

วารสาร



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 58 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2559 Vol. 58 No. 2 April - June 2016

ISSN 0125-684X

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่
ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ ที่ปรึกษาด้านบริหาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นพ.อภิชัย มงคล พญ.วารุณี จินารัตน์		นางจุรีภรณ์ บุญยวงศ์โรจน์
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	ศ.เกียรติคุณ นพ.ประเสริฐ ทองเจริญ ภญ.อมรมา วงศ์พุทธพิทักษ์ ภญ.ดร.จงดี ว่องพินัยรัตน์ ภญ.สุภัทรา อิ่มเอิบ	ดร.ปนัดดา ชิลวา พญ.มยุรา กุสุมภ์ นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท ภญ.ดร.สุมล ปวีตรานนท์	
บรรณาธิการ	นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์		
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	ดร.เลาจนา เชาวนาดีชัย		
คณะบรรณาธิการ	ศ.ดร. นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล ศ.ดร.พิไลพันธ์ พุฒวัฒน์ รศ.ดร.ภญ.พิมพ์ทิพย์ พงษ์เพชร ดร.दनัย ทิวาเวช นางพรรษา ไชยวานิช ดร.เดือนถนอม พรหมขัติแก้ว ดร.สลักจิต ชูติพงษ์วิเวท ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรณนะ นางกนกพร อธิสุข ภญ. ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา	ศ. ดร.อรษา สุตเธียรกุล ศ. พญ.พรรณี ปิติสฤทธิธรรม ผศ.สุชาดา ไชยสวัสดิ์ นางสุวรรณา จารุณช ดร. นพ.ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ นางสาวพรรณทิพย์ ตียพันธ์ุ ดร.อุษาวดี ถาวรระ นายศิริ ศรีมนโรถ นางวิชชุดา จริยะพันธ์	
ฝ่ายจัดการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ นางสาวประสาน จุลวงษ์		
กำหนดออก	ราย 3 เดือน		
อัตราสมาชิก	ในประเทศปีละ 200.- บาท ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา		
สำนักงานวารสาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000 โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297		
พิมพ์ที่	หจก. อรุณการพิมพ์ 457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200 โทร. 0-2282-6033-4		

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 58 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2559

Vol. 58 No. 2 April - June 2016

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

- คุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยใน 6 จังหวัด ภาคกลางของประเทศไทย
ระหว่างปีงบประมาณ 2556-2557 73
จินดา ทองเรือง
- การเฝ้าระวัง *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*
และ *Salmonella* spp. ในเนื้อปูต้มแกะ 80
ศศิธร จุติเพชรกุล กนกพรรณ สมบูรณ์ทรัพย์ และศรีวรรณ หัตถยานานนท์
- การตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มทาเลท (Phthalates) ในผลิตภัณฑ์สุขภาพโดยวิธี UPLC/DAD 93
ศิริพร ทองประกายแสง
- วิธีวิเคราะห์ปริมาณโคลเบทาซอลโพรพิโอเนตในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง 108
โดยวิธี ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี
นวลพรรณ ไพบูลย์ศรีนครา และนันทนา กลิ่นสุนทร

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

- การพัฒนาระบบคุณภาพมาตรฐานเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข
เขตสุขภาพที่ 7 120
สุทัศน์ วิมลเศรษฐี อีรวัฒน์ สุภาวัฒน์พันธ์ และอุดมเกียรติ พรธนะประเทศ
- การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อผิวหนังสัตว์ทดลอง 130
ทิมมพร แยมสอาด กิ่งกาญจน์ ตอบงาม มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์ และสมชาย แสงกิจพร

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 58 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2559

Vol. 58 No. 2 April - June 2016

CONTENTS

Page

Original Articles

- Quality of Diagnostic x-ray Units in 6 Provinces of Central Part of Thailand During 2013-2014** 73

Chinda Tongruang

- Surveillance of *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in Boiled Crab Meat** 80

Sasithorn Thitipetchrakul Kanokpan Somyoonsup and Sriwanna Hatayananont

- Simultaneously Quantitative of Phthalates in Health Care Products by UPLC/DAD** 93

Siriporn Thongprakaisang

- Determination of Clobetasol Propionate in Cosmetic Products by High Performance Liquid Chromatography** 108

Nuanpan Paiboonsrinakra and Nantana Klinsunthorn

Laboratory Findings

- Improvement of Quality System in Laboratory Network of the Region 7 Health Service** 120

Sutudsanee Vimolsarte Teerawat Supawatanapun and Udomkiat Puntanaprated

- Primary Skin Irritation Test in Laboratory Animal for Health Products** 130

Thicomporn Yamsaard Kingkan Tobngam Maskiet Boonyareth and Somchai Sangkijporn



บทบรรณาธิการ



การปฏิบัติราชการรอบ 6 เดือนแรกของปีงบประมาณ 2559 ได้ผ่านพ้นไปแล้วเมื่อเดือนมีนาคม 2559 ซึ่งทางกองบรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทำการสำรวจความพึงพอใจต่องานบริการด้านวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และได้รับคำแนะนำที่จะต้องไปปรับปรุงพัฒนา ในประเด็นต่างๆ ได้แก่ 1) การดำเนินการพิจารณาบทความเพื่อตีพิมพ์และระยะเวลาในการตรวจสอบ ทบทวน บทความที่ส่งตีพิมพ์ล่าช้าควรเพิ่มความรวดเร็วให้มากกว่านี้; 2) ควรกำหนดระยะเวลาและขั้นตอนการให้บริการให้ชัดเจน และแจ้งให้ผู้ใช้บริการทราบ เพื่อการตัดสินใจของผู้ใช้บริการ; 3) ควรเพิ่มช่องทางการติดต่อสื่อสารเพื่อติดตามความก้าวหน้าของการพิจารณาบทความ; 4) ควรมีระบบตอบรับหลังรับบทความ และระยะเวลาในการดำเนินการ; และ 5) ระยะเวลาการทวนเอกสารของผู้เชี่ยวชาญค่อนข้างนาน ควรหาผู้เชี่ยวชาญในสาขาที่เหมาะสมเพิ่มเติม ซึ่งคำแนะนำเหล่านี้ทางกองบรรณาธิการขอน้อมรับด้วยความขอบคุณ

สำหรับการปรับปรุงพัฒนาระบบการทำงานเพื่อให้มีประสิทธิภาพ และรวดเร็วยิ่งขึ้นทางกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยกองบรรณาธิการได้วางแผนดำเนินการมาตั้งแต่ต้นปี พ.ศ. 2559 โดยนำเทคโนโลยีสารสนเทศสมัยใหม่มาช่วย เช่น การจัดทำระบบฐานข้อมูลผู้เชี่ยวชาญและฐานข้อมูลบทความ การพัฒนาระบบ Online submission ผสมกับระบบการบริหารจัดการบทความผ่าน online โดยมีแผนจะนำมาทดลองใช้ภายในเดือนกรกฎาคม 2559 นี้ รวมทั้งกำลังดำเนินการพัฒนาช่องทางการสื่อสารผ่านเว็บไซต์ของสำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งหากดำเนินการทั้งหมดแล้วเสร็จสมบูรณ์ คาดว่าจะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นอกจากนี้แล้ว วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ยังได้รับเกียรติจากผู้เชี่ยวชาญอาวุโสด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ มาร่วมเป็นคณะบรรณาธิการเพิ่มอีก 3 ท่านได้แก่ ดร. นพ.ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ นางहरषा ไชยวานิช และนางสุวรรณา จารุสุข รวมทั้ง ศ.เกียรติคุณ นพ.ประเสริฐ ทองเจริญ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เกียรติยศประจำปี พ.ศ. 2559 ที่ให้เกียรติร่วมเป็นที่ปรึกษาด้านวิชาการของวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ตั้งแต่ฉบับนี้เป็นต้นไป ซึ่งบรรณาธิการขอขอบพระคุณท่านที่ปรึกษาและคณะบรรณาธิการทุกท่านเป็นอย่างสูง

นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์
บรรณาธิการ

คุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยใน 6 จังหวัด ภาคกลางของประเทศไทย ระหว่างปีงบประมาณ 2556 – 2557

จินดา ทองเรือง

สำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การประกันคุณภาพของการถ่ายภาพทางรังสีขึ้นอยู่กับสถานะของการใช้เครื่องเอกซเรย์ซึ่งมีความจำเป็นต้องป้องกันไม่ให้เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานทางรังสี ผู้ป่วย และบุคคลทั่วไปได้รับปริมาณรังสีมากเกินไป ในปีงบประมาณ 2556-2557 สำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ดำเนินการตรวจสอบคุณภาพของเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่ติดตั้งในโรงพยาบาลทั้งภาครัฐและเอกชนใน 6 จังหวัดของเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี นครนายก สระบุรี พระนครศรีอยุธยา และกรุงเทพมหานคร จำนวน 3,459 เครื่อง โดยดำเนินการตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง ข้อปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัย ผลจากการตรวจสอบพบว่า เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่เป็นไปตามข้อกำหนดมีจำนวน 3,362 เครื่อง และที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดมีจำนวน 97 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 2.80 ซึ่งรายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ได้แก่ การทดสอบเครื่องจำกัดลำรังสี ความเป็นเชิงเส้น ความแม่นยำของค่ากิโลโวลต์ และความแม่นยำของค่าเวลาในการฉายรังสี คิดเป็นร้อยละ 1.03, 0.72, 0.59 และ 0.53 ตามลำดับ ดังนั้นเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยในเขตภาคกลางยังต้องมีการปรับปรุงคุณภาพเพื่อให้ได้ภาพถ่ายทางรังสีที่ดี มีคุณภาพ เพื่อให้แพทย์สามารถวินิจฉัยโรคได้ถูกต้อง และผู้ที่เกี่ยวข้องมีความปลอดภัยจากรังสี

บทนำ

ปัจจุบันเครื่องเอกซเรย์ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทางการแพทย์และสาธารณสุข โดยเฉพาะทางด้านการวินิจฉัยโรคซึ่งทำให้แพทย์สามารถวินิจฉัยโรคได้ถูกต้อง แม่นยำ และมีประสิทธิภาพ เครื่องเอกซเรย์ที่ใช้ในทางการแพทย์จึงต้องมีการขออนุญาตตามกฎหมายซึ่งออกตามพระราชบัญญัติพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ พ.ศ. 2504⁽¹⁾

การใช้รังสีเอกซ์แม้ว่าจะมีประโยชน์แต่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานด้านรังสี ผู้ป่วย และบุคคลทั่วไปได้ การได้รับปริมาณรังสีมีผลต่อระดับของเซลล์ในร่างกายโดยตรง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่อาจนำไปสู่การเกิดโรคมะเร็ง หรือหากได้รับรังสีในปริมาณสูง อาจทำให้เสียชีวิต มีผลทางพันธุกรรม คุณภาพของเครื่องเอกซเรย์ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับมีความถูกต้อง ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากเครื่องเอกซเรย์จะต้องมีค่าน้อยที่สุดในขณะที่คุณภาพของภาพถ่ายทางรังสีต้องใช้ประโยชน์ได้^(2, 3)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ มีหน้าที่ตรวจสอบควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของเครื่องกำเนิดรังสีที่ใช้ในทางการแพทย์และสาธารณสุข ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง ข้อปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัย วันที่ 15 ตุลาคม 2550 โดยมีข้อกำหนดที่สำคัญที่ระบุไว้⁽⁴⁾ เป็นเกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพ

เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่อยู่ภายใต้ความรับผิดชอบของสำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์มีประมาณ 4,500 เครื่อง และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี ในปีงบประมาณ 2556-2557 สำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ได้ดำเนินการตรวจสอบคุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่ใช้ในทางการแพทย์ ซึ่งประกอบด้วยเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไปและถ่ายภาพบนแผ่นเรืองแสง เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไป เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ เครื่องเอกซเรย์เต้านม เครื่องเอกซเรย์ฟัน และอื่นๆ รวม 3,459 เครื่อง เพื่อประเมินคุณภาพเครื่องเอกซเรย์ที่ใช้เพื่อการวินิจฉัยโรคใน 6 จังหวัด ในเขตภาคกลาง ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา นครนายก สระบุรี และกรุงเทพมหานคร ให้การใช้รังสีเอกซ์จากเครื่องเอกซเรย์มีความถูกต้องและปลอดภัย แก่เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานด้านรังสี ผู้ป่วย ตลอดจนบุคคลทั่วไป

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไปที่ติดตั้งอยู่ในโรงพยาบาลรัฐและโรงพยาบาลเอกชนใน 6 จังหวัด ภาคกลาง ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี นครนายก สระบุรี พระนครศรีอยุธยา และกรุงเทพมหานคร จำนวน 3,459 เครื่อง ปีงบประมาณ 2557

หลักเกณฑ์การตรวจสอบเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัย

ดำเนินการตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องข้อปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัย⁽⁴⁾ (ตารางที่ 1)

- ค่ากิโลโวลต์ (Kilovoltage, kVp) หรือค่าความต่างศักย์หลอด : เป็นค่าที่กำหนดอำนาจทะลุทะลวงของลำรังสี โดยการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความซ้ำ (Reproducibility)

ความแม่นยำ เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่ากิโลโวลต์ที่วัดได้และค่ากิโลโวลต์ที่ตั้งว่ามีความแตกต่างอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดหรือไม่ โดยการวางเครื่องวัดค่ากิโลโวลต์ไว้ในลำรังสีปฐมภูมิ ระยะจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงเครื่องวัดตามคู่มือการใช้งาน ปรับขนาดของลำรังสีให้ครอบคลุมหัววัดรังสี ทำการฉายรังสี บันทึกค่ากิโลโวลต์ที่ตั้งและค่าที่วัดได้ และนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาความแตกต่าง

ความซ้ำ เพื่อทดสอบค่ากิโลโวลต์ว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ เมื่อฉายรังสีซ้ำที่ตัวแปรเทคนิคค่าเดิม โดยตั้งค่าเทคนิคการฉายรังสี แล้ววางเครื่องวัดค่ากิโลโวลต์ไว้ในลำรังสีปฐมภูมิ ระยะจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงเครื่องวัดตามคู่มือการใช้งาน ปรับขนาดของลำรังสีให้ครอบคลุมหัววัดรังสี ทำการฉายรังสีซ้ำ อย่างน้อย 5 ครั้ง บันทึกค่ากิโลโวลต์ที่วัดได้ แล้วนำมาคำนวณค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

ตารางที่ 1 ข้อกำหนดคุณภาพมาตรฐานของเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไป

รายการตรวจสอบ	ค่ามาตรฐาน
1. ค่ากิโลโวลต์ (kVp)	
1.1 ความซ้ำ (reproducibility)	≤ ร้อยละ 5
1.2 ความแม่นยำ (accuracy)	≤ ร้อยละ 10
2. ค่าเวลาในการฉายรังสี (exposure timer)	
2.1 ความซ้ำ (reproducibility)	≤ ร้อยละ 5
2.2 ความแม่นยำ (accuracy)	≤ ร้อยละ 10
3. การกรองรังสี (filtration)	
3.1 ค่าความหนาครึ่งค่า (half value layer: HVL)	≥ 2.3 mm Al
4. ปริมาณรังสี (radiation output)	
4.1 ความซ้ำ (reproducibility)	≤ ร้อยละ 5
4.2 ความเป็นเชิงเส้น (linearity)	
4.2.1 เครื่องระบบ mA	≤ ร้อยละ 10
4.2.2 เครื่องระบบ mAs	≤ ร้อยละ 20
5. เครื่องจำกัดลำรังสี (beam limiting device)	
5.1 ชนิดเครื่องจำกัดลำรังสี	adjustable
5.2 ความเหลื่อมล้ำของลำรังสีกับแสงไฟ	≤ ร้อยละ 1 ของ SID
5.3 beam alignment	≤ 3°
5.4 ความเข้มลำแสงไฟ	≥ 100 Lux
6. ปริมาณรังสีรั่ว (leakage radiation ซ) ที่ระยะ	
1 เมตรจากหลอดเอกซเรย์	≤ 1000 µGy/hr

- ค่าเวลาในการฉายรังสี (Exposure timer): เวลาที่กำหนดให้รังสีออกจากหลอดเอกซเรย์ มีผลต่อปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ โดยการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความซ้ำ (Reproducibility)

ความแม่นยำ เพื่อทดสอบว่าค่าเวลาในการฉายรังสีมีค่าแตกต่างจากค่าที่ตั้งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดหรือไม่ โดยการวางเครื่องวัดค่าเวลาในการฉายรังสีไว้ในลำรังสีปฐมภูมิ ระยะจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงเครื่องวัดตามคู่มือการใช้งาน ปรับขนาดของลำรังสีให้ครอบคลุมหัววัดรังสี ทำการฉายรังสี บันทึกค่าเวลาที่ตั้งและค่าที่วัดได้ และนำค่าที่วัดได้มาคำนวณค่าร้อยละความแตกต่าง

ความซ้ำ เพื่อทดสอบว่าค่าเวลาในการฉายรังสีมีการเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ เมื่อฉายรังสีซ้ำที่ตัวแปรเทคนิคค่าเดิม โดยตั้งค่าเทคนิคการฉายรังสี แล้ววางเครื่องวัดค่าเวลาในการฉายรังสีไว้ในลำรังสีปฐมภูมิ ระยะจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงเครื่องวัดตามคู่มือการใช้งาน ปรับขนาดของลำรังสีให้ครอบคลุมหัววัดรังสี ทำการฉายรังสีซ้ำ อย่างน้อย 5 ครั้ง บันทึกค่าเวลาที่วัดได้ แล้วนำมาคำนวณค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

- ปริมาณรังสี (Radiation output): ทำการทดสอบความซ้ำ (Reproducibility) และความเป็นเชิงเส้น (Linearity) ของปริมาณรังสี

ความซ้ำ เพื่อทดสอบว่าความแปรปรวนของปริมาณรังสีอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดหรือไม่ เมื่อฉายรังสีซ้ำที่ตัวแปรเทคนิคค่าเดิม โดยตั้งค่าเทคนิคการฉายรังสี แล้ววางเครื่องวัดรังสีไว้ในลำรังสีปฐมภูมิ ระยะจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงเครื่องวัดตามคู่มือการใช้งาน ปรับขนาดของลำรังสีให้ครอบคลุมหัววัดรังสี ทำการฉายรังสีซ้ำ อย่างน้อย 5 ครั้ง บันทึกค่ารังสีที่วัดได้ แล้วนำมาคำนวณค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

ความเป็นเชิงเส้น เพื่อทดสอบความเป็นเชิงเส้นของปริมาณรังสีตลอดช่วงการใช้งานของกระแสหลอดทั้งแบบ mA หรือ mAs โดยตั้งค่าเทคนิคการฉายรังสี แล้ววางเครื่องวัดปริมาณรังสีไว้ในลำรังสีปฐมภูมิ ระยะจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงเครื่องวัดตามคู่มือการใช้งาน ปรับขนาดของลำรังสีให้ครอบคลุมหัววัดรังสี วัดปริมาณรังสีที่ค่ากระแสหรือ mAs ต่างๆ บันทึกค่ารังสีที่วัดได้ แล้วนำมาคำนวณค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง

- การกรองรังสี (Filtration): เพื่อประเมินคุณภาพของลำรังสีจากเครื่องเอกซเรย์และเป็นการประเมินว่ามีการกรองรังสีเพียงพอหรือไม่ การกรองรังสีของหลอดเอกซเรย์เพื่อกำจัดรังสีที่มีพลังงานต่ำออกไป จะช่วยให้ภาพถ่ายทางรังสีมีความคมชัดและลดปริมาณรังสีพลังงานต่ำที่ผู้ป่วยจะได้รับโดยไม่จำเป็น โดยการวัดความหนาครึ่งค่า (Half Value Layer: HVL) ซึ่งค่าความหนาครึ่งค่าที่วัดได้ต้องไม่น้อยกว่าค่าที่กำหนด

- เครื่องจำกัดลำรังสี (Beam Limiting Device): เพื่อทดสอบการทำงานของเครื่องจำกัดลำรังสีว่าเป็นไปตามเกณฑ์หรือไม่ เช่น อุปกรณ์จำกัดลำรังสีต้องเป็นแบบปรับได้ ความเข้มของแสงไฟไม่น้อยกว่า 100 ลักซ์ การเชื่อมต่อระหว่างลำรังสีกับลำแสงไฟในแต่ละด้านของอุปกรณ์จำกัดลำรังสีต้องมีค่าไม่เกินร้อยละ ± 1 ของระยะจากตำแหน่งอ้างอิงจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ถึงอุปกรณ์รับภาพ (Source to Image Receptor Distance: SID) และแนวลำรังสีกับอุปกรณ์รับภาพ (Beam Alignment) ต้องมีความเบี่ยงเบนไม่เกิน 3 องศา

- ปริมาณรังสีรั่ว (Leakage Radiation): บริเวณโดยรอบหลอดเอกซเรย์ที่ระยะ 1 เมตรจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ มีค่าไม่เกินที่กำหนด

ผล

จากการศึกษามีเครื่องเอกซเรย์ที่ได้รับการตรวจสอบคุณภาพทั้งหมดจำนวน 3,459 เครื่อง โดยประเภทและจำนวนของเครื่องเอกซเรย์ที่ได้รับการตรวจสอบคุณภาพ (ตารางที่ 2 และ 3)

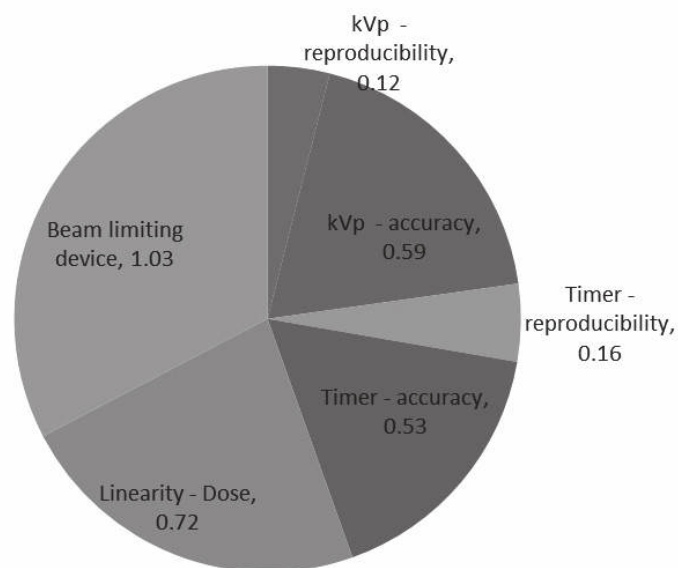
ตารางที่ 2 จำนวนและประเภทของเครื่องเอกซเรย์ที่ได้รับการตรวจสอบในปีงบประมาณ 2556

ประเภท	จำนวน (เครื่อง)	ผ่านเกณฑ์	ไม่ผ่านเกณฑ์
เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไปและถ่ายภาพบนแผ่นเรืองแสง	111	110	1
เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไป	636	599	37
เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์	124	124	-
เครื่องเอกซเรย์เต้านม	90	88	2
เครื่องเอกซเรย์ฟัน	523	516	7
เครื่องเอกซเรย์ Bone Densitometry	47	47	-
เครื่องเอกซเรย์ C-ARM	163	163	-
เครื่องเอกซเรย์สวนหัวใจ	58	58	-
อื่นๆ เช่น เครื่อง simulator	5	4	1
รวม	1,757	1,709	48

ตารางที่ 3 จำนวนและประเภทของเครื่องเอกซเรย์ที่ได้รับการตรวจสอบในปีงบประมาณ 2557

ประเภท	จำนวน (เครื่อง)	ผ่านเกณฑ์	ไม่ผ่านเกณฑ์
เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไปและถ่ายภาพบนแผ่นเรืองแสง	85	82	3
เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยทั่วไป	519	487	32
เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์	129	127	2
เครื่องเอกซเรย์เต้านม	87	86	1
เครื่องเอกซเรย์ฟัน	623	614	9
เครื่องเอกซเรย์ Bone Densitometry	43	43	-
เครื่องเอกซเรย์ C-ARM	133	132	1
เครื่องเอกซเรย์สวนหัวใจ	69	69	-
อื่น ๆ เช่น เครื่อง simulator	14	13	1
รวม	1,702	1,653	49

ในปี 2556 และ 2557 เครื่องเอกซเรย์ที่เป็นไปตามข้อกำหนดจำนวน 3,362 เครื่อง สำหรับเครื่องเอกซเรย์ที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดมีจำนวน 97 เครื่อง ซึ่งรายการทดสอบที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด ได้แก่ การทดสอบเครื่องจำกัดลำรังสี ความเป็นเชิงเส้น ความแม่นยำของค่ากิโลโวลต์ ความแม่นยำของค่าเวลาในการฉายรังสี (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ร้อยละของรายการของเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด

วิจารณ์

การตรวจสอบคุณภาพของเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยในปีงบประมาณ 2556 และ 2557 พบว่า เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มีจำนวน 97 เครื่อง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 2.80 โดยรายการผลการทดสอบที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด ได้แก่ การทดสอบเครื่องจำกัดลำรังสี ความเป็นเชิงเส้น ค่ากิโลโวลต์ และค่าเวลาในการฉายรังสี ตามลำดับ

เครื่องจำกัดลำรังสี ของเครื่องเอกซเรย์ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เนื่องจากขนาดลำแสงไฟและลำรังสีไม่เป็นไปด้วยกัน ความเข้มของลำแสงไฟไม่เพียงพอ อาจเกิดจากอายุการใช้งานหรืออาจเกิดจากความบกพร่องของเครื่องเอกซเรย์เอง จากการศึกษาของ M.Bebum และคณะ⁽⁵⁾ ก็พบว่ามีความเหลื่อมล้ำระหว่างไฟและลำรังสี ซึ่งอาจเกิดจากความไม่ถูกต้องของตำแหน่งหลอดไฟ กระจกสะท้อนแสงหรือขนาดของจุดโฟกัส ความเป็นเชิงเส้นของปริมาณรังสีจะเป็นรายการลำดับรองที่ทำให้เครื่องเอกซเรย์ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำหรับค่ากิโลโวลต์ และค่าเวลาในการฉายรังสีนั้นพบว่า ความแม่นยำเป็นรายการที่ทำให้เครื่องเอกซเรย์ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดมากกว่าความซ้ำ

อย่างไรก็ตามเครื่องเอกซเรย์ควรจะต้องได้รับการตรวจสอบคุณภาพเป็นประจำทุกปีหรือภายหลังการเปลี่ยนอุปกรณ์หรือซ่อมแซม เนื่องจากรายการทดสอบตามข้อกำหนดมีผลต่อคุณภาพของภาพถ่ายทางรังสีที่แพทย์ใช้เพื่อการวินิจฉัย อาจจะมีผลทำให้การวินิจฉัยไม่ถูกต้อง ลำช้า หรืออาจจะทำให้ต้องฉายรังสีซ้ำทำให้ผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีโดยไม่จำเป็น

สรุป

เครื่องเอกซเรย์วินิจฉัยที่มีใช้งานในสถานประกอบการ โรงพยาบาลทั้งภาครัฐและภาคเอกชน ยังมีเครื่องที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดในรายการการทดสอบเครื่องจำกัดลำรังสี ความเป็นเชิงเส้น ความแม่นยำของค่ากิโลโวลต์ และความแม่นยำของค่าเวลาในการฉายรังสี ร้อยละ 1.03, 0.72, 0.59 และ 0.53 ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นักฟิสิกส์รังสีและเจ้าหน้าที่งานรังสีวินิจฉัย กลุ่มรังสี สำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ทุกท่าน ที่ช่วยให้การปฏิบัติงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. กฎกระทรวง กำหนดเงื่อนไข วิธีการขอรับใบอนุญาต และการดำเนินการเกี่ยวกับวัสดุนิวเคลียร์พิเศษ วัสดุต้นกำลัง วัสดุพลอยได้ หรือพลังงานปรมาณู พ.ศ. 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 124 ตอนที่ 44 ก (ลงวันที่ 17 สิงหาคม 2550).
2. International Atomic Energy Agency. Dosimetry in diagnostic radiology: an international code of practice. Technical reports series no 457. Vienna: IAEA; 2007.
3. International Commission on Radiological Protection. The 2007 recommendations of the international commission on radiological protection. ICRP publication 103. Oxford, UK: ICRP; 2007.
4. ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่อง ข้อปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเครื่องเอกซเรย์วินิจฉัย [ออนไลน์]. 2550; [22 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.dmsh.moph.go.th/dmsh/userfiles/files/QAXray.pdf>
5. Begum M, Mollah AS, Zaman MA, Rahman AKMM. Quality control tests in some diagnostic x-ray units in Bangladesh. Bangladesh Journal Medical Physics 2011; 4(1): 59-66.

Quality of Diagnostic x-ray Units in 6 Provinces of Central Part of Thailand During 2013–2014

Chinda Tongruang

Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000 Thailand.

