

การศึกษาภาวะปลอดเชื้อของยาหยอดตาที่เตรียมในโรงพยาบาลภายใต้ระบบ laminar flow เปรียบเทียบกับ การเตรียมยาแบบปลอดเชื้อสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง

พรรณลักษณ์ ลินสวัสดิ์ วิวัฒน์ ประเสริฐ

ภาควิชาจักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

บทคัดย่อ

การรักษากระจกตาติดเชื้อในกลุ่มผู้ป่วยบางรายไม่สามารถใช้ยาปฏิชีวนะสำเร็จรูปได้ จึงต้องเปลี่ยนไปใช้ยาปฏิชีวนะที่ให้ทางหลอดเลือดดำผสมเป็นยาหยอดตาให้กับผู้ป่วย เพื่อลดผลข้างเคียงจากยา ซึ่งในกระบวนการเตรียมยาอาจมีโอกาสนำปนเปื้อนเชื้อได้ โดยแต่ละโรงพยาบาลก็จะมีขั้นตอนในการเตรียมยาที่แตกต่างกัน ตามข้อจำกัดทางด้านทรัพยากร จึงเป็นที่มาของการศึกษาชิ้นนี้ เพื่อเปรียบเทียบผลของการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการเตรียมยา ด้วยวิธีการ sterile technique ที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้อง เปรียบกับการเตรียมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรฯ งานวิจัยนี้ทำการศึกษาแบบ Prospective observational study ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 28 วัน โดยศึกษาหยอดตา Amikin และ Cefazolin มีกลุ่ม control คือ กลุ่มที่ผสมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet กลุ่ม Intervention คือ กลุ่มที่ผสมยาด้วย sterile technique ที่สภาวะปกติ ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรฯ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมแตกต่างกันทั้งอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณอนุภาคภายในสถานที่ทดลอง โดยมียาหยอดตา Amikin และ Cefazolin ชนิดละ 25 ตัวอย่าง จากทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง นำไปทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth, Thioglycolate broth ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28 จากการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อระหว่างยาหยอดตาที่ผสมภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และที่สภาวะปกติ โดยไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากทั้ง 2 กลุ่มทดลอง ($p=1.00$) แต่พบว่าการขึ้นขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และที่สภาวะปกติ ซึ่งเมื่อทำการแยกเพาะเชื้อแล้วไม่มีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้นทั้ง 2 กลุ่ม สรุปผลการวิจัย: ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อระหว่างยาหยอดตาที่ผสมภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้องที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรฯ

คำสำคัญ: laminar airflow cabinet ยาปฏิชีวนะหยอดตา เทคนิคการปราศจากเชื้อ

ผู้สนับสนุนประสานงาน:

วิวัฒน์ ประเสริฐ

ภาควิชาจักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

62 หมู่ 7 ถนนรังสิต-นครนายก อ.องครักษ์ จ.นครนายก 26120

อีเมล: top_wiwat@hotmail.com

A comparative sterility of the hospital preparation fortified antibiotic eye drops between preparing under laminar flow cabinet and normal airflow condition

Pannaluck Sinsawad, Wiwat Prasert

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

Abstract

Sometimes it is unable to cure corneal ulcer for some patients by using commercial antibiotic eye drops. Thus, it is necessary to apply the intravenous antibiotics mixed to eye drops for patients in order to reduce any side effects from the commercial antibiotic eye drops. During the process of drug preparation, there is a chance for contamination. Each hospital has different process to prepare the medicine depending on the limitation in resources. This study aims to compare the results of the contamination during the drug preparation process by using Sterile technique in the normal airflow condition and by using laminar airflow cabinet system at the Maha Chakri Sirindhorn Medical Center. To compare the results of the contamination during the fortified antibiotic eye drops preparation process by using Sterile technique in the normal airflow condition and by using laminar airflow cabinet system. Prospective observational study conducted the experiment over a 28-day period by studying Amikacin and Cefazolin. The control group used laminar airflow cabinet system. The intervention group used Sterile technique in the normal airflow condition. which had different environmental factors including temperature, humidity and the quantity of particle within the research site. There were 25 Amikacin and 25 Cefazolin eye drops from two sample groups. They were then culture in the Tryptic soy broth, Thioglycolate broth on Day 0, 3, 7, 14 and 28. The result from the study revealed that there was no statistical significance of the growth of bacteria between antibiotic eye drops mixed under the laminar airflow cabinet system and that mixed under the normal airflow condition. There was no growth of organisms from both sample groups ($p=1.00$). However, it found that culture plates became less clear. When subculture, there was no growth among these two sample groups. There was no statistical significance of the growth of bacteria from between antibiotic eye drops mixed under the laminar airflow cabinet system and that mixed under the normal airflow condition at the Maha Chakri Sirindhorn Medical Center.

