

การทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก

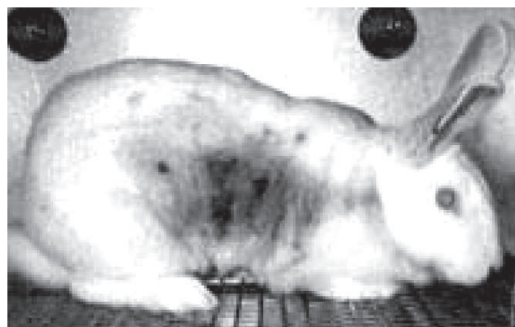
สุวรรณา เอียร์อังกูร

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การทดสอบความเป็นพิษหรือความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์และวัตถุดิบ ก่อนการนำมาใช้ประโยชน์กับมนุษย์ และสิ่งแวดล้อมนั้นเป็นขั้นตอนที่จำเป็น โดยเฉพาะเมื่อสหภาพยุโรปประกาศควบคุมการใช้สารเคมี ด้วยระเบียบสารเคมี (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals-REACH) บังคับให้สารเคมีทุกชนิด ที่นำเข้าและผลิตขึ้นใหม่ ต้องมีข้อมูลทางพิษวิทยาจึงจะขึ้นทะเบียนและจำหน่ายได้ โดยในการทดสอบด้านพิษวิทยานี้ ต้องมีการพิจารณาใช้วิธีทางเลือก (Alternative methods) ตามหลักการ 3Rs ได้แก่ Reduction, Refinement และ Replacement และวิธีทางเลือกดังกล่าวต้องผ่านกระบวนการศึกษาความใช้ได้ของวิธี เพื่อให้มั่นใจว่าข้อมูลความเป็นพิษที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกนี้มีความเชื่อถือได้และเกี่ยวข้องตรงตามเป้าหมาย และจุดยุติในการทดสอบ (End-point) ที่สนใจศึกษาความเป็นพิษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องได้รับการยอมรับ และเป็นไปตามข้อกำหนดของหน่วยงานหรือองค์กรผู้มีความอำนาจในการกำกับดูแล (Regulatory authorities) ทั้งนี้ ควรเลือกใช้วิธีทางเลือกที่ได้รับการยอมรับระหว่างประเทศแล้ว เช่น OECD Test Guideline และการทดสอบดังกล่าวต้องดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD GLP ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์จึงจะได้รับการยอมรับร่วม (Mutual Acceptance of Data - MAD) ระหว่างสมาชิกกลุ่มประเทศภาคีขององค์การเพื่อการพัฒนาและความร่วมมือทางเศรษฐกิจ (Organization for Economic Co-operation and Development - OECD) จึงเป็นความจำเป็นที่ประเทศไทยต้องเร่งพัฒนาบุคลากร ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานและหน่วยรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน OECD GLP ที่เป็น Compliance Monitoring Authority (CMA) เพื่อให้ประเทศไทยได้เป็น Full Member Adherence ในกลุ่มประเทศภาคี OECD ทำให้สามารถลดข้อกีดกันทางการค้า และเพิ่มศักยภาพการแข่งขันในเวทีสากลให้แก่ผู้ประกอบการของไทย และจะเป็นผลให้เศรษฐกิจของประเทศไทยขยายตัวมากขึ้น

บทนำ

การวิจัยและพัฒนาทางวิทยาศาสตร์หลายด้าน โดยเฉพาะในการพัฒนารักษาโรค และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือน ฯลฯ เป็นความจำเป็นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่ต้องมีการทดสอบความเป็นพิษหรือความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์นั้นๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลด้านความเป็นพิษต่อระบบต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง และมีการประเมินความเสี่ยง ก่อนการนำผลิตภัณฑ์นั้นๆ มาใช้กับมนุษย์ การทดสอบความเป็นพิษดังกล่าวนี้โดยปกติแล้วเป็นการทดสอบโดยใช้ "สัตว์ทดลอง" ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสัตว์กักตุน จนถึงสัตว์ใหญ่ที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงมนุษย์มากขึ้น เช่น ลิงไพรเมต (primate) ชนิดและจำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาใช้ในการทดลองขึ้นอยู่กับโครงการวิจัยนั้นๆ โดยคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของหน่วยงาน พิจารณาว่ากระบวนการใช้สัตว์ทดลองนั้นมีขั้นตอนถูกต้องทางวิทยาศาสตร์ และหลักจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง ซึ่งต้องคำนึงว่าขั้นตอนในการทดสอบจะสร้างความเครียด ความเจ็บปวดทรมานแก่สัตว์หรือไม่ และต้องคำนึงถึงคุณธรรมที่พึงมีต่อชีวิตสัตว์ที่จะต้องสูญเสียไปในการทดลองแต่ละครั้ง⁽¹⁾ ยกตัวอย่างเช่น การใช้กระต่ายสำหรับทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนังตามวิธี Draize tests ซึ่งอาจมีผลทำให้ผิวหนังกระต่ายอักเสบรุนแรงได้⁽²⁾ (ภาพที่ 1) ด้วยเหตุนี้จึงมีการวิพากษ์วิจารณ์กันในวงกว้าง และมีหลายองค์กรทั่วโลก โดยเฉพาะกลุ่มประเทศสหภาพยุโรปต่อต้านการใช้สัตว์ในการทดสอบผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยได้ประกาศห้ามจำหน่าย⁽³⁾ (Marketing ban) ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ผ่านการทดสอบโดยใช้สัตว์ ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2556 นอกจากนี้ ยังมีประกาศควบคุมการใช้สารเคมีด้วยระเบียบสารเคมีของสหภาพยุโรป REACH (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals) บังคับให้สารเคมีทุกชนิด ทั้งที่มีอยู่แล้ว และจะผลิตขึ้นใหม่ ต้องมีข้อมูลทางพิษวิทยา⁽⁴⁻⁶⁾ ส่งผลให้ผู้ผลิตต้องพยายามหาวิธีทางเลือก (Alternative methods) ทดแทนการใช้สัตว์ในการทดสอบด้านพิษวิทยา เนื่องจากสามารถทดสอบสารเคมีจำนวนมากได้ต่อการทดสอบ ทดสอบได้รวดเร็วกว่า มีค่าใช้จ่ายน้อยกว่า นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าผลการทดสอบด้านพิษวิทยาโดยใช้สัตว์ทดลองไม่สามารถทำนายความเป็นพิษได้แม่นยำสำหรับมนุษย์⁽⁷⁻⁸⁾ การทดสอบด้านพิษวิทยาโดยวิธีทางเลือกจึงจัดเป็นเรื่องที่มีความเกี่ยวข้องและมีผลกระทบโดยตรงต่อเศรษฐกิจการค้าของประเทศ และจำเป็นต้องเร่งดำเนินการ บทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลการศึกษาความใช้ได้ของวิธีทางเลือก และการพิจารณาใช้วิธีทางเลือกสำหรับทดสอบด้านพิษวิทยาตามมาตรฐานสากล และนำเสนอแนวทางการพัฒนาห้องปฏิบัติการทดสอบพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือกของประเทศไทย



ภาพที่ 1 สภาพการอักเสบรุนแรงของผิวหนังกระต่ายที่เป็นผลจากการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังด้วยวิธี Draize tests จาก [https://www.dspca.ie/media/UsingAnimalsforTesting Cosmetics1.pdf](https://www.dspca.ie/media/UsingAnimalsforTesting%20Cosmetics1.pdf)

แนวโน้มโลกในการทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก

วิธีทางเลือกเป็นวิธีหรือการทดสอบที่มีการปฏิบัติตามหลักการ 3Rs⁽⁹⁾ ได้แก่ 1) การลดจำนวนสัตว์ (Reduction) พยายามลดจำนวนสัตว์ทดลองที่จำเป็นต้องใช้ในการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลด้านพิษวิทยาที่เพียงพอและเที่ยงตรง 2) การกลั่นกรอง (Refinement) ต้องมีการปรับปรุงเทคนิคในการปฏิบัติและวิธีการทดสอบเพื่อลดการบาดเจ็บรุนแรง ความเครียด หรือทรมานของสัตว์ทดลอง รวมทั้งคำนึงถึงสวัสดิภาพสัตว์ พัฒนาสภาพแวดล้อมให้สัตว์มีความเป็นอยู่ที่ดี และ 3) การทดแทน (Replacement) การทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีชีวิต มีความรู้สึก ให้ทดแทนด้วยสิ่งที่ไม่มีความรู้สึก (non-sentient materials) เช่น เซลล์เพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อสังเคราะห์ การสร้างแบบจำลองด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (computer simulation) เป็นต้น

การทดสอบด้านพิษวิทยาซึ่งต้องมีการพิจารณาใช้วิธีทางเลือกตามหลักการ 3Rs นี้ มีเหตุผล และแบบแผนขั้นตอนชัดเจน ในความพยายามที่จะลดจำนวนสัตว์ทดลองที่จำเป็นต้องใช้ หรือลดความทรมานของสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้วิธีทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลอง โดยต้องคงคุณภาพผลการทดสอบทางวิทยาศาสตร์ แต่ยังไม่เป็นที่นิยมในการนำมาใช้ด้านพิษวิทยา จนกระทั่งปี พ.ศ. 2529 กลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (European Union - EU) ได้ออกกฎหมายสนับสนุนใน *Directive 86/609/EEC*⁽¹⁰⁾ ให้นักวิจัยพิจารณาใช้วิธีทางเลือก ก่อนที่จะทำการทดสอบโดยสัตว์ทดลอง และปี พ.ศ. 2542 มีการทำปฏิญญาโบโลญญา 3Rs (3Rs Declaration Bologna) ทำให้หลักการ 3Rs นี้เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป มีการพัฒนาวิธีทางเลือกที่เป็นประโยชน์ต่อการทดสอบด้านพิษวิทยามากขึ้น⁽¹¹⁻¹²⁾ โดยเฉพาะเมื่อประเทศเยอรมนีได้จัดตั้งศูนย์ทดสอบวิธีทางเลือกแห่งชาติ (National Centre for Alternative Methods - ZEBET) ในปี พ.ศ. 2532 และต่อมาในปี พ.ศ. 2534 สหภาพยุโรปได้จัดตั้งศูนย์กลางสากล European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) ทำหน้าที่ประเมินและทดสอบความใช้ได้ของวิธีทางเลือก โดยในขั้นตอนสุดท้ายมี ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC) ทำหน้าที่พิจารณาข้อมูลและสรุปให้คำแนะนำความใช้ได้ของวิธีทางเลือกที่น่าเสนอนั้น⁽¹³⁻¹⁴⁾ OECD Environment Monograph No. 36⁽¹⁵⁾ และ OECD Guidance Document (GD) No. 34⁽¹⁶⁾ ระบุหลักการ Pre-validation และ validation รวมถึงเกณฑ์พิจารณาความใช้ได้ของวิธี (validation criteria) ซึ่งเป็นหลักการสากลที่ได้รับการยอมรับระหว่างประเทศและทวีปต่างๆ เนื่องจากมีการพิจารณากำหนดโดยหลายหน่วยงาน เช่น องค์การเพื่อการพัฒนาและความร่วมมือทางเศรษฐกิจ (Organization for Economic Co-operation and Development - OECD), ZEBET, ECVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM), Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments (FRAME) เป็นต้น

การทดสอบด้วยวิธีทางเลือกได้รับการสนับสนุนโดยองค์กรต่างๆ ทั่วโลก เช่น Cruelty Free International (<https://www.crueltyfreeinternational.org/>) และ The European Coalition to End Animal Experiments (ECEAE) (<http://www.eceae.org/>) เป็นต้น มีความพยายามทั้งในเชิงสังคมและเชิงนโยบายให้มีความตระหนักในคุณธรรมที่พึงมีต่อสัตว์ คำนึงถึงความเจ็บปวด ทรมาน และชีวิตสัตว์ที่จะต้องสูญเสียไปในการทดลองแต่ละครั้ง นอกจากนี้ ยังมีการออกมาตรการหรือข้อกำหนดต่างๆ ที่ทำให้ผู้ประกอบการจำเป็นต้องใช้วิธีทางเลือกด้านพิษวิทยาที่ได้รับการยอมรับแล้ว เป็นวิธีทดสอบสำหรับการจำแนกและจัดประเภท (classification and labeling) สารเคมี เพื่อรับรองผลิตภัณฑ์ หรือเป็นวิธีทดสอบความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ เช่น

- European Union Directive: Cosmetic directive 76/768/EEC (VII Amendment)⁽¹⁷⁾ ออกข้อกำหนดและมาตรการต่างๆ ตามลำดับ โดยในวันที่ 11 มีนาคม 2556 ได้ประกาศใช้ Marketing ban ให้ประเทศกลุ่มสหภาพยุโรประงับการจำหน่ายผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทุกชนิด รวมถึงวัตถุดิบที่ผ่านการทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง
- สหประชาชาติสนับสนุนให้มีข้อตกลงระหว่างประเทศ กำหนดเป็นแนวทางการจำแนกประเภทและการติดฉลากสารเคมีที่เป็นระบบเดียวกันทั่วโลก (Globally Harmonized System of Classification and

Labelling of Chemicals - GHS)⁽¹⁸⁾ สื่อสารความเป็นอันตรายด้วยฉลากและข้อมูลความปลอดภัยสารเคมี ลดความซ้ำซ้อนในการทดสอบและการประเมินความเป็นอันตรายของสารเคมี โดยเฉพาะการใช้สัตว์ทดลอง

