

วารสาร



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 59 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2560 Vol. 59 No. 1 January-March 2017

ISSN 0125-684X

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการ
ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	
ที่ปรึกษาด้านบริหาร	นพ.สุขุม กาญจนพิมาย	นพ.พิเชฐ บัญญัติ
	ภก. ดร.วรวิทย์ กิตติวงศ์สุนทร	นพ.สมฤกษ์ จิงสมาน
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	ศ.เกียรติคุณ นพ.ประเสริฐ ทองเจริญ	ดร.ปนัดดา ชิลวา
	ภญ.อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์	พญ.มยุรา กุสุมภ์
	ภญ.ดร.จงดี ว่องพินัยรัตน์	นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท
	ภญ.สุภัทรา อิ่มเอิบ	ภญ.ดร.สุมล ปวีตรานนท์
บรรณาธิการ	นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	ดร.เลาจนา เขาวนาดีชัย	นักวิชาการอิสระ
คณะบรรณาธิการ	ศ. ดร.นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล	ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
	ศ. ดร.อรษา สุตเธียรกุล	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
	ศ. ดร.พิไลพันธ์ พุฒินะ	ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
	ศ.พญ.พรรณิ ปิติสุทธธรรม	มหาวิทยาลัยมหิดล
	รศ. ดร. ภญ.พิมพ์พิชญ์ พงษ์เพชร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
	ผศ.สุชาดา ไชยสวัสดิ์	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
	ดร.दनัย ทิวาเวช	มหาวิทยาลัยนเรศวร
	นางสุวรรณา จารุณข	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
	นางหรรษา ไชยวานิช	นักวิชาการอิสระ
	ดร. นพ.ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ	สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
	ดร.อุษาวดี ถาวรระ	นักวิชาการอิสระ
	ดร.สลักจิต ชุตินพวิเวท	สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
	ดร.เดือนฉนอม พรหมขัติแก้ว	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวพรรณทิพย์ ตียพันธ์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรณะ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางกนกพร อธิสุข	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นายศิริ ศรีมนโรธ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางวิษชุดา จริยะพันธุ์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	ภญ. ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ฝ่ายจัดการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวประสาน จุลวงษ์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กำหนดออก	ราย 3 เดือน	
อัตราสมาชิก	ในประเทศปีละ 200.- บาท	
	ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา	
สำนักงานวารสาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	
	88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000	
พิมพ์ที่	โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297	
	หจก. อรุณการพิมพ์	
	457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200	
	โทร. 0-2282-6033-4	

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 59 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2560

Vol. 59 No. 1 January - March 2017

สารบัญ

หน้า

บทความพิเศษ

- นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เกียรติยศ ประจำปี 2560 1
พลรัตน์ วิไลรัตน์

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ยาเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทม 7
ในรูปแบบยาฉีดด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง
ภณิดา รัตนานุกูล และประชาพร ผลสิน
- การศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน 24
วลัยลักษณ์ เมธวัชร และเอกณรงค์ อินทรชัย
- การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ยากลุ่ม PDE-5 34
inhibitors ในของกลางยาคดี
ประสิทธิ์ โอภาส และสุภาณี ดวงธีรปรีชา
- การจัดเตรียมพิษงูเห่ามาตรฐานในระดับประเทศ 55
ไพศาล พังจันทน์ อัครวรย์ อาเมน จิตาภรณ์ ภูติภินโยวัฒน์ ชลยุทธ นามบุตร
และกนกวรรณ เทียมมาลา

บทความทั่วไป

- การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการด้านน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ตามระบบคุณภาพ 63
ISO/IEC 17025:2005
อุบลวรรณ ชัยอารยะเลิศ พันธวิทย์ นทกุล ธีระพล คชาชีวะ และสกาลิน ไตรศิริวานิชย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 59 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2560

Vol. 59 No. 1 January - March 2017

CONTENTS

Page

Special Article

- The Honorary Medical Scientist Award Winner 2017** 1

Polrat Wilairatana

Original Articles

- Development and Validation of Analytical Method for the Assay of** 7

Cefoperazone and Sulbactam for Injection by High Performance

Liquid Chromatography

Panida Rattananukul and Prachaporn polsin

- Stability Study for Methamphetamine Standard Solutions** 24

Waliluk Matapatara and Eknarong Inthachai

- Development and Validation Method for Identification of PDE-5 inhibitors** 34

In Seized Materials

Prasit Opas and Supanee Duangteraprecha

- Preparation of National Standard for Cobra Venom** 55

Paisan Pangjunan Assajan Amen Titaporn Phutipinyowat

Chanlayuth Nambhut and Kanokwan Tiammala

General Articles

- Capacity Building of Laboratory for In Vitro Diagnostic of Blood** 63

Transmitted Diseases to Comply with Requirements of ISO/IEC 17025:2005

Ubonwan Chaiarrayalert Puntawit Natakul Teerapon Kachacheewa

and Sakalin Trisiriwanich



บทบรรณาธิการ



วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ฉบับนี้เป็นฉบับแรกของปี พ.ศ. 2560 ซึ่งบรรณาธิการได้ปรับปรุงคำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์เพื่อให้ผู้พิมพ์มีความเข้าใจที่ชัดเจนเกี่ยวกับแนวทางการพิจารณาบทความของกองบรรณาธิการและการเตรียมต้นฉบับมากยิ่งขึ้น การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญนอกจากมีคำอธิบายเพิ่มเติมเกี่ยวกับบทความประเภทต่างๆ และการเขียนหัวข้อที่กำหนดสำหรับการเขียนบทความแล้ว ยังได้เพิ่มหัวข้อจริยธรรมในการวิจัย โดยบทความที่จะมาตีพิมพ์นั้นหากมีการทดลองในมนุษย์หรือใช้ตัวอย่างที่ได้จากมนุษย์จะต้องได้รับการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ และกรณีที่เป็นบทความที่รายงานผลการศึกษาวิจัยที่ใช้สัตว์ทดลอง การวิจัยนั้นๆ ต้องผ่านการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลอง ขอให้ผู้พิมพ์ทำการศึกษารายละเอียดในคำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์ในฉบับนี้ก่อนที่จะเตรียมต้นฉบับส่งบรรณาธิการ

ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2560 นี้ เช่นเดียวกับทุกปีที่ผ่านมา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ร่วมกับมูลนิธิกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้กำหนดการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 25 ระหว่างวันที่ 22-24 มีนาคม พ.ศ. 2560 ที่อิมแพค เมืองทองธานี ภายใต้หัวข้อ “ตามรอยเบื้องพระยุคลบาท ด้วยวิทยาศาสตร์การแพทย์” การประชุมวิชาการนี้เป็นเวทีทางวิชาการที่สำคัญของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ผู้เข้าร่วมประชุมจะได้รับทราบข้อมูล องค์ความรู้ และเทคโนโลยีใหม่ๆ ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เกี่ยวกับนวัตกรรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โรคติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ การคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ และการศึกษาวิจัยด้านสมุนไพร จากการบรรยายของวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิทั้งในและต่างประเทศ รวมทั้งจากการนำเสนอผลงานของนักวิจัย และในการประชุมดังกล่าว ทางมูลนิธิกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ทำการคัดเลือกนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ผู้มีผลงานดีเด่นก่อให้เกิดประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งภายในประเทศและในระดับสากล เพื่อให้รางวัล “นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เกียรติยศ ประจำปี พ.ศ. 2560” ซึ่งได้แก่ ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์

เพื่อเป็นการเผยแพร่ชื่อเสียงและเกียรติคุณของ “นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เกียรติยศ ประจำปี พ.ศ. 2560” บรรณาธิการจึงขอนำบทความพิเศษเกี่ยวกับประวัติและผลงานเด่นของศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ ตีพิมพ์ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ฉบับนี้

นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์

บรรณาธิการ

คำแนะนำสำหรับผู้นิพนธ์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รับผิดชอบเผยแพร่งานด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับ ชีววัตถุ เครื่องมือแพทย์ เครื่องสำอาง ยาที่เป็นเภสัชเคมีภัณฑ์ อาหารและเครื่องดื่ม สมุนไพร ยาเสพติด วัตถุอันตราย รังสี โรคติดต่อ โรคไม่ติดต่อ พาหะนำโรค การประเมินความเสี่ยง การพัฒนาเทคโนโลยีวิจัยทางคลินิก ระบบบริหารจัดการคุณภาพ และอื่นๆ โดยตีพิมพ์ทุกสามเดือน ปีละสี่ฉบับ ได้แก่ 1) ฉบับเดือนมกราคม-มีนาคม 2) เดือนเมษายน-มิถุนายน 3) เดือนกรกฎาคม-กันยายน และ 4) เดือนตุลาคม-ธันวาคม

ประเภทของบทความ

บทความสามารถเขียนได้ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษโดยแบ่งบทความออกเป็นประเภทต่าง ๆ ดังนี้

1. นิพนธ์ต้นฉบับ

เป็นรายงานผลการศึกษาวิจัย พัฒนาเทคโนโลยี หรือพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการที่มีการวางรูปแบบและดำเนินการศึกษาวิจัยพัฒนา ตลอดจนวิเคราะห์ข้อมูลอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการ

2. รายงานจากห้องปฏิบัติการ

เป็นรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่มีผู้นำตัวอย่างมาส่งตรวจ หรือรายงานผลการดำเนินงานที่เป็นงานประจำ

3. กรณีศึกษา

เป็นรายงานผลการศึกษาโดยใช้กลุ่มตัวอย่างไม่มากนัก ทั้งนี้อาจอยู่ภายใต้ตัวแปรที่ควบคุมได้ หรือสภาพแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ เพื่อทดสอบทฤษฎีหรือทำความเข้าใจถึงปรากฏการณ์บางอย่าง

4. บทความปริทัศน์

เป็นบทความที่ได้จากการทบทวนหรือรวบรวมความรู้วิชาการเรื่องใดเรื่องหนึ่งจากตำรา วารสาร วิชาการหรือหนังสือต่างๆ มาวิเคราะห์และเรียบเรียง และควรมีความเห็นของผู้รวบรวมเพิ่มเติมด้วย เพื่อให้ได้บทความใหม่ที่มีความชัดเจนในประเด็นต่างๆ

5. บทความทั่วไป

เป็นบทความทางวิทยาศาสตร์ที่ไม่ลงลึกในรายละเอียดมากนัก หรือเป็นบทความเกี่ยวกับระบบที่สนับสนุนการดำเนินงานเพื่อให้น่าเชื่อถือ หรือสามารถดำเนินการได้อย่างเป็นระบบ เช่นรายงานการพัฒนา

ระบบสนับสนุนการทำงาน การพัฒนาระบบเทคโนโลยีสารสนเทศ การพัฒนาระบบบริหารจัดการคุณภาพ ตามมาตรฐานสากล หรืออาจเป็นการเขียนถึงเรื่องราวที่อยู่ในความสนใจของประชาชน เป็นต้น

6. จดหมายถึงบรรณาธิการ

เป็นบทความที่ผู้อ่านวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เขียนถึงบรรณาธิการหรือเจ้าของบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารฯ แล้ว ทั้งนี้เพื่อเสนอแนะหรือแสดงข้อคิดเห็นเกี่ยวกับวารสารฯ หรือบทความนั้น ๆ

7. สารติดต่อสั้น

เป็นรายงานวิจัยที่ดำเนินการแล้วเสร็จซึ่งมีประเด็นการศึกษาไม่มากนักแต่มีรายละเอียดครบถ้วนตามหลักเกณฑ์ของงานวิจัย หรือเป็นรายงานการศึกษาวิจัยอย่างย่อโดยอาจเป็นข้อมูลที่ศึกษาเพิ่มเติมจากรายงานการศึกษาวิจัยที่ได้เคยตีพิมพ์แล้ว หรืออาจเป็นการรายงานผลการศึกษาบางส่วนที่อยู่ในความสนใจของสาธารณะหรือตอบปัญหาที่เกิดขึ้นในขณะนั้น

ทั้งนี้บทความที่ส่งตีพิมพ์จะต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรือกำลังตีพิมพ์ในวารสารฉบับอื่นมาก่อน

การพิจารณาบทความ

บทความทุกเรื่องจะต้องผ่านการพิจารณาตรวจแก้จากผู้เชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้องอย่างน้อย 2 คน โดยบรรณาธิการจะเป็นผู้พิจารณาคัดเลือกผู้เชี่ยวชาญทบทวนบทความพิจารณาเบื้องต้น 2 คนแรก และหากจำเป็นอาจคัดเลือกผู้เชี่ยวชาญคนที่ 3 พิจารณาทบทวนบทความเพิ่มเติม บรรณาธิการจะเป็นผู้พิจารณาคำแนะนำของผู้เชี่ยวชาญทั้งหมดและแจ้งแก่ผู้นิพนธ์เพื่อแก้ไข (ถ้ามี) การแก้ไขอาจส่งให้ผู้เชี่ยวชาญพิจารณาตรวจสอบ โดยบรรณาธิการเป็นผู้ตรวจสอบบทความขั้นสุดท้ายก่อนส่งตีพิมพ์ ซึ่งกองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขต้นฉบับและพิจารณาตีพิมพ์ตามลำดับก่อนหลัง

ความรับผิดชอบ

บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถือเป็นผลงานทางวิชาการ และเป็นความเห็นส่วนตัวของผู้นิพนธ์ ไม่ใช่ความเห็นของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือกองบรรณาธิการ ผู้นิพนธ์ต้องรับผิดชอบต่อบทความของตน

จริยธรรมในการวิจัย

กรณีที่เป็นบทความรายงานผลการวิจัยที่ทำการศึกษาวิจัยในมนุษย์หรือใช้ตัวอย่างใด ๆ จากมนุษย์ การวิจัยนั้น ๆ ต้องผ่านการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ และกรณีที่เป็นบทความที่รายงานผลการศึกษาวิจัยที่ใช้สัตว์ทดลอง การวิจัยนั้น ๆ ต้องผ่านการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลอง

การเตรียมต้นฉบับ

ภาษาที่ใช้คือ ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ คำศัพท์เฉพาะหรือคำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้ว แต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลาย หรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาอังกฤษกำกับไว้ในวงเล็บ หรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้

ต้นฉบับควรพิมพ์บนกระดาษขาวขนาด A4 ใช้ตัวอักษร (font) ชนิด Angsana New ขนาดตัวอักษร 16 พิมพ์บรรทัดคู่ (หรือแต่ละบรรทัดให้ห่างอย่างน้อย 6 มม.) พิมพ์หน้าเดียวและใส่เลขกำกับทุกหน้า โดยเว้นขอบด้านซ้ายและด้านบน 3.5 ซม. ด้านขวาและด้านล่าง 2.5 ซม.

หน้าแรกของต้นฉบับประกอบด้วยชื่อเรื่อง ชื่อผู้นิพนธ์และผู้ร่วมนิพนธ์ ชื่อผู้นิพนธ์ที่ทำหน้าที่ประสานงานกับคณะกรรมการ และสถานที่ทำงานที่สามารถติดต่อได้ทางไปรษณีย์ และชื่อเรื่องโดยย่อ (running title) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

หน้าที่สองเป็นบทคัดย่อ ต้องเขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 250 คำ โดยบทคัดย่อควรครอบคลุมที่มาของหัวข้อวิจัย วัตถุประสงค์ ขอบเขตการวิจัย วิธีทำหรือวิธีการรวบรวมข้อมูลที่สำคัญโดยย่อ ผลใช้เฉพาะข้อมูลหลักที่สำคัญและสถิติที่ใช้ (ถ้าจำเป็น) และหลักการหรือองค์ความรู้สำคัญที่พบใหม่ ท้ายบทคัดย่อภาษาอังกฤษให้มีคำสำคัญของบทความ (key word) ไม่เกิน 5 คำ เป็นภาษาอังกฤษ

ต้นฉบับหน้าที่สามเป็นต้นไปเป็นส่วนของเนื้อเรื่อง ควรใช้ภาษาที่ง่าย สั้น กระชับ และชัดเจน

หากเป็นบทความประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ และรายงานจากห้องปฏิบัติการให้เรียงลำดับดังนี้ :

บทนำ ในบทนำนี้ควรกล่าวถึงสมมุติฐานหรือหลักการเหตุผลที่ศึกษา รวมทั้งวัตถุประสงค์ของการศึกษาเมื่ออ้างอิงควรเลือกใช้เฉพาะเอกสารอ้างอิงที่สำคัญและเป็นปัจจุบัน

วัสดุและวิธีการ ในส่วนนี้ให้ข้อมูลทางวิชาการที่มากพอที่ผู้สนใจสามารถทำงานนี้ซ้ำได้ เช่น กลุ่มตัวอย่างหรือข้อมูลที่ศึกษาวิธีสุ่มเก็บตัวอย่างหรือข้อมูล วิธีวิเคราะห์ตัวอย่างหรือข้อมูล วิธีการคำนวณหรือวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้ เป็นต้น ทั้งนี้หากมีการใช้น้ำยา สารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือ หรือจุลชีพที่เป็นปัจจัยสำคัญที่อาจมีผลกระทบต่อผลของการศึกษาวิจัย ให้ระบุแหล่งที่มาของน้ำยา หรือเกรดของสารเคมี หรือโมเดลของเครื่องมือ หรือสายพันธุ์ของจุลชีพในส่วนที่เกี่ยวข้องให้ละเอียด

กรณีเป็นบทความของการศึกษาในมนุษย์หรือใช้ตัวอย่างจากมนุษย์หรือการศึกษาที่ใช้สัตว์ทดลอง ให้ใส่ชื่อคณะกรรมการจริยธรรมหรือคณะกรรมการพิจารณาการวิจัยประจำสถาบัน และหมายเลขอ้างอิงที่ได้รับอนุมัติ

ผล ให้นำเสนอผลงานตามลำดับ หลีกเลี่ยงการใช้กราฟหรือภาพที่ไม่จำเป็น ถ้ามีตารางข้อมูลกราฟหรือภาพให้เสนอพร้อมกับคำอธิบายที่มีเนื้อหาชัดเจนครบถ้วน

วิจารณ์ วิจารณ์สิ่งที่ค้นพบและอาจเปรียบเทียบกับงานที่ผู้อื่นทำและเผยแพร่ไว้ก่อนหน้านี้แล้ว ทั้งนี้ควรระวังไม่นำส่วนของผลมากล่าวซ้ำในส่วนนี้ หากจำเป็นต้องกล่าวถึงควรเขียนผลในภาพรวมที่สำคัญและอาจเขียนถึงผลกระทบตามหลักวิชาการที่อาจเกิดขึ้นหรือการนำไปใช้ประโยชน์จากผลการศึกษาวิจัยนี้

สรุป เน้นสิ่งที่พบใหม่ที่สำคัญจากการศึกษานี้ และเชื่อมโยงการสรุปกับวัตถุประสงค์

ตารางและภาพ ให้แยกออกจากเนื้อเรื่อง หน้าละ 1 รายการ ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาวดำที่มีความชัดเจน ขนาดไม่เล็กกว่าโปสการ์ด ส่วนภาพวาดควรวาดบนกระดาษขาวอย่างดีด้วยหมึกดำลายเส้นคมและชัดเจน ในส่วนของเนื้อเรื่องที่ต้องการแสดงตารางหรือภาพ ให้เว้นที่ว่างพอสมควรและให้เขียนในกรอบว่า

ใส่ตารางที่ 1

หรือ

ภาพที่ 1

กิตติกรรมประกาศ (ถ้ามี)

เอกสารอ้างอิง การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่องให้ใช้ระบบของ the Uniform Requirements style (the Vancouver Citation style) ส่วนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่องให้อ้างเฉพาะบทความที่ตีพิมพ์แล้วในสิ่งตีพิมพ์ปฐมภูมิเท่านั้น การเรียงลำดับเอกสารอ้างอิงให้เรียงตามลำดับการอ้างอิง ผู้นิพนธ์ต้องรับผิดชอบในความถูกต้องของเอกสารอ้างอิง สามารถดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่

URL: <http://www2.dmso.go.th/Web/DMSC.LIB/page5.html>

URL: <http://www2.dmso.go.th/Web/DMSC.LIB/VANCOUV.PDF>

ผู้นิพนธ์ตั้งแต่ 1 ถึง 6 คน ให้ใส่ชื่อทุกคน ถ้ามีมากกว่า 6 คนให้ใส่ชื่อ 6 คนแรกตามด้วย และคณะ หรือ et al กรณีบทความไม่มีชื่อผู้นิพนธ์ให้ใช้ชื่อเอกสารแทนชื่อผู้นิพนธ์

การเขียนเอกสารอ้างอิงให้ใช้รูปแบบดังตัวอย่าง

1. การอ้างบทความวารสาร (Article in Journal)

ตัวอย่าง : สุภาวรรณ จงธรรมวัฒน์, บำรุง คงดี, วิชัย ประสาททอง, มณี เขม้นเขตรการ, จิราภรณ์ อ่ำพันธุ์, กมล ฝอยศิริ และคณะ. การสำรวจคุณภาพของยางอนามัยทั่วประเทศ. ว. กรมวิทย์ 2540;39(2): 67-74.

2. การอ้างหนังสือหรือตำรา (Text/Guideline)

ตัวอย่าง : อีระพร วุฒยวนิช. บรรณาธิการ. เทคโนโลยีช่วยการเจริญพันธุ์. เชียงใหม่ : คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2546.

3. การอ้างเฉพาะบทในตำรา (Chapter in the text)

ตัวอย่าง : ทวีศักดิ์ แทนวันดี. การวินิจฉัยโรคตับจากไวรัสทางคลินิก. ใน : สิริฤกษ์ ทรงศิริไธ. บรรณาธิการ. ตับอักเสบจากไวรัส. กรุงเทพฯ : บางกอกบล๊อค; 2543. เล่ม 1. หน้า 281-309.

4. การอ้างกฎหมาย (Legal material)

ตัวอย่าง : พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 98 ตอนที่ 157 (วันที่ 7 กันยายน 2524)

5. การอ้างสิ่งพิมพ์ขององค์กรหรือหน่วยงาน (Organization as author and publisher)

ตัวอย่าง : กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ กระทรวงสาธารณสุข. แผนยุทธศาสตร์การดำเนินงานสุขภาพภาคประชาชน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2546.

6. การอ้างรายงานการสัมมนา/ประชุมวิชาการ (Conference paper)

ตัวอย่าง : วิยะดา เจริญศิริวัฒน์. เอกสารการประชุมสัมมนาเฉลิมพระเกียรติเรื่อง การคัดกรองภาวะพร่องไทรอยด์ฮอร์โมนในทารกแรกเกิดเพื่อป้องกันปัญญาอ่อน. วันที่ 25 พฤศจิกายน 2542. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2542.

7. การอ้างวิทยานิพนธ์ (Dissertation)

ตัวอย่าง : มณี เข้มเนตรการ. ผลของ N-acetylcysteine ต่อการป้องกันพิษของพาราควอตในหนูขาว [วิทยานิพนธ์]. ภาควิชาพิษวิทยา, คณะวิทยาศาสตร์. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2547.

8. การอ้างสื่ออิเล็กทรอนิกส์ (Electronic material)

8.1 วารสารออนไลน์ (Journal on Internet)

ตัวอย่าง : ชวนพิศ ยิ้มสมบัติ. การประเมินคุณภาพการตรวจหาเชื้อมาลาเรียบนฟิล์มโลหิตบางด้วยกล้องจุลทรรศน์. ว. กรมวิทย์ พ [วารสารออนไลน์]. 2548; [สืบค้น 29 ก.ย. 2548]; 47(2):[8 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.dmsc.moph.go.th/net/jms/>

8.2 เว็บไซต์ (WWW site)

ตัวอย่าง : กรมควบคุมโรค. การป้องกันควบคุมโรคไข้หวัดนก Avian Influenza (Bird Flu). [ออนไลน์]. 2548; [สืบค้น 28 ก.ย. 2548];[1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://www-ddc.moph.go.th/Bird_Flu_main.html.

นิพนธ์ต้นฉบับ รายงานจากห้องปฏิบัติการและบทความปริทัศน์ จะต้องมีย่อหน้า รวมทั้งตาราง กราฟ และรูปภาพ รวมทั้งหมดไม่เกิน 25 หน้า สำหรับเนื้อหาของบทความประเภทอื่น ๆ ต้องไม่เกิน 15 หน้า

การส่งต้นฉบับ

การส่งต้นฉบับอาจทำได้ 2 ช่องทางดังนี้

1. แนบจดหมายนำส่งที่ผู้นิพนธ์และผู้ร่วมนิพนธ์ลงชื่อไว้ทุกคน พร้อมระบุไว้ด้วยว่าทุกคนอ่าน และยอมรับในบทความนั้น ให้ส่งต้นฉบับจริง 1 ชุด สำเนา 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล ถึงบรรณาธิการวารสาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000 โทร. 0-2589-0022 ต่อ 99662, บรรณาธิการ ต่อ 98306

2. ส่งบทความผ่านทางระบบออนไลน์ ได้ทาง <http://www.presston.net/journals/index.php> หรือผ่านทางเว็บไซต์ของวารสาร <http://thailand.digitaljournals.org/index.php/BDMS> โดยผู้นิพนธ์จะต้องสมัครเข้าเป็นสมาชิกในระบบก่อน และ scan จดหมายนำส่งตามข้อ 1 upload แนบมาด้วย

การรับบทความ

บทความที่กองบรรณาธิการได้รับ จะแจ้งให้ผู้นิพนธ์ทราบทุกเรื่องและจะไม่คืนต้นฉบับยกเว้น บทความที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ จะแจ้งให้ทราบพร้อมส่งต้นฉบับส่งคืน บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ กองบรรณาธิการจะมอบสำเนาพิมพ์ (reprint) 10 ชุด แก่ผู้นิพนธ์ชื่อแรก

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The Bulletin of the Department of Medical Sciences welcomes the articles related to the Medical Sciences researches and studies in the area of biological products, medical devices, cosmetics, pharmaceutical products, food and beverage, medicinal plants, narcotic drugs, hazardous materials, radioactive materials, communicable diseases, non-communicable diseases, disease carriers/vectors, risk analyses, technology developments, clinical researches, quality management systems, etc.

The Bulletin is published in every three months as following: 1) January–March, 2) April–June, 3) July–September, and 4) October– December.

The articles can be submitted in either Thai or English. The different kinds of articles are accepted including original articles, laboratory findings, case studies, review articles, general articles, letters to the editor and short communications.

Every article must not have been accepted or published elsewhere.

Articles published in this bulletin represent the research activities or opinions of the authors, not the opinion of editor or Department of Medical Sciences. The authors are responsible for its contents.

Contributions in every article will be peer-reviewed by at least two selected experts.

The clinical research and research involves human specimens must be prior approved by the Ethics Committee. The research that involves animals must be prior approved by the Animal Ethics Committee.

Type or print out of the manuscripts shall be on A4 white paper using Angsana New font, size 16. Use double spacing throughout the paper, and on only one side of paper with left and top margins of 3.5 cm., and right and bottom margins of 2.5 cm.

The first page shall carry the title of the article, full names of authors, affiliation of the author and a running title.

The second page shall carry an abstract both in Thai and English of no more than 250 words. The abstract should cover the rationale, objective(s), scope, main methodology, and new major findings/results of the study. Identify limited to 5 key words at the bottom of the abstract.

The third page and next shall carry the body of the article. The structure of original articles and laboratory findings should be in the order as following:

Introduction: The introduction should provide the hypothesis or the rationale for the study as well as the objective(s) of the study. Give only pertinent references.

Materials and Methods: Give the full technical information so that the experiments can be repeated such as group of sample/study, sampling methodology, analysis methodology, statistical analysis, if used, etc. The sources of all materials and apparatus or stain or strains of microorganisms must be provided if they have the potential impact to the study results.

For the clinical research, or research involves human specimens or animals, name of the ethics committee(s) or institutional review board(s) as well as the number/ID of the approval(s) must be stated.

Results: Present the results as concisely as possible in logical sequence. Avoid unnecessary graphs and figures. The tabular data, graphs, or figures, if needed, should be provided with clear description.

Discussion: Discuss findings. Provide and interpretation of the results. The results may be provided and interpreted in relation to other relevant studies. It should not contain extensive repetition of the results sections. The impact or benefit from the this study may be elaborated.

Conclusion: Emphasize the new and important aspects of the study. Link the conclusions with the goals of the study.

Each table of or figure should be prepared on a separate sheet. Photographic prints must be in black and white, shape or shaded with high contrast and not smaller than the postcard size. Drawings shall be clearly prepared with black drawing ink on white paper. In the text, an appropriate space should be provided for each table or figure as indicated below:

For Table 1	or	For Figure 1
-------------	----	--------------

Acknowledgement (If any):

References: appeared in the text, should be cited according to “the Uniform Requirements style” (the Vancouver Citation style). The references should be listed numerically and in the same order that they have been cited in the text. Only the original documents should be used as references.

List all authors up to six authors. If there are more than six authors, list the first six authors and then follow by et al (et al means “and others”). Use the title of the article or book as author when no author is given. Only the first word of journal articles or book titles (and words that normally begin with a capital letter) are capitalized, and do not use italics or underlining.

Each reference should be in the order, according to the following samples:

1. Citing a Journal Article

Examples:

Hoorfar J, Cook N, Malorny B, Wagner M, Medici D, Abdulmawjood A, et al. Making internal amplification control mandatory for diagnostic PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 41(12): 5835-7

Russell FD, Coppell AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radio-labelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. *Biochem Pharmacol* 1998; 55: 679-701.

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981; 283: 628

2. Citing a Text/Guideline

Examples:

Greenberg AE, Clescri LS, Eaton AD, editors. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. Washington DC: American Public Health Association; 1992. P 9-94.

The United States Pharmacopoeia. The National Formulary. 23rd ed Rockville: United States Pharmacopoeia Convention, Inc.; 1995. P. 373-5.

Thai Pharmacopoeia Vol. 1 (Pt 2). Appendix 1.1 Reagents. Bangkok: Department of Medical Sciences; 1993. P. 1472-5.

International Organization for Standardization. ISO/IEC Guide 25. General requirements for the Competence of calibration and testing laboratories. 3rd ed Geneva: International Organization for Standardization (ISO); 1990

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995 Apraxia; p.119.

3. Chapter in the Text

Examples:

Phillip SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors.

Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management. 2nd ed. New York (NY): Raven Press; 1995. P. 465-78.

Bennett GL, Horuk R. Iodination of chemokines for use in receptor binding analysis. In: Horuk R, editor. Chemokine receptor. New York (NY): Academic Press; 1997. P. 134-48 (Methods in enzymology; vol. 288).

4. Legal Material

Examples:

Airlines Equipment Amendment Act 1981 (Cwlth), s.19(1) (a) (ii)
Public Service Regulations (Cwlth), r.83(2) (a) (ii)
Preventive Health Amendments of 1993, Pub.L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993)

5. Organization as Author and Publisher (Including pamphlet & Package Insert)

Examples:

Department of Medical Sciences. Guideline of method validation used in pharmaceutical analysis. Nonthaburi: Department of Medical Sciences; 1995
Pharmaceutical Society of Australia. Medicines and dribing [pamphlet]. Pharmaceutical Society of Australia; 1998. DR-7.
Lamasil [package insert]. East Hanover (NJ): Sandoz Pharmaceuticals Corp; 1993.

6. Citing Conference Papers/Conference Proceedings

Examples:

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

7. Dissertation

Examples:

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis, (MO): Washington Univ.; 1995

8. Citing Electronic material

8.1 Journal on Internet

Examples:

Morse SS. Factors I emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial online] 1995
Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1): {24 screens}. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Garfinkel PE, Lin E, Goering P. Should amenorrhoea be necessary of the diagnosis of anorexia nervosa? Br Psych [serial online] 1996 [cited 1999 Aug 17]; 168(4): 500-6. Available from: [URL:http://biomed.niss.ac.uk](http://biomed.niss.ac.uk)

8.2 Websites (WWW site)

Examples:

Hoffman DL. St John's Wort. [Online]. [cited 1998 Jul 16]; [4 screens]. Available from: [URL: http://www.healthy.net/library/books/hoffman/materiamedica/stjohns.htm](http://www.healthy.net/library/books/hoffman/materiamedica/stjohns.htm)

The body including tables, graph, and figures of original, laboratory finding, and review articles should not exceed 25 pages, and for other kinds of articles should not exceed 15 pages.

How to Submit Manuscripts

There are two channels to submit articles:

1. Two copies of the manuscript including the original one and a diskette should be sent to the editor at the below address. Papers which tend to have legal or ethical impact must be submitted accompanied by the guarantee letters from the authorized organizations.

2. Online submission via <http://www.preston.net/journals/index.php> or via the website of Bulletin of the Department of Medical Sciences: <http://thailand.digitaljournals.org/index.php/BDMS>. The papers which tend to have legal or ethical impact accompanied by the guarantee letters from the authorized organizations must be scanned and uploaded as attachments in the online submission system.

All submissions will be acknowledged by the Editorial Board. Those unaccepted will also be notified. The Editorial Board reserves the right to edit any manuscripts for proper publication.

Following publication of an article, ten reprints will be supplied to the first author free of charge.