ABSTRACT The quality assurance of radiography based on the operating conditions of x-ray equipment is essential for the prevention of radiation workers, patients and public from unnecessary doses of ionizing radiation. During the fiscal years 2013–2014, Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences, evaluated the quality of 3,459 x-ray units which were used in governmental and private hospitals in 6 provinces of the central part of Thailand including Nonthaburi, Pathumthani, Saraburi, Phra Nakhonsi Ayutthaya, Nakhon Nayok and Bangkok following the standard requirements of the x-ray equipment in the Department of Medical Sciences Notification on “Practices in Quality Control of x-ray Equipment”. The results showed that 3,362 x-ray units were in accordance with the standards and 97 x-ray units (2.80%) were not in accordance with the standards. The percentage of x-ray equipment which were outside the acceptable limit for the tests for beam limiting device, linearity, kVp accuracy and timer accuracy were 1.03, 0.72, 0.59 and 0.53, respectively. Therefore, the quality of the x-ray equipment shall be improved in order to get the good quality of radiographic images as well as to be safe for the radiation workers, patients and public.

Key words: quality assurance, x-ray unit, radiation dose

การเฝ้าระวัง *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในเนื้อปูต้มแกะ

ศศิธร จิตติเพชรกุล* กนกพรรณ สมยรรพย์** และศรีวรรณ หัทยานานนท์***

*สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร **สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์
นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การวิจัยเชิงสำรวจนี้ได้ดำเนินการเฝ้าระวังการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรค *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในเนื้อปูต้มแกะที่จำหน่ายในตลาดสดและตลาดนัด 10 แห่ง ในเขตกรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2557- มิถุนายน 2558 จากการเก็บตัวอย่างเนื้อปูต้มแกะส่วนต่างๆ ที่นิยมบริโภค ได้แก่ เนื้อปูก้อน เนื้อปูขาว เนื้อปูส่วนก้าม และเนื้อปูส่วนขา จำนวน 50 ตัวอย่าง พบว่าการปนเปื้อน *V. parahaemolyticus* 29 ตัวอย่าง ปริมาณ 15-1,100,000 MPN/g ($1.18-6.04 \log \text{MPN/g}$) หรือปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $3.72 \pm 0.91 \log \text{MPN/g}$ พบ *S. aureus* 27 ตัวอย่าง ปริมาณ 20-11,000 cfu/g ($1.30-4.04 \log \text{cfu/g}$) หรือปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $230 \pm 0.51 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่พบ *Salmonella* spp. 7 ตัวอย่าง จำแนกได้ 6 serovars คิดเป็นร้อยละ 58, 54 และ 14 ตามลำดับ โดยจำนวนนี้พบตัวอย่างที่ *S. aureus* ไม่เข้ามาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 2 (2553) ของอาหารพร้อมบริโภค ที่ระบุให้พบได้ไม่เกิน 100 cfu/g คิดเป็นร้อยละ 32 และต้องไม่พบทั้ง *V. parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp. สำหรับ *Vibrio* spp. ชนิดอื่นที่ตรวจพบประกอบด้วย *V. parahaemolyticus* (58%), *V. cholerae* non O1(18%), *V. vulnificus* (16%), *V. mimicus* (12%), *V. alginolyticus* (10%) และ *V. fluvialis* (4%) จำแนกซีโรไทป์ของ *V. parahaemolyticus* ด้วยชุดสำเร็จรูป Denka Seiken, Tokyo พบ O3: KUT มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 20.70 และตรวจไม่พบ ยีนสร้างสารพิษทั้ง *tdh* และ *trh* (*tdh*-, *trh*-) ในทุกซีโรไทป์



บทนำ

สถานการณ์โรคที่สำคัญและเป็นปัญหาสาธารณสุขของทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย ส่วนใหญ่เป็นโรคระบบทางเดินอาหารและน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ โรคอาหารเป็นพิษซึ่งพบการระบาดบ่อยที่สุดและพบได้ตลอดทั้งปี จากการสอบสวนโรค พบว่าสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 73 พิษจากพืชร้อยละ 23 และพิษจากสัตว์ร้อยละ 2 ผลการตรวจชนิดเชื้อก่อโรคที่ได้รับรายงานในระบบเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของผู้ป่วยอาหารเป็นพิษทั้งหมดตั้งแต่ปี 2555 จนถึงปัจจุบัน พบผู้ป่วยจาก *Vibrio parahaemolyticus* มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ *Salmonella* spp. ตามด้วย *Staphylococcus aureus* และมีแนวโน้มเช่นนี้ตลอด 3-4 ปี ที่ผ่านมา สาเหตุเกิดจากรับประทานอาหารที่ปรุงไม่สุก รวมทั้งอาหารทะเล โดยเฉพาะอาหารทะเลและข้าวผัดโรยเนื้อปูติดอันดับหนึ่งในสิบเมนูอาหารที่เป็นสาเหตุการระบาดของโรคทางเดินอาหารเสมอ^(1, 2)

ในช่วงปลายปี 2557 ถึงต้นปี 2558 กรมควบคุมโรคได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษที่สามารถระบุเชื้อก่อโรคได้แก่ *V. parahaemolyticus* ซึ่งพบมากที่สุดที่จังหวัดเชียงใหม่ และหลายจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยแหล่งโรคครั้งนั้นมีความเกี่ยวข้องกับอาหารประเภทข้าวมันไก่ โดยพบแหล่งโรครวมทั้งมาจากแหล่งผลิตไก่และรถขนส่งของโรงงานอีกหลายแห่งซึ่งในปัจจุบันยังไม่สามารถระบุสาเหตุของการปนเปื้อนได้แน่ชัด⁽³⁾

V. parahaemolyticus หรือชื่อวิทยาศาสตร์อยู่ในวงศ์ Vibrionaceae ซึ่งประกอบด้วย 5 จีนัส ได้แก่ *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Enhydrobacter*, *Photobacterium* และ *Vibrio*⁽⁴⁾ สำหรับจีนัส *Vibrio* มีมากกว่า 30 สปีชีส์ และที่สามารถก่อโรคในมนุษย์ 12 สปีชีส์ ได้แก่ *V. cholerae*, *V. furnisii*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii*, *V. cincinnatiensis*, *V. carchariae* และ *V. parahaemolyticus*^(5, 6, 7)

V. parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนตรงหรือโค้งงอ พบได้ทั่วโลก ในสัตว์ทะเลและสัตว์น้ำกร่อยทุกชนิดทั้ง ปลา หอย กุ้ง กุ้ง หมีก ปู จึงได้ชื่อว่าเป็น “Seafood-borne pathogen”⁽⁸⁾ ซึ่งเจริญได้ดีในภาวะที่มีความเค็ม เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่พบบ่อยและมากที่สุด ระยะฟักตัวของเชื้อระหว่าง 4-96 ชั่วโมง ผู้ได้รับเชื้อจะมีอาการท้องเสีย เป็นตะคริวที่ท้อง อ่อนเพลีย คลื่นไส้ หนาว ปวดหัว และอาเจียน ความรุนแรงของอาการขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อที่ได้รับ^(9, 10, 11) สามารถจำแนกสายพันธุ์หรือซีโรไทป์ (serotyping) ตามชนิด O และ K antigen ได้ 13 O และ 71 K antigen⁽⁶⁾

การศึกษาด้านระบาดวิทยา ค้นหาแหล่งแพร่กระจาย การควบคุมเฝ้าระวัง และป้องกันการระบาดของโรค อาจมีข้อจำกัดบางประการ กล่าวคือ สามารถจำแนกความหลากหลายได้ไม่มากนัก หรืออีกนัยหนึ่งถึงแม้จะเป็นซีโรไทป์เดียวกันแต่ก็อาจจะมีสายพันธุ์ที่ต่างกัน^(12, 13) มีคณะวิจัยหลายคณะ^(14, 15, 16) ทำการศึกษาปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องคือ ยีนที่เป็นปัจจัยการก่อโรค ได้แก่ ยีน *tdh* ที่ควบคุมการสร้างสารพิษ thermostable direct hemolysin (TDH) ที่มีผลทำให้เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ และยีน *trh* เป็นยีนที่ควบคุมการสร้างสารพิษ thermostable direct hemolysin-related hemolysin (TRH) แต่ไม่ทำให้เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถนำมาช่วยอธิบายถึงแหล่งกำเนิดสายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมหรือผู้ป่วยได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

Salmonella spp. เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์และแคปซูล มี flagella อยู่รอบตัว เพื่อใช้ประโยชน์ในการเคลื่อนที่ สามารถเจริญได้ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน พบในลำไส้ของมนุษย์ และสัตว์เลี้ยงชนิดต่าง ๆ^(17, 18, 19) *Salmonella* spp. เป็นสาเหตุของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษขึ้นได้บ่อยครั้งโดยผู้ป่วยอาจมีอาการไข้ หนาวสั่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสียแบบมีเลือดปน หรือไม่มีก็ได้ ผู้ป่วยอาจติดเชื้อในกระแสเลือดและเสียชีวิตได้

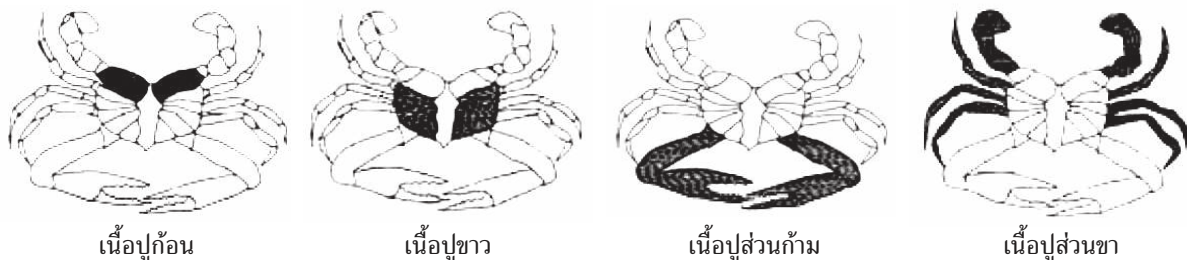
Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก รูปร่างเป็นทรงกลม (cocci) เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้าย พวงอุ้งน้ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในภาวะที่มี และไม่มีออกซิเจน เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35–37 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปมักตามผิวหนัง หรือเยื่อเมือกของร่างกายคนและสัตว์ ในอากาศ ฝุ่นละออง สามารถผลิตสารพิษ (enterotoxin) ที่ทนความร้อนสูง การรับประทานอาหารที่ปนเปื้อน *S. aureus* ในช่วง 100,000 เซลล์ต่อกรัม สามารถก่อโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจากสามารถสร้างสารพิษถึงระดับก่อโรคได้⁽²⁰⁾

การศึกษานี้จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในเนื้อปูต้มแกะ และจำแนกสายพันธุ์หรือซีโรไทป์ ตลอดจนศึกษาปัจจัยก่อ ความรุนแรงโรค เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการอธิบาย และประเมินความปลอดภัยของอาหารทางจุลชีววิทยา กำหนดมาตรการ เฝ้าระวังควบคุม และป้องกันการปนเปื้อน รวมทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการระบาดของโรคอุจจาระร่วง ซึ่งยังคงเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญของไทย

วัสดุและวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างเนื้อปูต้มแกะส่วนต่างๆ ที่นิยมบริโภค ได้แก่ เนื้อปูก้อน (lump meat) เนื้อปูขาว (special meat) เนื้อปูส่วนก้าม (claw meat) และเนื้อปูส่วนขา (leg meat) (ภาพที่ 1) ที่จำหน่ายในตลาดสดและตลาดนัด 10 แห่ง ในเขตกรุงเทพมหานครจำนวน 50 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2557– มิถุนายน 2558 (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 เนื้อปูส่วนต่างๆ ที่นิยมบริโภค

ที่มา : มกษ. 7004-2548 ปูม้า

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. *V. parahaemolyticus*

- 1.1 Phosphate buffered saline (PBS)
- 1.2 Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose agar (TCBS)
- 1.3 CHROMagar™ vibrio (CV)
- 1.4 Tryptic (trypticase) Soy Agar + 2% NaCl (TSA 2% NaCl)
- 1.5 Arginine glucose slants (AGS)
- 1.6 T₁N₀, T₁N₃, T₁N₆, T₁N₈, T₁N₁₀broths
- 1.7 Oxidase reagent
- 1.8 Rapid Diagnostic Kits API 20 E (R 21)

2. *S. aureus*

- 2.1 Butterfield's phosphate-buffered dilution water
- 2.2 Trypticase soy broth (10% NaCl & 1% Sodium pyruvate)
- 2.3 Baird-parker medium (with Egg Yolk telluritesuspension)
- 2.4 Brain heart infusion (BHI) broth
- 2.5 Coagulase plasma (rabbit) with EDTA

3. *Salmonella* spp.

- 3.1 Bacto peptone water (BPW)
- 3.2 Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin broth (MKTn)
- 3.3 Rappaport-Vassiliadis broth (RV)
- 3.4 Xylose lysine desoxycholate agar (XLD)
- 3.5 Hektoen enteric agar (HE)
- 3.6 Triple sugar iron agar (TSI)
- 3.7 Lysine iron agar (LIA)
- 3.8 Urea broth

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ, ตู้บ่มเชื้อ, เครื่องนับโคโลนี, กล้องจุลทรรศน์, เครื่องตีผสมอาหาร, เครื่องซั่ง, ตะเกียงแก๊ส, ขวดแก้ว, หลอดแก้ว, จานเพาะเชื้อ, ปิเปต, เข็มเขี่ยเชื้อ, แอลกอฮอล์ (70% v/v)
- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม PCR MJ Research รุ่น PTC-200, Microcentrifuge, Autopipette, Mixer, PCR tube

วิธีการ

การวิเคราะห์ *V. parahaemolyticus* โดยวิธีมาตรฐาน BAM 2004⁽⁶⁾

ดำเนินการโดยนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มาเจือจางให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม โดยใช้ phosphate buffered saline (PBS) เป็น enrichment medium และเลือกหลอดที่ขุ่นมา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar และ Chrome Vibrio agar ซึ่งเป็น selective media จากนั้นทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ทดสอบ Oxidase ย้อมแกรม และทดสอบยืนยันเชื้อโดย Rapid Diagnostic Kits API 20E และการเจริญในน้ำเกลือ 0%, 3%, 6%, 8% และ 10% (ปริมาตร/น้ำหนัก) รายงานผลเป็น MPN/g

การวิเคราะห์ *S. aureus* โดยวิธีมาตรฐาน BAM 2001⁽²¹⁾

ดำเนินการโดยนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มาเจือจางให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ BP 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร จากนั้นเกลี่ยให้เชื้อกระจายโดยใช้แท่งแก้วทั้งให้สารละลายของเชื้อซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่ $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีที่มีลักษณะ กลม ผิวเรียบ ไค่งนูน ขนาดโคโลนี 2-3 มิลลิเมตร สีเทาจนถึงดำมีขอบสีจางๆ ล้อมรอบด้วยบริเวณที่ตามด้วยขอบใสรอบโคโลนี ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ *S. aureus* และนำเชื้อไปทดสอบ coagulase test และรายงานผลเป็น cfu/g

การวิเคราะห์ *Salmonella* spp. โดยวิธีมาตรฐาน ISO 6579: 2002/Cor.1: 2004⁽²²⁾

ดำเนินการโดยนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ *Salmonella* spp. เติม bactopectone water เป็น pre-enrichment medium และถ่ายเชื้อลงใน MktTn และ RV เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ แล้วจึง streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็น selective agar ได้แก่ HE agar และ XLD agar จากนั้นทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และจำแนกสายพันธุ์ หรือซีโรไทป์ *Salmonella* spp. โดยฝ่ายทดสอบยืนยันเชื้อซาลโมเนลลาและซิเกลลา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

จำแนกสายพันธุ์หรือซีโรไทป์ และศึกษาปัจจัยก่อความรุนแรงโรคของ *V. parahaemolyticus*

การจำแนกสายพันธุ์ หรือซีโรไทป์ *V. parahaemolyticus* ด้วย O และ K antiserakit (Denka Seiken, Tokyo) ด้วยเทคนิค slide agglutination โดยนำ *V. parahaemolyticus* เพาะบน Heart Infusion agar ที่มี 3% NaCl โดย streak เชื้อให้ขึ้นหนาแน่น บ่มที่ 35–37 °C 18–24 ชั่วโมง ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ กวาดเชื้อ 1/2 ของจานเพาะลงในหลอดทดลองที่มี 3% NaCl ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เชื้อกระจายดีในน้ำเดือด นาน 1 ชั่วโมง เพื่อทำลาย K antigen ปั่นให้เชื้อตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Microcentrifuge) ที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเทน้ำใสทิ้ง แล้วนำตะกอนมาทดสอบกับ O-antisera ส่วนทดสอบ K antisera ไม่ต้องต้มในน้ำเดือด

การวิเคราะห์ยีนเป้าหมายที่เป็นปัจจัยก่อความรุนแรงโรค ได้แก่ *tdh* และ *trh* gene ด้วย Duplex Polymerase Chain Reaction (ตารางที่ 1) ดำเนินการดังนี้

ตารางที่ 1 Primer ลำดับเบส และขนาด

primer	ลำดับเบส (5' → 3')	ขนาด (bp)
<i>tdh</i> -4F	GTA AAG GTC TCT GAC TTT TGG AC	270
<i>tdh</i> -4R	TGG AAT AGA ACC TTC ATC TC ACC	270
<i>trh</i> -3F	TTG GCT TCG ATA TTT TCA GTA TCT	500
<i>trh</i> -3R	CAT AAC AAA CAT ATG CCC ATT TCCG	500

1. เตรียม DNA template

บ่มจานเพาะเชื้อบน Luria-Bertani agar ที่อุณหภูมิ 37 ± 2 °C นาน 18–24 ชั่วโมง และเชื้อติดปลายหลอดเพียงเล็กน้อย นำเชื้อมากระจายในน้ำ Milli Q ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต้มในน้ำเดือด 15 นาที ปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ดูดน้ำใสซึ่งมี DNA template ใส่ในหลอดแก้วใหม่ หากยังไม่นำ DNA template ไปใช้ในทันทีให้เก็บรักษาในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 °C

2. เตรียม PCR mixture

PCR mixture ปริมาตร 20 µl ประกอบด้วย 2 µl DNA template, 0.1 µM *tdh* primer, 0.15 µM *trh* primer, 0.25 mM dNTPs, 1X PCR buffer และ 1 unit i-StarTaq DNA polymerase

3. เพิ่มปริมาณ DNA โดยเข้าเครื่อง PCR machine โดยตั้งโปรแกรม ดังนี้

- pre-PCR ที่อุณหภูมิ 94 °C 3 นาที เพิ่มปริมาณ DNA จำนวน 25 รอบ แต่ละรอบประกอบด้วย
- denaturation step ที่อุณหภูมิ 94 °C 45 วินาที
- annealing step ที่อุณหภูมิ 60 °C 45 วินาที

- chain elongation step ที่อุณหภูมิ 72 °C 1 นาที 30 วินาที เมื่อครบ 25 รอบ แล้วตามด้วย post-PCR ที่อุณหภูมิ 72 °C 3 นาที

4. แยกขนาด DNA ด้วย gel electrophoresis โดยแผ่นเจลมีความเข้มข้น 2% agarose gel ใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 80 หรือ 100 โวลต์ 50-60 นาที ย้อม gel ด้วย ethidium bromide ความเข้มข้น 1 µg/ml 10 นาที ล้างแผ่น gel ด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที ถ่ายภาพ gel ภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง gel documentation

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 2 (2553) ของอาหารพร้อมบริโภค⁽²³⁾ และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic) ได้แก่ ร้อยละ (percentage) และวัดค่าการกระจายด้วยค่าเฉลี่ย (mean ± SD)

ผล

จากการเก็บตัวอย่างเนื้อปูต้มแกะส่วนต่างๆ ที่นิยมบริโภค ได้แก่ เนื้อปูก้อน เนื้อปูขาว เนื้อปูส่วนก้าม และเนื้อปูส่วนขา รวมทั้งหมด 50 ตัวอย่าง มาทำการวิเคราะห์ พบการปนเปื้อน *V. parahaemolyticus* 29 ตัวอย่าง ในปริมาณ ตั้งแต่ 1.18-6.04 log MPN/g หรือปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 3.72 ± 0.91 log MPN/g พบ *S. aureus* 27 ตัวอย่าง ในปริมาณ 1.30-3.04 log cfu/g หรือปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 230 ± 0.51 cfu/g ในขณะที่พบ *Salmonella* spp. 7 ตัวอย่าง (6 serovar) คิดเป็นร้อยละ 58, 54 และ 14 ตามลำดับ โดยจำนวนนี้มีตัวอย่างที่มี *S. aureus* ไม่เข้ามาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหารตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 2 (2553) ของอาหารพร้อมบริโภคที่ระบุให้พบได้ไม่เกิน 100 cfu/g คิดเป็นร้อยละ 32 และต้องไม่พบทั้ง *V. parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp. (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณการปนเปื้อน *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในเนื้อปูต้มแกะ

รายการวิเคราะห์	จำนวนตัวอย่าง ที่ตรวจพบ ร้อยละ	ปริมาณ			ร้อยละ ที่เกิน มาตรฐาน	หมายเหตุ
		ต่ำสุด-สูงสุด	เฉลี่ย ± SD	เกณฑ์ มาตรฐาน		
<i>V. parahaemolyticus</i>	29(58)	15-1,100,000 MPN/g (1.18-6.04 log MPN/g)	3.72 ± 0.91 log MPN/g	ไม่พบ	58	
<i>S. aureus</i>	27(54)	20-11,000 cfu/g (1.30-4.04 log cfu/g)	230 ± 0.51	<100 cfu/g	32	
<i>Salmonella</i> spp.	7(14)			ไม่พบ	14	ซีโรวาร์ (จำนวน) Stanley (2) Corvallis (1) Bareilly(1) Panama (1) Weltevreden(1) Rissen (1)

นอกจากพบการปนเปื้อนแบคทีเรียแต่ละชนิดดังกล่าวแล้ว บางตัวอย่างสามารถพบการปนเปื้อนร่วมของแบคทีเรียชนิดอื่นด้วย โดยสามารถจำแนกชนิดของการปนเปื้อนดังนี้ พบเฉพาะ *V. parahaemolyticus* 11 ตัวอย่าง *S. aureus* 9 ตัวอย่าง และ *Salmonella* spp. 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22, 18 และ 2 ตามลำดับ ขณะที่พบการปนเปื้อนร่วมของ *V. parahaemolyticus* และ *S. aureus* 13 ตัวอย่าง *V. parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp. 1 ตัวอย่าง *S. aureus* และ *Salmonella* spp. 1 ตัวอย่าง และพบทั้ง *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. 4 ตัวอย่าง คิดเป็น ร้อยละ 26, 2, 2 และ 8 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำแนกชนิดของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อปูต้มแกะ

จุลินทรีย์	Vp	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Vp + <i>S. aureus</i>	Vp + <i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i> + <i>Salmonella</i> spp.	Vp + <i>S. aureus</i> + <i>Salmonella</i> spp.
จำนวน (ร้อยละ)	11(22)	9(18)	1(2)	13(26)	1(2)	1(2)	4(8)
Vp	11+13+1+4 = 29 (58)						
<i>S. aureus</i>	9+13+1+4 = 27 (54)						
<i>Salmonella</i> spp.	1+1+1+4 = 7 (14)						

การศึกษานี้นอกจากจะพบ *V. parahaemolyticus* แล้วยังพบ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคอีกหลายชนิด ได้แก่ *V. cholerae* non O1, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus* และ *V. fluvialis* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 18, 16, 12, 10 และ 4 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ปริมาณการแพร่กระจายของ *Vibrio* spp. ในเนื้อปูต้มแกะและลักษณะการก่อโรคทางคลินิก*

สปีชีส์	จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ)	ลำไส้อักเสบ	ติดเชื้อทางบาดแผล	ติดเชื้อในหู	ติดเชื้อในกระแสเลือด
<i>V. parahaemolyticus</i>	29 (58)	+++	+	+	+
<i>V. cholerae</i> non O1	9 (18)	+++	++	+	+
<i>V. vulnificus</i>	8 (16)	+	++	++	++
<i>V. mimicus</i>	6 (12)	++	-	+	-
<i>V. alginolyticus</i>	5 (10)	(+)	++	++	+
<i>V. fluvialis</i>	2 (4)	++	-	-	-

+++ = พบการรายงานบ่อยครั้ง, ++ = พบการรายงานน้อยครั้ง (6-10 รายงาน), + = พบการรายงานน้อยมาก (1-5 รายงาน), (+) = พบอาการทางคลินิกไม่ชัดเจน และ - ไม่พบการรายงาน

*ที่มา: <http://Seafood.ucdavis.edu/haccp/compendium/chapt20.htm>

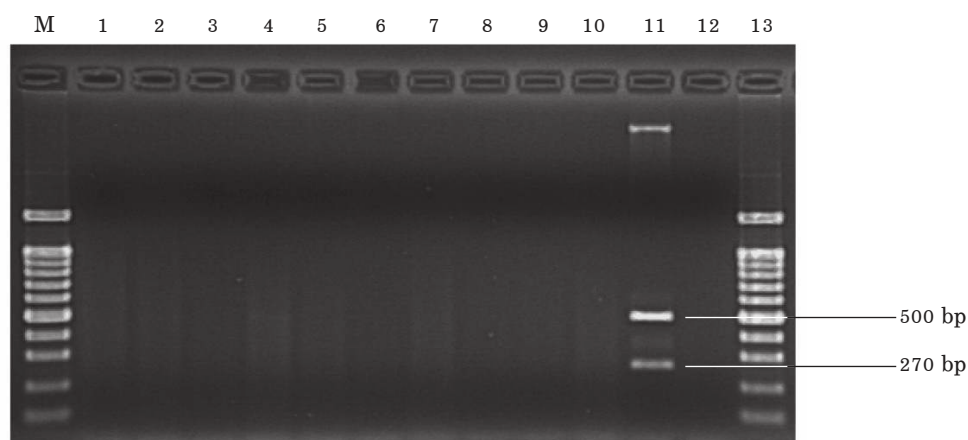
จำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียหรือซีโรไทป์ และปัจจัยก่อความรุนแรงโรคของ *V. parahaemolyticus* ที่ได้รับการยืนยันทางชีวเคมีร่วมกับ API 20 E Denka Seiken Tokyo Kit ซึ่งปัจจุบันสามารถจำแนกได้ 71 ซีโรไทป์ พบว่า 12 ซีโรไทป์ ประกอบด้วย 9 O antigen: untypeable K antigen และ 3 O antigen: 3 typeable

K antigen โดยพบ O3:KUT มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 20.70 รองลงมาพบ O10:KUT, O2:KUT, O5:KUT, O1:KUT, O6:KUT, O8:KUT, O11:KUT, O4:KUT, O1:K1, O3:K57 และ O4:K8 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และจากการวิเคราะห์ยีนซึ่งเป็นปัจจัยก่อความรุนแรงโรคด้วย Duplex Polymerase Chain Reaction ไม่พบยีน *tdh* และ *trh* ในทุกซีโรไทป์ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 5 จำแนกสายพันธุ์หรือซีโรไทป์ และยีนปัจจัยก่อความรุนแรงโรคของ *V. parahaemolyticus*

จำนวนไอโซเลต <i>V. parahaemolyticus</i> (ร้อยละ)	ซีโรไทป์	ปัจจัยก่อความรุนแรงโรค	
		<i>tdh</i>	<i>trh</i>
6 (20.70)	O3:KUT	-	-
5 (17.24)	O10:KUT	-	-
3 (10.35)	O2:KUT	-	-
3 (10.35)	O5:KUT	-	-
2 (6.90)	O1:KUT	-	-
2 (6.90)	O6:KUT	-	-
2 (6.90)	O8:KUT	-	-
2 (6.90)	O11:KUT	-	-
1 (3.44)	O4:KUT	-	-
1 (3.44)	O1:K1	-	-
1 (3.44)	O3:K57	-	-
1 (3.44)	O4:K8	-	-
รวม 29 (100)			

หมายเหตุ: UT = Untypeable



ภาพที่ 2 ผลตรวจยีนปัจจัยก่อความรุนแรงโรค (*tdh* and *trh*) ของ *V. parahaemolyticus* ในเนื้อปูต้มแกะ
Lane M: ดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส; lane 1-10: *V. parahaemolyticus* จากตัวอย่าง (*tdh* and *trh*); lane 11: positive control; lane 12: negative control