• คณะกรรมาธิการสหภาพยุโรป (European Commission) ได้ประกาศควบคุมการใช้สารเคมีด้วยระเบียบสารเคมีของสหภาพยุโรป REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) โดยมีเป้าหมายในการบังคับให้สารเคมีทุกชนิดที่มีอยู่แล้ว และจะผลิตขึ้นใหม่ ต้องมีข้อมูลทางพิษวิทยาและผ่านการจดทะเบียน การประเมิน และการอนุญาตให้ใช้สารเคมี



การบังคับใช้ REACH ซึ่งเป็นที่ทราบกันว่า “No data, no market” จัดเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่ทำให้ในการทดสอบทางพิษวิทยา มีการเลือกใช้วิธีทดสอบทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลองมากขึ้น เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการใช้สัตว์ทดลอง โดยมีข้อกำหนดดังนี้

1. Registration การจดทะเบียนสารเคมี โดยยื่นเสนอข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารเคมี ความเป็นอันตรายและพิษต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม รวมถึงการประเมินความเสี่ยงของการใช้สารเคมีนั้น เพื่อให้ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมมีข้อมูลเกี่ยวกับสารเคมีที่ผลิตขึ้นและนำมาใช้ผลิตสินค้า และสามารถใช้อ้างอิงข้อมูลเหล่านั้นเป็นข้อมูลประกอบการจัดการสารเคมีเพื่อความปลอดภัย

2. Evaluation การตรวจสอบและประเมินรายงานการศึกษาถึงอันตรายและความเสี่ยงในการผลิตและใช้สารเคมีที่ผู้ยื่นจดทะเบียนนำเสนอ เพื่อให้แน่ใจว่าผู้ประกอบการมีข้อมูลและนำข้อมูลนั้นมาใช้ประโยชน์ในการจัดการสารเคมีในกระบวนการผลิตหรือใช้สารเคมีได้อย่างปลอดภัย

3. Authorization การขออนุญาตผลิตหรือใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายมาก (very high concern) อย่างมีเงื่อนไข เพื่อลดความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

4. Restriction การจำกัดการผลิต การใช้หรือจำหน่ายสารที่เป็นอันตรายมาก เมื่อมีความจำเป็นต้องใช้สารนั้นด้วยเหตุผลทางสังคมและเศรษฐกิจ และผู้ประกอบการไม่สามารถหาสารหรือวิธีอื่นที่เหมาะสมมาใช้แทนได้

นอกจากนี้ REACH ยังกำหนดให้มีการยอมรับร่วมในข้อมูลการทดสอบด้านพิษวิทยาของสารเคมี (Mutual Acceptance of Data - MAD) ระหว่างประเทศภาคีของ OECD โดยต้องเป็นข้อมูลที่ได้จากการทดสอบตาม OECD Test guideline จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD Good Laboratory Practice (GLP) อีกด้วย

การศึกษาความใช้ได้ของวิธีทางเลือก (Validation of Alternative method)⁽¹⁶⁾

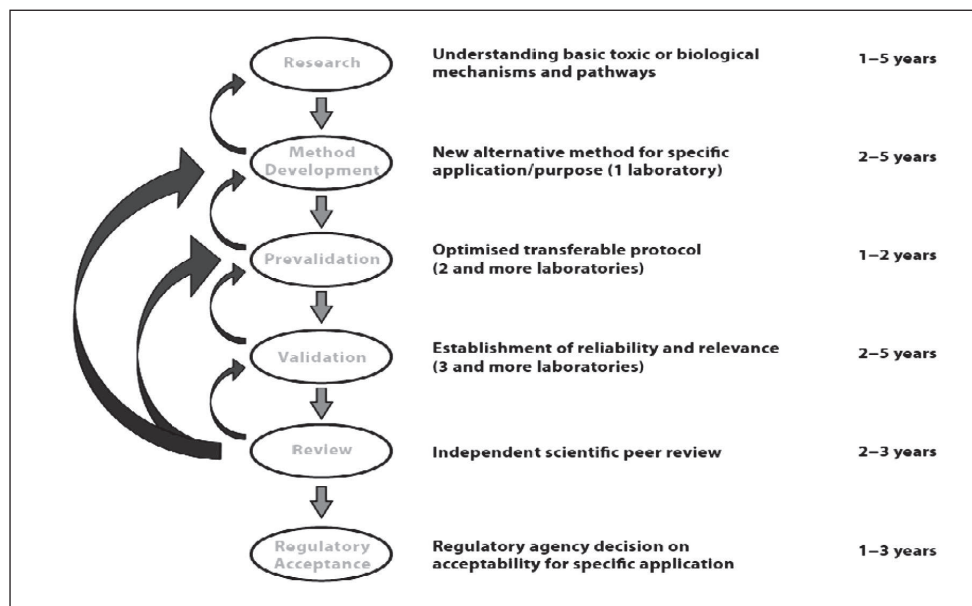
การพัฒนาความรู้และเทคโนโลยีด้านชีววิทยาทางการแพทย์และเภสัชวิทยา ทำให้มีวิธีทางเลือกที่พัฒนาขึ้นใหม่ โดยอาศัยทางเลือกอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นวิธีทดสอบทางพิษวิทยาทดแทนการทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง ซึ่งจำเป็นต้องผ่านกระบวนการศึกษาความใช้ได้ของวิธี เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีทางเลือกที่พัฒนามีความใช้ได้ทางวิทยาศาสตร์ และการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลทางพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือกนี้ได้รับการยอมรับ และเป็นไปตามข้อกำหนดของหน่วยงานหรือองค์กรผู้มีอำนาจในการกำกับดูแล (Regulatory authorities)

วิธีทางเลือกนี้จะต้องสามารถวัดหรือทำนายผลกระทบทางด้านชีววิทยาที่ศึกษาได้ การศึกษาความใช้ได้ของวิธีเป็นกระบวนการที่ต้องมีหลักการทางวิทยาศาสตร์ที่เหมาะสม มีวิธีขั้นตอนการทดลองซึ่งจัดทำเพื่อให้ได้วิธีที่เชื่อถือได้ (Reliability) คือเมื่อห้องปฏิบัติการเดียวกัน หรือระหว่างห้องปฏิบัติการ (within and among laboratories) ใช้กระบวนการทดสอบเดียวกันนี้ ในช่วงเวลาต่าง ๆ จะต้องได้ผลการทดสอบที่สามารถทำซ้ำได้ และเป็นวิธีที่เหมาะสมเกี่ยวข้อง (Relevance) คือ การทดสอบด้วยวิธีทางเลือกนั้น มีความสัมพันธ์กับผลกระทบในสปีชีส์เป้าหมาย (target species) และวิธีทางเลือกนั้นเป็นประโยชน์และให้ข้อมูลผลการทดสอบตรงตามวัตถุประสงค์