Editor, Bulletin of the Department of Medical Sciences
Department of Medical Sciences Library
88/7 Soi Bamrasnaradura Hospital, Tiwanond Rd.
Nonthaburi 11000, Thailand
Tel. 0-2589-0022 ext. 98306, 99662

นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เกียรติยศ ประจำปี 2560



ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ เป็นผู้กิตติมศักดิ์ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในงานวิจัยโรคมาลาเรีย โดยเฉพาะผลการวิจัยโรคแทรกซ้อนในมาลาเรียชนิดรุนแรง และการพัฒนายาสู่ตรัสสมที่มีผลต่อการรักษาและการป้องกัน อันเป็นประโยชน์อย่างกว้างขวางในประเทศไทยและทั่วโลก

ประวัติส่วนตัว

เกิดวันที่ 24 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2503

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2527	แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2533	วว. (อายุรศาสตร์) แพทยสภา
พ.ศ. 2543	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (อายุรศาสตร์เขตร้อน) มหาวิทยาลัยมหิดล

ประวัติรับราชการ

พ.ศ. 2534-2536	อาจารย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน
พ.ศ. 2536-2539	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน
พ.ศ. 2539-2541	รองศาสตราจารย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน
พ.ศ. 2541-2547	ศาสตราจารย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน

พ.ศ. 2547-2555	ศาสตราจารย์ ระดับ 11 ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน
พ.ศ. 2555-ปัจจุบัน	ศาสตราจารย์ได้รับเงินเดือนขั้นสูง (พนักงานมหาวิทยาลัย) ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์ เขตร้อน

ตำแหน่งอื่น ๆ

พ.ศ. 2550-ปัจจุบัน	หัวหน้าหน่วยโรคเขตร้อนภาวะวิกฤต ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2559-ปัจจุบัน	ผู้อำนวยการโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

ตำแหน่งในอดีต

พ.ศ. 2539-2547	ผู้อำนวยการโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน และรองคณบดีฝ่ายบริการ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2539-2558	WHO short-term consultant/Temporary Adviser ช่วยปฏิบัติงานวิชาการด้านต่าง ๆ ในห้องคัดกรองนํายกโลก ที่ประเทศซูดาน สวิตเซอร์แลนด์ อินเดีย เนปาล บังกลาเทศ ศรีลังกา ไทย กัมพูชา อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์
พ.ศ. 2550-2558	Director, WHO Collaborations Centre for Clinical Management of Malaria คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2555-2559	รองคณบดีฝ่ายสร้างสรรค์คุณค่า คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2558-2559	ประธานคณะกรรมการกำกับกำกับการดำเนินงานโครงการ (Oversight Committee) ในคณะกรรมการกลไกความร่วมมือในประเทศไทย (Thailand Country Coordinating Mechanism (CCM)) สำหรับโครงการที่ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนโลกเพื่อต่อสู้โรคเอดส์ วัณโรค และมาลาเรีย, ประเทศไทย

สิ่งที่ภาคภูมิใจ

ภูมิใจที่ได้มีส่วนในการศึกษาวิจัยโรคมาลาเรีย ทำให้การรักษาผู้ป่วยมาลาเรียทั่วโลกและในประเทศไทยดีขึ้น จำนวนผู้ป่วยที่เป็นมาลาเรียและผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากมาลาเรียทั่วโลกและในประเทศไทยลงมาก เมื่อเทียบกับ 20 ปีที่ผ่านมา

คติในการทำงาน

ทำงานให้ดีที่สุด

เครื่องราชอิสริยาภรณ์

พ.ศ. 2551	มหาวชิรมงกุฎ
พ.ศ. 2554	มหาปรมาภรณ์ช้างเผือก

รางวัลและเกียรติบัตรที่เคยได้รับ

พ.ศ. 2539	รางวัลมหาวิทยาลัยมหิดล ประเภทดีเด่น สาขาการวิจัย
พ.ศ. 2542	รางวัลผลงานวิจัยดีเยี่ยม สภาวิจัยแห่งชาติ (ร่วมรับรางวัล)

พ.ศ. 2548

Award of Medicines for Malaria Venture (MMV) Project of the Year 2005
สำหรับ Outstanding Contribution to Pyronaridine Artesunate Combination
Development Program, Switzerland

พ.ศ. 2555

รางวัลอายุรแพทย์ดีเด่นด้านวิชาการ ราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

ผลงานเด่น

1. ผลงานวิจัยโรคมาลาเรีย

ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ เป็นศาสตราจารย์รุ่นใหม่ที่มีความรู้และความเชี่ยวชาญเป็นอย่างสูงด้านโรคมาลาเรียที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย

มาลาเรียเป็นโรคเขตร้อนที่เกิดจากปรสิตที่มีความสำคัญมากที่สุดในโลก เนื่องจากในแต่ละปีมีผู้ป่วยมาลาเรียปีละประมาณ 200 ล้านคน และเสียชีวิตปีละเกือบ 1 ล้านคน จะเห็นได้ว่าไม่มีโรคจากปรสิตตัวใดที่ทำให้คนเจ็บป่วยและเสียชีวิตได้มากเท่ามาลาเรีย มาลาเรียยังคงเป็น 1 ใน 5 โรคที่ทำให้ประชากรเจ็บป่วยมากเป็นอันดับต้นๆ ของโลก (อันดับแก่ ปอดบวม ท้องร่วง HIV วัณโรค และมาลาเรีย)

ในประเทศไทยมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศ ในแต่ละปีมีผู้ป่วยนับหมื่นคน นอกจากนี้บริเวณชายแดนไทย-กัมพูชา ก็ถือว่าเป็นบริเวณที่มีเชื้อมาลาเรียดื้อยามากที่สุดในโลก ในประวัติศาสตร์ของเชื้อมาลาเรียที่ดื้อยาก็มักจะเริ่มบริเวณนี้และกระจายไปบริเวณอื่นๆ ของโลก ดังนั้น การควบคุมการรักษาของมาลาเรียในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณชายแดนไทย-กัมพูชา จึงมีความสำคัญมากที่องค์การอนามัยโลกและกระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทยให้ความเอาใจใส่มาโดยตลอด

ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ หัวหน้าหน่วยโรคเขตร้อนในภาวะวิกฤต ภาควิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อนมหาวิทยาลัยมหิดล ได้ทุ่มเทตลอดระยะเวลาอันยาวนานกว่า 20 ปี ในการศึกษาวิจัยโรคมาลาเรีย ทั้งทางด้านพยาธิกำเนิด พยาธิสภาพ พยาธิสรีรวิทยาของโรคมาลาเรีย ตลอดจนการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียที่ดื้อยา

ในผู้ป่วยมาลาเรียรุนแรงบางรายจะมี gram-negative septicemia ร่วมด้วย เชื่อว่าเชื้อบางส่วนมาจากลำไส้ (bacterial translocation) ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ และคณะ ได้วิจัยพบว่าในผู้ป่วยมาลาเรียรุนแรงมีการเพิ่มขึ้นของการซึมผ่านของลำไส้มากขึ้น (increased intestinal permeability)⁽¹⁾ ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุทำให้เกิด gram-negative bacteremia ในผู้ป่วยมาลาเรียรุนแรงได้ ต่อมาองค์การอนามัยโลกได้แนะนำ guidelines (WHO, 2010)² การรักษาโรคมาลาเรียใหม่โดยแนะนำให้ antibacterial drugs ร่วมด้วยในผู้ป่วยมาลาเรียรุนแรงที่มีอาการช็อกหรืออาการทรุดลง เพื่อป้องกัน/รักษา bacterial sepsis ที่อาจเกิดร่วมได้

ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ และคณะ ศึกษาพบว่าในผู้ป่วยมาลาเรียที่มีดีซ่าน (jaundice) มักพบร่วมกับภาวะแทรกซ้อนของมาลาเรียอื่นๆ⁽³⁾ เช่น ไตวาย น้ำท่วมปอด ช็อก ดังนั้น ถ้าพบผู้ป่วยมาลาเรียที่มีดีซ่านจะต้องหาว่ามีภาวะแทรกซ้อนของมาลาเรียอย่างอื่นร่วมด้วยเสมอ ในปัจจุบันองค์การอนามัยโลกถือว่าการพบดีซ่าน (ร่วมกับภาวะแทรกซ้อนมาลาเรียอื่นๆ) เป็น criteria อันหนึ่งของมาลาเรียรุนแรง (WHO 2000, 2006, 2010, 2012, 2014)^(2, 4-7)

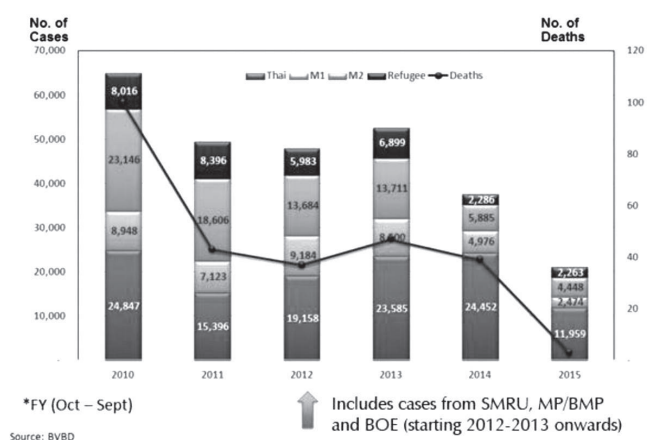
ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ และคณะ พบว่าในผู้ป่วยมาลาเรียรุนแรงจะมี microsomal metabolism ของตับลดลง⁽⁸⁾ ดังนั้น การให้ยาที่ผ่าน hepatic microsomal metabolism ในผู้ป่วยมาลาเรียรุนแรงควรต้องปรับยา

ในการศึกษาวิจัยด้านการรักษา ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ ได้ร่วมกับคณะผู้วิจัยจากหน่วยโรคเขตร้อนในภาควิทยาศาสตร์เขตร้อนศึกษาค้นคว้าสูตรรักษามาลาเรียหลายสูตรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและลดการดื้อยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มที่ผสมกับ artemisinin (artemisinin combination therapy; ACT) โดยคณะผู้วิจัยที่มีศาสตราจารย์ นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ เป็นผู้ร่วมวิจัยร่วมกับ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศรชัย หล่ออารีย์สุวรรณ อดีตหัวหน้าคณะวิจัย (เสียชีวิตแล้ว) ได้รายงานประสิทธิภาพที่ดีเยี่ยมของยา artesunate ร่วมกับ mefloquine ในการรักษาผู้ป่วยฟัลซิพาร์มาลาเรียอันเป็นรายงานแรกของโลกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 (Lancet 1992;339:821-4)⁽⁹⁾ ซึ่งต่อมาองค์การอนามัยโลกและกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทยได้นำไปใช้เป็น guidelines (WHO 2006, 2010)^(2, 5) ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียอย่างกว้างขวางทำให้ผู้ป่วยมาลาเรียและผู้ป่วยมาลาเรียที่เสียชีวิตทั่วโลกและในประเทศไทยลดลงมากอย่างเห็นได้ชัด และสามารถป้องกันการดื้อยาได้ดี^{(10, 11)*}

นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2551 (Korean J Parasitol 2008;46:65-70)⁽¹²⁾ ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ และคณะผู้วิจัยจากคณะเวชศาสตร์เขตร้อน ได้วิจัยพบว่าการใช้ ACT ในการรักษาฟัลซิพาร์มาลาเรียโดยไม่ให้ single dose of primaquine เมื่อรักษาด้วย ACT ดังที่องค์การอนามัยโลกแนะนำใน guidelines ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียปี พ.ศ. 2549 (ค.ศ. 2006)⁽⁵⁾ อาจไม่สามารถป้องกันการแพร่กระจายของโรคโดย gametocytes ได้ดีพอเนื่องจาก หลังให้ ACT ครบแล้ว 3 วันโดยไม่ให้ single dose of primaquine พบว่ายังมี gametocytes อยู่ในกระแสเลือดหลายวันบางรายพบ gametocytes ในเลือดนานถึง 1 เดือนหลังให้ ACT ซึ่งผู้ป่วยอาจแพร่กระจายเชื้อโรคต่อไปได้จากถูกยุงก้นปล่องกัดถ้าผู้ป่วยอยู่ในพื้นที่ที่มีมาลาเรียระบาด ต่อมาในปี พ.ศ. 2553 (ค.ศ. 2010)⁽²⁾ องค์การอนามัยโลกได้เปลี่ยน guidelines ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียใหม่ โดยให้ single dose of primaquine พร้อมกับให้ ACT และแนะนำให้ใช้ทั่วโลก^(2, 13)

เป็นที่ประจักษ์ว่า ผลการศึกษาวิจัยของศาสตราจารย์ นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ และคณะ มีผลต่อความเข้าใจโรคมาลาเรียรุนแรงและไม่รุนแรงมากขึ้น ตลอดจนมีผลต่อการรักษาและการควบคุมการระบาดของมาลาเรียทั่วโลกและประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถลดอัตราป่วยและเสียชีวิตจากมาลาเรียลงได้มาก เป็นคุณูปการแก่วงการวิทยาศาสตร์การแพทย์และสาธารณสุขของโลกและของประเทศไทยอย่างยิ่ง

Confirmed malaria cases and deaths (FY 2010–July 2015)



*ข้อมูลจากองค์การอนามัยโลกระบุว่า ในปี พ.ศ. 2533 (ค.ศ. 1992) ก่อนที่จะมีการศึกษา ACT ครั้งแรกของโลกในปี พ.ศ. 2535 (Lancet 1992;339:821-4) พบผู้ป่วยมาลาเรียทั่วโลกประมาณ 285 ล้านคน และเสียชีวิตประมาณ 1-2 ล้านคน 10; จากนั้นในปี พ.ศ. 2549 (ค.ศ. 2006) องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้ ACT ทั่วโลก; ในปี พ.ศ. 2555 (ค.ศ. 2012) พบผู้ป่วยมาลาเรียทั่วโลกลดลงเหลือประมาณ 198 ล้านคน และเสียชีวิตประมาณ 584,000 คน⁽¹⁾

จำนวนผู้ป่วยมาลาเรียและผู้ป่วยมาลาเรียที่เสียชีวิตในประเทศไทยลดลงมากนับตั้งแต่มีการนำ artemisinin combination therapy (ACT) มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียในประเทศไทย (M1 = ผู้ป่วยมาลาเรียและเป็นต่างชาติที่อยู่ในประเทศไทยตั้งแต่ 6 เดือนขึ้นไป; M2 = ผู้ป่วยมาลาเรียและเป็นต่างชาติที่อยู่ในประเทศไทยน้อยกว่า 6 เดือน)

ข้อมูลจาก : สำนักควบคุมโรคติดต่อฯ โดยแมลง กระทรวงสาธารณสุข (BVBD)

2. หนังสือวิชาการ การรักษาผู้ป่วยมาลาเรียในประเทศไทย

ศาสตราจารย์ นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ ได้รับเชิญจากราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย ให้ร่วมนิพนธ์แนวทางเวชปฏิบัติในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย ในประเทศไทย พ.ศ. 2557 โดยนิพนธ์ร่วมกับสำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งหนังสือเล่มนี้สำหรับแพทย์และอายุรแพทย์ใช้ในการดูแลรักษาผู้ป่วยมาลาเรียทั่วประเทศ



3. ร่วมพัฒนารักษามาลาเรียรุนแรง

ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พลรัตน์ วิไลรัตน์ และนักวิจัยอื่นๆ จากคณะเวชศาสตร์เขตร้อน ได้รับการขอบคุณจาก WHO ในการวิจัยพัฒนายา rectal artesunate จนกระทั่ง United States Food and Drug Agency (USFDA) ยอมรับจดทะเบียนเป็นยาที่ใช้รักษาผู้ป่วยมาลาเรียที่ฉุกเฉินได้

4. ผลงานวิจัยและตีพิมพ์

มีผลงานวิจัยและบทความวิชาการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการและหนังสือวิชาการนานาชาติระหว่างปี ค.ศ. 1991-2017 ในชื่อ Polrat Wilairatana จากฐานข้อมูล Scopus จำนวน 187 เรื่อง มี h-index = 34; มีการอ้างอิง (Time cited) ตั้งแต่ ค.ศ. 1991-2017 = 3,947 ครั้ง (ณ วันที่ 15 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2560)

เอกสารอ้างอิง

1. Wilairatana P, Meddings JB, Ho M, Vannaphan S, Looareesuwan S. Increased gastrointestinal permeability in patients with *Plasmodium falciparum* malaria. Clin Infect Dis 1997; 24: 430-5.
2. WHO. Guidelines for the treatment of malaria. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2010.
3. Wilairatana P, Looareesuwan S, Charoenlarp P. Liver profile changes and complications in jaundiced patients with falciparum malaria. Trop Med Parasitol 1994; 45: 298-302.
4. WHO. Severe falciparum malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 2000; 94 (suppl 1): S1-90.
5. WHO. Guidelines for the treatment of malaria. Geneva: World Health Organization; 2006.
6. WHO. Management of severe malaria: a practical handbook. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2012.
7. WHO. Severe malaria. Trop Med Int Health 2014; 19 (suppl 1): 7-131.
8. Wilairatana P, Looareesuwan S, Vanijanonta S, Charoenlarp P, Wittayalertpunya S. Hepatic metabolism in severe falciparum malaria: caffeine clearance study. Ann Trop Med Parasitol 1994; 88: 13-9.
9. Looareesuwan S, Virvan C, Vanijanonta S, Wilairatana P, Suntharasamai P, Charoenlarp P, et al. Randomised trial of artesunate and mefloquine alone and in sequence for acute uncomplicated falciparum malaria. Lancet 1992; 339: 821-4.
10. Global health situation and projections estimates. Geneva: World Health Organization; 1992. Available at: <http://www.ciesin.org/docs/001-010/001-010c.html#fn16>.
11. WHO. World malaria report 2014. Geneva: World Health Organization; 2014. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/144852/2/9789241564830_eng.pdf
12. Tangpukdee N, Krudsood S, Srivilairit S, Phophak N, Chonsawat P, Yanpanich W, et al. Gametocyte clearance in uncomplicated and severe Plasmodium falciparum malaria after artesunate-mefloquine treatment in Thailand. Korean J Parasitol 2008; 46: 65-70.
13. WHO. Emergency response to artemisinin resistance in the Greater Mekong subregion: regional framework for action 2013-2015. Geneva: World Health Organization; 2013. p. 10.
14. ราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย, สำนักโรคติดต่ออันตราย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางเวชปฏิบัติในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียในประเทศไทย พ.ศ. 2557. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2557.

การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ยาเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด ด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

ภณิดา รัตนานุกูล และประชากร ผลสิน

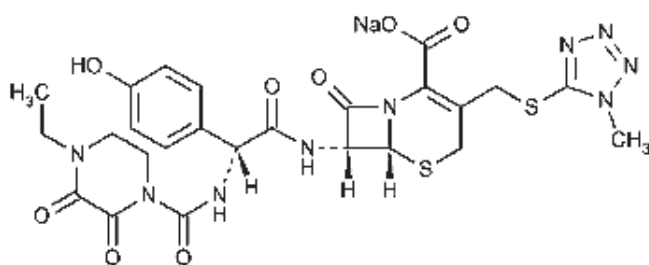
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง อุบลราชธานี 34000

บทคัดย่อ วิธีวิเคราะห์เซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีดพัฒนาขึ้นโดยวิธีรีเวอร์สเฟส โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ BDS Hypersil C18 สารละลายตัวพา คือ 0.005 M Tetrabutylammonium hydroxide pH 4.0 และ acetonitrile อัตราส่วน 72 : 28 อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีแสดงถึงความจำเพาะเจาะจง โดยสามารถแยกเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมออกจากสารละลายตัว กราฟมีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของเซโฟเพราโซน 0.0720 ถึง 0.2160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และซัลแบคแทม 0.0750 ถึง 0.2250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9999 และ 1.0000 การทดสอบความแม่นยำของวิธีมีค่าร้อยละของการกลับคืนเฉลี่ยเท่ากับ 99.4 และ 100.4 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.9 และ 0.4 การทดสอบความทนซ้ำได้และความเที่ยงของการวิเคราะห์มีค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.0 ถึง 1.0 วิธีวิเคราะห์มีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆ ของระบบโครมาโทกราฟีที่ทดสอบ ได้แก่ retention time, tailing factor และ theoretical plates ชีตจำกัดของการตรวจพบและชีตจำกัดของการหาเชิงปริมาณของเซโฟเพราโซนมีค่า 0.005 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และซัลแบคแทม 0.0025 และ 0.0075 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีแสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความเหมาะสม ในการนำไปใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ปริมาณเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด

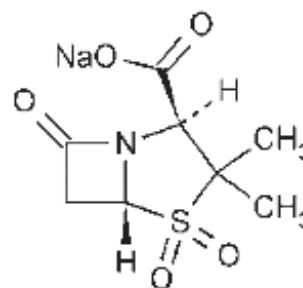
บทนำ

ยาสูตรผสมเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด (Cefoperazone and Sulbactam for injection) เป็นยาสูตรผสมระหว่าง เซฟเพอราโซน ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มเซฟาโรสปอริน (cephalosporins) รุ่นที่สาม (third-generation) ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยมีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายยา กลุ่มเพนิซิลลิน (penicillins) คือสามารถยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียในขั้นตอน traspeptidation ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายในการสร้างผนังเซลล์ ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีผนังเซลล์ที่ผิดปกติ ซึ่งไม่สามารถทนต่อแรงดันออสโมซิส เซลล์จะแตกสลายและแบคทีเรียตายในที่สุด เซฟเพอราโซนใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Staphylococci* sp. และ *Streptococci* sp. และแกรมลบหลายชนิด เช่น *Pseudomonas aeruginosa*⁽¹⁾ ส่วนซัลแบคแทม เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์บีต้า-แลคแทมเมส (β -lactamase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถทำลายยาปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นสาเหตุให้แบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด

เซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่นำมาเตรียมเป็นยาฉีดในรูปแบบผงยาผสมน้ำก่อนใช้นั้นเป็นเกลือโซเดียมที่ละลายน้ำได้ดี มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 1 และ 2⁽²⁾



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีเซฟเพอราโซน โซเดียม



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีซัลแบคแทม โซเดียม

จากคุณสมบัติสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหลายชนิดทำให้เซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมเป็นยาที่มีข้อบ่งใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อของทางเดินหายใจทั้งส่วนบนและส่วนล่าง โรคติดเชื้อของทางเดินปัสสาวะทั้งส่วนบนและส่วนล่าง อาการเยื่อหุ้มช่องท้องอักเสบ ถุงน้ำดีอักเสบ ท่อทางเดินน้ำดีอักเสบ และโรคติดเชื้ออื่นๆ ภายในช่องท้อง อาการติดเชื้อในกระแสโลหิต โรคติดเชื้อของผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน โรคติดเชื้อของกระดูกและข้อ อาการอักเสบภายในอุ้งเชิงกราน เยื่อบุมดลูกอักเสบ โรคหนองใน และโรคติดเชื้ออื่นๆ ของระบบสืบพันธุ์⁽¹⁾ จากคุณสมบัติในการรักษาการติดเชื้อที่ครอบคลุมหลายระบบในร่างกาย ทำให้มีการใช้ยาดังกล่าวอย่างกว้างขวาง เป็นทางเลือกของผู้ที่แพ้ยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นๆ และยังจัดเป็นยาในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2556 บัญชี ซึ่งใช้สำหรับการติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection) จากแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะการติดเชื้อ *Acinetobacter* sp.⁽³⁾

ปัจจุบันมี เซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด ที่ขึ้นทะเบียนตำรับยาในประเทศไทย 24 ตำรับ จำแนกเป็นผลิตในประเทศ 9 ตำรับ และนำเข้าจากต่างประเทศ 15 ตำรับ เซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด 1 กรัม ประกอบด้วย เซฟเพอราโซน 500 มิลลิกรัม และซัลแบคแทม 500 มิลลิกรัม และขนาดเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด 1.5 กรัม ประกอบด้วย เซฟเพอราโซน 1,000 มิลลิกรัม และซัลแบคแทม 500 มิลลิกรัม⁽⁴⁾

การวิเคราะห์หาปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีดยังไม่มีวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทั้งในตำรายาของสหรัฐอเมริกา (USP) ตำรายาของยุโรป (Ph. Eur.) และตำรายาของสหราชอาณาจักร (BP) ซึ่งในตำรายาของสหรัฐอเมริกาและตำรายาของสหราชอาณาจักรพบเพียงการตรวจวิเคราะห์วัตถุบ่งชี้ของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ในการตรวจวิเคราะห์ยาเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีดตามโครงการ

สร้างหลักประกันคุณภาพและมาตรฐานบริการด้านยาปีงบประมาณ 2557 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ทำการตรวจวิเคราะห์ตามทะเบียนตำรับยา ซึ่งใช้สารเคมี และวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ต่างกัน ทำให้ใช้เวลาและสิ้นเปลืองสารเคมีมาก ผู้วิจัยจึงทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้เทคนิครีเวอร์สเฟสโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (reversed phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC) โดยพัฒนาจากงานวิจัยของ Sreenivasulu และ Rani⁽⁵⁾ เรื่อง Validated RP-HPLC method for simultaneous estimation of sulbactam and cefoperazone in bulk and pharmaceutical dosage form งานวิจัยดังกล่าวใช้สภาวะของโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง ดังนี้ คอลัมน์ phenomenex C18 ขนาด 4.6×150 มิลลิเมตร บรรจุนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร สารละลายตัวพาคือบัฟเฟอร์ pH 6.6 กับ acetonitrile ในอัตราส่วน 70 : 30 อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร พบพีคของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่ retention time เท่ากับ 9.32 และ 5.33 ตามลำดับ run time เท่ากับ 20 นาที ซึ่งสภาวะดังกล่าวใช้เวลานาน และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นตามหลักเกณฑ์ของตำรายา USP⁽⁶⁾ และ ICH Guideline⁽⁷⁾ โดยศึกษาความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี ความจำเพาะเจาะจงของวิธีความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ ความแม่นยำ ความเที่ยง ความคงสภาพของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง ความทนของวิธี ชีตจำกัดของการตรวจพบและชีตจำกัดเชิงปริมาณ เพื่อลดเวลาในการตรวจวิเคราะห์ และใช้เป็นวิธีมาตรฐานของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้เทคนิครีเวอร์สเฟสโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (reversed phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC) เลือกใช้คอลัมน์ชนิด BDS Hypersil C18 ขนาด 4.6×100 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 3 ไมโครเมตร สารละลายตัวพาประกอบด้วยส่วนผสมของสารละลาย 0.005 M Tetrabutylammonium hydroxide pH 4.0 และ acetonitrile ในอัตราส่วน 72 : 28 โดยปริมาตร อัตราการไหลของตัวพา 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพยาเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค ให้ผู้บริโภคได้ใช้ยาที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดรักษาโรค

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ผลิตภัณฑ์ของ Agilent สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี
2. เครื่องชั่ง : Sartorius ED224S ผลิตภัณฑ์ของ Sartorius สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี
3. Ultrasonic bath : 175DAE ผลิตภัณฑ์ของ Crest Ultrasonics สหรัฐอเมริกา
4. คอลัมน์ : Hypersil BDS C18 ขนาด 4.6×100 มิลลิเมตร บรรจุนุภาคขนาด 3 ไมโครเมตร ผลิตภัณฑ์ของ Thermo Scientific
5. pH meter : Metrohm 702 SM Titrino ผลิตภัณฑ์ของ Metrohm Herisae สวิตเซอร์แลนด์

สารเคมี

Acetonitrile, HPLC grade ผลิตภัณฑ์ของ Merck; Tetrabutylammonium hydroxide 40%, HPLC grade ผลิตภัณฑ์ของ Fluka; Phosphoric acid, AR grade ผลิตภัณฑ์ของ Merck; น้ำ HPLC quality

สารมาตรฐาน

1. USP Cefoperazone Dihydrate Reference Standard CAT. No. 1623670 Lot No. IOK056
2. USP Sulbactam Reference Standard CAT. No. 1097705 Lot No. JOJ117

ตัวอย่าง

ตัวอย่างยาเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด ประกอบด้วยผงยาเซฟเพอราโซน 500 มิลลิกรัม และซัลแบคแทม 500 มิลลิกรัมต่อ 1 ขวดยาฉีด

การเตรียมสารละลายตัวพา (Mobile phase)

เตรียมสารละลาย 0.005 M tetrabutylammonium hydroxide โดยเจือจางสารละลาย tetrabutylammonium hydroxide (40%) 3.3 ml ด้วยน้ำ 900 ml ปรับ pH เท่ากับ 4.0 ± 0.1 ด้วย phosphoric acid ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ครบ 1,000 ml จากนั้นผสม 0.005 M tetrabutylammonium hydroxide pH 4.0 กับ acetonitrile ในอัตราส่วน 72 : 28 โดยปริมาตรและกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐานเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม 15 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายตัวพา กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ละลายผงตัวอย่างยาในขวดบรรจุยาฉีดด้วยสารละลายตัวพา ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายตัวพา จากนั้นปิเปตสารละลายนี้มา 3 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายตัวพา จะมีความเข้มข้นของ เซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม เท่ากับ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร (ใช้ทันที)

สภาวะของระบบโครมาโทกราฟี (HPLC)

HPLC column	: Hypersil BDS C18 ขนาด 4.6×100 บรรจุนุภาคขนาด 3 ไมโครเมตร
Mobile phase	: 0.005 M Tetrabutylammonium hydroxide pH 4.0 : acetonitrile = 72:28
Flow rate	: 1.0 ml/minute
Detector	: UV 230 nm
Injection volume	: 10 μ l

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

1. การทดสอบความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี (Chromatographic system suitability)

เตรียมสารละลายมาตรฐานเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในสารละลายตัวพาให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานนี้ 1.5 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ 3 M hydrochloric acid 0.2 มิลลิลิตร ต้มในน้ำ 80 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยสารละลายตัวพาแล้วกรองผ่านแผ่นกรอง 0.22 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตรวจสอบพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น %RSD, retention time, theoretical plate, tailing factor และ resolution ซึ่งคำนวณตามวิธีของ USP⁽⁶⁾ จากโปรแกรมอัตโนมัติของเครื่อง HPLC ฉีดซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อแสดงความเหมาะสมของระบบที่ใช้

2. การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

เตรียมสารละลายตัวอย่างเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในสารละลายตัวพาให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายตัวอย่างนี้ 1.5 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร นำมา

ทำให้สลายตัวในสภาวะต่าง ๆ ปรับปริมาตรด้วยสารละลายตัวพาแล้วกรองผ่านแผ่นกรอง 0.22 ไมโครเมตร สภาวะต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดการสลายตัว

1. ทำให้ร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
2. เติมสารละลาย 35% hydrogen peroxide จำนวน 1 หยด แล้วนำไปทำให้ร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
3. เติมสารละลาย 3M hydrochloric acid จำนวน 1 หยด แล้วนำไปทำให้ร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
4. เติมสารละลาย 3M sodium hydroxide จำนวน 1 หยด แล้วนำไปทำให้ร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
5. นำไปผึ่งแดด นาน 6 ชั่วโมง

วิเคราะห์สารละลายตัวอย่างที่ทำให้เกิดการสลายตัวที่สภาวะต่าง ๆ ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อศึกษาการรบกวนจากสารละลายตัวพา คำนวณร้อยละของสารละลายตัวพาโดยเปรียบเทียบค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายตัวอย่างเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมที่สภาวะปกติ

3. การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

ชั่งสารมาตรฐานเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทม 25.5 และ 25.1 มิลลิกรัม (%purity ของสารมาตรฐานเซโฟเพราโซนเท่ากับ 94.7 และของสารมาตรฐานซัลแบคแทมเท่ากับ 99.7) ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายตัวพา จะมีความเข้มข้นของเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมเท่ากับ 0.48 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเจือจางสารละลายดังกล่าวให้มีความเข้มข้นเป็นร้อยละ 50, 75, 100, 125 และ 150 ของระดับความเข้มข้นที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ จะมีความเข้มข้นของเซโฟเพราโซนเท่ากับ 0.0720, 0.1075, 0.1449, 0.1787 และ 0.2160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจะมีความเข้มข้นของซัลแบคแทมเท่ากับ 0.0750, 0.1120, 0.1500, 0.1850 และ 0.2250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรองสารละลายผ่านแผ่นกรอง 0.22 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีดความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีค คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) ซึ่งต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.995⁽⁷⁾

4. การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

ทดสอบความแม่นยำของวิธีโดยการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทม (spiked sample solution) ที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.075, 0.1125, 0.150, 0.1875 และ 0.2250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นร้อยละ 50, 75, 100, 125 และ 150 ของระดับความเข้มข้นที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมในตัวอย่างตามลำดับ โดยทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมทั้งหมดที่มีในสารละลายเพื่อคำนวณค่าร้อยละของการกลับคืน (%recovery) ที่แต่ละระดับความเข้มข้น และค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative standard deviation, %RSD) ของการกลับคืนทุกความเข้มข้น โดยที่ค่าเฉลี่ยร้อยละของการคืนกลับต้องอยู่ในช่วง 98.0 - 102.0 และค่า %RSD ไม่เกิน 2.0⁽⁷⁾

สร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมที่เติม และปริมาณที่ตรวจพบ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) กำหนดให้ค่า r ไม่ต่ำกว่า 0.995⁽⁷⁾

5. การทดสอบความเที่ยง (Precision)

5.1 ความทนซ้ำได้ (Repeatability)

5.1.1 ความเที่ยงของระบบ (System precision)

ฉีดสารละลายมาตรฐานเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 3 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างฉีดซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณ %RSD ของพื้นที่ใต้พีคเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ค่า %RSD ไม่เกิน 2.0⁽⁷⁾

5.1.2 ความเที่ยงของวิธี (Method precision)

ฉีด Spiked sample solution ที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 3 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างฉีดซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณ %RSD ของพื้นที่ใต้พีคเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ค่า %RSD ไม่เกิน 2.0⁽⁷⁾

5.2 ความเที่ยงของการเปลี่ยนสภาวะ (Intermediate Precision)

วิเคราะห์ปริมาณตัวอย่างสำคัญในตัวอย่างยาเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด จำนวน 6 ขั้ว โดยทดสอบต่างวัน เป็นเวลา 2 วัน เปลี่ยนนักวิเคราะห์ จำนวน 2 คน และเปลี่ยนเครื่อง HPLC จำนวน 2 เครื่อง คำนวณปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ค่าเฉลี่ย และ %RSD โดยค่า %RSD ไม่เกิน 2.0⁽⁷⁾

6. ความคงสภาพของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง

ฉีดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทุกๆ 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงติดต่อกัน คำนวณปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม เปรียบเทียบกับปริมาณที่ 0 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณที่ 0 ชั่วโมง เป็น 100% ปริมาณที่พบในเวลาต่างๆ ควรไม่น้อยกว่า 95% เพื่อดูความคงสภาพของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างในระหว่างทำการทดสอบ

7. การทดสอบความทนของวิธี (Robustness)

7.1 ความคงสภาพของคอลัมน์

ในระหว่างการศึกษาทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ให้ตรวจสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์ โดยทำการบันทึกค่า theoretical plates ในวันที่เริ่มต้น และในระหว่างการศึกษาจนจบการทดลอง นับจำนวนครั้งที่ฉีดสารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่างในการทดสอบทั้งหมด ค่า theoretical plates ควรมีค่ามากกว่า 2,000 (ต่อความยาวคอลัมน์)⁽⁸⁾

7.2 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาวะของระบบ HPLC

ศึกษาผลกระทบต่อการวิเคราะห์ยาจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่างๆ ของระบบโครมาโทกราฟี คือ คอลัมน์ สัดส่วนของสารละลายตัวพา ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายบัฟเฟอร์ในสารละลายตัวพา และอัตราการไหลของสารละลายตัวพา (Flow rate) โดยวิเคราะห์ปริมาณตัวอย่างสำคัญในตัวอย่างยาเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม จำนวน 3 ขั้ว ศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆ ที่อาจมีผลกระทบต่อความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี เช่น ลักษณะรูปร่างพีค (ค่า tailing factor ไม่เกิน 2.0) retention time และ theoretical plates พร้อมทั้งคำนวณปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม เปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้โดยคำนวณค่า %RSD ต้องไม่เกิน 2.0

8. ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Detection Limit) และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Quantitation Limit) ของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม

คำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม โดยคำนวณจาก slope และ intercept ของกราฟมาตรฐาน⁽⁷⁾

ผล

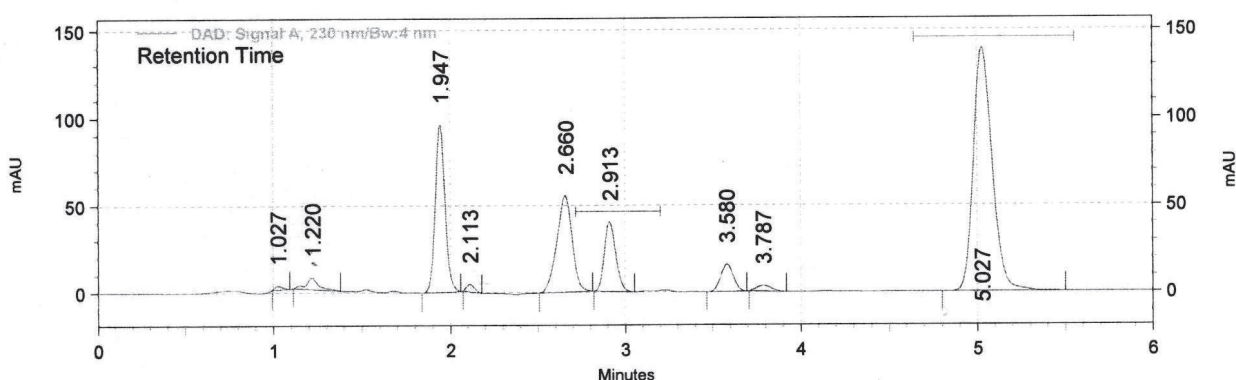
1. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์

จากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้เทคนิครีเวอร์สเฟสโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (reversed phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC) โดยเลือกใช้คอลัมน์ชนิด BDS Hypersil C18 ขนาด 4.6×100 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 3 ไมโครเมตร สารละลายตัวพาประกอบด้วยส่วนผสม

ของสารละลาย 0.005 M Tetrabutylammonium hydroxide pH 4.0 และ acetonitrile ในอัตราส่วน 72:28 โดยปริมาตร อัตราการไหลของตัวพา 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร พบพีคของเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมที่ retention time เท่ากับ 5.0 และ 2.9 ตามลำดับ run time เท่ากับ 10 นาที

2. การทดสอบความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี (Chromatographic system suitability)

จากการฉีดสารละลายสำหรับตรวจสอบความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี ได้ค่า retention time ของสารที่ออกมาเรียงตามลำดับดังนี้ เซโฟเพราโซน เท่ากับ 5.0 ซัลแบคแทม เท่ากับ 2.9 สารละลายตัวพีคที่ 1 เท่ากับ 1.0 สารละลายตัวพีคที่ 2 เท่ากับ 1.2 สารละลายตัวพีคที่ 3 เท่ากับ 1.9 สารละลายตัวพีคที่ 4 เท่ากับ 2.1 สารละลายตัวพีคที่ 5 เท่ากับ 2.6 สารละลายตัวพีคที่ 6 เท่ากับ 3.5 และสารละลายตัวพีคที่ 7 เท่ากับ 3.7 (ภาพที่ 3 และตารางที่ 1)



