารถตรวจวัดได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ให้ความสำคัญในส่วนประกอบของเชื้อปนเปื้อนในส่วนที่วัดได้ด้วย

Aerobic Plate Count ด้วยวิธี FDA BAM online 2001 (Chapter 3)¹¹ ผลการทดสอบพบว่า ในตัวอย่างกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างควบคุม และกลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง มีค่า Aerobic Plate Count 4.3×10^2 CFU/g และ <250 EAPC CFU/g ตามลำดับ 11 ในขณะที่ผลการทดสอบ Yeasts และ Molds ด้วยวิธี FDA BAM online 2001 (Chapter 18)¹⁴ พบว่า ในตัวอย่างกลุ่มที่ 1 ตัวอย่างควบคุม และกลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง มีระดับของ Yeasts และ Molds อยู่ที่ 1.4×10^2 CFU/g และ <10 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด¹⁶ (ดังตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อของไขมันผงในกลุ่มตัวอย่างแบบอบแห้งและโอโซน

รายการทดสอบ	ตัวอย่างอบแห้ง	ตัวอย่างโอโซน	ค่ามาตรฐาน
Aerobic Plate Count	4.3×10^2 CFU/g	<250 EAPC CFU/g	ไม่มากกว่า 5×10^4 CFU/g
<i>Escherichia coli</i>	<10 CFU/g	<10 CFU/g	ไม่พบ <i>Escherichia coli</i> ใน 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร
<i>Salmonella spp</i>	Not detected	Not detected	ไม่พบ <i>Salmonella spp.</i> ใน 25 กรัม หรือ 25 มิลลิลิตร
Yeasts และ Molds	1.4×10^2 CFU/g	<10 CFU/g	ไม่มากกว่า 5×10^2 CFU/g

อภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้เริ่มต้นจากการวิเคราะห์ไขมันเนื่องจากไขมันเป็นสมุนไพรพื้นฐานที่ใช้เป็นส่วนผสมในยาหลายตำรับ จากผลการวิเคราะห์ Aerobic Plate Count และ Yeasts และ Molds พบต่ำกว่ามาตรฐานความปลอดภัยที่กำหนดในประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานค่าความบริสุทธิ์หรือคุณลักษณะอื่นอันมีความสำคัญต่อคุณภาพสำหรับตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขึ้นทะเบียน แจ้งรายละเอียด หรือจดแจ้ง พ.ศ. 2564 เนื่องจากโอโซนมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อในระยะเวลาที่สั้นกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยวิธีอบด้วยความร้อนธรรมชาติ จากผลการทดลองที่พบว่าไขมันผงที่ผ่านการอบด้วยโอโซนพบว่ามีระดับของจุลินทรีย์ที่ต่ำกว่าวิธีอบด้วยความร้อน ซึ่งวิธีอบด้วยความร้อนมีระดับจุลินทรีย์ 4.3×10^2 CFU/g ในขณะที่ไขมันผงที่ผ่านการกำจัดเชื้อด้วยโอโซนมีระดับจุลินทรีย์ <250EAPC CFU/g จากผลการวิเคราะห์พบว่าระดับของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ได้รับการกำจัดเชื้อด้วยโอโซนมีระดับเชื้อปนเปื้อนลดลงประมาณ 100 เท่า สอดคล้องหรือแตกต่างจากงานวิจัยของ Torlak E¹ ซึ่งมีการใช้โอโซนในการกำจัดเชื้อ *Salmonella* และ microbial ในออริกานัมแห้ง รวมถึง Ouf SA² ที่ได้นำโอโซนไปใช้ในการต้าน

การปนเปื้อนของเชื้อราในสมุนไพรตากแห้ง ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนต่าง ๆ บนสมุนไพรแห้งของโอโซน

นอกจากนั้น ไขมันผงที่ผ่านการอบด้วยโอโซนที่พบว่ามีระดับของยีสต์และเชื้อราที่ต่ำกว่าวิธีอบด้วยความร้อน ซึ่งวิธีอบด้วยความร้อน มีระดับยีสต์และเชื้อรา 1.4×10^2 CFU/g ในขณะที่ไขมันผงที่ผ่านการกำจัดเชื้อด้วยโอโซนมีระดับยีสต์และเชื้อรา <10 CFU/g จากผลการวิเคราะห์ระดับยีสต์และเชื้อรา พบว่าระดับยีสต์และเชื้อรา ในกลุ่มที่ได้รับการกำจัดเชื้อด้วยโอโซนมีระดับเชื้อปนเปื้อนลดลงประมาณ 100 เท่า สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ระดับจุลินทรีย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้โอโซนมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับกำจัดเชื้อปนเปื้อนโดยใช้ความร้อนจากธรรมชาติ

อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าผลการวิเคราะห์สามารถบอกได้ว่าไม่มีผลกระทบกับระดับ Curcumin ในตัวอย่างไขมันผง แต่ก็ยังพบการเปลี่ยนแปลงของสารในไขมันผง โดยที่มีการเพิ่มขึ้นและลดลงของสารบางตัว โดยสังเกตได้จากความเข้มของแถบสีที่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งการใช้ Thin-layer Chromatography ไม่สามารถระบุได้ว่าสารที่เกิดการเปลี่ยนแปลงคือสารอะไรที่อยู่ในไขมันผง

เนื่องจากในขั้นตอนการวิเคราะห์ได้ทำการใช้ Curcumin standard เพียงชนิดเดียวจึงไม่สามารถวิเคราะห์สารชนิดอื่น ๆ ได้ ดังนั้นจึงต้องทำการวิจัยเชิงลึกเพื่อทำการค้นหาโดยใช้วิธี High performance liquid Chromatography เพื่อทำการวิเคราะห์หาสารที่ไม่ทราบค่าในเชิงลึกต่อไป

เมื่อพิจารณาถึงข้อจำกัดของกระบวนการแบบดั้งเดิมที่พบว่าในฤดูฝนหรือในกรณีที่ไม่มีแสงแดดจะทำให้เวลาในกระบวนการอบแห้งเพิ่มขึ้น และไม่สามารถที่จะกำหนดได้ และในกรณีที่ฝนตกต่อเนื่องส่งผลให้มีแสงแดดและมีความชื้นเกิดขึ้น ทำให้ทางผู้ประกอบการจำเป็นต้องใช้กระบวนการกำจัดเชื้อด้วยความร้อนที่ใช้ไฟฟ้าหรือแก๊สธรรมชาติ ทำให้เป็นการสิ้นเปลืองเป็นอย่างมาก นอกจากนั้น ยังต้องควบคุมความร้อนให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมที่จะไปส่งผลกระทบต่อสารสำคัญในสมุนไพร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โอโซน จะมีข้อได้เปรียบได้แก่สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่ากระบวนการกำจัดเชื้อด้วยความร้อน และสามารถดำเนินการได้ตลอดเวลาโดยไม่มีผลกระทบจากฤดูกาล ส่งผลให้ผู้ผลิตสามารถเพิ่มกำลังการผลิตยาสมุนไพรได้มากขึ้นโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสารสำคัญในตัวสมุนไพร

สรุปผล

การใช้กระบวนการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน ในหมั้นผงมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนที่สูงกว่าในระยะเวลาที่สั้นกว่ากระบวนการกำจัดเชื้อแบบดั้งเดิม โดยสามารถลดปริมาณเชื้อปนเปื้อนได้ประมาณ 100 เท่า โดยที่ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารสำคัญ Curcumin อีกด้วย นอกจากนั้น

กระบวนการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน สามารถควบคุมปัจจัยด้านฤดูกาล และ ระยะเวลาในการกำจัดเชื้อได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการกำจัดเชื้อแบบดั้งเดิม ส่งผลให้สามารถควบคุมคุณภาพของยาแผนไทยให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้

ข้อเสนอแนะ

1. กระบวนการกำจัดเชื้อด้วยโอโซน ในการผลิตสมุนไพรจากหมั้นสามารถไปใช้กับการกำจัดเชื้อในสมุนไพรอื่น ๆ ได้ในรูปแบบของสมุนไพรที่มีลักษณะเป็นชิ้นขนาดเล็กเพื่อทำให้เกิดพื้นที่ผิวสัมผัสมาก ๆ เนื่องจากโอโซนมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อในบริเวณพื้นผิวเท่านั้น ไม่สามารถทะลุทะลวงได้

2. ควรวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของโอโซนและระยะเวลาในการกำจัดเชื้อที่เหมาะสมในกระบวนการกำจัดเชื้อ เพื่อใช้ในการกำจัดเชื้อสมุนไพรชนิดต่าง ๆ และ สร้างสภาพแวดล้อมของระบบมีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดเชื้อสำหรับสมุนไพรชนิดต่าง ๆ

3. ควรวิจัยเชิงลึกเพื่อทำการค้นหาโดยใช้วิธี High performance liquid Chromatography เพื่อทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารในหมั้นผงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยโครงการวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัยทักษิณ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

เอกสารอ้างอิง

1. Torlak E, Sert D, Ulca P. Efficacy of gaseous ozone against *Salmonella* and microbial population on dried oregano. *Int J Food Microbiol* 2013;165(3):276–80.
2. Ouf SA, Ali EM. Does the treatment of dried herbs with ozone as a fungal decontaminating agent affect the active constituents?. *Environ Pollut* 2021;277:116715.
3. El Darra N, Xie F, Kamble P, Khan Z, Watson I. Decontamination of *Escherichia coli* on dried onion flakes and black pepper using Infra-red, ultraviolet and ozone hurdle technologies. *Heliyon* 2021;7(6):e07259.
4. Sheng L, Wang L. Approaches for a more microbiologically and chemically safe dried fruit supply chain. *Curr Opin Biotechnol* 2023;80:102912.
5. Bigi F, Maurizzi E, Quartieri A, De Leo R, Gullo M, Pulvirenti A. Non-thermal techniques and the “hurdle” approach: How is food technology evolving?. *Trends Food Sci Technol*. 2023 Feb;132:11–39.
6. Sivaranjani S, Prasath VA, Pandiselvam R, Kothakota A, Mousavi Khaneghah A. Recent advances in applications of ozone in the cereal industry. *LWT* 2021;146:111412.
7. Afsah-Hejri L, Hajeb P, Ehsani RJ. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2020;19(4):1777–808.
8. Dolci P, Ingegno BL, Mangia E, Ghirardello D, Zaquini L, Costarelli S, et al. Electrolyzed water and gaseous ozone application for the control of microbiological and insect contamination in dried lemon balm: Hygienic and quality aspects. *Food Control* 2022;142:109242.
9. Ingegno BL, Tavella L. Ozone gas treatment against three main pests of stored products by combination of different application parameters. *J Stored Prod Res* 2022;95:101902.
10. Sudheer S, Yeoh WK, Manickam S, Ali A. Effect of ozone gas as an elicitor to enhance the bioactive compounds in *Ganoderma lucidum*. *Postharvest Biol Technol* 2016;117:81–8.
11. Bacteriological Analytical Manual (BAM) [Internet]. [cited 2023 Apr 2]. Bacteriological Analytical Manual (BAM). Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
12. AOAC 991.14-1994(2002), Coliform and *Escherichia coli* counts in [Internet].

2015. [cited 2023 Apr 2]. Available from: http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&products_id=849
13. ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020, Microbiology of the food chain Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella [Internet]. 2017. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <https://www.iso.org/standard/76671.html#lifecycle>
14. BAM Chapter 18: Yeasts, Molds and Mycotoxins [Internet]. 2022. [cited 2023 Apr 2]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins>
15. Czernicka L, Grzegorzczak A, Marzec Z, Antosiewicz B, Malm A, Kukula-Koch W. Antimicrobial Potential of Single Metabolites of *Curcuma longa* Assessed in the Total Extract by Thin-Layer Chromatography-Based Bioautography and Image Analysis. *Int J Mol Sci* 2019 19;20(4):898.
16. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2564 เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานค่าความบริสุทธิ์ หรือคุณลักษณะอื่นอันมีความสำคัญต่อคุณภาพสำหรับตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขึ้นทะเบียน แจ้งรายละเอียด หรือจดแจ้ง พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 138, ตอนพิเศษ 294 ง (ลงวันที่ 1 ธันวาคม 2564).

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 (2567): มกราคม – เมษายน
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 31 No. 1 (2024): January – April

การตรวจสอบความเป็นพิษเฉพาะจากที่อกซินไอกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงของเซลล์รังไข่หนูแฮมสเตอร์จีน

อภิชัย ศุภสารสาทร¹ สุภาภรณ์ ชุมพล¹ สุกัลยาณี ไชยมี¹ วิริยามาตย์ เจริญคุณธรรม¹ สุภาพร ภูมิอมร¹¹สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรีที่อยู่ติดต่อ: อภิชัย ศุภสารสาทร สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
apichai.s@dmisc.mail.go.th

Specific Toxicity Testing of Residual Pertussis Toxin in Acellular Pertussis Vaccine Using Chinese Hamster Ovary Cells

Apichai Supasansatorn¹, Supaporn Chumpol¹, Sukanlayanee Chaimee¹, Wereyamarst Jaroenkunathum¹,
Supaporn Phumiamorn¹¹Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Nonthaburi, Thailand**Contact address:** Apichai Supasansatorn, Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Mueang District, Nonthaburi, 11000, Thailand, apichai.s@dmisc.mail.go.th**Received:** 8 August 2022, **Revised:** 6 March 2024, **Accepted:** 15 March 2024

Abstract

Background: Pertussis is prevented by a combined acellular pertussis vaccine that contains Pertussis Toxoid (PTs) and Filamentous Haemagglutinin (FHA) as the main constituents. PTd is an inactivated Pertussis toxin (PT). The specific toxicity test of residual PT remaining in the vaccine must be controlled in order to meet the standard requirements to ensure the safety of vaccines. Some traditional methods were tested toxicity in mice which caused animal suffering. Therefore, the alternative CHO cell assay was developed for replacement of animal testing by In vitro assay following 3Rs concept. CHO-K1 cells had a specific response to PT. Then, the exposure of residual PT caused CHO-K1 cells morphological changes to rosette their shapes.

Objectives: To develop and use this as the alternative method for the determination of specific toxicity of PT in the combined vaccine which contains acellular pertussis by Chinese Hamster Ovary (CHO) cell assay by monitoring residual PT in finished product.

