

สถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในยาสมุนไพร และยาแผนโบราณของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2564

สิรดา ปงเมืองมูล¹ ชุติมา จิตตประสาธศิลป์² ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์³ และ ลัดดา พูลสวัสดิ์⁴

¹ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นครสวรรค์ 60000

²สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ³สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ⁴สำนักยาและวัตถุเสพติด
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ปัจจุบันรัฐบาลและกระทรวงสาธารณสุข ส่งเสริมให้มีการใช้ยาจากสมุนไพรและยาแผนโบราณซึ่งเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้าน ประกอบกับกระแสความนิยมในการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ผู้ผลิตและหน่วยงานรัฐจึงต้องใส่ใจคุณภาพ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ใช้เป็นแนวทางการจัดการและยืนยันคุณภาพผลิตภัณฑ์ ปี พ.ศ. 2564 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้สำรวจสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณจากผู้ผลิต 58 ราย ในพื้นที่ 43 จังหวัด จำแนกเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนสกัดแช่แข็ง ผลิตภัณฑ์ที่มีเยื่อหุ้มเซลล์สูง และผลิตภัณฑ์เด่น จำนวน 26, 11 และ 23 ตามลำดับ รวม 60 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์และประเมินผลตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยฉบับปี 2020 พบไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 13, 3 และ 12 ตัวอย่าง รวม 28 ตัวอย่าง (52 รายการ) คิดเป็นร้อยละ 46.7 สาเหตุ ได้แก่ total aerobic microbial count, *Clostridium* spp., bile-tolerant gram-negative bacteria, total combined yeast and mold count และ *Salmonella* spp. จำนวน 19, 19, 12, 1 และ 1 รายการ ตามลำดับ แบ่งเป็นตัวอย่างที่ผลิตจากโรงพยาบาลรัฐ 31 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ 8 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.8) และผู้ประกอบการเอกชน 29 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ 20 ตัวอย่าง (ร้อยละ 69.0) โดยพบผลิตภัณฑ์จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือไม่ผ่านเกณฑ์สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 61.5 ดังนั้นผู้ผลิตจึงควรปฏิบัติตามมาตรฐาน GMP ตัวอย่างเช่น การล้างวัตถุดิบด้วยน้ำสะอาด ป้องกันฝุ่นละอองในระหว่างกระบวนการผลิต ควบคุมอุณหภูมิหรือผงยาที่อุณหภูมิเหมาะสม หรือใช้การฉายรังสีแกมมา จะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ ข้อมูลสถานการณ์นี้เป็นประโยชน์กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการวางแผนพัฒนาศักยภาพผู้ประกอบการและคุณภาพผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณของไทยมีคุณภาพมาตรฐาน แพทย์มีความเชื่อมั่นในการใช้และผู้บริโภคมีความปลอดภัย

คำสำคัญ: การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์, ยาสมุนไพร, ยาแผนโบราณ

Corresponding author E-mail: sirada.p@dmsc.mail.go.th

Received: 5 February 2023

Revised: 3 May 2023

Accepted: 11 May 2023

บทนำ

ปัจจุบันรัฐบาลและกระทรวงสาธารณสุขส่งเสริมให้มีการผลิตและใช้ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณ มีการบรรจุตำรับยาดังกล่าวไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ จำนวน 71 ตำรับ⁽¹⁾ และจัดทำแผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564 โดยกำหนดรายการสมุนไพรโปรดักส์แชมเปียน (product champion) มิติด้านศักยภาพ 5 ชนิด ได้แก่ กวาวเครือขาว กระชายดำ ขมิ้นชัน บัวบก และมะขามป้อม มิติด้านความต้องการ 7 ชนิด ได้แก่ กระชาย พริก ฟักทะลายโจร กระเจี๊ยบแดง หนุ่ยหวาน ว่านหางจระเข้ และโพล⁽²⁾ ส่งเสริมให้โรงพยาบาลของรัฐผลิตและจ่ายยาให้กับประชาชนผู้มารับบริการ ซึ่งได้รับความนิยมและมีปริมาณการใช้สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยยาสมุนไพรและยาแผนโบราณที่ผลิตในโรงพยาบาลของรัฐไม่ต้องขึ้นทะเบียนตำรับยา ได้รับการยกเว้นตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510⁽³⁾ ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ต้องขึ้นทะเบียนตำรับ ตามประกาศของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 121 ตอนพิเศษ 43 ลงวันที่ 21 เมษายน พ.ศ. 2547 เรื่อง หลักเกณฑ์การพิจารณาขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณ เกี่ยวกับมาตรฐานการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก⁽⁴⁾ กำหนดว่าผลิตภัณฑ์ต้องไม่พบการปนเปื้อน *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. และ *Clostridium* spp. ซึ่งข้อกำหนดดังกล่าวใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาขึ้นทะเบียนยาแผนโบราณและยาจากสมุนไพรด้านการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดใช้เป็นเกณฑ์ในการเฝ้าระวังคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ปลายปี 2564 ได้มีการเปลี่ยนแปลงข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานค่าความบริสุทธิ์ หรือคุณลักษณะอื่นอันมีความสำคัญต่อคุณภาพ สำหรับตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขึ้นทะเบียนแจ้งรายละเอียด หรือจดแจ้ง พ.ศ. 2564 ซึ่งได้ประกาศในราชกิจจานุเบกษา วันที่ 1 ธันวาคม 2564 และบังคับใช้เมื่อพ้นกำหนด 90 วัน นับแต่วันประกาศในราชกิจจานุเบกษา⁽⁵⁾ ซึ่งการเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคของประเทศดำเนินการโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

ซึ่งจะมีการสุ่มเก็บตัวอย่างตามแผนเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุขภาพ โดยสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดทั่วประเทศ จังหวัดละ 1 ตัวอย่างต่อปี ส่งตรวจ ณ สำนักยาและวัตถุเสพติดและศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทั่วประเทศ

จากข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณ ซึ่งศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ได้รับจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดและผู้ประกอบการเอกชนในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 3, 4 และตัวอย่างภายใต้โครงการคุณภาพสมุนไพรไทยของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระหว่างปี พ.ศ. 2554-2563 จำนวน 422 ตัวอย่าง ตรวจพบ *Clostridium* spp. 110 ตัวอย่าง เมื่อตรวจยืนยันชนิดพันธุ์ด้วยวิธีทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข พบเป็น *Clostridium perfringens*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium sporogenes* และ *Clostridium* sp. จำนวน 69, 19, 5, 3 และ 34 ตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งบางตัวอย่างพบการปนเปื้อนร่วม 2 ชนิดพันธุ์ โดย *C. perfringens* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน เจริญแบบไม่ใช้ออกซิเจน สร้างสปอร์ ทนความแห้งแล้งได้ดี พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ดิน น้ำ ทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) โรคท้องร่วงที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic-associated diarrhea) โรคท้องร่วง (sporadic diarrhea) เนื้อตายเน่า (gas gangrene) ทำให้ติดเชื้อในกระแสเลือด^(6,7) *C. perfringens* ถูกจำแนกออกเป็น 7 กลุ่ม คือ type A, B, C, D, E, F และ G ตามความสามารถในการสร้างสารพิษ toxinotypes กลุ่มสำคัญชนิดต่างๆ ได้แก่ อัลฟา (Alpha: α), เบตา (Beta: β), เอปไซลอน (Epsilon: ϵ), ไอโอตา (Iota: ι), เอนเทอโรท็อกซิน (enterotoxin CPE) และ necrotic toxin netB⁽⁸⁾ มีรายงานพบ toxinotypes A, F, G, binary enterotoxin (BEC/CPIL) และ beta2 toxin ในตัวอย่างเชื้อ *C. perfringens* จำนวน 585 ตัวอย่าง ที่แยกได้จากผู้ป่วยในฮอกไกโด ประเทศญี่ปุ่น ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2562 ถึงธันวาคม 2563 โดยพบ toxinotypes A สูงที่สุดคือ ร้อยละ 68.2 ตามด้วย type F ร้อยละ 31.6 type G

ร้อยละ 0.2 พบ binary enterotoxin (BEC/CPIL) 1 ตัวอย่าง และ beta2 toxin 6 ตัวอย่าง⁽⁶⁾

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจสถานการณ์คุณภาพด้านการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณของประเทศไทย โดยตรวจวิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ปนเปื้อน ประกอบด้วยจำนวนของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (total aerobic microbial count) จำนวนรวมของยีสต์และรา (total combined yeasts and moulds count) แบคทีเรียแกรมลบที่ทนน้ำดี (bile-tolerant gram negative bacteria) *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. และ *Clostridium* spp. จากนั้นประเมินผลตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia 2020; THP 2020)⁽⁹⁾ และตรวจยืนยันชนิดพันธุ์ของเชื้อ *Clostridium* spp. รวมถึงตรวจหาสารพิษของเชื้อ *C. perfringens* ที่พบ เพื่อเป็นข้อมูลนำเข้าไปเป็นแนวทางการจัดการยาสมุนไพรและยาแผนโบราณเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคพัฒนาศักยภาพผู้ผลิต ยกย่องคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามกฎหมายกำหนด ส่งเสริมความมั่นคงด้านยาและเวชภัณฑ์และการคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณจำนวน 60 ตัวอย่าง เก็บโดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 15 แห่ง ทั่วประเทศแต่ละ 4 ผลิตภัณฑ์ โดยคัดเลือกจากผู้ผลิตที่พร้อมให้ข้อมูลในการพัฒนา 58 ราย จากพื้นที่ 43 จังหวัด เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนเมษายนถึง สิงหาคม 2564 ดังนี้

ผลิตภัณฑ์โปรดักส์แชมเปียน จำนวน 26 ตัวอย่าง ได้แก่ ฟ้าทะลายโจรแคปซูล ขมิ้นชันแคปซูล และกวาวเครือขาวแคปซูล จำนวน 13, 11 และ 2 ตัวอย่างตามลำดับ

ผลิตภัณฑ์ที่มียอดจำหน่ายสูง จำนวน 11 ตัวอย่าง ได้แก่ ชาชงรางจืด ยาบรรเทาโรคผิวหนังทวารแคปซูล ขิงแคปซูล ยาผสมเพชรสังฆาตแคปซูล และมะขามแขกแคปซูล จำนวน 1, 2, 3, 3 และ 2 ตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์เด่นเป็นอัตลักษณ์ของพื้นที่ จำนวน 23 ตัวอย่าง ได้แก่ ยาแผนโบราณชนิดน้ำ ยาแผนโบราณชนิดผง ยาแคปซูลอื่นๆ และยาลูกกลอน จำนวน 2, 5, 12 และ 4 ตัวอย่าง ตามลำดับ

จำแนกได้เป็นตัวอย่างยาสมุนไพรที่ผลิตจากโรงพยาบาลของรัฐ จำนวน 31 ตัวอย่าง และผลิตจากสถานที่ผลิตเอกชน จำนวน 29 ตัวอย่าง

การตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตาม THP 2020⁽⁹⁾: ตรวจวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์

เครื่องมือและอุปกรณ์

ตู้อบเพาะเชื้ออุณหภูมิ 22.5±2.5 องศาเซลเซียส (MMM, Germany) ตู้อบเพาะเชื้ออุณหภูมิ 32.5±2.5 องศาเซลเซียส (SHEL LAB, USA) ตู้อบเพาะเชื้อแบบไร้อากาศ อุณหภูมิ 32.5±2.5 องศาเซลเซียส (Hirayama, Japan) ตู้ปราศจากเชื้อ (ESCO, Singapore) เครื่องวัดค่าการนำกระแสไฟฟ้า (Mettler-Toledo, Germany) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Sartorius, Germany) เครื่องนึ่งทำลายเชื้อ (Hirayama, Japan) และเครื่องซั่งไฟฟ้าความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, Germany)

เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐานสำหรับทดสอบคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อ (growth-promoting and inhibitory properties of the media) และทดสอบความเหมาะสมของวิธี (suitability of the test) ได้รับจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

สำหรับการทดสอบหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตาม THP 2020 ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียที่เจริญโดยใช้ออกซิเจน (aerobic bacteria): *Pseudomonas aeruginosa* DMST 15501, *Bacillus subtilis* DMST 15896, *E. coli* DMST 15537, *S. aureus* DMST 8013 และ *Salmonella* Abony DMST 21863 แบคทีเรียที่เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria): *C. sporogenes* DMST 15536 ยีสต์

(yeasts): *Candida albicans* DMST 5815 และรา (moulds): *Aspergillus niger* DMST 15538

การตรวจหาชนิดพันธุ์ของเชื้อ *Clostridium* spp. ประกอบด้วย *C. perfringens* ATCC 13124, *C. sporogenes* ATCC 11437, *C. sordellii* ATCC 9714 และ *C. bifermentans* LMG 3029

การตรวจหาสารพิษของเชื้อ *C. perfringens* ประกอบด้วย *C. perfringens* type A ATCC 13124, *C. perfringens* type B NCTC 4964, *C. perfringens* type C NCTC 10719, *C. perfringens* type D NCTC 8346, *C. perfringens* type E NCTC 8084 และ *C. perfringens* type A with enterotoxin DMST 51427

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี ตาม THP 2020⁽⁹⁾

อาหารเลี้ยงเชื้อ: trypticase soy agar (TSA), sabouraud dextrose agar (SDA), trypticase soy broth (TSB), baird-parker agar (BPA), rappaport-vassiliadis broth (RVS), brilliant green agar (BGA), xylose-lysine desoxycholate agar (XLD), bismuth sulfite agar (BSA), crystal violet-neutral red-bile-dextrose agar (VRBD), macconkey broth (MCB), macconkey agar (MCA), levine eosin-methylene blue agar (EMB), reinforced clostridia medium (RCM), cooked-meat medium (CMM), MR-VP broth, tryptone broth, Koser's citrate, nutrient agar (NA), peptone, egg yolk tellurite (Difco, France), enterobacteria enrichment medium (EEM), columbia agar (CBA), tetrathionate medium (TTM) (Merck, Germany), soy lecithin (Lecico, Germany), coagulase plasma rabbit with EDTA (BD BBLTM, France)

สารเคมี analytical grade: 30% hydrogen peroxide, hydrochloric acid, glacial acetic acid, sulfuric acid, potassium hydroxide, alpha naphthol, Kovac's indole reagent (Merck, Germany),

sodium hydroxide, potassium dihydrogen phosphate dehydrate, sodium chloride (Carlo Erba, Italy), gentamicin sulfate, chloramphenicol (Sigma Aldrich, USA), disodium hydrogen-phosphate heptahydrate, methyl red (PanReac, Spain), polysorbate 80 (Acros Organics, Belgium), liquid paraffin (LabChem, USA) gram stain set (CLINAG, Thailand)

สารละลายสำหรับเจือจางตัวอย่าง (diluent): buffered sodium chloride-peptone solution with 0.5% lecithin, 5% polysorbate 80 (BSP-LP)

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ (enrichment broth): trypticase soy broth with 0.5% lecithin, 5% polysorbate 80 (TSB-LP) และ reinforce clostridial medium with 0.5% lecithin, 5% polysorbate 80 (RCM-LP)

การทดสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

ตัวอย่างอาจมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) จากส่วนประกอบที่เป็นสมุนไพรหรือจากสารกันเสียที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ จึงจำเป็นต้องทดสอบความเหมาะสมของวิธีก่อนนำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์กับเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน และมีการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ประกอบด้วย การทดสอบคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (growth promotion test) โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐานที่ได้รับจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้แก่ *Staphylococcus aureus* DMST 8013, *Bacillus subtilis* DMST 15896, *Candida albicans* DMST 5815 และ *Aspergillus niger* DMST 15538 ความเหมาะสมของการตรวจวิเคราะห์โดยวิธีการนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (suitability of the counting method) สำหรับการทดสอบ TAMC ใช้เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน *S. aureus* DMST 8013, *Pseudomonas aeruginosa* DMST 15501, *B. subtilis*

DMST 15896, *C. albicans* DMST 5815 และ *A. niger* DMST 15538 สำหรับการทดสอบ TYMC ใช้เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน *C. albicans* DMST 5815, *A. niger* DMST 15538 และตัวควบคุมผลลบ (negative controls) การตรวจวิเคราะห์หาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ประกอบด้วย การทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมและยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (growth-promoting and inhibitory properties of the media) และความเหมาะสมของวิธีทดสอบ (suitability of the test) ใช้เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน *S. aureus* DMST 8013, *P. aeruginosa* DMST 15501, *Escherichia coli* DMST 15537, *Salmonella* Abony DMST 21863, *Clostridium sporogenes* DMST 15536 และตัวควบคุมผลลบ (negative controls)

การเตรียมตัวอย่าง

สำหรับการทดสอบหา total aerobic microbial count (TAMC), total combined yeasts and moulds count (TYMC) bile-tolerant gram-negative bacteria, *E. coli*, *S. aureus* และ *Clostridium* spp. ซึ่งตัวอย่าง 10.0 กรัม เติม BSP-LP ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ได้ระดับการเจือจางเริ่มต้น 1:10 ผสมให้เข้ากัน

การทดสอบหา TAMC

เจือจางสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 (10^{-1}) ลงครั้งละ 10 เท่า (10 fold dilution) ด้วย BSP-LP จนถึงระดับการเจือจาง 10^{-5} ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ระดับการเจือจางละ 2 ซ้ำ เททับด้วยอาหาร TSA ที่อุณหภูมิไม่เกิน 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 15-20 มิลลิลิตรต่อจาน ตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน โดยตรวจนับโคโลนีในระดับการเจือจางที่ให้โคโลนีเชื่อกันระหว่าง 25-250 โคโลนีต่อจาน

การทดสอบหา TYMC

เตรียมสารละลายตัวอย่างเช่นเดียวกับการทดสอบ TAMC ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-4} แต่เพาะเลี้ยงในอาหาร SDA ซึ่งเติม chloramphenicol 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 22.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน ตรวจนับโคโลนีในระดับการเจือจางที่ให้โคโลนีไม่เกิน 50 โคโลนีต่อจาน

การทดสอบหา bile-tolerant gram-negative bacteria

ซึ่งตัวอย่าง 10.0 กรัม เติม TSB-LP ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ได้ระดับการเจือจาง 1:10 ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 22.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 5 ชั่วโมง จะได้เป็น pre-incubation sample จากนั้นแยกดำเนินการทดสอบเชิงคุณภาพสำหรับการตรวจพบ/ไม่พบ (test for absence) และการทดสอบเชิงปริมาณ (quantitative test) ดังนี้

เชิงคุณภาพ: ปิเปต pre-incubation sample ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (มีเนื้อตัวอย่าง 1 กรัม) ลงในอาหาร EEM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงบนอาหาร VRBD บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง หากตรวจพบโคโลนีของ gram-negative bacteria ให้รายงานผลตรวจพบ หากตรวจไม่พบโคโลนีดังกล่าวให้รายงานผลตรวจไม่พบ

เชิงปริมาณ: ปิเปต pre-incubation sample ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EEM ปริมาตร 9 มิลลิลิตร (มีเนื้อตัวอย่าง 0.1 กรัม) จากนั้นทำการเจือจางต่อให้ได้เนื้อตัวอย่าง 0.01 และ 0.001 กรัม นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร VRBD บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจหาโคโลนีของ gram-negative bacteria รายงานผลโดยเทียบกับค่า probable number ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณ probable number ของการทดสอบหา bile-tolerant gram-negative bacteria⁽⁹⁾

ผลการทดสอบที่ปริมาณเนื้อสารตัวอย่าง			probable number ของ bile-tolerant gram-negative bacteria ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
0.1 กรัม	0.01 กรัม	0.001 กรัม	
+	+	+	มากกว่า 10^3
+	+	-	มากกว่า 10^2 และน้อยกว่า 10^3
+	-	-	มากกว่า 10 และน้อยกว่า 10^2
-	-	-	น้อยกว่า 10

การทดสอบหา *E. coli*

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (มีเนื้อตัวอย่าง 1 กรัม) ลงในอาหาร TSB-LP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร MCB ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อลงบน MCA บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง หากพบลักษณะโคโลนีสีชมพูหรือแดง มีหรือไม่มีไฮดรอลิโคโลนี ให้ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร EMB บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง หากพบลักษณะโคโลนีสีเข้มมีจุดสีดำตรงกลางมีประกายเงาโลหะ (metallic sheen) ทำการทดสอบยืนยันโดยการย้อมแกรม หากเป็น *E. coli* จะพบ negative rods (cocco-bacilli) และทดสอบการใช้น้ำตาลบนอาหาร TSI จะพบส่วนของ slant และ butt สีเหลือง (acid) และสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งจะสังเกตเห็นมีรอยแตก/แยก และ IMViC test⁽¹⁰⁾ โดย *E. coli* ให้ผลได้ 2 แบบ คือ Biotype I = + + - - และ Biotype II = - - + - -

การทดสอบหา *S. aureus*

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (มีเนื้อตัวอย่าง 1 กรัม) ลงใน TSB-LP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงบนอาหาร BPA บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง หากพบลักษณะโคโลนีสีดำเงาล้อมรอบได้โซนใสขนาด 2-5

มิลลิเมตร ทำการทดสอบยืนยันโดยการย้อมแกรม หากเป็น *S. aureus* จะย้อมติดสีแกรมบวก และมีลักษณะกลม อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (gram-positive cocci in clusters) ทดสอบ coagulase test โดยใช้ coagulase plasma rabbit with EDTA ซึ่งให้ผลบวก เกิดการแข็งตัว (clot) ของ plasma ภายใน 24 ชั่วโมง

การทดสอบหา *Salmonella* spp.

ซังตัวอย่าง 10.0 กรัม ลงในอาหาร TSB-LP ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ปิเปตเชื้อปริมาตร 0.1 และ 1 มิลลิลิตร แยกใส่ในหลอดซึ่งมีอาหาร RVS และ TTM บรรจุอยู่หลอดละ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงบนอาหาร BGA, XLD และ BSA บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-48 ชั่วโมง หากพบลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก โปร่งใส บน BGA หรือโคโลนีสีแดงลักษณะใส มีหรือไม่มีจุดดำตรงกลางบน XLD หรือโคโลนีสีน้ำตาล เทาหรือดำมันวาว บน BSA ทำการทดสอบยืนยันโดยการย้อมแกรม หากเป็น *Salmonella* spp. จะย้อมติดสีแกรมลบ และมีลักษณะเป็นรูปท่อน (gram-negative rods) ทดสอบการใช้น้ำตาลบนอาหาร TSI จะให้ส่วนของ slant สีแดง (alkaline) butt สีเหลือง (acid) และอาจพบ/ไม่พบสีดำของ hydrogen sulfide ตรงส่วนของ butt หากผลตรงตามลักษณะของ *Salmonella* spp. ให้ถ่ายเชื้อที่อายุ 18-24 ชั่วโมง ลงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ส่งเชื้อตรวจยืนยันผล ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มแบคทีเรียวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

การทดสอบหา *Clostridium* spp.

ปีเปิดสารละลายตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1:10 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (มีเนื้อตัวอย่าง 1 กรัม) ลงในอาหาร RCM-LP ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จำนวน 2 ขวดขวดแรกทดสอบ *Clostridium* spp. ที่อยู่ในรูปสปอร์ให้ความร้อนที่ 80°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันที เททับผิวหน้าด้วย sterile liquid paraffin ขวดที่สองทดสอบ *Clostridium* spp. ที่ไม่อยู่ในรูปสปอร์ เททับผิวหน้าด้วย sterile liquid paraffin โดยไม่ต้องให้ความร้อน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 32.5±2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อลงบนอาหาร CBA ที่เติม gentamicin 20 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มเพาะในสภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 32.5±2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง หากพบโคโลนีเกิดขึ้น ให้ถ่ายเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวแยกลงบนอาหาร CBA จำนวน 2 จาน โดยให้ครอบคลุมทุกลักษณะโคโลนีที่พบนำไปแยกบ่มที่อุณหภูมิ 32.5±2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ในสภาวะปกติและสภาวะไร้อากาศ หากพบโคโลนีเชื้อในสภาวะไร้อากาศแต่ไม่พบในสภาวะปกติให้ทำการย้อมแกรม หากเป็น *Clostridium* spp. จะย้อมติดสีแกรมบวกและมีลักษณะเป็นรูปท่อน มีหรือไม่มีสปอร์ (gram-positive rods, with or without

spores) ทดสอบ catalase reaction กับสารละลาย 3% hydrogen peroxide ให้ผลลบ คือ ไม่เกิดฟองก๊าซ หากผลตรงตามลักษณะของ *Clostridium* spp. ทำการ sub culture เชื้อลงในหลอด CMM ที่ผ่านการต้มไอล่ากาแล้ว เททับผิวหน้าด้วย sterile liquid paraffin บ่มที่อุณหภูมิ 32.5±2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำส่งห้องปฏิบัติการแบคทีเรียไร้อากาศ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข เพื่อตรวจหาชนิดพันธุ์ของเชื้อ *Clostridium* spp. รวมถึงสารพิษของเชื้อ *C. perfringens*

เกณฑ์การประเมินผล: ประเมินผลคุณภาพการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างตามเกณฑ์การยอมรับคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ ตาม THP 2020 (Acceptance Criteria for Microbiological Quality : THP 2020) ดังนี้ Category 1A ยารับประทานที่เตรียมจากสารสกัดสมุนไพรซึ่งผ่านกระบวนการลดจุลินทรีย์แล้ว ในที่นี้ คือ ยาแผนโบราณชนิดน้ำ ได้แก่ ยาประดง ยาราดอบเชย Category 2 ยารับประทานที่เตรียมจากสมุนไพรเดี่ยวหรือผสมซึ่งผ่านกระบวนการลดจุลินทรีย์ก่อนใช้ ในที่นี้ คือ ชาขง และ Category 4 ยารับประทานที่เตรียมจากสมุนไพรทั้งชิ้นหรือผง ในที่นี้ คือ ยาแคปซูล ยาผง และยาลูกกลอน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เกณฑ์การยอมรับคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ (Acceptance Criteria for Microbiological Quality) ตาม THP 2020⁽⁹⁾

ลำดับ	รายการทดสอบ	Category 1A	Category 2	Category 4
1	Total aerobic microbial count : CFU/g	ต้องไม่มากกว่า 5×10 ³	ต้องไม่มากกว่า 5×10 ⁷	ต้องไม่มากกว่า 5×10 ⁵
2	Total combined yeasts and moulds count : CFU/g	ต้องไม่มากกว่า 5×10 ²	ต้องไม่มากกว่า 5×10 ⁵	ต้องไม่มากกว่า 5×10 ⁴
3	Bile-tolerant gram-negative bacteria/g	-	-	ต้องไม่มากกว่า 10 ³
4	<i>E. coli</i> /g	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ
5	<i>S. aureus</i> /g	-	-	-
6	<i>Salmonella</i> spp./10 g	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ
7	<i>Clostridium</i> spp./g	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ

การตรวจหาชนิดพันธุ์ (species) ของเชื้อ *Clostridium* spp. รวมถึงสารพิษของเชื้อ *C. perfringens* โดยห้องปฏิบัติการแบคทีเรียไร้อากาศ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

เครื่องมือและอุปกรณ์

ตู้อบเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส (Memmert, Germany) ตู้ปราศจากเชื้อ (NuAire, USA) เครื่องชั่งไฟฟ้าความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, Switzerland) เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุ์กรรม (Labnet, USA) ชุด agarose gel electrophoresis (i-MyRun, Japan) เครื่องถ่ายภาพและวิเคราะห์ผลจากแผ่นเจล (Syngene, Switzerland)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อ: Wilkins-Chalgren Anaerobe agar, Wilkins-Chalgren Anaerobe broth (Oxoid, England) AnaeroPack-Anaero-2.5 L (Mitsubishi gas chemical company, INC, Japan) starch, arabinose, dextrose, fructose, lactose, maltose, mannose, mannitol, salicin, sucrose, xylose, esculin, SIM, nitrate, litmus milk, gelatin, urea และ egg yolk agar (ฝ่ายเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและเครื่องมือปลอดเชื้อ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข)

สารเคมี: GoTaq Promega reaction buffer, magnesium chloride, dNTPs, primer, DNA template, agarose gel, TBE buffer, ethidium bromide, DNA marker ชนิด 100 bp + 1.5 kb DNA ladder (Sibenzyme, Russia), deionized water

การตรวจยืนยันชนิดพันธุ์ของ *Clostridium* spp.

เพาะเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้จากห้องปฏิบัติการยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เพื่อจำแนกและยืนยันว่าเป็น *C. perfringens*, *C. bifermentans*, *C. sporogenes*, *C. sordellii* หรือ *Clostridium* sp. ตามการให้บริการตรวจวิเคราะห์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข⁽¹¹⁾

การสกัดดีเอ็นเอจาก *C. perfringens*

นำเชื้อที่ทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและยืนยันเป็น *C. perfringens* มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี lysis buffer โดยใช้โคโลนีของเชื้อที่เจริญบน Wilkins-Chalgren blood agar 2-3 โคโลนี มาละลายใน lysis buffer 1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนใสทิ้งและละลายตะกอนด้วย lysis buffer 2 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนใสเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส สำหรับใช้เป็น DNA template ในการทดสอบ Multiplex PCR ต่อไป

การทดสอบยืนยันและจำแนกยีนสร้างสารพิษด้วยวิธี Multiplex PCR

การทำ Multiplex PCR เพื่อจำแนก *C. perfringens* type A, B, C, D, E และ enterotoxin-producing ใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งของยีน *cpa*, *cpb*, *etx*, *iA* และ *cpe* ตามวิธีของ Heikinheimo A and Korkeala H⁽¹²⁾ และ Meer RR and Songer JG⁽¹³⁾ ซึ่งมีลำดับเบสของไพรเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยใช้ PCR reaction mix (GoTaq DNA polymerase, Promega, USA) ปริมาณรวมทั้งหมด 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1X Green GoTaq Flexi Buffer, 2 mM MgCl₂, 0.1 mM dNTPs, 0.1 μM each primer, 2U Taq DNA polymerase, 30 ng DNA template และปรับปริมาตรด้วย sterile deionized water จากนั้นทำการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเครื่อง MultiGene Gradient Thermal Cycler (Labnet, USA) ตามโปรแกรมดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ annealing ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

ตรวจสอบ PCR product ที่ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยนำ PCR product 10 ไมโครลิตร หยดลงใน 2% agarose gel ใช้กระแสไฟฟ้า 100 V เป็นเวลา 50 นาที จากนั้นย้อมแผ่นเจลด้วย Ethidium bromide (EtBr) ตรวจสอบผลผลิต PCR product ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตและถ่ายรูปด้วยเครื่อง Gel Doc เปรียบเทียบขนาดของแถบ PCR product ที่ได้กับ DNA marker ชนิด 100 bp+1.5 kb DNA ladder (Sibenzyme, Russia) การแปลผลเปรียบเทียบ PCR product จากดีเอ็นเอของ *C. perfringens* type A, B, C, D, E และ enterotoxin-producing *C. perfringens* type A ที่เป็นชุดควบคุมผลบวก (positive control) การยืนยันผลการตรวจพบขนาดของ PCR product โดยทุกชนิดพันธุ์ของ *C. perfringens* แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa* ขนาด 400 bp และการจำแนก *C. perfringens* type ต่าง ๆ ตรวจสอบได้จากขนาดและรูปแบบของ PCR

product ดังนี้ *C. perfringens* ATCC 13124 type A แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa* ขนาด 400 bp *C. perfringens* NTCT 4914 type B แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa*, *cpb* และ *etx* ขนาด 400 bp, 196 bp และ 655 bp ตามลำดับ *C. perfringens* NTCT 10719 type C แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa* และ *cpb* ขนาด 400 bp และ 196 bp ตามลำดับ *C. perfringens* NTCT 8346 type D แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa* และ *etx* ขนาด 400 bp และ 655 bp ตามลำดับ *C. perfringens* NTCT 8084 type E แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa* และ *iA* ขนาด 400 bp และ 446 bp ตามลำดับ และ *C. perfringens* DMST 51427 type A+enterotoxin แสดงแถบ PCR product ของยีน *cpa* และ *cpe* ขนาด 400 bp และ 233 bp ตามลำดับ สำหรับกลุ่มควบคุมผลลบ (no template control) ใช้ sterile deionized water แทน genomic DNA

ตารางที่ 3 ไพรมเมอร์สำหรับการจำแนกชนิดของ *C. perfringens* ด้วยเทคนิค Multiplex PCR

ไพรมเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	ขนาดผลผลิต (bp)	ยีน	อ้างอิง
CPA-F	TGC ATG AGC TTC AAT TAG GT	400	<i>cpa</i>	Heikinheimo and Korkeala (2005)
CPA-R	TTA GTT TTG CAA CCT GCT GT			
CPB-F	GCG AAT ATG CTG AAT CAT CTA	196	<i>cpb</i>	Meer and Songer (1997)
CPB-R	GCA GGA ACA TTA GTA TAT CTT C			
ETX-F	GCG GTG ATA TCC ATC TAT TC	655	<i>etx</i>	Meer and Songer (1997)
ETX-R	CCA CTT ACT TGT CCT ACT AAC			
IA-F	ACT ACT CTC AGA CAA GAC AG	446	<i>iA</i>	Meer and Songer (1997)
IA-R	CTT TCC TTC TAT TAC TAT ACG			
CPE-F	GGA GAT GGT TGG ATA TTA ACG	233	<i>cpe</i>	Meer and Songer (1997)
CPE-R	GGA CCA GCA GTT GTA GAT A			

ผล

การสำรวจสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างยาสมุนไพรและยาแผนโบราณ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 เก็บตัวอย่างโดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ทั้ง 15 แห่งทั่วประเทศ คัดเลือกผลิตภัณฑ์ที่เป็นโปรดักส์ แชมเปียน หรือผลิตภัณฑ์ที่มียอดจำหน่ายสูง หรือ

ผลิตภัณฑ์เด่นของพื้นที่ จำนวนแห่งละ 4 ผลิตภัณฑ์ รวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านเกณฑ์กำหนดตาม THP 2020 จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 46.7 โดยพบตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2020 ด้วย 1 สาเหตุ จำนวน 12 ตัวอย่าง และหลายสาเหตุร่วมกันตั้งแต่ 2, 3 และ 4 สาเหตุ จำนวน 9, 6 และ 1

ตัวอย่าง ตามลำดับ ดังนี้ total aerobic microbial count, *Clostridium* spp., bile-tolerant gram-negative bacteria, total combined yeasts and moulds count และ *Salmonella* spp. จำนวน 19, 19, 12, 1 และ 1 รายการ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4, 5 และ ภาพที่ 1 โดยตัวอย่างที่ตรวจพบ *Clostridium* spp.

