

วารสาร



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 56 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2557

Vol. 56 No. 1 January – March 2014

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	
ที่ปรึกษาด้านบริหาร	นายอภิชัย มงคล	นางจุรีภรณ์ บุณยวงศ์วิโรจน์
	นางวารุณี จินารัตน์	นายวันชัย สัตยาวุฒิพงศ์
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	นางสาวอมรา วงศ์พุทธพิทักษ์	นางสุภัทรา อิ่มเอิบ
	นางสาวจุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์	นางมยุรา กุสุมภ์
	นางจงดี ว่องพินัยรัตน์	นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท
	นางสาวสุมล ปวีตรานนท์	
บรรณาธิการ	นางเยาวภา พงษ์สุวรรณ	
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	นางสาวลักขณา ลือประเสริฐ	นางเพ็ญศรี รอดมา
	นายวัฒนา อุ้วาณิชย์	นางเลาจนา เขาวนาดีชัย
	นางสาวบุษราวรรณ ศรีวรรณะ	
คณะบรรณาธิการ	นางสาวณัฐจิราวรรณ ปุ่นวัน	นางปทุมพิศ วิมลวัตรเวที
	นางนพพร อนันตสินกุล	นางอังคณา ทิริญสาลี
	นายมนัส อัดตวิษญ์	นางสาวอรอนงค์ รัชตราเซนชัย
	นางสาววิยะดา อัครวุฒิ	นางกนกพร อธิสุข
	นายศิริ ศรีมโนรถ	นางสาวกัลยา อนุลักขณาปรกรณ์
	นายอาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์	นายธีระพล คชาชีวะ
	นางสาวเจริญดี ปิงสุทธีวงศ์	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ
ฝ่ายจัดการ	นางสาวประสาน จุลวงษ์	
กำหนดออก	ราย 3 เดือน	
อัตราสมาชิก	ในประเทศปีละ 200.- บาท	
	ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา	
สำนักงานวารสาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	
	88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000	
	โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297	
พิมพ์ที่	หจก. อรุณการพิมพ์	
	457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200	
	โทร. 0-2282-6036	

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 56 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2557

Vol. 56 No. 1 January – March 2014

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำต่อการตายของเซลล์
จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกลูตาเมตในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง **Mouse Neuroblastoma** 1
สดุดี รัตนจรัสโรจน์ วารุณี จิรวัดนาพงศ์ อนุฉัตรา จันทรสุนทรชัย ยุวดี เมตตาเมธา
และศักดิ์วิชัย อ่อนทอง
- การพัฒนาวิธีตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างส่งตรวจด้วยวิธี
Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 20
พัชชา อินคำสืบ อัจฉริยา ลูกบัว อธิวัฒน์ ปริมลศิริคุณาวุฒิ ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์
เพียงใจ อามีนเจริญ จารุวรรณ ใจอ้าย ญัฏฐนิษฐ์ อาภาภูมิพัทธ์ และศิริมา ปัทมดิลก
- การเสริมสร้างความเข้มแข็งระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพยา 29
ของประเทศไทยผ่านการเข้าร่วม **WHO Prequalification Programme**
สุรัชณี เสวตศิลา

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

- การสำรวจคุณภาพยาสมุนไพรในเขตสาธารณสุขที่ 4 และ 5 40
นันทนา กลิ่นสุนทร ชมพูนุท นุตสถาปนา และปรีชญา มาประดิษฐ์
- การประเมินผลการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครอง
ส่วนท้องถิ่นในจังหวัดสุราษฎร์ธานี 52
จิราภรณ์ เพชรรักษ์ กนกวรรณ เทพเลื่อน ดาวริน สุขเกษม พงษ์ธร ทองบุญ
และปิยนดา สิริวัฒน์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 56 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2557

Vol. 56 No. 1 January - March 2014

CONTENTS

Page

Original Articles

- The Study of Neuroprotective Effects of Makok-nam (*Elaeocarpus* sp.)
Extracts on Hydrogen Peroxide and Glutamate-induced Neurotoxicity
in Mouse Neuroblastoma Cells** 1

*Sadudee Rattanajarasroj Warunee Jirawattanapong Nuchattrra Chansuvanich
Yuwadee Mettametha and Sakwichai Ontong*

- Establishment of Reverse Transcription-Polymerase
Chain Reaction (RT-PCR) for Detection of Mumps Nucleic
Acid from Clinical Specimens** 20

*Patcha Incomserb Atchariya Lukebua Athiwat Primsirikunawut
Prasopchai Aramrungrroj Phiengjai Armeencharoen and Sirima Pattamadilok*

- Strengthening Quality System of National Pharmaceutical
Control Laboratories of Thailand through participating in
WHO Prequalification Programme** 29

Suratchanee Savetsila

Laboratory Findings

- Survey of the Quality of Herbal Medicines in the Public Health Regions
4 and 5** 40

Nantana Klinsoonthorn Chompoonut Nutsatapana and Parichaya Mapradit

- Evaluating of Medical Sciences Knowledge and Technology transferring
to Local Government in Surat Thani Province.** 52

*Jiraporn Phetrak Kanokwan Thepluein Daorin Sukkasem
Pongtorn Thongboon and Piyanart Leevivat*



บทบรรณาธิการ



สวัสดีผู้อ่านวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 1 ปีที่ 56 ทุกท่าน ในฉบับนี้เราได้ปรับขนาดรูปเล่มของวารสารเป็นเล่มขนาด เอ 4 แต่ยังคงเอกลักษณ์ของรูปแบบเดิมอยู่ การจัดทำวารสารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการด้านการวิจัย และข่าวสารอื่นๆ สู่วงการวิทยาศาสตร์การแพทย์ เราได้รับตีพิมพ์เผยแพร่บทความด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์จากผู้นิพนธ์ทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานเพื่อให้เกิดความหลากหลายของผลงานวิชาการ ในวารสารฉบับนี้มีบทความที่น่าสนใจซึ่งเป็นนิพนธ์ต้นฉบับและรายงานจากห้องปฏิบัติการจำนวนทั้งหมด 5 เรื่อง นิพนธ์ต้นฉบับเรื่องแรก “ฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำต่อการตายของเซลล์จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกลูตาเมตในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง Mouse Neuroblastoma” โดยคุณสุดดี รัตนจรัสโรจน์ และคณะ คณะผู้วิจัยมีสมมุติฐานว่า antioxidant substance ในมะกอกน้ำ สามารถป้องกันหรือลดการตายของเซลล์ประสาทซึ่งเป็นการชะลอความเสื่อมของเซลล์ประสาทซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer’s disease) นิพนธ์ต้นฉบับเรื่องที่ 2 “การพัฒนาวิธีตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างส่งตรวจด้วยวิธี Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)” โดยคุณพัชชา อินคำสืบ และคณะ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมโดยวิธี RT-PCR เปรียบเทียบกับวิธี Gold standard คือการแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยง มีวัตถุประสงค์เพื่อลดระยะเวลาในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ และต้องการพิสูจน์ว่าวิธีที่พัฒนามีความจำเพาะ ความไว และความถูกต้องที่ยอมรับได้ นิพนธ์ต้นฉบับเรื่องที่ 3 “การเสริมสร้างความเข้มแข็งระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการควบคุมยาของประเทศไทยผ่านการเข้าร่วม WHO Prequalification Programme” โดย คุณสุรัชณี เสวตศิลา ผลการดำเนินงานทำให้ห้องปฏิบัติการดังกล่าวของสำนักยาและวัตถุเสพติดได้รับการรับรองเป็นแห่งแรกในกลุ่มประเทศสมาชิกเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปี 2555 สำหรับรายงานจากห้องปฏิบัติการอีก 2 เรื่อง โดยเรื่องที่ 1 “การประเมินผลการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในจังหวัดสุราษฎร์ธานี” โดย คุณจิราภรณ์ เพชรรักษ์ และคณะ เป็นการดำเนินการถ่ายทอดเทคโนโลยีวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่ชุมชน มุ่งเน้นการเฝ้าระวังความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์สุขภาพให้ภาคีเครือข่ายในเขตรับผิดชอบของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี และท้ายสุดเป็นรายงานจากห้องปฏิบัติการ “การสำรวจคุณภาพยาสมุนไพรในเขตสาธารณสุขที่ 4 และ 5” โดยคุณนันทนา กลิ่นสุนทร และคณะ ได้ดำเนินการวิเคราะห์หาสิ่งปนเปื้อนในยาสมุนไพร ได้แก่ ยาแผนปัจจุบันที่ถูกปนในยาสมุนไพร การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก โดยได้รับตัวอย่างส่งตรวจจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดโรงพยาบาล และประชาชนทั่วไป จัดทำมารายงานเพื่อเตือนภัยถึงปัญหาที่พบในเรื่องดังกล่าว รายละเอียดบทความแต่ละเรื่องน่าติดตามอ่านเป็นอย่างยิ่ง

คณะบรรณาธิการขอขอบคุณผู้อ่านบทบรรณาธิการ (Reviewer) ผู้นิพนธ์บทความ และผู้อ่านวารสารทุกท่าน เราหวังว่าจะได้รับข้อเสนอแนะในการจัดทำวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบกันใหม่กับบทความที่มีสาระเข้มข้นในฉบับต่อไป

ดร.เยาวภา พงษ์สุวรรณ

บรรณาธิการ

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ประเภทของบทความ

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รับผิดชอบบทความ ประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานจากห้องปฏิบัติการ กรณีศึกษา บทความปริทัศน์ บทความทั่วไป จดหมายถึงบรรณาธิการ บทบรรณาธิการ และสารคัดต่อสั้น บทความที่ส่งตีพิมพ์จะต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรือกำลังตีพิมพ์ในวารสารฉบับอื่นมาก่อน ทั้งนี้บทความทุกเรื่องจะได้รับการพิจารณาตรวจแก้ไขจากผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง และกองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขต้นฉบับและพิจารณาตีพิมพ์ตามลำดับก่อนหลัง

ความรับผิดชอบ

บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถือเป็นผลงานทางวิชาการ และเป็นความเห็นส่วนตัวของผู้เขียน ไม่ใช่ความเห็นของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือกองบรรณาธิการ ผู้เขียนต้องรับผิดชอบต่อบทความของตน

การเตรียมต้นฉบับ

ภาษาที่ใช้คือ ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ คำศัพท์เฉพาะหรือคำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้ว แต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลาย หรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาอังกฤษกำกับไว้ในวงเล็บ หรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้

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

หน้าแรกของต้นฉบับประกอบด้วยชื่อเรื่อง ชื่อผู้เขียน ชื่อผู้เขียนที่ทำหน้าที่ประสานงานกับคณะบรรณาธิการ และสถานที่ทำงานที่สามารถติดต่อได้ทางไปรษณีย์ และชื่อเรื่องโดยย่อ (running title) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

หน้าที่สองเป็นบทคัดย่อ ต้องเขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 250 คำ โดยครอบคลุมที่มาของหัวข้อวิจัย วัตถุประสงค์ ขอบเขตการวิจัย วิธีทำหรือวิธีการรวบรวมข้อมูล ผลใช้เฉพาะข้อมูลหลักที่สำคัญและสถิติที่ใช้ และสรุปโดยเน้นหลักการสำคัญที่พบใหม่ ทำบทคัดย่อภาษาอังกฤษให้มีคำสำคัญของบทความ (key word) ไม่เกิน 5 คำ เป็นภาษาอังกฤษ สำหรับผู้ที่ไม่สันทัดภาษาอังกฤษควรมหาผู้ที่ชำนาญภาษาอังกฤษช่วยตรวจสอบ

ต้นฉบับหน้าที่สามเป็นต้นไปเป็นส่วนของเนื้อเรื่อง ควรใช้ภาษาที่ง่าย สั้น กระชับ และชัดเจน หากเป็นบทความประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ และรายงานจากห้องปฏิบัติการให้เรียงลำดับดังนี้ : บทนำ วัสดุและวิธีการ ผล วิวิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

บทนำ ในบทนำนี้ควรกล่าวถึงสมมติฐานหรือหลักการ เหตุผลที่ศึกษา เมื่ออ้างอิงควรเลือกใช้เฉพาะเอกสารอ้างอิงที่สำคัญเท่านั้น

วัสดุและวิธีการ ในส่วนนี้ให้ข้อมูลทางวิชาการที่มากพอที่ผู้สนใจสามารถทำงานนี้ซ้ำได้ ทั้งนี้ให้ระบุแหล่งที่มาของน้ำยา สารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือ สายพันธุ์ของจุลชีพให้ละเอียด

ผล ให้นำเสนอผลงานตามลำดับ หลีกเลี่ยงการใช้กราฟหรือภาพที่ไม่จำเป็น ถ้ามีตารางข้อมูลให้เสนอพร้อมกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานหรือ Standard error of the mean ด้วย

วิจารณ์ วิจารณ์สิ่งที่ค้นพบเปรียบเทียบกับงานที่ผู้อื่นทำและเผยแพร่ไว้ก่อนหน้านี้แล้ว ทั้งนี้ควรระวังไม่นำส่วนของผลมากล่าวซ้ำในส่วนนี้

สรุป เน้นสิ่งที่พบใหม่ที่สำคัญจากการศึกษานี้ พยายามเชื่อมโยงการสรุปกับวัตถุประสงค์

ตารางและภาพ ให้แยกออกจากเนื้อเรื่อง หน้าละ 1 รายการ ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาวดำที่มีความชัดเจน ขนาดไม่เล็กกว่าโปสการ์ด ส่วนภาพวาดควรวาดบนกระดาษขาวอย่างดีด้วยหมึกดำลายเส้นคมและชัดเจน ในส่วนของเนื้อเรื่องที่ต้องการแสดงตารางหรือภาพ ให้เว้นที่ว่างพอสมควรและให้เขียนในกรอบว่า

ใส่ตารางที่ 1

หรือ

ใส่ภาพที่ 1

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

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

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

ผู้นิพนธ์ตั้งแต่ 1 ถึง 6 คน ใส่ชื่อผู้แต่งทุกคน ถ้ามีมากกว่าให้ใส่ชื่อ 6 คนแรกตามด้วยและคณะ หรือ et al กรณีบทความไม่มีชื่อผู้นิพนธ์ให้ใช้ชื่อเอกสารแทนชื่อผู้นิพนธ์

การเขียนเอกสารอ้างอิงให้ใช้รูปแบบดังตัวอย่าง

1. การอ้างบทความวารสาร (Article in Journal)

ตัวอย่าง: สุภาวรรณ จงธรรมวัฒน์, บำรุง คงดี, วิชัย ประสาททอง, มณี เขม้นเขตรการ, จิราภรณ์
อำพันธ์, กมล ฝอยหิรัญ และคณะ. การสำรวจคุณภาพถุงยางอนามัยทั่วประเทศ. ว กรรมวิทย์ พ
2540;39(2): 67-74.

2. การอ้างหนังสือหรือตำรา (Text / Guideline)

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

3. การอ้างเฉพาะบทในตำรา (Chapter in the text)

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

4. การอ้างกฎหมาย (Legal material)

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

5. การอ้างสิ่งพิมพ์ขององค์กรหรือหน่วยงาน (Organization as author and publisher)

ตัวอย่าง: กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ กระทรวงสาธารณสุข. แผนยุทธศาสตร์การดำเนินงาน
สุขภาพภาคประชาชน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย;
2546.

6. การอ้างรายงานการสัมมนา/ประชุมวิชาการ (Conference paper)

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

7. การอ้างวิทยานิพนธ์ (Dissertation)

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

8. การอ้างสื่ออิเล็กทรอนิกส์ (Electronic material)

8.1 วารสารออนไลน์ (Journal on Internet)

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

8.2 เว็บไซต์ (WWW site)

ตัวอย่าง: กรมควบคุมโรค. การป้องกันควบคุมโรคไข้หวัดนก Avian Influenza (Bird Flu).

[ออนไลน์]. 2548; [สืบค้น 28 ก.ย. 2548];[1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: [URL:http://www-ddc.moph.go.th/Bird_Flu_main.html](http://www-ddc.moph.go.th/Bird_Flu_main.html).

การส่งต้นฉบับ

แนบจดหมายนำส่งที่ผู้นิพนธ์และผู้ร่วมนิพนธ์ลงชื่อไว้ทุกคน พร้อมระบุไว้ด้วยว่าทุกคนอ่านและยอมรับในบทความนั้น ให้ส่งต้นฉบับจริง 1 ชุด สำเนา 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล ถึง บรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ ถนนบุรี 11000 โทร. 0-2589-0022 ต่อ 99662, บรรณาธิการ ต่อ 99701

การรับบทความ

บทความที่กองบรรณาธิการได้รับ จะแจ้งให้ผู้เขียนทราบทุกเรื่องและจะไม่คืนต้นฉบับยกเว้นบทความที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ จะแจ้งให้ทราบพร้อมส่งต้นฉบับส่งคืน บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ กองบรรณาธิการจะมอบสำเนาพิมพ์ (reprint) 10 ชุด แก่ผู้เขียนชื่อแรก

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The Bulletin of the Department of Medical Sciences welcomes different kinds of articles i.e. original articles, laboratory findings, review articles, general articles, letters to editor, editorials and short communications. Every article **must not be accepted or published elsewhere**.

Articles published in this bulletin represent the research activities or opinions of the authors. **Contributions in every article will be peer-reviewed**. The authors are responsible for its content. Authors who are not fluent in English should seek help from someone proficient in English.

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

The first page should carry the title of the article, the author's name, affiliation and a running title. The second page should carry an abstract of no more than 250 words and identify limited to 5 key words at the bottom of the abstract. The third page and next should carry the body of the article. The structure of original articles and laboratory findings should be in the order of: introduction, materials and methods, results, discussion, conclusion, acknowledgements and references.

Introduction: The introduction should provide the hypothesis or the rationale for the study. Give only pertinent references.

Materials and Methods: Give the full technical information so that the experiments can be repeated. The sources of all materials and apparatus must be provided.

Results: Present the results as concisely as possible in logical sequence. Avoid unnecessary graphs and figures. All tabular data, if needed, must be accompanied by either standard deviation or standard error.

Discussion: Provide an interpretation of the results in relation to other relevant studies. It must not contain extensive repetition of the results sections.

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

Each table or figure should be prepared on a separate sheet. Photographic prints must be in black and white, shape with high contrast and not smaller than the postcard size. Drawings are

clearly prepared with black drawing ink on white paper. In the text, an appropriate space should be provided for each table or figure as indicated below:

for Table 1.

 or

for Figure 1.

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

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

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

1. Citing a Journal Article

Examples:

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

Russell FD, Coppell AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radiolabelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. *Biochem Pharmacol* 1998;55:697-701.

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

2. Citing a Text/Guideline

Examples:

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

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

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

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

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

3. Chapter in the Text

Examples:

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

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

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

4. Legal Material

Examples:

Airlines Equipment Amendment Act 1981 (Cwlth), s. 19(1)(a)(ii)

Public Service Regulations (Cwlth), r.83(2)(a)(ii)

Preventive Health Amendments of 1993, Pub.L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993)

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

Examples:

Department of Medical Sciences. Guideline of method validation used in pharmaceutical analysis. Nonthaburi: Department of Medical Sciences; 1995.

Pharmaceutical Society of Australia. Medicines and driving [pamphlet]. Pharmaceutical Society of Australia; 1998. DR-7.

Lamasil [package insert]. East Hanover (NJ): Sandoz Pharmaceuticals Corp; 1993.

6. Citing Conference Papers/Conference Proceedings

Examples:

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Reinhoff O, editors. MEDINFO 92.

Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

7. Citing a Newspaper Article

Examples:

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually.
The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

8. Dissertation

Example:

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

9. Citing Internet and Other Electronic Sources

9.1 Journal on Internet

Examples:

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial online] 1995

Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1):[24 screens]. Available from: URL:<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

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

9.2 Websites (WWW site)

Examples:

Hoffman DL. St John's Wort. [Online]. 1995 [cited 1998 Jul 16]; [4 screens]. Available from: URL:<http://www.healthy.net/library/books/hoffman/materiamedica/stjohns.htm>

9.3 Web Based/Online Databases

Example:

Kirkpatrick GL. Viral infections of the respiratory tract. In: Family Medicine. 5th ed. [Online]. 1998. Available from: Stat!Ref. Jackson (WY): Teton Data Systems; 2001. [cited 2001 Aug 31].

9.4 CD-ROM & Books on CD-ROM

Examples:

Clinical pharmacology 2000 [CD-ROM]. Version 2.01. [cited 2001 Aug 7]; Gainesville (FL): Gold Standard Multimedia; 2001.

The Oxford English dictionary [book on CD-ROM]. 2nd ed. New York (NY): Oxford University Press; 1992.

9.5 Journal on CD-Rom

Example:

Gershon ES. Antisocial behavior. Arch Gen Psychiatry [serial on CD-ROM]. 1995;52:900-901.

9.6 Other Software:

Example:

Epi Info [computer program]. Version 6. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention; 1994.

For further information see

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

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

Abbreviations should be based on the U.S. National Library of Medicine in Index Medicus. The body including tables and figures of original and review articles should not exceed 10-25 pages, and for other kinds of articles should not exceed 2-15 pages.

How to Submit Manuscripts

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

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

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

Editor, Bulletin of the Department of Medical Sciences

Department of Medical Sciences Library

88/7 Soi Bamrasnaradura Hospital, Tiwanond Rd.

Nonthaburi 11000, Thailand

Tel. 0-2589-0022 ext. 99701, 99662

การศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด มะกอกน้ำต่อการตายของเซลล์จากไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์และกลูตาเมตในเซลล์ประสาท เพาะเลี้ยง Mouse Neuroblastoma

สดุติ รัตนจรัสโรจน์ วารุณี จิรวัดนาพงศ์ ณัฐตรา จันทรสุนัขชัย ยุวดี เมตตาเมธา
และศักดิ์วิชัย อ่อนทอง

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ พืชสมุนไพรมะกอกน้ำประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีฟีนอล มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (oxidation) และอาจใช้ในการบรรเทาภาวะเครียดจากออกซิเดชันที่ทำให้เกิดกระบวนการเสื่อมของเซลล์ประสาทได้ การศึกษานี้เพื่อทดสอบฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดด้วยเอทานอลจากเปลือกต้น (EHB) และเนื้อไม้ (EHW) ของมะกอกน้ำต่อความเป็นพิษจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกลูตาเมตในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง mouse neuroblastoma N1E-115 พบว่า การสัมผัสร่วม (co-exposure) ระหว่างสารสกัด EHB หรือ EHW และ glutamate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาจมีผลปกป้องการตายของเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 จากกลูตาเมต ขณะที่สารสกัดทั้ง 2 ชนิดไม่แสดงผลปกป้องการตายของเซลล์จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การศึกษานี้ยังแสดงกลไกการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำว่าไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับวิถี Mitogen-activated protein kinase (MAPK) และวิถี Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) ดังนั้น กลไกที่แน่นอนในการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำยังไม่เป็นที่แน่ชัด จึงควรศึกษาวิจัยเพื่อขยายผลต่อไป

บทนำ

มะกอกน้ำ หรือสารภีน้ำ (*Elaeocarpus hygrophyllus* Kurz.) เป็นพืชในวงศ์ Elaeocarpaceae มักขึ้นริมน้ำ เป็นไม้ต้นขนาดใหญ่ ทรงพุ่มกลมค่อนข้างทึบ เปลือกลำต้นสีน้ำตาลแดง ใบเป็นใบเดี่ยว ก้านใบมีสีแดง ดอกออกเป็นช่อตรงซอกใบ ผลเดี่ยวรีรสเปรี้ยวฝาด เป็นผลไม้พื้นบ้านของไทย สามารถนำมาใช้เป็นอาหาร⁽¹⁾ (ภาพที่ 1) สารที่พบในพืชสกุลนี้ คือ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งเป็นสารประกอบ polyphenolic มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง ประโยชน์ที่สำคัญของสารประกอบกลุ่มนี้ คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)⁽²⁻³⁾ จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องในการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง พบว่า สารประกอบบางชนิดที่แยกได้จากพืชในสกุล *Elaeocarpus* เช่น cucurbitacin F มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง ได้แก่ human oral epidermoid carcinoma KB cells และ mouse leukemia P-388 cells โดยมีค่า median effective dose (ED_{50}) คือขนาดหรือความเข้มข้นสารที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจำนวนร้อยละ 50 เป็น 0.074 และ 0.04 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ⁽⁴⁾ และมีรายงานที่พบว่า สารประกอบ cucurbitacin D และ cucurbitacin F ที่แยกได้จากพืชในสกุลนี้ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงของคน ได้แก่ human lung cancer, human colon cancer, human oral epidermoid carcinoma, hormone-dependent human prostate cancer, human telomerase reverse transcriptase-retinal pigment epithelial cells และ human umbilical vein endothelial cells โดยสารประกอบทั้ง 2 ชนิด มีค่า ED_{50} น้อยกว่า 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร⁽⁵⁾ นอกจากนี้มีรายงานว่า สารประกอบบางชนิดที่เป็นอนุพันธ์ของ ellagic acid ที่แยกได้จากพืชในสกุล *Elaeocarpus* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Babesia gibsoni* ซึ่งเป็นพาราสิตที่พบในสุนัข⁽⁶⁾ และยังพบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลจากใบของพืชในสกุลนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย⁽⁷⁾



ภาพที่ 1 มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophyllus* Kurz.)

ภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชัน (oxidative stress) หมายถึงภาวะที่มีความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ reactive oxygen species (ROS) กับสาร antioxidants ซึ่งส่งผลให้เกิดการทำลายชีวโมเลกุลภายในร่างกาย เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน (oxidative damage) ภาวะ oxidative stress มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเกิดโรคเกี่ยวกับความเสื่อมของประสาท (Neurodegenerative disease) โดยปริมาณของ free radical หรือ ROS มาก ทำให้สาร antioxidant มีปริมาณไม่เพียงพอจึงทำให้เซลล์ประสาทถูกทำลายหรือบาดเจ็บ เกิดการตายของเซลล์ประสาท และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ⁽⁸⁾ เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease), โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease), Huntington's disease, Amyotrophic lateral sclerosis และ Neuroinflammatory disorder เป็นต้น ปัจจุบันประชาชนได้รับความทุกข์ทรมานจาก neurodegenerative disease ต่าง ๆ ทั้ง Alzheimer's disease และ Parkinson's disease เพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา⁽⁹⁻¹⁰⁾ โรคเรื้อรังเหล่านี้ส่งผลทำให้การทำงาน

ของสมองด้อยลงจากเดิมจนมีผลกระทบต่อการทำงาน และการใช้ชีวิตประจำวันทำให้คุณภาพชีวิตของประชากรสูงอายุลดลง

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) เป็นตัวตั้งต้น (precursor) ของอนุมูลออกซิเจน (oxygen radical) ที่อยู่ในเซลล์ hydrogen peroxide ก่อให้เกิดภาวะ oxidative stress และเกิด oxidative damage ตามมา ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ของไขมันอิ่มตัวจึงเกิดการตายของเซลล์⁽¹¹⁾ ส่วนกลูตาเมต (glutamate) เป็นกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้น (excitatory amino acid) หรือสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้น (excitatory neurotransmitter) ที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง โดยมีบทบาทสำคัญใน neurotransmission, neuronal development และ synaptic plasticity ผ่านการกระตุ้นตัวรับของ glutamate (glutamate receptor)⁽¹²⁻¹³⁾ การกระตุ้น glutamate receptor มากเกินไปโดยเฉพาะ N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor เป็นสาเหตุให้เกิดการตายของเซลล์⁽¹⁴⁾ กลไกของกลูตาเมตในการทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ประสาทนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด จากรายงานการวิจัยพบว่า glutamate อาจก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์ประสาทได้โดยการกระตุ้นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับแคลเซียม⁽¹⁵⁾ การกระตุ้น nitric oxide synthase⁽¹⁶⁾ และการสร้าง ROS จากไมโทคอนเดรีย⁽¹⁷⁾ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ประสาท

Mitogen-activated protein kinases (MAPK) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นเครือข่ายควบคุมการทำงานของเซลล์ในหน้าที่หลักต่างๆ ได้แก่ การเจริญเติบโตของเซลล์ (cell growth) การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) การเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (differentiation) และการตายของเซลล์ (cell death)⁽¹⁸⁻¹⁹⁾ เอนไซม์กลุ่มนี้ทำงานโดยปรับความสามารถในการทำงานของโปรตีนเป้าหมายที่จำเพาะภายในเซลล์ โดยการเติมหมู่ฟอสเฟตเข้าไปยังโปรตีนเป้าหมาย ณ ตำแหน่งกรดอะมิโน Serine หรือ Threonine ที่จำเพาะ⁽²⁰⁾ MAPK จึงจัดเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เรียกว่า Serine/Threonine kinase การส่งสัญญาณในวิถี MAPK ได้แก่ MAPK และ PI3K signaling pathway มีความจำเป็นต่อการมีชีวิตอยู่รอดของเซลล์

เนื่องจากมีหลักฐานสนับสนุนว่า สาร antioxidant อาจจะช่วยป้องกันการเกิดพยาธิสภาพจากการเสื่อมของเซลล์ประสาทอันเป็นผลมาจาก free radical ได้ และสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรมะกอกน้ำ ซึ่งเป็นแหล่งของสารประกอบที่มีฤทธิ์เป็น antioxidant⁽²⁾ อาจสามารถป้องกันหรือลดการเกิดพยาธิสภาพนี้ได้ ทำให้ลดการตายของเซลล์ประสาท รวมทั้งอาจมีศักยภาพที่จะนำมาวิจัยและพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ป้องกันหรือชะลอกระบวนการเสื่อมของเซลล์ประสาทอันเกิดจากภาวะ oxidative stress ซึ่งยังไม่มีข้อมูลหรือหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุน ดังนั้น การวิจัยจึงได้ศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำ โดยการประเมินผลของสารสกัดมะกอกน้ำต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ และเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บหรือตายจาก hydrogen peroxide และ glutamate ในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง mouse neuroblastoma cells นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะกอกน้ำ โดยการเติมสารยับยั้งเฉพาะต่อการส่งสัญญาณในวิถี MAPK และวิถี PI3K ใน mouse neuroblastoma cells ด้วย

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างวัตถุดิบสมุนไพร

เก็บรวบรวมตัวอย่างมะกอกน้ำสำหรับจัดทำตัวอย่างพืช และตรวจระบุชนิดพร้อมทั้งส่วนของลำต้นเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการศึกษาวิจัยจากพื้นที่จังหวัดปทุมธานี ผลการตรวจระบุชนิดตามหลักอนุกรมวิธานพืช โดยอาศัยเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง⁽²¹⁻²²⁾ พบว่า มะกอกน้ำมีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz. วงศ์ Elaeocarpaceae (ได้จัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งอ้างอิง (voucher specimen) คือ N. Chansuvanich, W. Jirawattanapong and S. Ontong 3369 และเก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (DMSC) โดยมีหมายเลขพรรณไม้ของพิพิธภัณฑ์พืชกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คือ DMSC 5173)

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมสมุนไพร

นำส่วนที่ใช้ คือ ลำต้น มาแยกเนื้อไม้และเปลือกต้นออกจากกัน แยกหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดเป็นผงหยาบและเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท

2.2 การเตรียมสารสกัด

นำผงสมุนไพรแห้งของแต่ละส่วนที่ใช้ตั้งต้นปริมาณ 100 กรัม มาเตรียมเป็นสารสกัดโดยการหมักในเอทานอล 95% จำนวน 3 ครั้ง นานครั้งละ 3 วัน กรอง และนำไปประเหยแห้งภายใต้สุญญากาศด้วยเครื่อง rotary evaporator (Rotary vacuum evaporator, Büchi, Japan) ได้สารสกัดส่วนเนื้อไม้ (EHW) และส่วนเปลือกต้น (EHB) โดยมีปริมาณสารที่สกัดได้ (% yield, wt/wt) เป็น 2.16 % และ 4.27 % ตามลำดับ นำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์แล้วเจือจางด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการควบคุมคุณภาพทางเคมีของสารสกัดโดยใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟีด้วยวิธี TLC fingerprint

2.3 การเตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง

เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการศึกษา คือ mouse neuroblastoma cells, N1E-115 (American Type Culture Collection (ATCC), USA, Cat.No. CRL-2263) passage number 23-30 นำเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ใส่ในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 ตารางเซนติเมตร นำเซลล์ไปเลี้ยงในตู้บ่มเลี้ยงเซลล์ชนิดควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะ CO₂ 5% ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ (DMEM-high glucose; Sigma-Aldrich, USA, Cat.No. D1152) ที่มี sodium bicarbonate 3.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, fetal bovine serum 10% (FBS; Hyclone, USA) และยาปฏิชีวนะ penicillin G sodium (100 ยูนิต/มิลลิลิตร) และ streptomycin (100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) นาน 5 - 7 วัน หลังจากนั้นย่อยเซลล์ด้วย trypsin-EDTA 0.25% ให้ได้ cell suspension แล้วนำไปปั่นโดยใช้เครื่องปั่นชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Sorval RT7, USA) ด้วยความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำ cell pellet มาเติม DMEM ที่มี FBS 10% และทำเป็น cell suspension นับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตด้วย hemocytometer โดยวิธี trypan blue exclusion และนำเซลล์ไปเพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (passage) โดยการแบ่งใส่ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่ขนาด 75 ตารางเซนติเมตร เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 2 - 3 วัน และทำการเพาะเลี้ยงขยายดังที่กล่าว สัปดาห์ละ 1 ครั้ง หรือเมื่อเซลล์เพิ่มจำนวนประมาณ 80 - 90% ของพื้นที่ขวด

2.4. การเตรียมเซลล์สำหรับการทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาท

ใช้แบบจำลองที่ทำให้เซลล์ประสาทบาดเจ็บหรือตายจำนวน 2 แบบ คือ การบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ที่เกิดจากความเป็นพิษของ hydrogen peroxide หรือ glutamate

2.4.1 การเตรียมเซลล์เพาะเลี้ยงสำหรับการทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก hydrogen peroxide: เลี้ยงเซลล์ N1E-115 ใน 48 well plate โดยความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 3×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ภายใต้สภาวะ CO₂ 5% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นแบบไม่มีซีรัม ซึ่งประกอบด้วย DMEM-high glucose (Sigma-Aldrich, USA, Cat.No. D1152) ที่มี sodium bicarbonate 3.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ยาปฏิชีวนะ และ N2 supplement ได้แก่ sodium selenite (Na₂SeO₃) 30 นาโนโมลาร์, human transferrin 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, bovine insulin 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร, progesterone 20 นาโนโมลาร์ และ putrescine 100 ไมโครโมลาร์ นำเซลล์เพาะเลี้ยงนี้ไปใช้ในการทดลองหลังจากอายุได้ 48 ชั่วโมง

2.4.2 การเตรียมเซลล์เพาะเลี้ยงสำหรับการทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate: เลี้ยงเซลล์ N1E-115 ใน 48 well plate ที่เคลือบด้วยสาร poly-D-lysine 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น 4×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร ภายใต้สภาวะ CO₂ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น

เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็น DMEM-high glucose (Sigma-Aldrich, USA, Cat.No. D1152) ที่มี sodium bicarbonate 3.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, FBS 0.5% และยาปฏิชีวนะ แล้วเติม dimethyl sulfoxide (DMSO) 1.5% ในอาหารเลี้ยงเซลล์ เพาะเลี้ยงเซลล์ต่อไปอีกจนครบ 96 ชั่วโมง จึงนำเซลล์ไปใช้ในการทดลองได้ (เซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 สามารถเปลี่ยนสภาพ (differentiation) ได้ภายใต้สภาวะที่มีซีรัมต่ำและมี DMSO⁽²³⁻²⁴⁾)

2.5 วิธีการทดสอบ

2.5.1 การทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก hydrogen peroxide

1) การหาความเข้มข้นของ hydrogen peroxide ที่เหมาะสมต่อการทดสอบเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง

เจือจางสารละลาย hydrogen peroxide 30% (เทียบเท่ากับ 9.794 โมลาร์) ด้วย Phosphate Buffered Saline (DPBS; Sigma-Aldrich, USA) ที่มี $MgCl_2$ 0.100 กรัม/ลิตร (DPBS ประกอบด้วย KCl 0.200 กรัม/ลิตร, NaCl 8.000 กรัม/ลิตร, KH_2PO_4 0.200 กรัม/ลิตร และ Na_2HPO_4 (anhydrous) 1.150 กรัม/ลิตร) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ต้องการ นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (3×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร) อายุ 48 ชั่วโมง มาเติมสารละลาย hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครโมลาร์ ลงในเซลล์เพาะเลี้ยงแต่ละหลุมแล้วเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเซลล์กลุ่มควบคุมให้เติม PBS ในปริมาณเท่ากัน หลังจากนั้นประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

2) การทดสอบผลของสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ

ละลายสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำในเอทานอลบริสุทธิ์ และเจือจางด้วย sterile distilled water เพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ต้องการ (ความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลไม่เกิน 0.1%) นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (3×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร) อายุ 48 ชั่วโมง มาเติม EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ลงในเซลล์เพาะเลี้ยงแต่ละหลุมแล้วเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติมเอทานอล 2.5% ในปริมาณเท่ากัน (ความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลไม่เกิน 0.1%) ในเซลล์กลุ่มควบคุม หลังจากนั้นประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

3) การทดสอบผลของสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำต่อการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก hydrogen peroxide

นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (3×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร) อายุ 48 ชั่วโมง มาเติมสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับเติม hydrogen peroxide 200 ไมโครโมลาร์ ในเซลล์เพาะเลี้ยงแต่ละหลุมและเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อีกกลุ่มการทดสอบให้เติมสารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเติม hydrogen peroxide 200 ไมโครโมลาร์ แล้วนำเซลล์ไปเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติม PBS ในปริมาณเท่ากันในเซลล์กลุ่มควบคุม หลังจากนั้นประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

2.5.2 การทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate

1) การหาความเข้มข้นของ glutamate ที่เหมาะสมต่อการทดสอบเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง

ละลาย glutamate และ glycine ใน sterile PBS (DPBS ที่ปราศจาก $MgCl_2$) แล้วเจือจางด้วย PBS เพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ต้องการ นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (4×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร) อายุ 96 ชั่วโมง แต่ละหลุมมาเติม glutamate ที่ความเข้มข้น 1, 10, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิโมลาร์ พร้อมกับเติม glycine ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ แล้วเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติม PBS ในปริมาณเท่ากันในเซลล์กลุ่มควบคุม หลังจากนั้นประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

2) การทดสอบผลของสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ

นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (4×10^4 เซลล์/ตารางเซนติเมตร) อายุ 96 ชั่วโมง แต่ละหลุมมาเติมสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติมเอทานอล 2.5% ในปริมาตรเท่ากัน (ความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลไม่เกิน 0.1%) ในเซลล์กลุ่มควบคุม หลังจากนั้นประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

3) การทดสอบผลของสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำต่อการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก glutamate

นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (4×10^4 cell/cm²) อายุ 96 ชั่วโมง แต่ละหลุมมาเติมสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับเติม glutamate 50 มิลลิโมลาร์ และ glycine 2 มิลลิโมลาร์ แล้วเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อีกกลุ่มการทดสอบให้เติมสารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเติม glutamate และ glycine แล้วนำเซลล์ไปเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติม PBS ในปริมาตรเท่ากันในเซลล์กลุ่มควบคุม หลังจากนั้นประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

4) การทดสอบผลของสารยับยั้งเฉพาะ MEK inhibitor (PD 98059) หรือ PI3K inhibitor (LY 294002) ต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำต่อการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก glutamate

ละลาย PD 98059 และ LY 294002 ใน DMSO ให้ได้ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เก็บเป็น stock solutions ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และเจือจางด้วย DMSO เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ นำเซลล์เพาะเลี้ยง N1E-115 (4×10^4 cell/cm²) อายุ 96 ชั่วโมง มาแบ่งเป็น 7 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม เติม DMSO 2.5% (ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1%) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วเติม DMSO 2.5% ในปริมาตรเท่าเดิม

กลุ่มที่ 2 และ 3 เติมสาร PD 98059 30 ไมโครโมลาร์ และ LY 294002 40 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วเติมสาร PD 98059 และ LY 294002 ที่ความเข้มข้นเท่าเดิม ตามลำดับ

กลุ่มที่ 4 เติม DMSO 2.5% (ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1%) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วเติม glutamate 50 มิลลิโมลาร์ และ glycine 2 มิลลิโมลาร์

กลุ่มที่ 5 เติม DMSO 2.5 % (ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1%) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วเติมสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้นที่ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับเติม glutamate 50 มิลลิโมลาร์ และ glycine 2 มิลลิโมลาร์

กลุ่มที่ 6 เติมสาร PD 98059 30 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วเติมสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้นที่ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับเติม glutamate 50 มิลลิโมลาร์ และ glycine 2 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเติมสาร PD 98059 30 ไมโครโมลาร์

กลุ่มที่ 7 เติมสาร LY 294002 40 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วเติมสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้นที่ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับเติม glutamate 50 มิลลิโมลาร์ และ glycine 2 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเติมสาร LY 294002 40 ไมโครโมลาร์

หลังจากนั้นนำเซลล์ไปเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วประเมิน cell viability โดยตรวจวัดด้วยวิธี MTT reduction

3. การประเมินคุณภาพและความอยู่รอดของเซลล์

3.1 การประเมิน cell morphology

ติดตามการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphology) ของเซลล์เพาะเลี้ยง โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (inverted microscope, Axiovert 200, Zeiss, Germany)

3.2 การวัดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตโดยวิธี MTT reduction

ตรวจวัดเซลล์ MTT reduction ด้วยวิธี colorimetric โดยดัดแปลงจากวิธีของ Mosmann (1983)⁽²⁵⁾ ดังนี้ เติมสารละลาย MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 10 ไมโครลิตร (5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรใน PBS) ลงในเซลล์ของแต่ละหลุม (ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แล้วนำเซลล์เพาะเลี้ยงไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และเติม DMSO 200 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม ดูดสารละลายของแต่ละหลุมใส่ใน 96 well plate แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Multi-detection microplate reader (SynergyTM HT, Biotex, USA) ที่ความยาวคลื่น 570/620 นาโนเมตร ค่า MTT reduction แสดงในรูปของร้อยละเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งคำนวณจาก (ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มที่ได้รับสารหรือสมุนไพร $\times 100$) / ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลทุกค่านำเสนอในรูปค่าเฉลี่ย (mean) + ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error, SEM) โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยมากกว่า 2 กลุ่ม ใช้ Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบข้อมูลที่แตกต่างกัน กรณีความแปรปรวนของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันใช้ Scheffe multiple comparisons และกรณีความแปรปรวนของทั้ง 2 กลุ่มแตกต่างกันใช้ Tamhane's T2 multiple comparisons ค่า p ที่น้อยกว่า 0.05 หรือที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผล

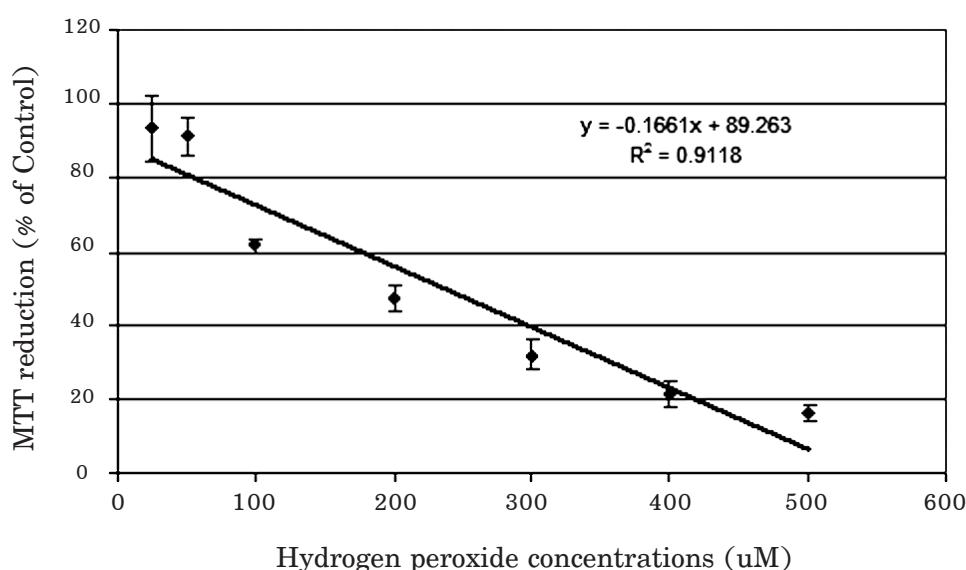
ในการศึกษานี้ได้ประเมินความอยู่รอดของเซลล์ (cell viability) โดยการตรวจวัด MTT reduction ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดของ mitochondrial viability/ activity โดยเอนไซม์ mitochondrial dehydrogenase ในเซลล์ที่มีชีวิต และ mitochondria ที่ยังทำงานอยู่สามารถเปลี่ยนสาร MTT (3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (สารสีเหลือง) ไปเป็น formazan (สารสีม่วง) ที่ไม่ละลายน้ำ หลังจากนั้น ละลาย formazan ด้วย DMSO ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยค่าที่เพิ่มขึ้นนี้บ่งบอกถึงการเพิ่ม total metabolic activity คือ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตหรือการเพิ่ม MTT reduction

1. การทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก hydrogen peroxide

1.1 การหาความเข้มข้นของ hydrogen peroxide ที่เหมาะสมต่อการทดสอบเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง

เซลล์ประสาท N1E-115 สัมผัสกับ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 25 - 500 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วประเมิน cell viability โดยวัดด้วยวิธี MTT reduction พบว่า hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครโมลาร์ มีค่า MTT reduction ของเซลล์ประสาทเป็น 93.39, 91.38, 61.85, 47.28, 31.81, 21.32 และ 16.19% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า hydrogen peroxide ลด cell viability

เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ hydrogen peroxide โดยมีค่า IC_{50} (Inhibition concentration at 50%) ซึ่งคือ ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้ง cell viability ได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 236.38 ไมโครโมลาร์ (ภาพที่ 2) และจากการสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เซลล์ประสาทมีรูปร่างผิดปกติ โดยมีลักษณะบวม/หดตัว/ฝ่อเป็นซากเศษเซลล์ที่ตายแล้วอยู่ปะปนกับเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และความยาวของ neurite สั้นลงและไม่มีความต่อเนื่อง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ความผิดปกติดังกล่าวเกิดขึ้นพร้อมกันกับการลดลงของ cell viability เนื่องจากเซลล์ประสาทสัมผัสกับ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงทำให้เซลล์ตายประมาณร้อยละ 50 - 60 ($IC_{50} = 236.38$ และ $IC_{60} = 176.18$) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ความเข้มข้นดังกล่าวในการทำให้เกิดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 2 ผลของ Hydrogen peroxide ต่อ cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง mouse Neuroblastoma, N1E-115 เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 อายุ 48 ชั่วโมงสัมผัสกับ Hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 25-500 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นประเมิน cell viability ด้วยวิธี MTT reduction ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ จากกราฟค่า $IC_{50} = 236.38$ ไมโครโมลาร์ และ $IC_{60} = 176.18$ ไมโครโมลาร์

1.2 ผลของสารสกัดมะกอกน้ำต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ

เซลล์ประสาท N1E-115 สัมผัสกับสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า MTT reduction ของเซลล์ประสาทเป็น 108.70, 102.36, 102.53, 99.32 และ 88.50% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (100%) เมื่อเซลล์ประสาทสัมผัสกับสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า MTT reduction ของเซลล์ประสาทเป็น 106.19, 100.48, 102.35, 103.32 และ 104.91% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (100%) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดมะกอกน้ำทั้ง 2 สารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีผลต่อ cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ

1.3 ผลของสารสกัดมะกอกน้ำต่อการป้องกันการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก hydrogen peroxide

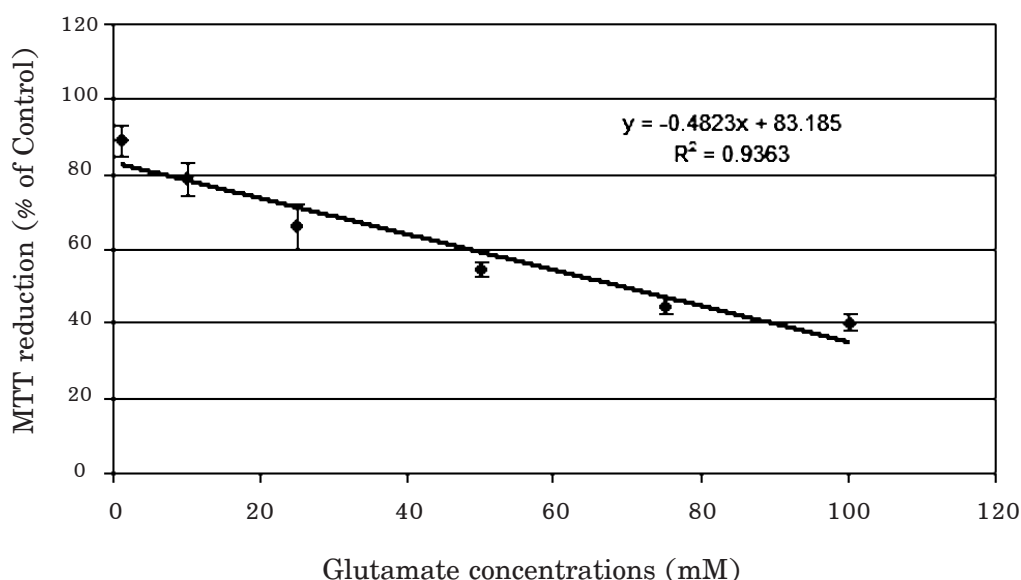
เมื่อให้เซลล์ประสาท N1E-115 สัมผัสกับสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ

ให้เซลล์ประสาท N1E-115 สัมผัสกับสารสกัด EHB หรือ EHW ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการให้ hydrogen peroxide ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบผลเช่นเดียวกัน คือ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง MTT reduction เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่า สารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำไม่สามารถลดการบาดเจ็บหรือการตายที่เกิดจาก hydrogen peroxide ได้

2. การทดสอบการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate

2.1 การหาความเข้มข้นของ glutamate ที่เหมาะสมต่อการทดสอบเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง

จากการนำเซลล์ประสาท N1E-115 ที่ทำให้เปลี่ยนสภาพแล้วด้วย DMSO มาสัมผัสกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 1 - 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และประเมิน cell viability โดยวัดด้วยวิธี MTT reduction พบว่า glutamate ที่ความเข้มข้น 1, 10, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิโมลาร์ มีค่า MTT reduction ของเซลล์ประสาท เป็น 88.94, 78.83, 66.27, 54.39, 44.56 และ 40.24% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า glutamate ลด cell viability เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ glutamate โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 68.81 มิลลิโมลาร์ และ IC_{60} เท่ากับ 48.07 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 3) และจากการสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ความหนาแน่นของเซลล์ประสาทลดลง เซลล์ประสาทมีรูปร่างผิดปกติ และความยาวของ neurite สั้นลงและไม่มีความต่อเนื่อง และมี cell viability ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้น การทดลองต่อไปจึงเลือกใช้การสัมผัสกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง



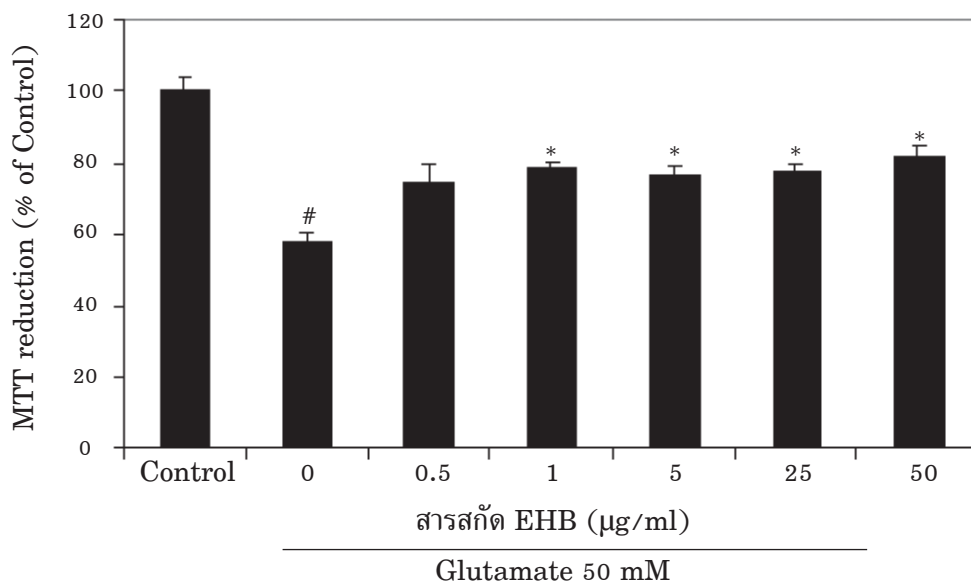
ภาพที่ 3 ผลของ Glutamate ต่อ cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง mouse neuroblastoma เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 อายุ 96 ชั่วโมงสัมผัสกับ Glutamate ที่ความเข้มข้น 1 - 100 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นประเมิน cell viability ด้วยวิธี MTT reduction ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ จากกราฟ ค่า $IC_{50} = 68.81$ มิลลิโมลาร์ และ $IC_{60} = 48.07$ มิลลิโมลาร์

2.2 ผลของสารสกัดมะกอกน้ำต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ

เมื่อให้เซลล์ประสาท N1E-115 ที่ทำให้เปลี่ยนสภาพแล้วด้วย DMSO มาสัมผัสกับสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า cell viability ของเซลล์ประสาท เป็น 106.52, 103.26, 106.22, 104.92 และ 102.54% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (100%) ในขณะที่เมื่อสัมผัสกับสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า cell viability ของเซลล์ประสาท เป็น 104.93, 98.07, 103.12, 107.10 และ 105.99% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (100%) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดมะกอกน้ำทั้ง 2 สารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีผลต่อ cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ

2.3 ผลของสารสกัดมะกอกน้ำต่อการปกป้องการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก glutamate

เมื่อให้เซลล์ประสาท N1E-115 ที่ทำให้เปลี่ยนสภาพแล้วด้วย DMSO มาสัมผัสกับสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า MTT reduction ของเซลล์เพาะเลี้ยงหลังการสัมผัสกับ glutamate เป็น 57.98% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อให้เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงสัมผัสกับสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พบว่า สารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่ม cell viability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 19.98, 18.34, 19.76 และ 24.19% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ glutamate อย่างเดียว (ภาพที่ 4) แสดงให้เห็นว่า สารสกัด EHB ของมะกอกน้ำ ที่ความเข้มข้น 1 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาท โดยสามารถลดการบาดเจ็บหรือการตายที่เกิดจาก glutamate ได้



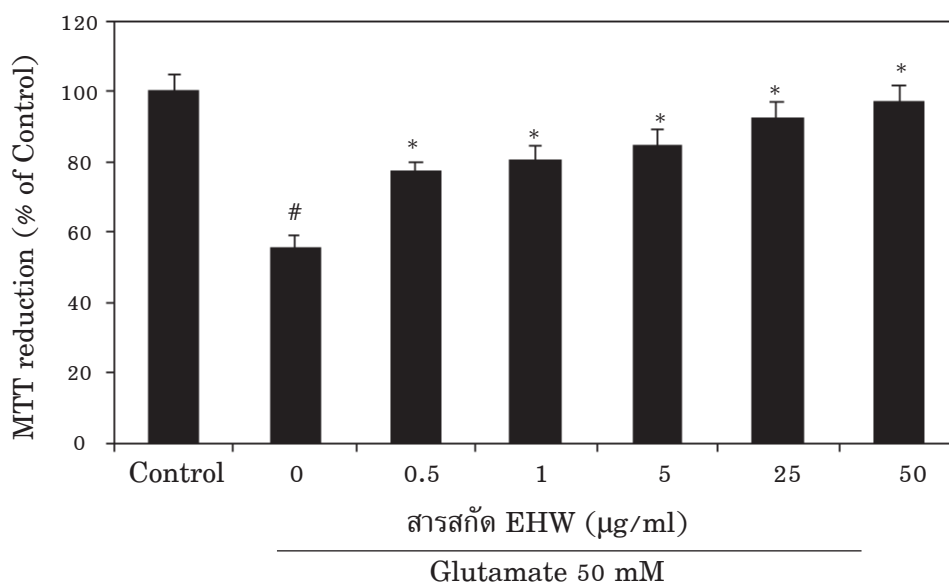
ภาพที่ 4 ผลการสัมผัสของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 กับสารสกัด EHB ต่อการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจากพิษของ glutamate เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 อายุ 96 ชั่วโมงสัมผัสกับสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นประเมิน cell viability ด้วยวิธี MTT reduction ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่สัมผัสกับ glutamate