Methods: A validation method study of specific toxicity of PT in combined vaccine which contains acellular pertussis by CHO cell assay was conducted. The qualitative assay was examined in two parameters of specificity and limits of detection which was based on the international ICH guideline. One sample of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, acellular pertussis combined vaccine (Tdap) was used to study optimal conditions and examined the validity of the method.

Results: The results of validation with pertussis toxin (JN1H-5, NIBSC) were proved that the methods were specific to pertussis toxin that showed rosette-shaped clusters of CHO cells. The lowest limit of detection of pertussis toxin was 0.0015 IU/mL. One sample of Diphtheria -Tetanus - acellular Pertussis Vaccine combined vaccine was removed adjuvant and was tested by CHO cell assay. The negative presented results indicated that the vaccine sample absented residual pertussis toxin.

Conclusion: This assay was appropriate to be adapted as a standard method for specific toxicity based on residual pertussis toxin in a combined vaccine containing acellular pertussis in both local and imported vaccine products.

Keywords: acellular pertussis vaccine, pertussis toxin, specific toxicity, Chinese Hamster Ovary (CHO) cell

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: โรคไอกรนสามารถป้องกันได้ด้วยวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์ (Acellular pertussis: aP) ที่มี Pertussis toxoid (PTd) และ Filamentous Haemagglutinin (FHA) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่ง PTd คือท็อกซอยด์ที่ได้มาจากการทำให้ Pertussis toxin (PT) หมดความเป็นพิษลง เพื่อให้มั่นใจในความปลอดภัยของวัคซีน จึงต้องควบคุมระดับความเป็นพิษจาก PT ที่อาจหลงเหลืออยู่ในวัคซีน ให้ตามข้อกำหนดมาตรฐาน โดยการทดสอบ Specific toxicity ที่ใช้หนูถีบจักรเป็นสัตว์ทดลอง (*In vivo*) แต่ก่อให้เกิดความทรมานต่อสัตว์ทดลอง ดังนั้นวิธีทางเลือก Chinese Hamster Ovary (CHO) cell assay จึงได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อทดแทนการใช้สัตว์ทดลองตามหลักการ 3R โดยเซลล์ CHO-K1 มีความจำเพาะต่อ PT หากพบ PT หลงเหลืออยู่ ส่งผลทำให้เซลล์ CHO-K1 เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเกาะกลุ่มคล้ายรูปดอกกุหลาบ

วัตถุประสงค์: เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษจากท็อกซินไอกรนในวัคซีนรวมสำเร็จรูปที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบโดยใช้วิธีทางเลือก CHO cell assay สำหรับใช้ตรวจติดตามท็อกซินไอกรนที่อาจหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์วัคซีน

วิธีการวิจัย: ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ความเป็นพิษเฉพาะจากท็อกซินไอกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง CHO cells ซึ่งเป็นวิธีตรวจสอบในเชิงคุณภาพจึงดำเนินการศึกษาความถูกต้องของวิธีใน 2 พารามิเตอร์ คือ การตรวจสอบความจำเพาะของวิธี และขีดจำกัดของการตรวจพบ โดยอ้างอิงตามข้อกำหนดสากล ICH guideline เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมและความถูกต้องของวิธี และดำเนินการทดสอบความเป็นพิษเฉพาะจากท็อกซินไอกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวม Tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, acellular pertussis vaccine (Tdap) จำนวน 1 ตัวอย่าง

ผลการศึกษา: ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีด้วยสารมาตรฐานท็อกซินไอกรน (JN1H-5, NIBSC) พบว่าวิธีมีความจำเพาะต่อท็อกซินไอกรน พบการเกาะกลุ่มของเซลล์เป็นรูปดอกกุหลาบอย่างชัดเจน จึงเป็นวิธีที่มีความจำเพาะ และขีดจำกัดของปริมาณ PT ต่ำสุดที่สามารถตรวจพบจากการอ่านผลการทดสอบ มีค่าเท่ากับ 0.0015 IU/mL และเมื่อนำวิธีมาใช้ทดสอบกับวัคซีนป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยัก และไอกรนชนิดไร้เซลล์ จำนวน 1 ตัวอย่างที่กักตุนสำรองไว้เพื่อทดสอบพบว่าตัวอย่างให้ผลเป็นลบ แสดงว่าวัคซีนตัวอย่างไม่มีท็อกซินไอกรนหลงเหลือ

สรุป: วิธีการตรวจวิเคราะห์ความเป็นพิษเฉพาะจากที่อกซินไกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง CHO cell มีความจำเพาะเหมาะสมสามารถนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการดำเนินการตรวจวิเคราะห์ความเป็นพิษเฉพาะจากที่อกซินไกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไกรนชนิดไร้เซลล์ทั้งผลิตภัณฑ์วัคซีนภายในประเทศและนำเข้ามาจากต่างประเทศได้

คำสำคัญ: วัคซีนไกรนชนิดไร้เซลล์ ที่อกซินไกรน ความเป็นพิษเฉพาะ เซลล์เพาะเลี้ยง Chinese Hamster Ovary (CHO)

บทนำ

โรคไกรน (Pertussis) เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Bordetella pertussis* ซึ่งก่อโรคในคนเท่านั้น โรคไกรนในเด็กโตและผู้ใหญ่ มักมีอาการไม่รุนแรง และแยกได้ยากจากการติดเชื้ออื่น ๆ ที่ทำให้มีอาการของระบบทางเดินหายใจ แต่ในเด็กเล็กอาการไกรจะรุนแรงจนหยุดหายใจ และมีอาการไอแบบ paroxysms (ไอเป็นชุด ๆ อย่างรุนแรง) อาการหายใจเข้ามีเสียงดัง (whooping) และจากข้อมูลรายงานผู้ป่วยสงสัยโรคคอตีบในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2560 พบว่าได้รับรายงานผู้ป่วยจำนวน 32 ราย อัตราป่วย 0.01 ต่อประชากรแสนคน โดยมีผู้ป่วยเสียชีวิต 1 ราย¹

วัคซีนไกรนผลิตจากแอนติเจนของเชื้อไกรนที่นำมาผลิตวัคซีน ได้แก่ Pertussis toxin (PT), Filamentous hemagglutinin (FHA), Pertactin (PRN) และ Fimbria agglutinin (FIM) ซึ่งวัคซีนมี 2 ชนิด ได้แก่ วัคซีนไกรนชนิดทั้งตัวเซลล์ (whole cell: wP) และวัคซีนไกรนชนิดไร้เซลล์ (acellular: aP) ซึ่งเป็นวัคซีนที่ผลิตจากส่วนสารสกัดเฉพาะบางส่วนของตัวเชื้อไกรน

ตั้งแต่ 2 ถึง 4 ส่วนประกอบที่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้ โดยจะมี PT และ FHA เป็นส่วนประกอบหลัก และใช้ร่วมกับที่อกซอยด์ของเชื้อคอตีบและบาดทะยักเป็นวัคซีนรวมคอตีบ-บาดทะยัก-ไกรนชนิดไร้เซลล์ (Diphtheria-tetanus-acellular pertussis vaccine: Tdap) ข้อดีของวัคซีนไกรนชนิดไร้เซลล์ (aP) อาการไม่พึงประสงค์จากการใช้วัคซีนน้อยกว่าวัคซีนชนิดทั้งเซลล์ (whole cell)¹

ในการผลิตวัคซีนต้องผ่านการตรวจสอบคุณภาพวัคซีนทางห้องปฏิบัติการจากผู้ผลิต และผ่านการทดสอบด้านความปลอดภัย (safety) การทดสอบด้านประสิทธิภาพ (efficacy) และการทดสอบด้านเคมี-กายภาพ (Physical-chemistry) และได้รับการอนุญาตขึ้นทะเบียนจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ทั้งนี้วัคซีนของแต่ละบริษัทจะมีความแตกต่างกัน ได้แก่ ความหลากหลายของสายพันธุ์ตัวเชื้อไกรน วิธีที่ใช้ในการผลิต วิธีการทำให้ PT หมดพิษ (detoxified) กลายเป็น Pertussis toxoid (PTxd) และปริมาณ PT และ

FHA ที่ใช้ผลิตวัคซีน ทำให้วัคซีนมีข้อกำหนดของผลิตภัณฑ์ต่างกัน (product-specification) ส่งผลต่อประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัคซีนที่ผู้บริโภครจะได้รับ การควบคุมคุณภาพวัคซีน

อย่างไรก็ตามการทดสอบด้านความปลอดภัยและประสิทธิภาพของวัคซีน จำเป็นต้องใช้สัตว์ทดลองเป็นจำนวนมากในการทดสอบต่อครั้งเพื่อการทดสอบความเป็นพิษ (Abnormal toxicity) ความเป็นพิษเฉพาะ (Specific toxicity) และความแรงหรือการทดสอบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Potency/Immunogenicity test) ของวัคซีน ดังนั้นการลดการใช้สัตว์ทดลองลงในการทดสอบผลิตภัณฑ์ เป็นเรื่องที่ควรดำเนินการให้สอดคล้องตามหลักนโยบาย 3Rs (Replacement, Reduction and Refinement) ที่ ลด ละ เลิก การใช้สัตว์ทดลอง² ซึ่งการตรวจสอบความเป็นพิษเฉพาะจากท็อกซินไอกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง Chinese Hamster Ovary (CHO)⁴⁻⁵ เป็นการทดสอบที่สามารถนำมาปรับใช้แทนวิธีการทดสอบความเป็นพิษเฉพาะจากท็อกซินไอกรนชนิดไร้เซลล์ที่ใช้สัตว์ทดลอง โดยการตรวจสอบความเป็นพิษจากท็อกซินไอกรนในวัคซีนไอกรนชนิดไร้เซลล์ โดยใช้เซลล์ CHO-K1 ที่ใช้ในการตรวจหา pertussis toxin (PT) ที่อาจหลงเหลืออยู่ใน purified pertussis bulk หลังจากผ่านกระบวนการทำให้หมดพิษ (detoxification) โดยองค์การอนามัยโลก³ กำหนดให้เป็นวิธีทดสอบ

ทางเลือกสำหรับติดตามความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ (in-house monitoring pertussis toxicity) แต่มีข้อจำกัดของวิธีคือ สารเสริมฤทธิ์ (Aluminium adjuvant) ในวัคซีนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ CHO-K1 จึงเป็นที่มาในการพัฒนาวิธีตรวจสอบความเป็นพิษจากท็อกซินไอกรนที่ใช้ทดสอบในวัคซีน (final product) เพื่อใช้ทดแทนการทดสอบในสัตว์ทดลองตามหลัก 3Rs และนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานตรวจสอบความเป็นพิษจากท็อกซินไอกรนในผลิตภัณฑ์วัคซีนรวมสำเร็จรูปได้ โดยปัจจุบันยังไม่มีการนำมาใช้ทดสอบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัคซีนชนิดนี้ มีเพียงข้อมูลจากงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศเท่านั้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษจากท็อกซินไอกรนในวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบโดยใช้วิธีทางเลือก CHO cell assay
2. เพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบคุณภาพด้านความปลอดภัยของวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์

ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยศึกษาความถูกต้องของวิธีด้วยสารมาตรฐาน WHO International Standard Bordetella Pertussis Toxin

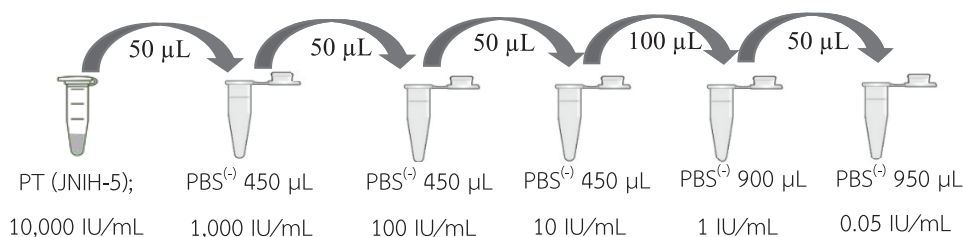
(LPF) PT 1st NIBSC Code: JN1H-5 และตัวอย่าง
วัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์ tetanus toxoid,
reduced diphtheria toxoid, acellular
pertussis vaccine (Tdap) เป็นองค์ประกอบ
จำนวน 1 ตัวอย่าง ใช้เซลล์เพาะเลี้ยง Chinese
Hamster Ovary (CHO-K1) ทำการตรวจสอบ
3 ซ้ำที่เป็นอิสระต่อกันใน 1 ชุดการทดสอบ

ขั้นตอนการศึกษา

1. นำตัวอย่างวัคซีนวัคซีนไอกรนชนิด
ไร้เซลล์ จำนวน 3 ขวด ขวดละ 0.5 mL รวมเป็น
ปริมาตร 1.5 mL มาผสมกันด้วย vortex mixer
จนเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenized vaccine)
ดูดวัคซีนปริมาตร 0.5 mL ใส่ใน Protein LoBind
tube ขนาด 1.5 mL เติม 10% W/V Solution of
tri-sodium citrate in 2xPBST ปริมาตร 0.5 mL
ลงไป ผสมกันด้วย vortex mixer บ่มที่อุณหภูมิ
37°C เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง นำออกมาผสมกัน
ด้วย vortex mixer แล้วจึงปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 rpm
เป็นเวลา 2 นาที เก็บส่วนใส (supernatant)

ที่ได้ใน Protein Lo-bind tube ขนาด 1.5 mL
ทำการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่าง 1:10
ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ F-12K medium ที่เติม 10%
(w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin
โดยเติม supernatant ปริมาตร 300 μ L ลงในอาหาร
เลี้ยงเซลล์ F-12K medium ปริมาตร 1,200 μ L
แบ่งตัวอย่างที่ผ่านการเจือจาง 1:10 ออกเป็น 2 ส่วน
คือ Unspiked และ Spiked sample โดย
Unspiked sample คือ ตัวอย่างวัคซีนที่ไม่เติม
PT ลงไป ขณะที่ Spiked sample คือ ตัวอย่าง
วัคซีนที่เติม PT ลงไป โดยเติม PT ความเข้มข้น
2 IU/mL ปริมาตร 16.25 μ L ลงในตัวอย่างวัคซีน
ปริมาตร 633.75 μ L ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเก็บ
ที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนการทดสอบ

2. เตรียมสารมาตรฐานเพื่อใช้เป็น positive
control ทำการเจือจาง WHO International
Standard Bordetella Pertussis Toxin (LPF)
PT 1st NIBSC Code: JN1H-5 ด้วย PBS(-) ให้ได้
ความเข้มข้นตั้งต้น 0.05 IU/mL ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 แบบการเจือจาง WHO International Standard Bordetella pertussis toxin (LPF) PT 1st
NIBSC Code: JN1H-5 ด้วย PBS⁽⁻⁾

3. เตรียมเพลททดสอบ โดยเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ F-12K medium ที่เติม 10% (w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin ปริมาตร หลุมละ 100 μ l ลงในเพลท Sterile Tissue culture 96 wells plate, Flat bottom with Lid ในแถว B ถึง H ตั้งแต่คอลัมน์ที่ 1-9 เติมนสารมาตรฐาน (Positive control) ซึ่งเตรียมได้จากข้อ 10.3.1 ปริมาตร 200 μ l ลงในเพลททดสอบ ตำแหน่ง A1, A2 และ A3 (3 ซ้ำ) เติมน Spiked sample ซึ่งเตรียมได้จากข้อ 10.2.9 ปริมาตร 200 μ l ลงในเพลททดสอบตำแหน่ง A4, A5 และ A6 (3 ซ้ำ) เติมน Unspiked sample ซึ่งเตรียมได้จากข้อ 10.2.8 ปริมาตร 200 μ l ลงในเพลททดสอบตำแหน่ง A7, A8 และ A9 (3 ซ้ำ) เจือจางสารมาตรฐานด้วย F-12K medium ที่เติม 10% (w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin โดยเจือจางแบบ 2-fold serial dilution เริ่มจากแถว A ถึง G ในคอลัมน์ที่ 1, 2 และ 3 จะได้ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 7 ค่า ได้แก่ 0.05, 0.025, 0.0125, 0.0063, 0.0031, 0.0016 และ 0.0008 IU/mL เจือจาง Spiked sample ด้วย F-12K medium ที่เติม 10% (w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin โดยเจือจางแบบ 2-fold serial dilution เริ่มจากแถว A ถึง G ในคอลัมน์ที่ 4, 5 และ 6 จะได้ความเข้มข้นท้ายสุดที่ spiked PT ลงไป เท่ากับ 0.05, 0.025, 0.0125, 0.0063, 0.0031, 0.0016 และ 0.0008 IU/mL เจือจาง Unspiked sample ด้วย F-12K medium ที่เติม

10% (w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin โดยเจือจางแบบ 2-fold serial dilution เริ่มจากแถว A ถึง G ในคอลัมน์ที่ 7, 8 และ 9 จะได้ระดับเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างวัคซีน 1:10-1:640

4. เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง นำเซลล์ CHO-K1 เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร F-12K ที่เติม 10% (w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin บ่มในตู้บเพาะเชื้อแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37°C โดยทำการ passage cell 1:10 แล้วนำไปบ่มในตู้บเพาะเชื้อแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง ย่อยเซลล์ด้วย 0.05% Trypsin-EDTA solution นาน 1-2 นาทีแล้ว re-suspense ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ F-12K ที่เติม 10% (w/v) FBS และ 1% Penicillin-Streptomycin นับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตโดยวิธี Trypan blue exclusion ด้วย hemacytometer และปรับความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 2×10^4 cells/mL

5. ทดสอบ โดยเติมเซลล์ CHO-K1 ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 μ l ลงในเพลททดสอบ โดยเติมเซลล์ลงทุกหลุมในตำแหน่ง A1-A9 จนถึง H1-H9 และก่อนนำเพลทไปบ่มโดยตั้งทิ้งไว้เพื่อความสะดวกในการมองเห็นสัณฐานวิทยาของเซลล์ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำเพลททดสอบไปบ่มในตู้บเพาะเชื้อแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ incubator) อุณหภูมิ 37°C นาน 40-48 ชั่วโมง การอ่านผล เมื่อครบเวลา นำเพลททดสอบเคาะเอาอาหารเลี้ยงเซลล์ และล้างเซลล์ 1 รอบด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ F-12K medium ที่ไม่เติม

FBS แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ F-12K medium ที่ไม่เติม FBS ปริมาตร 200 ul ต่อหลุม แล้วจึงนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ phase contrast ที่กำลังขยายเลนส์ใกล้วัตถุ 10x เพื่อสังเกตลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เพาะเลี้ยง CHO-K1 หากพบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 เป็นรูปดอกกุหลาบมากกว่าหรือเท่ากับ 10 clustering ขึ้นไป ให้รายงานผลเป็นบวก (+) ในขณะที่หากไม่พบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 หรือพบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 เป็นรูปดอกกุหลาบน้อยกว่าหรือเท่ากับ 9 clustering ให้รายงานผลเป็นลบ (-)

6. ศึกษาความถูกต้องของวิธี (Validation method)⁴ โดยการตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity) นำ WHO 1st International standard for pertussis toxin (JN1H-5) มาเตรียมให้มีความเข้มข้น 1 IU/mL มาเติม (spike) ลงในตัวอย่างวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์ (Tdap) โดยเติมลงในอัตราส่วน 1:10 (V/V) เพื่อทดสอบความจำเพาะของวิธีด้วยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์ CHO-K1 ทำการทดสอบพร้อมกับ Positive control (สารมาตรฐาน WHO 1st International standard for pertussis toxin; NIBSC code JN1H-5), Negative control (F-12K Medium) และตัวอย่างวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์ (Tdap) ที่ไม่มีการ spike PT โดยทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีทดสอบ 3 ซ้ำ ใน 1 ชุดการทดสอบ และผู้อ่านผลการทดสอบจำนวน 3 คน โดยมีเกณฑ์การทดสอบดังนี้

1. Positive control (JN1H-5, NIBSC) ต้องตรวจพบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 เป็นรูปดอกกุหลาบ (rosette shapes) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 กลุ่ม ภายใน 1 หลุมทดสอบ แสดงว่าเป็นผลบวก (ต้องเกิดผลบวกเท่านั้น)

2. Negative control (อาหารเลี้ยงเซลล์) ต้องไม่พบการเกาะกลุ่มรูปดอกกุหลาบของเซลล์ CHO-K1 หากพบการเกาะกลุ่มต้องมีจำนวนน้อยกว่าหรือเท่ากับ 9 กลุ่ม ภายใน 1 หลุมทดสอบ แสดงว่าเป็นผลลบ (ต้องเกิดผลลบเท่านั้น)

3. ตัวอย่างวัคซีนที่มีการ spike pertussis toxin ต้องตรวจพบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 เป็นรูปดอกกุหลาบ (rosette shapes) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 กลุ่ม ภายใน 1 หลุมทดสอบ แสดงว่าเป็นผลบวก (ต้องเกิดผลบวกเท่านั้น)

4. ตัวอย่างวัคซีนที่ไม่มีการ spike ต้องไม่พบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 รูปดอกกุหลาบ หากพบการเกาะกลุ่มต้องมีจำนวนน้อยกว่าหรือเท่ากับ 9 กลุ่ม ภายใน 1 หลุมทดสอบ แสดงว่าเป็นผลลบ (ต้องเกิดผลลบเท่านั้น)

และตรวจสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection) โดยนำ WHO 1st International standard for pertussis toxin เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งต้นเท่ากับ 4 IU/mL ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ F-12K แล้วทำการเจือจาง PT reference ต่อเนื่องแบบ Two-fold serial dilution ให้มีความเข้มข้น 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.0063, 0.0031, 0.0016, 0.0008, 0.0004 และ 0.0002 IU/mL และ

ทำการทดสอบเทียบกับ Negative control ซึ่งการตรวจสอบขีดจำกัดของวิธีดำเนินการทดสอบ จำนวน 3 ครั้ง เป็นอิสระต่อกัน โดยทำการทดสอบ ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และผู้อ่านผลการทดสอบ จำนวน 3 คน อ่านค่า LOD จากระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ต้องตรวจพบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 เป็นรูปคล้ายดอกกุหลาบ (rosette shapes) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 กลุ่ม ภายใน 1 หลุมทดสอบ แสดงว่าผลเป็นบวก

ผลการศึกษา

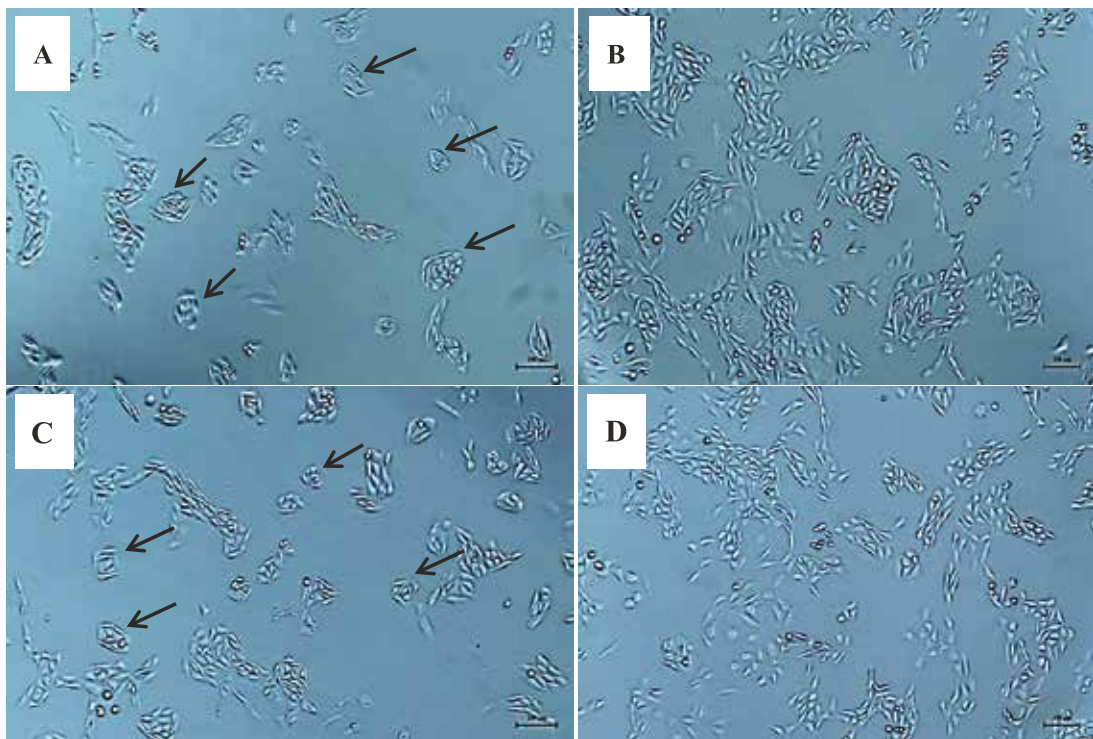
ผลการตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity)

พบว่า ผู้วิเคราะห์ทั้ง 3 ท่าน อ่านผลการทดสอบตรงกัน กล่าวคือ Positive control (JN1H-5, NIBSC) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 0.05 IU/mL พบว่าผู้อ่านผลการทดสอบทั้ง 3 ท่าน ตรวจพบการเกาะกลุ่มของเซลล์เป็นรูปคล้าย

ดอกกุหลาบ (rosette shape) มากกว่า 10 กลุ่ม/ หลุมทดสอบ จึงรายงานผลเป็นบวก (+) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 2A) Negative control (อาหารเลี้ยงเซลล์) พบว่าผู้อ่านผลการทดสอบทั้ง 3 ท่าน ตรวจไม่พบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 จึงรายงานผลเป็นลบ (-) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 2B) ตัวอย่างวัคซีน วัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์ (Tdap) ที่มีการ spike pertussis toxin ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 0.05 IU/mL พบว่าผู้อ่านผลการทดสอบทั้ง 3 ท่าน ตรวจพบการเกาะกลุ่มของเซลล์เป็นรูปคล้ายดอกกุหลาบ (rosette shape) มากกว่า 10 กลุ่ม/ หลุมทดสอบ จึงรายงานผลเป็นบวก (+) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 2C) ในขณะที่ตัวอย่างวัคซีน วัคซีนรวมที่ไม่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์ (Tdap) ที่ไม่มีการ spike pertussis toxin พบว่าผู้อ่านผลการทดสอบทั้ง 3 ท่าน ตรวจไม่พบการเกาะกลุ่มของเซลล์ CHO-K1 จึงรายงานผลเป็นลบ (-) (ตารางที่ 1 และรูปที่ 2D)

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาคความจำเพาะของวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษเฉพาะจากที่อกชินไอกรน ที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ ด้วยวิธี CHO cell assay

ผู้อ่านผลการทดสอบ	คนที่ 1			คนที่ 2			คนที่ 3		
ตัวอย่าง	การตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity)								
จำนวนซ้ำ	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Positive control (0.05 IU/mL)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Spiked PT in vaccine (0.05 IU/mL)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Unspiked vaccine	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Negative control	-	-	-	-	-	-	-	-	-



รูปที่ 2 ผลการศึกษาความจำเพาะของวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษเฉพาะจากท็อกซินไอกรนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอกรนชนิดไร้เซลล์เป็นองค์ประกอบ ด้วยวิธี CHO cell assay โดยรูป A: Positive control (0.05 IU/mL), B: Negative control, C: Spiked PT in vaccine (0.05 IU/mL) และ D: Unspiked vaccine ลูกศรสีดำแสดงตัวอย่างตำแหน่งที่พบการเรียงตัวของเซลล์ CHO-K1 การเกาะกลุ่มเป็นรูปดอกกุหลาบ (rosette shape)

