

วารสาร



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 56 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2557 Vol. 56 No. 4 October - December 2014

ISSN 0125-684X

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ ที่ปรึกษาด้านบริหาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นพ.อภิชัย มงคล พญ.วารุณี จินารัตน์	นางจุรีภรณ์ บุญยวงศ์วิโรจน์ นพ.วันชัย ลัตยาวุฒิพงศ์
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	ภญ.อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์ ภญ.ดร.จงดี ว่องพินัยรัตน์ ภญ.สุภัทรา อัมเอิบ ดร.ปนัดดา ชิลวา	พญ.มยุรา กุสุมภ์ นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท ภญ.ดร.สุมล ปวีตรานนท์
บรรณาธิการ	สพญ.ดร.เยาวภา พงษ์สุวรรณ	
คณะบรรณาธิการ	ศ. ดร. นพ.สมชัย บวรกิตติ ศ. ดร.อรชา สุตเธียรกุล ดร.อารี ทัตติยพงศ์ นายศิริ ศรีมโนรณ นางกนกพร อธิสุข นายสุธน วงษ์ชีรี ดร.สุวรรณา เขียรอังกูร ดร.วิมล เพชรกาญจนพงศ์ ภญ.ดร.เจริญดี ปิงสุทธีวงศ์ ดร.อารีรัตน์ สง่าแสง	ศ. ดร. นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล ศ. ดร.พิไลพันธ์ พุฒินะ นางสาวจุไร โชติธนาทวิวงศ์ ดร.อุษาวดี ถาวร นางวิชชุดา จริยะพันธ์ นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชัย นางสิริภากร แสงกิจพร ดร.ประไพ วงศ์สินคงม่น ภญ.ดร.วลัยลักษณ์ เมธภัทร
เลขานุการ	นางไพรวรรณ บุญวงษ์	
ฝ่ายธุรการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ นางสาวประสาน จุลวงษ์	
กำหนดออก อัตราสมาชิก	ราย 3 เดือน 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 56 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2557

Vol. 56 No. 4 October - December 2014

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์สำหรับเอนไซม์ Streptokinase 171
โดยวิธี SDS-PAGE/Western Blot เพื่อทดแทนวิธีวิเคราะห์ตามเอนไซม์ตำรับ
บุญทริกา บุญญาภิวัฒน์ และญาณิกา รัตนสุวรรณ
- ประเมินวิธีตรวจหา HPV-16 DNA ด้วยวิธี Quantitative Real-Time PCR 184
สุขใจ ผลอำไพสถิตย์ พิไลลักษณ์ อัครไพบูลย์ โอภาตะ ถนนอมศิริ สุนทรธรรม
วรวรรณ ศิริชัย วีระ สุรเศรษฐวงศ์ สมรัตน์ เลิศมหาฤทธิ์ และสมชาย แสงกิจพร

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

- คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ 193
กรรณิกา จิตติยศรา และกัญญา พุกสุ่น
- การปนเปื้อนของพยาธิและการลดพยาธิในผักสดโดยการล้าง 205
ทงนพันธ์ สัจจปาละ กนกวรรณ ต้นสกุล และขันทอง เพ็ชรนอก
- ผลสัมฤทธิ์การดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ 213
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555
ธัญญ์นิธิ จันทร์เหลือง
- ดัชนีชื่อผู้พิมพ์ 221
- ดัชนีชื่อเรื่อง 225

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 56 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2557

Vol. 56 No. 4 October - December 2014

CONTENTS

Page

Original Articles

- Method Development for Identification of Streptokinase
in Pharmaceutical Formulation by SDS-PAGE/Western Blot
as an Alternative to Pharmacopoeia Method** 171

Boontarika Boonyapiwat and Yanika Rattanasuwan

- Validation of In-House HPV-16 DNA Quantitative Real-Time PCR
Testing** 184

Sukjai Pholampaisathit Pilailuk Aukapaiboon Okada

Thanomsiri Soontornthum Vorawan Sirchai

Veera Suraseraneewong Somrat Lertmahalit Somchai Sangkitporn

Laboratory Findings

- Quality and Safety of Local and Imported Natural Mineral Water** 193

Kannika Jittiyossara and Kanya Puksun

- Contamination and Reducing of Parasite in Fresh
Vegetables by Washing** 205

Tanongpan Satjapala Kanogwan Toonsakool and Kuntong Pednog

- Achievement of Laboratory Accreditation Program
from 2006-2012 of the Regional Medical Sciences Center 7th Khonkaen** 213

Tanniti Janlueang

- Author Index** 223

- Title Index** 227



บทบรรณาธิการ



สวัสดีท่านผู้อ่านทุกท่าน...วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 56 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2557 เป็นฉบับสุดท้ายของปีที่ 56 มีบทความที่น่าสนใจทั้งหมด 5 เรื่อง ได้แก่ นิพนธ์ต้นฉบับ “การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์สำหรับเอนไซม์ streptokinase โดยวิธี SDS-PAGE/Western Blot” โดย คุณบุณทริกา บุญญาภิวัฒน์ และคณะ ได้กล่าวถึงการพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ของเอนไซม์ streptokinase ที่ใช้ในการรักษาโรคหลอดเลือดอุดตัน ซึ่งมีราคาแพงและมีการลักลอบนำเข้าประเทศแบบผิดกฎหมาย นิพนธ์ต้นฉบับ “ประเมินวิธีการตรวจหา HPV-16 DNA ด้วยวิธี quantitative real-time PCR” โดย คุณสุขใจ ผลอำไพสถิตย์ และคณะ กล่าวถึงการประเมินวิธีการหาความไว ความจำเพาะ ของวิธีการตรวจ HPV-16 DNA โดยวิธี quantitative real-time PCR กับวิธีอ้างอิงมาตรฐานเพื่อนำมาใช้ตรวจตัวอย่างที่มีผลการตรวจกำกวมโดยวิธี Pap smear รายงานจากห้องปฏิบัติการ “คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ” โดย คุณกรรณิกา จิตติยศรา และคณะ ได้กล่าวถึงผลการสำรวจคุณภาพของน้ำแร่ธรรมชาติซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคในปัจจุบัน โดยรายงานถึงปริมาณแร่ธาตุที่กำหนดค่ามาตรฐาน เพราะเป็นอันตรายต่อสุขภาพ และแร่ธาตุที่ไม่กำหนดค่ามาตรฐานแต่จำเป็นสำหรับร่างกาย รายงานเรื่องถัดไป “สำรวจการปนเปื้อนของพยาธิและการลดพยาธิในผักสดโดยการล้าง” โดยคุณทองพันธ์ สัจจปาละ และคณะ เป็นการสำรวจการปนเปื้อนของพยาธิในผักสด 10 ชนิด ที่นิยมบริโภคสด และทดลองการลดการปนเปื้อนพยาธิในผักดังกล่าวโดยการล้างด้วยน้ำ 3 ชนิด คือ น้ำเปล่า น้ำผสมน้ำส้มสายชู และน้ำเกลือ เรื่องท้ายสุด “ผลสัมฤทธิ์การดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555” โดย คุณธัญญ์นิธิ จันทรเหลียง เป็นการรายงานผลการดำเนินงานเพื่อพัฒนาระบบบริการของห้องปฏิบัติการในเขตพื้นที่รับผิดชอบของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น โดยประเมินความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ จำนวนทั้งสิ้น 262 รายงานผลจาก 80 รายการทดสอบ รวมทั้งรายงานการวิเคราะห์ผลการดำเนินงานเปรียบเทียบกับผลการดำเนินงานในปีที่ผ่านมา

ขอขอบคุณผู้ทบทวนบทความ (reviewer) ทุกท่านที่ได้กรุณาให้ข้อเสนอแนะแก่ผู้เขียนบทความทั้งในฉบับนี้ และฉบับที่ผ่านมา ทำให้บทความที่ลงตีพิมพ์ในวารสารฯ มีความสมบูรณ์สามารถลงตีพิมพ์เผยแพร่เพื่อประโยชน์แก่ผู้อ่าน

สุดท้ายนี้ คณะบรรณาธิการหวังเป็นอย่างยิ่งว่าสาระความรู้ในวารสารเล่มนี้จะเป็นประโยชน์กับผู้อ่านตามวัตถุประสงค์ ท่านใดที่สนใจต้องการนำบทความตีพิมพ์ในวารสารฯ หรือต้องการให้คำแนะนำ คำติชมต่างๆ สามารถติดต่อเข้ามาได้ที่ สำนักจัดการความรู้และเทคโนโลยีวิทยาศาสตร์การแพทย์ อาคาร 3 ชั้น 2 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 โทรศัพท์ 0 2951 0000 ต่อ 99701, 99662

ดร.เยาวภา พงษ์สุวรรณ

บรรณาธิการ

Method Development for Identification of Streptokinase in Pharmaceutical Formulation by SDS-PAGE/Western Blot as an Alternative to Pharmacopoeia Method

Boontarika Boonyapiwat and Yanika Rattanasuwan

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

ABSTRACT Streptokinase is currently used for the treatment of thromboembolic blockages such as stroke. Due to its high price, illegal streptokinase has been found in pharmaceutical market. According to Drug Act of B.E. 2510 (1967), the punishment can be done if the object belonging to the culprit is proved as real medicine. Thus, the identification test of the drug is especially important for the investigation process. The identification method for streptokinase in pharmacopoeia requires the use of animal plasma; however, the reduction of animal usage in drug test by using alternative method is widely accepted in every corner of the world. Therefore, our study aimed to develop the identification test for streptokinase using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot as an alternative for pharmacopoeia method. Various factors including concentrations of primary and secondary antibodies, incubation period, and limit of detection (LOD) for streptokinase standard and streptokinase pharmaceutical formulation were validated. The optimal concentrations of primary and secondary antibodies were at 7.5×10^{-3} and 2×10^{-3} mg/ml, respectively. The incubation periods for both primary and secondary antibodies at 1 h provided the strongest signal. LOD values of streptokinase standard and streptokinase pharmaceutical formulation were at the concentrations of 0.5 and 20 IU/ml, respectively. The human albumin, which is used as stabilizer in the streptokinase pharmaceutical formulation, was not interfered with the test. The results of the study confirmed that the method is reliable and applicable for the identification of streptokinase in pharmaceutical formulation.

Accepted for publication, 17 October 2014

Introduction

Streptokinase (SK) consists of 415 amino acids in a polypeptide chain⁽¹⁾. SK is an extracellular protein and originally extracted from certain strains of beta hemolytic streptococcus^(1, 2). SK is a potent activator of plasminogen, an inactive precursor of plasmin, which degrades fibrin clot⁽³⁻⁶⁾ and currently used for the treatment of thromboembolic blockages including coronary thrombosis such as stroke and myocardial infarction^(7, 8). More than ten brands of SK products have been launched in the global pharmaceutical market⁽⁹⁾, while information from the Thai FDA website informs that there are two trademarks of SK products available in Thailand⁽¹⁰⁾. Due to its high price, illegal SK drug product has been reported in the pharmaceutical market and leads to prolong illness or possibly death. According to Drug Act of B.E. 2510 (1967), the punishment can be done if the illegally-imported object belonging to the culprit is proved as real medicine. Therefore, the identification test is a key milestone to prove the fictitious SK. However, the identification method for SK drug product by studying clot-lysis method in pharmacopoeia requires the animal plasma. The reduction of animal usage in drug test by using alternative method is widely accepted in every corner of the world. There were studies reporting the SK identification test using SDS-PAGE and gel clot methods^(11, 12). However, the SDS-PAGE is not specific for only SK as it detects all proteins in sample. The gel clot method needs the human plasma and thrombin and therefore the study requires the ethics approval, which usually takes time for consideration. Thus, our study aimed to develop an alternative identification test for SK, which reduces the use of animal in the experiment and also specific to SK in pharmaceutical formulation. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot (WB) has benefits as it requires small quantity of sample and does not need animal plasma. In addition, the use of specific antibody for reacting with SK by WB brings advantage for the identification test in term of specificity.

Materials and methods

1. Materials

Ultrapure water (Type I) was used throughout the study. Methanol, hydrochloric acid, orthophosphoric acid and acetic acid were from Carlo Erba Reagents (Rodano, Italy). Normal saline solution was from Thai Nakorn Patana Co., Ltd. (Nonthaburi, Thailand). Sodium chloride and human serum albumin was from Sigma (Buchs, Switzerland). Potassium chloride and glycerol were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Sodium dodecyl sulfate (SDS), bromophenol blue, glycine, 30% acrylamide/bis solution (37.5:1), ammonium persulfate, Tetramethylethylenediamine (TEMED), Tris (hydroxymethyl)-aminomethane (Tris), Tween-20 and nonfat dry milk (blotting-grade blocker) and Horseradish peroxidase (HRP) substrate kit were obtained from BioRad Laboratories (California, USA.). The silver staining kit was obtained from GE HealthcareBio Sciences AB (Uppsala, Sweden). Trichloroacetic acid was from Fluka (Steinheim, Germany). Sheep antiSK polyclonal antibody (primary antibody) and rabbit anti sheep IgG-H&L-HRP

antibody (secondary antibody) was from Abcam (Cambridge, UK). Protein marker (Molecular weight (MW) ranging from 12 to 225 kDa) was from GE Healthcare (Buckinghamshire, UK). The SK pharmaceutical formulation (Streptase[®]) was a generous gift from Sanofi-aventis (Thailand) Co., Ltd. SK standard was purchased from NIBSC (Hertfordshire, UK).

2. SDS-PAGE/Western blot

SDS-PAGE/WB is composed of two techniques, which base on the separation of proteins according to their sizes by SDS-PAGE and the use of antibody to react with a specific protein in sample by WB. SDS-PAGE/WB for SK was performed as follows:

2.1 SDS-PAGE

Resolving and stacking gels were prepared at the concentrations of 12.5 and 4% (w/v), respectively. The resolving gel mixture (1 gel) consisted of 4.125 ml of 30% acrylamide/bis solution (37.5:1), 2.5 ml of 2M Tris buffer at pH8.8, 3.375 ml of water, 50 µl of 10% (w/v) ammonium persulfate and 5 µl of TEMED. The stacking gel (1 gel) was composed of 1.32 ml of 30% acrylamide/bis solution (37.5:1), 2.5 ml of 2 M Tris buffer at pH 6.8, 6.1 ml of water, 50 µl of 10% (w/v) ammonium persulfate and 10 µl of TEMED. Loading buffer (10 ml) was composed of 3.1ml of Tris-HCl pH 6.8, 5 ml of glycerol, 0.5 ml of 1% (w/v) bromophenol blue and 1.4 ml of water. Running buffer was composed of 14.40 g of glycine and 3 g of Tris dissolving to the volume of water at 1000 ml. SK standard, SK pharmaceutical formulation and human albumin were dissolved and diluted with normal saline solution to obtain the required concentrations. The sample and loading buffer were then mixed at ratio of 4:1 before loading into gel. The gel was run in a chamber containing running buffer at 200 V until the dye front was about 5 mm from the bottom and the machine was stopped.

2.2 Western blot

The protein on the polyacrylamide gel was then transferred onto nitrocellulose membrane by using the Mini Trans-Blot[®] Electrophoretic Transfer Cell at 100 V for 1 h. The blotted nitrocellulose membrane containing SK was firstly incubated with primary and then secondary antibody. The immunoreactivity of antibody and specific protein was detected using the HRP substrate colorimetric detection kit.

3. Optimization of SDS-PAGE/Western Blot

The study of optimum concentration of antibody was performed using a cross-table method. The concentrations of primary antibody were investigated at 2.5×10^{-3} , 7.5×10^{-3} and 12.5×10^{-3} mg/ml, while concentrations of secondary antibody were evaluated at 5×10^{-4} , 2×10^{-3} and 3.5×10^{-3} mg/ml. Both primary and secondary antibodies were diluted with blocking buffer containing 5% (w/v) nonfat dry milk in Tris buffer saline to obtain the required concentrations. The incubation periods for primary and secondary antibodies were also examined at 30, 60 and 90 min.

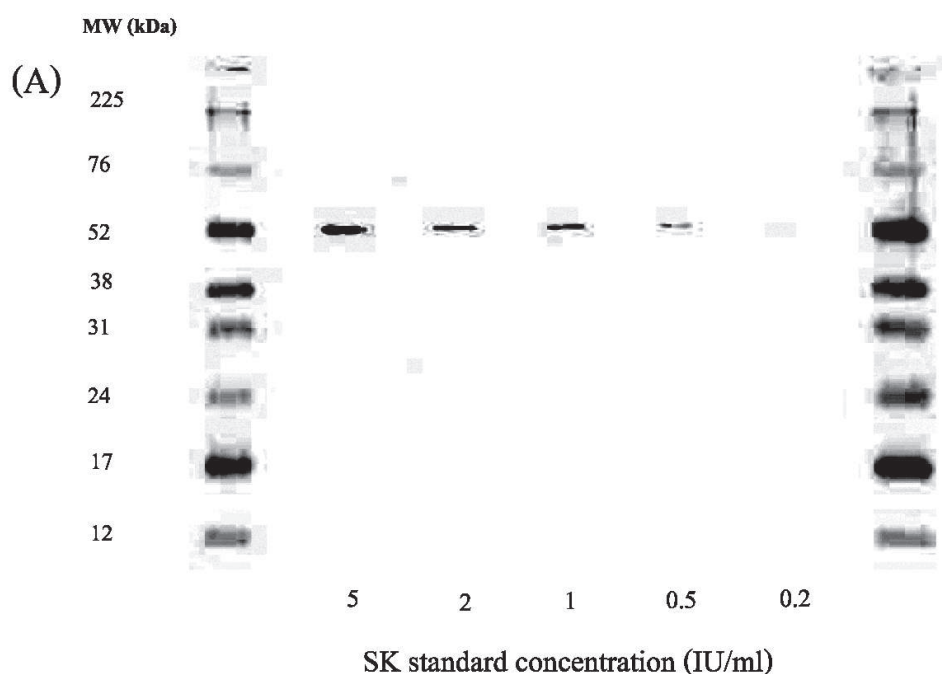
4. Validation of SDS-PAGE/Western Blot

The limit of detection (LOD) of SK standard and SK pharmaceutical formulation (Streptase®) was carried out at concentrations of 0.2-50 and 1-100 IU/ml, respectively. The specificity of the method was also performed by running SDS-PAGE/WB of SK standard (2 IU/ml), SK pharmaceutical formulation (100 IU/ml) and human albumin (negative control, 5 mg/ml) at the same time.

The precision of the SDS-PAGE/WB for the identification test of SK was investigated for three days consecutively. The concentrations of primary and secondary antibodies were used in the study at 7.5×10^{-3} and 2×10^{-3} mg/ml, respectively. The incubation periods of both primary and secondary antibodies were at 1 h. The concentrations of SK standard, SK pharmaceutical formulation and human albumin were performed at concentrations of 2 IU/ml, 100 IU/ml and 5 mg/ml, respectively. The study was detected by both WB and silver staining.

Results

The conditions for the identification of SK in pharmaceutical formulation using SDS-PAGE/WB were developed. The important factors affecting the method including the concentrations and incubation period of primary and secondary antibodies, and the interference of albumin in SK formulation were validated. The influences of primary and secondary antibody concentrations were shown in figure 1 and 2.



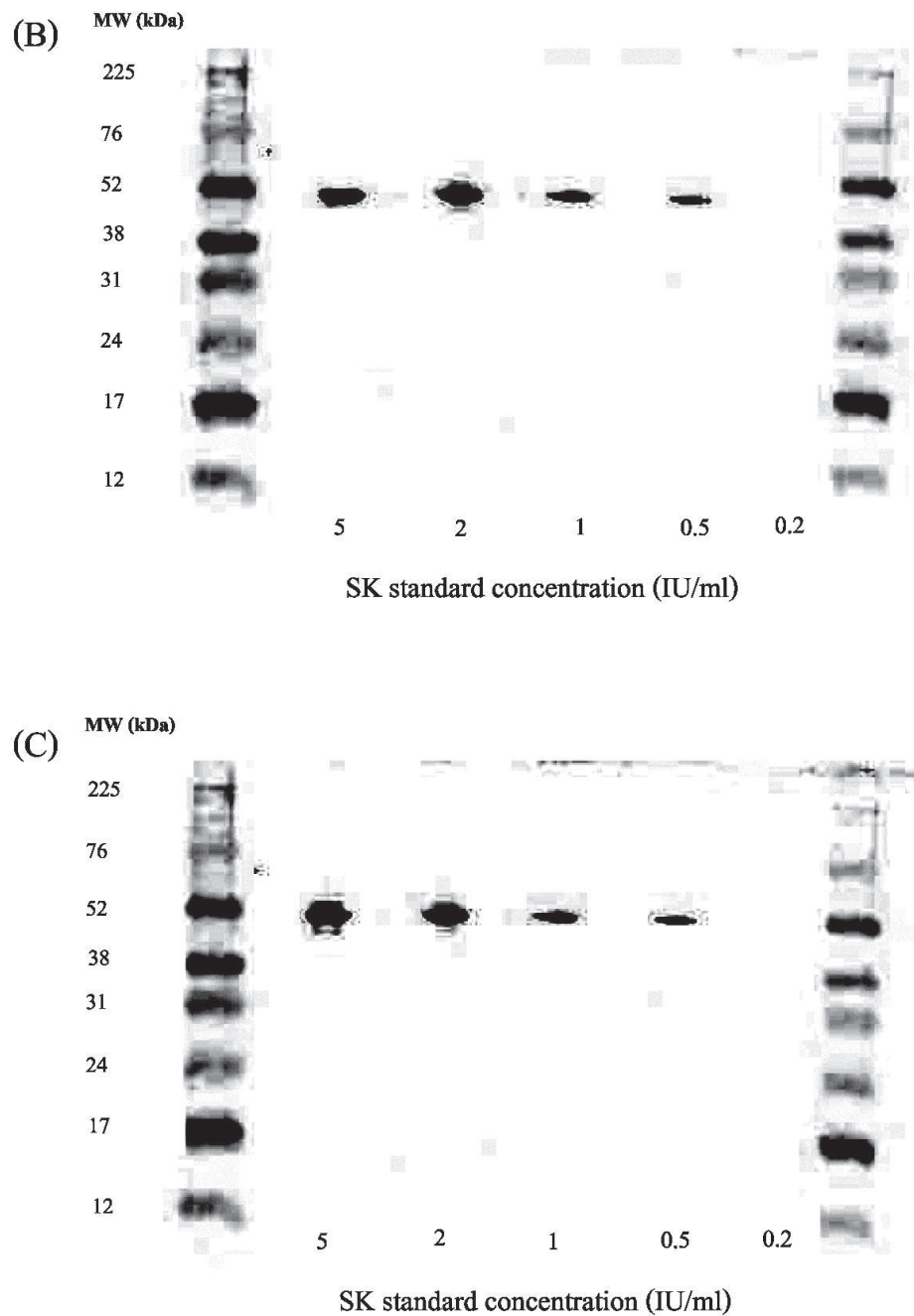


Figure 1 Determination of optimum concentration of primary antibody: (A) 2.5×10^{-3} mg/ml (B) 7.5×10^{-3} mg/ml and (C) 12.5×10^{-3} mg/ml. The incubation periods for both primary and secondary antibodies were 1 h. The concentration of secondary antibody was fixed at 2×10^{-3} mg/ml.

