



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

วารสาร

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 67 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2568 • Vol. 67 No. 3 July - September 2025



ISSN 3057-1286 (Print)

ISSN 3057-1308 (Online)

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ที่ปรึกษาด้านบริหาร	นพ.ยงยศ ธรรมวุฒิ	นพ.พิเชฐ บัญญัติ
	นพ.บัลลังก์ อุปพงษ์	นพ.วัชรพงษ์ คำหล้า

ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท ดร.ปนัดดา ชิลวา ดร.สมล ปวีตรานนท์	ดร.บุษาวรรณ ศรีวรรณะ ดร.ประไพ วงศ์ลิ้นคณัน
----------------------	---	---

บรรณาธิการบริหาร ดร.สุภาพร ภูมิอมร

บรรณาธิการ ดร.เตือนถนอม พรหมขัติแก้ว

รองบรรณาธิการ	นางสิริภากร แสงกิจพร	ดร.นวลจันทร์ วิจักขณ์จินดา
	ดร.เกรียงศักดิ์ ฤชศาตวัต	ดร.สิริพรรณ แสงอรุณ

คณะบรรณาธิการ	ศ.เกียรติคุณ ดร.ไพโรจน์ พุฒินะ	มหาวิทยาลัยมหิดล
	ศ.ดร.นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล	มหาวิทยาลัยมหิดล
	ดร.दनัย ทิวาเวช	มหาวิทยาลัยนเรศวร
	ภญ.สุวรรณา จารุสุข	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
	ศ.ดร.นพ.เผด็จ สิริยะเสถียร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
	ศ.ดร.พรพิมล กองทิพย์	มหาวิทยาลัยมหิดล
	รศ.ดร.ศรีสุรางค์ ต้นติมานิช	มหาวิทยาลัยมหิดล
	ดร.สุณี ศิริวิชัยกุล	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
	ศ.ดร.พญ.ชนิตรา ธูจิตต์	มหาวิทยาลัยมหิดล
	รศ.ดร.ภญ.พัฒนทิพย์ พงษ์เพชร	นักวิชาการอิสระ
	ดร.สลักจิต ชุตินพวิเวท	นักวิชาการอิสระ
	ดร.อุษาวดี ถาวระ	นักวิชาการอิสระ
	นายสุธน วงษ์ขีรี	นักวิชาการอิสระ
	นางวิษชุดา จิตตางกูร	นักวิชาการอิสระ
	ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา	นักวิชาการอิสระ
	รศ.ดร.นวลนวี เวชประสิทธิ์	นักวิชาการอิสระ
	ดร.วันทนา ปวีณกิตติพร	นักวิชาการอิสระ
	ดร.อรุณากร จันทร์แสง	นักวิชาการอิสระ

ฝ่ายจัดการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวอภิมน จีรพงศ์ธร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นายนาวิ ศรีวรมย์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวภาวิณี สุขเจริญ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวอภิสรา โคมเตือน	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	นางสาวชไมพร ชุมจันทร์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สำนักงานวารสาร สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000
โทร. 0-2951-0000 ต่อ 99662 โทรสาร 0-2951-1297
E-mail : bull.dmssc@dmssc.mail.go.th

พิมพ์ที่ บริษัท อนุธรรณการพิมพ์ จำกัด
457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200
โทร. 0-2282-6033-4

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 67 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2568

Vol. 67 No. 3 July - September 2025

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

- ผลการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลผักชีจากแหล่งปลูกในจังหวัดน่าน พะเยา ลำปาง และเชียงราย 383
ดภาพร ไผ่สน วิกิต ประกายหาญ กุลธนิศ วรรณรัตน์ และ ทศนีเวศ ยะโส
- การประเมินประสิทธิผลของเทคโนโลยีไมโครเวฟในการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ 394
อภิษฐา สิทธิวงศ์ ปริชญา มณฑนม วุฒิชัย คำดวง สาคร พรประเสริฐ และ กัญญา ปรีชาคุุทธิ์
- การตรวจพบไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันสายพันธุ์อุบัติขึ้นจากตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ ในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2567 403
อัจฉริยา ลูกบัว กรรณิการ์ ขวัญชุม นรารวรรณ ปั่นงาม เตือนเพ็ญ เชื้อผู้ดี
ประสพชัย อวามรุ่งโรจน์ ธนธรณ์ ฉันทวรกิจ ธนพนธ์ เปรมกมล ธัญชนก สุทธิบุญลย์
เพ็ญใจ อามีนเจริญ และ พิไลลักษณ์ อัคคไพบูลย์ โอภาตะ
- ประสิทธิผลของโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online 417
ต่อความถูกต้องของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา เครือข่ายบริการสุขภาพ
อำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท
สุพัตรา สุวรรณศิริ และ วิทยา จันทโรจน์
- พฤษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบขนุน ชี้เหล็ก และไชยา 439
วรภากรณ์ มหาทรัพย์ วชิรวิชัย พามาดี อภัสรา คตขัง ศิริประภา สุตบุรินทร์
ณัฐกานต์ สาพันธุ์ และ ปาริชาติ อ้นองอาจ
- การพัฒนาวิธีวิเคราะห์การห่อหุ้มเอ็มอาร์เอ็นเอในอนุภาคนาโนไขมันของวัคซีนโควิด 19 453
โดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์
ณัฐกานต์ มิ่งงามทรัพย์ ภาวิณี วงศ์ชนะ พุทธิตา โชคเหรียญสุขชัย อชิระ นามจันทร์ และ
สุภาพร ภูมิอมร

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การพัฒนาและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์
ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือโดยเทคนิค **Headspace-Gas
Chromatography-Flame Ionization Detector** 464
- ศุภัชญา ลำขาว ศิริพร ทองประกายแสง และ ละเวง นิลมณี

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

- การเปรียบเทียบข้อกำหนดมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข
ปี พ.ศ. 2562 กับมาตรฐานสากล **ISO 15189:2022** และการวิเคราะห์ข้อบกพร่องของ
ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 - 2566 481
- วรรณปรัชญ์ เรืองเดช สิริพรรณ แสงอรุณ เรวดี สิริธัญญานนท์ และ สุรศักดิ์ หมั่นพล
- ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับในหัตถการทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัวโรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี 499
- กันตินันท์ สมใจ
- การพัฒนาการจำแนกสิ่งแปลกปลอมในอาหารและการจัดทำฐานข้อมูล 506
- อนัญญา ยิ่งเจริญธนา วนิดา ยุธยาติ พรนภา เนตรจุฬารัตน์ ประภัสรา บุตรพรม และ
ทิวา เขียนวงษ์
- การวิเคราะห์ข้อบกพร่องตามมาตรฐาน **ISO/IEC 17025:2017** ของห้องปฏิบัติการทดสอบ 518
- เปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการให้การรับรองในปี พ.ศ. 2564 และ 2566
- เสาวนีย์ อารมย์สุข ธนวัฒน์ ศรีดาพันธ์ และ สิริพรรณ แสงอรุณ

บทความพิเศษ

- การเก็บรักษาดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ เพื่อการวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล 530
- กิงกาญจน์ รักษมณี และ ตริวัฒน์ วัฒนะโชคชัย
- การย่อยสลายเซลล์โฮสต์และอนุภาคไวรัสในการสกัดกรดนิวคลีอิกของไวรัส 541
- จากตัวอย่างมนุษย์
- ตริวัฒน์ วัฒนะโชคชัย และ กิงกาญจน์ รักษมณี

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 67 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2568

Vol. 67 No. 3 July - September 2025

CONTENTS

Page

Original Articles

- Pharmacological Activities of Coriander Fruits in the Provinces of Nan, Phayao, Lampang, and Chiang Rai, Thailand** 383
Tathaporn Maison, Wikit Prakayharn, Kulthanit Wanarat, and Thassanewet Yaso
- Efficacy Evaluation of Microwave Technology for Infectious Waste Disposal** 394
Apitchaya Sittiwong, Paritchaya Monthanom, Woottichai Khamduang, Sakorn Pornprasert, and Kanya Preechasuth
- Detection of Vaccine-Derived Measles, Mumps, and Rubella Viruses Found in Patient Specimens in Thailand, 2017–2024** 403
Atchariya Lukebua, Kannikar Kwanchum, Narawan Punngam, Duanpen Chuapudee, Prasopchai Aramrunroj, Tanatorn Chantavorakit, Thanapol Preamkamol, Thanchanok Suttibul, Phiengjai Armeencharoen, and Pilailuk Akkapaiboon Okada
- Effectiveness of the Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online Program on the Accuracy of Portable Glucose Meters in Nongmamong District Health Network, Chainat, Thailand** 417
Supattra Suwansiri and Wittaya Juntaroje
- Preliminary Phytochemical Screening, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of *Artocarpus heterophyllus*, *Cassia siamea*, and *Cnidioscolus aconitifolius* Leaves** 439
Waraporn Mahasap, Wachitrawit Pamadee, Aphatsara Khotchang, Siriprapha Sutburin, Nattakan Sapan, and Parichat Onongarj
- Development of Determination of mRNA Encapsulation in Lipid Nanoparticles of COVID-19 Vaccines using Fluorescence Assay** 453
Natthakarn Mingngamsup, Wipawee Wongchana, Puthita Chokreansukchai, Achira Namjan, and Supaporn Phumiamorn

Original Articles

- Method Development and Validation for Determination of Alcohol Contents in Hand Sanitizer Products by Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector** 464
Suphatchaya Lamkhao, Siriporn Thongprakaisang, and Laweng Nilmanee

Laboratory Finding

- Comparison between Requirements of Thailand Medical Laboratory, Ministry of Public Health (MOPH) Standards 2019, with ISO 15189:2022, and Non-conformities in Laboratories Accredited by the MOPH Standards 2019 during Fiscal Years 2020–2023** 481
Wannaprach Ruengdet, Siriphan Saeng-aroon, Raevadee Siritunyanont, and Surasak Muenphon
- Patient Radiation Doses by Body Interventional Radiology in Ubon Ratchathani Cancer Hospital, Ubon Ratchathani, Thailand** 499
Kantinan Somjai
- Development for Filth Identification in Food and Database Preparation** 506
Ananya Yingjaroentana, Vanida Yurayart, Pondnapa Netchularrat, Prapassara Butprom, and Tiwa Keanwong
- Analysis of Nonconformities to ISO/IEC 17025:2017 Laboratory Accreditation, Comparing Pre- and Post-Accreditation Audit in 2021 and 2023** 518
Saovanee Aromsook, Thanawat Sridapan, and Siriphan Saeng-aroon

Special Article

- Preservation of DNA and RNA for Molecular Biological Diagnosis** 530
Kingkan Rakmanee and Treewat Watthanachockchai
- Lysis of Host Cells and Viral Particles in Extracting Viral Nucleic Acids from Human Samples** 541
Treewat Watthanachockchai and Kingkan Rakmanee

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลผักชีจากแหล่งปลูกในจังหวัดน่าน พะเยา ลำปาง และเชียงราย

ตถาพร ไม้สน¹ วิจิต ปรกษาหาญ¹ กุลธนิศ วรรัตน์¹ และ ทศนีเวช ยะโส²

¹กองการแพทย์ทางเลือก กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ถนนพญาสี 11000

²โรงพยาบาลลำปาง อำเภอเมือง ลำปาง 52000

บทคัดย่อ ผลผักชี มีสรรพคุณลดน้ำตาลและไขมันในเลือด การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหย และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลผักชีที่ปลูกในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่าน พะเยา ลำปาง และเชียงราย พบว่าสารสกัดหยาบผลผักชีและน้ำมันหอมระเหยผลผักชี จำนวน 4 ตัวอย่าง จากแต่ละแหล่งปลูกภายใต้กระบวนการเตรียมที่เหมือนกัน มีลักษณะทางกายภาพและมีร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหย รวมถึงมีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ α -glucosidase และการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่แตกต่างกัน สารสกัดผลผักชีในรูปของสารสกัดหยาบทั้ง 4 ตัวอย่าง มีปริมาณผลผลิต ปริมาณ Total phenolic และ flavonoid และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยผลผักชี โดยสารสกัดหยาบผลผักชีตัวอย่างที่ปลูกในจังหวัดน่าน มีฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ α -glucosidase สูงที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบผลผักชีตัวอย่างที่ปลูกในจังหวัดเชียงราย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase สูงที่สุด จากการศึกษาสารสกัดผลผักชี 4 ตัวอย่าง ที่มีการปลูกและผลิตผลผักชีในพื้นที่ 4 จังหวัดดังกล่าว ในภาคเหนือของประเทศไทยจะเป็นแนวทางในการวางแผนการปลูกสำหรับผลิตวัตถุดิบผลผักชีอบแห้ง เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผลผักชีไทย เพื่อต่อยอดการผลิตในรูปแบบสารสกัด ผลการวิจัยจะก่อให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากผลผักชี สำหรับนำมาใช้ในทางการแพทย์เพื่อการพัฒนาสมุนไพรและการดูแลสุขภาพต่อไป

คำสำคัญ: ผลผักชี, สารสกัดผลผักชี, น้ำมันหอมระเหยผลผักชี, ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

Corresponding author E-mail: tthaporn@gmail.com

Received: 11 February 2025

Revised: 16 June 2025

Accepted: 20 June 2025

บทนำ

ผักชี (*Coriandrum sativum* L.) ชื่อสามัญ Coriander, Cilantro, Chinese parsley ชื่อท้องถิ่นอื่น ได้แก่ ผักหอม (นครพนม) ยาแย้ (กระบี่) ผักหอมป้อม ผักหอมผอม (ภาคเหนือ) ผักหอมน้อย (ภาคตะวันออก เฉียงเหนือ) จัดอยู่ในวงศ์ Apiaceae เป็นผักพื้นบ้าน จำพวกพืชล้มลุก มีลำต้นตั้งตรงสูง 8–15 นิ้ว ลำต้นสีเขียว แต่ถ้าแก่จัดจะออกสีเขียวอมน้ำตาล ใบคล้ายขนนก แต่อยู่ในรูปทรงพัด ซึ่งใบที่โคนต้นนั้นจะมีขนาดใหญ่กว่า ที่ปลายต้นเพราะส่วนมากที่ปลายต้นใบจะเป็นเส้นฝอย มีสีเขียวสด ดอกช่อออกตรงส่วนยอดของต้น ขนาดเล็ก กลีบดอกมี 5 กลีบ สีขาวหรือชมพูอ่อน ๆ ผลรูปทรงกลมโตตรงปลายผลจะแยกออกเป็น 2 แฉก ผิวมีเส้นคลื่นอยู่ 10 เส้น⁽¹⁾ ใช้ประโยชน์เป็นผัก เป็นเครื่องเทศปรุงอาหาร เป็นยารักษาโรค ปลูกได้ทุกพื้นที่ของประเทศไทย แหล่งปลูกที่สำคัญ เช่น ราชบุรี นครปฐม และกรุงเทพมหานคร สามารถปลูกได้ตลอดปี แต่ช่วงที่เหมาะสมที่สุด คือ ฤดูหนาว ตามภูมิปัญญาไทยทุกส่วนของผักชีมีประโยชน์ต่อร่างกาย⁽²⁾ ตามประมวลสรรพคุณยาไทย (ภาค 2) สำนักวัดพระเชตุพน (วัดโพธิ์) ระบุดรรพคุณของ “ลูกผักชีลา” ดังนี้ ทั้งต้น รสเผ็ด หอมฉุน แก้ไข้ บังเกิด แต่ชางบำรุงธาตุ แก้สะอึก แก้ร้อนใน กระหายน้ำ แก้คลื่นเหียนอาเจียน แก้ไข้หัว ไข้พิษ แก้เจ็บตา ลูกมีรส ขมเผ็ดร้อนหอม ขับลมในลำไส้ บำรุงธาตุ แก้บิดการ เจริญอาหาร ขับลม แก้ท้องอืด แก้จุกเสียด แน่น รากมี รสเผ็ดหอม เป็นกระสายยา กระทุ้งไข้ พิษหัว เช่น ไข้กาฬ เือดหัด สุกใส ตำแดง แก้ไอมะเมื่อยอดในคอ แก้ระคาย เคืองคอ และการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พบว่าผักชี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี เนื่องจากมีสารต้านอนุมูล อิสระเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ catechin, quercetin, kampferol และ coriandrin สาร catechin คือ สารกลุ่ม phenolic และยังพบสารกลุ่ม flavonoid และ volatile oil ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพผู้สูงอายุ ในการยับยั้ง ขบวนการเสื่อมของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽²⁾ ผักชีเข้ามาในประเทศไทยโดยชาวจีนเป็นผู้นำมาปลูก และกระจายพันธุ์ไปทั่วทุกพื้นที่ ปัจจุบันสายพันธุ์ผักชี ที่ปลูกเชิงการค้าเกือบทั้งหมดนำเข้าเมล็ดพันธุ์จาก

ต่างประเทศ เช่น จีน อเมริกา บัลแกเรีย อิตาลี สายพันธุ์ ที่พัฒนาพันธุ์ในไทยในด้านการค้า และสายพันธุ์ที่ เกษตรกรรายย่อยปลูกเพื่อบริโภคในครัวเรือน⁽³⁾ การ ปลูกผักชีในไทยส่วนใหญ่ปลูกเพื่อจำหน่ายเป็นผักและ เครื่องเทศทั้งในประเทศและต่างประเทศ มีบางส่วน แปรรูปอบแห้งและบดผงเพื่อใช้เป็นอาหาร ยาสมุนไพร และเครื่องสำอาง แต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงมีการนำเข้าผักชีแห้งและผงผักชีแห้งจากต่างประเทศ⁽⁴⁾ เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตยาสมุนไพรและสามารถ แข่งขันกับตลาดโลกได้ จึงควรสำรวจ ทดสอบ และ ศึกษาสายพันธุ์ผักชีไทย เพื่อให้ได้ผักชีอบแห้งที่มี คุณภาพเพื่อใช้ในการผลิตเป็นยาสมุนไพร ทั้งที่ใช้ใน รูปแบบสมุนไพรบดผงและเพื่อเป็นวัตถุดิบในการเตรียม สารสกัดต่อไป

ส่วนประกอบที่สำคัญในผล คือ น้ำมันหอมระเหย และน้ำมัน ซึ่งพบปริมาณผลผลิตของน้ำมัน คิดเป็น ร้อยละ 25 ของเมล็ด ในขณะที่ปริมาณน้ำมันหอมระเหย พบน้อยกว่าร้อยละ 1 จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดผักชี พบว่ามีส่วนประกอบ หลัก คือ linalool อยู่ในช่วงร้อยละ 30–80 ของน้ำมัน ในเมล็ดทั้งหมด^(5,6) และจากการศึกษาองค์ประกอบ ทางเคมีในใบของผักชีพบองค์ประกอบหลัก คือ ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และโพลีฟีนอล^(7–9) องค์ประกอบ ของโพลีฟีนอลของใบผักชี ประกอบด้วย kaempferol, quercetin, 3'- O-mesquercetin, 4'- O-mesquercetin และ acacetin กรดฟีนอลิกที่พบในใบผักชี ได้แก่ vanillic acid, p-coumaric acid, cis-ferulic acid และ trans-ferulic acid⁽⁸⁾

รายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาใน ต่างประเทศ พบว่าส่วนของผลและเมล็ดผักชีมีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านปรสิต ต้านการอักเสบ ต้านการก่อมะเร็ง มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด ลดความดันเลือด ลดไขมันในเลือด ลดความวิตกกังวล แก้ปวด สามารถจับและกำจัดโลหะหนัก ปกป้องตับ และไต⁽²⁾ ซึ่งการนำผักชีไทยไปใช้ให้ตรงตามวัตถุประสงค์ ทางทางการแพทย์ในการรักษาโรคหรือการส่งเสริมสุขภาพ ยังมีข้อมูลการศึกษาในประเทศไทยค่อนข้างน้อย โดย

เฉพาะเรื่องการศึกษาสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการใช้ทางการแพทย์ การศึกษากลุ่มสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพการรักษาที่เฉพาะเจาะจง รวมถึงการควบคุมกระบวนการสกัดให้ได้สารสำคัญที่มีคุณภาพสูง จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบพื้นที่ปลูก วิธีการสกัดให้ได้สารสกัดที่มีคุณภาพสูง รวมถึงการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดต่อการรักษาโรคเรื้อรัง ได้แก่ ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลและไขมัน ในห้องปฏิบัติการแบบ *in vitro* โดยทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผักชีที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ glucosidase (ทำหน้าที่ย่อยแป้ง) ฤทธิ์ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งทำหน้าที่ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เพื่อพัฒนาคุณภาพสารสกัดผักชีสำหรับการนำมาใช้ในทางการแพทย์สำหรับการรักษาโรคและดูแลสุขภาพ ช่วยลดภาวะเสี่ยงการเกิดโรคและลดการใช้ยาแผนปัจจุบันได้ จึงนำมาสู่การศึกษาวิจัยครั้งนี้เพื่อพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์จากผลผักชี โดยเปรียบเทียบตัวอย่างผลผักชีที่ปลูกในพื้นที่ 4 จังหวัดในภาคเหนือ จังหวัดน่าน พะเยา ลำปาง และเชียงราย วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและทดสอบฤทธิ์ลดไขมันและระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดผักชี เพื่อพัฒนาคุณภาพและทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลผักชีสำหรับการพัฒนาการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับไขมันและระดับน้ำตาลในเลือดต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างผลผักชีในพื้นที่ปลูก 4 แหล่ง

ผลผักชี จำนวน 4 ตัวอย่าง ที่ปลูกในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่าน พะเยา ลำปาง และเชียงราย เก็บตัวอย่างผลผักชีจากแต่ละแหล่งปลูก ตัวอย่างที่ 1 น่าน, ตัวอย่างที่ 2 พะเยา, ตัวอย่างที่ 3 ลำปาง และตัวอย่างที่ 4 เชียงราย ในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2565

เครื่องมือและสารเคมีในการสกัดสารจากตัวอย่างผลผักชี

ethanol 95% (กรมสรรพสามิต, ไทย), เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี Water Distillation (NK laboratory, ไทย), เครื่องชั่งน้ำหนักความละเอียด

2 ตำแหน่ง (Boeco, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) และ Vacuum Rotary Evaporator (Heidolph, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญและการทดสอบฤทธิ์

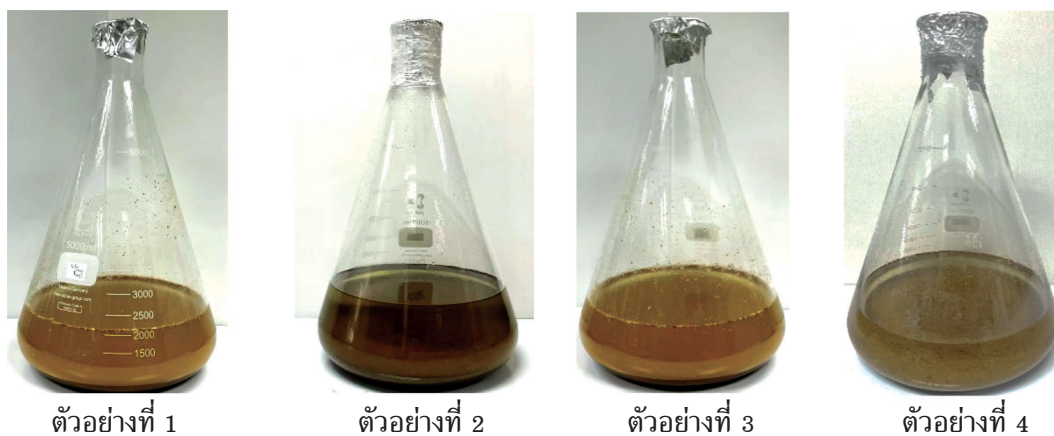
Folin ciocalteu reagent (Fluka, สวิตเซอร์แลนด์), sodium carbonate (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์), gallic acid (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), catechin (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), sodium nitrite (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์), sodium hydroxide (Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี), aluminum chloride (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์), ethanol 95% (กรมสรรพสามิต, ไทย), alpha-glucosidase (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), p-nitrophenyl alpha-D-glucopyranoside (PNPG) (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), phosphate buffer pH 6.8 (Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) และ HMG-CoA Reductase Assay Kit (Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

การสกัดสารสกัดหยาบโดยวิธีการสกัดเย็น

นำตัวอย่างผลผักชี จำนวน 4 ตัวอย่าง ที่ปลูกในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดน่าน พะเยา ลำปาง และเชียงราย ปริมาณตัวอย่างละ 700 กรัม เท่าๆ กัน มาทำการเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัด โดยนำตัวอย่างเข้าเครื่องบดให้ละเอียด ดังแสดงในภาพที่ 1 จากนั้นนำมาสกัดด้วยวิธีการสกัดเย็น⁽¹⁰⁾ โดยใช้ตัวทำละลาย ethanol 95% จำนวน 3 ขั้ว ในอัตราส่วน พืช:ตัวทำละลาย (1:10) โดยทำการขยายขนาดการสกัดโดยสกัดครั้งละ 700 กรัม ในหม้อสแตนเลส แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน ทำการเขย่าทุกวัน แยกสารละลายที่สกัดโดยการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการสกัดซ้ำด้วย ethanol 95% จนครบ 3 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้ง มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Vacuum Rotary Evaporator 20 ลิตร จะได้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอล (ethanol crude extract) จำนวน 4 ตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 1 ตัวอย่างผลผักชีก่อน-หลังการบดละเอียด



ภาพที่ 2 สารสกัดหยาบจากผลผักชีด้วย ethanol 95% ในอัตราส่วน 1:10

การกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี **Water Distillation**

นำตัวอย่างผลผักชีที่บดละเอียดทั้ง 4 ตัวอย่าง มาทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยใช้ตัวอย่างปริมาณ 500 กรัม บรรจุลงในหม้อกลั่น ขนาด 10 ลิตร เติมน้ำลงในหม้อกลั่น ปริมาณ 5 ลิตร (ปริมาณน้ำท่วมตัวอย่าง) จากนั้นปิดฝาและประกอบเครื่องกลั่นโดยวิธี Water Distillation จากนั้นทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จดบันทึกปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นที่ได้ โดยอ่านค่าจากสเกลปริมาตรของ

เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย และรายงานเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยที่ได้ตามวิธีการของ Uitterhaegen E ⁽¹¹⁾

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (**Total phenolic content**)

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method อ้างอิงตามวิธีของ Wolfe K และคณะ⁽¹²⁾ เจือจางสารทดสอบให้มีความเข้มข้น 0.01 mg/mL ปิเปตตัวอย่าง 125 μ L

เติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 500 μL เติม Folin-Ciocalteu reagent 125 μL ทิ้งไว้นาน 6 นาที หลังจากนั้นเติม 7% sodium carbonate ปริมาตร 1,250 μL และน้ำกลั่น 1,000 μL วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ทำการวัดค่าเช่นเดียวกันนี้ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid ทดสอบในช่วงความเข้มข้น 30–240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ โดยรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของ gallic acid ต่อกรัมสารทดสอบ (mg GAE/g sample)