วิจารณ์

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อปูต้มแกะ จากตลาดสดและตลาดนัดในกรุงเทพมหานคร 50 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค อาทิ *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* และ *salmonella* spp. สาเหตุน่าจะเกิดจากการปนเปื้อนข้ามจากวัตถุดิบ ผู้ปฏิบัติงาน อุปกรณ์ เครื่องมือเครื่องใช้ และอื่นๆ ในการทำเนื้อปูแกะ เนื่องจากเชื้อเหล่านี้ไม่ทนต่อความร้อน และไม่สร้างสปอร์ ดังนั้นการต้มสุกจึงสามารถทำให้เชื้อมีชีวิตรอดตายได้ การตรวจพบจึงเกิดจากการปนเปื้อนภายหลังการต้มสุก และถึงแม้จะพบการปนเปื้อนในปริมาณไม่มากนักในช่วงระหว่าง 10^2 – 10^4 cfu/กรัม ซึ่งการเก็บที่อุณหภูมิห้องโดยไม่รับประทานทันที เชื้อก็จะเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว ทำให้มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคเพิ่มขึ้นและรุนแรงมากขึ้น

เมื่อนำ *V. parahaemolyticus* ที่พบทั้งหมด 29 ตัวอย่าง มาจำแนกสายพันธุ์หรือซีโรไทป์ เพื่อนำมาเป็นเครื่องมือในการศึกษาด้านระบาดวิทยา เพื่อค้นหาแหล่งแพร่กระจายของเชื้อ ซึ่งนำไปสู่การเฝ้าระวัง ควบคุม และป้องกันการระบาดของโรค พบทั้งหมด 12 ซีโรไทป์ โดยพบ O3:KUT มากที่สุดร้อยละ 20.70 และรองลงมา ได้แก่ O10:KUT, O2:KUT, O5:KUT, O1:KUT, O6:KUT, O8:KUT, O11:KUT, O4:KUT, O1:K1, O3:K57 และ O4:K8 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) จะเห็นว่าซีโรไทป์ที่ได้ส่วนใหญ่เป็น KUT (untypeable) แสดงว่าสภาพแวดล้อมยังคงมีการเปลี่ยนแปลงสูง ทำให้แอนติเจนบริเวณแคปซูลมีการเปลี่ยนแปลง หรือปรับตัวเพื่อความอยู่รอดกับสภาพแวดล้อมนั้นๆ⁽²⁴⁾

มีรายงานว่า *V. parahaemolyticus* ซีโรไทป์ O1:KUT เป็นสายพันธุ์ที่เคยระบาดร่วมกับ O3:K6 และ O4:K68 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคระบาดรุนแรงทั่วโลก (Pandemic) ในปี 1998^(25, 26) เนื่องจากการจำแนกสายพันธุ์หรือซีโรไทป์มีข้อจำกัด เพราะครอบคลุมเพียง 71 ซีโรไทป์ กล่าวคือ ได้ความหลากหลาย และรายละเอียดทางระบาดวิทยาไม่มากนัก⁽²⁴⁾ ทำให้ต้องเพิ่มการศึกษาขึ้นที่ควบคุมการก่อโรคด้วยเทคนิค duplex PCR ในการตรวจหายีน *tdh* ที่ควบคุมการสร้างสารพิษ thermostable direct hemolysin (TDH) ที่มีผลทำให้เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ และยีน *trh* ที่ควบคุมการสร้างสารพิษ thermostable direct hemolysin-related hemolysin (TRH) แต่ไม่ทำให้เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ โดยยีนดังกล่าวเป็นปัจจัยก่อความรุนแรงของโรค

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ตรวจไม่พบยีนสร้างสารพิษทั้ง *tdh* และ *trh* (*tdh*⁻, *trh*⁻) ในทุกซีโรไทป์ ซึ่งเป็นไปได้ว่า ยีนทั้งสองชนิดมักตรวจพบได้ใน *V. parahaemolyticus* ที่ก่อโรคในคนมากกว่า *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายฉบับ^(10, 12, 27) ที่ได้ศึกษาสมบัติของ *V. parahaemolyticus* ทำให้เกิดพยาธิสภาพในลำไส้และพบว่า *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมต่างๆ มีเพียงร้อยละ 1 ที่ทำให้เกิดโรคในคน^(28, 29, 30, 31)

อย่างไรก็ตาม แม้การศึกษานี้ตรวจพบ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่ไม่มียีน *tdh* และ *trh* ที่สร้างสารพิษ ซึ่งเป็นปัจจัยก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค แต่ผู้บริโภคมักรับประทานในปริมาณมาก เนื่องจากการก่อโรคไม่ได้เกิดจากปัจจัยของ hemolysin ยีนเท่านั้น ยังมีปัจจัยอื่น ได้แก่ ยีน *toxR* ซึ่งจะสร้างโปรตีน ToxR ไปกระตุ้นการถอดรหัสของยีนก่อความรุนแรงโรค⁽²⁹⁾ ปัจจัยพยาธิสภาพ ซึ่งขึ้นอยู่กับภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคล และปริมาณเชื้อที่ได้รับ เพราะถ้าบริโภคเนื้อปูที่ปนเปื้อน *V. parahaemolyticus* ในปริมาณ 10^5 – 10^7 เซลล์⁽¹¹⁾ ก็สามารถแสดงอาการอุจจาระร่วง ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ไม่ก่อโรคก็ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการลำไส้อักเสบได้⁽⁹⁾

การปนเปื้อนของ *S. aureus* 27 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่ระบุให้ว่าสามารถพบ *S. aureus* ได้ไม่เกิน 100 cfu/g ร้อยละ 32 โดยมีปริมาณเฉลี่ย 230 ± 0.51 cfu/g เนื่องจากตัวอย่างเนื้อปูต้องผ่านการแกะด้วยมือทำให้มีโอกาสปนเปื้อนสูง โดยเฉพาะถ้าผู้แกะไม่มีสุขอนามัยที่ดี ทั้งนี้จะส่งผลให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขได้ เนื่องจาก *S. aureus* สามารถก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Staphylococcus food poisoning) ได้อย่างเฉียบพลันหลังรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ (enterotoxin) โดยผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง ภายหลังได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าสู่ร่างกาย 1–6 ชั่วโมง ที่สำคัญสารพิษนี้สามารถทนความร้อนสูง และจะมีปริมาณสูงพอในการก่อโรคเมื่อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหารอย่างน้อย 100,000 เซลล์ต่อกรัม

การปนเปื้อน *Salmonella* spp. ใน 7 ตัวอย่าง ซึ่งจำแนกได้ 6 ซีโรวาร์ ได้แก่ Stanley, Corvallis, Bareilly, Panama, Weltevreden และ Rissen นั้น จากรายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2557) พบว่า ซีโรวาร์ Stanley, Weltevreden และ Rissen มักพบเป็น 5 อันดับแรกของการปนเปื้อนในอาหาร น้ำ ดิน และสิ่งแวดล้อม และเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค *Salmonellosis* ซึ่งส่วนใหญ่จะทำให้เกิดความผิดปกติของลำไส้⁽¹⁷⁾ *Salmonella* spp. มีความสำคัญ ที่ต้องควบคุมผ่านกิจกรรมการจัดการสุขาภิบาลอาหารที่ดี พบการปนเปื้อนได้บ่อยในอาหารที่ปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ หรือทำไว้ล่วงหน้านาน ๆ แล้วไม่ได้เก็บแช่เย็น ในส่วนของผู้ประกอบการต้องใช้ภาชนะอุปกรณ์ที่สะอาด ลดการสัมผัสกับอาหารโดยตรง ควรสวมถุงมือ และต้องมีสุขภาพสมบูรณ์ ปราศจากโรคติดต่อ รวมถึงมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดี

นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนร่วมกันไม่ว่าจะเป็น *V. parahaemolyticus* ร่วมกับ *S. aureus* หรือ *Salmonella* spp. หรือแม้กระทั่งพบร่วมกันของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 3) ในบางตัวอย่าง ซึ่งทำให้เพิ่มโอกาสหรือมีความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยมากขึ้นในผู้บริโภค

การศึกษานี้นอกจากจะพบแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ เช่น *V. parahaemolyticus*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มแคะแล้ว ยังพบการปนเปื้อนของ *Vibrio* spp. อื่น ๆ ที่อาจก่อโรคทางเดินอาหารได้เช่นกัน (ตารางที่ 4) ตามทฤษฎี *V. parahaemolyticus* และ *Salmonella* spp. ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 °C 15 นาที และ *S. aureus* ถูกทำลายได้ด้วยอุณหภูมิ 66 °C 12 นาที⁽²⁰⁾ แต่ยังพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียดังกล่าวในเนื้อปูแคะที่ต้มจนสุกก่อนนำมาจำหน่าย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเกิดการปนเปื้อนข้ามระหว่างอาหารทะเลดิบและสุกซึ่งมีกวางจำหน่ายในร้านเดียวกัน อาจมีการใช้อุปกรณ์ร่วมกัน ตลอดจนปัญหาจากสุขลักษณะส่วนบุคคลที่หยิบจำหน่ายเนื้อปู ดังนั้น ผู้บริโภคที่มีพฤติกรรมการบริโภคอาหารไม่เหมาะสม เช่น รับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ไม่รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ ๆ ต้องได้รับความรู้และเข้าใจให้ถูกต้อง เพื่อลดความเสี่ยงจากเชื้อโรคอาหารเป็นพิษเหล่านี้ ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคอาหารโดยเฉพาะอาหารที่ปรุงจากร้านค้า อย่างไรก็ตามความปลอดภัยในการบริโภคอาหารจากร้านค้า ต้องอาศัยความร่วมมือจากหลายฝ่ายทั้งผู้ประกอบการและผู้ขนส่ง โดยต้องดูแลเอาใจใส่เรื่องความสะอาดของพาหนะที่ใช้เพื่อไม่ให้แหล่งสะสมของเชื้อโรคก่อนมาถึงร้านจำหน่าย ส่วนผู้ประกอบการต้องเคร่งครัดเกี่ยวกับอนามัยส่วนบุคคลรวมถึงจัดการสถานที่จำหน่ายให้สะอาดถูกสุขลักษณะอยู่เสมอ สำหรับผู้บริโภคนั้น ก่อนบริโภคควรอุ่นอาหารโดยให้ความร้อนอย่างเพียงพอและทั่วถึง เพื่อลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือเกิดความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคมากขึ้น

คณะผู้วิจัยเห็นว่ายังมีความจำเป็นที่จะต้องติดตามเฝ้าระวังจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในอาหารทะเลชนิดอื่น ๆ ให้หลากหลายยิ่งขึ้น (matrices integration) เพื่อเป็นข้อมูลในการประเมินความปลอดภัยของอาหารทางจุลชีววิทยาสามารถกำหนดมาตรการเฝ้าระวังควบคุมและป้องกันการปนเปื้อน เพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการระบาดของโรคอุจจาระร่วง ซึ่งยังคงเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญของไทย นอกจากนี้ควรตรวจหาสารปนเปื้อนชนิดอื่น ๆ ที่อาจเป็นปัญหาสาธารณสุขที่มาจากมลภาวะจากภาคอุตสาหกรรมของประเทศ อาทิ โลหะหนักชนิดต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในอาหารทะเล เพื่อเป็นข้อมูลในการประเมินความปลอดภัยของอาหารทะเลในประเทศต่อไป

สรุป

เนื้อปูต้มแคะเป็นอาหารที่มีโอกาสปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษหลากหลายชนิด จึงมักเป็นหนึ่งในลิบบเมนูอาหารที่เป็นสาเหตุการระบาดของโรคทางเดินอาหาร ผู้บริโภคสามารถป้องกันและรักษาสุขภาพ โดยการเลือกซื้อเนื้อปูต้มแคะที่วางจำหน่ายในบรรจุภัณฑ์ปิดสนิท และเก็บรักษาในอุณหภูมิแช่เย็นตลอดอายุผลิตภัณฑ์ และที่สำคัญในการประกอบอาหารให้นำเนื้อปูต้มแคะมาผ่านความร้อนให้ทั่วถึงก่อนบริโภค เพื่อลดความเสี่ยงในการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ อีกทั้งรับประทานอาหารที่ถูกสุขลักษณะด้วยการ “กินร้อนช้อนกลางล้างมือ” หรือกินอาหารที่สุกสะอาดขณะที่ยังร้อนยังเป็นค่านิยมของการกินเพื่อสุขภาพ ทำให้ปลอดภัยจากโรคอาหารเป็นพิษได้เป็นอย่างดีในทุกยุคทุกสมัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ นางสาวจรรวณ ลัมสังจะสกุล ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร สำหรับคำปรึกษาตลอดจนข้อเสนอแนะทุกประการ และขอขอบคุณ นางสาวศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และทีมงานฝ่ายทดสอบยืนยันเชื้อซาลโมเนลลาและซิเกลลา กลุ่มแบคทีเรียวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทำให้การดำเนินการศึกษาสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. อาทิตยา วงศ์คำมา. โรคอาหารเป็นพิษ. ใน : สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2555. กรุงเทพฯ : สำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2555. หน้า 119-121.
2. อาทิตยา วงศ์คำมา, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์. โรคอาหารเป็นพิษ. ใน : สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2556. กรุงเทพฯ : สำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2556. หน้า 115-117.
3. อรทัย สุวรรณไชยรบ, สุทธนันท์ สุทธชนะ, นริศ บุญธนภัทร, ปณิธิ อัมมวิริยะ, กณิน อีระตันติกานนท์, กมลทิพย์ วิจิตรสุนทรกุล. สถานการณ์โรคและภัยที่น่าสนใจในรอบสัปดาห์ที่ 1 ปี พ.ศ. 2558. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 2558; 46(1): 6-7.
4. Holt JG, Editor. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994.
5. Pinto AD, Ciccarese G, Fontanarosa M, Terio V, Tantillo G. Detection of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish samples using collagenase-targeted multiplex PCR. J Food Safety 2006; 26(2): 150-9.
6. Kaysner CA, Depaola A. Chapter 9: *Vibrio*. In: Bacteriological analytical manual online. Washington, DC: Food and Drug Administration; 2004.
7. Kong RY, Lee SK, Law TW, Law SH, Wu RS. Rapid detection of six types of bacterial pathogens marine waters by multiplex PCR. Water Res 2002; 36(11): 2802-12.
8. Farmer JJ. The family vibriaceae. In: Balow A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, editors. The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. 2nd ed. New York: Springer Verlag; 1992. p. 2938-2951.
9. Ottaviani D, Leoni F, Serra R, Serracca L, Decastelli L, Rocchegiani E, et al. Nontoxigenic *Vibrio parahaemolyticus* strains causing acute gastroenteritis. J Clin Microbiol 2012; 50(12): 4141-3.
10. Sakazaki R, Iwanami S, Fukumi H. Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*. I. Morphological, cultural and biochemical properties and its taxonomical position. Jpn J Med Sci Biol 1963; 16(4): 161-88.
11. Sanyal SC, Sen PC. Human volunteer study on the pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*. In: Fujino T, Sakaguchi G, Sakazaki R, Takeda Y, editors. International Symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Tokyo: Saikon Publishing; 1974. p. 227-30.
12. Kaufman GE, Myers ML, Pass CL, Bej AK, Kaysner CA. Molecular analysis of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from human patients and shellfish during US Pacific north-west outbreaks. Lett Appl Microbiol 2002; 34(3): 155-61.
13. Wong CH. Detecting and molecular typing of *Vibrio parahaemolyticus*. J Food Drug Analysis 2003; 11(2): 100-7.
14. อรษา สุตเธียรกุล, ศุภรวิทย์ พึ่งจิตต์ตน, คล้ายอัปสร พงศ์พิพร, เนตรนภิส อีระวัลย์ชัย. การตรวจเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และยืนยันโฮโลไชนอย่างรวดเร็วในตัวอย่างกุ้งแช่แข็งโดยวิธี Nested PCR. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช); 2544.

15. Honda T, Iida T. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins. *Rev Med Microbiol* 1993; 4(2): 106-13.
16. Nhung PH, Ohkusu K, Miyasaka J, Sun XS, Ezaki T. Rapid and specific identification of 5 human pathogenic *Vibrio* species by multiplex polymerase chain reaction targeted to *dnaJ* gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59(3): 271-5.
17. Jay JM. Chapter 23: Foodborne gastroenteritis caused by *Salmonella* and *Shigella*. In: *Modern food microbiology*. 5th ed. New York: Chapman & Hall; 1996. p. 507-526.
18. Asiam M, Hogan J, Smith KL. Development of a PCR-based assay to detect Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in milk. *Food Microbiol* 2003; 20(3): 345-50.
19. Schwartz KJ. Salmonellosis. In: Straw BE, D’Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, editors. *Diseases of swine*. 8th ed. Ames, IW: Iowa State University Press; 1999. p. 535-551.
20. ศิวพร ศิวเวช. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5. นครปฐม: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2542.
21. Bacteriological Analytical Manual Online (BAM). Chapter 12: *Staphylococcus aureus*. Washington, DC: Food and Drug Administration; 2001.
22. ISO 6579:2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2002.
23. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2553.
24. Matsumoto C, Okuda J, Ishibashi M, Iwanaga M, Garg P, Rammamurthy T, et al. Pandemic spread of an O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidences by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses. *J Clin Microbiol* 2000; 38(2): 578-85.
25. Okura M, Osawa R, Iguchi A, Arakawa E, Terajima J, Watanabe H, et al. Genotyping analysis of *Vibrio parahaemolyticus* and development of a pandemic group-specific multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol* 2003; 41(10): 4676-82.
26. Serichantalergs O, Bhuiyan NA, Nair GB, Chivarananond O, Srijan A, Bodhidatta L, et al. The dominance of pandemic serovars of *Vibrio parahaemolyticus* in expatriates and sporadic cases of diarrhea in Thailand, and a new emergent serovar (O3:K46) with pandemic traits. *J Med Microbiol* 2007; 56(5): 608-13.
27. Osawa R, Okitsu T, Morozumi H, Yamai S. Occurrence of urease-positive *Vibrio parahaemolyticus* in Kanagawa, Japan, with specific reference to presence of thermostable direct hemolysin (TDH) and the TDH-related-hemolysin genes. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62(2): 725-7.
28. Cook DW, Oleary P, Hunsucker JC, Sloan EM, Bowers JC, Blodgett RJ, et al. *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. retail shell oysters: a national survey June 1998 to July 1999. *J Food Prot* 2002; 65: 79-87.
29. Lin Z, Kumagai K, Baba K, Mekalanos JJ, Nishibuchi M. *Vibrio parahaemolyticus* has a homolog of the *Vibrio cholerae* *toxRS* operon that mediates environmentally induced regulation of the thermostable direct hemolysin gene. *J Bacteriol* 1993; 175(12): 3844-55.
30. Miyamoto Y, Kato T, Obara Y, Akiyama S, Takizawa K, Yamai S. In vitro hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*: its close correlation with human pathogenicity. *J Bacteriol* 1969; 100(2): 1147-9.
31. Vuddhakul V, Chowdhury A, Laohaprerththisan V, Pungrasamee P, Patararungrong N, Thianmontri P, et al. Isolation of pandemic O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* strain from environmental and clinical sources in Thailand. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66(6): 2685-9.

Surveillance of *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in Boiled Crab Meat

Sasithorn Thitipetchrakul* Kanokpan Somyoonsup**
and Sriwanna Hatayananont***

*Bureau of Quality and Safety of Food, ** National Institute of Health, Department of Medical Sciences,
Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT This survey research is to monitor the contamination of *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in boiled crab meats sold in 10 areas of fresh and fair markets of Bangkok district. From the favorite parts for consumption such as lump meat, special meat, claws meat and legs meat, a total of 50 samples during November 2014 till June 2015 were collected for this study. It was found that 29 out of 50 samples were contaminated (58%) with the amount of 15–1,100,000 MPN/g (1.18–6.04 log MPN/g) or the average of 3.72 ± 0.91 log MPN/g of *V. parahaemolyticus* and 27 out of 50 samples (54%) were contaminated with the amount of 20–11,000 cfu/g (1.30–4.04 log cfu/g) or the average of 230 ± 0.51 cfu/g of *S. aureus*. Moreover, *Salmonella* spp. with 6 serovars was detected in 7 samples (14%). From these results, only the amount of *S. aureus* (32%) was over the specified criteria, stated Microbiological Qualification Standard of Foods and Container notified by Department of Medical Science No. 2 (2553) under the category of ready to eat food, which is less than 100 cfu/g and *V. parahaemolyticus* as well as *Salmonella* spp. shall be non-detectable. Various *Vibrio* spp. of *V. parahaemolyticus* (58%), *V. cholerae* non O1 (18%), *V. vulnificus* (16%), *V. mimicus* (12%), *V. alginolyticus* (10%) and *V. fluvialis* (4%) were found and identified. Concurrently, serotypes of *V. parahaemolyticus* were classified by using Denka Seikenkit, Tokyo. The most of O3: KUT serotype was found (20.70%), whereas the genes of *tdh* and *trh* (*tdh*⁺, *trh*⁺) were not detected in all serotypes.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., Boiled Crab Meat

การตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มทาเลท (Phthalates) ในผลิตภัณฑ์สุขภาพโดยวิธี UPLC/DAD

ศิริพร ทองประกายแสง

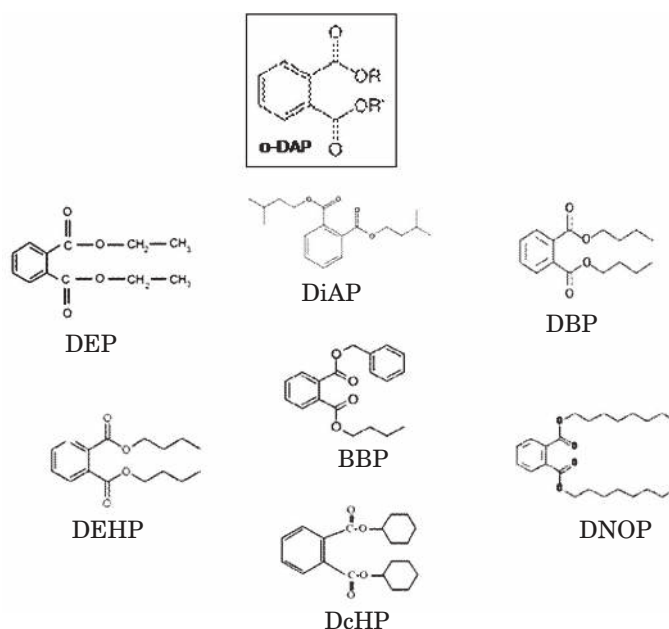
สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ทาเลท (phthalates) เป็นกลุ่มสารเคมีที่สำคัญในทางอุตสาหกรรมใช้เป็นพลาสติกไซเซอรในการผลิตพลาสติกมีจำนวนมากกว่า 30 ชนิดในท้องตลาด ช่วยเพิ่มคุณสมบัติของพลาสติกให้มีความยืดหยุ่น นุ่มและเหนียว ในผลิตภัณฑ์สุขภาพหลายชนิด พบว่าสารทาเลทบางชนิดเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในสัตว์ทดลอง ปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศห้ามใช้สารทาเลท 5 ชนิด ในการผลิตเครื่องสำอาง ได้แก่ DBP, DEHP, DMEP, PIPP และ BBP และที่ผ่านมายังไม่มีวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารทาเลทในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และข้อมูลการสำรวจในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนชนิดต่างๆ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ขึ้นและดำเนินการทดสอบความใช้ได้ตาม Eurachem guide ผลการศึกษาได้วิธีที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารทาเลท 7 ชนิดพร้อมกัน ด้วยเครื่อง UPLC ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array ใช้คอลัมน์ Kinetex[®] C 18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm) ใช้สภาวะการแยกสารแบบ Gradient program ระหว่าง acetonitrile และ deionized water ด้วย flow rate เท่ากับ 0.45 ml/min ใช้เวลาในการแยกสารทั้งหมด 8 นาที อุณหภูมิคอลัมน์ 35°C และความยาวคลื่น 225 nm ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่าวิธีมีความจำเพาะเจาะจงสำหรับสารทาเลท 7 ชนิด โดยให้ค่า Resolution > 2, %RSD ของ retention time ในวันเดียวกันเท่ากับ 0.01 - 0.12 และระหว่างวัน 0.29 - 1.71 ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.0002 - 0.007 %w/w และ LOQ อยู่ในช่วง 0.001 - 0.022 %w/w ความสัมพันธ์เชิงเส้นของความเข้มข้นในช่วง 0.05 - 30 μ g/ml และค่าสัญญาณ ได้ค่า $r > 0.995$ วิธีนี้ให้ความถูกต้องที่ดีแสดงด้วยค่า %recovery อยู่ในช่วง 90 - 108% ความเที่ยงของวิธีให้ %RSD < 3 ดังนั้นวิธีนี้จึงเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารทาเลท 7 ชนิดพร้อมกัน ในผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

บทนำ

ทาเลท (phthalates) จัดเป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticizers) ที่ช่วยเพิ่มคุณสมบัติของพลาสติกให้มีความยืดหยุ่น นุ่มและเหนียว และเป็นสารเคมีที่สำคัญในทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การผลิตของเล่นเด็ก อุปกรณ์ทางการแพทย์ วัสดุห่อหุ้มและบรรจุอาหาร นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนทาเลทถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับโมเลกุลของน้ำหอมและสีให้ติดแน่นทนนานอีกด้วย จึงทำให้สารทาเลทเป็นสารเคมีหนึ่งที่มนุษย์สัมผัสในชีวิตประจำวันมาก

ทาเลทเป็นเอสเทอร์ของ 1, 2-benzenedicarboxylic acid สารกลุ่มทาเลทมีจำนวนมากกว่า 30 ชนิดแตกต่างกันไปตามหมู่แทนที่ alkyl หรือ aryl (R และ R') โดยกลุ่มที่มีการใช้มากคือ กลุ่ม ortho-dialkylphthalates (o-DAP)⁽¹⁾ ซึ่งโครงสร้างทางเคมี (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 โครงสร้างหลักของสารกลุ่ม ortho-dialkylphthalates (o-DAP) และโครงสร้างทางเคมีของสารทาเลท 7 ชนิดที่ศึกษา

สำหรับความเป็นพิษพบว่าสารทาเลทบางชนิด โดยเฉพาะกลุ่มที่มีมวลโมเลกุลสูง เช่น bis-isononyl phthalate (DINP) และ bis-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) เป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตของทารกหรือระบบสืบพันธุ์ ดังนั้นเด็กจึงเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการได้รับสัมผัสสารทาเลท⁽²⁾ ปัจจุบันหน่วยงานของสหรัฐอเมริกาที่ศึกษาวิจัยด้านมะเร็งคือ The International Agency for Research on Cancer (IARC) จัดให้อยู่ในกลุ่ม 3 (Inadequate in humans and inadequate or limited in animals) คือ สารที่พบว่ายังไม่มีข้อมูลงานวิจัยเพียงพอที่จะสามารถสนับสนุนความเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์และมีข้อมูลที่จำกัดในการก่อมะเร็งในสัตว์⁽³⁾ อย่างไรก็ตามกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้มีการควบคุมการใช้สารทาเลท 6 ชนิด⁽⁴⁾ คือ Dibutyl phthalate (DBP), Benzyl butyl phthalate (BBP), bis-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), bis-octyl phthalate (DOP), bis-isononyl phthalate (DINP) และ bis-isodecyl phthalates (DIDP) ในวัสดุสำหรับใช้กับเด็กอายุช่วง 1 – 3 ขวบ สำหรับในประเทศไทยสารทาเลทบางชนิดถูกกำหนดเป็นสารห้ามใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนพิเศษ 80ง ลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551 ซึ่งสารดังกล่าว ได้แก่ Dibutyl phthalate (ลำดับที่ 670), bis-(2-ethylhexyl)

phthalate (ลำดับที่ 672), bis-(2-methoxyethyl) phthalate (ลำดับที่ 673), branched and linear n-pentyl-isopentyl phthalate (ลำดับที่ 1145) และ Benzyl butyl phthalate (ลำดับที่ 1146)

ปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์สารทาเลทสามารถใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีในการแยกสารแต่ละชนิดและใช้หน่วยตรวจวัดชนิดต่างๆ เช่น GC/MS นิยมใช้ในงานวิเคราะห์ตัวอย่างของเล่นเด็ก ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ตัวอย่างอาหารและสิ่งแวดล้อมรวมทั้งในงานวิเคราะห์ทางด้านเครื่องสำอางอีกด้วย ซึ่งวิธีทดสอบดังกล่าวมีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากและมักพบปัญหาการปนเปื้อนของสารทาเลทใน blank chromatogram อีกด้วย⁽⁴⁻⁸⁾ ส่วนวิธีทดสอบตัวอย่างเครื่องสำอางของ Riyan Su et al., 2010⁽⁹⁾ ซึ่งใช้วิธี High Performance Liquid Chromatograph, HPLC โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยพอลิเมอร์ชนิดพิเศษเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารทาเลท 4 ชนิดคือ dimethyl phthalate (DMP), di-n-butyl phthalate (DBP), dicyclohexyl phthalate (DcHP) และ di-n-octyl phthalate (DnOP)

ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารทาเลทห้ามใช้หรือปริมาณของสารทาเลทซึ่งผสมในผลิตภัณฑ์สุขภาพที่ใช้ในชีวิตประจำวัน ดังนั้นสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารทาเลท โดยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array (DAD) เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มทาเลททั้งที่ห้ามใช้และที่นิยมใช้ในท้องตลาดจำนวน 7 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สุขภาพประเภทเครื่องสำอางชนิด ครีม โลชั่น มาร์กหน้า และผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนชนิด เจลปรับอากาศ น้ำยาซักผ้า และน้ำยาปรับผ้านุ่ม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการสำรวจผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในท้องตลาด

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน : Di-methoxyethyl phthalate (DEMP), Diethyl phthalate (DEP), Di-n-propyl phthalate (DnPP), Butylbenzyl phthalate (BBP), Di-n-butyl phthalate (DBP), Di-isoamyl phthalate (DiAP), Dicyclohexyl phthalate (DcHP), Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) และ Di-octyl ผลิตภัณฑ์ของ Dr Ehrenstorfer ประเทศเยอรมนี ความบริสุทธิ์มากกว่า 99% พร้อมใบรับรอง สารเคมี : acetonitrile methanol และ 2-propanol (HPLC grade) ผลิตภัณฑ์ของ Scharlau ประเทศสเปน

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (UPLC) ผลิตภัณฑ์ของ Water รุ่น Acquity ประกอบด้วย เครื่องตรวจวัดชนิด photodiode array และชุดประมวลผลโปรแกรม Empower 2.0, เครื่องชั่งความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม, อ่างน้ำความถี่สูง (ultrasonic bath), ชุดกรองตัวอย่างก่อนเข้าเครื่อง พร้อมแผ่นกรองชนิด Polyvinylidene-fluoride (PVDF) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 และ 25 มิลลิเมตร และเครื่องผสมสาร (vortex mixer)

ตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ครีม โลชั่น โฟมล้างหน้า เจลปรับอากาศ น้ำยาซักผ้า และน้ำยาปรับผ้านุ่ม สุ่มเก็บจากห้างสรรพสินค้า ร้านค้าปลีก ร้านค้าส่ง และร้านค้าสะดวกซื้อ ในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานคร และจังหวัดนนทบุรี

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.1 – 0.5 กรัม ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารและแมทริกซ์ของตัวอย่าง เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างละลายหมดด้วยเครื่องผสมสาร ตัวอย่างที่ละลายยากให้นำไปเขย่าด้วยอ่างน้ำความถี่สูงประมาณ 5 – 10 นาที แล้วปรับปริมาตรด้วย acetonitrile: deionized water (1:1)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานทาเลทผสม ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิด น้ำหนัก 0.01 กรัม ในขวดวัดปริมาตรสี่ขาขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย acetonitrile

สารละลายมาตรฐานทาเลทผสมความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตสารละลายเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรสี่ขาขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลาย acetonitrile: deionized water (1:1)

สารละลายมาตรฐานทาเลทผสม ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตสารละลาย 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรสี่ขาขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลาย acetonitrile: deionized water (1:1)

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารทาเลท 7 ชนิดพร้อมกัน

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิด ได้แก่ DEP, DnPP, BBP, DBP, DiAP, DcHP และ DEHP ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด Reverse phase C18 และหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ที่มีผลต่อการแยกของสารทาเลท 7 ชนิด ได้แก่ อัตราส่วนผสมของตัวทำละลายระหว่าง acetonitrile และ deionized water ในช่วงเวลาที่เหมาะสม อุณหภูมิของคอลัมน์ และตำแหน่งความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

ศึกษาโดยอ้างอิงวิธีของ EURACHEM Guideline⁽¹⁰⁾ โดยเลือกหัวข้อที่เหมาะสมกับการใช้งาน Quantitative test for impurity ประกอบด้วยพารามิเตอร์ที่ต้องศึกษาดังนี้

1. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิด ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC ภายในวันเดียวกัน จำนวนซ้ำ 10 ครั้ง และวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันเป็นเวลา 10 วัน นำผลข้อมูล retention time ที่ได้ของพีคสารมาตรฐานแต่ละชนิดมาคำนวณร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Percent Relative Standard Deviation, %RSD)

2. การทดสอบหาปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of qualification , LOD และ Limit of quantification, LOQ)

การประมาณค่า LOD และ LOQ ดำเนินการตามวิธีของ EURACHEM⁽¹⁰⁾ โดยเลือกตัวอย่างที่ตรวจไม่พบหรือไม่มี peak รบกวนของสารที่ต้องการวิเคราะห์มาใช้เป็น sample blank วิเคราะห์ซ้ำจำนวน 10 ครั้ง โดยชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 0.2 ± 0.02 กรัม ละลายด้วย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย

diluent ให้ได้ 25 มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างด้วย 0.20 ไมครอน PVDF membrane filter โดยแต่ละตัวอย่างฉีดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่า response สูงสุดของแต่ละโครมาโทแกรมมาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (So) และนำมาประมาณค่า LOD และ LOQ ตามวิธีการของ Eurachem⁽¹⁰⁾

3. การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลทที่มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0, 20.0 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC วิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 5 ครั้ง และนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคคำนวณค่า coefficient of determination (r^2) และค่าต่างๆ ของสมการเชิงเส้นของสารแต่ละชนิด

4. การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

เตรียม spiked sample ของแต่ละแมทริกซ์ให้มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ โดยการชั่งตัวอย่างแต่ละชนิด ให้มีน้ำหนัก 0.2 ± 0.05 กรัม ในขวดวัดปริมาตรสีชาขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานทาเลทแต่ละชนิด ปริมาณ 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม ละลายด้วย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมด้วย vortex mixer ให้เข้ากันละลายตัวอย่างให้หมดโดยนำไป sonicate ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย acetonitrile: deionized water (1:1) กรองสารละลายด้วยตัวกรองชนิด PVDF ขนาด 0.2 ไมครอน ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง UPLC อ่านค่าความเข้มข้นเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างด้วยสารละลายมาตรฐานช่วงความเข้มข้น 0.5 – 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำซ้ำแบบเดียวกันจำนวน 10 ครั้ง คำนวณร้อยละการได้กลับคืน (%Recovery) ตามวิธีของ Eurachem⁽¹⁰⁾

5. การทดสอบความเที่ยงตรง (Precision)

5.1 ความสามารถในการทำซ้ำได้ (Repeatability)

เตรียม spiked sample ให้มีความเข้มข้นของสารทาเลท ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด และทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และนำค่า peak area ของสารแต่ละชนิดมาคำนวณ %RSD

5.2 ความสามารถในการทวนซ้ำได้ (Intermediate precision)

เตรียม spiked sample ให้มีความเข้มข้นของสารทาเลท ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำซ้ำเป็นเวลา 10 วัน และนำค่า peak area ของสารแต่ละชนิดมาคำนวณ %RSD

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ (Measurement Uncertainty)

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดคำนึงถึงแหล่งของความไม่แน่นอนทุกแหล่ง⁽¹¹⁾ เมื่อรวมค่าความไม่แน่นอนทั้งหมด แล้วคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และใช้ค่า Coverage factor, $k=2$

ผล

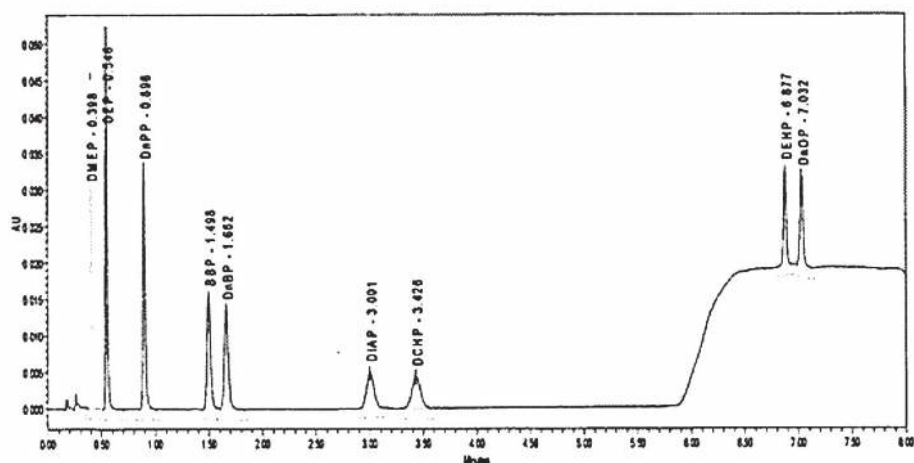
1. สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

คอลัมน์ที่ใช้ชนิด Kinetex C18, 2.6×50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ขณะทำงาน 35°C ช่วงความยาวคลื่นสำหรับ diode array mode คือ 200 – 400 นาโนเมตร และความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) เท่ากับ 225 นาโนเมตร มีโปรแกรมของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ผสมแบบ gradient (ตารางที่ 1) และ

ระยะเวลาในการวิเคราะห์ (run time) 10 นาที โดยใช้ปริมาตรในการฉีดครั้งละ 2 ไมโครลิตร ผลการแยกสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 9 ชนิด ให้โครมาโทแกรม (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2) จากภาพจะเห็นว่าสามารถแยกสารทาเลทได้จำนวน 9 ชนิด ซึ่งครอบคลุมสารทาเลทห้ามใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข แต่เมื่อทดสอบกับผลิตภัณฑ์จริง พบว่ามีปัญหาเมทริกซ์รบกวนพีคของสาร DMEP และ DnOP ซึ่งเป็นพีคแรกและพีคสุดท้ายของโครมาโทแกรม ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์สารทั้งสองตัวพร้อมกับสารทาเลทตัวอื่นๆ ได้ ดังนั้นในการดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธี จึงเลือกสารทาเลท 7 ชนิด ที่สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันในผลิตภัณฑ์ 6 ชนิด ที่ศึกษาดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ตารางที่ 1 Gradient Program ของคอลัมน์โดยตัวทำละลายที่ใช้ 2 ชนิดผสมกัน คือ DI water (A) และ Acetonitrile (B) ที่เวลาต่างๆ กัน 6 ช่วงเวลา ตามอัตราการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนผสมเป็นไปตามลักษณะของ Curve ด้วยอัตราเร็วคงที่ในการเคลื่อนที่ของตัวทำละลาย 0.450 มิลลิลิตรต่อนาที ตลอดช่วงการทำงาน

	Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
1	Initial	0.450	40	60	–
2	6.50	0.450	10	90	11
3	7.50	0.450	10	90	11
4	8.00	0.450	0	100	5
5	8.50	0.450	40	60	5



ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของสารละลายผสมสารทาเลท ความเข้มข้น 3 µg/ml ใน Acetonitrile ตามลำดับจากซ้ายไปขวาดังนี้ DEMP, DEP, DnPP, BBP, DnBP หรือ DBP, DiAP, DcHP, DEHP และ DnOP

2. ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธี

2.1 Selectivity: Mixed Standard Concentration 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สภาวะที่ใช้สามารถแยกสารทาเลท 7 ชนิด ออกจากกันได้ชัดเจนโดยให้ค่า Resolution > 2 และให้ค่า %RSD ของ retention time ของสารทั้ง 7 ชนิด จากการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน อยู่ในช่วง 0.04 – 0.14 และระหว่างวัน อยู่ในช่วง 0.39 – 1.54 รายละเอียด (ตารางที่ 2) และให้ Peak characteristic (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะสำคัญของ Chromatogram โดยระบุ Peak Characteristic เป็นค่าเฉลี่ย (n=10) จากการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิด ที่ความเข้มข้น 3 µg/ml

	Name	RT	Area	K Prime	Theoretical Plate (5σ)	Tailing	Resolution
1	Diethyl phthalate, DEP	0.5438	32494	2.88	4715	1.10	5.82
2	Di-n-propyl phthalate, DnPP	0.8931	29689	5.38	6720	1.13	10.64
3	Butylbenzyl phthalate, BBP	1.4939	20879	9.67	7660	1.12	11.84
4	Di-n-butyl phthalate, DnBP	1.6578	20790	10.84	7033	1.12	2.43
5	Di-isoamyl phthalate, DiAP	2.9974	11537	20.41	5883	1.18	13.13
6	Dicyclohexyl phthalate, DcHP	3.4301	13156	23.50	2836	0.94	3.07
7	Di (2-ethylhexyl) phthalate, DEHP	6.8728	15287	48.09	218410	0.93	35.11

2.2 LOD และ LOQ

ผลการทดสอบปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน S_0 ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 ชนิด ซึ่งพบว่า โลชั่นให้ response ของ matrix ที่รบกวนการวิเคราะห์มากที่สุด รองลงมา คือ โฟมล้างหน้า น้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีม น้ำยาซักผ้าและเจลปรับอากาศ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ sample blank ของแต่ละผลิตภัณฑ์ 6 ชนิด ได้แก่ น้ำยาปรับผ้านุ่ม (Softener) น้ำยาซักผ้า (Washing Liquid) เจลปรับอากาศ (Air Freshener) โฟมล้างหน้า (Facial Foam) ครีม (Cream) และโลชั่น (Lotion) จำนวน 10 ครั้ง แต่ละครั้งฉีด 3 ซ้ำ

Product		Peak area										mean	SD (S_0)	S_0'
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Softener	inj1	10709	10585	10695	8242	8525	9968	10025	9233	8995	8545	9562	928	656
	Inj2	10793	10643	10748	8284	8632	10123	9731	8922	9053	8717			
	Inj3	10867	10631	10662	8362	8407	10264	9568	8932	9075	8927			
Washing Liquid	inj1	5381	5375	5257	5702	6074	5110	4975	8272	6841	7304	5995	1205	852
	Inj2	5250	5279	5251	5455	5385	5163	4731	9471	6419	8499			
	Inj3	5198	5944	4939	5326	5145	6461	5160	7900	5778	6806			
Air Freshener	inj1	1818	1782	1416	1771	1537	1627	3045	1469	1996	1470	1818	538	381
	Inj2	1616	1333	1472	1507	2316	1538	3680	2413	1862	1329			
	Inj3	1330	1491	1679	1799	1646	1828	2366	2497	1581	1318			
cream	inj1	9996	9385	9686	9385	9796	9093	8715	8562	8719	8265	9098	462	326
	Inj2	9653	9087	9354	9351	9921	8849	8621	8675	9196	8629			
	Inj3	9610	9347	9070	9227	9301	8867	8767	8582	8619	8597			
Lotion	inj1	37371	33976	39170	37684	39134	39701	40117	35108	40975	38475	38872	2125	1503
	Inj2	36201	39484	38096	37852	40465	39926	40685	36177	40275	43224			
	Inj3	38800	38285	35031	39568	42799	40477	38833	40917	38881	38461			
Facial Foam	inj1	15057	14739	19168	15119	15572	16050	16149	16642	15976	16520	16326	1266	895
	Inj2	14610	17260	19244	15564	15678	15930	16051	16391	15928	16021			
	Inj3	14751	18848	19163	15661	16702	16702	16068	16394	15831	16000			

และเมื่อพิจารณาขีดความสามารถของวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (LOD) และเชิงปริมาณ (LOQ) พบว่าวิธีนี้ให้ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.017 – 0.577 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 0.0002 – 0.007 %w/w และ LOQ อยู่ในช่วง 0.058 – 1.812 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรหรือ 0.001 – 0.022 %w/w ผลิตภัณฑ์ที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดคือ เจลปรับอากาศ รองลงมาคือ ครีม น้ำยาล้างมือ น้ำยาปรับผ้านุ่ม โฟมล้างหน้า และโลชั่น ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการศึกษา LOD และ LOQ ของวิธีโดยใช้ blank sample ของแต่ละเมทริกซ์ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ น้ำยาปรับผ้านุ่ม (Softener) น้ำยาล้างมือ (Washing Liquid) เจลปรับอากาศ (Air Freshener) โฟมล้างหน้า (Facial Foam) ครีม (Cream) และ โลชั่น (Lotion) โดยวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง และแต่ละซ้ำฉีด 3 ครั้ง คำนวณค่าความเข้มข้นในรูปไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{ml}$) และร้อยละโดยน้ำหนัก (%w/w)

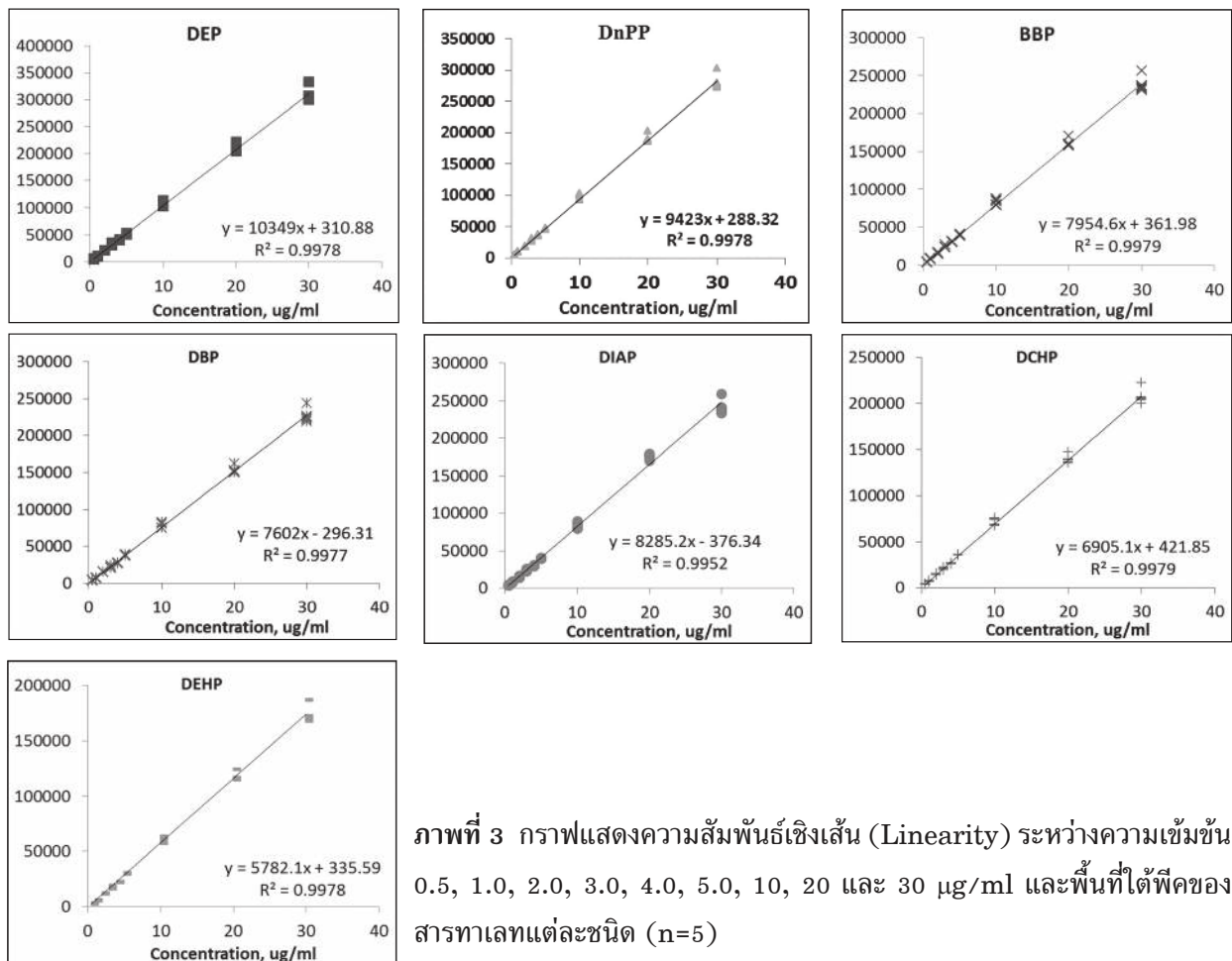
		DEP	DnPP	BBP	DBP	DiAP	DcHP	DEHP
Softener								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.159	0.148	0.162	0.017	0.178	0.038	0.313
	%w/w	0.002	0.002	0.002	0.0002	0.002	0.0004	0.004
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.531	0.493	0.539	0.058	0.592	0.128	1.043
	%w/w	0.006	0.006	0.0063	0.001	0.007	0.001	0.012
Washing Liquid								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.203	0.197	0.219	0.084	0.237	0.107	0.392
	%w/w	0.002	0.002	0.003	0.001	0.003	0.001	0.005
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.325	0.677	0.655	0.731	0.278	0.789	0.357
	%w/w	0.004	0.008	0.008	0.009	0.003	0.009	0.004
Air Freshener								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.058	0.035	0.029	0.090	0.090	0.041	0.080
	%w/w	0.001	0.0004	0.0003	0.001	0.0005	0.001	0.002
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.451	0.194	0.117	0.096	0.452	0.137	0.401
	%w/w	0.005	0.002	0.001	0.001	0.005	0.002	0.005
Cream								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.079	0.078	0.088	0.045	0.095	0.054	0.151
	%w/w	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.172	0.093	0.067	0.436	0.108	0.392	0.395
	%w/w	0.002	0.001	0.001	0.005	0.001	0.005	0.005
Lotion								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.315	0.341	0.398	0.402	0.413	0.424	0.577
	%w/w	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.007
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.958	0.969	1.101	0.703	1.168	0.798	1.812
	%w/w	0.011	0.012	0.013	0.008	0.014	0.010	0.022
Facial Foam								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.230	0.246	0.286	0.273	0.298	0.290	0.423
	%w/w	0.003	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004	0.005
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.674	0.652	0.727	0.273	0.785	0.352	1.299
	%w/w	0.008	0.008	0.009	0.003	0.009	0.004	0.016

2.3 Linearity

ผลการทดสอบค่า r^2 ของสารทาเลทแต่ละชนิด พบว่าให้ค่ามากกว่า 0.995 ในช่วงความเข้มข้น 0.5 – 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (ตารางที่ 6 และภาพที่ 3) จากค่า slope ของกราฟจะเห็นว่า DEP มีความไวในการตรวจวิเคราะห์ที่สูงที่สุดแสดงค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ DnPP, DiAP, BBP, DBP, DcHP และ DEHP ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลการศึกษา Linearity ของวิธี แสดงค่าสัมประสิทธิ์ (r^2) ค่า slope และค่า intercept ของสมการเชิงเส้น ระหว่างความเข้มข้น 9 ระดับ (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0, 20.0 และ 30.0 $\mu\text{g/ml}$) และพื้นที่ใต้พีคของสารทาเลททั้ง 7 ชนิด

	Name	r^2	slope	intercept
1	DEP	0.9978	10349	310.88
2	DnPP	0.9979	9423	288.32
3	BBP	0.9978	7955	361.98
4	DBP	0.9977	7602	296.31
5	DiAP	0.9952	8285	-376.34
6	DcHP	0.9979	6905	421.85
7	DEHP	0.9978	5782	335.59



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity) ระหว่างความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10, 20 และ 30 $\mu\text{g/ml}$ และพื้นที่ใต้พีคของสารทาเลทแต่ละชนิด ($n=5$)

2.4 Accuracy

จากการศึกษา %Recovery ของสารทาเลท 7 ชนิด ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 6 ชนิด โดยการ spiked สารมาตรฐานผสมของทาเลท ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ พบว่า %Recovery ของสารทาเลทที่ได้อยู่ในช่วง 90 - 110% ทั้งนี้ได้แสดงตัวอย่างผลของค่า %Recovery ที่ได้จากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์โลชั่น (ตารางที่ 7) และเมื่อนำข้อมูลของทุกผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์พบว่า ให้ค่า %Recovery สูงสุดคือ 108.12 และค่าต่ำสุดคือ 90.06 ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 96 - 98% แสดงการกระจายตัวของข้อมูลโดยมีค่า %RSD อยู่ในช่วง 2.24 - 4.17% (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 ผลการศึกษา accuracy ของวิธีสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดโลชั่น โดยการ spiked สารทาเลทที่ความเข้มข้น 3 ระดับ จำนวนซ้ำ 10 ครั้ง และคำนวณค่า %recovery

สาร/ปริมาณ ที่ spiked	%Recovery, ครั้งที่									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DEP										
100 µg/g	94.79	93.37	98.82	100.74	95.64	101.39	96.92	98.20	97.80	98.50
200 µg/g	101.80	96.56	98.71	95.85	97.88	102.11	98.01	93.19	98.69	97.47
400 µg/g	99.00	100.55	99.87	103.77	98.66	97.69	98.71	99.32	101.70	101.93
DnPP										
100 µg/g	100.42	92.41	99.81	96.44	101.29	99.53	102.91	99.04	98.88	104.88
200 µg/g	99.87	99.13	102.34	99.48	100.43	97.75	98.32	100.82	100.80	101.79
400 µg/g	97.56	99.26	97.07	97.68	95.29	94.97	96.40	97.83	97.79	95.87
BBP										
100 µg/g	93.01	92.03	101.05	102.66	99.41	99.94	97.51	99.01	92.90	100.84
200 µg/g	103.08	103.12	101.74	102.50	99.63	101.83	99.13	100.99	103.48	100.06
400 µg/g	101.20	99.89	99.42	100.27	98.10	97.57	99.00	100.67	100.24	99.17
DBP										
100 µg/g	97.07	94.47	101.50	98.69	95.45	102.59	99.36	102.75	102.75	102.75
200 µg/g	101.85	104.33	99.60	100.34	98.02	98.23	98.93	97.95	102.28	97.49
400 µg/g	99.08	98.78	97.33	98.40	96.77	94.80	97.17	97.82	97.39	96.10
DiAP										
100 µg/g	97.34	99.12	100.04	98.10	100.46	102.92	94.89	95.38	99.44	95.10
200 µg/g	101.70	105.63	99.48	100.21	94.54	101.52	102.09	93.23	99.74	103.40
400 µg/g	98.73	97.21	98.43	101.39	94.75	94.23	98.53	100.64	98.53	97.74
DcHP										
100 µg/g	92.40	100.81	93.35	100.00	94.36	99.44	91.69	99.61	95.11	99.70
200 µg/g	106.75	107.16	95.20	99.52	99.27	102.78	104.97	105.16	104.78	96.77
400 µg/g	96.10	99.86	102.08	99.11	99.19	96.35	98.01	101.46	97.80	98.24
DEHP										
100 µg/g	92.05	95.58	94.89	102.74	100.28	100.80	100.30	100.82	100.86	98.37
200 µg/g	94.79	92.36	94.13	95.08	93.81	93.96	93.55	94.65	91.09	93.11
400 µg/g	92.15	91.82	92.59	93.29	91.78	90.27	90.54	93.26	92.74	91.59
DnOP										
100 µg/g	91.36	94.70	94.76	90.28	93.30	95.62	97.13	94.81	95.96	99.55
200 µg/g	92.30	90.36	98.20	96.62	93.54	97.92	93.95	97.84	91.58	92.14
400 µg/g	91.50	94.51	90.13	90.25	92.58	94.81	92.50	95.68	91.32	93.14

ตารางที่ 8 สรุปผลการศึกษา Accuracy ของวิธีโดยการแสดงค่าสูงสุด ต่ำสุด ค่าเฉลี่ย และ %RSD ของ %recovery ของสารทาเลท 7 ชนิด ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ในผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Products	%Recovery			
	Min.	Max.	Mean	%RSD
Softener	91.12	108.12	96.71	2.24
Washing Liquid	90.49	102.24	96.52	2.53
Air Freshener	90.40	104.93	96.50	2.99
Cream	91.02	104.10	96.86	3.39
Lotion	90.13	107.16	97.86	3.70
Facial Foam	90.06	107.23	97.40	4.17

2.5 Precision

2.5.1 Repeatability (Within Day)

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 10 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน ของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดและนำข้อมูล ผล %w/w ที่วิเคราะห์ได้ มาหาค่า %RSD พบค่าต่ำสุดคือ 0.87 และค่าสูงสุดคือ 2.54 (ตารางที่ 9)

2.5.2 Intermediate precision (Between Day)

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 10 ครั้ง จำนวน 10 วัน ของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด และนำข้อมูล ผล %w/w ที่วิเคราะห์ได้ มาหาค่า %RSD พบค่าต่ำสุดคือ 1.92 และค่าสูงสุดคือ 2.97 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการศึกษา Precision (Within Day และ Between day) แสดงผลโดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD) ของข้อมูล %w/w จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ spike สารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิดซ้ำ 10 ครั้ง (n=10)