เฉพาะสำหรับการทดสอบนั้นๆ โดยมีการระบุข้อจำกัดต่างๆ ที่มี โดยทั่วไปการศึกษาความใช้ได้ของวิธีจำแนกเป็น 2 รูปแบบ คือ Prospective validation (ภาพที่ 2) ซึ่งประกอบด้วย 6 ขั้นตอน เพื่อให้ได้ข้อมูลใหม่ และ Retrospective validation ซึ่งเป็นการนำข้อมูลเดิมที่มีอยู่แล้วมาศึกษาประเมินอีกครั้ง (re-assess) ซึ่งจัดว่าเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่ง เมื่อนำเสนอข้อมูลเพื่อประเมินความใช้ได้ของวิธี

ความสามารถในการทำนายผล (Predictivity) และความเชื่อมั่น (Reliability) พิจารณาจากข้อมูลต่อไปนี้

- ความไว (Sensitivity) พิจารณาจากร้อยละของผลทดสอบที่บ่งชี้สารเคมีที่ให้ผลทดสอบเป็นบวก (positive chemicals) ได้ถูกต้อง
- ความจำเพาะ (Specificity) พิจารณาจากร้อยละของผลทดสอบที่บ่งชี้สารเคมีที่ให้ผลทดสอบเป็นลบ (negative chemicals) ได้ถูกต้อง
- ความสามารถในการทำนาย พิจารณาจากร้อยละของผลทดสอบที่ทำนายการจำแนกสารเคมีเฉพาะกลุ่มได้ถูกต้อง
- ความแม่นยำ (Accuracy) พิจารณาจากร้อยละทั้งหมดที่จำแนกชนิดสาร (classifications) ได้ถูกต้อง พารามิเตอร์อื่นๆ ที่ประเมินโดยนักชีวสถิติในระหว่างการศึกษาความใช้ได้ของวิธี ได้แก่
- ความทำซ้ำได้ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน (Reproducibility within laboratories) การจำแนกชนิดสารที่ได้จากผลการทดสอบซ้ำ (independent runs) 3 ครั้ง หรือมากกว่า โดยห้องปฏิบัติการเดียวกันต้องมีความสอดคล้องกัน
- ความทำซ้ำได้ระหว่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility between laboratories) การจำแนกชนิดสารที่ได้จากผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการต่างๆ ต้องมีความสอดคล้องกัน
- ความน่าจะเป็นของการจำแนกชนิดสารได้ถูกต้อง (Probability for correct classification)



ภาพที่ 2 แบบแผนการศึกษาความใช้ได้ของวิธีแบบ prospective validation study⁽¹¹⁾

เมื่อวิธีทดแทนการใช้สัตว์ทดลองผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว จะเข้าสู่กระบวนการพิจารณารับรองของหน่วยงานผู้มีอำนาจในการกำกับดูแล และการยอมรับนำแนวทางการทดสอบมาใช้ (regulatory acceptance and guideline adoption) เช่น ECVAM, ICCVAM และ OECD เป็นต้น โดยวิธีการพิจารณาของหน่วยงานผู้มีอำนาจในการกำกับดูแลภายในประเทศ และแต่ละประเทศอาจมีความแตกต่างกันไป จึงมีการประสานให้ได้หลักการการทดสอบความใช้ได้ของวิธีที่สอดคล้องกันระหว่าง ECVAM, ICCVAM และ OECD ต่อจากนั้น OECD ได้จัดทำเอกสาร OECD GD 34 ระบุแนวทางการทดสอบความใช้ได้ของวิธีใหม่หรือวิธีที่ได้รับการปรับปรุง สำหรับประเมินความเป็นอันตรายที่มีการตกลงยอมรับร่วมกันระหว่างประเทศ ดังนั้น วิธีทดสอบที่มีขั้นตอนการปฏิบัติสอดคล้องกับหลักการต่างๆ ที่ระบุใน OECD GD 34 จะช่วยเพิ่มโอกาสให้ได้รับการยอมรับวิธีใหม่ หรือวิธีดัดแปลงได้มากขึ้น ตารางที่ 1 แสดงรายการวิธีทดสอบที่ผ่านการพิจารณารับรองโดย ECVAM, ICCVAM, JaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) และ OECD แล้วว่ามีความใช้ได้ทางวิทยาศาสตร์ และมีบางวิธีที่ได้รับการยอมรับให้ใช้เป็นวิธีทดสอบทางเลือกได้ แม้จะไม่ผ่านกระบวนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีตามขั้นตอนปกติ

มีวิธีทางเลือกหลายวิธีที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในขั้นตอนแรก (pre-validated) และบางวิธีผ่านเกณฑ์ครบถ้วนแล้ว ที่สามารถนำมาใช้ทดสอบ ทดแทนการใช้สัตว์ทดลองได้บางส่วนหรือทั้งหมด เช่น การทดสอบความเป็นพิษต่อระบบพันธุกรรม (Genotoxicity), การทดสอบความเป็นพิษเฉพาะตำแหน่ง เช่น การกีดกร่อนและการระคายเคืองต่อผิวหนัง และการทดสอบความปลอดภัยของเครื่องสำอางสำเร็จรูป เป็นต้น ผลจากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีทางเลือกจากหลายหน่วยงานทั่วโลกแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้วิธีทางเลือกเป็นวิธีทดสอบที่ช่วยลดจำนวนการใช้สัตว์ทดลอง หรือใช้เป็นวิธีทดแทนการใช้สัตว์ทดลองได้ ทั้งนี้ ในการศึกษาบางด้านอาจเลือกใช้การทดสอบร่วมระหว่างวิธีทางเลือกหลายวิธีได้ ได้แก่ การทดสอบด้วยวิธีทางเลือกในหลอดทดลอง (*in vitro*), การนำเซลล์หรือชิ้นส่วนใด ๆ จากสัตว์ทดลองมาทำการทดลองภายนอก (*ex vivo*) และการทดลองบนเครื่องคอมพิวเตอร์ (*in silico*) เช่น การพัฒนา software และวิธีต่าง ๆ สำหรับงานด้าน predictive toxicology ได้ นอกจากนี้ เมื่อพัฒนาวิธีทางเลือกที่ต้องศึกษาจุดยุติทางพิษวิทยาที่ซับซ้อน (Complex toxicity endpoints) ก็จำเป็นต้องศึกษาลำดับขั้นตอนการตอบสนองในระดับเซลล์ ซึ่งเมื่อมีการรบกวนเพียงพอก็จะสามารถทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพ (toxicology pathways) และกลไกการเกิดพิษด้วย ในขณะเดียวกันก็จำเป็นต้องพิจารณาความสามารถในการทำนายผลความเป็นพิษจากวิธีการทดสอบด้วยสัตว์ทดลองแบบเดิมว่าสอดคล้องกับผลกระทบที่สังเกตพบในมนุษย์หรือไม่ ข้อพิจารณาต่างๆ เหล่านี้ช่วยเพิ่มความสามารถในการพัฒนาวิธีทางเลือกที่มีความเกี่ยวข้อง (relevant) และมีความเชื่อมั่นสูงสามารถทำนายผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ได้⁽¹⁹⁾