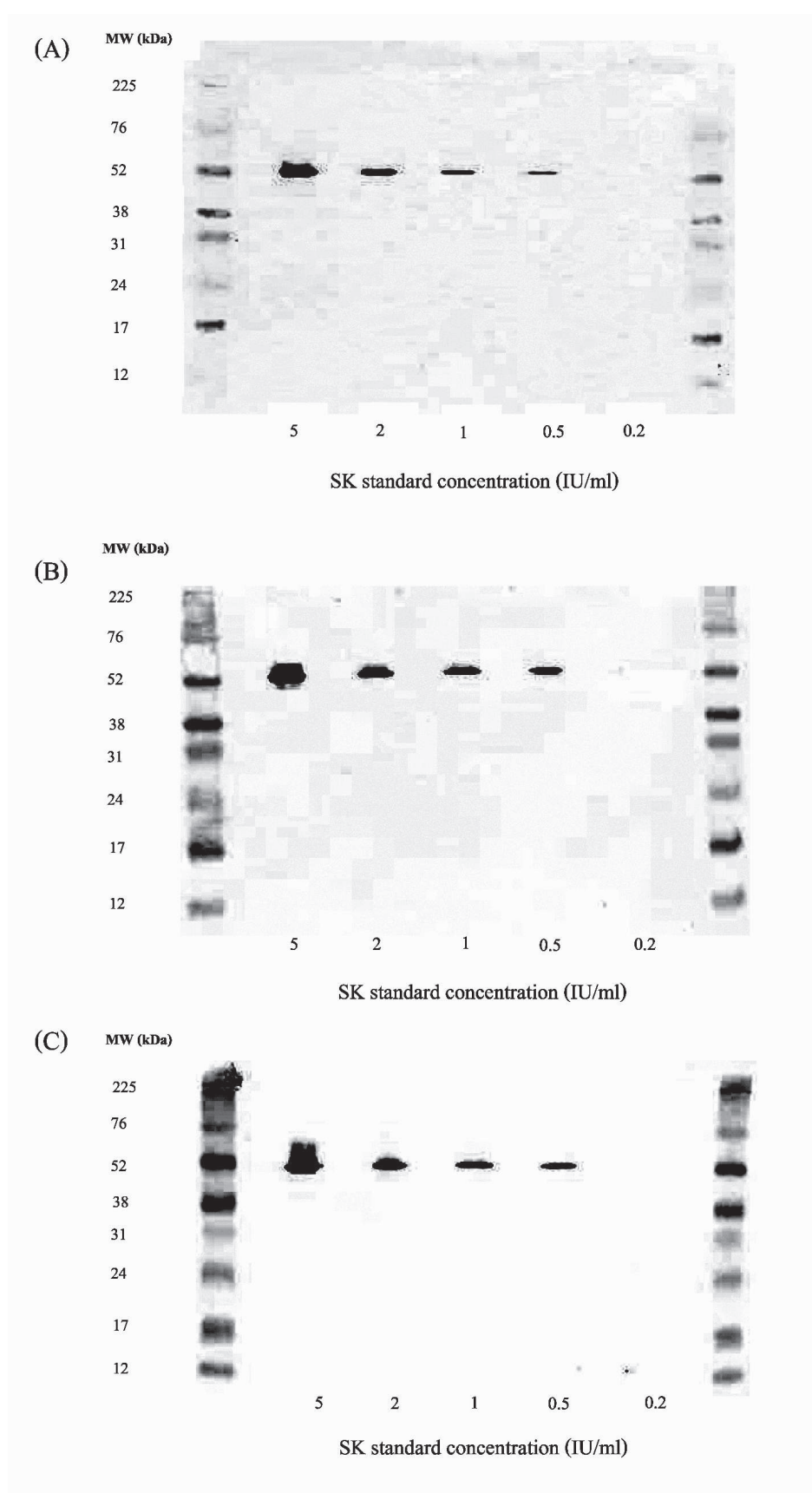


Figure 2 Determination of optimum concentration of secondary antibody: (A) 5×10^{-4} mg/ml (B) 2×10^{-3} mg/ml and (C) 3.5×10^{-3} mg/ml. The incubation periods for both primary and secondary antibodies were 1 h. The concentration of primary antibody was fixed at 7.5×10^{-3} mg/ml.

The effect of incubation periods for primary and secondary antibodies was demonstrated in figure 3 and 4, respectively.

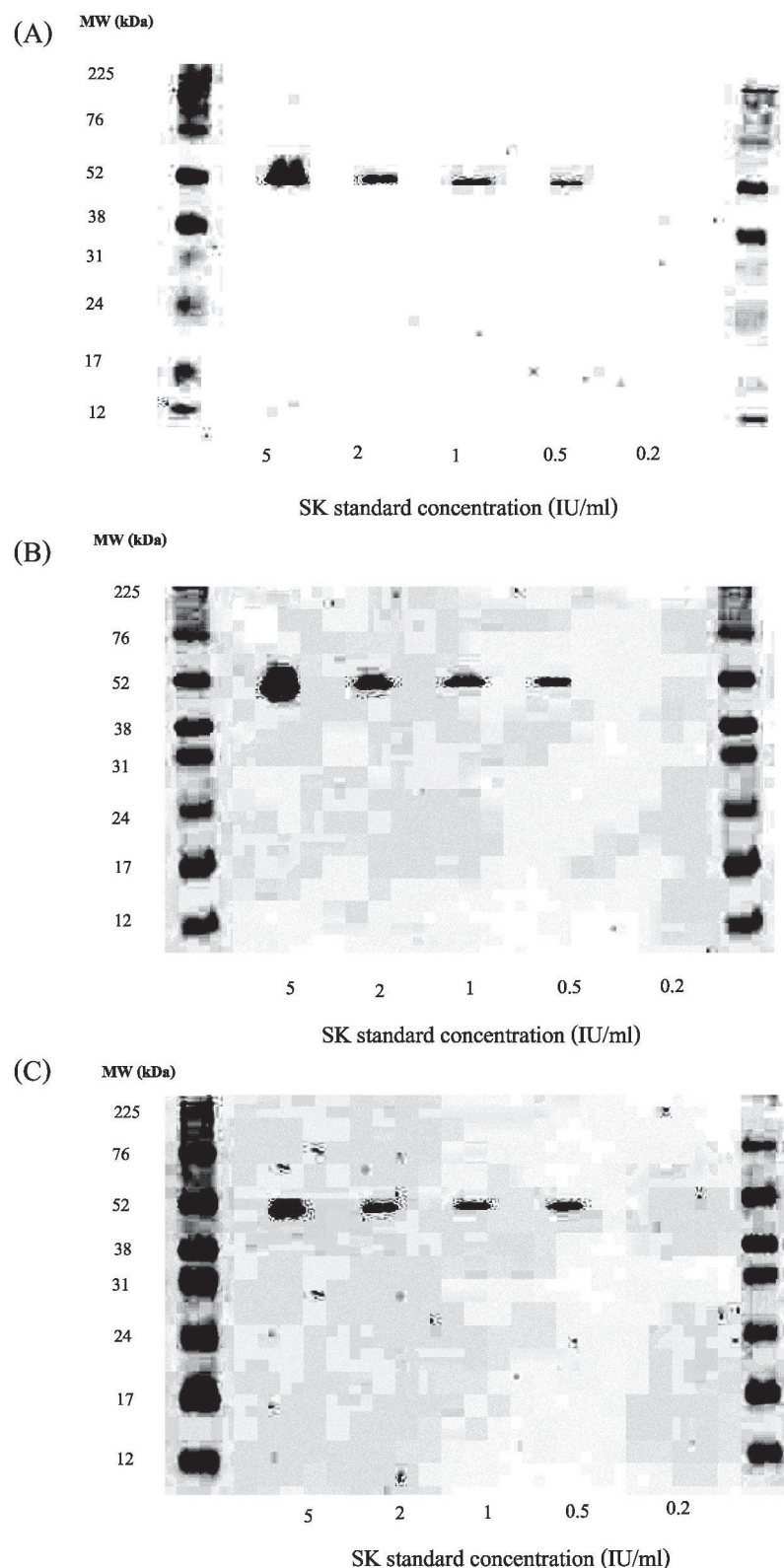


Figure 3 Determination of incubation period for primary antibody (A) 30 min, (B) 60 min and (C) 90 min. The concentrations of primary and secondary antibody were at 7.5×10^{-3} and 2×10^{-3} mg/ml, respectively.

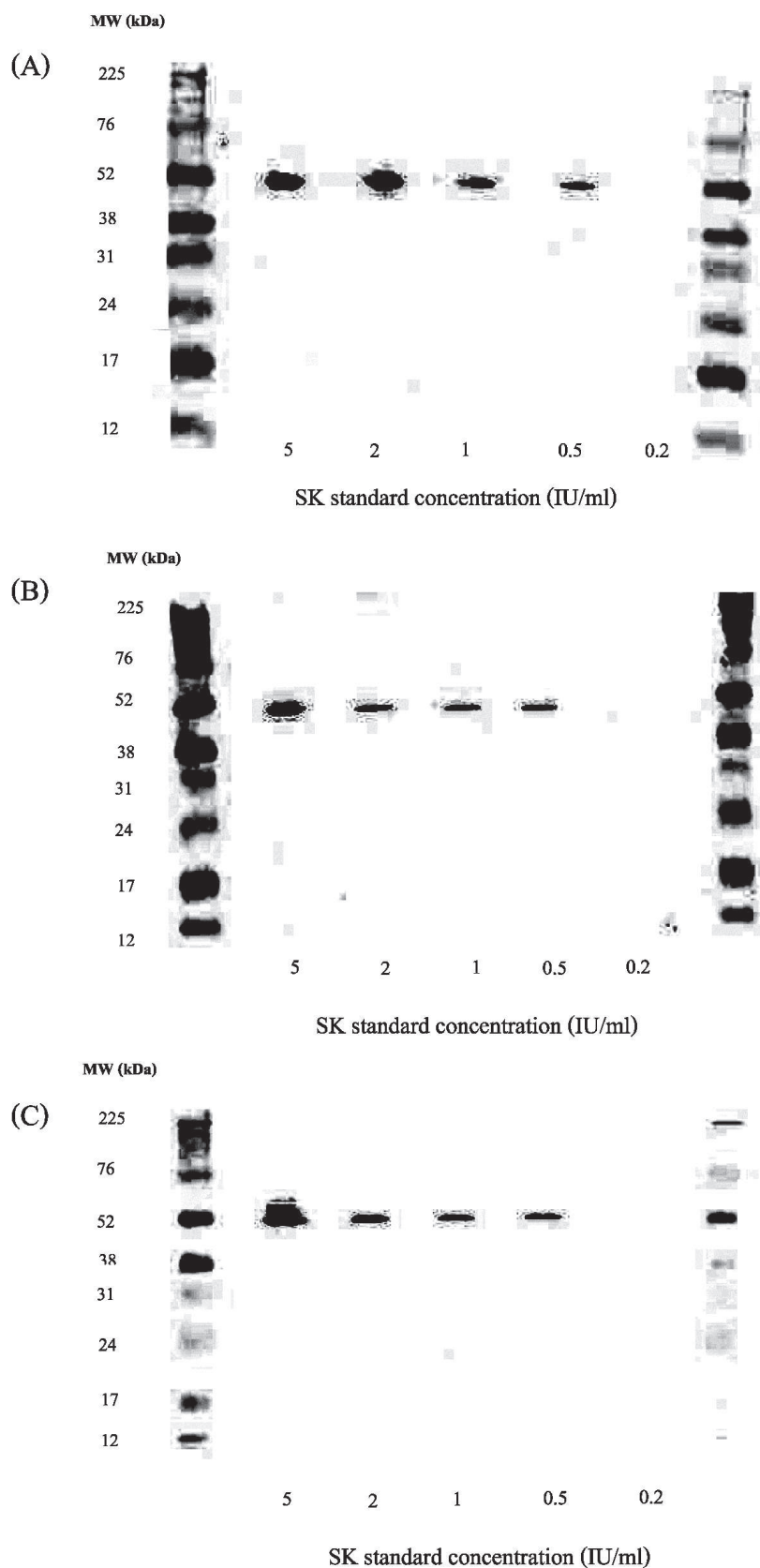


Figure 4 Determination of incubation period for secondary antibody:(A) 30 min, (B) 60 min and (C) 90 min. The concentrations of primary and secondary antibody were at 7.5×10^{-3} and 2×10^{-3} mg/ml, respectively.

The determination of LOD for SK standard (SD) and SK pharmaceutical formulation (Streptase[®], SP) was performed and the result was indicated in figure 5.

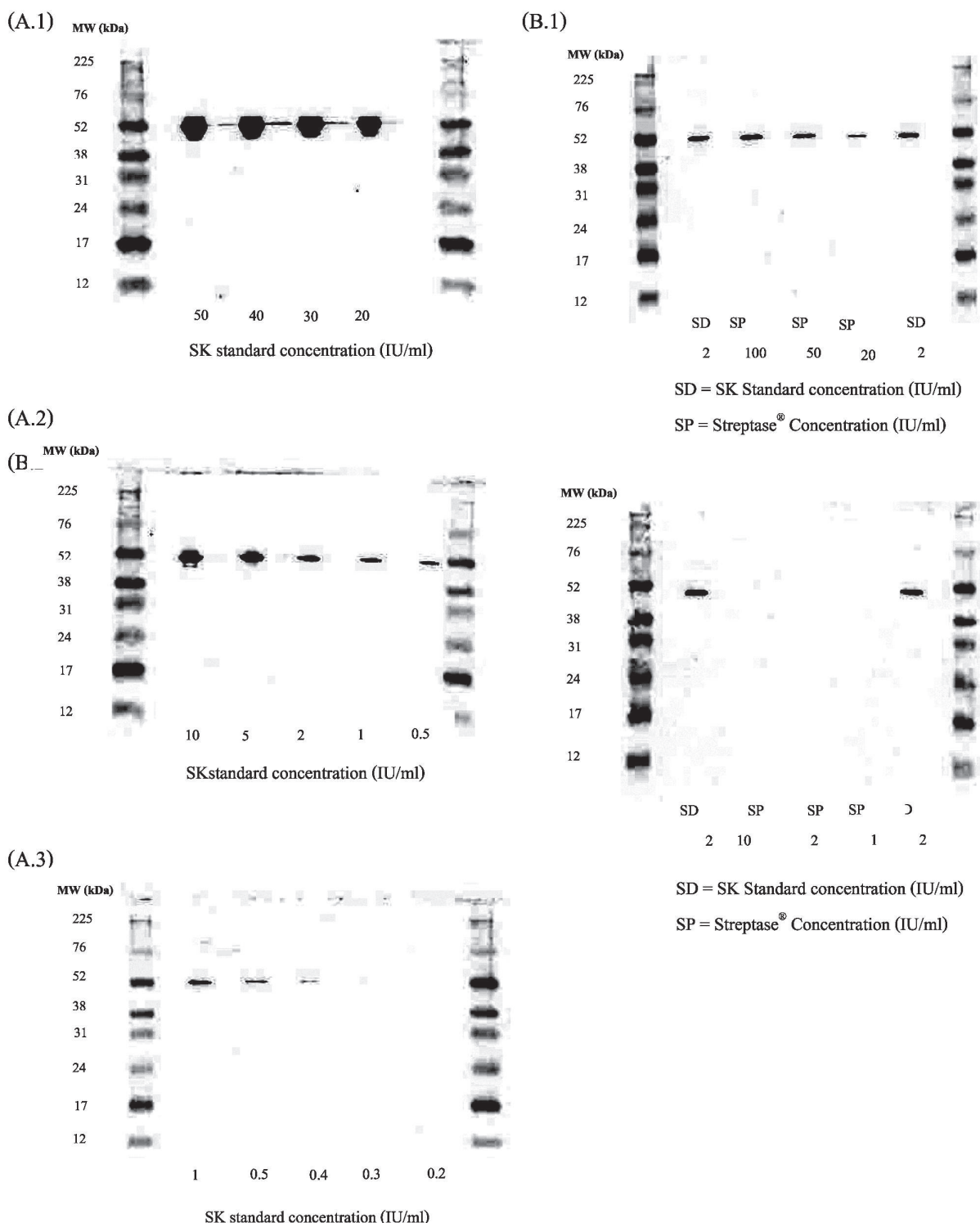
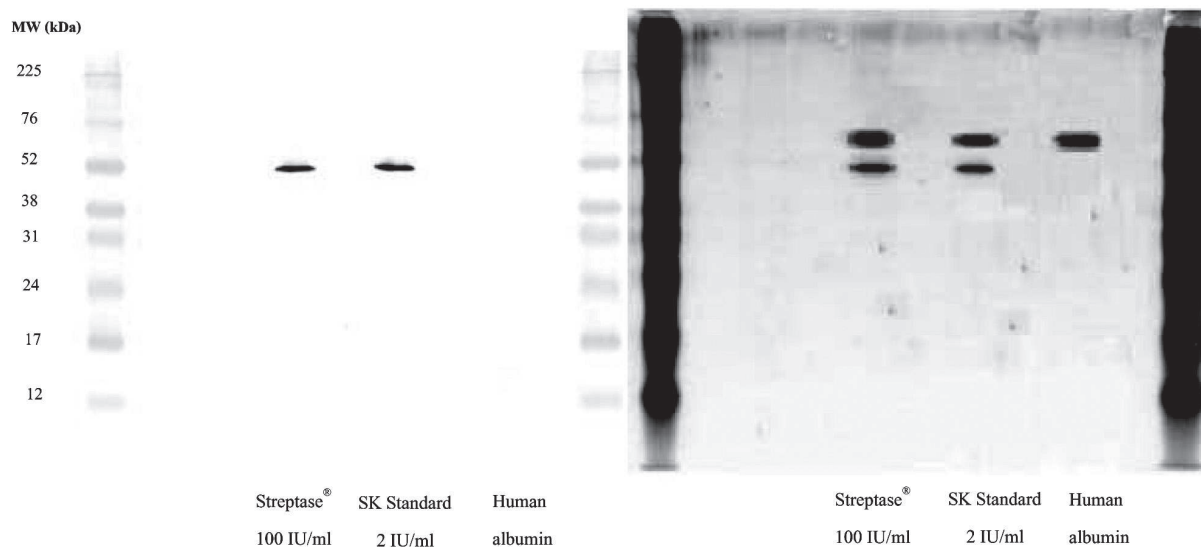


Figure 5 The study of LOD for SK standards (SD) and SK pharmaceutical formulation (Streptase[®], SP) was performed at concentrations of 0.2-50 IU/ml (A.1-A.3) and 1-100 IU/ml (B.1-B.2), respectively. The concentrations of primary and secondary antibodies were at 7.5×10^{-3} and 2×10^{-3} mg/ml, respectively. The 1 h incubation of both primary and secondary antibodies was used.

The SK standard, Streptase[®] and human albumin were run using SDS-PAGE/WB with the validated conditions and the result was determined in figure 6.

Figure 6



The precision study of all three consecutive days showed the same result as that in figure 6. It was found that there was no band of albumin detected by the WB, while the silver staining detected both human albumin and SK.

Discussion

The SK band was found at 47 kDa, which was in line with the study of Dubey and co-workers⁽¹³⁾. The study for the optimum concentration of primary antibody showed that the SK band was not clearly observed at concentration of 2.5×10^{-3} mg/ml, (Figure 1). On the other hand, the SK at the concentrations from 0.5 to 5 IU/ml was detected at primary antibody concentrations of 7.5×10^{-3} and 12.5×10^{-3} mg/ml; however, at these concentrations, SK standard at concentration of 0.2 IU/ml was not detected (Figure 1). The similar results were recognized using secondary antibody at concentrations of 5×10^{-4} , 2×10^{-3} and 3.5×10^{-3} mg/ml. The SK bands at concentrations from 0.5 to 5 IU/ml were obviously seen at the concentrations of 2×10^{-3} and 3.5×10^{-3} mg/ml but the concentration of SK at 0.2 IU/ml was not determined (Figure 2). Therefore, the optimal concentrations of primary and secondary antibodies for the identification of SK were at 7.5×10^{-3} and 2×10^{-3} mg/ml, respectively. It has been notified that the incubation period may affect the presence of protein on membrane⁽¹⁴⁾. This study proved that there was not much different in the appearance of SK bands using the incubation periods at 30, 60 and 90 min. However, the SK bands at the concentration of 0.5 IU/ml were clearer monitored using

incubation at 60 and 90 min for both primary and secondary antibodies (Figure 3 and 4). The incubation times of both primary and secondary antibodies for this study were chosen at 60 min. The study also demonstrated that the concentrations at 0.5 and 20 IU/ml were the LOD values of SK standard and SK in pharmaceutical formulation (Streptase[®], SP), respectively (Figure 5). The requirement of higher concentration of SP for the test was not surprised as the pharmaceutical formulation usually contains more ingredients than the standard and this might lead to lower sensitivity for the detection of SP than that of SK standard. It has been notified that two brands of SK products are available in Thailand. It was regret that we could obtain only one brand of SK product (Streptase[®]). As this drug is strictly used, it has to be prescribed only by physician and we cannot directly buy from the drug company. However, the searchable information found that the major protein components in both two brands are SK and human albumin. Therefore, it is important to ensure that human albumin used as stabilizer in the SK pharmaceutical formulation had no effect on the method. We performed the test using human albumin as negative control and the outcome showed that there was no band of albumin detected by the WB (Figure 6). Nevertheless, the albumin was observed by silverstaining (Figure 6). The study indicated that WB was more specific than silver staining, which detected every protein. The precision test showed the consistent results of all three consecutive days. This proved that the method is appropriate for the identification test of SK.

Conclusion

The SDS-PAGE/WB for identification of streptokinase has an advantage as it can reduce the use of animal plasma. In addition, the validated result proved that albumin in SK pharmaceutical formulation was not interfered with the test. The study concluded that the SDS-PAGE/WB for the identification test of SK in pharmaceutical formulation can be used as an alternative method for pharmacopeia, since the technique is specific and reliable.

References

1. Jackson KW, Tang J. Complete amino acid sequence of streptokinase and its homology with serine proteases. *Biochemistry* 1982; 21(26): 6620-25.
2. Castellino FJ, Sodetz JM, Brockway WJ, Siefring GE. Streptokinase. *Methods Enzymol* 1976; 45: 244-57.
3. Schick LA, Castellino FJ. Direct evidence for the generation of an active site in the plasminogen moiety of the streptokinase-human plasminogen activator complex. *Biochem Biophys Res Commun* 1974; 57: 47-54.
4. Mahmoudi S, Abtahi H, Bahador A, Mosayebi G, Salmanian AH. Production of recombinant streptokinase in *E. coli* and reactivity with immunized mice. *Pak J Biol Sci* 2010; 13: 380-4.
5. Babashamsi M, Razavian MH, Nejadmoghadam MR. Production and purification of streptokinase by protected affinity chromatography. *Avicenna J Med Biotechnol* 2009; 1: 47-51.

6. Karimi Z, Babashamsi M, Asqarani E, Niakan M, Salimi A. Fermentation, fractionation and purification of streptokinase by chemical reduction method. *Iran J Microbiol* 2011; 3(1): 42-6.
7. Banerjee A, Chisti Y, Banerjee UC. Streptokinase--a clinically useful thrombolytic agent. *Biotechnol Adv* 2004; 22(4): 287-307.
8. Erdogan S, Ozer AY, Volkan B, Caner B, Bilgili H. Thrombus localization by using streptokinase containing vesicular systems. *Drug Deliv* 2006; 13(4): 303-9.
9. Drug "Streptokinase" Price list. [online]. 2014; [5 screens]. Available from: URL: <http://www.medindia.net/drug-price/streptokinase.htm>
10. Streptokinase trade name in Thailand. [online]. 2014; [1 screens]. Available from: URL: <http://fdaolap.fda.moph.go.th/logistics/drgdrug/DSerch.asp>
11. Arun KKV, Pulak M. Development of bioassay for a therapeutic protein obtained from recombinant *Escherichia Coli*. *Int J Pharm Biomed Res* 2011; 2(5): 137-49.
12. Felsia XF, Vijayakumar R, Kalpana S. Production and partial purification of streptokinase from *Streptococcus pyogenes*. *J Biochem Tech* 2011; 3(3): 289-91.
13. Dubey R, Kumar J, Agrawala D, Char T, Pusp P. Isolation, production, purification, assay and characterization of fibrinolytic enzymes (Nattokinase, Streptokinase and Urokinase) from bacterial sources. *Afr J Biotechnol* 2011; 10(8): 1408-20.
14. Burnette WN. Western blotting: electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem* 1981; 112(2): 195-203.

การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์สำหรับเกล็ดเลือด Streptokinase โดยวิธี SDS-PAGE/Western Blot เพื่อทดแทนวิธีวิเคราะห์ตามเกล็ดเลือด

บุญทริกา บุญญาภิวัฒน์ และญานิกา รัตนสุวรรณ

สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ Streptokinase ใช้ในการรักษาโรคหลอดเลือดอุดตัน เช่น โรคหลอดเลือดสมองตีบตัน (Stroke) เนื่องจากในปัจจุบันยา streptokinase มีราคาสูง จึงมีการลักลอบนำเข้ามาใช้ในประเทศแบบผิดกฎหมายตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 บทลงโทษผู้กระทำความผิดจะทำได้เมื่อมีการพิสูจน์ได้ว่าของกลางคือยา ดังนั้นการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ยา streptokinase จึงมีความสำคัญในกระบวนการพิสูจน์หลักฐานวิธีการตรวจเอกลักษณ์ยา streptokinase ในเกล็ดเลือดจำเป็นต้องใช้พลาสมาจากสัตว์ทดลอง ซึ่งขัดแย้งกับการพยายามลดการใช้สัตว์ทดลองในการตรวจวิเคราะห์ยา ซึ่งปัจจุบันเป็นที่ยอมรับและถือปฏิบัติทั่วโลก การศึกษานี้จึงมีเป้าหมายในการพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ยา streptokinase โดยวิธี sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ร่วมกับวิธี Western Blot เพื่อทดแทนวิธีตามเกล็ดเลือดการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์มีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่มีผลต่อวิธีวิเคราะห์ เช่น ความเข้มข้นของแอนติบอดีทั้งชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิระยะเวลาการบ่ม และปริมาณต่ำสุดของ streptokinase ที่สามารถตรวจพบในสารมาตรฐานและในเกล็ดเลือด จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับแอนติบอดีชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิคือ 7.5×10^{-3} และ 2×10^{-3} mg/ml ตามลำดับ โดยมีระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มสำหรับแอนติบอดีทั้งสองชนิดที่ 1 ชั่วโมง ปริมาณ streptokinase ต่ำสุดที่ตรวจพบในสารมาตรฐานและในเกล็ดเลือดคือที่ความเข้มข้น 0.5 and 20 IU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้ในการศึกษาพบว่าอัลบูมินที่ใส่ในเกล็ดเลือดยา streptokinase เพื่อเป็นสารทำให้ตัวรับคงตัวไม่รบกวนวิธีวิเคราะห์ดังกล่าว ผลจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่เชื่อถือได้สามารถนำไปใช้ในการตรวจเอกลักษณ์ยา streptokinase ในเกล็ดเลือดได้

Validation of In-House HPV-16 DNA Quantitative Real-Time PCR Testing

Sukjai Pholampaisathit* Pilailuk Aukapaiboon Okada*
Thanomsiri Soontornthum** Vorawan Sirchai** Veera Suraseraneewong**
Somrat Lertmahalit*** and Somchai Sangkitporn*

*Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

**Bhumibol Adulyadej Hospital, Phahongothin Road, Bangkok 11220

***Chulalongkorn University, Phayathai Road, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand.

ABSTRACT Introduction: HPV is a causative agent of cervical cancer, and is the second leading cancer for Thai women after breast cancer. HPV-16 is the most common subtype associated cancer. Since cytology screening has become a problem that has a large number of borderline results, our purpose is to clinically validate the sensitivity and specificity of the in-house HPV-16 DNA quantitative real-time PCR assay test compared to a reference method, and validate its reliability in order to use it as a combined test for managing abnormal Pap smear samples and to determine if viral load is associated with the virulence of disease. Sixty five out-patients with borderline Pap smear results, from the ‘Gynecological Ward’ at Bhumipol Adulyadej hospital, Bangkok, Thailand, and 119 normal women presenting annual Pap smear screening were recruited for the study, between 2010 and 2012. All were determined by a colposcopy-directed biopsy as a reference method. The cervical scrape samples were taken to test for HPV DNA using a quantitative real-time PCR primer and specific probe for the L1 region of HPV DNA. The test was validated for clinical sensitivity and specificity, for the detection of HPV2 DNA in precancerous lesions ($\geq$ CIN2), and for its reliability. Out of 65 samples with borderline results, 45 cases were HPV-16 DNA positive (69.2%). Only 14/65 cases had precancerous lesions ($\geq$ CIN2). For clinical sensitivity, out of 14 of those cases, 12 patients were HPV-16 DNA detected (86%). For the clinical specificity of the test, in normal women; out of 96 normal women who were negative for colposcopy (without CIN2), 76 cases tested negative for HPV-16 DNA (80%). The viral load did not correlate to the virulence of disease. This test might be useful for health care practices as an adjunct to cytology follow-ups for women with borderline results.

Keywords: clinical sensitivity and specificity, HPV-16 DNA, in-house quantitative real-time PCR, Thai women, validation

Accepted for publication, 24 September 2014

Introduction

Cervical cancer is the second most common cancer amongst women worldwide⁽¹⁾. It is considered to be the second most common cancer amongst Thai women after breast cancer, with an aged standardized rate of 16.7 per 100,000 women per year⁽²⁾. HPV has been involved in 99.7% of cervical squamous cell cancers worldwide⁽³⁾. About 40 HPV types have been identified and are known to infect the mucosal epithelium. Only 10–15 types are associated with lesions (precancerous and cancerous lesions) that can progress to cancer, and of these HPV-16 is the most common subtype (60%). It was found that HPV-16 and/or -18 increases the risk of development of precancerous lesions also called cervical intraepithelial neoplasia (CIN), when clearly compared with the non-HPV-16/18 types^(4–5). If a high amount of HPV DNA is present in a cervical scrape then the viral load might be of value in predicting incidents of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN3)^(6–7).

At present, a standard screening program for cervical cancer has been implemented effectively across the country, using the cytology method or Pap smear. However, its methods show large false positives of up to 40% and false negatives at 5–14%^(8–10). Furthermore, an additional problem is that there are a large number of unclear Pap smear results with borderline results^(11–12), causing difficulty in patient management. Such Pap smear results are cytological in findings, thus distinguishing between the classes of: normal, abnormal (low grade or high grade squamous intraepithelial lesion, LSIL or HSIL) and inconclusive or borderline (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US). They will be tested for histology classification for a conclusion, which usually consist of precancerous lesions (CIN) based upon their severity; this is graded from CIN1 (mild dysplasia), CIN2 (moderate dysplasia) and CIN3 (severe dysplasia). LSIL generally corresponds to CIN1 and HSIL indicates CIN2 or CIN3.

A need to implement new technology is required more and more, as several studies have established testing for the presence of HPV DNA in cervical scrapes to be used for an adjunct or combined Pap smear test for triaging equivocal Pap smears, for the reason that positive HPV test results help distinguish patients who have unclear Pap tests to be closely followed-up^(13–15). Usually HPV testing is established to detect HPV infections that are associated with or develop into $\geq$ CIN2, or have sensitivity against CIN2 or worse ($\geq$ CIN2)⁽¹³⁾. Therefore, our purpose is to clinically validate the sensitivity and specificity of the in-house HPV-16 DNA quantitative real-time PCR assay test, compared to a colposcopy-directed biopsy as a reference method, and to validate the reliability of the test and evaluate if viral load can be associated with the virulence of precancerous lesions.

Materials and Methods

Materials

Cervical scrape samples were collected from 65 out-patients aged 35–60 years with borderline Pap test results, from the Gynecological Ward at Bhumibol Adulyadej hospital, Bangkok, Thailand, and also collected from 119 normal women aged 35–60 years who presented an annual Pap smear screening between 2010 and 2012. The study's proposal was approved by

the Institute Ethic Committee at the Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. All women were informed, and a written consent form was taken from all participants before participating in the study.

Methods

Study Design

All cervical samples were taken using quantitative HPV-16 DNA real-time PCR. Patients who had borderline Pap smear results has cervical scrapes collected for HPV- 16 DNA testing, and were examined at that time for colposcopy-directed biopsy. Normal women had cervical samples collected for Pap smear and HPV testing, and were examined at that time for colposcopy.

Preparation of Clinical Specimens for HPV Detection and Colposcopy Performance

Before applying acetic acid into the grey zone area for colposcopy examination, the cervical scrape samples were collected from patients using cotton swabs. The specimens were kept in a tube containing 1 ml of transport medium with swab sticks, and stored at -70°C until use. The patients were then examined via a colposcopy-directed biopsy as the reference method, and a biopsy was conducted in cases where the colposcopy results were positive. The clinical results were separated into three grades of precancerous lesion: CIN1, CIN2 and CIN3. The specimens were then extracted (Invisorb[®], Hoffmann, USA) to obtain their viral DNA.

HPV DNA Quantitative Real-time PCR Testing

The HPV DNA quantitative real-time PCR amplification reaction was developed by Mark van Duin *et al.*⁷, using a primer set designed for the L1 region of HPV DNA, and this was performed along with specific TaqMan probing. A real-time PCR reaction was set up by adding 5 ml of a sample DNA template in a 25 ml of reaction mix of: Primers, Probe, TaqMan Universal PCR Master mix, with UNG and distilled water. The amplification was then carried out (Applied Biosystem, Foster city, CA, USA).

A standard curve was set up for quantitating the viral load, by plotting the serial diluting known amounts of HPV-16 pBR 322 Plasmid DNA (NIBSC, WHO), which were 5, 50, 500, 5,000 and 50,000 duplicate copies (Fig.1); and this was performed in every run of detecting HPV DNA in the specimen, showing a slope = -3.189 $Y = 40.621$, $R^2 = 0.992$.

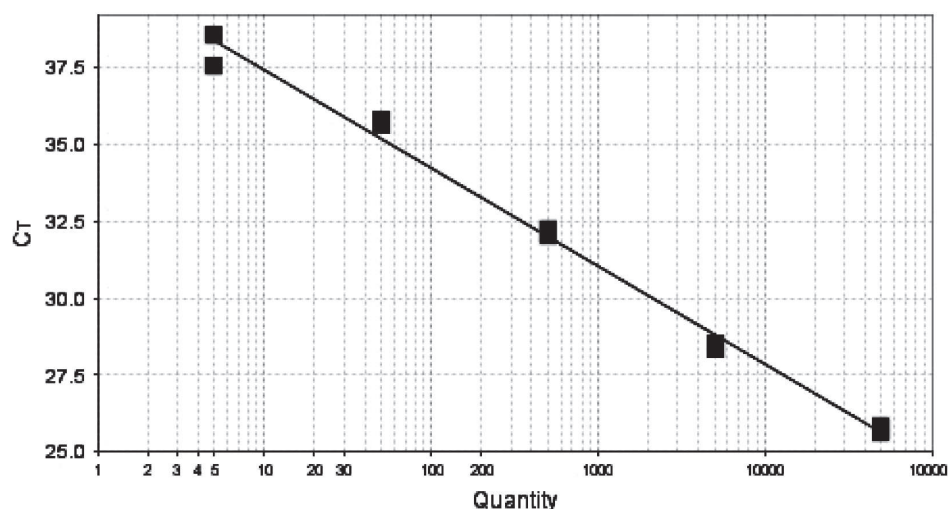


Figure 1 Standard curve plotting by the serial dilution of HPV 16 - plasmid DNA in every run for the quantitative viral load.

To control the DNA sample adequacy, the human β -globin gene was also amplified in a separate HPV reaction, by adding 5 μ l of a sample DNA template into a 25 μ l of reaction mix of β -globin primer⁷ and probe and Master mix, in the same fashion as the HPV DNA reaction mix was. A standard curve for quantitating the globin gene was also set up using human placental DNA ranging from 2, 20 and 200 fg.

For internal control, a positive control was set up using the known value of SiHA cell line containing 1-2 copies per cell, integrated with HPV-16 DNA dilution of 1:100 (approximately 7,500 copies), which served for accurate quantification of the HPV load, and which was included in every run of amplification.

Validation of the HPV DNA Quantitative Real-time PCR Testing

The clinical sensitivity and specificity of the test were determined for the detection of the confirmed pathological sign ($\geq$ CIN2), as the disease assessment by reference method for validity of the test⁽¹⁶⁾.

The HPV DNA test was verified using HPV-16 pBR322 plasmid DNA as a DNA template to measure the detection limit, the linearity, cross reactivity, reproducibility and repeatability. The detection limit was performed by making ten times dilution of the known amount of plasmid DNA from 50,000 - 5 copies. The reproducibility was performed by testing the plasmid DNA 1000 fg and 10 fg 5 times between runs, while the repeatability was completed intra-run by repeating those concentrations 5 samples at a time. The linearity of the test was determined by its regression coefficient of the standard curve included in every test run. For other microorganisms that colonize the genital tract, such as *Chlamydia trachomatis*, Herpes simplex virus 1-2 were tested for cross-reaction or analytical specifications.

Statistical Analysis

The clinical sensitivity and specificity were calculated using the 'Table 2 by 2 Method', and the 'Mann-Whitney' test was used to test the differences in viral load.

Results

Out of 65 cases of borderline results, 45 cases were HPV-16 DNA positive (69.2%). Only 14/65 cases had precancerous lesions ($\geq$ CIN2), or were positive for a colposcopy-directed biopsy (Table 1), whereas CIN1 had 11 cases whose symptoms were usually mild and disappeared without treatment.

Table 1 The amount of precancerous lesion and no lesion with HPV infection

HPV testing	No precancerous lesion	Precancerous lesion	
		CIN1	$\geq$ CIN2
Neg	15	3	2
Pos	25	8	12
total	40	11	14

For clinical sensitivity, out of the 14 $\geq$ CIN2 using the reference method, HPV-16 DNA was detected in 12 cases (86%) using in-house quantitative real-time PCR. For the specificity, out of 96 normal women with CIN2 negative by the reference method, 76 cases were negative (80%) for HPV-16 DNA (Table 2).

Table 2 Clinical sensitivity and specificity of the in-house real-time PCR for detecting HPV DNA 16

In-house HPV DNA testing	Reference test *		Total
	$\geq$ CIN 2	Normal	
positive	12	20	32
negative	2	76	78
total	14	96	110

*Reference test: colposcopy - directed biopsy

The verification of tests was examined. The detection limit was tested by calculating the genome equivalent to original viral load of 50,000 copies, and making a serial ten times dilution; the final dilution was detected at 5 copies/reaction. For reproducibility, the testing of five replicates of 10 and 1000 fg of HPV-16 pBR322 during the day (in 5-day testing) showed 5.21% CV and 11.89% CV, respectively. Repeatability of HPV-16 pBR322 detection of five replicates with 10 and 1000 fg intra-run (in a same day) showed 13.40% CV and 7.20% CV, respectively. Linearity was determined by the regression coefficient = 0.991-0.999. There was no cross-reactivity of Chlamydia trachomatis and Herpes simplex 1-2 in this method.

The specimens in this study were detected in ranges from 5 copies to more than 50,000 copies. There was no statistical significant difference ($p = .433$) in viral load between CIN 1 and $\geq$ CIN2 using the Mann-Whitney test (data not shown).

Discussion

This study showed clinical validation of the HPV-16 DNA real-time PCR testing in cervical scrapes in women aged 35–60, in order to help diagnose borderline Pap smear results. The sensitivity and specificity of this in-house testing was the first study in Thailand that was set up with patients with abnormal Pap smears and normal women who were confirmed with precancerous lesions using a colposcopy-directed biopsy as the reference method. According to the validation guidelines¹³, the HPV-16 PCR test results were compared to the end stage of disease ($\geq$ CIN2) by reference method, and showed a sensitivity of 86% in detecting disease, which correlates with a study of Tsiodras et al.⁽¹⁷⁾, whose sensitivity showed 80% detection of CIN2 and 100% of CIN3, which would imply 86% detection of $\geq$ CIN2. Furthermore, in seven other studies which conducted meta-analyses, their pooled sensitivity of the PCR system for CIN2+ was 80.9⁽¹⁵⁾ which was lower than our study. Additionally, another system of detection using ‘Hybrid Capture II’ showed a sensitivity of $\sim 90\%$.

However, for specificity our 80% result was quite low, considering others showed more than 90%. This could be a result of the different primers and the test performance used in the detection system. We also found that the HPV positive rate of normal colposcopy-confirmed women was 21% while another study⁽¹⁸⁾ showed 20% in normal cytology samples. This showed that the prevalence of HPV infection of the normal population was quite the same in different areas.

In our samples with borderline results, the HPV-16 positive rate was 69%, while the other showed 50%; hence, this was quite different from ours even though the detection included 11 types of HPV probe. This may be associated with the differences of abnormal smear samples studied.

The reproducibility and repeatability showed the data with no more than 15% CV considering the reliability of the assay. The viral load of the in-house real-time PCR test did not differentiate CIN1 from CIN2/3, which was quite similar to the results from the study of Schmitt et al.⁽¹⁹⁾ and Zerbini’s study 20, which showed that mean viral loads in LSIL and HSIL were not significantly different.

Conclusion

HPV infection was found in the majority of precancerous lesions population, and was associated with CIN2/3 and invasive cervical cancer. The clinical sensitivity and specificity of the tests against the disease displayed at 86% and 80%, respectively. This HPV-16 DNA real-time PCR test might be useful for health care practices as an adjunct to cytology follow-ups for women with borderline results.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. Somsak Laiwejpithaya from the Obstetrics Gynecological Cytology Unit, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital for providing transport medium, and Mr. Somchai Lokpichart from Bankrak Hospital for providing Chlamydia trachomatis.

References

1. WHO. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. [online] Sep 2013; [cited 2014 Oct 8]; [5 screens]. Available from: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>
2. KhuhapremaT, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sangrajrang S. Cancer in Thailand volume VII, 2007–2009. Bangkok: National Cancer Institute; 2013.
3. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsagou X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518–27.
4. Poljak M, Cuzick J, Kocjan BJ, Iftner T, Dillner J, Arbyn M. Nucleic acid tests for the detection of alpha human papillomaviruses. *Vaccine* 2012; 30(Suppl 5): F100–6.
5. Schutzbank TE, Ginocchio CC. Assessment of clinical and analytical performance characteristics of an HPV genotyping test. *Diagn Cytopathol* 2012; 40(4): 367–73.
6. Flannelly G, Jiang G, Anderson D, Melvin W, Mann E, Kitchener H. Serial quantitation of HPV 16 in the smears of women with mild and moderate dyskaryosis. *J Med Virol* 1995; 47: 6–9.
7. van Duin M, Snijders PJ, Schrijnemakers HF, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Nobbenhuis MA, et al. Human papillomavirus 16 load in normal and abnormal cervical scrapes: an indicator of CIN II/III and viral clearance. *Int J Cancer* 2002; 98(4): 590–5.
8. สาธนา ไตเจริญวานิช. การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก. *สงขลานครินทร์เวชสาร* 2545; 20(2): 137–49.
9. Linder J, Zahniser D. ThinPrep papanicolaou testing to reduce false-negative cervical cytology. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122(2): 139–44.
10. Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, et al. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA* 2002; 288(14): 1749–57.
11. Meijer CJ, Berkhof H, Heideman DA, Hesselink AT, Snijders PJ. Validation of high-risk HPV tests for primary cervical screening. *J Clin Virol* 2009; 46(Suppl 3): S1–4.
12. Bensal M, Li Z, Zhao C. Correlation of histopathologic/cytologic follow-up findings with vaginal ASC-US and ASC-H Papanicolaou test and HPV test results. *Am J Clin Pathol* 2012; 137(3): 437–43.
13. Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women of 30 years and older. *Int J Cancer* 2009; 124(3): 516–20.
14. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008; 26(Suppl 10): K29–41.

15. Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006; 24(Suppl 3): S78-89.
 16. Cuzick J, Terry G, Ho L, Hollingworth T, Anderson M. Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 1994; 69: 167-71.
 17. Tsiodras S, Georgoulakis J, Chranioti A, Voulgaris Z, Psyrri A, Tsivilika A, et al. Hybrid capture vs. PCR screening of cervical human papilloma virus infections. Cytological and histological associations in 1270 women. *BMC Cancer* 2010; 10: 53.
 18. Chaiwongkot A, Pientong C, Ekalaksananan T, Kongyingyoes B, Thinkhamrop J, Yuenyao P, et al. Evaluation of primers and PCR performance on HPV DNA screening in normal and low grade abnormal cervical cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2007; 8(2): 279-82.
 19. Schmitt M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Antoine J, Pawlita M, et al. Viral load of high-risk human papillomaviruses as reliable clinical predictor for the presence of cervical lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22(3): 406-14.
 20. Zerbini M, Venturoli S, Cricca M, Gallinella G, De Simone P, Costa S, et al. Distribution and viral load of type specific HPVs in different cervical lesions as detected by PCR-ELISA. *J Clin Pathol* 2001; 54(5): 377-80.
-

ประเมินวิธีการตรวจหา HPV-16 DNA ด้วยวิธี Quantitative Real-Time PCR

สุขใจ ผลอำไพสถิตย์* พิไลลักษณ์ อัครไพบูลย์ โอภาตะ* ถนอมศิริ สุนทรธรรม** วรวรรณ ศิริชัย**
วิระ สุระศรีวงศ์** สมรัตน์ เลิศมหาฤทธิ์*** และสมชาย แสงกิจพร*

*กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

** โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช ถนนพหลโยธิน กรุงเทพฯ 10220

***จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ ไวรัส HPV เป็นสาเหตุการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก จัดเป็นอันดับสองของโรคมะเร็งในหญิงไทย HPV-16 เป็นชนิดที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง ตรวจพบมากในคนไข้มะเร็งปากมดลูก การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก มักพบการรายงานผล Pap smear ผิดปกติ ผลกำกวม เป็นจำนวนมาก การศึกษานี้เป็นการประเมินวิธีหาความไว ความจำเพาะของวิธี เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงมาตรฐาน เพื่อใช้เป็นวิธีตรวจเพิ่มเติมในคนไข้ที่มีรายงานผลไม่ชัดเจน และปริมาณของไวรัสบอกความรุนแรงของโรคหรือไม่ ทำการเก็บตัวอย่างจากคนไข้ที่มีผลกำกวมด้วยวิธี Pap smear 65 ราย จากหน่วยนรีเวชกรรม โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช และหญิงปกติที่มารับการตรวจ Pap smear ประจำปี จำนวน 119 คน เข้าร่วมในการศึกษาระหว่างปี 2553 - 2555 ทุกคนจะได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธีอ้างอิงมาตรฐาน เก็บตัวอย่างเยื่อปากมดลูก ตรวจหา HPV-16 DNA ด้วยวิธี real-time PCR ใช้ primer ขยายปริมาณ DNA ใน L1 region และตรวจจับด้วย specific probe ประเมินหาความไว ความจำเพาะของวิธี ในการตรวจหา HPV-16 DNA ในรอยโรคก่อนมะเร็งระยะที่ 2 ($\geq$ CIN2) จากผลการศึกษาค้นคนไข้ที่มีผลแบบกำกวม 65 ราย มีผลบวกต่อ HPV-16 จำนวน 45 ราย (69.2%) พบ 14 ราย เป็นรอยโรคก่อนมะเร็งระยะที่ 2 ($\geq$ CIN2) แต่มีเพียง 12 ราย ที่มีผลบวกต่อ HPV-16 DNA ความไวของวิธี เป็น 86% (12/14) ในจำนวน 96/119 ราย ไม่พบเป็น CIN2 ด้วยวิธีอ้างอิงมาตรฐานและไม่พบการติดเชื้อ HPV ใน 76/96 ราย ความจำเพาะของวิธีเป็น 80% พบว่าปริมาณของไวรัสไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงโรค วิธีนี้มีประโยชน์ใช้ตรวจเพิ่มเติมเมื่อพบผล Pap smear ผิดปกติ เพื่อติดตามคนไข้

คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติ ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ

กรรณิกา จิตติยศรา และกัญญา พุกสุน

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ น้ำแร่ธรรมชาติคือน้ำที่ได้จากแหล่งน้ำใต้ดินที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ อุดมด้วยแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย มีปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ขึ้นกับแหล่งน้ำนั้น ๆ จัดเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานโดยกระทรวงสาธารณสุข มีผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดมากขึ้นทั้งที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศแสดงว่ามีผู้นิยมดื่มกันมากขึ้นในประเทศไทย ปกติบรรจุที่แหล่งกำเนิดแต่อาจปนเปื้อนจากธรรมชาติหรือจากโรงงานอุตสาหกรรม ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารได้ทำการศึกษาคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ที่จำหน่ายภายในประเทศไทย จำนวน 54 ตัวอย่าง เป็นน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ 21 ตัวอย่าง และที่นำเข้าจากต่างประเทศ 33 ตัวอย่าง ได้วิเคราะห์แร่ธาตุและแร่ธาตุที่ร่างกายต้องการในปริมาณน้อย 13 รายการ ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล สารหนู ไนเตรต และฟลูออไรด์ ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่กำหนดค่ามาตรฐานเพราะเป็นอันตรายต่อสุขภาพและแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม ซึ่งไม่กำหนดค่ามาตรฐานแต่จำเป็นสำหรับร่างกาย การตรวจวิเคราะห์ใช้เทคนิค atomic absorption spectrophotometry และ ion chromatography ผลการวิเคราะห์พบว่าร้อยละ 90.7 ของตัวอย่าง เป็นไปตามมาตรฐาน และร้อยละ 9.3 (5 ตัวอย่าง เป็นน้ำแร่ที่นำเข้า) ไม่เป็นไปตามมาตรฐาน เนื่องจากปริมาณแคดเมียมสูงเกินค่ามาตรฐาน 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทดสอบด้วยสถิติ Pearson Chi-Square และ Fisher Exact Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าจำนวนตัวอย่างที่พบตะกั่ว แคดเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล และสารหนู ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศไม่แตกต่างกัน สำหรับโครเมียม และไนเตรต พบในตัวอย่างน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศมากกว่าน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ เมื่อทดสอบด้วยสถิติ Mann-Whitney U ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศมีแคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำกว่า แต่มีโซเดียมสูงกว่า สำหรับโพแทสเซียมไม่แตกต่างกัน สรุปว่าคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศเป็นไปตามมาตรฐาน สำหรับแคดเมียมยังคงต้องเฝ้าระวังโดยเฉพาะน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคและสนับสนุนการบังคับใช้ให้เป็นไปตามกฎหมาย

บทนำ

ปัจจุบันนอกจากน้ำดื่มบรรจุขวดแล้ว น้ำแร่ธรรมชาติก็ได้รับความนิยมสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเช่นกัน ดังจะเห็นได้จากน้ำแร่บรรจุขวดทั้งที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ มีวางจำหน่ายมากขึ้น น้ำแร่ธรรมชาติมีความแตกต่างจากน้ำดื่มบรรจุขวดทั่วไปคือ น้ำแร่ธรรมชาติต้องผลิตจากแหล่งน้ำใต้ดินที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติมีแร่ธาตุต่างๆ อยู่ตามคุณสมบัติของแหล่งน้ำนั้น มีความปลอดภัยทางด้านจุลชีววิทยาโดยไม่ต้องผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อโรคแต่อาจผ่านกรรมวิธีบางอย่างก่อนการบรรจุ เช่น ปรับปริมาณก๊าซหรือกำจัดสารประกอบที่ไม่คงตัว เช่น สารประกอบเหล็ก แมงกานีส สารหนู เป็นต้น ทั้งนี้ต้องไม่ทำให้สารประกอบที่สำคัญในน้ำแร่ธรรมชาติเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้การผลิตและการบรรจุต้องทำภายในบริเวณแหล่งน้ำเท่านั้น น้ำแร่ธรรมชาติในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทจัดเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข โดยมีเกณฑ์กำหนดสำหรับแร่ธาตุหลายชนิดเพื่อมิให้เป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น ทองแดง แมงกานีส สารหนู แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว ไนเตรต และนิเกิล เป็นต้น สำหรับฟลูออไรด์ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาตินั้น มีการกำหนดให้แสดงค่าเตือนบนฉลาก ถ้ามีฟลูออไรด์มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อน้ำแร่ธรรมชาติ 1 ลิตร^(1, 2)

น้ำแร่ธรรมชาติ ประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ มากมาย นอกจากแร่ธาตุแล้วอาจมีการปนเปื้อนของโลหะหนัก โลหะเป็นพิษ เช่น ตะกั่ว แคดเมียม สารหนู และไนเตรต เป็นแร่ธาตุที่มีอันตรายต่อร่างกาย พบได้ในน้ำโดยมีตามธรรมชาติหรือจากการปนเปื้อนทางสิ่งแวดล้อม อุตสาหกรรม และการเกษตร สามารถเข้าสู่ร่างกายทางอาหาร น้ำ ลมหายใจ และผิวหนัง พิษของตะกั่วเมื่อเข้าสู่ร่างกายในปริมาณสูงทำให้คลื่นไส้ อาเจียน มีอาการทางประสาทและกล้ามเนื้อ ร่างกายสามารถขับตะกั่วได้เพียงเล็กน้อยส่วนที่เหลือจะถูกสะสมไว้ที่กระดูก ตับ และไต เด็กสามารถดูดซึมพิษของตะกั่วได้มากกว่าผู้ใหญ่ และหากได้รับพิษเป็นเวลานานจะมีผลทำให้พัฒนาการทางสมองช้ากว่าเด็กในวัยเดียวกัน⁽³⁾ แคดเมียมและสารหนูจัดเป็นสารพิษร้ายแรงมีรายงานว่าเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง⁽³⁾ แคดเมียมเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมในกระเพาะอาหาร แล้วแพร่กระจายไปที่ตับ ม้าม และลำไส้ ถ้าได้รับปริมาณต่ำๆ เป็นระยะเวลานานสามารถเข้าไปสะสมและทำลายไต ถ้าสะสมเพิ่มขึ้นในปริมาณสูงจะทำให้เกิดมะเร็ง ไตทำงานผิดปกติ และรบกวนการทำงานของแคลเซียมในกระดูกทำให้กระดูกอ่อนแอและแตกง่าย⁽⁴⁾ สารหนูปริมาณมากจะทำลายระบบสมอง ทำลายตับ และเซลล์ต่างๆ ในร่างกายทำให้ตายได้⁽⁵⁾ ถ้าร่างกายได้รับสารหนูในวัยเด็กเป็นระยะเวลานานมีผลต่อพัฒนาการสมองทำให้ IQ ต่ำ⁽⁶⁾ ไนเตรตมีผลกระทบต่อร่างกายเมื่อมีการเปลี่ยนรูปไปเป็นไนไตรท์ ไนไตรท์จะเข้าไปในเม็ดเลือดแดงและไปจับตัวกับ hemoglobin ได้ methemoglobin ซึ่งปล่อยออกซิเจนสู่เซลล์ได้ไม่ดีเท่า hemoglobin โดยเฉพาะในวัยทารก enzyme ที่จะเปลี่ยน methemoglobin ไปเป็น hemoglobin มีน้อยมาก ถ้าร่างกายขาดออกซิเจนเป็นเวลานานทำให้ตัวเขียว หายใจลำบากอัตราการเต้นของหัวใจจะเร็วขึ้น ร่างกายอ่อนเพลียและถึงตายได้⁽³⁾ โครเมียม นิเกิล แมงกานีส ทองแดง และฟลูออไรด์ เป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายแต่ต้องการในปริมาณน้อยกว่าวันละ 100 มิลลิกรัมต่อวัน หรือน้อยกว่า 0.01% ของน้ำหนักตัว⁽⁶⁾ ถ้ามีมากเกินไปจะสะสมอยู่ในร่างกายและบางส่วนจะถูกขับออก โครเมียม ช่วยรักษาปริมาณน้ำตาลในร่างกายให้คงที่ กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นพลังงาน ถ้าได้รับมากเกินไปเป็นเวลานานจะทำให้เซลล์ DNA ถูกทำลาย⁽⁷⁾ นิเกิลช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์บางชนิดถ้ามากเกินไปจะทำให้กล้ามเนื้อหัวใจตาย หน้ามืดเป็นลม เสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งปากมดลูก เป็นพิษกับหญิงมีครรภ์⁽⁸⁾ พิษของทองแดงทำให้คลื่นเหียนอาเจียน เกิดการอักเสบในช่องท้องและกล้ามเนื้อ ก่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและอาจส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางจิต ทองแดงปริมาณสูงจะทำให้แมกนีเซียมที่สะสมในร่างกายลดลงเกิดภาวะกระดูกพรุนและแตก⁽⁹⁾ แมงกานีสเป็นแร่ธาตุที่มีความเป็นพิษน้อยกว่าแร่ธาตุอื่นๆ เช่น นิเกิล ทองแดง เป็นต้น แต่การได้รับแมงกานีสมากเกินไปจะไปขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุ เช่น เหล็ก⁽¹⁰⁾ ฟลูออไรด์ถูกดูดซึมได้ทันทีในระบบทางเดินอาหารและจะถูกดูดซึมที่กระเพาะอาหารเข้าสู่กระแสเลือดกระจายไปกระดูกและฟัน ถ้าได้รับเป็นเวลานานจะเกิดความเป็นพิษเรื้อรังเรียกว่า “fluorosis” ซึ่งเกิดขึ้นได้ในเด็กและผู้ใหญ่⁽¹¹⁾

สำหรับแร่ธาตุอื่นที่มักพบในน้ำแร่ธรรมชาติ แต่ไม่ได้มีการกำหนดค่ามาตรฐานไว้ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียมและโพแทสเซียม ซึ่งจัดเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย⁽⁶⁾

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณของแร่ธาตุเหล่านี้ส่วนใหญ่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค atomic absorption spectrophotometer (AAS) หรือ induced coupled plasma (ICP) ยกเว้นไนเตรต และฟลูออไรด์ซึ่งต้องใช้เทคนิคอื่น เช่น ion chromatography (IC), ion selective electrode (ISE) เป็นต้น⁽¹²⁾

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำเสนอแก่สาธารณะ เพื่อประกอบการพิจารณาเลือกซื้อ เป็นการคุ้มครองผู้บริโภค และสามารถใช้อ้างอิงเป็นแนวทางในการปรับปรุงน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ ตั้งแต่การเลือกแหล่งน้ำแร่ กระบวนการผลิต ให้มีความเหมาะสม และเป็นข้อมูลในการปรับปรุงมาตรฐานน้ำแร่ธรรมชาติของประเทศต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างน้ำแร่ธรรมชาติ

น้ำแร่ธรรมชาติ ซึ่งมีเครื่องหมายการค้าแตกต่างกัน จำนวน 54 ตัวอย่าง เป็นน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ 21 ตัวอย่าง และนำเข้าจากต่างประเทศ 33 ตัวอย่าง สำหรับน้ำแร่ในประเทศผลิตจากแหล่งน้ำแร่ในจังหวัดต่าง ๆ 10 จังหวัด ได้แก่ พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี กาญจนบุรี สิงห์บุรี เชียงใหม่ เชียงราย สุราษฎร์ธานี ระนอง บุรีรัมย์ และตาก น้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศผลิตจากประเทศต่าง ๆ 14 ประเทศ ได้แก่ ฝรั่งเศส เยอรมนี อิตาลี ญี่ปุ่น ไต้หวัน ไชล์แลนด์ สโลวีเนีย อังกฤษ นอร์เวย์ ออสเตรีย อินโดนีเซีย เกาหลี แคนาดา และสเปน ทำการวิเคราะห์ในปีงบประมาณ 2556

เครื่องมือและอุปกรณ์

Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS): Analytik Jena รุ่น 650 s (Graphite Furnace และ Hydride Generation) พร้อมด้วย hollow cathode lamp ของตะกั่วและสารหนู

Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS): Varian รุ่น 240 (Flame) พร้อมด้วย hollow cathode lamp หรือ multi element lamps ของแคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม

Ion Chromatography (IC): Dionex รุ่น DX 500 พร้อมด้วย conductivity detector

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารเคมี (AR): nitric acid, hydrochloric acid, sodium hydroxide, sodium borohydride, potassium iodide, ascorbic acid, น้ำปราศจากไอออน

สารมาตรฐาน : สารละลายมาตรฐานตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล สารหนู แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม ไนเตรต และฟลูออไรด์ความเข้มข้นชนิดละ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีคุณสมบัติสามารถสอบกลับได้ (traceable to CRM)

วิธีวิเคราะห์

วิเคราะห์ตาม Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd Edition. American Public Health Association, Washington DC⁽¹²⁾(APHA) ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุตะกั่ว ปฏิบัติตาม APHA (3113 B), สารหนู ปฏิบัติตาม APHA (3114 C), แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียมปฏิบัติตาม APHA (3111 B),

ไนเตรตและฟลูออไรด์ปฏิบัติตาม APHA (4110 B) วิเคราะห์เหล่านี้ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีโดยมีคุณลักษณะเฉพาะที่สำคัญ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณลักษณะเฉพาะที่สำคัญของวิธีวิเคราะห์ของแต่ละแร่ธาตุ

แร่ธาตุ	%Recovery*	%RSD*	LOD	LOQ
ตะกั่ว	99	11.7	2 µg/L	5 µg/L
แคดเมียม	81	1.7	0.0001 mg/L	0.002 mg/L
โครเมียม	83	2.1	0.001 mg/L	0.01 mg/L
ทองแดง	86	4.2	0.001 mg/L	0.005 mg/L
แมงกานีส	91	3.9	0.0002 mg/L	0.002 mg/L
นิกเกิล	102	4.8	0.001 mg/L	0.004 mg/L
สารหนู	100	12.1	0.1 µg/L	0.5 µg/L
ไนเตรต	107	3.1	0.22 mg/L	1.1 mg/L
ฟลูออไรด์	91	3.5	0.02 mg/L	0.20 mg/L
แคลเซียม	94	2.7	0.02 mg/L	0.5 mg/L
แมกนีเซียม	101	3.9	0.07 mg/L	0.1 mg/L
โซเดียม	95	5.8	0.02 mg/L	0.1 mg/L
โพแทสเซียม	97	6.3	0.01 mg/L	0.1 mg/L

*วิเคราะห์ที่ระดับ LOQ จำนวน 7 ซ้ำ

การวิเคราะห์ : ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล ปิเปตตัวอย่างเติมกรดไนตริกให้ความร้อนปรับปริมาตร วัดปริมาณแร่ธาตุด้วยเครื่อง AAS สารหนู : ปิเปตตัวอย่างให้ความร้อนเติมส่วนผสมของ potassium iodide, ascorbic acid และกรดไฮโดรคลอริก ปรับปริมาตรนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย sodium borohydride ใน sodium hydroxide แล้ววัดด้วยเครื่อง AAS แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม : วัดปริมาณแร่ธาตุโดยตรงด้วยเครื่อง AAS ไนเตรต ฟลูออไรด์ : กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอนก่อนฉีดเข้าเครื่อง IC

การควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์

ยืนยันความถูกต้องของผลวิเคราะห์โดยวิเคราะห์ spiked sample, duplicate sample และ control sample และผลเข้าร่วมการทดสอบความสามารถห้องปฏิบัติการกับกรมวิทยาศาสตร์บริการ อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ (ค่า |Z| scores < 2)

คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ

1. ทดสอบความแตกต่างการตรวจพบตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล สารหนู ไนเตรต และ ฟลูออไรด์ โดยนำชนิดน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศมาับความถี่ของจำนวนตัวอย่างที่พบและไม่พบแร่ธาตุจัดให้อยู่ในรูปตารางแจกแจงความถี่ด้วยตารางไขว้ (cross table) แบบ 2 × 2 ใช้สถิติ Pearson Chi-Square และ Fisher's Exact Test ทดสอบความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05^(13, 14)

2. ทดสอบความแตกต่างของปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม โดยนำผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุในน้ำแร่ทั้งสองชนิดมาเรียงลำดับจากค่าต่ำสุดถึงสูงสุดให้ลำดับที่ของแต่ละตัวอย่างโดยแปลงปริมาณแร่ธาตุให้เป็นระดับการวัดแบบอันดับ (ordinal scale) หาลำดับที่เฉลี่ย (mean rank) ใช้สถิติ Mann-Whitney U ทดสอบความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05^(13, 14)

ผล

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ

การศึกษาคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติ 54 ตัวอย่าง แบ่งเป็น น้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ 21 ตัวอย่าง และนำเข้าจากต่างประเทศ 33 ตัวอย่าง วิเคราะห์แร่ธาตุตัวอย่างละ 13 รายการ เป็นแร่ธาตุที่มีค่ามาตรฐานกำหนดในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 199 (พ.ศ. 2543) จำนวน 9 รายการ ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล สารหนู ไนเตรต ฟลูออไรด์ และไม่มีค่ามาตรฐานกำหนด 4 รายการ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม ผลวิเคราะห์พบว่า ปริมาณสูงสุดของแร่ธาตุที่มีค่ามาตรฐาน ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม ทองแดง โครเมียม แมงกานีส นิกเกิล สารหนู ไนเตรต ฟลูออไรด์ เท่ากับ 0.009, 0.005, 0.1, น้อยกว่า 0.01, 0.072, 0.02, 0.006, 18.0 และ 0.91 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีน้ำแร่จำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.3) ซึ่งเป็นน้ำแร่ นำเข้าจากต่างประเทศ (เยอรมนี ฝรั่งเศส และอิตาลี) ที่มีคุณภาพผิดมาตรฐาน คือ พบแคดเมียมสูงกว่า 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร (พบเฉลี่ย 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร) น้ำแร่ที่พบตะกั่วปริมาณสูงใกล้กับค่ามาตรฐาน คือ 0.009 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นน้ำแร่ นำเข้าจากไต้หวัน และที่พบนิกเกิลปริมาณสูงเท่ากับค่ามาตรฐาน คือ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นน้ำแร่ที่ นำเข้าจากเยอรมนี 2 ตัวอย่าง ส่วนปริมาณ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม ที่พบสูงสุด คือ 242, 116, 324 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำแร่และค่ามาตรฐาน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณสูงสุดของแร่ธาตุที่ตรวจพบจากตัวอย่างทั้งหมด 54 ตัวอย่าง

แร่ธาตุ	ปริมาณสูงสุด (mg/L)		ค่ามาตรฐาน*(mg/L)
	ในประเทศ	ต่างประเทศ	
ตะกั่ว	0.006	0.009	ไม่เกิน 0.01
แคดเมียม	<0.002	0.005	ไม่เกิน 0.003
ทองแดง	0.01	0.10	ไม่เกิน 1
โครเมียม	<0.01	<0.01	ไม่เกิน 0.05
แมงกานีส	0.003	0.072	ไม่เกิน 2
นิกเกิล	0.01	0.02	ไม่เกิน 0.02
สารหนู	0.003	0.006	ไม่เกิน 0.05
ไนเตรต	18.0	16.0	ไม่เกิน 50
ฟลูออไรด์	0.63	0.91	มากกว่า 1 (มีค่าเตือน)
แคลเซียม	65	242	-
แมกนีเซียม	26	116	-
โซเดียม	151	324	-
โพแทสเซียม	7.7	25	-

*ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 199 (พ.ศ. 2543)

จำนวนตัวอย่างที่พบแร่ธาตุต่าง ๆ ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ (ตารางที่ 3 และ ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่างที่พบแร่ธาตุต่าง ๆ ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ 21 ตัวอย่าง

แหล่งผลิต (จำนวนตัวอย่าง)	ตะกั่ว	แคดเมียม	โครเมียม	ทองแดง	แมงกานีส	นิกเกิล	สารหนู	ไนเตรต
อยุธยา (1)	1	-	-	-	1	1	1	1
ปทุมธานี (7)	4	2	-	1	5	-	7	1
ตาก (2)	1	2	-	2	2	1	2	2
สิงห์บุรี (2)	1	1	1	1	1	-	-	2
เชียงใหม่ (1)	1	1	1	1	1	1	1	1
เชียงราย (1)	-	-	-	1	1	-	-	1
บุรีรัมย์ (2)	1	-	1	2	2	2	-	2
กาญจนบุรี (2)	1	-	-	2	2	-	2	1
สุราษฎร์ธานี (2)	-	-	-	1	1	-	2	1
ระนอง (1)	-	-	1	1	1	-	1	1
รวม (21)	10	6	4	12	17	5	16	13

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างที่พบแร่ธาตุต่าง ๆ ในน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ 33 ตัวอย่าง

แหล่งผลิต (จำนวนตัวอย่าง)	ตะกั่ว	แคดเมียม	โครเมียม	ทองแดง	แมงกานีส	นิกเกิล	สารหนู	ไนเตรต
ฝรั่งเศส (6)	5	5	3	5	6	3	6	5
เยอรมนี (5)	2	3	4	4	5	4	2	4
อิตาลี (6)	3	5	5	4	5	2	4	6
ญี่ปุ่น (1)	-	-	-	-	1	-	1	1
อินโดนีเซีย (1)	1	-	1	-	1	-	1	1
ไต้หวัน (1)	1	-	-	-	1	-	-	1
นอร์เวย์ (1)	1	-	-	-	1	-	1	1
โซเวียต (1)	-	1	1	1	1	-	1	1
ออสเตรเลีย (2)	1	-	1	-	1	1	1	2
แคนาดา (1)	-	-	-	1	1	-	1	-
เกาหลี (4)	1	-	1	1	4	1	4	4
อังกฤษ (1)	-	1	-	-	-	-	-	1
ไอซ์แลนด์ (1)	1	-	-	-	-	-	-	-
สเปน (2)	-	-	1	-	-	-	1	2
รวม (33)	16	15	17	16	27	11	23	29

ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล สารหนู และไนเตรต ส่วนใหญ่ตรวจไม่พบ หรือพบ น้อยกว่า LOQ โดยพบแร่ธาตุเหล่านี้ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศคิดเป็นร้อยละ 38.5, 28.6, 20.0, 42.9, 38.6, 31.2, 41.0 และ 31.0 ตามลำดับ และพบในน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศคิดเป็นร้อยละ 61.5, 71.4, 80.0, 57.1, 61.4, 68.8, 59.0 และ 69.0 ตามลำดับ

สำหรับแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม น้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ บางตัวอย่างไม่พบแคลเซียม และแมกนีเซียม แต่พบโซเดียมและโพแทสเซียมทุกตัวอย่าง น้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศพบแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียมทุกตัวอย่าง โดยเฉพาะน้ำแร่ที่มาจากฝรั่งเศส เยอรมนี และอิตาลี จะมีแร่ธาตุเหล่านี้สูงมาก (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ 4 รายการ จำแนกตามแหล่งผลิต