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Flavonoid content)

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ โดยดัดแปลงตามวิธีของ Wolfe K และคณะ⁽¹²⁾ ผสมสารทดสอบกับน้ำกลั่น และเติม 5% sodium nitrite 75 μL ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติม 10% aluminum chloride 150 μL ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติม 1M sodium hydroxide 500 μL และน้ำกลั่น 275 μL วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 nm ทันที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์จากค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน catechin

ในช่วง 30–300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ โดยรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของ catechin ต่อกรัมสารทดสอบ (mg catechin/g sample)

การตรวจสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase

วิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase โดยดัดแปลงวิธีของ Feng J และคณะ⁽¹³⁾ และ Kazeem MI และคณะ⁽¹⁴⁾ เตรียมสารทดสอบใส่ในหลอดทดลองเติม 0.1 M phosphate buffer pH 6.8 500 μL และเติมเอนไซม์ 0.05 U/mL α -glucosidase (*Saccharomyces cerevisiae*, Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา) 500 μL ผสมและทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 3 mM p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (PNPG) 500 μL ลงในหลอด ผสมและบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลาย 0.2 M Na_2CO_3 2 mL เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นวัด p-nitrophenol ซึ่งเกิดจากสาร PNPG ที่ถูกไฮโดรไลสเป็น p-nitrophenol (สารสีเหลืองใส) ตรวจสอบสาร p-nitrophenol โดยใช้เทคนิค UV-Visible spectroscopy โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่วัดได้มาคำนวณ % α -glucosidase inhibition ดังสมการ

$$\% \alpha\text{-glucosidase inhibition} = [A - (B - C)] / A \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมสารทดสอบ)
B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ (เติมเอนไซม์ α -glucosidase)
C = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ (ไม่เติมเอนไซม์ α -glucosidase)

นำค่า % α -glucosidase inhibition มาสร้างกราฟ ระหว่าง % inhibition และความเข้มข้นเพื่อคำนวณค่า IC_{50} โดยใช้สาร Acarbose (Bayer, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) เป็นสารมาตรฐาน ในการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase รายงานผลการทดสอบเป็นค่า IC_{50} ในหน่วย mg/mL

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase

ทดสอบกลไกการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในกระบวนการสังเคราะห์ cholesterol ใช้ชุดทดสอบ HMG-CoA Reductase Assay Kit (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา) โดยมีหลักการ

คือเอนไซม์ HMG-CoA reductase เปลี่ยน HMG-CoA เป็น mevalonate ที่ 37°C ซึ่งต้องใช้ NADPH วัดการทำงานของเอนไซม์ โดยวัดการลดลงของ NADPH ที่ 340 nm โดยใช้ Kinetic program ของเครื่อง UV/VIS spectrophotometer (Shimadzu, ญี่ปุ่น) จากนั้นรายงานเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ทดสอบโดยใช้ตัวอย่างความเข้มข้น 500 µg/mL ปีเปต 1x Assay buffer 181 µL จากนั้นเติมสารสกัด 1 µL NADPH 4 µL และ HMG-CoA 12 µL แล้วเริ่มปฏิกิริยาโดยการเติม HMGR 2 µL วัดการดูดกลืนแสง เป็นเวลา 5 นาที

วิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA: Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple-Range Test)

ผล

ผลของสารสกัดหยาบจากผลผักชี

จากการเตรียมสารสกัดหยาบจากผลผักชีทั้ง 4 ตัวอย่าง โดยวิธีการสกัดเย็นด้วยตัวทำละลาย ethanol

95% พบว่ามีผลที่แตกต่างกันดังนี้ สารสกัดหยาบมีสีและลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน รวมถึงผลการตรวจสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ alpha-glucosidase รายงานเป็นค่า IC₅₀ (mg/mL) และประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ทดสอบที่ความเข้มข้น 500 ppm ของสารสกัดหยาบผลผักชี โดยสารสกัดหยาบผลผักชีที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดพะเยามีปริมาณร้อยละผลผลิตสารสกัดและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ตัวอย่างผลผักชีจากจังหวัดน่านมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ alpha-glucosidase สูงที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบผลผักชีจากจังหวัดเชียงรายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase สูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 1

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase ของสารสกัดหยาบของผลผักชีทั้ง 4 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับ Acarbose ซึ่งเป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือด พบว่าสารสกัดหยาบของผลผักชีตัวอย่างที่ 1 แหล่งปลูกจังหวัดน่าน มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase ได้ดีกว่าสารมาตรฐาน Acarbose

ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละผลผลิตสารสกัดจากผลผักชี ปริมาณ Total phenolic และ flavonoid ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ alpha-glucosidase และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ของสารสกัดหยาบตัวอย่างที่ 1-4

Crude extract					
Sample	Yield of extract (% w/w)	Total phenolic (mg gallic acid/g)	Flavonoid (mg catechin/g)	Alpha-glucosidase inhibitory activity (IC ₅₀ mg/mL)	HMG-CoA reductase Inhibition activity (%)
1. Nan	9.65±0.56 ^b	14.30±0.14 ^a	12.08±0.13 ^a	10.55±0.18 ^a	20.78±0.84 ^b
2. Phayao	14.76±0.81 ^a	14.96±0.12 ^b	11.18±0.09 ^b	36.79±1.24 ^c	16.70±0.98 ^c
3. Lampang	10.05±0.26 ^b	13.41±0.08 ^c	10.79±0.29 ^c	16.64±0.06 ^b	10.24±0.19 ^d
4. Chiang Rai	8.28±0.20 ^b	10.24±0.03 ^d	6.33±0.12 ^d	24.90±0.22 ^d	25.20±1.12 ^a
Acarbose				15.80±0.38 ^b	

หมายเหตุ: ^{a, b, c, d} ในแต่ละพารามิเตอร์ แสดงถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผลผักชี

จากผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี Water Distillation พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีสีและลักษณะ

ทางกายภาพของสารสกัดหยาบ และร้อยละผลผลิตที่แตกต่างกัน และมีปริมาณสารสำคัญ ฤทธิ์การต้านเอนไซม์ alpha-glucosidase และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์

HMG-CoA reductase ที่แตกต่างกัน โดยน้ำมันหอมระเหยผลผักชีตัวอย่างที่ปลูกในจังหวัดเชียงราย มีปริมาณร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ส่วนตัวอย่างที่ปลูกในจังหวัดน่าน มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ α -glucosidase และประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase สูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2

ผลการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Acarbose ที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase พบว่า Acarbose มีฤทธิ์การต้านเอนไซม์ α -glucosidase สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยผลผักชีทั้ง 4 ตัวอย่าง

ตารางที่ 2 ปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันหอมระเหยจากผลผักชี ปริมาณ Total phenolic และ flavonoid ฤทธิ์การต้านเอนไซม์ α -glucosidase และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ของน้ำมันหอมระเหยของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ 1-4

Essential oil					
Sample	Yield of extract (% w/w)	Total phenolic (mg gallic acid/g)	Flavonoid (mg catechin/g)	Alpha-glucosidase inhibitory activity (IC ₅₀ mg/mL)	HMG-CoA reductase Inhibition activity (%)
1. Nan	0.12±0.01 ^d	1.86±0.03 ^a	0.03±0.00 ^a	30.66±0.24 ^b	12.35±1.17 ^a
2. Phayao	0.44±0.02 ^b	1.80±0.12 ^a	0.01±0.00 ^b	37.23±0.30 ^c	10.44±0.17 ^{bc}
3. Lampang	0.41±0.01 ^c	1.22±0.12 ^b	0.01±0.00 ^c	38.02±1.56 ^c	9.26±0.37 ^c
4. Chiang Rai	0.8±0.02 ^a	0.99±0.04 ^c	0.01±0.00 ^b	38.51±0.94 ^c	10.78±0.48 ^b
Acarbose				15.80±0.38 ^b	

หมายเหตุ: ^{a, b, c, d} ในแต่ละพารามิเตอร์ แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลผักชี จำนวน 4 ตัวอย่าง พบว่า สารสกัดผลผักชีในรูปแบบของสารสกัดหยาบทั้ง 4 ตัวอย่าง มีปริมาณผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยของผลผักชี โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ สารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดพะเยา ปริมาณฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ α -glucosidase สูงที่สุด คือ สารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดน่าน ส่วนสารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดเชียงรายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase สูงที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดน่าน

วิจารณ์

ผลจากการศึกษาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีความแตกต่างกันของผลผักชีทั้ง 4

ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการปลูกผักชีในต่างประเทศ ได้แก่ อินเดีย เนปาล เอธิโอเปีย สหรัฐอเมริกา พบอิทธิพลของพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม คือ พันธุ์ผักชี ฤดูกาลปลูก ธาตุอาหารพืช และอายุการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบของผลผลิต และยังสัมพันธ์กับปริมาณสารสำคัญ รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽¹⁵⁻²⁰⁾ ผลการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสอดคล้องกับรายงานการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของผลผักชีมีสารประกอบในหลายกลุ่ม ได้แก่ flavonoids (quercetin, isoquercetin, rutin), terpene (linalool), terpenoid, polyphenol (ferrulic acid, gallic acid, rutin, caffeic acid, anethole, borneol, carotenoids) และ fatty acid ที่พบมาก เช่น petroselinic acid, coumarin, hydroxy-coumarin, tannin, sterol vitamin C และ tocopherol นอกจากนี้มีรายงาน

การศึกษากลุ่มสารสำคัญที่คาดว่าจะมีผลต่อระดับไขมันในเลือด ได้แก่ สารกลุ่มฟีนอลิกที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีผลลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลในระบบทางเดินอาหารและเพิ่มการขับถ่ายออกไปพร้อมอุจจาระ⁽²¹⁾ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์และโพลีฟีนอลลดการสังเคราะห์ไขมันและเสริมการทำลายคอเลสเตอรอลทั้งในซีรัมและในเนื้อเยื่อของหนู⁽²²⁾ linalool เป็นสารประกอบหลักในผลผักชีมีการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ลดน้ำตาลและไขมันของสารสกัดผลผักชีในระดับโมเลกุล แสดงตำแหน่งการเข้าจับของ linalool กับ Receptor for AGE (RAGE) มีผลยับยั้งการสร้าง Advanced Glycation End Product (AGE) ทำให้มีการหลั่งอินซูลินและการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลลดลง กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) เป็นสารสำคัญที่พบมากในผลผักชี โดยกรดชนิดนี้จะทำปฏิกิริยากับไขมันในเลือด จากนั้นกำจัดไขมันออกทางปัสสาวะและอุจจาระทำให้ไขมันในร่างกายลดน้อยลง petroselinic acid มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยการยับยั้งเอนไซม์ Cox-1 และ Cox-2 ประกอบกับในผลผักชีมี omega-3-docosahexanoic acid (DHA) และ alpha-linolenic (ALA) และกรดไขมันโอเมก้า 6 (linoleic acid) ช่วยกระตุ้นการหลั่งสารต้านการอักเสบของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการลดระดับ triglyceride และเพิ่มระดับ HDL⁽²³⁾

ผลการทดลองการยับยั้งเอนไซม์ alpha-glucosidase ของผลผักชี 4 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างจากจังหวัดน่านมีฤทธิ์การยับยั้งสูงที่สุด ($IC_{50} = 10.55 \pm 0.18 \mu\text{g/mL}$) และมีฤทธิ์การยับยั้งสูงกว่าสารมาตรฐาน Acarbose ($IC_{50} = 15.80 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$) เนื่องจากเอนไซม์ alpha-glucosidase ถูกสร้างจากลำไส้เล็กทำหน้าที่ย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการสุดท้ายจนกลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ น้ำตาลกลูโคสและถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นหากมี % inhibition เอนไซม์ alpha-glucosidase ได้จะส่งผลต่อการย่อยและดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่ร่างกายทำให้น้ำตาลในกระแสเลือดลดลงได้ ซึ่ง Acarbose ถูกนำมาใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวกเพื่อใช้เปรียบเทียบผล % inhibition ของเอนไซม์ alpha-glucosidase กับสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยของผลผักชีทั้ง 4 ตัวอย่าง โดยการยับยั้ง

เอนไซม์ alpha-glucosidase จะช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดและชะลอการเพิ่มของระดับน้ำตาลในเลือด

การศึกษาในครั้งนี้เก็บตัวอย่างผลผักชีใน 4 จังหวัด โดยเลือกเก็บเพียง 1 แหล่งปลูก เป็นตัวแทนของแต่ละจังหวัด เป็นการศึกษาในเบื้องต้นและศึกษาการลดระดับน้ำตาลในเลือดทดลองเท่านั้น จึงต้องมีการศึกษาในสัตว์ทดลองหรือผลต่อร่างกายในระยะยาว รวมถึงการเตรียมสารสกัดควรมีการควบคุมกระบวนการเลือกวัตถุดิบ กระบวนการปลูก หรือวิธีการจัดเก็บวัตถุดิบเพื่อประโยชน์ในการทดลองขั้นต่อไป โดยทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและการทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นตัวยาในการรักษาโรคเบาหวานต่อไป จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผลผักชี 4 ตัวอย่าง ที่ปลูกและผลิตผลผักชีใน 4 จังหวัดภาคเหนือดังกล่าว ทำให้ได้แนวทางในการวางแผนการปลูกสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบผลิตผลผักชีอบแห้ง เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผักชีไทย เพื่อต่อยอดการผลิตใช้ในรูปแบบสมุนไพรบดผงและสารสกัด รวมถึงการวิจัยในห้องปฏิบัติการกับจำนวนตัวอย่างที่เพิ่มมากขึ้น เพื่อยืนยันผลการศึกษาในสัตว์ทดลองสู่การวิจัยทางคลินิกต่อไป ผลการวิจัยจะก่อให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ผักชีสำหรับนำมาใช้ในทางการแพทย์ เพื่อดูแลสุขภาพและการพัฒนาการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องต่อไป

สรุป

ผลการทดสอบคุณภาพของผลผักชีในรูปแบบของสารสกัดหยาบผลผักชี และน้ำมันหอมระเหยผลผักชีประกอบด้วย ปริมาณผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ทั้ง 4 ตัวอย่าง ภายใต้กระบวนการสกัดที่เหมือนกัน แต่ละตัวอย่างมีลักษณะทางกายภาพและมีร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่แตกต่างกัน รวมถึงมีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ alpha-glucosidase และการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ที่แตกต่างกัน สารสกัดหยาบผลผักชีทั้ง 4 ตัวอย่างมีปริมาณผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยผลผักชี โดยสารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดพะเยามีร้อยละผลผลิตปริมาณ

ฟีนอลิกที่สูงที่สุด สารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดน่านมีปริมาณฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ α -glucosidase สูงที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบผลผักชีจังหวัดเชียงรายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบผลผักชีมีคุณสมบัติที่ดีและควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ลดไขมันและน้ำตาลในเลือดได้ ซึ่งต้องมีการศึกษาวิธีการสกัดผลผักชีด้วยสภาวะที่เหมาะสม รวมถึงการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยวิธีต่างๆ ที่ยืนยันประสิทธิผลได้ชัดเจนมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณดำเนินงานโครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวก การสนับสนุนบุคลากร ตลอดจนให้ใช้สถานที่และเครื่องมืออุปกรณ์ ทำให้โครงการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- เต็ม สมิตินันท์, ราชันย์ ภูมา, สมราน สุดดี, บรรณฉิการ. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์ (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557). กรุงเทพฯ: สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช; 2557.
- นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. ผักชีของไทย ดังไกลถึงญี่ปุ่นแล้วประโยชน์คืออะไร. [ออนไลน์]. 2559; [สืบค้น 24 พ.ค. 2567]; [7 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/336>.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. รายงานสถานการณ์การเพาะปลูก ผักชีปีเพาะปลูก 2561. [ออนไลน์]. 2562; [สืบค้น 22 ก.พ. 2566]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.agriinfo.doae.go.th/year62/plant/rortor/veget/49.pdf>.
- กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร. คู่มือการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักชีในห้องปฏิบัติการ. [ออนไลน์]. 2564; [สืบค้น 22 ก.พ. 2566]; [16 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://www.doe.go.th/seed/?page_id=3279.
- Krist S. Coriander seed oil. In: Vegetable fats and oils. Cham, Switzerland: Springer; 2020. p. 265-271.
- Singh G, Maurya S, De Lampasona MP, Catalan CA. Studies on essential oils, part 41. Chemical composition, antifungal, antioxidant and sprout suppressant activities of coriander (*Coriandrum sativum*) essential oil and its oleoresin. Flavour Fragr J 2006; 21(3): 472-9.
- Matasyoh JC, Maiyo ZC, Ngure RM, Chepkorir R. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. Food Chem 2009; 113(2): 526-9.
- Nambiar VS, Daniel M, Guin P. Characterization of polyphenols from coriander leaves (*Coriandrum sativum*), red amaranthus (*A. paniculatus*) and green amaranthus (*A. frumentaceus*) using paper chromatography and their health implications. J Herb Med Toxicol 2010; 4(1): 173-7.
- Pandian A, Ramasubbu R, Ashokkumar K, Semwal RB, Sekar S, Ramesh S. Coriander dietary sources, properties and health benefits. In: Polyphenolic compounds of coriander plant for human health and diseases. New York: Nova Science Publishers; 2019. p. 183-205.
- Biradar V. Extraction of phytochemicals from local selected plants and their antibacterial role. Int J Curr Microbiol App Sci 2016; 5(11): 707-20.
- Uitterhaegen E. Coriander oil – extraction, applications and biologically active molecules. Ghent University. [online]. 2014; [cited 2024 May 24]; [80 screens]. Available from:

URL: https://libstore.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/166/493/RUG01-002166493_2014_0001_AC.pdf.

12. Wolfe K, Wu X, Liu RH. Antioxidant activity of apple peels. *J Agric Food Chem* 2003; 51(3): 609-14.
13. Feng J, Yang XW, Wang RF. Bio-assay guided isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from the leaves of *Aquilaria sinensis*. *Phytochemistry* 2011; 72: 242-7.
14. Kazeem MI, Adamson JO, Ogunwande IA. Modes of inhibition of α -amylase and α -glucosidase by aqueous extract of *Morinda lucida* Benth leaf. *BioMed Res Int* 2013; 2013: 527570. (6 pages).
15. Chaulagain R, Pant SS, Thapa RB, Sharma MD. Performance of coriander cultivars for green leaf production under late sowing condition. *J Agric Environ* 2011; 12: 67-73.
16. Sharangi AB, Roychowdhury A. Phenology and yield of coriander (*Coriandrum sativum* L.) at different sowing dates. *J Plant Sci* 2014; 9: 32-42.
17. Chantaraponpan A, Lakhonphon K, Thiabdokmai S. Effect of harvesting stages on physical and chemical properties of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Agric Sci J* 2018; 49: 273-6.
18. Kassu KT, Dawit HH, Wubengeda AY, Almaz AT, Asrat MT. Yield and yield components of coriander under different sowing dates and seed rates in tropical environment. *Adv Horti Sci* 2018; 32: 193-203.
19. Duwal A, Nepal A, Luitel S, Acharya S, Pathak R, Poudel PR, et al. Evaluation of coriander (*Coriandrum sativum* L.) varieties for growth and yield parameters. *Nepalese J Agric Sci* 2019; 18: 36-46.
20. Berkomah J, Li H, Siddiqui R, Kim C, Bhardwaj H. Cilantro and coriander yield as affected by cultivars and row spacings in fall and spring production in Virginia. *HortScience* 2022; 57: 1156-8.
21. Mathur R, Sharma A, Dixit VP, Varma M. Hypolipidaemic effect of fruit juice of *Emblica officinalis* in cholesterol-fed rabbits. *J Ethnopharmacol* 1996; 50(2): 61-8.
22. Anila L, Vijayalakshmi N. Flavonoids from *Emblica officinalis* and *Mangifera indica*-effectiveness for dyslipidemia. *J Ethnopharmacol* 2002; 79(1): 81-7.
23. Kajal A, Singh R. *Coriandrum sativum* seeds extract mitigate progression of diabetic nephropathy in experimental rats via AGEs inhibition. *PLoS One* 2019; 14(3): e0213147. (13 pages).

Pharmacological Activities of Coriander Fruits in the Provinces of Nan, Phayao, Lampang, and Chiang Rai, Thailand

Tathaporn Maison¹, Wikit Prakayharn¹, Kulthanit Wanarat¹, and Thassanewet Yaso²

¹*Division of Complementary and Alternative Medicine, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Nonthaburi 11000, Thailand*

²*Lampang Hospital, Muang District, Lampang 52000, Thailand*

ABSTRACT Coriander has medicinal and spice properties to reduce blood sugar and lipids. This study aimed to comparatively evaluate the yields of crude extracts and essential oils, as well as the pharmacological properties of coriander fruit samples grown in the four provinces of Thailand: Nan, Phayao, Lampang, and Chiang Rai. Crude extracts and essential oils of coriander samples were prepared using the same extraction process. Each sample exhibited distinct physical characteristics and a varying percentage yield of the extract, including differences in efficacy against alpha-glucosidase and HMG-CoA reductase inhibitory activities. The coriander extracts of all samples had yield, amount of active substances (Total phenolic and flavonoid), and pharmacological activities higher than the essential oils. Flavonoids and alpha-glucosidase inhibitory activity of the crude extract from Nan were highest, while the crude extract from Chiang Rai showed the highest HMG-CoA reductase inhibition activity. Thus, the results from coriander planted indigenously in those four provinces may provide a guideline for planning coriander growing in the northern part of Thailand to produce dried coriander fruits, thereby extending the production of coriander extract and adding value for further medical use in herbal medicine development and healthcare.

Keywords: Coriander fruit, Coriander fruit extract, Coriander fruit essential oil, Pharmacological activity

การประเมินประสิทธิภาพของเทคโนโลยีไมโครเวฟ ในการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ

อภิษฐา สิทธิวงศ์¹ ปรัชญา มณฑน¹ วุฒิชัย คำดวง^{1,2} สาคร พรประเสริฐ³ และ กัญญา ปรีชาศุทธิ¹

¹แขนงจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง เชียงใหม่ 50200

²LUCENT International Collaboration คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง เชียงใหม่ 50200

³แขนงจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง เชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ การศึกษาครั้งนี้เป็นการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องกำจัดมูลฝอยติดเชื้อที่ใช้เทคโนโลยีไมโครเวฟ โดยอาศัยหลักการป้อนมูลฝอยให้มีขนาดเล็กกว่า 1 ตารางเซนติเมตร และผ่านคลื่นไมโครเวฟเพื่อทำลายเชื้อในระบบปิด โดยใช้เกณฑ์การประเมินตามมาตรฐานอุปกรณ์ทำลายเชื้อของ State and Territorial Association on Alternative Treatment Technologies (STAATT) ที่ระดับ 3 ซึ่งทำลายสปอร์ *Bacillus subtilis* ให้ลดลงได้ $\geq 10^4 \log \text{CFU}$ ($\geq 4 \log_{10}$ reduction) จากการทดสอบพบว่าเครื่อง Steriwave100™ ขนาดความจุเครื่อง 100 ลิตร ที่กำลังไฟ 400 โวลท์ 3 เฟส 40 แอมป์ ให้ความร้อน 110 องศาเซลเซียส ด้วยรังสีไมโครเวฟ เป็นเวลา 20 นาที ในตัวอย่างที่มีความชื้นประมาณร้อยละ 10 (w/w) สามารถทำลายสปอร์ *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 (เดิม *B. subtilis* var. *niger*) ที่มีจำนวน 1.7×10^4 , 1.8×10^6 และ 3.2×10^6 สปอร์ได้ ดังนั้นเทคโนโลยีไมโครเวฟสามารถเป็นทางเลือกในการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อแบบเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมในสถานดูแลสุขภาพได้

คำสำคัญ: มูลฝอยติดเชื้อ, มูลฝอยปนเปื้อน, ไมโครเวฟ, การจัดการมูลฝอย

Corresponding author E-mail: kanya.p@cmu.ac.th

Received: 30 January 2025

Revised: 23 May 2025

Accepted: 20 June 2025

บทนำ

มูลฝอยติดเชื้อ หมายถึง มูลฝอยที่มีเชื้อโรคปะปนอยู่ในปริมาณมากหรือมีความเข้มข้น ซึ่งถ้ามีการสัมผัสหรือใกล้ชิดกับมูลฝอยนั้นแล้วสามารถทำให้เกิดโรคได้ แหล่งที่เกิดมูลฝอยติดเชื้อจำนวนมากมาจากโรงพยาบาล โรงพยาบาลสัตว์ และหน่วยงานที่มีการทดลองหรือศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อโรค⁽¹⁾ ในช่วงสถานการณ์ที่มีการระบาดของโรคโควิด 19 มูลฝอยติดเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากจากบุคลากรทางการแพทย์และบุคลากรที่เกี่ยวข้อง เกิดจากการใช้ชุดป้องกันการติดเชื้อ (Personal Protective Equipment, PPE) เพื่อใส่ในระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจ การส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เพิ่มมากขึ้น การให้การรักษาศูติเชื้อโควิด 19 และการทำหัตถการต่าง ๆ รวมถึงหน้ากากอนามัยที่ใช้แล้ว หากเป็นสถานที่ที่มีการกักตัวเพื่อสังเกตอาการหลังติดเชื้อ มูลฝอยจากห้องส่วนตัวจากสถานที่ดังกล่าวจัดเป็นมูลฝอยติดเชื้อเช่นกัน ซึ่งกระบวนการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อเหล่านี้ย่อมมีประสิทธิภาพสามารถทำได้หลายวิธี และมีหลายปัจจัยเกี่ยวข้องในการเลือกใช้⁽²⁾

วิธีการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อในปัจจุบัน ตามกฎกระทรวงว่าด้วยการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ พ.ศ. 2545 ได้แก่ การเผาในเตาเผา การทำลายเชื้อด้วยไอน้ำ การทำลายด้วยความร้อน และวิธีอื่นตามที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนดในราชกิจจานุเบกษา⁽¹⁾ การเผาในเตาเผาเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพทำลายเชื้อโรคได้ดี ลดปริมาณมูลฝอยได้มากแต่อาจมีการปล่อยมลพิษสู่ชั้นบรรยากาศ การทำลายเชื้อด้วยไอน้ำเป็นการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ความดันสูงหรือเครื่อง Autoclave วิธีนี้ไม่ก่อให้เกิดมลพิษ มีการพัฒนาการให้ทำลายมูลฝอยติดเชื้อด้วยการเพิ่มเครื่องบดย่อยเพื่อเปลี่ยนให้เป็นมูลฝอยขนาดเล็ก จากนั้นจึงนำไปสู่การนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำทำให้สามารถนำไปกำจัดต่อแบบมูลฝอยทั่วไปหรือนำมูลฝอยนั้นไปรีไซเคิล วิธีนี้สามารถประเมินประสิทธิภาพการทำลายเชื้อตามเกณฑ์มาตรฐานชีวภาพ โดยสามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *Geobacillus stearothermophilus* ให้ลดลงได้ $\geq 10^5$ log CFU^(3,4) อย่างไรก็ตามการทำลายเชื้อด้วยไอน้ำมีปัญหาเรื่องกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากการนึ่ง และมีปริมาณไอน้ำจำนวนมากเข้าไปอยู่ในมูลฝอย