Keywords: laminar airflow cabinet, fortified antibiotic eye drops, sterile technique

Corresponding Author:

Wiwat Prasert

Department of Ophthalmology,

Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University

62 Moo 7, Rangsit-Nakhon Nayok Road, Ongkharak, Nakhon Nayok 26120

E-mail: top_wiwat@hotmail.com

บทนำ

การรักษาโรคกระจกตาติดเชื้อในปัจจุบันได้มีการคิดค้นและพัฒนาการใช้ยาปฏิชีวนะให้ครอบคลุมเชื้อและสะดวกต่อการใช้งานมากขึ้น โดยมีการปรับปรุงและเติมสารส่วนประกอบอื่นๆ เช่น Benzalkonium chloride, Thimerosal¹ ซึ่งเป็นสารกันเสียประเภทหนึ่ง มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค (disinfectant) เพื่อช่วยยืดอายุการใช้งานของยาหยอดตาที่เปิดใช้แล้วให้อยู่ในสภาวะปราศจากเชื้อ ทำให้สามารถเก็บรักษาเอาไว้ได้นานขึ้น^{2,3} แต่อย่างไรก็ตามสารกันเสียที่ผสมในยาหยอดตาอาจมีผลข้างเคียงต่อกระจกตา เยื่อบุตาทำให้เกิดเป็นแผลถลอกที่กระจกตา (corneal epithelial erosion) และการสมานแผลช้าลง (delayed wound healing) ซึ่งผลข้างเคียงดังกล่าวขึ้นกับปริมาณที่ได้รับ ความถี่ในการใช้ และชนิดของสารกันเสีย ทำให้ไม่สามารถใช้ยาหยอดตาสำเร็จรูปในกลุ่มผู้ป่วยบางราย ที่จำเป็นต้องได้รับการหยอดยาบ่อยๆ เช่น โรคกระจกตาติดเชื้อ (corneal ulcer) กระจกตาถลอก (corneal abrasion) หรือกลุ่มที่มีความผิดปกติของเยื่อบุตา เช่น กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับอุบัติเหตุจากสารเคมี ผู้ป่วยที่แพ้ยารุนแรง (Steven-Johnson syndrome)³⁻⁵ จึงต้องเปลี่ยนไปใช้ยาปฏิชีวนะที่ให้ทางหลอดเลือดดำ (intravenous form) โดยนำยาดังกล่าวเตรียมการผสมในโรงพยาบาล (hospital preparation eye drops) ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม เตรียมเป็นยาสำหรับหยอดตา (fortified antibiotic eye drop) ซึ่งเป็นยาที่ปราศจากสารกันเสีย ทำให้ลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วยจากสารกันเสียได้ แต่ก็อาจเพิ่มโอกาสในการปนเปื้อนเชื้อโรคได้ง่ายขึ้น ส่งผลเสียต่อผู้ป่วยทำให้เกิดแผลที่กระจกตาติดเชื้อ (corneal ulcer) จากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งพบว่ามีโอกาสปนเปื้อนในยาหยอดตาของผู้ป่วยได้สูงถึง 35.8%^{6,7} โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อการปนเปื้อนเชื้อ มีได้หลายขั้นตอนตั้งแต่การเตรียมยา การหยอดตาตลอดไปถึงกระบวนการเก็บรักษา

ในกระบวนการเตรียมนั้นถือได้ว่ามีความสำคัญขั้นตอนหนึ่ง ที่จะลดโอกาสในการปนเปื้อนเชื้อ (sterile technique)⁸ แต่ละโรงพยาบาลก็จะมีส่วนขั้นตอนในการเตรียมยาด้วยกรรมวิธีและอุปกรณ์ที่แตกต่างกัน ตามข้อจำกัดทางด้านทรัพยากรของแต่ละพื้นที่ซึ่งอยู่ภายใต้หลักการปราศจากเชื้อ (sterile technique) ซึ่งเป็นไปตามคำแนะนำของ American Academic Ophthalmology โดยอาจมีส่วนขั้นตอนและวิธีการแตกต่างกันบ้าง โดยในปัจจุบันได้มีการพัฒนากระบวนการในการเตรียมยา เริ่มมีการนำระบบ laminar airflow cabinet^{8,14} มาใช้ในการเตรียมยา เพื่อลดโอกาสปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้น แต่อุปกรณ์ดังกล่าวไม่ได้มีในทุกสถานพยาบาล