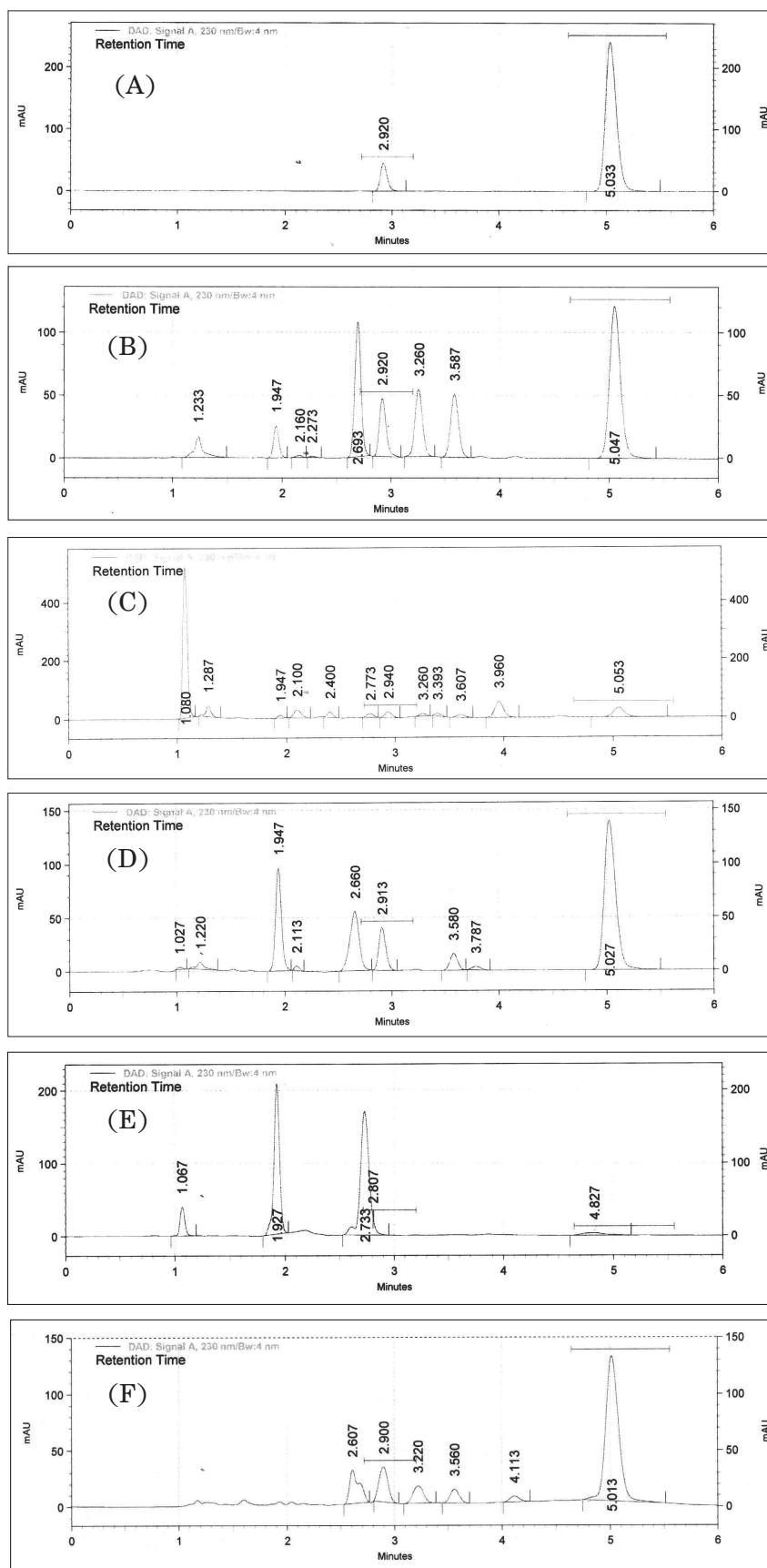
ภาพที่ 3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมในสภาวะกรด Tailing factor ของทุกพีคประมาณ 0.9 ถึง 1.4 Theoretical plate ของเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมเท่ากับ 10723 และ 9108 ตามลำดับ %RSD ของการฉีดซ้ำ 3 ครั้ง ของเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมเท่ากับ 0.2 และ 0.1 ตามลำดับ สารละลายตัวพีคที่ Relative retention time เท่ากับ 0.51 และ 0.75 มีค่า resolution เท่ากับ 1.8 และ 7.1 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่า tailing factor, theoretical plate, resolution ของสารละลายสำหรับตรวจสอบความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟี

	พีค 1	พีค 2	พีค 3	พีค 4	พีค 5	ซัลแบคแทม	พีค 6	พีค 7	เซโฟเพราโซน
Retention time	1.0	1.2	1.9	2.1	2.6	2.9	3.5	3.7	5.0
Tailing factor	1.3	1.1	1.0	1.1	0.9	1.1	1.0	1.1	1.2
Theoretical plate	1,500	2,442	6,058	9,899	4,230	9,108	11,142	9,418	10,723
Resolution					1.8		7.1		

3. การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

จากการฉีดสารละลายตัวอย่างเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมที่ทำให้เกิดการสลายตัวที่สภาวะต่างๆ เปรียบเทียบกับสารละลายตัวอย่างเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทมที่สภาวะปกติ พบว่าสามารถแยกสารละลายตัวจากสภาวะต่างๆ ออกจากพีคของเซโฟเพราโซนและซัลแบคแทม (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 โครมาโตแกรมของสารละลายตัวอย่างเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม (A) และสารละลายตัวอย่างเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่ทำให้เกิดการสลายตัวที่สภาวะต่างๆ คือ ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง (B), สภาวะออกซิเดชันที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง (C), สภาวะกรดที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง (D), สภาวะเบสที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง (E) และสภาวะที่ถูกแสงแดดนาน 6 ชั่วโมง (F)

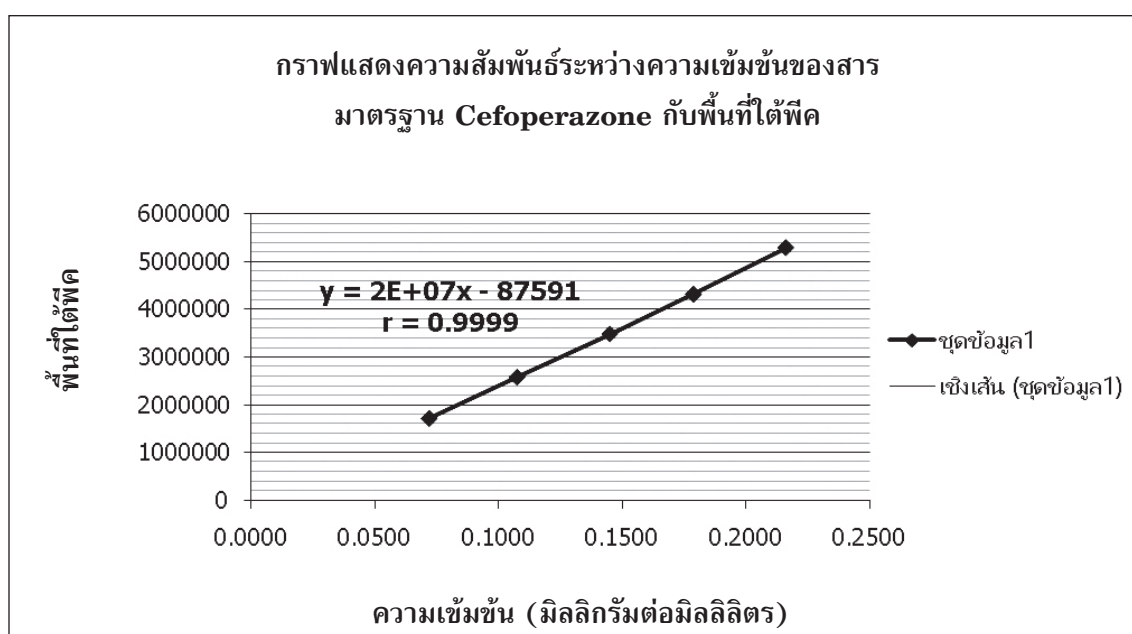
เซฟเพอราโซนเกิดการสลายตัวจากความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส ในสภาวะออกซิเดชัน ในสภาวะกรด ในสภาวะด่างที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง และเร่งด้วยแสงแดด โดยมีการสลายตัวคิดเป็นร้อยละเท่ากับ 51.1, 86.7, 40.7, 97.2 และ 39.7 ตามลำดับ และตรวจพบสารสลายตัวที่เวลาต่างๆ ส่วนซัลแบคแทมมีความทนต่อความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส โดยไม่พบการสลายตัว แต่พบการสลายตัวจากสภาวะออกซิเดชัน ในสภาวะกรด ในสภาวะเบสที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง และเร่งด้วยแสงแดด โดยมีการสลายตัวคิดเป็นร้อยละเท่ากับ 57.5, 9.1, 100.0, และ 8.3 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สภาวะที่ศึกษาการสลายตัวของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมและสารสลายตัวที่พบ

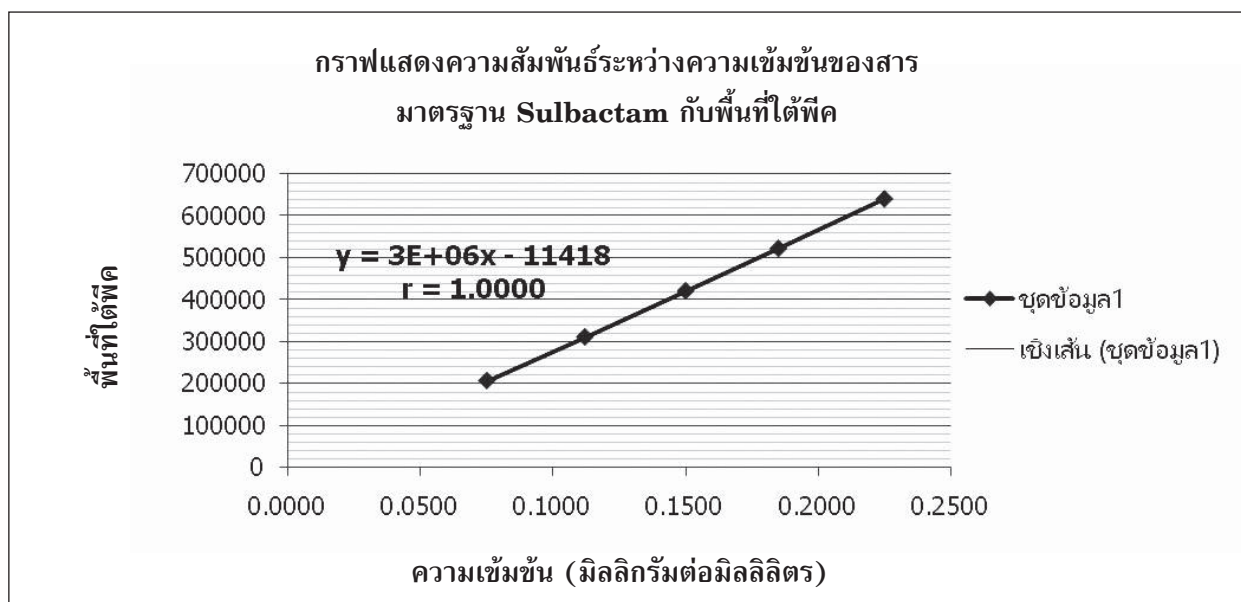
สภาวะที่ทำให้เกิดการสลายตัว	%การสลายตัว		Retention time ของสารสลายตัว (นาที)
	เซฟเพอราโซน	ซัลแบคแทม	
80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง	51.1	0.0	1.2, 1.9, 2.1, 2.2, 2.7, 3.2, 3.5
ออกซิเดชันที่ 80 องศาเซลเซียส	86.7	57.5	1.0, 1.2, 1.9, 2.1, 2.4, 2.7, 3.2, 3.3, 3.6, 3.9
กรดที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง	40.7	9.1	1.0, 1.2, 1.9, 2.1, 2.6, 3.5, 3.7
เบสที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง	97.2	100.0	1.0, 1.9, 2.7
แสงแดด นาน 6 ชั่วโมง	39.7	8.3	2.6, 3.2, 3.5, 4.1

4. การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

จากการนิตสารละลายมาตรฐานเซฟเพอราโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 5 ระดับ ตั้งแต่ 0.0720 ถึง 0.2160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และซัลแบคแทมที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 5 ระดับ ตั้งแต่ 0.0750 ถึง 0.2250 พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม กับพื้นที่ใต้พีคมีลักษณะเป็นเส้นตรง ตลอดช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9999 และ 1.0000 ตามลำดับ ภาพที่ 5, 6

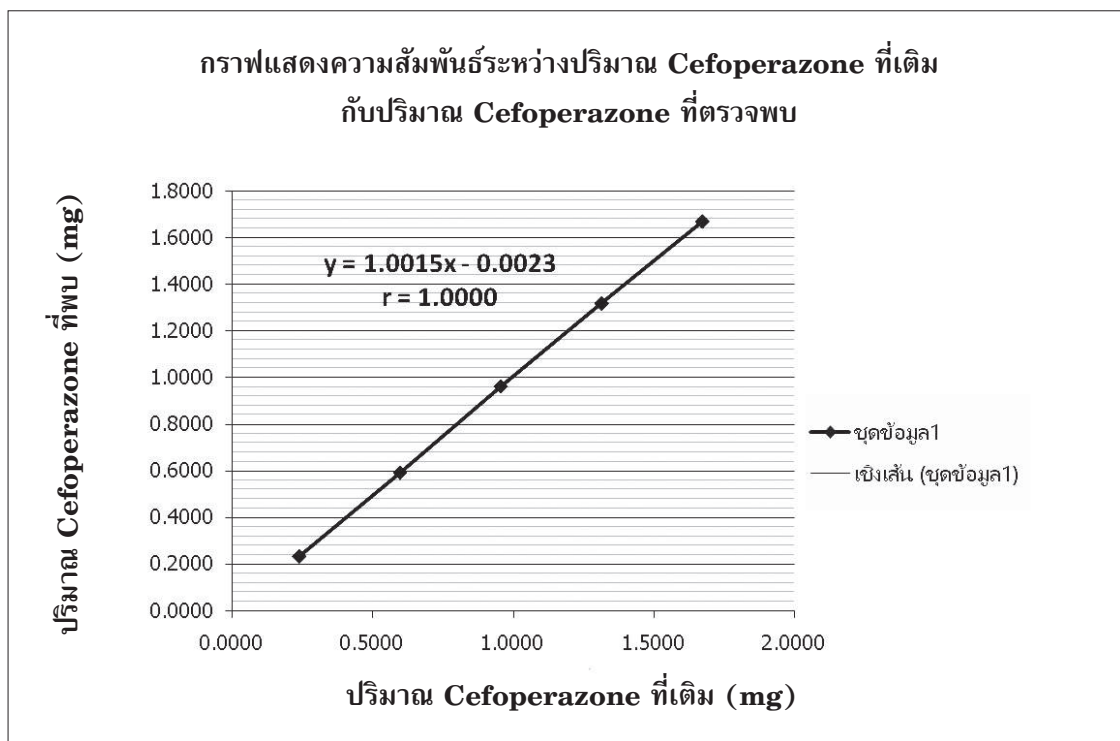


ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเซฟเพอราโซนกับพื้นที่ใต้พีค

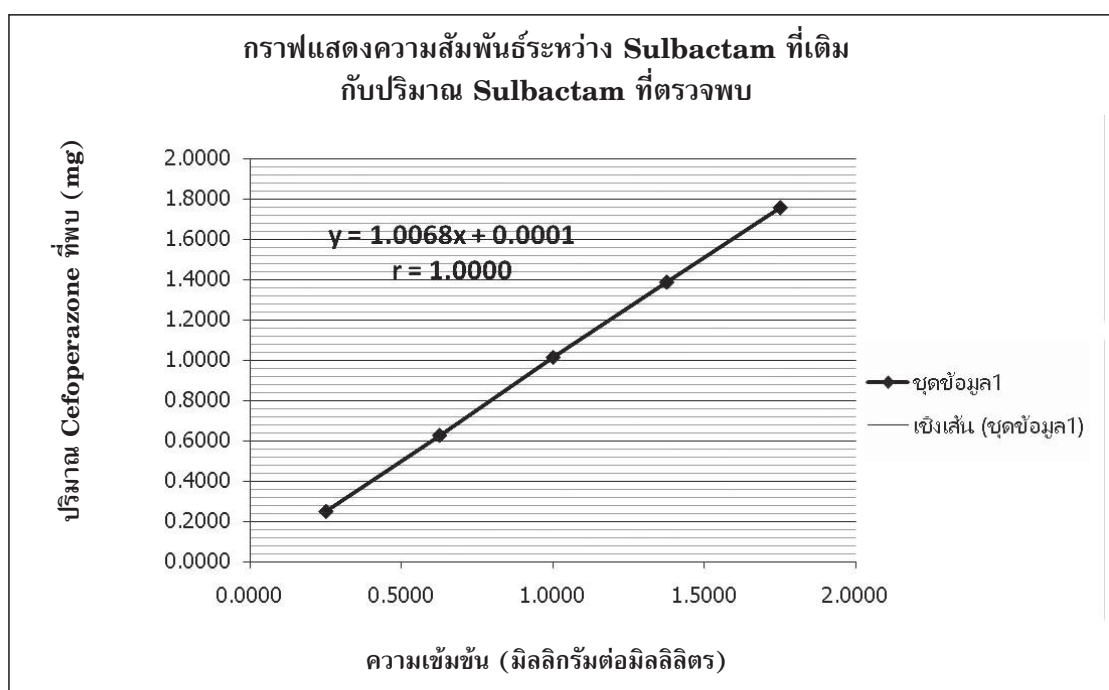


ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซัลแบคแทมกับพื้นที่ใต้พีค

จากการฉีด Spiked sample solution ที่ความเข้มข้น 0.075, 0.1125, 0.150, 0.1875 และ 0.2250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซฟเพอราโซนที่เติมกับปริมาณที่ตรวจพบมีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 1.0000 และความสัมพันธ์ระหว่างซัลแบคแทมที่เติมกับปริมาณที่ตรวจพบ มีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 1.0000 ภาพที่ 7, 8



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซฟเพอราโซนที่เติมกับปริมาณที่ตรวจพบ



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซัลแบคแทมที่เติมกับปริมาณที่ตรวจพบ

5. การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

จากการฉีด Spiked sample solution ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละของการกลับคืน (percent recovery) ของเซฟเพอราโซนเท่ากับ 98.2, 99.3, 100.7, 100.2 และ 99.7 ตามลำดับและซัลแบคแทมเท่ากับ 99.8, 100.3, 101.4, 100.9 และ 100.4 ตามลำดับ ค่าร้อยละของการกลับคืนในทุกระดับความเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ในช่วงร้อยละ 98.0 – 102.0 และ %RSD ไม่เกิน 2.0 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

สารที่เติม	ปริมาณสาร ที่เติม (มก) (n = 3)	ปริมาณสาร ที่ตรวจพบ (มก) (n = 3)	ร้อยละของ การกลับคืน (n = 3)	%RSD
เซฟเพอราโซน	0.2390	0.2347	98.2	0.9
	0.5975	0.5934	99.3	0.9
	0.9461	0.9627	100.7*	0.5
	1.3146	1.3172	100.2	0.3
	1.6731	1.6681	99.7	0.4
ซัลแบคแทม	0.2500	0.2495	99.8	0.7
	0.6250	0.6269	100.3	1.1
	1.0000	1.0140	101.4*	0.6
	1.3750	1.3874	100.9	0.3
	1.7500	1.7570	100.4	0.5

*ระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

6. การทดสอบความเที่ยง (Precision)

6.1 ความทวนซ้ำได้ (Repeatability)

6.1.1 ความเที่ยงของระบบ (System precision)

จากการฉีดสารละลายมาตรฐานเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ซึ่งมีความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 3 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างฉีดซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีค และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ได้ %RSD (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความเที่ยงของระบบ (System precision)

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค					
	เซฟเพอราโซน			ซัลแบคแทม		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
1	3560145	3572567	3552636	405334	409373	407873
2	3560379	3573202	3554431	406854	408824	407820
3	3555056	3572290	3551340	406510	408936	406359
4	3554835	3571747	3549946	406250	409221	407431
5	3551937	3572791	3550651	406777	409310	407714
6	3546660	3571554	3547075	405933	409097	407336
Mean	3554835	3572359	3551013	406276	409127	407422
%RSD	0.1	0.02	0.1	0.1	0.1	0.1

6.1.2 ความเที่ยงของวิธี (Method precision)

จากการฉีดสารละลาย Spiked sample solution ที่ระดับความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 3 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างฉีดซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีค และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ได้ %RSD (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความเที่ยงของวิธี (Method precision)

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค					
	เซฟเพอราโซน			ซัลแบคแทม		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
1	3669233	3672520	3684478	419434	419446	421709
2	3673481	3667040	3693652	419656	418725	423134
3	3668017	3672994	3687643	419342	420459	421989
4	3662478	3666379	3681380	418401	417921	421948
5	3662794	3668423	3682648	418571	419291	421178
6	3664838	3664734	3679548	418829	418939	421283
Mean	3666807	3668682	3684892	419039	419130	421874
%RSD	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2

6.2 ความเที่ยงของการเปลี่ยนสภาวะ (Intermediate Precision)

จากการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง วันละ 6 ตัวอย่าง ทำการทดสอบ 2 วัน โดยใช้นักวิเคราะห์ 2 คน และเครื่องมือ 2 เครื่อง คำนวณร้อยละของปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมเทียบกับสารมาตรฐาน และ %RSD ของแต่ละวัน พบว่า %RSD ของการทดสอบภายในวันเท่ากับ 0.4 และ 0.2 และ %RSD ของการทดสอบระหว่างวัน เท่ากับ 0.3 ซึ่งไม่เกิน 2.0 (ตารางที่ 6 และ 7)

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความเที่ยงของการเปลี่ยนสภาวะ Intermediate Precision ของเซฟเพอราโซน

รายการที่ทดสอบ		ปริมาณของ Cefoperazone (% labeled amount)						Intermediate Precision			
		1	2	3	4	5	6	เฉลี่ย	%RSD	เฉลี่ย	%RSD
ระหว่างวัน	วันที่ 1	95.6	94.8	95.4	95.2	94.6	94.7	95.1	0.4	94.7	0.5
	วันที่ 2	94.3	94.1	94.4	94.6	94.3	94.0	94.3	0.2		
ระหว่างนักวิเคราะห์	คนที่ 1	95.6	94.8	95.4	95.2	94.6	94.7	95.1	0.4	95.9	1.0
	คนที่ 2	96.7	96.8	97.3	96.9	96.4	96.4	96.8	0.4		
ระหว่างเครื่องมือ	HPLC1	95.6	94.8	95.4	95.2	94.6	94.7	95.1	0.4	94.9	0.4
	HPLC2	94.3	94.6	94.8	94.9	94.8	94.7	94.7	0.2		

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความเที่ยงของการเปลี่ยนสภาวะ Intermediate Precision ของซัลแบคแทม

รายการที่ทดสอบ		ปริมาณของ Cefoperazone (% labeled amount)						Intermediate Precision			
		1	2	3	4	5	6	เฉลี่ย	%RSD	เฉลี่ย	%RSD
ระหว่างวัน	วันที่ 1	101.9	101.4	102.1	101.9	100.9	101.6	101.6	0.4	101.1	0.7
	วันที่ 2	100.5	100.2	100.6	101.0	100.6	100.3	100.5	0.3		
ระหว่างนักวิเคราะห์	คนที่ 1	101.9	101.4	102.1	101.9	100.9	101.6	101.6	0.4	101.7	0.4
	คนที่ 2	101.6	101.8	102.4	102.0	101.4	101.3	101.8	0.4		
ระหว่างเครื่องมือ	HPLC1	101.9	101.4	102.1	101.9	100.9	101.6	101.6	0.4	101.5	0.5
	HPLC2	100.4	101.0	101.8	101.8	101.4	101.3	101.3	0.5		

7. การทดสอบความคงสภาพของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง

จากการฉีดสารละลายมาตรฐานสารละลายตัวอย่างเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่ความเข้มข้น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทุก ๆ 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงติดต่อกัน พบว่าสารละลายมีความคงสภาพในระหว่างทดสอบ ได้ 24 ชั่วโมง โดยสารละลายมาตรฐานมีปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ร้อยละ 97.5 และ 99.7 ตามลำดับ และสารละลายตัวอย่างมีปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ร้อยละ 96.8 และ 100.0 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ ปริมาณที่จุดเริ่มต้น

8. การทดสอบความทนของวิธีวิเคราะห์ (Robustness)

8.1 ความคงสภาพของคอลัมน์

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์ Hypersil BDS C18 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้โดย บันทึกค่า theoretical plates ของพีคเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม เมื่อเริ่มต้นใช้เท่ากับ 11644 และ 9936 ตามลำดับ หลังจากจบการทดสอบ พบว่าฉีดสารละลายต่างๆ ประมาณ 500 ครั้ง ค่า theoretical plates เท่ากับ 10810 และ 9138 ตามลำดับ

8.2 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาวะของระบบ HPLC

จากการทดลองเปลี่ยนสภาวะต่างๆ ของระบบโครมาโทกราฟี เพื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น retention time, tailing factor และ theoretical plates รวมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ในตัวอย่างยานี้ด เพื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ จากผลการทดสอบพบว่า สภาวะต่างๆ ของระบบโครมาโทกราฟีที่มีการเปลี่ยนแปลง ยังคงให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่มีค่า %RSD ไม่เกิน 2.0 และค่า theoretical plates มีค่ามากกว่า 2,000 tailing factor ไม่เกิน 1.3 (ตารางที่ 8 และ 9)

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบความทนของวิธีวิเคราะห์ (Robustness) ของเซฟเพอราโซน

สภาวะของระบบโครมาโทกราฟี		Retention time	Theoretical plates	Tailing factor	ปริมาณของ Cefoperazone (% labeled amount)			เฉลี่ย	%RSD
					1	2	3		
HPLC column	No. 1	5.1	8869	0.9	96.3	96.8	97.1	96.7	0.4
	No. 2*	5.0	11181	1.2	96.2	96.7	96.9	96.6	0.4
	No. 3	4.9	11735	1.2	96.1	96.8	97.0	96.6	0.5
สัดส่วนของตัวพา	70/30	4.0	10774	1.2	97.7	97.2	97.0	97.3	0.4
	72/28*	5.0	11233	1.2	97.6	96.9	96.5	97.0	0.6
	75/25	8.1	11886	1.2	97.7	97.2	97	97.3	0.4
pH ของ buffer	3.9	5.0	11382	1.1	97.4	97.1	96.9	97.1	0.3
	4.0*	5.0	11233	1.2	97.6	96.9	96.5	97.0	0.6
	4.1	5	11288	1.2	97.4	96.9	96.7	97.0	0.4
Flow rate	0.9	5.6	11908	1.2	97.8	97.0	97.1	97.3	0.4
	1.0*	5.0	11233	1.2	97.6	96.9	96.5	97.0	0.6
	1.1	4.6	10815	1.2	97.6	97.3	97.1	97.3	0.3

*สภาวะของระบบโครมาโทกราฟีที่ทำการตรวจสอบความถูกต้อง

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบความทนของวิธีวิเคราะห์ (Robustness) ของซัลแบคแทม

สภาวะของระบบโครมาโทกราฟี		Retention time	Theoretical plates	Tailing factor	ปริมาณของ Cefoperazone (% labeled amount)			เฉลี่ย	%RSD
					1	2	3		
HPLC column	No. 1	2.9	7292	0.9	101.1	101.3	101.3	101.2	0.1
	No. 2*	2.9	9918	1.1	100.6	101.3	101.5	101.1	0.5
	No. 3	2.8	9682	1.2	101.1	102.1	102.2	101.8	0.6
สัดส่วนของตัวพา	70/30	2.6	9579	1.1	98.1	97.8	97.7	97.9	0.2
	72/28*	2.9	9921	1.1	99.3	99.4	99.3	99.3	0.1
	75/25	3.6	10724	1.3	99.5	99.2	99.1	99.3	0.2
pH ของ buffer	3.9	2.9	9893	1.1	99.1	99.0	99.0	99.0	0.1
	4.0*	2.9	9921	1.1	99.3	99.4	99.3	99.3	0.1
	4.1	2.9	9963	1.2	99.8	99.3	99.1	99.4	0.4
Flow rate	0.9	3.2	10620	1.2	100.0	99.1	99.4	99.5	0.5
	1.0*	2.9	9921	1.1	99.3	99.4	99.3	99.3	0.1
	1.1	2.6	9200	1.2	99.9	99.7	99.8	99.8	0.1

*สภาวะของระบบโครมาโทกราฟีที่ทำการตรวจสอบความถูกต้อง

9. ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Detection Limit) และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Quantitation Limit) ของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม

เมื่อคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของเซฟเพอราโซนพบว่ามีความ 0.005 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของซัลแบคแทมพบว่ามีความ 0.0025 และ 0.0075 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ คำนวณได้จากค่า slope และ Y-intercept ของสมการเส้นตรงจากผลในข้อ 3

วิจารณ์

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด (Cefoperazone and Sulbactam for injection) เป็นยาที่ยังไม่มีวิธีมาตรฐานในตำรายาเล่มใด ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพยาต้องการตรวจวิเคราะห์ตามทะเบียนตำรับยา ซึ่งแต่ละทะเบียนมีการใช้คอลัมน์ สารเคมี และวิธีในการตรวจวิเคราะห์ที่ต่างกันทำให้ต้องเตรียมอุปกรณ์และสารเคมีหลากหลายชนิด และต้องใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน จากงานวิจัยของ Sreenivasulu E and Rani GT เรื่อง Validated RP-HPLC method for simultaneous estimation of sulbactam and cefoperazone in bulk and pharmaceutical dosage form งานวิจัยดังกล่าวใช้สภาวะของโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง ดังนี้ คอลัมน์ phenomenex C18 ขนาด 4.6×150 mm บรรจุอนุภาค ขนาด 5 ไมโครเมตร สารละลายตัวพา คือ บัฟเฟอร์ pH 6.6 กับ acetonitrile ในอัตราส่วน 70 : 30 อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร พบพีคของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่ retention time เท่ากับ 9.32 และ 5.33 ตามลำดับ run time เท่ากับ 20 นาที (10) ซึ่งสภาวะดังกล่าวใช้เวลานาน วิธีที่พัฒนาขึ้นโดยใช้วิธีรีเวอร์สเฟสไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์ชนิด BDS Hypersil C18 ขนาด 4.6×100 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 3 ไมโครเมตร สารละลายตัวพาประกอบด้วยส่วนผสมของสารละลาย 0.005 M Tetrabutylammonium hydroxide pH 4.0 และ acetonitrile ในอัตราส่วน 72 : 28 โดยปริมาตร อัตราการไหลของตัวพา 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร พบพีคของเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมที่ retention time เท่ากับ 5.0 และ 2.9 ตามลำดับ run time เท่ากับ 10 นาที ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่า

ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี พบว่าวิธีวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทม ไม่พบการรบกวนของสารละลายตัวที่เกิดขึ้นจากสภาวะต่างๆ ที่ทำให้เกิดการสลายตัว

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการทดสอบ โดยศึกษาสารละลายมาตรฐานที่ 5 ระดับความเข้มข้น พบว่าช่วงของความเป็นเส้นตรงของเซฟเพอราโซนอยู่ระหว่างความเข้มข้นในช่วง 0.0720 ถึง 0.2160 และช่วงของความเป็นเส้นตรงของซัลแบคแทมอยู่ระหว่างความเข้มข้นในช่วง 0.0750 ถึง 0.2250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9999 และ 1.0000 ตามลำดับ

การทดสอบความแม่นยำของวิธี ทำการทดสอบที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0.075, 0.1125, 0.150, 0.1875 และ 0.2250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าค่าร้อยละของการกลับคืนของเซฟเพอราโซนอยู่ในช่วง 98.2 – 100.7 และค่าร้อยละของการกลับคืนของซัลแบคแทมอยู่ในช่วง 99.8 – 101.4 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้คือ ร้อยละ 98.0 – 102.0 และค่า %RSD ไม่มากกว่า 2.0 แสดงถึงวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำ

การทดสอบความเที่ยง พบว่ามีการทวนซ้ำได้ มีความเที่ยงจากการเปลี่ยนวันวิเคราะห์ เครื่องมือและนักวิเคราะห์ ผลการทดสอบได้ค่า %RSD อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือไม่มากกว่า 2.0 แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถทวนซ้ำได้และมีความเที่ยง

การทดสอบความคงสภาพของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง พบว่ามีความคงสภาพนาน 24 ชั่วโมง การทดสอบความคงทนของวิธีพบว่าการเปลี่ยนคอลัมน์ สัดส่วน ความเป็นกรด-ด่างและอัตราการไหลของสารละลายตัวพา ไม่มีผลกระทบต่อระบบ ซึ่งพิจารณาจากประสิทธิภาพของการแยก (theoretical plates) และรูปร่าง

ของพีค (tailing factor มีค่าไม่เกิน 2.0) และจากผลการวิเคราะห์ปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีดในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ได้ผลการทดสอบที่มีค่า %RSD ไม่เกิน 2.0 เป็นการยืนยันว่าเมื่อสภาวะของระบบโครมาโทกราฟีมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยจะไม่กระทบต่อผลวิเคราะห์ แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความทนต่อสภาวะที่เปลี่ยนแปลง

การตรวจสอบขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของเซฟเพอราโซน มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.014 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และซัลแบคแทม พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.0025 และ 0.0075 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สรุป

วิธีวิเคราะห์เซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีด ด้วย HPLC ที่พัฒนาขึ้นนี้ สามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณเซฟเพอราโซนและซัลแบคแทมในรูปแบบยาฉีดได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ มีความจำเพาะเจาะจงต่อตัวยาสำคัญ และใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์น้อย สามารถนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพยาเพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับโรคยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาและปลอดภัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางศุภวรรณ เกตุอินทร์ และนางสาวจริยา สุขผล ที่กรุณาให้คำปรึกษา และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ทุกคน ที่ให้การดำเนินงานสำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ยุพิน สวรรินทะ, สุภีนันท์ อัญเชิญ, พยงค์ วณิกเกียรติ, นพมาศ วงศ์วิทย์เดชา, บรรณาธิการ. เกสซ์วิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2543. หน้า 459-469.
2. Trivedi HK, Kshetri N, Patel MC. A Rapid, validated RP-HPLC method for the simultaneous determination of cleaning validation and cross-contamination of 12 beta-lactam compounds. Sci Pharm 2013; 81: 151-65.
3. ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2556. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130 ตอนพิเศษ 126 ง (ลงวันที่ 30 กันยายน 2556).
4. งานบริการข้อมูลผลิตภัณฑ์สุขภาพผ่านอินเทอร์เน็ต. ผลิตภัณฑ์ยา. [ออนไลน์]. 2557 [สืบค้น 29 ธ.ค. 2557]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://fdaolap.fda.moph.go.th/logistics/drgdrug/Dserch.asp>.
5. Sreenivasulu E, Rani GT. Validated RP-HPLC method for simultaneous estimation of sulbactam and cefoperazone in bulk and pharmaceutical dosage form. Int J Curr Res Chem Pharma Sci 2014; 1(10): 60-7.
6. United States Pharmacopeia National Formulary (USP/NF). 36th ed. Validation of compendial procedures <1225>. Rockville, MD: The United States Pharmacopeia Convention; 2013. p. 983.
7. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). ICH Steering Committee; Nov 2005.
8. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Reviewer guidance: validation of chromatographic methods. Rockville, MD: FDA; Nov 1994.

Development and Validation of Analytical Method for the Assay of Cefoperazone and Sulbactam for Injection by High Performance Liquid Chromatography

Panida Rattananukul and Prachaporn Polsin

Regional Medical Science Center 10th, Department of Medical Sciences, Amphoe Mueang, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

ABSTRACT The analytical method for Cefoperazone and Sulbactam for injection was developed using a reversed-phase high performance liquid chromatography. The stationary phase was Hypersil BDS C18 Column while the optimum mobile phase was 0.005 M Tetrabutylammonium hydroxide pH4.0 and acetonitrile (72:28), with a flow rate of 1.0 ml/min. and the detector wavelength at 230 nm. Method validation data showed a good specificity by separation of Cefoperazone and Sulbactam from the unknown degradation products. The linearity was found at the range of Cefoperazone concentrations between 0.0720 to 0.2160 mg/ml and 0.0750 to 0.2250 mg/ml of Sulbactam concentrations, with the correlation coefficient of 0.9999 and 1.0000 respectively. Mean percentage recoveries of Cefoperazone and Sulbactam were 99.4 (%RSD = 0.9) and 100.4 (%RSD = 0.4) respectively. The repeatability and precision varied from 0.0 to 1.0 %RSD. The method was rugged and robust to the variations of HPLC system tested including retention time, tailing factor and theoretical plates. The detection limit and the quantitation limit for Cefoperazone were 0.005 and 0.014 mg/ml and for Sulbactam were 0.0025 and 0.0075 mg/ml. The developed method is therefore suitable for assay of Cefoperazone and Sulbactam for injection.