ส่วนการสัมผัสของเซลล์ประสาท N1E-115 ที่ทำให้เปลี่ยนสภาพแล้วด้วย DMSO กับสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า MTT reduction ของเซลล์เพาะเลี้ยงหลังการสัมผัส glutamate เป็น 55.43% และเมื่อให้เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงสัมผัสกับสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พบว่า สารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, 25 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่ม cell viability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 22.03, 25.02, 28.85, 36.48 และ 41.85% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ glutamate อย่างเดียว ซึ่งการออกฤทธิ์ของสารสกัดนี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด (dose-dependent) คือ การออกฤทธิ์ของสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด (ภาพที่ 5) แสดงให้เห็นว่า สารสกัด EHW ของมะกอกน้ำที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาท โดยสามารถลดการบาดเจ็บหรือการตายที่เกิดจาก glutamate ได้

เมื่อเปรียบเทียบความแรงในการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำทั้ง 2 ชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า สารสกัด EHW ของมะกอกน้ำแสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทได้ดีกว่า และเป็นการออกฤทธิ์โดยขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด ในทางตรงกันข้าม การสัมผัสของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงกับสารสกัด EHB หรือ EHW ของมะกอกน้ำที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ก่อนการสัมผัสกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการลดการบาดเจ็บหรือการตายที่เกิดจากพิษของ glutamate



ภาพที่ 5 ผลการสัมผัสของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 กับสารสกัด EHW ต่อการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจากพิษของ glutamate เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 อายุ 96 ชั่วโมงสัมผัสกับสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นประเมิน cell viability ด้วยวิธี MTT reduction ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ

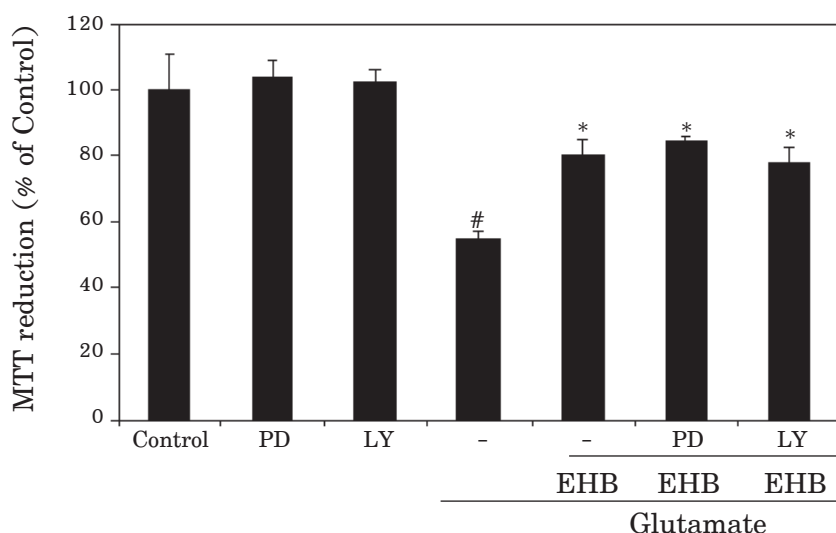
แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่สัมผัสกับ glutamate

จากผลการทดลองในเบื้องต้น พบว่า สารสกัด EHB (1 – 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัด EHW (0.5 – 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทในแบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate โดยการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดนี้เป็นแบบ dose-dependent ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกสารสกัด EHB และสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

2.4 ผลของ MEK inhibitor (PD 98059) หรือ PI3K inhibitor (LY 294002) ต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำต่อการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก glutamate

ในการทดสอบว่ากลไกการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB และ EHW เกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งสัญญาณผ่านวิถี Mitogen-activated protein kinases (MAPK) หรือวิถี phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) signaling pathway หรือไม่ โดยเติมหรือไม่เติมสารยับยั้งเฉพาะ ได้แก่ MEK inhibitor (PD 98059) หรือ PI3K inhibitor (LY 294002) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงก่อนการสัมผัสร่วมและหลังจากนั้นเติมสารยับยั้งเฉพาะพร้อมกับการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHB หรือ EHW และ glutamate ในเซลล์เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบผลดังนี้



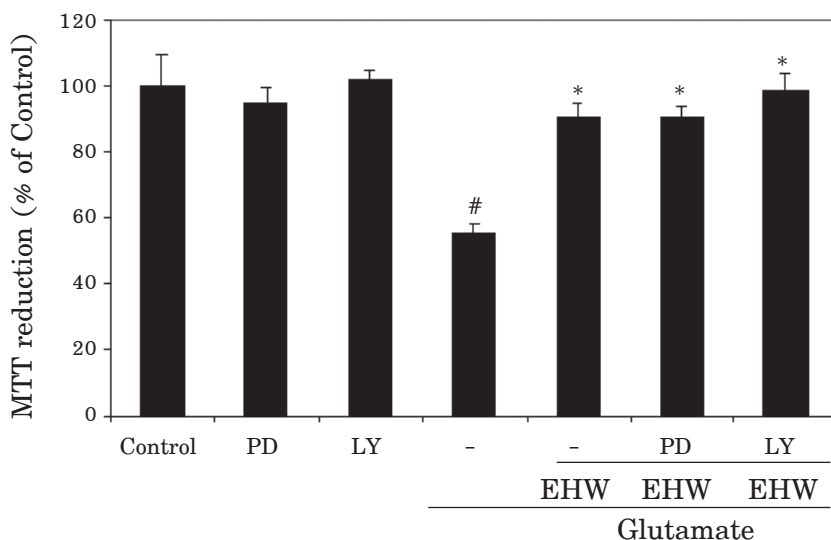
ภาพที่ 6 ผลของ MEK inhibitor (PD 98059) และ PI3K inhibitor (LY 294002) ต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB จากการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจากพิษของ glutamate เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 อายุ 96 ชั่วโมง สัมผัสกับสารยับยั้งเฉพาะ PD 98059 (PD) ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ หรือ LY 294002 (LY) ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ หรือสัมผัสกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ หรือสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ หรือสัมผัสกับสารยับยั้งเฉพาะ PD หรือ LY ก่อนสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นประเมิน cell viability ด้วยวิธี MTT reduction ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่สัมผัสกับ glutamate

การให้เซลล์ประสาท N1E-115 ที่ทำให้เปลี่ยนสภาพด้วย DMSO มาสัมผัสกับ PD 98059 หรือ LY 294002 พบว่า PD 98059 30 ไมโครโมลาร์ และ LY 294002 40 ไมโครโมลาร์ไม่มีผลต่อ MTT reduction เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ขณะที่ MTT reduction ของเซลล์เพาะเลี้ยงหลังการสัมผัสกับ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ เป็น 54.54% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การสัมผัสร่วมของสารสกัด EHB 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กับ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ พบว่า สารสกัด EHB ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่ม cell viability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 25.60% เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ glutamate อย่างเดียว เมื่อให้ PD 98059 หรือ LY 294002 ก่อนการสัมผัสร่วม หลังจากนั้นให้ PD 98059 หรือ LY 294002 พร้อมกับการสัมผัสร่วมของสารสกัด EHB กับ glutamate พบว่า สารสกัด EHB ที่ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถเพิ่ม cell viability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 29.52% หรือ 22.88% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ glutamate อย่างเดียว (ภาพที่ 6) แสดงให้เห็นว่า PD 98059 30 มิลลิโมลาร์ และ LY 294002 40 มิลลิโมลาร์ ไม่มีผลต่อ cell viability และไม่มีผลต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB

การให้เซลล์ประสาท N1E-115 ที่ทำให้เปลี่ยนสภาพด้วย DMSO มาสัมผัสกับ PD 98059 หรือ LY 294002 พบว่า PD 98059 30 ไมโครโมลาร์ และ LY 294002 40 ไมโครโมลาร์ไม่มีผลต่อ MTT reduction เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ขณะที่ MTT reduction ของเซลล์เพาะเลี้ยงหลังการสัมผัสกับ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ เป็น 55.05% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การสัมผัสร่วมของสารสกัด EHW 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กับ glutamate 50 มิลลิโมลาร์



ภาพที่ 7 ผลของ MEK inhibitor (PD 98059) และ PI3K inhibitor (LY 294002) ต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHW จากการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจากพิษของ glutamate เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 อายุ 96 ชั่วโมง สัมผัสกับสารยับยั้งเฉพาะ PD 98059 (PD) ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ หรือ LY 294002 (LY) ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ หรือสัมผัสกับ glutamate ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ หรือสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ หรือสัมผัสกับสารยับยั้งเฉพาะ PD หรือ LY ก่อนสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ glutamate 50 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นประเมิน cell viability ด้วยวิธี MTT reduction ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลมาจาก 6 ตัวอย่าง ($n = 6$) ที่เป็นอิสระต่อกัน และแต่ละตัวอย่างทำสามซ้ำ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่สัมผัสกับ glutamate

พบว่า สารสกัด EHW ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่ม cell viability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 34.79% เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ glutamate อย่างเดียว เมื่อให้ PD 98059 หรือ LY 294002 ก่อนการสัมผัสร่วมหลังจากนั้นให้ PD 98059 หรือ LY 294002 พร้อมกับการสัมผัสร่วมของสารสกัด EHW กับ glutamate พบว่าสารสกัด EHW ที่ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถเพิ่ม cell viability อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 34.80% หรือ 43.48% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ glutamate อย่างเดียว (ภาพที่ 7) แสดงให้เห็นว่า PD 98059 30 มิลลิโมลาร์ และ LY 294002 40 มิลลิโมลาร์ ไม่มีผลต่อ cell viability และไม่มีผลต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHW

วิจารณ์

การศึกษานี้ ผู้วิจัยได้ทดสอบผลของสารสกัดมะกอกน้ำต่อการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง mouse neuroblastoma N1E-115 โดยใช้แบบจำลองระดับเซลล์ของการเสื่อมของเซลล์ประสาท 2 แบบ คือการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ที่เกิดจาก hydrogen peroxide และ glutamate ซึ่งการเสื่อมของเซลล์ประสาททั้งสองแบบนี้เป็นผลเนื่องมาจาก oxidative stress

ภาวะ Oxidative stress ทำให้เกิดการทำลายเซลล์และมีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติต่าง ๆ ทางระบบประสาท เช่น Alzheimer's disease, Parkinson's disease และ stroke เป็นต้น ซึ่งความผิดปกตินี้เกิดขึ้นผ่าน free radicals หรือ ROS ได้แก่ hydrogen peroxide, superoxide และ hydroxyl radicals ปริมาณของ ROS ที่มากเกินไปนี้อาจจะทำให้เกิดการทำให้ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน ซึ่ง hydrogen peroxide เป็น ROS หลักที่ใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เกิด oxidative stress ในหลอดทดลอง

ในการศึกษานี้พบว่า hydrogen peroxide แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115 เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่มีผู้วิจัยมาแล้ว⁽²⁶⁻²⁷⁾ เนื่องจากการสัมผัสกับสารสกัด EHB หรือ EHW 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมงไม่มีผลต่อ cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติ จึงเลือกความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงมาใช้ในการทดลอง และเมื่อให้สารสกัด EHB หรือ EHW พร้อมหรือก่อนให้ hydrogen peroxide ไม่สามารถลดการบาดเจ็บหรือการตายที่เกิดจาก hydrogen peroxide ได้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดมะกอกน้ำไม่แสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทจาก oxidative stress ที่เป็นผลมาจากพิษของ hydrogen peroxide

ส่วนการใช้ glutamate เป็นแบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทและการเติม glycine พร้อมกับการเติม glutamate ในทุกการทดลองนั้นเพื่อกระตุ้นให้ glutamate จับกับตัวรับ (NMDA receptor) ได้ดีขึ้น⁽²⁸⁻²⁹⁾ ซึ่งการกระตุ้นตัวรับที่มากเกินไปนี้เป็นสาเหตุให้เกิดการตายของเซลล์⁽¹⁴⁾ ในการศึกษานี้พบว่า glutamate มีความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาท N1E-115 เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นซึ่งความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาทของ glutamate นี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่น ๆ⁽³⁰⁻³²⁾ และการศึกษานี้ glutamate มีค่า IC_{50} ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ โดยเริ่มแสดงความเป็นพิษที่ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า glutamate เริ่มแสดงความเป็นพิษที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.1 และ 10 มิลลิโมลาร์ ในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง N1E-115⁽³⁰⁾, hNT (human Ntera/D1)⁽³³⁾ และเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง hippocampal dentate gyrus ที่แยกจากสมองของหนูขาว⁽³⁴⁾ และที่ความเข้มข้นระหว่าง 1 - 100 มิลลิโมลาร์ ในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง cortical ที่แยกจากสมองของหนูขาว⁽³⁵⁾ ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลมาจากความหนาแน่นที่แตกต่างกันของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่เซลล์ประสาทสัมผัสกับ glutamate และยังขึ้นกับชนิดของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการทดลอง ด้วยเหตุนี้จึงมีผลทำให้เซลล์ประสาทมีความไวต่อการเกิดพิษจาก glutamate แตกต่างกัน

จากการศึกษานี้ได้ประเมิน cell viability จากการตรวจวัด MTT reduction พบว่า การสัมผัสกับสารสกัด EHB หรือ EHW ของมะกอกน้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อ cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงปกติที่เกิด differentiation แล้ว จึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่พบนี้ในการทดลอง โดยเมื่อเซลล์ประสาท N1E-115 สัมผัสกับสารสกัด EHB 1 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือ EHW 0.5 - 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พร้อมกับ glutamate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถลดการบาดเจ็บหรือการตายที่เกิดจาก glutamate ได้ โดยเพิ่ม MTT reduction ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดของ mitochondrial viability/activity แสดงให้เห็นว่า สารสกัด EHB และ EHW ของมะกอกน้ำแสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทจากพิษของ glutamate ซึ่งยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน

จากการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัดมะกอกน้ำพร้อมกับ glutamate เป็นผลให้เกิดการปกป้องการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่เกิดจากพิษของ glutamate ในขณะที่การสัมผัสกับสารสกัดมะกอกน้ำก่อน glutamate ไม่มีผลต่อการปกป้องการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่เกิดจากพิษของ glutamate ได้ อาจเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำเกิดจากการออกฤทธิ์โดยตรงในการลดความเป็นพิษของ glutamate ขณะการสัมผัสร่วมทำให้ลดการตายของเซลล์ประสาท แต่อาจจะไม่มีผลต่อเซลล์ประสาทเมื่อสารสกัดมะกอกน้ำเข้าสู่เซลล์แล้วก่อนการเติม glutamate ลงในการเพาะเลี้ยงตามหลัง

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้พิสูจน์ว่า ฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB และ EHW ในแบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านกระบวนการส่งสัญญาณในวิถี MAPK และวิถี PI3K หรือไม่ โดยเติมสารยับยั้งเฉพาะ คือ MEK inhibitor (PD 98059) และ PI3K inhibitor (LY294002) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการส่งสัญญาณในวิถีดังกล่าว ตามลำดับ ผลพบว่า สารสกัด EHB และ EHW ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงจากพิษของ glutamate ซึ่งผลที่ได้สนับสนุนกับผลการทดลองครั้งก่อนในการศึกษานี้ที่พบว่า สารสกัดมะกอกน้ำปกป้องการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ประสาทที่เกิดจาก glutamate กลุ่มเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่สัมผัสกับสารยับยั้งเฉพาะ PD 98059 หรือ LY 294002 ก่อน แล้วตามด้วยการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHB และ glutamate พร้อมกับเติมสารยับยั้งเฉพาะดังกล่าวมีค่า cell viability ไม่แตกต่างจากกลุ่มเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่ให้เฉพาะการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHB และ glutamate พบผลเช่นเดียวกันกับเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงอีกกลุ่มที่สัมผัสกับสารยับยั้งเฉพาะ PD 98059 หรือ LY 294002 ก่อน แล้วตามด้วยการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHW และ glutamate พร้อมกับเติมสารยับยั้งเฉพาะดังกล่าวมีค่า cell viability ไม่แตกต่างจากกลุ่มเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่ให้เฉพาะการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHW และ glutamate และ cell viability ของทั้ง 2 กลุ่มนี้มีค่าสูงกว่า cell viability ของกลุ่มเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงที่สัมผัสกับ glutamate อย่างเดียว แสดงว่าการเติมหรือไม่เติมสารยับยั้งเฉพาะ MEK inhibitor (PD 98059) หรือ PI3K inhibitor (LY 294002) ก่อน แล้วตามด้วยการสัมผัสร่วมระหว่างสารสกัด EHB หรือ EHW และ glutamate ไม่มีผลต่อฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB หรือ EHW การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า การยับยั้งที่วิถี MAPK ด้วย MEK inhibitor หรือวิถี PI3K ด้วย PI3K inhibitor ไม่มีผลต่อการแสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB และ EHW ดังนั้น กลไกการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทในแบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับวิถี MAPK และวิถี PI3K

จากรายงานการเกิดพิษจาก glutamate พบว่า การกระตุ้น glutamate receptor มากเกินไป และอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะที่ NMDA receptor ทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมภายในเซลล์ (intracellular Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$)) เพิ่มขึ้น มีผลทำให้เกิดการเสื่อมสลายและการตายของเซลล์ประสาทจากพิษของ glutamate ผ่าน excitotoxic pathway ที่เรียกว่า glutamate neurotoxicity หรือ excitotoxicity⁽³⁶⁾ ซึ่งจะไปกระตุ้นเอนไซม์หลายชนิดที่มีความเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ประสาทโดยทำให้เกิด protein breakdown มีการสร้าง free radical หรือการสะสม ROS ที่เกิดจากไมโทคอนเดรีย และเกิด lipid peroxidation⁽³⁷⁾ เป็นเหตุให้เซลล์ประสาทสูญเสียหน้าที่และตายในที่สุด

นอกจากนี้ ความเป็นพิษของ glutamate ยังเกิดขึ้นผ่าน oxidative pathway โดยมีการสร้าง malondialdehyde ระหว่างการเกิด lipid peroxidation ผลทำให้เกิด oxidative damage และเซลล์ประสาทตาย⁽³⁵⁾ จากผลการทดลอง สารสกัด EHB และ EHW สามารถปกป้องการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงจาก glutamate แต่ไม่แสดงผลปกป้องการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงจาก hydrogen peroxide อาจเป็นไปได้ว่า กลไกการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของสารสกัดมะกอกน้ำ แต่อาจจะเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการกระตุ้นที่ glutamate receptor เป็นผลให้ลดการตายของเซลล์ประสาทจากการเกิดพิษของ glutamate อย่างไรก็ตาม กลไกการออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำโดยละเอียดยังไม่เป็นที่เข้าใจ ดังนั้นควรศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อขยายความต่อไป

สรุป

การศึกษาฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัดมะกอกน้ำในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง mouse neuroblastoma N1E-115 โดยใช้แบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์จาก hydrogen peroxide หรือ glutamate พบว่า ทั้ง hydrogen peroxide และ glutamate มีความเป็นพิษต่อเซลล์ประสาท N1E-115 โดยลด cell viability ของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้น

ในแบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก hydrogen peroxide พบว่า สารสกัด EHB หรือ EHW เมื่อให้พร้อมๆกับหรือก่อนให้ hydrogen peroxide ไม่สามารถป้องกันการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงจากความเป็นพิษของ hydrogen peroxide ได้ ส่วนในแบบจำลองการเสื่อมของเซลล์ประสาทจาก glutamate พบว่า เมื่อเซลล์ประสาท N1E-115 สัมผัสกับสารสกัด EHB หรือ EHW พร้อมๆกับ glutamate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัด EHB (1 – 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ EHW (0.5 – 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สามารถป้องกันการบาดเจ็บหรือการตายของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงจากความเป็นพิษของ glutamate ได้ และการเติมสารยับยั้งเฉพาะที่ MAPK หรือ PI3K signaling pathway ไม่มีผลต่อการแสดงฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาทของสารสกัด EHB และ EHW จากพิษของ glutamate แสดงว่าฤทธิ์ดังกล่าวไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับทั้งคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของสารสกัดมะกอกน้ำ และการส่งสัญญาณผ่านวิถี Mitogen-activated protein kinase (MAPK) และวิถี Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)

เอกสารอ้างอิง

1. สุนทรี สิงหนุตตรา, บรรณาธิการ. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรีนติ้ง เฮ้าส์; 2536.
2. Ruangchakpet A, Sajjaanantakul T. Effect of spanish plum (*Elaeocarpus hygrophilus* Kurz.) maturity on total phenolics, flavonoids and antioxidant activity. *Agricultural Sci J* 2007; 5(Suppl.): 127-30.
3. Piao MJ, Kang KA, Zhang R, Ko DO, Wang ZH, Lee KH, et al. Antioxidant properties of 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- β -D-glucose from *Elaeocarpus sylvestris* var. *Ellipticus*. *Food Chem* 2009; 115: 412-8.
4. Fang X, Phoebe CH Jr, Pezzuto JM, Fong HHS, Farnsworth NR, Yellin B, et al. Plant anticancer agents, XXXIV. Cucurbitacins from *Elaeocarpus dolichostylus*. *J Nat Prod* 1984; 47(6): 988-93.
5. Ito A, Chai H-B, Lee D, Kardono LB, Riswan S, Farnsworth NR, et al. Ellagic acid derivatives and cytotoxic cucurbitacins from *Elaeocarpus mastersii*. *Phytochemistry* 2002; 61(2): 171-4.
6. Elkhateeb A, Subeki, Takahashi K, Matsuura H, Yamasaki M, Yamato O, et al. Anti-babesial ellagic acid rhamnosides from the bark of *Elaeocarpus parvifolius*. *Phytochemistry* 2005; 66(21): 2577-80.

7. Nguyen-Pouplin J, Tran H, Tran H, Phan TA, Dolecek C, Farrar J, et al. Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medicinal plants from South Vietnam. *J Ethnopharmacol* 2007; 109(3): 417-27.
8. Sayre LM, Perry G, Smith MA. Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem Res Toxicol* 2008; 21: 172-88.
9. Khandhar SM, Marks WJ. Epidemiology of Parkinson's disease. *Dis Mon* 2007; 53(4): 200-5.
10. Sanders S, Morano C. Alzheimer's disease and related dementias. *J Gerontol Soc Work* 2008; 50 (Suppl. 1): 191-214.
11. Teepker M, Anthes N, Fischer S, Krieg JC, Vedder H. Effects of oxidative challenge and calcium on ATP-levels in neuronal cells. *Neurotoxicology* 2007; 28: 19-26.
12. Conn PJ. Physiological roles and therapeutic potential of metabotropic glutamate receptors. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003: 12-21.
13. Bleich S, Romer K, Wiltfang J, Kornhuber J. Glutamate and the glutamate receptor system: a target for drug action. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003; 18 (Suppl. 1): S33-40.
14. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annu Rev Neurosci* 1990; 13: 171-82.
15. Ankarcrona M, Dypbukt JM, Orrenius S, Nicotera P. Calcineurin and mitochondrial function in glutamate-induced neuronal cell death. *FEBS Lett* 1996; 394(3): 321-4.
16. Dawson VL, Kizushi VM, Huang PL, Snyder SH, Dawson TM. Resistance to neurotoxicity in cortical cultures from neuronal nitric oxide synthase-deficient mice. *J Neurosci* 1996; 16(8): 2479-87.
17. Urushitani M, Nakamizo T, Inoue R, Sawada H, Kihara T, Honda K, et al. N-methyl-D-aspartate receptor-mediated mitochondrial $\text{Ca}^{(2+)}$ overload in acute excitotoxic motor neuron death: a mechanism distinct from chronic neurotoxicity after $\text{Ca}^{(2+)}$ influx. *J Neurosci Res* 2001; 63(5): 377-87.
18. Junttila MR, Li SP, Westermarck J. Phosphatase-mediated crosstalk between MAPK signaling pathways in the regulation of cell survival. *FASEB J* 2008; 22(4): 954-65.
19. Gerits N, Kostenko S, Shiryaev A, Johannessen M, Moens U. Relations between the mitogen-activated protein kinase and the cAMP-dependent protein kinase pathways: comradeship and hostility. *Cell Signal* 2008; 20(9): 1592-607.
20. Pearson G, Robinson F, Gibson TB, Xu BE, Karandikar M, Berman K, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22(2): 153-83.
21. Backer CA, Bakhuizen van den Brink Jr RC. *Flora of Java*. Vol. 1. Groningen, The Netherlands: N.V.P. Noordhoff; 1968. p. 648.
22. Phengklai C. *Elaeocarpaceae*. In: *Flora of Thailand*. Vol. 2 Part 4. Bangkok: The Tistr Press Co. Ltd.; 1981. p. 405-38.
23. Amano T, Richelson E, Nirenberg M. Neurotransmitter synthesis by neuroblastoma clones. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 258-63.
24. Kimhi Y, Palfrey C, Spector I, Barak Y, Littauer UZ. Maturation of neuroblastoma cells in the presence of dimethylsulfoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73(2): 462-6.
25. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65(1-2): 55-63.
26. Kong PJ, Kim YM, Lee HJ, Kim SS, Yoo ES, Chun WJ. Neuroprotective effects of methanol extracts of Jeju native plants on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Korean J Physiol Pharmacol* 2007; 11: 171-4.

27. Zhang J, Melton LD, Adaim A, Skinner MA. Cytoprotective effects of polyphenolics on H₂O₂-induced cell death in SH-SY5Y cells in relation to their antioxidant activities. *Eur Food Res Technol* 2008; 228: 123-31.
28. Johnson JW, Ascher P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature* 1987; 325: 529-31.
29. Danysz W, Parsons CG. Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications. *Pharmacol Rev* 1998; 50(4): 597-664.
30. Schelman WR, Andres RD, Sipe KJ, Kang E, Weyhenmeyer JA. Glutamate mediates cell death and increases the Bax to Bcl-2 ratio in a differentiated neuronal cell line. *Brain Res Mol Brain Res* 2004; 128(2): 160-9.
31. Zhang YM, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in primary cortical neurons is inhibited by equine estrogens via down-regulation of caspase-3 and prevention of mitochondrial cytochrome c release. *BMC Neurosci* 2005; 6:13-35.
32. Kogo J, Takeba Y, Kumai T, Kitaoka Y, Matsumoto N, Ueno S, et al. Involvement of TNF- α in glutamate-induced apoptosis in a differentiated neuronal cell line. *Brain Res* 2006; 1122: 201-8.
33. Perovic S, Pialoglou P, Schroder HC, Pergande G, Muller WE. Flupirtine increases the levels of glutathione and Bcl-2 in hNT (human Ntera/D1) neurons: mode of action of the drug-mediated anti-apoptotic effect. *Eur J Pharmacol* 1996; 317: 157-64.
34. Figiel I, Kaczmarek L. Cellular and molecular correlates of glutamate-evoked neuronal programmed cell death in the *in vitro* cultures of rat hippocampal dentate gyrus. *Neurochem Int* 1997; 31(2): 229-40.
35. Murphy TH, Miyamoto M, Sastre A, Schnaar RL, Coyle JT. Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cystine transport leading to oxidative stress. *Neuron* 1989; 2(6): 1547-58.
36. Nicholls DG, Ward MW. Mitochondrial membrane potential and neuronal glutamate excitotoxicity: mortality and millivolts. *Trends Neurosci* 2000; 23(4): 166-74.
37. Mark LP, Prost RW, Ulmer JL, Smith MM, Daniels DL, Strottmann JM, et al. Pictorial review of glutamate excitotoxicity: fundamental concepts for neuroimaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001; 22(10): 1813-24.

The Study of Neuroprotective Effects of Makok-nam (*Elaeocarpus* sp.) Extracts on Hydrogen Peroxide and Glutamate-induced Neurotoxicity in Mouse Neuroblastoma Cells

Sadudee Rattanajarasroj Warunee Jirawattanapong Nuchattra Chansuvanich
Yuwadee Mettametha and Sakwichai Ontong

Medicinal Plant Research Institute Department of Medical Sciences Tiwanond Road, Nonthaburi 11000
Thailand.