ดังนั้น จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ผู้วิจัยต้องการที่จะศึกษาผลของการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการเตรียมยา ด้วยวิธีการ sterile technique ที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้อง เทียบกับการเตรียมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรฯ เพื่อนำผลการศึกษาไปใช้เป็นข้อมูลในการจัดเตรียมยาหยอดตาให้มีความปลอดภัยกับผู้ป่วยมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบอัตราการปนเปื้อนที่เกิดจากการผสมยาหยอดตาด้วยวิธีการผสมที่แตกต่างกัน 2 รูปแบบ คือ ผสมในสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง และผสมภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรฯ

วิธีการศึกษา

รูปแบบวิธีการวิจัย Prospective observational study ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 28 วัน โดยเลือกยาปฏิชีวนะที่เป็นยาหยอดตา

ที่เตรียมในศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ คำนวณขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมคือ การเปรียบเทียบค่าสัดส่วนของ 2 กลุ่มทดลอง (compare proportion for independent two groups) โดยกำหนดค่ามาตรฐานตามตาราง Z เท่ากับ 1.96 เมื่อกำหนดระดับนัยสำคัญที่ 5% และกำหนดอำนาจการทดสอบ $(1-\beta)$ เท่ากับ 80% คำนวณขนาดตัวอย่างด้วยโปรแกรม nQuery ได้ขนาดตัวอย่างอย่างน้อย 500 plates ต่อกลุ่ม ในกลุ่ม Intervention และกลุ่ม control แยกเป็นยา 2 ชนิด ยาชนิดที่ 1 และยาชนิดที่ 2 ใช้ขนาดตัวอย่างชนิดยาละ จำนวน 250 plates ซึ่งภายใน 4 สัปดาห์ ทำทั้งหมด 5 รอบ รอบละ 50 plates แต่ในยาแต่ละชนิด แยกการเพาะเป็น 2 ลักษณะ คือ เพาะเชื้อรา และเพาะเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้น ในกลุ่ม Intervention และกลุ่ม control แยกการเพาะเชื้อแต่ละชนิด เท่ากับ 25 plates/1 รอบ/1 ชนิดการเพาะเชื้อ/1 ชนิดยา

ผู้ทำการวิจัยทำการผสมยาที่จะทำการศึกษากับน้ำ (Sterile water) ให้ได้ความเข้มข้น Amikacin 50 มก./มล., Cefazolin 50 มก./มล. โดยแยกผสมในตู้ปลอดเชื้อ (laminar airflow hood) และผสมที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้องภายใต้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) โดยบริเวณที่เตรียมนานี้เตรียมในบริเวณเดียวกัน โดยตู้ Laminar airflow cabinet อยู่ห่างจากบริเวณที่ใช้ผสมยาที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้องในระยะ 5 เมตร ซึ่งเป็นวิธีการเดียวกับที่ใช้ผสมยาหยอดตาที่ใช้กับผู้ป่วยในศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ โดยยาแต่ละชนิดจะผสมและแบ่งใส่ขวดยาหยอดตาปราศจากเชื้อ (Sterile) ขวดละ 10 มล. จำนวน 100 ขวด โดยทุกขั้นตอนในการเตรียมนายจะใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) Amikacin (50 mg./cc.) ใช้ Amikacin 500 mg./2 cc. (1 amp.)

ดูดออกมาทั้งหมด เติม water for injection ลงไปอีก 8 cc. รวมเป็น 10 cc. ผสมให้เข้ากัน จะได้ Amikacin 50 mg./cc. สำหรับ Cefazolin (50 mg./cc.) ใช้ Cefazolin 1 gm. ผสมกับ water for injection 5 cc. เขย่าให้ละลาย ดูด Cefazolin ที่ผสมแล้วออกมา 2.5 cc. เติม water for injection ลงไปอีก 7.5 cc. รวมเป็น 10 cc. ผสมให้เข้ากัน จะได้ Cefazolin 50 mg./cc.

ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อเพื่อช่วยยืนยันการปนเปื้อนเชื้อระหว่างกระบวนการเตรียมนยา โดยทำการเก็บตัวอย่างเชื้อจากขวดยาหยอดตาที่ใช้บรรจุยา ถุงมือ water for injection และ Pasteur pipette individual sterile swab จำนวนละ 5 ตัวอย่าง แล้วนำไปทำการเพาะเชื้อที่แผนกพยาธิวิทยา ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ และติดตามดูผลการเพาะเชื้อที่ 7 วัน หากมีการปนเปื้อนของเชื้อ จะทำการนำเชื้อไปเพาะเชื้อเพิ่มเติม เพื่อระบุชนิดของเชื้อ

นำตัวอย่างการศึกษาทั้ง 2 กลุ่มไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาเก็บข้อมูล 28 วัน โดยในแต่ละวัน ผู้ช่วยวิจัยจะเปิดขวดยาเพื่อหยอดยาทิ้งออกไปครั้งละ 1 หยดทุกขวด ใส่ภาชนะสะอาดที่เตรียมไว้ ที่เวลา 7.00 น., 10.00 น., 13.00 น., 16.00 น., 19.00 น. และ 22.00 น. โดยใช้วิธีเทคนิคที่ใช้ในการหยอดตาปกติ คือ ให้ล้างมือด้วยน้ำสบู่และเช็ดมือให้แห้ง

ทำการเก็บตัวอย่างยาที่ทำการศึกษาไปทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth, Thioglycolate broth ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28 โดยเลือกช่วงเวลาให้ผู้ช่วยวิจัยจะเปิดขวดยาที่เวลา 7.00 น. เพื่อเก็บตัวอย่างยาละ 1 หยดไปหยดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth และ Thioglycolate broth แล้วนำไปทำการเพาะเชื้อและติดตามดูผลการเพาะเชื้อที่ 7 วัน หากมีการปนเปื้อนของเชื้อซึ่งจะตรวจพบว่ามีารขึ้นขึ้นของ

อาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องมือ densitometer วัดความขุ่นโดยเทียบกับตัวอย่างน้ำกลั่นจากเครื่อง ถ้าวัดแล้วมีความขุ่น จะทำการนำเชื้อไปเพาะเชื้อเพิ่มเติมโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ sheep blood agar, MacConkey agar และ chocolate agar เพื่อระบุชนิดของเชื้อ และจะนำเชื้อจากการทดลองไปทำลาย 14 วัน หลังจากการเพาะเชื้อตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์ข้อมูล สถิติเชิงพรรณนา ใช้ในการอธิบายลักษณะของเชื้อที่มีการปนเปื้อนในยาหยอดตา สำหรับสถิติเชิงอนุมาน การเปรียบเทียบอัตราการติดเชื้อระหว่างกลุ่ม Intervention และกลุ่ม control ใช้สถิติ Chi-square หรือ Fisher's exact test การเปรียบเทียบอัตราการติดเชื้อระหว่างชนิดยาในกลุ่ม Intervention และกลุ่ม control ใช้สถิติ Chi-square หรือ Fisher's exact test งานวิจัยมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อค่า p -value < 0.05

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่เป็นยาหยอดตาที่เตรียมในศูนย์ การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ ประกอบด้วย Amikacin (50 mg./cc.) และ Cefazolin (50 mg./cc.) จำนวนชนิดละ 500 ตัวอย่าง เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาเก็บข้อมูล 28 วัน โดย

ในแต่ละวัน ผู้ช่วยวิจัยจะเปิดขวดยาเพื่อหยอดยา ที่ออกไปครั้งละ 1 หยดทุกขวด ใส่ภาชนะสะอาดที่เตรียมไว้ ที่เวลา 7.00 น., 10.00 น., 13.00 น., 16.00 น., 19.00 น. และ 22.00 น. โดยใช้วิธีเทคนิคที่ใช้ในการหยอดตาปกติ และทำการเก็บตัวอย่างยา ที่ทำการศึกษาไปทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth, Thioglycolate broth ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อระหว่างยาหยอดตาที่ผสมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และที่สถานะปกติอุณหภูมิห้อง โดยไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากทั้ง 2 กลุ่มทดลอง ($p=1.00$) รวมไปถึงไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากตัวอย่างอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการเตรียมยา แต่พบว่าการปนเปื้อนขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเมื่อทำการแยกเพาะเชื้อแล้วไม่มีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้นทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งความปนเปื้อนของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ผสมยาหยอดตาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และกลุ่มที่ผสมยาหยอดตาภายใต้สถานะปกติอุณหภูมิห้อง (p -value = 0.129) ในขณะที่เมื่อทำการเปรียบเทียบความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการเพาะเชื้อจากยาหยอดตาผสม Cefazolin และยาหยอดตาผสม Amikacin มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.001)