การทำลายมูลฝอยติดเชื้อด้วยการฉายรังสีคลื่นไมโครเวฟจัดเป็นการทำลายเชื้อด้วยวิธีอื่น โดยรังสีไมโครเวฟผลิตจากอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่เรียกว่า แมกนีตรอน (Magnetron) ได้รังสีไมโครเวฟที่มีความถี่ 2,450 เมกะเฮิรซ์ เมื่อรังสีไมโครเวฟผ่านเข้าไปในของเหลวหรือน้ำในมูลฝอยจะทำให้โมเลกุลของน้ำเกิดการสั่นจนทำให้เกิดความร้อน เชื้อโรคจะถูกทำลายจากการนำความร้อนผ่านน้ำ^(5,6) ดังนั้นประสิทธิภาพของไมโครเวฟในการทำลายเชื้อแบคทีเรียในมูลฝอยติดเชื้อทางการแพทย์ด้วยเทคนิคดังกล่าวจึงขึ้นอยู่กับระยะเวลา กำลังของคลื่นไมโครเวฟที่ใช้ และปริมาณน้ำ โดยไมโครเวฟปรุงอาหารที่กำลัง 1 กิโลวัตต์ สามารถทำลายเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ปริมาณ 5.0×10^6 Colony-forming unit (CFU) ให้ลดลงเป็นศูนย์ภายในเวลา 2.5 นาที โดยมีอุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส⁽⁷⁾ และหากเป็นไมโครเวฟที่กำลัง 1.5 กิโลวัตต์ เวลา 30 นาที สามารถทำลายเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ในตัวอย่างเสมหะที่มีเชื้อได้ ร้อยละ 99.2 จาก 226 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจสอบจากการเจริญของเชื้อด้วยวิธี Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT)⁽⁸⁾ และหากต้องการทำให้ปราศจากเชื้อ (Sterilization) ด้วยเทคโนโลยีไมโครเวฟสามารถทำได้ โดยเพิ่มกำลังวัตต์ของไมโครเวฟ เพิ่มระยะเวลานานขึ้น และเพิ่มปริมาณน้ำในมูลฝอย⁽⁹⁾

ในปัจจุบันมีเครื่องฉายรังสีไมโครเวฟที่ผลิตมาเพื่อการทำลายมูลฝอยติดเชื้อ ได้แก่ Ecosteryl⁽¹⁰⁾ Medical Waste Disposal Unit (MDU)⁽¹¹⁾ และ Sterilwave⁽¹²⁾ มีหลายขนาดตั้งแต่เครื่องขนาดใหญ่สามารถกำจัดขยะติดเชื้อได้วันละ 1 ตันต่อวัน เป็นอย่างน้อย จนถึงขนาดเล็กที่ทำลายมูลฝอยได้ครั้งละ 10-15 กิโลกรัม หรือเป็นแบบทำงานได้บนรถบรรทุก โดยเคลื่อนที่ไปยังแหล่งกำเนิดมูลฝอยติดเชื้อ ส่วนประกอบหลักของเครื่องคือ ใบมีดขนาดใหญ่ที่ตัดย่อยมูลฝอยให้มีขนาดเล็กและแมกนีตรอนที่สามารถปล่อยคลื่นรังสีไมโครเวฟ ทำให้เกิดการนำความร้อนที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส และมีส่วนของภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างชีวภาพเพื่อประเมิน

ประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง เมื่อครบเวลาทำงาน เศษมูลฝอยจะถูกปล่อยออกมาที่ภาชนะรองรับ ลักษณะของมูลฝอยที่ออกมาจะเป็นเศษมูลฝอยแห้งที่มีปริมาตรลดลงและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อได้ (recycle) เช่น การนำไปเป็นส่วนประกอบของอิฐมวลเบาและเป็นเชื้อเพลิงของโรงงานผลิตไฟฟ้า⁽¹³⁾

การศึกษาครั้งนี้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยเทคโนโลยีคลื่นไมโครเวฟ โดยใช้เกณฑ์ของ State and Territorial Association on

Alternative Treatment Technologies (STAATT) จากสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อมสหรัฐฯ (United States Environmental Protection Agency) ดังแสดงในตารางที่ 1 ที่ระดับ 3 โดยทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของเชื้อ *B. atrophaeus* ATCC 9372 ให้ลดลงได้ $\geq 10^4$ log CFU ซึ่งเป็นเกณฑ์ขั้นต่ำของการใช้เทคโนโลยีหรือเครื่องทำลายมูลฝอยติดเชื้อ⁽¹⁴⁾ เนื่องจากความร้อนที่เกิดจากไมโครเวฟไม่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *G. stearotherophilus* ได้

ตารางที่ 1 ระดับการทำให้ปราศจากเชื้อ (Sterility Assurance Level, SAL) ของ STAATT แสดงประสิทธิภาพการทำลายมูลฝอยติดเชื้อ⁽¹⁴⁾

ระดับ	ประสิทธิภาพ
1	ทำลายเซลล์แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส (Lipophilic viruses) ให้ลดลงได้ $\geq 10^6$ log CFU
2	ทำลายเซลล์แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส (Lipophilic/Hydrophilic viruses) ปาราสิต และไมโครแบคทีเรีย ให้ลดลงได้ $\geq 10^6$ log CFU
3	ทำลายเซลล์แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส (Lipophilic/Hydrophilic viruses) ปาราสิต และไมโครแบคทีเรีย ให้ลดลงได้ $\geq 10^6$ log CFU และทำลายสปอร์ของ <i>G. stearotherophilus</i> หรือ <i>B. subtilis</i> ให้ลดลงได้ $\geq 10^4$ log CFU
4	ทำลายเซลล์แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส (Lipophilic/Hydrophilic viruses) ปาราสิต ไมโครแบคทีเรีย และทำลายสปอร์ของ <i>G. stearotherophilus</i> ให้ลดลงได้ $\geq 10^6$ log CFU

วัสดุและวิธีการ

มูลฝอยที่ใช้ในการทดลอง

ใช้มูลฝอยติดเชื้อที่เกิดจากห้องปฏิบัติการและการเรียนการสอนทางจุลชีววิทยา ประกอบด้วย กระดาษเช็ดโต๊ะปฏิบัติการ การดาษเช็ดสไลด์ ถุงมือ ทิชชู กล่องบรรจุของมีคม (sharp bin) ที่มีเข็ม และกระจกสไลด์ แต่ไม่รวมจานเพาะเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ บรรจุถุงแดง และบันทึกน้ำหนัก และมูลฝอยไม่ติดเชื้อจากห้องปฏิบัติการ

เครื่องกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยเทคโนโลยีไมโครเวฟ

เครื่องกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยเทคโนโลยีไมโครเวฟที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นรุ่น Steriwave100™ (Bertin Technologies, France) ขนาดความจุ 100 ลิตร ที่กำลังไฟ 400 โวลท์ 3 เฟส 40 แอมป์ ที่ทำการย่อยมูลฝอยได้ครั้งละประมาณ 10 กิโลกรัม และสามารถ

ย่อยภาชนะพลาสติกที่บรรจุของมีคมได้ ด้านล่างของตัวถังมีใบมีดขนาดใหญ่ และมีส่วนของภาชนะรองรับเศษมูลฝอยที่ผ่านรังสีไมโครเวฟแล้วที่สามารถดึงออกได้จากด้านข้างเครื่องโดยไม่ต้องเปิดฝาเครื่อง มูลฝอยที่ได้หลังการตัดมีขนาดน้อยกว่า 1 ตารางเซนติเมตร

แผ่นสปอร์เชื้อแบคทีเรีย (Spore strip)

แผ่นสปอร์เชื้อแบคทีเรีย ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเป็นกระดาษกรองที่มีสปอร์ของแบคทีเรีย *B. atrophaeus* ATCC 9372 จาก 3 บริษัท ได้แก่ บริษัท Crosstex international BG-104, USA ที่มีจำนวนสปอร์ 1.7×10^4 สปอร์/แผ่น จากบริษัท MesaLabs, USA ที่มีจำนวนสปอร์ 1.8×10^6 สปอร์/แผ่นและบริษัท True Indicating, USA ที่มีจำนวนสปอร์ 3.2×10^6 สปอร์/แผ่น

การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องย่อยมูลฝอย

นำมูลฝอยติดเชื้อหรือไม่ติดเชื้อที่บรรจุอยู่ในถุงให้มีน้ำหนักประมาณ 10 กิโลกรัม บรรจุลงในเครื่อง Steriwave100™ และด้านบนของฝาเครื่องที่มีหลอดพลาสติกที่มีรูพรุน ขนาด 16×120 มิลลิเมตร (NUNC™, USA) จำนวน 3 หลอด แขนงอยู่ ให้บรรจุแผ่นสปอร์ทั้งซองโดยไม่เปิดออกทั้ง 3 หลอด หลังจากนั้นปิดฝาเครื่องแล้วเปิดเครื่องให้ทำงาน โดยตั้งโปรแกรมให้มีการปั่นย่อยขยะ เป็นเวลา 10 นาที โดยอุณหภูมิภายในเครื่องประมาณ 70 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเข้าสู่กระบวนการให้ความร้อนผ่านรังสีไมโครเวฟ อุณหภูมิภายในเครื่องจะสูงขึ้นจนถึง 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบขั้นตอนการทำงานให้นำแผ่นสปอร์ที่อยู่ในซองออกมาใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth (TSB) (BBL™, USA) ทั้ง 3 แผ่น ด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ และนำอาหาร TSB 1 หลอด บรรจุแผ่นสปอร์ที่ไม่ผ่านไมโครเวฟเป็นชุดควบคุมแสดงการเจริญของสปอร์ (Spore control, SC) และ TSB 1 หลอด ไม่บรรจุแผ่นสปอร์เป็นชุดควบคุมดูการปนเปื้อนของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Media control, MC) นำหลอด TSB ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง อ่านผลการเจริญของสปอร์จากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ หากพบหลอดทดสอบขุ่นให้นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง

Trypticase soy agar (TSA) (BBL™, USA) โดยบ่มที่ห้องเพาะเชื้อ (Walk-in incubator, Rivacold, Italy) อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง เพื่อดูการเจริญของเชื้อต่อไป

ผล

การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องกำจัดมูลฝอยติดเชื้อที่ใช้เทคโนโลยีไมโครเวฟ หลังการติดตั้งเครื่องที่ห้องสำหรับทำลายมูลฝอยติดเชื้อ โดยทำการย่อยมูลฝอยไม่ติดเชื้อที่มีน้ำหนักประมาณ 10 กิโลกรัม โดยบรรจุแผ่นสปอร์ที่จำนวนสปอร์ 3.2×10^6 สปอร์ จำนวน 3 แผ่น ในหลอดบรรจุที่มีรูพรุน หลังกระบวนการย่อยปล่อยคลื่นรังสีไมโครเวฟ เป็นเวลา 10 นาที ตามโปรแกรมที่ตั้งไว้ หลังเสร็จสิ้นกระบวนการพบการเจริญของเชื้อทั้งหมด หลังบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นจึงทำการปรับอุณหภูมิและระยะเวลาในการปล่อยคลื่นรังสีไมโครเวฟจาก 10 นาที เป็น 20 นาที เติมน้ำลงในมูลฝอย จำนวน 1 ลิตร เพื่อให้ได้อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส และทำการสอบซ้ำกับแผ่นสปอร์ที่มีจำนวนสปอร์ต่างกัน ได้แก่ 1.7×10^4 ถึง 3.2×10^6 สปอร์ โดยแผ่นสปอร์ที่มี จำนวน 3.2×10^6 ซ้ำ 3 ครั้ง พบว่าไม่มีการเจริญของสปอร์ที่ใช้ทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเจริญของสปอร์จากแผ่นสปอร์ทดสอบการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อที่ใช้เทคโนโลยีไมโครเวฟ

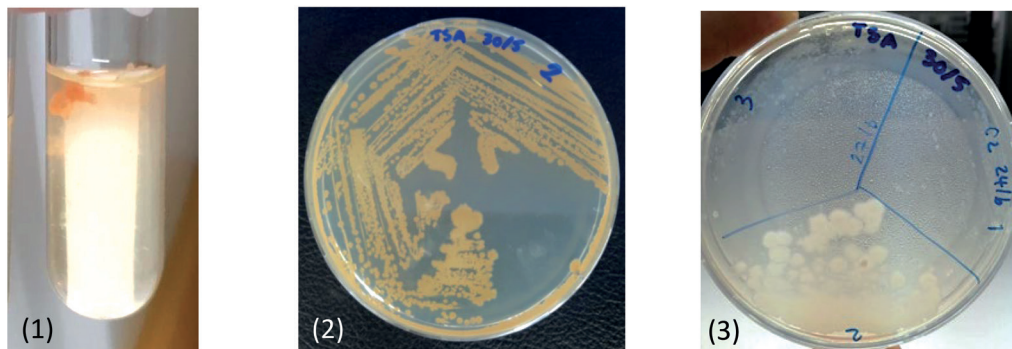
สภาวะการทดสอบ/จำนวนสปอร์	แผ่นสปอร์			SC	MC	ประสิทธิภาพ
	1	2	3			
ไมโครเวฟ 10 นาที มูลฝอยไม่ติดเชื้อ/ 3.2×10^6 #	+	+	+	+	-	ไม่ผ่าน
ไมโครเวฟ 20 นาที มูลฝอยไม่ติดเชื้อ/ 3.2×10^6 #	-	-	-	+	-	ผ่าน
ไมโครเวฟ 20 นาที มูลฝอยติดเชื้อ/ 1.7×10^4 ##	-	-	-	+	-	ผ่าน
ไมโครเวฟ 20 นาที มูลฝอยติดเชื้อ/ 1.8×10^6 ##	-	-	-	+	-	ผ่าน
ไมโครเวฟ 20 นาที มูลฝอยติดเชื้อ/ 3.2×10^6 #	-	-	-	+	-	ผ่าน

หมายเหตุ: SC = spore control, MC = media control, + = อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น, - = อาหารเลี้ยงเชื้อใส, # = ทดสอบ 3 ครั้ง, ## = ทดสอบ 1 ครั้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของเครื่อง Steriwave100™ โดยทำการย่อยมูลฝอยติดเชื้อที่ได้จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา จำนวน 10 กิโลกรัม โดยใช้แผ่นสปอร์ที่มีจำนวนสปอร์ 1.7×10^4 สปอร์/แผ่น 1.8×10^6 สปอร์/แผ่น และ 3.2×10^6 สปอร์/แผ่น โดยใช้ระยะเวลาไมโครเวฟ 20 นาที ในแต่ละรอบการทดสอบ พบว่าสามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *B. atrophaeus* ATCC 9372 ให้ลดลงได้มากกว่า $\geq 10^4$ log CFU ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งเป็นการแสดงผลทางอ้อม (Biological Disinfectant Indicator) ของการใช้เทคโนโลยีไมโครเวฟในการลดปริมาณเชื้อในมูลฝอยถึงระดับที่ยอมรับได้

การเจริญของสปอร์ของ *B. atrophaeus* ATCC 9372 ในอาหารเหลวและบนอาหารแข็ง ดังแสดงใน

ภาพที่ 1(1) และ 1(2) พบลักษณะโคโลนีที่ต่างจาก *Bacillus* spp. คือ มีสีเหลืองส้มชัดเจน ทั้งในอาหารเหลวและบนอาหารแข็ง ในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่อง Steriwave100™ หากพบความชื้นในหลอดบรรจุแผ่นสปอร์ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพบการเจริญของเชื้อ *Bacillus* spp. ที่ไม่ใช่ *B. atrophaeus* ATCC 9372 ดังแสดงในภาพที่ 1(3) ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนจากอากาศบริเวณโดยรอบห้องหรือจากสิ่งแวดล้อม เมื่อทำการตรวจหาเชื้อในอากาศโดยการเปิดจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA รอบตัวเครื่องและในห้อง จำนวน 6 จุดเป็นเวลา 15 นาที นำมาบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบการเจริญของเชื้อ *Bacillus* spp. ตั้งแต่ 21–200 CFU



ภาพที่ 1 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *B. atrophaeus* ATCC 9372 (1) ในอาหาร TSB (2) บนอาหาร TSA และ (3) เชื้อ *Bacillus* spp. บนอาหาร TSA ในการทดสอบประสิทธิภาพเครื่อง Steriwave100™

ลักษณะของมูลฝอยหลังจากผ่านเครื่องย่อยไมโครเวฟ Steriwave100™ เป็นมูลฝอยขนาดเล็กขึ้นกับชนิดของมูลฝอยที่ใส่ลงไป โดยมีขนาดน้อยกว่า 1 ตารางเซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 2 เมื่อนำมูลฝอยหลังจากผ่านไมโครเวฟมาเพาะหาเชื้อในอาหารเหลว TSB พบการเจริญของเชื้อ *Bacillus* spp. แต่ไม่พบการเจริญของเชื้อที่ไม่สร้าง

สปอร์ (Non-sporulated bacteria) ทั้งบนอาหาร Blood agar และ MacConkey agar เชื้อที่พบอาจเกิดจากการปนเปื้อนจากอากาศบริเวณโดยรอบห้อง ซึ่งเป็นห้องพักมูลฝอยหรือจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นบริเวณของหน่วยกำจัดมูลฝอยทั่วไป



ภาพที่ 2 ตัวอย่างของมูลฝอยหลังจากผ่านเครื่องย่อยไมโครเวฟ

วิจารณ์

ปัจจุบันสถานพยาบาลรวมถึงหน่วยงานของราชการมีการณรงค์ เรื่อง ลดการปล่อยก๊าซคาร์บอนหรือคาร์บอนสุทธิเป็นศูนย์ (Zero carbon) จึงมีแนวโน้มที่จะปรับเปลี่ยนรูปแบบการจัดการมูลฝอยติดเชื้อจากการส่งโรงเผาเป็นรูปแบบอื่น เช่น การสร้างโรงกำจัดมูลฝอยติดเชื้อแบบย่อยทำลายร่วมกับการนึ่งไอน้ำซึ่งสามารถติดตั้งได้ในพื้นที่โรงพยาบาลหรือหน่วยงาน⁽³⁾ เพื่อให้สามารถกำจัดมูลฝอยติดเชื้อได้ทันที ทำให้ลดพื้นที่ในการเก็บมูลฝอยก่อนการขนส่ง ลดความเสี่ยงในการขนส่งและค่าใช้จ่ายจากการขนส่ง การกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยเทคโนโลยีไมโครเวฟจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการลดการปล่อยคาร์บอน

การศึกษาค้นคว้าพบว่าเครื่องฉายรังสีไมโครเวฟ Steriwave100™ สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *B. atrophaeus* ATCC 9372 ให้ลดลงได้มากกว่า $\geq 10^4$ log CFU ซึ่งผ่านเกณฑ์ของ STAATT ระดับ 3 จากการศึกษาพบว่าการใช้เครื่องฉายรังสีไมโครเวฟ Steriwave100™ ขนาด 100 ลิตร มีข้อจำกัดในการทำลายมูลฝอยติดเชื้อที่เป็นชุดป้องกันส่วนบุคคล (PPE) เนื่องจากชุด PPE พันกับไอน้ำและทำให้เครื่องหยุดทำงานได้ แต่รุ่นที่เป็นเครื่องขนาดใหญ่จะมีความสามารถในการทำลายมูลฝอยติดเชื้อได้หลากหลายมากขึ้น⁽¹¹⁾ ดังนั้นหากต้องการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยเครื่องนี้ควรมีการแยกประเภทของมูลฝอยให้ชัดเจนหรือทำการประเมินประสิทธิภาพการย่อยมูลฝอยประเภทต่างๆ ก่อนการใช้งาน

นอกจากเกณฑ์ STAATT ของสหรัฐอเมริกา ยังมีเกณฑ์ NF X30-503-1 (April 2024) ซึ่งออกโดย Association Française de Normalisation (AFNOR) ของประเทศฝรั่งเศส⁽¹⁵⁾ ที่เป็นข้อกำหนดของเครื่องหรืออุปกรณ์ในการทำลายมูลฝอยติดเชื้อทางการแพทย์ที่ไม่ใช้วิธีเผาในเตาเผาหรือ Autoclave เช่น การใช้คลื่นไมโครเวฟหรือการใช้สารเคมี โดยมีข้อกำหนดว่าต้องทำลายสปอร์ของ *Bacillus* spp. ให้ลดลงได้ $6\log_{10}$ และมูลฝอยหลังการทำลายต้องไม่มีสภาพเดิมที่จำได้เพื่อป้องกันการนำกลับไปใช้ซ้ำ ในกระบวนการทำลายต้องไม่มีการปล่อยสารพิษ เช่น

ก๊าซพิษหรือของเหลว มีการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องอย่างสม่ำเสมอ ปัจจุบันเครื่องทำลายมูลฝอยติดเชื้อของบริษัท Ecosteryl, Belgium⁽¹⁰⁾ และบริษัท Bertin Medical Waste, France⁽¹²⁾ อ้างว่าสามารถผ่านเกณฑ์ NF X30-503 ได้ จากการศึกษาก่อนหน้านี้ในประเทศจีนได้ทำการเปรียบเทียบเทคโนโลยีที่ใช้ในการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อในช่วงการระบาดของโรคโควิด 19 พบว่าเทคโนโลยีไมโครเวฟมีข้อดีที่ประหยัดพลังงาน มีการปล่อยมลพิษสู่สิ่งแวดล้อมต่ำ ไม่มีขยะพิษ ความร้อนในการทำงานของเครื่องต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับกาเผาหรือการนึ่งไอน้ำความดัน แต่ยังมีข้อด้อยเรื่องความสามารถในการทำลายมีช่วงแคบ และมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ⁽¹⁶⁾ จากการศึกษาเปรียบเทียบการทำลายมูลฝอยติดเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำและไมโครเวฟ พบว่าเครื่องไมโครเวฟโดยที่ใช้ทำลายสปอร์ของ *B. atrophaeus* เมื่อใช้ความร้อน 70–100 องศาเซลเซียสที่ความถี่ 2,450 เมกะเฮิรตซ์ เป็นเวลา 30–60 นาที มีประสิทธิภาพในการทำลายมูลฝอยติดเชื้อเท่ากับเครื่องนึ่งไอน้ำซึ่งทำลายสปอร์ของเชื้อ *G. stearothermophilus* เมื่อใช้ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 30–45 นาที⁽¹⁷⁾

การทำลายสปอร์ของเชื้อ *Bacillus* spp. ด้วยรังสีไมโครเวฟและเครื่องนึ่งไอน้ำมีหลักการที่ต่างกัน โดยรังสีไมโครเวฟ จะทำให้เกิดการสั่นสะเทือนโมเลกุลของน้ำและสารที่มีขั้วจนทำให้เกิดความร้อน (Dielectric heating) ไปทำลายโปรตีน โครงสร้าง ผนังเซลล์ด้านในสปอร์ และทำลายสารพันธุกรรมของสปอร์แบบ Non-thermal effect⁽⁵⁾ แต่การทำลายสปอร์ด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำ มีความดันที่ทำให้อุณหภูมิความร้อนสูงถึง 121 องศาเซลเซียส การแทรกซึมของไอน้ำด้วยความดันสูงจะทำลายโครงสร้างของสปอร์ โปรตีนและสารพันธุกรรมของสปอร์ ทำให้หมดความสามารถในการงอกใหม่ ดังนั้นหลักเกณฑ์การทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องทำลายมูลฝอยติดเชื้อ ควรมีการกำหนดให้เหมาะสมสอดคล้องกับหลักการของเครื่องหรือเทคโนโลยีที่ใช้ ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการนำเทคโนโลยีใหม่เข้ามาใช้ในประเทศไทย เพราะไม่สามารถผ่านเกณฑ์ตามประกาศของ

กระทรวงสาธารณสุข เรื่อง หลักเกณฑ์และวิธีตรวจสอบเกณฑ์มาตรฐานทางชีวภาพภายหลังการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ พ.ศ. 2565⁽⁴⁾ จึงมีข้อเสนอแนะให้กระทรวงสาธารณสุขมีการทบทวนและออกหลักเกณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับเทคโนโลยีไมโครเวฟ เพื่อเป็นทางเลือกในการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ ในรูปแบบที่ส่งเสริมให้เกิดคาร์บอนสุทธิเป็นศูนย์

สรุป

ประสิทธิภาพของเครื่องกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยไมโครเวฟด้วยเครื่อง Steriwave100™ สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *B. atrophaeus* ATCC 9372 ให้ลดลงได้มากกว่า 10^4 log CFU ตามเกณฑ์ของ STAATT ที่ระดับ 3 และมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ในหน่วยงานหรือโรงพยาบาลที่มีมูลฝอยติดเชื้อที่เกิดจากการปฏิบัติงานอย่างไรก็ตามหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการกำหนดวิธีประเมินประสิทธิภาพทางชีวภาพให้เหมาะสมกับหลักการทำงานของเครื่องดังกล่าว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 และขอขอบคุณบริษัท เอสทูเมดกรุ๊ป จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่อง Steriwave100™

เอกสารอ้างอิง

1. กฎกระทรวงว่าด้วยการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ พ.ศ. 2545. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 119 ตอนที่ 86 ก (วันที่ 5 กันยายน 2545). หน้า 1.
2. Ilyas S, Srivastava RR, Kim H. Disinfection technology and strategies for COVID-19 hospital and bio-medical waste management. *Sci Total Environ* 2020; 749: 141652. (11 pages).
3. Morarach S, Kongsap P, Pothichai P, Pungsangsu S. Elimination of infectious wastes by hybrid technology of shredder and autoclave in Sakon Nakhon Hospital. *J Sakon Nakhon Hosp* 2022; 25(1): 1-10.
4. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง หลักเกณฑ์และวิธีการตรวจสอบเกณฑ์มาตรฐานทางชีวภาพภายหลังการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ พ.ศ. 2565. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 139 ตอนพิเศษ 58 ง (วันที่ 11 มีนาคม 2565). หน้า 6.
5. Sharma P, Venugopal AP, Sutar PP, Xiao H, Zhang Q. Mechanism of microbial spore inactivation through electromagnetic radiations: a review. *J Future Foods* 2024; 4(4): 324-34.
6. Vaid A, Bishop AH. The destruction by microwave radiation of bacterial endospores and amplification of the released DNA. *J Appl Microbiol* 1998; 85(1): 115-22.
7. Mahdi AB, Gomes C. Effects of microwave radiation on micro-organisms in selected materials from healthcare waste. *Int J Environ Sci Technol* 2019; 16(3): 1277-88.
8. Myneedu VP, Aggarwal A. Disposal of the large volume of sputum positive for *Mycobacterium tuberculosis* by using microwave sterilisation technology as an alternative to traditional autoclaving in a tertiary respiratory care hospital in Delhi, India. *Infect Prev Pract* 2020; 2(3): 100072. (5 pages).
9. Liu J, Li H, Liu Z, Meng X, He Y, Zhang Z. Study on the process of medical waste disinfection by microwave technology. *Waste Manag* 2022; 150: 13-9.
10. Ecosteryl. Medical waste treatment and recycling. [online]. Available from: URL: <https://www.ecosteryl.com/en>.
11. Liying technology. MDU-10 PRO. [online]. Available from: URL: <https://www.liyingtec.com/product/medical-waste-disposal-unit/mdu10pro>.
12. Bertin medical waste. Optimisation of hospital waste flow. [online]. Available from: URL: <https://www.bertin-medical-waste.com>.