แหล่งผลิต (จำนวนตัวอย่าง)	ปริมาณแร่ธาตุ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	แคลเซียม	แมกนีเซียม	โซเดียม	โพแทสเซียม
ในประเทศ (21)				
อยุธยา (1)	30	9.2	134	1.9
ปทุมธานี (7)	<0.5-19	0.1-7.7	104-178	0.8-3.9
ตาก (2)	48-50	25-26	47-57	1.6-2.2
สิงห์บุรี (2)	0.5-36	0.1-7.0	110-151	1.8-3.4
เชียงใหม่ (1)	65	8.3	13	1.8
เชียงราย (1)	ไม่พบ	ไม่พบ	4.6	0.8
บุรีรัมย์ (2)	2.1-3.5	14-15	13-32	2.5-3.6
กาญจนบุรี (2)	ไม่พบ-<0.5	0.1-0.1	0.9-1.6	0.7-1.4
สุราษฎร์ธานี (2)	ไม่พบ-<0.5	ไม่พบ-0.5	55-67	1.2-7.7
ระนอง (1)	16	0.3	65	4.9
ต่างประเทศ (33)				
ฝรั่งเศส (6)	13-166	5.2-84	4.9-151	1.4-11
เยอรมนี (5)	46-242	4.5-116	4.0-324	1.8-25
อิตาลี (6)	33-163	6.5-54	0.9-33	0.6-3.8
ญี่ปุ่น (1)	27	9.8	31	5.8
อินโดนีเซีย (1)	3.9	2.8	6.3	1.6
ไต้หวัน (1)	1.7	0.5	2.7	0.3
นอร์เวย์ (1)	4.0	1.0	6.8	1.0
โซเวียต (1)	63	20	8.1	1.5
ออสเตรเลีย (2)	8.5	6.2	11	1.7
แคนาดา (1)	11	1.5	3.6	1.3
เกาหลี (4)	0.9-28	0.4-3.6	4.6-15	0.8-2.6
อังกฤษ (1)	17	4.4	11	1.3
ไอซ์แลนด์ (1)	2.9	0.9	11	0.9
สเปน (2)	8.4-60	2.0-27	4.5-5.4	0.1-2.6

คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ

เมื่อทดสอบความถี่ของจำนวนตัวอย่างที่พบและไม่พบตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ทองแดง นิกเกิล แมงกานีส สารหนู ในเตรต ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศด้วยสถิติ Pearson Chi-Square ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (สำหรับฟลูออไรด์ไม่ทดสอบเนื่องจากผลการตรวจวิเคราะห์พบน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) กรณีแมงกานีส และในเตรต หลังจากการทดสอบด้วย Pearson Chi-Square พบมีค่าคาดหวังน้อยกว่า 5 จึงใช้สถิติ Fisher's Exact Test ผลการทดสอบความถี่ของจำนวนตัวอย่างที่พบตะกั่ว แคดเมียม ทองแดง แมงกานีส นิกเกิล และสารหนูไม่แตกต่างกัน ($p\text{-value} > 0.05$) แสดงว่าโอกาสพบแร่ธาตุเหล่านี้ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศมีเท่า ๆ กัน กรณีโครเมียมและในเตรต พบว่าแตกต่างกัน ($p\text{-value} < 0.05$) แสดงว่ามีโอกาสพบโครเมียม และในเตรตในน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศมากกว่าน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความถี่ของจำนวนตัวอย่างที่พบแร่ธาตุต่างๆ จำแนกตามแหล่งผลิต

แหล่งผลิต (จำนวนตัวอย่าง)	ตะกั่ว พบ	แคดเมียม พบ	โครเมียม พบ	ทองแดง พบ	แมงกานีส พบ	นิกเกิล พบ	สารหนู พบ	ในเตรต พบ
ในประเทศ (21)	10	6	4	12	17	5	16	13
ต่างประเทศ (33)	16	15	17	16	27	11	23	29
รวม (54)	26	21	21	28	44	16	39	42
$p\text{-value}$	0.951	0.215	0.029	0.535	1.0	0.455	0.604	0.042

เมื่อทดสอบปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศด้วยสถิติ Mann-Whitney U ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ผลการทดสอบพบปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียม ในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศแตกต่างกัน ($p\text{-value} < 0.05$) โดยน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำกว่าน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศแต่มีโซเดียมสูงกว่า สำหรับปริมาณโพแทสเซียมในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศไม่แตกต่างกัน ($p\text{-value} > 0.05$) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ลำดับที่เฉลี่ย (mean rank) และผลการทดสอบปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม จำแนกตามแหล่งผลิต

แหล่งผลิต	แคลเซียม	แมกนีเซียม	โซเดียม	โพแทสเซียม
ในประเทศ	16.1	18.8	36.4	29.4
ต่างประเทศ	31.3	31.0	21.8	26.3
$p\text{-value}$	0.001	0.005	0.001	0.478

วิจารณ์

จากผลการสำรวจคุณภาพน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ ไม่พบแร่ธาตุใดเกินค่ามาตรฐาน ยกเว้นแคดเมียม จำนวน 5 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด (pH 5-6) แคดเมียมเป็นแร่ธาตุหรือโลหะที่มักปะปนกับแร่ธาตุสังกะสี ตะกั่ว และทองแดง แคดเมียมที่บริสุทธิ์จะอ่อน มีสีเงิน-ขาว แคดเมียมใช้ในอุตสาหกรรมแบตเตอรี่ เม็ดสี หรือใช้ในการเคลือบ และการทาสี และใช้ในการคงตัวของพลาสติก⁽⁴⁾ การปนเปื้อนในน้ำดื่มอาจมีสาเหตุจากความไม่บริสุทธิ์ของสังกะสีที่ใช้เคลือบ หรือมีแคดเมียมในสีเคลือบฝาโลหะหรือเป็นส่วนผสมของเม็ดสีที่ใช้ผลิตขวดและฝาพลาสติก หรือปนเปื้อนจากการบัดกรีของโลหะที่ใช้เชื่อมต่อ มีรายงานจาก The New York Times⁽¹⁵⁾ ฉบับวันที่ 5 มิถุนายน 2010 ว่าได้มีการเรียกเก็บแก้วที่มีรูปพื้นการ์ตูนของ McDonald ในกิจกรรมส่งเสริมการขาย หลังพบว่ามีการปนเปื้อนของแคดเมียมที่ใช้เป็นส่วนผสมของเม็ดสี จากข้อมูลนี้ผู้ผลิตควรศึกษาว่ากระบวนการผลิต เช่น การเติมก๊าซซึ่งทำให้น้ำแร่มีความเป็นกรด วัสดุภัณฑ์ที่ใช้ในการบรรจุ สิ่งเหล่านี้ อาจมีผลต่อคุณภาพของน้ำแร่ อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์เดิมวิเคราะห์ซ้ำอีก 3 ครั้ง แต่ละครั้งเก็บห่างกัน 3-4 เดือน ผลวิเคราะห์ซ้ำตรวจไม่พบแคดเมียมในตัวอย่างทั้งหมด

คุณภาพน้ำแร่ธรรมชาติที่ใช้สำหรับการบริโภคมีการควบคุมที่แตกต่างกัน กล่าวคือ สหภาพยุโรป⁽¹⁶⁾ กำหนดว่าน้ำแร่ธรรมชาติที่ฉลากระบุว่ามีแคลเซียม แมกนีเซียม หรือโซเดียม ต้องมีปริมาณแร่ธาตุเหล่านี้

มากกว่า 150, 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่มาตรฐานของประเทศไทย⁽¹⁾ และมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex)⁽¹⁷⁾ ไม่ได้กำหนดไว้ ดังนั้นหากมีการทบทวนให้กำหนดปริมาณขั้นต่ำของแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายและควบคุมผลลึกลับให้ระบุข้อความเกี่ยวกับแร่ธาตุเหล่านี้ให้ถูกต้อง จะทำให้ผู้บริโภคได้ซื้อน้ำแร่ที่มีคุณค่าสมราคา สำหรับแร่ธาตุที่เป็นอันตรายและแร่ธาตุที่ร่างกายต้องการน้อย มีเกณฑ์กำหนดที่คล้ายคลึงกันต่างกันที่ปริมาณสารหนู และแมงกานีส ซึ่งมาตรฐานของ (Codex) และของสหภาพยุโรปจะกำหนดให้พบปริมาณสารหนูได้ไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากัน แมงกานีส ไม่เกิน 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากมาตรฐานของประเทศไทยที่กำหนดไว้ที่ 0.05 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในแง่ของการคุ้มครองผู้บริโภคมาตรฐานของต่างประเทศให้ความสำคัญและมีความชัดเจนมากกว่า

การแสดงผลการเป็นเรื่องสำคัญ เมื่อพิจารณาและเปรียบเทียบข้อกำหนดมาตรฐานน้ำแร่ธรรมชาติของประเทศไทยกับบางประเทศ เช่น ประเทศอังกฤษ⁽¹⁸⁾ ที่ระบุว่าน้ำแร่ธรรมชาติจากแหล่งน้ำแร่แหล่งใดแหล่งหนึ่งที่เป็นแหล่งเดียวกัน ไม่ได้รับอนุญาตให้ใช้ชื่อทางการค้ามากกว่าหนึ่งชื่อ แต่มาตรฐานของประเทศไทย ไม่ได้มีข้อกำหนดที่ชัดเจน ทำให้น้ำแร่ที่ผลิตในประเทศมีหลายยี่ห้อทั้งที่มาจากแหล่งกำเนิดเดียวกัน เช่น จังหวัดปทุมธานี 7 ยี่ห้อ ตาก 2 ยี่ห้อ สุราษฎร์ธานี 2 ยี่ห้อ การที่ผู้ผลิตรายเดียวแต่มีหลายยี่ห้อเพื่อหวังผลทางการตลาด บางยี่ห้อก็จำกัดอยู่เฉพาะพื้นที่การขาย หรือมีการแจกฟรีตามสถานบริการน้ำมัน ทำให้ผู้บริโภคเกิดความสับสนไม่เห็นคุณค่าของน้ำแร่ และไม่รู้ว่าน้ำแร่ที่แท้จริงควรมาจากแหล่งกำเนิดตามธรรมชาติ ถ้ากำหนดน้ำแร่ให้มีแหล่งที่มาชัดเจน แต่ละแหล่งกำเนิดมีเพียงยี่ห้อเดียว ให้ผู้บริโภคได้ตัดสินใจซื้อน้ำแร่ที่คงลักษณะตามธรรมชาติ ดังนั้นจะเห็นได้ว่ามาตรฐานของประเทศไทยให้ความสำคัญของแหล่งกำเนิดมาก เพราะแหล่งกำเนิดเป็นลักษณะเฉพาะที่บ่งบอกถึงปริมาณแร่ธาตุ คุณลักษณะทางกายภาพ และความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของแหล่งน้ำแร่ นั้น ๆ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้น้ำแร่แตกต่างจากน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิททั่วไป

นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำแร่ในประเทศส่วนใหญ่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อโรค มีรายงานประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากโบรเมตในน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแร่ธรรมชาติ⁽¹⁹⁾ ได้ศึกษาและสำรวจโบรเมตในน้ำแร่ธรรมชาติ จำนวน 54 ตัวอย่าง พบโบรเมตในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศสูงเกินเกณฑ์ WHO 12 ตัวอย่าง (<3-116 ไมโครกรัมต่อลิตร) ส่วนน้ำแร่ที่นำเข้าสูงเกินเกณฑ์ WHO เล็กน้อย 2 ตัวอย่าง ซึ่งบ่งชี้ถึงการใช้ไอโอดีนในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาคุณภาพน้ำแร่ในปี พ.ศ. 2535⁽²⁰⁾ ซึ่งมีการตรวจคุณภาพน้ำแร่จำนวน 82 ตัวอย่าง เป็นน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ พบแคดเมียมเกินมาตรฐาน คิดเป็นร้อยละ 3.84 ในตัวอย่างน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและพบแคดเมียม โคโรเนียม ตะกั่ว ฟลูออไรด์ ในระดับเกินมาตรฐาน คิดเป็นร้อยละ 8.9, 1.8, 3.6, 1.8 และ 3.6 ตามลำดับ ในตัวอย่างน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ในครั้งนี้พบว่าคุณภาพน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศดีขึ้นและเป็นไปตามมาตรฐาน ยกเว้นแคดเมียมที่ยังคงต้องเฝ้าระวังโดยเฉพาะในน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ สำหรับปริมาณแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม ในน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศสูงกว่าน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ แต่การศึกษารุ่นนี้เมื่อวิเคราะห์ด้วยหลักสถิติพบว่าปริมาณโซเดียมในน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศสูงกว่าน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

โซเดียมเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญเป็นตัวแลกเปลี่ยนออสโมติกของเซลล์ในร่างกาย เป็นส่วนสำคัญของระบบการทำงานของกล้ามเนื้อ⁽²¹⁾ เมื่อรวมกับคลอไรด์จะอยู่ในรูปของเกลือ ร่างกายได้รับเกลือจากอาหารหลายชนิด เช่น เครื่องปรุงรส อาหารสำเร็จรูป อาหารปรุงรส อาหารทะเล เป็นต้น ร่างกายควรได้รับโซเดียมน้อยกว่า 2,300 มิลลิกรัมต่อวัน แต่ผู้ที่มีอายุมากกว่า 51 ปี ควรได้รับ 1,500 มิลลิกรัมต่อวัน⁽²²⁾ อย่างไรก็ตามปริมาณที่พบโซเดียมในน้ำน้อยมากเมื่อเทียบกับโซเดียมที่มีอยู่ในอาหาร

น้ำมีประโยชน์ต่อร่างกาย แร่ธาตุหรือเกลือแร่ที่อยู่ในน้ำร่างกายสามารถดูดซึมและนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว ราคาของน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศไม่แตกต่างจากน้ำบริโภคปิดสนิท ทำให้น้ำแร่เป็นที่นิยม แต่น้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศมีราคาสูง ถ้าเปรียบเทียบด้านราคาในปริมาณที่เท่ากันน้ำแร่ในประเทศจะมีราคา 8-15 บาทต่อขวด น้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศจะมีราคาตั้งแต่ 25-140 บาทต่อขวด แพงกว่าน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ 3-10 เท่า ราคาน้ำแร่ซึ่งแตกต่างกันมาก ขึ้นกับแหล่งผลิตและต้นทุนในการขนส่ง โดยเฉพาะน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ แต่น้ำแร่ที่ผลิตในประเทศมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่า เช่น มีค่าขวด การขนส่งแต่ไม่ต้องเสียภาษีนำเข้า เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณแร่ธาตุที่จำเป็นหรือแร่ธาตุที่เป็นอันตรายที่ร่างกายได้รับไม่ได้มาจากน้ำเพียงอย่างเดียว อาจได้รับจากสิ่งแวดล้อมในชีวิตประจำวัน โดยเฉพาะจากอาหาร น้ำแร่ยังคงมีประโยชน์แต่การดื่มน้ำแร่เป็นประจำหรือดื่มเพื่อแทนน้ำบริโภค ควรพิจารณาปริมาณเกลือแร่ที่มีในน้ำด้วย

สรุป

คุณภาพน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศยังอยู่ในเกณฑ์ที่มีความปลอดภัย การบริโภคน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศเป็นประจำมีโอกาสได้รับแร่ธาตุโครเมียมและไนเตรตมากกว่าการบริโภคน้ำแร่ที่ผลิตในประเทศ แต่น้ำแร่ที่ผลิตในประเทศมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมต่ำกว่าน้ำแร่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการเฝ้าระวังอันตรายที่เกิดจากการบริโภคน้ำแร่ เพื่อเป็นแนวในการปรับปรุงคุณภาพน้ำแร่ ตั้งแต่การเลือกแหล่งของน้ำแร่ ปรังกระบวนการผลิต การเลือกใช้วัสดุภัณฑ์ที่มีคุณภาพ เพื่อป้องกันการปนเปื้อน ตลอดจนเป็นข้อมูลเพื่อนำไปปรับปรุงมาตรฐานน้ำแร่ของประเทศต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางลัดดาวัลย์ โรจนพรหมทิพย์ ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ นางสาวทิพวรรณ นิ่งน้อย ผู้เชี่ยวชาญด้านความปลอดภัยของอาหาร ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ทำให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 199) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำแร่ธรรมชาติ ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. (ลงวันที่ 24 มกราคม 2544).
2. Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 June 2009 on the exploitation and marketing of natural mineral waters. Official Journal of the European Union; p 46-47 [online]. 2009; [cited 2014 Jan 1]; [2 screens]. Available from: URL: <http://ec.europa.eu/food/labellingnutrition/water/>
3. WHO. Guidelines for drinking-water quality. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2011. p 393, 306-308, 318, 418
4. Agency for Toxic Substance & Disease Registry. Toxic substances portal - cadmium. [online]. Sep 2012; [cited 2014 Jan 18]; [7 screens]. Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=46&tid=15>
5. Agency for Toxic Substance & Disease Registry. Toxic substances portal - arsenic. [online]. Aug 2007; [cited 2014 Jan 18]; [9 screens]. Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=18&tid=3>

6. Massachusetts Institute of Technology. Optimizing your diet best foods for specific minerals. [online]. 2005; [cited 2014 Jan 20]; [8 screens]. Available from: URL: <http://web.mit.edu/athletics/sportsmedicine/wcrminerals.html>
7. Agency for Toxic Substance & Disease Registry. Toxic substances portal - chromium. [online]. Sep 2012; [cited 2014 Jan 18]; [7 screens]. Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=60&tid=17>
8. Agency for Toxic Substance & Disease Registry. Toxic substances portal - nickel. [online]. Aug 2005; [cited 2014 Jan 18]; [2 screens]. Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=44>
9. Agency for Toxic Substance & Disease Registry. Toxic substances portal - copper. [online]. Sep 2004; [cited 2014 Jan 18]; [6 screens]. Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=204&tid=37>
10. สิริพันธุ์ จุลกรังคะ. โภชนศาสตร์เบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2550. หน้า 217.
11. กรรณิกา จิตติยศรา, ทิพวรรณ นิ่งน้อย. การศึกษาปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำแร่ธรรมชาติ. ว กรมวิทย์ พ 2549; 48(3): 177-85.
12. Rice EW, Baird RB, Eaton AD, Clesceri LS, editors. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington DC: American Public Health Association; 2012.
13. กัลยา วานิชย์บัญชา. การวิเคราะห์สถิติ: สำหรับการบริหารและวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545.
14. วัฒนา สุนทรชัย. เรียนสถิติด้วย SPSS ภาคสถิติไม่อิงพารามิเตอร์. กรุงเทพฯ : วิทยพัฒน์; 2542.
15. Neuman W. McDonald's to recall glasses, citing cadmium. [online]. Jun 2010; [cited 2013 Dec 18]; [2 screens]. Available from: URL: <http://www.nytimes.com/2010/06/05/business/05recall.html>
16. Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 June 2009 on the exploitation and marketing of natural mineral waters. Official Journal of the European Union. L164/55. [online]. 2009; [cited 2014 Jan 6]; [2 screens]. Available from: URL: <http://ec.europa.eu/food/labellingnutrition/water/>
17. Codex Standard for natural mineral waters, Codex Stan 108-1981. Revision 2008.
18. The Natural mineral water, spring water and bottled drinking water (WALES) regulations 2007 (as Amended): Guidance to the Legislation, Revision 2010.
19. ทิพวรรณ นิ่งน้อย, กัญญา พุกสุ่น, กรรณิกา จิตติยศรา. การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพจากโบรเมตในน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแร่ธรรมชาติ. ว กรมวิทย์ พ 2556; 55(3): 161-75.
20. ศรีศักดิ์ สุนทรไชย, กาญจนา ว่องชวนิชย์, ประกาย บริบูรณ์, นฤมล ประภาสุวรรณกุล. คุณภาพน้ำแร่. สารคณะเทคนิคการแพทย์. 2535; 16(2): 70-91.
21. Mineral Water of the World [online]. 2556 [สืบค้น 19 ธ.ค. 2556] [p1]
22. Centers for Disease Control and Prevention [online]. 2014 [สืบค้น 8 ม.ค. 2557] [p1-8]
เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.cdc.gov>

Quality and Safety of Local and Imported Natural Mineral Water

Kannika Jittiyossara and Kanya Puksun

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Natural mineral water is water obtained directly from natural or drilled sources from underground water. It is normally rich in some kinds of mineral known to be beneficial to health. The concentration of minerals depends on the location of the sources. It is categorized as food and regulated by the Ministry of Public Health. Increasing brands of both locally produced and imported products in markets indicate the increasing acceptance by consumer in Thailand. Although it is normally bottled at source, it may be contaminated naturally or by industrial activities. Therefore in the fiscal year B.E. 2556, the Bureau of Quality and Safety of Food conducted a study on the quality and safety of mineral water distributed in Thailand. The total of 54 samples (21 locally produced and 33 imported) was analyzed for 13 minerals and trace elements. These were Pb, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, As, NO_3 and F which are regulated because they can be harmful to health and Ca, Mg, Na and K which are not regulated but essential to health. The analytical techniques used for analysis were AAS and IC. The results showed that 90.7% of the samples complied with the regulations and 9.3% (5 imported samples) did not comply due to the levels of cadmium which exceeded the standard limit of 0.003 mg/L. The data were analyzed statistically. With Pearson Chi-Square and Fisher Exact Test, the results showed that at $\alpha = 0.05$ there was no significant difference between the numbers of local and imported samples containing Pb, Cd, Cu, Mn, Ni, and As. For Cr and NO_3 , the number of imported samples were significantly higher than the local products. With Mann-Whitney U test at $\alpha = 0.05$, it was found that the local products contained lower levels of Ca and Mg but higher Na. For K, no significant difference was observed. In conclusion, the quality and safety of both local and imported natural mineral water complied with the regulation. For Cd, monitoring should be carried out, especially in imported products, to protect the consumers and to facilitate the enforcement of the regulation.