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบสภาวะแวดล้อม ภายใต้ระบบ laminar flow และสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้องในศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

	ภายใต้ระบบ laminar flow	สภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง
อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	27.6	21.6
ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (ร้อยละ)	68.1	46.9
ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (PPM)	584	779

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบปริมาณฝุ่นและวัตถุสิ่งแปลกปลอม ภายใต้ระบบ laminar flow และสภาวะปกติ ที่อุณหภูมิตั้งในศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

	สภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง ($\mu\text{m}/\text{m}^3$)	laminar flow ($\mu\text{m}/\text{m}^3$)	บริเวณห้องวางเครื่อง laminar flow ($\mu\text{m}/\text{m}^3$)
วัตถุขนาดเล็กกว่า 1 μm	10,000	10	1,300
วัตถุขนาดเล็กกว่า 4 μm	13,000	20	1,900
วัตถุขนาดเล็กกว่า 10 μm	29,000	20	2,300
วัตถุขนาดเล็กกว่า 1,000 μm	46,700	20	2,800

ตารางที่ 3 ตารางแสดงการเพาะเชื้อจากอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการเตรียมยา

	จำนวนที่ทดสอบ	ผลการเพาะเชื้อ
ถุงมือ Sterile	5	No growth
ขวดยาหยอดตา Sterile	5	No growth
Sterile water	5	No growth
Sterile pipette	5	No growth

ตารางที่ 4 ตารางแสดงผลการเพาะเชื้อจากยาหยอดตาแบบผสม Amikacin และ Cefazolin ที่ผสมภายใต้ระบบ laminar flow และสภาวะปกติที่อุณหภูมิตั้งในศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

ภายใต้ระบบ laminar flow					
Sample/Day of culture	0	3	7	14	28
Cefazolin	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)
Amikacin	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)
สภาวะปกติที่อุณหภูมิห้อง					
Sample/Day of culture	0	3	7	14	28
Cefazolin	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)
Amikacin	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)	No growth (50 plate culture)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

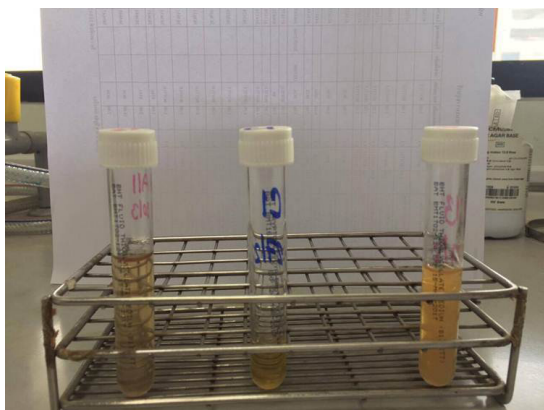
Medicine	n/total	Proportion (%)	p-value
Cefazolin	0/500	0%	1.00
Amikacin	0/500	0%	

ตารางที่ 5 ตารางแสดงผลการเพาะเชื้อที่มีความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อจากยาหยอดตาแบบผสม Amikacin และ Cefazolin ที่ผสมภายใต้ระบบ laminar flow และสภาวะปกติที่อุณหภูมิตั้งในศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Medicine	n/total	Proportion (%)	p-value
Cefazolin	130/500	26.00%	< 0.001
Amikacin	48/500	9.60%	

Intervention	n/total	Proportion (%)	p-value
laminar flow	76/500	15.20%	0.129
อุณหภูมิห้อง	102/500	20.40%	

Medicine	Intervention	n/total	Proportion (%)	p-value
Cefazolin	laminar flow	46/250	18.40%	0.006
Cefazolin	อุณหภูมิห้อง	84/250	33.60%	
Amikin	laminar flow	30/250	12.00%	0.198
Amikin	อุณหภูมิห้อง	18/250	7.20%	
Cefazolin	laminar flow	46/250	18.40%	0.159
Amikin	laminar flow	30/250	12.00%	
Cefazolin	อุณหภูมิห้อง	84/250	33.60%	< 0.001
Amikin	อุณหภูมิห้อง	18/250	7.20%	



รูปที่ 1 รูปแสดงความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการแยกเพาะเชื้อ