ABSTRACT Makok-nam contains polyphenols which are marked antioxidant and may suggest its potential to alleviate oxidative stress-induced neurodegenerative process. The present study was to investigate the neuroprotective activities of ethanol extracts of Makok-nam bark (EHB) and Makok-nam wood (EHW) on hydrogen peroxide and glutamate-induced neurotoxicity in mouse neuroblastoma N1E-115 cell line cultures. It was found that co-exposure of cultured neurons to glutamate with EHB or EHW for 24 hours may be protective against cell injury from glutamate in N1E-115 cultures, while both extracts did not show this beneficial effect in hydrogen peroxide-induced cell death. Moreover, we also proved that the underlying neuroprotective mechanisms of Makok-nam extracts may not involve in the mitogen-activated protein kinase (MAPK) or phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) signaling pathway, and yet, certain neuroprotection mechanisms of these extracts are still unclear and warrant further investigation.

Key words : มะกอกน้ำ, *Elaeocarpus* sp., hydrogen peroxide-induced cell death, glutamate-induced cell death, mouse neuroblastoma cells, N1E-115 cells

การพัฒนาวิธีตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัส คางทูมในตัวอย่างส่งตรวจด้วยวิธี Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

พัชชา อินคำสืบ อัจฉริยา ลูกบัว อธิวัฒน์ ปริณสิริคุณาวุฒิ ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์
เพียงใจ อามีนเจริญ จารุวรรณ ใจอ้าย ญัฏทนิษฐ์ อาภาภูมิพัทธ์ และศิริมา ปัทมดิลก
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การติดเชื้อไวรัสคางทูมก่อให้เกิดอาการอักเสบของต่อมน้ำลายและอาจเกิดอาการแทรกซ้อน เช่น อัมพาตอักเสบ เยื่อสมองอักเสบ หรือหากมารดาติดเชื้อในช่วงไตรมาสแรกของการตั้งครรภ์อาจมีโอกาสแท้งบุตรได้ จากความสำคัญตามที่กล่าวนี้คณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างส่งตรวจด้วยวิธี RT-PCR โดยปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่วิธี RT-PCR ที่พัฒนานี้สามารถตรวจพบได้คือปริมาณ 10 copies หรือ 40 ag (10^{-18} g) และมีความจำเพาะ (specificity) โดยไม่พบปฏิกิริยาข้ามกัน (cross reaction) กับไวรัสที่จัดอยู่ในวงศ์ (family) เดียวกับไวรัสคางทูม ผลจากการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าวิธี RT-PCR นี้สามารถนำไปใช้ตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมได้ทั้งในตัวอย่างน้ำลาย, สวอบคอ (throat swab), สวอบกระพุ้งแก้ม (buccal swab), น้ำอสุจิ (semen) และน้ำไขสันหลัง (cerebrospinal fluid, CSF) รวมทั้งใน cell lysate ที่ได้จากการแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยง โดยผลการทดสอบที่ได้จากวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นมีความสอดคล้องกับผลการแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งเป็นวิธี gold standard ร้อยละ 100 จึงกล่าวได้ว่าวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมทางห้องปฏิบัติการและยังสามารถนำไปใช้วิเคราะห์หาจีโนไทป์ (genotype) ไวรัสคางทูมที่ระบาดในประเทศต่อไป

Accepted for publication, 29 November 2013



บทนำ

โรคคางทูม (Mumps/Epidemic Parotitis) เกิดจากการติดเชื้อไวรัสคางทูม (Mumps Virus) ซึ่งเป็นไวรัสในกลุ่ม Paramyxoviridae⁽¹⁾ ทำให้เกิดอาการอักเสบของต่อมน้ำลายและอาจก่อให้เกิดอาการแทรกซ้อนรุนแรง เช่น เป็นหมัน หรือถึงแก่ชีวิตได้ นอกจากนี้ 15% ของผู้ติดเชื้อไวรัสคางทูมอาจมีอาการเยื่อสมองอักเสบ และยังมีรายงานของการติดเชื้อไวรัสในสตรีตั้งครรภ์ช่วงไตรมาสแรกอาจทำให้เกิดการแท้งได้⁽²⁾ สำหรับสถานการณ์ของโรคคางทูมในประเทศไทย แม้ว่าอัตราการระบาดของโรคคางทูมมีแนวโน้มลดลง โดยอัตราป่วยต่อแสนคนมีแนวโน้มลดลงสังเกตได้จากอัตราป่วย 66.84 ในปี พ.ศ. 2539 ลดลงเป็น 11.17 ในปี พ.ศ. 2555 แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถกวาดล้างโรคนี้ให้หมดไปจากประเทศได้ ซึ่งกลุ่มเสี่ยงมักเป็นกลุ่มผู้ใหญ่ที่เกิดก่อนที่จะมีการให้วัคซีน MMR ในแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศไทยปี 2540 รวมถึงเด็กอายุต่ำกว่า 7 ปี ซึ่งเป็นกลุ่มที่เคยได้รับวัคซีนเพียงหนึ่งครั้งหรือยังไม่เคยได้รับวัคซีนซึ่งพบจากรายงานการระบาดของโรคคางทูมที่มีอยู่อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังมีสถานการณ์การระบาดของโรคคางทูมปรากฏให้เห็นเรื่อยมา⁽³⁾ แม้กระทั่งประเทศที่พัฒนาแล้วอย่างประเทศอังกฤษ สหรัฐอเมริกา และแคนาดาโดยพบการระบาดใหญ่ของโรคคางทูมในประเทศอังกฤษช่วงปี พ.ศ. 2547 ถึง 2548 พบผู้ป่วยประมาณ 50,000 ราย⁽⁴⁾ หลังจากนั้นพบการระบาดในประเทศสหรัฐอเมริกาในช่วงปลายปี 2548 ถึงกลางปี 2549 พบผู้ป่วยมากกว่า 2,500 ราย⁽⁵⁾ และในปี 2550 พบผู้ป่วยประมาณ 900 คนในประเทศ แคนาดา⁽⁶⁾ ดังนั้น การเฝ้าระวังและการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการยังคงเป็นสิ่งที่ต้องกระทำและพัฒนาต่อไป

การตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมทางห้องปฏิบัติการสามารถทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการตรวจทางน้ำเหลือง (Serological diagnosis) เช่น การตรวจหาภูมิคุ้มกันชนิด IgM ต่อไวรัสคางทูมด้วยวิธี Enzyme Linked Immuno Assay (ELISA)⁽⁷⁾ การแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งสามารถแยกเชื้อไวรัสคางทูมได้ 65% จากสวอบน้ำลาย (salivary swab) ที่เก็บภายในระยะเวลา 5 วันหลังป่วย⁽¹⁾ ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่สนใจมาใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยระดับโมเลกุล (molecular diagnosis) ที่มีความไวสูง เช่นวิธี Nested PCR, Reverse Transcription-PCR (RT-PCR), real-time PCR จนถึงการใช้อย่าง micro array โดยในการพัฒนาวิธีดังกล่าวศึกษาจากตัวอย่างหลายชนิด เช่น น้ำลาย น้ำไขสันหลัง ปัสสาวะ และสวอบคอ (throat swab)⁽⁸⁻¹²⁾ ซึ่งสามารถนำไปสู่การศึกษาทางพันธุกรรมเพื่อรองรับการระบาดของโรค และเป็นฐานข้อมูลเฝ้าระวังและสอบสวนโรค รวมถึงการพัฒนาสายพันธุ์วัคซีนต่อไป

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นชี้ให้เห็นว่าวิธี PCR เป็นวิธีที่น่าสนใจที่จะนำมาประยุกต์ใช้ทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมและโรคสมองอักเสบอันเนื่องมาจากการติดเชื้อไวรัสคางทูม

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

ตัวอย่างส่งตรวจที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมดจำนวน 70 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประกอบด้วย Throat swab 34 ตัวอย่าง, น้ำลาย 17 ตัวอย่าง, Buccal swab 11 ตัวอย่าง, ซีรัม 4 ตัวอย่าง, ปัสสาวะ 2 ตัวอย่าง, CSF และ Semen อย่างละ 1 ตัวอย่าง

ไวรัส

ในการทดสอบ Specificity ของวิธี RT-PCR ใช้ตัวอย่างส่งตรวจของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขที่ได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ และ RT-PCR แล้วว่ามีการติดเชื้อไวรัสคางทูมเนื่องจากไวรัสที่ติดถูกจัดอยู่ใน Family *Paramyxoviridae* ซึ่งเป็น family เดียวกับ mumps virus โดยตัวอย่างจะถูกนำมาสกัดสารพันธุกรรมตามขั้นตอนที่จะกล่าวต่อไปและเก็บสารพันธุกรรมดังกล่าวไว้ที่ -70°C จนกว่าจะใช้งาน

การเตรียม SH-recombinant plasmid

เตรียม SH-recombinant plasmid เพื่อใช้ในการหา limitation of detection และ positive control ของวิธี RT-PCR โดยการโคลนยีน (gene cloning) ยีนส่วน SH ความยาว 674 bp เข้าสู่ vector ด้วยชุดโคลนสำเร็จรูป pCR 8/GW/TOPO TA Cloning kit (Invitrogen, USA) และ vector ที่ใช้คือ pCR 8/GW/TOPO ขึ้นตอนตามคู่มือของบริษัท⁽¹³⁾

การสกัดสารพันธุกรรม

การสกัด RNA ใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN, Germany) โดยใช้ตัวอย่าง 140 µl ผสม lysis buffer 560 µl ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เติม ethanol 560 µl ผสมให้เข้ากัน เติมนลงใน column นำไปปั่นที่ความเร็ว 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นล้าง column ด้วย washing buffer จำนวน 2 ครั้งและ eluted ด้วยน้ำกลั่น 30 µl โดยปั่น column ที่ความเร็ว 14,000 rpm นาน 3 นาที ทำการหาปริมาณสารพันธุกรรมที่สกัดได้ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น (wave length) 260 และ 280 nm จากนั้นเก็บสารพันธุกรรมดังกล่าวที่ -70 °C จนกว่าจะนำไปใช้งาน

การทำ RT-PCR

เป็นการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในส่วน SH gene ความยาว 674bp โดยใช้ forward และ reverse primers ดังนี้ 5'-AGTAGTGTTCGATGATCTCAT-3' และ 5'-GCTCAAGCCTTGATCATTGA-3' การเตรียม PCR mixture ใช้ชุดน้ำยา OneStep RT-PCR (QIAGEN, Germany) ดังนี้ 5x buffer 10 µl, dNTP 2 µl, Enzyme solution 2 µl, RNase inhibitor 20 U, primer 0.6 µM ต่อเส้นและน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 45 µl หลังจากนั้นเติมสารพันธุกรรมตัวอย่าง 5 µl โดยมีปริมาตรรวม 50 µl และ ใช้ PCR cycle ดังนี้ 50 °C 30 นาที จำนวน 1 รอบ, 95 °C 15 นาที จำนวน 1 รอบและ 40 รอบของ 94 °C 1 นาที, 55 °C 1 นาที และ 72 °C 1 นาที หลังจากนั้นเข้าสู่ 72 °C 10 นาที และ 4 °C, α โดยใช้ SH-recombinant plasmid และสารพันธุกรรมที่สกัดจาก supernatant ของน้ำเลี้ยงเซลล์ Vero/hSLAM เป็น positive และ negative control ตามลำดับ

การหาลำดับสารพันธุกรรม

ใช้ Bigdye V3.1 (Applied BioSystem; USA) โดยใช้ DNA template 1-3 ng, 5x buffer 2 µl, Bigdye 2 µl, primer 3.2 pmol เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 20 µl นำเข้าเครื่องเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม โดยมีขั้นตอนดังนี้ 95 °C 5 นาที 1 รอบ เข้าสู่ 30 รอบของ 96 °C 10 วินาที, 50 °C 10 วินาทีและ 60 °C 10 วินาที หลังจากนั้นนำไปหาลำดับสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง DNA sequence genetic analyzer 3130XL (Applied BioSystem; USA) เมื่อได้ลำดับสารพันธุกรรมที่ต้องการ จึงนำไปตรวจสอบว่าลำดับสารพันธุกรรมที่ได้นั้นเป็นสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมที่ต้องการโดยใช้โปรแกรม Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)

การแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยง

นำตัวอย่างส่งตรวจปริมาตร 1 มล. ลงเพาะเชื้อในเซลล์ vero/hSLAM ซึ่งเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยง (tissue culture flask) ขนาด 25 cm² ด้วย 10% FBS-DMEM ที่ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 5 วัน อ่านผลทุกวัน หากพบความผิดปกติจากพยาธิสภาพของเซลล์ (Cytopathic effect) ให้แบ่งส่วนหนึ่งไปทำการตรวจพิสูจน์เชื้อและส่วนที่เหลือเก็บไว้ที่ -70 °C ถือเป็น passage ที่ 1 (#1) หาก #1 ไม่พบเชื้อ ทำการเพาะเชื้อตามขั้นตอนที่กล่าวมาเป็นครั้งที่ 2 (#2) หากไม่พบเชื้อถือว่าเป็นผลลบ (Negative)⁽¹⁴⁾

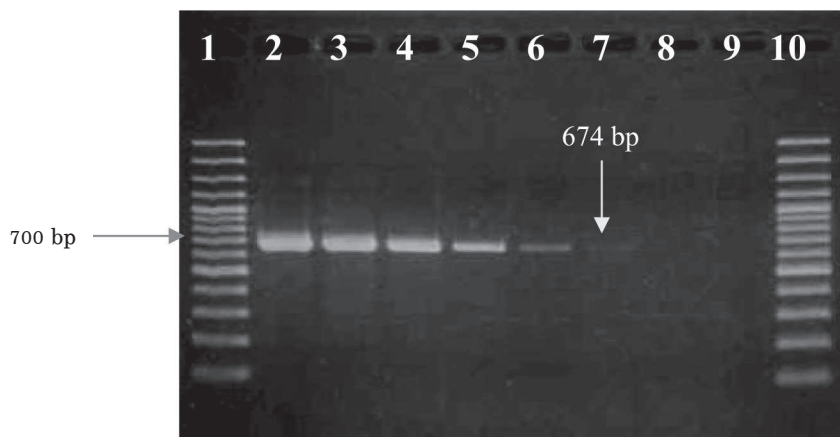
การตรวจพิสูจน์เชื้อไวรัสคางทูมโดยการย้อมด้วยวิธี **Fluorescent antibody test (FAT)**

ทำการ fixed infected cell ด้วย acetone แล้วหยดด้วย monoclonal antibody ต่อไวรัสคางทูม ตามด้วย Rabbit anti- Mouse Immunoglobulin และอ่านผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ที่กำลังขยาย 200 เท่า (200 x) โดยการอ่านผลว่าเป็นบวกเมื่อพบการเรืองแสงสีเขียว (apple green)⁽¹⁴⁾

ผล

การหาปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดโดยวิธี **RT-PCR** ที่สามารถตรวจพบได้ (limitation of detection, LOD)

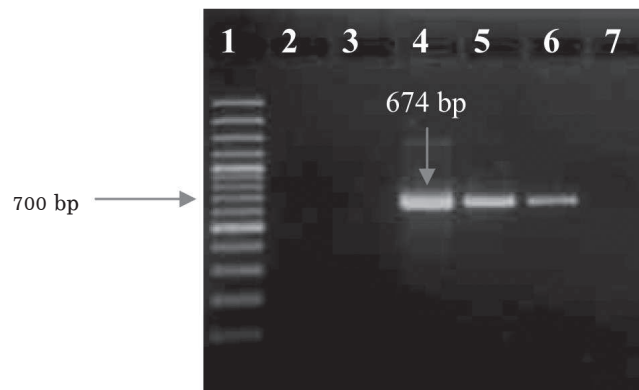
การหาปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดโดยวิธี RT-PCR ที่สามารถตรวจพบได้ โดยทำ ten- fold serial dilution ของ SH-recombinant plasmid จากความเข้มข้น 1×10^6 ถึง 0 copy หรือ 4×10^{-12} ถึง 4×10^{-19} g พบว่าปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบได้คือ 10 copies หรือ 4×10^{-17} g (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การหาปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่วิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจหาได้ โดยทำ ten fold-dilution ของ SH-recombinant plasmid จากช่วง 1×10^6 ถึง 0 copy หรือ 4×10^{-12} ถึง 4×10^{-19} g โดยช่องที่ 1 และ 10 คือ 100 bp DNA marker ช่องที่ 2 - 9 คือ SH-recombinant plasmid ปริมาณ 1.0×10^6 , 1.0×10^5 , 1.0×10^4 , 1.0×10^3 , 1.0×10^2 , 10, 1 และ 0 copy หรือ 4×10^{-12} , 4×10^{-13} , 4×10^{-14} , 4×10^{-15} , 4×10^{-16} , 4×10^{-17} , 4×10^{-18} , 4×10^{-19} g ตามลำดับ

การหาความจำเพาะ (Specificity) ของวิธี **RT-PCR**

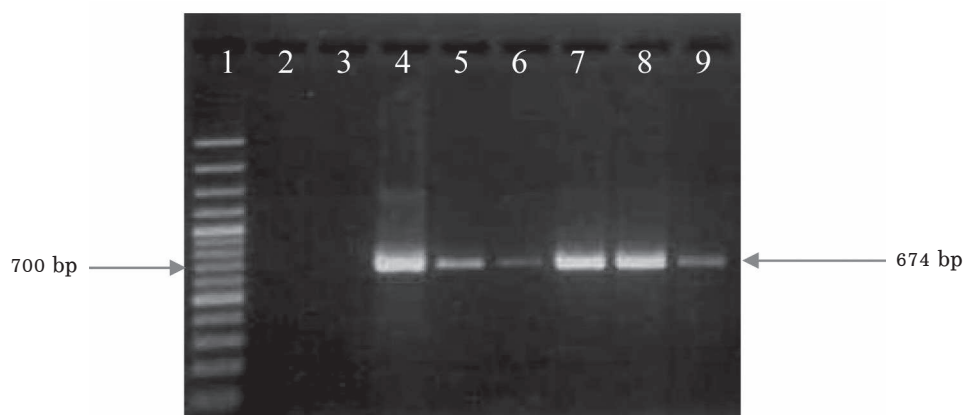
ดำเนินการทดสอบความจำเพาะของวิธี RT-PCR โดยนำตัวอย่างเชื้อไวรัสคางทูมที่แยกได้ในเซลล์เพาะเลี้ยง รวมทั้งสารพันธุกรรมมาตรฐาน mumps RNA ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก Center for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta และตัวอย่างเชื้อไวรัสหัดที่แยกได้จากเซลล์เพาะเลี้ยง มาทำการทดสอบด้วยวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้น พบว่าวิธีนี้สามารถเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมจากตัวอย่างเชื้อไวรัสคางทูมที่แยกได้เซลล์เพาะเลี้ยง รวมทั้งสารพันธุกรรมมาตรฐาน mumps RNA และตัวควบคุมบวก (positive control) โดยไม่พบ specific band ในตัวอย่างที่ติดเชื้อ measles virus และตัวควบคุมลบ (negative control) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การหาความจำเพาะของวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาจากตัวอย่างที่สามารถแยกเชื้อไวรัสคางทูมได้, mumps RNA ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก CDC และตัวอย่างที่ติดเชื้อ measles virus โดยช่องที่ 1 คือ 100 bp DNA marker ช่องที่ 2 - 7 คือ 2: DW, 3: negative control, 4: positive control, 5: ตัวอย่างที่สามารถแยกเชื้อไวรัสคางทูมได้, 6: mumps RNA มาตรฐาน, 7: ตัวอย่างติดเชื้อไวรัส measles ตามลำดับ

การตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมด้วยวิธี RT-PCR ในตัวอย่างส่งตรวจ

ทำการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมด้วยวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นในตัวอย่างส่งตรวจ จำนวน 70 ตัวอย่าง ประกอบด้วยสวอบคอ (Throat swab) 34 ตัวอย่าง, น้ำลาย 17 ตัวอย่าง, สวอบกระพุ้งแก้ม (Buccal swab) 11 ตัวอย่าง, ซีรัม 4 ตัวอย่าง, ปัสสาวะ 2 ตัวอย่าง, น้ำไขสันหลัง (CSF) และน้ำอสุจิ (Semen) อย่างละ 1 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมความยาว 674 bp ได้จากตัวอย่างดังกล่าวจำนวน 41 (59%) ตัวอย่างโดยตรวจพบใน throat swab จำนวน 20/34 (59%), น้ำลาย 8/17 (47%), buccal swab 7/11 (64%), CSF 1/1 (100%) และ Semen 1/1 (100%) แต่ไม่สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างปัสสาวะ (0/2) ดังแสดงในรูปที่ 3 และเมื่อนำ PCR product ที่ได้ไปหาลำดับสารพันธุกรรมและทำการ Blast ด้วยโปรแกรม (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) ทางอินเทอร์เน็ต พบว่า PCR product ที่ได้ คือสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในส่วนของ SH gene



ภาพที่ 3 การตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมด้วยวิธี RT-PCR ในตัวอย่างส่งตรวจชนิดต่าง ๆ ช่องที่ 1 คือ 100 bp DNA marker ช่องที่ 2, 3 และ 4 คือ Nuclease-free water, negative และ positive control ตามลำดับ ช่องที่ 5 - 9 คือตัวอย่าง throat swab, CSF, cell lysate, buccal swab และ saliva ตามลำดับ

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธี RT-PCR และการแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยง

จากตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมด 70 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมด้วยวิธี RT-PCR จำนวน 41 ตัวอย่าง ซึ่งในจำนวนนี้สามารถแยกเชื้อไวรัสคางทูมได้ 17 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.5 แต่ที่เหลืออีก 24 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 58.5 ที่ไม่สามารถแยกเชื้อได้ อย่างไรก็ตามทุกตัวอย่างที่สามารถแยกเชื้อได้จะสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมด้วยวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการแยกเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยงพบว่า วิธี RT-PCR มีความไว (sensitivity) และค่าความเชื่อถือได้เมื่อค่าเป็นลบ (Negative Predictive Value) เป็น 100% ในขณะที่ความจำเพาะ (specificity) และความเชื่อถือได้เมื่อค่าเป็นบวก (Positive Predictive Value) เป็นร้อยละ 54.7 และ 41.46 ตามลำดับ เนื่องจากมี 24 ตัวอย่าง ซึ่ง RT-PCR ให้ผลบวก แต่การแยกเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง (cell isolation) ให้ผลลบ (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม เมื่อนำ PCR product ของทั้ง 24 ตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมแล้ว ทำการ Blast ผ่านเว็บไซต์ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome) พบว่าทั้ง 24 ตัวอย่างมีความเหมือนกับ SH gene ของไวรัสคางทูม 98 - 99% (ข้อมูลไม่ได้นำมาแสดง)

ตารางที่ 1 การคำนวณหาความไว ความจำเพาะ ค่าความเชื่อถือได้เมื่อค่าเป็นบวกและลบ

		Cell isolation	
		+	-
RT-PCR	+	17	24
	-	0	29

$$\text{Sensitivity} = [17/(17+0)] \times 100 = 100\%$$

$$\text{Specificity} = [29/(29+24)] \times 100 = 54.7\%$$

$$\text{Positive predictive value} = [17/(17+24)] \times 100 = 41.5\%$$

$$\text{Negative predictive value} = [29/(29+0)] \times 100 = 100\%$$

วิจารณ์

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นนี้มีประสิทธิภาพ โดยปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่วิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจพบได้คือ 10 copies หรือ 40 ag (10^{-18} g) ซึ่งสอดคล้องกับที่ Jin Li และคณะที่ได้รายงานไว้⁽¹⁵⁾ และไม่พบ cross reaction จากตัวอย่างที่ติดเชื้อไวรัสคางทูม ซึ่งเป็นไวรัสในวงศ์ family เดียวกัน ถือว่าวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นนี้ มีความจำเพาะและความไวสูง

นอกจากนี้ จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธี RT-PCR ให้ผลตรงกับผลการแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยง ซึ่งถือเป็นวิธี gold standard ทุกตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 100 และสามารถเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของ RNA มาตรฐานของไวรัสคางทูมที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก CDC ประเทศสหรัฐอเมริกา จึงกล่าวได้ว่าผลการทดสอบด้วยวิธี RT-PCR นี้มีความเชื่อถือได้ รวมทั้งด้วยวิธี RT-PCR นี้สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างส่งตรวจจำนวน 24 ตัวอย่างจากผู้ป่วยคางทูมที่ไม่สามารถแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ซึ่ง PCR product จากตัวอย่างดังกล่าวนี้ถูกนำหาลำดับสารพันธุกรรมหลังจากทำการ blast และเปรียบเทียบกับไวรัสคางทูมสายพันธุ์อ้างอิงตามท้องที่การอนามัยโลกกำหนด⁽¹⁶⁾ แล้วพบว่าเป็นไวรัสคางทูมทุกตัวอย่างแสดงให้เห็นว่าวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นนี้นอกจากจะให้ผลที่เชื่อถือได้แล้วยังมีประสิทธิภาพมากกว่าการแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งสอดคล้องกับที่นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้รายงานไว้⁽¹⁷⁻²⁰⁾

อย่างไรก็ตามสำหรับทุกตัวอย่างที่ไม่สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมเป็นตัวอย่างที่ไม่สามารถแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงได้เช่นกัน ดังนั้นปัจจัยที่ควรคำนึงถึงสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมทางห้องปฏิบัติการ คือการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีที่ถูกต้องในช่วงเวลาที่เหมาะสม เก็บรักษาและนำส่งห้องปฏิบัติการได้อย่างถูกต้อง⁽²¹⁾ โดยไวรัสคางทูมจะถูกปลดปล่อยออกมาในน้ำลายช่วง 6 วันก่อนมีอาการ จนถึงประมาณ 5 วัน หลังแสดงอาการ⁽²²⁻²³⁾ แต่หากผู้ป่วยเคยได้รับวัคซีน Measles-Mumps-Rubella vaccine (MMR vaccine) มาก่อนจะสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมจากสารคัดหลั่งในช่องปาก (oral fluid) ได้ในช่วงเวลา 1 - 3 วันแรกของการแสดงอาการ⁽²⁴⁾

การศึกษาแสดงให้เห็นถึงความไว ความจำเพาะ และความเชื่อถือได้ของผลการทดลองของวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำวิธีการนี้มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมทางห้องปฏิบัติการ โดยสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธี RT-PCR นี้สามารถนำไปใช้ในการศึกษาจีโนมของไวรัสคางทูมซึ่งข้อมูลที่ได้รับจะสนับสนุนงานสอบสวน ควบคุม และกวดล้างโรคต่อไปในอนาคต

สรุป

วิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจหาปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดได้ที่ 10 copies หรือ 40 ag (10^{-18} a) และมีความจำเพาะโดยไม่พบ cross reaction กับไวรัสหัด ซึ่งถูกจัดอยู่ใน family เดียวกับไวรัสคางทูม นอกจากนี้วิธี RT-PCR นี้สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมได้ทั้งในตัวอย่าง throat swab, buccal swab, CSF, cell lysate, semen และ saliva โดยผลการทดสอบที่ได้จากวิธี RT-PCR มีความสอดคล้องกับผลการแยกเชื้อไวรัสคางทูมในเซลล์เพาะเลี้ยงร้อยละ 100 รวมทั้งให้ผลบวกต่อ RNA มาตรฐานของไวรัสคางทูมที่ได้รับ ความอนุเคราะห์จาก CDC ประเทศสหรัฐอเมริกา ถือว่าผลการทดสอบที่ได้วิธีนี้มีความน่าเชื่อถือ จึงกล่าวได้ว่าวิธี RT-PCR ที่พัฒนาขึ้น มีประสิทธิภาพสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคคางทูมทางห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการศึกษาขอขอบคุณสำนักกระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ สำหรับการเก็บและส่งต่อตัวอย่าง รวมทั้งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์สำหรับการสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติ สหรัฐอเมริกา (CDC) ที่ให้ความอนุเคราะห์ RNA positive control ทำให้การศึกษานี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Carbone KM, Wolinsky JS. Mumps virus. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Field Virology vol. 1. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams&Wilkins; 2001. p. 1381-1400.
2. Weekly edidemiology record No. 45. 2001; 76(45): 345-356. [Online]. 2001; [12 screens]. Available from: URL: <http://www.who.int/docstore/wer/pdf/2001/wer7645.pdf>
3. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์. ข้อมูลโรคที่เฝ้าระวังทางระบาดวิทยา จากบัตรรายงาน 506 พ.ศ. 2548. นนทบุรี: สำนักกระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
4. Centers for Disease Control and Prevention. Mumps epidemic-United Kingdom, 2004-2005. MMWR Morbidity Mortality Weekly Report 2006; 55(7): p. 173-175.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Mumps epidemic-Iowa, 2006. MMWR Morbidity Mortality Weekly Report 2006; 55(Dispatch): p. 1-3.