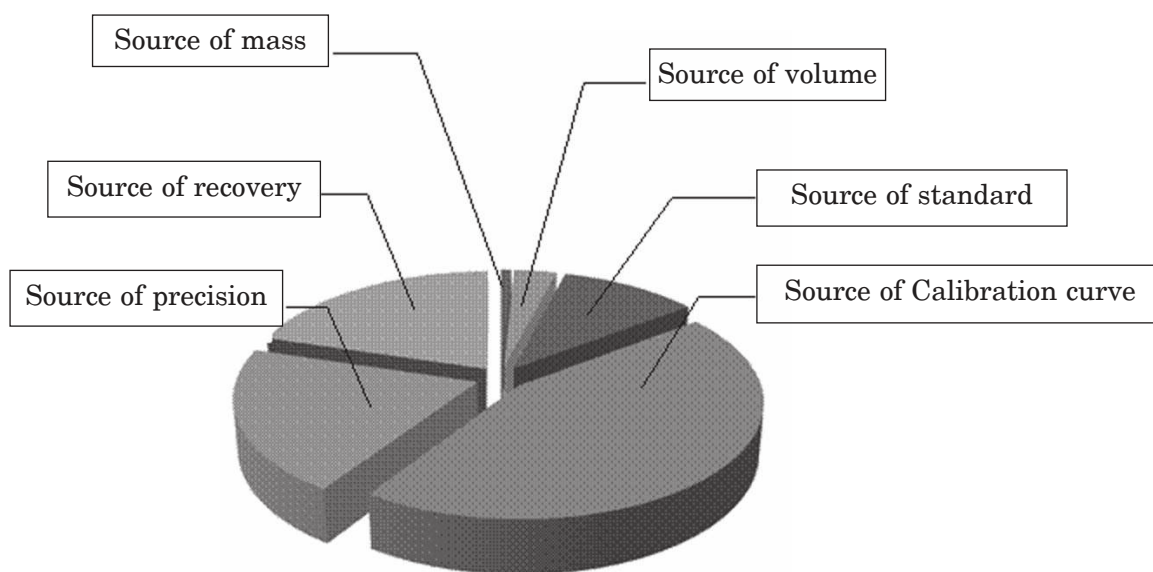
Products	Within Day							Between Day						
	% RSD							% RSD						
	DEP	DnPP	BBP	DBP	DiAP	DcHP	DEHP	DEP	DnPP	BBP	DBP	DiAP	DcHP	DEHP
Softener	1.96	1.25	0.92	0.97	1.16	0.91	0.87	2.04	2.35	2.78	2.12	2.32	2.13	2.31
Washing Liquid	2.31	1.58	1.76	1.87	1.21	1.87	2.12	2.56	2.67	2.21	2.31	2.11	2.86	2.97
Air Freshener	2.09	2.31	2.54	2.19	2.22	2.31	2.31	2.89	2.93	2.86	2.01	1.99	2.31	2.64
Cream	2.11	1.33	1.18	1.43	2.43	2.47	1.63	2.75	2.81	2.54	2.78	2.74	2.92	2.31
Lotion	1.99	2.28	2.40	2.35	2.11	2.17	2.40	2.83	2.26	2.17	2.54	2.25	2.70	2.74
Facial Foam	1.18	1.64	1.21	1.24	1.32	1.87	1.72	1.98	2.82	2.42	2.40	2.41	2.76	1.92

3. ผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนา

พิจารณาแหล่งความไม่แน่นอนที่สามารถสอบกลับได้ตามพารามิเตอร์ต่อไปนี้ ความไม่แน่นอนจากการเตรียม ตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน แหล่งของความไม่แน่นอนมาจากเครื่องชั่ง ขวดวัดปริมาตร ไมโครปิเปต และความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน ที่สามารถสอบกลับได้ผ่านการสอบเทียบและใบรับรอง ความไม่แน่นอนจากการได้มาของ ค่าความเข้มข้นที่อ่านได้จากเครื่อง ผ่านสมการที่ 1⁽¹¹⁾ ดังนี้

แหล่งของความไม่แน่นอนยังรวมถึงทักษะของนักวิเคราะห์ ซึ่งแสดงออกในค่าของความเบี่ยงเบน ในการวิเคราะห์ซ้ำ และความถูกต้องในการวิเคราะห์ (%Recovery) การประเมินค่าต่างๆ เหล่านี้แสดงให้เห็นว่า

องค์ประกอบหลักที่สำคัญส่งผลให้เกิดความไม่แน่นอนสูงที่สุดคือ ค่าความเข้มข้นที่อ่านได้จาก Calibration Curve ของเครื่องมือวิเคราะห์รองลงมาคือความไม่แน่นอนจากความเที่ยง และความแม่นยำในการวิเคราะห์ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 สัดส่วนองค์ประกอบของแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

วิจารณ์

การวิเคราะห์สารทาเลทในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนในปัจจุบันยังไม่มีวิธีมาตรฐาน วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ใช้เทคนิค UPLC ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการและทดสอบความใช้ได้ของวิธีตามมาตรฐานสากล สารทาเลทสามารถวิเคราะห์ได้โดยเทคนิค HPLC หรือ UPLC และใช้ตัวตรวจวัดชนิด UV หรือ DAD จากผลงานของ Wu T. et al. 2008 ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารทาเลทด้วยเครื่อง HPLC ทั่วไปและ UPLC พบว่าเครื่อง UPLC ให้ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ที่สูงกว่า โดยเฉพาะสามารถลดเวลาปริมาณสารและตัวทำละลายได้มากกว่า 50%⁽¹²⁾ จากการศึกษาขึ้นพบว่าวิธี UPLC ใช้เวลาในการวิเคราะห์สารทาเลททั้ง 7 ชนิด ภายในเวลา 8 นาที และใช้ flow rate เพียงแค่ 0.45 มิลลิลิตรต่อนาที สามารถประหยัดเวลาและปริมาณตัวทำละลายได้ เมื่อเทียบกับวิธีเดิมที่ใช้ HPLC ซึ่งใช้เวลามากกว่า 20 นาที และ flow rate 1 มิลลิลิตรต่อนาที

วิธีนี้สามารถใช้ได้ทั้งการตรวจเอกลักษณ์สารทาเลทห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขจำนวน 3 ชนิดคือ DBP BBP และ DEHP โดยมีขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 0.0002 – 0.005 %w/w, 0.0003 – 0.005 %w/w และ 0.002 – 0.007 %w/w ตามลำดับ และสำหรับสารทาเลทชนิดที่เหลือเป็นชนิดที่ถูกนำมาใช้และพบมากในผลิตภัณฑ์สุขภาพ⁽¹³⁾ สามารถใช้วิธีนี้เพื่อตรวจหาปริมาณโดยมีขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์สำหรับสาร DEP, DnPP, DiAP และ DcHP เท่ากับ 0.002 – 0.011 %w/w, 0.001 – 0.012 %w/w, 0.001 – 0.014 %w/w และ 0.001 – 0.010 %w/w ตามลำดับ ซึ่งขีดจำกัดนี้เพียงพอที่จะวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดจากข้อมูลการสำรวจในสหภาพยุโรป และสหรัฐอเมริกา ส่วนใหญ่พบที่ระดับ > 10 ppm⁽¹³⁻¹⁴⁾ ขึ้นไป

โดยทั่วไปในกระบวนการผลิตสารทาเลทเป็นสารที่เติมแต่งในผลิตภัณฑ์ โมเลกุลของทาเลทจึงไม่ได้สร้างพันธะที่แข็งแรงกับ 매트ริกซ์ ทำให้ไม่พบปัญหาในการสกัดตัวอย่างการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิธีนี้ จึงอาศัยการละลาย

ที่ไม่มีความยุ่งยากและให้ความถูกต้องโดยให้ค่า %Recovery ที่อยู่ในช่วง 90.06 – 108.12 และ %RSD <5 ซึ่งเทียบเท่ากับวิธีของ Jidong Lia et al., 2008 ที่ให้ค่า %Recovery เท่ากับ 85 – 107 ด้วย %RSD <6 โดยวิธีนี้ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดตัวอย่างด้วย SPE ที่ยุ่งยาก และไม่มีค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นจากวัสดุที่ต้องใช้ในขั้นเตรียมตัวอย่าง นอกจากนี้ยังให้ความเที่ยงของวิธีที่ดีด้วยค่า %RSD <3 ทั้ง within run และ between run

อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในท้องตลาดมีความหลากหลายทั้งยี่ห้อ และสูตรตำรับที่มีแมทริกซ์ที่แตกต่างกัน สารเคมีจำนวนมากที่ผสมอยู่สามารถรบกวนการวิเคราะห์โดยมีค่า retention time ตรงกับสารทาเลท อาจส่งผลกระทบต่อข้อจำกัดในการวิเคราะห์ การใช้ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array มีข้อได้เปรียบกว่า UV ธรรมดา โดยสามารถแยกแยะสารที่รบกวนเหล่านี้จากสารทาเลทได้จากลักษณะเฉพาะของสเปกตรัม ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาวิธีด้วยเทคนิคที่แตกต่างเพื่อใช้ในการยืนยันความถูกต้องที่สูงขึ้น เช่น LC-MS/MS เป็นต้น

สรุป

วิธีนี้สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารทาเลทพร้อมกัน 7 ชนิด ได้แก่ DEP DnPP DBP BBP DiAP DcHP และ DEHP โดยใช้เครื่อง UPLC ที่มีหน่วยตรวจวัดชนิด photodiode array สามารถใช้ในการวิเคราะห์เพื่อสำรวจการปนเปื้อนของสารทาเลทห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดครีม โลชั่น และโฟมล้างหน้า นอกจากนี้ยังสามารถใช้หาปริมาณสารทาเลทชนิดอื่นที่มีการผสมเพื่อเพิ่มคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามที่ผู้ผลิตต้องการ เช่น นุ่มชื้น หรือหอมติดทนนานขึ้น เป็นต้น ซึ่งถูกนำมาใช้มากขึ้นในผลิตภัณฑ์สุขภาพในปัจจุบัน เช่น น้ำยาซักผ้า น้ำยาปรับผ้านุ่มและเจลปรับอากาศ โดยมีความสามารถของวิธีที่เหมาะสมเพียงพอสำหรับใช้เพื่อตรวจสอบสถานการณ์ของผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Babich MA. Overview of dialkyl ortho-phthalates. Bethesda, MD: United States Consumer Product Safety Commission. 2010.
2. Kamrin MA. Phthalate risks, phthalate regulation, and public health: a review. J Toxicology Environ Health-Part B 2009; 12:157–74.
3. International Agency for Research on Cancer. Some industrial chemicals. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans77, Lyon, France: IARC; 2000.
4. Dong CH, Liu YF, Yang WF, Sun XL, Wang GQ. Simultaneous determination of phthalate plasticizers in PVC packaging materials using homogeneous-ultrasonic extraction-GC-MS assisted with continuous wavelet transform. Anal. Methods. 2013; 5: 4513–7.
5. Wenzl T. Methods for the determination of phthalates in food. Outcome of a survey conducted among European food control laboratories [online]. 2009. [cited 2015 Feb 9]; [5 screens]. Available from: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Publikace/ftalaty.pdf>
6. Peters RJB. Chemical additives in consumer products. TNO-report R&I-A R 2005/066. The Netherlands: TNO Environment and Geosciences. 2005.
7. Gimeno P, Maggio AF, Bousquet C, Quoirez A, Civade C, Bonnet PA. Analytical method for the identification and assay of 12 phthalates in cosmetic products: application of the ISO 12787 international standard “Cosmetics–Analytical methods–Validation criteria for analytical results using chromatographic techniques”. J Chromatogr A2012; 1253: 144–53.

8. Cacho JI, Campillo N, Viñas P, Hernández-Córdoba M. Direct sample introduction gas chromatography and mass spectrometry for the determination of phthalate esters in cleaning products. *J Chromatogr A*, 2015; 1380, 156–61.
 9. Su R, Zhao X, Li Z, Jia Q, Liu P, Jia J. Poly (methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate) monolith microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of phthalate esters in cosmetics. *Anal Chim Acta*, 2010; 676(1–2): 103–8.
 10. Eurachem. Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods–A laboratory guide to method validation and related topics, 2nd ed [online]. 2014. [cited 2015 Jan 20]; [70 screens]. Available from: URL:https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.
 11. Eurachem. EURACHEM/CITAC Guide CG 4. Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd ed [online]. 2012. [cited 2016 Feb 10]; Available from: URL:https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf
 12. Wu T, Wang C, Wang X, Xiao H, Ma Q, Zhang Q. Comparison of UPLC and HPLC for analysis of 12 phthalates. *Chromatographia*, 2008; 68, 803–6.
 13. Koo HJ, Lee BM. Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. *J Toxicol Environ Health A* 2004; 67(23–24): 1901–14.
 14. Hubinger JC. A survey of phthalate esters in consumer cosmetic products. *J Cosmet Sci*. 2010; 61(6):457–65.
-

Simultaneously Quantitative of Phthalates in Health Care Products by UPLC/DAD

Siriporn Thongprakaisang

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

ABSTRACT Phthalates are a class of industrial chemicals comprising about 30 commercial products which mostly used as plasticizer to enhance the flexible and soften of plastic. Presently, phthalates are used in variety of health care products both cosmetic and household products, thus they are widespread to human exposure. Toxicities of phthalates are concerned due to their mutagenicity *in vitro* and induce reproductive and developmental health effects in animals. Now, Thailand's the Ministry of Public Health is banning five of phthalates i.e. DBP, DMEP, DEHP, PIPP and BBP. However, we still lack of the situation data of phthalates presented in health care products. This study is for the development of simultaneously determination of seven phthalates by UPLC/DAD technique and validation the method following EURACHEM Guideline. The study Kinetex[®] C-18 column (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm) was used. The separation was gradient programmed of the ratio of acetonitrile and deionized water with flow rate 0.45 ml/min, column temperature 35°C, λ_{max} = 225 nm and running time of 8 min. The validation results showed a good selectivity of seven phthalates with resolution > 2, %RSD (n =10) of within and between run were 0.01 – 0.12% and 0.29 – 1.71%. LOD and LOQ were in the range of 0.0002 – 0.007 %w/w and LOQ 0.001 – 0.022 %w/w. Linearity of the method was in the range of 0.05 – 30 μ g/ml with correlation coefficient, $r \geq 0.995$. Accuracy was presented as %recovery within 90 – 108. The precision was presented as % RSD of peak area which was less than < 3% (n=10). The results showed that this method was valid appropriately for determination of seven phthalates in health care products subjecting for consumer protection.

Key words: phthalates, UPLC, cosmetic product, household product

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโคลเบทาซอลโพรพิโอเนต ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยวิธี ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

นวลพรรณ ไพบูลย์ศรีนคร และนันทนา กลิ่นสุนทร

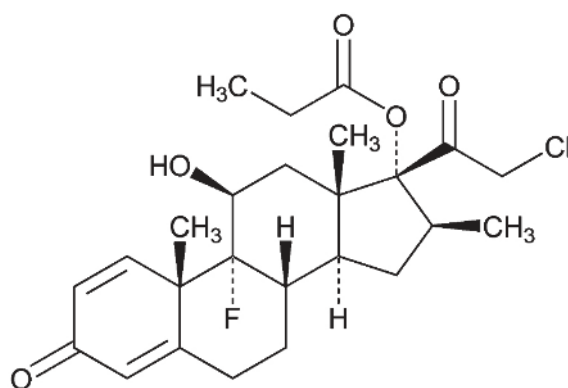
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง สมุทรสงคราม 75000

บทคัดย่อ คณะผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโคลเบทาซอลโพรพิโอเนต (clobetasol propionate) ในเครื่องสำอาง โดยการสกัดตัวอย่างด้วย methyl alcohol และตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) ด้วยคอลัมน์ Hypersil BDS C18 (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยเฟสเคลื่อนที่เป็นระบบ gradient เริ่มแรกใช้อะซีโตนไนโตรส : น้ำ อัตราส่วนโดยปริมาตร 33:67 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปรับอัตราส่วนโดยปริมาตร 50:50 ภายในเวลา 10 นาที และคงที่ที่อัตราส่วนนี้เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด 10 ไมโครลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร จากผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีความจำเพาะเจาะจง โดยสาร clobetasol propionate มีค่า retention time เท่ากับ 30 นาที และไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น มีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีคตลอดช่วงความเข้มข้น 0.8 – 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9996 และมีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารที่เติมในตัวอย่างกับความเข้มข้นที่ตรวจพบตลอดช่วง 3.2 – 480 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า r เท่ากับ 0.9995 ขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีความแม่นยำแสดงด้วยร้อยละของการคืนกลับ (%recovery) ในช่วง 90 – 94 ความเที่ยงในการวิเคราะห์วันเดียวกัน แสดงด้วย %RSD มีค่า 0.8 – 4.7 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ความเที่ยงของการวิเคราะห์ต่างวัน แสดงด้วย %RSD มีค่า 2.2 – 2.6 และพบว่าวิธีนี้มีค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ร้อยละ 7.7 ซึ่งได้นำวิธีที่พัฒนาและทดสอบแล้วนี้ไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ clobetasol propionate ในตัวอย่างครีมทาผิวในปี 2556 จำนวน 11 ตัวอย่าง และตรวจพบสาร clobetasol propionate ซึ่งเป็นสารห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางทั้ง 11 ตัวอย่าง โดยพบในความเข้มข้น 8.0 – 449.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากผลการทดสอบสรุปได้ว่าวิธีนี้มีความเหมาะสมในการนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ clobetasol propionate ในเครื่องสำอางเพื่อประโยชน์ในการคุ้มครองผู้บริโภคให้มีความปลอดภัย

Accepted for publication, 15 June 2016

บทนำ

โคลเบทาซอลโพรพิโอเนต (clobetasol propionate) เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่ม glucocorticoids (corticosteroids) มีลักษณะเป็นผงสีขาว น้ำหนักโมเลกุล 467.0 ไม่ละลายในน้ำแต่สามารถละลายได้ในอะซีโตน (acetone) และไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และละลายได้บ้างในเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol)⁽¹⁾ มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1⁽²⁾



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ clobetasol propionate

clobetasol propionate จัดเป็นยาสเตียรอยด์ทาภายนอกชนิดรุนแรงสูง ใช้อย่างกว้างขวางในการรักษาอาการทางผิวหนัง ใช้อย่างผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน โรคผื่นผิวหนังที่ต่อยาสเตียรอยด์ชนิดรุนแรงปานกลาง หรือใช้ในบริเวณผิวหนังที่หนา เช่น ที่ขาหรือสันเท้า แต่เมื่อใช้ไปนานๆ จะทำให้ผิวหนังบางลง เกิดจ้ำเลือดง่าย หรือมีรอยแตกที่ผิวหนัง เป็นต้น ปริมาณที่ใช้ในยาคือร้อยละ 0.05 สำหรับในเครื่องสำอางได้กำหนดให้สารกลุ่ม Glucocorticoids (Corticosteroids) เป็นสารห้ามใช้ ซึ่งรวมถึง clobetasol propionate ด้วย⁽³⁾ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ในราชกิจจานุเบกษาลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551 ลำดับที่ 300

วิธีวิเคราะห์ clobetasol propionate ในผลิตภัณฑ์ทางตำยา (pharmaceutical formulations) โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ด้วยระบบ reversed phase โดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 และสารละลายตัวพา (mobile phase) ประกอบด้วยน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) อะซีโตนไนไตรล์ (acetonitrile) หรือสารละลายอินทรีย์และบัฟเฟอร์ (buffer) ในอัตราส่วนต่างๆ^(4, 5, 6, 7) มีรายงานว่า การตรวจหา clobetasol propionate ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยใช้คอลัมน์ Purospher-Lichracart ขนาด 5 ไมโครเมตร สารละลายตัวพา (mobile phase) ประกอบด้วยส่วนผสมระหว่างอะซีโตนไนไตรล์และน้ำ อัตราส่วน 40:60 โดยปริมาตร และเครื่องตรวจวัดชนิดยูวีที่ความยาวคลื่น 237 นาโนเมตร จะได้ค่าร้อยละของการกลับคืนมากกว่าร้อยละ 94 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ไม่เกินร้อยละ 3⁽⁸⁾ คณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ clobetasol propionate ในเครื่องสำอางชนิดครีมทาผิวโดยเทคนิค HPLC ด้วยระบบสารละลายตัวพาแบบ gradient ที่สามารถวิเคราะห์สารผสมของสเตียรอยด์ได้พร้อมกัน 10 ชนิด และ clobetasol propionate สามารถแยกออกจากสารอื่นได้ โดยที่ไม่ถูกรบกวน รวมถึงการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี โดยศึกษาความจำเพาะเจาะจง ความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ ความแม่นยำ ความเที่ยง ชัดจำกัดของการตรวจพบ และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณโดยตั้งเป้าหมาย

ให้คำร้อยละของการคืนกลับ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์สำหรับใช้ในการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของ clobetasol propionate ในเครื่องสำอาง และใช้วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างครีมทาผิวที่ได้รับจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพชรบุรีในปี พ.ศ. 2556 เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังด้านคุ้มครองผู้บริโภค

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน : clobetasol propionate ผลิตภัณฑ์ของ Sigma-aldrich ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 98

สารมาตรฐานกลุ่มสเตียรอยด์ ได้แก่ beclomethasone, cortisone acetate และ triamcinolone ผลิตภัณฑ์ของ Sigma-aldrich ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 99, fludrocortisone acetate และ hydrocortisone ผลิตภัณฑ์ของ Sigma-aldrich ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 98, methylprednisolone ผลิตภัณฑ์ของ ASEAN reference substance ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.40, betamethasone ผลิตภัณฑ์ของ ASEAN reference substance ความบริสุทธิ์ร้อยละ 100.69, prednisolone ผลิตภัณฑ์ของ ASEAN reference substance ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.65, dexamethasone ผลิตภัณฑ์ของ DMSc reference standard ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5

สารเคมี: acetonitrile (HPLC grade) ผลิตภัณฑ์ของ RCI Labscan, methyl alcohol (HPLC grade) ผลิตภัณฑ์ของ Merck และน้ำปราศจากไอออน

เครื่องมือและอุปกรณ์

High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) เครื่องซึ่งความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม และ 0.01 มิลลิกรัม, เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge), อ่างน้ำความถี่สูง (ultrasonic bath), คอลัมน์ชนิด reversed phase Hypersil BDS C18 (250 มิลลิเมตร × 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร), หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร, centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร, กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1, nylon syringe filter 0.45 ไมโครเมตร และขวด HPLC vial ขนาด 2 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง

1. ตัวอย่างครีมทาผิวที่ตรวจวิเคราะห์แล้วว่าไม่มี clobetasol propionate ใช้เป็น sample blank สำหรับการทดสอบความถูกต้องของวิธี และในส่วนของการวิเคราะห์ปริมาณ clobetasol propionate
2. ตัวอย่างครีมทาผิวที่ส่งมาจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพชรบุรีจำนวน 11 ตัวอย่าง แบ่งเป็นครีม 4 ประเภท ได้แก่ ครีมแบ่งขายใส่กระปุกที่มีฉลากระบุสรรพคุณใช้แล้วผิวขาว ลดจุดด่างดำ ครีมแบ่งขายใส่กระปุกที่ไม่มีฉลาก ครีมที่มีฉลากภาษาจีน และครีมที่มีฉลากภาษาจีนที่ข้างกล่องมีตัวย่อ OTC ซึ่งมีข้อมูลว่าใช้เป็นส่วนผสมของครีมที่ผสมใช้กันเองในกลุ่มนักเรียน

สภาวะของเครื่อง HPLC

HPLC column : Hypersil BDS C18 (250 มิลลิเมตร × 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร)

Mobile phase : Acetonitrile : น้ำ ใช้ระบบ gradient ดังนี้

เวลา (นาที)	Acetonitrile : น้ำ (โดยปริมาตร)
0	33 : 67
10	33 : 67
20	50 : 50
35	50 : 50
35.1	33 : 67
45	33 : 67

Flow rate : 1 มิลลิลิตรต่อนาที
 Column oven : 35 องศาเซลเซียส
 Injection volume : 10 ไมโครลิตร
 Detector : ตั้งค่าการดูดซับคลื่นแสงสูงสุดที่ 240 นาโนเมตร
 Run time : 45 นาที

วิธีวิเคราะห์

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate stock solution

ชั่งสารมาตรฐาน clobetasol propionate 0.025 กรัม ละลายใน methyl alcohol ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สำหรับกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate ความเข้มข้น 0.8, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน (stock solution)

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติม methyl alcohol 10.00 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำไป sonicate ใน ultrasonic bath 10 นาที หลังจากนั้นถ่ายใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้ว centrifuge ที่ความเร็ว 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนใสด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นกรองผ่าน nylon syringe filter 0.45 ไมโครเมตร เก็บใน vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

การคำนวณ

$$\begin{aligned} &\text{ปริมาณ clobetasol} \\ &\text{propionate ที่พบ} \\ &(\text{มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม}) \end{aligned} = \frac{\text{ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ได้จากกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรของตัวทำละลาย}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation)

ดำเนินการตามวิธีของ Tavernier, Loose และ Bockstaele ดังนี้⁽⁹⁾

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity/Selectivity)

เตรียมสารละลายผสมของสารสเตียรอยด์ 10 ชนิด ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ triamcinolone (TAL), prednisolone (PNL), hydrocortisone (HCS), methylprednisolone (MPS), betamethasone (BTS), dexamethasone (DXS), beclomethasone (BCS), fludrocortisone (FCA), cortisone acetate (CSA) และ clobetasol propionate (CP) ฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อศึกษาความแตกต่างของ retention time ของสารแต่ละชนิด ซึ่งสาร clobetasol propionate จะแยกออกจากสารอื่นโดยไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

ฉีดสารละลายมาตรฐานสำหรับกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.8, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เข้าเครื่อง HPLC สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate กับค่าพื้นที่ใต้พีค คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) จะต้องไม่น้อยกว่า 0.995

ความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ (Method linearity)

ทดสอบโดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน clobetasol propionate (spike sample) ความเข้มข้น 3.2, 8, 15, 30, 60, 120, 240 และ 480 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่พบ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) ซึ่งต้องใกล้เคียง 1

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ฉีดสารละลายตัวอย่างเตรียมโดยเติมสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate ใน sample blank ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้ขนาดสัญญาณเป็น 3 เท่าของขนาดสัญญาณรบกวน (signal-to-noise ratio) วิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง คำนวณค่า LOD เป็นความเข้มข้นของ clobetasol propionate ต่อน้ำหนักตัวอย่าง

ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

วิเคราะห์ตัวอย่างโดยเติมสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate ใน sample blank ที่ระดับความเข้มข้นที่ให้ขนาดสัญญาณเป็น 10 เท่าของขนาดสัญญาณรบกวน (signal-to-noise ratio) วิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง คำนวณร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery) ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 80 – 110 และร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ต้องไม่เกินร้อยละ 8.8 คำนวณค่า LOQ เป็นความเข้มข้นของ clobetasol propionate ต่อน้ำหนักตัวอย่าง

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

การทดสอบความเที่ยงของระบบโครมาโทกราฟ โดยฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่างฉีดซ้ำ 10 ครั้ง คำนวณร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของค่าพื้นที่ใต้พีคไม่ควรเกินร้อยละ 5

ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ในช่วงการวิเคราะห์ที่เป็นเส้นตรงโดยวิเคราะห์ตัวอย่างโดยเติมสารมาตรฐาน clobetasol propionate ใน sample blank ที่ระดับ LOQ, $7.5 \times \text{LOQ}$ และ $30 \times \text{LOQ}$ ได้แก่ที่ความเข้มข้น 3.2, 24 และ 96 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ละความเข้มข้นทดสอบ 10 ซ้ำ คำนวณร้อยละ

ของการคืนกลับ (%Recovery) ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 80 - 110, ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ต้องไม่เกิน 8.9, 6.5 และ 5.3 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่า predicted %RSD_r ตาม Horwitz's equation

ทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ในช่วงการวิเคราะห์ที่เป็นเส้นตรงต่างวัน (Intermediate precision) โดยเติมสารมาตรฐานใน sample blank ที่ความเข้มข้น 24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการวิเคราะห์วันละ 10 ข้ำ เป็นเวลา 3 วันต่อเนื่องกัน ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ต้องไม่เกิน 6.5 ซึ่งเป็นค่า predicted %RSD_r ตาม Horwitz's equation