การปนเปื้อนของพยาธิและการลดพยาธิ ในผักสดโดยการล้าง

ทงนงพนธ์ สัจจาปะละ กนกวรรณ ตุ่นสกุล และชนทอง เพ็ชรนอก

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ผักเป็นอาหารที่อุดมไปด้วยโภชนาการ และดีต่อสุขภาพโดยเฉพาะผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก เป็นกระแสของโลกที่สนับสนุนให้ประชาชนบริโภคผักมากขึ้น องค์การอนามัยโลกได้บ่งชี้ว่าผักสดหากบริโภคดิบอาจเป็นแหล่งที่ทำให้ติดเชื้อพยาธิได้ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงทำการสำรวจความเสี่ยงการปนเปื้อนของพยาธิในผักสดที่บริโภคดิบ ได้แก่ สะระแหน่ (peppermint), ผักกาดหอม (lettuce), ผักชี (coriander), ต้นหอม (leek), ผักชีฝรั่ง (parsley), ใบบัวบก (cantella asiatica urban), ใบกุยช่าย (garlic-like vegetable), ใบขึ้นฉ่าย (celery), ผักกาดขาว (white lettuce), และผักคะน้า (kale) ชนิดละ 10 ตัวอย่าง และเสนอวิธีการแช่ผัก 3 วิธี คือ แช่น้ำเปล่า ในส่วนผสมน้ำส้มสายชู 15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 4 ลิตร และในน้ำเกลือความเข้มข้น 15 กรัมต่อน้ำ 4 ลิตร แล้วล้างออกด้วยน้ำเปล่า เพื่อลดจำนวนพยาธิ โดยดำเนินการระหว่างปี พ.ศ. 2556-2557 พบว่าผัก 100 ตัวอย่าง พบพยาธิ 91 ตัวอย่าง แบ่งเป็น พยาธิตัวกลมอัสระ 72 ตัวอย่าง ไรและไข่ 80 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 33 ตัวอย่าง ตัวอ่อน *Trichostrongylus* spp. 1 ตัวอย่าง ไข่พยาธิปากขอ 1 ตัวอย่าง ไข่ *Taenia* spp. 2 ตัวอย่าง และไข่พยาธิเข็มหมุด (*Enterobius vermicularis*) 2 ตัวอย่าง ส่วนการล้างผักด้วยน้ำเปล่า สารละลายน้ำส้มสายชู และน้ำเกลือสามารถลดจำนวนพยาธิลงได้ 3-14, 6-14 และ 3-13 เท่าตามลำดับ การล้างผักให้สะอาดก่อนบริโภคและการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี เป็นมาตรการจัดการความเสี่ยงเพื่อลดจำนวนพยาธิที่ตกค้างในผักให้เหลือน้อยที่สุดจนไม่ก่ออันตรายต่อผู้บริโภค

บทนำ

ผักเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ให้สารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ อุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็น ช่วยรักษาสสมดุลของร่างกาย ทำให้ระบบย่อยอาหารและระบบขับถ่ายดีขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเป็นกระแสของโลกที่ส่งเสริมให้ประชาชนหันมาบริโภคผักมากขึ้น เช่นเดียวกันกับที่กระทรวงสาธารณสุขได้เล็งเห็นถึงประโยชน์ดังกล่าว จึงมีนโยบายส่งเสริมให้ประชาชนหันมาบริโภคผักเพื่อสุขภาพที่ดี หนึ่งโดยที่ผู้บริโภคจะนิยมรับประทานผักสดคู่กับอาหารจานหลัก หรือในกรณีผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักจะรับประทานผักสดในรูปของสลัดผักเป็นอาหารจานหลัก การรับประทานผักสดจึงเป็นอาหารสุขภาพที่ประชาชนนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามองค์การอนามัยโลกได้มีรายงานเตือนผู้บริโภคผักสดว่าอาจมีการปนเปื้อนของพยาธิและก่อให้เกิดโรคได้^(1, 2) ผู้รับประทานผักที่มีการปนเปื้อนของพยาธิดังกล่าวอาจเกิดการเจ็บป่วยและมีโอกาสที่คนจะนำเชื้อไปแพร่กระจาย (Transport host) ดังนั้นสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งเป็นหน่วยงานที่ดำเนินงานทางห้องปฏิบัติการในการดูแลคุ้มครองสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค จึงได้ทำการวิจัยเพื่อสำรวจความเสี่ยงของพยาธิจากผักสดที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานดิบ และเสนอวิธีการล้างผักเพื่อจัดการความเสี่ยง ตามวิธีการล้างที่ทางกรมวิชาการเกษตรได้นำเสนอ⁽³⁾

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างผักสด 10 ชนิด ได้แก่ สะระแหน่ (peppermint) ผักกาดหอม (lettuce) ผักชี (coriander) ต้นหอม (leek) ผักชีฝรั่ง (parsley) ใบบัวบก (cantella asiatica urban) ใบกุยช่าย (garlic-like vegetable) ใบขึ้นฉ่าย (celery) ผักกาดขาว (white lettuce) และผักคะน้า (kale) จากตลาดสดในกรุงเทพฯ และปริมณฑล

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 2 ตำแหน่ง
2. เครื่องเขย่า (shaker)
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ชนิดปรับตั้งความเร็วรอบ ได้
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope
5. Beaker ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
6. Sedimentation cylinder ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
7. กระชอนใช้กรองผัก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ที่วางบน Sedimentation cylinder

ได้พอดี

8. หลอด centrifuge
9. Capillary pipet

สารเคมี

1. ส่วนผสมของน้ำยาทำความสะอาดไลโปนเอฟ กับน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปรับความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 1.010
2. ส่วนผสมน้ำส้มสายชู 15 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 4 ลิตร
3. เกลือป่น 15 กรัม ผสมน้ำ 4 ลิตร

วิธีวิเคราะห์ใช้ sedimentation technique⁽⁴⁾ ปฏิบัติตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. สุ่มตัวอย่างผัก 200 กรัม โดยไม่ต้องล้างน้ำก่อน ถ้าผักชนิดใดมีรากให้ตัดรากทิ้ง
2. ตัดผักเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงใน beaker ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำละลายไลโปนเอฟ ที่ผสมกับน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำท่วมผักเพื่อลดแรงตึงผิวให้พยาธิหลุดจากผัก
4. นำไปเขย่าบน shaker 240 ครั้งต่อนาที นาน 1 ชั่วโมง
5. นำไปกรองลงใน sedimentation cylinder ตั้งทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อให้พยาธิและไข่พยาธิตกตะกอน
6. วันรุ่งขึ้นเทน้ำเหนือตะกอนทิ้งให้เหลือประมาณ 5-10 มิลลิลิตร
7. เขย่าให้เข้ากันดี แล้วถ่ายของเหลวลงหลอด centrifuge แล้วนำไปปั่นที่ 2,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
8. ดูดน้ำใสส่วนบนทิ้งไป ให้น้ำในหลอดเหลือ 0.5-1.0 มิลลิลิตร
9. ใช้ capillary pipet ผสมตะกอนให้เข้ากันดีแล้วดูดน้ำมาหยดบนสไลด์
10. นำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้วิธี simple direct smear แล้วบันทึกผลการตรวจ

นอกจากนั้นทำการทดลองการล้างผักเพื่อลดจำนวนพยาธิโดยนำตัวอย่างผักชนิดละ 5 ตัวอย่าง จากการเก็บตัวอย่างในคราวเดียวกัน แล้วเปรียบเทียบจำนวนพยาธิที่พบจากผักที่ไม่ได้ล้างก่อนวิเคราะห์กับการล้างผัก 3 วิธี⁽³⁾ คือ

1. แช่น้ำเปล่า นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง
2. แช่น้ำส้มสายชู (น้ำส้มสายชู 15 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 4 ลิตร) นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง
3. แช่น้ำเกลือป่น 15 กรัมผสมน้ำ 4 ลิตร นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง

หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ตามข้อ 1-7 จากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้งไป ให้น้ำในหลอดเหลือ 1.0 มิลลิลิตร นำน้ำและตะกอนที่เหลือทั้งหมดแยกหยดบนสไลด์แล้วนับรวมจำนวนพยาธิที่พบและหาค่าเฉลี่ย

ผล

ผลการตรวจผักจำนวน 100 ตัวอย่าง พบพยาธิ 91 ตัวอย่าง แบ่งเป็นพยาธิ ตัวกลมอิสระ 72 ตัวอย่าง ไรและไข่ 80 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 33 ตัวอย่าง ตัวอ่อน *Trichostrongylus* spp. 1 ตัวอย่าง ไข่พยาธิปากขอ 1 ตัวอย่าง ไข่ *Taenia* spp. 2 ตัวอย่าง และไข่พยาธิเข็มหมุด (*Enterobius vermicularis*) 2 ตัวอย่าง แยกการตรวจพบพยาธิตามผักแต่ละชนิดได้ดังนี้

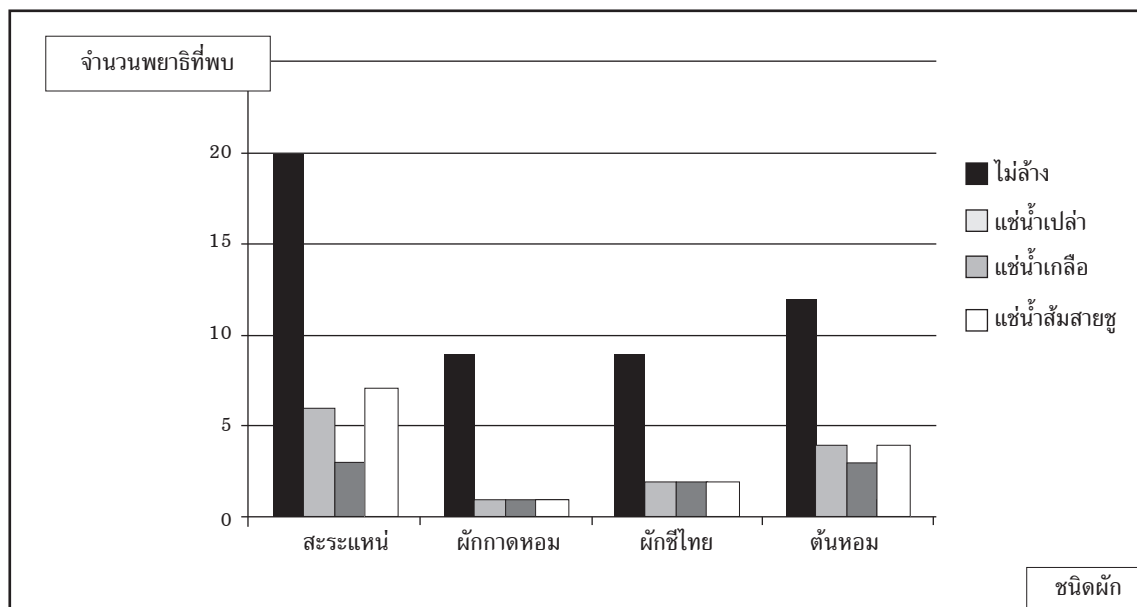
ใบสาระแหน่จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 9 ตัวอย่าง ไรและไข่ 10 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 4 ตัวอย่าง ผักกาดหอม จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 8 ตัวอย่าง ไรและไข่ 9 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 3 ตัวอย่าง ผักชี จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 7 ตัวอย่าง ไรและไข่ 8 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 1 ตัวอย่าง ไข่พยาธิเข็มหมุด 1 ตัวอย่าง ต้นหอม จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 7 ตัวอย่าง ไรและไข่ 7 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 3 ตัวอย่าง ไข่พยาธิปากขอ 1 ตัวอย่าง ผักชีฝรั่ง จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 10 ตัวอย่าง ไรและไข่ 5 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 3 ตัวอย่าง ไข่พยาธิปากขอ 1 ตัวอย่าง ไข่ *Taenia* spp. 1 ตัวอย่าง ไข่พยาธิเข็มหมุด 1 ตัวอย่าง ใบบัวบก จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 7 ตัวอย่าง ไรและไข่ 10 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 5 ตัวอย่าง ตัวอ่อน *Trichostrongylus* 1 ตัวอย่าง ไข่ *Taenia* spp. 1 ตัวอย่าง ใบกุยช่าย จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 10 ตัวอย่าง ไรและไข่ 7 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 3 ตัวอย่าง ไข่พยาธิปากขอ 1 ตัวอย่าง ใบขึ้นฉ่าย จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 7 ตัวอย่าง ไรและไข่ 7 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 3 ตัวอย่าง

ผักกาดขาว จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 2 ตัวอย่าง ไรและไข่ 10 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 5 ตัวอย่าง ไข่พยาธิปากขอ 1 ตัวอย่าง คื่นช่าย จำนวน 10 ตัวอย่าง พบพยาธิตัวกลม 5 ตัวอย่าง ไรและไข่ 7 ตัวอย่าง ไข่ *Ascaris* spp. 3 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การตรวจพบพยาธิ จากผัก 10 ชนิด

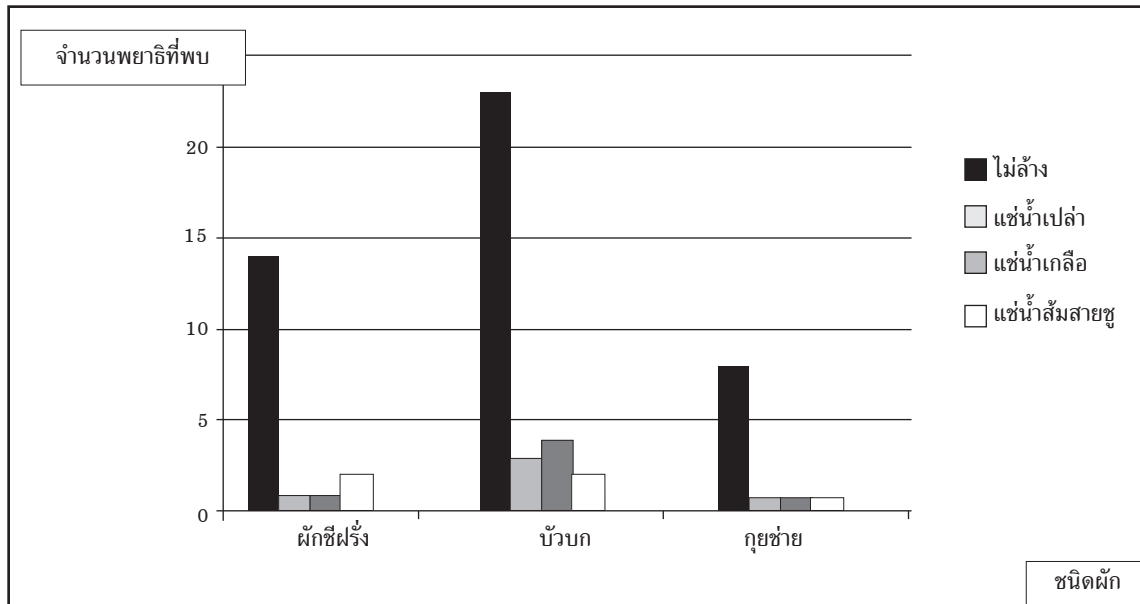
ลำดับ ที่	ชนิดผัก	จำนวน ที่ตรวจ	การตรวจพบ (ร้อยละ)							
			ตรวจพบ พยาธิ	ตัวอ่อน พยาธิตัวกลม อิสระ	ไร และไข่ (%)	ไข่ <i>Ascaris</i> spp.	ตัวอ่อน <i>Trichostrongylus</i> (%)	ไข่ พยาธิ ปากขอ	ไข่ <i>Taenia</i> spp.	ไข่ พยาธิ เข็มหมุด
1	ใบสาระแหน่	10	10 (100.00)	9 (90.00)	10 (100.00)	4 (40.00)	-	-	-	-
2	ผักกาดหอม	10	10 (100.00)	8 (80.00)	9 (90.00)	3 (30.00)	-	-	-	-
3	ผักชี	10	8 (80.00)	7 (70.00)	8 (80.00)	1 (10.00)	-	-	-	1 (10.00)
4	ต้นหอม	10	8 (80.00)	7 (70.00)	7 (70.00)	3 (30.00)	-	1 (10.00)	-	-
5	ผักชีฝรั่ง	10	10 (100.00)	10 (100.00)	5 (50.00)	3 (30.00)	-	1 (10.00)	1 (10.00)	1 (10.00)
6	ใบบวบ	10	10 (100.00)	7 (70.00)	10 (100.00)	5 (50.00)	1 (10.00)	-	1 (10.00)	-
7	ใบกุยช่าย	10	9 (90.00)	10 (100.00)	7 (70.00)	3 (30.00)	-	1 (10.00)	-	-
8	ใบขึ้นฉ่าย	10	8 (80.00)	7 (70.00)	7 (70.00)	3 (30.00)	-	-	-	-
9	ผักกาดขาว	10	10 (100.00)	2 (20.00)	10 (100.00)	5 (50.00)	-	1 (10.00)	-	-
10	คะน้า	10	8 (80.00)	5 (50.00)	7 (70.00)	3 (30.00)	-	-	-	-
รวม		100	91 (91.00)	72 (72.00)	80 (80.00)	33 (33.00)	1 (1.00)	4 (4.00)	2 (2.00)	2 (2.00)

เมื่อนำผักชนิดเดียวกันที่ไม่ได้ล้าง ล้างด้วยน้ำเปล่า น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู มาเปรียบเทียบกับ ผลการตรวจใบสาระแหน่พบพยาธิ 20 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 6, 3 และ 7 ตัว ตามลำดับ ผักกาดหอมพบพยาธิ 9 ตัว เมื่อล้างแล้วทุกวิธีจะพบพยาธิ 1 ตัว ผักชีพบพยาธิ 12 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 2, 2 และ 1 ตัว ตามลำดับ ต้นหอมพบพยาธิ 13 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 4, 3 และ 4 ตัว ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



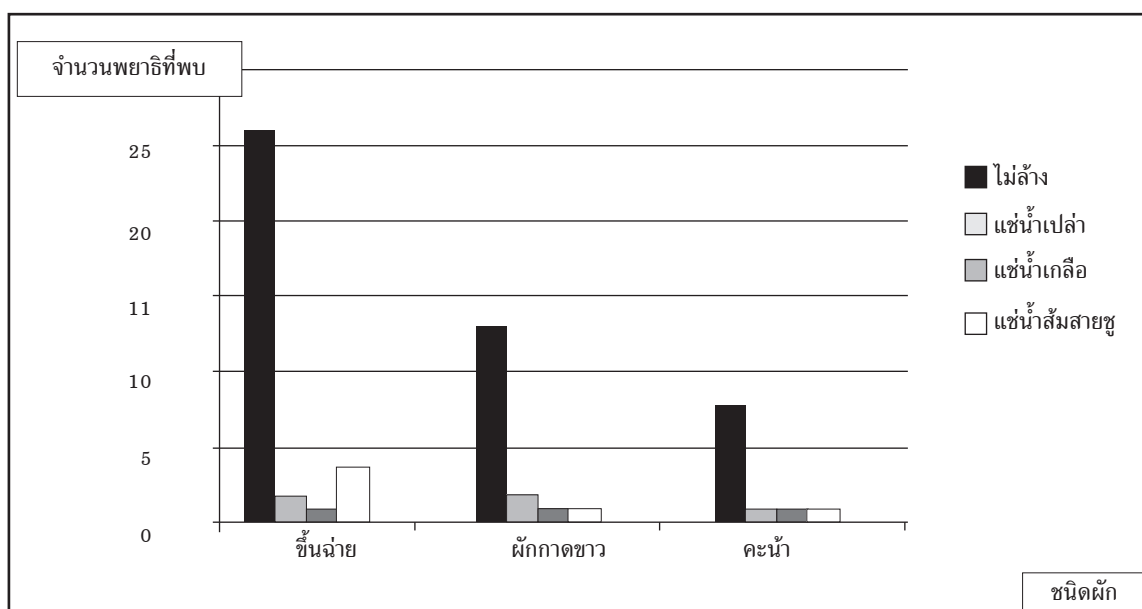
ภาพที่ 1 ผลจำนวนพยาธิที่พบจากผักที่ไม่ได้ล้างและที่ผ่านการล้าง 3 วิธี

ตรวจนับจำนวนพยาธิจากผักที่ไม่ล้างเปรียบเทียบกับผักที่ผ่านการล้าง 3 วิธี ในผักชีฝรั่ง ใบบวบ และ ใบกุยช่าย ผลการตรวจผักชีฝรั่งพบพยาธิ 14 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 1, 1 และ 2 ตัว ตามลำดับ ใบบวบพบพยาธิ 23 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 3, 4 และ 2 ตัว ตามลำดับ ใบกุยช่ายพบพยาธิ 8 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 1, 1 และ 1 ตัวตามลำดับ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ผลจำนวนพยาธิที่พบจากผักที่ไม่ได้ล้างและที่ผ่านการล้าง 3 วิธี

ตรวจนับจำนวนพยาธิจากผักที่ไม่ล้างเปรียบเทียบกับผักที่ผ่านการล้าง 3 วิธี ในใบขึ้นฉ่าย ผักกาดขาว และคะน้า ผลการตรวจใบขึ้นฉ่ายพบพยาธิ 26 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 2, 1 และ 4 ตัว ตามลำดับ ผักกาดขาวพบพยาธิ 13 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 2, 1 และ 1 ตัว ตามลำดับ คะน้าพบพยาธิ 8 ตัว เมื่อล้างแล้วจะพบพยาธิ 1, 1 และ 1 ตัว ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ผลจำนวนพยาธิที่พบจากผักที่ไม่ได้ล้างและที่ผ่านการล้าง 3 วิธี

วิจารณ์

ผักทุกชนิดที่วิเคราะห์เป็นผักที่มีส่วนที่บริโภคอยู่ติดดิน ซึ่งทางปฏิบัติจากสวนผักเมื่อเก็บและตัดแต่งเพื่อส่งขายจนถึงมือผู้บริโภคจะไม่มี การล้างผักก่อน จึงทำให้ตรวจพบตัวอ่อนของพยาธิตัวกลมอิสระและตัวไรถึงร้อยละ 91 ซึ่งเป็นสิ่งที่ติดมากับดินที่ใช้ในการปลูกผัก ไม่ทำให้เกิดโรคในคน ไม่มีความสำคัญทางการแพทย์⁽³⁾ แต่จาก (ตารางที่ 1) ผักที่ตรวจทุกชนิดพบไข่ของพยาธิไส้เดือน (*Ascaris* spp.) รวมร้อยละ 33 ซึ่งเป็นไข่พยาธิที่ทำให้เกิดโรคในคนที่สำคัญ^(5, 6) ต้นหอม ผักชีฝรั่ง และผักคะน้า ตรวจพบไข่พยาธิปากขอ (*Necator americanus*) ชนิดละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งระยะติดต่อของพยาธิปากขอคือ ระยะตัวอ่อน และผักชี ใบบัวบก ตรวจพบไข่พยาธิเข็มหมุด ชนิดละ 1 ตัวอย่าง (*Enterobius vermicularis*) การบริโภคผักที่ปนเปื้อนไข่ของพยาธิชนิดนี้อาจก่อให้เกิดโรคได้ แหล่งของพยาธิที่เป็นอันตรายมาจากดินที่ทำการเพาะปลูก ถ้าหากผักสดที่บริโภคเหล่านี้มาจากสวนผักที่ใช้น้ำที่ไม่สะอาด ใช้อุจจาระคน สัตว์ ปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอกรดผัก^(4, 7) เพื่อเพิ่มผลผลิต ดังนั้นพยาธิที่อยู่ในปุ๋ยอาจจะปนเปื้อนมากับผักสดที่ส่งออกขายตามท้องตลาดได้ การจัดการความเสี่ยงที่แปลงผักประเทศไทยมีการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืชอาหาร⁽⁸⁾ ที่สอดคล้องกับมาตรฐาน Codex: Code of Practice for Fresh Fruits and Vegetables⁽⁹⁾ กำหนดให้แปลงปลูก และน้ำที่ใช้ในแปลงปลูก ต้องมาจากแหล่งที่ไม่มีสภาพแวดล้อมซึ่งก่อให้เกิดการปนเปื้อนวัตถุหรือสิ่งที่เป็นอันตราย ส่วนปุ๋ยมาตรฐานของไทยห้ามใช้สิ่งขับถ่ายของคนมาเป็นปุ๋ย ส่วน Codex กำหนดในภาพกว้างว่าจะต้องบริหารจัดการเพื่อจำกัดความเสี่ยงจาก microbial ประเด็นนี้เป็นความรับผิดชอบของชาวสวนผักซึ่งมีหน่วยงานรับผิดชอบของรัฐ กำกับดูแล