ข้อดีของการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกแบบ *in vitro*

- สามารถควบคุมสภาวะการทดสอบ ลดความแปรปรวนระหว่างการทดลองหลายๆ ครั้งได้
- มีการทดสอบโดยใช้มาตรฐานระดับสูง
- ไม่มีผลกระทบจากระบบร่างกาย (Systemic effects)
- ทำการทดสอบสารเคมีได้จำนวนมาก รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายน้อย เช่น การตรวจแบบคัดกรองที่มีความรวดเร็วสูงและปานกลาง (High และ medium-throughput screening assays)
- ใช้วัสดุ หรือสารทดสอบในปริมาณน้อย
- ทำให้เกิดพิษในปริมาณน้อย
- สามารถใช้เซลล์และเนื้อเยื่อมนุษย์ และเซลล์ที่มีการดัดต่อสารพันธุกรรม (Transgenic cells) ซึ่งมีถิ่นมนุษย์สำหรับทดสอบได้
- ลดการทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด⁽²⁰⁾

End-point and Method Name	Test Type ¹	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional ²	International
Acute mammalian toxicity (oral)				
Acute toxic class method	In vivo	ESAC (2007)		OECD TG 423 (2001)
Fixed dose procedure	In vivo	ESAC (2007)		OECD TG 420 (2001)
Up-and-down procedure	In vivo	ICCVAM (2001), ESAC (2007)	EPA OPPTS 870.1100 (2002)	OECD TG 425 (2006)
Normal human keratinocyte neutral red uptake (NHK NRU) assay	In vitro ³	ICCVAM (2008), JaCVAM (2011)		OECD GD 129 (2010)
Balb/c 3T3 neutral red uptake assay	In vitro ³	ICCVAM (2008), ECVAM (2011), JaCVAM (2011)		OECD GD 129 (2010)
Acute mammalian toxicity (inhalation)				
Acute toxic class method	In vivo			OECD TG 436 (2009) OECD GD 153 (2011)
Carcinogenicity				
Syrian Hamster Embryo Cell Transformation Assay (SHE CTA): SHE CTA performed at pH 6.7, SHE CTA performed at pH 7.0	In vitro	EURL ECVAM Recommendation (2012)		Draft OECD TG (2013) OECD Detailed Review Paper No. 31
Bhas 42 Cell Transformation Assay (Bhas 42 CTA)	In vitro	EURL ECVAM Recommendation (2012)		Draft OECD TG (2013)
Chronic toxicity				
Ending 1-year dog studies of pesticides	In vivo	ESAC (2006)	Revised US EPA Pesticide Data Requirements	
Dermal absorption/ penetration				
In vitro skin absorption methods	In vitro	OECD Expert Group (2002)		OECD TG 428 (2004) OECD GD 28 (2004) OECD Guidance Notes 156
Ecotoxicity				
Acute aquatic toxicity: Upper threshold concentration step-down approach	In vivo	ESAC (2006)		OECD GD 126 (2010)
Acute avian toxicity (oral): Sequential testing procedure to minimize numbers of birds used	In vivo			OECD TG 223 (2010)
Fish embryo (Zebrafish) toxicity	In vivo	ESAC (2013)		OECD TG 236 (2013)
Endocrine active substances				
Androgen receptor binding assay (rat prostate cytosol) ⁴	Ex vivo		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	
Aromatase inhibition assay (human recombinant) ⁴	In vitro		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	
Estrogen receptor binding assay rat uterine cytosol (ER-RUC) ⁴	Ex vivo		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	
H295R steroidogenesis assay ⁴	In vitro		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	OECD TG 456 (2011)
US EPA Tier 1 Screening Battery ⁴	In vitro/ In vivo		US EPA (2009)	
BG1Luc ER TA test method for estrogen agonists and antagonists ⁴	In vitro	ICCVAM (2012)		OECD TG 457 (2012) Draft Performance Standards for TG 457 (2012)
Eye corrosion				
Fluorescein Leakage	In vitro	ESAC 40 (2009), JaCVAM (2012)		OECD TG 430 (2012), OECD summary document no.180
Hen’s egg test-chorioallantoic membrane (HET-CAM)	In vitro		EU Competent Authorities for Dangerous Substances Directive	
Isolated rabbit eye test	Ex vivo		EU Competent Authorities for Dangerous Substances Directive	

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด⁽²⁰⁾ (ต่อ)

End-point and Method Name	Test Type ¹	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional ²	International
Eye irritation				
Reconstructed Human Cornea-like Epithelium (RhCE) Test Method	<i>In vitro</i>	EURL ECVAM		Draft OECD TG (2014)
Eye corrosion & Eye irritation				
Bovine corneal opacity permeability (BCOP) test	<i>Ex vivo</i>	ICCVAM (2007), ESAC (2007), JaCVAM (2009)		OECD TG 437 (2009; revised 2013)
Cytosensor Microphysiometer modified	<i>In vitro</i>	ESAC 40 (2009), ICCVAM (2010)		Draft OECD TG (2012)
Isolated chicken eye (ICE) test	<i>Ex vivo</i>	ICCVAM (2007), ESAC (2007), JaCVAM (2009)		OECD TG 438 (2009; revised 2013)
Short Time Exposure (STE) test method	<i>In vitro</i>	ICCVAM (2013)		Draft OECD TG (2014)
Routine use of topical anesthetics, systemic analgesics, and humane endpoints	<i>In vivo</i>	ICCVAM (2010)		Updated OECD TG 405 (2012), OECD GD 19
Sequential testing strategy for eye irritation and corrosion	<i>In vitro</i> / <i>Ex vivo</i> / <i>In vivo</i>	ICCVAM		Updated OECD TG 405 (2012)
Genotoxicity				
Bacterial reverse mutation (Ames) test	<i>In vitro</i>			OECD TG 471 (1997)
<i>In vitro</i> cell gene mutation test	<i>In vitro</i>			OECD TG 476 (1997) Draft updated (2014)
<i>In vitro</i> mammalian cell gene mutation assays using the thymidine kinase gene	<i>In vitro</i>			Draft OECD TG (2014)
<i>In vitro</i> chromosomal aberration test	<i>In vitro</i>			updated OECD TG 473 (2014)
<i>In vitro</i> mammalian micronucleus test	<i>In vitro</i>	ESAC (2006), ICCVAM		updated OECD TG 487 (2014)
<i>In vitro</i> sister chromatid exchange test	<i>In vitro</i>			OECD TG 479 (1986)
<i>In vitro</i> unscheduled DNA synthesis test	<i>In vitro</i>			OECD TG 482 (1986)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> gene mutation assay	<i>In vitro</i>			OECD TG 480 (1986)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> mitotic recombination assay	<i>In vitro</i>			OECD TG 481 (1986)
Phototoxicity				
3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test	<i>In vitro</i>	ESAC (1997)		OECD TG 432 (2004)
3T3 NRU Phototoxicity Test: Application to UV filter chemicals	<i>In vitro</i>	ESAC (1998)		OECD TG 432 (2004)
Pyrogenicity				
Human whole blood IL-1	<i>In vitro</i>	ESAC (2006) ICCVAM (2008) ⁵	European Pharmacopeia; FDA	
Human whole blood IL-6	<i>In vitro</i>	ESAC (2006) ICCVAM (2008) ⁵	European Pharmacopeia; FDA	
Human cryopreserved whole blood IL-1	<i>In vitro</i>	ESAC (2006) ICCVAM (2008) ⁵	European Pharmacopeia; FDA	
PBMC IL-6		ESAC (2006) ICCVAM (2008) ⁵	European Pharmacopeia; FDA	
MM6 IL-6	<i>In vitro</i>	ESAC (2006) ICCVAM (2008) ⁵	European Pharmacopeia; FDA	
Limulus amoebocyte lysate (LAL) test	<i>In vivo</i> / <i>In vitro</i>		EU, US and Japanese Pharmacopeia (2005)	