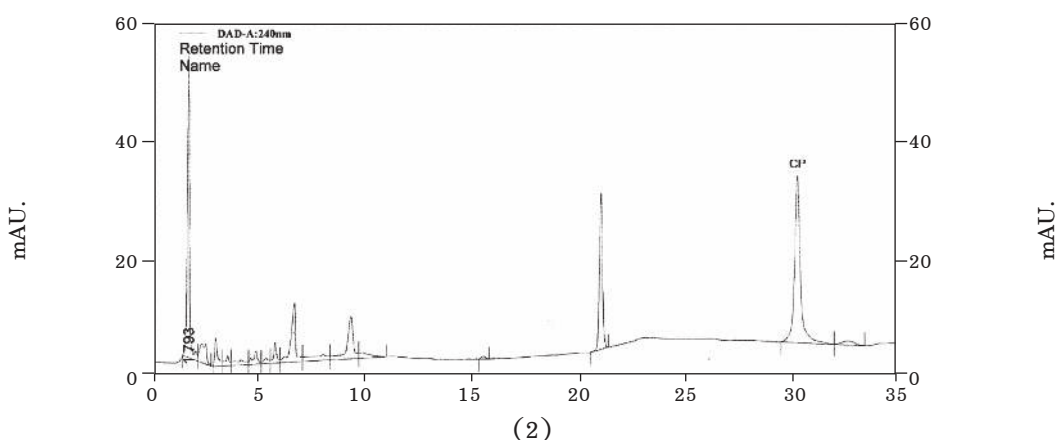
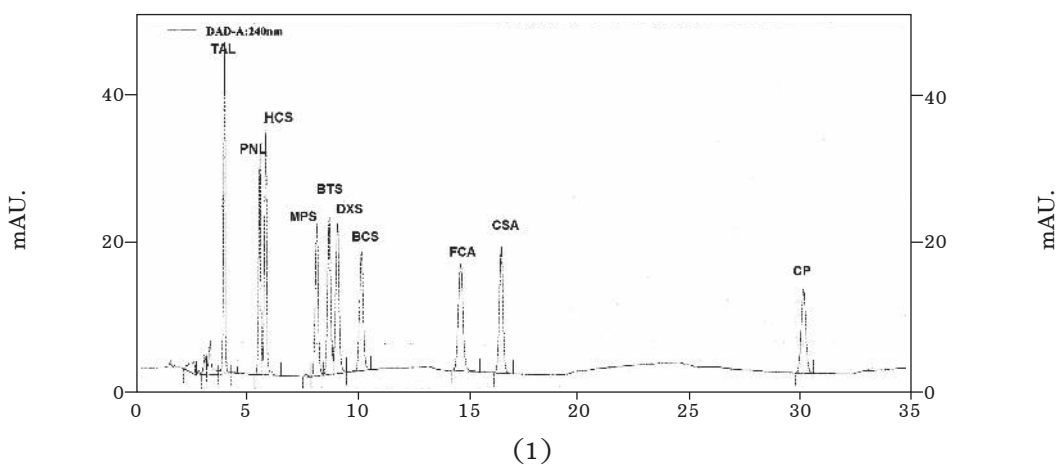
การประเมินค่าความไม่แน่นอน (Measurement uncertainty)

ทำการประเมินค่าความไม่แน่นอนตามวิธีการประเมินค่าความไม่แน่นอน⁽¹⁰⁾ โดยคำนวณค่าความไม่แน่นอนรวม โดยรวมความไม่แน่นอนมาตรฐานจากองค์ประกอบต่างๆ และคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายโดยใช้ $k = 2$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผล

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง

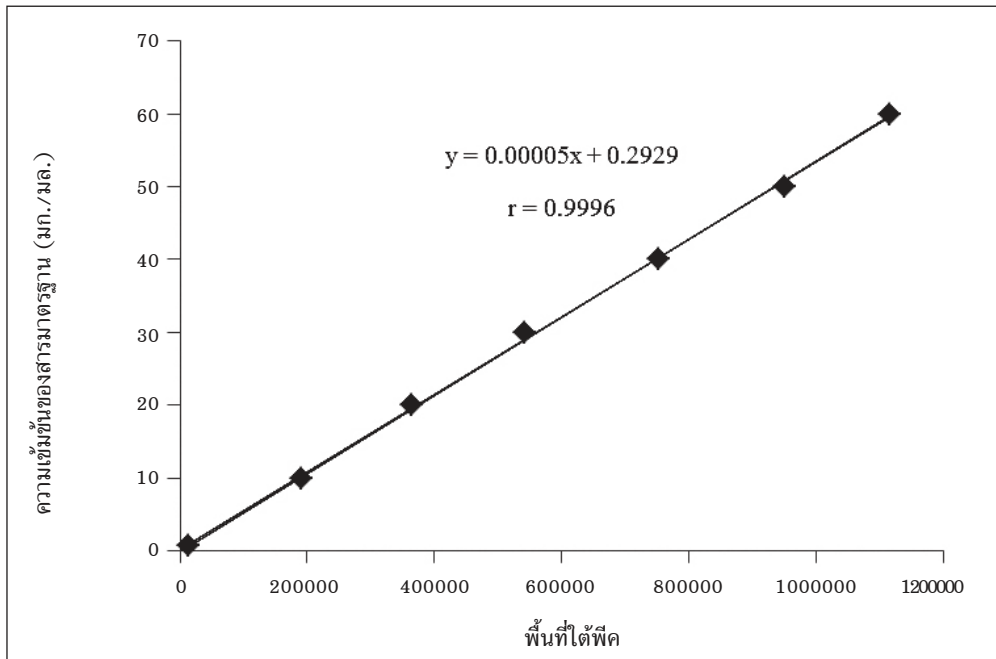
จากการฉีดสารละลายผสมของสารสเตียรอยด์ 10 ชนิด และสารละลายตัวอย่างภายใต้สภาวะของ HPLC ที่พัฒนาพบว่าสาร clobetasol propionate ให้ค่า retention time 30 นาที โดยไม่มีการรบกวนของสารอื่น (ภาพที่ 2)



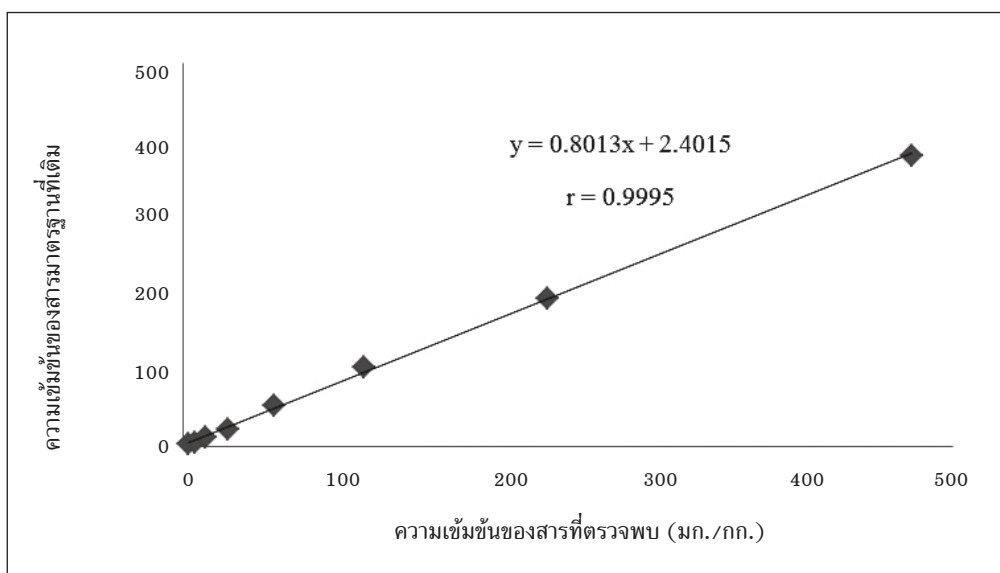
ภาพที่ 2 Chromatogram ของ 1) สารละลายสเตียรอยด์ 10 ชนิด 2) สารละลายตัวอย่าง

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์

พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate กับพื้นที่ใต้พีคมีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น 0.8 ถึง 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม โดยมีค่า $r = 0.9996$ และกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร clobetasol propionate ที่เติมนับกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่พบมีความเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น 3.2 ถึง 480 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า $r = 0.9995$ (ภาพที่ 3)



(1)



(2)

ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง 1) ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน clobetasol propionate กับพื้นที่ใต้พีค 2) ความเข้มข้นของ clobetasol propionate ที่เติมนับกับความเข้มข้นของ clobetasol propionate ที่ตรวจพบ

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ

ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) มีค่าเท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าเท่ากับ 3.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery) เฉลี่ยร้อยละ 90.3 และมีค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 4.7

การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง

จากการฉีดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง 10 ซ้ำ พบว่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของค่าพื้นที่ใต้พีคเท่ากับ 0.48 และ 0.96 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง

สารละลายมาตรฐาน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร		สารละลายตัวอย่าง	
ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค	ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค
1	321702	1	381370
2	322989	2	379324
3	324225	3	382737
4	324419	4	378122
5	323514	5	383753
6	324368	6	388916
7	323986	7	383670
8	326318	8	383609
9	326675	9	379818
10	322550	10	388913
%RSD	0.48	%RSD	0.96

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) ที่ระดับ LOQ, $7.5 \times \text{LOQ}$ และ $30 \times \text{LOQ}$ ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 3.2, 24 และ 96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ วิเคราะห์ระดับละ 10 ซ้ำ พบว่าความแม่นยำที่ประเมินจากร้อยละของการคืนกลับ (%Recovery) เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับ อยู่ในช่วง 90 – 94 และความเที่ยง (precision) ที่ประเมินด้วยร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าร้อยละ 4.7, 3.3 และ 0.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความแม่นยำ และความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์เครื่องสำอาง (ครีมทาผิว) เมื่อเติมสารมาตรฐาน clobetasol propionate ที่ระดับ 3.2 มก./กก. (LOQ), 24 มก./กก. ($7.5 \times \text{LOQ}$) และ 96 มก./กก. ($30 \times \text{LOQ}$)

Spike level (มก./กก.)	%Recovery (n=10)	%RSD
	Mean $\pm$ SD	
3.2	90 $\pm$ 4	4.7
24	94 $\pm$ 3	3.3
96	90 $\pm$ 1	0.8

การทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ต่างวัน (Intermediate precision) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่เดิม สารมาตรฐานที่ระดับ $7.5 \times \text{LOQ}$ ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการวิเคราะห์ 3 วันต่อเนื่องกัน วันละ 10 ซ้ำ พบว่าความเที่ยง (precision) ที่ประเมินด้วยร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ใน ช่วง 2.2 – 2.6 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ต่างวัน โดยเติมสาร clobetasol propionate ในตัวอย่างที่ระดับ $7.5 \times \text{LOQ}$ ทำการวิเคราะห์ 3 วันต่อเนื่องกัน วันละ 10 ซ้ำ

การทดสอบ ระหว่างวัน	ปริมาณ clobetasol propionate (มก./กก.)										เฉลี่ย	%RSD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
วันที่ 1	22.0	23.1	22.6	21.8	22.9	22.4	22.6	23.1	23.1	22.0	22.6	2.2
วันที่ 2	22.9	21.9	21.9	22.3	22.1	21.5	21.7	21.8	23.2	22.2	22.2	2.4
วันที่ 3	21.4	22.3	23.5	22.9	22.6	22.2	22.6	22.6	21.8	22.8	22.5	2.6

การสำรวจปริมาณ clobetasol propionate ในตัวอย่างเครื่องสำอาง

ผลวิเคราะห์ปริมาณ clobetasol propionate ในตัวอย่างครีมที่ส่งมาจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพชรบุรี จำนวน 11 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์พบ clobetasol propionate ในตัวอย่างทุกตัวอย่าง โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 8.0 – 449.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ clobetasol propionate ในตัวอย่างครีมที่ส่งมาจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพชรบุรี จำนวน 11 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	C1	C2	D1	D2
ปริมาณที่พบ (มก./กก.)	8.0	20.3	27.7	87.7	124.7	111.7	17.4	71.0	59.1	449.8	345.6

หมายเหตุ : A คือ ครีมแบ่งขายใส่กระปุกที่มีฉลากระบุสรรพคุณใช้แล้วผิวขาว ลดจุดต่างดำ
B คือ ครีมแบ่งขายใส่กระปุกที่ไม่มีฉลาก
C คือ ครีมที่มีฉลากภาษาจีน
D คือ ครีมที่มีฉลากภาษาจีนที่ข้างกล่องมีตัวย่อ OTC ซึ่งมีข้อมูลว่าใช้เป็นส่วนผสมของครีมที่ผสมใช้กันเองในกลุ่มนักเรียน

การประเมินค่าความไม่แน่นอน

ค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ โดยใช้องค์ประกอบของความไม่แน่นอนจากการชั่งน้ำหนักของตัวอย่าง และสารมาตรฐาน การเตรียมสารละลายโดยใช้เครื่องแก้ว การสร้างกราฟมาตรฐาน repeatability และ %recovery คำนวณค่าความไม่แน่นอนรวมและความไม่แน่นอนขยายโดยใช้ $k=2$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ได้ค่าความไม่แน่นอน ขยายสัมพัทธ์ร้อยละ 15.51

วิจารณ์

วิธีวิเคราะห์ clobetasol propionate ในเครื่องสำอางครีมทาผิว มีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายไม่ซับซ้อน โดยอาศัยการสกัด clobetasol propionate ออกจากเครื่องสำอางทาผิวด้วย methyl alcohol แต่เนื่องจากเครื่องสำอางมีส่วนประกอบของไขมันซึ่งสามารถละลายใน methyl alcohol ได้บางส่วน จึงทำให้พบตะกอนของไขมันในสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมแล้ว ดังนั้นจึงควรตั้งสารละลายทิ้งไว้ให้เกิดการตกตะกอนในตู้เย็นเป็นเวลา 1 คืน ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC เพื่อป้องกันไม่ให้ column อุดตัน และสาร clobetasol propionate มีความไวต่อแสง จึงต้องใช้เครื่องแก้วสีชาในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

สภาวะของระบบ HPLC ที่พัฒนาใช้ระบบสารละลายตัวพาแบบ gradient โดยใช้ระยะเวลา (run time) เท่ากับ 45 นาที มีความเหมาะสมในการแยกสาร clobetasol propionate ออกจากสารในกลุ่มสเตียรอยด์อื่นอีก 9 ชนิด โดยสาร clobetasol propionate มีค่า retention time เท่ากับ 30 นาที แสดงถึงความจำเพาะเจาะจงของวิธีผลการทดสอบความถูกต้องของวิธี ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ อยู่ในเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานสากล ได้แก่ ความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ ซึ่งมีค่า r เท่ากับ 0.9996 ตลอดช่วงความเข้มข้น 0.8 – 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 90 – 94 ซึ่งอยู่ในช่วงยอมรับคือร้อยละ 80 – 110 ค่า %RSD ของพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างเท่ากับ 0.48 และ 0.96 ตามลำดับ ค่า %RSD ของการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกันเท่ากับร้อยละ 4.7, 3.3 และ 0.8 ที่ระดับ 3.2, 24 และ 96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งไม่เกินค่า predicted %RSD_r ตาม Horwitz's equation คือ ไม่เกินร้อยละ 8.8, 6.5 และ 5.3 ตามลำดับ และพบว่าไม่มีความแตกต่างของผลวิเคราะห์ต่างวันเป็นเวลา 3 วัน โดยมีค่า %RSD อยู่ในช่วง 2.2 – 2.6 ซึ่งไม่เกินค่า predicted %RSD_r ตาม Horwitz's equation คือ ไม่เกินร้อยละ 6.5 สำหรับค่า LOD และ LOQ พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.8 และ 3.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จากการประเมินค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ได้ค่าความไม่แน่นอนรวมสัมพัทธ์ร้อยละ 7.7 จากการสำรวจปริมาณสาร clobetasol propionate ในเครื่องสำอางครีมทาผิวซึ่งได้รับจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพชรบุรีรวม 11 ตัวอย่าง พบว่าตรวจพบ clobetasol propionate ทุกตัวอย่าง คือ ไม่เข้ามาตรฐานร้อยละ 100 โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 8.0 – 449.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำเมื่อเทียบกับยาสเตียรอยด์ใช้ภายนอก โดยทั่วไปใช้ในปริมาณร้อยละ 0.05 ทั้งนี้สาร clobetasol propionate จัดเป็นสารในกลุ่ม glucocorticoids ซึ่งเป็นสารห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางลำดับที่ 300 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง

สรุป

วิธีวิเคราะห์ clobetasol propionate ในเครื่องสำอางครีมทาผิวนี้พบว่ามีคุณลักษณะเฉพาะอยู่ในเกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐานสากลสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณได้สะดวก มีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายไม่ซับซ้อน และยังสามารถวิเคราะห์สารสเตียรอยด์ในเครื่องสำอางครีมทาผิวได้พร้อมกันหลายชนิด เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารกลุ่มสเตียรอยด์ในเครื่องสำอาง เพื่อเฝ้าระวังความปลอดภัยของครีมทาผิวที่มีส่วนผสมของ clobetasol propionate เพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคและการตรวจหาปริมาณเพื่อการศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม ที่ได้ให้คำแนะนำ และสนับสนุนงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ดี และขอขอบคุณ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเพชรบุรีที่ได้ให้ความร่วมมือในการให้ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างส่งตรวจ

เอกสารอ้างอิง

1. Fontana MC, Bastos MO, Beck RCR. Development and validation of a fast RP-HPLC method for the determination of clobetasol propionate in topical nanocapsule suspensions. *J Chromatogr Sci* 2010; 48: 637-40.
2. Modi P, Vairale A. Cleaning method: a validated HPLC method for determination of clobetasol propionate residues on the surface of manufacturing equipment. *Int J Anal Bioanal Chem* 2012; 2(2):133-8.
3. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนพิเศษ 80 ง (ลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551).
4. Dyderski S, Grzeskowiak E, Szalek E, Mrzyglod A. Pharmaceutical availability of clobetasol-17-propionate from cream and ointment. *Acta Pol Pharm* 2001; 58(6): 435-8.
5. Fang JY, Shen KL, Huang YB, Wu PC, Tsai YH. Evaluation of topical application of clobetasol 17-propionate from various cream bases. *Drug Dev Ind Pharm* 1999; 25(1): 7-14.
6. Yateen S, Dighe KS. High performance liquid chromatographic method for clobetasol propionate in dosage forms. *Indian Drugs* 1989; 27(2): 132-3.
7. Badilli U, Amasya G, Özkan S, Tarimci N. Simultaneous determination of clobetasol propionate and calcipotriol in a novel fixed dose emulgel formulation by LC-UV. *Chromatographic* 2013; 76(3): 133-40.
8. Gagliardi L, Orsi DD, Manna F, Tonelli D. HPLC determination of clobetasol propionate in cosmetic products. *J Liq Chromatogr R T* 2000; 23(3): 355-62.
9. Tavernier I, De Loose M, Van Bockstaele E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trac-Trends Anal Chem* 2004; 23(8): 535-52.
10. EURACHEM/CITAC Guide. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 3rd ed. United Kingdom, Eurachem; 2012.

Determination of Clobetasol Propionate in Cosmetic Products by High Performance Liquid Chromatography

Nuanpan Paiboonsrinakra and Nantana Klinsunthorn

Regional Medical Sciences Center 5th Samut Songkhram, Department of Medical Sciences, Amphor Muang, Samut Songkhram 75000, Thailand.

ABSTRACT The method for determination of clobetasol propionate in cosmetic products was developed. Sample was extracted from cosmetic product by methyl alcohol. Then, the extracted compound was analyzed by HPLC using Hypersil BDS C18 column (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 µm) with a 1.0 ml/min flow rate of a (v/v) gradient elution of acetonitrile; water mobile phase starting from 33:67 for 10 minutes and then using gradient to 50:50 within 10 minutes and maintaining at 50:50 for 15 minutes, a 10 µl sample injection, and PDA detection monitoring at 240 nm. The results of method validation showed that the method was specific to the determination of clobetasol propionate, clobetasol propionate was separated with retention time of 30 minute and was not disturbed by other substances. The method was linear between concentration of standard solution and peak area over the range of 0.8 – 60 µg/ml with correlation coefficient 0.9996 and the correlation between concentration of standard adding to sample and detection concentration over the range 3.2 – 480 mg/kg. with correlation coefficient 0.9995. The limit of detection was 0.8 mg/kg. and limit of quantitation was 3.2 mg/kg. Accuracy was analyzed by the recovery and found in the range of 90 – 94%. The precision was demonstrated by %RSD in acceptable range of 0.8 – 4.7 with the acceptable, intermediate precision was shown by %RSD in acceptable range of 2.2 – 2.6. The relative uncertainty was 7.7%. In 2013, this validated method was used for quantitative analysis of clobetasol propionate in 11 lotion samples. The results showed that clobetasol propionate was detected in every sample in range 8.0 – 449.8 mg/kg. In conclusion, this method was suitable for analysis of clobetasol propionate in cosmetic products for consumer protection.

Key word: clobetasol propionate, High Performance Liquid Chromatography, cosmetic

การพัฒนาระบบคุณภาพมาตรฐานเครือข่าย ห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข เขตสุขภาพที่ 7

สุทัศน์ วิมลเศรษฐ์ อีรวัฒน์ สุภาวัฒนพันธ์ และอุดมเกียรติ พรหมประเทศ

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง ขอนแก่น 40000

บทคัดย่อ การพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุขในเขตสุขภาพที่ 7 เพื่อให้บรรลุเป้าหมายตามตัวชี้วัดการตรวจราชการและนิเทศงานกระทรวงสาธารณสุข คือ ร้อยละของห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุขมีคุณภาพและมาตรฐานบริการ (ร้อยละ 100) กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดนโยบายการจัดทำแผนพัฒนาระบบบริการสุขภาพ (Service Plan) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบบริการให้มีคุณภาพมาตรฐาน สามารถตอบสนองความต้องการของประชาชนและสังคมได้อย่างทั่วถึงและเป็นธรรมในแต่ละพื้นที่ กลไกสำคัญประการหนึ่งที่จะส่งเสริมการพัฒนาดังกล่าวให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ได้ คือการพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการในระบบเครือข่ายได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเพื่อเกิดประโยชน์สูงสุดแก่ผู้รับบริการห้องปฏิบัติการกลุ่มเป้าหมาย ประกอบด้วยห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุข ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยและห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิ ดังนั้นในปี 2557-2558 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ได้ดำเนินการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการเครือข่ายด้านการแพทย์และสาธารณสุขในเขตสุขภาพที่ 7 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาห้องปฏิบัติการเครือข่ายในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขให้มีมาตรฐานตามที่กำหนดและได้รับการรับรองผลการดำเนินการปี 2557 และปี 2558 ห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขที่เปิดให้บริการทางห้องปฏิบัติการในเขตสุขภาพที่ 7 มีจำนวน 74 แห่ง ผ่านการรับรองร้อยละ 91.7 และ 100 ตามลำดับ ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยจำนวน 67 แห่ง ผ่านการรับรองร้อยละ 41.8, 95.5 ตามลำดับ และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิจำนวน 825 แห่ง ผ่านการรับรองร้อยละ 48.1 จากผลการดำเนินการแสดงให้เห็นว่าเครือข่ายห้องปฏิบัติการเขตสุขภาพที่ 7 มีการพัฒนาระบบคุณภาพอย่างเป็นระบบและเกิดประสิทธิผลสามารถผ่านการรับรอง ส่งผลให้ประชาชนได้รับบริการที่มีคุณภาพอย่างเท่าเทียมกัน



บทนำ

กระทรวงสาธารณสุข จัดให้มีระบบบริการสุขภาพที่ครอบคลุมทั้งการส่งเสริมสุขภาพ การรักษาพยาบาล และการฟื้นฟูสภาพ มีการจัดระบบเครือข่ายบริการสุขภาพเป็น 12 เครือข่าย ให้บริการทุกระดับตั้งแต่ ระดับปฐมภูมิ (Primary Care) ระดับทุติยภูมิ (Secondary Care) และระดับตติยภูมิ (Tertiary Care) โดยมุ่งหวังให้บริการแต่ละระดับมีบทบาทหน้าที่แตกต่างกัน และเชื่อมโยงกันด้วยระบบส่งตรวจต่อ (Referral System) เพื่อให้สามารถจัดบริการสุขภาพที่มีคุณภาพเป็นเครือข่าย บริหารจัดการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่อย่างมีประสิทธิภาพและคุ้มค่า ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ เป็นหน่วยงานหนึ่งของระบบเครือข่ายบริการสุขภาพ มีบทบาทหน้าที่ในการทดสอบสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ข้อมูลหรือผลการทดสอบที่มีคุณภาพและเชื่อถือได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและทันเวลา นอกจากนี้ยังให้คำปรึกษาทางด้านวิชาการเพื่อการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม ดังนั้นห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องได้รับการพัฒนาเพื่อรองรับปัญหาสาธารณสุขของพื้นที่ โดยสร้างเครือข่ายการบริการในแต่ละระดับ และการสร้างความร่วมมือในเขตพื้นที่ให้สอดคล้องกับแผนพัฒนาระบบบริการสุขภาพ (Service Plan)

การพัฒนาห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ เพื่อมุ่งหวังให้ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแต่ละระดับมีการพัฒนาคุณภาพที่จำเป็นเหมาะสม (Essential Requirements) อย่างต่อเนื่อง หรือดำเนินการต่อยอดระบบคุณภาพจนถึงขั้นการได้รับการรับรอง เพื่อสร้างความมั่นใจแก่ผู้รับบริการ ซึ่งเป็นความสำเร็จด้านบริหารจัดการที่สร้างกำลังใจและภาคภูมิใจแก่ผู้บริหารและปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องทุกคน

ดังนั้นในปี 2557-2558 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ได้บูรณาการงานคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธาณสุขกับเครือข่ายห้องปฏิบัติการในเขตสุขภาพที่ 7 เพื่อกำหนด กำกับ ดูแลคุณภาพและมาตรฐานการให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธาณสุขและห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลศูนย์ โรงพยาบาลทั่วไป และโรงพยาบาลชุมชน รวมทั้งห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลในสังกัดกรมวิชาการ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้บริการทางห้องปฏิบัติการ โดยคำนึงถึงผลการตรวจวิเคราะห์ต้องมีคุณภาพและเชื่อถือได้ สามารถนำมาประกอบการวินิจฉัยโรคของแพทย์และเป็นการสนับสนุนนโยบายด้านสาธารณสุขของรัฐบาล ในการสร้างหลักประกันสุขภาพแก่ประชาชนให้สามารถเข้าถึงระบบบริการสุขภาพที่มีคุณภาพ มีประสิทธิภาพ และเสมอภาคเท่าเทียมกัน ตลอดจนสามารถประหยังบประมาณของรัฐโดยสร้างระบบการส่งต่อที่มีประสิทธิภาพและเป็นการเตรียมความพร้อมเพื่อรองรับการเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนในปี 2558 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเครือข่าย

ห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธาณสุขของโรงพยาบาลและสถานบริการทางห้องปฏิบัติการทุกระดับในเขตสุขภาพที่ 7 ให้มุ่งสู่การขอรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน งานเทคนิคการแพทย์มาตรฐานสากล และมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข⁽¹⁻⁶⁾ ตลอดจนการพัฒนาศักยภาพและคุณภาพระบบเครือข่าย และระบบส่งต่อ รวมทั้งการให้บริการงานชั้นสูตรสาธาณสุขของห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุขเขตสุขภาพที่ 7 ให้สอดคล้องกับแผนพัฒนาระบบบริการสุขภาพและสอดคล้องกับนโยบายรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดให้ห้องปฏิบัติการมีระบบคุณภาพมาตรฐานและได้รับการรับรองร้อยละร้อยภายในเดือนมิถุนายน 2558

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มเป้าหมายประกอบด้วย

ปีงบประมาณ 2557

1. เครือข่ายห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขที่เปิดให้บริการในเขตสุขภาพที่ 7 จำนวน 72 แห่ง
2. เครือข่ายห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยในเขตสุขภาพที่ 7 จำนวน 67 แห่ง
3. หน่วยบริการปฐมภูมิในเครือข่ายบริการสุขภาพที่ 7 จำนวน 825 แห่ง

ปีงบประมาณ 2558

1. เครือข่ายห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขที่เปิดให้บริการในเขตสุขภาพที่ 7 จำนวน 74 แห่ง
2. เครือข่ายห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยในเขตสุขภาพที่ 7 จำนวน 67 แห่ง

การดำเนินการปีงบประมาณ 2557

จัดประชุมชี้แจงนโยบายและตัวชี้วัดในการตรวจราชการและนิเทศงาน โดยกำหนดให้ร้อยละของห้องปฏิบัติการมีระบบคุณภาพมาตรฐานและได้รับการรับรอง ซึ่งเป้าหมายคือ ร้อยละร้อยละ จากนั้นจึงจัดทำแผนการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขระดับเขต มีการแต่งตั้งคณะกรรมการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการระดับเขตทำหน้าที่กำกับ ติดตามผลการดำเนินการ ประชุมสรุปผลการดำเนินการทุก 3 เดือน และดำเนินการตรวจประเมินภายนอก (External audit) จากนั้นนำผลการประเมินส่งสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการขอการรับรอง และตรวจราชการและนิเทศงานกรณีปกติ 2 รอบ แต่ละจังหวัดจัดทำแผนงานโครงการเพื่อขออนุมัติในการดำเนินการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการทุกระดับโดยการดำเนินการเป็นในรูปของเครือข่ายทุกจังหวัดและโรงพยาบาลดำเนินการประเมินตนเองและเครือข่ายดำเนินการทำการประเมินภายในเครือข่าย (Internal audit) วิเคราะห์ส่วนที่ยังขาดและไม่เป็นไปตามมาตรฐาน (Gap analysis) และนำมาปรับปรุงและพัฒนาจัดทำคำสั่งแต่งตั้งคณะกรรมการพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขระดับจังหวัดและระดับเขต

ประชุมคณะกรรมการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการระดับเขต

- ประชุมคณะกรรมการระดับเขตครั้งที่ 1/2557 เพื่อชี้แจงตัวชี้วัดและประเด็นการตรวจราชการ
ครั้งที่ 2/2557 เพื่อสรุปผลการประเมินตนเองของแต่ละจังหวัด และวิเคราะห์ Gap analysis
ครั้งที่ 3/2557 เพื่อสรุปผลการดำเนินงานระดับจังหวัดและระดับเขต และมอบตัวอย่าง EQA ของ รพสต.