Keywords: Cefoperazone and sulbactam for injection, method validation, reversed-phase high performance liquid chromatography

การศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐาน เมทแอมเฟตามีน

วลัยลักษณ์ เมธำภัทร และเอกณรงค์ อินทรชัย

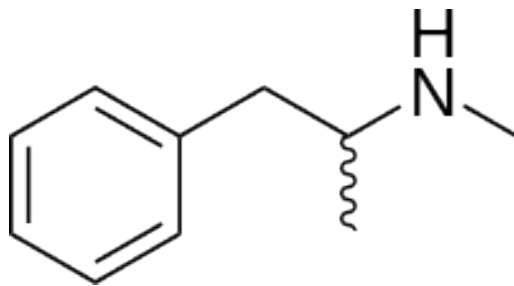
สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ : เมทแอมเฟตามีน เป็นยาเสพติดที่เป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย ซึ่งแพร่ระบาดและมีความรุนแรงของปัญหาอย่างต่อเนื่อง มาตรการหนึ่งในการควบคุมดูแลปัญหาเสพติด คือ การตรวจจับ และตรวจพิสูจน์ยาเสพติดของกลาง เพื่อดำเนินการตามกฎหมาย การตรวจพิสูจน์จำเป็นต้องใช้สารมาตรฐานซึ่งจัดหายาก และมีราคาแพง ดังนั้น เพื่อให้สามารถระบุถึงระยะเวลาการใช้งานของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมขึ้นใช้ในห้องปฏิบัติการ จึงศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลางยาเสพติด โดยการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในของกลางยาบ้าด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ในระยะเวลา 128 วัน ระหว่างการใช้สารละลายมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น ประมาณ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในคลอโรฟอร์ม และเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส กับการใช้สารละลายมาตรฐานที่เตรียมใหม่ทุกครั้งในการวิเคราะห์ จากการตรวจวิเคราะห์พบว่าความแตกต่างของร้อยละโดยน้ำหนักของปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลางจากการใช้สารละลายมาตรฐาน 2 แบบ อยู่ในช่วง 0.11 - 1.96 ดังนั้น จึงสามารถระบุได้ว่าสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมในคลอโรฟอร์มสามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนได้ 128 วัน ทั้งนี้การศึกษาถึงความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน และสารเสพติดชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ถือว่าเป็นการสนับสนุนแนวทางการแก้ไขปัญหาเสพติด และดำเนินการทางอรรถคดีให้ได้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า และมีประสิทธิภาพสูงสุด



บทนำ

ประเทศไทยประสบกับปัญหาเสพติดทั้งในด้านการเป็นพื้นที่ผลิต พื้นที่การค้ำ พื้นที่แพร่ระบาด และการเป็นเส้นทางผ่านของยาเสพติด โดยมียาเสพติดหลัก คือ ยาบ้า ไอซ์ กัญชา เฮโรอีน สารระเหย โคเคน เอ็กซ์ตาซี และวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทบางชนิด ดังนั้น ยาเสพติดจึงเป็นปัญหาสำคัญของประเทศ มีการแพร่ระบาดและมีความรุนแรงของปัญหายังต่อเนื่อง มาตรการหนึ่งในการควบคุมดูแลปัญหาเสพติดของประเทศ คือ การตรวจจับและตรวจพิสูจน์ยาเสพติดของกลางดังกล่าวเพื่อการดำเนินการตามกฎหมาย สำนักยาและวัตถุเสพติด เป็นหนึ่งในสถานตรวจพิสูจน์ตามคำสั่งคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติดที่ 3/2533 เรื่องกำหนดสถานตรวจพิสูจน์ ระเบียบสำนักนายกรัฐมนตรีว่าด้วยการจัดยึดและตรวจพิสูจน์ยาเสพติด พ.ศ. 2537⁽¹⁾ ซึ่งมีหน้าที่ในการตรวจพิสูจน์ตัวอย่างของกลางที่จับยึดได้ ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยเฉพาะยาเสพติดให้โทษประเภท 1 เช่น เมทแอมเฟตามีน (ภาพที่ 1) เฮโรอีน ส่วนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทประเภท 1 เช่น คีตามีน ซึ่งบทกำหนดโทษของการมีไว้ครอบครองของสิ่งผิดกฎหมายเหล่านี้จะแตกต่างกันไป ขึ้นกับชนิด และปริมาณยาเสพติดที่ตรวจพบในของกลางยาเสพติดที่จับยึดได้⁽²⁻³⁾



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเมทแอมเฟตามีน

ยาเสพติดที่มีสถิติของการจับกุม จับยึดของกลาง และส่งมาตรวจหาปริมาณสูงสุด ได้แก่ เมทแอมเฟตามีน รองลงมา คือ เฮโรอีน และ 3, 4-เมทิลลีนไดออกซีเมทแอมเฟตามีน ส่วนวัตถุออกฤทธิ์⁴ คือ คีตามีน ดังนั้น สารมาตรฐานของยาเสพติดเหล่านี้จะมีปริมาณการใช้สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน ซึ่งมีปริมาณการใช้มากกว่าสารมาตรฐานยาเสพติดชนิดอื่นๆ เนื่องจากในช่วงปี 2550 - 2554 สำนักยาและวัตถุเสพติดได้รับตัวอย่างยาบ้า และไอซ์ ซึ่งต้องตรวจหาปริมาณของเมทแอมเฟตามีน ในของกลางที่จับยึดได้ และส่งมาตรวจวิเคราะห์ที่สำนักยาและวัตถุเสพติด รวมประมาณ 8,000 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 30 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ได้รับ⁽⁴⁾ ในการตรวจวิเคราะห์ยาเสพติด หรือวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ทั้งการตรวจเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณต้องทำการตรวจสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของสารชนิดนั้นๆ โดยเฉพาะการตรวจสอบปริมาณยาเสพติด หรือวัตถุออกฤทธิ์⁴ ต้องมีการใช้สารมาตรฐานที่ทราบค่าและมีการคำนวณเปรียบเทียบเป็นปริมาณในของกลางที่ส่งตรวจ หรือจับยึดได้ ซึ่งสารมาตรฐานยาเสพติด หรือวัตถุออกฤทธิ์⁴ ที่จะนำมาใช้ต้องเป็นสารมาตรฐานที่มีใบรับรองตามระบบคุณภาพ ซึ่งจะมีความยุ่งยากซับซ้อนในขั้นตอนของการจัดซื้อ หรือการมีไว้ในครอบครองซึ่งสารมาตรฐานดังกล่าว เนื่องจากต้องมีการขออนุญาตกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และสารมาตรฐานดังกล่าวมีราคาแพง ดังนั้น การใช้สารมาตรฐานยาเสพติด และวัตถุออกฤทธิ์⁴ จึงต้องดำเนินการอย่างคุ้มค่า มีประสิทธิภาพ และมีประสิทธิภาพสูงสุด

ในการตรวจวิเคราะห์ซึ่งจำเป็นต้องใช้สารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนปริมาณมาก การเตรียมสารมาตรฐานให้อยู่ในรูปแบบของสารละลาย เก็บไว้ในสภาวะ และภาชนะที่เหมาะสม โดยเก็บไว้ในตู้เย็นที่ 2-8 องศาเซลเซียส ในภาชนะแก้วปิดสนิท เพื่อให้สารละลายมาตรฐานมีความคงทน สลายตัวน้อยที่สุด นับเป็นวิธีการหนึ่งที่ห้องปฏิบัติการใช้

ซึ่งช่วยให้สามารถลดปริมาณการใช้สารมาตรฐานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถเก็บสารละลายมาตรฐานไว้ใช้ได้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง แทนการเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

สำหรับสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่มีจำหน่ายจะเตรียมในตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และกำหนดอายุการใช้งานไว้ที่ 42 เดือน ถ้าเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส⁽⁵⁾ นอกจากนี้จากการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าสารละลายมาตรฐานสารเสพติดชนิดต่างๆ ในตัวทำละลายอินทรีย์⁽⁶⁻⁹⁾ เช่น เมทานอล คลอโรฟอร์ม หรือในตัวอย่างชีววัตถุ⁽¹⁰⁻¹⁶⁾ เช่น เลือด ซีรัม ปัสสาวะ มีความคงตัวค่อนข้างสูง และสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ เช่น ที่ 4 หรือ 20 องศาเซลเซียสได้นานเป็นระยะเวลา ต่างๆ กันไป ตั้งแต่กว่า 1 สัปดาห์ จนถึงหลายเดือน

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีของห้องปฏิบัติการของกลุ่มวัตถุเสพติด สำนักยาและวัตถุเสพติด จะเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในคลอโรฟอร์ม เก็บไว้ในตู้เย็นที่ 2-8 องศาเซลเซียส และใช้งานภายในเวลา 2 เดือน ดังนั้น เพื่อให้มั่นใจว่าสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในสภาวะที่เตรียมขึ้นใช้ในห้องปฏิบัติการมีความเหมาะสมในช่วงระยะเวลาการใช้งานตามที่กำหนดไว้ ในปี 2556 จึงได้ศึกษาถึงอายุการใช้งานที่ถูกต้อง เหมาะสมของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน เพื่อให้การใช้สารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนเป็นไปอย่างคุ้มค่า และมีประสิทธิภาพสูงสุดในการดำเนินการทางอรรถคดีต่อไป

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องชั่ง Mettler Toledo XP5003SDR
- เครื่องชั่ง Mettler Toledo XP205DR
- Gas Chromatograph Shimadzu model 2010 plus, FID detector

สารมาตรฐานและสารเคมี

เมทแอมเฟตามีน ไฮโดรคลอไรด์ (DMSc Reference Standard) Control No. 04A54164 (100.08% as is)

แคฟเฟอีน (DMSc Reference Standard) Control No. 04A54043 (99.58% as is)

คลอโรฟอร์ม AR grade

Anhydrous sodium sulfate AR grade

10% โซเดียมไฮดรอกไซด์

ตารางที่ 1 สภาวะของเครื่อง Gas Chromatograph ในการตรวจวิเคราะห์

Instrument	GC Shimadzu 2010
Column	Capillary; DB-5, length 30 m., ID 0.25 mm., film thickness 0.25 mm.
Detector temperature	250 °C
Injector temperature	200 °C
Flow rate	2.44 ml/min
Carrier gas	Helium
Oven temperature program	100 °C for 2 min, 100-240 °C at 20 °C/min, 240 °C for 2 min
Detector	Flame Ionization Detector

ตัวอย่าง

ของกลางยาบ้า เลขที่ตัวอย่าง 2255-206190 จำนวน 1 ตัวอย่าง ลักษณะเป็นเม็ดกลมแบนสีส้ม ด้านหนึ่งเรียบ อีกด้านมีอักษร “M” (ซึ่งทราบข้อมูลเบื้องต้นของปริมาณเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีนในตัวอย่างของกลางแล้ว)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน ไฮโดรคลอไรด์ 20.116 มิลลิกรัม และแคฟเฟอีน 49.880 มิลลิกรัม ใส่ในกรวยแยกขนาด 60 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย และปรับให้เป็นด่าง (pH 8 - 9) ด้วย 10% โซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 4 ครั้ง ครั้งละ 12 มิลลิลิตร เก็บชั้นคลอโรฟอร์ม โดยกรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วยคลอโรฟอร์ม เก็บสารละลายมาตรฐานในตู้เย็นที่ 2-8 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง บดตัวอย่างของกลางยาบ้า เลขที่ตัวอย่าง 2255-206190 จำนวน 10 เม็ดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักผงยา ($n=2$) ประมาณ 80 มิลลิกรัม ใส่ในกรวยแยกขนาด 60 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร เขย่าผงยาให้กระจายตัว และปรับให้เป็นด่าง (pH 8 - 9) ด้วย 10% โซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 4 ครั้ง ครั้งละ 12 มิลลิลิตร เก็บชั้นคลอโรฟอร์มโดยกรองผ่าน anhydrous sodium sulfate ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วยคลอโรฟอร์ม เก็บในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปิดให้สนิทในตู้เย็นที่ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาความคงสภาพของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ตามมาตรฐานวิธีการตรวจหาปริมาณเมทแอมเฟตามีน ด้วยเทคนิค Gas chromatography ซึ่งเป็นวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีแล้วตาม SOP No. 2202010 ใช้สภาวะของการฉีดดังตารางที่ 1 ทำการตรวจวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง 2255-206190 เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมและเก็บไว้ในตู้เย็นที่ 2-8 องศาเซลเซียส ที่เวลา 0, 4, 21, 37, 51, 67, 93 และ 128 วัน เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมใหม่ ณ วันที่ทำการตรวจวิเคราะห์

การประเมินผล โดยการเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวิเคราะห์ได้ซึ่งคำนวณอยู่ในหน่วยของร้อยละโดยน้ำหนัก (%w/w) ระหว่างการใช้สารละลายของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมเก็บไว้กับการใช้สารละลายของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมใหม่ทุกครั้ง ที่ตรวจวิเคราะห์ ระยะเวลาที่สารละลายมาตรฐานทั้งสองตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลางแล้วได้ร้อยละโดยน้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 3 ถือว่าเป็นอายุการใช้งานของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้น และสามารถเก็บไว้ใช้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างได้⁽¹⁸⁾

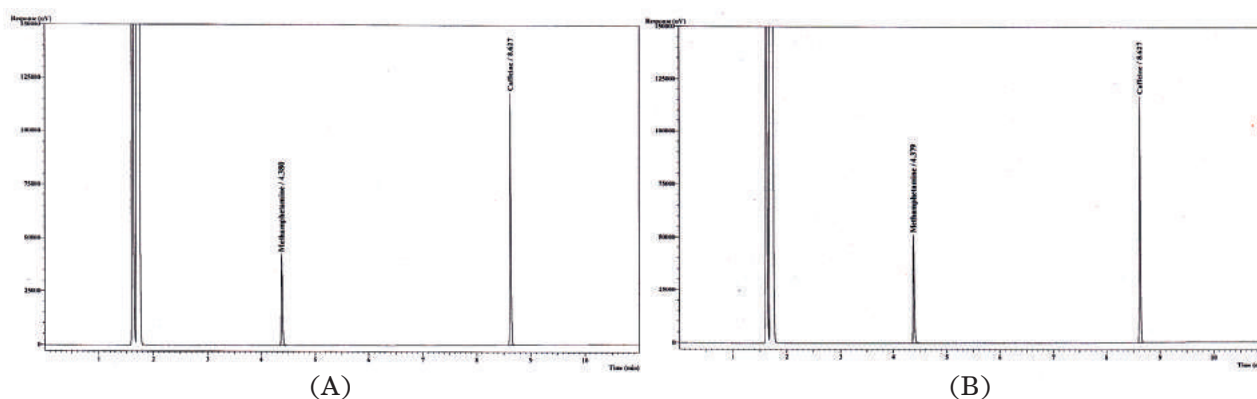
ข้อมูลการใช้สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีน

ข้อมูลจากการใช้สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมไว้สำหรับงานตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในของกลางยาบ้า และไอซ์ที่จับยึดได้โดยหน่วยงานในสังกัดสำนักงานตำรวจแห่งชาติ และส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการวัตถุเสพติด สำนักยาและวัตถุเสพติด ด้วยเทคนิค gas chromatography ตามมาตรฐานวิธีการตรวจหาปริมาณเมทแอมเฟตามีน ไฮโดรคลอไรด์ (SOP No. 2202010) แล้วเก็บไว้ในช่วงเวลาประมาณ 60 - 75 วัน จำนวน 25 รุ่นการเตรียม ซึ่งเตรียมโดยนักวิเคราะห์ของกลุ่มวัตถุเสพติด สำนักยาและวัตถุเสพติด จำนวน 5 คน ในช่วงปีงบประมาณ 2554 ถึง 2555 โดยการบันทึกค่าพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีนของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้น และเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส โดยคำนวณอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคของเมทแอมเฟตามีนกับพื้นที่ใต้พีคของแคฟเฟอีน และ %RSD ของการเตรียมสารละลายมาตรฐานแต่ละครั้งของนักวิเคราะห์แต่ละคน

การประเมินผล อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีนในสารละลายมาตรฐานที่เตรียม และเก็บไว้ในระยะเวลา 60 - 75 วัน ต้องมีค่า %RSD ไม่เกิน 3 จึงจะถือว่าเมทแอมเฟตามีนในสารละลายมาตรฐานนั้นให้ค่าสัญญาณที่ไม่แตกต่างกัน

ผล

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้า 1 ตัวอย่าง จำนวน 8 ครั้ง ในช่วงระยะเวลา 0 - 128 วัน เพื่อศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน พบว่าลักษณะโครมาโทแกรมของเมทแอมเฟตามีนในวันที่ 128 ของการเตรียมไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับวันแรกของการเตรียม (ภาพที่ 2) และปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจโดยใช้สารมาตรฐานในวันแรกที่เตรียม แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น และนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเป็นระยะๆ จนถึงวันที่ 128 อยู่ในช่วง 19.11 ถึง 19.34 %w/w โดยมีปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ต่างจากวันแรกที่เตรียมอยู่ในช่วง 0 - 0.016 %w/w และในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันนี้โดยใช้สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมใหม่ทุกครั้งทีวิเคราะห์ ในระยะเวลา 128 วัน พบว่าปริมาณเมทแอมเฟตามีน จะอยู่ในช่วง 18.66 ถึง 21.30 %w/w ซึ่งพบว่าปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ต่างจากวันแรกที่เตรียมอยู่ในช่วง 0.04 - 2.03 %w/w (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีนในสารละลายมาตรฐาน ณ วันที่ 0 (A) และวันที่ 128 (B)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลาง

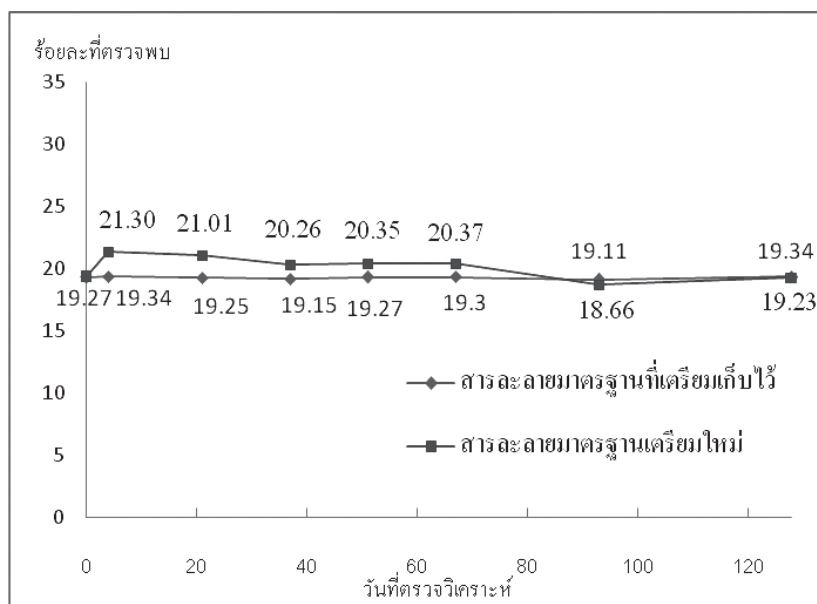
วันที่	ปริมาณของเมทแอมเฟตามีน			
	เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมเก็บไว้		เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมใหม่	
	ตรวจพบ (%w/w)	ปริมาณที่ต่างจากวันแรก (%w/w)	ตรวจพบ (%w/w)	ปริมาณที่ต่างจากวันแรก (%w/w)
0	19.27	-	19.27	-
4	19.34	0.07	21.30	2.03
21	19.25	-0.02	21.01	1.74
37	19.15	-0.12	20.26	0.99
51	19.27	0.00	20.35	1.08
67	19.30	0.03	20.37	1.10
93	19.11	-0.16	18.66	-0.61
128	19.34	0.07	19.23	-0.04

จากการเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่วิเคราะห์ได้ ระหว่างการใช้สารละลายของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมเก็บไว้ กับการใช้สารละลายของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ตรวจวิเคราะห์ ในช่วง 0 - 128 วัน ให้ผลแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0.11 - 1.96 %w/w (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3) ซึ่งแสดงถึงความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในช่วง 128 วัน ที่ทำการทดสอบ จึงสามารถกำหนดอายุการใช้งานของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในคลอโรฟอร์มได้เป็น 128 วัน

ตารางที่ 3 ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลางเมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมเก็บไว้ และสารละลายมาตรฐานที่เตรียมใหม่

วันที่	ปริมาณของเมทแอมเฟตามีน (%w/w)		
	A	B	A-B
0	19.27	19.27	0
4	19.34	21.30	1.96
21	19.25	21.01	1.76
37	19.15	20.26	1.11
51	19.27	20.35	1.08
67	19.30	20.37	1.07
93	19.11	18.66	0.45
128	19.34	19.23	0.11

หมายเหตุ : A = เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมเก็บไว้
B = เทียบกับสารละลายมาตรฐานที่เตรียมใหม่



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลางในช่วงระยะเวลา 128 วัน

ตารางที่ 4 อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีนของสารละลายมาตรฐานที่เตรียม และ %RSD

ครั้งที่ การเตรียม	อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีน (%RSD)				
	นักวิเคราะห์ คนที่ 1	นักวิเคราะห์ คนที่ 2	นักวิเคราะห์ คนที่ 3	นักวิเคราะห์ คนที่ 4	นักวิเคราะห์ คนที่ 5
1	0.8223 (1.00)	0.8064 (0.91)	0.7785 (2.36)	0.7993 (2.07)	0.8253 (0.18)
2	0.7986 (2.90)	0.7763 (0.75)	0.8402 (2.75)	0.7482 (1.61)	0.8300 (0.21)
3	0.8010 (1.62)	0.7735 (0.02)	0.8314 (2.02)	0.8050 (2.32)	0.7909 (2.25)
4	0.7599 (2.38)	0.7686 (1.29)	0.8213 (2.75)	0.7627 (2.19)	0.7624 (2.50)
5	0.7881 (1.77)	0.7796 (0.12)	0.7504 (2.28)	0.8027 (2.52)	0.8090 (0.14)

วิจารณ์

ในปี พ.ศ. 2550 กลุ่มวัตถุเสพติด สำนักยาและวัตถุเสพติด ได้เคยทำการศึกษาอายุการใช้งานของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในคลอโรฟอร์มที่ใช้สำหรับการตรวจหาปริมาณเมทแอมเฟตามีนในของกลาง และได้กำหนดอายุการใช้งานไว้ที่ 2 เดือน เนื่องจากหลังจากเก็บสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนไว้มากกว่า 60 วัน ทำให้ร้อยละโดยน้ำหนักของปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่วิเคราะห์ได้เปลี่ยนแปลงไปมากกว่า 3% โดยเป็นการเปลี่ยนแปลงในทางเพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะการเปิดและปิดภาชนะของตัวอย่างที่ทดสอบไม่เป็นระบบปิดที่ดีพอ ในการศึกษาครั้งนี้จึงเพิ่มความระมัดระวังในประเด็นการเปิด-ปิดภาชนะมากขึ้น และพบว่าสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมในคลอโรฟอร์มสามารถใช้เป็นสารละลายมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนได้ 128 วัน ซึ่งสอดคล้องกับสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในเมทานอลที่มีจำหน่ายอยู่⁽⁴⁾ และสนับสนุนการศึกษาต่างๆ ที่พบว่าสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในตัวทำละลายอินทรีย์ หรือในน้ำมีความคงตัวสูง ไม่พบการสลายตัวช่วงเวลา 128 วัน เช่นเดียวกับผลที่ได้จากการศึกษานี้ แต่เนื่องจากคลอโรฟอร์มระเหยได้ดีเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่นๆ เช่น น้ำ หรือเมทานอล มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานได้มากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นๆ การศึกษาเพื่อกำหนดอายุการใช้งานของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนนี้เป็นการศึกษาครั้งที่ 2 และเป็นการศึกษาสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในคลอโรฟอร์ม ไม่ได้เตรียมในเมทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ระเหยยากกว่า เนื่องจากวิธีที่ห้องปฏิบัติการใช้ในการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนเป็นเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี จะให้สัญญาณของเมทานอลมีขนาดใหญ่มาก และรบกวนผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ ดังนั้น หากทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่น ๆ อาจสามารถปรับตัวทำละลายที่ใช้ได้

จากการใช้งานในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์พบว่า สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จะสามารถแบ่งใส่ขวดสำหรับฉีดเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี เพื่อการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนได้ไม่มากกว่า 8 ครั้ง สารละลายมาตรฐานก็จะหมด เนื่องจากต้องมีการล้างขวดสำหรับฉีดที่บรรจุสารละลายมาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานดังกล่าวก่อนบรรจุจริงประมาณ 4-5 มิลลิลิตร ดังนั้น ในทางปฏิบัติจริง

สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนปริมาตร 50 มิลลิลิตร สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ได้ประมาณ 2 - 3 เดือนเท่านั้น เนื่องจากนักวิเคราะห์จะตรวจหาปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้า หรือไอซ์ จำนวน 3 - 4 ครั้งต่อเดือน จึงเป็นเหตุผลการกำหนดอายุการใช้งานของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนของห้องปฏิบัติการวัตถุเสพติด 2 กลุ่มวัตถุเสพติด ไว้ที่ 2 เดือน ซึ่งจะสอดคล้องกับการปฏิบัติงานจริงมากที่สุด ทั้งนี้หากต้องการวางแผนการเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนให้มีปริมาตรมากขึ้นเพื่อให้สามารถเก็บไว้ใช้ได้ยาวนานขึ้น ก็ต้องพิจารณาในเรื่องของข้อจำกัดของการระเหยได้ง่ายของตัวทำละลายด้วย

คำร้อยละโดยน้ำหนักของเมทแอมเฟตามีนจากการตรวจสอบตัวอย่างยาบ้าเมื่อใช้สารละลายมาตรฐานที่เตรียมแล้วเก็บไว้ (19.11 ถึง 19.34 เปอร์เซ็นต์) มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าการใช้สารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นใหม่ทุกครั้ง (18.66 ถึง 21.30 เปอร์เซ็นต์) แสดงให้เห็นว่าอาจมีปัจจัยจากขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งจะต้องมีขั้นตอนของการสกัด แต่อย่างไรก็ตามผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ก็ยังคงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

จากการเก็บข้อมูลการใช้สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน ในการตรวจวิเคราะห์จริงในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะช่วยให้เห็นถึงความผิดปกติของสารละลายที่เตรียมขึ้นได้ และเป็นเพียงข้อมูลการติดตามดูความสอดคล้องกับผลที่ทำการศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนเท่านั้น ไม่สามารถใช้เป็นข้อมูลทางสถิติในการกำหนดหรือตัดสินความคงตัวของสารละลายได้ โดยพิจารณาจากความคงที่ของค่าอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีน ในแต่ละครั้งที่ใช้งานของนักวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติงาน จำนวน 5 คน และเก็บข้อมูลจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน จำนวน 5 ครั้งของการเตรียม และในการเตรียมแต่ละครั้งจะมีการใช้สารละลายมาตรฐานนี้ประมาณ 5-8 ครั้ง ที่มีการนำเข้า-ออกจากตู้เย็นเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ จะพบว่าอัตราส่วนของพื้นที่ที่มีค่า %RSD ไม่เกิน 3.0 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความคงที่ของพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีน และแคฟเฟอีนที่ได้ของสารละลายมาตรฐาน

ทั้งนี้หากต้องการเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในปริมาตรที่มากกว่า 50 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในระยะเวลานานขึ้น ก็จำเป็นต้องทำการเก็บข้อมูลการใช้งานจริงเพิ่มเติมเพื่อศึกษาความคงตัว และความเหมาะสมในการใช้ใหม่ เนื่องจากจะมีจำนวนครั้งของการนำเข้า-ออกจากตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลต่อความคงตัวของสารละลายเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย รวมถึงหากมีการเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายจากคลอโรฟอร์มไปเป็นตัวทำละลายอื่น เช่น น้ำ บัฟเฟอร์ เมทานอล เอทานอล อะซิโตน ไตรโซล หรือไดคลอโรมีเทน ข้อมูลจากการศึกษานี้จะเป็นแนวทางเบื้องต้นที่สามารถนำไปวางแผนการศึกษาความคงตัวของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน และสารละลายมาตรฐานชนิดอื่นๆ ในการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้ต่อไป

สรุป

ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างของกลางยาเสพติด สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนความเข้มข้นประมาณ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในคลอโรฟอร์ม ในภาชนะบรรจุขนาด 50 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส มีจำนวนครั้งของการนำเข้า-ออกจากตู้เย็นไม่มากกว่า 8 ครั้ง สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนได้ระยะเวลา 128 วัน ทั้งนี้หากมีการเปลี่ยนแปลงปัจจัยเหล่านี้ต้องทำการศึกษาความคงตัวใหม่

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวัตถุเสพติด 2 กลุ่มวัตถุเสพติด สำนักยาและวัตถุเสพติด ที่ให้การสนับสนุนข้อมูล และให้ความร่วมมือในการศึกษาครั้งนี้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2539) เรื่อง ระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษ ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 113 ตอนพิเศษ 23 ง. (ลงวันที่ 16 สิงหาคม 2539).
2. ยาบ้า (Methamphetamine) [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 14 ม.ค. 2557]; [1 หน้า] เข้าถึงได้ที่ : URL: <http://www.unodc.org/southeastasiaandpacific/en/event/drugs/methamphetamine.html>
3. ระเบียบสำนักนายกรัฐมนตรีว่าด้วยการจับ ยึด และตรวจพิสูจน์ยาเสพติด พ.ศ. 2537. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนพิเศษ 33 ง. (ลงวันที่ 10 สิงหาคม 2537).
4. สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานประจำปี 2554 สำนักยาและวัตถุเสพติด. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2555.
5. SIGMA-ALDRICH Company. M-009 cerilliant + Methamphetamine solution: SDS [online]. [8 screens]. Available from: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/cerillian/m009?lang=en®ion=TH>.
6. Morris JA. Long-Term stability studies of liquid samples from clandestine methamphetamine laboratories. In: Midwest Forensics Resource Center. Research and development program summary. Ames, IA: Ames Laboratory; 2007. p. 34-35.
7. Avramides EJ. Long-term stability of pure standards and stock standard solutions for the determination of pesticide residues using gas chromatography. J Chromatogr A 2005; 1080: 166-76.
8. Tirumalai PS, Shakleya DM, Gannett PM, Callery PS, Bland TM, Tracy TS. Conversion of methamphetamine to N-Methyl-Methamphetamine in formalin solutions. J Anal Toxicol 2005; 29: 48-53.
9. Croubels S, De Baere S, De Backer P. Practical approach for the stability testing of veterinary drugs in solutions and in biological matrices during storage. Anal Chim Acta 2003; 483: 419-27.
10. Coulter C, Garnier M, Tuyay J, Moore C. Storage and transportation studies of amphetamine, methamphetamine, benzoylecgonine, phencyclidine, morphine, oxycodone, and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in the Quantisal TM collection device. SOFT, Orlando, 2013.
11. Karinen R, Oiestad EL, Andresen W, Smith-Kielland A, Christophersen A. Comparison of the stability of stock solutions of drug of abuse and other drugs stored in a freezer, refrigerator, and at ambient temperature for up to one year. J Anal Toxicol 2011; 35: 583-90.
12. Hughes R, Hughes A, Levine B, Smith ML. Stability of phencyclidine and amphetamines in urine specimens. Clin Chem 1991; 37: 2141-2.
13. Clauwaert KM, Van Bocxlaer JF, De Leenheer AP. Stability study of the designer drugs "MDA, MDMA and MDEA" in water, serum, whole blood, and urine under various storage temperatures. Forensic Sci Int 2001; 124: 36-42.
14. เกษศิริพันธ์พร กุลแก้ว. การตรวจเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดเฟลมไอออนไนเซชัน [วิทยานิพนธ์]. สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2553.
15. Drugs Testing Book. Stability of drugs of abuse in biological fluids. [online]. [cited 2014 Jan 14]; [2 screens]. Available from: URL: <http://drugstestingbook.com/stability-of-drugs-of-abuse-in-biological-fluids>.
16. Jimenez C, de la Torre R, Ventura M, Segura J, Ventura R. Stability studies of amphetamine and ephedrine derivatives in urine. J Chromatogr B 2006; 843: 84-93.
17. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Clark's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 4th ed. London-Chicago: Pharmaceutical Press; 2011. p.1639-1644.
18. Nowatzke W, Woolf E. Best practice during bioanalytical method validation for the characterization of the assay reagents and the evaluation of analyte stability in assay standards, quality controls,

Stability Study for Methamphetamine Standard Solutions

Waliluk Matapatara and Eknarong Inthachai

Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000 Thailand.

ABSTRACT Methamphetamine is a major drugs problem in the country. The spread of this drug and severity of the problem is continuing. One approach to control and reduce the spread of the drug is arrest and analysis of drug for further legal action. The analysis of drugs requires standard substance which is expensive and difficult supply. The aim of this study is to establish the shelf life of the methamphetamine standard solution prepared in BDN laboratory. The stability of methamphetamine standard solution was investigated by using a routine gas chromatographic technique, The quantitative detection of methamphetamine for illicit sample was performed in the duration of 128 days. Both methamphetamine standard solutions with the concentration about 0.4 milligrams per milliliter chloroform prepared and stored at 2-8 degree centigrade and the freshly prepared methamphetamine standard solution, were used for determination of methamphetamine content of illicit sample. At the end of the study periods, the percentage by weight different of two methamphetamine standard solution used was in the range of 0.11 – 1.96. This result showed that the expiry date of the methamphetamine standard solution was 128 days without any remarkable degradation. Therefore, all of illicit standard solutions should be studied for their expiry date to support the analysis of drug for the illicit drug control and legal action.

Key words: Stability study, Methamphetamine standard solution, Shelf-life.