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด⁽²⁰⁾ (ต่อ)

End-point and Method Name	Test Type ¹	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional	International
Reproductive & developmental toxicity				
Extended one generation reproductive toxicity study	<i>In vivo</i>	ICCVAM		Updated OECD TG 443 (2012)
Skin corrosion				
EST-1000 human reconstructed epidermis	<i>In vitro</i>	ESAC (2009)		Updated OECD TG 431 (2014)
Membrane Barrier Corrosivity Test Method (Corrositex [®])	<i>In vitro</i>	ICCVAM (1999), ESAC (2000)		OECD TG 435 (2006) Draft Revised (2014)
EpiSkin [®] human skin model	<i>In vitro</i>	ESAC (1998) ICCVAM (2009)		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
EpiDerm [™] human skin model	<i>In vitro</i>	ESAC (2000) ICCVAM (2009)		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
Rat skin transcutaneous electrical resistance (TER) assay	<i>Ex vivo</i>	ESAC (1998) ICCVAM (2002)		OECD TG 430 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
SkinEthic [™] human skin model	<i>In vitro</i>	ESAC (2006, 2009), ICCVAM		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
Vitrolife-Skin [™] human reconstructed epidermis	<i>In vitro</i>	JaCVAM (2009)		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
Skin irritation				
EpiSkin [®] skin irritation test (with MTT reduction)	<i>In vitro</i>	ESAC (2007, 2009), JaCVAM (2010)		Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
EpiDerm [™] skin irritation test (with MTT reduction)	<i>In vitro</i>	ESAC (2007) ⁶	EU test method B.46 in COM regulation 440/2008/EC	
EpiDerm [™] SIT Model (EPI-200)	<i>In vitro</i>	ESAC (2008), JaCVAM (2012)		Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
SkinEthic RHE model	<i>In vitro</i>	ESAC (2008, 2009), JaCVAM (2012)	EU test method B.46 in COM regulation 440/2008/EC	Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
LabCyte EPI-MODEL 24 SIT	<i>In vitro</i>	JaCVAM (2013)		Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
Skin sensitization				
Local lymph node assay (LLNA)	<i>In vivo</i>	ICCVAM (1999) ESAC (1999)		Updated OECD TG 429 (2010)
Reduced LLNA: rLLNA	<i>In vivo</i>	ESAC (2007) ICCVAM (2009)		Updated OECD TG 429 (2010)
Nonradiolabelled LLNA: DA	<i>In vivo</i>	ICCVAM (2010) JaCVAM (2012)		OECD TG 422A (2010)
Nonradiolabelled LLNA: BrdU-ELISA	<i>In vivo</i>	ICCVAM (2010)		OECD TG 422B (2010)
LLNA for Potency Categorization of Skin Sensitizers	<i>In vivo</i>	ICCVAM (2011)	UN GHS (2009)	

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด⁽²⁰⁾ (ต่อ)

End-point and Method Name	Test Type ¹	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional	International
ARE-Mrf2 Luciferase Test Method	<i>In vitro</i>	ESAC (2002)		Revised Draft OECD TG (2014)
Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)	<i>In chemico</i>	ESAC (2000)		Draft OECD TG (2014)
Human Cell Line Activation Test (h-CLAT)	<i>In vitro</i>	EURL ECVAM and JaCVAM		Revised Draft OECD TG (2014)

(คัดแปลงจาก URL: <http://alttox.org/mapp/table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/>)

1 All *in vitro* and *ex vivo* methods listed; *in vivo* methods proposed to reduce or refine animal use also listed

2 National and regional regulatory acceptance is not fully documented here

3 Replaces animal use for initial dose setting, but *in vivo* test required to complete assessment

4 Screening assays to be used as part of a broader testing strategy

5 Subject to product-specific validation to demonstrate equivalence to the rabbit pyrogen test (RPT)

6 Recommended as screening test or as part of sequential testing strategy; only positive test results accepted in the 2007 endorsement

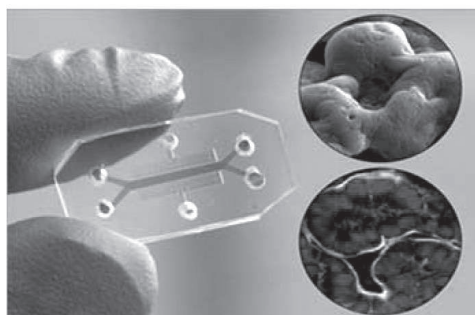
ข้อจำกัดของการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกแบบ *in vitro*

- ไม่สามารถทดสอบปฏิสัมพันธ์ระหว่างเนื้อเยื่อและอวัยวะ
- ไม่สามารถหาค่าความสัมพันธ์ของการตอบสนองกับปริมาณพิษที่ได้รับในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (*in vivo*)

Dose-response relationships) สำหรับการประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์

- ไม่สามารถประเมินผลกระทบจากระบบร่างกาย
- ไม่สามารถประเมินทางเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)
- ไม่สามารถทดสอบผลการก่อพิษเรื้อรัง (Chronic effects)
- มีข้อจำกัดทางเทคนิค ได้แก่ ความสามารถในการละลาย ปฏิกริยากับพลาสติก ขาดคุณสมบัติของผนังกั้นเสมือนในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (*in vivo*-like barrier)