13. Manegdeg F, Coronado LO, Paña R. Medical waste treatment and electricity generation using pyrolyzer-rankine cycle for specialty hospitals in Quezon City, Philippines. IOP Conf Ser Earth Environ Sci 2020; 463(1): 012180. (8 pages).
14. Blenkharn JI. Safe disposal and effective destruction of clinical wastes. J Hosp Infect 2005; 60(4): 295-7.
15. Afnor Editons. National standards and national normative documents. [online]. Available from: URL: <https://www.boutique.afnor.org/en-gb/standard/nf-x305031/infectious-waste-h9-reduction-of-micro-biological-and-or-mechanical-hazards-/fa205172/417589>.
16. Wang J, Shen J, Ye D, Yan X, Zhang Y, Yang W, et al. Disinfection technology of hospital wastes and wastewater: suggestions for disinfection strategy during coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic in China. Environ Pollut 2020; 262: 114665. (10 pages).
17. Jain D, Joshi R, Dhuria D, Sain M. Evaluation of efficacy of autoclave and microwave for sterilization of biomedical waste. Pharma Innov J 2021; 10(7S): 18-20.

Efficacy Evaluation of Microwave Technology for Infectious Waste Disposal

Apitchaya Sittiwong¹, Paritchaya Monthanom¹, Woottichai Khamduang^{1,2},
Sakorn Pornprasert³, and Kanya Preechasuth¹

¹*Division of Clinical Microbiology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Muang District, Chiang Mai 50200, Thailand*

²*LUCENT International Collaboration, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Muang District, Chiang Mai 50200, Thailand*

³*Division of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Muang District, Chiang Mai 50200, Thailand*

ABSTRACT This study evaluated the efficacy of microwave technology for disposing of infectious waste. The technology involves shredding waste into smaller particles, less than one square centimeter, and exposing it to microwave radiation in a closed system. The evaluation was conducted according to the criteria of the State and Territorial Association on Alternative Treatment Technologies (STAATT) Level 3, achieving a reduction of $\geq \times 10^4$ log CFU ($\geq 4\log_{10}$ reduction) of *Bacillus subtilis* spores. The results showed that Steriwave100™ with vessel capacity 100 L, using 400 Volts/3 phase, 40 Amp electricity and generated 110°C for 20 min in 10% humidity (w/w) could inactivate the spores of *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 (previously *B. subtilis* var. *niger*) at 1.7×10^4 , 1.8×10^6 and 3.2×10^6 . Therefore, microwave technology could serve as an eco-friendly and sustainable alternative for infectious waste management disposal in healthcare settings.

Keywords: Infectious waste, Hazardous waste, Microwave, Waste Management

การตรวจพบไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันสายพันธุ์ วัคซีนจากตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2567

อัจฉริยา ลูกบัว กรรณิการ์ ขวัญชุม นรารวรรณ ปันงาม เดือนเพ็ญ เชื้อผู้ดี ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์
ธนธรณ์ ฉันทวรกิจ ธนพนธ์ เปรมกมล ธัญชนก สุทธิบุลย์ เพียงใจ อามีนเจริญ และ
พิไลลักษณ์ อัครไพบูลย์ โอกาตะ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ วัคซีนรวมป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (Measles-Mumps-Rubella, MMR Vaccine) เป็นวัคซีนของเชื้อมีชีวิตที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ (Live Attenuated Vaccine) ถึงแม้ MMR Vaccine จะมีความปลอดภัย แต่อาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ เช่น ไข้สูง ปวดข้อ ผื่น หรือต่อมน้ำลายพาราไติดบวม นอกจากนี้ยังมีโอกาสเกิดการติดเชื้อจากสายพันธุ์ของวัคซีนเองได้ การศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ด้วยวิธี Sanger Sequencing จากสายพันธุ์ที่ตรวจพบในตัวอย่างเชื้อไวรัสจากผู้ป่วยระหว่างปี พ.ศ. 2560-2567 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก เพื่อเป็นการเฝ้าระวังสายพันธุ์นำเข้าและติดตามการกลายพันธุ์ รวมถึงเฝ้าระวังสายพันธุ์ของไวรัสที่นำมาเป็นวัคซีนในประเทศไทย ผลการศึกษาตัวอย่างไวรัสหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง ไวรัสคางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง และไวรัสหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ ตรวจพบสายพันธุ์วัคซีนในไวรัสหัด จำนวน 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.21) ไวรัสคางทูม จำนวน 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 14.29) และไวรัสหัดเยอรมัน จำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 8.33) ข้อมูลจากการศึกษานี้เป็นหลักฐานช่วยสนับสนุนโอกาสติดเชื้อที่มาจากวัคซีนและชี้ให้เห็นถึงการระบาดของสายพันธุ์ท้องถิ่นในประเทศ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเฝ้าระวังเพื่อควบคุมการระบาดของโรคและป้องกันผลข้างเคียงจากการได้รับวัคซีนในประชากร เป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการนำข้อมูลไปใช้สำหรับการวางแผนการให้วัคซีนของประเทศต่อไปเพื่อการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีน, ไวรัสคางทูมสายพันธุ์วัคซีน, ไวรัสหัดเยอรมันสายพันธุ์วัคซีน

Corresponding author E-mail: atchariya.l@dmsc.mail.go.th

Received: 18 March 2025

Revised: 24 June 2025

Accepted: 15 July 2025

บทนำ

ประเทศไทยได้มีโครงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศ (Expanded Program on Immunization, EPI) เมื่อปี พ.ศ. 2520 โดยวัตถุประสงค์เพื่อลดการป่วยและการตายจากโรคพื้นฐานที่ป้องกันได้ด้วยวัคซีน ซึ่งเริ่มด้วยการให้วัคซีน 4 ชนิด คือ วัคซีนป้องกันวัณโรค (BCG) และวัคซีนคอตีบ ไอกรน และบาดทะยัก (DTP) และวัคซีนโปลิโอชนิดกินในเขตกรุงเทพมหานคร ปัจจุบันวัคซีนที่อยู่ในโครงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคที่จำเป็นต้องให้กับเด็กทุกคน ประกอบด้วย วัคซีน BCG วัคซีนป้องกันโรคตับอักเสบบี (HB) วัคซีนรวมป้องกันโรคคอตีบ บาดทะยัก ไอกรน ตับอักเสบบีและฮิบ (DTP-HB-Hib1) วัคซีนป้องกันโรคโปลิโอชนิดฉีด (IPV) วัคซีนโรต้า (Rota) วัคซีนป้องกันโรคโปลิโอชนิดกิน (OPV) วัคซีนรวมป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (MMR) วัคซีนป้องกันโรคไข้มองอักเสบเจอี ชนิดเชื้อเป็นอ่อนฤทธิ์ (LAJE) วัคซีนรวมป้องกันโรคคอตีบและบาดทะยัก (dT) และวัคซีนป้องกันโรคมะเร็งปากมดลูกจากการติดเชื้อเอชพีวี (HPV)⁽¹⁾

โรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน เป็นโรคติดเชื้อที่สามารถป้องกันได้ด้วยวัคซีน ซึ่งวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (Measles, Mumps and Rubella: MMR vaccine) บรรจุอยู่ในโครงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 ซึ่งเป็นการให้วัคซีนแบบเข็มเดียวเมื่อเด็กอายุ 9-12 เดือน นอกจากนี้ ในปี พ.ศ. 2529 ประเทศไทยได้เคยให้วัคซีนหัดเยอรมันเดี่ยวๆ โดยให้ในเด็กหญิงก่อนและให้ทั้งในเด็กหญิงและเด็กชายในปี พ.ศ. 2536 ต่อมาในปี พ.ศ. 2539 ได้เปลี่ยนเป็นให้วัคซีนหัดแบบ 2 เข็ม โดยให้เข็มแรกในเด็กอายุ 9 เดือน และเข็มที่ 2 เมื่อเด็กเข้าเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 1 ที่อายุประมาณ 6-7 ปี ต่อมาในปี พ.ศ. 2540 ได้เปลี่ยนวัคซีนป้องกันโรคหัดสำหรับเด็กนักเรียนชั้นประถมปีที่ 1 เป็นวัคซีนรวม หัด คางทูม และหัดเยอรมัน (MMR) และในปี พ.ศ. 2553 ได้เปลี่ยนวัคซีนป้องกันโรคหัดสำหรับเด็กอายุ 9-12 เดือนเป็นวัคซีนรวม MMR ด้วย ต่อมาในปี พ.ศ. 2557 ได้เปลี่ยนการให้วัคซีน MMR เข็มที่ 2 ที่อายุ 6-7 ปี เป็นเด็กอายุ 2 ปี โดยมีการให้วัคซีนแบบเก็บตกในเด็กอายุ 2-7 ปี ในปี พ.ศ. 2558 เพื่อให้เด็กทุกช่วงอายุไม่พลาดในการได้รับ

วัคซีน ซึ่งเป็นโครงการในสมเด็จพระรัตนราชสุตาสยามบรมราชกุมารี ต่อมาในปี พ.ศ. 2563 ได้เปลี่ยนคำแนะนำในการให้วัคซีน MMR เข็มที่ 2 เมื่อเด็กอายุ 18 เดือน เพื่อลดช่วงเวลาระหว่างวัคซีน 2 เข็ม ทำให้เด็กที่ไม่ตอบสนองต่อเข็มแรกมีช่วงเวลาที่ไม่มีภูมิคุ้มกันสั้นลงก่อนที่จะได้รับวัคซีนเข็มที่สองเพื่อให้กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น ลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสหัดจนถึงปัจจุบันผู้ที่อายุน้อยกว่า 18 ปี ในประเทศไทยน่าจะได้รับวัคซีน MMR ครบทั้ง 2 เข็ม ตามแผนสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของประเทศ กระทรวงสาธารณสุข⁽²⁾

วัคซีน MMR ผสมรวมฉีดในครั้งเดียวนี้ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นไม่ด้อยกว่าการฉีดวัคซีนแต่ละชนิด ทำให้สะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการ และลดความเจ็บปวดจากการฉีดวัคซีนหลายเข็ม ซึ่งวัคซีนนี้เป็นวัคซีนมีชีวิตชนิดอ่อนฤทธิ์ (Live-attenuated vaccine) ประกอบด้วย เชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ 1) เชื้อไวรัสหัดมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ ได้มาจากสายพันธุ์ Ender's Attenuated Edmonston หรือสายพันธุ์ Edmonston-Zagreb (EZ19) หรือ Schwarz 2) เชื้อไวรัสคางทูมมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ที่ใช้อยู่ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ Jeryl Lynn, Urabe-Am 9 และ Leningrad-Zagreb ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับบริษัทผู้ผลิต และ 3) เชื้อไวรัสหัดเยอรมันมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ ได้จากสายพันธุ์ Wistar RA 27/3^(2,3) เนื่องจากเป็นวัคซีนชนิดมีชีวิต ผู้รับวัคซีนบางรายจึงมีโอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์หลังการได้รับวัคซีน (Adverse Event Following Immunization, AEFI) เช่น มีไข้สูง 7-12 วันหลังได้รับวัคซีน ซึ่งพบได้ร้อยละ 5-15 ปวดข้อ บวม แดงบริเวณที่ฉีด มีผื่นขึ้น 7-10 วันหลังได้รับวัคซีน เฉลี่ยร้อยละ 5 และต่อมน้ำลายพาราไธรอยด์อักเสบ ปวด บวม⁽⁴⁾ รวมทั้งอาจเกิดการติดเชื้อจากสายพันธุ์วัคซีนได้

เนื่องจากการติดตามการกลายพันธุ์มีความสำคัญและจำเป็นต้องเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากจะช่วยให้ทราบวิวัฒนาการของไวรัส ทราบอุบัติการณ์ แนวโน้มการระบาด การกลายพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ที่ต่างไปจากเดิม และช่วยให้หน่วยงานสาธารณสุขไทยสามารถปรับปรุงมาตรการควบคุมและป้องกันโรคให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น สามารถเตรียมความพร้อมและดำเนินมาตรการป้องกันได้ทันทั่วทั้ง ความเข้าใจเกี่ยวกับ

การกลายพันธุ์มีส่วนสำคัญในการพัฒนาวัคซีนและวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะหากพบว่าการกลายพันธุ์มีผลต่อความรุนแรงของโรคหรือการตอบสนองต่อการรักษา นอกจากนี้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างที่พบในประเทศไทยเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลจากประเทศอื่นๆ ในฐานะข้อมูลขององค์การอนามัยโลกจะช่วยให้เข้าใจบทบาทของประเทศไทยในการแพร่กระจายของไวรัสในระดับภูมิภาคและระดับโลก สามารถประเมินได้ว่าการติดเชื้อที่พบในประเทศไทยเป็นผลมาจากสายพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศหรือเกิดจากสายพันธุ์ท้องถิ่น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามการกลายพันธุ์และเฝ้าระวังสายพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ โดยวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน จากสายพันธุ์ที่ตรวจพบในตัวอย่างเชื้อไวรัสจากผู้ป่วยระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก (WHO) รวมถึงการเฝ้าระวังสายพันธุ์ของไวรัสที่นำมาเป็นวัคซีนที่ใช้ในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลสายพันธุ์ที่สามารถนำไปใช้สนับสนุนความสำเร็จของโครงการกำจัดโรคหัดและหัดเยอรมันของประเทศไทย ตามพันธะสัญญานานาชาติและของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตามเป้าหมายที่องค์การอนามัยโลกกำหนด นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ในการตรวจพบไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันสายพันธุ์อุบัติขึ้นจากตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ อาจส่งผลให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการบริหารจัดการการนำเข้าวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมันของประเทศ เพื่อประชาชนมีความปลอดภัยจากการรับวัคซีนและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างและเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นตัวอย่างส่งตรวจเพื่อหาสารพันธุกรรมไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในช่วงปี พ.ศ. 2560–2567 โดยมีจำนวนตัวอย่างส่งตรวจไวรัสหัด จำนวน 2,946 ตัวอย่าง คางทูม จำนวน 98 ตัวอย่าง และหัดเยอรมัน จำนวน 1,016

ตัวอย่าง ชนิดตัวอย่างส่งตรวจหัดและหัดเยอรมัน ได้แก่ throat swab หรือ nasal swab ซึ่งเก็บจากผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อที่มีอาการแสดงตามเกณฑ์ทางคลินิก คือ มีไข้มากกว่า 38 องศาเซลเซียส มีผื่นผื่นแดง ร่วมกับอาการไอ และมีอาการอื่นอีกอย่างน้อยหนึ่งอาการ คือ มีน้ำมูก หรือเยื่อบุตาอักเสบ หรือตรวจพบ Koplik's spot 1–2 วันก่อนและหลังผื่นขึ้น โดยตัวอย่างถูกเก็บภายในระยะเวลาไม่เกิน 14 วันหลังพบผื่น สำหรับตัวอย่างส่งตรวจคางทูมคือ ตัวอย่าง buccal swab ที่เก็บจากบริเวณต่อมน้ำลายพาโรติดใต้กกหูหลังวันที่แสดงอาการบวมของต่อมน้ำลายดังกล่าว ตัวอย่างที่ให้ผล RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR เป็นบวก นำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อหาสายพันธุ์ด้วยเทคนิค Sanger Sequencing กรณีตัวอย่างที่ให้ผล RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR เป็นลบถูกคัดออกไม่นำมาศึกษาวิจัยในครั้งนี้

การสกัดสารพันธุกรรม และการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันด้วยวิธี Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

สกัดสารพันธุกรรมไวรัสจากตัวอย่าง throat swab, nasal swab หรือ buccal swab โดยใช้ตัวอย่างปริมาตร 140 ไมโครลิตร ใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany) ตามวิธีการของชุดน้ำยา โดยในการสกัดสารพันธุกรรมมี Nuclease-free water เป็นตัวอย่างควบคุมลบ (Negative extraction control) ในการสกัดทุกครั้ง เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมไวรัสหัดในส่วนยีน Nucleoprotein (N) ความยาว 634 นิวคลีโอไทด์ โดยมีตัวอย่างควบคุมบวก (Positive control) ซึ่งเป็น Control RNA สังเคราะห์ความยาว 854 นิวคลีโอไทด์⁽⁵⁾ ไวรัสคางทูมเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในส่วนยีน Small Hydrophobic (SH) ความยาว 676 นิวคลีโอไทด์ และตัวอย่างควบคุมบวก (Positive control) ซึ่งเป็น Control RNA สังเคราะห์ ความยาว 476 นิวคลีโอไทด์⁽⁶⁾ ส่วนไวรัสหัดเยอรมันเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมรอบแรกในส่วน Non-structural Protein ด้วยเทคนิค Real Time RT-PCR โดยใช้ Primers 1 คู่ และ Probe 1 เส้น และควบคุมคุณภาพวิธีทดสอบด้วยการเพิ่มปริมาณ

สารพันธุกรรมของ Housekeeping Gene (Human RNase P gene) ควบคุมไปด้วยตัวอย่างทดสอบด้วย โดยใช้ Primers 1 คู่ และ Probe 1 เส้น⁽⁷⁾ ตัวอย่างที่ให้ผล Real Time RT-PCR เป็นบวกจะนำไปวิเคราะห์หาสายพันธุ์ไวรัสหัดเยอรมันต่อไป ซึ่งการหาสายพันธุ์ไวรัสหัดเยอรมันจะใช้ยีนในส่วน Envelop Protein 1 (E1) ซึ่งใช้ Primers จำนวน 2 คู่ ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม 2 Fragments โดย Fragment 1 ขนาด 480 นิวคลีโอไทด์ Fragment 2 ขนาด 633 นิวคลีโอไทด์ โดยมีตัวอย่างควบคุมบวก (Positive control) ซึ่งเป็น Control RNA สังเคราะห์ สำหรับ Fragment 1 และ 2 ขนาดความยาว 400 และ 533 นิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ⁽⁸⁾ โดยขนาดของตัวอย่างควบคุมผลบวกของแต่ละยีนของไวรัสแต่ละชนิดออกแบบให้มีขนาดความยาวแตกต่างจากขนาดจำเพาะของผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product)

ซึ่งง่ายต่อการวิเคราะห์หากเกิดการปนเปื้อน ทั้งนี้ Primers, Probe และมาตรฐานวิธีการตรวจที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมไวรัสหัดและหัดเยอรมันได้รับสนับสนุนจากศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (US-CDC) ซึ่งรายละเอียดชุด Primers ที่ใช้ ดังแสดงในตารางที่ 1

เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา RT-PCR ตรวจสอบหาแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะของ PCR product โดยการทำให้ gel electrophoresis ผลผลิตพีซีอาร์ของตัวอย่างที่ให้ผลบวก จะถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดน้ำยา QIAQuick Gel Extraction kit (QIAGEN, Germany) และวัดความเข้มข้นดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Spectrophotometer (NanoDrop ND-1000, Thermo Scientific, USA) เก็บรวบรวมตัวอย่างผลผลิตพีซีอาร์ที่บริสุทธิ์เพื่อทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อหาสายพันธุ์ไวรัสต่อไป

ตารางที่ 1 Primers และ Probe ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ด้วยวิธี RT-PCR, Real Time RT-PCR และที่ใช้ในการทำ Sanger Sequencing

ไวรัส	Primer	ลำดับนิวคลีโอไทด์	ตำแหน่ง (5'→3')	ขนาด amplicon (bp)
หัด	Forward primer (MeV216)	5'-TGG AGC TAT GCC ATG GGA GT -3'	1104-1123	634
	Reverse primer (MeV214)	5'-TAA CAA TGA TGG AGG GTA GG- 3'	1718-1737	
คางทูม	Forward SH1	5'-AGT AGT GTC GAT GAT CTC AT -3'	6133-6152	676
	Reverse SH2	5'-GCT CAA GCC TTG ATC ATT GA-3'	6789-6808	
หัดเยอรมัน (HURNASE-P)	Forward primer RuV98	5' GGC AGT TGG GTA AGA GAC CA 3'	98-117	154
	Reverse primer RuV251	5' CGT GGA GTG CTG GGT GAT 3'	234-251	
	Probe (RuVNSP)	5' FAM ACA TCG CGC ACT TCC CAC G BHQ 3'	141-159	19
	Forward Primer (HURNASE-P)	5' AGA TTT GGA CCT GCG AGC G 3'	28-46	65
	Reverse Primer	5' GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT 3'	73-92	
	Probe (BHQ1 HURNASE-P)	5' FAM TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG BHQ1 3'	49-71	23
	Fragment 1 forward (8633)	5' AGC GAC GCG GCC TGC TGG GG 3'	8633-8652	480
	Fragment 1 Reverse (9112)	5' GCG CGC CTG AGA GCC TAT GAC 3'	9112-9092	
	Fragment 2 forward (8945)	5' TGG GCC TCC CCG GTT TG 3'	8945-8961	633
	Fragment 2 Reverse (9577)	5' CGC CCA GGT CTG CCG GGT CTC 3'	9557-9577	

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ด้วยวิธี Sanger Sequencing

นำตัวอย่าง PCR product ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มาวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Sanger Sequencing การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสหัดและคางทูมใช้ Forward primer และ Reverse primer คู่เดียวกับที่ใช้ในการทำ RT-PCR เป็น Sequencing primer ส่วนไวรัสหัดเยอรมันใช้ Primers คู่เดียวกันกับที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในส่วน E1 Fragment 1 และ Fragment 2 เป็น Sequencing primer โดยใช้ชุดน้ำยา BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied BioSystem, USA) ซึ่งเตรียมแยกเป็น 2 หลอด สำหรับ Forward primer และ Reverse primer ที่ความเข้มข้น 2 μM ใช้ DNA template ปริมาตร 5 μL ซึ่งมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 40–80 ng/ μL โดยมีปริมาตรสุดท้าย 20 μL ทำการ purify ด้วยชุด DNA purification สำเร็จรูป (Agencourt CleanSEQ, USA) จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Sequencer Genetic Analyzer 3500 หรือ 3500XL (Applied BioSystem, USA) นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Sequencer version 5.4.6 (Gene Code Corporation, USA) และโปรแกรม RECall ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเครือข่ายหัดและหัดเยอรมันทั่วโลก⁽⁹⁾ จากนั้นสร้าง Phylogenetic Tree โดยใช้โปรแกรม The 12th Version of the Molecular Evolutionary Genetics Analysis, MEGA12⁽¹⁰⁾ เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก (WHO Reference Strains) เพื่อวิเคราะห์หาสายพันธุ์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน

การวิเคราะห์ Phylogenetic Tree ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ลำดับพันธุกรรมของไวรัสหัดจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทำ Sanger Sequencing ในส่วนของ Nucleoprotein (N) gene ความยาว 450 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสหัดสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การ

อนามัยโลก⁽¹¹⁾ ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้แบ่งสายพันธุ์ไวรัสหัดออกเป็น 24 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ A, B1–B3, C1–C2, D1–D11, E, F, G1–G3, และ H1–H2 โดยสายพันธุ์อุบัติขึ้น คือ สายพันธุ์ A⁽¹¹⁾ ใช้โปรแกรม MEGA12 สร้าง Phylogenetic Tree ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยเลือก Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ⁽¹⁰⁾

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ลำดับพันธุกรรมของไวรัสคางทูมจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทำ Sanger Sequencing ในส่วนของยีน Small Hydrophobic (SH) ความยาว 150 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสคางทูมสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก⁽¹²⁾ ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้จัดแบ่งสายพันธุ์ไวรัสคางทูมออกเป็น 12 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L และสายพันธุ์ N ซึ่งเป็นสายพันธุ์อุบัติขึ้น⁽¹²⁾ โดยใช้โปรแกรม MEGA12 สร้าง Phylogenetic Tree ด้วยวิธี Maximum Parsimony เลือก Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ⁽¹⁰⁾

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ลำดับพันธุกรรมของไวรัสหัดเยอรมันจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการทำ Sanger Sequencing ในส่วนของยีน E1 ความยาว 739 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสหัดเยอรมันสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก⁽¹³⁾ ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้แบ่งสายพันธุ์ไวรัสหัดเยอรมันออกเป็น 12 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, 2A, 2B, 2C และ Provisional Genotype คือ สายพันธุ์ 1a ซึ่งเป็นสายพันธุ์อุบัติขึ้น⁽¹³⁾ โดยใช้โปรแกรม MEGA12 สร้าง Phylogenetic Tree ด้วยวิธี Neighbor Joining เลือก Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ⁽¹⁰⁾

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

โครงการการศึกษานี้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมในคนจากคณะกรรมการพิจารณาการศึกษาวิจัยในคน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข รหัสโครงการวิจัย 6/2568 รหัสเอกสารรับรอง DMSc-EC043 วันที่ให้การรับรอง 15 มกราคม พ.ศ. 2568