6. Public Health Agency of Canada. Information for Health Professional, National Summary, November 9, 2007 [Online]. Available from: URL: <http://phac-aspc.gc.ca>
7. Mumps. In: WHO-recommended standards for surveillance of selected vaccine-preventable diseases. WHO/V&B/03.01. Geneva, Switzerland: Vaccines and Biologicals, World Health Organization; 2003. p. 18-20.
8. Palacios G, Jabado O, Cisterna D, *et al.* Molecular identification of mumps virus genotype from clinical sample: standardized method of analysis. *J Clin Microbiol* 2005; 43(4): 1869-78.
9. Boriskin YS, Rice PS, Stabler RA, *et al.* DNA microarrays for virus detection in cases of central nervous system infection. *J Clin Microbiol* 2004; 42(12): 5811-8.
10. Watson-Crees G, Saunders A, Scott J, Lowe L, Pettipas J, Hatchette TF. Two successive outbreaks of mumps in Nova Scotia among vaccinated adolescents and young adults. *CMAJ* 2006; 175(5): 483-8.
11. Poggio GP, Rodriguez C, Cisterna D, Freire MC, Cello J. Nested PCR for rapid detection of mumps virus in cerebrospinal fluid from patients with neurological diseases. *J Clin Microbiol* 2000; 38(1): 274-8.
12. Krause CH, Eastick K., Ogilvie MM. Real-time PCR for mumps diagnosis on clinical specimens--comparison with results of conventional methods of virus detection and nested PCR. *J Clin Virol* 2006; 37(3): 184-9.
13. User manual pCR8/GW/TOPO TA cloning kit. Version E. USA: Invitrogen; 2006.
14. Standard Protocols for RT-PCR for Molecular Epidemiology of Mumps Virus. Measles, Mumps, Rubella and Herpes Branch, Atlanta: CDC.
15. Jin L, Beard S, Brown DW. Genetic heterogeneity of mumps virus in the United Kingdom: identification of two new genotypes. *J Infect Dis* 1999; 180(3): 829-33.
16. Boddicker JD, Rota PA, Kreman T, Wangeman A, Lowe L, Hummel KB, *et al.* Real-time reverse transcription-PCR assay for detection of mumps virus RNA in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2007; 45(9): 2902-8.
17. Cusi MG, Bianchi S, Valassina M, Santini L, Arnetoli M, Valensin PE. Rapid detection and typing of circulating mumps virus by reverse transcription/polymerase chain reaction. *Res Virol* 1996; 147(4): 227-32.
18. Uchida K, Shinohara M, Shimada S, Segawa Y, Doi R, Gotoh A. *et al.* Rapid and sensitive detection of mumps virus RNA directly from clinical samples by real-time PCR. *J Med Virol* 2005; 75(3): 470-4.
19. WHO/IVB/07.01. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2007.
20. Henle G, Henle W, Wendell KK, Rosenberg P. Isolation of mumps virus from human beings with induced apparent or inapparent infections. *J Exp Med* 1948; 88(2): 223-32.
21. Carbone KM, Rubin S. Mumps virus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Field virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2007. p. 1527-50.
22. Bitsko RH, Cortese MM, Dayan GH, Rota PA, Lowe L, Iversen SC. *et al.* Detection of RNA of mumps virus during an outbreak in a population with a high level of measles, mumps, and rubella vaccine coverage. *J Clin Microbiol* 2008; 46(3): 1101-3.

Establishment of Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) for Detection of Mumps Nucleic Acid from Clinical Specimens

Patcha Incomserb Atchariya Lukebua Athiwat Primsirikunawut
Prasopchai Aramrungrroj Phiengjai Armeencharoen Jaruwan Jai-ai
Nutthanitt Arpaphrommipath and Sirima Pattamadilok

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

ABSTRACT Infection with mumps virus results in swelling of salivary glands and further complications such as orchitis, meningitis or abortion within the first-trimester of pregnancy may occur. We, therefore, developed an RT-PCR method for detection of mumps genetic materials in clinical specimens. It was found that the limit of detection for our in-house RT-PCR method is 10 copies or 40 ag (10^{-18} g) and there is no cross – reactivity with measles virus, the other virus within the same family. It was demonstrated that the developed RT-PCR method is able to detect the genetic materials of mumps virus in saliva, throat swab, buccal swab, CSF, semen and mumps-infected cell lysate. The in-house RT-PCR technic showed 100% correlation with the gold standard method, i.e., viral isolation. The result from our study indicated that the developed RT-PCR method is useful for laboratory diagnosis as well as genetic characterization of mumps virus for the outbreak investigation in Thailand.

Key words: Mumps, RT-PCR

การเสริมสร้างความเข้มแข็งระบบคุณภาพ ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพยาของประเทศไทย ผ่านการเข้าร่วม WHO Prequalification Programme

สุรชนี เสวตศิลา

สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ องค์การอนามัยโลกจัดทำโครงการ Prequalification of Quality Control Laboratories โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มการเข้าถึงห้องปฏิบัติการที่มีศักยภาพตรวจยารักษาโรคเอดส์ มาลาเรีย และวัณโรค ที่หน่วยงานขององค์การสหประชาชาติจัดซื้อในโครงการ Prequalification Programme โดยประเมินห้องปฏิบัติการด้านการควบคุมคุณภาพยาตามเกณฑ์ของหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ขององค์การอนามัยโลก (WHO good practices for pharmaceutical quality control laboratories) เพื่อพัฒนาขีดความสามารถ ห้องปฏิบัติการสำนักยาและวัตถุเสพติด ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพยาแห่งชาติ จึงยื่นขอการรับรองห้องปฏิบัติการต่อองค์การอนามัยโลกในเดือนกันยายน 2553 จากการประเมินเบื้องต้น ผู้เชี่ยวชาญขององค์การอนามัยโลกให้ความเห็นว่าห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ และศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติด มีศักยภาพและความพร้อมสามารถขอการรับรองได้ทันที สำหรับห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางชีววิทยา ต้องมีการปรับปรุงโครงสร้างของห้องปฏิบัติการให้เป็นไปตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกก่อน สำนักฯ จึงยื่นขอคำรับรองในขอบข่ายที่ได้รับคำแนะนำ และได้รับการตรวจประเมินจริงในระหว่างวันที่ 30 เมษายน - 2 พฤษภาคม 2555 ผลการตรวจประเมินสรุปว่า ไม่พบข้อบกพร่องในระดับวิกฤต (critical) แต่มีข้อสังเกตในระดับสำคัญ (major) 2 ข้อ และข้อสังเกตทั่วไป (other observations) จำนวน 9 ข้อ จากผลดังกล่าวทำให้นักฯ ปรับปรุงและพัฒนาระบบคุณภาพจนเป็นห้องปฏิบัติการภาครัฐที่ได้รับการรับรองเป็นแห่งแรกในกลุ่มประเทศสมาชิกเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในปี 2555

บทนำ

สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นหน่วยงานหนึ่งที่มีบทบาทอย่างสูงต่อการควบคุมคุณภาพยาภายในประเทศ โดยเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านยาและวัตถุเสพติด⁽¹⁾ มีภารกิจที่สำคัญประการหนึ่งคือการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเภสัชภัณฑ์เพื่อเฝ้าระวังคุณภาพยาในท้องตลาด รวมถึงเฝ้าระวังเภสัชภัณฑ์ที่ต้องสงสัยว่ามีปัญหาด้านคุณภาพ เพื่อทำให้เกิดความมั่นใจในผลการตรวจวิเคราะห์ สำนักยาและวัตถุเสพติดได้พัฒนาระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025⁽²⁾ และได้รับการรับรองความสามารถทางห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานดังกล่าว จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 จนถึงปัจจุบัน⁽³⁾

ในปี พ.ศ. 2547 องค์การอนามัยโลกร่วมกับ United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), United Nations Children's Fund (UNICEF), United Nations Population Fund (UNFPA) ภายใต้การสนับสนุนของธนาคารโลก (World Bank) ได้จัดทำโครงการ Prequalification of Quality Control Laboratories เพื่อเพิ่มการเข้าถึงห้องปฏิบัติการในทวีปแอฟริกา ที่มีศักยภาพตรวจรักษาโรคเอดส์ มาลาเรีย และวัณโรค ที่หน่วยงานขององค์การสหประชาชาติจัดซื้อในโครงการ Prequalification Programme โดยการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการด้านการควบคุมคุณภาพยาที่สมัครเข้าร่วมโปรแกรม ตามมาตรฐานหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ขององค์การอนามัยโลก (WHO good practices for pharmaceutical quality control laboratories)⁽⁴⁾ ต่อมาองค์การอนามัยโลกได้ขยายโครงการไปยังภูมิภาคอื่นๆ ของโลก สำหรับในกลุ่มประเทศสมาชิกเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (WHO South-East Asia region) มีห้องปฏิบัติการภาคเอกชนจำนวน 2 แห่งในประเทศอินเดีย ประเทศเดียวที่ได้รับการรับรองห้องปฏิบัติการด้านการควบคุมคุณภาพยาตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก ส่วนประเทศในกลุ่มอาเซียนมีเพียงเวียดนามและสิงคโปร์ที่มีห้องปฏิบัติการได้รับการรับรอง⁽⁵⁾ แม้สำนักยาและวัตถุเสพติดจะได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ซึ่งเป็นมาตรฐานสากลสำหรับห้องปฏิบัติการสอบเทียบและห้องปฏิบัติการทดสอบ แต่หลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ขององค์การอนามัยโลก เป็นแนวทางการปฏิบัติที่เฉพาะเจาะจงกับห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์เภสัชภัณฑ์ โดยแนวทางนี้ให้คำแนะนำเรื่องระบบการจัดการด้านคุณภาพในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างสำคัญ สารปรุงแต่งยา และเภสัชภัณฑ์ เพื่อให้ผลการทดสอบเชื่อถือได้ นอกจากนี้ องค์การอนามัยโลกยังให้การสนับสนุนทางวิชาการแก่ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพยาแห่งชาติที่เข้าร่วมโครงการโดยออกค่าใช้จ่ายให้ เช่น การส่งผู้เชี่ยวชาญมาให้คำปรึกษา การตรวจประเมินห้องปฏิบัติการและหลังจากได้รับการรับรองยังให้การสนับสนุนทางวิชาการอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้สำนักยาและวัตถุเสพติดพัฒนาศักยภาพและขีดความสามารถ เพื่อดำเนินการตามนโยบายการสร้างหลักประกันคุณภาพและมาตรฐานบริการด้านยาในระบบหลักประกันสุขภาพของประเทศ รวมถึงโครงการอื่นๆ ที่ร่วมดำเนินการกับองค์กรระดับนานาชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ และรองรับการก้าวสู่ประชาคมอาเซียนในปี 2558 และจากมติคณะรัฐมนตรีเมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2554⁽⁶⁾ เห็นชอบในหลักการแผนพัฒนาศักยภาพที่ยั่งยืนในประเทศไทยในเรื่อง WHO Pre-qualification Scheme ของกระทรวงสาธารณสุข โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รับเป้าหมายในการได้รับการรับรอง WHO Pre-qualification of Quality Control Laboratories ดังนั้น สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพยาแห่งชาติ และเป็นศูนย์ความร่วมมือด้านการประกันคุณภาพยาขององค์การอนามัยโลก (WHO Collaborating Centre for Quality Assurance of Essential Drugs) จึงตระหนักถึงภารกิจเร่งด่วนในการขอรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกดังกล่าว บทความฉบับนี้กล่าวถึงขั้นตอนต่างๆ ที่สำนักยาและวัตถุเสพติดดำเนินการ ตั้งแต่การพัฒนาห้องปฏิบัติการ การขอการรับรอง การพัฒนาต่างๆ จนได้รับการรับรองตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก

การดำเนินงาน

1. จัดทำหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ ฉบับภาษาไทย

สำนักงานและวัตถุเสพติด ได้จัดทำหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ ฉบับภาษาไทยขึ้น⁽⁷⁾ โดยได้รับอนุญาตจากองค์การอนามัยโลก เพื่อเผยแพร่ให้บุคลากรของหน่วยงาน สามารถศึกษาและทำความเข้าใจกับเกณฑ์ต่างๆ ได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังได้เผยแพร่บน website ขององค์การอนามัยโลก และเผยแพร่สู่ห้องปฏิบัติการด้านยาของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ รวมถึงโรงงานผลิตยาในประเทศ เพื่อให้นำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง

2. กระบวนการพัฒนาห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านการตรวจวิเคราะห์ยา

สำนักงานและวัตถุเสพติด ดำเนินการพัฒนาห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านการตรวจวิเคราะห์ยาหลายด้านพร้อมกัน ดังนี้

2.1 การพัฒนาบุคลากร โดยสำนักงานและวัตถุเสพติด นอกจากการพัฒนาทักษะด้านการตรวจวิเคราะห์แล้วยังส่งเสริมให้บุคลากรได้รับการอบรม ระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025:2005 หลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ องค์การอนามัยโลก การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ และอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

2.2 ปรับปรุงอาคาร สถานที่ โดยได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อใช้ในการปรับปรุงห้องปฏิบัติการ ติดตั้งอุปกรณ์เกี่ยวกับความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ เช่น ฝักบัวฉุกเฉิน อุปกรณ์สำหรับล้างตา ปรับปรุงห้องเก็บสารเคมีให้ปลอดภัยและเป็นไปตามหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ขององค์การอนามัยโลก

2.3 ทบทวนระบบบริหารจัดการของสำนักฯ เพื่อพิจารณาผลการดำเนินงานที่ผ่านมา และกำหนดเป็นนโยบายที่จะขอการรับรองตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก และถ่ายทอดให้บุคลากรของหน่วยงานได้รับทราบและร่วมมือในการดำเนินการ

2.4 ปรับปรุงเอกสารในระบบคุณภาพได้แก่ คู่มือคุณภาพ มาตรฐานการปฏิบัติงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องให้เป็นปัจจุบัน และสอดคล้องกับหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ องค์การอนามัยโลก และมาตรฐานการปฏิบัติงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

2.5 ตรวจติดตามภายใน (internal audit) ตามเกณฑ์ของ ISO/IEC 17025:2005 และหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ องค์การอนามัยโลก เพื่อให้ทราบข้อบกพร่อง และแก้ไข

3. การเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing)

สำนักงานและวัตถุเสพติด ได้เข้าร่วมการทดสอบความชำนาญด้านเภสัชกรรมตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมา⁽⁸⁾ ตามโปรแกรมแต่ละหน่วยงาน หน่วยงานในต่างประเทศที่สำนักงานและวัตถุเสพติดเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ ได้แก่

3.1 European Directorate for Quality of Medicines (EDQM) ประเทศฝรั่งเศส

3.2 International Pharmaceutical Federation ประเทศเนเธอร์แลนด์

3.3 External Quality Assessment Scheme ขององค์การอนามัยโลก

3.4 IFM Quality Services Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย

3.5 LGC Standards Proficiency Testing ประเทศอังกฤษ

4. จัดทำข้อมูลของห้องปฏิบัติการ (Laboratory Information File)

องค์การอนามัยโลกกำหนดให้ห้องปฏิบัติการที่สนใจเข้าร่วมโครงการ Prequalification for Quality Control Laboratories ต้องจัดทำข้อมูลของห้องปฏิบัติการ ตามหัวข้อที่องค์การอนามัยโลกกำหนด⁽⁹⁾ ประกอบไปด้วย ข้อมูลพื้นฐานของห้องปฏิบัติการ เช่น ชื่อ ที่อยู่ งานที่รับผิดชอบ การจัดการเอกสารและระบบคุณภาพที่ใช้ บุคลากร หน้าที่ ความรับผิดชอบและโครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ของการปฏิบัติงาน การจัดการตัวอย่าง การจัดการวัสดุ สารเคมี และของเสียจากห้องปฏิบัติการ อาคาร สถานที่ แผนผังห้องปฏิบัติการต่างๆ เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ การจัดการเกี่ยวกับการทำสัญญา ข้อตกลงต่างๆ การจัดการกรณีที่เกิดสิ่งที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด การตรวจสอบภายในหน่วยงาน การทดสอบความคงตัว (ถ้ามี) การทดสอบทางจุลชีววิทยา (ถ้ามี) และระบบน้ำในห้องปฏิบัติการ

สำนักยาและวัตถุเสพติดได้แสดงความจำนงค์เข้าร่วมโครงการ Prequalification for Quality Control Laboratories พร้อมขอความอนุเคราะห์ผู้เชี่ยวชาญจากองค์การอนามัยโลกเพื่อให้มาประเมินในเบื้องต้นถึงความพร้อมของสำนักฯ และให้คำแนะนำทางด้านวิชาการ 1 ครั้งในปีงบประมาณ 2554 และตรวจประเมินจริงในปีงบประมาณ 2555

ผล

จากการประเมินเบื้องต้นในระหว่างวันที่ 2 - 6 พฤษภาคม 2554 ผู้เชี่ยวชาญจากองค์การอนามัยโลก ได้ประเมินห้องปฏิบัติการ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ ศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติด และกลุ่มตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางชีววิทยา ไม่พบข้อสังเกตระดับวิกฤต (critical) พบข้อสังเกตระดับสำคัญ (major) จำนวน 7 ข้อ และข้อสังเกตทั่วไป (other) 17 ข้อ ชนิดและจำนวนข้อสังเกตที่พบ (ตารางที่ 1 และ 2) และให้ความเห็นว่าห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ และศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติด มีศักยภาพและความพร้อมสามารถขอการรับรองได้ สำหรับห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางชีววิทยา มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการปรับปรุงโครงสร้างของห้องปฏิบัติการให้เป็นไปตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก ก่อนที่ยื่นขอรับการตรวจรับรอง

ตารางที่ 1 แสดงข้อสังเกตระดับสำคัญที่พบ

ลำดับที่	ชนิดของข้อสังเกตที่พบจากการตรวจประเมินเบื้องต้น	จำนวน (เรื่อง)
1	อาคาร สถานที่ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาควรปรับปรุงตาม WHO guideline on good practices for pharmaceutical microbiology laboratories	1
2	การจัดการเครื่องมือ ได้แก่ การกำหนด acceptance criteria, การบำรุงรักษาเครื่องมือ และการตรวจสอบอุณหภูมิตู้เย็นเฉพาะเชื้อ	3
3	การควบคุมสภาวะแวดล้อม ได้แก่ การควบคุมสภาวะแวดล้อม, การควบคุมการเปลี่ยนแปลง ก่อนการปฏิบัติงานในห้องตรวจการปราศจากเชื้อ	2
4	การจัดการข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ ไม่มีมาตรฐานการปฏิบัติงานสำหรับการป้องกันข้อมูล อิเล็กทรอนิกส์	1

ตารางที่ 2 ข้อสังเกตอื่นๆ

ลำดับที่	ชนิดของข้อสังเกตที่พบจากการตรวจประเมินเบื้องต้น	จำนวน (เรื่อง)
1	เอกสารในระบบคุณภาพ	6
2	การฝึกอบรม	1
3	การควบคุมคุณภาพน้ำในห้องปฏิบัติการ	1
4	การจัดการตัวอย่าง	2
5	การจัดการบันทึก	3
6	การจัดการสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ	2
7	ความปลอดภัย	2

ดำเนินการแก้ไขข้อสังเกตตามคำแนะนำของผู้เชี่ยวชาญ สำหรับการแก้ไขห้องปฏิบัติการชีววิทยา ต้องใช้เวลาและงบประมาณจำนวนมากสูงในการดำเนินการ จึงยื่นขอการรับรองใหม่เฉพาะห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพ เกล็ดขี้ผึ้งทางเคมี-ฟิสิกส์ และศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติด และได้รับการตรวจประเมิน ในระหว่างวันที่ 30 เมษายน - 2 พฤษภาคม 2555 โดยผู้ตรวจประเมิน 2 คน ขององค์การอนามัยโลก ผลการตรวจประเมินสรุปได้ดังนี้

1. จุดแข็ง 2 ประการ คือ การดำเนินงานด้านผลิตสารมาตรฐานและระบบการควบคุม เอกสารรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดี
2. ไม่พบข้อบกพร่องในระดับวิกฤต (critical) ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก
3. ผู้ตรวจประเมินให้ข้อสังเกตในระดับสำคัญ (major observations) จำนวน 2 ข้อ และข้อสังเกตในระดับทั่วไป (other observations) จำนวน 9 ข้อ (ตารางที่ 3 และ 4) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ข้อสังเกตระดับสำคัญจากการตรวจประเมินจริง

ลำดับที่	ชนิดของข้อสังเกตที่พบ	จำนวน (เรื่อง)
1	การจัดการบันทึกแรกของข้อมูล (original data)	1
2	การจัดการข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์	1

ตารางที่ 4 ข้อสังเกตอื่นๆ จากการตรวจประเมินจริง

ลำดับที่	ชนิดของข้อสังเกตที่พบ	จำนวน (เรื่อง)
1	การจัดการข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์	1
2	เอกสารในระบบคุณภาพ	4
3	การฝึกอบรม	1
4	การจัดการเครื่องมือ	1
5	การจัดการสารเคมี	1
6	ความปลอดภัย	1

จากข้อสังเกตของผู้ตรวจประเมินทั้ง 2 ครั้ง สำนักงานและวัตถุเสพติด ได้ดำเนินการปรับปรุงงานในระบบคุณภาพด้านต่างๆ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดการปรับปรุงงานของสำนักงานและวัตถุเสพติดหลังการตรวจประเมิน

ลำดับที่	ข้อสังเกตที่พบ	การปรับปรุง
1.	การจัดการเครื่องมือ	1.1 จัดทำเกณฑ์การยอมรับของผู้ใช้ (user's acceptance criteria) ของเครื่องมือที่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์เพื่อใช้ในการประเมินเครื่องมือ 1.2 จัดหาใบพาย (paddle) สำหรับเครื่องทดสอบการละลายตัวของยา ทดแทนของเดิมที่ตัวเคลือบแผ่นใบพายบางส่วนเริ่มหลุดร่อน จัดหาเครื่อง HPLC ทดแทนเครื่องมือที่มีอายุใช้งานมากกว่า 10 ปี
2.	การจัดการข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์	2.1 ปรับปรุงมาตรฐานการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการควบคุมและการทดสอบความถูกต้องของแผ่นงานที่ใช้คำนวณผล โดยโปรแกรม Excel ให้มีรายละเอียดครบถ้วน รวมถึงระบุชื่อแผ่นงาน (Excel spread-sheets) ที่ต้องควบคุมและกำหนดระยะเวลา ความถี่ในการทดสอบความถูกต้องของแผ่นงานเหล่านั้น 2.2 ปรับปรุงมาตรฐานการปฏิบัติงาน "Sample Analysis" เน้นย้ำความสำคัญของข้อมูลตั้งต้นและมีการป้องกันการลบข้อมูล รวมถึงการแก้ไข วันที่ เวลา ตั้งแต่ในระดับโปรแกรม Windows โดยกำหนดสิทธิ์การเข้าถึงข้อมูล 2.3 จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน "Policy for Computer Users" กำหนดวิธีการปฏิบัติ แบ่งประเภทผู้ใช้ และกำหนดสิทธิ์การเข้าถึงข้อมูล 2.4 กำหนดนโยบายให้เครื่องมือ เช่น HPLC มีการบันทึก Audit trails ให้ครบถ้วน เพื่อสามารถตรวจสอบการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ 2.5 External hard disk ที่ใช้สำเนาข้อมูล (back up) ต้องติดฉลากแสดงสถานะและเก็บอย่างปลอดภัย 2.6 ดำเนินการทวนสอบความถูกต้องของโปรแกรมรับตัวอย่างของสำนักฯ อย่างสม่ำเสมอ
3.	การจัดการเอกสาร	3.1 ปรับวิธีปฏิบัติให้มีรายละเอียดที่ชัดเจนขึ้น เช่น การควบคุมเอกสาร การตรวจติดตามภายใน

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดการปรับปรุงงานของสำนักยาและวัตถุเสพติดหลังการตรวจประเมิน (ต่อ)

ลำดับที่	ข้อสังเกตที่พบ	การปรับปรุง
		3.2 จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงานสำหรับวิธีปฏิบัติในการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ วิธีการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ในตำรายา 3.3 ปรับแผนภูมิองค์กรในคู่มือคุณภาพให้มีรายละเอียดที่ครบถ้วน เช่น แสดงรายชื่อ ตำแหน่ง และสายการปฏิบัติงาน 3.4 จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน “Out of Specification” (OOS) กำหนดเกณฑ์ในการปฏิบัติ ในการตัดสินใจ และการรายงานผลและจัดทำ List of OOSs และวิเคราะห์แนวโน้มสาเหตุการเกิด OOS 3.5 จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการทบทวนรายงานผลการวิเคราะห์ “Report Review” 3.6 แก้ไขมาตรฐานการปฏิบัติงาน “General Procedure for Chromatography” สำหรับการทำให้ system suitability testing
4.	การรับตัวอย่าง	4.1 ปรับการให้หมายเลขวิเคราะห์ตัวอย่างให้ครอบคลุมทุกชนิดตัวอย่าง รวมถึง ตัวอย่างสำหรับการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างสำหรับงานวิจัย 4.2 เพิ่มรายละเอียดวิธีการดำเนินการในการรับตัวอย่างให้ชัดเจน
5.	การฝึกอบรม	5.1 ปรับมาตรฐานการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการฝึกอบรมทั้งผู้ปฏิบัติงานใหม่ ผู้โอนย้าย หรือการฝึกอบรมต่อเนื่อง 5.2 กำหนดวิธีการประเมินผลการฝึกอบรม โดยเฉพาะการฝึกปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการให้มีความชัดเจน
6.	การจัดการบันทึก	6.1 จัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงานควบคุมแบบบันทึกต่างๆ ที่ใช้ ป้องกันนักวิเคราะห์ที่ผลการวิเคราะห์ที่ไม่ถูกต้องโดยหัวหน้าห้องปฏิบัติการไม่สามารถตรวจสอบได้ 6.2 ปรับปรุงวิธีการบันทึกข้อมูลการวิเคราะห์ โดยเพิ่มเรื่องการจัดการบันทึกต่างๆ ครอบคลุมบันทึกแรกของข้อมูล (original data) และแจ้งให้เจ้าหน้าที่ถือปฏิบัติ 6.3 จัดทำแบบบรรยายลักษณะงานโดยให้ผู้ปฏิบัติงานลงนามรับรอง

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดการปรับปรุงงานของสำนักยาและวัตถุเสพติดหลังการตรวจประเมิน (ต่อ)

ลำดับที่	ข้อสังเกตที่พบ	การปรับปรุง
7.	การจัดการสารเคมี	7.1 กำหนดอายุสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ 7.2 กรณีที่สารเคมีหมดอายุ ให้เคลื่อนย้ายออกจากห้องปฏิบัติการ
8.	การควบคุมคุณภาพน้ำในห้องปฏิบัติการ	8.1 ปรับวิธีปฏิบัติการควบคุมคุณภาพน้ำในห้องปฏิบัติการให้ครอบคลุมตามตำรายาทุกฉบับที่ใช้อ้างอิง
9.	ความปลอดภัย	9.1 ลดปริมาณสารเคมีที่เก็บ จัดหาตู้เก็บเฉพาะสารไวไฟเพิ่ม 9.2 แยกเก็บถังแก๊สเป็นสัดส่วนและมีการป้องกัน เช่น รััดติดผนังอย่างแน่นหนา 9.3 ปรับปรุงห้องเก็บสารเคมี โดยปรับระบบไฟฟ้าป้องกันการเกิดประกายไฟ