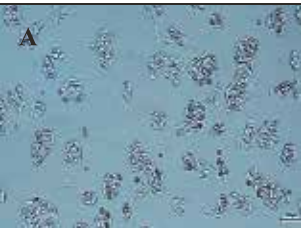
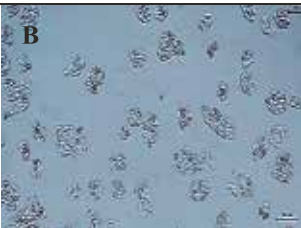
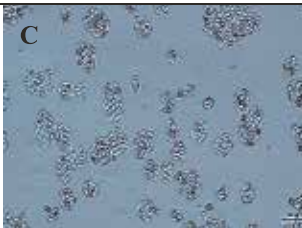
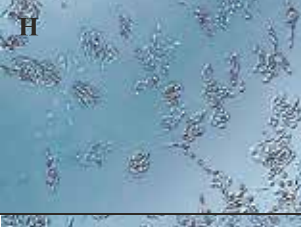
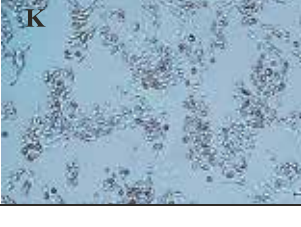
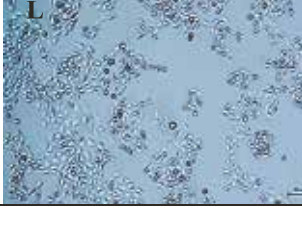
ผลการตรวจสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection)

จากการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบปริมาณท็อกซินไอกรนด้วยวิธีทดสอบ CHO cell assay พบว่าผู้อ่านผลการทดสอบแต่ละท่านสังเกตเห็นการเกาะกลุ่มเป็นรูปดอกกุหลาบในแต่ละซ้ำของการทดสอบที่แตกต่างกัน ซึ่งมีการตรวจพบปริมาณ PT ต่ำสุดเท่ากับ 0.0008 IU/mL (รูปที่ 3) เมื่อคำนวณค่าเฉลี่ยจากทั้ง 3 ครั้งของการทดสอบพบว่ามีความเฉลี่ยเท่ากับ 0.0015 IU/mL (ตารางที่ 2)

โดยการทดสอบในแต่ละครั้งปริมาณ PT ต่ำสุดของการตรวจพบจะอยู่ในช่วง 0.0008–0.0031 IU/mL เนื่องจากการทดสอบ bioassay ที่ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงในการทดสอบ โดยสังเกตการตอบสนองของเซลล์ CHO-K1 ต่อสาร PT และการตอบสนองของเซลล์ในแต่ละครั้งของการทดสอบอาจแตกต่างกัน อีกทั้งผู้อ่านแต่ละท่านมีการสังเกตและนับจำนวนเซลล์รูปดอกกุหลาบที่อาจแตกต่างกันได้ แต่ต้องไม่แตกต่างกันเกินกว่า 2 ระดับการเจือจางความเข้มข้นตามเกณฑ์ที่ยอมรับ (WHO/IVB/11.11, 2013)³

ตารางที่ 2 ผลตรวจสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection) ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง

ผู้อ่านผลการทดสอบ			คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	ค่าเฉลี่ยในแต่ละครั้ง
ครั้งที่	วันที่	วันที่	ขีดจำกัดของการตรวจพบ PT			ของการทดสอบ
ทดสอบ	ทดสอบ	อ่านผล	(IU/mL)			(IU/mL)
1	08/02/64	10/02/64	0.0011	0.0023	0.0011	0.0015
2	02/03/64	04/03/64	0.0008	0.0011	0.0008	0.0009
3	15/03/64	17/03/64	0.0016	0.0026	0.0021	0.0021
ค่าเฉลี่ยทั้ง 3 ครั้งของการทดสอบ			0.0012	0.0020	0.0013	0.0015

PT (IU/mL)	The study of limit of detection of pertussis toxin by CHO cell assay		
A = 0.4 B = 0.2 C = 0.1			
D = 0.05 E = 0.025 F = 0.0125			
G = 0.0063 H = 0.0031 I = 0.0016			
J = 0.0008 K = 0.0004 L = 0.0002			

รูปที่ 3 ผลการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบปริมาณ pertussis toxin (JN1H-5, NIBSC) ด้วยวิธีทดสอบ CHO cell assay

อภิปรายผล

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบความเป็นพิษจากที่อกซินไอรอนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอรอนชนิดไรเซิลเป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง CHO-K1 ในการทดสอบ เป็นรายการทดสอบในเชิง semi-qualitative สังเกตผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ CHO-K1 หากมี PT หลงเหลือในวัคซีน เซลล์ CHO-K1 จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างเกาะกลุ่มคล้ายรูปดอกกุหลาบ (rosette shapes) ซึ่งจากทฤษฎีข้างต้น ทางคณะผู้วิจัยจึงดำเนินการศึกษาพัฒนาวิธีทดสอบเพื่อนำมาใช้ในการตรวจหา PT ที่อาจหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์วัคซีนสำเร็จรูป โดยหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบ พบว่าจำนวนเซลล์ CHO-K1 ที่เหมาะสมในเพลท 96 หลุม คือ 2×10^4 cells/mL และระยะเวลาในการอ่านผลคือ 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับผลงานวิจัยของ Isbrucker et al., 2016⁵ และ Wagner et al., 2017⁶ ซึ่งศึกษาวิธีทดสอบ CHO cell assay เพื่อนำมาใช้ในการตรวจหา PT ที่อาจหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์วัคซีนสำเร็จรูป พบว่าความเข้มข้นเซลล์ CHO-K1 ที่เหมาะสมเท่ากับ 2×10^4 cells/mL เนื่องจากจำนวนเซลล์ที่เหมาะสมจะส่งผลให้สังเกตการเกิดเซลล์เกาะกลุ่มรูปดอกกุหลาบเมื่อตรวจพบ PT ได้ อย่างชัดเจน และระยะเวลาในการอ่านผลควรอ่านผลภายในช่วง 40-48 ชั่วโมง เนื่องจากหากบ่มเพลททดสอบเกินกว่า 48 ชั่วโมงทำให้สังเกตผลการเกาะกลุ่มของเซลล์เป็นรูปดอกกุหลาบยาก ซึ่งเป็นผลมาจากเซลล์สามารถเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นได้ตามปกติจนไม่สามารถสังเกตเห็นเซลล์

เกาะกลุ่มรูปดอกกุหลาบได้ ดังนั้นระยะเวลาในการอ่านผลที่เหมาะสมคือ 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาเดียวกันกับการศึกษาของงานวิจัยอื่น⁵⁻⁶ และเมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบคณะผู้วิจัยดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีใน 2 พารามิเตอร์ ได้แก่ การตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity) และขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection) ซึ่งดำเนินการตามข้อกำหนดมาตรฐาน⁵ ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมพบว่า และผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีด้วยสารมาตรฐานที่อกซินไอรอน (JN1H-5, NIBSC) พบว่าวิธีมีความจำเพาะต่อที่อกซินไอรอน พบการเกาะกลุ่มของเซลล์เป็นรูปดอกกุหลาบอย่างชัดเจน และขีดจำกัดความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจพบจากการอ่านผลได้เท่ากับ 0.0015 IU/ml และเมื่อนำวิธีมาใช้ทดสอบกับวัคซีนรวมที่มีไอรอนชนิดไรเซิลเป็นองค์ประกอบ พบว่าตัวอย่างให้ผลเป็นลบ แสดงว่าวัคซีนตัวอย่างไม่มีที่อกซินไอรอนหลงเหลืออยู่

สรุปผล

จากผลการศึกษาวิธีตรวจสอบความเป็นพิษจากที่อกซินไอรอนที่หลงเหลือในวัคซีนรวมที่มีไอรอนชนิดไรเซิลเป็นองค์ประกอบ โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงด้วยวิธี CHO cell assay มีความจำเพาะของวิธี พบการเกาะกลุ่มของเซลล์เป็นรูปดอกกุหลาบชัดเจน และขีดจำกัดของการตรวจพบ PT ได้ต่ำสุด 0.0015 IU/ml วิธีนี้จึงเป็นวิธีทางเลือกเพื่อใช้ทดแทนการทดสอบในสัตว์ทดลองตามหลัก 3Rs และนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานตรวจความเป็นพิษจากที่อกซินไอรอนในผลิตภัณฑ์วัคซีนรวมได้

ข้อเสนอแนะ

วิธี CHO cell assay มีข้อจำกัดคือ สารเสริมฤทธิ์ที่มีอยู่ในวัคซีนรวมต้องมีปริมาณ ไม่มากกว่า 1.5 mg/dose จึงสามารถนำมาทดสอบ โดยวิธีนี้ได้ เนื่องจากสารเสริมฤทธิ์ในวัคซีนทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง CHO และ สารเสริมฤทธิ์ในวัคซีนแต่ละตำรับมีปริมาณไม่เท่ากัน จึงต้องมีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในแต่ละ ตำรับยาก่อนนำมาใช้ในการตรวจสอบความเป็นพิษ เฉพาะจากที่ออกซินไฮดรอกซีที่หลงเหลืออยู่ในวัคซีน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการสนับสนุนการดำเนินงาน ในทุกด้าน

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคป้องกันด้วยวัคซีน กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ตำราวัคซีนและการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค ปี 2562. กรุงเทพฯ: เวิร์คพรีนติ้ง จำกัด; 2562.
2. Lilley E, Isbrucker R, Ragan I, Holmes A. Integrating 3Rs approaches in WHO guidelines for the batch release testing of biologicals. *Biologicals* 2021;(74): 24-7.
3. World Health Organization. Chapter IV. 2.2.1 Chinese Hamster Ovary (CHO) cells assay for pertussis toxin. In: *Manual for Quality Control of Diphtheria, Tetanus and Pertussis Vaccines*. Geneva; 2013. p. 192-7.
4. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use [Internet]. 2005. [cited 2020 Dec 18]:1-17. Available from: [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2\(R1\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2(R1).pdf)
5. Isbrucker R, Daas A, Wagner L, Costanzo, A. Transferability study of CHO cell clustering assays for monitoring pertussis toxin activity in acellular pertussis vaccine. *Pharmeur Bio Sci Notes* 2016; 97-114.
6. Wagner LD, Corvette LJ, Ngundi MM, Burns DL. Towards replacement of the acellular pertussis vaccine safety test: Comparison of in vitro cytotoxic activity and in vivo activity in mice. *Vaccine* 2017;(35): 7160-5.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
Food and Drug Administrationวารสารอาหารและยา
ปีที่ 31 ฉบับที่ 1 (2567): มกราคม – เมษายน
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 31 No. 1 (2024): January – April

การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไขกาทหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA

สุภาภรณ์ ชุมพล¹ สุกัลยาณี ไชยมี¹ อภิชัย ศุภสารสัทธ¹ สุภาพร ภูมิอมร¹¹สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี

ที่อยู่ติดต่อ: สุภาภรณ์ ชุมพล สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 supaporn.c@dmsc.mail.go.th

Method Development and Validation of Identity Test for Meningococcal Conjugate Vaccine by Indirect ELISA

Supaporn Chumpol¹, Sukanlayanee Chaimee¹, Apichai Supasarnsathorn¹, Supaporn Phumiamorn¹¹Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Public Health, Nonthaburi, Thailand**Contact address:** Supaporn Chumpol, Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Mueang District, Nonthaburi, 11000, Thailand, supaporn.c@dmsc.mail.go.th**Received:** 2 December 2023, **Revised:** 14 March 2024, **Accepted:** 14 March 2024

Abstract

Background: An identity test is an important test that is performed on the meningococcal vaccine to verify its identity for quality control of the vaccine. The meningococcal conjugate vaccine consists of purified polysaccharides from *Neisseria meningitidis*, and each serogroup of meningococcal polysaccharide conjugates with a diphtheria toxoid carrier protein that corresponds to the registration dossier, so that vaccine recipients can be confident in the quality of the vaccine according to the product's standards. Therefore, the agency has expanded its ability to validate the identity of meningococcal vaccines. This testing has not been previously available for the quality control service of meningococcal conjugate vaccines.

Objective: To develop and validate method of the identity test of the meningococcal conjugate vaccine for use as standard methods in the laboratory.

Methods: The optimum conditions were determined by the specific reaction between the antigen and the antibody that was suitable for testing. In addition, the method validation was verified for two parameters, including specificity and intermediate precision.

Results: The results of the optimum conditions of the identity test for meningococcal conjugate vaccine by indirect ELISA showed that the optimum dilution level of each antibody has a specified dilution factor. The *N. meningitidis* antiserum group A was diluted at 1:10,000, while the *N. meningitidis* antiserum C, Y, and W135 groups were diluted at 1:5,000, respectively. In addition, this assay must be tested according to the designated plate templates so that it can be a valid analysis because each type of antigen has a specific antibody. Moreover, the result of the validation method was found that this method was highly specific to the reaction between antigen and antibody. These were calculated from the ratio values of each type of antigen, which presented the ratio values in the range of 17.69 - 40.78, while there were no specific reactions between antigen and antibody; the ratio values were very low, in the range of -0.02 - 4.95. Thus, the identity of each antigen can be determined, and there was no cross-reaction among the serogroups. The OD_{450 nm} value of the blank was less than 0.1, which met the acceptance criteria. The results of intermediate precision by two independent analysts showed that the results of both analysts met the criteria, and the average ratios of standard substances and vaccine samples were not significantly different between the two analysts at the 95% confidence interval.

Conclusions: The results of the study revealed that the identity test for the meningococcal conjugate vaccine using the indirect ELISA technique met the requirements for validation. Therefore, it is suitable for use as a standard method for submitting the registration of the meningococcal vaccine in Thailand.