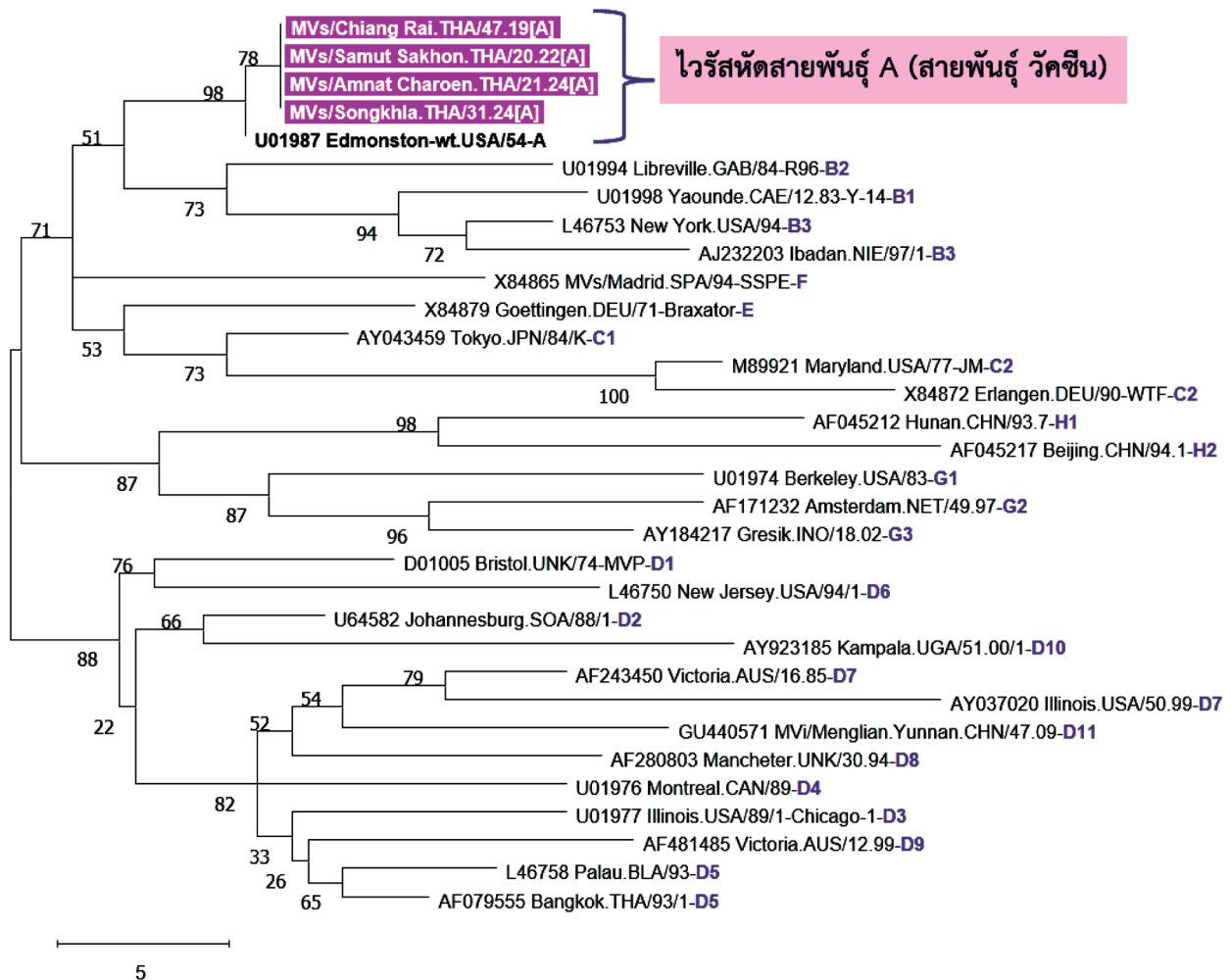
ผล

จากจำนวนตัวอย่างส่งตรวจหาสารพันธุกรรมไวรัสหัด จำนวน 1,930 ตัวอย่าง (ร้อยละ 65.51) คางทูม จำนวน 28 ตัวอย่าง (ร้อยละ 28.57) และหัดเยอรมัน จำนวน 14 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.38) ระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 พบตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกไวรัสหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก พบว่าเป็นสายพันธุ์ B3, D8 และ H1 จำนวน 192, 1,659 และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับ และสายพันธุ์ A ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.21 โดยเป็นตัวอย่างส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 จำนวน 1 ตัวอย่าง พ.ศ. 2565 จำนวน 1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2567 จำนวน 2 ตัวอย่าง ไวรัสคางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลกพบเป็นสายพันธุ์ G และ K จำนวน 5 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ และสายพันธุ์ N ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.29 เป็นตัวอย่างส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 จำนวน

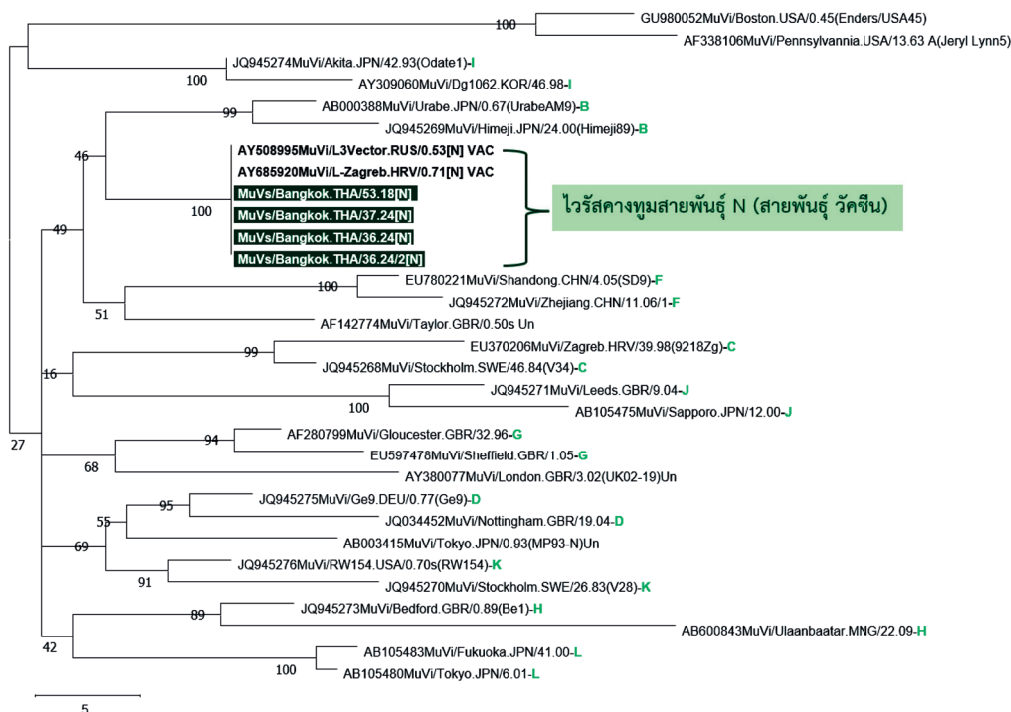
1 ตัวอย่าง และ พ.ศ. 2567 จำนวน 3 ตัวอย่าง ไวรัสหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์กับสายพันธุ์อ้างอิงพบเป็นสายพันธุ์ 2B และ 1E จำนวน 1 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ และสายพันธุ์ 1a ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีน จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8.33 เป็นตัวอย่างที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 ทั้งนี้ในจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ส่งตรวจระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 มีตัวอย่างที่ให้ผล RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR เป็นบวก แต่มีปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอไม่เพียงพอไม่สามารถวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ ประกอบด้วย ไวรัสหัด จำนวน 68 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.52) คางทูม จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 7.14) และหัดเยอรมัน จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 14.29) จำนวนและชนิดสายพันธุ์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมันที่ตรวจพบระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 ดังแสดงในตารางที่ 2 และ Phylogenetic Tree แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลกที่ถูกจัดเป็นสายพันธุ์วัคซีน ดังแสดงในภาพที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างส่งตรวจ และจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบในแต่ละสายพันธุ์ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย ระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567

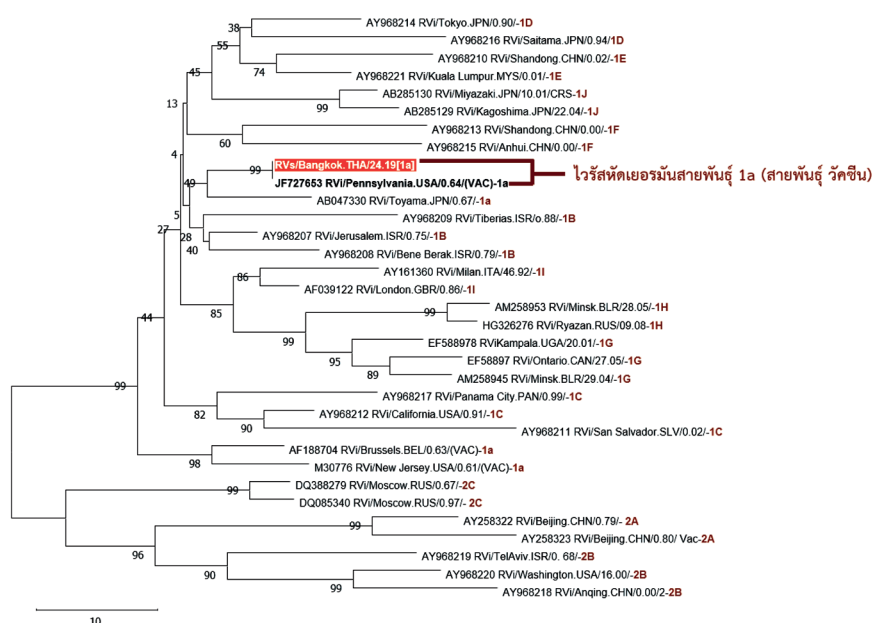
	ไวรัสหัด		ไวรัสคางทูม		ไวรัสหัดเยอรมัน	
	สายพันธุ์	จำนวน/ (ร้อยละ)	สายพันธุ์	จำนวน/ (ร้อยละ)	สายพันธุ์	จำนวน/ (ร้อยละ)
จำนวนตัวอย่างส่งตรวจ	-	2,946	-	98	-	1,016
- ผล RT-PCR Positive	-	1,930 (65.51)	-	28 (28.57)	-	14 (1.38)
- ผล RT-PCR Negative	-	1,016 (34.49)	-	70 (71.43)	-	1,002 (98.62)
สายพันธุ์ที่ตรวจพบ	A (วัคซีน)	4 (0.21)	N (วัคซีน)	4 (14.29)	1a (วัคซีน)	1 (7.14)
	B3	192 (9.95)	G	5 (17.86)	2B	1 (7.14)
	D8	1,659 (85.96)	K	17 (60.71)	1E	10 (71.43)
	H1	7 (0.36)				
ไม่สามารถหาสายพันธุ์ได้		68 (3.52)		2 (7.14)		2 (14.29)



ภาพที่ 1 Phylogenetic Tree ของไวรัสหัด สายพันธุ์ A (สายพันธุ์วัคซีน) ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 4 ราย (ในปี พ.ศ. 2562, 2565 และ 2567) ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยใช้ค่า Bootstraps ที่ 1,000 replications ตัวเลขบนแผนภาพแสดงค่าร้อยละความเชื่อมั่นของการใช้ Bootstraps โดยความยาวของแต่ละ Branches อยู่ในหน่วยของจำนวนการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งลำดับตามค่าสเกลบาร์ แสดงสัดส่วนความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 2 Phylogenetic Tree ของไวรัสคางทูม สายพันธุ์ N (สายพันธุ์วัคซีน) ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 4 ราย (ในปี พ.ศ. 2561 และ 2567) ด้วยวิธี Maximum Parsimony โดยใช้ค่า Bootstraps ที่ 1,000 replications ตัวเลขบนแผนภาพแสดงค่าร้อยละความเชื่อมั่นของการใช้ Bootstraps โดยความยาวของแต่ละ Branches อยู่ในหน่วยของจำนวนการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งลำดับตามค่าสเกลบาร์แสดงสัดส่วนความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 3 Phylogenetic Tree ของไวรัสหัดเยอรมัน สายพันธุ์ 1a (สายพันธุ์วัคซีน) ที่ตรวจพบในตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 1 ราย ในปี พ.ศ. 2562 ด้วยวิธี Neighbor Joining โดยใช้ค่า Bootstraps ที่ 1,000 replications ตัวเลขบนแผนภาพแสดงค่าร้อยละความเชื่อมั่นของการใช้ Bootstraps โดยความยาวของแต่ละ Branches อยู่ในหน่วยของจำนวนการเปลี่ยนแปลงตลอดทั้งลำดับตามค่าสเกลบาร์แสดงสัดส่วนความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง

วิจารณ์

ผลการศึกษาในตัวอย่างผู้ป่วยโรคหัด จำนวน 1,862 ตัวอย่าง พบ 4 ราย (ร้อยละ 0.21) ที่เป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ A) โดยผู้ป่วยหัด 4 ราย ที่พบเป็นสายพันธุ์วัคซีน เมื่อพิจารณาจากประวัติการสอบสวนโรค พบว่ารายแรกเป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 เป็นเด็กชายอายุ 9 เดือน และได้รับวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมัน (MMR vaccine) เข็มแรก ซึ่งตรงตามแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุข⁽¹⁾ มีอาการไข้และมีผื่นหลังจากได้รับวัคซีนแล้ว 7 วัน รายที่ 2 เป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2565 เป็นเด็กชายอายุ 10 เดือน มารับการรักษาที่โรงพยาบาลหลังจากที่มีไข้และมีผื่นแล้วสองวัน แต่ประวัติการรับวัคซีน MMR ไม่ชัดเจนจากข้อมูลในแบบสอบสวนโรคระบุประวัติการรับวัคซีน “ไม่ทราบ/ไม่แน่ใจ” อย่างไรก็ตามจากอายุผู้ป่วยซึ่งมีอายุ 10 เดือน มีอายุอยู่ในช่วงที่ควรได้รับวัคซีน MMR เข็มแรกตามแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุข ผู้ป่วยรายที่ 3 เป็นเด็กหญิงอายุ 1 ปี มารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการมีไข้และมีผื่น หลังได้รับวัคซีน MMR เข็มแรก 2 วัน ผู้ป่วยรายที่ 4 เป็นเด็กหญิงอายุ 10 เดือน เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการมีไข้ ผื่น ไอ มีน้ำมูก ตาแดง เยื่อบุตาอักเสบ ถ่ายเหลว และปอดอักเสบ โดยอาการดังกล่าวเกิดขึ้นหลังได้รับวัคซีน MMR เข็มแรก 18 วัน โดยผู้ป่วยรายที่ 3 และ 4 เป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2567 นอกจากตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค RT-PCR แล้ว เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลได้เก็บตัวอย่างซีรัมจากผู้ป่วยทั้ง 4 ราย เพื่อตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วย ซึ่งผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดให้ผลเป็นบวกในผู้ป่วยรายที่ 3 และ 4 ส่วนรายที่ 1 และ 2 ให้ผลเป็นลบ เนื่องจากเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสม ซึ่งเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างซีรัม คือ เก็บหลังจากที่ออกผื่นแล้ว 4 วัน แต่ไม่เกิน 30 วัน ทั้งนี้ผู้ป่วยทั้ง 4 ราย ให้ผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดเยอรมันเป็นลบ

ในตัวอย่างผู้ป่วยโรคคางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง พบ 4 ราย (ร้อยละ 15.38) ที่ตรวจพบเป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ N) ได้แก่ ผู้ป่วยรายแรกเป็นตัวอย่างที่ส่งตรวจ

ในปี พ.ศ. 2561 เป็นเด็กชายอายุ 1 ปี มีประวัติรับวัคซีน MMR เข็มแรกเมื่ออายุ 1 ปี แต่ไม่ได้ระบุวันที่ได้รับวัคซีนชัดเจน เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการต่อมน้ำลายพาราไติดบวม ผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ให้ผลเป็นบวก ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี RT-PCR ผู้ป่วยรายที่ 2-4 เป็นผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2567 โดยผู้ป่วยรายที่ 2 และ 3 เป็นหญิงอายุ 25 ปี และ 18 ปี ตามลำดับ และผู้ป่วยรายที่ 4 เป็นชายอายุ 20 ปี ผู้ป่วยทั้ง 3 รายมีอาการไข้ต่ำๆ ต่อมน้ำลายพาราไติดบวม และปวดบริเวณกรามหลังจากที่ได้รับวัคซีน MMR โดยผู้ป่วยรายที่ 2 และ 3 มีไข้และต่อมน้ำลายพาราไติดบวมภายหลังได้รับวัคซีน 18 และ 19 วัน ตามลำดับ ส่วนผู้ป่วยรายที่ 4 มีอาการไข้และต่อมน้ำลายพาราไติดบวมภายหลังได้รับวัคซีน 17 วัน ทั้งนี้ผู้ป่วยทั้ง 3 ราย เก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสคางทูมด้วย โดยผู้ป่วย 2 ใน 3 ราย ให้ผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสคางทูมเป็นบวก ในตัวอย่างผู้ป่วยโรคหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง พบ 1 ราย (8.33%) ที่เป็นสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ 1a) เป็นตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ส่งตรวจในปี พ.ศ. 2562 ผู้ป่วยเป็นเด็กชายอายุ 9 ปี 8 เดือน เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลด้วยอาการมีไข้ และผื่น หลังได้รับวัคซีน MMR 11 วัน และผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดให้ผลเป็นบวก แต่ผลการตรวจหาสารพันธุกรรมไวรัสหัดด้วยเทคนิค RT-PCR ให้ผลเป็นลบ จึงไม่สามารถวิเคราะห์หาสายพันธุ์ไวรัสหัดได้ ทั้งนี้ตัวอย่างดังกล่าวไม่มีข้อมูลผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดเยอรมัน

ในการศึกษาครั้งนี้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นการวิเคราะห์เพียงบางส่วนของยีนเป้าหมายด้วยเทคนิค Sanger Sequencing ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ไม่ซับซ้อน ห้องปฏิบัติการทั่วไปสามารถดำเนินการได้ รวมถึงโปรแกรมการวิเคราะห์ MEGA ซึ่งเป็นโปรแกรมที่สามารถนำมาใช้ได้โดยไม่มีค่าใช้จ่ายและไม่จำเป็นต้องใช้ระบบคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูงช่วยในการวิเคราะห์ผล ส่วนการวิเคราะห์ Phylogenetic Tree เพื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน กับสายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก ยึดหลักปฏิบัติ

ตามมาตรฐานวิธีปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจหัด คางทูม หัดเยอรมันขององค์การอนามัยโลกทุกแห่ง อย่างไรก็ตาม ความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์เป้าหมายของยีน SH ของไวรัสคางทูมซึ่งมีความยาวเพียง 150 นิวคลีโอไทด์ อาจมีข้อมูลไม่เพียงพอสำหรับการจำแนกสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียงกันมาก การเลือกใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความยาวมากกว่านี้อาจเพิ่มความแม่นยำมากขึ้น วิธีการสร้าง Phylogenetic Tree ของไวรัสหัดและคางทูมใช้วิธี Maximum Parsimony สำหรับไวรัสหัดเยอรมันใช้วิธี Neighbor Joining ตามมาตรฐานวิธีปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก^(12,14) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งต่อไปอาจพิจารณาใช้ Maximum Likelihood หรือ Bayesian Inference ซึ่งเป็นวิธีที่มีความละเอียดสูงและนิยมใช้ในงานวิเคราะห์ Phylogenetics Tree ในปัจจุบัน^(15,16)

ผลจากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Churchill L และคณะ ที่ได้รายงานการติดเชื้อไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีนในหญิงที่มีสุขภาพดีวัย 40 ปี ในประเทศอาร์เมเนียภายหลังการได้รับวัคซีนรวมหัด คางทูม หัดเยอรมัน⁽¹⁷⁾ นอกจากนี้ Bitnun A และคณะ ได้รายงานการติดเชื้อไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีนในเด็กชายที่มีสุขภาพดี อายุ 21 เดือน⁽¹⁸⁾ ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติดสหรัฐอเมริกาได้รายงานผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการปอดอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสหัดหลังได้รับวัคซีน⁽¹⁹⁾ นอกจากนี้ Hagan JE และคณะ ได้รายงานพบการติดเชื้อไวรัสหัดสายพันธุ์วัคซีนในผู้ที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน (Breakthrough Measles) ในประเทศมองโกเลีย⁽²⁰⁾ Bakker W และ Mathia R ได้รายงานการติดเชื้อไวรัสคางทูมสายพันธุ์วัคซีนในกลุ่มนักเรียนที่สาธารณรัฐซูรินาม ทวีปอเมริกาใต้ (Western Suriname) ภายหลังได้รับวัคซีนรวมหัด คางทูม หัดเยอรมัน⁽²¹⁾ และมีรายงานในประเทศไทยโดย Gilliland SM และคณะ ได้รายงานเหตุการณ์การติดเชื้อไวรัสคางทูมสายพันธุ์วัคซีน (สายพันธุ์ L-Zagreb) ในกลุ่มนักเรียนพยาบาล⁽²²⁾ รวมถึง Paz M และคณะ

ได้รายงานการติดเชื้อไวรัสหัดเยอรมันสายพันธุ์วัคซีนสายพันธุ์ RA 27/3 ในหญิงวัย 40 ปี ที่เม็กซิโก โดยมีอาการไข้และมีผื่นขึ้นภายใน 14 วันหลังจากได้รับวัคซีนรวมหัดและหัดเยอรมัน⁽²³⁾

องค์การอนามัยโลกมีเกณฑ์ในการจำแนกผู้ป่วยหัดและหัดเยอรมันหลังจากได้รับวัคซีน MMR กรณีที่ไม่สามารถหาสายพันธุ์ได้ แนะนำให้จำแนกจากผลการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ต่อไวรัสหัดและหัดเยอรมัน ดังนี้ คือ ผู้ป่วยมีผื่นขึ้นหลังจากได้รับวัคซีน MMR ในช่วง 8–56 วันหลังรับวัคซีน เก็บตัวอย่างซีรัมส่งตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM โดยมีการสอบสวนโรคแล้วไม่พบผู้ป่วยรายที่สองตามมาและแพทย์ผู้รักษาไม่ได้สงสัยสาเหตุการติดเชื้อจากไวรัสชนิดอื่น⁽²⁴⁾ การศึกษาครั้งนี้สามารถวิเคราะห์หาสายพันธุ์ของไวรัสได้ทั้งไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน พบเป็นสายพันธุ์วัคซีนและบางรายสามารถตรวจพบ IgM จำเพาะร่วมด้วย ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าเป็นการติดเชื้อภายหลังการได้รับวัคซีน MMR อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีข้อจำกัด คือ เป็นการศึกษาเพียงยีนเดียวของแต่ละไวรัส ทำให้ได้ข้อมูลไม่ครบทั้งจีโนม ดังนั้นเพื่อให้การเฝ้าระวังติดตามการกลายพันธุ์ของไวรัส และเฝ้าระวังสายพันธุ์นำเข้าได้ ข้อมูลที่สมบูรณ์ควรทำการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสทั้งจีโนม (Whole Genome Sequencing) นอกจากนี้การศึกษานี้มีข้อจำกัดด้านการเก็บข้อมูล เช่น ประวัติการได้รับวัคซีนที่ไม่สมบูรณ์ในผู้ป่วยบางราย ไม่มีการวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงเพิ่มเติม เช่น สถานะภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย และกรณีผู้ป่วยที่มีข้อมูลประวัติการได้รับวัคซีน แต่ไม่มีข้อมูลรายละเอียด ยี่ห้อ บริษัทผู้ผลิต และรุ่นการผลิตของวัคซีนที่ได้รับ ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในกรณีที่ต้องเรียกคืนวัคซีนในรุ่นการผลิตที่เกิดปัญหา ผลจากการศึกษานี้มีประโยชน์ต่อการบริหารจัดการวัคซีนป้องกันโรคหัด คางทูม และหัดเยอรมันของประเทศ ข้อมูลจากการศึกษานี้ช่วยยืนยันการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับวัคซีน ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับการวางแผนการให้วัคซีนของประเทศในอนาคตต่อไป

สรุป

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน จากตัวอย่างผู้ป่วยที่ส่งตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค RT-PCR หรือ Real Time RT-PCR ระหว่างปี พ.ศ. 2560–2567 พบผลเป็นบวกของไวรัสหัดจำนวน 1,862 ตัวอย่าง คางทูม จำนวน 26 ตัวอย่าง และหัดเยอรมัน จำนวน 12 ตัวอย่าง ผลการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์สายพันธุ์อ้างอิงขององค์การอนามัยโลก พบว่าไวรัสหัดมี 4 ตัวอย่าง (0.21%) ที่เป็นสายพันธุ์อุบัติขึ้น (สายพันธุ์ A) นอกนั้นพบเป็นสายพันธุ์ท้องถิ่นที่พบแพร่กระจายในประเทศ ได้แก่ B3, D8 และ H1 ไวรัสคางทูมมี 4 ตัวอย่าง (14.29%) ที่ตรวจพบเป็นสายพันธุ์อุบัติขึ้น (สายพันธุ์ N) ส่วนสายพันธุ์ท้องถิ่นที่ตรวจพบ ได้แก่ สายพันธุ์ G และ K ส่วนไวรัสหัดเยอรมันมี 1 ตัวอย่าง (8.33%) ที่ตรวจพบเป็นสายพันธุ์อุบัติขึ้น (สายพันธุ์ 1a) ส่วนสายพันธุ์ท้องถิ่นที่ตรวจพบ ได้แก่ สายพันธุ์ 2B และ 1E ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นถึงการแพร่ระบาดของสายพันธุ์ท้องถิ่นในประเทศและการติดเชื้อจากวัคซีนในบางราย ซึ่งมีความสำคัญต่อการเฝ้าระวังและการวางแผนการให้วัคซีนในอนาคต เพื่อควบคุมการระบาดของโรคและป้องกันผลข้างเคียงจากการได้รับวัคซีนในประชากร อย่างไรก็ตามการศึกษานี้จำนวนตัวอย่างไวรัสคางทูมและหัดเยอรมันมีจำนวนน้อย ข้อเสนอแนะในอนาคตควรประสานความร่วมมือกับทุกเขตสุขภาพให้เก็บตัวอย่าง buccal swab และ throat swab เพื่อตรวจยืนยันและหาสายพันธุ์ไวรัสจากผู้ป่วยสงสัยทุกราย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ องค์การอนามัยโลก และศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษานี้ ขอขอบคุณนางสาวพัชชา อินคำสับ ที่ช่วยสรุปและวิเคราะห์ข้อมูลสายพันธุ์ของไวรัสหัด คางทูม และหัดเยอรมัน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กองระบาด กลุ่มโรคป้องกันด้วยวัคซีน กองโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค ที่สนับสนุนข้อมูลประวัติผู้ป่วย และขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเครือข่าย

ตรวจหัดและหัดเยอรมัน ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยประสานงานในพื้นที่ในการเก็บและส่งต่อตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. กำหนดการให้วัคซีนตามแผนงานสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคของกระทรวงสาธารณสุข ปี 2567. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 13 ก.พ. 2568]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://ddc.moph.go.th/uploads/publish/1510320231225092421.pdf>.
- ราชวิทยาลัยกุมารแพทย์แห่งประเทศไทย, สมาคมโรคติดเชื้อในเด็กแห่งประเทศไทย, กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางเวชปฏิบัติโรคหัด หัดเยอรมัน และหัดเยอรมันแต่กำเนิด ฉบับปรับปรุง เรื่องการเฝ้าระวังโรค ปี พ.ศ. 2565. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 15 ก.พ. 2568]; [84 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://www.ddc.moph.go.th/uploads/publish/1353820221130065311.pdf>.
- สถาบันวัคซีนแห่งชาติ. MMR Vaccine สถานการณ์การใช้วัคซีนรวม หัด คางทูม หัดเยอรมัน. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 15 ก.พ. 2568]; [10 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://vims.nvi.go.th/VIMSEFile/Factsheet/MMR2.pdf>.
- สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ตำราวัคซีนและการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค ปี 2556. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 15 ก.พ. 2568]; [314 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://ddc.moph.go.th/uploads/publish/294120191209024047.pdf>.
- Mulders MN. Annex C1 measles genotyping RT-PCR (CDC). [online]. 2020; [cited 2025 Feb 15]; [6 screens]. Available from: URL: <https://www.technet-21.org/en/resources/guidance/annex-c01-measles-genotyping-rt-pcr-cdc>.
- พัชชาอินคำสับ, อัจฉริยา ลูกบัว, อธิวัฒน์ ปริมสิริคุณาวุฒิ, ประสพชัย อร่ามรุ่งโรจน์, เพียงใจ อาสินเจริญ, จารุวรรณ ใจอ้าย, และคณะ. การพัฒนาวิธีตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสคางทูมในตัวอย่างส่งตรวจด้วยวิธี Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). ว กรมวิทย์ พ 2557; 56(1): 20–8.