วิจารณ์

ปัจจัยของความสำเร็จที่ทำให้ห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ และศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติดได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลกในครั้งนี้ ประกอบด้วย การที่ผู้บริหารให้ความสำคัญ ผลักดัน รวมถึงสนับสนุนทรัพยากรต่างๆ การเตรียมความพร้อมโดยการทำความเข้าใจกับเกณฑ์ต่างๆ การร่วมมือร่วมใจของบุคลากรสำนักเพื่อให้งานบรรลุวัตถุประสงค์ นอกจากนี้ในการขอการรับรอง องค์การอนามัยโลกให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์เภสัชภัณฑ์ของประเทศที่จะขอผู้เชี่ยวชาญมาตรวจประเมินเบื้องต้นก่อนการตรวจประเมินจริง การตรวจประเมินเบื้องต้นมีข้อดีคือผู้เชี่ยวชาญจะให้คำแนะนำต่างๆ ที่ช่วยในการตัดสินใจ และทำให้ห้องปฏิบัติการทราบแนวทางการประเมิน นอกจากนี้จากการดำเนินงานของสำนักยาและวัตถุเสพติดที่ใช้ระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025 มาเป็นเวลานานและผ่านการตรวจประเมินมาหลายครั้ง ทำให้ห้องปฏิบัติการสามารถปรับตัวเพื่อรับการตรวจตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกได้ง่ายขึ้น เนื่องจากเกณฑ์ของมาตรฐาน ISO/IEC 17025 และหลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ องค์การอนามัยโลก มีความคล้ายคลึงกันแตกต่างกันที่มาตรฐานขององค์การอนามัยโลกจะเน้นรายละเอียดที่เฉพาะเจาะจงกับห้องปฏิบัติการตรวจเภสัชภัณฑ์ นำเกณฑ์บางส่วนที่เกี่ยวข้องกับหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (good manufacturing practice, GMP) มาใช้ และที่แตกต่างจากมาตรฐาน ISO/IEC 17025 คือ กำหนดเกณฑ์เกี่ยวกับเรื่อง ความปลอดภัย (safety) อย่างชัดเจน เช่น กำหนดให้ติดตั้งอุปกรณ์เกี่ยวกับความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ มีวิธีปฏิบัติเกี่ยวกับการเก็บหรือใช้วัตถุมีพิษหรือติดไฟง่าย การกำจัดของเสียอย่างปลอดภัย จากผลการตรวจประเมินเบื้องต้นและการตรวจประเมินจริง ทำให้สำนักยาและวัตถุเสพติดได้มีการเรียนรู้และพัฒนา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับการควบคุมข้อมูลในระบบอิเล็กทรอนิกส์และเรื่องความปลอดภัยของการจัดการสารเคมี โดยการควบคุมข้อมูลในระบบอิเล็กทรอนิกส์ สำนักฯ ได้ดำเนินการปรับปรุงไปในระดับหนึ่ง เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการประมวลผลการแปลผล ความปลอดภัยของข้อมูล ซึ่งขณะนี้บุคลากรสำนักได้ศึกษามาตรฐานที่เกี่ยวข้องใน 21 CFR PART 11⁽¹⁰⁾ และดำเนินการด้านงบประมาณเพื่อพัฒนาระบบการจัดการข้อมูลในระบบอิเล็กทรอนิกส์ให้ดีขึ้น มีการปรับปรุงห้องเก็บสารเคมี เช่น ปรับระบบไฟฟ้าเพื่อป้องกันการเกิดประกายไฟ การจัดซื้อตู้เก็บสารเคมีเพิ่ม ลดการจัดเก็บ

สารเคมีในห้องปฏิบัติการ แต่งตั้งคณะกรรมการจัดการสารเคมีเพื่อจัดการเรื่องสารเคมีโดยเฉพาะ และดำเนินการด้านงบประมาณเพื่อปรับปรุงห้องเก็บสารเคมีให้เหมาะสมและปลอดภัยต่อไป

สรุป

การเข้าร่วมโครงการ Prequalification of Quality Control Laboratories ทำให้สำนักยาและวัตถุเสพติดได้พัฒนาศักยภาพของห้องปฏิบัติการ เช่น พัฒนาระบบการจัดการข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ ระบบความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการ การจัดการสารเคมี ได้ศึกษาและเรียนรู้แนวคิดจากผู้เชี่ยวชาญ รวมถึงเรียนรู้แนวทางการตรวจประเมินจากผู้ตรวจประเมินของหน่วยงานระดับนานาชาติ นอกจากนี้สำนักยาและวัตถุเสพติดยังได้รับความช่วยเหลือทางวิชาการจากองค์การอนามัยโลกอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันองค์การอนามัยโลกเป็นผู้ออกค่าใช้จ่าย ส่งผู้เชี่ยวชาญมาให้คำปรึกษา เพื่อปรับปรุงห้องปฏิบัติการตรวจเภสัชภัณฑ์ทางจุลชีววิทยา เพื่อให้สำนักยาและวัตถุเสพติดได้รับการรับรองความสามารถตรวจเภสัชภัณฑ์ทางจุลชีววิทยาตามหลักปฏิบัติสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ขององค์การอนามัยโลกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บุคลากรทุกท่านของสำนักยาและวัตถุเสพติดที่ได้ร่วมมือร่วมใจเพื่อให้การดำเนินการขอการรับรองบรรลุล่วงวัตถุประสงค์ ขอขอบคุณเภสัชกรหญิงโรจนา โกวิทพัฒน์พงศ์ เภสัชกรหญิงนันทนา สิทธิชัย และเภสัชกรหญิงสุศรี อึ้งบริบูรณ์ไพศาล อดีตผู้อำนวยการของสำนักยาและวัตถุเสพติด เภสัชกรหญิงเมตตา ตรีบำรุง อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านคุณภาพและความปลอดภัยของยา เภสัชกรหญิงนิดาพรณ เรื่องฤทธิ์อินท์ ผู้อำนวยการของสำนักยาและวัตถุเสพติด ที่ให้คำปรึกษาผลักดันจนห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ และศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติดได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลกในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กฎกระทรวงแบ่งส่วนราชการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2552 ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 126 ตอนที่ 98 ก (ลงวันที่ 28 ธันวาคม 2552)
2. ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: International Organization for Standardization; 2005.
3. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ศูนย์ข้อมูลการประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการ สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 4 เมษายน 2556]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ URL: http://webdb.dmso.moph.go.th/ifc_qa/dbqa/default.asp?iID=LDMEM
4. WHO Expert Committee on specifications for pharmaceutical preparations. Forty-fourth report. WHO technical report series, No. 957. Geneva: World Health Organization; 2010.
5. World Health Organization. WHO List of Prequalified Quality Control Laboratories Version: 26th Edition, 12 June 2013. [Online]. 2013; [cited 2013 August 31]; [18 screens]. Available from: URL: http://apps.who.int/prequal/lists/PQ_QCLabsList.pdf
6. สำนักโฆษก สำนักเลขาธิการนายกรัฐมนตรี สำนักนายกรัฐมนตรี. สรุปข่าวการประชุมคณะรัฐมนตรี 8 กุมภาพันธ์ 2554. [ออนไลน์]. 2554; [สืบค้น 9 กันยายน 2556]; [45 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ URL: <http://www.eppo.go.th/admin/cab/cab-2554-02-08.html#25>.

7. เยาวลักษณ์ วรรณะพิศิษฐ์ และคณะ. หลักปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ขององค์การอนามัยโลก. นนทบุรี: สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2554.
 8. นิตาพรรณ เรืองฤทธินนท์. การพัฒนาระบบการผลิตวัสดุอ้างอิงยาและวัตถุเสพติดในประเทศไทย. ว กรมวิทย์ พ 2551; 50(4): 296-310.
 9. WHO guidelines for preparing a laboratory information file. WHO technical report series, No. 961. Geneva: World Health Organization; 2011. [Online]. 2011; [cited 2013 August 31]; [6 screens]. Available from: URL: http://apps.who.int/prequal/info_general/documents/TRS961/TRS961_Annex13_LIF_english.pdf
 10. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Guidance for industry Part 11, electronic records; electronic signatures – scope and application. [Online]. 2013; [cited 2013 April 5]; [12 screens]. Available from: URL: http://www.21cfrpart11.com/files/fda_docs/part11_final_guidanceSep2003.pdf
-

Strengthening Quality System of National Pharmaceutical Control Laboratories of Thailand through participating in WHO Prequalification Programme

Suratchanee Savetsila

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

ABSTRACT: The WHO prequalification of quality control laboratories aims to increase access to quality control laboratories that meet recommended international standards for the analysis of medicinal products in the Prequalification Programme HIV/AIDS, Malaria and Tuberculosis products. These products were used principally by United Nations agencies to guide their procurement decisions. The assessment of quality control laboratories was performed according to WHO good practices for pharmaceutical quality control laboratories. In 2010, the Bureau of Drug and Narcotic, as national pharmaceutical control laboratory of Thailand, participated in the program in order to strengthen the quality system. During the first visit in 2011 for technical assistance, the WHO expert concluded that the Chemical and Physical Testing Section as well as the Reference Standards Centre were considered to be operating at a good level while the Biological Testing Section needed some improvements in laboratory premises prior to participating in the prequalification procedure. As recommended by the WHO expert, the inspection of both Chemical and Physical Testing Section and Reference Standard Center was conducted during 30 April – 2 May 2012. All non-compliances observed during the inspection included 2 major and 9 observations with no critical ones. It was concluded that the Bureau of Drug and Narcotic was considered to be operating at an acceptable level of compliance with WHO Good Practice for Pharmaceutical Quality Control Laboratories. After the corrective actions taken and planned were reviewed and approved, the Bureau of Drug and Narcotic was included in the WHO List of Prequalified Quality Control Laboratories and was the first national pharmaceutical control laboratory in WHO South-East Asia region in this list.

Key words: strengthen the quality system, WHO good practices for pharmaceutical quality control laboratories, WHO List of Prequalified Laboratory

การสำรวจคุณภาพยาสมุนไพรในเขตสาธารณสุข ที่ 4 และ 5

นันทนา กลิ่นสุนทร ชมพูนุท นุตสถาปนา และปรีชญา มาประดิษฐ์

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม 75000

บทคัดย่อ ยาสมุนไพรมีบทบาทสำคัญในการรักษาโรค และมีแนวโน้มของการใช้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการผลิตยาสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น แม้ว่าจะมีการกำกับและควบคุมการผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพมาตรฐาน แต่ปัญหาที่พบ คือมีการนำยาแผนปัจจุบันปลอมปนในยาสมุนไพรเพื่อให้เกิดผลในการรักษาที่รวดเร็ว นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค หรือ โลหะหนัก ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลประกอบการดำเนินการป้องกันแก้ไขปัญหาดังกล่าว ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม จึงได้ร่วมกับภาคีเครือข่าย ได้แก่ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ในพื้นที่เขต 4 และ 5 สำรวจคุณภาพยาจากสมุนไพรโดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งผลิตและจำหน่าย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551 จำนวน 205 ตัวอย่าง ดำเนินการตรวจวิเคราะห์การปลอมปนยาแผนปัจจุบัน การปนเปื้อนโลหะหนัก และการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 37 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 18.05 โดยพบการปลอมปนยาแผนปัจจุบันจำนวน 27 ตัวอย่าง การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 8 ตัวอย่าง และโลหะหนักเกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 1 ตัวอย่าง และพบทั้งการปนเปื้อนโลหะหนัก และเชื้อจุลินทรีย์เกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 1 ตัวอย่าง จากข้อมูลนี้บ่งชี้ว่าคุณภาพของยาสมุนไพรยังไม่ได้มาตรฐาน โดยปัญหาที่พบมากที่สุด คือการปลอมปนยาแผนปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่ยาดังกล่าวเป็นตัวอย่างที่ไม่มีเลขทะเบียนยาและไม่ทราบแหล่งผลิต ซึ่งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้ความสำคัญกับปัญหานี้และดำเนินการแก้ไขอย่างเป็นระบบต่อเนื่อง



บทนำ

ยาสมุนไพรมีบทบาทสำคัญในการรักษาโรค และมีแนวโน้มของการใช้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการผลิตยาสมุนไพรเพิ่มขึ้น⁽¹⁾ แม้ว่าจะมีการกำกับและควบคุมการผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพมาตรฐาน⁽²⁾ แต่ปัญหาที่พบคือ มีการนำยาแผนปัจจุบัน เช่น ยากลุ่มสเตียรอยด์ผสมลงในยาสมุนไพร⁽³⁾ เพื่อให้เกิดผลในการรักษาที่ดีและรวดเร็ว เป็นการดึงดูดใจผู้บริโภค และเกิดคำบอกเล่าต่อๆ กันไป โดยที่ผู้บริโภคไม่ทราบถึงอันตรายที่ตามมาจากผลข้างเคียงของการใช้นั้น เช่น ยากลุ่มสเตียรอยด์ หลังจากใช้เป็นระยะเวลานาน อาจก่อให้เกิดอาการ Cushing's Syndrome^(4, 5) คือ อาการบวม อ้วนบริเวณท้องและหน้า แต่แขนขาลีบลง ระดับน้ำตาลในเลือดสูง ไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง นอกจากนั้น อาจเกิดภาวะกระดูกพรุน เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ทำให้กระเพาะอาหารทะลุ ฯลฯ

รายงานการวิจัย โครงการศึกษาความชุกของปัญหาการเจ็บป่วยที่เกิดจากการใช้ยาสมุนไพรที่มีสเตียรอยด์ปน โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ร่วมกับคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี⁽⁷⁾ สำรวจผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาจำนวน 8,876 ราย จากโรงพยาบาล 10 แห่ง พบว่ามีผู้ป่วย 1,985 ราย (ร้อยละ 22.4) มีประวัติหรืออาการแสดงที่บ่งชี้ว่าน่าจะเคยใช้สารสเตียรอยด์ จากข้อมูลรายงานผลการตรวจวิเคราะห์การปลอมปนยาแผนปัจจุบันในยาแผนโบราณของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ระหว่างเดือนตุลาคม 2541 ถึง กันยายน 2545 จำนวน 415 ตัวอย่าง พบว่ายาที่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับ 224 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบยาแผนปัจจุบัน และไม่ได้ขึ้นทะเบียนตำรับ 191 ตัวอย่าง ตรวจพบยาแผนปัจจุบัน 55 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28.8⁽⁸⁾ รายงานการตรวจวิเคราะห์สารสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณเขตพื้นที่จังหวัดภาคใต้ตอนบนของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ระหว่างปี พ.ศ. 2546 ถึง 2548 จำนวน 105 ตัวอย่าง ตรวจพบสารสเตียรอยด์ 20 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19.0⁽⁹⁾ รายงานการตรวจวิเคราะห์คุณภาพยาจากสมุนไพรในปี 2544 - 2546 ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ จำนวน 437 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 213 ตัวอย่าง (ร้อยละ 58.0) โลหะหนัก 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.1)⁽¹⁰⁾ และจากการสำรวจปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* ในยาแผนโบราณ ของสำนักยาและวัตถุเสพติด ในช่วงเดือนมกราคม 2549 - มิถุนายน 2550 จำนวน 660 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อ *Clostridium perfringens* 146 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.1⁽¹¹⁾ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่ายังคงตรวจพบการปลอมปนยาแผนปัจจุบันในยาสมุนไพร นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและโลหะหนักเกินเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน

อย่างไรก็ตาม ความนิยมในการใช้ยาสมุนไพรยังคงเพิ่มขึ้น⁽¹²⁾ อีกทั้งกระทรวงสาธารณสุข มีนโยบายส่งเสริมให้สถานพยาบาลในสังกัดทั่วประเทศใช้ยาสมุนไพรบำบัดโรค ควบคู่กับยาแผนปัจจุบันในบัญชียาหลักแห่งชาติ ใช้ทดแทนเพื่อลดการนำเข้ายาแผนปัจจุบันจากต่างประเทศ และจากแผนยุทธศาสตร์ชาติ การพัฒนาภูมิปัญญาไทย สุขภาพวิถีไทย พ.ศ. 2550 - 2554 ยุทธศาสตร์ที่ 4 การพัฒนายาไทยและยาสมุนไพร⁽¹³⁾ มีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาศักยภาพการผลิตยาไทย และยาสมุนไพรที่มีคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัย

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม จึงร่วมกับภาคีเครือข่าย สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ในพื้นที่เขตสาธารณสุขที่ 4 และ 5 เพื่อสำรวจคุณภาพยาสมุนไพร โดยการเก็บตัวอย่างจากแหล่งผลิตและจำหน่าย ในพื้นที่ 8 จังหวัด ได้แก่ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551 นำมาวิเคราะห์การปลอมปนยาแผนปัจจุบัน การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนักตามวิธีมาตรฐาน^(5, 14, 15) เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง นำไปวางแผนประกอบการแก้ไขปัญหา เช่น การปรับปรุงกระบวนการผลิต หรือการเผยแพร่แจ้งเตือนภัย ตลอดจนการประชาสัมพันธ์ให้ความรู้แก่ผู้บริโภค เพื่อเป็นการเฝ้าระวังในพื้นที่ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

การสำรวจคุณภาพยาสมุนไพร จากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่าย ในเขตพื้นที่จังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรสาคร เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี โดยสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเป็นผู้เก็บตัวอย่าง ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม ดำเนินการระหว่างเดือน ตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551 โดยได้รับตัวอย่างยาจากสมุนไพรรวม 205 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างที่ได้รับจำแนกตามจังหวัดที่ส่งและแหล่งที่มา

จังหวัด	จากแหล่งผลิต (แห่ง)	จากสถานที่จำหน่าย (ร้านค้า/ประชาชน)	โรงพยาบาล (แห่ง)	รวม (แห่ง)
สมุทรสงคราม	5	24	18	47
สมุทรสาคร	6	53	0	59
ราชบุรี	7	5	7	19
นครปฐม	7	1	0	8
กาญจนบุรี	14	11	0	25
เพชรบุรี	13	5	1	19
ประจวบคีรีขันธ์	0	18	0	18
สุพรรณบุรี	9	0	1	10
รวม	61	117	27	205

เครื่องมือและอุปกรณ์

- ตรวจวิเคราะห์การปนปลอมยาแผนปัจจุบัน : เครื่องชั่งไฟฟ้า, ตู้แสงอัลตราไวโอเล็ตสำหรับ TLC, อ่างน้ำร้อน, เครื่องสูบลมสุญญากาศ, Sprayer, TLC Tank, TLC Plate, กระบอกตวง, กรวยกรอง, กรวยแยก
- ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ : เครื่องชั่งไฟฟ้า, ตู้บเพาะเชื้อ, เครื่องนึ่งทำลายเชื้อ, ตู้บร้อน, อ่างน้ำร้อน, ตู้ปราศจากเชื้ออันตราย, เครื่องเขย่า, กล้องจุลทรรศน์, Erlenmeyer flask, Culture Media Bottle, Test Tube, Glass and plastic Petri dish, Anaerobic jar, Inoculating loop & needle loop
- ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนัก : เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Analyst 600, เครื่องย่อยสลายสารชนิดไมโครเวฟ, Autopipette, Volumetric flask

สารมาตรฐาน และสารเคมี

สารมาตรฐาน : Dexamethasone, Prednisolone, Paracetamol, Diclofenac, Chlorpheniramine, Diazepam, Indomethacin, Cyproheptadine, เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน, ตะกั่ว, แคดเมียม, สารหนู

สารเคมี : Chloroform, Sodium Hydroxide, Ethanol, Methanol, Acetone, Cyclohexane, Ethyl Acetate, Tetrazolium Blue, Potassium Permanganate, Platinic Chloride, Potassium Iodide, Hydrochloric Acid, Sulfuric Acid, อาหารเลี้ยงเชื้อ, กรดไนตริกเข้มข้น, Matrix Modifier ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, 10% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)

วิธีเตรียมน้ำยา Spraying Reagent

1. Tetrazolium blue solution 0.5 % w/v
ละลาย Tetrazolium blue 0.5 กรัม ใน methanol และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร
2. Sodium hydroxide solution 12.0 % w/v
ละลาย Sodium hydroxide 12.0 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร
3. Acidified iodoplatinate solution
ละลาย Platinic chloride 0.25 กรัม และ Potassium iodide 5.0 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร เติม hydrochloric acid 2 มิลลิลิตร
4. Acidified potassium permanganate solution
ละลาย 1.0 กรัม ของ Potassium permanganate ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วย 0.25 M Sulfuric acid จนครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีการตรวจวิเคราะห์

1. ตรวจวิเคราะห์การปลอมปนยาแผนปัจจุบัน เช่น Dexamethasone, Prednisolone, Paracetamol, Diclofenac, Chlopheniramine, Diazepam, Indomethacin และ Cyproheptadine โดยเทคนิค Thin-layer chromatography⁽⁵⁾

ซึ่งตัวอย่างยาสมุนไพรชนิดลูกกลอน ผง หรือแคปซูล จำนวน 3 - 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร (กรณีเป็นของเหลวตวงมาประมาณ 50 มิลลิลิตร นำไประเหยบนอ่างน้ำร้อนจนเหลือ 20 มิลลิลิตร) ทำให้เป็นต่างด้วยสารละลาย 12 % w/v sodium hydroxide นำไปใส่ในกรวยแยก สกัดด้วย chloroform ประมาณ 40 มิลลิลิตร แยกชั้น chloroform นำไประเหยแห้ง นำส่วนที่ระเหยแห้งละลายด้วย ethanol ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thin-layer Chromatography (TLC) โดย spot ตัวอย่าง จำนวน 10 ไมโครลิตร เทียบกับสารมาตรฐานชนิดต่างๆ เช่น Dexamethasone, Prednisolone, Diclofenac, Chlopheniramine, Diazepam, Indomethacin และ Cyproheptadine โดยใช้ระบบตัวทำละลาย (mobile phase) อย่างน้อย 2 ระบบ ตามความเหมาะสมของสารแต่ละกลุ่ม ได้แก่

- กลุ่มสเตียรอยด์ Dexamethasone และ Prednisolone ใช้ chloroform : acetone (4:1) และ cyclohexane : ethyl acetate (1 : 3) หรือ ethyl acetate 100%
- กลุ่มยานอนหลับ Diazepam, กลุ่มยาต้านอักเสบ Diclofenac และ Indomethacin, กลุ่มยาแก้ปวด Paracetamol, กลุ่มยาแก้แพ้ Chlorpheniramine และ Cyproheptadine ใช้ ethyl acetate : methanol : ammonia (85 : 10 : 5) และ methanol : ammonia (100 : 1.5) หรือ chloroform : methanol (9 : 1)

ตรวจสอบตำแหน่งของ spot โดยการส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ร่วมกับการสังเกตการติดสีของน้ำยา spraying reagent โดยสารแต่ละกลุ่มจะใช้ spraying reagent และให้การติดสีที่ต่างกันดังนี้

- กลุ่มสเตียรอยด์ ใช้ spraying reagent คือ 0.5 % w/v tetrazolium blue ตามด้วย 12 % w/v sodium hydroxide จะให้ spot สีม่วง
- กลุ่มยานอนหลับ, ยาแก้แพ้ ใช้ spraying reagent คือ acidified iodoplatinate จะให้ spot สีน้ำตาลปนม่วง
- กลุ่มยาต้านอักเสบ, แก้ปวด ใช้ spraying reagent คือ acidified potassium permanganate จะให้ spot สีเหลือง

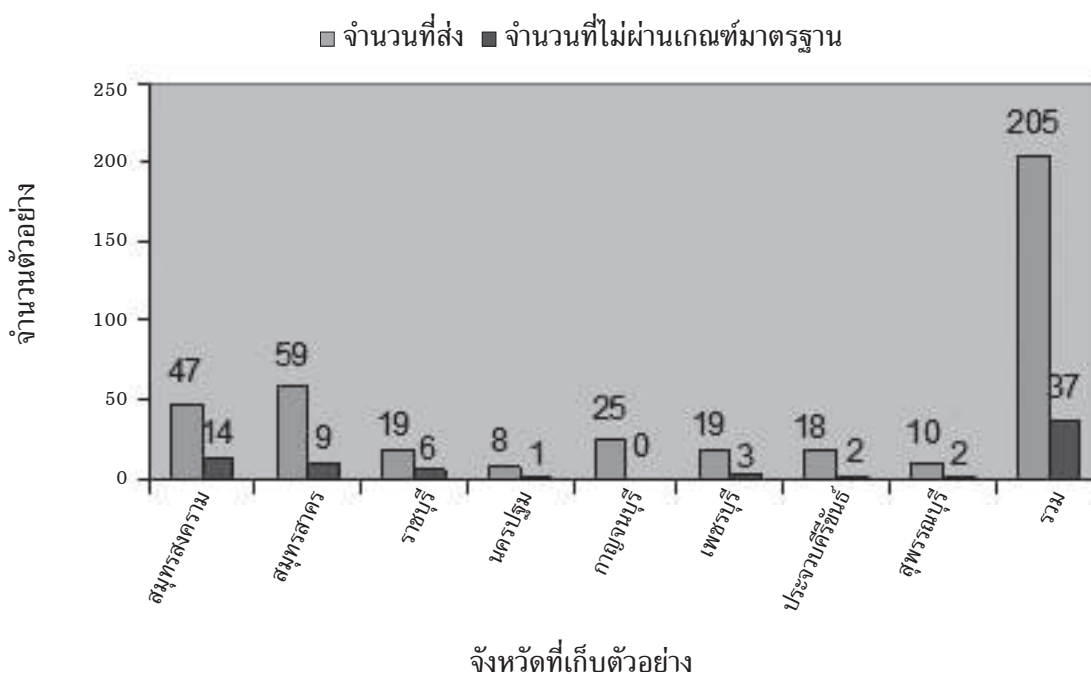
2. ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนัก (ตะกั่ว แคดเมียม สารหนู) โดยเทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)⁽¹⁵⁾

ชั่งตัวอย่างยาสมุนไพร จำนวน 0.5 กรัม ใส่ในภาชนะ (Vessel) สำหรับย่อยตัวอย่างของ Microwave เติมน้ำกลั่นกรด Supar pure 5 มิลลิลิตร ปิดฝา Vessel ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 15 นาที นำเข้าเครื่อง Microwave เพื่อทำการย่อยสลายตัวอย่าง เมื่อย่อยสลายตัวอย่างสิ้นสุดทำให้ตัวอย่างเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ถ่ายสารละลายตัวอย่างใส่ Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water) เก็บสารละลายตัวอย่างใส่ขวดพลาสติก Nalgene จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทดสอบหาปริมาณ ตะกั่ว แคดเมียม และสารหนู ด้วยเครื่อง AAS Perkin Elmer รุ่น Analyst 600

3. ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 7 รายการ ได้แก่ Total viable aerobic count, Yeast and moulds count, *Enterobacteria* count, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium* spp. โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่อ้างอิงจาก Thai Pharmacopoeia Volume I and II Supplement 2005⁽¹⁴⁾

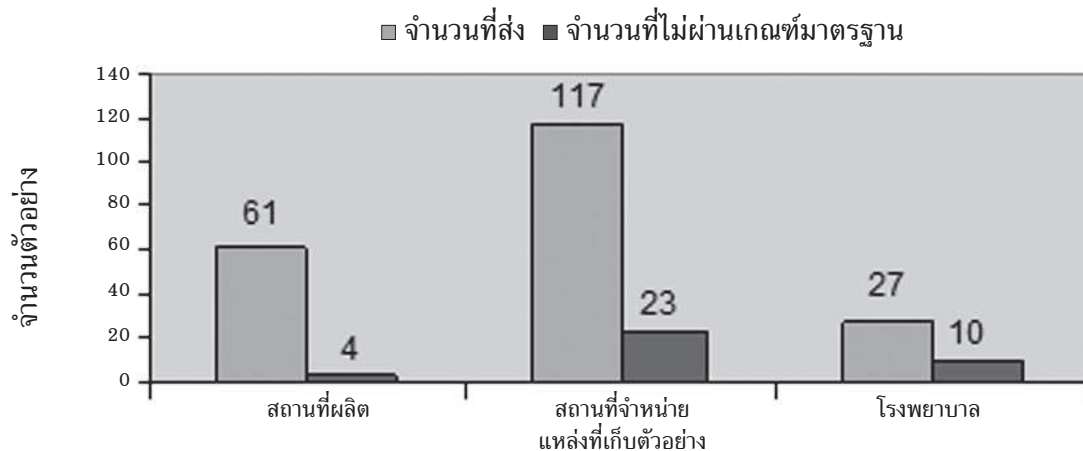
ผล

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยาสมุนไพรที่นำส่งจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด โรงพยาบาล และประชาชนทั่วไปในพื้นที่เขตสาธารณสุข 4 และ 5 ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551 รวม 205 ตัวอย่าง โดยตรวจวิเคราะห์การปลอมปนยาแผนปัจจุบัน การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก พบว่ามีตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 37 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 18.05 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด แบ่งตามจังหวัดที่นำส่ง ได้แก่ สมุทรสงคราม 47 ตัวอย่าง สมุทรสาคร 59 ตัวอย่าง ราชบุรี 19 ตัวอย่าง นครปฐม 8 ตัวอย่าง กาญจนบุรี 25 ตัวอย่าง เพชรบุรี 19 ตัวอย่าง ประจวบคีรีขันธ์ 18 ตัวอย่าง และสุพรรณบุรี 10 ตัวอย่าง โดยแต่ละจังหวัด พบตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 14, 9, 6, 1, 0, 3, 2 และ 2 ตัวอย่างตามลำดับ (แผนภูมิที่ 1)



แผนภูมิที่ 1 จำนวนตัวอย่างที่ส่งตรวจจำแนกตามรายจังหวัด และจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