ผลยืนยันชนิดพันธุ์พบว่าเป็น *C. perfringens* type A สร้างสารพิษ Alpha toxin ทั้ง 19 ตัวอย่าง ผลการทดสอบ Multiplex PCR ดังแสดงในภาพที่ 2 มี 1 ตัวอย่าง ที่พบ *C. bifermentans* ปนเปื้อนร่วมด้วย และผลยืนยัน *Salmonella* spp. จำนวน 1 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* serovar Aqua

ตารางที่ 4 ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2020 จำแนกตามรายการทดสอบ

ลำดับ	ชนิดยา	ชนิดตำรับ	จังหวัดผู้ผลิต	ประเภทผู้ผลิต	ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์							
					เชิงปริมาณ : CFU/g		เชิงปริมาณและคุณภาพ			เชิงคุณภาพ		
					a	b	c		d	e	f	g
ตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์ THP 2020												
1	ขมิ้นชัน	แคปซูล	เชียงราย	โรงพยาบาลรัฐ	3×10 ²	< 10	A		A	A	A	A
2	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	ลำพูน	โรงพยาบาลรัฐ	2.5×10	2.0×10	A		A	A	A	A
3	ยาธาตุบดขย	ยาน้ำ	เชียงใหม่	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
4	ยาจันทน์ลีลา	แคปซูล	ชัยนาท	โรงพยาบาลรัฐ	8.0×10	< 10	A		A	A	A	A
5	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	อุทัยธานี	โรงพยาบาลรัฐ	2.7×10 ³	< 10	10 ² < x < 10 ³		A	A	A	A
6	มะขามแขก	แคปซูล	อุทัยธานี	โรงพยาบาลรัฐ	5.5×10	< 10	A		A	A	A	A
7	มะขามแขก	แคปซูล	สระบุรี	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
8	ขิง	แคปซูล	สระบุรี	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
9	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	นครปฐม	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
10	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	ปราจีนบุรี	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
11	ธรณีสังฆะฆาต	แคปซูล	จันทบุรี	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
12	ขมิ้นชัน	แคปซูล	นครพนม	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
13	ยาผสมเพชรสังฆาต	แคปซูล	อุดรธานี	โรงพยาบาลรัฐ	1.5×10 ⁴	< 10	A		A	A	A	A
14	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	สกลนคร	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
15	ยาอมสมุนไพร	ลูกกลอน	นครราชสีมา	โรงพยาบาลรัฐ	9.1×10 ³	< 10	A		A	A	A	A
16	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	บุรีรัมย์	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
17	ยาอมอดบุหรี	ลูกกลอน	ตรัง	โรงพยาบาลรัฐ	6.0×10	< 10	A		A	A	A	A
18	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	พัทลุง	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
19	ขิง	แคปซูล	สตูล	โรงพยาบาลรัฐ	1.7×10 ²	< 10	10 < x < 10 ²		A	A	A	A
20	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	สุราษฎร์ธานี	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
21	ยาสหัสธารา	แคปซูล	ชุมพร	โรงพยาบาลรัฐ	4.5×10	< 10	10 < x < 10 ²		A	A	A	A
22	ขมิ้นชัน	แคปซูล	ยะลา	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	2.0×10	A		A	A	A	A
23	ยาผสมเพชรสังฆาต	แคปซูล	สงขลา	โรงพยาบาลรัฐ	< 10	< 10	A		A	A	A	A
24	สมุนไพรรวม	แคปซูล	สิงห์บุรี	เอกชน	5.4×10 ³	< 10	A		A	A	A	A
25	กวาวเครือขาว	แคปซูล	ปทุมธานี	เอกชน	< 10	< 10	A		A	A	A	A

ตารางที่ 4 ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2020 จำแนกตามรายการทดสอบ (ต่อ)

ลำดับ	ชนิดยา	ชนิดตำรับ	จังหวัดผู้ผลิต	ประเภทผู้ผลิต	ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์							
					เชิงปริมาณ : CFU/g		เชิงปริมาณและคุณภาพ			เชิงคุณภาพ		
					a	b	c	d	e	f	g	
26	ยาผสมเพชรสังฆาต	แคปซูล	ปทุมธานี	เอกชน	4.2×10 ³	< 10	A	A	A	A	A	
27	ยาปราบชมพูทวีป	แคปซูล	นนทบุรี	เอกชน	3.7×10 ⁵	< 10	A	A	A	A	A	
28	ชิง	แคปซูล	นครปฐม	เอกชน	< 10	< 10	A	A	A	A	A	
29	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	สมุทรปราการ	เอกชน	< 10	< 10	A	A	A	A	A	
30	ยาสหัศจรรย์	แคปซูล	ราชบุรี	เอกชน	< 10	< 10	A	A	A	A	A	
31	ยาหอม	ลูกกลอน	สงขลา	เอกชน	7.6×10 ⁴	< 10	A	A	A	A	A	
32	ยาห้าราก	แคปซูล	พัทลุง	เอกชน	7.0×10 ³	< 10	102 < x < 103	A	A	A	A	
ตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์ THP 2020												
1	ขมิ้นชัน	แคปซูล	พะเยา	โรงพยาบาลรัฐ	5.5×10 ⁶	2.0×10	> 10 ³	A	A	A	P	
2	ขมิ้นชัน	แคปซูล	พิษณุโลก	โรงพยาบาลรัฐ	3.5×10 ⁶	< 10	> 10 ³	A	A	A	A	
3	ขมิ้นชัน	แคปซูล	กาญจนบุรี	โรงพยาบาลรัฐ	3.7×10 ⁵	3.3×10 ³	> 10 ³	A	A	A	P	
4	ขมิ้นชัน	แคปซูล	หนองคาย	โรงพยาบาลรัฐ	1.2×10 ⁶	< 10	10 < x < 10 ²	A	A	A	P	
5	ขมิ้นชัน	แคปซูล	มุกดาหาร	โรงพยาบาลรัฐ	1.0×10 ⁷	< 10	> 10 ³	A	A	A	A	
6	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	ขอนแก่น	โรงพยาบาลรัฐ	>2.5×10 ⁷	< 10	10 < x < 10 ²	A	A	A	A	
7	ยาขจรจืด	ชาขง	ยโสธร	โรงพยาบาลรัฐ	2.0×10 ⁶	1.50×10 ²	> 10 ³	A	A	A	P	
8	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	พัทลุง	โรงพยาบาลรัฐ	1.9×10 ⁷	2.8×10 ³	A	A	A	A	P	
9	ยาผงสตรี	ผง	เชียงใหม่	เอกชน	5.7×10 ⁵	1.7×10 ⁴	> 10 ³	A	A	A	P	
10	ยาหอม	ผง	ลำพูน	เอกชน	4.3×10 ⁴	1.6×10 ⁴	10 < x < 10 ²	A	A	A	P	
11	สมุนไพรรวม	แคปซูล	แพร่	เอกชน	1.8×10 ⁵	7.0×10 ³	10 < x < 10 ²	A	A	A	P	
12	กระชายขาว	แคปซูล	พิษณุโลก	เอกชน	7.4×10 ⁵	1.1×10 ³	> 10 ³	A	A	A	P	
13	ยาแก้ไอ	ผง	พิษณุโลก	เอกชน	3.7×10 ⁶	< 10	10 < x < 10 ²	A	A	A	A	
14	ยาหอม	ผง	อุทัยธานี	เอกชน	4.0×10 ⁵	< 10	A	A	A	A	P	
15	ขมิ้นชัน	แคปซูล	กรุงเทพฯ	เอกชน	9.8×10 ⁶	< 10	> 10 ³	A	A	A	P	
16	สมุนไพรริดสีดวงทวาร	แคปซูล	ชลบุรี	เอกชน	1.1×10 ⁷	< 10	A	A	A	A	P	
17	ยาบรรเทาโริดสีดวงทวาร	แคปซูล	จันทบุรี	เอกชน	4.1×10 ⁵	< 10	10 < x < 10 ²	A	A	A	P	
18	กาวเครือขาว	แคปซูล	เลย	เอกชน	3.5×10 ⁶	2.8×10 ²	> 10 ³	A	A	P	P	
19	ยาประดง	ยาน้ำ	กาฬสินธุ์	เอกชน	5.0×10 ⁴	1.6×10 ⁴	A	A	A	A	A	
20	ขมิ้นชัน	แคปซูล	กาฬสินธุ์	เอกชน	6.3×10 ⁴	2.4×10 ²	> 10 ³	A	A	A	A	
21	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	สุรินทร์	เอกชน	3.7×10 ⁵	4.7×10 ²	10 < x < 10 ²	A	A	A	P	
22	ขมิ้นชัน	แคปซูล	เพชรบุรี	เอกชน	6.1×10 ⁵	5.0×10	10 ² < x < 10 ³	A	A	A	A	
23	ยาเขียวหอม	ผง	สุราษฎร์ธานี	เอกชน	1.8×10 ⁶	7.0×10	> 10 ³	A	A	A	P	
24	ยาแผนโบราณ	ลูกกลอน	สงขลา	เอกชน	7.8×10 ⁵	< 10	A	A	A	A	A	

ตารางที่ 4 ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2020 จำแนกตามรายการทดสอบ (ต่อ)

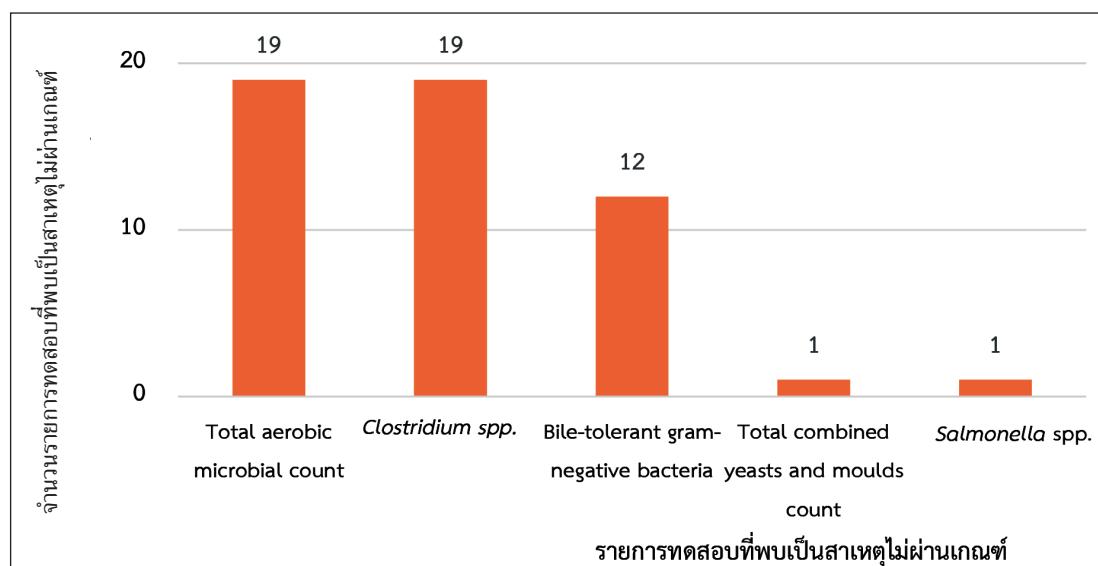
ลำดับ	ชนิดยา	ชนิดตำรับ	จังหวัดผู้ผลิต	ประเภทผู้ผลิต	ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์							
					เชิงปริมาณ : CFU/g		เชิงปริมาณและคุณภาพ		เชิงคุณภาพ			
					a	b	c	d	e	f	g	
25	ฟ้าทะลายโจร	แคปซูล	นครศรีธรรมราช	เอกชน	8.5×10^5	1.2×10^4	$> 10^3$	A	A	A	P	
26	อบเชย	แคปซูล	นครศรีธรรมราช	เอกชน	$> 2.5 \times 10^7$	< 10	$10^2 < x < 10^3$	A	A	A	P	
27	ยาบำรุงธาตุ	แคปซูล	พัทลุง	เอกชน	1.1×10^6	< 10	$10 < x < 10^2$	A	A	A	A	
28	ยาสตรีสม่วน	แคปซูล	กระบี่	เอกชน	1.2×10^5	5.0×10	$10 < x < 10^2$	A	A	A	P	
	ชั้กมดลูก											