Keywords: Identity test, meningococcal conjugate vaccine, method validation, ELISA technique

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: การตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่น เป็นรายการทดสอบหนึ่งที่มีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพวัคซีน เพื่อยืนยันว่าวัคซีนประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อแบคทีเรีย *Neisseria meningitidis* แต่ละซีโรกรุ๊ปเชื่อมต่อกับที่อกซอยด์เชื้อคอตีบที่ใช้เป็นโปรตีนพาหะ ตรงตามซีโรกรุ๊ปที่ระบุในทะเบียนตำรับยาชีววัตถุ เพื่อสร้างความมั่นใจในคุณภาพของวัคซีนตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นหน่วยงานได้ขยายขีดความสามารถในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่น ซึ่งเป็นรายการทดสอบที่ยังไม่เคยให้บริการมาก่อนสำหรับการตรวจควบคุมคุณภาพวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสม และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการในการตรวจยืนยันเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต

วิธีการวิจัย: การศึกษาสถานะที่เหมาะสมของวิธีด้วยการศึกษาปฏิกิริยาจำเพาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี และศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีในพารามิเตอร์ หัวข้อความจำเพาะ และความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ผลการศึกษา: การศึกษาสถานะที่เหมาะสมของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA พบว่าระดับการเจือจางความเข้มข้นของแอนติบอดีที่เหมาะสมต่อการทดสอบสำหรับแอนติเจนแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยสารแอนติบอดี *N. meningitidis* antiserum group A เตรียมที่ระดับเจือจางความเข้มข้น 1:10,000 ในขณะที่แอนติบอดี *N. meningitidis* antiserum group C, Y และ W135 เตรียมที่ระดับเจือจางความเข้มข้น 1:5,000 ตามลำดับ และวิธีการทดสอบนี้ต้องการทดสอบตามแม่แบบของเพลททดสอบที่กำหนดไว้ จึงสามารถตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์ของวัคซีนได้อย่างถูกต้อง เนื่องจากแอนติเจนแต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อแอนติบอดี และผลการศึกษาความถูกต้องของวิธีนี้ พบว่าวิธีมีความจำเพาะสูง โดยคำนวณจากค่า Ratio ของแอนติเจนแต่ละชนิด ซึ่งมีค่า Ratio อยู่ในช่วง 17.69 – 40.78 ในขณะที่หากไม่เกิดปฏิกิริยาจำเพาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี ค่า Ratio มีค่าน้อยมากอยู่ในช่วง -0.02 – 4.95 จึงสามารถระบุเอกลักษณ์ของแอนติเจนแต่ละชนิดได้อย่างจำเพาะ โดยไม่มีการเกิด cross reaction ข้ามซีโรกรุ๊ปกัน และค่า OD_{450 nm} ของ blank ในเพลททดสอบมีค่าน้อยกว่า 0.1 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด และผลการศึกษาความเที่ยงของวิธี โดยผู้วิเคราะห์ 2 คน ที่เป็นอิสระต่อกัน พบว่าผลการทดสอบทั้ง 2 คนเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด และค่าเฉลี่ย Ratio ของสารมาตรฐานและตัวอย่างวัคซีนจากการทดสอบของนักวิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สรุป: การศึกษานี้พบว่าวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์กำหนด ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความเหมาะสมสำหรับนำวิธีมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ประกอบการขอขึ้นทะเบียนตำรับยาชีววัตถุจำหน่ายในประเทศ

คำสำคัญ: การตรวจสอบเอกลักษณ์ วัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต การตรวจสอบความถูกต้องของวิธี เทคนิค Indirect ELISA

บทนำ

โรคไข้กาฬหลังแอ่นเกิดจากเชื้อ *Neisseria meningitidis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกรัมลบ รูปร่างกลม คล้ายเม็ดรี อยู่กันเป็นคู่ ๆ สามารถแพร่กระจายได้ทางการไอ จาม การสัมผัสกับน้ำมูก น้ำลาย และมักพบในสถานที่ที่คนอยู่รวมกันหนาแน่น และมีสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อมไม่ถูกสุขลักษณะ¹ เชื้อ *N. meningitidis* ถูกจำแนกตามโพลีแซคคาไรด์แคปซูล อย่างน้อย 13 ซีโรกรุ๊ป ได้แก่ A, B, C, E, X, Y, Z, W, H, I, K และ L¹ โดยซีโรกรุ๊ปสำคัญในการก่อโรคในคนมี 6 ซีโรกรุ๊ป คือ ซีโรกรุ๊ป A, B, C, W, X และ Y2 วิธีการป้องกันโรคทำได้โดยการฉีดวัคซีนเพื่อสร้างภูมิคุ้มกัน ซึ่งวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นมีความสำคัญมากสำหรับผู้ที่ต้องเดินทางไปยังต่างประเทศในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคเป็นประจำ โดยผู้ที่จะเดินทางควรได้รับการฉีดวัคซีนก่อนการเดินทาง 7-10 วัน³

วัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่น ที่ใช้ในปัจจุบันผลิตมาจากส่วนโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อแบคทีเรีย *N. meningitidis* โดยวัคซีนป้องกันโรคป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นมี 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดโพลีแซคคาไรด์และชนิดคอนจูเกต แต่ปัจจุบัน

มีการขึ้นทะเบียนเฉพาะวัคซีนชนิดคอนจูเกต เนื่องจากสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยผ่านระบบ T cell dependent เกิดการตอบสนองได้ดีในเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 2 ปี และสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันเมื่อมีการฉีดซ้ำได้⁴ วัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีองค์ประกอบของแอนติเจนจากเชื้อ *N. meningitidis* จำนวน 4 ซีโรกรุ๊ป คือ A, C, Y และ W135 จับกับท็อกซอยด์ของเชื้อคอตีบซึ่งใช้เป็นโปรตีนพาหะ และเพื่อให้ผู้ได้รับวัคซีนมีความมั่นใจในความปลอดภัย และประสิทธิภาพ จึงมีความจำเป็นต้องตรวจสอบคุณภาพให้มีความปลอดภัย และประสิทธิภาพในการป้องกันโรค การตรวจสอบคุณภาพของวัคซีนสามารถตรวจสอบโดยใช้วิธีทางด้านชีวภาพ กายภาพ และเคมีในห้องปฏิบัติการ ซึ่งรายการตรวจสอบเอกลักษณ์ เป็นการตรวจวิเคราะห์หนึ่งที่มีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพวัคซีน⁴ เพื่อยืนยันว่าวัคซีนนั้นประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์ตรงตามซีโรกรุ๊ปที่ระบุในทะเบียนตำรับยาชีววัตถุ และเพื่อสร้างความมั่นใจในคุณภาพของวัคซีนตรงตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ดังนั้น จึงได้ขยาย

ขีดความสามารถทางห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต ซึ่งเป็นรายการทดสอบที่หน่วยงานยังไม่เคยให้บริการมาก่อน ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาสถานะที่เหมาะสม และดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต โดยใช้เทคนิค Indirect ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการสถาบันชีววัตถุต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสม และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต ด้วยเทคนิค Indirect ELISA
2. เพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA

ระเบียบวิธีการวิจัย

สารมาตรฐาน

สารมาตรฐานที่มีความจำเพาะสำหรับแอนติเจนแต่ละชนิด ได้แก่ WHO International standard for Meningococcal serogroup A polysaccharide (13/246, NIBSC), Meningococcal serogroup C polysaccharide

(08/214, NIBSC), Meningococcal serogroup Y polysaccharide (16/206, NIBSC) และ Meningococcal serogroup W135 polysaccharide (16/152, NIBSC)

ตัวอย่าง

วัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต (Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine) จำนวน 1 รุ่นการผลิต และวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต (Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine) จำนวน 1 รุ่นการผลิต ซึ่งเป็นตัวแทนตัวอย่างวัคซีนที่มีการนำเข้ามาวางจำหน่ายในประเทศไทย

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (ELISA reader) ยี่ห้อ Tecan รุ่น Infinite F200 Pro, เครื่องล้างไมโครเพลทอัตโนมัติ ยี่ห้อ BIO-RAD รุ่น ImmunoWash 1575, ตู้บเพาะเชื้ออุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิ 25°C), ตู้ชีวนิรภัย (Biological Safety Cabinet, Class II, BSC Type B2), 96 well plate Maxisorp NUNC-IMMUNO PLATE (Cat. No. 439454, Thermo Fisher Scientific), หลอดทดลองพลาสติกฝาเกลียว ขนาด 15 และ 50 ml, หลอดทดลอง Eppendorf tube ขนาด 1.5 ml, Automatic pipette ขนาด 5-50 µl, 20-200 µl และ 100-1,000 µl และ Multichannel pipette ขนาด 50-300 µl

สารแอนติบอดี

สารแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสำหรับแอนติเจนแต่ละชนิด ได้แก่ *N. meningitidis* antiserum group A (Cat. No. 222281, BD), *N. meningitidis* antiserum group C (Cat. No. 222301, BD), *N. meningitidis* antiserum group Y (Cat. No. 228811, BD), *N. meningitidis* antiserum group W135 (Cat. No. 222531, BD), Rabbit anti-Diphtheria toxin (Ab53828, Abcam), Rabbit anti-Tetanus toxin (Ab53829, Abcam) และ Goat polyclonal antibody to Rabbit IgG (H+L) HRP conjugated (Ab6721, Abcam)

สารเคมีและน้ำยาทดสอบ

สารเคมีและน้ำยาทดสอบที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 10x phosphate buffered saline pH 7.4, 10% normal goat serum (GNS) ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific, bovine serum albumin (BSA) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich, 1x phosphate buffered saline (PBS) pH 7.4 with 0.05% tween 20 (washing buffer), 1x PBS pH 7.4 (diluent), coating buffer for positive control (2 µg/ml BSA in 1x PBS), 1M sulfuric acid (stop solution) ยี่ห้อ Merck และสารสับสเตรท SureBlue Reserve™ TMB 1-Component Microwell Peroxidase Substrate (Cat. No. 5120-0080, KPL)

การตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรค ใช้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA

1. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และสารมาตรฐานใช้สำหรับเคลือบกันเพลททดสอบ ทำการเจือจางตัวอย่างวัคซีนให้มีความเข้มข้นของ meningococcal polysaccharide แต่ละซีโรกรุ๊ป ประมาณ 1 µg/ml ด้วย 1x PBS และเตรียมสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้นของ meningococcal polysaccharide แต่ละซีโรกรุ๊ป ประมาณ 1 µg/ml ด้วย 1x PBS ที่เติม BSA 2 µg/ml หลังจากนั้นเติมตัวอย่างวัคซีน และสารมาตรฐานลงในเพลททดสอบ (96 well plate) เติมน้ำในตำแหน่งที่กำหนดไว้ ปริมาตรหลุมละ 100 µl โดยเพลททดสอบ 1 plate สามารถตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนได้สูงสุด 7 ตัวอย่าง แล้วนำเพลททดสอบไปบ่มที่ตู้บ่ม อุณหภูมิ 25°C นาน 18-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเพลททดสอบล้างด้วย washing buffer หลุมละ 300 µl จำนวน 3 ครั้ง โดยใช้เครื่องล้างไมโครเพลทอัตโนมัติ และเคาะเพลทบนกระดาษซับให้แห้ง

2. ขั้นตอน Blocking plate เติมน้ำ 10% GNS ปริมาตรหลุมละ 100 µl แล้วนำเพลททดสอบไปบ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 25°C นาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเพลททดสอบล้างตามวิธีข้างต้น และเคาะเพลทบนกระดาษซับให้แห้ง

3. ขั้นตอนการเติม Primary antibody เตรียม primary antibody ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนแต่ละซีโรกรุ๊ป โดยเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วย diluent ดังนี้ *N. meningitidis* antiserum group A, Rabbit anti-Diphtheria toxin และ Rabbit anti-Tetanus toxin เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 1:10,000 ส่วน *N. meningitidis* antiserum group C, *N. meningitidis* antiserum group Y และ *N. meningitidis* antiserum group W135 เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 1:5,000 ตามลำดับ แล้วเติม primary antibody ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจน เติมนลงในตำแหน่งที่กำหนดไว้ ปริมาตรหลุมละ 100 μ l แล้วนำเพลททดสอบไปบ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 25°C นาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเพลททดสอบล้างตามวิธีข้างต้น และเคาะเพลทบนกระดาษซับให้แห้ง

4. ขั้นตอนการเติม Secondary antibody เตรียม Goat polyclonal antibody to Rabbit IgG (H+L) HRP conjugated เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 1: 25,000 ด้วย diluent แล้วเติมนลงในเพลททดสอบทุกหลุม ปริมาตรหลุมละ 100 μ l นำเพลททดสอบไปบ่มที่ตู้บ่ม อุณหภูมิ 25°C นาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเพลททดสอบล้างตามวิธีข้างต้น และเคาะเพลทบนกระดาษซับให้แห้ง

5. ขั้นตอนปฏิกิริยาการเกิดสี และการอ่านผล เติมนสารสับสเตรท (TMB substrate)

ปริมาตรหลุมละ 100 μ l ลงในเพลททดสอบทุกหลุม บ่มให้เกิดสีที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที มีการป้องกันแสง หากเกิดปฏิกิริยาจำเพาะระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีตรวจติดตามด้วย secondary antibody ที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ HRP เมื่อเติมสับสเตรทลงไป สับสเตรทจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HRP เกิดเป็นสารสีน้ำเงิน และเมื่อครบเวลา 10 นาที เติมน 1M sulfuric acid (stop solution) ปริมาตรหลุมละ 50 μ l เพื่อหยุดปฏิกิริยาโดยจะเกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลือง แล้วนำเพลททดสอบไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 450 nm ด้วยเครื่อง ELISA reader และนำผลมาคำนวณ ratio ระหว่างค่า OD_{450 nm} ของตัวอย่างวัคซีน ต่อค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank รายงานผลบวกเมื่อค่า ratio ของตัวอย่างวัคซีนมีค่ามากกว่า 7.0 และรายงานผลเป็นลบเมื่อค่า ratio มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 7.0

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธี

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีอาศัยหลักการของการเกิดปฏิกิริยาจำเพาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี โดยหาระดับเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Primary และ Secondary antibody เพื่อใช้สำหรับการทดสอบทำการเจือจางระดับความเข้มข้นของ primary antibody ในแต่ละชนิด ดังนี้ *N. meningitidis* antiserum group A, *N. meningitidis* antiserum group C, *N. meningitidis* antiserum group Y, *N. meningitidis* antiserum group W135,

anti-diphtheria toxoid และ anti-Tetanus toxin เจือจางความเข้มข้นด้วยสาร diluent ที่ระดับ 1:1,000, 1:5,000 และ 1:10,000 และทำการเจือจางระดับความเข้มข้นของ secondary antibody (anti-rabbit IgG HRP conjugated) ด้วยสาร diluent ที่ระดับ 1:10,000 และ 1:25,000 หลังจากนั้นดำเนินการทดสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไขก้างหลังแอนชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA และพิจารณาค่าการดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ความยาวคลื่น 450 nm ของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีแต่ละชนิด โดยค่าการดูดกลืนแสง OD_{450 nm} ของสารมาตรฐาน และตัวอย่างวัคซีนจะต้องมีค่าน้อยกว่า 3.0 และค่าการดูดกลืนแสง OD_{450 nm} ของ blank ต้องมีค่าน้อยกว่า 0.16-8