เมื่อจำแนกตามแหล่งที่มาของตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างที่เก็บจากสถานที่ผลิต จำนวน 61 ตัวอย่าง จากสถานที่จำหน่าย (ร้านค้า/ประชาชน) จำนวน 117 ตัวอย่าง และจากโรงพยาบาล จำนวน 27 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 4, 23 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 6.5, 19.6 และ 37.0 ตามลำดับ (แผนภูมิที่ 2)



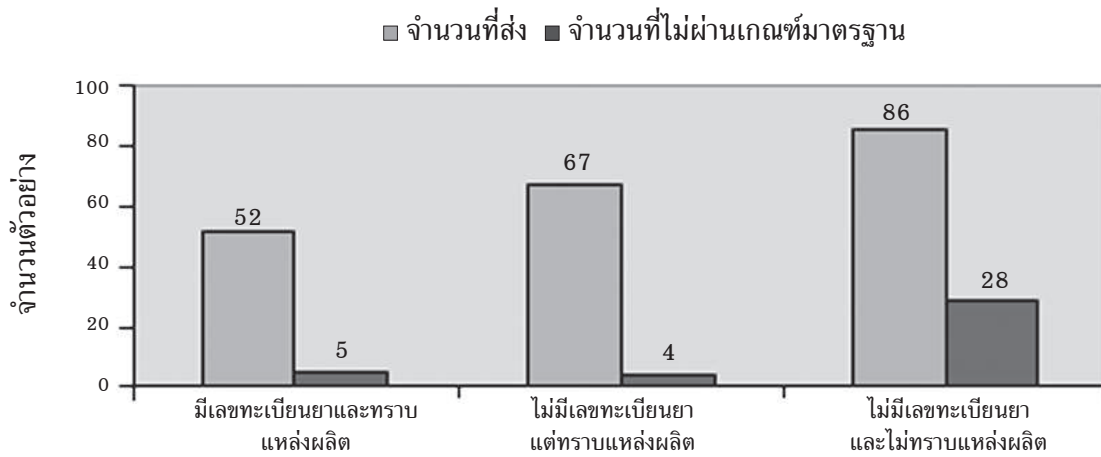
แผนภูมิที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ส่งตรวจจำแนกตามแหล่งที่เก็บตัวอย่าง และจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

จากตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานรวมจำนวน 37 ตัวอย่าง พบการปลอมปนยาแผนปัจจุบันมากที่สุด จำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 73.0 รองลงมาได้แก่ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21.6 การปนเปื้อนโลหะหนักจำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.7 และพบทั้งการปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 รายการที่ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์/โลหะหนัก และการปลอมปนยาแผนปัจจุบัน

รายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน	จำนวน (ตัวอย่าง)	ร้อยละ
การปลอมปนยาแผนปัจจุบัน	27	73.0
การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์	8	21.6
การปนเปื้อนโลหะหนัก	1	2.7
การปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์	1	2.7
รวม	37	

ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างที่ได้รับแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มตัวอย่างที่มีเลขทะเบียนยาและทราบแหล่งผลิต จำนวน 52 ตัวอย่าง ไม่มีเลขทะเบียนยาแต่ทราบแหล่งผลิต จำนวน 67 ตัวอย่าง ไม่มีเลขทะเบียนยาและไม่ทราบแหล่งผลิต จำนวน 86 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจพบไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 5, 4 และ 28 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 9.6, 5.9 และ 32.5 ตามลำดับ (แผนภูมิที่ 3)



แผนภูมิที่ 3 ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

เมื่อจำแนกตัวอย่างจำนวน 205 ตัวอย่าง ที่ได้รับตามรูปแบบของยา แบ่งออกเป็น ยาผง จำนวน 52 ตัวอย่าง ยาเม็ด/ลูกกลอนจำนวน 91 ตัวอย่าง ยาแคปซูลจำนวน 36 ตัวอย่าง ยาน้ำจำนวน 26 ตัวอย่าง พบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 8, 23, 0 และ 6 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 15.4, 25.3, 0 และ 23.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่างที่ได้รับจำแนกตามรูปแบบของยา และรายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

รูปแบบของยา	จำนวนที่ได้รับ (ตัวอย่าง)	รายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานรวม					รวม (ตัวอย่าง)
		การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (ตัวอย่าง)	โลหะหนัก (ตัวอย่าง)	การปนเปื้อนจุลินทรีย์และโลหะหนัก (ตัวอย่าง)	การปลอมปนยาแผนปัจจุบันจำนวน 1 ชนิด (ตัวอย่าง)	การปลอมปนยาแผนปัจจุบันมากกว่า 1 ชนิด (ตัวอย่าง)	
ยาผง	52	4	0	0	1	3	8
ยาเม็ด/ลูกกลอน	91	1	1	1	7	13	23
ยาแคปซูล	36	0	0	0	0	0	0
ยาน้ำ	26	3	0	0	2	1	6
รวม	205	8	1	1	10	17	37

รายละเอียดของรายการที่ตรวจพบ จากตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 37 ตัวอย่าง โดยพบการปลอมปนยาแผนปัจจุบันชนิด Dexamethasone; Prednisolone; Cyproheptadine; Paracetamol; Dexamethasone และ Prednisolone; Dexamethasone และ Paracetamol; Dexamethasone และ Diclofenac; Dexamethasone และ Indomethacin; Dexamethasone และ Chlorpheniramine; Dexamethasone, Prednisolone และ Diazepam; Dexamethasone, Prednisolone และ Chlorpheniramine จำนวน 6, 2, 1, 1, 7, 2, 2, 1, 3, 1, 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์เกินเกณฑ์มาตรฐานคือ Total viable aerobic count; Yeast and moulds count และ Enterobacteria count; Enterobacteria count; Total viable aerobic count และ *Salmonella* spp. จำนวน 3, 1, 3 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิด

Clostridium spp.; *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* นอกจากนั้นพบการปนเปื้อนโลหะหนักเกินเกณฑ์มาตรฐาน คือพบตะกั่ว 22.7 mg/kg (ppm) จำนวน 1 ตัวอย่าง พบสารหนู 8.7 mg/kg (ppm) ร่วมกับการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Total viable aerobic count จำนวน 1 ตัวอย่าง โดยไม่พบการปนเปื้อนแคดเมียมเกินเกณฑ์มาตรฐาน (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงรายละเอียดของรายการที่พบการปลอมปนยาแผนปัจจุบัน และการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก

รายการที่พบจำนวน		(ตัวอย่าง)
การปลอมปนยาแผนปัจจุบัน	- Dexamethasone	6
	- Prednisolone	2
	- Cyproheptadine	1
	- Paracetamol	1
	- Dexamethasone และ Prednisolone	7
	- Dexamethasone และ Paracetamol	2
	- Dexamethasone และ Diclofenac	2
	- Dexamethasone และ Indomethacin	1
	- Dexamethasone และ Chlorpheniramine	3
	- Dexamethasone, Prednisolone และ Diazepam	1
	- Dexamethasone, Prednisolone และ Chlorpheniramine	1
การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (เกินเกณฑ์มาตรฐาน)	- Total viable aerobic count (มากกว่า 5.0×10^5 /g or ml)	3
	Yeast and Moulds count (มากกว่า 5.0×10^5 , 1.6×10^4 /g or ml)	
	และ Enterobacteria count (มากกว่า 10^5 , น้อยกว่า 10^4 /g or ml)	
	- Enterobacteria count (มากกว่า 10^5 , น้อยกว่า 10^4 /g or ml)	1
	- Total viable aerobic count (5.3×10^5 , 6.2×10^5 , 2.2×10^6 /g or ml)	3
การปนเปื้อนโลหะหนัก (เกินเกณฑ์มาตรฐาน)	- <i>Salmonella</i> spp.	1
	- Lead (22.7 ppm)	1
การปนเปื้อนโลหะหนัก และ เชื้อจุลินทรีย์ (เกินเกณฑ์มาตรฐาน)	- Arsenic (8.7 ppm) และ Total viable aerobic count (4.7×10^6 /g or ml)	1
รวม		37

วิจารณ์

จากข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ยาสมุนไพร จำนวน 205 ตัวอย่าง ที่ได้เก็บตัวอย่างจากเขตสาธารณสุขที่ 4 และ 5 ตรวจพบตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 37 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 18.05 โดยเกณฑ์มาตรฐานตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 ต้องไม่พบการปลอมปนยาแผนปัจจุบัน และเกณฑ์มาตรฐานของการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์ ตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย พ.ศ. 2552 ระบุไว้ดังนี้

- โลหะหนัก : Arsenic ≤ 4 ppm, Lead ≤ 10 ppm, Cadmium ≤ 0.3 ppm
- การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบ และยาสมุนไพรที่ใช้ภายใน
 - Total viable aerobic count $\leq 5.0 \times 10^5$ /g หรือ ml
 - Yeast and moulds count $\leq 5.0 \times 10^3$ /g หรือ ml
 - Enterobacteria count $\leq 10^3$ /g หรือ ml
 - *Salmonella* spp. ไม่พบ/10 g หรือ ml
 - *Escherichia coli* ไม่พบ/g หรือ ml
 - *Staphylococcus aureus* ไม่พบ/g หรือ ml
 - *Clostridium* spp. ไม่พบ/10 g หรือ ml

สาเหตุที่พบว่าคุณภาพของยาสมุนไพรยังไม่ได้มาตรฐาน ที่พบมากที่สุดคือการปลอมปนยาแผนปัจจุบัน จำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.2 ซึ่งพบการปลอมปนสเตียรอยด์ชนิด Dexamethasone และ/หรือ Prednisolone มากที่สุด จำนวน 15 ตัวอย่าง ส่วนใหญ่ยาดังกล่าวระบุสรรพคุณที่รักษาได้สารพัดโรค เช่น แก้ปวด แก้อักเสบ แก้กระษัย อัมพฤกษ์ อัมพาต หอบหืด ฯลฯ นอกจากนี้ยังพบการปลอมปนสเตียรอยด์ร่วมกับยาแผนปัจจุบันชนิดอื่น ในกลุ่มยาแก้ปวด คือ paracetamol, กลุ่มยาด้านอักเสบ คือ diclofenac, indomethacin กลุ่มยานอนหลับ คือ diazepam กลุ่มยาแก้แพ้ คือ chlorpheniramine รูปแบบของยาสมุนไพรที่พบการปลอมปนยาแผนปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นชนิดยาเม็ด/ลูกกลอน จำนวน 23 ตัวอย่าง จาก 91 ตัวอย่าง ซึ่งอาจเกิดจากการลักลอบผลิต โดยมีผู้ผลิตบางรายนำยาแผนปัจจุบัน เช่น สเตียรอยด์ ผสมในยาสมุนไพรเพื่อให้เกิดผลการรักษาที่รวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามเมื่อผู้บริโภคใช้สเตียรอยด์เป็นระยะเวลานาน ก่อให้เกิดอันตรายได้ โดยเฉพาะอาการ Cushing's Syndrome นอกจากนี้ยังตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และ/หรือโลหะหนัก จำนวน 10 ตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ และพบการปนเปื้อนสารหนูและตะกั่วสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานประมาณ 2 เท่า ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการผลิตที่ยังไม่มีการควบคุมที่ดี หรือเกิดการปนเปื้อนจากวัตถุดิบ ดังนั้นผู้ผลิตจึงจำเป็นต้องตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบก่อนนำมาผลิตยาสมุนไพร และมีข้อมูลของแหล่งที่ได้มา เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก รวมทั้งคำนึงถึงความสะดวกของวัตถุดิบ พื้นที่ เครื่องมือต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิต ขั้นตอนการผลิต และวิธีการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในยาสมุนไพร เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวอย่างที่พบเกินเกณฑ์มาตรฐานส่วนใหญ่จะเป็นตัวอย่างที่ไม่มีเลขทะเบียนและไม่ทราบแหล่งผลิต จำนวน 28 ตัวอย่าง จาก 86 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 32.56 ดังนั้นเพื่อความปลอดภัย ผู้บริโภคควรเลือกใช้ยาสมุนไพรที่ทราบแหล่งผลิตและมีเลขทะเบียนยา ข้อมูลที่ได้ยังใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับงานด้านคุ้มครองผู้บริโภคร่วมกันวางแผนและการดำเนินการแก้ไขปัญหายาอย่างเป็นระบบต่อเนื่อง โดยเฉพาะปัญหาการปลอมปนยาสเตียรอยด์หรือยาแผนปัจจุบันอื่นๆ ในยาสมุนไพร ควรมีการพัฒนารูปแบบและกลไกในการเฝ้าระวังการใช้ยาสเตียรอยด์อย่างเป็นระบบ และเชื่อมโยงข้อมูลซึ่งกันและกัน เช่น การจำหน่าย การนำเข้า รวมทั้งการเผยแพร่ความรู้ที่จำเป็น ไปยังกลุ่มเป้าหมายต่างๆ เพื่อสร้างกลไกและระบบเฝ้าระวังที่มีประสิทธิภาพ ในส่วนของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม ได้มีการดำเนินการเฝ้าระวังร่วมกับพื้นที่นำข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้เผยแพร่ ออกหน่วยห้องปฏิบัติการเคลื่อนที่ ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างยาสมุนไพรโดยชุดทดสอบเบื้องต้น พร้อมการประชาสัมพันธ์ เผยแพร่ข้อมูลให้ความรู้แก่ประชาชนอย่างสม่ำเสมอ

สรุป

จากการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อศึกษาคุณภาพยาสมุนไพรที่ผลิตและจำหน่ายในพื้นที่เขตสาธารณสุขที่ 4 และ 5 จำนวน 205 ตัวอย่าง พบว่ายังคงตรวจพบตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน โดยพบการปลอมปนยาแผนปัจจุบันมากที่สุด จำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.2 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยาสเตียรอยด์ในรูปแบบยาเม็ด/ลูกกลอน รองลงมาได้แก่ การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ การปนเปื้อนโลหะหนัก และพบทั้งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และโลหะหนัก จำนวน 8, 1, 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 3.9, 0.5, 0.5 ตามลำดับ ตัวอย่างที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างที่ไม่มีเลขทะเบียนยาและไม่ทราบแหล่งผลิต ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ประกอบการแก้ไขปัญหาในการควบคุมคุณภาพยาสมุนไพร เช่น การให้คำแนะนำปรับปรุงกระบวนการผลิต แก่ผู้ประกอบการ หรือการเผยแพร่ข้อมูลเพื่อแจ้งเตือนภัย ตลอดจนการประชาสัมพันธ์ให้ความรู้แก่ผู้บริโภค เพื่อเป็นการเฝ้าระวังในพื้นที่ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวจรรวณ ลิ้มสัจจะสกุล ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม ที่ได้ให้คำแนะนำ และสนับสนุนการดำเนินงานโครงการ และขอขอบคุณเครือข่าย สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดในเขต 4 และ 5 ที่ได้ให้ความร่วมมือในการร่วมวางแผนการดำเนินงาน และเก็บตัวอย่าง จนทำให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Putiyanan S, Winijkul D. Screening for undeclared synthetic drugs in traditional Thai medicine for healthy life style. Research book. Chiang Mai: Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University; 2003.
- กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตยาจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2548.
- จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. ยาแผนโบราณลักลอบนำเข้ามีสารสเตียรอยด์และปัจจุบันพบหลอดลงเร่ขายถึงโรงเรียน. ว. สรรพสารวงการยา 2546; 55: 48-52.
- Sweetman SC. Martindale: the complete drug reference. 35th ed. London: Pharmaceutical Press; 2007. p. 1342-4.
- Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Clarke's analysis of drugs and poisons. 3rd ed. London: Pharmaceutical Press; 2004. p. 392-424, 1472-3.
- นงลักษณ์ สุขวานิชย์ศิลป์, บรรณาธิการ. เภสัชวิทยา เล่ม 3. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2537.
- รัชตะ รัชตะนาวิน และคณะ. การศึกษาความชุกของปัญหาทางคลินิกที่เกิดจากการใช้สารที่มีสเตียรอยด์ปะปนโดยไม่มีข้อบ่งชี้ทางการแพทย์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย; 2550.
- ศุภลักษณ์ พริ้งเพระ, อมรพรรณ อุ่นชัย, กฤษฏา บุราณ, บันลือ สังข์ทอง. การปนปลอมยาแผนปัจจุบันในยาแผนโบราณ. ใน: การประชุมวิชาการร่วมระหว่างหน่วยงานภายใต้กลุ่มภารกิจด้านสนับสนุนสุขภาพ ครั้งที่ 1. วันที่ 1-2 พฤษภาคม 2546; ณ โรงแรม มิราเคิลแกรนด์คอนเวนชั่น. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2546.
- เฉลิม ชนะคช, วัชรีย์ ธนมิตรามณี, พงษ์ธร ทองบุญ. สารสเตียรอยด์ในยาแผนโบราณเขตพื้นที่จังหวัดภาคใต้ตอนบน. ใน: เอกสารประชุมวิชาการพิษวิทยา "Food & Chemical Safety" และการประชุมใหญ่สามัญประจำปี 2548. วันที่ 17-18 พฤษภาคม 2548; ณ โรงแรมแกรนด์ ทาวเวอร์อินน์. กรุงเทพฯ: สมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทย; 2548.
- กันยารัตน์ ชลสิทธิ์, พิลาศลักษณ์ ศรีสวัสดิ์, พชรินทร์ จันทราณิมิต, ประภัตรพร ทิพย์รัตน์, จารุบล ชัยชนะ, ปิยะมาศ สุริยา. คุณภาพยาจากสมุนไพรในปี 2544-2546. ใน: การประชุมวิชาการร่วมระหว่างหน่วยงานภายใต้กลุ่มภารกิจด้านสนับสนุนสุขภาพ ครั้งที่ 2

- เรื่องสาธารณสุขไทยในยุคเปิดเสรีทางการค้า. วันที่ 3-4 พฤษภาคม 2547; ณ โรงแรมแอมบาสเตอร์. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2547.
11. ลัดดา พูลสวัสดิ์, สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์, สมมาตร กลมกลิ้ง. การสำรวจปริมาณเชื้อ *Clostridium perfringens* ในยาแผนโบราณ. ใน: การประชุมวิชาการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 15 เรื่องวิทยาศาสตร์การแพทย์เพื่อความมั่นคงสุขภาพ. วันที่ 27-29 สิงหาคม 2550; ณ อาคารอิมแพค คอนเวนชั่นเซ็นเตอร์ อิมแพคเมืองทองธานี. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2550.
 12. จีระเดช มโนสร้อย, อรัญญา มโนสร้อย. วิธีการพัฒนาสมุนไพรไทยให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถแข่งขันได้ในตลาดสากล. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2549.
 13. ยุทธศาสตร์ที่ 4 การพัฒนายาไทยและยาสมุนไพร. ใน: คณะกรรมการจัดทำยุทธศาสตร์การพัฒนามิปัญญาไทย สุขภาพวิถีไทย. แผนยุทธศาสตร์ชาติ การพัฒนามิปัญญาไทย สุขภาพวิถีไทย พ.ศ. 2550-2554 กรุงเทพฯ: กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข; 2551.
 14. Thai Pharmacopoeia. Vol. I and II Supplement 2005. Appendix 10.2 Microbial Limit Tests. Nonthaburi: Department of Medical Sciences; 2005.
 15. กันยารัตน์ ชลสิทธิ์, พิลาศลักษณ์ อติม, ชัยพัฒน์ ธิตะจारी, ประภัสสร ทิพย์รัตน์, พชรินทร์ จันทรานิมิต, จารุบล ชัยชนะ. การวิเคราะห์โลหะหนักในสมุนไพรไทย. ว กรมวิทย์ พ 2548; 48(1): 26-36.

Survey of the Quality of Herbal Medicines in the Public Health Regions 4 and 5

Nantana Klinsoonthorn Chompoonut Nutsatapana and Parichaya Mapradit

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

ABSTRACT Herbal medicines take an important part in today's medical treatment. This growing popularity results in increasing its production. Although regulations are enforced to standardize the quality of products, however, adulteration of modern synthetic medicines is usually found since it can accelerate the treatment outcome. Moreover, microbial and heavy metals contaminations are also detected. Therefore, to obtain information on the prevention and resolution of such problems, Regional Medical Sciences Center 5th Samut Songkhram in collaboration with Provincial Health Offices in Regions 4 and 5 has undergone surveillance program. The 205 samples were collected from manufacturers and distributors during October 2007 to September 2008. Adulteration of modern medicines, heavy metals and microbial contamination were analyzed. The results showed that 37 samples, 18.05%, were failed compared to the criteria, which 27 samples were modern medicine adulterated, 8 samples were over-limited of microbial contaminated, 1 sample was over-limited of heavy metal contaminated and 1 sample was over-limited in both microbial and heavy metal contaminated. These findings indicated that the quality of herbal medicines still did not meet the criteria, which the most prevalent problem was modern medicine adulteration. Most drug samples which were unregistered and unknown production origin caused these problems. Related organizations should pay more attention and solve this problem systematically and continually.

Keyword : Herbal Medicines, Contamination

การประเมินผลการถ่ายทอดองค์ความรู้ ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วน ท้องถิ่นในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

จิราภรณ์ เพชรรักษ์ กนกวรรณ เทพเลื่อน ดาวริน สุขเกษม พงษ์ธร ทองบุญ และปิยนาด ลีวิวัฒน์
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี อำเภอเมือง สุราษฎร์ธานี 84000

บทคัดย่อ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 ดำเนินงานโครงการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในพื้นที่รับผิดชอบ ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2551 - 2554 จึงสรุปผลการดำเนินงานในจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อนำเสนอรูปแบบการดำเนินงาน ในหัวข้อการประสานงาน รูปแบบของกิจกรรม งบประมาณสำหรับดำเนินงาน และการให้ความสนใจต่อโครงการฯ ขององค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น ผลการศึกษาพบว่าการประสานความร่วมมือกับเครือข่าย กิจกรรม ประกอบด้วย 1) การอบรมถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดบอร์ดนิทรรศการ สาธิตและฝึกปฏิบัติการใช้ชุดทดสอบและผลิตภัณฑ์สุขภาพ 2) การจัดทำบันทึกความเข้าใจของเครือข่าย 3) การส่งเสริมให้เกิดการนำไปสู่การปฏิบัติจริงและสร้างแรงจูงใจ องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นสนับสนุนงบประมาณสำหรับดำเนินงานโครงการฯ และให้ความสนใจโครงการโดยเข้ารับการถ่ายทอดองค์ความรู้เพิ่มขึ้นทุกปี ในการนี้ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ควรดำเนินการ 1) สำรวจความพร้อมขององค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในการนำองค์ความรู้ไปสู่การปฏิบัติ 2) มีแนวทางปฏิบัติสำหรับการติดตามผลการดำเนินงานตามข้อตกลงความร่วมมืออย่างชัดเจนและเห็นผลเป็นรูปธรรม 3) ผลักดันกิจกรรมการถ่ายทอดองค์ความรู้สู่หน่วยงานต้นสังกัดขององค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นให้กำหนดเป็นตัวชี้วัดการดำเนินงานสำคัญที่ต้องประเมินผลงานเพื่อรับค่าตอบแทนแรงจูงใจ 4) ควรมีระบบการบริหารจัดการเรื่องการกระจายชุดทดสอบให้ผู้ใช้งานสามารถเข้าถึงง่าย

Accepted for publication, 5 August 2013

บทนำ

ผลิตภัณฑ์สุขภาพ ได้แก่ อาหาร เครื่องสำอาง ยาแผนโบราณ เป็นต้น ที่มีจำหน่ายในชุมชน โดยไม่ได้รับการอนุญาตให้จำหน่ายอย่างถูกต้องหรือมีวิธีการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน ทำให้สินค้าที่จำหน่ายมีอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค เช่น การใช้สารปนเปื้อนในอาหาร การเติมสารห้ามใช้ในเครื่องสำอางและยาแผนโบราณ การใช้น้ำมันเสื่อมคุณภาพทอดอาหาร การใช้สารเคมีกำจัดแมลงในกระบวนการปลูกผักและผลไม้ ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวแม้ว่าภาครัฐจะมีมาตรการสำหรับควบคุมคุณภาพให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคแล้วก็ตาม แต่ยังมีรายงานการตรวจพบสารห้ามใช้หรือสารที่ควบคุมในปริมาณที่กำหนดไม่เป็นไปตามมาตรฐานมาโดยตลอด⁽¹⁻³⁾ การบริหารจัดการเพื่อขจัดปัญหาดังกล่าวจำเป็นต้องดำเนินการโดยอาศัยการมีส่วนร่วมจากหลายภาคส่วน ทั้งหน่วยงานสาธารณสุข องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น และภาคประชาชน

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดำเนินงานโครงการพัฒนารูปแบบการถ่ายทอดเทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งมีระยะเวลาดำเนินงาน 5 ปี (2540 - 2542) โดยอบรมเจ้าหน้าที่สาธารณสุข อาสาสมัครสาธารณสุข ในพื้นที่ 36 จังหวัด ด้วยการถ่ายทอดองค์ความรู้และเทคนิคการปฏิบัติชุดทดสอบเพื่อเป็นครูฝึกระดับจังหวัดและขยายผลต่อไปยังอาสาสมัครสาธารณสุข นักเรียน ครู และองค์กรชุมชนที่สนใจ ปี 2543 - 2544 ต่อมาได้ขยายผลไปยังจังหวัดอื่น ๆ และมีการประเมินผลโครงการฯ พบว่าผู้เข้ารับการอบรมเห็นว่าเป็นโครงการที่มีประโยชน์ ควรดำเนินการต่อเนื่อง เพื่อให้มีความรู้ความเข้าใจ และมั่นใจในการนำชุดทดสอบไปใช้งานในพื้นที่⁽⁴⁾

สืบเนื่องจากพระราชบัญญัติกำหนดแผนและขั้นตอนการกระจายอำนาจให้แก่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น (อปท.) พ.ศ. 2542 หมวด 2 การกำหนดอำนาจและหน้าที่ในการจัดระบบบริการสาธารณะ มาตรา 16 ให้เทศบาล เมืองพัทยา และองค์การบริหารส่วนตำบล (อบต.) มีอำนาจและหน้าที่ในการจัดระบบบริการสาธารณะเพื่อประโยชน์ของประชาชนในท้องถิ่นของตนเอง และในหัวข้อ 19 ของมาตราดังกล่าว กำหนดหน้าที่เรื่องการสาธารณสุข การอนามัยครอบครัว และการรักษาพยาบาล ซึ่งถือว่าพระราชบัญญัติข้างต้นได้ระบุว่าการกิจในการดูแลสุขภาพของประชาชนในชุมชนเป็นหน้าที่ขององค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น โดยรัฐบาลจะมีกลไกในการเสริมอำนาจให้องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นบริหารงบประมาณในท้องถิ่นของตนเองเพื่อดูแลทุกข์สุขของประชาชน ทั้งนี้กระทรวงต่าง ๆ มีหน้าที่ในการปรับปรุงแก้ไข ระเบียบข้อบังคับ และวิธีการดำเนินงานต่าง ๆ ให้สามารถเอื้อต่อการกระจายอำนาจเพื่อให้ท้องถิ่นสามารถดำเนินการปรับแก้ไขปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งรวมทั้งหน่วยงานของกระทรวงสาธารณสุขด้วย⁽⁵⁾

ในปีงบประมาณ 2551 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มีนโยบายเพื่อตอบสนองต่อพระราชบัญญัติการกระจายอำนาจข้างต้น โดยการประชาสัมพันธ์ชุดทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้ขยายไปยังกลุ่มอปท. รวมทั้งจัดสรรงบประมาณ ในการประชาสัมพันธ์และจัดทำข้อตกลงความร่วมมือกับกรมส่งเสริมการปกครองท้องถิ่นในการเฝ้าระวังความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์สุขภาพ ให้ อปท. มีกลไกจัดหาชุดทดสอบสำหรับเป็นเครื่องมือประเมินความเสี่ยงด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพในชุมชนด้วยตนเอง และมอบหมายภารกิจการสื่อสารประชาสัมพันธ์ เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นให้แก่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในภูมิภาคเพื่อดำเนินงานในพื้นที่รับผิดชอบ⁽⁶⁾

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ได้รับนโยบายการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในพื้นที่รับผิดชอบโดยเป็นแกนประสานการดำเนินงานในรูปเครือข่ายเพื่อให้เกิดระบบการคุ้มครองผู้บริโภคในพื้นที่รับผิดชอบตั้งแต่ปีงบประมาณ 2551 - 2554 จึงได้สรุปผลการดำเนินงานของโครงการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นเพื่อนำเสนอรูปแบบการดำเนินงานทั้งนี้ได้เลือกสรุปข้อมูลการดำเนินงานเฉพาะในจังหวัดสุราษฎร์ธานี เนื่องจากเป็นจังหวัดในความรับผิดชอบของศูนย์ฯ และมีขนาดใหญ่ มี อปท. จำนวน 138 แห่ง⁽⁷⁾ ตลอดจนมีการสนับสนุนการดำเนินงานจาก อปท. ขนาดใหญ่ในพื้นที่

ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์สำหรับปรับปรุงการดำเนินงานโครงการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่ อปท. ให้กับกรมฯ และศูนย์ฯ ได้นำไปปรับใช้สำหรับการดำเนินงานในจังหวัดอื่นๆ ในพื้นที่รับผิดชอบต่อไป

วิธีการศึกษา

ได้ดำเนินการโดยการสรุปและประเมินผลจากการดำเนินงานโครงการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น⁽⁸⁻¹⁴⁾ ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี กับหน่วยงานในพื้นที่ที่เกี่ยวข้องในจังหวัด สุราษฎร์ธานี ระหว่าง ปี พ.ศ. 2551 - 2554 จากการดำเนินงานพอสรุปผลได้ ดังต่อไปนี้

1. ประสานงานกับหน่วยงานในพื้นที่ ได้แก่ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด สำนักงานองค์การปกครองส่วนท้องถิ่น (อปท.) โดยเชิญกลุ่มเป้าหมาย คือ ผู้บริหารและผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องจาก อปท. เจ้าหน้าที่สาธารณสุขจากสถานีอนามัย สำนักงานสาธารณสุขอำเภอ และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด เข้าร่วมประชุมเพื่อให้ออกความคิดเห็นการดำเนินงานโครงการฯ ในพื้นที่

2. รูปแบบของกิจกรรม

2.1 กิจกรรมการสื่อสารองค์ความรู้ ประกอบด้วย การให้ความรู้ด้านวิชาการเกี่ยวกับอันตรายจากสารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุขภาพ การแนะนำและสาธิตการใช้ชุดทดสอบกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สาธิตการใช้ชุดทดสอบตรวจสอบผลิตภัณฑ์สุขภาพ และการจัดบอร์ดนิทรรศการ

2.2 การจัดทำบันทึกความเข้าใจ การลงนามบันทึกความเข้าใจกับเครือข่ายหน่วยงานในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในการดำเนินงานเพื่อสนับสนุนการคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ

2.3 การส่งเสริมให้นำไปสู่การปฏิบัติจริง และการสร้างแรงจูงใจ โดยจัดกิจกรรมประกวดเพื่อคัดเลือก อปท. ดีเด่น ระดับเทศบาล และองค์การบริหารส่วนตำบล ในการดำเนินงานคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ รวมทั้งจัดสรรเงินรางวัลพร้อมโล่เกียรติยศแก่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นที่ชนะเลิศการประกวด

2.4 การแลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์ในการนำชุดทดสอบไปใช้เฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์สุขภาพ ในชุมชนที่รับผิดชอบของผู้แทน อปท. โดยเชิญหน่วยงานที่มีผลงานด้านการคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพที่เป็นรูปธรรมมาร่วมจัดนิทรรศการ และร่วมเป็นวิทยากรบรรยาย

3. การสนับสนุนงบประมาณสำหรับดำเนินงานโครงการฯ จากเอกสารแผนงานโครงการฯ ที่มีข้อมูลการสนับสนุนงบประมาณจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ อปท. อื่น ๆ

4. การประเมินความสนใจโครงการฯ ของ อปท. จากกิจกรรมการมีส่วนร่วม 2 กิจกรรม คือ 1) จำนวน อปท. ที่ส่งผู้บริหารและเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องเข้ารับการอบรมถ่ายทอดองค์ความรู้ ในปี 2551 - 2554 และ 2) จำนวน อปท. ที่เข้าร่วมกิจกรรมประกวดเพื่อคัดเลือกเป็นหน่วยงานดีเด่น ที่จัดขึ้นในระหว่างดำเนินงานโครงการฯ

ผล

จากการศึกษาการดำเนินงานโครงการฯ ภายใต้หัวข้อที่กำหนดพบว่ามีผลการดำเนินงาน ดังนี้

1. การประสานงานโครงการ

กำหนดจัดประชุมสื่อสารโครงการฯ เพื่อประสานการดำเนินงานร่วมกับเครือข่าย ตั้งแต่ปี 2551 - 2554 กำหนดจัดปีละ 1 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 4 ครั้ง โดยในปี 2551 กลุ่มเป้าหมายที่เข้าร่วม คือ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสุราษฎร์ธานี และสำนักงานท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานี ต่อมาในปี 2552 - 2554 มีหน่วยงานร่วมดำเนินงานเพิ่มเติมจากปี 2551 คือ องค์การบริหารส่วนจังหวัดสุราษฎร์ธานี (อบจ. สุราษฎร์ธานี) และเทศบาลนครสุราษฎร์ธานี สารที่ได้จากการประชุมแต่ละปี คือ การกำหนดเป้าหมาย กิจกรรม และการประเมินผลโครงการ

2. รูปแบบของของกิจกรรม

2.1 การถ่ายทอดองค์ความรู้

ในระหว่างปี 2551 - 2554 จัดกิจกรรมถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ ร่วมกับการประชาสัมพันธ์โครงการฯ และสาธิตการใช้ชุดทดสอบให้แก่ อปท. เจ้าหน้าที่สาธารณสุข และ อสม. ปีละ 1 ครั้ง รวม 4 ครั้ง

2.2 การจัดทำบันทึกความเข้าใจ

ในปี 2552 หน่วยงานเครือข่าย ได้แก่ ศวก.ที่ 11 สุราษฎร์ธานี สสจ.สุราษฎร์ธานี อบจ. สุราษฎร์ธานี เทศบาลนครสุราษฎร์ธานี เทศบาลนครท่าข้าม และชมรมอาสาสมัครสาธารณสุขจังหวัดสุราษฎร์ธานี ร่วมกันจัดทำบันทึกความเข้าใจ 1 ครั้ง ในเรื่องการกำหนดบทบาทการสนับสนุนการคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพในจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดย องค์การบริหารส่วนจังหวัด สนับสนุนงบประมาณสำหรับการถ่ายทอดภารกิจการคุ้มครองผู้บริโภคสู่ท้องถิ่น เทศบาลสนับสนุนงบประมาณสำหรับจัดหาชุดทดสอบสำหรับเป็นเครื่องมือเฝ้าระวังแก้ไขปัญหาผลิตภัณฑ์สุขภาพในเขตพื้นที่รับผิดชอบ ชมรมอาสาสมัครสาธารณสุขมีหน้าที่นำองค์ความรู้และชุดทดสอบที่ได้รับการสนับสนุนไปเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์สุขภาพ ศวก.ที่ 11 และสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดมีหน้าที่ส่งเสริมพัฒนาและสนับสนุน องค์ความรู้ให้แก่ อปท. และชุมชน

2.3 การส่งเสริมให้นำไปสู่การปฏิบัติจริง และการสร้างแรงจูงใจ

ในปี 2552 จัดกิจกรรมประกวดหน่วยงาน อปท. ดีเด่นในการดำเนินงานคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ ระดับเขต 1 ครั้ง มีหน่วยงานได้รับรางวัล 3 หน่วยงาน คือ เทศบาลนครสุราษฎร์ธานี (ชนะเลิศ) เทศบาลตำบลท่าชนะ จ. สุราษฎร์ธานี (รองชนะเลิศลำดับ 1) และเทศบาลตำบลควนขนุน จ.พัทลุง (รองชนะเลิศลำดับ 2) ต่อมาในปี 2553 ดำเนินการประกวดในกลุ่ม อปท.ระดับเทศบาล มีหน่วยงานที่ได้รับรางวัล 3 หน่วยงาน คือ เทศบาลตำบลตาขุน (ชนะเลิศ) เทศบาลตำบลท่าทองใหม่ (รองชนะเลิศอันดับ 1) และเทศบาลตำบลตลาดไชยา (รองชนะเลิศอันดับ 2) และในปี 2554 ได้ขยายกิจกรรมออกไปยัง กลุ่ม อบต. แต่ไม่มีองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นสมัครเข้าร่วมการประกวด ซึ่งหน่วยงานที่ชนะการประกวดจะได้รับเงินรางวัลพร้อมโล่

2.4 กิจกรรมการแลกเปลี่ยนเรียนรู้

จัดกิจกรรมส่งเสริมการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ จำนวน 2 ครั้ง ในปี 2552 และปี 2553 ปีละ 1 ครั้ง มีเจ้าหน้าที่จากเทศบาลนครสุราษฎร์ธานี เทศบาลตำบลตลาดไชยา เทศบาลตำบลตาขุน ร่วมเป็นวิทยากร และร่วมจัดนิทรรศการผลการดำเนินงาน

3. การสนับสนุนงบประมาณสำหรับดำเนินงานโครงการ

การดำเนินงานโครงการฯ ระหว่างปี 2551 - 2554 ใช้งบประมาณรวมทั้งสิ้น 3,280,850 บาท เป็นงบประมาณของกรมฯ จำนวนเงิน 2,323,500 บาท และ อบจ.สุราษฎร์ธานี สนับสนุนงบประมาณ 957,350 บาท

4. การประเมินความสนใจโครงการฯ

ผลการประเมินความสนใจโครงการฯ ข้อแรก คือ จำนวน อปท. ที่ส่งผู้บริหารและเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องเข้ารับการอบรม ในปี 2551 - 2554 จำนวน 41 แห่ง (ร้อยละ 30.0) 55 แห่ง (ร้อยละ 40.0) 69 แห่ง (ร้อยละ 50.0) และ 79 แห่ง (ร้อยละ 57.0) ตามลำดับ และข้อสอง คือจำนวน อปท. ที่เข้าร่วมกิจกรรมประกวดเพื่อคัดเลือกหน่วยงานดีเด่น ซึ่งมี อปท. ให้ความสนใจส่งผลงานเข้าร่วมการประกวดเพื่อคัดเลือก ตามข้อมูลในหัวข้อ การส่งเสริมให้นำไปสู่การปฏิบัติจริง และการสร้างแรงจูงใจ

วิจารณ์

การดำเนินงาน เพื่อส่งเสริมภารกิจการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่ อปท. ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ระหว่างปี 2551 - 2554 ดำเนินการโดยเครือข่ายที่มีข้อตกลงความร่วมมือชัดเจน และมีวิวัฒนาการการทำงานเข้มแข็งขึ้นโดยลำดับ จากปี 2551 ซึ่ง ศวก.ที่ 11 สุราษฎร์ธานี เป็นเจ้าภาพหลักในการประสานงาน และเชิญเครือข่ายเข้าร่วมดำเนินงาน ได้แก่ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด สำนักงานท้องถิ่นจังหวัด และเทศบาลนครสุราษฎร์ธานี ตลอดจนอาสาสมัครสาธารณสุขซึ่งเป็นเครือข่ายภาคประชาชน เครือข่ายทั้งหมดมีบทบาทในการกำหนดเป้าหมาย วิธีการ และการประเมินผลโครงการ เพื่อประชาสัมพันธ์ให้กลุ่มเป้าหมายได้รับทราบข้อตกลงก่อนเข้าร่วมโครงการสำหรับการได้รับการถ่ายทอดองค์ความรู้ทั้งทฤษฎีจากวิทยากร บอร์ดนิทรรศการ และการฝึกปฏิบัติ ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ จะช่วยสร้างความรู้ความเข้าใจ ทักษะ และความมั่นใจของผู้ที่เข้ารับการอบรม ให้นำไปปรับใช้ในชุมชนของตนเอง

สืบเนื่องจากการจัดทำบันทึกความเข้าใจของเครือข่ายทำให้เกิดความชัดเจนในบทบาทของตนเอง จึงมีผลงานเชิงประจักษ์เกิดขึ้น เช่น การมีส่วนร่วมของเครือข่ายในการกำหนดเกณฑ์และร่วมเป็นกรรมการตัดสินการประกวดเพื่อคัดเลือก อปท. ดีเด่นระดับจังหวัด การสนับสนุนงบประมาณของ อบจ. สุราษฎร์ธานี และเทศบาลนครสุราษฎร์ธานี เป็นต้น โดยเฉพาะความต่อเนื่องของการสนับสนุนงบประมาณ ในปี 2553 - 2554 ทำให้สามารถขยายผลการถ่ายทอดองค์ความรู้ให้แก่กลุ่ม อปท. ทั้งจังหวัด เกิดกิจกรรมประกวดเพื่อคัดเลือก อปท. ดีเด่น ซึ่งเป็นกิจกรรมเหล่านี้ล้วนช่วยส่งเสริมให้ อปท. ได้นำความรู้ที่ได้รับจากการอบรมไปปฏิบัติจริงในชุมชนของตนเองและส่งผลงานเข้าประกวด ตลอดจนการจัดหารางวัลเพื่อเป็นสิ่งจูงใจให้กับ อปท. ที่ชนะการประกวด ซึ่งถือว่าเป็นผลสืบเนื่องจากการสนับสนุนงบประมาณของ อบจ. สุราษฎร์ธานี เป็นสำคัญ โดยในปี 2554 ได้ขยายผลกิจกรรมการประกวด อปท. ดีเด่น ระดับ อบต. ด้วย แต่ไม่มี อปท. ทั้ง 2 ระดับสมัครเข้าร่วมการคัดเลือกในปี 2554 ทั้งนี้มีสาเหตุจากปัจจัยในเรื่องเกณฑ์การอุดหนุนงบประมาณของ อบจ. สุราษฎร์ธานี ซึ่งต้องผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกระจายอำนาจของจังหวัด ทำให้การสนับสนุนงบประมาณล่าช้ากว่าแผนที่วางไว้ ส่งผลให้การจัดกิจกรรมต่าง ๆ ของโครงการล่าช้า รวมถึงการนำความรู้ไปสู่การปฏิบัติจริงและการส่งผลงานที่เป็นรูปธรรมเข้าประกวดของ อปท. ล่าช้าไปด้วย ประกอบกับในช่วงปลายเดือนมีนาคม 2554 จังหวัดสุราษฎร์ธานีประสบอุทกภัยทั้งจังหวัด อปท. ซึ่งมีหน้าที่ต้องช่วยเหลือประชาชนที่ประสบอุทกภัยในชุมชนของตนเอง จึงทำให้ไม่มี อปท. ส่งผลงานเข้าร่วมประกวด

การส่งเสริมให้ อปท. สร้างผลงานด้านการคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ โดยการจัดกิจกรรมประกวดคัดเลือก อปท. ดีเด่น และมอบรางวัลโดยผู้ว่าราชการจังหวัด ในการประชุมหัวหน้าส่วนราชการ การนำศักยภาพของบุคลากรที่ได้รับรางวัลมาเป็นวิทยากรในการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์ หรือเป็นกรรมการคัดเลือก ถือเป็นการยกย่องชมเชยทำให้มีขวัญ กำลังใจ และแรงจูงใจในการทำงานให้ดียิ่งขึ้น ตลอดจนกิจกรรมการแลกเปลี่ยนเรียนรู้จะเป็นแม่แบบที่ก่อให้เกิดการเรียนรู้และนำไปปรับใช้ในการทำงานอื่น ๆ รวมทั้งเกิดการกระตุ้นให้หน่วยงานที่ได้รับรางวัลในระดับพื้นที่ พัฒนาศักยภาพเพื่อเข้ารับการคัดเลือกในระดับภาคหรือระดับประเทศต่อไป ซึ่งมีหน่วยงานให้ความสนใจโดยเข้ารับการถ่ายทอดองค์ความรู้เพิ่มขึ้นทุกปี

ผลจากการดำเนินงานโครงการฯ เป็นการประชาสัมพันธ์งานและผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นผลผลิตจากการดำเนินงานของกรมฯ ให้รู้จักในวงกว้าง เพื่อเข้าถึงการให้บริการของกรมฯ และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในพื้นที่ช่วยสนับสนุนความรู้ความเข้าใจในภารกิจที่รับผิดชอบของ อปท. ตลอดจนส่งเสริมการดำเนินงานในรูปแบบของเครือข่ายที่สามารถขยายผลไปสู่การดำเนินงานโครงการอื่น ๆ ในพื้นที่ อย่างไรก็ตามยังพบสิ่งที่จะต้องปรับปรุง คือ การนำองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ ไปดูแลสุขภาพภาคประชาชน ของ อปท. เป็นการดำเนินการด้วยความสมัครใจหรือความพร้อม ซึ่งส่วนใหญ่จะมีความพร้อมในระดับเทศบาลขนาดใหญ่ ส่วนเทศบาลขนาดเล็ก และ อบต. ยังขาดความพร้อม จึงยังไม่มีผลงานให้เป็นที่ยอมรับ นอกจากนั้นการเข้าถึงบริการชุดทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์

การแพทย์ของ อปท. ยังขาดความสะดวก เนื่องจากยังรวมศูนย์การให้บริการไว้ที่ส่วนกลาง ไม่ได้กระจายการเข้าถึงบริการสู่ภูมิภาค ตลอดจนกรมฯ และศูนย์ฯ ยังไม่มีการติดตามประเมินผลการนำองค์ความรู้ที่ถ่ายทอดให้กับ อปท. นำไปปฏิบัติอย่างเป็นรูปธรรมในพื้นที่

ดังนั้นเพื่อให้เกิดประโยชน์สำหรับการปรับปรุงกลยุทธ์หรือกระบวนการทำงานตามภารกิจ การถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งผู้รับผิดชอบงานของศูนย์ฯ ได้สรุปเป็นข้อเสนอแนะดังนี้

1. กรมฯ ควรสำรวจความพร้อมของ อปท. ในการนำองค์ความรู้ไปสู่การปฏิบัติหลังจากได้รับการถ่ายทอดองค์ความรู้ เพื่อนำมาปรับปรุงกระบวนการทำงานให้สอดคล้องกับความต้องการ
2. ในระดับกระทรวงสาธารณสุขและกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ควรมีแนวทางปฏิบัติสำหรับการติดตามผลการดำเนินงานตามข้อตกลงความร่วมมือกับภาคีเครือข่ายอย่างชัดเจนเห็นผลเป็นรูปธรรม
3. กรมฯ ควรผลักดันกิจกรรมนี้สู่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องให้กำหนดเป็นตัวชี้วัดการดำเนินงานที่สำคัญของ อปท. ที่จะต้องถูกประเมินผลงานเพื่อรับค่าตอบแทนแรงจูงใจ เป็นต้น
4. กรมฯ ควรมีระบบการบริหารจัดการเรื่องการกระจายชุดทดสอบให้ผู้ใช้งานเข้าถึงง่าย เช่น การวางจำหน่ายในส่วนภูมิภาค การเตรียมแผนความต้องการในการกระจายชุดทดสอบเพื่อเพิ่มกำลังการผลิตให้ตรงตามความต้องการของลูกค้า เป็นต้น

สรุป

รูปแบบการดำเนินงาน เพื่อส่งเสริมภารกิจการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในจังหวัดสุราษฎร์ธานีของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ในช่วงปี 2551 - 2554 ประกอบด้วย 1) การถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ในรูปแบบของการจัดอบรม การจัดนิทรรศการ การสาธิต และฝึกปฏิบัติการใช้ชุดทดสอบผลิตภัณฑ์สุขภาพด้านอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ให้แก่กลุ่มเป้าหมาย 2) การดำเนินงานในรูปแบบภาคีเครือข่ายที่มีข้อตกลงความร่วมมือในหน้าที่รับผิดชอบชัดเจนเป็นรูปธรรม 3) การส่งเสริมให้นำองค์ความรู้ไปปฏิบัติจริง โดย การประกวดเพื่อคัดเลือกหน่วยงาน อปท. ดีเด่น การจัดเวทีแลกเปลี่ยนเรียนรู้จากประสบการณ์จริงของผู้เกี่ยวข้อง 4) อปท. ให้ความสนใจโครงการโดยการสนับสนุนงบประมาณและเข้าร่วมกิจกรรม มีข้อเสนอแนะ คือ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ควร 1) สำรวจความพร้อมของ อปท. ในการนำองค์ความรู้ไปสู่การปฏิบัติ 2) มีแนวทางปฏิบัติสำหรับการติดตามผลการดำเนินงานตามข้อตกลงความร่วมมือระหว่างกรมฯ กับกรมส่งเสริมการปกครองท้องถิ่นอย่างชัดเจนเป็นรูปธรรม 3) ผลักดันกิจกรรมการถ่ายทอดองค์ความรู้สู่หน่วยงานต้นสังกัดของ อปท. ให้กำหนดเป็นตัวชี้วัดการดำเนินงานที่สำคัญที่ต้องประเมินผลงานเพื่อค่าตอบแทนแรงจูงใจ 4) ควรมีระบบการบริหารจัดการเรื่องการกระจายชุดทดสอบให้ผู้ใช้งานเข้าถึงง่าย เช่น การวางจำหน่ายในส่วนภูมิภาค การเตรียมแผนความต้องการในการกระจายชุดทดสอบเพื่อเพิ่มกำลังการผลิตให้ตรงตามความต้องการของลูกค้า เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาคีเครือข่ายการดำเนินงานโครงการถ่ายทอดองค์ความรู้การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการสู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งประกอบด้วย สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสุราษฎร์ธานี สำนักงานท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานี องค์การบริหารส่วนจังหวัดสุราษฎร์ธานี เทศบาลนครสุราษฎร์ธานี ตลอดจนภาคประชาชนต่าง ๆ ที่ได้ร่วมกันดำเนินงานอย่างเข้มแข็ง ช่วยกันผลักดันให้เกิดผลงานที่เป็นรูปธรรมโดยการสนับสนุนงบประมาณอย่างต่อเนื่องขององค์การบริหารส่วนจังหวัดสุราษฎร์ธานี ผลงานที่เกิดขึ้นนำไปสู่การวิเคราะห์ สังเคราะห์

เพื่อปรับปรุงกระบวนการดำเนินงานด้านการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นให้สอดคล้องกับความต้องการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานประจำปี 2550. นนทบุรี: สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร; 2551.
2. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานประจำปี 2551. นนทบุรี: สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร; 2552.
3. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานประจำปี 2552. นนทบุรี: สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร; 2553.
4. กองอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานการประเมินโครงการพัฒนารูปแบบการถ่ายทอดเทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์การแพทย์. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2543.
5. พระราชบัญญัติกำหนดแผนและขั้นตอนการกระจายอำนาจให้แก่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น พ.ศ. 2542. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 5 มิถุนายน 2556]; [7 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.thailandlawyercenter.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=538973904&Ntype=19>
6. อีรวัดณ์ สุภาวัฒน์พันธ์, สุกัญญา เอ็มอัมหมัด. การสื่อสารด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ระหว่างศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์กับองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในจังหวัดขอนแก่น. ประชุมวิชาการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 19. วันที่ 17-19 สิงหาคม 2554. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2554.
7. ข้อมูล อปท. ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. [ออนไลน์]. 2551; [สืบค้น 9 ธันวาคม 2554]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.surat-local.go.th/index.php?option=abtsuratinfo>
8. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานผลการดำเนินงาน ประจำปีงบประมาณ 2553. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11; 2553.
9. เอกสารการประชุมสัมมนา โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์เพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคขององค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. วันที่ 18 มีนาคม 2551. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2551.
10. เอกสารการประชุมสัมมนา โครงการถ่ายทอดภารกิจการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการสู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นโดยอาศัยเทคโนโลยีอย่างง่ายและกระบวนการทำงานแบบมีส่วนร่วม. วันที่ 13 มิถุนายน 2552. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2552.
11. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11. เอกสารการประชุมโครงการถ่ายทอดความรู้การใช้ชุดทดสอบเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์สุขภาพในชุมชนของจังหวัดสุราษฎร์ธานี. วันที่ 11-12 พฤษภาคม 2553. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2553.
12. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11. เอกสารการประชุมโครงการติดตามและประเมินผลการถ่ายทอดความรู้การใช้ชุดทดสอบในการเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์สุขภาพในชุมชนจังหวัดสุราษฎร์ธานี. วันที่ 29 เมษายน 2554. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2554.
13. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11. เอกสารสรุปผลการดำเนินงานโครงการถ่ายทอดภารกิจการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการสู่องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น จังหวัดสุราษฎร์ธานี. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2553.
14. ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11. เอกสารสรุปผลการดำเนินงานโครงการติดตามและประเมินผลการถ่ายทอดความรู้การใช้ชุดทดสอบในการเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์สุขภาพในชุมชนจังหวัดสุราษฎร์ธานี. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2554.

Evaluating of Medical Sciences Knowledge and Technology transferring to Local Government in Surat Thani Province.

Jiraporn Phetrak Kanokwan Thepluein Daorin Sukkasem Pongtorn Thongboon and Piyanart Leevivat

Evaluating Medical Sciences Knowledge Transfer to Local Government in Surat Thani Province

ABSTRACT Study on medical sciences knowledge transfer to Local Government in Surat Thani province was launched by Regional Medical Sciences Center 11, Surat Thani during the year 2008 to 2011. The objective of this study was to present project's model in the topic of project's co-ordination, activities' model, budget allocation and Local Government's attention to the project. The results showed that the project's implementation collaborate with networking. The activities' model composed of 1) medical sciences knowledge's communication such as training program, providing exhibition, demonstrating and practicing how to use test kit for consumer health products, 2) a Memorandum of Understanding for networking operation, 3) encourage to practice and incentive by selecting the best practice competition, to award a prize and knowledge exchange. Although the Local Government supported budget and attended to join in this project increase yearly. However, The Department of Medical Sciences should to 1) survey the availability of local governments to take knowledge into action, 2) have guidelines for monitoring the agreement's implementation 3) push medical sciences knowledge's transferring to the authorized office of Local Government in order to set up it as the important key success factor for assessment as the pay. 4) have a good test kit distribution management system and easily to give service to the customers.

keyword : Local Government, knowledge transfer.

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	Supatra Im-Erb
	Churairat Rungrodejarnarak	Mayura Kusum
	Jongdee Wongpinairat	Pimjai Naigowit
	Sumol Pavittranon	
Editor	Yaowapa Pongsuwanna	
Associate Editors	Lagsana Leuprasert	Pensri Rodma
	Wattana Auwanit	Laojana Chavanadisai
	Busarawan Sriwanthana	
Editorial Board	Nateewan Poonwan	Partoompit Wimonwattrawatee
	Nawaporn Anantasinkul	Angkana Herunsalee
	Manas Attawish	Orn-Anong Ratchachenchai
	Wiyada Akarawut	Kanokporn Atisook
	Siri Srimanoroth	Kalaya Anulukanapakorn
	Archawin Rojanawiwat	Teerapon Kachacheewqa
	Charoendee Pingsuthiwong	Namfon Noiprasert
Administration	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	

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	
ที่ปรึกษาด้านบริหาร	นายอภิชัย มงคล	นางจุรีภรณ์ บุณยวงศ์วิโรจน์
	นางวารุณี จินารัตน์	นายวันชัย สัตยาวุฒิพงศ์
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	นางสาวอมรา วงศ์พุทธพิทักษ์	นางสุภัทรา อิ่มเอิบ
	นางสาวจุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์	นางมยุรา กุสุมภ์
	นางจงดี ว่องพินัยรัตน์	นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท
	นางสาวสุมล ปวีตรานนท์	
บรรณาธิการ	นางเยาวภา พงษ์สุวรรณ	
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	นางสาวลักขณา ลือประเสริฐ	นางเพ็ญศรี รอดมา
	นายวัฒนา อุ้วาณิชย์	นางเลาจนา เขาวนาดีชัย
	นางสาวบุษราวรรณ ศรีวรรณะ	
คณะบรรณาธิการ	นางสาวณัฐจิราวรรณ ปุ่นวัน	นางปทุมพิศ วิมลวัตรเวที
	นางนพพร อนันตสินกุล	นางอังคณา หิรัญสาลี
	นายมนัส อัดติวิชญ์	นางสาวอรอนงค์ รัชตราเซนชัย
	นางสาววิยะดา อัครวุฒิ	นางกนกพร อธิสุข
	นายศิริ ศรีมโนรถ	นางสาวกัลยา อนุลักขณาปรกรณ์
	นายอาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์	นายธีระพล คชาชีวะ
	นางสาวเจริญดี ปิงสุทธีวงศ์	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ
ฝ่ายจัดการ	นางสาวประสาน จุลวงษ์	
กำหนดออก	ราย 3 เดือน	
อัตราสมาชิก	ในประเทศปีละ 200.- บาท	
	ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา	
สำนักงานวารสาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	
	88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000	
	โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297	
พิมพ์ที่	หจก. อรุณการพิมพ์	
	457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200	
	โทร. 0-2282-6036	