7. Mulders MN. Annex B12.2 real-time RT-PCR assays for the detection of rubella virus RNA and human RNase P mRNA using the ABI 7500 real-time thermocycler. [online]. 2021; [cited 2025 Feb 15]; [14 screens]. Available from: URL: <https://www.technet-21.org/en/resources/guidance/annex-b12-2-real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-rubella-virus-rna-and-human-rnase-p-mrna-using-the-abi-7500-real-time-thermocycler>.
8. Mulders MN. CDC protocols for the molecular epidemiology of measles virus and rubella virus; version of 03/06/2012. Annex C2 rubella genotyping RT-PCR 2-fragment, Qiagen (CDC). [online]. 2020; [cited 2025 Feb 15]; [6 screens]. Available from: URL: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/vpd_surveillance/lab_networks/measles_rubella/manual/updated-annexes-\(as-on-2-aug-2021\)/annex-c2-rubella-genotyping-rt-pcr_qiagen.docx](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/vpd_surveillance/lab_networks/measles_rubella/manual/updated-annexes-(as-on-2-aug-2021)/annex-c2-rubella-genotyping-rt-pcr_qiagen.docx).
9. Mulders MN. Using the RECall program for on-line sequence analysis of measles and rubella. [online]. 2020; [cited 2025 Feb 15]; [6 screens]. Available from: URL: https://www.technet-21.org/media/com_resources/trl/7641/multi_upload/UsingtheRECall_program_V6.pdf.
10. MEGA Software. The 12th version of the molecular evolutionary genetics analysis, MEGA12. Constructing Phylogenetic tree MEGA12. [online]. 2024; [cited 2025 Feb 15]; [21 screens]. Available from: URL: https://www.megasoftware.net/web_help.
11. World Health Organization. Measles virus nomenclature update: 2012. Wkly Epidemiol Rec 2012; 87(9): 73-80.
12. World Health Organization. Mumps virus nomenclature update: 2012. Wkly Epidemiol Rec 2012; 87(22): 217-24.
13. World Health Organization. Rubella virus nomenclature update: 2013. Wkly Epidemiol Rec 2013; 88(32): 337-43.
14. Mulders MN. Annex C09. Phylogenetic analysis (MEGA v7 or X) of measles and rubella sequences assembled using GeneStudio. [online]. 2020; [cited 2025 Jun 24]; [5 screens]. Available from: URL: <https://www.technet-21.org/en/resources/guidance/annex-c09-phylogenetic-analysis-mega-v7-or-x-of-measles-and-rubella-sequences-assembled-using-genestudio>.
15. Kaye M, Chibo D, Birch C. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood phylogenetic approaches in two legal cases involving accusations of transmission of HIV. AIDS Res Hum Retroviruses 2009; 25(8): 741-8.
16. Ahmed AOM, Al-Kutubi HS, Ibrahim NA. Comparison of the Bayesian and maximum likelihood estimation for Weibull distribution. J Math Stat 2010; 6(2): 100-4.
17. Churchill L, Rizzuti FA, Fonseca K, Kim J. Vaccine-associated measles in a healthy 40-year-old woman. CMAJ 2018; 190(35): E1046-8.
18. Bitnun A, Shannon P, Durward A, Rota PA, Bellini WJ, Graham C, et al. Measles inclusion-body encephalitis caused by the vaccine strain of measles virus. Clin Infect Dis 1999; 29(4): 855-61.
19. Centers for Disease Control and Prevention. Measles pneumonitis following measles-mumps-rubella vaccination of a patient with HIV infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1996; 45(28): 603-6.
20. Hagan JE, Crooke SN, Gunregjav N, Sowers SB, Mercader S, Hickman CJ, et al. Breakthrough measles among vaccinated adults born during the post-soviet transition period in Mongolia. Vaccines 2024; 12(6): 695. (12 pages).

21. Bakker W, Mathias R. Mumps caused by an inadequately attenuated measles, mumps and rubella Vaccine. *Can J Infect Dis* 2001; 12(3): 144-8.
22. Gilliland SM, Jenkins A, Parker L, Somdach N, Pattamadilok S, Incomserb P, et al. Vaccine-related mumps infections in Thailand and the identification of a novel mutation in the mumps fusion protein. *Biologicals* 2013; 41(2): 84-7.
23. Paz M, Padilla M, Perez E, Saucedo J, Camacho A. Vaccine-associated rubella caused by the RA 27/3 strain. *Vaccines* 2022; 11(1): 65. (5 pages).
24. World Health Organization. Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome. Chapter 4 Antibody detection methods for laboratory confirmation of measles, rubella, and CRS. [online]. 2018; [cited 2025 Feb 15]; [15 screens]. Available from: URL: <https://www.who.int/publications/m/item/chapter-4-manual-for-the-laboratory-based-surveillance-of-measles-rubella-and-congenital-rubella-syndrome>.

Detection of Vaccine-Derived Measles, Mumps, and Rubella Viruses Found in Patient Specimens in Thailand, 2017–2024

Atchariya Lukebua, Kannikar Kwanchum, Narawan Punnggram, Duanpen Chuapudee, Prasopchai Aramrungraj, Tanatorn Chantavorakit, Thanapol Preamkamol, Thanchanok Suttibul, Phiengjai Armeencharoen, and Pilailuk Akkapaiboon Okada
National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT The Measles-Mumps-Rubella (MMR) vaccine is a live attenuated vaccine. Although the MMR vaccine is generally safe, it may cause adverse effects such as high fever, joint pain, rash, or parotid gland swelling. In rare cases, infection may occur due to the vaccine strain itself. This study aimed to analyze the genetic sequences of measles, mumps, and rubella viruses using the Sanger sequencing method from viral isolates collected from patients during 2017 and 2024. The obtained sequences were compared with the World Health Organization (WHO) reference strains to monitor the presence of imported strains, mutations, and vaccine-derived virus strains in Thailand. The results showed that among 1,862 measles, 26 mumps, and 12 rubella virus samples, the vaccine strains were detected in 4 measles virus samples (0.21%), 4 mumps virus samples (14.29%), and 1 rubella virus sample (8.33%). These findings provided evidence supporting the possibility of vaccine-derived infections and indicated the circulation of local strains within the country. This information is essential for viral surveillance to control disease outbreaks and prevent adverse events related to the vaccination. The data from this study will be useful for public health authorities in developing future national immunization strategy planning to enhance disease control effectiveness.

Keywords: MMR vaccine-derived Measles virus, MMR vaccine-derived Mumps virus, MMR vaccine-derived Rubella virus

ประสิทธิผลของโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ต่อความถูกต้องของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา เครือข่ายบริการสุขภาพ อำเภอนองมะโมง จังหวัดชัยนาท

สุพัตรา สุวรรณศิริ และ วิทยา จันทโรจน์

โรงพยาบาลนองมะโมง อำเภอนองมะโมง ชัยนาท 17120

บทคัดย่อ การควบคุมคุณภาพภายในของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา มีความสำคัญต่อความแม่นยำของผลตรวจ โดยเฉพาะในหน่วยบริการสุขภาพที่มีบุคลากรหลากหลาย งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาย้อนหลังเชิงพรรณนา มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิผลของโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ซึ่งเป็นระบบบันทึกและประเมินผล IQC แบบ Real-time โดยใช้ข้อมูลย้อนหลัง 3 ปีงบประมาณ (พ.ศ. 2565-2567) จาก 12 หน่วยบริการสุขภาพในอำเภอนองมะโมง จังหวัดชัยนาท รวม 1,214 รายการ วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Spearman's rank correlation, Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis H test และ Linear Regression ผลการศึกษาพบว่าค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยลดลงจาก 9.01% ในปี พ.ศ. 2565 เหลือ 5.90% ในปี พ.ศ. 2567 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$, $r = 0.421$) จำนวนครั้งการใช้งานโปรแกรมมีความสัมพันธ์เชิงบวกระดับต่ำกับการลดค่าความคลาดเคลื่อน ($r_s = 0.366$, $p = 0.016$) ผลการถดถอยเชิงเส้นระบุว่าทุก 1 ครั้ง ของการใช้งานสัมพันธ์กับการลดค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย 0.044% ($R^2 = 0.407$, $p = 0.026$) และในช่วงปลายพบค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยลดลง 2.65% จากค่าเฉลี่ยเริ่มต้นที่ 9.13% ($R^2 = 0.118$, $p < 0.001$) และไม่พบความแตกต่างระหว่างโรงพยาบาลกับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) ($p = 0.061$) แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 12 หน่วยบริการ ($H = 94.70$, $p < 0.001$, $\eta^2 = 0.141$) ข้อมูลเหล่านี้สะท้อนว่าโปรแกรมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการลดค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC อย่างมีนัยสำคัญ สามารถใช้ในระบบบริการสุขภาพทุกระดับและควรส่งเสริมการเฝ้าระวังปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น การอบรมผู้ใช้งาน การบำรุงรักษา และการติดตามกำกับเพื่อยกระดับคุณภาพบริการอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ: เครื่องตรวจวัดน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา, การควบคุมคุณภาพภายใน, โปรแกรม Nongmamong IQC Online

Corresponding author E-mail: supattrabow@gmail.com

Received: 21 May 2025

Revised: 31 July 2025

Accepted: 1 August 2025

บทนำ

ปัจจุบันการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา (portable blood glucose meter) เป็นเครื่องมือสำคัญในการคัดกรอง ประเมิน และติดตามภาวะเบาหวานในระดับปฐมภูมิและทุติยภูมิ โดยเฉพาะในบริบทของบริการสุขภาพระดับชุมชน ซึ่งเน้นความสะดวก รวดเร็ว และเข้าถึงได้ง่าย ช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถเฝ้าระวังภาวะเบาหวานได้แม้ในพื้นที่ชนบทห่างไกล⁽¹⁻³⁾ อย่างไรก็ตามความถูกต้องและแม่นยำของผลตรวจขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น คุณภาพของเครื่องมือ สภาพแวดล้อมขณะตรวจ และความรู้และทักษะของผู้ใช้งาน⁽⁴⁻⁶⁾ ซึ่งหากผลการตรวจวัดมีความคลาดเคลื่อนก็อาจนำไปสู่การวินิจฉัยที่ผิดพลาดได้ หากวินิจฉัยภาวะน้ำตาลในเลือดสูงหรือต่ำเกินจริงส่งผลต่อการตัดสินใจรักษา เช่น การปรับยา การส่งต่อ หรือการให้คำแนะนำผู้ป่วย ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้รับบริการได้ในที่สุด การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control: IQC) ของเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด จึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้น โดยเฉพาะเมื่ออุปกรณ์เหล่านี้ถูกใช้งานโดยบุคลากรที่หลากหลาย เช่น โรงพยาบาล นักเทคนิคการแพทย์ นักวิชาการสาธารณสุข และอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.)^(7,8)

แนวทางของ American Diabetes Association (ADA) และ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ต่างเน้นย้ำถึงความสำคัญของการควบคุมคุณภาพในทุกขั้นตอนของการวิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ รวมถึงการตรวจ Point-of-Care Testing (POCT) ด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลแบบพกพา^(2,9) ในอดีตระบบควบคุมคุณภาพภายในมักใช้การบันทึกผลด้วยมือ ซึ่งมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ความล่าช้าในการประเมินผล ความผิดพลาดในการบันทึก และมีข้อจำกัดในการติดตามความผิดปกติแบบทันเวลา⁽¹⁰⁾ ดังนั้นการพัฒนาาระบบเทคโนโลยีสารสนเทศด้านสุขภาพ (Health Information Technology) เช่น ระบบรายงานผลแบบออนไลน์หรือแบบ Real-time จึงกลายเป็นแนวทางที่ได้รับการสนับสนุนในการพัฒนาระบบคุณภาพในระดับปฐมภูมิ^(11,12) ซึ่งในพื้นที่อำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท เป็นอำเภอขนาดเล็กในเขตชุมชนแบบ

ชนบท มีหน่วยบริการสุขภาพรวม 12 แห่ง ได้แก่ หน่วยงานในโรงพยาบาลหนองมะโมง จำนวน 5 แห่ง และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล 7 แห่ง จากการประเมินก่อนเริ่มโครงการ พบว่าบางหน่วยบริการไม่มีระบบบันทึกผลควบคุมคุณภาพภายในอย่างเป็นระบบ บางแห่งมีการประเมินคุณภาพไม่สม่ำเสมอ รวมถึงขาดการกำกับติดตามคุณภาพผลควบคุมคุณภาพภายใน ส่งผลให้เกิดข้อผิดพลาดหรือความคลาดเคลื่อนในการวัดผล ที่อาจส่งผลกระทบต่อการวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยได้

ผู้วิจัยจึงพัฒนาโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ซึ่งเป็นระบบออนไลน์ที่สามารถบันทึกและประเมินผล IQC ได้แบบ Real-time และเริ่มนำร่องใช้ในหน่วยบริการ 12 แห่ง ในเครือข่ายดังกล่าว จากการศึกษาลักษณะของโปรแกรมเบื้องต้นพบว่าโปรแกรมช่วยลดความผิดพลาดในการบันทึกข้อมูล ลดขั้นตอนการทำงานได้ถึงร้อยละ 93 และลดระยะเวลาในการดำเนินการลงร้อยละ 88 เมื่อเปรียบเทียบกับระบบแบบเดิม อีกทั้งยังได้รับความพึงพอใจในระดับสูงจากผู้ใช้งาน⁽¹³⁾ อย่างไรก็ตามแม้จะมีการยืนยันถึงประสิทธิภาพของโปรแกรมในการปรับปรุงกระบวนการทำงานแล้ว แต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยที่ประเมินผลในเชิงประจักษ์ว่า การใช้โปรแกรมดังกล่าวส่งผลต่อความถูกต้องของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) หรือไม่ ทั้งนี้หากค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC ลดลงจะช่วยเพิ่มความแม่นยำมากขึ้น ส่งผลต่อการวินิจฉัยและตัดสินใจรักษาทางคลินิกอย่างถูกต้อง⁽¹⁴⁾ โดยความแม่นยำของผลตรวจในระดับจุดดูแลผู้ป่วย (Point-of-Care) มีความเชื่อมโยงโดยตรงกับการป้องกันการวินิจฉัยผิดพลาด ซึ่งจะมีผลต่อการให้ยาและการรักษาที่ไม่เหมาะสม⁽¹⁵⁾ โดยเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวานรายที่ต้องมีการติดตามการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดอย่างเคร่งครัด ต้องอาศัยข้อมูลที่ถูกต้องและแม่นยำสูง ($\geq 98\%$ within ± 15 mg/dL)^(5,16) ดังนั้นจึงควรมีระบบการบริหารจัดการ POCT รวมถึงการจัดระบบ EQA, IQC ซึ่งระบบสารสนเทศเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยยกระดับความปลอดภัยและคุณภาพของบริการสุขภาพโดยรวม⁽¹⁶⁾ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์

เพื่อประเมินประสิทธิภาพของโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ในการส่งผลกระทบต่อความถูกต้องของผลควบคุมคุณภาพภายในของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา ในเครือข่ายบริการสุขภาพอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ในหน่วยบริการ 12 แห่ง โดยใช้ข้อมูลย้อนหลัง 3 ปี (ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567) เพื่อสนับสนุนการตัดสินใจเชิงนโยบายในการพัฒนาและขยายระบบควบคุมคุณภาพใน โดยใช้โปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ในหน่วยบริการทุกระดับ

วัสดุและวิธีการ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาแบบย้อนหลัง (Retrospective Descriptive Study) เพื่อประเมินประสิทธิภาพของโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ในการลดค่าความคลาดเคลื่อนของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) โดยใช้ข้อมูลย้อนหลัง 3 ปี ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ หน่วยบริการสุขภาพในเครือข่ายอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท ที่มีการใช้งานโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online อย่างต่อเนื่อง ตลอดช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2565-2567 และมีข้อมูลการบันทึกผลการควบคุมคุณภาพภายในที่ครบถ้วนในระบบ โดยการศึกษา ประกอบด้วยผลควบคุมคุณภาพภายใน รวม 1,214 รายการ ที่รายงานจากหน่วยงาน จำนวน 12 แห่ง ในอำเภอหนองมะโมง ได้แก่ หน่วยงานภายในโรงพยาบาลหนองมะโมง 5 หน่วยงาน อาทิ ห้องปฏิบัติการ (LAB) งานห้องฉุกเฉิน (ER) งานห้องคลอด (LR) งานหอผู้ป่วยใน (IPD) และงานบริการปฐมภูมิ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) จำนวน 7 แห่ง ได้แก่ รพ.สต.หนองมะโมง รพ.สต.วังตะเคียน รพ.สต.กุดจอก รพ.สต.สะพานหิน รพ.สต.บ้านวังตะเคียน รพ.สต.บ้านน้ำพุ และรพ.สต.บ้านหนองตะขบ

เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาและแถบทดสอบน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา (ACCU-CHECK, Roche Diabetes Care, Germany) สารควบคุมคุณภาพระดับต่ำ ช่วงค่า 30-60 mg/dL และระดับสูง ช่วงค่า 254-344 mg/dL (ACCU-CHECK Control L2, Roche Diabetes Care, Germany)

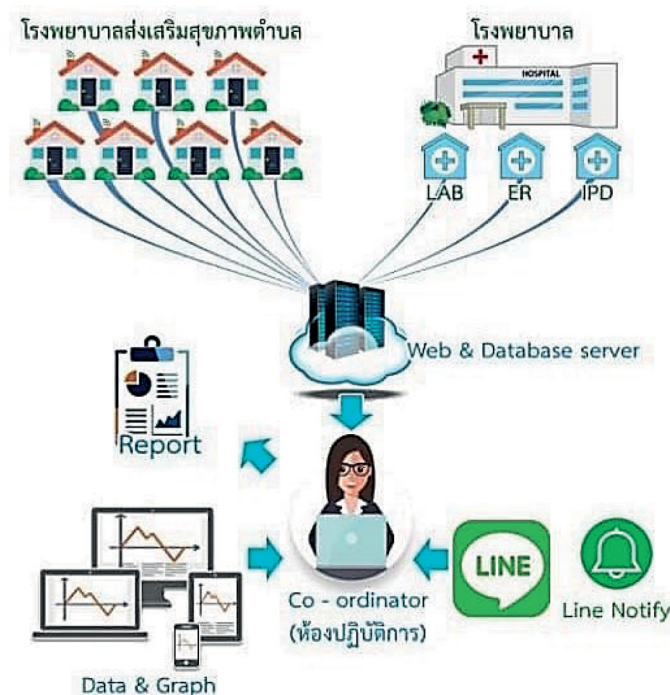
โปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online พัฒนาโดยผู้วิจัยเพื่อใช้ในการบันทึกและวิเคราะห์ผล IQC แบบ Real-time โปรแกรมถูกพัฒนาด้วยภาษา PHP และฐานข้อมูล MySQL ทำงานบนระบบ Webserver Apache ที่ติดตั้งอยู่ในระบบปฏิบัติการ Linux และสามารถเรียกใช้งานผ่านเว็บไซต์ <http://www.nongmamong.com> โปรแกรมมีฟังก์ชันสำหรับบันทึกผลควบคุมคุณภาพจากเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา แสดงผลการประเมินค่าความคลาดเคลื่อนในรูปแบบตัวเลขและกราฟ แจ้งเตือนอัตโนมัติเมื่อค่าความคลาดเคลื่อนเกินเกณฑ์มาตรฐาน และสามารถสรุปผลรายวัน รายเดือน และรายปีได้อย่างเป็นระบบ โดยออกแบบให้โปรแกรมจัดเก็บข้อมูล Serial number ของเครื่องตรวจ Lot number และ Expiry date ของแถบตรวจและสารควบคุมคุณภาพ เชื่อมต่อ Web browser กับ LINE Notify ในการแจ้งเตือนเมื่อมีการบันทึกรายงานผล IQC ออกนอกช่วงที่ยอมรับแถบทดสอบหมดอายุ หรือสารควบคุมคุณภาพหมดอายุ ประมวลผล และวิเคราะห์ค่า Mean, SD, %CV สร้างเป็น Levey-Jennings Control Chart และจัดทำรายงานผลแบบทันที ดังแสดงในภาพที่ 1

ขั้นตอนการใช้งานโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online

เปิด Web browser เช่น Google Chrome หรือ Fire Fox เข้าเว็บไซต์ <http://www.nongmamong.com> บุคลากรผู้รับผิดชอบการควบคุมคุณภาพภายในแต่ละหน่วยงาน เข้าสู่ระบบโดยใช้ Username และ Password เฉพาะบุคคล หลังเข้าสู่ระบบสำเร็จ คลิกปุ่มบันทึกใหม่เพื่อเพิ่มค่ารายการใหม่เข้าระบบ ระบุรายละเอียด ได้แก่ ผลการตรวจวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพระดับต่ำ และผลการตรวจวิเคราะห์สารควบคุม

คุณภาพระดับสูง วันที่ตรวจวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพ
Serial number เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา
Lot number วันหมดอายุของแถบทดสอบ วันที่เปิด

ใช้แถบทดสอบ วันที่เปิดใช้สารควบคุมคุณภาพ และ
ผู้บันทึกรายงานผล



ภาพที่ 1 ระบบการทำงานของโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online

(วาดขึ้นเองโดยนำรูป Icon มาจาก <http://icon-icons.com/icon/wifi-home-house/102155> และ <http://th.ac-illust.com>)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่ออธิบายแนวโน้มของค่าความคลาดเคลื่อนของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ตลอดช่วงเวลา 3 ปี และเปรียบเทียบค่าดังกล่าวระหว่างปีงบประมาณ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งเฉลี่ยต่อปีของการใช้งานโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online กับค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC โดยใช้ Spearman's Rank Correlation Coefficient ซึ่งเหมาะสมสำหรับข้อมูลที่มีขนาดตัวอย่างเล็กที่ไม่จำเป็นต้องแจกแจงแบบปกติ และเป็นข้อมูลอันดับหรือความสัมพันธ์ไม่เชิงเส้นตรง⁽¹⁷⁾ ใช้ Mann-Whitney U test ในการเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างช่วงต้นและช่วงปลายของการใช้โปรแกรม และเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยระหว่างประเภทหน่วยบริการ

สุขภาพ แบ่งเป็น กลุ่มหน่วยงานภายในโรงพยาบาล (5 หน่วยงาน) และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (7 หน่วยงาน) เนื่องจากข้อมูลไม่เป็นการแจกแจงแบบปกติและกลุ่มตัวอย่างเป็นอิสระระหว่างกัน^(18,19) ใช้ Linear Regression วิเคราะห์อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใช้งานโปรแกรม (ตัวแปร X) ต่อค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (ตัวแปร Y) ศึกษาผลของช่วงเวลาที่แตกต่างกันโดยใช้ Dummy Variable Regression (0 = ช่วงต้น, 1 = ช่วงปลาย) ในการวิเคราะห์แนวโน้มและทิศทางของการเปลี่ยนแปลงในค่าความคลาดเคลื่อน^(20,21) และศึกษาความแตกต่างของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยระหว่างหน่วยบริการทั้ง 12 แห่ง โดยใช้ Kruskal-Wallis H test ซึ่งเหมาะสมสำหรับการเปรียบเทียบข้อมูลที่ไม่แจกแจงแบบปกติและกลุ่มมีจำนวนมากกว่า 2 กลุ่ม และกลุ่มตัวอย่างเป็นอิสระระหว่างกันและไม่ต้องการมีการแจกแจงแบบปกติของ

ข้อมูล^(22,23) ดำเนินการโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel และ SPSS Statistics for Windows กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

การวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดชัยนาท หมายเลขอนุมัติ REC No.007/2568E ลงวันที่ 17 เมษายน พ.ศ. 2568

ผล

การเก็บข้อมูล

ในการวิเคราะห์แนวโน้มของค่าความคลาดเคลื่อนของผลควบคุมคุณภาพภายในรายปี ผู้วิจัยได้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลผลการควบคุมคุณภาพภายในรายครั้ง จากโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ซึ่งเป็นระบบฐานข้อมูลออนไลน์ที่ใช้บันทึกผลการควบคุมคุณภาพของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาจากหน่วยบริการสุขภาพในเครือข่ายอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท โดยมีการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลย้อนหลัง ได้แก่ การเปรียบเทียบข้อมูลการบันทึกผลการควบคุมคุณภาพภายในระบบโปรแกรมออนไลน์กับรูปถ่ายค่าผลควบคุมคุณภาพภายในที่แสดงบนหน้าจอเครื่องตรวจที่แต่ละหน่วยบริการส่งเข้าระบบ รวมถึงมีการตรวจสอบค่าผิดปกติ เช่น ค่าที่ออกนอกช่วงที่กำหนด โดยมีการสอบทวนข้อมูลกับหน่วยบริการที่ตรวจวิเคราะห์ในการยืนยันหรือยกเลิกข้อมูลนั้นๆ โดยกลุ่มข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย ผลการตรวจ IQC รายครั้ง จำนวนทั้งสิ้น 1,214 รายการ เป็นค่าผลตรวจ IQC สารควบคุมคุณภาพระดับต่ำ ช่วงค่า 30–60 mg/dL จำนวน 607 ครั้ง และระดับสูง ช่วงค่า 254–344 mg/dL จำนวน 607 ครั้ง ครอบคลุมช่วงเวลา 3 ปีงบประมาณ (พ.ศ. 2565–2567) จากหน่วยบริการ จำนวน 12 แห่ง โดยข้อมูลแต่ละรายการ ประกอบด้วย วันที่ตรวจ หน่วยบริการผู้รายงาน ค่าที่วัดได้ของสารควบคุมคุณภาพระดับความเข้มข้นต่ำ (L1) และค่าที่วัดได้ของสารควบคุมคุณภาพระดับความเข้มข้นสูง (L2) พร้อมค่ากลางมาตรฐาน (Target Value) ซึ่งกำหนดไว้