4 รายการทดสอบให้แต่ละจังหวัดไปดำเนินการ

ครั้งที่ 4/2557 สรุปผลการดำเนินงานการทำ Internal audit และ External audit ระดับจังหวัดและระดับเขตจังหวัด ดำเนินการประเมินตนเองตามมาตรฐานด้านการแพทย์และสาธารณสุขและห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยของกระทรวงสาธารณสุข และตามมาตรฐานระบบคุณภาพและมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุขของหน่วยบริการโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพสต.) และศูนย์สุขภาพชุมชนเมือง การตรวจราชการและนิเทศงานรอบที่ 1 ตามตัวชี้วัด ร้อยละของห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุขมีคุณภาพและมาตรฐานบริการ (ร้อยละ 100) จากผลการประเมินตนเองและทีมจังหวัด นำมาวิเคราะห์ Gap analysis และดำเนินการพัฒนาเพื่อแก้ไขข้อบกพร่อง ดำเนินการประชุมชี้แจงเกณฑ์ประเมินให้กับผู้ตรวจประเมิน Internal Auditor ทุกจังหวัด และจัดทำแผนการ Internal Auditor สำหรับหน่วยบริการปฐมภูมิได้จัดส่งตัวอย่าง EQA 4 รายการทดสอบให้ รพสต. ดำเนินการ 2 ครั้ง จังหวัดดำเนินการตรวจประเมินภายใน Internal Auditor ครบทุกจังหวัดศูนย์ฯ ดำเนินการตรวจราชการและนิเทศงานรอบที่ 2 ตามตัวชี้วัด จากผลการทำ Internal audit และการออกประเมิน



ภาพที่ 1 การประชุมคณะกรรมการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการระดับเขต

External audit เขตสุขภาพที่ 7 โดยมีห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขที่ยังไม่ผ่านการรับรองระบบคุณภาพตามมาตรฐาน LA หรือ มาตรฐานสากล หรือหมดอายุการรับรองจำนวน 32 แห่ง ซึ่งเป็นเป้าหมายในการดำเนินการ External audit และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิที่เป็นเป้าหมายในการดำเนินการ External audit จำนวน 280 แห่ง เป้าหมายร้อยละ 34

การดำเนินการปีงบประมาณ 2558

ปีงบประมาณ 2558 เป้าหมายการพัฒนาคือ ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขมีระบบคุณภาพมาตรฐานและผ่านการรับรองร้อยละร้อย โดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการได้สำรวจห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขในเขตสุขภาพที่ 7 ที่ยังไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานใดๆ หรือหมดอายุการรับรอง คือ มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ มาตรฐาน ISO 15189 หรือมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขและเป็นเป้าหมายการพัฒนาให้ผ่านการรับรอง ซึ่งห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขสุขภาพที่ 7 มีจำนวน 18 แห่ง และห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยมีจำนวน 32 แห่ง และเป้าหมายโรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชในเขตสุขภาพที่ 7 ซึ่งมี 2 แห่ง ได้แก่ โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชกระนวน และโรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชกุฉินารายณ์ต้องผ่านการรับรองตามมาตรฐาน ISO 15189 ปี 2558 สำหรับห้องปฏิบัติการของ รพสต. ยังดำเนินการพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยจัดส่งตัวอย่าง EQA 4 รายการทดสอบให้ รพสต. ดำเนินการ 2 ครั้ง การพัฒนาห้องปฏิบัติการปี 2558 ไม่ได้เป็นตัวชี้วัดของกระทรวงแต่เป็นนโยบายของรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขที่ให้ทุกห้องปฏิบัติการมีระบบคุณภาพได้มาตรฐานและผ่านการรับรอง โดยทีมจังหวัดจะทำ Internal audit และ ศูนย์ฯ จะทำ External audit โรงพยาบาลที่ยังไม่ผ่านการรับรองหรือหมดอายุและนำผลการประเมินส่งสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการเพื่อขอการรับรอง

ผล

ห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขที่เปิดให้บริการในเขตสุขภาพที่ 7 มีจำนวน 74 แห่ง ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยจำนวน 67 แห่ง และห้องปฏิบัติการหน่วยบริการปฐมภูมิจำนวน 825 แห่ง การดำเนินการพัฒนาเป็นรูปแบบเครือข่ายทุกระดับ มีแผนงานโครงการรองรับ มีการแต่งตั้งคณะกรรมการทุกระดับ การพัฒนาขับเคลื่อนไปเป็นระบบและพร้อมกันมีคณะกรรมการกำกับติดตามและประเมินผลเป็นระยะ โดยมีศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่นและคณะกรรมการระดับจังหวัดและระดับเขตเป็นพี่เลี้ยงในการดำเนินการ

ผลการดำเนินงานปี 2557 จากการประเมินตนเองตามมาตรฐานพบว่าห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุข ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยและห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิ มีระบบคุณภาพผ่านเกณฑ์ร้อยละ 91.7, 41.8 และ 48.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากผลการประเมินดังกล่าวคณะกรรมการทุกระดับได้ดำเนินการวิเคราะห์ส่วนขาด (ตารางที่ 2) และดำเนินการวางแผนพัฒนาระบบคุณภาพเพื่อพัฒนาส่วนขาดตามเป้าหมายการพัฒนาให้บรรลุตัวชี้วัด ผลการดำเนินการจากการนิเทศงานรอบที่ 2/2557 โดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น พบว่าห้องปฏิบัติการ ชั้นสูตรสาธารณสุข ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิ มีการพัฒนาระบบคุณภาพ ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 97.2, 95.5 และ 85.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ผลการดำเนินการดังกล่าวแม้จะไม่ผ่านตัวชี้วัดของ กระทรวงสาธารณสุขแต่ผลการพัฒนาอยู่ในระดับที่ดีเยี่ยมและเป็นที่น่าชื่นชม และโดยปีงบประมาณ 2557 เป้าหมาย การดำเนินการตามคำรับรอง External audit คือ ร้อยละ 34 ผลการดำเนินการห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุข เป้าหมายมีระบบคุณภาพผ่านการรับรองจำนวน 19 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 59.4 และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการ ปฐมภูมิมีการดำเนินการระบบคุณภาพได้รับการรับรอง จำนวน 397 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 48.1 จากผลการดำเนินการ ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปี 2557 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น สามารถดำเนินการได้เกินเป้าหมายและ ในปีงบประมาณ 2558 ห้องปฏิบัติการชั้นสูตรในโรงพยาบาลที่เปิดให้บริการในเขตสุขภาพที่ 7 ที่สังกัดกระทรวงสาธารณสุข มีจำนวนทั้งสิ้น 74 แห่ง แยกเป็นสังกัดสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุขจำนวน 71 แห่ง สังกัดกรมอนามัย 1 แห่ง สังกัดกรมควบคุมโรค 1 แห่ง และสังกัดกรมสุขภาพจิตอีก 1 แห่ง ผ่านการรับรองมาตรฐานงานเทคนิค การแพทย์จำนวน 42 แห่ง ISO 15189, 15190 จำนวน 2 แห่ง และผ่านมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขจำนวน 30 แห่ง รวมทั้งสิ้นมีคุณภาพมาตรฐานผ่านการรับรองทั้ง 74 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 100 และห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยมีคุณภาพ มาตรฐานผ่านการรับรอง 65 แห่ง จาก 67 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 97 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 ผลการประเมินตนเองตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขของห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลในเขตสุขภาพที่ 7 จากการตรวจราชการและนิเทศงานรอบที่ 1/2557 ตัวชี้วัด : ร้อยละของห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข มีคุณภาพและมาตรฐานการบริการ เกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 100

จังหวัด	จำนวนผ่านการประเมิน ทุติยภูมิ/ตติยภูมิ (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)	จำนวนผ่านการประเมิน ปฐมภูมิ (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)	จำนวนผ่านการประเมิน รังสีวินิจฉัย (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)
ขอนแก่น	24/25 (96.0%)	143/253 (55.5%)	8/24 (33.3%)
ร้อยเอ็ด	15/17 (88.2%)	108/231 (46.7%)	10/17 (58.8%)
มหาสารคาม	12/12 (100%)	92/181 (50.8%)	3/12 (25.0%)
กาฬสินธุ์	15/18 (83.3%)	143/253 (34.2%)	7/14 (50.0%)
รวม	66/72 (91.7%)	397/825 (48.1%)	28/67 (41.8%)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์สาเหตุส่วนที่ยังพบข้อบกพร่องและไม่เป็นไปตามมาตรฐาน (Gap analysis) ห้องปฏิบัติการชั้นสูงหน่วยบริการปฐมภูมิ และห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย

ข้อบกพร่อง		
ห้องปฏิบัติการชั้นสูง	ห้องปฏิบัติการหน่วยบริการปฐมภูมิ	ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย
ด้านเอกสารคุณภาพ ยังไม่เป็นปัจจุบัน	ขาดการบันทึก	ขาดบุคลากร
ไม่ได้ดำเนินการประเมิน ความสามารถของบุคลากร	ขาดการแต่งตั้งที่ปรึกษาทางวิชาการ	ไม่มีใบประกาศเจ้าหน้าที่ ความปลอดภัยด้านรังสี
ด้านสถานที่ยังจัดไม่เป็นระเบียบ ขาด 5 ส.	เครื่องมือการสอบเทียบยังไม่ครบ	
เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์ ขาดประวัติการสอบเทียบ น้ำยาหมดอายุไม่ระบุวันเปิดใช้ และวันหมดอายุ	IQC ยังมีไม่ครบทุกการทดสอบ ไม่ได้นำผล IQC และ EQA มาวิเคราะห์	
ไม่ได้ดำเนินการสำรวจ ความพึงพอใจ และไม่ประเมินผล		
ไม่ได้จัดแจ้งเชื้อตาม พ.ร.บ.เชื้อโรค		



ภาพที่ 2 การทำ Internal audit ของเครือข่ายระดับจังหวัด

ตารางที่ 3 ผลการประเมินตนเองตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขของห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลในเขตสุขภาพที่ 7 จากการตรวจราชการและนิเทศงานรอบที่ 2/2557 ตัวชี้วัด : ร้อยละของห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข มีคุณภาพและมาตรฐานการบริการ เกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 100

จังหวัด	จำนวนผ่านการประเมิน ทุติยภูมิ/ตติยภูมิ (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)	จำนวนผ่านการประเมิน ปฐมภูมิ (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)	จำนวนผ่านการประเมิน รังสีวินิจฉัย (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)
ขอนแก่น	24/25 (96.0%)	209/253 (82.6%)	23/24 (95.8%)
ร้อยเอ็ด	17/17 (100%)	227/231 (98.3%)	16/17 (94.1%)
มหาสารคาม	12/12 (100%)	181/181 (100%)	12/12 (100%)
กาฬสินธุ์	17/18 (94.4%)	92/160 (57.5%)	13/14 (92.8%)
รวม	70/72 (97.2%)	709/825 (85.9%)	64/67 (95.5%)

ตารางที่ 4 ผลการประเมินภายนอก (External audit) ตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขของห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลในเขตสุขภาพที่ 7 ปี 2558 เป้าหมาย : ร้อยละของห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุขมีคุณภาพ และมาตรฐาน การบริการร้อยละ 100

จังหวัด	จำนวนผ่านการประเมิน ทุติยภูมิ/ตติยภูมิ (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)	จำนวนผ่านการประเมิน รังสีวินิจฉัย (จำนวนห้องปฏิบัติการ/ร้อยละ)
ขอนแก่น	25/25 (100%)	24/24 (100%)
ร้อยเอ็ด	19/19 (100%)	16/17 (94.1%)
มหาสารคาม	12/12 (100%)	12/12 (100%)
กาฬสินธุ์	18/18 (100%)	13/14 (92.9%)
รวม	74/74 (100%)	65/67 (97.0%)

วิจารณ์

การพัฒนาระบบคุณภาพมาตรฐานเครือข่ายห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุข โดยมุ่งเน้นให้ห้องปฏิบัติการมีระบบคุณภาพและได้รับการรับรองตามมาตรฐานที่กำหนด มาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ มาตรฐานทางเทคนิคการแพทย์ มาตรฐาน ISO 15189 มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข สำหรับห้องปฏิบัติการชั้นสูตร ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิ ซึ่งแต่ละมาตรฐานมีข้อกำหนดที่แตกต่างกัน เดิมมีมาตรฐานเฉพาะทางห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขเท่านั้นคือ มาตรฐานทางเทคนิคการแพทย์ และมาตรฐาน ISO 15189 ต่อมาในปี 2557 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขเพื่อประเมินระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขของโรงพยาบาลทุกระดับเพื่อให้บรรลุตามตัวชี้วัดของกระทรวงสาธารณสุขคือ “ร้อยละของห้องปฏิบัติการมีระบบคุณภาพมาตรฐานและได้รับการรับรอง” เป้าหมายร้อยละร้อยละ ผลการดำเนินงานในปี 2557 ซึ่งประเมินจากผลการประเมินตนเองและผลการทำ Internal audit รวมทั้งผลจากการนิเทศงานพบว่ายังมีส่วนที่ต้องแก้ไขและปรับปรุงในสิ่งที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด (GAP) โดยคณะกรรมการระดับจังหวัดและระดับเขตได้จัดประชุมร่วมกันในการพัฒนาและแก้ไขข้อบกพร่องที่พบดังกล่าว มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขซึ่งเป็นมาตรฐานที่กำหนดมาใช้ประเมินใหม่นั้น ผู้ประเมินยังเข้าใจเกณฑ์ของการประเมินไม่เหมือนกัน จึงได้ดำเนินการจัดประชุมเพื่อชี้แจงเกณฑ์ในการประเมินให้เหมือนกัน รวมทั้งการอบรมผู้ตรวจประเมินระดับเครือข่ายและระดับประเทศ สำหรับข้อบกพร่องอื่นๆ เช่น การจัดทำเอกสารคุณภาพไม่เป็นปัจจุบันที่มีย่อยแต่ละจังหวัดได้ช่วยกันในการจัดทำให้เป็นปัจจุบัน เรื่อง การสอบเทียบเครื่องมือได้จัดทำแผนสอบเทียบทั้งระดับจังหวัด ระดับเขต ด้านบุคลากรมีการจัดทำแผนการฝึกอบรมและประเมินความสามารถบุคลากร ด้านสถานที่ได้ทำการจัดให้เป็นสัดส่วนแยกพื้นที่ห้องปฏิบัติการออกตามความเหมาะสม จัดทำคำสั่งแต่งตั้งที่ปรึกษาทางวิชาการ มอบหมายผู้รับผิดชอบสำรวจความพึงพอใจและจัดทำสรุปรายงาน จัดแจงตัวอย่างหรือเชื้อโรคที่ครอบครองตาม พ.ร.บ.เชื้อโรคสำหรับด้านการขาดบุคลากรที่เฉพาะทางในการปฏิบัติงานนั้น ได้เสนอต่อผู้บริหารทุกระดับเพื่อพิจารณากำหนดอัตราบรรจุ ด้านตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ยังขาดบางรายการทางเขตก็ได้ดำเนินการจัดหาและจัดเตรียมให้ครบและส่งตัวอย่างให้ดำเนินการตลอดจนประเมินผลให้และจัดอบรมสัมมนาการวิเคราะห์ผล IQC และ EQA ซึ่งจากการดำเนินการเชิงรุกดังกล่าวสามารถทำให้ผลการพัฒนาระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการทุกเครือข่ายทุกระดับมีคุณภาพผ่านการรับรองและมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง สามารถผ่านตามตัวชี้วัดและคำรับรองได้ สำหรับห้องปฏิบัติการที่ยังไม่ผ่านการรับรองตามมาตรฐานใด ๆ ที่กำหนด ในปี 2558 ได้ดำเนินการพัฒนาตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขและทำการตรวจประเมินจากผลการประเมินเครือข่ายห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขเขตสุขภาพที่ 7 พบว่ามีระบบคุณภาพมาตรฐานผ่านการรับรองร้อยละ 100 เครือข่ายห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย มีระบบคุณภาพมาตรฐานผ่านการรับรองร้อยละ 97.0 และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิ มีระบบคุณภาพมาตรฐานได้รับการรับรองร้อยละ 48.1 สำหรับห้องปฏิบัติการที่ยังไม่ผ่านการรับรองก็เป็นโอกาสในการพัฒนาต่อไป โดยควรกำหนดเป็นนโยบายในระดับกระทรวงและระดับประเทศ

สรุป

ผลการพัฒนาระบบคุณภาพเครือข่ายห้องปฏิบัติการชั้นสูตรสาธารณสุขที่เปิดให้บริการทางห้องปฏิบัติการในเขตสุขภาพที่ 7 จำนวน 74 แห่ง พบว่ามีคุณภาพมาตรฐานผ่านการรับรองทั้ง 74 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 100 ห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัยจำนวน 67 แห่ง ผ่านการรับรองระบบคุณภาพมาตรฐานจำนวน 65 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 97.0 และห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิจำนวน 825 แห่ง มีระบบคุณภาพมาตรฐานได้รับการรับรองจำนวน 397 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 48.1 จากผลการดำเนินการแสดงให้เห็นว่า เครือข่ายห้องปฏิบัติการเขตสุขภาพที่ 7 มีการพัฒนาระบบคุณภาพอย่างเป็นระบบและเกิดประสิทธิผลสามารถผ่านการรับรอง ส่งผลให้ประชาชนได้รับบริการที่มีคุณภาพอย่างเท่าเทียมกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายแพทย์สาธารณสุขจังหวัดทุกจังหวัดในเขตสุขภาพที่ 7 ที่สนับสนุนบุคลากรและงบประมาณในการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณเครือข่ายห้องปฏิบัติการเขตสุขภาพที่ 7 ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการพัฒนาระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการทุกระดับให้มีคุณภาพและผ่านการรับรอง

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข. เกณฑ์มาตรฐานระบบบริการของสถานบริการและหน่วยงานสาธารณสุข : งานพัฒนาบริการห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข (พบส.). พิมพ์ครั้งที่ 3. ม.ป.ท; 2539.
2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการตรวจทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) ด้านงานเทคนิคการแพทย์ (MPOH-DMS-PL02/2555). พิมพ์ครั้งที่ 2. นครราชสีมา : หจก. อินดี้อาร์ท; 2555.
3. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. มาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (MOPH-DMS-SCL01/2557). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สำนักพระพุทธศาสนาแห่งชาติ; 2557.
4. สภาเทคนิคการแพทย์. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2551 สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอพีพี พรินติ้ง กรุป; 2552.
5. สภาเทคนิคการแพทย์. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2555 สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอพีพี พรินติ้ง กรุป; 2556.
6. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. เกณฑ์และแนวทางการพัฒนางานรังสีวินิจฉัย โรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 2558.
7. International Organization for Standardization. ISO 15189 Medical laboratory-Particular requirements for quality and competence. 2nd ed. Geneva, Switzerland: ISO; 2007

Improvement of Quality System in Laboratory Network of the Region 7 Health Service

Sutudsanee Vimolsarte Teerawat Supawatanapun and Udomkiat Puntanaprated
Regional Medical Sciences Center 7 Khon Kaen, Department of Medical Sciences, Amphoe Mueang, Khon Kaen 40000 Thailand.

ABSTRACT The improvement of quality system in laboratory network of the region 7th Health Service to succeed the goal of key performance index (KPI) of Ministry of Public Health inspection 100% of medical and public health laboratories having quality and standard services. Ministry of Public Health has established the policy for service plan. The objectives of this plan are to provide the better quality service, more coverage and being equitable to the citizens and societies in all areas. One of important mechanisms to support the achievement of these objectives is improvement of quality system in the laboratory network efficiently and providing the most benefit to the people. Clinical laboratories, X-ray laboratories and primary health care laboratories were major target for this improvement. Therefore, the Regional Medical Science Center 7th Khon Kaen had conducted the quality system in improvement of the medical and public health laboratory network in 2015 and 2016 in order to improve the service quality to meet the defined standards and to be accredited. The result from this improvement showed that in 2015 and 2016, 91.9% and 100% of 74 clinical laboratory services in Health Region 7th were accredited respectively. In addition, 41.8% and 100% of 67 X-ray laboratories were accredited in 2015 and 2016, respectively. There were 48.1% of 825 primary health care laboratories accredited. This systematic improvement and laboratory accreditation have had an impact on the service quality and equity in Health Region 7th

Key words: Medical Laboratory, Laboratory Network, Quality System

การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้น ของผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อผิวหนังสัตว์ทดลอง

ทิฆัมพร แยมสอาด กิ่งกาญจน์ ตอบงาม มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์ และสมชาย แสงกิจพร

กลุ่มสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นต่อผิวหนังสัตว์ทดลอง เป็นวิธีทดสอบทั่วไปตามมาตรฐานที่กำหนดใน OECD guideline; ส่วนมาตรฐาน ISO 10993 เป็นวิธีการทดสอบการระคายเคืองในผลิตภัณฑ์เครื่องมือแพทย์ และ มอก.152-2555 เป็นวิธีทดสอบการระคายเคืองในเครื่องสำอาง โดยทุกมาตรฐานใช้กระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์ ในการทดสอบจำนวน 3 ตัว กลุ่มสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จึงนำวิธีทดสอบทั้งสามวิธีมาปรับใช้ให้เหมาะสมกับการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์สุขภาพ โดยทำการทดสอบตัวอย่างที่ได้รับมาจาก สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ผู้ผลิตสินค้า และหน่วยงานของมหาวิทยาลัย ผ่านทางศูนย์รวมบริการ (One stop service center) ของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ระหว่างปีงบประมาณ 2555-2557 รวม 173 ตัวอย่าง ซึ่งจำแนกเป็น กลุ่มเครื่องมือแพทย์ 58 ตัวอย่าง (34%) กลุ่มเครื่องสำอาง 86 ตัวอย่าง (50%) กลุ่มวัตถุอันตราย 29 ตัวอย่าง (16%) พบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 กลุ่ม รวม 26 ตัวอย่าง (15%) ซึ่งเป็นตัวอย่าง กลุ่มเครื่องสำอาง กลุ่มวัตถุอันตรายและ กลุ่มเครื่องมือแพทย์ จำนวน 18 ตัวอย่าง (10%), 7 ตัวอย่าง (4.6%) และ 1 ตัวอย่าง (0.04%) ตามลำดับ

Accepted for publication, 20 April 2016

บทนำ

ผลิตภัณฑ์สุขภาพ เป็นสิ่งที่ใช้ในชีวิตประจำวัน ประกอบด้วย เครื่องสำอาง เครื่องมือแพทย์ และวัตถุอันตรายที่ใช้ทางสาธารณสุข ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวต้องมีคุณภาพที่เหมาะสมปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรืออาการไม่พึงประสงค์ เพราะเมื่อใช้งานต้องสัมผัสโดยตรงกับมนุษย์หรือสัตว์ เครื่องมือแพทย์ถือเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์สุขภาพที่สำคัญ เนื่องจากรนำมาใช้ในการประกอบโรคศิลปะ ทั้งในมนุษย์และในสัตว์ ทั้งนี้จะรวมถึงยาหรือสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดรักษา ตรวจวินิจฉัยต่างๆ ซึ่งการทดสอบจะอ้างอิงตามมาตรฐาน ISO 10993 ส่วนเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายที่ใช้ทางสาธารณสุขจะประกอบด้วยสารเคมีจากธรรมชาติ สารสังเคราะห์หรือกึ่งสังเคราะห์ สารดังกล่าวอาจก่อให้เกิดการแพ้ การระคายเคืองต่อผิวหนังซึ่งความรุนแรงจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ปริมาณ และระยะเวลาการใช้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความจำเพาะของแต่ละบุคคลด้วย ปัจจุบันพบว่าค่าเฉลี่ยของการใช้เครื่องสำอาง อยู่ที่ 7-12 ชนิด ต่อคน จึงทำให้พบปัญหาจากการแพ้เครื่องสำอางได้บ่อย⁽⁵⁾ การทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นที่นำมาตราฐานทั้ง ISO 10993, OECD guideline และตาม มอก.152-2555 มาปรับเป็นการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังสัตว์ทดลอง จะช่วยให้ทราบถึงแนวโน้มของการก่อให้เกิดการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สุขภาพ ซึ่งวิธีการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในผิวหนังของสัตว์ทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังมนุษย์พบว่ามีความใกล้เคียงกันมากกว่าร้อยละ 80⁽⁷⁾

ทั้งนี้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศไทย (อย.) และกระทรวงอุตสาหกรรมได้มีข้อกำหนดเพื่อให้มีการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีการขอขึ้นทะเบียนใหม่ ก่อนที่จะมีการผลิตเพื่อจำหน่ายให้กับผู้บริโภค^(1, 2, 3) หรือเมื่อ อย. มีการจับกุมหรือพบผลิตภัณฑ์สุขภาพชนิดใดที่สงสัยว่าจะก่อให้เกิดการระคายเคืองกับผู้ใช้ จะส่งตัวอย่างดังกล่าวเพื่อทดสอบยืนยันผลต่อไป การนำเสนอข้อมูลครั้งนี้ประกอบด้วยข้อมูลของผลทดสอบตัวอย่างเพื่อขอขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์สุขภาพ ตัวอย่างจากบริษัทเมื่อมีการผลิตสินค้าใหม่ ตัวอย่างของวัสดุจากมหาวิทยาลัยที่ผลิตเพื่อนำไปใช้ในการเรียนการสอน และอีกส่วนหนึ่งเป็นผลทดสอบตามข้อร้องเรียนของผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ซึ่งส่งจาก อย.