การพัฒนาและทดสอบความถูกต้อง ของวิธีตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ยา กลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาคดี

ประสิทธิ์ โอภาส และสุภาณี ดวงธีรปรีชา

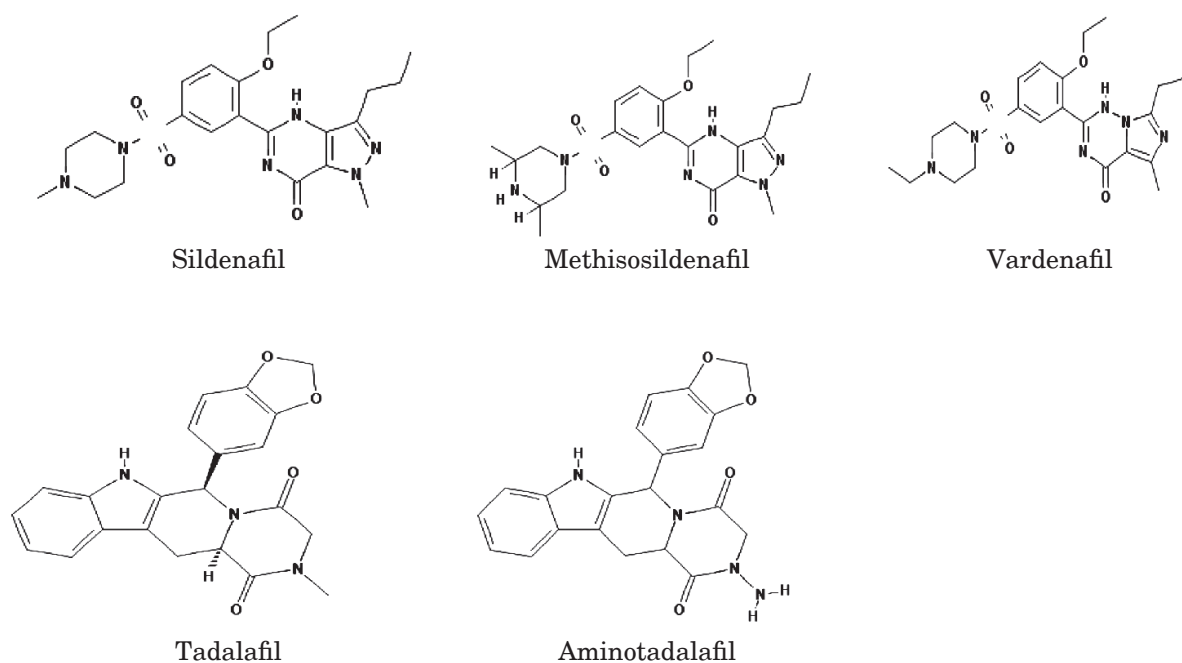
สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยา กลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาคดีด้วยวิธี TLC และ HPLC ได้ถูกพัฒนาขึ้นโดย วิธี TLC ใช้ silica gel 60 F254 เป็นวัสดุภาคนิ่ง และวัสดุภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 1 ใช้ส่วนผสมระหว่าง ethyl acetate, acetonitrile และ ammonia solution ระบบที่ 2 ใช้ส่วนผสมระหว่าง ethyl acetate, ethanol และ ammonia solution ตรวจวัดด้วย UV254, การสแกนสเปกตรัมและน้ำยา ethanolic-sulfuric acid กับน้ำยา acidified iodoplatinate ตามลำดับ พบว่า sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil มีค่า Rf ในระบบที่ 1 เท่ากับ 0.49, 0.71, 0.50, 0.57 และ 0.56 ตามลำดับ ในขณะที่ระบบที่ 2 มีค่า Rf เท่ากับ 0.31, 0.78, 0.45, 0.72 และ 0.43 ตามลำดับ เมื่อพ่นด้วยน้ำยา ethanolic-sulfuric acid tadalafil และ aminotadalafil จะปรากฏเป็นสีม่วง และเมื่อพ่นทับด้วยน้ำยา acidified iodoplatinate แล้ว sildenafil, tadalafil, vardenafil และ aminotadalafil จะเกิดปฏิกิริยาปรากฏเป็นสีน้ำตาลหรือสีม่วง ขึ้นกับความเข้มข้นของสาร ชัดจำกัดของการตรวจพบของ sildenafil, tadalafil และ vardenafil ด้วยวิธีนี้ มีค่าเท่ากับ 100, 1,000 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ วิธี HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด C18 เป็นวัสดุภาคนิ่ง ส่วนผสมระหว่าง 0.01 M ammonium acetate และ methanol เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ ตรวจวัดด้วย PDA detector ที่ความยาวคลื่น 210-350 นาโนเมตร พบ peak ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil แยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์ด้วยค่า resolution มากกว่า 1.8 และไม่พบการรบกวนจากองค์ประกอบอื่นในตำรับ ชัดจำกัดของการตรวจพบของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil มีค่าเท่ากับ 3.8, 1.0, 2.5, 0.8 และ 2.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยา กลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาคดีกลุ่มที่แจ้งสรรพคุณการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศจำนวน 230 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil 213 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil, vardenafil, aminotadalafil ผสม tadalafil จำนวน 11 ตัวอย่าง และตรวจพบ sildenafil ผสม vardenafil จำนวน 1 ตัวอย่าง

Accepted for publication, 3 November 2016

บทนำ

ยาในกลุ่ม Phosphodiesterase-5 inhibitors (PDE-5 inhibitors) เป็นยาจับประตอกกลุ่มแรกที่ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศในเพศชาย ปัจจุบันขึ้นทะเบียนเป็นยาในประเทศไทย 3 ชนิด คือ sildenafil ยาดันแบบมีชื่อการค้า Viagra® tadalafil ยาดันแบบมีชื่อการค้า Cialis® และ vardenafil ยาดันแบบมีชื่อการค้า Levitra® โดยยาดังกล่าวออกสู่ท้องตลาดในปี พ.ศ. 2541, 2545 และ 2548 ตามลำดับ ยาทั้งหมดมี N-heterocyclic เป็นส่วนประกอบในโครงสร้างและมีโครงสร้างคล้ายกับ purine base ในโครงสร้างของ cyclic guanosine monophosphate (cGMP)⁽¹⁾ (ภาพที่ 1) ทำให้ยาในกลุ่มนี้ยับยั้งเอนไซม์ PDE-5 ในตำแหน่งเดียวกับ cGMP แบบแข่งขัน (reversible competitive antagonist) ซึ่งการยับยั้ง PDE-5 จะทำให้ไม่มีการทำลาย cGMP นำไปสู่การขยายของหลอดเลือดแดงและเลือดไหลเข้าไปใน corpora cavernosum มากขึ้น เกิดการแข็งตัวขององคชาตตามมา



สำหรับวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hakan Goker และคณะ⁽⁴⁾ และวิธีของ Khaled Al -Tahami⁽⁵⁾ เป็นหลัก และทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ตามแนวทาง ICH-Q2 (R1)⁽⁶⁾ เพื่อใช้เป็นวิธีมาตรฐานของ สำนักยาและวัตถุเสพติดในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาเสพติดในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับการเฝ้าระวังติดตามสถานการณ์ตลอดจนเป็นข้อมูลสนับสนุนผลการวิเคราะห์ที่ใช้เป็นพยานหลักฐานในการดำเนินคดี

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) with UV/PDA Detector: Model Waters 2695-1996-Empower ผลิตภัณฑ์ของ Waters, Millipore Corporation, USA
2. Analytical Balance: Model AT 261 Deltarange, Mettler Toledo, Switzerland
Model MX5, Mettler Toledo, Switzerland
Model MS3002S, Mettler Toledo, Switzerland
3. Column: Hypersil Gold C18, 5 mm, 4.6 × 150 mm, Lot No. 12963
4. Capillaries ปริมาตร 10 µl
5. TLC Silica gel 60 F254, 20 × 20 cm plates, USA
6. TLC Automatic plate spotter, Japan
7. Densitometer, TLC Scanner, Switzerland
8. เครื่องแก้ว class A

สารมาตรฐาน

1. Aminotadalafil, lot no. 1188-024A1, purity 99.9%, TLC Pharmachem., Inc.
2. Methisosildenafil, lot no. 1-YKZ-5-1, purity 98%, Toronto Research Chemimicals Inc.
3. Sildenafil Citrate, lot no. F0K412, purity 98.8%, USP
4. Tadalafil, lot no. F0L003, purity 99.9%, USP
5. Vardenafil HCl.3H₂O, lot no. R-1013-03A, purity 99.7%, Bayer Co., Ltd

สารเคมี

1. Ammonium Acetate: AR grade
2. Methanol: HPLC grade
3. Ethyl acetate: AR grade
4. Ammonia Solution: AR grade
5. Acetonitrile: AR grade
6. Ethanol: AR grade
7. Potassium Iodide: AR grade
8. Sulfuric acid 96% : AR grade
9. Hydrochloric acid 37% : AR grade
10. Water: High Purity

ตัวอย่าง

ยาหลอก (placebo) มีส่วนประกอบของยาที่ไม่มีตัวยาสำคัญได้รับจากบริษัทผู้ผลิตยาแผนปัจจุบัน

การทดสอบสถานะของ Thin-Layer Chromatography (TLC)

โดยกำหนดสถานะของระบบ TLC ดังนี้

วัฏภาคเคลื่อนที่

ระบบที่ 1 - Ethyl acetate: Acetonitrile: Ammonia Solution (90 : 10 : 5)

ระบบที่ 2 - Ethyl acetate: Ethanol: Ammonia Solution (100 : 10 : 2)

วัฏภาคนิ่ง - TLC Siliga gel 60 F₂₅₄ 20 × 20 cm plates

ปริมาตรที่หยด - Volume 10 µl

เครื่องตรวจวัด - Densitometer, TLC Scanner 254 nm

- TLC Automatic plate spotter

น้ำยาพ่น

- Ethanolic-sulfuric acid solution

- Acidified iodoplatinate solution⁽⁷⁾

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐาน sildenafil citrate: ชั่งสารมาตรฐาน sildenafil citrate 5 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน tadalafil: ชั่งสารมาตรฐาน tadalafil 5 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน vardenafil HCl: ชั่งสารมาตรฐาน vardenafil HCl.3H₂O 6 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน aminotadalafil: ชั่งสารมาตรฐาน aminotadalafil 2 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน methisosildenafil: ชั่งสารมาตรฐาน methisosildenafil 1 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol จนครบปริมาตร

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างยาหลอก ประมาณ 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร เติม methanol ประมาณ 3 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที เจือจางด้วย methanol จนครบปริมาตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

การเตรียมน้ำยาพ่น

Iodoplatinate solution

ชั่ง platinum chloride 4.5 กรัม และ potassium iodide 90 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 1,800 มิลลิลิตร

Acidified iodoplatinate solution

เติมกรด hydrochloric ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในสารละลาย Iodoplatinate solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Ethanolic-sulfuric acid solution

เติมกรด sulfuric ปริมาตร 10 มิลลิลิตรใน ethanol ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์

นำสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด สารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยวิธี TLC ตรวจวัดโดยส่อง UV ที่ 254 นาโนเมตร และนำไป scan spectrum ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 200 ถึง 400 นาโนเมตร แล้วพ่นด้วยน้ำยา ethanolic-sulfuric acid solution และนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นพ่นทับด้วยน้ำยา acidified iodoplatinate solution

การอ่านและแปลผล

พิจารณาจากค่า Retardation Factor (Rf) ซึ่งหมายถึง อัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ Spectrum และการทำปฏิกิริยาให้เกิดสีกับน้ำยาพ่น (Spraying agent) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด

การทดสอบความถูกต้องของวิธีตรวจเอกลักษณ์ โดยวิธี TLC

1. การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมเหมือนกันกับการเตรียมสารละลายมาตรฐานดังกล่าวมาแล้วข้างต้น

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่างยาหลอก ประมาณ 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร เติม methanol ประมาณ 3 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที เจือจางด้วย methanol จนครบปริมาตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

การวิเคราะห์

นำสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด สารละลายตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ด้วยวิธี TLC

การอ่านและแปลผล

พิจารณาจากค่า Retardation Factor (Rf) ซึ่งหมายถึง อัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ Spectrum และการทำปฏิกิริยาการเกิดสีกับน้ำยาพ่น (Spraying agent) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด

2. การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

นำสารละลายมาตรฐานจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีมาเจือจางด้วย methanol จนได้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิดต่ำที่สุดที่ยังสามารถตรวจพบและให้ spectrum ที่ชัดเจน (พิจารณาจากลักษณะของ spectrum จากเส้นเรียบจะเริ่มเปลี่ยนเป็นเส้นหยัก)

การทดสอบสภาวะของ High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

กำหนดสภาวะของระบบโครมาโทกราฟี ดังนี้

คอลัมน์	- Hypersil Gold C18, 5 mm, 4.6 × 150 mm
อุณหภูมิคอลัมน์	- 30 °C
อัตราการไหล	- 1.0 ml/min
วัฏภาคเคลื่อนที่	- Methanol: 0.01 M Ammonium acetate 65 : 35 (v/v)
เครื่องตรวจวัด	- Photodiode array detector (PDA) 210 - 350 nm
ปริมาตรที่ฉีด	- 40 µl

Diluent เตรียมจากเมทานอล ปริมาตร 250 มิลลิลิตรผสมกับน้ำปริมาตร 250 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน sildenafil citrate, tadalafil และ vardenafil HCl ให้มีความเข้มข้นประมาณ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ diluent เป็นตัวปรับปริมาตร

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง ประมาณ 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำ diluent ประมาณ 15 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 15 นาที เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร อาจปรับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเพื่อให้ได้ค่า peak area ใกล้เคียง peak area ของสารละลายมาตรฐาน

การวิเคราะห์

นำสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่าง และ diluent ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีตรวจเอกลักษณ์ โดยวิธี HPLC**1. การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)****การเตรียมสารละลาย standard stock solution**

สารละลายมาตรฐาน sildenafil citrate: ชั่งสารมาตรฐาน sildenafil citrate 5 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ diluent ประมาณ 7 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายหมด เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน tadalafil: ชั่งสารมาตรฐาน tadalafil 5 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ diluent ประมาณ 7 มิลลิลิตร นำไป sonicate เป็นเวลา 15 นาที เขย่าจนละลายหมด เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน vardenafil HCl: ชั่งสารมาตรฐาน vardenafil HCl.3H₂O 6 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ diluent ประมาณ 7 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายหมด เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน aminotadalafil: ชั่งสารมาตรฐาน aminotadalafil 2 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม diluent ประมาณ 7 มิลลิลิตร นำไป sonicate เป็นเวลา 15 นาที เขย่าจนละลายหมด เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร

สารละลายมาตรฐาน methisosildenafil: ชั่งสารมาตรฐาน methisosildenafil 1 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติม diluent ประมาณ 7 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายหมด เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ปิเปตสารละลาย Standard stock solution ชนิดละ 1.0 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชนิดที่ 1 ชั่งตัวอย่างยาหลอก ประมาณ 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม diluent ประมาณ 15 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 15 นาที เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

ชนิดที่ 2 ชั่งตัวอย่างยาหลอก ประมาณ 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม (ปิเปต) สารละลาย standard stock solution ชนิดละ 1.0 มิลลิลิตร เติม diluent ประมาณ 15 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 15 นาที เจือจางด้วย diluent จนครบปริมาตร กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

การวิเคราะห์

นำสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่างชนิดที่ 1 ชนิดที่ 2 และ diluent ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

เกณฑ์การตัดสินผล

1. Peak ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ในสารละลายมาตรฐานแยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์และแต่ละ Peak ไม่ถูกรบกวนโดยประเมนจากค่า peak purity
2. Retention time ของ peak ใด ๆ จากสารละลายตัวอย่างยาหลอก ไม่ตรงกับสารมาตรฐาน sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ในสารละลายมาตรฐาน
3. Retention time ของ peak ของสารมาตรฐานที่เติมลงในยาหลอก ตรงกับสารมาตรฐาน sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ในสารละลายมาตรฐานและไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบอื่นในตำรับ โดยประเมินจากค่า peak purity
4. Spectrum ของ peak ของสารมาตรฐานที่เติมลงในยาหลอกเข้ากันได้กับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน

2. การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

นำสารละลายมาตรฐานจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีมาเจือจางด้วย diluent จนได้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิดต่ำที่สุดที่ยังสามารถให้ peak ที่ชัดเจนโดยค่าอัตราส่วน signal to noise ไม่ต่ำกว่า 3:1 และยังคงให้ spectrum ที่ชัดเจน

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

นำสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างชนิดที่ 2 มาเจือจางด้วย diluent จนได้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิดต่ำที่สุดที่ยังสามารถให้ peak ที่ชัดเจนโดยค่าอัตราส่วน signal to noise ไม่ต่ำกว่า 3:1 และให้ spectrum ชัดเจน สามารถเข้ากันกับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐานได้อย่างถูกต้อง

การวิเคราะห์

นำสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่าง ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

เกณฑ์การตัดสินผล

ความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารมาตรฐานแต่ละชนิดที่เติมลงในยาหลอกให้ peak ที่ชัดเจนโดยค่าอัตราส่วน signal to noise ไม่ต่ำกว่า 3:1 และให้ spectrum ชัดเจนเมื่อทดสอบความเข้ากันของสารมาตรฐานที่เติมลงในยาหลอกกับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐานสามารถเข้ากันได้

3. การทดสอบความทนของวิธี (Robustness)

นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีมาตรวจวิเคราะห์โดยเปลี่ยนแปลงสถานะต่างๆ ของระบบโครมาโทกราฟ เพื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น การแยกของสาร (resolution), retention time และ tailing factor

การวิเคราะห์

นำสารละลายมาตรฐาน ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยเปลี่ยนแปลงสถานะต่างๆ ของระบบโครมาโทกราฟ ดังนี้ คอลัมน์จากผู้ผลิตต่างกัน อุณหภูมิของคอลัมน์ อัตราการไหล และอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่

เกณฑ์การตัดสินผล

ศึกษาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น การแยกของสาร (resolution), retention time และ tailing factor

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยากกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาดี ปีงบประมาณ 2558

ของกลางยาดีเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้รับจาก สถานีตำรวจ กองกำกับการ 3 และ 4 กรมสอบสวนคดีพิเศษ และกองบังคับการตำรวจปราบปรามยาเสพติด 1 กองบัญชาการตำรวจปราบปรามยาเสพติด จำนวน 230 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นรูปแบบเม็ด 182 ตัวอย่าง แคปซูล 30 ตัวอย่าง เจลชนิดรับประทาน 16 ตัวอย่าง และรูปแบบอื่นๆ จำนวน 2 ตัวอย่าง

ผล

1. วิธี Thin-Layer Chromatography (TLC)

1.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

ภายใต้สภาวะ TLC ที่พัฒนาขึ้น พบว่าเมื่อใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ ethyl acetate: acetonitrile: ammonia solution (90:10:5) ตรวจวัดโดยส่องด้วย UV 254 นาโนเมตรจะปรากฏจุดมืด (dark spots) ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ที่อัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่วัฏภาคเคลื่อนที่ (R_f) เท่ากับ 0.49, 0.71, 0.50, 0.57 และ 0.56 ตามลำดับ (ภาพที่ 2) (A) และตารางที่ 1 เมื่อใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ ethyl acetate: ethanol: ammonia solution (100:10:2) ตรวจวัดโดยส่องด้วย UV 254 นาโนเมตรจะปรากฏจุดมืด (dark spots) ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ที่อัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่วัฏภาคเคลื่อนที่ (R_f) เท่ากับ 0.31, 0.78, 0.45, 0.72 และ 0.43 ตามลำดับ (ภาพที่ 3) (A) และตารางที่ 1 เมื่อนำไป scan spectrum ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 200 ถึง 400 นาโนเมตรจะปรากฏลักษณะของ spectrum ของสารแต่ละชนิด (ภาพที่ 4) หลังจากนั้นเมื่อนำไปพ่นด้วยน้ำยา ethanolic-sulfuric acid solution แล้วอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที พบว่าเฉพาะ tadalafil และ aminotadalafil เท่านั้นที่ทำปฏิกิริยากับน้ำยา ดังกล่าวปรากฏสีม่วง (ภาพที่ 2) (B) และ (ภาพที่ 3) (B) และ (ตารางที่ 1) เมื่อพ่นทับด้วยน้ำยา acidified iodoplatinate solution พบว่า sildenafil, tadalafil, vardenafil และ aminotadalafil ทำปฏิกิริยากับน้ำยา ดังกล่าวปรากฏสีน้ำตาลหรือสีม่วงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร (ภาพที่ 2) (C) และ (ภาพที่ 3) (C) และ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

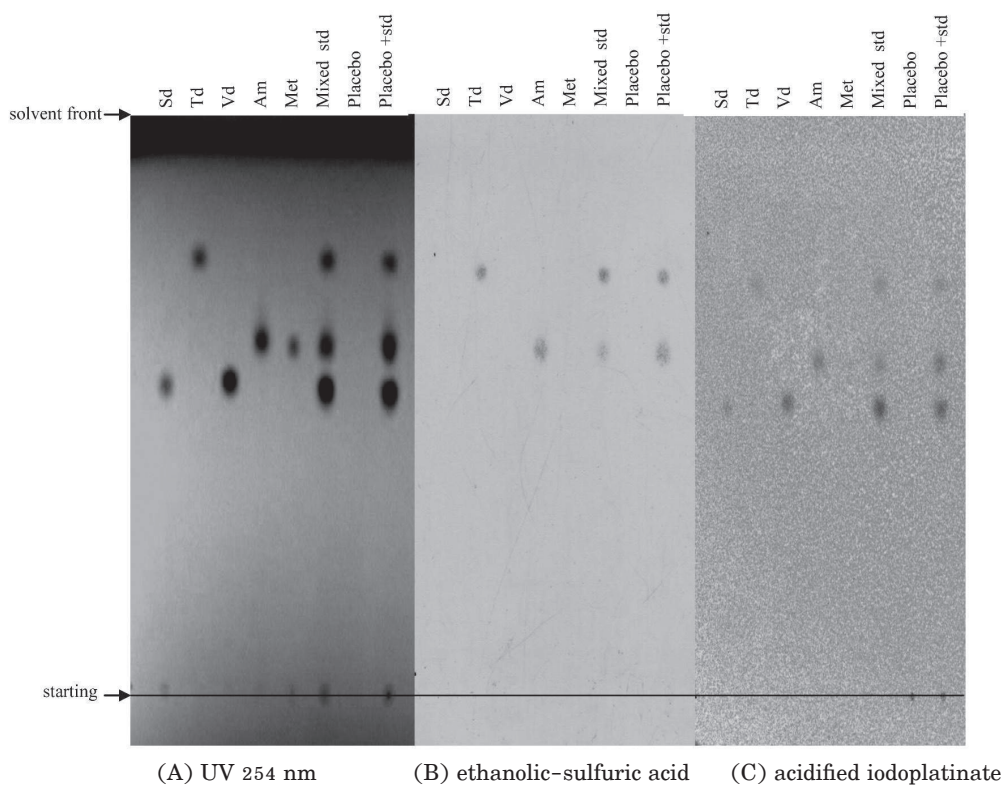
Validation parameter		Standard									
		Sildenafil		Tadalafil		Vardenafil		Aminotadalafil		Methisosildenafil	
		1*	2**	1	2	1	2	1	2	1	2
Rf		0.49	0.31	0.71	0.78	0.50	0.45	0.57	0.72	0.56	0.43
Specificity (UV 254 nm)											
Color	1 [#]	-	-	ม่วง	ม่วง	-	-	ม่วง	ม่วง	-	-
	2 ^{##}	น้ำตาล	ม่วง	น้ำตาล	ม่วง	ม่วง	ม่วง	น้ำตาล	ม่วง	-	-

* TLC System 1, ethyl acetate: acetonitrile: ammonia solution (90:10:5)

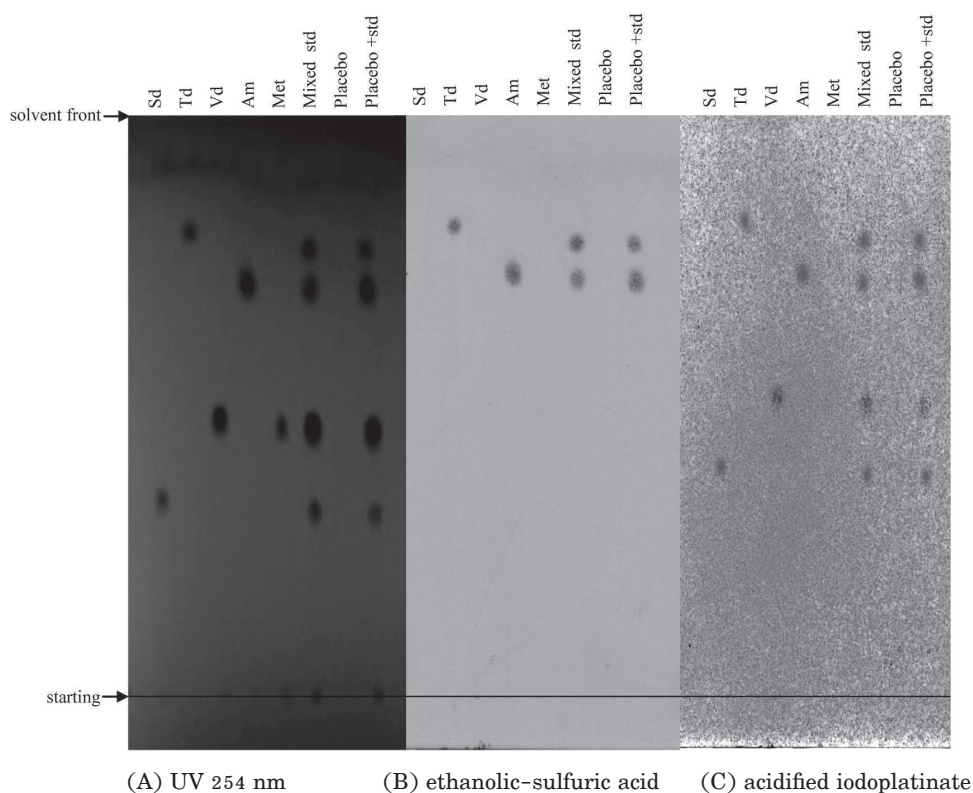
** TLC System 2, ethyl acetate: ethanol: ammonia solution (100:10:2)

Spraying agent, ethanolic-sulfuric acid solution

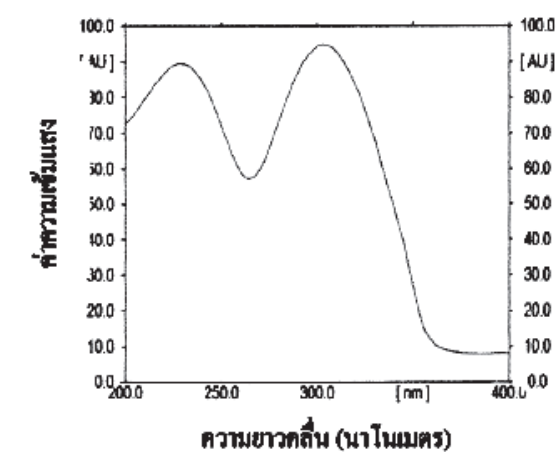
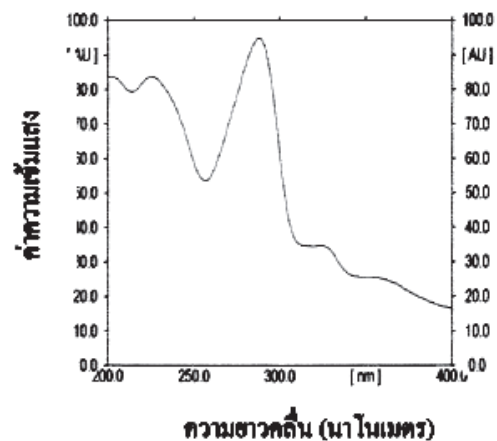
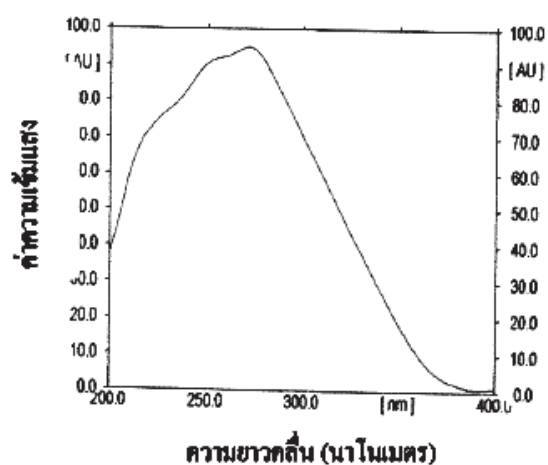
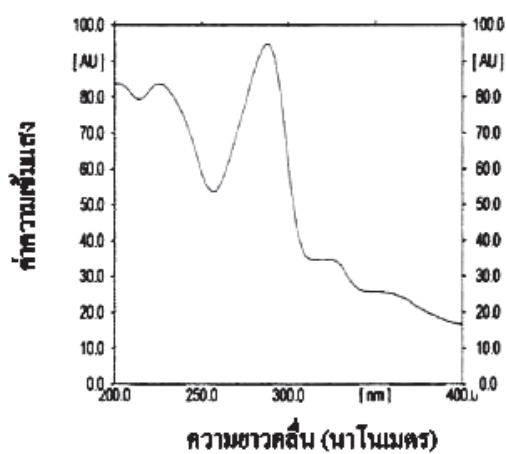
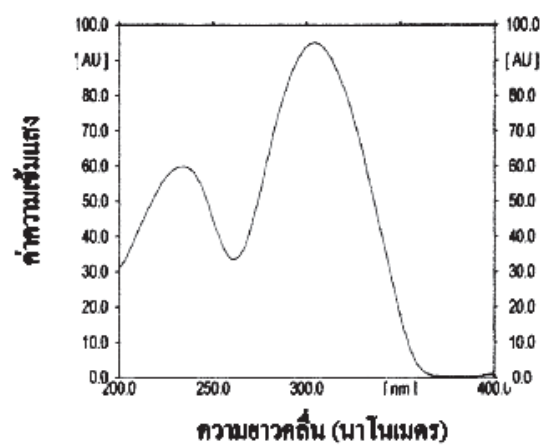
Spraying agent, acidified iodoplatinate solution



ภาพที่ 2 โคโรมาโทแกรมของสารที่วิฤภาคเคลื่อนที่ ethyl acetate: acetonitrile: ammonia solution (90 : 10 : 5) (Sd = sildenafil, Td = tadalafil, Vd = vardenafil, Am = aminotadalafil, Met = methisosildenafil)



ภาพที่ 3 โคโรมาโทแกรมของสารที่วิฤภาคเคลื่อนที่ ethyl acetate: ethanol: ammonia solution (100 : 10 : 2) (Sd = sildenafil, Td = tadalafil, Vd = vardenafil, Am = aminotadalafil, Met = methisosildenafil)

(A) Sildenafil λ_{Max} 303 nm(B) Tadalafil λ_{Max} 288 nm(C) Vardenafil λ_{Max} 272 nm(D) Aminotadalafil λ_{Max} 288 nm(E) Methisosildenafil λ_{Max} 304 nm

ภาพที่ 4 ลักษณะ spectrum ของสารในกลุ่ม PDE-5 inhibitors

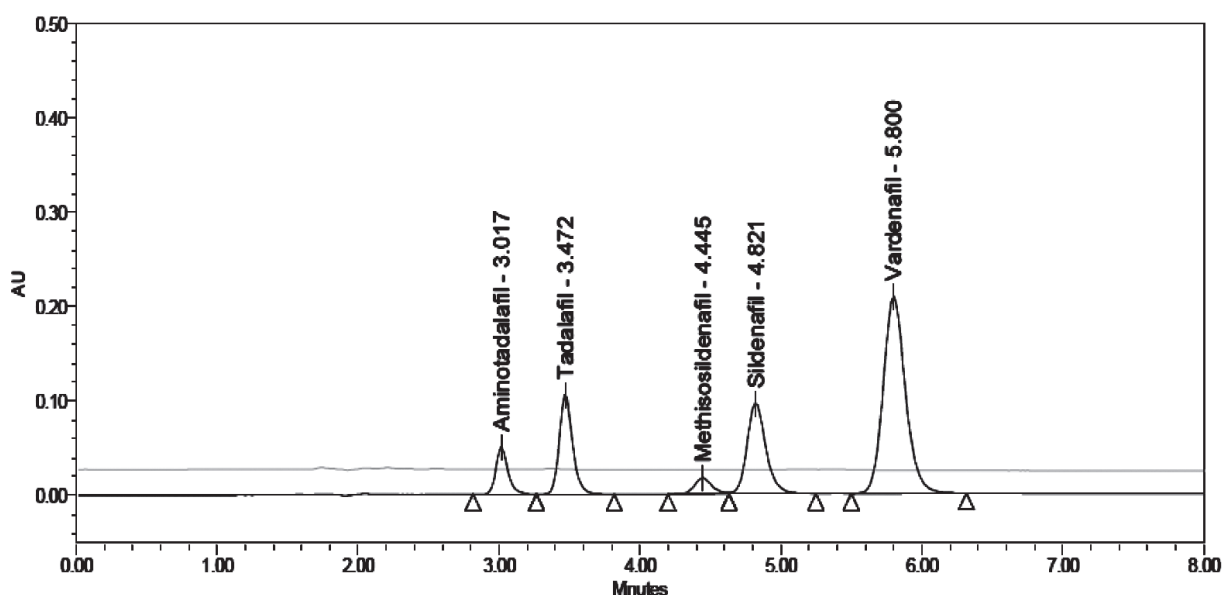
1.2 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (LOD) สำหรับ sildenafil, tadalafil และ vardenafil ที่สามารถตรวจพบได้ และให้ spectrum ชัดเจน เท่ากับ 100, 1,000 และ 250 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

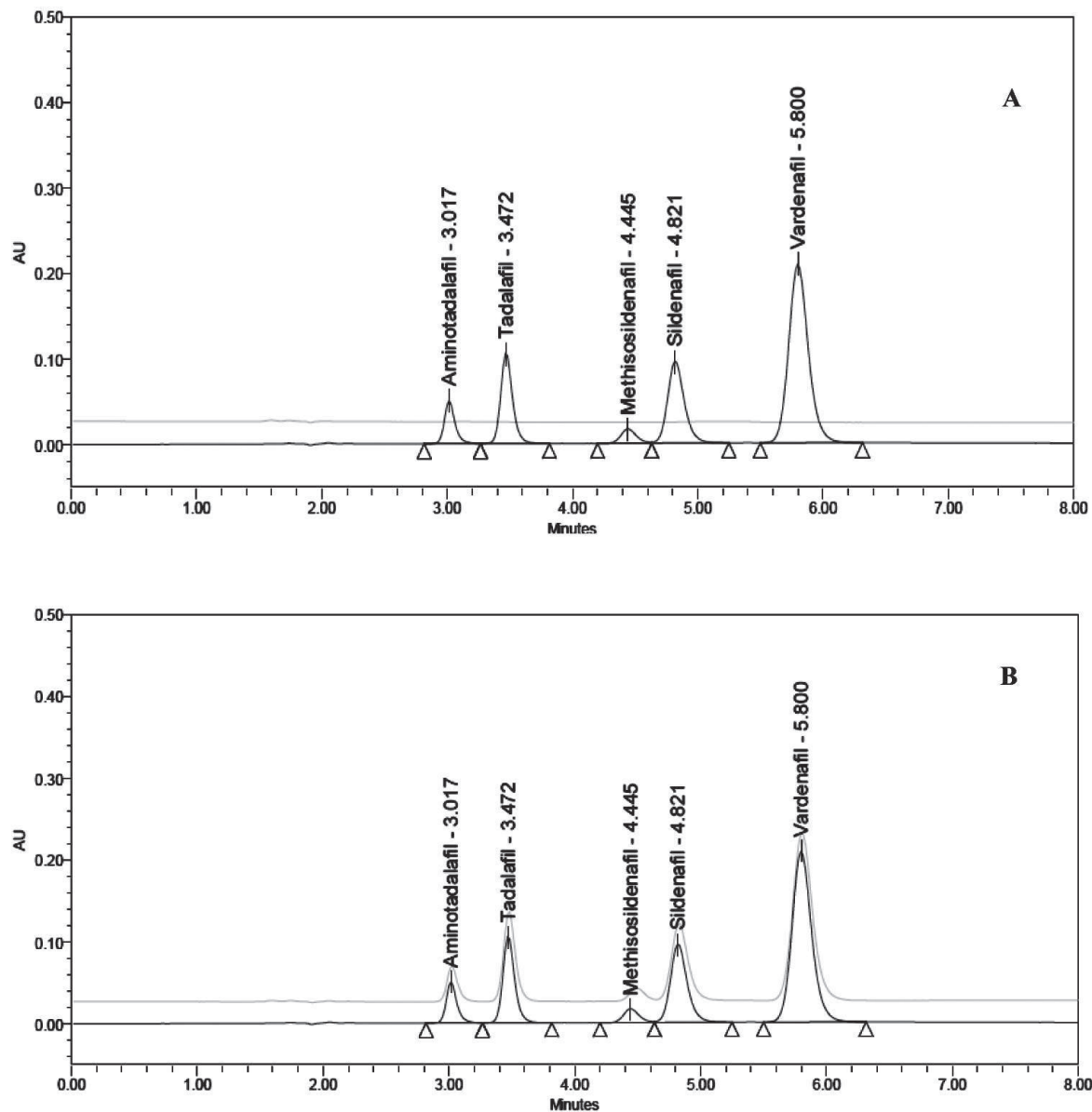
2. วิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

ภายใต้สภาวะของ HPLC ที่พัฒนาขึ้นพบว่า peak ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil แยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์ด้วยค่า resolution มากกว่า 1.8 ไม่พบการรบกวนจาก diluent (ภาพที่ 5) retention time ของ peak ของสารมาตรฐานทั้ง 5 ชนิดที่เติมลงในยาหลอก ตรงกับ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil หรือ methisosildenafil ในสารละลายมาตรฐาน (ภาพที่ 6) และไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบอื่นในตำรับ โดยประเมินจากค่า peak purity นอกจากนี้ยังพบว่า spectrum ของสารมาตรฐานที่เติมลงในยาหลอกเข้ากันกับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน (ภาพที่ 7) และ (ตารางที่ 2)



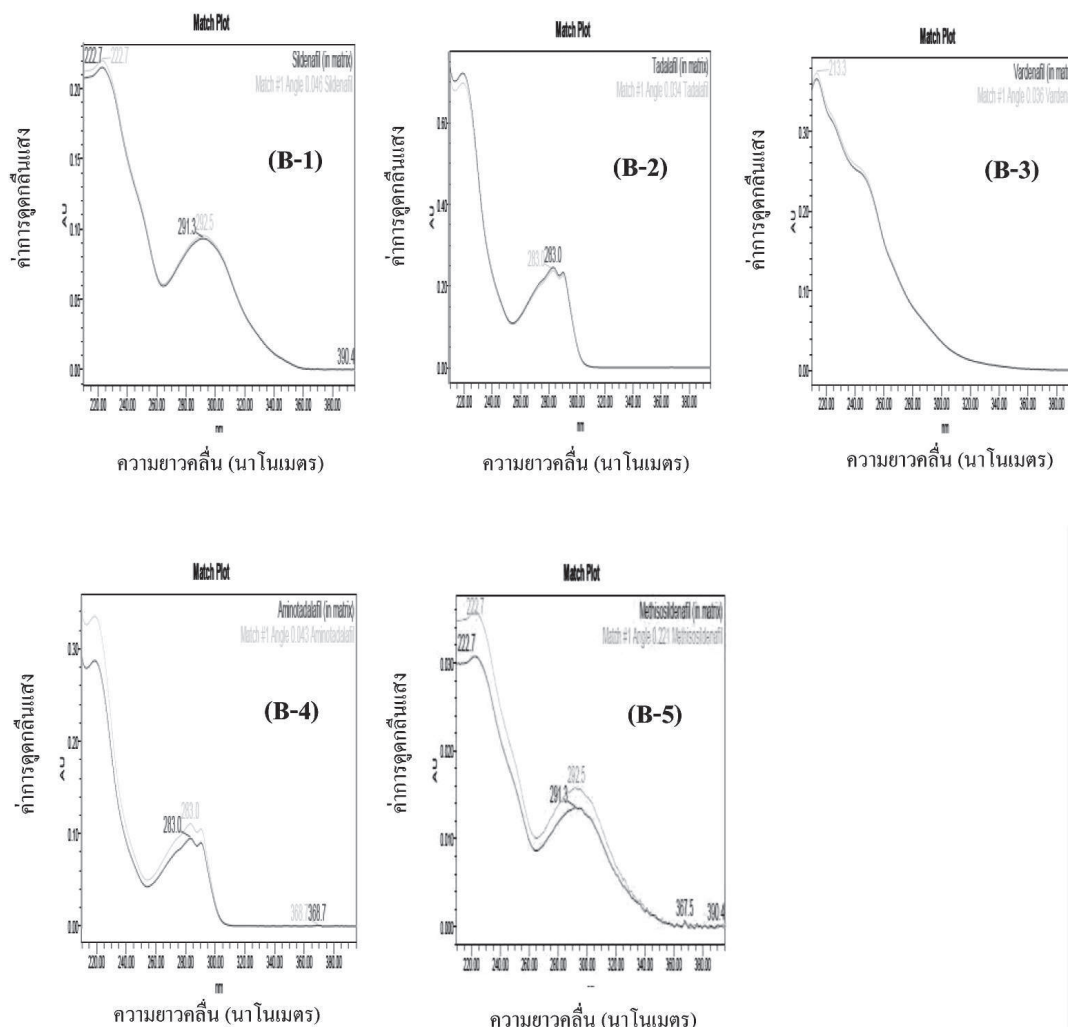
ภาพที่ 5 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเทียบกับ diluent