หลอดที่ 1 จากซ้าย Thioglycolate broth ไม่มีความขุ่น หลังการเพาะเชื้อที่ตู้บ่ม 35 °C เป็นเวลา 14 วัน

หลอดที่ 2 จากซ้าย Tryptic soy broth ไม่มีความขุ่น หลังการเพาะเชื้อที่ตู้บ่ม 35 °C เป็นเวลา 14 วัน

หลอดที่ 3 จากซ้าย Thioglycolate broth ที่มียา cefazolin หลังจากเพาะเชื้อในตู้บ่ม 35 °C เป็นเวลา 14 วัน มีความขุ่น แต่เมื่อนำมาแยกเพาะเชื้อพบว่าไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ขึ้น

อภิปรายผล

ในกระบวนการเตรียมนั้นถือได้ว่ามีความสำคัญขั้นตอนหนึ่งที่จะลดโอกาสในการปนเปื้อนเชื้อ (sterile technique)⁸ แต่ละโรงพยาบาลก็จะมีขั้นตอนในการเตรียมยาด้วยกรรมวิธีและอุปกรณ์ที่แตกต่างกัน ตามข้อจำกัดทางด้านทรัพยากรของแต่ละพื้นที่ ซึ่งอยู่ภายใต้หลักการปราศจากเชื้อ (sterile technique) โดยอาจมีขั้นตอนและวิธีการแตกต่างกันบ้าง โดยในปัจจุบันได้มีการพัฒนากระบวนการในการเตรียมยา เริ่มมีการนำระบบ laminar airflow cabinet⁸ มาใช้ในการเตรียมยา เพื่อลดโอกาสปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้น แต่อุปกรณ์ดังกล่าวไม่ได้มีในทุกสถานพยาบาล งานวิจัยนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อที่จะศึกษาผลของการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการเตรียมยาด้วยวิธีการ sterile technique ที่สภาวะปกติ อุณหภูมิห้อง เทียบกับการเตรียมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์

จากการศึกษาที่ผ่านมาในอดีตได้มีการศึกษาของ³ ได้ทำการประเมินการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในยาหยอดตาที่ปราศจากสารกันเสีย ที่ได้ทำการผสมที่หอผู้ป่วย ได้แก่ ยาปฏิชีวนะหยอดตา (fortified antibiotic eye drops), ยาหยอดตาสเตียรอยด์ (steroid eye drops), ซีรัมหยอดตา (20% autologous serum) ผลการศึกษาพบว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพที่เก็บตัวอย่างไปเพาะเชื้อจุลชีพในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 แต่ไม่ได้มีการระบุชัดเจนว่าการผสมยาในงานวิจัยทำภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet หรือไม่ ในขณะที่⁷ ได้ทำการศึกษาระยะเวลาปลอดเชื้อของยาหยอดตาที่ผสมเองที่ใช้บ่อยในโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ที่อุณหภูมิห้อง คือ ยาปฏิชีวนะหยอดตา (fortified antibiotic eye drops), ยาหยอดตาสเตียรอยด์ (steroid eye drops) พบว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในยาหยอดตาที่

ผสมใช้เองภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet โดยปราศจากสารกันเสียที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จะเห็นได้จากการศึกษาที่ผ่านมา ไม่พบการปนเปื้อนของจุลชีพเมื่อทำการประเมินการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในยาหยอดตาที่ปราศจากสารกันเสียที่ผสมขึ้นใช้เองภายใต้หลักการปราศจากเชื้อ (sterile technique)

สอดคล้องกับผลการศึกษานี้ จากตารางที่ 4 ที่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อระหว่างยาหยอดตาที่ผสมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้อง โดยไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากทั้ง 2 กลุ่มทดลอง ($p=1.00$) แต่พบว่ามี การขึ้นขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเมื่อทำการแยกเพาะเชื้อแล้วไม่มีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้นทั้ง 2 กลุ่ม จากตารางที่ 5 ซึ่งความขึ้นขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ผสมยาหยอดตาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet และกลุ่มที่ผสมยาหยอดตาภายใต้สภาวะปกติอุณหภูมิห้อง ($p\text{-value} = 0.129$) ในขณะที่เมื่อทำการเปรียบเทียบความขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการเพาะเชื้อจากยาหยอดตามผสม Cefazolin และยาหยอดตามผสม Amikacin มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.001$) ซึ่งความขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้ออาจมีความเกี่ยวข้องกับชนิดของยา โดยยา Amikacin มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่ายา Cefazolin เนื่องจากมีส่วนประกอบของหมู่ฟังก์ชันเป็น Hydroxyl group และ Amino group ทำให้สามารถละลายน้ำได้ดีกว่า Cefazolin ที่มีประจุรวมโครงสร้างเคมีเป็นบวก ทำให้ยา Cefazolin ตกตะกอนมากกว่า⁹ ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติเฉพาะตัวของยา Amikacin ที่มีค่าความสามารถในการละลายในน้ำ (Water solubility) 49.7 mg/ml¹⁰ ในขณะที่ยา Cefazolin มีค่าความสามารถในการละลายในน้ำ (Water solubility)