หมายเหตุ : การทดสอบเชิงปริมาณ (CFU/g) a: total aerobic microbial count และ b: total combined yeasts and moulds count การทดสอบเชิงปริมาณ (probable number) และคุณภาพ c: bile-tolerant gram-negative bacteria การทดสอบเชิงคุณภาพ d: *E. coli*, e: *S. aureus*, f: *Salmonella* spp. และ g: *Clostridium* spp. โดย A = absence (ตรวจไม่พบ) P = presence (ตรวจพบ)

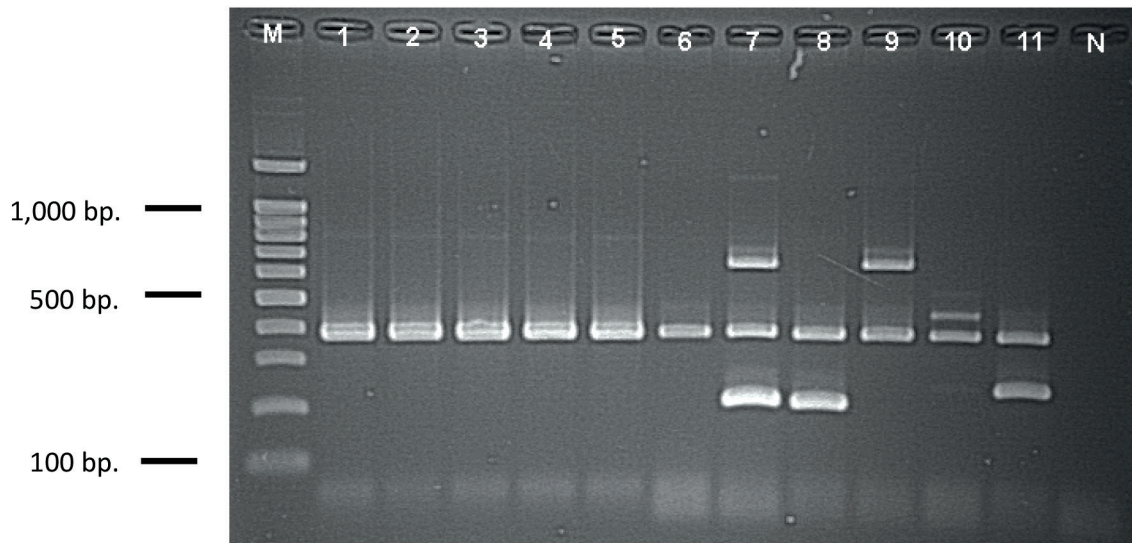
ตารางที่ 5 จำนวนตัวอย่างที่พบไม่ผ่านเกณฑ์ด้วย 1 สาเหตุและหลายสาเหตุร่วมกันตั้งแต่ 2, 3 และ 4 สาเหตุ

จำนวนสาเหตุที่พบไม่ผ่านเกณฑ์	จำนวนตัวอย่างที่พบไม่ผ่านเกณฑ์	จำนวนรายการทดสอบที่พบเป็นสาเหตุไม่ผ่านเกณฑ์						
		a	b	c	d	e	f	g
1	12	5	-	1	-	-	-	6
2	9	7	1	4	-	-	-	6
3	6	6	-	6	-	-	-	6
4	1	1	-	1	-	-	1	1
รวม	28	19	1	12	-	-	1	19

หมายเหตุ : สาเหตุ a: total aerobic microbial count, b: total combined yeasts and moulds count, c: bile-tolerant gram-negative bacteria, d: *E. coli*, e: *S. aureus*, f: *Salmonella* spp. และ g: *Clostridium* spp.



ภาพที่ 1 รายการทดสอบที่พบเป็นสาเหตุที่ทำให้ตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2020



ภาพที่ 2 ผลการทดสอบ Multiplex PCR เพื่อแยกชนิดเชื้อ *Clostridium perfringens*; M = 100 base pairs + 1.5 Kb DNA ladder, 1 = ตัวอย่างเชื้อที่คัดแยกจากยาสมุนไพรขมิ้นชัน, 2 = ตัวอย่างเชื้อที่คัดแยกจากยาขงรางจืด, 3 = ตัวอย่างเชื้อที่คัดแยกจากฟ้าทะลายโจร, 4 = ตัวอย่างเชื้อที่คัดแยกจากยาผงสตรี, 5 = ตัวอย่างเชื้อที่คัดแยกจากยาหอม, 6 = *C. perfringens* type A (ATCC 13124) PCR product ขนาด 400 base pairs, 7 = *C. perfringens* type B (NCTC 4964) PCR product ขนาด 400, 196, 655 base pairs, 8 = *C. perfringens* type C (NCTC 10719) PCR product ขนาด 400 and 196 base pairs, 9 = *C. perfringens* type D (NCTC 8346) PCR product ขนาด 400 and 655 base pairs, 10 = *C. perfringens* type E (NCTC 8084) PCR product ขนาด 400 and 446 base pairs, 11 = *C. perfringens* type A with enterotoxin (DMST 51427) PCR product ขนาด 400 and 233 base pairs, N = negative control

เมื่อจำแนกตามผลิตภัณฑ์โปรตีนที่โปรตีนสังเคราะห์ขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่มียอดจำหน่ายสูงและผลิตภัณฑ์เด่น จำนวน 26, 11 และ 23 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 13, 3 และ 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50.0, 27.3 และ 52.2 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6 จำแนกตามชนิดของสมุนไพรหรือสูตรตำรับการผลิต พบตัวอย่างชาขง (Category 2) ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 100 ตัวอย่างชนิดน้ำ (Category 1A) ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 50.0 และตัวอย่างชนิดแคปซูล ผง และลูกกลอน (Category 4)

ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 45.6 ดังแสดงในตารางที่ 7 โดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากโรงพยาบาลของรัฐและผู้ประกอบการเอกชน จำนวน 31 และ 29 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านเกณฑ์จำนวน 8 และ 20 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.8 และ 69.0 ตามลำดับ เมื่อจำแนกรายภูมิภาคเป็นผลิตภัณฑ์จากภาคเหนือ กลาง ตะวันออกเฉียงเหนือ และใต้ จำนวน 14, 17, 13 และ 16 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านเกณฑ์จำนวน 8, 5, 8 และ 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 57.1, 29.4, 61.5 และ 43.7 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 3

ตารางที่ 6 จำนวนและร้อยละของตัวอย่างที่ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ผ่านเกณฑ์และไม่ผ่านเกณฑ์จำแนกตามประเภทผลิตภัณฑ์และชนิดตัวอย่าง

ประเภท	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง				
		ได้รับ	ผ่านเกณฑ์	ร้อยละ	ไม่ผ่าน	ร้อยละ
ผลิตภัณฑ์	ฟ้าทะลายโจรแคปซูล	13	9	69.2	4	30.8
โปรดักส์	ขมิ้นชันแคปซูล	11	3	27.3	8	72.7
แชมเปียน	กวางเครือขาวแคปซูล	2	1	50.0	1	50.0
	รวม	26	13	50.0	13	50.0
ผลิตภัณฑ์ที่มียอ	ชาชงวางจืด	1	0	0.0	1	100.0
จำหน่ายสูง	ยาบรรเทาโรคผิวหนังทวารแคปซูล	2	0	0.0	2	100.0
	ขิงแคปซูล	3	3	100.0	0	0.0
	ยาผสมเพชรสังฆาตแคปซูล	3	3	100.0	0	0.0
	มะขามแขกแคปซูล	2	2	100.0	0	0.0
	รวม	11	8	72.7	3	27.3
ผลิตภัณฑ์เด่น	ยาน้ำ	2	1	50.0	1	50.0
ของพื้นที่	ยาแผนโบราณชนิดผง	5	0	0.0	5	100.0
	ยาแคปซูลอื่นๆ	12	7	58.3	5	41.7
	ลูกกลอน	4	3	75.0	1	25.0
	รวม	23	11	47.8	12	52.2
	รวมทั้งสิ้น	60	32	53.3	28	46.7

ตารางที่ 7 จำนวนและร้อยละของตัวอย่างที่ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ผ่านเกณฑ์และไม่ผ่านเกณฑ์ จำแนกตามชนิดของสมุนไพรหรือสูตรตำรับการผลิต