ส่วนทางด้านผู้บริโภคการล้างผักให้สะอาดที่สุดจะเป็นการจัดการความเสี่ยงที่สะดวก ประหยัด สามารถทำได้ด้วยตัวเอง (ภาพที่ 1, 2 และ 3) พิจารณาเปรียบเทียบผลการล้างผัก พบว่า วิธีแช่น้ำเปล่าสามารถลดจำนวนพยาธิได้มากที่สุดในผัก 4 ชนิด คือ ผักกาดหอม ผักชีฝรั่ง กุยช่าย และคะน้า วิธีแช่น้ำเกลือสามารถลดจำนวนพยาธิได้มากที่สุดในผัก 7 ชนิด คือ สะระแหน่ ผักกาดหอม ต้นหอม ผักชีฝรั่ง กุยช่าย ขึ้นฉ่าย และคะน้า ส่วนวิธีแช่น้ำส้มสายชูสามารถลดจำนวนพยาธิได้มากที่สุดในผัก 6 ชนิด คือ ผักกาดหอม ผักชีไทย ใบบัวบก กุยช่าย ผักกาดขาว และคะน้า ซึ่งจะเห็นว่าวิธีการล้างผักวิธีเดียวกัน สามารถลดจำนวนพยาธิออกจากผักต่างชนิดกันได้ไม่เหมือนกัน เมื่อพิจารณาวิธีการล้างผัก 3 วิธี ในผักชนิดเดียวกันจะพบว่าสามารถลดจำนวนพยาธิได้แตกต่างกันยกเว้น ผักกาดหอม กุยช่าย และคะน้า ที่สามารถลดจำนวนพยาธิได้สูงสุดเหมือนกันเมื่อเปรียบเทียบกับผักที่ไม่ได้ล้าง การล้างผักทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ สะระแหน่ ผักกาดหอม ผักชี ต้นหอม ผักชีฝรั่ง ใบบัวบก ใบกุยช่าย ใบขึ้นฉ่าย ผักกาดขาว และผักคะน้า สามารถลดจำนวนพยาธิด้วยวิธีแช่น้ำเปล่า แช่สารละลายน้ำส้มสายชู และน้ำเกลือลงได้ 3-14, 6-14 และ 3-13 เท่าตามลำดับ โดยสารละลายที่มีสารช่วยลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น น้ำส้มสายชู จะช่วยในการทำมาสะอาดโดยไปจับกับสิ่งสกปรก และทำให้สิ่งสกปรกหลุดออกมา⁽¹⁰⁾ เพื่อความสะดวกในการเตรียมการล้างผักให้ใช้เกลือ 15 กรัม (1 ช้อนโต๊ะ) หรือน้ำส้มสายชู 15 มิลลิลิตร (1 ช้อนโต๊ะ) ผสมน้ำ 4 ลิตร

สรุป

จากผลการวิจัยที่พบพยาธิและไข่พยาธิในผักสดนั้น ผู้วิจัยมิได้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำให้ผู้บริโภคเกิดความวิตกกังวลจนเกิดการลดหรือถึงกับเลิกบริโภคผักสดเนื่องจากห่วงเกรงอันตรายที่จะเกิดขึ้น หากแต่ต้องการให้ผู้บริโภคมีความตื่นตัว และให้ความสำคัญกับการล้างผักให้สะอาดที่สุด เพื่อลดปริมาณพยาธิให้เหลือน้อยจนไม่อาจก่ออันตรายได้ ดังนั้นเพื่อสุขภาพอนามัยที่ดี นอกจากการกินร้อน ช้อนกลาง ล้างมือแล้ว ควรเพิ่มการล้างผักให้สะอาดด้วยซึ่งจากการทดลองล้างผักดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ยังไม่อาจสรุปได้ว่าวิธีล้างผักวิธีใดสามารถลดปริมาณพยาธิได้ดีที่สุด หากไม่ได้ใช้สารละลายน้ำส้มสายชู หรือน้ำเกลือ อย่างน้อยที่สุดควรใช้น้ำเปล่าในการล้างผักก่อนนำไปบริโภคก็จะสามารถลดจำนวนพยาธิลงได้ 3-14 เท่า

เอกสารอ้างอิง

1. Food Safety Unit, World Health Organization. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Geneva: World Health Organization; 1998.
2. World Health organization. Chapter 5: Infectious diseases of potential risk for travellers. [online]. 2009; [cited 2014 Apr 30]; [4 screens]. Available from: URL: <http://www.who.int/ith/ITH2009Chapter5.pdf?ua=1>
3. กลุ่มพัฒนาการมีส่วนร่วมเครือข่าย กองสนับสนุนสุขภาพภาคประชาชน. การถ่ายทอดชุดความรู้ด้านการคุ้มครองผู้บริโภค ด้านผลิตภัณฑ์และบริการสุขภาพ : กินให้เป็นเน้นผักผลไม้. นนทบุรี : กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ กระทรวงสาธารณสุข; 2554.
4. ภารดี มามีชัย, ดำรงค์ เชี่ยวศิลป์. การสำรวจหนอนพยาธิติดต่อดินในผักสดในตลาด เขตเทศบาลเมืองจังหวัดนนทบุรี. สารเทคนิคการแพทย์จุฬา 2534; 5(16): 859-67.
5. Radomyos P, Sirivichayakul C, Waikagul J, Krudsood S, Takeuchi T, Kojima S, et al. Atlas of medical parasitology: with 434 colour illustrations. Bangkok: Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University; 2004.
6. Center for Disease Control and Prevention. Parasites-Soil-transmitted Helminths (STHs). [online]. 2013; [cited 2014 Jul 8]; [1 screen]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/parasites/sth/>
7. Decoded science. Parasitic protozoa on fruits and vegetables. [online]. 2014; [cited 2014 Jul 7]; [4 screens]. Available from: URL: <http://www.decodedscience.com/parasitic-protozoa-on-fruits-and-vegetables/27502>
8. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9001-2556 การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืชอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2556.
9. Codex Alimentarius Commission. Code of hygienic practice for fresh fruits and vegetables, CAC/RCP 53-2003. Rome/Geneva: FAO/WHO; 2013.
10. Driessen S. Food Safety, Handling fresh fruits and vegetables safely. University of Minnesota Extension [online]. 2013; [cited 2014 Oct 7]; [3 screens]. Available from: URL: <http://www.extension.umn.edu/food/food-safety/preserving/fruits/handling-fresh-fruits-and-vegetables-safely/>

Contamination and Reducing of Parasite in Fresh Vegetables by Washing

Tanongpan Satjapala Kanogwan Toonsakool and Kuntong Pednog

*Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road Nonthaburi
11000, Thailand*

ABSTRACT It is generally known that vegetables are nutritious and health foods, in particular, for the people who want to diet. Moreover, the people by global approach are encouraged to consume more of these produces. However, World Health Organization indicated that vegetable consumed raw may serve as vehicles for transmission of infectious parasites. Therefore, in 2556-2557 B.E., Department of Medical Sciences undertook the risk of parasitic contamination in 10 kinds and 10 samples each of fresh vegetable consumed raw which were coriander, centella asiatica urban, leek, parsley, celery, peppermint, lettuce, garlic-like vegetable, white lettuce and kale. The experiment included 3 wash-methods, soaking in water; saline solution (15 grams NaCl in 4 liters of water); vinegar solution (15 milliliters of vinegar in 4 liters of water) for 10 minutes which were compared to unwashed vegetable. The results shown that 100 fresh vegetables were parasitic contamination 91 samples. The contamination could be sorted as free-living nematodes 72 samples, mites/eggs 80 samples, *Ascaris* spp. eggs 33 samples, larva of *Trichostrongylus* spp. 1 sample, hook worm eggs 4 samples, *Taenia* spp. eggs 2 samples, and *Enterobius vermicularis* eggs 2 samples. The three wash-methods soaking in water, vinegar solution and saline solution could reduce the parasite numbers 3-14, 6-14 and 3-13 times when compared to unwashed vegetable respectively. Risk management to this matter would be The Good Agricultural Practices at growing areas and washing vegetable thoroughly before consuming which would leave too few parasites to cause illness.

Key words: Contamination, parasites, fresh vegetables

ผลสัมฤทธิ์การดำเนินงานตามแผนรับรอง ความสามารถห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

ธัญญ์นิธิ จันทร์เหลือง

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000

บทคัดย่อ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น เป็นห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขมีบทบาทในการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ และให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อเฝ้าระวังและแก้ไขปัญหาสาธารณสุขในพื้นที่รับผิดชอบ การศึกษาครั้งนี้ เพื่อประเมินความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ จากเอกสารรายงานผลเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ และเอกสารรายงานผลการดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 จำนวน 262 รายงาน จาก 80 รายการทดสอบ พบผ่านเกณฑ์ประเมิน จำนวน 227 รายงานผล คิดเป็นร้อยละ 87 จาก 58 รายการทดสอบ ไม่ผ่านเกณฑ์ประเมิน 35 รายงานผล จาก 22 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 13 ปัญหาที่พบมากที่สุดได้แก่ ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ เครื่องมือ และการเตรียมตัวอย่าง ตามลำดับ แผนขอการรับรองจำนวน 90 รายการทดสอบ พบได้รับการรับรอง จำนวน 87 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 97 ไม่ได้รับการรับรอง 3 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 3 เกิดจากไม่สามารถดำเนินการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ เนื่องจากเครื่องมือที่ใช้มีสภาพเก่ามีอายุการใช้งานมากกว่า 15 ปี การได้รับการรับรองเป็นผลจากการพัฒนาคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ที่สอดคล้องตามระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง มีการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยดำเนินการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ หลังพบปัญหาดำเนินการแก้ไขอย่างเป็นระบบ ทำให้ผลดำเนินงานผ่านเกณฑ์ประเมินเพิ่มขึ้นจาก 58 รายการทดสอบเป็น 69 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 86 ส่งผลให้เกิดการพัฒนาคุณภาพการให้บริการสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ทันตามกำหนดเวลาปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 ร้อยละ 89, 92, 91, 91, 91, 87 และ 95 ตามลำดับ มีข้อร้องเรียนลดลง จำนวน 4, 3, 0, 1, 2, 0 และ 0 ข้อ ตามลำดับ ลูกคามีความพึงพอใจจากปี พ.ศ. 2550 ถึง 2555 ร้อยละ 77, 85, 86, 87, 85 และ 86 ตามลำดับ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาใช้ในการเฝ้าระวังการดำเนินงานทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ และวางแผนขยายขอบข่ายการรับรองรายการใหม่ ๆ เพื่อเตรียมความพร้อมในการเปิดเสรีทางการค้าของประชาคมอาเซียน ในปี พ.ศ. 2558 ต่อไป

บทนำ

ภารกิจหนึ่งของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์คือ เป็นห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุข มีบทบาทในการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ และให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อเฝ้าระวังและแก้ไขปัญหาสาธารณสุขในพื้นที่รับผิดชอบ⁽¹⁾ ประกอบกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มีนโยบายการดำเนินงานด้านการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการให้ครอบคลุมทุกรายการ ในปี พ.ศ. 2555 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น เป็นหน่วยงานสังกัดกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ดำเนินการพัฒนาคุณภาพการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้ รับรองความสามารถครอบคลุมทุกห้องปฏิบัติการ จำแนกเป็นดำเนินการตามมาตรฐาน ISO/IEC17025:2005⁽²⁾ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการรังสีและเครื่องมือแพทย์ พืชวิทยา ยาและเครื่องสำอาง อาหาร และดำเนินการตามมาตรฐาน ISO 15189:2007⁽³⁾ ได้แก่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาคลินิก เริ่มจากการวางแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ โดยหัวหน้าห้องปฏิบัติการเป็นผู้พิจารณารายการทดสอบที่ดำเนินการของห้องปฏิบัติการที่รับผิดชอบ แล้วรวบรวมเป็น แผนการรับรองความสามารถรวมทุกห้องปฏิบัติการ เพื่อกำหนดเป้าหมายในการพัฒนาให้ได้รับการรับรองความสามารถ ทุกรายการทดสอบระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

อย่างไรก็ตามการขอการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามข้อกำหนดในมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ห้องปฏิบัติการต้องมีผลการประเมินคุณภาพจากภายนอก (External Quality Control) โดยเข้าร่วม ทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ นอกเหนือจากการเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่มีการทดสอบความถูกต้อง (Validated Method) การเลือกใช้เครื่องมือวัดที่ผ่านการสอบเทียบ (Calibrated Equipment) และการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control)⁽⁴⁾ และ ในข้อกำหนด ISO15189 : 2007 ห้องปฏิบัติการต้องเข้าร่วมโปรแกรม ประเมินคุณภาพภายนอกหรือโปรแกรมทดสอบความชำนาญในทุกรายการทดสอบ การเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ ของห้องปฏิบัติการ มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการพัฒนาคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ เพื่อเพิ่มขีดความสามารถ และความพร้อมที่สอดคล้องตามมาตรฐานที่จะส่งผลให้ได้รับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการเพื่อสร้างความเชื่อมั่นแก่ลูกค้า

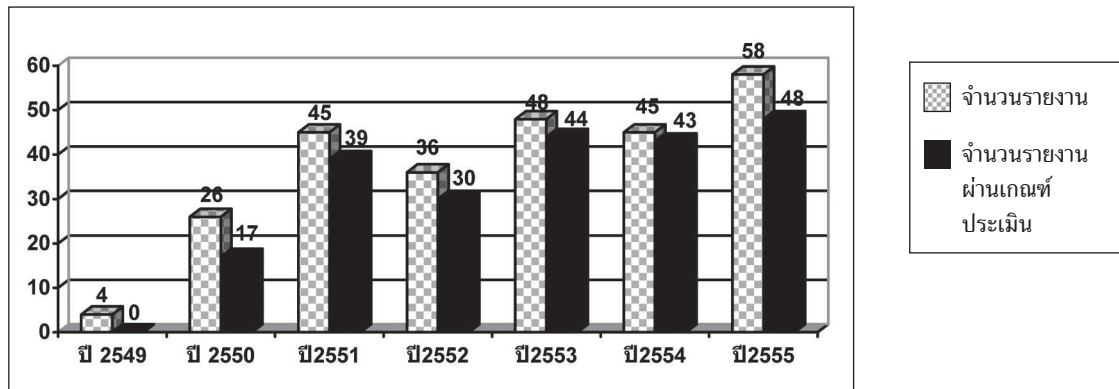
วิธีการศึกษา

ศึกษาวิจัยเชิงพรรณนาโดยใช้วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทุติยภูมิ (Secondary data) จากผลการเข้าร่วมทดสอบ ความชำนาญ และผลดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2555⁽⁵⁾ จากเอกสารรายงานผลดำเนินงาน ปี พ.ศ. 2549⁽⁶⁾ 2550⁽⁷⁾ 2551⁽⁸⁾ 2552⁽⁹⁾ 2553⁽¹⁰⁾ 2554⁽¹¹⁾ 2555⁽¹²⁾ วิเคราะห์ผลดำเนินงานเป็นร้อยละ (percentage) เพื่อประเมินความสามารถในการตรวจ วิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนางานทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ และวางแผนการ ดำเนินงานรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ

ผล

1. การวิเคราะห์เอกสารรายงานผลดำเนินงานการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

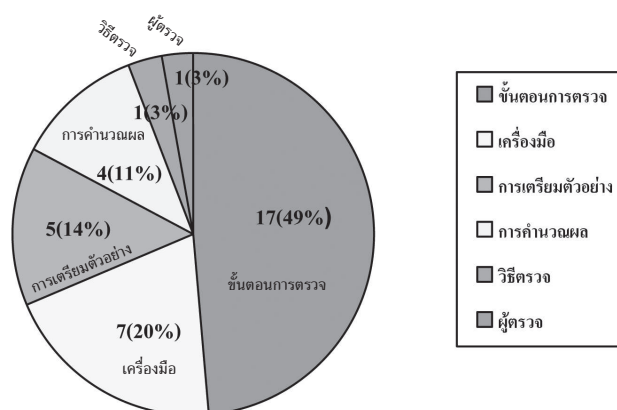
การเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 พบรายงานผลดำเนินงานทั้งสิ้น 262 รายงาน จาก 80 รายการทดสอบ ดำเนินการมากที่สุด ปี พ.ศ. 2555 จำนวน 58 รายงาน รองลงมาปี พ.ศ. 2553 จำนวน 48 รายงาน พบผลดำเนินงานผ่านเกณฑ์ประเมิน ทั้งสิ้นจำนวน 227 รายงาน จาก 58 รายการทดสอบ (แผนภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงจำนวนรายงานผลทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ และผลดำเนินงานผ่านเกณฑ์ประเมิน ปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

2. รวบรวมและวิเคราะห์ปัญหาจากการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ

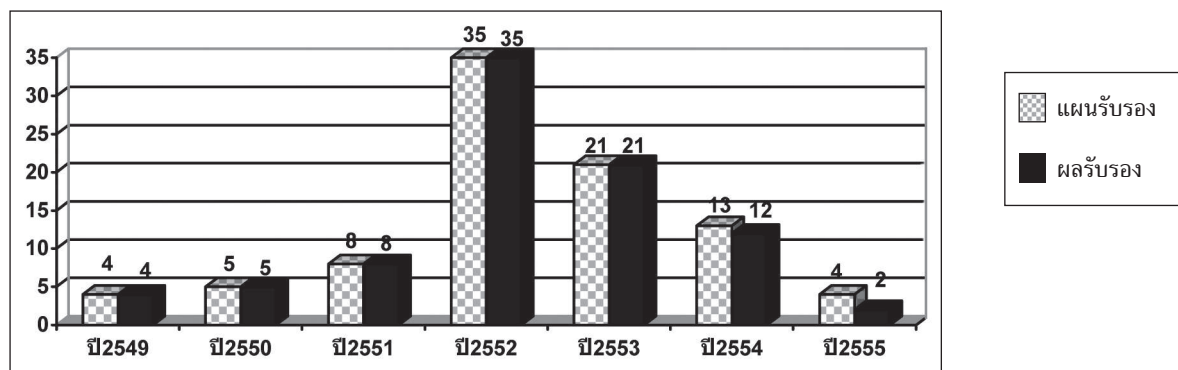
ข้อมูลผลเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 จากเอกสารรายงานผล 262 รายงาน พบไม่ผ่านเกณฑ์ประเมิน 35 รายงาน พบมากในปี พ.ศ. 2555 จำนวน 10 รายงาน รองลงมาคือ ปี พ.ศ. 2550 จำนวน 9 รายงาน นำข้อมูลมาวิเคราะห์พบ ปัญหาในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ 17 รายงาน ปัญหาจากเครื่องมือ 7 รายงาน และปัญหาการเตรียมตัวอย่าง 5 รายงาน ตามลำดับ (ภาพที่ 2) การดำเนินงานหลังจากที่พบผลไม่ผ่านเกณฑ์ประเมินได้ดำเนินการแก้ไขอย่างเป็นระบบ โดยเริ่มจากวิเคราะห์ปัญหา นำไปแก้ไขปรับปรุงและป้องกันการเกิดซ้ำ แล้วรายงานผลการดำเนินการแก้ไขให้ผู้บริหารทราบ หลังจากนั้นได้นำเข้าประชุมการทบทวนการบริหารจัดการ (Management review) ประจำปี แล้วติดตามผลดำเนินงาน พบว่ารายการทดสอบที่ดำเนินการแก้ไขแล้ว พบผลผ่านเกณฑ์ประเมินเพิ่มขึ้นจาก 58 รายการทดสอบเป็น 69 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 86



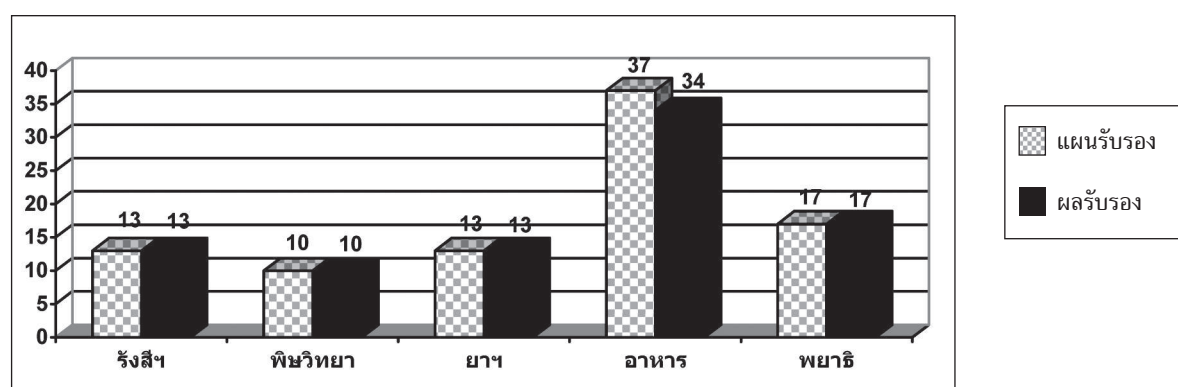
ภาพที่ 2 วิเคราะห์ปัญหาที่พบจากรายงานผลทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

3. ผลดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

ตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 จำนวน 90 รายการทดสอบดำเนินการมากที่สุดปี พ.ศ. 2552 จำนวน 35 รายการ ปี พ.ศ. 2553 จำนวน 21 รายการ และปี พ.ศ. 2554 จำนวน 13 รายการ ตามลำดับ พบได้รับการรับรองทุกรายการปี พ.ศ. 2549 ถึง 2553 (ภาพที่ 3) และพบดำเนินการมากที่สุดด้านอาหาร จำนวน 37 รายการ รองลงมาด้านพยาธิวิทยาคลินิกจำนวน 17 รายการ และน้อยที่สุดด้านพิษวิทยาจำนวน 10 รายการ พบได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ รวม 87 รายการคิดเป็นร้อยละ 97 โดยได้รับการรับรองทุกรายการด้านรังสีเครื่องมือแพทย์ พิษวิทยา ยาและเครื่องสำอาง และพยาธิวิทยาคลินิก (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 แสดงจำนวนแผนและผลการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการจำแนกรายปีระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555



ภาพที่ 4 แสดงจำนวนแผนและผลการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการจำแนกตามห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

การเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการเพื่อควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ส่งผลให้ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ และพัฒนาการให้บริการ โดยสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ทันตามกำหนดเวลาสูงสุดในปี พ.ศ. 2555 ร้อยละ 95 รองลงมาปี พ.ศ. 2550 ร้อยละ 92 มีข้อร้องเรียนปี พ.ศ. 2549 จำนวน 4 ครั้ง ปี พ.ศ. 2550 จำนวน 3 ครั้ง และไม่พบข้อร้องเรียนในปี พ.ศ. 2511, 2554 และ 2555 ลูกค้านี้มีความพึงพอใจสูงสุดปี พ.ศ. 2553 ร้อยละ 87 รองลงมาคือ ปี พ.ศ. 2552 และ 2555 ร้อยละ 86 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลสะท้อนผลการดำเนินงานรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

รายการ	ปีงบประมาณ (พ.ศ.)						
	2549	2550	2551	2552	2553	2554	2555
จำนวนตัวอย่างส่งทดสอบ	21,631	25,486	25,634	29,974	22,664	20,930	21,092
รายงานผลทันตามกำหนดเวลา (ร้อยละ)	89	92	91	91	91	87	95
ข้อร้องเรียน (ข้อ)	4	3	0	1	2	0	0
ความพึงพอใจ (ร้อยละ)	ไม่ได้	77	85	86	87	85	86
ดำเนินการ							

วิจารณ์

การดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 จำนวน 90 รายการทดสอบ ได้รับการรับรองความสามารถ 87 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 97 ซึ่งเป็นผลจากการพัฒนาคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สอดคล้องตามระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง มีกระบวนการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ หรือการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (Proficiency testing, PT) หลังพบปัญหาจากการดำเนินงานมีการแก้ไขอย่างเป็นระบบโดยการค้นหาสาเหตุ ดำเนินการแก้ไข และป้องกันการเกิดซ้ำ แล้วรายงานผลการปรับปรุงแก้ไขให้ผู้บริหารทราบ และนำเข้าสู่ประชุมการทบทวนบริหารจัดการ (Management review) ประจำปี ทำให้ปัญหาไม่พบซ้ำในรายการตรวจวิเคราะห์เดิม และพบผลดำเนินงานผ่านเกณฑ์ประเมินเพิ่มขึ้น จาก 58 รายการทดสอบ เป็น 69 รายการทดสอบ คิดเป็น ร้อยละ 86