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

- จานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแก้ว สำหรับบรรจุผ้าก๊อชที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- แผ่นปิดทดสอบ ทำด้วยผ้าก๊อชชนิดไม่หลุดลุ่ย ขนาดกว้าง 2.5 เซนติเมตร ยาว 2.5 เซนติเมตร พับซ้อนกัน 10 ชั้น ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- ปีเปตแบบอัตโนมัติ ขนาด 1,000 ไมโครลิตร
- แถบกาวยึดแผล (transpore tape) ขนาดกว้าง 2 นิ้ว
- พลัสเตอร์ใสปิดแผล (leukopore) ขนาดกว้าง 1 นิ้ว
- ผ้ายืด (elastic bandage) ขนาด 2 นิ้ว
- ขวดแก้วทนไฟ ขนาด 100 มิลลิลิตร มีฝาปิด
- กรรไกรปลอดสนิม
- ปัตตาเลียนโกนขนสัตว์
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ

สารเคมี

- น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ตัวอย่าง

- ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้แก่ เครื่องมือแพทย์ เครื่องสำอางและวัตถุอันตราย ที่นำมาส่งตรวจเพื่อทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น ระหว่าง 3 ปีงบประมาณ (2555-2557) จำนวน 173 ตัวอย่าง จำแนกเป็นกลุ่มเครื่องมือแพทย์ทั้งหมด 58 ตัวอย่าง กลุ่มเครื่องสำอาง 86 ตัวอย่าง กลุ่มวัตถุอันตราย 29 ตัวอย่าง

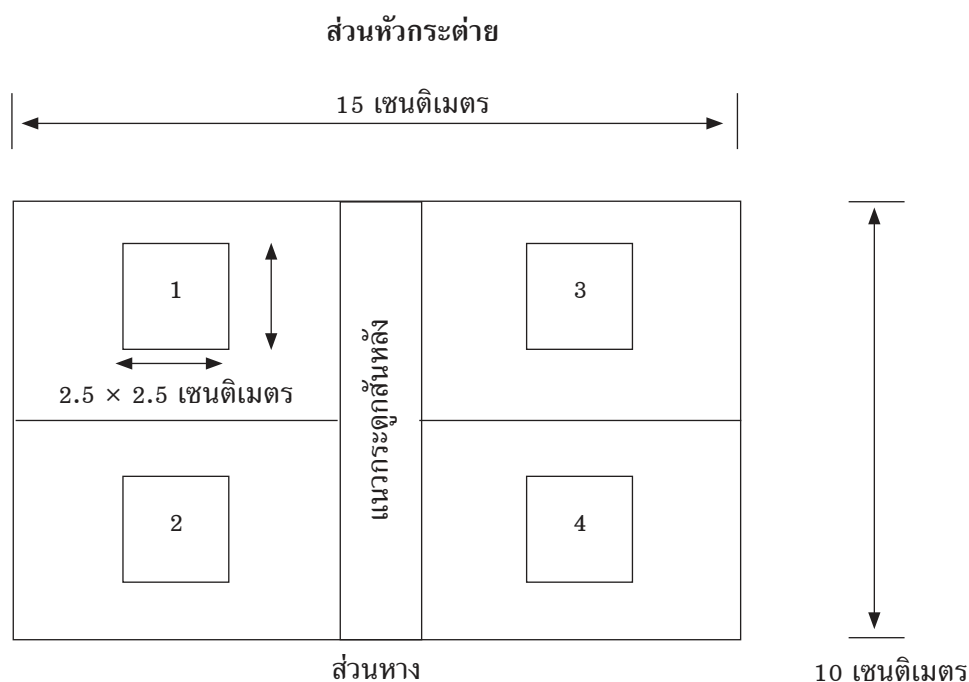
สัตว์ทดลอง

กระต่ายพันธุ์ New Zealand White ไม่จำกัดเพศ จำนวน 3 ตัว น้ำหนักตัวจะไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม จากแหล่งผลิตสัตว์ที่ผ่านการประเมินสุขภาพสัตว์ เลี้ยงในระบบ conventional ที่มีการควบคุมด้านความสะอาดในห้องเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 16-22 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30-70 เปอร์เซ็นต์ ตั้งเวลาเปิด-ปิดไฟในห้องสว่าง 12 ชั่วโมง/มืด 12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป และน้ำดื่มเป็นน้ำกรองระบบรีเวอร์สออสโมซิสรวมกับการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน ตลอดจนการเลี้ยงจะเลี้ยงในกรงที่มีขนาดตามมาตรฐาน AAALAC โดยมีขนาดกรงไม่น้อยกว่า $29 \times 30 \times 17$ นิ้ว เพื่อปรับตัว (Acclimatization) อย่างน้อย 1 สัปดาห์ ภายใต้การดูแลสัตว์ตามมาตรฐาน AAALAC

วิธีการทดสอบ

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

ก่อนการทดสอบอย่างน้อย 24 ชั่วโมง โคนขนกระต่ายบริเวณส่วนหลังด้วยปัตตาเลี่ยน ตั้งแต่สะบักลงมาทั้งสองข้าง ตามแนวนานับกระดูกสันหลังต่ำลงมาประมาณ 2.5 เซนติเมตร โดยโคนให้เป็นบริเวณกว้างประมาณ 5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร กระต่ายที่จะนำมาทดลองต้องมีผิวหนังปกติ ไม่มีรอยแผลหรือวิธีการใดๆ



ภาพที่ 1 พื้นที่ทดสอบบนผิวหนังกระต่าย



ภาพที่ 2 ตำแหน่งและวิธีการโกนขน เพื่อตรวจสอบสภาพผิวหนังก่อนเริ่มทดสอบ



ภาพที่ 3 การปิดแผ่นทดสอบตัวอย่าง

2. การเตรียมตัวอย่าง

2.1 ตัวอย่างเครื่องสำอาง⁽¹⁾

เครื่องสำอาง เป็นผลิตภัณฑ์ตามความหมายในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.152-2555) เช่น ครีมทาผิว แชมพูอาบน้ำ เจล เป็นต้น

1. ตัวอย่างที่เป็นของเหลวหรือเจล ต้องส่งไม่น้อยกว่า 50 มิลลิลิตรหรือ 50 กรัม
2. ตัวอย่างที่เป็นแผ่น เช่น แผ่นมาร์กหน้า ผ้ายืด แผ่นหรือผ้าปิดแผล ในกรณีที่มีความหนาไม่เกิน 0.5 มิลลิเมตร และมีผิวเรียบ ต้องส่งตัวอย่าง ไม่น้อยกว่า 10×10 ตารางเซนติเมตร ต่อหนึ่งตัวอย่างส่งตรวจ สามารถใช้การตัดให้มีขนาด 2.5×2.5 ตารางเซนติเมตร แล้วนำมาทดสอบ แต่ถ้ามีขนาดหนากว่า ต้องนำตัวอย่างไปสกัดก่อนนำไปใช้ทดสอบ

การใช้ตัวอย่างที่มีความชื้นหนืด จะใช้การสกัด^(6, 9) แล้วนำสารที่สกัดได้มาใช้ในการทดสอบ

2.2 ตัวอย่าง เครื่องมือแพทย์⁽²⁾

วัสดุ อุปกรณ์ตามข้อกำหนดพระราชบัญญัติเครื่องมือแพทย์ พ.ศ. 2551 เช่น เครื่องมือให้เลือด ชุดให้น้ำเกลือ เป็นต้น โดย

1. ตัวอย่างที่มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ เช่น ชุดให้เลือด เข็มฉีดยา ต้องส่งตัวอย่างไม่น้อยกว่า 20 ชุด ต่อ 1 การทดสอบ
2. ตัวอย่างที่เป็นแผ่น เช่น ฟิล์ม แผ่นปิดแผล ในกรณีที่มีความหนาไม่เกิน 0.5 มิลลิเมตร และผิวเรียบ ให้ใช้ตัวอย่าง ไม่น้อยกว่า 10×10 ตารางเซนติเมตร ต่อหนึ่งตัวอย่างส่งตรวจ สามารถใช้การตัดให้มีขนาด 2.5×2.5 ตารางเซนติเมตร แล้วนำมาทดสอบ แต่ถ้ามีขนาดหนากว่า ต้องนำตัวอย่างไปสกัดต่อไป

การสกัดตัวอย่าง จะใช้การสกัดอ้างอิงตาม ISO 10993-12⁽⁹⁾ แล้วนำสารที่สกัดได้มาใช้ในการทดสอบต่อไป

2.3 ตัวอย่างวัตถุดิบ⁽³⁾

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือสาธารณสุข เช่น น้ำยาซักผ้า น้ำยาปรับผ้านุ่ม แชมพูอาบน้ำสუნัข เป็นต้น โดยต้องส่งตัวอย่างไม่น้อยกว่า 50 มิลลิลิตร หรือ 50 กรัม

นำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมแล้ว มาวัดความเป็นกรด ต่าง ถ้าได้ค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 หรือมากกว่าหรือเท่ากับ 11.5 ไม่ต้องทดสอบ⁽⁸⁾ เนื่องจากมีความเป็นกรดหรือด่างที่มากเกินไป จะทำให้เกิดความระคายเคืองต่อผิวหนังกระต่าย ผลที่อ่านได้ไม่ใช่ผลการระคายเคืองโดยตรงจากตัวผลิตภัณฑ์เอง

3. ขั้นตอนการทดสอบ

1. ใช้แผ่นปิดทดสอบ จำนวน 4 ชิ้น กรณีที่ตัวอย่างผ่านการวัดความเป็นกรด ต่างแล้ว ให้นำตัวอย่างมาหยดบนแผ่นปิดทดสอบ 2 ชิ้น โดยถ้าเป็นของเหลวให้ใช้ปิเปตอัตโนมัติดูดตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร หรือถ้าตัวอย่างเป็นผงหรือเจล ให้ใช้ตัวอย่าง 0.5 กรัม วางหรือหยดลงบนกลางแผ่นปิดทดสอบแล้วหยดน้ำกลั่นลงไป 0.5 มิลลิลิตร เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วแผ่นอย่างสม่ำเสมอก่อนนำไปปิดที่ตำแหน่งที่ 1 และ 4 ส่วนอีก 2 ชิ้น ให้หยดน้ำกลั่นลงไป ชิ้นละ 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปิดที่ตำแหน่ง 2 และ 3 (ตามภาพที่ 1)

2. ปิดแผ่นทดสอบด้วยแถบการปิดแผล พันด้วยผ้ายืดรอบตัวให้แน่น แล้วพันด้วยพลาสติกใสปิดแผล เพื่อยึดกับลำตัวเพื่อป้องกันการเลื่อน

3. เมื่อครบ 4 ชั่วโมง แกะแผ่นทดสอบทั้งหมดออก แล้วเช็ดตัวอย่างที่อาจติดค้างบริเวณผิวหนังที่ทดสอบ ด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้งอย่างแผ่วเบา ปล่อยให้แห้ง

4. สังเกตความผิดปกติบริเวณที่ปิดแผ่นทดสอบ ที่เวลา 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังสัมผัสตัวอย่าง (หลังแกะแผ่นทดสอบ)

5. บันทึกผลที่ได้และให้คะแนนตามเกณฑ์การให้คะแนนการระคายเคืองต่อไป เมื่อครบแล้วนำไปคำนวณหาดัชนีการระคายเคืองเบื้องต้น (Primary irritation index, PII) โดยหลักเกณฑ์การให้คะแนนและการอ่านผล จะใช้ความแดงของผิวหนัง (erythema and eschar formation) และการบวม (edema formation) ของผิวหนัง บริเวณที่ปิดแผ่นปิดทดสอบ (ตารางที่ 1) ส่วนเกณฑ์การตัดสินความระคายเคืองจากเครื่องมือแพทย์ เครื่องสำอางและวัตถุอันตราย (ตารางที่ 2) ตามลำดับ

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนความแดงของผิวหนัง

สิ่งที่พบ	คะแนน
ความแดงและชั้นเนื้อตาย (Erythema and eschar formation)	
ไม่พบผื่นแดง	0
พบผื่นแดงเล็กน้อย	1
พบผื่นแดงชัดเจน	2
พบผื่นแดงปานกลาง	3
พบผื่นแดงรุนแรงถึงมีชั้นเนื้อตายของผิวหนัง	4
การเกิดการบวม (Oedema formation)	
ไม่พบการบวม	0
พบการบวมเล็กน้อย	1
พบการบวมที่มองเห็นขอบเขตชัดเจน	2
พบการบวมปานกลาง สูงขึ้นประมาณ 1 มิลลิเมตร	3
พบการบวมรุนแรง ขอบสูงกว่า 1 มิลลิเมตร และลามไปทั่วบริเวณที่สัมผัสตัวอย่าง	4
ค่าสูงสุดที่เป็นไปได้	8

(อ้างอิงจาก Scoring system for skin reaction, ISO 10993 -10: 2010 (E) หน้า 8)

ตารางที่ 2 เกณฑ์การตัดสินความระคายเคือง

เครื่องมือแพทย์

ดัชนีการระคายเคือง	ระดับการระคายเคือง
0 – 0.4	ไม่ระคายเคือง
0.5 – 1.9	ระคายเคืองเล็กน้อย
2 – 4.9	ระคายเคืองปานกลาง
5 – 8	ระคายเคืองรุนแรง

(อ้างอิงจาก ISO 10993 – 10: 2010 (E) หน้า 11)

เครื่องสำอางและวัตถุอันตราย

ดัชนีการระคายเคือง	ระดับการระคายเคือง
0 – 1	ไม่ระคายเคือง
มากกว่า 1 – 2	ระคายเคืองเล็กน้อย
มากกว่า 2 – 5	ระคายเคืองปานกลาง
มากกว่า 5 – 8	ระคายเคืองรุนแรง

(อ้างอิงจาก มอก. 152 – 2555 หน้า 7)

วิธีการคำนวณ

1. คะแนนการระคายเคืองเบื้องต้น (Primary irritation score, PIS)

$$\text{PIS บริเวณ ทดสอบ} = \frac{(\text{ผลรวมคะแนนความแดงและการบวมบริเวณทดสอบที่ 1 และ 4})}{\text{จำนวนจุดที่สังเกต}}$$

$$\text{PIS บริเวณควบคุม} = \frac{(\text{ผลรวมคะแนนความแดงและการบวมบริเวณควบคุมที่ 2 และ 3})}{\text{จำนวนจุดที่สังเกต}}$$

$$\text{PIS ของกระต่ายแต่ละตัว} = \text{PIS บริเวณทดสอบ} - \text{PIS บริเวณควบคุม}$$

จะทำการสังเกตที่เวลาที่ 24 ± 2 ชั่วโมง, 48 ± 2 ชั่วโมง, 72 ± 2 ชั่วโมง⁽⁶⁾ มาคำนวณ

เมื่อได้ค่าดัชนีความระคายเคืองเบื้องต้น (PIS) ของกระต่ายแต่ละตัวแล้ว นำคะแนน PIS มาคำนวณค่าดัชนีความระคายเคืองเบื้องต้น (Primary Irritation Index, PII) ดังนี้

$$\text{ค่าดัชนีความระคายเคืองเบื้องต้น (PII) ต่อผิวหนัง} = \frac{\text{ผลรวมคะแนน PIS ของกระต่ายทั้งสามตัว}}{3}$$

แล้วนำค่า PII ที่ได้มาสรุปเพื่อรายงานต่อไปตามเกณฑ์ (ตารางที่ 2)

วิธีการคำนวณดัชนีการระคายเคืองต่อผิวหนัง

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการลงผลคะแนนความแดงและการบวมของผิวหนังกระต่ายที่บริเวณควบคุม

กระต่าย				คะแนนความแดงและการบวมของผิวหนังกระต่าย หลังจากเอาผ้าก๊อชออก																PIS ของ กระต่าย แต่ละตัว
หมายเลข	เพศ	น้ำหนัก กิโลกรัม	บริเวณ	บริเวณควบคุมด้านซ้าย								บริเวณควบคุมด้านขวา								
				1 ชั่วโมง		24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง		72 ชั่วโมง		1 ชั่วโมง		24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง		72 ชั่วโมง		
				แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	
1	เมีย	2.2	หลัง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00		
		0		0		0		0		0		0		0		0				
2	ผู้	2.5	หลัง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00		
		0		0		0		0		0		0		0		0				
3	ผู้	2.4	หลัง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00		
		0		0		0		0		0		0		0		0				

ตารางที่ 4 ตัวอย่างการลงผลคะแนนความแดงและการบวมของผิวหนังกระต่ายที่บริเวณทดสอบ

กระต่าย				คะแนนความแดงและการบวมของผิวหนังกระต่าย หลังจากเอาผ้าก๊อชออก																PIS ของ กระต่าย แต่ละตัว
หมายเลข	เพศ	น้ำหนัก กิโลกรัม	บริเวณ	บริเวณควบคุมด้านซ้าย								บริเวณควบคุมด้านขวา								
				1 ชั่วโมง		24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง		72 ชั่วโมง		1 ชั่วโมง		24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง		72 ชั่วโมง		
				แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	แดง	บวม	
1	เมีย	2.2	ตอนบน	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1
				1		2		1		0		1		2		1		0		
2	ผู้	2.5	ตอนบน	1	1	2	1	1	1	0	0	1	1	2	1	1	1	0	0	1.67
				2		3		2		0		2		3		2		0		
3	ผู้	2.4	ตอนบน	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1.16
				2		2		1		0		2		2		2		0		

การคำนวณ PII จากตารางที่ 4

ตัวอย่างวิธีคำนวณ

$$\text{ค่า PIS ของกระต่ายหมายเลข 1} = \frac{2 + 1 + 0 + 2 + 1 + 0}{6} = \frac{6}{6} = 1$$

$$\text{ค่า PIS ของกระต่ายหมายเลข 2} = \frac{3 + 2 + 0 + 3 + 2 + 0}{6} = \frac{10}{6} = 1.67$$

$$\text{ค่า PIS ของกระต่ายหมายเลข 3} = \frac{2 + 1 + 0 + 2 + 2 + 0}{6} = \frac{7}{6} = 1.16$$

$$\text{ค่าดัชนีความระคายเคืองเบื้องต้น (PII) ต่อผิวหนัง} = \frac{1 + 1.67 + 1.16}{3} = 1.3$$

ผล

จากตัวอย่างทั้งสิ้น 173 ตัวอย่าง ระหว่างปีงบประมาณ 2555 – 2557 พบว่าในปีงบประมาณ 2555 มีตัวอย่างส่งตรวจรวม 45 ตัวอย่าง แบ่งเป็นเครื่องมือแพทย์ 11 ตัวอย่าง (24%) เครื่องสำอาง 26 ตัวอย่าง (58%) และวัตถุอันตราย 8 ตัวอย่าง (8%) พบว่ามีตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์ทั้งหมดรวม 13 ตัวอย่าง (19%) ส่วนในปีงบประมาณ 2556 มีตัวอย่างส่งตรวจรวม 66 ตัวอย่าง แบ่งเป็นเครื่องมือแพทย์ 21 ตัวอย่าง (32%) เครื่องสำอาง 26 ตัวอย่าง (40%) และวัตถุอันตราย 19 ตัวอย่าง (8%) พบว่ามีตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์ทั้งหมดรวม 5 ตัวอย่าง (7.5%) และในปีงบประมาณ 2557 มีตัวอย่างส่งตรวจรวม 62 ตัวอย่าง แบ่งเป็นเครื่องมือแพทย์ 26 ตัวอย่าง (42%) เครื่องสำอาง 34 ตัวอย่าง (55%) และวัตถุอันตราย 2 ตัวอย่าง (3%) พบว่ามีตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์ทั้งหมดรวม 8 ตัวอย่าง (13%) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบปีงบประมาณ 2555-2557 แยกตามชนิดสิ่งส่งตรวจ

ชนิดตัวอย่าง	ปีงบประมาณ 2555		ปีงบประมาณ 2556		ปีงบประมาณ 2557	
	จำนวนตัวอย่าง ที่ส่ง (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนตัวอย่าง ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนตัวอย่าง ที่ส่ง (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนตัวอย่าง ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนตัวอย่าง ที่ส่ง (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนตัวอย่าง ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ (เปอร์เซ็นต์)
เครื่องมือแพทย์	11 (24%)	1 (2%)	21 (32%)	0 (0%)	26 (42%)	0 (0%)
เครื่องสำอาง	26 (58%)	7 (16%)	26 (40%)	3 (4.5%)	34 (55%)	8 (13%)
วัตถุอันตราย	8 (18%)	5 (11%)	19 (28%)	2 (3%)	2 (3%)	0 (0%)
รวม	45 (100%)	13 (19%)	66 (100%)	5 (7.5%)	62 (100%)	8 (13%)

วิจารณ์

จากการทดสอบตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุขภาพได้แก่เครื่องมือแพทย์ เครื่องสำอาง และวัตถุอันตรายที่ใช้ในงานบ้านเรือนและสาธารณสุข โดยตัวอย่างมาจากบริษัทผู้ผลิตที่ผลิตสินค้าทั้งที่เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่จะออกสู่ตลาดจากมหาวิทยาลัยที่มีการผลิตนวัตกรรมใหม่ และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ที่เป็นคดีความจากการเข้าจับกุม การคุ้มครองสินค้าในตลาดหรือมีการร้องเรียนจากผู้บริโภค ซึ่งได้ส่งมาเพื่อตรวจสอบผ่านทางศูนย์รวมบริการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากข้อมูลระหว่างปีงบประมาณ 2555 – 2557 พบว่า เครื่องสำอางเป็นตัวอย่างที่มีการส่งตรวจมากที่สุดคือ ร้อยละ 50 ของตัวอย่างทั้งหมด และพบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานมากที่สุด รองลงมาเป็นตัวอย่างเครื่องมือแพทย์ ส่วนวัตถุอันตรายมีแนวโน้มลดลง

ห้องปฏิบัติการทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น กลุ่มสัตว์ทดลอง ได้รับมอบหมายให้ดำเนินการปฏิบัติงานตรวจตัวอย่างในสัตว์ทดลองตั้งแต่ปีงบประมาณ 2551 เป็นต้นมา และมีการปรับปรุงพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 จากสำนักมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ (สมป.) ในปี พ.ศ. 2557 อันจะเพิ่มความมั่นใจให้กับผู้รับบริการมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการตรวจผลิตภัณฑ์สุขภาพมีแนวโน้มในการนำเข้าและส่งออกเพิ่มขึ้น เนื่องจากในปี 2559 นี้ ทุกประเทศในกลุ่มอาเซียนจะเริ่มเปิดรับสินค้าระหว่างกันมากขึ้น ตามนโยบายของ AEC ซึ่งห้องทดสอบปัจจุบันมีจำกัด อาจต้องจัดหาห้องทดลองหรือพื้นที่ทดสอบสำหรับผลิตภัณฑ์สุขภาพดังกล่าวให้เพียงพอกับตัวอย่างที่จะเพิ่มขึ้นในอนาคต

ทั้งนี้เครื่องสำอางเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์สุขภาพลำดับแรกๆ ที่ประกาศการใช้ข้อตกลง อาเซียนอย่างเต็มรูปแบบเมื่อวันที่ 2 กันยายน 2551 และสมาชิกทั้ง 10 ประเทศ ได้จัดทำบัญญัติเครื่องสำอางอาเซียน (ASEAN

Cosmetic Directive) ซึ่งมีการศึกษาพบว่า ประเทศไทยมีกฎระเบียบที่สอดคล้องกับทบัญญัติเครื่องสำอางอาเซียนเป็นส่วนใหญ่โดยไม่ต้องปรับกฎหมายของประเทศในทันทีในหัวข้อ (1) คำจำกัดความและขอบข่ายเครื่องสำอาง (2) การแสดงสรรพคุณและการโฆษณา (3) หลักเกณฑ์และมาตรฐานในการผลิตที่ดี มีบางรายการที่ประเทศไทยได้ปรับแก้กฎหมายเพื่อให้สอดคล้องกับอาเซียนได้แก่ ในหัวข้อ (4) รายการสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง (5) ฉลากเครื่องสำอาง ทั้งนี้การนำทบัญญัติเครื่องสำอางอาเซียนมาใช้ในประเทศไทยไม่สามารถตัดลอก มาได้ทั้งหมดในรูปแบบและเนื้อหา หากแต่มีความจำเป็นต้องปรับให้สอดคล้องกับกฎหมายหลักเดิมที่มีอยู่ คือพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2539 ต่อไป⁽¹¹⁾ และในส่วนของเครื่องมือแพทย์ ได้จัดทำบัญญัติเครื่องมือแพทย์ (ASEAN Medical Device Directive) และลงนามไปเมื่อวันที่ 21 พ.ย. 2557 ซึ่งทุกประเทศเริ่มนำข้อบัญญัติดังกล่าวมาใช้เพื่อควบคุมการนำเข้า และส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์แล้วในปีที่ผ่านมา⁽¹²⁾ ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการถ่ายทอดความรู้ในเรื่องดังกล่าวแก่บริษัทผู้ผลิต หน่วยงานที่ตรวจสอบของไทย เพื่อให้สามารถปรับปรุง และทราบถึงกฎระเบียบที่เปลี่ยนแปลง อันจะช่วยลดปัญหาในการส่งออกนำเข้า เพื่อให้ผู้ประกอบการสามารถขยายตลาดส่งออกได้มากขึ้นในอนาคต

สรุป

จากข้อมูลการทดสอบพบว่า ตัวอย่างทั้งสิ้น 173 ตัวอย่าง ซึ่งเป็ตัวอย่างที่มีการส่งตรวจระหว่างปีงบประมาณ 2555 - 25557 เครื่องสำอางเป็นตัวอย่างที่มีการส่งตรวจมากที่สุด คือ 86 ตัวอย่าง (50%) รองลงมาคือ เครื่องมือแพทย์ 58 ตัวอย่าง (33%) และวัตถุดิบทราย (17%) ตามลำดับ โดยพบตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์รวม 26 ตัวอย่าง (15%) มากที่สุดคือเครื่องสำอาง 18 ตัวอย่าง (10%) รองลงมาคือ วัตถุดิบทราย 7 ตัวอย่าง (4.6%) และเครื่องมือแพทย์ น้อยที่สุด 1 ตัวอย่าง (0.04%)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักเครื่องสำอางและวัตถุดิบทราย ในการถ่ายทอดวิธีการทดสอบ การระคายเคืองเบื้องต้นในสัตว์ทดลอง เมื่อมีการส่งมอบภารกิจในปีงบประมาณ 2551 ซึ่งกลุ่มสัตว์ทดลอง สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ได้นำมาปรับใช้ในการทดสอบในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

1. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 4462 (พ.ศ. 2555) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. 2511 เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง: ข้อกำหนดทั่วไป. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 129 ตอนพิเศษ 185 ง (ลงวันที่ 7 ธันวาคม 2555).
2. มาตรา 4: เครื่องมือแพทย์. ใน: พระราชบัญญัติเครื่องมือแพทย์ พ.ศ. 2551. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนที่ 43 ก (ลงวันที่ 5 มีนาคม 2551). หน้า 26.
3. รายชื่อวัตถุดิบทรายในความรับผิดชอบของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 4 พ.ค. 2558]; [40 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://www.fda.moph.go.th/psiond/download/ailist/update_haz_list_1_8_FDA.pdf
4. วันทนี ช่วยหาญ และกนกวรรณ จารุกัจจ. การทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง. ว. เกษตรศาสตร์อีสาน 2556; 9(2): 1-11.
5. วรัญญา บุญชัย. แพ้เครื่องสำอาง. ภาควิชาตจวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 4 พ.ค. 2558]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/admin/article_files/1093_1.pdf

6. Molinari J, Eskes C, Andres E, Remoué N, Sá-Rocha VM, Hurtado SP, et al. Improved procedures for in vitro skin irritation testing of sticky and greasy natural botanicals. *Toxicol In Vitro* 2013; 27(1): 441–50.
7. Ishii S, Ishii K, Nakadate M, Yamasaki K. Correlation study in skin and eye irritation between rabbits and humans based on published literatures. *Food Chem Toxicol* 2013; 55: 596–601.
8. ISO 10993-10:2010, Biological evaluation of medical devices -- Part 10: Tests for irritation and skin sensitization. Geneva: International Organization for Standardization; 2010.
9. ISO 10993-12:2007, Biological evaluation of medical devices -- Part 12: Sample preparation and reference materials. Geneva: International Organization for Standardization; 2008.
10. OECD guideline for the testing of chemicals, Acute dermal irritation/corrosion 404. [online]. 2002; [cited 2015 May 4]; [13 screens]. Available from: URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/fedddocs/oecd/oecd404.pdf>
11. Jinachai N. An evaluation of Asean harmonized cosmetic regulatory scheme implementation in Thailand. Chulalongkorn University. [online]. 2014; [cited 2016 Feb 8]; [3 screens]. Available from: URL: <http://cuir.car.chula.ac.th/handle/123456789/45371>
12. อรัญญา คชชาญ. มาตรฐาน AHEEERR: โอกาสและความท้าทายผู้ประกอบการไทย. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 8 ก.พ. 2559]; [98 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.itd.or.th/wp-content/uploads/2015/08/3-PPT-AHEEERR-K.Arunya-K.Sathaporn.pdf>

Primary Skin Irritation Test in Laboratory Animal for Health Products

**Thicomporn Yamsaard Kingkan Tobngam Maskiet Boonyareth
and Somchai Sangkijporn**

National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Tivanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Skin irritation test in laboratory animals is general standard method in OECD Guideline. The other standards for skin irritation test are ISO 10993 for medical device and TIS 152-2012 for cosmetics. All three methods are recommended to use 3 New Zealand White rabbits for skin irritation test. The Laboratory Animal Center, National Institute of health, Department of Medical Sciences (DMSc.) has developed the skin irritation test for health products by medifying from these 3 standards methods. During the 2012-2014, fiscal year 170 samples were submitted from Thai FDA, the companies and universities through DMSc. one stop service center, There were medical devices 58 samples (34%); cosmetic products 86 samples (50%) and household chemical products 29 samples (16%). The result found that 26 samples (15%) which were 18 samples of cosmetic products (10%), 7 samples of household chemical products (4.6%) and one sample of medical devices (0.4%) irritated to the laboratory animal skin.

Key words: skin irritation test, laboratory animal, health product

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	Apichai Mongkol	Jureporn Boonyawongvirot
	Varunee Jinaratana	

Technical Advisor	Prasert Thongcharoen	Panadda Silva
	Amara Vongbuddhapitak	Mayura Kusum
	Jongdee Wongpinairat	Pimjai Naigowit
	Supatra Im-Erb	Sumol Pavittranon

Editor	Teeranart Jivapaisarnpong
---------------	---------------------------

Assistant Editor	Laojana Chowanadisai
-------------------------	----------------------

Editorial Board	Prasert Auewarakul	Orasa Suthienkul
	Pilaipan Puthavathana	Punnee Pitisuttithum
	Pintip Pongpech	Suchada Chaisawadi
	Danai Tiwawech	Suwanna Charunut
	Hansa Chaivanit	Pathom Sawanpanyalert
	Duanthanorm Promkhatkaew	Punthip Teeyapant
	Salakchit Chutipongvivate	Usavadee Thavara
	Busarawan Sriwanthana	Siri Srimanoroth
	Kanokporn Atisook	Wichuda Jariyapan
	Supanee Duangteraprecha	

Administration	Namfon Noiprasert
	Prasan Julwong

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	Aroonkarnphim Ltd., Part. 457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200 Tel. 0-2282-6033-4
-------------------	---



มุ่งมั่นพัฒนา คำนึงวิจัย ฉบับบริการ มาตรฐานสากล

www.dmsc.moph.go.th