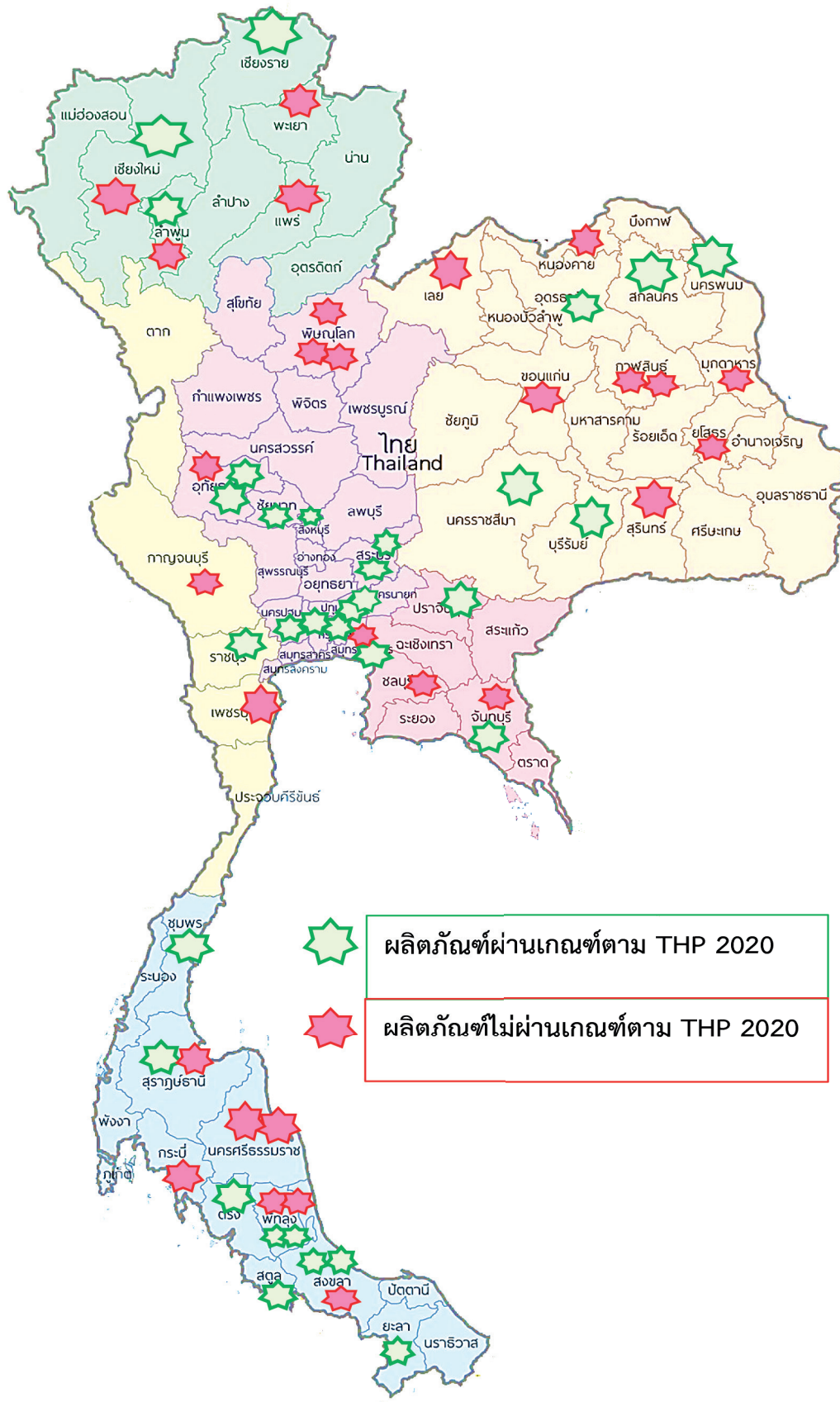
ประเภท	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง				
		ได้รับ	ผ่านเกณฑ์	ร้อยละ	ไม่ผ่านเกณฑ์	ร้อยละ
Category 2	ชาชงวางจืด	1	0	0.0	1	100.0
Category 1A	ยาแผนโบราณชนิดน้ำ	2	1	50.0	1	50.0
Category 4	ยาแผนโบราณชนิดผง	5	0	0.0	5	100.0
	ยาบรรเทาโรคผิวหนังทวารแคปซูล	2	0	0.0	2	100.0
	ขมิ้นชันแคปซูล	11	3	27.3	8	72.7
	กวางเครือขาวแคปซูล	2	1	50.0	1	50.0
	ยาแคปซูลอื่นๆ	12	7	58.3	5	41.7
	ฟ้าทะลายโจรแคปซูล	13	9	69.2	4	30.8
	ลูกกลอน	4	3	75.0	1	25.0
	ขิงแคปซูล	3	3	100.0	0	0.0
	ยาผสมเพชรสังฆาตแคปซูล	3	3	100.0	0	0.0
	มะขามแขกแคปซูล	2	2	100.0	0	0.0
	รวม Category 4	57	31	54.4	26	45.6
	รวมทั้งสิ้น	60	32	53.3	28	46.7

ตารางที่ 8 จำนวนและร้อยละของตัวอย่างที่ผลการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ผ่านเกณฑ์และไม่ผ่านเกณฑ์จำแนกตามแหล่งผลิตรายภูมิภาค

แหล่งผลิตรายภูมิภาค	จำนวนตัวอย่าง				
	ได้รับ	ผ่านเกณฑ์	ร้อยละ	ไม่ผ่านเกณฑ์	ร้อยละ
ภาคเหนือ	14	6	42.9	8	57.1
- โรงพยาบาลของรัฐ	8	6	75.0	2	25.0
- เอกชน	6	0	0.0	6	100.0
ภาคกลาง	17	12	70.6	5	29.4
- โรงพยาบาลของรัฐ	6	5	83.3	1	16.7
- เอกชน	11	7	63.6	4	36.4
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	13	5	38.5	8	61.5
- โรงพยาบาลของรัฐ	9	5	55.6	4	44.4
- เอกชน	4	0	0.0	4	100.0
ภาคใต้	16	9	56.3	7	43.7
- โรงพยาบาลของรัฐ	8	7	87.5	1	12.5
- เอกชน	8	2	25.0	6	75.0
ทั่วประเทศ	60	32	53.3	28	46.7
- โรงพยาบาลของรัฐ	31	23	74.2	8	25.8
- เอกชน	29	9	31.0	20	69.0

ผลการสำรวจคุณภาพด้านการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในยาสมุนไพรและยาแผนโบราณจากทั่วประเทศ ทำให้ทราบสถานการณ์การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว โดยพบว่ายาที่ผลิตจากโรงพยาบาลของรัฐมีคุณภาพสูงกว่ายาที่ผลิตจากเอกชน แม้ว่าทั้ง 20 ตัวอย่าง ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ของผู้ผลิตเอกชนจะมีทะเบียนยาแล้วก็ตาม ทั้งนี้พบว่าเป็นร้าน/ห้างขายยา 12 แห่ง บริษัท 7 แห่ง และวิสาหกิจชุมชน 1 แห่ง เมื่อจำแนกตามภูมิภาค พบว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 61.5 และพบสาเหตุที่ทำให้ตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพตาม THP 2020 รวม 52 รายการ ได้แก่ total aerobic microbial count, *Clostridium* spp., bile-tolerant gram-negative bacteria, total combined yeasts and moulds count และ *Salmonella* spp. จำนวน 19, 19, 12, 1

และ 1 รายการ ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่พบสาเหตุ total aerobic microbial count ไม่ผ่านเกณฑ์ เป็นตัวอย่างตาม Category 4 จำนวน 18 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 5.7×10^5 ถึง มากกว่า 2.5×10^7 CFU ต่อกรัม และตัวอย่างตาม Category 1A จำนวน 1 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน 5.0×10^4 CFU ต่อกรัม ส่วนตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์ 41 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างตาม Category 1A จำนวน 1 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนน้อยกว่า 10 CFU ต่อกรัม ตัวอย่างตาม Category 2 จำนวน 1 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน 2.0×10^6 CFU ต่อกรัม ตัวอย่างตาม Category 4 จำนวน 39 ตัวอย่าง โดย 16 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนน้อยกว่า 10 CFU ต่อกรัม และ 23 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 2.5×10^5 ถึง 4.1×10^5 CFU ต่อกรัม



ภาพที่ 3 ตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์และไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2020 ที่เก็บจากพื้นที่ใน 43 จังหวัด

วิจารณ์

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษากับประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานค่าความบริสุทธิ์หรือคุณลักษณะอื่นอันมีความสำคัญต่อคุณภาพ สำหรับตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขึ้นทะเบียนแจ้งรายละเอียดหรือจดแจ้ง พ.ศ. 2564⁽⁵⁾ ประกาศในราชกิจจานุเบกษา วันที่ 1 ธันวาคม 2564 และบังคับใช้เมื่อพ้นกำหนด 90 วัน นับแต่วันประกาศในราชกิจจานุเบกษานั้น ผลิตภัณฑ์ตาม Category 1A และ 4 ของ THP 2020 เป็นยาเสพติดประเภทยาเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์สมุนไพรประเภทประเภทยา ข. ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2564 เกณฑ์กำหนดการปนเปื้อนของ total aerobic microbial count ในผลิตภัณฑ์ 1 กรัม พบได้ไม่มากกว่า 5.0×10^4 CFU ทำให้มีตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 6.3×10^4 ถึง 4.1×10^5 CFU ไม่ผ่านเกณฑ์เพิ่ม 9 ตัวอย่าง รวมไม่ผ่านเกณฑ์ 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 46.7 การปนเปื้อน total combined yeasts and moulds count กำหนดในผลิตภัณฑ์ 1 กรัม พบได้ไม่มากกว่า 5×10^2 CFU ทำให้มีตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนในช่วง 1.1×10^3 ถึง 1.7×10^4 CFU ไม่ผ่านเกณฑ์เพิ่ม 4 ตัวอย่าง รวมไม่ผ่านเกณฑ์ 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8.3 การปนเปื้อน bile-tolerant gram-negative bacteria กำหนดพบการปนเปื้อนได้ไม่มากกว่า 10^2 ต่อกรัม ทำให้มีตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนช่วงมากกว่า 10^2 และน้อยกว่า 10^3 ไม่ผ่านเกณฑ์เพิ่ม 4 ตัวอย่าง รวมไม่ผ่านเกณฑ์ 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.0

การปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ตาม THP 2020 กำหนดต้องไม่พบในผลิตภัณฑ์ 10 กรัม แต่ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2564 กำหนดต้องไม่พบในผลิตภัณฑ์ 25 กรัม ซึ่งทำให้มีโอกาสในการตรวจพบ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์สูงกว่า ด้านการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* นั้น ตรวจไม่พบในผลิตภัณฑ์ทั้ง 60 ตัวอย่าง โดยในกรณีของ *S. aureus* นั้น ผลิตภัณฑ์ที่เป็นยาเสพติดประเภทยาตาม THP 2020 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2564 ไม่ได้กำหนดเกณฑ์คุณภาพแต่อย่างใด ยืนยันได้ว่าการยกเลิกตรวจ *S. aureus* ซึ่งเดิมเคยกำหนดไว้ในประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 121

ตอนพิเศษ 43 ลงวันที่ 21 เมษายน พ.ศ. 2547 มีความเหมาะสม

การปนเปื้อน *Clostridium* spp. เกณฑ์กำหนดตาม THP 2020 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2564 ไม่ต่างกัน เมื่อนำเทคนิค Multiplex PCR มาใช้ตรวจยืนยันชนิดพันธุ์ร่วมกับการตรวจสอบยีนที่ควบคุมการสร้างสารพิษ พบว่า *C. perfringens* ทั้งหมดที่ตรวจพบในตัวอย่างเป็น *C. perfringens* type A ซึ่งตรวจพบยีน *cpa* ที่ควบคุมการสร้างสารพิษชนิด alpha toxin หรือ เอนไซม์ phospholipase C โดยจะแสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ lecithinases ย่อยสลาย lecithin บนอาหาร egg yolk agar⁽¹⁴⁾ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์ และคณะ ได้นำเทคนิค Multiplex PCR ตรวจสอบยีนหลักที่ควบคุมการสร้างสารพิษจำนวน 4 ยีน ได้แก่ *cpa*, *cpb*, *etx* และ *iA* และยีนสร้างสารพิษ enterotoxin (*cpe*) ของเชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จากสมุนไพรจำนวน 112 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บรวบรวมโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระหว่างปี พ.ศ. 2555–2562 พบว่าเป็น *C. perfringens* type A ทั้ง 112 ตัวอย่าง แต่จะพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง enterotoxin (*cpe*) ร่วมด้วย จำนวน 6 ชนิดพันธุ์ ซึ่งพบในตัวอย่างสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ยากษัยเส้น (2 ตัวอย่าง) เพชรสังฆาต (1 ตัวอย่าง) ผักหวานป่า (2 ตัวอย่าง) และขมิ้นชัน (1 ตัวอย่าง)⁽¹⁵⁾

เมื่อพิจารณาตามประเภทของผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มียอดจำหน่ายสูง จำนวน 11 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ชาชงรางจืด ยาบรรเทาโรคผิวหนังแคปซูล ชิงแคปซูล ยาผสมเพชรสังฆาตแคปซูล และมะขามแขกแคปซูล จำนวน 1, 2, 3, 3 และ 2 ตัวอย่าง พบผ่านเกณฑ์สูงสุด จำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 72.7 ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผ่านเกณฑ์นั้น เนื่องจากผู้ผลิตส่วนใหญ่เลือกใช้วัตถุดิบที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ส่วนผลิตภัณฑ์โปรตีนสกัดเข้มข้นจากตัวอย่างที่ได้รับ ประกอบด้วย ฟ้าทะลายโจรแคปซูล ขมิ้นชันแคปซูล และกวาวเครือขาวแคปซูล จำนวน 13, 11 และ 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 26 ตัวอย่าง พบผ่านเกณฑ์ 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 57.7 แสดงให้เห็นว่าแม้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการส่งเสริมจากหลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง แต่คุณภาพด้านการปนเปื้อน

เชื้อจุลินทรีย์ยังผ่านเกณฑ์ไม่มาก และผลิตภัณฑ์เด่นเป็นอัตลักษณ์ของพื้นที่ จำนวน 23 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ยาแผนโบราณชนิดน้ำ ยาแผนโบราณชนิดผง ยาแคปซูลอื่นๆ และยาลูกกลอน จำนวน 2, 5, 12 และ 4 ตัวอย่าง พบผ่านเกณฑ์ต่ำที่สุด คือ จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 47.8 เนื่องจากผู้ผลิตบางรายเป็นร้าน/ห้างขายยา ผลิตตามภูมิปัญญาดั้งเดิมและผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีส่วนผสมของสมุนไพรหลายชนิด ซึ่งการควบคุมคุณภาพจะทำให้ยากกว่าผลิตภัณฑ์ที่มาจากสมุนไพรเดี่ยว

ประเมินตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2564 ในภาพรวมทั้ง 60 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 32 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.3 โดยพบตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์ด้วย 1 สาเหตุ จำนวน 16 ตัวอย่าง และหลายสาเหตุร่วมกันตั้งแต่ 2, 3 และ 4 สาเหตุ จำนวน 9, 6 และ 1 ตัวอย่าง รวม 73 รายการ ดังนี้ total aerobic microbial count, *Clostridium* spp., bile-tolerant gram-negative bacteria, total combined yeasts and moulds count และ *Salmonella* spp. จำนวน 29, 19, 16, 8 และ 1 รายการ ตามลำดับ เมื่อจำแนกตามแหล่งผลิตพบว่าผลิตจากโรงพยาบาลของรัฐ จำนวน 31 ตัวอย่าง และเอกชน จำนวน 29 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 9 และ 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 29.0 และ 79.3 ตามลำดับ

ผลการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่พบ อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เช่น ได้รับเชื้อแบคทีเรียเข้าไปในปริมาณที่สูง ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food borne disease) bile-tolerant gram-negative bacteria เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อน้ำดีสามารถอยู่รอดได้ในกระเพาะอาหารของคน มีเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) ที่สามารถป้องกันการทำลายจากยาปฏิชีวนะ และเอนไซม์ในร่างกาย และทำให้เกิดภาวะช็อกจากการติดเชื้อในผู้ป่วยได้⁽¹⁶⁾ เชื้อราสามารถสร้างสารพิษอันตราย เช่น Aflatoxin ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้⁽¹⁷⁾ *Clostridium* spp. อาจก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษลำไส้อักเสบ (gastroenteritis)⁽⁷⁾ เป็นต้น *C. perfringens* type A ที่ปนเปื้อนในสมุนไพรมีรายงานว่า เป็นชนิดพันธุ์ที่พบได้บ่อยในสิ่งแวดล้อมและสร้างสารพิษส่งผลต่อการก่อโรคที่รุนแรงในคน^(6,7) โดยเชื้อจุลินทรีย์อาจปนเปื้อนจาก

สิ่งแวดล้อมทั่วไป ได้แก่ น้ำ ดิน ฝุ่นละออง มูลสัตว์ที่ใช้ทำปุ๋ยคอก และร่างกายของมนุษย์ เป็นต้น ซึ่งทำให้มีโอกาสปนเปื้อนสู่กระบวนการผลิต ได้แก่ ขั้นตอนการปลูก การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาวัตถุดิบ ความสะอาดของสถานที่ สุขลักษณะของบุคลากร และวิธีการล้างทำความสะอาดวัตถุดิบสมุนไพรที่แตกต่างกันไปในสมุนไพรแต่ละชนิด ความเสี่ยงของการปนเปื้อนมีสูงถ้าสมุนไพรมาจากส่วนที่เป็นรากหรือลำต้นที่สัมผัสกับดิน ดังนั้นหากต้องการลดและป้องกันการปนเปื้อน ผู้ผลิตควรใส่ใจตั้งแต่ขั้นตอนการล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ การผึ่งหรือตากวัตถุดิบต้องป้องกันฝุ่นละออง ซึ่งอาจใช้ชั้นหรือโรงเรือนที่มีพลาสติกคลุม นอกจากนี้อุปกรณ์ เครื่องมือ บริเวณที่ผลิตต้องสะอาด ฝ่ายผลิตต้องสวมอุปกรณ์ป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จากร่างกายสู่ผลิตภัณฑ์ เช่น เสื้อคลุม หมวกคลุมผม ผ้าปิดปาก และถุงมือ เป็นต้น การอบวัตถุดิบหรือผงยาที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นอกจากช่วยลดความชื้นของสมุนไพร ยังช่วยลดปริมาณ total aerobic microbial count, total combined yeasts and moulds count และ bile-tolerant gram-negative bacteria ให้มีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์กำหนดได้ *Clostridium* spp. หากไม่สามารถกำจัดให้หมดในขั้นตอนของการล้างด้วยน้ำสะอาด การอบวัตถุดิบสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ยาที่อุณหภูมิและเวลาดังกล่าว จะไม่สามารถกำจัดได้ เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospores) ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้⁽¹⁸⁾ ปัจจุบันพบว่าวิธีการฉายรังสีแกมมาในปริมาณที่เหมาะสมเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ยาแผนโบราณ ยาจากสมุนไพร และวัตถุดิบสมุนไพรได้

จากผลการศึกษาและรายงานความปลอดภัยด้านการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในยาสมุนไพรและยาแผนโบราณในประเทศไทยที่ดำเนินการมาอย่างต่อเนื่อง เช่น การศึกษาความปลอดภัยของยาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติในกลุ่มตัวอย่างยาเขียวหอม ยาจันทร์ลีลา ยาแก้ไข้ห่าราก ยาหอมเทพจิตร ยาหอมนวโกฐ ยาหอมบำรุงหัวใจ ยาประสะมะแว้ง ยาธาตุบรรจบ ยาเหลืองปิดสมุทร ยาประสะไพล และยาสหัสธารา

ของ จิตรา ชัยวัฒน์ และคณะ⁽¹⁹⁾ ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2555-2556 จำนวน 116 ตัวอย่าง พบผลิตภัณฑ์ไม่ผ่านเกณฑ์ตาม THP 2009 จำนวน 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.9 โดยพบสาเหตุที่ทำให้ไม่ผ่านเกณฑ์ รวม 46 รายการ ได้แก่ total aerobic microbial count, *Clostridium* spp. และ bile-tolerant gram-negative bacteria จำนวน 27, 13 และ 6 รายการตามลำดับ ซึ่งตำรับยาเหล่านี้เป็นตำรับที่มีส่วนผสมของสมุนไพรจากส่วนที่เป็นรากลำต้นใต้ดิน ส่วนของพืชที่สัมผัสกับดินได้ง่าย และสมุนไพรที่มีขนาดเล็กทำความสะอาดยาก จากรายงานในปี พ.ศ. 2559 ชญานิศ ศรีชัยธวัชวงศ์ และคณะ⁽²⁰⁾ ได้ศึกษาคุณภาพการปนเปื้อนเชื้อ total aerobic microbial counts และ total combined yeasts and moulds count ในตัวอย่างยาสมุนไพรที่มีจำหน่ายในท้องตลาดของประเทศไทย จำนวน 431 ตัวอย่าง พบ total aerobic microbial counts ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 70 และ total combined yeasts and moulds count ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 11 จากรายงานในปี พ.ศ. 2560 ปรัชญาพร อินทองแก้ว และคณะ⁽²¹⁾ ได้ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในยากวาด ยาเป่าคอ และยานัตถ์ ที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากร้านขายยาในจังหวัดกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ผิดมาตรฐานตามตำรา British Pharmacopoeia 2016 จำนวน 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 75 ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาสถานการณ์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในครั้งนี้ ที่มีความมุ่งหวังเพื่อพัฒนาระดับทั้งผู้ประกอบการและคุณภาพผลิตภัณฑ์ ซึ่งข้อมูลจากห้องปฏิบัติการจะช่วยสนับสนุนและส่งเสริมให้ผู้ผลิตพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์ได้อย่างถูกต้องและตรงประเด็น หากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง อาทิ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด สำนักงานยาและวัตถุเสพติด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และผู้ประกอบการ ร่วมกันจัดทำ Road Map ของการพัฒนา โดยกลุ่มผู้ผลิตที่มีความพร้อมผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัย สามารถเป็นต้นแบบ เป็นพี่เลี้ยง เป็นแหล่งศึกษาดูงานให้กับผู้ประกอบการกลุ่มอื่นๆ ลำดับรองลงมาเป็นโรงพยาบาลของรัฐหรือผู้ประกอบการเอกชนขนาดเล็กกว่าและ

ส่วนใหญ่ผลิตสมุนไพรเดี่ยว สามารถหาแหล่งจำหน่ายวัตถุดิบที่ปลอดภัยได้และง่ายต่อการควบคุมคุณภาพ ส่วนกลุ่มที่มีปัญหาสูงและแก้ไขยากที่สุด คือ ร้าน/ห้างขายยา ซึ่งผลิตผลิตภัณฑ์เด่นเป็นอัตลักษณ์ของพื้นที่ตามภูมิปัญญาดั้งเดิม ส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์มีส่วนผสมของสมุนไพรหลายชนิดยากต่อการควบคุมคุณภาพ ควรหาแหล่งหรือโรงงานแปรรูปวัตถุดิบที่มีคุณภาพของประเทศเพื่อกระจายวัตถุดิบที่ปลอดภัยต่อไป นอกจากนี้ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดทั่วประเทศ ซึ่งเป็นหน่วยงานที่ใกล้ชิดและมีหน้าที่กำกับดูแลผู้ผลิตยาสมุนไพรและยาแผนโบราณในพื้นที่ มีความเข้าใจในสถานการณ์และบริบทของพื้นที่ร่วมกัน จะสามารถกระตุ้นให้เกิดกระแสนวัตกรรมร่วมกับผู้ผลิตได้ดีขึ้น หากมีการวางแผนร่วมกันอย่างเป็นระบบ

อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณส่วนใหญ่ ได้รับความนิยมนิยมหรือถูกใช้ในผู้สูงอายุ^(22,23) ซึ่งผู้ใช้อาจมีโรคประจำตัวอื่น ๆ เช่น โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง⁽²²⁾ ยาที่ไม่มีคุณภาพจะทำให้ผู้บริโภคกลุ่มดังกล่าวมีอาการป่วยรุนแรงขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สูงเกินเกณฑ์กำหนดหรือจากสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นสร้างขึ้น แม้ปัจจุบันมีวิธีการเฝ้าระวังความปลอดภัยยาสมุนไพร ยาแผนโบราณของประเทศไทย คือ spontaneous reporting ที่บุคลากรทางการแพทย์หรือผู้ประกอบการจะส่งรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยตามแบบฟอร์มที่กำหนดไปยังศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ (Health Product Vigilance Center; HPVC) แต่ระบบดังกล่าวยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายและผู้บริโภคนั้นยังมีความเสี่ยงต่อการเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์⁽²⁴⁾ นอกจากนี้ยังไม่มีเผยแพร่ข้อมูลทางระบาดวิทยาและอาการทางคลินิกของผู้ป่วยจากการใช้ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณของประเทศแต่อย่างใด ดังนั้นนอกจากส่งเสริมให้มีการพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์แล้ว ควรมีการพัฒนาระบบการเฝ้าระวังการใช้ยาที่มีประสิทธิภาพ โดยส่งเสริมให้มีการรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ได้ทั้งผู้บริโภค ผู้ป่วย ผู้ผลิต และ/หรือบุคลากรทางการแพทย์ทุกระดับ ร่วมกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางระบาดวิทยา รวมถึงอาจพิจารณาเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล

ที่สามารถระบุชนิดพันธุ์และการสร้างสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์ร่วมด้วย

สรุป

จากผลการศึกษาได้บรรลุตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ เนื่องจากได้ทราบสถานการณ์คุณภาพด้านการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณของประเทศ ทั้งผลิตภัณฑ์โปรดักส์แชมเปียน ผลิตภัณฑ์ที่มียอดจำหน่ายสูง และผลิตภัณฑ์เด่นเป็นอัตลักษณ์ของพื้นที่ โดยพบว่าผลิตภัณฑ์เด่นเป็นอัตลักษณ์ของพื้นที่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านเกณฑ์สูงสุด รองลงมา คือ ผลิตภัณฑ์ที่เป็นโปรดักส์แชมเปียน และผลิตภัณฑ์ที่มียอดจำหน่ายสูงพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านเกณฑ์ต่ำสุด รองรับประกาศกระทรวงสาธารณสุขซึ่งถือเป็นกฎหมายใหม่ที่เริ่มมีผลบังคับใช้ โดยข้อมูลทั้งแหล่งผลิตและผลการตรวจวิเคราะห์จะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง อาทิ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด สำนักงานและวัตถุประสงค์ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และผู้ประกอบการ ในการวางแผนการพัฒนาแบบบูรณาการ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลนำเข้าเพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้จัดวางระบบการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาและการศึกษาอาการทางคลินิกของผู้ป่วย ซึ่งหากมีการจัดวางระบบและดำเนินการในการพัฒนาและเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์อย่างต่อเนื่องจริงจัง คาดว่าผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณของไทยจะมีคุณภาพมาตรฐาน แพทย์มีความเชื่อมั่นในการใช้เพื่อการรักษาโรคและการสร้างเสริมสุขภาพเป็นไปตามยุทธศาสตร์ที่ 3 ของแผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ผู้บริโภคมีความปลอดภัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณดำเนินงาน ภายใต้โครงการบูรณาการเฝ้าระวัง เตือนภัยสุขภาพ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 ขอขอบคุณ ทนพญ. จินตนา ว่องวิไลรัตน์ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์

การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ที่ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นทำให้โครงการวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทั้ง 15 แห่งทั่วประเทศ ในการประสานงานและเก็บตัวอย่างยาสมุนไพรและยาแผนโบราณ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ที่ให้ความร่วมมือ ข้อเสนอแนะและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. บัญชียาหลักแห่งชาติ. บัญชียาจากสมุนไพร ปรับปรุงล่าสุดถึง ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ. พ.ศ. 2556. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 23 พ.ย. 2565]; [108 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: http://ndi.fda.moph.go.th/uploads/main_drug_file/20171021185635.pdf.
2. กระทรวงสาธารณสุข, องค์การภาครัฐ-เอกชน. แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564. นนทบุรี: กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข; 2559.
3. สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา. พระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510. [ออนไลน์]. 2510; [สืบค้น 23 พ.ย. 2565]; [50 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.fda.moph.go.th/sites/drug/LawDrug/drug2510-krisdika-v2020.pdf>.
4. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง หลักเกณฑ์การพิจารณาขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณเกี่ยวกับมาตรฐานการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 122 ตอนพิเศษ 43 ง (วันที่ 16 มิถุนายน 2548). หน้า 28.
5. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานค่าความบริสุทธิ์ หรือคุณลักษณะอื่นอันมีความสำคัญต่อคุณภาพสำหรับตำรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขึ้นทะเบียน แจ้งรายละเอียด หรือจัดแจ้ง พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 138 ตอนพิเศษ 294 ง (วันที่ 1 ธันวาคม 2564). หน้า 6.
6. Aung MS, Matsuda A, Urushibara N, Kawaguchiya M, Ohashi N, Matsuda N, et al.

- Clonal diversity of *Clostridium perfringens* human clinical isolates with various toxin gene profiles based on multilocus sequence typing and alpha-toxin (PLC) typing. *Anaerobe* 2021; 72: 102473.
7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Winn WC, Schreckenberger PC. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott; 1997.
8. Bacteria: *Clostridium perfringens*. In: Juneja VK, Taneja NK, Thakur S. Reference module in food science. Amsterdam: Elsevier; 2023.
9. Appendix 10 Microbiological test, 10.2 Microbial limit tests, 10.5 Limits for Microbial Contamination., Ministry of Public Health. In: Department of Medical Sciences. Thai Herbal Pharmacopoeia 2020. Bangkok: The Agricultural Co-operative Federation of Thailand; 2020. p. 862-889, 891-894.
10. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. มาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 3. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ; 2558. หน้า 125-126.
11. ระเบียบกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ว่าด้วยอัตราค่าบำรุงการตรวจวิเคราะห์และให้บริการ พ.ศ. 2562. ลำดับที่ 33.2 การตรวจยืนยันเชื้อแบคทีเรียไร้อากาศ. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 136 ตอนพิเศษ 130 ง. (วันที่ 22 พฤษภาคม 2562).
12. Heikinheimo A, Korkeala H. Multiplex PCR assay for toxinotyping *Clostridium perfringens* isolates obtained from Finnish broiler chickens. *Lett Appl Microbiol* 2005; 40(6): 407-11.
13. Meer RR, Songer JG. Multiplex polymerases chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. *Am J Vet Res* 1997; 58(7): 702-5.
14. Jepson M, Titball RW. Structure and function of clostridial phospholipase C. *Microbes Infect* 2000; 2(10): 1277-84.
15. ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์, ชุตินา จิตตประสาทศีล, ธนิตชัย คำแถลง, นัฐพงษ์ ชื่นบาน, สมชาย แสงกิจพร, ทายาท ศรียาภัย. การจำแนกชนิดของยีส่สร้างสารพิษของ *Clostridium perfringens* ที่แยกได้จากสมุนไพรด้วยวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์. ว มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 2564; 13(26): 60-72.
16. Cannabis Research UK. Bile-tolerant gram-negative bacteria. [online]. [cited 2023 Apr 5]. Available from: URL: https://cannabisresearchuk.com/testing/bile-tolerant_gram-negative_bacteria.html.
17. อาริรัตน์ ลอปปัญญา, วิเชียร ธาณินทร์ธราธาร, อนัญญา เหลืองอรุณ. แนวทางการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา; 2548.
18. Bacterial endospores. In: Brock TD, Madigan MT. Biology of microorganisms. 6th ed. New Jersey: Prentice Hall; 1991.
19. จิตรา ชัยวัฒน์, จิราณัฐ แจ่มทวีกุล, สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์, ปรัชญาพร อินทองแก้ว. ความปลอดภัยของยาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ. ว กรมวิทย พ 2557; 56(3): 123-34.
20. Sornchaithawatwong C, Tadong S, Tangkiatkumjai M. The prevalence of acceptable quality herbal products in Thailand. *Journal of Herbal Medicine* 2020; 24: 100391. (6 pages).
21. ปรัชญาพร อินทองแก้ว, ประภาพรณ สุขพรรณ, อนัญญา สุพันธุ์ฉวี, จิราณัฐ แจ่มทวีกุล. การตรวจสอบการปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์ ในยาสมุนไพรแปรรูป และยานัตถุ์. ใน: บทความจากการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประจำปีงบประมาณ

- พ.ศ. 2561. วันที่ 28-30 มิถุนายน 2561, ศูนย์การประชุม อิมแพ็ค ฟอรั่ม เมืองทองธานี. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2561.
22. อุไรลักษณ์ เทพวัลย์. การศึกษาปัญหาและพฤติกรรม การใช้ยาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในผู้สูงอายุ โรคความดันโลหิตสูงในตำบลโป่ง อำเภอมืองเลย จังหวัดเลย. ผลงานวิชาการ โรงพยาบาลเลย 2565; 1(1): 26-33.
23. de Sousa Lima CM, Fujishima MAT, de Paula Lima B, Mastroianni PC, de Sousa FFO, da Silva JO. Microbial contamination in herbal medicines: a serious health hazard to elderly consumers. BMC Complement Med Ther 2020; 20: 17. (9 pages).
24. เมธาวี ศรีรัตนโชติชัย, สุภาภรณ์ สุตหนองบัว, วิทยากุลสมบุรณ์, ชื่นจิตร กองแก้ว. การจัดการประสบการณ์ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาสมุนไพรโดยมุมมองของผู้บริโภค. ว เกษัชกรรมไทย 2561; 10(2): 421-36.

Thailand's Situation of Microbial Contamination in Traditional and Herbal Medicines in 2021

Sirada Pongmuangmul¹, Chutima Jittaprasatsin², Piyada Wangroongsarb³, and Ladda Poolsawat⁴

¹Regional Medical Sciences Center 3 Nakhonsawan, Department of Medical Sciences, Muang Nakhonsawan, 60000, Thailand

²National Institute of Health, ³Medical Sciences Technical Office, ⁴Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT The Thai government and the Ministry of Public Health are currently promoting the use of herbal and traditional medicines, as the trend for natural products is growing rapidly. As a result, it is important for manufacturers and state agencies to ensure the quality of these products. In the fiscal year 2021, the Regional Medical Sciences Center 3 Nakhonsawan and the National Institute of Health surveyed the microbial contamination in herbal and traditional medicinal products from 58 entrepreneurs across 43 provinces. The products selected for testing included product champions, best-selling products and outstanding products, with a total of 60 samples, including 26, 11 and 23 samples from each category, respectively. The survey tested for microbial contamination using the Thai Herbal Pharmacopoeia 2020 (THP 2020) and found that 28 out of 60 samples (46.7%) failed to comply with the THP standard, with 13, 3, and 12 samples from each category, respectively. The results showed that 19, 19, 12, 1 and 1 samples were contaminated with total aerobic microbial count, *Clostridium* spp., bile-tolerant gram-negative bacteria, total combined yeasts and moulds count and *Salmonella* spp. Respectively. Among these samples, 31 samples were collected from government hospitals and 29 samples were obtained from private manufacturers, of which 8 (25.8%) and 20 (69%) samples, respectively, did not comply to the standard. The result revealed that the products from the Northeastern region showed poor quality since 61.5% of products did not meet the criteria. To address these issues, manufacturers should consider GMP process such as washing raw materials with clean water, protecting from dust during production, drying raw materials at optimum temperatures, or using gamma irradiation. This survey provides important information for relevant agencies to improve the quality of local entrepreneurs' products to meet the official standard and ensure consumer safety.

Keywords: Microbial contamination, Herbal medicine, Traditional medicine