ล่วงหน้าว่า $L1 = 45 \text{ mg/dL}$ และ $L2 = 299 \text{ mg/dL}$ ค่าความคลาดเคลื่อนในแต่ละระดับถูกคำนวณโดยใช้สูตร $\%Error = (|ค่าที่วัดได้ - ค่าเป้าหมาย| \div ค่าเป้าหมาย) \times 100$ จากนั้นจึงนำค่าความคลาดเคลื่อนของ L1 และ L2 มาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละรายการ แล้วรวบรวมผลเฉลี่ยของรายการทั้งหมดภายในแต่ละปีงบประมาณเพื่อคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยของค่าความคลาดเคลื่อน IQC รายปี (Average Annual Deviation) ของหน่วยงานในโรงพยาบาล จำนวน 5 หน่วยงาน ดังแสดงในตารางที่ 1 และของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) จำนวน 7 แห่ง ดังแสดงในตารางที่ 2

การวิเคราะห์ข้อมูลผลควบคุมคุณภาพภายใน

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ยของค่าความคลาดเคลื่อน (Deviation) ของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) รายปี เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแนวโน้มตลอดช่วงระยะเวลา 3 ปีงบประมาณ (พ.ศ. 2565–2567) จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งเฉลี่ยต่อปีของการใช้งานโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online กับค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC โดยใช้สถิติ Spearman's rank Correlation Coefficient ประเมินความสามารถในการทำนายค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยจากจำนวนครั้งในการใช้งานโปรแกรม โดยการใช้การวิเคราะห์สถิติเชิงถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple Linear Regression) ใช้สถิติ Mann–Whitney U test ในการเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างช่วงต้น (1 ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2566) กับช่วงปลายของระยะเวลาการศึกษา (1 เมษายน พ.ศ. 2566 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2567) นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างกลุ่มหน่วยงาน 2 ประเภท ได้แก่ หน่วยงานภายในโรงพยาบาลและโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) ด้วย Mann–Whitney U test และเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างหน่วยบริการทั้ง 12 แห่ง ด้วย Kruskal–Wallis H test โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดใช้เกณฑ์ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ และดำเนินการด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0 (IBM Corp., Armonk, USA) และ Microsoft Excel

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนครั้งที่รายงานผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) และค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (%) ของ
หน่วยงานในโรงพยาบาล จำนวน 5 หน่วยงาน ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567

หน่วยงาน ภายในโรงพยาบาล	ปีงบประมาณ พ.ศ.	จำนวน รายการ	ค่าความคลาดเคลื่อน เฉลี่ย/ปี L1 (%)	ค่าความคลาดเคลื่อน เฉลี่ย/ปี L2 (%)	ค่าความคลาดเคลื่อน เฉลี่ย L1+L2 (%)
ER	2565	12	9.81	9.09	9.45
ER	2566	12	9.81	9.23	9.52
ER	2567	14	8.73	6.04	7.39
IPD	2565	9	11.85	8.40	10.13
IPD	2566	12	9.07	6.35	7.71
IPD	2567	10	4.89	4.95	4.92
LAB	2565	12	7.96	6.58	7.27
LAB	2566	47	7.42	3.47	5.45
LAB	2567	47	4.54	2.70	3.62
LR	2565	12	5.56	4.65	5.10
LR	2566	12	10.00	5.30	7.65
LR	2567	12	11.30	5.71	8.50
เวชปฏิบัติปฐมภูมิ	2565	9	7.90	2.71	5.31
เวชปฏิบัติปฐมภูมิ	2566	21	7.20	2.76	4.98
เวชปฏิบัติปฐมภูมิ	2567	15	8.30	2.36	5.33

หมายเหตุ: หน่วยงานในโรงพยาบาล จำนวน 5 หน่วยงาน ได้แก่ งานห้องฉุกเฉิน (ER) งานผู้ป่วยใน (IPD) ห้องปฏิบัติการ (LAB) งานห้องคลอด (LR) และงานเวชปฏิบัติปฐมภูมิ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย/ปี L1 (%) คือ ค่าความคลาดเคลื่อนของ
สารควบคุมคุณภาพระดับความเข้มข้นต่ำ ช่วงค่า 30–60 mg/dL เฉลี่ยต่อปี ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย/ปี L2 (%) คือ
ค่าความคลาดเคลื่อนของสารควบคุมคุณภาพระดับความเข้มข้นสูง ช่วงค่า 254–344 mg/dL เฉลี่ยต่อปี

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนครั้งที่รายงานผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) และค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (%) ของ
โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) จำนวน 7 แห่ง ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567

โรงพยาบาลส่งเสริม สุขภาพตำบล	ปีงบประมาณ พ.ศ.	จำนวน รายการ	ค่าความคลาด เคลื่อนเฉลี่ย/ปี L1 (%)	ค่าความคลาดเคลื่อน เฉลี่ย/ปี L2 (%)	ค่าความคลาด เคลื่อนเฉลี่ย L1+L2 (%)
รพ.สต.กุดจอก	2565	11	10.10	6.26	8.18
รพ.สต.กุดจอก	2566	12	5.93	3.12	4.52
รพ.สต.กุดจอก	2567	12	9.44	4.35	6.90
รพ.สต.บ้านน้ำพุ	2565	12	15.93	9.17	12.55
รพ.สต.บ้านน้ำพุ	2566	12	13.33	3.51	8.42
รพ.สต.บ้านน้ำพุ	2567	11	8.28	6.11	7.20
รพ.สต.บ้านวังตะเคียน	2565	24	10.93	7.12	9.02
รพ.สต.บ้านวังตะเคียน	2566	30	5.93	3.27	4.60
รพ.สต.บ้านวังตะเคียน	2567	34	5.75	2.06	3.90
รพ.สต.กุดจอก	2565	11	10.10	6.26	8.18

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนครั้งที่รายงานผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) และค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (%) ของ
โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) จำนวน 7 แห่ง ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567 (ต่อ)

โรงพยาบาลส่งเสริม สุขภาพตำบล	ปีงบประมาณ พ.ศ.	จำนวน รายการ	ค่าความคลาด เคลื่อนเฉลี่ย/ปี L1 (%)	ค่าความคลาดเคลื่อน เฉลี่ย/ปี L2 (%)	ค่าความคลาด เคลื่อนเฉลี่ย L1+L2 (%)
รพ.สต.กุดจอก	2566	12	5.93	3.12	4.52
รพ.สต.กุดจอก	2567	12	9.44	4.35	6.90
รพ.สต.บ้านน้ำพุ	2565	12	15.93	9.17	12.55
รพ.สต.บ้านน้ำพุ	2566	12	13.33	3.51	8.42
รพ.สต.บ้านน้ำพุ	2567	11	8.28	6.11	7.20
รพ.สต.บ้านวังตะเคียน	2565	24	10.93	7.12	9.02
รพ.สต.บ้านวังตะเคียน	2566	30	5.93	3.27	4.60
รพ.สต.บ้านวังตะเคียน	2567	34	5.75	2.06	3.90
รพ.สต.บ้านหนองตะขบ	2565	25	10.93	7.37	9.15
รพ.สต.บ้านหนองตะขบ	2566	13	3.93	2.55	3.24
รพ.สต.บ้านหนองตะขบ	2567	13	10.77	4.09	7.43
รพ.สต.วังตะเคียน	2565	10	9.78	6.96	8.37
รพ.สต.วังตะเคียน	2566	13	3.42	1.70	2.56
รพ.สต.วังตะเคียน	2567	33	6.40	1.91	4.15
รพ.สต.สะพานหิน	2565	11	15.35	3.34	9.35
รพ.สต.สะพานหิน	2566	13	7.18	3.91	5.54
รพ.สต.สะพานหิน	2567	26	7.35	2.87	5.11
รพ.สต.หนองมะโมง	2565	12	13.15	7.89	10.52
รพ.สต.หนองมะโมง	2566	12	7.78	5.82	6.80
รพ.สต.หนองมะโมง	2567	12	12.59	4.52	8.55

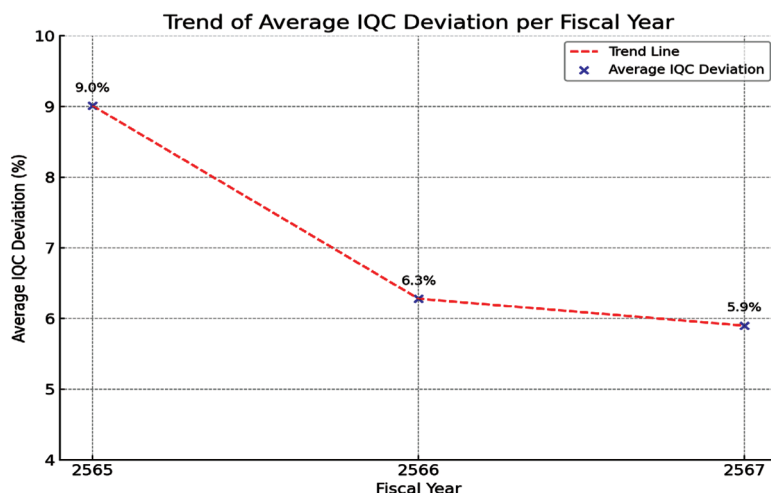
การวิเคราะห์แนวโน้ม (Trend Analysis) ของ ค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC เฉลี่ยรายปี

ในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567 ค่า
ความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC มีแนวโน้มลดลง
อย่างชัดเจน โดยปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 มีค่าเฉลี่ย

9.01% ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ลดลงเหลือ 6.28%
และลดลงต่อเนื่องเป็น 5.90% ในปีงบประมาณ พ.ศ.
2567 แนวโน้มดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าความคลาดเคลื่อน
ของผล IQC ลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่ศึกษา
ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยผล IQC ของหน่วยงานทั้ง 12 แห่ง (หน่วยงานภายในโรงพยาบาล
หนองมะโมง จำนวน 5 หน่วยงาน และ รพ.สต. จำนวน 7 แห่ง) ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567

ปีงบประมาณ พ.ศ.	จำนวนหน่วยบริการ	จำนวนรายการ	ค่าความคลาดเคลื่อน เฉลี่ยรวม/ปี (%)
2565	12	402	9.01
2566	12	406	6.28
2567	12	406	5.90



ภาพที่ 2 แสดงแนวโน้มค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC ของหน่วยงานทั้ง 12 แห่ง (หน่วยงานภายในโรงพยาบาลหนองมะโมง จำนวน 5 หน่วยงาน และ รพ.สต. จำนวน 7 แห่ง) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้ง
การใช้งานโปรแกรมกับค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย
ของผล IQC รายปี

การวิเคราะห์นี้ใช้ข้อมูลระดับหน่วยบริการ 12
แห่ง โดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ยจำนวนครั้งการใช้งาน
โปรแกรมต่อปีกับค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนของผล
IQC รายปีแบบรวม 3 ปีต่อ 1 หน่วยบริการ ตลอดช่วง
ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567 ทำการวิเคราะห์ความ
สัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งเฉลี่ยต่อปีของการใช้งาน
โปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter
IQC Online กับค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล
ควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) โดยใช้สถิติ Spear-
man's Rank Correlation Coefficient เนื่องจาก
ข้อมูลที่ใช้เป็นข้อมูลเชิงอันดับหรือข้อมูลเชิงปริมาณ
ที่อาจไม่เป็นไปตามการแจกแจงแบบปกติและมีขนาด
ตัวอย่างที่จำกัด ($N = 12$) ดังแสดงในตารางที่ 4
ซึ่ง Spearman's Correlation มีความเหมาะสม

สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร
ที่ไม่เป็นเชิงเส้น และสามารถสะท้อนแนวโน้มของ
ข้อมูลในกลุ่มขนาดเล็กได้ดี ในกรณีนี้ค่าสัมประสิทธิ์
ความสัมพันธ์ (r_s) ที่ได้เท่ากับ 0.366 และค่า
 p -value = 0.016 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ
 $p < 0.05$ ดังแสดงในตารางที่ 5 แสดงถึงความสัมพันธ์
ทางบวกระดับต่ำที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างความถี่
ในการใช้งานโปรแกรมฯ กับค่าความคลาดเคลื่อน
ของผล IQC รายปีตามเกณฑ์การแบ่งระดับความสัมพันธ์
(Strength of Correlation)⁽²⁴⁾ ดังแสดงในตารางที่ 6
กล่าวคือหน่วยงานที่มีการรายงานผล IQC บ่อยครั้งมี
แนวโน้มที่จะควบคุมค่าความคลาดเคลื่อนได้ดีขึ้น โดย
ค่าความคลาดเคลื่อนของผลการตรวจมีแนวโน้มลดลง
ตามความถี่ในการใช้งานโปรแกรมที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ถึงแม้ว่า
ลักษณะของความสัมพันธ์ทางบวกที่พบเป็นความสัมพันธ์
ระดับต่ำ แต่ก็สามารถสะท้อนให้เห็นถึงแนวโน้มในทางที่ดี
ของการบริหารจัดการระบบควบคุมคุณภาพด้วย
โปรแกรมฯ อย่างต่อเนื่อง

ตารางที่ 4 จำนวนครั้งในการใช้งานโปรแกรมและค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยรวมของหน่วยบริการ ช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567

ตัวแปรที่ศึกษา	จำนวนคู่ข้อมูล (N)	r_s	p-value
ความถี่ในการใช้งานโปรแกรม IQC Online ต่อปี กับค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC	12	0.366	0.016

หมายเหตุ: r_s = Spearman's Rank Correlation Coefficient แสดงระดับความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ในการใช้งานโปรแกรม
กับค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC โดยค่าที่ได้ ($r_s = 0.366$) สื่อถึงความสัมพันธ์ทางบวกระดับต่ำและมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ในการใช้งานโปรแกรมกับค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC โดยใช้ Spearman's Rank Correlation ช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567

หน่วยงาน	จำนวนการใช้งานเฉลี่ย/ปี	ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยรวม/ปี (%)
ER	12	8.79
IPD	10	7.59
LAB	47	5.45
LR	12	7.42
เวชปฏิบัติปฐมภูมิ	15	5.21
รพ.สต. กุดจอก	12	6.53
รพ.สต. บ้านน้ำพุ	12	9.39
รพ.สต. บ้านวังตะเคียน	29	5.84
รพ.สต. บ้านหนองตะขบ	17	6.61
รพ.สต. วังตะเคียน	19	5.36
รพ.สต. สะพานหิน	17	6.67
รพ.สต. หนองมะโมง	12	8.62

ตารางที่ 6 แสดงเกณฑ์กำหนดการแปลค่าความสัมพันธ์ของค่าสหสัมพันธ์ (r หรือ r_s)

ค่า r หรือ r_s	ระดับความสัมพันธ์	ความหมาย
0.00–0.19	ไม่มี หรือ ต่ำมาก	แทบไม่มีความสัมพันธ์
0.20–0.39	ต่ำ	ความสัมพันธ์น้อย
0.40–0.59	ปานกลาง	ความสัมพันธ์ปานกลาง
0.60–0.79	สูง	ความสัมพันธ์สูง
0.80–1.00	สูงมาก	ความสัมพันธ์แน่นแฟ้น

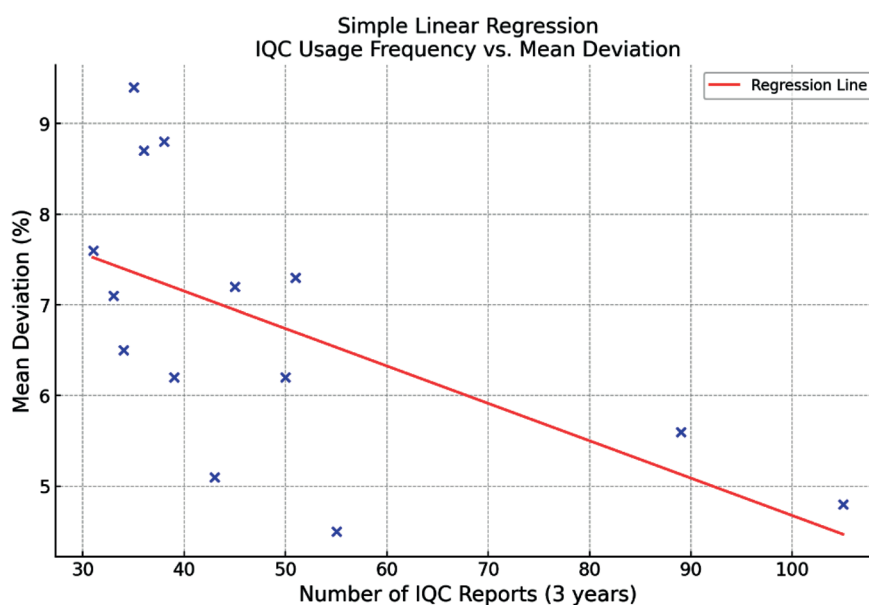
การศึกษาแนวโน้มในการทำนายค่าความคลาดเคลื่อน
เฉลี่ยของผล IQC จากจำนวนครั้งที่หน่วยบริการใช้
งานโปรแกรม

ใช้ข้อมูลหน่วยบริการ 12 แห่ง โดยพิจารณา
จากจำนวนครั้งที่หน่วยงานนั้นๆ รายงานผล IQC ผ่าน
โปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC
Online และค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนของผล IQC ใน

ระยะเวลา 3 ปีงบประมาณ (พ.ศ. 2565–2567) วิเคราะห์
สถิติเชิงถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple Linear
Regression) ศึกษาผลของจำนวนครั้งการใช้งาน
โปรแกรม IQC Online ที่มีต่อค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย
ของผล IQC รายปี เพื่อทำนายว่าจำนวนครั้งในการใช้งาน
โปรแกรมมีแนวโน้มส่งผลให้ค่าความคลาดเคลื่อนลดลง
กำหนดตัวแปรต้น (X) คือ จำนวนครั้งใช้งานโปรแกรมใน

ระยะเวลา 3 ปี ตัวแปรตาม (Y) คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC (%) ผลการวิเคราะห์พบว่าจำนวนครั้งที่ใช้งานโปรแกรมมีอิทธิพลทางลบต่อค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($R^2 = 0.407$, $p = 0.026$, $\beta = -0.044$) ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยโมเดลสามารถอธิบายความแปรปรวนของค่าความคลาดเคลื่อนได้ $R^2 = 0.407$ หรือประมาณ 40.7% ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับปานกลาง ดังแสดงในตารางที่ 7 และมีแนวโน้มที่ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยจะลดลงเมื่อจำนวนการใช้งานโปรแกรมเพิ่มขึ้น กล่าวคือ ทุกการเพิ่มขึ้นของความถี่ในการใช้งานโปรแกรม 1 ครั้ง จะสัมพันธ์กับการลดลงของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย

ประมาณ 0.044% โดยค่าคงที่ (intercept) เท่ากับ 9.00 หมายความว่าหากไม่มีการใช้งานโปรแกรมเลย คาดว่าค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 9.00% ผลการวิเคราะห์นี้สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบ Spearman ที่แสดงให้เห็นว่าจำนวนครั้งในการใช้งานโปรแกรมมีความสัมพันธ์ทางลบระดับต่ำกับการลดค่าความคลาดเคลื่อน ($r_s = 0.366$, $p = 0.016$) กล่าวคือหน่วยงานที่มีการรายงานผล IQC บ่อยครั้งมีแนวโน้มที่จะควบคุมค่าความคลาดเคลื่อนได้ดีขึ้น นั่นคือจำนวนครั้งการใช้งานสัมพันธ์ในทิศทางบวกกับการลดความคลาดเคลื่อน ซึ่งเป็นผลดีในเชิงระบบการควบคุมคุณภาพ



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งที่หน่วยบริการใช้งานโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ตลอดระยะเวลา 3 ปีงบประมาณ (พ.ศ. 2565–2567) กับค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC)

ตารางที่ 7 แสดงการตีความค่า R^2

ค่า R^2	ระดับการอธิบาย	แปลความ
≥ 0.7	สูงมาก	โมเดลสามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้ดี
$0.4-0.7$	ปานกลาง	โมเดลมีความสามารถในการอธิบายข้อมูลในระดับปานกลาง
$0.2-0.4$	ต่ำถึงปานกลาง	โมเดลมีความสามารถในการอธิบายข้อมูลต่ำถึงปานกลาง
< 0.2	ต่ำมาก	โมเดลมีความสามารถในการอธิบายข้อมูลต่ำมาก

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าความคลาดเคลื่อนระหว่าง ช่วงต้นและช่วงปลายของระยะเวลาศึกษา

วิเคราะห์ข้อมูล 2 กลุ่ม ได้แก่ ช่วงต้น 18 เดือนแรก
ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ถึงต้นปีงบประมาณ
พ.ศ. 2566 (1 ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ.
2566) ($N_1 = 244$) กับช่วงปลาย 18 เดือนหลัง ในปลาย
ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ถึง ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567
(1 เมษายน พ.ศ. 2566 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2567)
($N_2 = 363$) รวมข้อมูลทั้งสิ้น 607 ค่า โดยใช้สถิติ
Mann-Whitney U test กำหนดนัยสำคัญที่ $p < 0.05$
เปรียบเทียบการจัดอันดับ (ranks) ของข้อมูลสองกลุ่ม
เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนระหว่างช่วงต้น
และช่วงปลายผลการศึกษา พบว่าค่าเฉลี่ยค่าความ
คลาดเคลื่อนในช่วงต้น เท่ากับ 7.93% (SD = 3.86%)
และในช่วงปลาย เท่ากับ 5.28% (SD = 3.34%)

ผลการทดสอบด้วย Mann-Whitney U test พบว่า
ค่า $U = 62,380.5$ และค่า $p < 0.001$ แสดงให้เห็นว่า
ค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างสองช่วงเวลามีความ
แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดง
ในตารางที่ 8 และภาพที่ 4 สะท้อนว่าการใช้โปรแกรม
Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online
มีผลต่อการลดค่าความคลาดเคลื่อนของผลการควบคุม
คุณภาพภายในระดับปานกลาง (Effect Size (r) =
0.345) กล่าวคือ โปรแกรมมีอิทธิพลอย่างชัดเจน
ต่อการพัฒนาความถูกต้องของผลควบคุมคุณภาพภายใน
แต่ยังไม่ถึงระดับผลขนาดใหญ่ ตามการแปลค่า Effect
Size (r) ตามมาตรฐาน Cohen⁽²⁵⁾ ในการวัดขนาด
ของผล (Magnitude of Effect) หรือความแรง
ของความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มโดยไม่ขึ้นอยู่กับขนาด
ตัวอย่าง (N) ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC รายปี ระหว่างช่วงต้น (1 ตุลาคม พ.ศ.
2564 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2566) และช่วงปลาย (1 เมษายน พ.ศ. 2566 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2567)
ของระยะเวลาที่ศึกษา

ช่วงเวลา	จำนวนข้อมูล (N)	Mean $\pm$ SD (%)	U	p-value	Effect Size (r)
ช่วงต้น	$N_1 = 244$	7.93 $\pm$ 3.86	N/A	N/A	N/A
ช่วงปลาย	$N_2 = 363$	5.28 $\pm$ 3.34	N/A	N/A	N/A
ผลการทดสอบด้วย Mann-Whitney U test	N/A	N/A	62,380.5	< 0.001	0.345

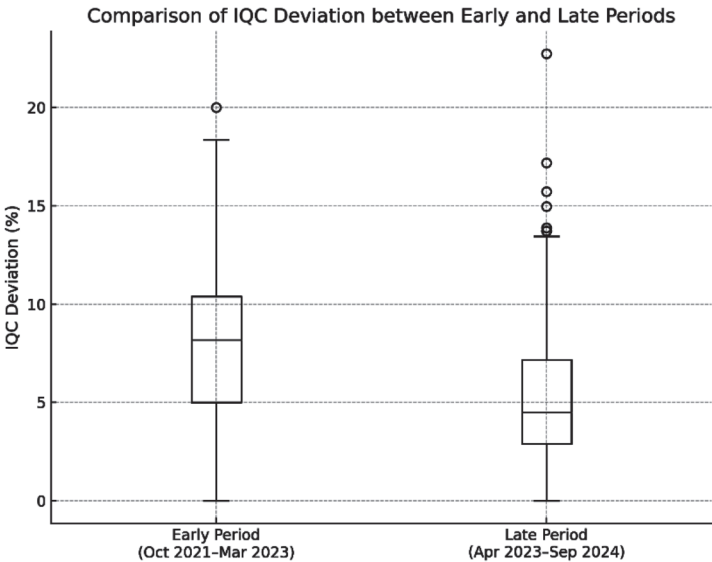
หมายเหตุ: N: จำนวนข้อมูลในแต่ละกลุ่มที่นำมาวิเคราะห์, Mean $\pm$ SD: ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความคลาดเคลื่อน
ในแต่ละช่วงเวลา, U: ค่าสถิติจาก Mann-Whitney U test ใช้เปรียบเทียบค่าระหว่างสองกลุ่มอิสระที่ข้อมูลไม่แจกแจง
แบบปกติ, p-value: ค่าความน่าจะเป็นในการปฏิเสธสมมติฐานว่าง ($p < 0.05$) และ Effect Size (r): ขนาดของอิทธิพล
คำนวณจาก $Z/\sqrt{N}$ บ่งชี้ความแรงของผลโดยเกณฑ์ของ Cohen

ทั้งนี้เพื่อยืนยันและศึกษาทิศทางของผลเพิ่มเติม
จึงได้ทำการวิเคราะห์ด้วยสถิติ Linear Regression
เพื่อตรวจสอบอิทธิพลของช่วงเวลาที่มิต่อค่าความ
คลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC โดยกำหนดให้ตัวแปรต้น
(Independent Variable) คือ ช่วงเวลา (0 = ช่วงต้น,
1 = ช่วงปลาย) และตัวแปรตาม (Dependent Variable)
คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC (%) ผลการ
วิเคราะห์พบว่าค่าเฉลี่ยในช่วงต้น (intercept) เท่ากับ
9.13% และค่าความคลาดเคลื่อนในช่วงปลายลดลง

เฉลี่ย 2.65% ($\beta = -2.65$, $p < 0.001$) เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงต้น โดยโมเดลสามารถอธิบายความแปรปรวนของ
ค่าความคลาดเคลื่อนได้ในระดับปานกลาง ($R^2 = 0.118$)
ดังแสดงในตารางที่ 10 การแปลผลในเชิงปฏิบัติสะท้อนว่า
การใช้งานโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose
Meter IQC Online อย่างต่อเนื่องในช่วงปลาย ส่งผลให้
เกิดการลดค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ผลนี้สนับสนุนว่า
การดำเนินงานที่ต่อเนื่องของโปรแกรมนั้น ส่งผลต่อ