การดำเนินงานที่ไม่ได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามแผน ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในน้ำดื่มและน้ำแข็ง ซึ่งใช้เทคนิคการตรวจด้วยเครื่อง AAS (Atomic Absorption Spectroscopy) การตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร และการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสีสังเคราะห์ในอาหาร ใช้เทคนิคการตรวจด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ปัญหาที่พบเกี่ยวข้องกับเครื่องมือที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ ถึงแม้ว่าจะดำเนินการบำรุงรักษาและสอบเทียบตามกำหนดเวลา แต่เนื่องจากเครื่องมือมีสภาพเก่ามีอายุการใช้งานมากกว่า 15 ปี ทำให้ไม่สามารถดำเนินการในขั้นตอนการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ ส่งผลให้การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการไม่ผ่านเกณฑ์ประเมินและเป็นผลให้ไม่ได้รับการรับรองความสามารถทางห้องปฏิบัติการในปี พ.ศ. 2554 และ พ.ศ. 2555 จึงได้นำเสนอผู้บริหารเพื่อแก้ไข และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ได้รับการจัดสรรงบประมาณจัดซื้อเครื่อง HPLC ใหม่ในปี พ.ศ. 2557

การพัฒนางานโดยการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ ส่งผลให้ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ และพัฒนาการให้บริการโดยสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ทันตามกำหนดเวลาร้อยละ 87 ถึง 95 มีข้อร้องเรียนลดลงและไม่พบลูกค้ามีความพึงพอใจหลังดำเนินงานปี พ.ศ. 2550 มากกว่าร้อยละ 85

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการดำเนินงานทดสอบความชำนาญ และการวางแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติให้ครอบคลุมโดยเฉพาะเครื่องมือที่เกี่ยวข้องต้องสอบเทียบตามกำหนดเวลาและตรวจเช็คสภาพก่อนการใช้งานทุกครั้ง นอกจากนี้ยังใช้วางแผนในเชิงบริหารเพื่อขยายขอบข่ายการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ เพื่อเตรียมความพร้อมในการเปิดเสรีทางการค้าของประชาคมอาเซียนในปี พ.ศ. 2558 ต่อไป

สรุป

การดำเนินงานตามแผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 จำนวน 90 รายการทดสอบ ได้รับการรับรองความสามารถ 87 รายการทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 97 ซึ่งเป็นผลจากการพัฒนาคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สอดคล้องตามระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง มีการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยดำเนินเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ และพัฒนาการให้บริการสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ทันตามกำหนดเวลาปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555 ร้อยละ 89, 92, 91, 91, 91, 87 และ 95 ตามลำดับ มีข้อร้องเรียนลดลงจำนวน 4, 3, 0, 1, 2, 0 และ 0 ข้อ ตามลำดับ ลูกค้ามีความพึงพอใจจากปี พ.ศ. 2550 ถึง 2555 ร้อยละ 77, 85, 86, 87, 85 และ 86 ตามลำดับ ดังนั้นผลที่ได้จากการดำเนินการเป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนางานด้านการเข้าร่วมทดสอบ

ความชำนาญ และวางแผนในการพัฒนาขยายขอบข่ายการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการในรายการทดสอบใหม่ ๆ เพื่อเตรียมความพร้อมในการเปิดเสรีทางการค้าของประชาคมอาเซียนในปี พ.ศ. 2558 ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายอุดมเกียรติ พรหมประเทศ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ที่ให้ความสำคัญในเรื่องการพัฒนาศูนย์การตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ สนับสนุนทั้งทรัพยากร แนวคิด ตลอดจนเป็นที่ปรึกษาในการดำเนินงาน และบุคลากรของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ทุกคนที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินกิจกรรมการพัฒนานี้ในหน่วยงานมาโดยตลอด

เอกสารอ้างอิง

1. กฎกระทรวงแบ่งส่วนราชการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2552. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 126, ตอนที่ 98 ก (ลงวันที่ 28 ธันวาคม 2552).
2. ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. 2nd ed. Geneva, Switzerland: ISO; 2005.
3. ISO 15189:2007. Medical laboratories -- Particular requirements for quality and competence. Geneva, Switzerland: ISO; 2007.
4. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. การประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์/การทดสอบความชำนาญ. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 18 ส.ค. 2557]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: http://webdb.dmssc.moph.go.th/ifc_qa/dbqa/default.asp?iID=EFJGEL
5. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. แผนรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2549–2555. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2555.
6. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2549. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2549.
7. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2550. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2550.
8. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2551. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2551.
9. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2552. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2552.
10. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2553. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2553.
11. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2554. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2554.
12. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น. เอกสารรายงานผลดำเนินงานด้านรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2555. ขอนแก่น: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2555.

Achievement of Laboratory Accreditation Program from 2006-2012 of the Regional Medical Sciences Center 7th Khonkaen

Tanniti Janlueang

Regional Medical Sciences Center 7th Khonkaen, Amphoe Muang Khonkaen 40000. Thailand

ABTRACT The Regional Medical Sciences Center 7th Khon-kaen is a medical and public health laboratory which play an important role in developing a variety of laboratory analyses as well as provide laboratory analysis service required for public health surveillance and solving the public health relating problems within the area of responsibility. This study was conducted by collecting the PT test reports and laboratory competency approval document. From a total number of 262 reports resulting from 80 test items from year 2006-2012, there were 227 reports (87%) from 58 test items passing the criteria. Thirty-five reports (13 %) from 22 test items did not pass the criteria. A total number of 90 test items assessed for accreditation from year 2006-2012 were studied. The results showed that 87 test items (97%) were accredited. The three test items (3%) were non-compliance owing to malfunctioning of old equipment, more than 15 years old, making it unable to determine the measurement uncertainty. Due to the achievement of laboratory accreditation, the quality of service was improved. The result were increasing from 58 test items to 69 test items (86%) and the proportion of results reported back to the customers within time form 2006 to 2012 were 89, 92, 91, 91, 87, and 95 respectively. The numbers of complaints from customer were 4, 3, 0, 1, 2, 0, and 0, respectively. The percentages of satisfied customer from year 2007 to 2012 were 77, 85, 86, 87, 85, and 86 respectively. The results of this study are useful for PT surveillance and preparing for expanding accredited laboratory's scope for the upcoming of AEC in 2015.

Key word: Laboratory Accreditation, proficiency testing

ดัชนีชื่อผู้พิมพ์

ว กรมวิทย พ 56 (1-4) 2557

ก		ด	
กนกวรรณ เทพเลื่อน	56 : 1 : 52-60	ดาวริน สุขเกษม	56 : 1 : 52-60
กนกวรรณ ต้นสกุล	56 : 2 : 135-143		
	56 : 4 : 205-212		
กรรณิกา จิตติยศรา	56 : 4 : 193-204	ณอมศิริ สุนทรธรรม	56 : 4 : 184-192
ก่อเกียรติ ศาสตรินทร์	56 : 2 : 135-143		
กัญญา พุกสุน	56 : 4 : 205-212		
ข		ท	
ชั้นทอง เพ็ชรนอก	56 : 2 : 135-143	ทองพันธ์ สัจจาปะละ	56 : 2 : 135-143
	56 : 4 : 205-212		56 : 4 : 205-212
จ		ธ	
จารุวรรณ ใจอ้าย	56 : 1 : 20-28		
จิตรา ชัยวัฒน์	56 : 3 : 109-122		
	56 : 2 : 123-134		
จิราณูช แจ่มทวีกุล	56 : 2 : 123-134		
	56 : 1 : 52-60		
ช		น	
ชมโฉไล สันธูสาร	56 : 2 : 158-169	นันทนา กลิ่นสุนทร	56 : 1 : 40-51
ชมพูนุท นุตสถาปนา	56 : 1 : 40-51		
ญ		บ	
ญานิกา รัตนสุวรรณ	56 : 4 : 171-183	บุญทริกา บุญญาภิวัฒน์	56 : 2 : 61-74
			56 : 4 : 171-183
ฐ		ป	
ฐิตาภรณ์ ภูติภินโยวัฒน์	56 : 2 : 144-157	ประเชิญ เชษฐสิงห์	56 : 2 : 75-82
		ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์	56 : 1 : 20-28
		ประสิทธิ์ โอภาส	56 : 2 : 100-108
		ปรัชญาพร อินทองแก้ว	56 : 2 : 123-134
		ปราณี นาคประสิทธิ์	56 : 2 : 91-99
		ปรีชญา มาประดิษฐ์	56 : 1 : 40-51
		ปิยนาก สีวิวัฒน์	56 : 1 : 52-60
ณ		พ	
ณัฐนิษฐ์ อาภาภูมิพัทธ์	56 : 1 : 20-28	พงษ์ธร ทองบุญ	56 : 1 : 52-60
ณัฐตรา จันทรสุวานิชย์	56 : 1 : 1-19	พัชชา อินคำสืบ	56 : 1 : 20-28

พิไลลักษณ์ อัคระไพบูลย์ โอภาตะ	56 : 4 : 184-192		ศ
เพียงใจ อามีนเจริญ	56 : 1 : 20-28	ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง	56 : 1 : 1-19
		ศิริมา ปัทมดิลก	56 : 1 : 20-28
ย			
ยุวดี เมตตาเมธา	56 : 1 : 1-19		ส
ร			
รณยุทธ ไพศาล	56 : 2 : 75-82	สดุติ รัตนจรัสโรจน์	56 : 1 : 1-19
รัชฎาภรณ์ คงเมือง	56 : 2 : 61-74	สมชาย แสงกิจพร	56 : 4 : 184-192
		สมรัตน์ เลิศมหาฤทธิ์	56 : 4 : 184-192
		สันติกิจ นิลอุดมศักดิ์	56 : 2 : 91-99
		สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์	56 : 2 : 123-134
ว			
วรวรรณ ศิริชัย	56 : 4 : 184-192	สายวรุฬ จตุรจิตตินันท์	56 : 2 : 144-157
วันเพ็ญ ดวงสว่าง	56 : 2 : 83-90	สุขใจ ผลอำไพสถิตย์	56 : 4 : 184-192
วารุณี จิรวัฒนาพงศ์	56 : 1 : 1-19	สุภาณี ดวงธีรปริชา	56 : 2 : 100-108
วิชชุดา จริยะพันธุ์	56 : 2 : 144-157	สุภาวรรณ จงธรรมวัฒน์	56 : 2 : 83-90
วิภาพรรณ ไสยสมบัติ	56 : 2 : 100-108	สุภาวัลย์ ปิยรัตนวรสกุล	56 : 2 : 158-169
วีระ สรเศรษฐ์วงศ์	56 : 4 : 184-192	สุรัชณี เศวตศิลา	56 : 1 : 29-39
อ			
		อธิวัฒน์ ปริณสิริคุณาวุฒิ	56 : 1 : 20-28
		อัจฉริยา ลูกบัว	56 : 1 : 20-28
		อุบลวรรณ รอดประดิษฐ์	56 : 2 : 91-99

AUTHOR INDEX

Bull Dept Med Sci 56 (1-4), 2014

A		N	
Atchariya Lukebua	56 : 1 : 20-28	Nantana Klinsoonthorn	56 : 1 : 40-51
Athiwat Primsirikunawut	56 : 1 : 20-28	Nuchattra Chansuvanich	56 : 1 : 1-19
		Nutthanitt Arpaphrommipath	56 : 1 : 20-28
B		P	
Boontarika Boonyapiwat	56 : 2 : 61-74	Parichaya Mapradit	56 : 1 : 40-51
	56 : 4 : 171-183	Patcha Incomserb	56 : 1 : 20-28
C		Phiengjai Armeencharoen	56 : 1 : 20-28
Chitra Chaiyawat	56 : 3 : 109-122	Pilailuk Aukapaiboon Okada	56 : 4 : 184-192
	56 : 3 : 123-134	Piyanart Leevivat	56 : 1 : 52-60
Chomchilai Sinthusarn	56 : 3 : 158-169	Pongtorn Thongboon	56 : 1 : 52-60
Chompoonut Nutsata	56 : 1 : 40-51	Prachern Chettasingh	56 : 2 : 75-82
D		Prachyaporn Inthongkaew	56 : 3 : 123-134
Daorin Sukkas	56 : 1 : 52-60	Pranee Nakprasit	56 : 2 : 91-99
		Prasit Opas	56 : 2 : 100-108
J		Prasopchai Aramrunroj	56 : 1 : 20-28
Jaruwan Jai-ai	56 : 1 : 20-28	R	
Jiranuch Jamtaweekul	56 : 3 : 123-134	Rassadaphorn Kongmoung	56 : 2 : 61-74
Jiraporn Phetrak	56 : 1 : 52-60	Roonnayut Phaisan	56 : 2 : 75-82
K		S	
Kannika Jittiyossara	56 : 4 : 193-204	Sadudee Rattanajarasroj	56 : 1 : 1-19
Kanogwan Toonsakool	56 : 3 : 135-143	Saiwarul Jadoonkittinan	56 : 3 : 144-157
	56 : 4 : 205-212	Sakwichai Ontong	56 : 1 : 1-19
Kanokwan Thepluein	56 : 1 : 52-60	Santakit Ninudomsak	56 : 2 : 91-99
Kanya Puksun	56 : 4 : 193-204	Santipong Wongpentak	56 : 3 : 123-134
Kokeiat Sarttarin	56 : 3 : 135-143	Sirima Pattamadilok	56 : 1 : 20-28
Kuntong Pednog	56 : 3 : 135-143	Somchai Sangkitporn	56 : 4 : 184-192
	56 : 4 : 205-212	Somrat Lertmahalit	56 : 4 : 184-192
		Sukjai Pholampaisathit	56 : 4 : 184-192

Supanee	Duangteraprecha	56 : 2 : 100-108	Veera	Suraseraneewong	56 : 4 : 184-192
Supawan	Piyaratanavarasakul	56 : 3 : 158-169	Vorawan	Sirichai	56 : 4 : 184-192
Supawan	Chongthamawa	56 : 2 : 83-90			
Suratchanee	Savetsila	56 : 1 : 29-39		W	
			Wanpen	Duangawang	56 : 2 : 83-90
	T		Warunee	Jirawattanapong	56 : 1 : 1-19
Tanniti	Janlueang	56 : 4 : 213-219	Wichuda	Jariyapan	56 : 3 : 144-157
Tanongpan	Satjapala	56 : 3 : 135-143	Wipapan	Saiyasombat	56 : 2 : 100-108
		56 : 4 : 205-212			
Thanomsiri	Soontornthum	56 : 4 : 184-192		Y	
Titaporn	Pootipinyowat	56 : 3 : 144-157	Yanika	Rattanasuwan	56 : 4 : 171-183
			Yuwadee	Mettametha	56 : 1 : 1-19
	U				
Ubonwan	Rodpradit	56 : 2 : 91-99			
	V				

ดัชนีชื่อเรื่อง

ว กรรมวิทย พ 56 (1-4) 2557

ก

การจัดทำสนามรังสีสำหรับ การสอบเทียบค่ามาตรฐาน เครื่องสำรวจรังสี	56 : 2 : 75-82	การศึกษาพฤติกรรมการบริโภค อาหารเพื่อการประเมิน ความเสี่ยงด้านจุลชีววิทยา	56 : 2 : 91-99
การตรวจหาดีเอ็นเอปนเปื้อนจาก host cell ในยาที่ผลิต โดยเทคโนโลยีชีวภาพ	56 : 2 : 61-74	การศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์ ประสาทของสารสกัด มะกอกน้ำต่อการตายของเซลล์ จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกลูตาเมตในเซลล์ประสาท เพาะเลี้ยง Mouse Neuroblastoma	56 : 1 : 1-20
การตรวจเอกลักษณ์ ทางเคมี-ฟิสิกส์ของเทียนแดง	56 : 3 : 109-122	การสำรวจคุณภาพยาจาก สมุนไพรในเขตสาธารณสุข ที่ 4 และ 5	56 : 1 : 40-51
การทดสอบความถูกต้อง ของวิธี Capillary Electrophoresis-Sodium Dodecyl Sulfate เพื่อตรวจสอบ เอกลักษณ์และความบริสุทธิ์ของ โมโนโคลนอลแอนติบอดี	56 : 3 : 144-157	การเสริมสร้างความเข้มแข็ง ระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ควบคุมคุณภาพยาของประเทศไทย ผ่านการเข้าร่วม WHO Prequalification Programme	56 : 1 : 29-39
การประเมินความเสี่ยงด้าน สิ่งแวดล้อมในเส้นก๋วยเตี๋ยว	56 : 3 : 135-143		
การประเมินผลการถ่ายทอด องค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี	56 : 1 : 52-60		

ค

การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ สำหรับเอนไซม์ streptokinase โดยวิธี SDS-PAGE/Western Blot เพื่อทดแทนวิธีวิเคราะห์ตามเอนไซม์	56 : 4 : 171-183	ความปลอดภัยของยาจาก สมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ คำร้อยละสัมประสิทธิ์การ เปลี่ยนแปลงในการประเมิน คุณภาพภายนอกระดับชาติ ของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ในประเทศไทย พ.ศ. 2551-2556	56 : 3 : 123-134 56 : 3 : 158-169
การพัฒนาวิธีตรวจหาสาร พันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่าง ส่งตรวจด้วยวิธี Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	56 : 1 : 20-28	คุณภาพยาไดคลอกซาซิลลิน โซเดียม ชนิดแคปซูล ในประเทศไทย	56 : 2 : 100-108

คุณภาพและความปลอดภัย 56 : 4 : 193-204

ของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิต
ในประเทศและที่นำเข้า
จากต่างประเทศ

ป

ประเมินวิธีตรวจหา 56 : 4 : 184-192

HPV-16 DNA ด้วยวิธี
quantitative Real-time PCR

ผ

ผลของความหนาต่อค่าความดัน 56 : 2 : 83-90

และปริมาตรขณะแตกของ
ถุงยางอนามัย

ผลสัมฤทธิ์การดำเนินงาน 56 : 4 : 205-212

ตามแผนรับรองความสามารถ

ห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์

การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น

ระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2555

ส

สำรวจการปนเปื้อนของพยาธิและ 56 : 4 : 205-213

การลดพยาธิในผักสดโดยการล้าง

TITLE INDEX

Bull Dept Med Sci 55 (1-4), 2013

A

Achievement of Laboratory 56:4:213-219
Accreditation Program from
2006-2012 of the Regional
Medical Sciences Center 7th Khonkaen

Method Validation of Capillary 56:3:144-157
Electrophoresis-Sodium Dodecyl
Sulfate for Identity and Purity
Analysis of Monoclonal Antibodies

D

Detection of Residual Host 56:2:61-74
Cell DNA in Biotechnological Drugs

P

Physico-Chemical Identification 56:3:109-122
of THIAN DAENG

E

Establishment of Known 56:2:75-82
Radiation Fields for Calibration
of Survey Meter

Q

Quality and Safety of Local and 56:4:193-204
Imported Natural Mineral Water

Establishment of Rverse 56:1:20-28
Transcription-Polymerase Chain
Reaction (RT-PCR)] for Detection
of Mumps Nucleic Acid from
Clinical Specimens

R

Risk Assessment of Light Filth 56:3:135-143
in Rice Noodle

Evaluating of Medical Sciences 56:1:52-60
Knowledge and Technology
Tranferring to Local Government
in Surat Thani Province During

S

Safety of Herbal Medicines 56:3:123-134
in the National List of Essential
Medicines

Method Development for 56:4:171-183
Identification of Streptokinase
in Pharmaceutical Formulation
by SDS-PAGE/Western Blot as
an Alternative to Pharmacopoeia Method

Strengthening Quality System 56:1:29-39
of National Pharmaceutical Control
Laboratories of Thailand Through
Participating in WHO Prequalification
Programme
Study on Food Consumption 56:2:91-99
Behavior for Microbiological
Risk Assessment

-
- | | |
|--|--|
| <p>Contamination and Reducing 56:4:205-212
of Parasite in Fresh
Vegetables by Washing</p> <p>Survey of the Quality of Herbal 56:1:40-51
Medicine in the Public Health
Region 4 and 5</p> <p style="text-align: center;">T</p> <p>The Effect of Thickness to 56:2:83-90
Bursting Pressure and Bursting
Volume of Natural Latex
Rubber Condoms</p> <p>The Percent CCV from National 56:3:158-169
External Quality Assessment
of Clinical Chemistry Laboratory
in Thailand, 2008-2013 Experience</p> | <p>The Quality of Dicloxacillin 56:2:100-108
Sodium Capsules in Thailand</p> <p>The Study of Neuroprotective 56:1:1-19
Effects of Makok-nam
(Elaeocarpus sp.) Extracts on
Hhydrogen Peroxide and
Glutamate-induced Neurotoxicity
in Mouse Neuroblastoma Cells</p> <p style="text-align: center;">V</p> <p>Validation of in-house HPV-16 56:4:184-192
DNA Quantitative Real-time PCR
Testing for Clinical Uses</p> |
|--|--|
-

คำขอบคุณ

คณะบรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบพระคุณท่านผู้สละเวลาอันมีค่ากรุณาตรวจ
แก้ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 56 ฉบับที่ 1-4 พ.ศ. 2557 ดังมีรายนามต่อไปนี้

รศ.ศรีสันท อินทรมณี
รศ. ดร.ดาราวรรณ ปิ่นทอง
ดร.วสันต์ จันทราทิตย์
รศ. ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์
นางสาวพรทิพย์พา เตมียกุล
นางสุภัทรา อิ่มเอิบ
ดร.จงดี้ ว่องพินัยรัตน์
นางสาวเมตตา ตรีบำรุง
นางเดือนถนอม พรหมชาติแก้ว
นางนลินภัทร์ ศักดิ์ติยสุนทร
นางลัดดาวัลย์ โรจนพรรณทิพย์
นายปรีชา จิงสมานกุล
นายศิริ ศรีมนโรถ
นางสาวสุรัชณี เสวตศิลา
ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา
นายทรงพล ชีวะพัฒน์
ดร.ปนัดดา เทพอัศร
ดร.สุเมธ เทียงธรรม

รศ. ดร.จุรีรัตน์ ดาดวง
ศ. ดร.ไพโลพันธ์ พุฒินะ
รศ. ดร.ภาวพันธ์ ภัทรโกศล
นายอนันตศักดิ์ วงศ์กำแหง
ดร.นวลตา ม่วงน้อยเจริญ
นางสาวจุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์
นางสาวนันทนา สิทธิชัย
นางสุขศรี อึ้งบริบูรณ์ไพศาล
นางหรรษา ไชยวานิช
นางสุวรรณา จารุหนู
นางสาวทิพวรรณ นิ่งน้อย
นางนวพร อนันตสินกุล
นางนิภาภรณ์ ลักษณะสมยา
นางอรพิน ทนันทิต
นายอรัญ ทนันทิต
นางสุดิธา หมีทอง
นายวัฒนพงษ์ วุทธา
นางดวงดาว วงษ์สมมาตร

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	Wanchai Sattayawuthipong
Technical Advisor	Amara Vongbuddhapitak	Mayura Kusum
	Jongdee Wongpinairat	Pimjai Naigowit
	Supatra Im-Erb	Sumol Pavittranon
	Panadda Silva	
Editor	Yaowapa Pongsuwanna	
Editorial Board	Somchai Bovornkitti	Prasert Auewarakul
	Orasa Suthienkul	Pilaipan puthavathana
	Aree Thattiyaphong	Jurai Chotichanathawewong
	Siri Srimanoroth	Usavadee Thavara
	Kanokporn Atisook	Wichuda Jariyapan
	Suthon Vongsheree	Malinee Chittaganpitch
	Suwanna Tienungoon	Siripakorn Sangkitporn
	Wimol Petkanchanapong	Prapai Wongsinkongman
	Charoendee Pingsuthiwong	Walailuk Matapatara
	Areerat Sa-ngasang	
Secretary	Paiwan Boonwong	
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 จับไวบริการ มาตรฐานสากล

www.dmsc.moph.go.th