ภาพที่ 6 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างยาหลอกและสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่างยาหลอกเทียบกับสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน

A : โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างยาหลอกเทียบกับสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน

B : โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่างยาหลอกเทียบกับสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน



ภาพที่ 7 สเปกตรัมของสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่างยาหลอกเทียบกับสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน (B-1 = สเปกตรัมของ sildenafil, B-2 = สเปกตรัมของ tadalafil, B-3 = สเปกตรัมของ vardenafil, B-4 = สเปกตรัมของ aminotadalafil, B-5 = สเปกตรัมของ methisosildenafil)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Selectivity/Specificity)

Standard in placebo	RT (min)	RES	TF	Peak purity			Match plot		
				Purity Angle	Purity Threshold	Purity Flag	PDA match Angle	PDA match Threshold	PDA match Flag
Sildenafil	4.831	1.8	1.2	0.099	0.270	No	0.046	1.045	No
Tadalafil	3.479	3.2	1.2	0.082	0.275	No	0.034	1.017	No
Vardenafil	5.808	4.1	1.2	0.064	0.262	No	0.036	1.028	No
Aminotadalafil	3.023	-	1.3	0.177	0.278	No	0.043	1.039	No
Methisosildenafil	4.495	5.5	1.2	0.339	0.499	No	0.221	1.288	No

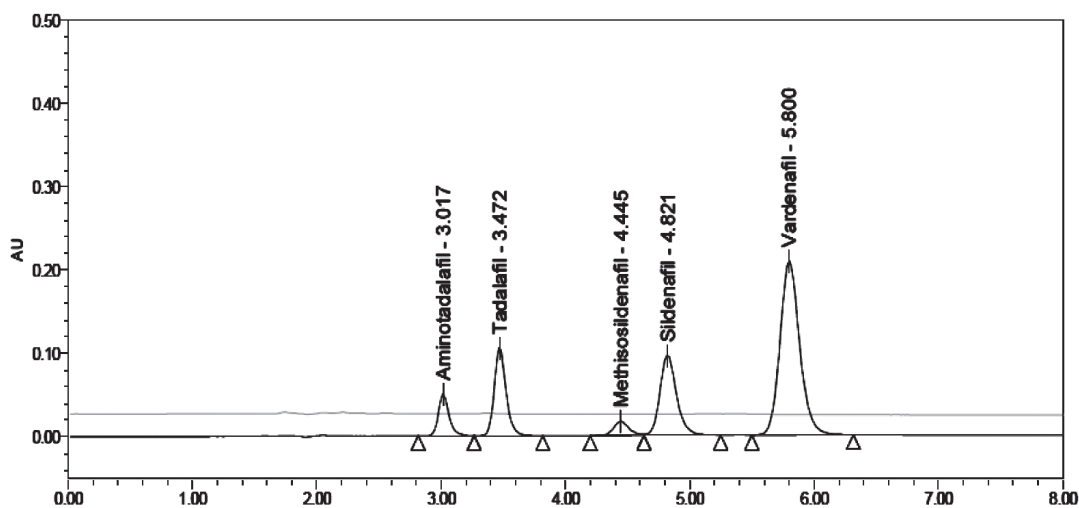
RT = retention time, RES = resolution, TF = tailing factor

2.2 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (LOD) ของสารมาตรฐาน sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ในสารละลายตัวอย่างยาหลอกที่ให้ peak ชัดเจนโดยค่าอัตราส่วน signal to noise ไม่ต่ำกว่า 3:1 และให้ spectrum ชัดเจนสามารถเข้ากันกับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐานได้อย่างถูกต้องเท่ากับ 3.8, 1.0, 2.5, 0.8 และ 2.3 µg/ml ตามลำดับ

2.3 การทดสอบความทนของวิธี (Robustness)

จากการทดสอบความทนของวิธี โดยเปลี่ยนคอลัมน์จากผู้ผลิตต่างกัน อุณหภูมิของคอลัมน์ อัตราการไหล และอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ ประเมินผลโดยพิจารณาการแยกของสาร (resolution) retention time และ tailing factor ได้ผลการทดสอบ (ภาพที่ 8) และ (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 8 โครมาโทแกรมแสดงการแยกและ retention time ของสารในสภาวะของระบบโครมาโทกราฟที่ดำเนินการทดสอบความถูกต้องของวิธี

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความทนของวิธี

Chromatographic condition		ผลการทดสอบความทนของวิธี														
		Aminotadalafil			Tadalafil			Methisosildenafil			Sildenafil			Vardenafil		
		RT	RES	TF	RT	RES	TF	RT	RES	TF	RT	RES	TF	RT	RES	TF
HPLC column	No.1 [#]	3.1	-	1.3	3.6	3.2	1.2	4.8	5.5	1.2	5.2	1.8	1.2	6.3	4.1	1.2
	No.2	4.0	-	1.2	5.1	4.8	1.1	7.3	7.0	1.1	8.1	2.2	1.1	10.7	5.7	1.1
	No.3	4.3	-	1.1	5.4	5.0	1.1	8.3	8.7	1.0	9.2	2.1	1.0	12.1	5.7	1.0
Column																
Temp (°C)	25	3.3	-	1.1	3.8	3.0	1.0	5.0	4.9	1.1	5.5	1.8	1.1	6.9	4.0	1.1
	30 [#]	3.1	-	1.3	3.6	3.2	1.2	4.8	5.5	1.2	5.2	1.8	1.2	6.3	4.1	1.2
	40	2.9	-	1.1	3.3	2.4	1.1	4.4	5.2	-	4.7	1.3	1.0	5.5	3.1	1.0
Flow rate (ml/minute)	0.7	4.5	-	1.3	5.2	3.2	1.2	6.8	5.8	1.2	7.5	1.9	1.2	9.1	4.4	1.2
	1.0 [#]	3.1	-	1.3	3.6	3.2	1.2	4.8	5.5	1.2	5.2	1.8	1.2	6.3	4.1	1.2
	1.5	2.1	-	1.2	2.4	2.5	1.1	3.1	4.9	-	3.4	1.6	1.2	4.2	3.7	1.1

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความทนของวิธี (ต่อ)

Chromatographic condition		ผลการทดสอบความทนของวิธี														
		Aminotadalafil			Tadalafil			Methisosildenafil			Sildenafil			Vardenafil		
		RT	RES	TF	RT	RES	TF	RT	RES	TF	RT	RES	TF	RT	RES	TF
MeOH:	55:45	5.1	-	1.2	6.8	6.1	1.1	10.6	9.4	1.1	12.6	3.5	1.1	17.9	7.7	1.2
Buffer	60:40	3.8	-	1.2	4.7	4.4	1.1	6.8	7.3	1.1	7.7	2.5	1.2	10.1	5.8	1.2
	65:35 [#]	3.1	-	1.3	3.6	3.2	1.2	4.8	5.5	1.2	5.2	1.8	1.2	6.3	4.1	1.2
	70:30	2.7	-	1.2	3.0	2.1	1.2	3.6	3.9	-	3.9	1.2	1.2	4.4	2.6	1.2
	75:25	2.5	-	-	2.6	1.4	-	3.1	0	-	3.1	0	-	3.4	1.6	1.2

[#] สภาวะของระบบโครมาโทกราฟีที่ดำเนินการทดสอบความถูกต้องของวิธี

RT = retention time, RES = resolution, TF = tailing factor

3. การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาดี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

ผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาดีที่อวดอ้างสรรพคุณเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาดี

Dosage Form		Samples	No. of samples	No. of detected samples					
				Sd	Td	Mixed			
						Sd/Td	Sd/Vd	Sd/Td/Am	Td/Am/Vd
Tablets	Known	Sd	100	100	0				
		Td	56	51	5				
		Vd	12	12	0				
	Unknown		14	14	0				
Capsules	Unknown		30	20	0	4	1	1	1
Gels	Known	Sd	16	16	0				
Others	Unknown		2	0	0	0	0	0	0
Total			230	213	5	4	1	1	1

Sd = sildenafil, Td = tadalafil, Vd = vardenafil, Am = aminotadalafil

วิจารณ์

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของกลุ่ม PDE-5 inhibitors ได้พัฒนาขึ้นสองวิธีคือ วิธี TLC และ HPLC สำหรับวัตถุประสงค์การพัฒนายวิธี TLC เพื่อใช้เป็นวิธีรองสำหรับตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของกลางยาติดกลุ่ม PDE-5 inhibitors ที่มีการแจ้งตัวยาสำคัญ (known samples) ทั้งสองวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ได้ทดสอบความถูกต้องของวิธีตามหลักเกณฑ์ของ ICH-Q2 (R1) สำหรับวิธี TLC ที่วัฏภาคเคลื่อนที่ ethyl acetate: acetonitrile: ammonia solution (90 : 10 : 5) เมื่อตรวจวัดโดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ปรากฏจุดมืด (dark spots) ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ที่ค่า Rf เท่ากับ 0.49, 0.71, 0.50, 0.57 และ 0.56 ตามลำดับ (ภาพที่ 2) (A) และตารางที่ 1 จากค่า Rf ของสารแต่ละชนิดพบว่าไม่สามารถแยก sildenafil ออกจาก vardenafil แต่เมื่อพิจารณาจากลักษณะของ spectrum ของสารทั้งสองชนิดพบว่า spectrum มีลักษณะแตกต่างกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 4) จึงสามารถจำแนก sildenafil กับ vardenafil โดยอาศัยลักษณะของ spectrum ที่แตกต่างดังกล่าวออกจากกันได้ นอกจากนี้ยังพบว่าที่สภาวะดังกล่าว ยังสามารถแยก methisosildenafil ออกจาก sildenafil และ aminotadalafil ออกจาก tadalafil ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถของวิธีในการแยกสารที่มีโครงสร้างคล้ายกันและลักษณะของ spectrum ใกล้เคียงกัน เมื่อใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ ethyl acetate: ethanol: ammonia solution (100:10:2) ตรวจวัดโดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จะปรากฏจุดมืด (dark spots) ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ที่ค่า Rf เท่ากับ 0.31, 0.78, 0.45, 0.72 และ 0.43 ตามลำดับ จากค่า Rf ของสารแต่ละชนิดพบว่าสามารถแยก sildenafil, tadalafil, vardenafil และ aminotadalafil ออกจากกันได้ แต่ไม่สามารถแยก vardenafil ออกจาก methisosildenafil (ภาพที่ 3) (A) แต่จากลักษณะของ spectrum ของ vardenafil และ methisosildenafil ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนจึงอาศัยลักษณะดังกล่าวจำแนกสารทั้งสองชนิดได้เช่นเดียวกัน การเกิดจุดมืด (dark spots) ของสารทั้ง 5 ชนิดนี้ เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของสารดังกล่าวมี conjugated double bond ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตได้ เกิดการดับ (quench) การเรืองแสงของสารที่เคลือบ silica ในวัฏภาคหนึ่งเมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จากค่า topological polar surface area⁽²⁾ ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil เท่ากับ 250, 74, 118, 101 และ 126 Å² ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของค่าพื้นที่ผิวของสารทั้ง 5 ชนิด และเมื่อพิจารณาส่วนประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ทั้ง 2 ระบบ ที่มีความแตกต่างกันชัดเจนคือวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 1 มี acetonitrile เป็นส่วนประกอบ ส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 2 มี ethanol เป็นส่วนประกอบและจากค่าคงที่ไดอิเล็กตริก⁽⁸⁾ ของ acetonitrile และ ethanol เท่ากับ 38.8 และ 25.0 ตามลำดับ แสดงว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ ระบบที่ 1 มีขั้วสูงกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับค่า Rf (ระบบที่ 1 = 0.49, ระบบที่ 2 = 0.31) ของ sildenafil ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วสูงที่สุดจากสารทั้ง 5 ชนิด ประสิทธิภาพการแยกสารของวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 1 ดีกว่าระบบที่ 2 อาจเนื่องมาจากวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 1 มีขั้วมากเกินไปจึงไม่เหมาะสมเท่ากับวัฏภาคเคลื่อนที่ระบบที่ 2 ในการแยกสารกลุ่มดังกล่าว เมื่อนำไป scan spectrum ด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 200 ถึง 400 นาโนเมตร จะปรากฏลักษณะของ spectrum ของสารแต่ละชนิด (ภาพที่ 4) หลังจากนั้นเมื่อนำไปพ่นด้วยน้ำยา ethanolic-sulfuric acid solution แล้วอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที พบว่าเฉพาะ tadalafil และ aminotadalafil เท่านั้นที่ทำปฏิกิริยากับน้ำยาดังกล่าวปรากฏสีม่วง (ภาพที่ 2) (B) และ (ภาพที่ 3) (B) เมื่อพ่นทับด้วยน้ำยา acidified iodoplatinate solution พบว่า sildenafil, tadalafil, vardenafil และ aminotadalafil ทำปฏิกิริยากับน้ำยาดังกล่าวปรากฏสีน้ำตาลหรือสีม่วงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร (ภาพที่ 2) (C) และ (ภาพที่ 3) (C) แต่ไม่พบการเกิดสีกับ methisosildenafil อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของ methisosildenafil ต่ำเกินไป การเลือก sulfuric acid เป็นน้ำยาพ่นสำหรับตรวจวัดยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors เนื่องจากเป็นน้ำยาที่ใช้กันแพร่หลาย (universal detection reagent)

เหมาะสำหรับตรวจวัดสารที่มีขั้วแม้ว่าจะไม่มีความจำเพาะเจาะจงแต่เนื่องจากวิธีตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้นอกจากจะพิจารณาจากการเกิดสียังพิจารณาจากค่า Rf และลักษณะของ spectrum เทียบกับสารมาตรฐานประกอบกัน ในส่วนของน้ำยา acidified iodoplatinate solution เป็นน้ำยาชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายสำหรับตรวจวัดสารประเภท organic nitrogen compounds⁽⁹⁾ เมื่อทดลองทางห้องปฏิบัติการกับยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ปรากฏว่าสามารถทำปฏิกิริยาให้เกิดสีกับยาในกลุ่มดังกล่าวได้ จึงเลือกนำยาดังกล่าวมาเป็นส่วนหนึ่งของวิธีที่พัฒนาขึ้นในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของกลางยาดีในกลุ่ม PDE-5 inhibitors

วิธี HPLC ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hakan Goker และคณะ และวิธีของ Khaled Al-Tahami โดยวิธีของ Hakan Goker และคณะ ใช้วิธี HPLC-DAD-MS ใช้คอลัมน์ชนิด C18 (5 μ m) และวัฏภาคเคลื่อนที่มีส่วนผสมระหว่าง acetonitrile, methanol และ 0.05 M ammonium acetate ในส่วนวิธีของ Khaled Al-Tahami ใช้วิธี HPLC-DAD ใช้คอลัมน์ชนิด C18 (3.5 μ m) และวัฏภาคเคลื่อนที่มีส่วนผสมระหว่าง acetonitrile, 0.3 M ammonium acetate และ 0.2% formic acid แต่เนื่องจากสำนักยาและวัตถุเสพติดไม่มีเครื่องมือตามวิธีของ Hakan Goker และคณะ และคอลัมน์ที่ใช้ตามวิธีของ Khaled Al-Tahami มีจำกัด ดังนั้นเพื่อความสะดวกและเหมาะสมสำหรับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของกลางยาดีในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ของสำนักยาและวัตถุเสพติดจึงได้พัฒนาวิธีขึ้น สำหรับวิธีตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ที่พัฒนาขึ้นพบว่า peak ของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil แยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์ด้วยค่า resolution มากกว่า 1.8 แต่ละ peak ไม่ถูกรบกวนจากยาหลอกโดยประเมินจากค่า peak purity (ตารางที่ 2) retention time ของ peak ของสารมาตรฐานทั้งห้าชนิดที่เติมลงในยาหลอก ตรงกับ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil หรือ methisosildenafil ในสารละลายมาตรฐาน (ภาพที่ 6) นอกจากนี้ยังพบว่า spectrum ของสารมาตรฐานที่เติมลงในยาหลอกเข้ากันกับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐาน (ภาพที่ 7)

จากข้อมูลของสำนักยาและวัตถุเสพติดในปี พ.ศ. 2554 และในปี พ.ศ. 2557 พบว่าเคยตรวจพบการปลอมปน aminosildenafil ซึ่งเป็นสารอะนาล็อกของยา tadalafil และ methisosildenafil (Aildenafil) ซึ่งเป็นสารอะนาล็อกของยา sildenafil ในยาแผนโบราณ ตามลำดับ ดังนั้น การพัฒนาวิธีตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ครั้งนี้นอกจากจะมุ่งเน้นแยก sildenafil, tadalafil และ vardenafil แล้ว ยังมุ่งเน้นการแยก methisosildenafil ออกจาก sildenafil และ aminosildenafil ออกจาก tadalafil ด้วยเช่นเดียวกัน เนื่องจาก sildenafil และ methisosildenafil หรือ tadalafil และ aminosildenafil มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีและ spectrum ที่ใกล้เคียงกันมากอาจก่อให้เกิดผลบวกлож (false positive) ได้จากทั้งวิธี TLC และ HPLC ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้สามารถแยกสารดังกล่าวออกจากกันได้ แสดงให้เห็นถึงความสามารถของวิธีในการแยกสารในกลุ่มดังกล่าวซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญที่แสดงถึงความจำเพาะเจาะจงของวิธีที่ได้พัฒนาขึ้น

ขีดจำกัดของการตรวจพบของวิธี TLC แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ sildenafil, tadalafil และ vardenafil ที่สามารถตรวจพบได้ และให้ spectrum ชัดเจน เท่ากับ 100, 1,000 และ 250 μ g/ml ตามลำดับ สำหรับขีดจำกัดของการตรวจพบของวิธี HPLC แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil ที่เติมลงในยาหลอก ที่ให้ peak ชัดเจนโดยค่าอัตราส่วน signal to noise ไม่ต่ำกว่า 3:1 และให้ spectrum ชัดเจนสามารถเข้ากันกับ spectrum ของสารมาตรฐานในสารละลายมาตรฐานได้อย่างถูกต้อง เท่ากับ 3.8, 1.0, 2.5, 0.8 และ 2.3 μ g/ml ตามลำดับ

สำหรับวิธี HPLC ได้มีการทดสอบความทนของวิธี โดยเปลี่ยนคอลัมน์จากผู้ผลิตต่างกัน โดยใช้คอลัมน์ hypersil gold C18, 5 mm, 4.6 $\times$ 150 mm เป็นสภาวะเปรียบเทียบ พบว่าคอลัมน์จากผู้ผลิตสองแห่งต่างกันสามารถแยกสาร (resolution) ทั้ง 5 ชนิดออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ รูปร่างของแต่ละ peak (tailing factor) ไม่ต่าง

จากสภาวะเปรียบเทียบ แต่ retention time เพิ่มขึ้น ซึ่งทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนคอลัมน์จากผู้ผลิตสามแห่งต่างกันไม่มีผลกระทบต่อผลการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ดังกล่าว เมื่อเปลี่ยนอุณหภูมิของคอลัมน์ โดยใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะเปรียบเทียบ พบว่าการแยกสารทั้ง 5 ชนิดออกจากกันและรูปร่างของแต่ละ peak ไม่ต่างจากสภาวะเปรียบเทียบแต่ retention time ต่างกันโดยที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิพบว่า retention time ลดลง เมื่อเปลี่ยนอัตราการไหล (flow rate) โดยใช้อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นสภาวะเปรียบเทียบ ผลการแยกสารและรูปร่างของ peak ไม่ต่างจากสภาวะเปรียบเทียบ แต่การเพิ่มอัตราการไหลมีผลให้ retention time ลดลง เมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนวัฏภาคเคลื่อนที่โดยใช้อัตราส่วน methanol: 0.01 M ammonium acetate (65:35, v/v) เป็นสภาวะเปรียบเทียบ พบว่าการลดอัตราส่วน methanol มีแนวโน้มที่จะแยกสารได้ดีขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็ส่งผลให้ค่า retention time เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เมื่อเพิ่มอัตราส่วน methanol พบว่าแนวโน้มในการแยกสารลดลงและที่อัตราส่วน methanol: 0.01 M ammonium acetate (75:25, v/v) ไม่สามารถแยก methisosildenafil ออกจาก sildenafil (ตารางที่ 3) จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่าง ๆ ส่งผลให้เกิดความสะดวกในการนำวิธีไปใช้ตรวจพิสูจน์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitor ในของกลางยาเสพติดต่อไป

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาเสพติดเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ที่ได้รับจากสถานตำรวจ กองกำกับการ 3 และ 4 กรมสอบสวนคดีพิเศษ และกองบังคับการตำรวจปราบปรามยาเสพติด 1 กองบัญชาการตำรวจปราบปรามยาเสพติด ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 พบว่าตัวอย่างรูปแบบเม็ดที่ระบุด้วยยาสำคัญเป็น sildenafil จำนวน 100 ตัวอย่าง ตรวจพบด้วยยาสำคัญตามที่ระบุไว้ทั้งหมด ที่ระบุด้วยยาสำคัญเป็น tadalafil จำนวน 56 ตัวอย่าง แต่ตรวจพบ sildenafil ซึ่งไม่ตรงกับที่ระบุไว้ จำนวน 51 ตัวอย่าง และตรวจพบ tadalafil ตามที่ระบุไว้ จำนวน 5 ตัวอย่าง ที่ระบุด้วยยาสำคัญเป็น vardenafil มีจำนวน 12 ตัวอย่าง แต่ตรวจพบ sildenafil ทั้งหมด ส่วนตัวอย่างรูปแบบเม็ดที่ไม่ระบุด้วยยาสำคัญแต่อาจสรรพคุณเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ มีจำนวน 14 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil ทั้งหมด ตัวอย่างรูปแบบแคปซูล จำนวน 30 ตัวอย่างทั้งหมดนี้ไม่ระบุด้วยยาสำคัญและส่วนใหญ่เป็นยาแผนโบราณและอาจสรรพคุณที่ทำให้เข้าใจได้ว่าเกี่ยวข้องกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ หรือบำรุงร่างกาย ซึ่งจาก 30 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil จำนวน 20 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil ผสม tadalafil จำนวน 4 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil ผสม vardenafil จำนวน 1 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil ผสม tadalafil และ aminotadalafil จำนวน 1 ตัวอย่าง ตรวจพบ vardenafil ผสม tadalafil และ aminotadalafil จำนวน 1 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบด้วยยาทั้ง 5 ชนิด จำนวน 3 ตัวอย่าง ในส่วนตัวอย่างรูปแบบเจลซึ่งเป็นชนิดรับประทาน (oral jelly) จำนวน 16 ตัวอย่าง ทั้งหมดระบุด้วยยาสำคัญเป็น sildenafil และตรวจพบ sildenafil ทั้งหมดตามที่ระบุ ส่วนตัวอย่างรูปแบบอื่นๆ เช่น รูปแบบสารละลาย ครีม เป็นต้น ไม่ระบุด้วยยาสำคัญแต่อาจสรรพคุณที่ทำให้เข้าใจได้ว่าเกี่ยวข้องกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ จำนวน 2 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบด้วยยาทั้ง 5 ชนิดทั้ง 2 ตัวอย่าง

สรุป

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาเสพติดโดยวิธี TLC และ HPLC ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ มีความจำเพาะเจาะจง ชัดจำกัดของการตรวจพบของวิธี TLC สำหรับ sildenafil, tadalafil และ vardenafil เท่ากับ 100, 1,000 และ 250 µg/ml ตามลำดับ วิธี HPLC สำหรับ sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil และ methisosildenafil เท่ากับ 3.8, 1.0, 2.5, 0.8 และ 2.3 µg/ml ตามลำดับ วิธี HPLC มีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะระบบโครมาโทกราฟีง่าย และสะดวกในการนำไปใช้เพื่อตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาเสพติดต่อไป การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยาในกลุ่ม PDE-5 inhibitors ในของกลางยาเสพติดเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 จำนวน 230 ตัวอย่าง ตรวจพบ sildenafil จำนวน 213 ตัวอย่าง tadalafil จำนวน 5 ตัวอย่าง sildenafil ผสม tadalafil จำนวน 4 ตัวอย่าง sildenafil

ผสม vardenafil จำนวน 1 ตัวอย่าง sildenafil ผสม tadalafil และ aminotadalafil จำนวน 1 ตัวอย่าง และ vardenafil ผสม tadalafil และ aminotadalafil จำนวน 1 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบตัวยาทั้ง 5 ชนิด จำนวน 5 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

1. สุรศักดิ์ วิชัยโย, สุวิญญ์ เจียมโสมิต. การสำรวจการใช้ยาในโรคหย่อนสมรรถภาพทางเพศ [ออนไลน์]. 2549; [สืบค้น 5 ส.ค. 2557]: [42 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=41&year=2549>
2. Chemical structure of PDE-5 inhibitors [online]. [cited 2015 Apr 27]; [10 screens]. Available from: URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sildenafil/tadalafil/vardenafil/aminotadalafil/aildenafil>
3. พระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 และฉบับแก้ไขเพิ่มเติม ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ยาควบคุมพิเศษ ฉบับที่ 35 (พ.ศ. 2551) ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนพิเศษ 173 ง (วันที่ 5 พฤศจิกายน 2551).
4. Hakan Goker, Maksut Coskun and Gulgun Ayhan-K1lc1gil. Chromatographic Separation and Identification of Sildenafil and Yohimbine Analogues Illegally Added in Herbal Supplement. [online]. 2012; [cited 2015 Jan 12]; [19 screens]. Available from: URL: <http://www.intechopen.com>.
5. Khaled Al-Tahami. Determination of sildenafil, vardenafil and tadalafil in dietary supplements sold in the Yemeni market. J Scientific Research 2014; 3(4):403-5.
6. International Conference on Harmonization of Technical Requirement for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). Geneva: ICH Steering Committee; 2005.
7. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, editors. Clarke's analysis of drugs and poisons. 3rd ed. London, UK: Pharmaceutical Press; 2004.
8. ลิควิดโครมาโทกราฟี (Liquid Chromatography) [ออนไลน์]. [สืบค้น 18 มี.ค. 2558]; [68 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM334/CM334-4.pdf>
9. TLC visualization reagents [online]. [cited 2015 Jan 18]; [14 screens]. Available from: URL: http://lcs0.epfl.ch/files/content/sites/lcs0/files/load/TLC_Stains.pdf.

Development and Validation Method for Identification of PDE-5 inhibitors In Seized Materials

Prasit Opas and Supanee Duangteraprecha

Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Identification of PDE-5 inhibitors in Seized Materials using TLC and HPLC methods was developed and validated. TLC method, the stationary phase was silica gel 60 F 254, the mobile phase comprised two systems. System 1 was the mixture of ethyl acetate, acetonitrile and ammonia solution and system 2 was the mixture of ethyl acetate, ethanol and ammonia solution. TLC of isolated sample was firstly detected by UV radiation at 254 nm, spectrum scanning and then confirmed by color reaction with ethanolic-sulfuric acid and acidified iodoplatinate reagent. In system 1, R_f were found to be 0.49, 0.71, 0.50, 0.57, and 0.56 for sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil, methisosildenafil, respectively. In system 2, the R_f were found to be 0.31, 0.78, 0.45, 0.72, and 0.43 for sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil, methisosildenafil, respectively. A purple color after spraying with ethanolic-sulfuric acid reagent indicated the presence of tadalafil and aminotadalafil. When acidified iodoplatinate solution was used, a brown to purple color developed indicated the presence of sildenafil, tadalafil, vardenafil and aminotadalafil. With TLC techniques, limit of detections of sildenafil, tadalafil and vardenafil were 100, 1000 and 250 $\mu\text{g/ml}$ respectively. HPLC method, the separation was performed on a C18 column by isocratic elution with a mobile phase of 0.01 M ammonium acetate buffer and methanol and PDA detection at 210–350 nm. All sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil and methisosildenafil peaks were completely resolved as shown by resolution values greater than 1.8, with no interference from matrix components. With HPLC techniques, limit of detections of sildenafil, tadalafil, vardenafil, aminotadalafil and methisosildenafil were 3.8, 1.0, 2.5, 0.8 and 2.3 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The validated method was applied to the identification of illicit drugs containing PDE-5 inhibitors in seized materials in fiscal year 2015. It was found that among 230 samples tested, 213 samples contained sildenafil, 11 samples contained a mixture of sildenafil, vardenafil, aminotadalafil, tadalafil and one sample contained a mixture of sildenafil and vardenafil.

Key words: PDE-5 inhibitors, seized materials, identification, method validation

การจัดเตรียมพิษงูเห่ามาตรฐานในระดับประเทศ

ไพศาล พังจันทน์* อัครชัย อาเมน* จิตาภรณ์ ภูติภินโยวัฒน์* ชลยุทธ นามบุตร**

และกนกวรรณ เทียมมาลา***

* กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

** สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

*** องค์การเภสัชกรรม ถนนพระราม 6 ราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

บทคัดย่อ ประเทศไทยมีผู้ผลิตผลิตภัณฑ์เซรุ่มแก้พิษงูจำนวนสองราย คือ องค์การเภสัชกรรม และสถานเสาวภา สภากาชาดไทย ซึ่งต่างก็ใช้พิษงูมาตรฐานที่ผลิตขึ้นเองในการควบคุมคุณภาพ เนื่องจากยังไม่มีพิษงูมาตรฐานที่จะใช้ในระดับประเทศ ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบผลค่าความแรงระหว่างกันได้ สถาบันชีววัตถุในฐานะหน่วยงานที่ทำหน้าที่ควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ชีววัตถุที่ผลิตและจำหน่ายในประเทศ จึงได้ประสานความร่วมมือกับผู้ผลิตทั้งสองรายในการจัดทำพิษงูเห่ามาตรฐานในระดับประเทศ ผลที่ได้พบว่าพิษงูเห่าที่จะนำมาใช้นั้นเป็นสารมาตรฐานนั้นมีค่า LD_{50} เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 10.57-15.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 70.8 เมื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ด้วยวิธี Immunodiffusion พบว่าทำปฏิกิริยาเฉพาะกับเซรุ่มแก้พิษงูเห่า การแยกส่วนประกอบของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าไม่มีความแตกต่างจากพิษงูเห่ารุ่นการผลิตก่อนหน้าที่สถาบันชีววัตถุใช้ในการควบคุมคุณภาพ พิษงูเห่ารุ่นการผลิตที่ CV 0142-S ที่จัดเตรียมขึ้นนี้ได้รับการประกาศให้เป็นสารมาตรฐานในระดับประเทศ ผลจากความร่วมมือในครั้งนี้จะช่วยให้การควบคุมคุณภาพเซรุ่มแก้พิษงูของประเทศไทยได้รับความน่าเชื่อถือในระดับสากล

บทนำ

ประเทศไทยมีที่ตั้งอยู่ในภูมิศาสตร์ประเภทเขตร้อน ดังนั้น จึงมีงูอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก งูหลายชนิดมีพิษที่รุนแรงทำให้เสียชีวิตได้ โดยพบอัตราการถูกงูพิษกัด 12-14 คนต่อประชากรแสนคน และมีอัตราการเสียชีวิต 0.02⁽¹⁾ การให้เซรุ่มแก้พิษงูยังคงเป็นวิธีการรักษาผู้ป่วยที่ตรงวัตถุประสงค์มากที่สุด เซรุ่มแก้พิษงูผลิตจากการฉีดพิษงูจำนวนน้อยแก่ม้าเพื่อกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกัน จากนั้นจึงเจาะเก็บพลาสมาแล้วนำมาผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ได้เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป

ประเทศไทยมีผู้ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูจำนวนสองรายคือ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย และองค์การเภสัชกรรม โดยสถานเสาวภา สภากาชาดไทย ผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิดผงแห้งจำนวน 9 ชนิด ได้แก่ เซรุ่มแก้พิษงูเห่า เซรุ่มแก้พิษงูแมวเซา เซรุ่มแก้พิษงูกะปะ เซรุ่มแก้พิษงูจงอาง เซรุ่มแก้พิษงูเขียวหางไหม้ เซรุ่มแก้พิษงูสามเหลี่ยม เซรุ่มแก้พิษงูทับสมิงคลา เซรุ่มแก้พิษงูระบบประสาท และเซรุ่มแก้พิษงูระบบโลหิต ส่วนองค์การเภสัชกรรมผลิตเซรุ่มแก้พิษงูชนิดน้ำจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เซรุ่มแก้พิษงูเห่า เซรุ่มแก้พิษงูแมวเซา และเซรุ่มแก้พิษงูกะปะ โดยผู้ผลิตทั้งสองรายต่างใช้พิษงูมาตรฐานที่เตรียมขึ้นเองในการวิเคราะห์หาค่าความแรงของผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลการวิเคราะห์ความแรงของผลิตภัณฑ์เซรุ่มแก้พิษงูชนิดเดียวกันไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ นอกจากนี้พิษในแต่ละประเทศนั้นมีชนิดและสายพันธุ์ที่แตกต่างกันตามการกระจายตัวเขตภูมิศาสตร์ จึงไม่สามารถที่จะจัดหาพิษงูมาตรฐานในระดับสากลเพื่อนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานอ้างอิงระหว่างหน่วยงานได้ องค์การอนามัยโลก จึงมีข้อเสนอแนะให้แต่ละประเทศหรือแต่ละภูมิภาคจัดเตรียมพิษงูมาตรฐานเพื่อใช้ตรวจสอบคุณภาพเซรุ่มแก้พิษงูในประเทศหรือระดับภูมิภาค⁽²⁾

ในการเตรียมพิษงูมาตรฐานจะต้องทดสอบหาค่า Lethal Dose 50 (LD₅₀) ของพิษงู⁽³⁾ โดยใช้สัตว์ทดลองชนิดหนูถีบจักร (mice) ซึ่งเป็นการทดสอบหาประสิทธิภาพของพิษงูโดยตรง แสดงในหน่วยน้ำหนักของพิษงูที่ทำให้สัตว์ทดลองที่นำมาทดสอบตายครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมด ซึ่งทุกหน่วยงานจะทำการทดสอบทุกครั้ง เมื่อมีการนำพิษงูรุ่นการผลิตใหม่มาใช้ทดแทนของเดิมที่หมดลง หรือทำการทดสอบค่าเป็นระยะเมื่อเวลาผ่านไปตามระยะเวลาที่กำหนด ซึ่งเกณฑ์การยอมรับนั้นแต่ละหน่วยงานกำหนดขึ้นเอง เพื่อใช้สำหรับการเฝ้าระวัง (monitoring) ว่าพิษงูที่เก็บรักษาไว้นั้นยังไม่เสื่อมประสิทธิภาพลง

ดังนั้น เพื่อให้ประเทศไทยมีพิษงูมาตรฐานของประเทศ สถาบันชีววัตถุในฐานะห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมคุณภาพชีววัตถุที่ผลิตและนำเข้ามาใช้ในประเทศไทย จึงได้จัดทำโครงการกำหนดค่าพิษงูเห่ามาตรฐานในระดับประเทศ โดยความร่วมมือจากผู้ผลิตทั้งสองแห่งสถานเสาวภา สภากาชาดไทย ทำหน้าที่รวบรวมพิษงูเห่าชนิดผงแห้งเพื่อจัดทำเป็นสารมาตรฐาน และร่วมทดสอบหาค่า LD₅₀ ร่วมกับสถาบันชีววัตถุและองค์การเภสัชกรรม เพื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างหน่วยงาน และมีการตกลงร่วมกันเพื่อจะประกาศใช้พิษงูเห่ารุ่นการผลิตดังกล่าวในการตรวจวิเคราะห์ความแรงของเซรุ่มแก้พิษงูเห่าที่ผลิตขึ้นภายในประเทศร่วมกันต่อไป

วัสดุและวิธีการ

พิษงูเห่า

พิษงูเห่าตัวอย่าง รุ่นการผลิต CV 0142-S ผลิตโดยสถานเสาวภา สภากาชาดไทย จัดเตรียมขึ้นสำหรับใช้เป็นสารมาตรฐานในระดับประเทศ