ระหว่างนี้ยังมีความพยายามอย่างต่อเนื่องในการพัฒนาวิธีทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลอง โดยเฉพาะในขั้นตอนการทดสอบด้านพิษวิทยา สำหรับพัฒนายาชนิดใหม่ Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering, Harvard University⁽²¹⁾ ได้พัฒนา “อวัยวะบนแผ่นชิป” (Organs-on-Chips) โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์มนุษย์บนท่อกลวง (hollow channels) และมีอาหารเหลวไหลผ่านช่องในแผ่นชิปซึ่งมีลักษณะเป็นอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ (Microfluidic) ขนาดเล็ก มีโครงสร้างและคุณสมบัติเหมือนอวัยวะที่ต้องการ และทำการทดลองพบว่ามีการตอบสนองเหมือนอวัยวะมนุษย์ ปัจจุบันมีการพัฒนา “ปอดบนแผ่นชิป” (lung-on-chip) และ “ลำไส้บนแผ่นชิป” (gut-on-a-chip) (ภาพที่ 3) ได้รับรางวัลชนะเลิศ London Design Museum ในปี พ.ศ. 2555 และปี พ.ศ. 2558 ตามลำดับ⁽²²⁾ นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาโมเดลอวัยวะอื่นๆ บนแผ่นชิปอีก เช่น ไต และหัวใจ ฯลฯ เมื่อวิธีทางเลือกเหล่านี้ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว จึงจะได้รับการยอมรับและสามารถนำมาใช้เป็นวิธีทดสอบประจำได้



ภาพที่ 3 เซลล์จากลำไส้เล็กของมนุษย์ที่นำมาเพาะเลี้ยงเป็น gut-on-a-chip เมื่อทดสอบด้วยการกระตุ้นที่เหมาะสม พบว่ามีการตอบสนองเป็นคลื่น villi เหมือนลำไส้มนุษย์ (scanning electron micrograph และไดอะแกรมในรูปในวงกลม) จาก <http://wyss.harvard.edu/viewpage/484/>

แนวทางการพัฒนาห้องปฏิบัติการทดสอบพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือกของประเทศไทย

จากสถานการณ์ระดับโลกที่มีการขยายขอบข่ายถึงที่มาของข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์ รวมถึงวัตถุดิบนั้น ประเทศที่พัฒนาแล้วมีผลงานวิจัยพัฒนาวิธีใหม่ ๆ และทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธี เสนอเป็นวิธีทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลองอย่างต่อเนื่อง และได้รับการยอมรับโดย ECVAM ให้เป็นวิธีมาตรฐานสากล ทำให้มีความได้เปรียบในการตั้งข้อกำหนดมาตรฐานการค้าของสินค้าในเวทีโลก และอาจเป็นข้อกีดกันทางการค้าอีกรูปแบบหนึ่ง นอกจากนี้ ข้อกำหนดของ REACH ในด้านการยอมรับร่วมในข้อมูลการทดสอบด้านพิษวิทยาของสารเคมีระหว่างประเทศภาคี OECD โดยต้องเป็นข้อมูลที่ได้จากการทดสอบตาม OECD Test Guideline จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD GLP นั้น ประเทศไทย โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ได้สมัครเข้าเป็นภาคีของ OECD แล้ว โดยในขั้นต้นเป็นภาคีแบบ Provisional Adherence และอยู่ระหว่างขั้นตอนดำเนินการเพื่อให้ได้เป็นภาคีแบบ Full Member Adherence ซึ่งจัดเป็นภาคีตามระบบการยอมรับร่วมในข้อมูลการประเมินสารเคมี เพื่อให้ข้อมูลจากห้องปฏิบัติการในประเทศไทยได้รับการยอมรับร่วม ห้องปฏิบัติการนั้นๆ ต้องได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD GLP จึงเป็นความจำเป็นที่ประเทศไทยต้องเร่งพัฒนาดังนี้

1. พัฒนาบุคลากรในด้านทักษะ เทคนิค และความเชี่ยวชาญการปฏิบัติงานด้านการทดสอบ *in vivo* ได้แก่ การเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อ ด้านการทดสอบ *ex vivo* ได้แก่ การแยกและเก็บรักษาไต, ตา, ไข่ ฯลฯ จากโรงฆ่าสัตว์ และด้านการทดสอบ *in vivo* ได้แก่ การจำแนกและคัดเลือกอาสาสมัคร การอ่านผลทดสอบ และการทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก ตาม OECD Test Guidelines เป็นต้น

2. พัฒนาห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือ เตรียมความพร้อมสำหรับการทดสอบความเป็นพิษ โดยใช้วิธีทดสอบตาม OECD Test Guidelines และพัฒนาห้องปฏิบัติการให้ได้การรับรองตามมาตรฐานสากล ได้แก่ มาตรฐาน OECD GLP สำหรับ *in vitro* tests และ *ex vivo* tests และ GCLP (Good Clinical Laboratory Practice) สำหรับ *in vivo* tests ทั้งนี้ อาจพัฒนาห้องปฏิบัติการในรูปแบบ ดังนี้

2.1 รูปแบบศูนย์รวม

ห้องปฏิบัติการในประเทศไทยส่วนใหญ่มีความชำนาญเฉพาะด้าน การรวบรวมผู้ชำนาญงาน รวมถึงการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการทดสอบให้มีความพร้อมทุกด้าน ยกตัวอย่าง เช่น แนวคิดในการจัดตั้งศูนย์ทดสอบผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางของมหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อให้มีขอบข่ายครอบคลุมงานทดสอบด้านกายภาพ (สี กลิ่น ความคงสภาพ) เคมี (โลหะหนัก สารห้ามใช้ ฯลฯ) และจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ปนเปื้อน และ Challenge tests) รวมถึงการทดสอบความปลอดภัย และประสิทธิภาพของเครื่องสำอาง อาจมีข้อจำกัดในเรื่องค่าใช้จ่ายในการลงทุนจัดตั้งห้องปฏิบัติการและค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการสูง และยังคงคำนึงถึงความคุ้มค่า และความคุ้มค่าอีกด้วย

2.2 รูปแบบเครือข่าย

ปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีห้องปฏิบัติการทดสอบด้านพิษวิทยาที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานสากล OECD GLP สำหรับ *in vitro* tests และ GCLP สำหรับ *in vivo* tests หน่วยวิจัยศึกษาและพัฒนาด้านความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อยู่ระหว่างขั้นตอนการขอรับรอง OECD GLP ด้านพิษวิทยาเป็นแห่งแรกของประเทศไทย การจัดทำห้องปฏิบัติการเฉพาะด้านการทดสอบความเป็นพิษที่มีระบบคุณภาพสากลเต็มรูปแบบ จำเป็นต้องใช้สถานที่ เครื่องมือ และเงินลงทุนจำนวนมากในการบริหารจัดการ การใช้รูปแบบเครือข่ายพันธมิตรที่มีการใช้วิธีทดสอบทางเลือกเป็นงานเดิมที่มีพื้นฐานอยู่แล้ว ได้แก่ หน่วยวิจัยศึกษาและพัฒนาด้านความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ห้องปฏิบัติการความปลอดภัยทางนาโนเทคโนโลยี ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยต่างๆ และห้องปฏิบัติการเอกชน จะทำให้สามารถลดปัญหานี้ และสามารถพัฒนาหลายด้านไปพร้อมกันได้