3.0 mg/ml⁹ จากคุณสมบัตินี้จึงทำให้ยา Amikacin สามารถละลายในน้ำได้ดีกว่ายา Cefazolin จึงมีโอกาสดังกล่าวจะตกตะกอนน้อยกว่า ทำให้ยา Cefazolin มีโอกาสพบอาหารเลี้ยงเชื้อมีความขุ่นได้มากกว่า อีกทั้งยา Cefazolin ที่นำมาใช้ในการศึกษาอยู่ในรูปของยาปฏิชีวนะผงแห้ง ต้องนำไปละลายกับตัวทำละลายก่อนใช้งาน ในขณะที่ยา Amikacin ที่นำมาใช้ในการศึกษาอยู่ในรูปของสารละลาย ทำให้ยา Cefazolin มีแนวโน้มที่จะตกตะกอนมากกว่ายา Amikacin ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีโอกาสขุ่นได้มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของการขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความขุ่นทั่วหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อและมีการตกตะกอนที่ก้นหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งไม่สอดคล้องกับลักษณะรูปแบบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ

นอกจากนี้ จากตารางที่ 2 พบว่าฝุ่นละอองและวัสดุสิ่งแปลกปลอมในอากาศสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้องมีค่าเกินค่ามาตรฐานของห้องสะอาดสำหรับการเตรียมยาตามมาตรฐานของคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข¹² โดยจำนวนอนุภาคสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในปริมาตรอากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร ที่มีขนาดอนุภาคเท่ากับหรือใหญ่กว่า 0.5 ไมโครเมตร มีได้ไม่เกิน 3,520 อนุภาคต่อลูกบาศก์เมตร และขนาดอนุภาคเท่ากับหรือใหญ่กว่า 5 ไมโครเมตร มีได้ไม่เกิน 20 อนุภาคต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งอาจทำให้มีการปนเปื้อนของฝุ่นละออง สาร endotoxin ของเชื้อจุลินทรีย์ และ pyrogen ซึ่งอาจต้องใช้วิธีการทดสอบ และศึกษาเพิ่มเติม¹⁴ เพื่อควบคุมปริมาณฝุ่นละอองและวัสดุสิ่งแปลกปลอมในอากาศ เช่น อาจมีการใช้ตัวกรองอากาศภายในห้องปิด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของยาหยอดตาแบบผสม อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการจัดเตรียมยาเพื่อใช้กับผู้ป่วยจำเป็นต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของยา ความปราศจากเชื้อของยาไปควบคู่กัน ซึ่งในส่วนของคุณสมบัติของยา ได้มีการศึกษาการผสมยาหยอดตา Cefazolin และ Amikacin พบว่า

มีความคงตัวของยา สามารถคงประสิทธิภาพและคุณสมบัติทางเคมี เช่น ความเป็นกรดต่าง และความเข้มข้นของสารละลาย^{12,14,15} โดยได้มีการศึกษาพบว่าการผสมยาหยอดตา Cefazolin และ Amikacin เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บยาได้ 75 วัน โดยไม่เสียคุณสมบัติความคงตัวของยา¹⁷ และการผสมยาหยอดตา Cefazolin เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บยาได้ 4 สัปดาห์ โดยไม่เสียคุณสมบัติความคงตัวของยา¹⁸ สำหรับการศึกษาชิ้นนี้แสดงให้เห็นว่า ผลของการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการเตรียมยา ด้วยวิธีการ sterile technique ที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้อง เทียบกับการเตรียมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเพาะเชื้อระหว่างยาหยอดตา ซึ่งเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการเตรียมยาหยอดตาสำหรับผู้ป่วย แต่ก็ยังมีปัจจัยข้างต้นที่ยังต้องทำการศึกษาเพิ่มเติม ซึ่งหากมีการศึกษาครั้งต่อไปอาจเพิ่มชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ครอบคลุมจุลินทรีย์มากขึ้น เช่น เชื้อรา มีการตรวจสอบเรื่องของสาร endotoxin ของเชื้อจุลินทรีย์ และ pyrogen รวมไปถึงการตรวจสอบเรื่องความคงตัวของยา เพื่อให้เกิดความปลอดภัยและประสิทธิภาพต่อผู้ป่วยให้มากที่สุด ซึ่งหากควบคุมให้มีมาตรฐานที่เหมาะสม จะทำให้สามารถผสมยาหยอดตาได้ในสถานพยาบาลที่ขาดแคลนทรัพยากร เพิ่มโอกาสในการเข้าถึงยาหยอดตามผสมมากขึ้นสำหรับผู้ป่วยในอนาคต