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธี

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไขก้างหลังแอนชนิดคอนจูเกตโดยใช้เทคนิค Indirect ELISA เป็นรายการทดสอบเชิงคุณภาพ (qualitative assay) เพื่อระบุความจำเพาะของ Meningococcal polysaccharide ในแต่ละซีโรกรุป A, C, Y และ W135 ที่เชื่อมต่อกับ Diphtheria Toxoid carrier protein โดยรายงานผลเป็นบวก (positive) หรือลบ (negative) จึงมีการดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีใน 2 พารามิเตอร์ ได้แก่ การตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (specificity) และความเที่ยงของวิธี (intermediate precision)⁵

การหาความจำเพาะของวิธี เพื่อยืนยันว่าวิธีมีความจำเพาะต่อแอนติเจนที่จำเพาะแต่ละชนิดเท่านั้น ต้องไม่เกิด cross reaction ระหว่าง non-target antigen กับ antibody ศึกษาโดยทำการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างวัคซีน และสารมาตรฐานของแต่ละซีโรกรุป เท่ากับ 1 µg/ml จากนั้นดำเนินการทดสอบด้วยเทคนิค Indirect ELISA แล้วอ่านผลการทดสอบด้วยการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า OD_{450 nm} ของตัวอย่าง ต่อค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ซึ่งเกณฑ์กำหนดมีดังนี้ (1) ตัวอย่างวัคซีนและสารมาตรฐานจะต้องมีค่า Ratio มากกว่า 7.0 (2) Non-target จะต้องไม่เกิด cross reaction ระหว่างแอนติเจน polysaccharide กับแอนติบอดีของซีโรกรุปอื่น ๆ เช่น การเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนซีโรกรุป A ต่อแอนติบอดี Anti-Men C, Anti-Men Y และ Anti-Men W135 จะต้องมีค่า Ratio น้อยกว่าหรือเท่ากับ 7.0 (3) Non-target จะต้องไม่เกิด cross reaction ระหว่างแอนติเจน DT carrier protein กับแอนติบอดีของ Anti-Tetanus toxoid จะต้องมีค่า Ratio น้อยกว่าหรือเท่ากับ 7.0 และ (4) ค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank จะต้องมีค่าน้อยกว่า 0.1

การทดสอบความเที่ยงของวิธี ทำการทดสอบโดยนักวิเคราะห์ 2 คน ที่เป็นอิสระต่อกัน ใช้ตัวอย่างวัคซีน Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine จำนวน 1 รุ่นการผลิต และทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ทดสอบต่างวันกัน

โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างวัคซีน และสารมาตรฐานของแต่ละซีโรกรุ๊ป เท่ากับ 1 µg/ml จากนั้นดำเนินการทดสอบด้วยเทคนิค Indirect ELISA อ่านผลการทดสอบด้วยการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า OD_{450 nm} ของตัวอย่าง ต่อค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank ทำการทดสอบ จำนวน 3 ครั้ง ซึ่งเกณฑ์กำหนด ดังนี้ (1) ผลการทดสอบของผู้วิเคราะห์ทั้ง 2 คน ที่เป็นอิสระต่อกัน ต้องมีค่า Ratio ของตัวอย่างวัคซีน และสารมาตรฐาน เป็นไปในรูปแบบเดียวกัน และ (2) ค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank จะต้องมีย่าน้อยกว่า 0.1 นอกจากนี้ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบระหว่าง นักวิเคราะห์ 2 คนทางสถิติ โดยใช้ F-Test Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances

การวิเคราะห์ข้อมูล

รายงานผลการทดสอบ แปลผลเป็นบวก (positive) หรือ ลบ (negative) โดยคำนวณจาก สัดส่วนค่า OD_{450 nm} ของตัวอย่างวัคซีนในแต่ละ แอนติเจน ต่อค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank ตาม สูตรคำนวณ

$$\text{Ratio} = \frac{(A450 \text{ value of sample})}{(\text{Average A450 value of plate blank})}$$

เมื่อสัดส่วนของค่า OD_{450 nm} ของตัวอย่าง ต่อค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank มีค่ามากกว่า 7.0 ให้รายงานผลเป็นบวก รายงานผลลบเมื่อสัดส่วน ของค่า OD_{450 nm} ของตัวอย่างต่อค่าเฉลี่ย OD_{450 nm} ของ blank มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 7.0 ทั้งนี้

แอนติเจนแต่ละชนิดที่เป็นส่วนประกอบในวัคซีน ต้องเป็นไปตามที่ได้รับการขึ้นทะเบียนตำรับยา ชีววัตถุ

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของวิธี

พบว่าระดับเจือจางความเข้มข้นของสาร primary antibody ที่เหมาะสมต่อการทดสอบ สำหรับแอนติเจนแต่ละซีโรกรุ๊ปแตกต่างกัน คือ สารแอนติบอดี *N. meningitidis* antiserum group A ต้องเจือจางระดับความเข้มข้นที่ 1:10,000 ในขณะที่แอนติเจนซีโรกรุ๊ป *N. meningitidis* antiserum group C, Y และ W135 ต้องเจือจาง ระดับความเข้มข้นที่ 1:5,000 ตามลำดับ และสาร แอนติบอดี Rabbit anti-Diphtheria toxin และ Rabbit anti-Tetanus toxin ใช้สำหรับตรวจ เอกลักษณะโปรตีนพาหะต้องเจือจางระดับความเข้มข้น ที่ 1:10,000 ซึ่งระดับเจือจางความเข้มข้นของสาร แต่ละชนิดดังกล่าว มีผลโดยตรงต่อค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 450 nm ของแอนติเจนแต่ละชนิด ในขณะที่สารแอนติบอดี secondary antibody (Goat polyclonal antibody to Rabbit IgG (H+L) HRP conjugated) ต้องเจือจางที่ระดับ 1: 25,000 ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 450 nm ของแอนติเจนแต่ละชนิด และค่า blank ให้เป็นไปตามเกณฑ์กำหนด โดยค่า blank จะต้องมีย่าน้อยกว่า 0.1 หากใช้ความเข้มข้นของ secondary antibody ที่สูงเกินไป จะส่งผลให้ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank มีค่าสูงเกิน 0.1

ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด จึงไม่สามารถวิเคราะห์ผลการทดสอบได้

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธี

การทดสอบความจำเพาะของวิธี (specificity) เมื่อทดสอบกับสารมาตรฐาน Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y และ W135 (NIBSC) ที่ใช้เป็น positive control จำนวน 3 ครั้ง เพื่อยืนยันว่าวิธีมีความจำเพาะต่อแอนติเจนที่จำเพาะแต่ละชนิด ผลการทดสอบพบว่าแอนติเจนแต่ละชนิด มีค่า ratio >7.0 ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นบวก มีความจำเพาะเจาะจงในแอนติเจนแต่ละชนิด เป็นไปตามเกณฑ์

ที่กำหนด และจากการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง ค่าที่ได้เป็นไปในรูปแบบเดียวกัน (ตารางที่ 1) และเมื่อทดสอบกับตัวอย่างวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่น ชนิดคอนจูเกต ผลการทดสอบพบว่า แอนติเจนแต่ละชนิดของ Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y และ W135 มีค่า ratio >7.0 และผลการทดสอบแอนติเจน Diphtheria toxoid ซึ่งใช้เป็น carrier protein ในตัวอย่างวัคซีนพบว่า มีค่า ratio >7.0 ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นบวก มีความจำเพาะเจาะจงในแอนติเจนแต่ละชนิด เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด และจากการทดสอบทั้ง 3 ครั้ง ค่าที่ได้เป็นไปในรูปแบบเดียวกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความจำเพาะของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่น ชนิดคอนจูเกต (Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine) โดยใช้เทคนิค Indirect ELISA

Specificity test	1 st time		2 nd time		3 rd time	
	OD _{450nm}	Ratio	OD _{450nm}	Ratio	OD _{450nm}	Ratio
Diluent buffer	0.0788*	1.00	0.0613*	1.00	0.0494*	1.00
Positive control (NIBSC)						
PS serogroup A	1.8850	23.93	1.5937	25.99	1.0831	21.94
PS serogroup C	1.5916	20.21	1.7086	27.87	1.5152	30.69
PS serogroup Y	1.8815	23.89	1.4601	23.81	1.3017	26.37
PS serogroup W135	1.8301	23.23	1.4252	23.24	1.1743	23.79
Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135						
Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine						
PS serogroup A in vaccine	1.7922	22.75	1.7886	29.17	1.3026	26.39
PS serogroup C in vaccine	2.4035	30.51	2.6168	42.68	2.0133	40.78
PS serogroup Y in vaccine	1.3937	17.69	2.1645	35.30	1.6711	33.85
PS serogroup W135 in vaccine	1.9706	25.02	2.1729	35.44	1.6459	33.34
Diphtheria toxoid in vaccine	2.5599	32.50	2.4845	40.52	1.9178	38.85

*ค่าเฉลี่ยของค่า blank จำนวน 6 หลุม

การทดสอบการเกิดปฏิกิริยา cross reaction ระหว่างแอนติเจน Meningococcal polysaccharide กับสารแอนติบอดีที่ผลิตจากซีโรกรุ๊ปอื่น

ผลการทดสอบพบว่าวิธีนี้ไม่มีการเกิดปฏิกิริยา cross reaction ข้ามซีโรกรุ๊ปกัน ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้เฉพาะแอนติเจนและแอนติบอดีจำเพาะของซีโรกรุ๊ปตัวมันเองเท่านั้น ไม่เกิดปฏิกิริยากับซีโรกรุ๊ปอื่น ๆ โดยแสดงผลการทดสอบดังนี้

- ไม่พบการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน Men A ต่อแอนติบอดี Anti-Men C, Anti-Men Y และ Anti-Men W135 โดยค่า ratio ≤ 7.0 ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นลบ เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

- ไม่พบการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน

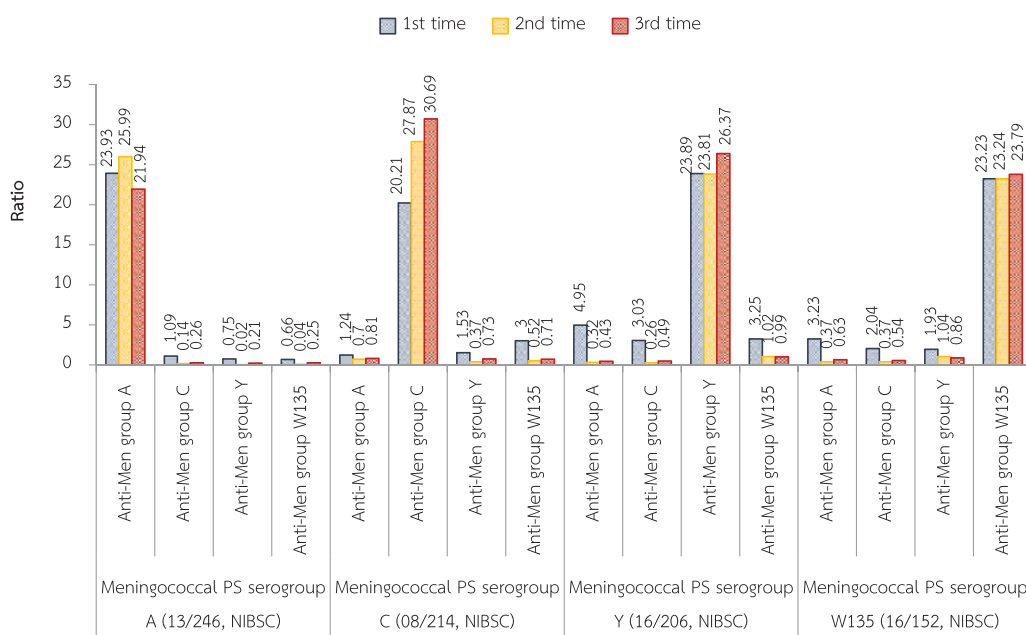
Men C ต่อแอนติบอดี Anti-Men A, Anti-Men Y และ Anti-Men W135 โดยค่า ratio ≤ 7.0 ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นลบ เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

- ไม่พบการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน

Men Y ต่อแอนติบอดี Anti-Men A, Anti-Men C และ Anti-Men W135 โดยค่า ratio ≤ 7.0 ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นลบ เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

- ไม่พบการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน

Men W135 ต่อแอนติบอดี Anti-Men A, Anti-Men C และ Anti-Men Y โดยค่า ratio ≤ 7.0 ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นลบ เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด จึงสามารถยืนยันได้ว่าวิธีนี้มีความจำเพาะสูง (รูปที่ 1)



Antigen and antibody complex in each serogroup of Meningococcal polysaccharide

รูปที่ 1 ผลการทดสอบการเกิดปฏิกิริยา cross reaction ระหว่างแอนติเจน Meningococcal polysaccharide กับสารแอนติบอดีที่ผลิตจากซีโรกรุ๊ปอื่น ๆ

การทดสอบการเกิดปฏิกิริยา cross reaction ระหว่างแอนติเจน Diphtheria toxoid กับแอนติบอดีของ anti-Tetanus

ผลการทดสอบพบว่าไม่เกิดปฏิกิริยา

cross reaction ระหว่าง DT กับ anti-Tetanus จึงสามารถยืนยันได้ว่าวิธีนี้มีความจำเพาะสูง ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้เฉพาะแอนติเจนและแอนติบอดีจำเพาะของตัวมันเองเท่านั้น (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาการเกิดปฏิกิริยา cross reaction ระหว่างแอนติเจน Diphtheria toxoid carrier protein ในวัคซีนต่อชนิดของสารแอนติบอดี ได้แก่ Rabbit anti-Diphtheria toxin และ Rabbit anti-Tetanus toxin

Antigen		1 st time	2 nd time	3 rd time
		Ratio	Ratio	Ratio
Diphtheria toxoid (Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine)	Rabbit anti-Diphtheria toxin	32.50	40.52	38.85
	Rabbit anti-Tetanus toxin	0.16	-0.02	0.12