3. พัฒนาหน่วยรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน OECD GLP ในประเทศไทย ให้ผ่านการประเมินได้รับการรับรองจาก OECD Committee ให้เป็นหน่วยรับรอง Compliance Monitoring Authority (CMA) ของประเทศ ซึ่งขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กำลังดำเนินการให้ผ่านการประเมินเป็น CMA ภายในเดือนกรกฎาคม 2559 หลังจากนั้นประเทศไทยจึงจะได้เข้าเป็น Full Member Adherence ของประเทศภาคี OECD

สรุป

การใช้ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีและวัตถุอันตราย และข้อมูลความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกที่ผ่านกระบวนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีและมีการยอมรับในระดับสากลแล้ว เช่น OECD Test Guidelines และดำเนินการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานสากล โดยเฉพาะมาตรฐาน OECD GLP โดยประเทศไทยจะต้องเป็น Full Member Adherence ของประเทศภาคี OECD แล้ว ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์จึงจะได้รับการยอมรับร่วมอย่างเป็นทางการจากประเทศสมาชิกในกลุ่ม OECD และยอมรับตามข้อกำหนดของหน่วยงานหรือองค์กรผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในการกำกับดูแลของประเทศภาคี OECD อันจะเป็นการลดข้อกีดกันทางการค้า และเพิ่มศักยภาพการแข่งขันในเวทีสากลให้แก่ผู้ประกอบการไทยได้อีกทางหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. สภาวิจัยแห่งชาติ. จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ [ออนไลน์]. [สืบค้น 23 พ.ค. 2558]; [10 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://www.nrct.go.th/th/Portals/0/data/2558/07/w_297.10.pdf.
2. Using animals in cosmetic testing [online]. [cited 2015 Jul 19]; [3 screens]. Available from: URL: <https://www.dspca.ie/media/UsingAnimalsforTestingCosmetics1.pdf>.
3. Ban on animal testing [online]. [cited 2014 May 2]; [3 screens]. Available from: URL: http://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/animal-testing/index_en.htm.
4. European Commission. REACH and animal testing [online]. 2015; [cited 2015 Jun 26]; [1 screens]. Available from: URL: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/animal_en.htm.
5. UK REACH competent authority information leaflet number 18 – minimisation of animal testing. [online]. July 2014. [cited 2015 Jul 19]; [6 screens]. Available from: URL: <http://www.hse.gov.uk/reach/resources/18animaltesting.pdf>.
6. Regulation No 1907/2006 of the European parliament and of the council of 18 December 2006 concerning the registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals (REACH). Official Journal of the European Communities 2006; 49(L396): 1-849.
7. Nixon GA, Tyson CA, Wertz WC. Interspecies comparisons of skin irritancy. Toxicology and Applied Pharmacology 1975; 31(3): 481-90.
8. Abbott A. Animal testing: more than a cosmetic change. Nature 2005; 438(10): 144-6.
9. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. London, UK: Methuen; 1959.

10. European Commission. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal 1986; L 358; 1-28.
11. Kandarova H, Letasiova S. Alternative methods in toxicology: pre-validated and validated methods. *Interdiscip Toxicol* 2011; 4(3): 107-13.
12. Commission Regulation (EU) 2015/282 of 20 February 2015 amending Annexes VIII, IX and X to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards the Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study [online]. 2015; [5 screens]. Available from: URL: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2015.050.01.0001.01.ENG.
13. Spielmann H. FRAME Annual Lecture. International Cooperation: an essential requirement for replacing animal toxicity tests. *Altern Lab Anim* 2001; 29(6): 637-46.
14. Spielmann H. Collaboration between ZEBET, FRAME, and ECVAM: FRAME's contribution to establishing the Three Rs in Europe. *Altern Lab Anim* 2009; 37(Suppl 2): 23-7.
15. Frazier JM. Scientific criteria for validation of In vitro toxicity tests. Environment monograph No. 36. Baltimore, MD: OECD; 1990.
16. ENV/JM/MONO(2005)14. Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test. methods for hazard assessment. OECD series on testing and assessment No. 34. Paris: OECD; 2005.
17. Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. Official Journal 2003; L 66: 26-35.
18. การจำแนกประเภทและการติดฉลากสารเคมีที่เป็นระบบเดียวกันทั่วโลก (Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals - GHS). ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: กรมโรงงานอุตสาหกรรม; 2549.
19. Toxicity testing in the 21st century: a vision and strategy. Washington, DC: The National Academy of Sciences; 2007.
20. Alttox.org table of validated & accepted alternative methods: validation & regulatory acceptance status of alternative test methods & testing strategies [online]. Sep 2014. [cited 2015 Jan 30]; [20 screens]. Available from: URL: <http://alttox.org/mapp/table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/>.
21. Three 'Organs-on-Chips' ready to serve as disease models, drug testbeds [online]. 2012. [cited 2015 Jul 30]; [3 screens]. Available from: URL: <http://wyss.harvard.edu/viewpage/484/>.
22. Medical technology that could eliminate need for animal testing wins design award [online]. Jun 2015. [cited 2015 Jul 30]; [6 screens]. Available from: URL: <http://www.independent.co.uk/news/science/medical-technology-that-could-eliminate-need-for-animal-testing-wins-design-award-10337887.html>.

Alternative Toxicology Tests

Suwunna Tienungoon

Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Toxicity or safety testing of product and raw materials before being used with human and environment are inevitable. In particular when REACH (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals) was implemented into the legal framework of European Union. All chemical substances imported or produced in the EU must provide toxicity data for registration and marketing in the EU. Alternative methods following the 3Rs principle i.e. Reduction, Refinement and Replacement must be considered in performing Toxicology tests. Such alternative methods must be scientifically validated to ensure that the toxicity information is reliable and relevant to organ specific and the end-point toxicity of interest and being accepted and conformed to the regulatory purposes. In addition, internationally accepted toxicology methods such as OECD Test Guideline shall be selected and performed by OECD GLP accredited laboratory so that the toxicity information will be accepted in regarding to the Mutual Acceptance of Data – MAD for the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) countries. Therefore, there is an urgent need for Thailand to develop technical personnel, OECD GLP accredited laboratories including the Compliance Monitoring Authority (CMA) in order to cope with the Technical Barrier to Trade (TBT) and enhance the competitiveness to the Thai exporters and help expand Thailand economics.

Key words: Alternative toxicology Tests, Alternative Test, Experimental animals, Laboratory