พิษงูเห่ามาตรฐาน รุ่นการผลิต TC 01 ผลิตโดยสถานเสาวภา สภากาชาดไทย เป็นพิษงูเห่าที่สถาบันชีววัตถุใช้ในการควบคุมคุณภาพเซรุ่มแก้พิษงูเห่าที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทยผลิตขึ้น

พิษงูเห่ามาตรฐาน รุ่นการผลิต GC 01 ผลิตโดยองค์การเภสัชกรรม เป็นพิษงูเห่าที่สถาบันชีววัตถุใช้ในการควบคุมคุณภาพเซรุ่มแก้พิษงูเห่าที่องค์การเภสัชกรรมผลิตขึ้น

สัตว์ทดลอง

หนูถีบจักรสายพันธุ์ ICR ขนาด 18-20 กรัม สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และกองมาตรฐานชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม ได้รับจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ได้รับจากสถานีเพาะพันธุ์ม้าและสัตว์ทดลอง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

การทดสอบค่า LD₅₀

ซึ่งนำหนักพิษงูเห่าตัวอย่าง 5-10 มิลลิกรัม ละลายด้วย normal saline ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 0.08, 0.012, 0.016, 0.20 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายแต่ละหลอดไปฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่หางของหนูถีบจักรตัวละ 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 4 ตัวต่อกลุ่ม นับจำนวนหนูที่มีชีวิตรอดในเวลา 2 วัน คำนวณค่า LD₅₀ จากจำนวนหนูที่รอดชีวิตโดยใช้โปรแกรม Probit Analysis (F.R. Marsman, RIVM, Bilthoven, The Netherlands, version 97-1)⁽⁴⁾ ทำซ้ำไม่น้อยกว่า 6 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย

การทดสอบปริมาณโปรตีน

ดำเนินการตามวิธีของ Bradford⁽⁵⁾ เตรียมโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin (Quick Start TM Bradford, BIO-RAD) ให้มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 5, 2.5 และ 1.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 1 หลอดตามลำดับ ซึ่งนำหนักพิษงูเห่าตัวอย่าง 5-10 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วเจือจางต่อด้วยน้ำกลั่นจนมีความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด นำสารละลายโปรตีนมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นและสารละลายพิษงูเห่าตัวอย่างที่เตรียมไว้มาเติมลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ปริมาตรหลอดละ 800 ไมโครลิตร เติม dye reagent ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ให้ครบทุกหลอด เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 595 nm นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณโปรตีนในสารละลายพิษงูเห่าตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับค่าที่สร้างจากกราฟของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

การทดสอบเอกลักษณ์

ดำเนินการโดยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)⁽⁶⁾ เตรียม acrylamide gel ความเข้มข้น 12% โดยใช้ Vertical electrophoresis system, VE (BIO-RAD) ซึ่งนำหนักพิษงูเห่าตัวอย่าง และพิษงูเห่ามาตรฐาน 5-10 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วย sample buffer solution ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปหยอดลงในเจลหลุมละ 10 ไมโครลิตร หยอดโปรตีนมาตรฐาน molecular weight marker (Amersham) เพื่อใช้เป็นแถบนำหนักมาตรฐานปริมาตร 5 ไมโครลิตรที่หลุมด้านข้าง แยกโปรตีนโดยใช้กระแสไฟฟ้า 160 โวลต์ นาน 90 นาที ด้วย EPS 601 Power supply ย้อมสีเจลด้วย colloidal coomassie blue G-250 และล้างสีด้วยน้ำกลั่น อ่านแถบโปรตีนที่ปรากฏด้วย gel documentation system (SYNGENE)

การทดสอบเอกลักษณ์

ดำเนินการโดยวิธี Immunodiffusion⁽⁶⁾ เตรียมสารละลาย agarose ความเข้มข้น 1% ที่อุณหภูมิร้อนละลายเป็นเนื้อเดียวกันลงบนแผ่น GelBond® ที่ตัดพอดีกับกระจกสไลด์ ทิ้งไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 2-8°C เป็นเวลาข้ามคืน เจาะบริเวณตรงกลาง 1 หลุม และบริเวณรอบๆ อีก 6 หลุม ซึ่งนำหนักพิษงูเห่าตัวอย่าง 5-10 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงในหลุมกลางปริมาตร 20 ไมโครลิตร ส่วนหลุมโดยรอบเติม

เซรุ่มแก้พิษงูเห่า เซรุ่มแก้พิษงูกะปะ เซรุ่มแก้พิษงูแมวเซา เซรุ่มแก้พิษงูจงอาง เซรุ่มแก้พิษงูเขียวหางไหม้ และเซรุ่มแก้พิษงูสามเหลี่ยม ปริมาตรหลุมละ 20 ไมโครลิตร วางแผ่นกระจกในแนวราบให้เกิดการทำปฏิกิริยากัน ปล่อยให้แห้งเป็นเวลาข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเกิดปฏิกิริยาจากเส้นตะกอนที่เกิดขึ้น

ผล

การทดสอบหาค่า LD₅₀ ของพิษงูเห่าตัวอย่าง โดยสถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีค่าเท่ากับ 15.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม กองมาตรฐานชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรมมีค่าเท่ากับ 10.57 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และสถานเสาวภา สภากาชาดไทยมีค่าเท่ากับ 12.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ค่าเฉลี่ยทั้งสามหน่วยงานเท่ากับ 12.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งผลการทดสอบมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อทดสอบด้วย ANOVA ที่ $p < 0.05$ (ตารางที่ 1)

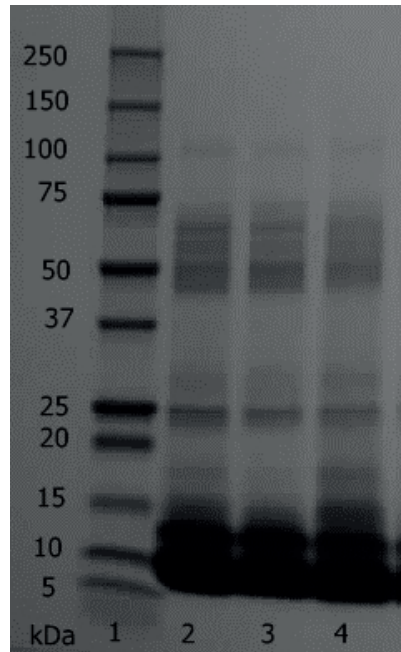
ตารางที่ 1 ค่า LD₅₀ ที่สอบเทียบได้ในแต่ละห้องปฏิบัติการ

หน่วยงาน	N	95% CI (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม)	LD50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม)
สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	6	15.66–15.69	15.67
กองมาตรฐานชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม	7	10.54–10.59	10.57
สถานเสาวภา สภากาชาดไทย	6	12.44–12.50	12.47
ค่าเฉลี่ย			12.90

* Sig. (ANNOVA) $p < 0.05$

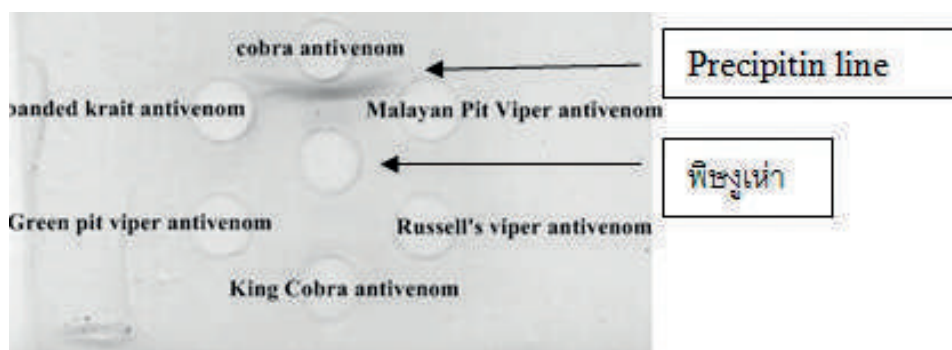
การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford นั้น โปรตีนจะทำปฏิกิริยากับ Coomassie Brilliant Blue G-250 เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับสารละลาย โปรตีนมาตรฐาน ปริมาณโปรตีนของพิษงูเห่ามีค่าเท่ากับ 708.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งได้จากการเตรียมสารละลายพิษงูเห่าเริ่มต้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิกรัม ดังนั้น พิษงูเห่าที่ใช้จัดเตรียมเป็นสารมาตรฐานจึงมีปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละ 70.8 ของน้ำหนัก

การทดสอบเอกลักษณ์ เมื่อนำสารละลายพิษงูเห่าตัวอย่างไปแยกส่วนประกอบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE โดยอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งโปรตีนที่มีน้ำหนักมากก็จะเคลื่อนตัวได้ช้า ในขณะที่โปรตีนขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ไปได้ไกลกว่า พบว่าส่วนประกอบโปรตีนของพิษงูเห่าที่จัดเตรียมขึ้นเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานมีแถบองค์ประกอบของโปรตีนไม่แตกต่างจากพิษงูเห่ามาตรฐานที่สถาบันชีววัตถุใช้ในการตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ของสถานเสาวภา และองค์การเภสัชกรรมในปัจจุบัน โดยมีขนาดโมเลกุลแบ่งออกได้เป็นสามกลุ่ม คือ กลุ่มแรกมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 14 kDa (a) กลุ่มที่สองมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 28 kDa (b) และกลุ่มสุดท้ายมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 50 kDa ขึ้นไป (c) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แอโปรตีนของพิษงูเห่าตัวอย่าง (หมายเลข 2) พิษงูเห่ามาตรฐานจากองค์การเภสัชกรรม (หมายเลข 3) และพิษงูเห่ามาตรฐานจากสถานเสาวภา สภากาชาดไทย (หมายเลข 4) เปรียบเทียบกับแอโปรตีนน้ำหนักมาตรฐาน (หมายเลข 1)

ส่วนการทดสอบเอกลักษณ์โดยวิธี Immunodiffusion เมื่อนำพิษงูเห่าตัวอย่างมาทำปฏิกิริยาระหว่างเซรัมแก่พิษงูชนิดต่าง ๆ คือ เซรัมแก่พิษงูเห่า เซรัมแก่พิษงูแมวเซา เซรัมแก่พิษงูกะปะ เซรัมแก่พิษงูจงอาง เซรัมแก่พิษงูเขียวหางไหม้ และเซรัมแก่พิษงูสามเหลี่ยม ในหลุมที่อยู่โดยรอบ พบว่ามีการทำปฏิกิริยาเกิดเป็นเส้นตะกอนสีขาวระหว่างพิษงูเห่ากับเซรัมแก่พิษงูเห่าเพียงเส้นเดียว โดยไม่พบการทำปฏิกิริยากับเซรัมแก่พิษงูชนิดอื่น ๆ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การทดสอบการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะของพิษงูเห่ามาตรฐาน CV 0142-S

วิจารณ์

การทดสอบค่า $LD_{50}^{(3)}$, การทดสอบปริมาณโปรตีน⁽⁵⁾, และการทดสอบเอกลักษณ์⁽⁶⁾ ทั้งหมดได้รับการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แล้ว การทดสอบที่สำคัญคือ การยืนยันเอกลักษณ์ว่าพิษงูที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ส่งมอบมาเพื่อนำมาจัดทำเป็นพิษงูเห่ามาตรฐานในครั้งนี้ว่าเป็นชนิดที่ถูกต้อง โดยพิจารณาจากการเกิดปฏิกิริยา immunodiffusion ที่มีความจำเพาะกับเซรัมแก่พิษงูเห่าเท่านั้น และจากการวิเคราะห์ส่วนประกอบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าแอโปรตีนที่แยกได้ไม่มีความแตกต่างจากพิษงูเห่าของสถานเสาวภา สภากาชาดไทย และพิษงูเห่า

ขององค์การเภสัชกรรมที่สถาบันชีววัตถุใช้ในการควบคุมคุณภาพก่อนหน้า ส่วนปริมาณโปรตีนจะถูกใช้เป็นข้อมูลพิจารณาในเรื่องความสม่ำเสมอ (consistency) ของพิษงูเห่ามาตรฐานที่จะจัดทำในครั้งถัดไป

เมื่อนำค่า LD_{50} ของพิษงูเห่าทั้งสามห้องปฏิบัติการไปหาค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากการทดสอบในสัตว์ทดลองจึงมีความผันแปรสูง แม้ว่าจะมีการควบคุมชนิด สายพันธุ์และช่วงน้ำหนักของหนูไมซ์ที่นำมาใช้ในการทดสอบแล้ว อย่างไรก็ตามความแตกต่างของค่า LD_{50} นี้ไม่มีผลต่อการนำไปใช้ในการทดสอบหาค่าความแรงของผลิตภัณฑ์แต่อย่างใด เนื่องจากปัจจุบันการทดสอบความแรงของเซรุ่มแก้พิษงูเห่ารายงานผลเป็นน้ำหนักของพิษงูเห่าที่เซรุ่มแก้พิษงูเห่าสามารถทำลาย (neutralize) ได้ต่อปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยมีข้อกำหนดว่าต้องมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.6 มิลลิกรัม ที่ผ่านมาผลการทดสอบที่ได้จากผู้ผลิตแต่ละรายอาจมีความแตกต่างกัน เนื่องจากใช้พิษงูเห่ามาตรฐานที่จัดทำขึ้นเองภายในเพื่อการทดสอบ ซึ่งข้อมูลเรื่องความแตกต่างของค่า LD_{50} ที่ได้จากโครงการนี้จะป็นข้อมูลสำคัญในการพัฒนาวิธีการควบคุมคุณภาพด้านความแรงของเซรุ่มแก้พิษงูเห่าในอนาคต โดยอาจเป็นการจัดทำเซรุ่มแก้พิษงูเห่ามาตรฐานที่สามารถลดความแตกต่างระหว่างห้องปฏิบัติการลงได้⁽⁷⁾ แต่ต้องอาศัยงบประมาณที่มากกว่าในการจัดเตรียมผลิตภัณฑ์

ผลจากการดำเนินของโครงการ ทั้งสถานเสาวภา สภากาชาดไทย องค์การเภสัชกรรม และสถาบันชีววัตถุ ได้ยอมรับพิษงูเห่ารุ่นการผลิต CV 0142-S ให้เป็นสารมาตรฐานในระดับประเทศ ทำให้เซรุ่มแก้พิษงูเห่าที่จะผลิตเพื่อจำหน่ายต่อไปในอนาคต สามารถลดปัจจัยความผันแปรของผลทดสอบที่อาจเกิดจากความแตกต่างของการใช้พิษงูเห่ามาตรฐานจากผู้ผลิตทั้งสองรายลงไปได้ และเป็นจุดเริ่มต้นของความร่วมมือระหว่างหน่วยงาน ในการทดสอบความชำนาญระหว่างห้องปฏิบัติการ (proficiency test) ต่อไปในอนาคต นอกจากนี้ยังให้ประสบการณ์และข้อมูลสำคัญต่อการจัดทำสารมาตรฐานพิษงูชนิดอื่นๆ และการพัฒนาวิธีการทดสอบต่อไป

สรุป

จากการศึกษาพิษงูเห่าที่จัดเตรียมขึ้นทั้งหมด 3 รุ่นการผลิต พบว่าพิษงูเห่ารุ่นการผลิตที่ CV 0142-S ผลิตโดยสถานเสาวภา สภากาชาดไทย มีคุณสมบัติที่เหมาะสม และได้ตกลงร่วมกันระหว่างสถาบันชีววัตถุ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย และองค์การเภสัชกรรมประกาศให้เป็นสารมาตรฐาน ในระดับประเทศสำหรับใช้ในการตรวจสอบค่าความแรงของเซรุ่มแก้พิษงูเห่า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถานเสาวภา สภากาชาดไทย กองมาตรฐานชีววัตถุ องค์การเภสัชกรรม สำหรับความร่วมมือในการทดสอบค่า LD_{50} และขอขอบคุณสถานเสาวภา สภากาชาดไทยที่สนับสนุนพิษงูเห่าที่ใช้ในการจัดทำสารมาตรฐานในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. ศุภฤกษ์ ไชยหนูวิวัฒน์. งูพิษกัด (Snake bite). สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค. [ออนไลน์]. 2553; [สืบค้น 20 ก.พ. 2556]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://www.boe.moph.go.th/Annual/aesr2553/AESR53_Part1/B_Part1_53/4953_SnakeBite.pdf
2. World Health Organization. WHO guideline for the production control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. Geneva, Switzerland: WHO; 2010. p. 8.
3. Thai pharmacopoeia Vol. 1 Part 1. Cobra Antivenin. Bangkok: Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health; 1987. p. 1606.

4. Calculations and statistical analysis of results. In: Manual of laboratory methods. Geneva: World Health Organization; 1997. p. 183-190.
 5. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.
 6. European Pharmacopoeia Volume 2. 7th ed. Strasbourg, France: European Department for the Quality of Medicines & Healthcare (EDQM), Council of Europe; 2010. p. 953-954, 201-202, 148, 46-51.
 7. Fukuda T, Iwaki M, Hong SH, Oh HJ, Wei Z, Morokuma K, et al. Standardization of regional reference for mamushi (*Gloydius blomhoffii*) antivenom in Japan, Korea, and China. Jpn J Infect Dis 2006; 59: 20-4.
-

Preparation of National Standard for Cobra Venom

Paisan Pangjunan* Assajan Amen* Titaporn Phutipinyowat*
Chanlayuth Nambhut** and Kanokwan Tiammala***

* *Division of Medical Sciences, Tiwanond Road Nonthaburi 11000*

** *Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross, Rama IV Road, Pathumwan, Bangkok 10330*

*** *Government Pharmaceutical Organization, Rama 6 Road, Rachathewi, Bangkok 10400, Thailand*

ABSTRACT The Thai Red Cross Society (TRCs) and the Government Pharmaceutical Organization (GPO) are snake antivenom manufacturers in Thailand. Both of them have used their own snake venoms for quality control of their products because there was no national standard venoms. Therefore, their potency results have been incomparable the Institute of Biological Products (IBP), which acting as the national control laboratory for the biologics in Thailand, has cooperated with these two manufacturers in preparation of a national cobra venom standard. The results showed that the average LD₅₀ values of cobra venom were between 10.57–15.67 micrograms per milliliter and protein content was 70.8 percent. Identity test by immunodiffusion showed the venom was specific to the cobra antivenom. From the protein profile by SDS-PAGE method, the venom did not differ from previous lot used for potency test in IBP's laboratory. Cobra venom lot number CV 0142-S used in this study was declared as the national reference material. The outcome of this cooperation is the quality control of snake antivenom in Thailand being internationally recognized.

Key word: Cobra venom, Malayan pit viper venom, Russell's viper venom, Standardization, Thailand

การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการ ด้านน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005

อุบลวรรณ ชัยอารยะเลิศ พันธวิทย์ นทกุล อีระพล คชาชีวะ และสกาลิน ไตรศิริวานิชย์
สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการด้านน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ตามแผนขยายขอบข่ายความสามารถห้องปฏิบัติการของสถาบันชีววัตถุให้ครอบคลุมการควบคุมคุณภาพชุดน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด เพื่อการประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์ ลดความเสี่ยงในการตรวจคัดกรองผู้บริจาคโลหิตผิดพลาดซึ่งจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เลือด โดยใช้กระบวนการตามเกณฑ์คุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐ ประกอบด้วย การนำองค์กร การวางแผนยุทธศาสตร์ การให้ความสำคัญกับผู้รับบริการและผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย การวิเคราะห์และจัดการข้อมูล การมุ่งเน้นบุคลากร และการจัดการกระบวนการ ร่วมกับการปฏิบัติตามข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ซึ่งจากผลการพัฒนาห้องปฏิบัติการด้านน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ทำให้ได้รับการรับรองความสามารถตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005 ในปี พ.ศ. 2556 โดยมีปัจจัยสำคัญของความสำเร็จ ได้แก่ นโยบายของผู้บริหาร การพัฒนาบุคลากรให้มีสมรรถนะที่จำเป็นในการปฏิบัติงาน และการดำเนินงานตามข้อกำหนดของระบบคุณภาพอย่างถูกต้องเหมาะสม

บทนำ

ในปัจจุบันโลกได้เปลี่ยนแปลงไปอย่างรวดเร็ว เกิดการแข่งขันทั้งด้านแรงงาน สังคม เศรษฐกิจ การค้าที่นับวันจะยิ่งทวีความรุนแรงขึ้นจากการขยายตัวทางเศรษฐกิจในกลุ่มประเทศต่างๆ ความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีที่มีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างรวดเร็ว ทำให้การแข่งขันในอุตสาหกรรมยา และเวชภัณฑ์ต่างๆ ทางด้านการแพทย์ยังคงมีการแข่งขันอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา เพื่อผลิตยาที่ใช้รักษาโรค ซึ่งปัจจุบันเชื้อโรคต่างๆ เกิดการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น และยังมีโรคที่ยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้อีกหลายโรค การแข่งขันทางการค้าของบริษัทผู้ผลิตยา เวชภัณฑ์ต่างๆ จึงยังคงเพิ่มมากขึ้น เพื่อความเป็นผู้นำในการแข่งขันและค้นหาวิธีต่อสู้กับโรคร้ายที่ยังต้องหาทางรักษาต่อไปอย่างไม่หยุดยั้ง เช่น โรคเอดส์ โรคหัวใจ โรคเอดส์ เป็นต้น จึงเป็นบทบาทหน้าที่ของสถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขในการคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับผลิตภัณฑ์ชีววัตถุที่มีคุณภาพ มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพ

สถาบันชีววัตถุเป็นห้องปฏิบัติการกลางเพียงแห่งเดียวของประเทศ (National Control Laboratory) มีหน้าที่รับผิดชอบตรวจสอบรับรองคุณภาพวัคซีน ชีววัตถุเพื่อการรักษา และนำยารักษาโรคติดต่อทางเลือดที่ใช้ในประเทศให้มีคุณภาพ มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพ ดังนั้น จึงต้องแสดงข้อมูลให้ผู้ประกอบการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ อาทิ ผู้ผลิต ผู้นำเข้าชีววัตถุ กรมควบคุมโรค สาธารณสุขจังหวัด โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ โรงพยาบาล คลินิก ตลอดจนองค์การระหว่างประเทศ เช่น องค์การทุนเพื่อเด็กแห่งสหประชาชาติ หรือ UNICEF เป็นต้น มีความมั่นใจได้ว่าผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องสมบูรณ์โดยปราศจากข้อสงสัยใดๆ และประชาชนมีความมั่นใจในผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ความปลอดภัย ประสิทธิภาพและส่งเสริมการควบคุม ป้องกันโรคของประเทศให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ตลอดจนส่งเสริมผู้ประกอบการในประเทศให้สามารถแข่งขันทางการค้าได้ในตลาดภูมิภาค และตลาดโลก

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มาตรฐานเลขที่ มอก.17025-2548 (ISO/IEC 17025:2005)^(1, 2) เป็นข้อกำหนดทั่วไปว่าด้วยความสามารถของห้องปฏิบัติการในการดำเนินการทดสอบและ/หรือสอบเทียบ ซึ่งประกอบด้วยข้อกำหนดด้านวิชาการและด้านบริหาร โดยมาตรฐานนี้สามารถนำมาใช้ได้กับทุกองค์การที่มีการดำเนินกิจกรรมการทดสอบและ/หรือสอบเทียบ เป็นมาตรฐานสากลที่เสริมสร้างความเชื่อมั่นในความสามารถในการทดสอบหรือสอบเทียบของห้องปฏิบัติการ ข้อกำหนดนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งกับภาคธุรกิจอุตสาหกรรมที่ต้องใช้ผลการทดสอบและ/หรือสอบเทียบ ที่มีความเที่ยงตรง แม่นยำ เชื่อถือได้ ใช้เป็นบรรทัดฐานการวัดและการทดสอบผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพ และยังช่วยจัดอุปสรรคในการกีดกันทางการค้า อันเนื่องมาจากการทดสอบและลดการตรวจซ้ำจากประเทศคู่ค้า สถาบันชีววัตถุจึงต้องพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการในฐานะการเป็นห้องปฏิบัติการกลางของภาครัฐเพียงแห่งเดียวในประเทศ ในการตรวจรับรองคุณภาพผลิตภัณฑ์ชีววัตถุชนิดต่างๆ เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ มีความปลอดภัย และสร้างความเชื่อมั่นในผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการว่ามีความถูกต้องตามหลักวิชาการ และสอดคล้องกับความต้องการของผู้ใช้ข้อมูลโดยได้นำระบบคุณภาพตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025:2005 มาใช้ และได้รับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 จนถึงปัจจุบัน

สถาบันชีววัตถุได้รับการยกฐานะขึ้นเป็นสถาบันตามกฎหมายกระทรวงการแบ่งส่วนราชการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พ.ศ. 2552⁽³⁾ (ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 126 ตอนที่ 98 ก วันที่ 28 ธันวาคม 2552) เป็นการปรับปรุงโครงสร้างส่วนราชการใหม่ โดยได้เพิ่มเติมบทบาทหน้าที่ในการเป็นห้องปฏิบัติการกลางของรัฐในการสนับสนุนสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เพื่อควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดให้มีประสิทธิภาพครบถ้วนตามมาตรฐานสากล⁽⁴⁾ เพื่อลดความเสี่ยงในการตรวจคัดกรองผู้บริจาคโลหิตผิดพลาด ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เลือด ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการด้านนำยารักษาโรคติดต่อทางเลือดของสถาบันชีววัตถุให้สอดคล้องตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005 โดยมีเป้าหมาย

เพื่อขอการรับรองความสามารถในการทดสอบคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวีแบบรวดเร็ว (Rapid test)⁽⁵⁾ ซึ่งเป็นชุดตรวจที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนดให้มีการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์⁽⁶⁾

บทความนี้เป็นการนำเสนอการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด เพื่อขอรับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการจนได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อเป็นแนวทางให้ห้องปฏิบัติการอื่นๆ พัฒนามาตรฐานห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานตามข้อกำหนดของระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005 หรือระบบคุณภาพอื่นๆ

การดำเนินการ

1. เตรียมความพร้อมการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อเอชไอวี

- ได้ทำการเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจติดตามคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวีหลังจำหน่าย โดยศึกษาแนวทาง ข้อกำหนด มาตรฐานในระดับอาเซียนและสากล ในการตรวจประเมินคุณภาพ ขอคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญ เยี่ยมชมห้องปฏิบัติการที่ปฏิบัติงานกับเชื้อไวรัสเอชไอวี และโรงงานผู้ผลิตชุดทดสอบในประเทศ เตรียมสถานที่เพื่อใช้เป็นห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานสากล และมาตรการด้านความปลอดภัยในการทำงานต่อโรคติดต่อ
- ได้จัดหาพลาสติกผ่านการตรวจสอบคุณลักษณะ (well characterized) จากศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทย ได้แก่ พลาสติกของผู้ติดเชื้อไวรัสเอชไอวี พลาสติกของผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และพลาสติกของผู้ที่ไม่ติดเชื้อ (คนปกติ) และชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ได้แก่ ชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี และชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสตับอักเสบบี ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย
- จัดหาวัสดุวิทยาศาสตร์ที่ใช้งานทดสอบ ได้แก่ แผ่นรองซับ หลอดสำหรับหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge tube) กรรไกร ปากหนีบปลายตรง และปากหนีบปลายโค้ง เป็นต้น จัดหาเครื่องมือวิทยาศาสตร์ จำนวน 8 รายการ ได้แก่ ตู้ปราศจากเชื้อแบบคลาส II เครื่องผสมสำหรับหลอดทดลอง เครื่องดูดปล่อยสารละลาย ตะเกียงเบนเซน ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ตู้แช่แข็งแบบพิเศษ-70 องศาเซลเซียส เครื่องบันทึกอุณหภูมิและเครื่องปรับอากาศ เพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ พร้อมจัดหาคู่มือการใช้งานของเครื่องมือต่างๆ ใ้บริเวณการใช้งานเครื่องมือต่างๆ และจัดทำวิธีการปฏิบัติงานอย่างง่าย (work instruction) เพื่อใช้งานเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

2. ดำเนินการตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005

บุคลากรกลุ่มน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดและผู้จัดการคุณภาพร่วมกันศึกษาทำความเข้าใจข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 เพื่อดำเนินการให้สอดคล้อง และประยุกต์ใช้ข้อกำหนด และปฏิบัติ เพื่อพัฒนาห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด ได้แก่

2.1 ให้ความรู้ด้านข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 และความรู้ด้านการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด

2.2 ศึกษาและดำเนินการตามข้อกำหนด ได้แก่ จัดเตรียมและทบทวนเอกสารระบบคุณภาพต่างๆ เพื่อขอรับการรับรองการทดสอบทางห้องปฏิบัติการของชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี เช่น คู่มือคุณภาพ มาตรฐานการปฏิบัติงาน แบบบันทึกการปฏิบัติงาน การใช้งานเครื่องมือต่างๆ จัดทำแผนสอบเทียบและบำรุงรักษาเครื่องมือ ประเมินความพึงพอใจของผู้รับบริการ การประเมินผู้ขาย ความรู้ ความสามารถของบุคลากร เป็นต้น

- จัดทำแผนบำรุงรักษาและสอบเทียบเครื่องมือ เพื่อให้เครื่องมือพร้อมใช้งาน และให้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง แม่นยำ ซึ่งห้องปฏิบัติการจะคัดเลือกเครื่องมือที่มีผลต่อการทดสอบ โดยจ้างหน่วยงานภายนอกที่ได้รับการรับรองด้านการสอบเทียบตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 โดยเครื่องมือที่ต้องสอบเทียบ ได้แก่ ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เก็บตัวอย่างชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี และชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสตับอักเสบบี ตู้แช่แข็งแบบพิเศษ -70 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เก็บพลาสมาที่ได้ผ่านการตรวจสอบคุณลักษณะของพลาสมา (well characterized) และพลาสมาควบคุม (control panel) สำหรับทดสอบคุณภาพของชุดตรวจฯ ปีเปิดอัตโนมัติ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการทดสอบคุณภาพของชุดตรวจฯ และตู้ปราศจากเชื้อแบบคลาส II เพื่อความปลอดภัยในการปฏิบัติงานของผู้ปฏิบัติงาน และสร้างความเชื่อมั่นในผลการทดสอบว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ

- ขึ้นทะเบียนผู้ขายใหม่และประเมินผู้ขาย (Supplier list) ในการจัดซื้อวัสดุวิทยาศาสตร์จากผู้ขายรายใหม่โดยต้องขึ้นทะเบียนรายชื่อผู้ขายรายใหม่ และประเมินผู้ขายตามเกณฑ์ที่สถาบันฯ ได้กำหนดไว้ในมาตรฐานการดำเนินงานเรื่องการคัดเลือกผู้ให้บริการและการตรวจรับพัสดุ ซึ่งสอดคล้องตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005

- จัดให้มีช่องทางรับข้อร้องเรียนจากลูกค้า ได้แก่ กล้องรับข้อร้องเรียน ทางจดหมายอิเล็กทรอนิกส์ ทางเว็บไซต์

- แต่งตั้งผู้ทำหน้าที่ผู้รับตัวอย่างในระดับกลุ่ม (sample custodian) เพื่อทำหน้าที่รับตัวอย่าง เบิกจ่ายควบคุมดูแล เก็บรักษา และทำลายตัวอย่าง ตามคู่มือควบคุมคุณภาพ (Quality Control Manual)⁽⁴⁾ และมาตรฐานการปฏิบัติงานเรื่องการรับและการทำลายตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่ส่งตรวจเพื่อเฝ้าระวังคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังจำหน่าย และควบคุมคุณภาพของชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี

- เข้าร่วมทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการในการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการ การตรวจเอชไอวีซีโรโลยีแห่งชาติร่วมกับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อเปรียบเทียบผลและคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการร่วมกับห้องปฏิบัติการอื่น และเพื่อประโยชน์ในการวางแผนพัฒนาประสิทธิภาพของห้องปฏิบัติการและได้ดำเนินการเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างบุคลากรภายในกลุ่ม เพื่อประเมินสมรรถนะของบุคลากร

- สัมภาษณ์ความพึงพอใจของผู้รับบริการ ปีละ 1 ครั้ง โดยใช้แบบสอบถามที่มีทั้งคำถามแบบปลายเปิดและคำถามปลายปิดเพื่อสำรวจความพึงพอใจ ความไม่พึงพอใจ และความเชื่อมั่นในการให้บริการพร้อมให้ระบุข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นเพื่อปรับปรุงการให้บริการ

- ตรวจสอบติดตามภายใน (internal audit) เพื่อทวนสอบระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการว่าได้ดำเนินการสอดคล้องตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 หรือไม่ และสร้างความเชื่อมั่นในผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ โดยบุคลากรของสถาบันชีวิตทำหน้าที่เป็นผู้ตรวจติดตามภายใน

- ประชุมทบทวนระบบบริหารคุณภาพ โดยผู้จัดการคุณภาพ ปีละ 1 ครั้ง ในช่วงเดือนกันยายนของทุกปี เพื่อสรุปและทบทวนผลการดำเนินงานตามระบบคุณภาพ และวางแผนงานในปีต่อไป

3. ขอการรับรองความสามารถทางการประเมินชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี

การตรวจติดตามจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (external audit) เป็นการขอรับการรับรองความสามารถทางห้องปฏิบัติการจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการว่าห้องปฏิบัติการที่ขอการรับรองมีการบริหารคุณภาพตามข้อกำหนดมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง มีนโยบายข้อกำหนดตามเงื่อนไขการรับรองฯ ของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ และมีความสามารถในรายการทดสอบที่ขอการรับรองโดยบุคลากรกลุ่มน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดดำเนินการร่วมกับ

ผู้จัดการคุณภาพในการติดต่อประสานงานกับสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการในการยื่นขอรับการตรวจติดตาม พร้อมหลักฐานและเอกสารที่เกี่ยวข้อง โดยผู้จัดการคุณภาพจะจัดเตรียมเอกสารตามระบบคุณภาพฉบับปัจจุบัน ทั้งในรูปแบบของเอกสารและอิเล็กทรอนิกส์ไฟล์ส่งให้แก่สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ พร้อมยื่นแบบฟอร์ม กว.1 กว.2 และ กว.3 เพื่อให้สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการตรวจประเมินรายการทดสอบที่ขอการรับรอง หลังจากนั้นสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการจะส่งทีมผู้ตรวจติดตาม (Auditor) เพื่อพิจารณาความสอดคล้องของระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005 และห้องปฏิบัติการ

ผลการดำเนินงาน

1. เตรียมความพร้อมการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี

1.1 สถาบันชีววัตถุได้จัดหาวิธีตามที่กำหนดในประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องชุดตรวจที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อเอชไอวี พ.ศ. 2552⁽⁶⁾ และต้องตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) เพื่อตรวจประเมินชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี และมีพื้นที่ปฏิบัติงานแยกจากงานทดสอบด้านอื่นๆ อย่างชัดเจน โดยแบ่งพื้นที่ให้มีขนาด กว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ $2.50 \times 3.50 \times 2.55$ เมตร และควบคุมการเข้า-ออกของบุคลากร เนื่องด้วยปฏิบัติงานต่อเชื้อไวรัสเอชไอวีและไวรัสตับอักเสบบี โดยมีสัญลักษณ์ Biosafety Level 2 หน้าห้องปฏิบัติการ กำหนดการแต่งกายเพื่อปฏิบัติงานทดสอบในห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งได้จัดหาวัสดุและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ได้เพียงพอต่อการใช้งานและสอดคล้องตามการใช้งาน และจัดเตรียมเอกสารระบบคุณภาพต่างๆ ได้ครบถ้วนตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 และได้จัดทำมาตรการด้านความปลอดภัยแก่ผู้ปฏิบัติงานและเจ้าหน้าที่งานสนับสนุนทางห้องปฏิบัติการ กำหนดในมาตรฐานการปฏิบัติงาน ดังนี้

- ผู้ปฏิบัติงานต้องสวมเสื้อกาวน์ สวมหมวกที่ปราศจากเชื้อ ปิด mask และสวมถุงมือทุกครั้งขณะปฏิบัติงาน และให้ปฏิบัติงานภายใต้ตู้ปราศจากเชื้อ
- ต้องระมัดระวังไม่ให้ตัวอย่างพลาสมาสัมผัสสาดแผลหรือร่างกาย
- พยายามให้ใช้อุปกรณ์ที่สัมผัสกับตัวอย่างประเภทใช้แล้วทิ้งให้มากที่สุด และหลังการปฏิบัติงานต้องทำให้ปราศจากเชื้อโดยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปกำจัดเช่นเดียวกับขยะทั่วไป
- เครื่องแก้วหรืออุปกรณ์ที่ต้องนำกลับมาใช้ใหม่ ที่สัมผัสกับตัวอย่าง ให้แช่ในสารละลาย 5% (v/v) Sodium Hypochlorite เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปสู่กระบวนการล้างและเตรียมใช้ครั้งต่อไป หรือให้ใช้อุปกรณ์ที่ใช้แล้วทิ้งเพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน

1.2 ได้แนวทางการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวีรวมทั้งการจัดเตรียมพลาสมาและการปฏิบัติงานต่อเชื้อไวรัสเอชไอวีจากข้อมูลเว็บไซต์ขององค์การอนามัยโลก ข้อมูลบนเว็บไซต์ของประเทศต่างๆ ในภูมิภาคอาเซียนเว็บไซต์วิชาการทั่วไป รวมทั้งจากการปรึกษาหารือร่วมกับผู้เชี่ยวชาญขององค์การอนามัยโลก

1.3 ได้แผนสอบเทียบเครื่องมือ 5 ชนิด ได้แก่ 1. ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส 2. ตู้แช่แข็งแบบพิเศษ -70 องศาเซลเซียส 3. ตู้ปราศจากเชื้อแบบคลาส II 4. ปีเปตอัตโนมัติ และปีเปตอัตโนมัติหลายช่อง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แผนสอบเทียบเครื่องมือ

Equipment	Senac code	Room	Serial No.	Model	Manu- facturer	Respon- sible	Calibra- point	Calibra Range
1. ตู้แช่แข็งแบบพิเศษ (-70 °C)	4110-010- 02-03-0008	ทางเดิน	04089251001S003	WUF -300	Daihan	อุบลวรรณ	-80 °C	≥80 °C
2. Larminar Flow	6636-003- 02-03-0002	219	2011-60396	LA2-4A1	ESCO	อุบลวรรณ	-	-
3. ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ	4110-001- 40-03-0011	219	11080097	MPR-1014	SANYO	อุบลวรรณ	5 °C	2-8 °C
4. Pipette								
- 2 เครื่อง	-	219	-	-	-	-	-	ปริมาตร
- 2 เครื่อง								-1-10 µl
- 6 เครื่อง								-10-100 µl
- 4 เครื่อง								-20-200 µl
								-100-1000µl
5. Multichannel pipette								
- 1 เครื่อง								
- 2 เครื่อง	-	219	-	-	-	-	-	ปริมาตร
								- 10-100 µl
								- 30-300 µl

2. ดำเนินการตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005

2.1 ได้พัฒนาความรู้ ความสามารถแก่ผู้ปฏิบัติงานเพื่อให้มีความรู้เพื่อใช้ในการปฏิบัติงาน ความรู้ในงานที่เกี่ยวข้อง และทักษะสมรรถนะที่จำเป็นสำหรับการปฏิบัติงาน โดยวิธีการพัฒนาต่างๆ ดังนี้

- การฝึกอบรม/สัมมนา ตามหลักสูตรทั้งที่หน่วยงานจัดเองและส่งบุคลากรเข้าร่วมอบรมจากหน่วยงานภายนอก ดังนี้

ได้จัดอบรมภายใน ได้แก่ ข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 การควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวีและการอ่านผลใบสอบเทียบเครื่องมือวิทยาศาสตร์

เข้าร่วมอบรมจากหน่วยงานภายนอก ได้แก่ การพัฒนาชุดทดสอบโดยหลักการ Immunochromatography การสุ่มตัวอย่างในงานวิจัย การสุ่มตัวอย่างเพื่อการยอมรับ การจัดการความเสี่ยงสำหรับเครื่องมือแพทย์ การทำให้ปราศจากเชื้อ การพัฒนาปรับปรุงคุณภาพอย่างต่อเนื่อง การประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการการตรวจเชื้อไวรัสเอชไอวีและภูมิคุ้มกันไวรัสตับอักเสบบี ความไม่แน่นอนสำหรับงานสอบเทียบและทดสอบ การอบรมข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 เพื่อเตรียมความพร้อมในการเป็นผู้ตรวจประเมิน กฎหมายเกี่ยวกับเครื่องมือแพทย์ และการจัดประเภทเครื่องมือแพทย์ตามความเสี่ยง

- ได้ความรู้จากการเรียนรู้จากการทำงาน ได้แก่ เรียนรู้จากการสอนงานเรื่องการปฏิบัติงานเกี่ยวกับพลาสมาที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ การฝึกอบรมในขณะปฏิบัติงาน (on the job training) ได้แก่ การใช้เครื่องแก้วและวัสดุวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ การใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ การประเมินคุณภาพชุดทดสอบการติดเชื้อเอชไอวีที่มีปัญหาหลังจำหน่าย การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ และการพัฒนาชุดทดสอบโดยหลักการ Immunochromatography การมอบหมายให้ปฏิบัติงานในการเตรียมพลาสมาเพื่อใช้ในการทดสอบคุณภาพทางห้องปฏิบัติการ สามารถเข้าใจแนวทางการผลิตและควบคุมคุณภาพชุดทดสอบจาก

การศึกษาฐานโรงงานผลิตชุดทดสอบ ได้ทำความเข้าใจร่วมแลกเปลี่ยนความคิดเห็น และปรับแก้ไขกฎหมายและกฎระเบียบในการควบคุมเครื่องมือแพทย์ที่มีความสอดคล้องกับแนวทางในการกำกับดูแลเครื่องมือแพทย์ของสากลจากการเข้าร่วมประชุมระดับอาเซียนด้านมาตรฐาน และคุณภาพของความร่วมมือด้านเครื่องมือแพทย์ และได้ทำความเข้าใจร่วมกันในการกำหนดแนวทางการทำหน้าที่เป็นผู้ควบคุมคุณภาพ และผู้ประเมินคุณภาพของเครื่องมือแพทย์จากการเข้าร่วมประชุมระดับอาเซียน ตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 จนถึงปัจจุบัน

- ได้พัฒนาตนเอง บุคลากรในกลุ่มงานได้ศึกษาค้นคว้าหาความรู้จากเว็บไซต์ และนำความรู้แลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกัน ในหัวข้อเรื่องข้อตกลงด้านกฎระเบียบ หลักเกณฑ์ และมาตรการควบคุมเครื่องมือแพทย์ตาม ASEAN Medical Device Directive (AMDD) ข้อกำหนดขององค์การอนามัยโลกที่เกี่ยวข้องกับชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี และชุดตรวจไวรัสตับอักเสบบี งานวิจัยทางด้านชุดทดสอบ การเลือกใช้ชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี และการจัดเตรียมพลาสติกสำหรับชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด

2.2 ผลการจัดทำและทบทวนเอกสารในระบบคุณภาพ ได้แก่ ปรับปรุงคู่มือควบคุมคุณภาพ (Quality Control Manual) จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน (SOP) และแบบบันทึกการปฏิบัติงาน (WS) จำนวน 9 เรื่อง นอกจากนี้ได้ทบทวนเอกสารคุณภาพ (SOP & WI) ที่เกี่ยวข้องกับระบบบริหารคุณภาพ จำนวน 4 เรื่อง ได้แก่ คู่มือควบคุมคุณภาพ การเข้าเยี่ยมชมการปฏิบัติงานภายในห้องปฏิบัติการสถาบันชีววัตถุ การรับและการจัดการตัวอย่างและวิธีล้างเครื่องแก้ว และพลาสติกสำหรับห้องปฏิบัติการ และศึกษาเอกสารคุณภาพ (SOP & WI) ที่เกี่ยวข้องในการปฏิบัติงานของสถาบันชีววัตถุ จำนวน 32 เรื่อง ได้แก่ การควบคุมเอกสารคุณภาพในระบบคุณภาพ การสำรองข้อมูล การจัดซื้อ/จัดจ้างโดยวิธีตกลงราคา การคัดเลือกผู้ให้บริการการตรวจรับพัสดุ ผลสะท้อนกลับจากลูกค้า การให้บริการลูกค้า ข้อมูลความลับ การละเว้นผลประโยชน์ การควบคุมงานทดสอบที่ไม่เป็นไปตามขั้นตอนการดำเนินงาน การปฏิบัติการแก้ไข การปฏิบัติการป้องกัน ระเบียบปฏิบัติในการใช้ห้องปฏิบัติการ การบริหารจัดการวัสดุที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ การควบคุมบันทึกคุณภาพ การควบคุมการเข้าถึงข้อมูลคอมพิวเตอร์ การสอบเทียบเครื่องมือ การจัดทำค่าของงบประมาณประจำปีของหน่วยงาน การดำเนินการประกันคุณภาพผลการทดสอบ การป้องกันและการถ่ายโอนข้อมูลคอมพิวเตอร์ การบำรุงรักษาเครื่องคอมพิวเตอร์ การจัดหาสินค้าและบริการ วิธีปฏิบัติงานเมื่อเครื่องมือเสียหรือใช้งานไม่ได้ ขั้นตอนการรับการขอรายงานผลวิเคราะห์ชีววัตถุ การดำเนินการเมื่อผลการวิเคราะห์ไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด การขอเปลี่ยนแปลงวิธีปฏิบัติกรณีเกิดเหตุฉุกเฉิน วิธีใช้เครื่องล้างไมโครเพลท การรับและการจัดการตัวอย่าง วิธีล้างเครื่องแก้วและพลาสติกสำหรับห้องปฏิบัติการ การตรวจติดตามภายในสถาบันชีววัตถุ การตรวจสอบความถูกต้องของชีววิธี แนวทางการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์และได้จัดทำเอกสารระบบคุณภาพขึ้นใหม่ (SOP & WS) เพื่อขอการรับรองความสามารถทางห้องปฏิบัติการของการทดสอบชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวีจำนวน 6 เรื่อง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 รายการ SOP และ WS ที่ได้จัดทำขึ้นใหม่

ที่	รายชื่อ	SOP	WS
1.	การประเมินชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี ชนิด Rapid test หลังการจำหน่าย	✓	✓
2.	การเตรียมชุดตัวอย่างควบคุมสำหรับการประเมินชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดชนิด Rapid test หลังการจำหน่าย	✓	✓
3.	การเตรียมตัวอย่างจากพลาสมาชนิด	✓	
4.	การตรวจสอบคุณลักษณะพลาสมาโดยชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสเอชไอวี HIV BLOT 2.2	✓	✓
5.	การตรวจสอบคุณลักษณะของพลาสมาด้วยชุดตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเอชไอวี โดยเทคนิค Gel Particle Agglutination	✓	✓
6.	การตรวจสอบคุณลักษณะของพลาสมาด้วยชุดตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเอชไอวี โดยเทคนิค ELISA	✓	✓

2.3 จากการประเมินผู้ขายพบว่าผู้ขายรายใหม่ทุกรายที่ได้ขึ้นทะเบียนเป็นผู้ขายวัสดุวิทยาศาสตร์ผ่านเกณฑ์การประเมินผู้ขาย

2.4 ไม่พบข้อร้องเรียนใดๆ ของผู้รับบริการ จากการให้บริการของสถาบันชีววัตถุ

2.5 ผลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ ในการตรวจไวรัสเอชไอวีตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 จนถึงปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 จำนวน 3 ครั้ง/ปี พบว่าผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการสอดคล้องกับผู้จัดแผนทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ คิดเป็นร้อยละ 100 และผลการทดสอบเพื่อประเมินสมรรถนะของบุคลากรภายในกลุ่ม พบว่าผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการให้ผลถูกต้อง สอดคล้องกัน ดังนั้น จึงเป็นการสร้างความเชื่อมั่นแก่ผู้รับบริการให้มั่นใจในระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ มีคุณภาพและประสิทธิภาพ

2.6 ผลการสำรวจความพึงพอใจของผู้รับบริการ ตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 จนถึงปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ได้คะแนน ดังนี้ ร้อยละ 90.21 ร้อยละ 88.37 ร้อยละ 93.50 และร้อยละ 92.47 ตามลำดับและผู้รับบริการเสนอข้อเสนอนี้และข้อควรปรับปรุง ซึ่งสถาบันชีววัตถุได้นำความต้องการ ความคาดหวังนั้นจัดทำแผนปรับปรุงการให้บริการของสถาบันชีววัตถุ เพื่อพัฒนางานบริการให้เป็นที่พึงพอใจแก่ผู้รับบริการ

2.7 ผลการตรวจติดตามภายในตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 จนถึง 2558 พบข้อบกพร่องและข้อสังเกตที่ต้องปรับปรุง เพื่อปรับปรุงการดำเนินงานให้สอดคล้องตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 รายการข้อบกพร่อง และข้อสังเกตที่พบจากการตรวจติดตามภายใน (Internal audit) และการแก้ไข

ปีงบประมาณ พ.ศ.	รายละเอียดข้อบกพร่อง/ข้อสังเกตที่พบ	การแก้ไข
2555	ข้อบกพร่อง	
	1. ไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน	จัดเก็บพลาสมาในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า และแก้ไขใน SOP ให้ตรงกับการปฏิบัติจริง
	2. ไม่สอบเทียบ Autopipette	ส่ง Autopipette สอบเทียบ และติดป้าย Calibrate Sticker ที่เครื่องมือ
	3. ไม่มีระบบสำรองข้อมูล	จัดเก็บข้อมูลสำรองสำหรับข้อมูลการทดสอบ
	4. ข้อมูลในมาตรฐานคู่มือปฏิบัติงานไม่ครบถ้วน	ทบทวน SOP 03 02 030 โดยเพิ่มเอกสารให้ครบถ้วน
	5. ซื้อสินค้าจากผู้ที่ยังไม่ได้รับการขึ้นทะเบียนผู้ขายสินค้าและบริการ	รวบรวมรายชื่อผู้แทนจำหน่ายวัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ วิทยาศาสตร์ เพื่อเป็นรายชื่อ supplier list ของสถาบันฯ
	6. เก็บรักษาตัวอย่างไม่เหมาะสม	แยกตัวอย่าง HIV Test kit ที่ต้องเก็บที่อุณหภูมิ 4-30 องศาเซลเซียส เก็บในช่วงอุณหภูมิตามที่ระบุไว้ข้างกล่อง
	7. ไม่สามารถสอบกลับสารมาตรฐานได้	ขอข้อมูลเพิ่มเติมที่แสดงรายละเอียด/วิธีการทดสอบ Positive/Negative Plasma ของ HIV
	ข้อสังเกต	
	1. มาตรฐานการปฏิบัติงานมีข้อมูลไม่ครบถ้วน	เพิ่มข้อมูลให้ครบถ้วน โดยแก้ไข ทบทวน SOP
	2. การตรวจติดตาม เฝาระวัง สภาวะของตู้เก็บตัวอย่างและพลาสมาไม่เป็นปัจจุบันและเพียงพอที่จะทำให้เฝ้าระวังการเฝาระวังอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงได้ทันทั่วทั้ง	ใช้วิธีการบันทึกอุณหภูมิของตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส และตู้แช่แข็งแบบพิเศษ -70 องศาเซลเซียส ในแบบบันทึกอุณหภูมิประจำวัน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

ตารางที่ 3 รายการข้อบกพร่อง และข้อสังเกตที่พบจากการตรวจติดตามภายใน (Internal audit) และการแก้ไข (ต่อ)

ปีงบประมาณ พ.ศ.	รายละเอียดข้อบกพร่อง/ข้อสังเกตที่พบ	การแก้ไข
	3. ไม่สามารถแสดงเอกสารหลักฐานการประเมินผลการฝึกอบรมของบุคลากรได้	บันทึกการฝึกอบรมในรูปแบบบันทึกการฝึกอบรมปฏิบัติงานของสถาบันฯ ทุกครั้ง ที่ได้รับการอบรมทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นความรู้ใหม่
2556	ข้อบกพร่อง	
	1. ผู้ปฏิบัติงานไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานการปฏิบัติงานในหัวข้อด้านความปลอดภัย	ให้นักวิเคราะห์ทำ Flow Chart การทำความสะอาดอุปกรณ์จากห้อง Lab
	2. ไม่มีวิธีปฏิบัติที่ชัดเจนในการควบคุมเก็บรักษาดูแลความปลอดภัยระหว่างการขนย้ายพลาสติก	เพิ่มเติมข้อความรายละเอียด วิธีการดำเนินการใน SOP ให้ครบถ้วน
	3. มาตรฐานการปฏิบัติงานมีข้อมูลไม่ครบถ้วน	ทบทวนแก้ไข SOP ให้มีรายละเอียดวิธีดำเนินการอย่างละเอียด และให้ผู้ที่ไม่ได้ปฏิบัติงานทางด้านงานของกลุ่ม IVD ตรวจสอบเพื่อให้สามารถเข้าใจวิธีดำเนินการได้
	4. มาตรฐานการปฏิบัติงานไม่ชัดเจน ทำให้เกิดความสับสนในการใช้งานหรือปฏิบัติตามได้	ยกเลิกการใช้งาน SOP เนื่องจากเป็นการจัดทำเอกสารล่วงหน้าก่อนการปฏิบัติจริง
	5. ผู้ปฏิบัติงานไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน	แก้ไขบันทึกบุคลากรให้ถูกต้องตาม SOP และให้บุคลากรทำความเข้าใจวิธีปฏิบัติงานให้ถูกต้อง
	ข้อสังเกต	
	1. ไม่ระบุหมายเลขครุภัณฑ์ของตู้เย็น 2-8 องศาเซลเซียส ที่ใช้ในมาตรฐานการปฏิบัติงาน	เพิ่มเติมรายละเอียดหมายเลขครุภัณฑ์ของตู้เย็นที่ใช้ในห้อง Lab ใน SOP
	2. พบความไม่ถูกต้องในมาตรฐานการปฏิบัติงาน	ทบทวนแก้ไข SOP ให้ถูกต้อง
	3. ไม่มีระบบติดตามคุณภาพของพลาสติกในระหว่างการเก็บรักษาเพื่อยืนยันว่ายังใช้งานได้เป็นปกติ	ทบทวน SOP การปฏิบัติงานเพื่อตรวจสอบคุณภาพของพลาสติกที่เก็บไว้ใช้งาน
	4. ไม่พบเอกสารอ้างอิงในขณะดำเนินการตรวจติดตาม (audit)	แนบเอกสารอ้างอิงเพิ่มเติมในทุก SOP ถึงแม้จะเป็นเอกสารอ้างอิงเดียวกัน
2557	ข้อสังเกต	
	1. ไม่พบการควบคุมคุณภาพของพลาสติก (control panel) ที่ใช้ในการทดสอบว่ายังคงสภาพ positive อยู่	จัดให้มีการทดสอบคุณภาพของพลาสติกที่นำมาใช้ทดสอบเป็น control panel ชุดตรวจวินิจฉัยไวรัส HIV ว่ายังมีคุณภาพสามารถนำมาใช้เป็น control panel ได้
	2. ไม่พบโปรแกรมการทดสอบความชำนาญของบุคลากร	เปรียบเทียบผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการระหว่างบุคลากรในกลุ่ม ในการทดสอบ HIV test kit ด้วย Control panel
2558	ข้อบกพร่อง	
	1. ไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน	ทบทวนและแก้ไข SOP ตามที่ปฏิบัติงานจริง

ตารางที่ 3 รายการข้อบกพร่อง และข้อสังเกตที่พบจากการตรวจติดตามภายใน (Internal audit) และการแก้ไข (ต่อ)

ปีงบประมาณ พ.ศ.	รายละเอียดข้อบกพร่อง/ข้อสังเกตที่พบ	การแก้ไข
	ข้อสังเกต	
	1. มาตรฐานการปฏิบัติงานไม่ถูกต้อง พบพิมพ์ผิด	ทบทวนและแก้ไข SOP ให้ถูกต้อง
	2. ไม่มีการลงบันทึกอุณหภูมิตู้แช่แข็งแบบพิเศษ -70 องศาเซลเซียส กรณีผู้รับผิดชอบลางาน และไม่มีคนทำหน้าที่แทน	มอบหมายผู้รับผิดชอบเพิ่มเติม เพื่อบันทึกอุณหภูมิ กรณีผู้ทำหน้าที่หลักไม่สามารถปฏิบัติหน้าที่ได้
	3. การตัดสินใจไม่เป็นไปตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน	ทบทวนมาตรฐานการปฏิบัติงาน
	4. แบบบันทึกการปฏิบัติงานไม่เหมาะสมแก่การปฏิบัติงาน	ทบทวนและแก้ไข WS ตามการปฏิบัติงานจริง
	5. คำสั่งแต่งตั้งผู้ทำหน้าที่รับตัวอย่างของกลุ่มไม่เป็นปัจจุบัน	ทบทวนคำสั่งแต่งตั้งผู้ทำหน้าที่รับตัวอย่างของกลุ่มให้เป็นปัจจุบัน

เมื่อสิ้นสุดการตรวจติดตามภายใน ห้องปฏิบัติการต้องรีบดำเนินการแก้ไขข้อบกพร่อง ข้อสังเกตที่พบภายในระยะเวลาที่กำหนด เพื่อให้การดำเนินงานของห้องปฏิบัติการสอดคล้องตามข้อกำหนด และเตรียมความพร้อมในการขอรับการตรวจติดตามจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการต่อไป

3. ขอการรับรองความสามารถทางประเมินชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี

ในการตรวจติดตามเพื่อขอรับการรับรองความสามารถทางห้องปฏิบัติการนั้น ห้องปฏิบัติการได้สาคัดขั้นตอนการทดสอบชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี เพื่อแสดงความรู้ความสามารถให้แก่ผู้ตรวจติดตาม และเข้ารับการสัมภาษณ์ความรู้ ความเข้าใจในมาตรฐานข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 โดยผลการตรวจติดตามเพื่อขอรับการรับรองในปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 และเฝ้าระวังความสามารถทางห้องปฏิบัติการในการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 รายการข้อบกพร่องที่พบจากการตรวจติดตาม จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการและการแก้ไข

ปีงบประมาณ พ.ศ.	รายละเอียดข้อบกพร่อง/ข้อสังเกตที่พบ	การแก้ไข
2555	ข้อบกพร่อง	
	1. ไม่มีการบันทึกขณะทำการทดสอบ	บันทึกการเตรียมตัวอย่างจากพลาสมาชนิด และชุดตัวอย่างควบคุมสำหรับการประเมินชุดตรวจวินิจฉัยโรคที่ติดต่อทางเลือด ลงใน WS
	2. การบ่งชี้องค์ประกอบในการควบคุมคุณภาพและความไม่แน่นอนของการประเมินชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสเอชไอวีในมาตรฐานการปฏิบัติงานไม่ครบถ้วน	ทบทวน SOP โดยเพิ่มเติมรายละเอียดหัวข้อการควบคุมคุณภาพ

ตารางที่ 4 รายการข้อบกพร่องที่พบจากการตรวจติดตาม จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการและการแก้ไข

ปีงบประมาณ พ.ศ.	รายละเอียดข้อบกพร่อง/ข้อสังเกตที่พบ	การแก้ไข
	ข้อสังเกต	
	1. มาตรฐานการปฏิบัติงานเขียนไม่ชัดเจน	ทบทวน SOP ให้มีรายละเอียดชัดเจน เพื่อให้สามารถปฏิบัติงานได้ถูกต้อง
	2. ไม่พบใช้กล่องถึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของตู้แช่แข็งแบบพิเศษ -70 องศาเซลเซียสที่ใช้เก็บตัวอย่างพลาสมาสำหรับการทดสอบ	จัดหาใช้กล่องถึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของตู้แช่แข็งแบบพิเศษ -70 องศาเซลเซียส
	3. ไม่มีหลักฐานการมอบหมายงาน การฝึกอบรมการอ่านแถบสีของการทดสอบชุด HIV rapid test	จัดทำหนังสือมอบหมายให้บุคลากรมาช่วยปฏิบัติงานในการทดสอบ HIV rapid test จัดทำแบบประเมินผลการอบรม และบันทึกการอบรมในแบบบันทึกการอบรม (Training record)
2558	ไม่พบข้อบกพร่องหรือข้อสังเกตใดๆ จากการตรวจติดตามเพื่อเฝ้าระวังในปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ	-

ห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด สถาบันชีววัตถุกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รับการรับรองความสามารถในการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี ตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 ตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 จนถึงปัจจุบัน

และได้ดำเนินการปรับปรุงคุณภาพอย่างต่อเนื่อง (Continuous improvement) เพื่อรักษาคุณภาพและความสามารถทางวิชาการของห้องปฏิบัติการให้เป็นไปตามมาตรฐานของข้อกำหนดตลอดระยะเวลาที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 อยู่เสมอ โดยสิ่งที่ได้ดำเนินการปรับปรุง มีดังนี้

1. บันทึกอุณหภูมิแบบอัตโนมัติของตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิและตู้แช่แข็งแบบพิเศษทุกวันเพื่อตรวจสอบอุณหภูมิประจำวัน แทนการบันทึกมือ ซึ่งสามารถเก็บข้อมูลอุณหภูมิของตู้เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการสอบเทียบ หรือกรณีเกิดเหตุไม่พึงประสงค์ของตู้ เช่น ประตูตู้ปิดไม่สนิท ไฟฟ้าดับหรือไฟตก เป็นต้น

2. การตรวจสอบคุณภาพของพลาสมาที่ใช้เป็นพลาสมาควบคุม (control panel) เพื่อให้มั่นใจว่าพลาสมา ยังคงมีคุณภาพดี สามารถใช้ทดสอบทางห้องปฏิบัติการได้

การปฏิบัติราชการตามเกณฑ์คุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐ⁽⁷⁾ ของสถาบันชีววัตถุที่สอดคล้องกับการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 สามารถอธิบายการดำเนินงานที่สอดคล้องแต่ละหมวดของเกณฑ์คุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐ ได้ดังนี้

1. การนำองค์กร

ผู้บริหารหน่วยงานได้ประกาศนโยบายอย่างชัดเจนในการพัฒนาห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารับวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดให้ได้มาตรฐานตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 และสื่อสารในการประชุมของหน่วยงาน และเวทีประชุมของคณะทำงานพัฒนาระบบคุณภาพ เพื่อให้บุคลากรในหน่วยงานรับทราบโดยทั่วกัน และทุกคนได้มีส่วนร่วมในการผลักดันให้งานบรรลุผลสำเร็จ อีกทั้งผู้บริหารผลักดันและสนับสนุนการดำเนินงานในส่วนต่างๆ เช่น งบประมาณ พื้นที่สำหรับห้องปฏิบัติการ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เป็นต้น พร้อมให้ข้อเสนอแนะทางด้านวิชาการที่เป็นประโยชน์แก่การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการ และมอบนโยบายแก่ผู้จัดการคุณภาพเพื่อขอรับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005

2. การวางแผนยุทธศาสตร์

บุคลากรกลุ่มนั้ยวินิกจัญโรคติดตอทางเลือดดําเนินงานร่วมนกับผู้จัดการคุณภาพ และบุคลากรของกลุ่มพัฒนาคุณภาพและวิชาการในการดําเนินการตามแผนปฏิบัติการเพื่อขอรับการรับรอง ได้แก่ ให้ความรู้ ความเข้าใจเรื่องระบบคุณภาพ จัดทำเอกสารระบบคุณภาพ ติดตามความก้าวหน้าผลการดําเนินงานในการประชุมระบบคุณภาพของสถาบัน และประชุมเพื่อทบทวนระบบบริหารคุณภาพ ปีละ 1 ครั้ง

3. การให้ความสำคัญกับผู้รับบริการ และผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย

ให้ความร่วมมือกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เพื่อเฝ้าระวังคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังจำหน่าย ได้แก่ ชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสเอชไอวี ที่สุมเก็บในสถานที่ของผู้ประกอบการหรือสุมเก็บจากด่าน และนำส่งโดยผู้ประกอบการ ได้ประชุมร่วมกันเพื่อจัดทำมาตรฐานการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดตอทางเลือดของภูมิภาคอาเซียนในฐานะของหน่วยงานควบคุมกำกับของประเทศไทย รวมทั้งสำรวจความพึงพอใจ และความไม่พึงพอใจของผู้รับบริการ

4. การวัด การวิเคราะห์และการจัดการความรู้

คอมพิวเตอร์ได้ถูกใช้เป็นเครื่องมือที่สำคัญในการจัดการความรู้⁽⁸⁾ และเข้าถึงข้อมูลความรู้ต้องสํารองข้อมูลตามมาตรฐานการปฏิบัติงานเรื่องการสํารองข้อมูล และค้นคว้าหาความรู้ใหม่ เพื่อแลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกันร่วมกันอภิปรายข่าวสารเพื่อการพัฒนา และปรับปรุงงานอย่างต่อเนื่อง ได้เผยแพร่ความรู้ด้านนั้ยวินิกจัญโรคติดตอทางเลือด แนวทางการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวีในเว็บไซต์ของสถาบัน

5. การมุ่งเน้นบุคลากร

ได้พัฒนาความรู้ ความสามารถให้แก่บุคลากรโดยพิจารณาถึงความเหมาะสม และความต้องการการฝึกอบรมของบุคลากร เพื่อให้แผนพัฒนาบุคลากรรายบุคคลมีประสิทธิภาพสูงสุด

6. การจัดการกระบวนการ

ได้พัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการด้านนั้ยวินิกจัญโรคติดตอทางเลือด และได้รับการรับรองความสามารถตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 ในการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี ตามบทบาทหน้าที่ของสถาบันชีวิตตอในการประกันคุณภาพและประเมินความเสี่ยงของผลิตภัณฑ์ รวมถึงการพัฒนาและกำหนดมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการของชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดตอทางเลือดในการเฝ้าระวังคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังจำหน่าย

7. ผลลัพธ์การดําเนินงาน

ผลสํารองของการดําเนินการ คือ การประเมินชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสเอชไอวี ของห้องปฏิบัติการด้านนั้ยวินิกจัญโรคติดตอทางเลือดได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ สํารองตามเป้าหมาย

ดังนั้น ปัจจัยแห่งความสำเร็จในการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการ คือ การปฏิบัติราชการตามเกณฑ์คุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐ ซึ่งจำเป็นต้องได้รับความร่วมมือจากบุคลากรทุกระดับในหน่วยงานและการเตรียมความพร้อมเพื่อขอรับการตรวจติดตาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งนโยบายของผู้บริหารการพัฒนาบุคลากรให้มีสมรรถนะที่จำเป็นในการปฏิบัติงานและการปฏิบัติงานให้สอดคล้องตามมาตรฐานข้อกำหนด

สรุป

สถาบันชีววัตถุสามารถก่อตั้งห้องปฏิบัติการด้านน้ำยารักษาโรคติดต่อทางเลือดที่มีความสามารถตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 จำนวน 1 ห้องปฏิบัติการ คือ ห้องปฏิบัติการทดสอบคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสเอชไอวี จากการตรวจติดตามโดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 และได้รับการตรวจติดตามเพื่อเฝ้าระวังความสามารถของห้องปฏิบัติการเป็นประจำทุกปี นอกจากนี้สถาบันชีววัตถุได้เตรียมความพร้อมเพื่อขอขยายขอบข่ายการรับรองในรายการทดสอบชุดตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดอื่นอีก ได้แก่ ชุดตรวจวินิจฉัยไวรัสตับอักเสบนิดบี และซี

ห้องปฏิบัติการอื่นสามารถใช้แนวทางการดำเนินงานที่สอดคล้องตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 และแนวทางการปฏิบัติราชการตามเกณฑ์คุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐเป็นต้นแบบเพื่อพัฒนามาตรฐานห้องปฏิบัติการให้ได้รับการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 หรือระบบคุณภาพอื่นๆ ได้

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. ข้อกำหนด มอก. 17025-2548. [ออนไลน์]. 2559; [สืบค้น 25 มีนาคม 2559]; [32 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: <http://www.sec.psu.ac.th/home/downloads/17025-2548.pdf>.
2. ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: International Organization for Standardization; 2005.
3. กฎกระทรวงแบ่งส่วนราชการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2552. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 126, ตอนที่ 98 ก. (ลงวันที่ 28 ธันวาคม 2552).
4. สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. คู่มือควบคุมคุณภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 13. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2557.
5. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ. นโยบายการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านการแพทย์และสาธารณสุข. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 25 ตุลาคม 2558]; [18 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://blqs.dmsc.moph.go.th/blqs/ThR0715001Rev15_27Jan58.pdf
6. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ชุดตรวจที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อเอชไอวี. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 126, ตอนพิเศษ 179 ง. (ลงวันที่ 14 ธันวาคม 2552).
7. สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาระบบราชการ. เกณฑ์คุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐระดับพื้นฐาน ฉบับที่ 2. กรุงเทพฯ : บริษัท วิชั่นพรีนซ์ แอนด์ มีเดีย จำกัด; 2558.
8. ทิพวรรณ หล่อสุวรรณรัตน์. ระบบสารสนเทศเพื่อการจัดการ. พิมพ์ครั้งที่ 12. กรุงเทพฯ : แชนโพร พรินติ้ง; 2555.

Capacity Building of Laboratory for *In Vitro* Diagnostic of Blood Transmitted Diseases to Comply with Requirements of ISO/IEC 17025:2005

Ubonwan Chaiarrayalert Puntawit Natakul Teerapon Kachacheewa
and Sakalin Trisiriwanich

Institute of Biological Products

ABSTRACT Development of quality management system of *in vitro* diagnostics (IVD) for blood transmitted diseases laboratory, Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, has been conducted under the capacity building plan of the Institute in order to assure the quality of IVD for blood transmitted diseases and reducing the risk of fault in screening of blood donors which will affect the quality and safety of blood products. The laboratory system has been developed through Public Sector Management Quality Award (PMQA) processes, including executive's policy; planning; customer and stakeholder focus; information and analysis; human resource focus; and operations focus in conjunction with ISO/IEC 17025:2005 requirements. As a result of this development, the laboratory has been certified for ISO/IEC 17025:2005 with the key success factors including executive's policy; human competency development and appropriate operations in accordance with the quality system's requirements.

Key words: Public Sector Management Quality Award, Audit, In vitro diagnostic test kit, Quality, ISO/IEC 17025:2005



ใบสมัครเป็นสมาชิก วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ชื่อ.....

ที่อยู่.....

อาชีพ.....

โทรศัพท์.....

ต้องการรับ วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เวลา 1 ปี (4 ฉบับ) เป็นเงิน 200.- บาท

ตั้งแต่ปี.....

พร้อมนี้ได้ส่ง

☐ ธนาคัต

☐ ตัวแลกเงินไปรษณีย

☐ เงินสด

ส่งจ่าย

นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ

ห้องสมุดกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ซอยโรงพยาบาลบำราศนราดูร ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

โทร. 0-2589-9850-8 ต่อ 99339

E-mail.....

ส่งจ่าย ปณณ. กระทรวงสาธารณสุข รหัสไปรษณีย 11000

THE BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

The bulletin of the Department of Medical Sciences is an official publication of the Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. It is devoted to the dissemination of knowledge concerning medical sciences and the facilitation of co-operation among scientists.

Owner	Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health	
Administrative Advisor	Sukhum Karnchanapimai	Phichet Banyati
	Worawit Kittiwongsunthorn	Somlerk Jeungsamarn
Technical Advisor	Prasert Thongcharoen	Panadda Silva
	Amara Vongbuddhapitak	Mayura Kusum
	Jongdee Wongpinairat	Pimjai Naigowit
	Supatra Im-Erb	Sumol Pavittranon
Editor	Teeranart Jivapaisarnpong	Department of Medical Sciences
Assistant Editor	Laojana Chowanadisai	Independent scholar
Editorial Board	Prasert Auewarakul	Siriraj Hospital, Mahidol University
	Orasa Suthienkul	Thammasart University
	Pilaipan Puthavathana	Siriraj Hospital, Mahidol University
	Punnee Pitisuttithum	Mahidol University
	Pintip Phongpech	Chulalongkorn University
	Suchada Chaisawadi	King Mongkut's Institute of Technology Thonburi
	Danai Tiwawech	Naresuan University
	Suwanna Charunut	Huachiew Chalermprakiet University
	Hansa Chaivanit	Independent scholar
	Pathom Sawanpanyalert	Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health
	Usavadee Thavara	Independent scholar
	Salakchit Chutipongvivate	Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health
	Duanthanorm Promkhatkaew	Department of Medical Sciences
	Punthip Teeyapant	Department of Medical Sciences
	Busarawan Sriwanthana	Department of Medical Sciences
	Kanokporn Atisook	Department of Medical Sciences
Administration	Siri Srimanoroth	Department of Medical Sciences
	Wichuda Jariyapan	Department of Medical Sciences
	Supanee Duangteraprecha	Department of Medical Sciences
	Namfon Noiprasert	Department of Medical Sciences
	Prasan Julwong	Department of Medical Sciences
Subscription Rate	The Bulletin of the Department of Medical Sciences is published quarterly. Annual subscription rate is ฿ 200.00 for domestic and US.\$ 50.00 for all other countries.	
Office	Department of Medical Sciences 88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand. Tel. 0-2951-0000 Fax: 0-2951-1297	
Printed by	Aroonkarnpim Ltd., Part. 457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200 Tel. 0-2282-6033-4	



มุ่งมั่นพัฒนา คำนึงวิจัย ฉบับบริการ มาตรฐานสากล

www.dmasc.moph.go.th