การทดสอบความเที่ยงของวิธี (Inter-mediate precision)

1. เมื่อทดสอบความเที่ยงของวิธี โดยผู้วิเคราะห์ 2 คน ที่เป็นอิสระต่อกัน ผลการทดสอบพบว่าสารมาตรฐานของแอนติเจนแต่ละชนิด Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y และ W135 (NIBSC) มีค่า ratio > 7.0 ให้เป็นการทดสอบเป็นบวกทุกซีโรไทป์ ซึ่งผู้วิเคราะห์ทั้งสองคนให้ผลการทดสอบไปในรูปแบบเดียวกัน และเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (ตารางที่ 3) และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้สถิติ F-Test

Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances ในการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบระหว่างนักวิเคราะห์ 2 คน พบว่าค่าเฉลี่ย Ratio ของสารมาตรฐานทั้ง 4 ซีโรกรุ๊ปจากการทดสอบของนักวิเคราะห์ทั้ง 2 คน ค่า $P(T \leq t)$ two-tail = 0.086 ซึ่งมีความมากกว่า p-value ดังนั้นข้อมูลค่าเฉลี่ย Ratio ของสารมาตรฐานทั้ง 4 ซีโรกรุ๊ปจากการทดสอบของผู้วิเคราะห์ทั้ง 2 คน จึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความเที่ยงของวิธี ทดสอบด้วยสารมาตรฐานของแอนติเจนแต่ละชนิด Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y และ W135 (NIBSC)

Serogroup/ Analyst	Ratio of WHO International standard for Meningococcal polysaccharide in each serogroup			
	A	C	Y	W135
Analyst 1	42.74	41.37	43.72	39.74
	32.47	31.90	33.46	31.10
	23.56	22.00	23.19	22.01
Analyst 2	23.20	17.64	19.41	17.43
	29.72	27.67	29.84	29.25
	36.02	33.21	31.59	28.19

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของชุดข้อมูลสารมาตรฐาน โดยใช้สถิติ F-Test Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances

F-Test Two-Sample for Variances	ผู้วิเคราะห์ที่ 1	ผู้วิเคราะห์ที่ 2
Mean	32.27166667	26.93083333
Variance	68.30428788	37.68811742
df	11	11
F	1.812356057	
P(F<=f) one-tail	0.169245309	
F Critical one-tail	3.473699051	
t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances	ผู้วิเคราะห์ที่ 1	ผู้วิเคราะห์ที่ 2
Mean	32.27166667	26.930833
Variance	68.30428788	37.688117
Pooled Variance	52.99620265	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	22	
t Stat	1.797058747	
P(T<=t) one-tail	0.043034681	
t Critical one-tail	1.717144374	
P(T<=t) two-tail	0.086069361	
t Critical two-tail	2.073873068	

2. เมื่อทดสอบความเที่ยงของวิธี โดยผู้วิเคราะห์ 2 คน ที่เป็นอิสระต่อกัน ผลการทดสอบพบว่าตัวอย่างวัคซีน Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine มีค่า ratio > 7.0 ให้เป็นการทดสอบเป็นบวก ทุกซีโรไทป์ และแอนติเจน Diphtheria toxoid ในตัวอย่างวัคซีน พบว่ามีค่า ratio > 7.0 ให้เป็นการทดสอบเป็นบวก และผู้วิเคราะห์ทั้งสองคน ให้ผลการทดสอบไปในรูปแบบเดียวกัน ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (ตารางที่ 5) และนำข้อมูล

มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้สถิติ F-Test Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances ในการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบระหว่างนักวิเคราะห์ 2 คน พบว่าค่าเฉลี่ย Ratio ของตัวอย่างวัคซีน ทั้ง 4 ซีโรกรุปจากการทดสอบของนักวิเคราะห์ ทั้ง 2 คน ค่า $P(T \leq t)$ two-tail = 0.6573 ซึ่งมีค่ามากกว่า p-value ดังนั้นข้อมูลค่าเฉลี่ย Ratio ของสารมาตรฐานทั้ง 4 ซีโรกรุปจากการทดสอบของผู้วิเคราะห์ทั้ง 2 คนจึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 ผลการศึกษาความเที่ยงของวิธี ทดสอบด้วยตัวอย่างวัคซีน Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine

Serogroup/ Analyst	Ratio of Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y and W135 Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine				
	A	C	Y	W135	DT
Analyst 1	36.52	43.61	43.33	43.16	44.30
	36.30	45.77	42.49	43.28	45.16
	21.49	28.68	25.29	25.12	29.21
Analyst 2	25.84	35.66	35.31	34.01	36.93
	30.91	38.05	35.62	36.10	40.63
	37.21	47.16	45.39	44.55	48.79

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของชุดข้อมูลตัวอย่างวัคซีน โดยใช้สถิติ F-Test Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances

F-Test Two-Sample for Variances	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2
Mean	36.914	38.144
Variance	74.10058286	38.73296857
df	14	
F	1.913113959	
P(F<=f) one-tail	0.118567124	
F Critical one-tail	2.978587524	

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของชุดข้อมูลตัวอย่างวัคซีน โดยใช้สถิติ F-Test Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances (ต่อ)

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2
Mean	36.914	38.144
Variance	74.10058286	38.73296857
Pooled Variance	56.41677571	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	28	
t Stat	-0.448468157	
P(T<=t) one-tail	0.328633378	
t Critical one-tail	1.701130934	
P(T<=t) two-tail	0.657266756	
t Critical two-tail	2.048407142	

อภิปรายผล

รายการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไขกาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต (Identity test) เป็นรายการทดสอบที่ใช้ตรวจสอบควบคุมคุณภาพกระบวนการผลิตวัคซีน ตั้งแต่ขั้นตอนระหว่างการผลิตไปจนถึงได้เป็นผลิตภัณฑ์วัคซีน ได้แก่ ขั้นตอนผลิต purified polysaccharide, purified carrier protein, monovalent bulk conjugates และ final product^{4, 6} สำหรับวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไขกาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต World Health Organization (WHO) แนะนำให้ใช้วิธี Nuclear Magnetic Resonance (NMR) หรือวิธี serological test⁴ ซึ่งวิธี NMR เป็นวิธีที่ใช้เครื่องมือจำเพาะซึ่งไม่ได้เป็นเครื่องมือที่ใช้ทั่วไปจึงเป็นข้อจำกัดในการนำใช้เพื่อการควบคุมคุณภาพในระหว่างกระบวนการผลิต⁶ ในขณะที่วิธี serological test

เป็นวิธีการตรวจหาแอนติเจนหรือแอนติบอดีด้วยเทคนิค enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้เครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการ อาศัยหลักการแอนติเจนที่สนใจจับกับแอนติบอดีที่จำเพาะ เกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะต่อกัน และตรวจวัดผลการทดสอบด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง จึงเหมาะสำหรับใช้ในการควบคุมคุณภาพกระบวนการผลิต การศึกษาครั้งนี้ได้นำเทคนิค Indirect ELISA มาใช้เป็นวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไขกาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต โดยดำเนินการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธี โดยกำหนดความเข้มข้นของแอนติเจนแต่ละซีโรกรุ๊ปคงที่ประมาณ 1 µg/ml เพื่อหาระดับเจือจางความเข้มข้นของสาร primary antibody และสาร secondary antibody ที่เหมาะสมสำหรับทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่สนใจ

โดยรายการทดสอบนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์แอนติเจนที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์วัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกต ได้แก่ Meningococcal polysaccharide serogroup A, C, Y และ W135 โดยมีโปรตีนพาหะ ได้แก่ Diphtheria toxoid หรือ Tetanus toxoid ซึ่งชนิดของโปรตีนพาหะที่เป็นส่วนประกอบในวัคซีนขึ้นอยู่กับการศึกษาส่วนประกอบทางการค้าของผู้ผลิต การเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับปัจจัยจากระดับความเข้มข้นของแอนติบอดี⁵ โดยค่าการดูดกลืนแสง (optical density; OD) ของตัวอย่างจะต้องมีค่าน้อยกว่า 3.0 หากมีค่า OD มากกว่า 3.0 ส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในการอ่านผล และผลการทดสอบไม่มีความน่าเชื่อถือ ต้องมีการเจือจางระดับความเข้มข้นของแอนติบอดีให้ค่า OD อยู่ในช่วงที่อ่านค่าได้ถูกต้อง⁷ จากการศึกษาอัตราการเจือจางความเข้มข้นของสาร primary antibody และ secondary antibody พบว่าแอนติบอดีแต่ละชนิดมีระดับเจือจางความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยา antigen-antibody reaction ที่จำเพาะ โดยสารแอนติบอดี *N. meningitidis* antiserum ในแต่ละซีโรกรุ๊ป ระดับการเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 1:5,000 (สำหรับซีโรกรุ๊ป C, Y และ W135) และ 1:10,000 (สำหรับซีโรกรุ๊ป A) ส่วนสารแอนติบอดี Rabbit anti-Diphtheria toxin และ Rabbit anti-Tetanus toxin ใช้สำหรับตรวจเอกลักษณ์โปรตีนพาหะ ระดับเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสม

เท่ากับ 1:10,000 ในขณะที่สารแอนติบอดี secondary antibody (Goat polyclonal antibody to Rabbit IgG (H+L) HRP conjugated) ระดับการเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 1: 25,000 ส่งผลให้ค่า OD ของตัวอย่างและสารมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบ อ่านค่า OD_{450nm} อยู่ในช่วง 1.1 - 2.6 ซึ่งอยู่ในช่วงการวัดผลที่มีความถูกต้อง และไม่เกินความสามารถของเครื่อง ELISA reader ในการอ่านค่าได้อย่างถูกต้อง และเกณฑ์กำหนดมาตรฐานค่า OD ของ blank ในเพลททดสอบจะต้องมีค่าน้อยกว่า 0.18 ผลจากการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA พบว่าค่า OD_{450nm} ของ blank มีค่าน้อยกว่า 0.1 ซึ่งผลการทดสอบเป็นไปตามเกณฑ์กำหนดเมื่อวิธีผ่านการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมแล้ว ดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตาม ICH guideline⁵ ผลการศึกษาความจำเพาะของวิธีให้ผลการทดสอบเป็นไปตามเกณฑ์กำหนด (ตารางที่ 1, 2 และรูปที่ 1) แสดงให้เห็นว่าวิธีมีความจำเพาะสูง โดยแอนติบอดีแต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อแอนติเจนชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น ไม่มีการเกิด cross reaction ข้ามแอนติเจนกัน เนื่องจากแอนติเจนที่เป็นส่วนประกอบในวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่น ผลิตจากแคปซูลของเชื้อแบคทีเรีย *N. meningitidis* ซึ่งเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ โดยโพลีแซคคาไรด์แต่ละซีโรกรุ๊ป จำแนกจากโครงสร้างโพลีแซคคาไรด์แคปซูลและความจำเพาะทางภูมิคุ้มกัน⁹⁻¹⁰ โดยจากผล

การศึกษาการเกิดปฏิกิริยา cross reaction ระหว่างแอนติเจน Meningococcal polysaccharide กับแอนติบอดีของซีโรกรุ๊ปอื่น ๆ ยืนยันว่าวิธีนี้สามารถระบุเอกลักษณ์ของแอนติเจนแต่ละชนิดอย่างจำเพาะและถูกต้อง และผลการศึกษาความเที่ยงของวิธี โดยผู้วิเคราะห์ 2 คน ที่เป็นอิสระต่อกันพบว่าผลการทดสอบทั้ง 2 คนไปในรูปแบบเดียวกันและเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด (ตารางที่ 3 และ 5) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยใช้สถิติ F-Test Two-Sample for Variances และ T-Test Two-Sample Assuming Equal Variances พบว่าค่าเฉลี่ย Ratio ของสารมาตรฐานและตัวอย่างวัคซีนจากการทดสอบของนักวิเคราะห์ทั้ง 2 คน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4 และ 6) แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงสูง สามารถใช้วิธีนี้ในการตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA ได้ และวิธีนี้ได้ถูกนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับตรวจคุณภาพวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนตำรับยาในประเทศไทย

สรุปผล

การศึกษานี้ได้พัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA พบว่าวิธีนี้มีความจำเพาะสูงต่อโพลีแซคคาไรด์ในแต่ละซีโรกรุ๊ป ได้แก่ serogroups A, C, Y and W135 ซึ่งแต่ละซีโรกรุ๊ป

ไม่เกิด cross reaction ต่อกัน จึงสามารถบ่งชี้เอกลักษณ์ของโพลีแซคคาไรด์แต่ละซีโรกรุ๊ปได้ และสามารถบ่งชี้เอกลักษณ์ของโปรตีนพาหะ (carrier protein) ที่เชื่อมต่ออยู่กับโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งวิธีนี้สามารถบ่งชี้โปรตีนพาหะชนิด Diphtheria toxoid และ Tetanus toxoid carrier protein ได้ โดยโปรตีนพาหะแต่ละชนิดไม่เกิด cross reaction ต่อกัน และวิธีนี้มีความเที่ยง โดยผลการทดสอบจากผู้วิเคราะห์ทั้ง 2 คนเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นวิธีนี้จึงมีความถูกต้อง และเหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็นวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการได้

ข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบเอกลักษณ์ของวัคซีนป้องกันโรคไข้กาฬหลังแอ่นชนิดคอนจูเกตด้วยเทคนิค Indirect ELISA เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูงต่อแอนติเจนจำเพาะเท่านั้น วิธีนี้จึงสามารถตรวจวิเคราะห์ได้เฉพาะแอนติเจนจำเพาะ ได้แก่ *N. meningitidis* serogroup A, C, Y และ W135 และ carrier protein ชนิด Diphtheria toxoid และ Tetanus toxoid เท่านั้น หากวัคซีนมีส่วนประกอบเป็นแอนติเจนชนิดอื่น ๆ เช่น โพลีแซคคาไรด์ซีโรกรุ๊ปอื่น หรือ carrier protein ชนิดอื่น ต้องดำเนินการศึกษาความเหมาะสมของวิธี และศึกษาความถูกต้องของวิธีให้จำเพาะสำหรับแอนติเจนนั้น ๆ ต่อไป ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่เหมาะสม

ขึ้นอยู่กับ การเจือจางระดับความเข้มข้นของ แอนติบอดี โดยค่าการดูดกลืนของตัวอย่างและ สารมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบควรอ่านค่า OD_{450nm} อยู่ในช่วง 1.1 - 2.6 ซึ่งเป็นช่วงการวัดผล ที่มีความถูกต้อง และไม่เกินความสามารถของ เครื่องอ่านผล และค่าการดูดกลืนแสงของ blank ต้องมีค่าน้อยกว่า 0.1 นอกจากนี้การเก็บรักษา สารมาตรฐาน สารแอนติบอดีต้องเก็บรักษาในช่วง อุณหภูมิที่กำหนดไว้ และทำการแบ่งสาร (aliquot) ใส่หลอดทดลอง ปริมาตรให้เพียงพอสำหรับการ นำมาใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง เพื่อลดการแช่แข็งและ การละลายหลายครั้ง (Freeze-Thaw cycle) และการทดสอบในแต่ละครั้งควรเตรียมสารเคมี ใหม่ทุกครั้ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการ ส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกว.) ที่ได้มอบทุนสนับสนุนการพัฒนาภายใต้โครงการ การพัฒนานวัตกรรมการควบคุมคุณภาพวัคซีน แบบที่เรียกชนิดโพลีแซ็กคาไรด์ และขอขอบคุณ สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการสนับสนุนการดำเนินงานในทุกด้าน

เอกสารอ้างอิง

1. Mahmoud FM, Harhara T. *Neisseria meningitidis* pneumonia with bacteremia without meningitis: An atypical presentation. IDCases 2020; 21:e00897: 1-3.

2. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ตำรา วัคซีนและการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค: วัคซีน ป้องกันโรคใช้ภายหลังแอ่น. กรุงเทพฯ: เวิร์ค พริ้นท์; 2562.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Meningococcal Disease [Internet]. [cited 2023 Aug 21]; [6 screens]. Available from: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/meningococcal-disease>
4. World Health Organization. Annex 2 Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of group A meningococcal conjugate vaccines. Technical Report Series No. 962, Geneva; 2011. p. 134–7.
5. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1) [Internet]. 2005; [cited 2022 Jun 18]; [17 screens]. Available from: [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2\(R1\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2(R1).pdf)
6. Sharma N, Hanif S, Upadhyay D, Chhikara MK. Inhibition ELISA as a putative tool for the identification and quantification of meningococcal A and X polysaccharides at various stages of vaccine development. J. Immunol Methods 2019; 493: 1-7.

7. Dell EJ. Optical Density for Absorbance Measurements [Internet]. BMG LABTECH; 2021 Oct 22- [cited 2022 Apr 7]. Available from: <https://www.bmglabtech.com/en/blog/optical-density-for-absorbance-assays/>
8. World Health Organization. Training manual for Enzyme linked immunosorbent assay for the quantitation of *Streptococcus pneumoniae* serotype specific IgG (Pn PS ELISA) (007sp Version). Birmingham, AL, University of Alabama [Internet]. 2010; [cited 2022 May 18]; [29 screens]. Available from: [https://www.vaccine.uab.edu/uploads/mdocs/ELISAProtocol\(007sp\).pdf](https://www.vaccine.uab.edu/uploads/mdocs/ELISAProtocol(007sp).pdf)
9. Harrison OB, Claus H, Jiang Y, Bennett JS, Bratcher HB, Jolley KA, et al. Description and nomenclature of *Neisseria meningitidis* capsule locus. Emerg Infect Dis [Internet]. 2013. [cited 2023 Oct 12]. Available from: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1904.111799>
10. Spinoso MR, Progida C, Tala A, Cogli L, Alifano P, Bucci C. The *Neisseria meningitidis* Capsule Is Important for Intracellular Survival in Human Cells. Infect Immun 2007; 75(7): 3594-603.

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 เผยแพร่ หรือเผยแพร่ด้วยสื่อหรือวิธีการใด ๆ และที่ใดมาก่อน
2. เป็นผลงานที่มีระยะเวลาดำเนินการแล้วเสร็จนับถึงวันที่ส่งเรื่องไว้พิจารณาไม่เกิน 5 ปี
3. กรณีที่ผู้พิมพ์ต้องการยกเลิกหรือไม่ประสงค์ลงตีพิมพ์ ต้องแจ้งพร้อมทั้งส่งแบบฟอร์มยกเลิกการตีพิมพ์ส่งมาที่กองบรรณาธิการ
4. กองบรรณาธิการ ขอสงวนสิทธิ์ในการเปลี่ยนแปลงและตัดสินใจในการรับเรื่องไว้พิจารณา ตระงวดงาน 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



การจัดทำชื่อบทความและข้อมูลผู้พิมพ์

1. ชื่อบทความ

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

2. ข้อมูลผู้พิมพ์

ใช้ตัวอักษรขนาด 14 point ประกอบด้วย

2.1 ชื่อและนามสกุลจริง (first name and family name) โดยไม่ใส่คำนำหน้าชื่อ ให้เรียงลำดับความสำคัญชื่อแรกเป็นผู้พิมพ์หลัก ตามด้วยชื่อผู้พิมพ์ลำดับรองจนครบ และใส่ตัวเลข

ยกขึ้น (superscript) แสดงหน่วยงานต้นสังกัดไว้ท้ายชื่อผู้พิมพ์ ทั้งนี้ สำหรับชื่อภาษาอังกฤษให้ใส่เครื่องหมายจุลภาค (,) ด้านหลังชื่อผู้พิมพ์แต่ละคน

2.2 หน่วยงานต้นสังกัด ให้ใส่ตัวเลขยกขึ้นหน้าชื่อหน่วยงานเรียงลำดับเริ่มจากเลข 1 โดยแสดงชื่อหน่วยงานระดับรอง และหน่วยงานหลัก ตามด้วยจังหวัด ส่วนภาษาอังกฤษ ให้มีเครื่องหมายจุลภาค (,) คั่นในแต่ละข้อความ และมี Thailand ต่อท้ายจังหวัด และใส่เครื่องหมาย full stop (.) ด้านท้ายของแต่ละคน ยกเว้นชื่อผู้พิมพ์ลำดับสุดท้ายไม่ต้องใส่เครื่องหมาย 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 คำหรือวลีที่แสดงประเด็นหรือสาระในระดับกว้างที่ผู้พิมพ์กำหนดขึ้นเพื่อใช้แทนเนื้อหาใจความสำคัญของงานวิจัย ให้ง่ายต่อการสืบค้น ทำให้อ่านสามารถคัดเลือกบทความวิจัย หรือจัดกลุ่มเอกสารวิจัยตามประเภทหรือใจความสำคัญได้รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ

2. บทนำ

ความยาวประมาณ 1 หน้าครึ่ง เป็นการเสนอปัญหา เหตุผล หรือที่มาของงานวิจัย มีข้อมูลมูลฐานที่ชี้ให้เห็นปัญหา โดยอาจ ยกสถานการณ์มาประกอบเหตุผลของการนำมาแก้ไขปัญหานั้น 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 มีลำดับการนำเสนอผลการศึกษามาตามวัตถุประสงค์ ที่ตั้งไว้ด้วยภาษาที่เข้าใจง่าย 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: การเขียนให้น่าอ่าน ควรเขียนเป็นลำดับขั้นตอน เพื่อให้ผู้อ่านเข้าใจง่าย ดังนี้

1. ไม่ควรอภิปรายผลจากการวิจัยทั้งหมด แต่ควรเลือกเฉพาะ ประเด็นสำคัญหรือสิ่งที่เราสนใจในแต่ละประเด็น เพื่ออภิปรายผล เชิงลึกในแต่ละด้าน

2. ควรเริ่มต้นอภิปรายด้วยผลการวิจัยเชิงปริมาณ ตามด้วย เชิงคุณภาพ

3. ควรให้เหตุผลร้อยเรียงกันไปและอ้างอิงงานวิจัยของ คนอื่นอย่างน้อย 3 คน ในแต่ละประเด็น

7. สรุปผล

การสรุปผลวิจัยต้องได้องค์ความรู้ใหม่ 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 ผู้พิมพ์ต้องมีการค้นคว้า รวบรวมสารสนเทศจากแหล่งต่าง ๆ โดยเฉพาะวารสาร เอกสาร ที่มีความสำคัญจริง ๆ เป็นการนำรายการอ้างอิงจากท้ายบทความ ใส่เชิงอรรถอ้างอิงทั้งหมดตามที่ปรากฏในเนื้อเรื่อง มารวบรวม เขียนไว้ที่ท้ายบทความโดยเรียงลำดับและต้องสอดคล้องกับลำดับที่ ในรายการอ้างอิงท้ายบทความ

การเขียนบทความวิชาการ

เป็นข้อเขียนเชิงสารที่ผู้เขียนตั้งใจหยิบยกประเด็นใดประเด็นหนึ่ง หรือปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในแวดวงวิชาการ วิชาชีพ เพื่อวิเคราะห์ หรือวิพากษ์หรือมีทัศนคติหรือให้แนวคิดใหม่ ให้ผู้อ่านทราบหรือ ปรับเปลี่ยนแนวคิด ความเชื่อมาสู่แนวคิดของผู้เขียน โดยเน้นการให้ ข้อมูลความรู้เป็นสำคัญ และต้องมีข้อมูลทางวิชาการ เอกสารอ้างอิง และเหตุผลที่พิสูจน์ได้ เพื่อสร้างความน่าเชื่อถือให้แก่ผู้อ่าน ประกอบด้วย

1. บทนำ

เป็นส่วนที่ดึงดูดใจผู้อ่านให้เกิดความสนใจ อาจกล่าวถึงวัตถุประสงค์ ของการเขียน หรือบอกที่มาของการเขียน และระบุขอบเขตของ บทความนั้น ๆ เพื่อให้ผู้อ่านไม่คาดหว้งเกินขอบเขตที่กำหนดไว้ 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 อูจจาระ และบนพื้นผิววัสดุอินทรีย์ที่สัมผัสน้ำ¹

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

ตัวอย่าง องค์การอนามัยโลกได้เล็งเห็นถึงวิกฤตของปัญหาของคุณภาพยาเพราะพบว่ายาที่มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐานพบได้ทั่วโลก แม้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว โดยผลสำรวจขององค์การอนามัยโลกพบว่าคุณภาพยาทั่วโลกร้อยละ 10 โดยร้อยละ 50 พบในทวีปเอเชียและทวีปแอฟริกา¹⁻²

ตัวอย่าง สาเหตุของการใช้ไนโตรที่พบจากตัวอย่างสถานที่ในการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื่องจากเป็นสถานที่ที่มีการจำหน่ายอยู่เป็นประจำ ผู้จำหน่ายผลิตภัณฑ์จะรับผิดชอบผลิตภัณฑ์เมื่อสัตว์แปรรูปมาจากพ่อค้าคนกลางอีกที ดังนั้นเพื่อเป็นการลดค่าขนส่งและสามารถเก็บไว้ได้นาน จึงต้องมีการใส่ไนโตรที่ยืดอายุของผลิตภัณฑ์ โดยไนโตรจะเข้าไปชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคต่าง ๆ อีกทั้งยังช่วยในการตรึงสีหรือทำให้สีเกิดความเสถียรเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความน่ารับประทานอีกด้วย โดยจะเติมลงในผลิตภัณฑ์เมื่อสัตว์แปรรูปประเภทกลุ่มเนื้อหมักต่าง ๆ เช่น แฮมและแฮมม เป็นต้น^{2,9}

2. การอ้างอิงท้ายเล่มหรือบรรณานุกรม

เป็นการนำรายการที่อ้างอิงในเนื้อหา มารวบรวมไว้ในส่วนท้ายของบทความภายใต้หัวข้อเอกสารอ้างอิง เรียงตัวเลขเป็นลำดับ 1, 2, 3, จัดขอบซ้าย 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 กรณีมีชื่อเรื่องย่อย ให้ใช้เครื่องหมายวิภาค (;) 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 ปี; 2563. ทั้งนี้ กรณีหนังสือภาษาอังกฤษที่มีชื่อเมืองไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายให้ระบุชื่อรัฐกำกับไว้ในวงเล็บด้วย เช่น St Louis (MO) Mosby; 2020.

4.2 ให้ตัดคำประกอบอื่นในชื่อสำนักพิมพ์ออก เช่น ห้างหุ้นส่วน จำกัด 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)

ให้ใส่ตัวเลขวปี 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 ตูจันดา, วินัย สุวดี, อรุณ วงษ์จิราขุณ, ประอร ขวลิตธำรง, 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

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 วันที่ที่ประชุม; สถานที่จัดประชุม. เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีพิมพ์. p. หรือหน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ตัวอย่าง

1. สุขเกษม โฆษิตเศรษฐ, รัตนา เติงทิพย์. การหาโปรตีนในปัสสาวะ ที่บ่งชี้โรคไตด้วยวิธีโปรตีนโนมิคส์. ใน: ขจร ลักษณ์ขยปกรณ์, บรรณาธิการ. ประชุมวิชาการคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย

ธรรมศาสตร์ ประจำปี 2552 Changes: new trends in medicine; วันที่ 14-17 กรกฎาคม 2552; ณ ห้องประชุมแพทยโคม 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 ฤๅษะกุล. Coagulopathy in liver diseases. ใน: ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์, ทวีศักดิ์ แทนวันดี, อรุณ 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. พระราชบัญญัติการเงินสวัสดิการเกี่ยวกับการรักษาพยาบาล 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/vitamins.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- สุดท้าย. เข้าถึงได้จาก หรือ Available from: <http://> (ไม่มีจุด full stop)

ตัวอย่าง

1. มรกต จุฬวรรณะ. 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 ขนมหิน (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 Aug 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. ชื่อเรื่องที่นำมาอ้างอิง; ปีพิมพ์ของเรื่องที่นำมาอ้างอิง [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 ส่งเสริมให้เกิดการค้นคว้า ต่อยอดงานวิจัยและงานวิชาการ 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

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.02-590-7000 ต่อ 97256
<https://www.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal>
<http://www.fda.moph.go.th>