สรุปผล

โดยสรุปแล้วการศึกษานี้ ได้แสดงให้เห็นว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการเตรียมยา ด้วยวิธีการ sterile technique ที่สภาวะปกติอุณหภูมิห้อง

เทียบกับการเตรียมยาภายใต้ระบบ laminar airflow cabinet ที่ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์

References

1. Baum JL. Antibiotic use in ophthalmology. In: Duane TD, ed. Clinical Ophthalmology. Philadelphia: Harper&Row, 1986;1-20.
2. Rajpal RK, Glaser SR. Antiseptics and Disinfectants. In: Kooner KS, Sharir M, editors. Textbook of Pharmacology. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: p662-3.
3. Prabhasawat P, Chotikavanich S, Leelaporn A. Sterility of Non-Preservative Eye drops. J Med Assoc Thai 2005;88(9):6-10.
4. Brilakis HS, Palmon FE, Webster GF, Holland EJ. Erythema multiforme, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors. Cornea. Philadelphia: Mosby, 2005:p697-8.
5. Djalilian AR, Hamrah P, Pflugfelder SC. Dry eye. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors. Cornea. Philadelphia: Mosby, 2005:p534-5.
6. Perry HD, Donnenfeld ED. Issues in the use of preservative-free topicals. Manage Care 2003;12:39-41.
7. T. Tantayakom, T. Thammikasakul, S. Thunyahan. The sterility of hospital preparation eye drops in stored room temperature, London : European society of cataract and refractive surgeons; 2014 [cited 2018 Jan 28]. Available from: <http://www.es CRS.org/London2014/programme/posters-details.asp?id=20539>.
8. American academic ophthalmology (US). Preferred Practice Pattern Bacterial keratitis. San Francisco: The Institute; 2013.
9. Kariyone K, Harada H, Kurita M, et al. Cefazolin, a new semisynthetic cephalosporin antibiotic. I. Synthesis and chemical properties of cefazolin. J Antibiot (Tokyo). 1970;23(3):131-6.
10. Peter M. Monteleone, Naseem Muhammad, Robert D. Brown, et al. Amikacin Sulfate. Analytical Profiles of Drug Substances. 1983;12:37-71.
11. Lawrence A. Trissel. Handbook on injectable drugs. 16th ed : American Society of Health-System Pharmacists; 2011.
12. The food and drug administration of Thailand. Notification of the ministry of public health [Internet], Bangkok : Thailand [cited 2018 Jan 28]. Available from: <http://www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/Law03-TheMinistryOfHealth.PDF>.
13. Kastango ES¹, Bradshaw BD. USP chapter 797: establishing a practice standard for compounding sterile preparations in pharmacy. Am J Health Syst Pharm 2004;18:1928-38.

14. P. Thaunsukon. Bacterial Endotoxins test in sterile product. R&D newsletter Government Pharmaceutical Organization. 2558;2:2-4.
15. How TH, Loo WY, Yow KL, et al. Stability of cefazolin sodium eye drops. J clin Pharm Ther 1998;23(1):41-7.
16. Ahned I, Day P. Stability of cefazolin sodium in various artificial tear solutions and aqueous vehicles. Am J Hosp Pharm 1987;44(10):2287-90.
17. Chedru-Legros V, Fines-Guyon M. Cherel A , et al. Fortified antibiotic (vancomycin, amikacin and ceftazidime) eye drop stability assessment at -20 degree C. J Fr Ophthalmol 2007;30(8):807-13.
18. Arici MK, Sumer Z, Guler C, et al. In vitro potency and stability of fortified ophthalmic antibiotics. Aust N Z J Ophthalmol 1999;27(6):426-30.