การลดความคลาดเคลื่อนของผล IQC ในทางปฏิบัติ ผลลัพธ์นี้จึงสนับสนุนข้อค้นพบจากสถิติ Mann-Whitney U test ที่พบความแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญเช่นกัน ($p < 0.001$, $r = 0.345$) สอดคล้องกันทั้งในเชิงการเปรียบเทียบกลุ่มและการพยากรณ์แนวโน้มของค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC



ภาพที่ 4 แสดงการกระจายของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC ระหว่างช่วงต้น (1 ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2566) และช่วงปลาย (1 เมษายน พ.ศ. 2566 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2567) ของการศึกษา

ตารางที่ 9 แสดงการแปลค่า Effect Size (r) ตามมาตรฐาน Cohen⁽²⁵⁾

ค่า Effect Size (r)	ขนาดของผล (Effect Size)
0.10–0.29	เล็ก (small effect)
0.30–0.49	ปานกลาง (medium effect)
0.50 ขึ้นไป	ใหญ่ (large effect)

ตารางที่ 10 แสดงผลการวิเคราะห์ Linear Regression เปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างช่วงต้นและปลาย

ตัวแปรอิสระ	ขนาดตัวอย่าง (N)	สัมประสิทธิ์ (β)	p-value	R ²	ค่า Intercept
ช่วงเวลา (0 = ต้น, 1 = ปลาย)	607	-2.65	< 0.001	0.118	9.13

หมายเหตุ: ช่วงเวลา คือ ตัวแปรอิสระที่ใช้ในการวิเคราะห์ถดถอย โดยกำหนดรหัส 0 = ช่วงต้นของการศึกษา (1 ตุลาคม พ.ศ. 2564 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2566), 1 = ช่วงปลายของการศึกษา (1 เมษายน พ.ศ. 2566 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2567), β (Beta Coefficient) คือ ค่าสัมประสิทธิ์ถดถอยแสดงผลของตัวแปรอิสระต่อค่าตัวแปรตาม โดยในที่นี้ค่า $\beta = -2.65$ หมายถึง การเปลี่ยนจากช่วงต้นไปยังช่วงปลายมีผลให้ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC ลดลงเฉลี่ย 2.65%, p-value คือ ค่าความน่าจะเป็นที่ใช้ทดสอบนัยสำคัญทางสถิติโดยค่า $p < 0.001$ หมายความว่าผลที่ได้มีนัยสำคัญทางสถิติในระดับสูง, R² (R-squared) คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ แสดงสัดส่วนของความแปรปรวนในตัวแปรตามที่สามารถอธิบายได้โดยตัวแปรอิสระ ซึ่งในที่นี้ R² = 0.118 หมายความว่า โมเดลสามารถอธิบายความแปรปรวนของค่าความคลาดเคลื่อนได้ประมาณ 11.8% ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับปานกลาง, Intercept (ค่าคงที่) คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยที่คาดการณ์ได้ในช่วงต้นเมื่อยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ (ช่วงเวลา = 0) โดยในที่นี้มีค่าเท่ากับ 9.13%

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกลุ่ม 5 หน่วยงาน
ภายในโรงพยาบาลหนองมะโมงกับกลุ่มโรงพยาบาล
ส่งเสริมสุขภาพตำบล 7 แห่ง ที่เข้าร่วม

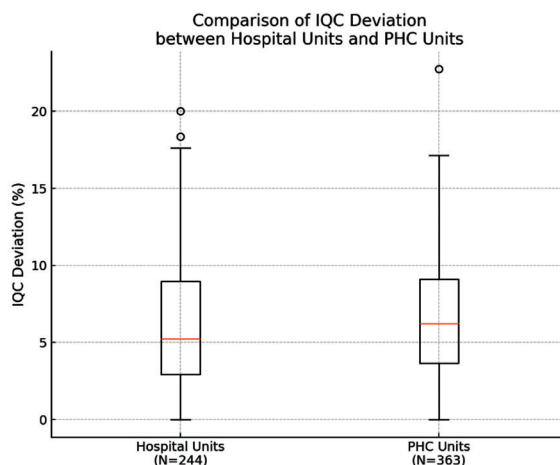
ทำการเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย
ของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ระหว่างสองกลุ่ม
คือ กลุ่มหน่วยงานภายในโรงพยาบาล 5 หน่วยงาน และ
กลุ่มโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) 7 แห่ง
โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test เนื่องจากข้อมูล
ไม่เป็นการแจกแจงปกติและเป็นการเปรียบเทียบข้อมูล
ระหว่างสองกลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน โดยมีขนาดตัวอย่าง
ระหว่างกลุ่มไม่เท่ากัน กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่
 $p < 0.05$ ผลการวิเคราะห์พบว่าค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย
ของหน่วยงานโรงพยาบาล เท่ากับ 6.11% (SD = 3.99%,
N = 244) ขณะที่กลุ่ม รพ.สต. มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.51%

(SD = 3.63%, N = 363) ผลการทดสอบด้วย Mann-
Whitney U test พบว่าค่า U = 40,931.0 และค่า
 $p = 0.061$ แสดงให้เห็นว่าไม่พบความแตกต่างอย่าง
มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองกลุ่ม ดังแสดงใน
ตารางที่ 11 และภาพที่ 5 อีกทั้งขนาดของผล (Effect
Size) อยู่ในระดับเล็กน้อย (Effect Size (r) = 0.076)
ตามเกณฑ์การแปลของ Cohen แสดงถึงความแตกต่าง
ระหว่างสองกลุ่มมีขนาดเล็กมาก จนไม่ส่งผลในทางปฏิบัติ
บ่งชี้ว่าโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose
Meter IQC Online มีประสิทธิภาพ ในการลด
ค่าความคลาดเคลื่อนอย่างครอบคลุมเท่าเทียมกัน
ทุกประเภทหน่วยงานทั้งในโรงพยาบาลหนองมะโมง
และ รพ.สต.

ตารางที่ 11 สรุปผลการเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อน IQC ระหว่างกลุ่มหน่วยงานภายในโรงพยาบาลหนองมะโมง
และกลุ่มโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) ที่เข้าร่วม

กลุ่ม	จำนวนข้อมูล (N)	ค่าเฉลี่ย (%)	SD (%)	U	p-value	Effect Size (r)
หน่วยงานในโรงพยาบาล หนองมะโมง	244	6.11	3.99	N/A	N/A	N/A
รพ.สต.	363	6.51	3.63	N/A	N/A	N/A
ผลการทดสอบด้วย Mann-Whitney U test	N/A	N/A	N/A	40931.0	0.061	0.076

หมายเหตุ: N: จำนวนข้อมูลในแต่ละกลุ่มที่นำมาวิเคราะห์, SD: ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความคลาดเคลื่อน, U: ค่าสถิติจาก
Mann-Whitney U test ใช้เปรียบเทียบค่าระหว่างสองกลุ่มอิสระที่ข้อมูลไม่แจกแจงแบบปกติ, p-value: ค่าความน่าจะเป็น
ที่ผลลัพธ์จะเกิดขึ้นโดยบังเอิญ หากค่า $p < 0.05$ แสดงว่าผลต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Effect Size (r): ใช้แสดงขนาด
ของอิทธิพลหรือผลของความแตกต่าง โดย $r = 0.076$ จัดอยู่ในระดับต่ำมาก (น้อยกว่า 0.1) ตามเกณฑ์การแปลของ Cohen



ภาพที่ 5 แสดงการกระจายของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC ระหว่างกลุ่มหน่วยงานโรงพยาบาล
หนองมะโมงและกลุ่มโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (PHC units)

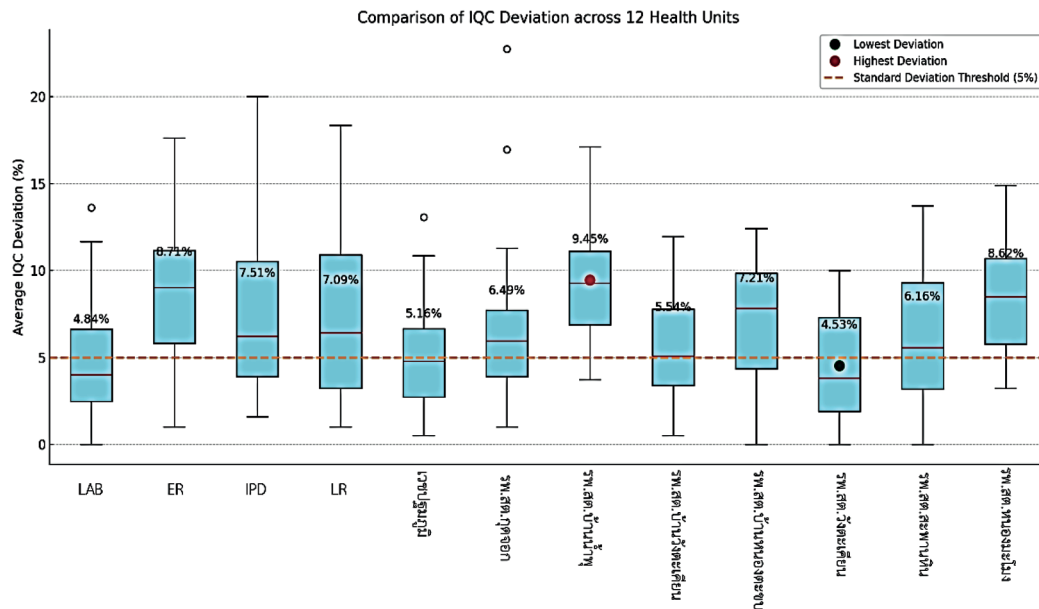
การเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างหน่วยงาน 12 แห่ง

เพื่อศึกษาความแตกต่างของประสิทธิภาพการควบคุมคุณภาพภายในระหว่างหน่วยงานแต่ละแห่ง โดยใช้สถิติ Kruskal-Wallis H test เนื่องจากข้อมูลเป็นข้อมูลเชิงปริมาณที่ไม่จำเป็นต้องแจกแจงแบบปกติ และมีจำนวนกลุ่มมากกว่า 2 กลุ่ม กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบจากข้อมูลค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยที่คำนวณจากการวัดระดับ IQC L1 และ L2 ของหน่วยงาน 12 แห่งในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2565–2567 ดังแสดงในตารางที่ 12 และภาพที่ 6 ในการแสดงผลการเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผลการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ของแต่ละหน่วยบริการได้กำหนดเกณฑ์ค่าอ้างอิงที่ระดับ 5% เพื่อใช้เป็นเกณฑ์พิจารณาความเหมาะสมของค่าความคลาดเคลื่อนดังกล่าว โดยพิจารณา

การกำหนดเส้นอ้างอิงที่ 5% จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงเกณฑ์ความเบี่ยงเบนที่เข้มงวดให้สะท้อนถึงการควบคุมคุณภาพภายในที่มีประสิทธิภาพสูง หน่วยบริการที่มีค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยต่ำกว่าหรือใกล้เคียงเส้นอ้างอิงนี้ ถือว่ามีประสิทธิภาพในการดำเนินการในระดับที่น่าพึงพอใจ ในขณะที่หน่วยที่มีค่าความคลาดเคลื่อนสูงกว่าเกณฑ์ดังกล่าว อาจต้องมีการปรับปรุงกระบวนการควบคุมคุณภาพเพิ่มเติม เพื่อยกระดับคุณภาพการดูแลผู้ป่วยและลดความเสี่ยงจากความผิดพลาดในการตรวจวัด การศึกษาพบว่าค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC ระหว่างหน่วยงาน 12 แห่ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($H = 94.70, p < 0.001$) และมีขนาดของอิทธิพล (Effect Size; η^2) เท่ากับ 0.141 ดังแสดงในตารางที่ 13 ซึ่งจัดอยู่ในระดับใหญ่ (Large Effect Size)⁽²⁷⁾ ดังแสดงในตารางที่ 14 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างที่มีนัยสำคัญระหว่างหน่วยบริการ

ตารางที่ 12 สรุปค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC รายหน่วยงาน

หน่วยงาน	จำนวนข้อมูล (N)	ความคลาดเคลื่อน เฉลี่ย (%)	มัธยฐาน (%)	SD (%)	ค่าน้อยที่สุด (%)	ค่าสูงที่สุด (%)
ER	38	8.71	9.01	4.05	1.00	17.63
IPD	31	7.51	6.24	4.86	1.61	20.02
LAB	106	4.84	4.01	3.05	0.00	13.63
LR	36	7.09	6.43	4.77	1.00	18.35
เวชปฏิบัติปฐมภูมิ	45	5.16	4.78	3.06	0.50	13.07
รพ.สต. กุดจอก	35	6.49	5.95	4.21	1.00	22.75
รพ.สต. บ้านน้ำพุ	35	9.45	9.28	3.56	3.73	17.13
รพ.สต. บ้านวังตะเคียน	88	5.54	5.09	2.80	0.50	11.96
รพ.สต. บ้านหนองตะขบ	51	7.21	7.84	3.27	0.00	12.40
รพ.สต. วังตะเคียน	56	4.53	3.84	3.08	0.00	10.01
รพ.สต. สะพานหิน	50	6.16	5.56	3.80	0.00	13.74
รพ.สต. หนองมะโมง	36	8.62	8.51	3.09	3.23	14.91



ภาพที่ 6 แสดงการกระจายของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC แยกตามหน่วยงาน 12 แห่ง

ตารางที่ 13 การเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC ระหว่างหน่วยงาน 12 แห่ง โดยใช้ Kruskal-Wallis H test

รายการ	ค่า
ค่าสถิติ Kruskal-Wallis (H)	94.70
ค่า p-value	1.990e-15
จำนวนกลุ่ม (k)	12
จำนวนข้อมูลรวม (n)	607
ขนาดของอิทธิพล (Effect Size; η^2)	0.141

หมายเหตุ: ค่า H คือ ค่าสถิติจากการทดสอบ Kruskal-Wallis H test ซึ่งใช้สำหรับตรวจสอบความแตกต่างของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยระหว่างกลุ่มหน่วยบริการมากกว่า 2 กลุ่ม, p-value แสดงระดับนัยสำคัญทางสถิติ หาก $p < 0.05$ หมายความว่า ความแตกต่างที่พบมีนัยสำคัญทางสถิติ, Effect Size (η^2) คือ ขนาดของอิทธิพลในการวัดความแรงของผลที่เกิดขึ้น โดยค่า 0.141 จัดอยู่ในระดับขนาดใหญ่ (Large Effect) ตามเกณฑ์ของ Tomczak & Tomczak (2014) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มมีความชัดเจนอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 14 การตีความค่า Eta squared (η^2) ตามเกณฑ์มาตรฐานของ Tomczak & Tomczak⁽²⁶⁾

ค่า η^2	การตีความ
0.01	ขนาดเล็ก (Small Effect)
0.06	ขนาดปานกลาง (Medium Effect)
0.14	ขนาดใหญ่ (Large Effect)

วิจารณ์

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online มีประสิทธิภาพอย่างชัดเจนในการลดค่าความคลาดเคลื่อนของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา โดยพบว่าแนวโน้มค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 3 ปี จาก 9.01% ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 เหลือเพียง 5.90% ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 สอดคล้องกับแนวทางของ Clinical and Laboratory Standards Institute⁽⁹⁾ ที่เน้นว่าการควบคุมคุณภาพที่มีประสิทธิภาพควรส่งผลให้ค่าความคลาดเคลื่อนลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยที่ลดลงจาก 9.01% เหลือ 5.90% นั้น สะท้อนถึงความแม่นยำของผลตรวจที่ดีขึ้นซึ่งมีความสำคัญต่อการวินิจฉัยและติดตามภาวะเบาหวานอย่างถูกต้อง ลดความเสี่ยงจากการให้การรักษาที่คลาดเคลื่อน รวมทั้งช่วยสร้างความมั่นใจให้กับผู้ปฏิบัติงานและผู้ป่วย เสริมประสิทธิภาพการดูแลรักษาในระบบบริการสุขภาพระดับปฐมภูมิและทุติยภูมิได้อย่างมีนัยสำคัญ การเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างช่วงต้นและช่วงปลายของการใช้โปรแกรม พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Mann-Whitney $N = 607$, $U = 62,380.5$, $p < 0.001$, $r = 0.345$) โดยมีขนาดอิทธิพลในระดับปานกลาง สอดคล้องกับ Mathew TK และ Zubair M⁽²⁷⁾ ซึ่งรายงานว่าการเสริมระบบรายงานผล IQC แบบเรียลไทม์สามารถลดความคลาดเคลื่อนของผลตรวจได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยผลของ Effect Size ระดับปานกลาง ($r = 0.345$) บ่งชี้ว่าโปรแกรมมีศักยภาพเชิงระบบ ในการช่วยให้หน่วยบริการสามารถดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในได้อย่างมีประสิทธิภาพ และผลที่ได้สามารถนำไปปรับใช้ในเชิงนโยบาย เพื่อพัฒนาแนวทางการใช้ระบบรายงานผลควบคุมคุณภาพแบบออนไลน์ ให้เป็นมาตรฐานร่วมของหน่วยบริการที่มีการใช้เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดแบบพกพา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระดับปฐมภูมิซึ่งมักขาดระบบควบคุมคุณภาพที่ชัดเจน สอดคล้องกับการวิเคราะห์ผลด้วยสถิติ Linear Regression เพื่อยืนยันแนวโน้มการลดลงของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของผล IQC

จากช่วงต้นไปยังช่วงปลายของระยะเวลาการศึกษาที่สอดคล้องกับการใช้งานโปรแกรมอย่างต่อเนื่องที่บ่งชี้ว่า ในช่วงปลายค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยลดลงโดยเฉลี่ย 2.65% เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงต้น และมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างชัดเจน ค่า R^2 เท่ากับ 0.118 แสดงว่าโมเดลสามารถอธิบายความแปรปรวนของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยได้ประมาณ 11.8% ซึ่งอยู่ในระดับปานกลางแม้จะไม่ได้แสดงถึงความครอบคลุมของทุกปัจจัย แต่เพียงพอในการสะท้อนอิทธิพลของช่วงระยะเวลาการใช้งานโปรแกรมที่ต่อเนื่องต่อการลดค่าความคลาดเคลื่อน ผลลัพธ์นี้จึงสนับสนุนข้อสมมติฐานของการวิจัยที่ว่า การใช้งานโปรแกรมอย่างต่อเนื่องในระยะยาวมีแนวโน้มช่วยลดค่าความคลาดเคลื่อนได้อย่างมีนัยสำคัญ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งที่ใช้งานโปรแกรมกับค่าความคลาดเคลื่อนของผล IQC พบว่ามีความสัมพันธ์ทางบวกระดับต่ำอย่างมีนัยสำคัญ ($N = 12$, $r_s = 0.366$, $p = 0.016$) สอดคล้องกับรายงานของ Rghioui A และคณะ ที่พบว่าจำนวนครั้งในการทำ IQC มีความสัมพันธ์กับความแม่นยำของผลตรวจที่ดีขึ้นในระบบเฝ้าระวังแบบอัจฉริยะ⁽²⁸⁾

อย่างไรก็ตามการที่จำนวนครั้งการใช้งานโปรแกรมมีความสัมพันธ์กับความคลาดเคลื่อนของผล IQC ในระดับต่ำชี้ให้เห็นว่าการใช้โปรแกรมบ่อยๆ เพียงอย่างเดียวไม่ได้ยืนยันว่าจะลดความคลาดเคลื่อนของผล IQC ได้อย่างมีนัยสำคัญ ในเชิงบริหารจัดการระบบสามารถอธิบายได้ว่า แม้มีการนำโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online มาใช้ในการช่วยรวบรวมวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Real-time แจ้งเตือน เมื่อผลควบคุมคุณภาพผิดปกติ ลดข้อผิดพลาดในการจดบันทึก และเพิ่มความสะดวกในการติดตามผล แต่ยังคงต้องให้ความสำคัญกับปัจจัยพื้นฐานอื่นๆ ด้วย เช่น การบำรุงรักษาเครื่องตรวจอย่างสม่ำเสมอ การฝึกอบรมบุคลากรให้ปฏิบัติตามขั้นตอน IQC อย่างถูกต้อง การใช้สารควบคุมคุณภาพที่เหมาะสม และการตรวจสอบผลลัพธ์ที่ผิดปกติอย่างทันทั่วทั้งที่ ปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีบทบาทต่อความถูกต้องของผล IQC เป็นอย่างมาก ในขณะที่โปรแกรม IQC Online ทำหน้าที่เป็นเครื่องมือช่วยรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อสนับสนุนการ

ตัดสินใจ จากการวิเคราะห์เพิ่มเติมด้วยสถิติเชิงถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple Linear Regression) พบว่าโมเดลสามารถอธิบายค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยได้ 40.7% ($N = 12$, $R^2 = 0.407$, $p = 0.026$) ซึ่งถือว่ามีความสามารถในการทำนายในระดับปานกลาง สอดคล้องกับ Frost J⁽²⁹⁾ ที่อธิบายว่า ค่า $R^2 = 0.3-0.5$ อาจถือว่าดีแล้วในสาขาที่มีความซับซ้อน เช่น สาธารณสุขหรือสังคมศาสตร์ โดยเน้นว่าการตีความค่า R^2 ต้องดูบริบทและควรพิจารณาพร้อมกับ p -value โดยทุกการเพิ่มขึ้นของจำนวนครั้งการใช้งานโปรแกรม 1 ครั้ง จะสัมพันธ์กับการลดลงของค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยประมาณ 0.044% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการที่โมเดลถดถอยสามารถอธิบายได้เพียง 40.7% นั้นสะท้อนให้เห็นว่ายังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เหลืออีก 59.3% ที่อาจส่งผลต่อคุณภาพความแม่นยำของผลตรวจน้ำตาลในเลือดจากเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาได้แก่ ประสบการณ์ของผู้ใช้งาน ความรู้และการฝึกอบรม สภาพแวดล้อมของหน่วยบริการ นโยบายและวัฒนธรรมคุณภาพ การสนับสนุนกำกับดูแลจากผู้เชี่ยวชาญ ความพร้อมของเครื่องมือ การบำรุงรักษา รวมถึงความซับซ้อนของเครื่องมือ ดังนั้นการพัฒนาคุณภาพการตรวจวัดจึงจำเป็นต้องดำเนินการแบบองค์รวม ทั้งการพัฒนาศักยภาพบุคลากร การดูแลรักษาเครื่องมือให้ได้มาตรฐาน และการสร้างระบบสนับสนุนคุณภาพที่เข้มแข็งในองค์กร เพื่อให้ผลการตรวจมีความถูกต้องแม่นยำ

การเปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างกลุ่มหน่วยงานในโรงพยาบาลหนองมะโมงกับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Mann-Whitney $N=607$, $U = 40,931.0$, $p = 0.061$, $r = 0.076$) สะท้อนว่าทั้งสองประเภทหน่วยบริการสามารถดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในได้อย่างใกล้เคียงกัน แม้จะมีข้อจำกัดด้านทรัพยากรที่ต่างกันโดยเฉพาะในกลุ่ม รพ.สต. ที่มักมีบุคลากรจำกัดกว่าโรงพยาบาล สอดคล้องกับ Freckmann G และคณะ ที่ระบุว่าหากระบบควบคุมคุณภาพภายในมีความสม่ำเสมอและได้รับการดูแลอย่างถูกต้องย่อมไม่มีความแตกต่างของคุณภาพผลตรวจระหว่างประเภท

หน่วยงาน⁽³⁰⁾ ซึ่งเป็นผลมาจากกำหนดระบบและแนวทางการดำเนินงานรวมถึงการกำกับดูแลภายใต้ระบบโปรแกรมเดียวกัน อีกทั้งยังมีการอบรมและติดตามในรูปแบบเครือข่ายระดับอำเภอ ซึ่งช่วยลดความเหลื่อมล้ำของการดำเนินงานระหว่างประเภทหน่วยงาน ขนาดของผลที่พบ ($r = 0.076$) อยู่ในระดับเล็กน้อย แสดงว่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มมีน้อยจนไม่ส่งผลในทางปฏิบัติ อย่างไรก็ตามค่านัยสำคัญที่อยู่ใกล้ 0.05 อาจชี้ถึงความเป็นไปได้ในการเกิดความแตกต่างที่แฝงอยู่ ซึ่งอาจไม่สามารถตรวจพบได้อย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online สามารถช่วยลดความเหลื่อมล้ำทางทรัพยากร และสร้างความเท่าเทียมด้านคุณภาพในระบบบริการสุขภาพได้อย่างเป็นรูปธรรม สามารถนำไปใช้เป็นข้อสนับสนุนเชิงนโยบายเพื่อขยายการใช้งานโปรแกรมไปยังหน่วยบริการระดับปฐมภูมิในพื้นที่อื่นๆ ได้อย่างมั่นใจ รวมถึงเป็นหลักฐานเชิงประจักษ์ในการออกแบบระบบสนับสนุนหน่วยบริการขนาดเล็ก เช่น รพ.สต. ที่เดิมอาจถูกมองว่ามีข้อจำกัดด้านความสามารถในการควบคุมคุณภาพ ในขณะที่การเปรียบเทียบระหว่างหน่วยงานทั้ง 12 แห่ง โดยใช้ Kruskal-Wallis H test พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($N = 12$, $H = 94.70$, $p < 0.001$, $\eta^2 = 0.141$) จัดอยู่ในระดับขนาดอิทธิพลใหญ่ (Large Effect) แสดงว่าประสิทธิภาพการควบคุมคุณภาพภายในแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างหน่วยงานทั้ง 12 แห่ง แม้ว่าทุกหน่วยบริการจะใช้โปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ชุดเดียวกัน ภายใต้แนวทางการดำเนินงานเดียวกัน ผลลัพธ์นี้สะท้อนว่าประสิทธิภาพการควบคุมคุณภาพขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมเชิงปฏิบัติอื่นๆ ด้วย เช่น ความรู้ ความเข้าใจ ความละเอียดรอบคอบของบุคลากร ความสม่ำเสมอในการดำเนินการ IQC ระบบในการเก็บรักษาและการตรวจสอบความพร้อมของอุปกรณ์ หรือแม้แต่ทรัพยากรที่มีในแต่ละหน่วยงาน รวมถึงการสนับสนุนของผู้บริหาร ล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพของระบบ ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดด้าน Human Factors ในระบบควบคุมคุณภาพที่ระบุว่า แม้เครื่องมือควบคุมคุณภาพจะมีมาตรฐานเดียวกัน แต่ผลลัพธ์ขึ้นกับการนำไป

ใช้จริงในแต่ละบริบท⁽³¹⁾ นอกจากนี้ค่า Effect Size ($\eta^2 = 0.141$) ที่อยู่ในระดับใหญ่ยังสามารถสะท้อนความแตกต่างดังกล่าวได้อย่างชัดเจน แต่ในอีกมุมถือเป็นข้อได้เปรียบในเชิงระบบ กล่าวคือโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ไม่เพียงใช้บันทึกและรายงานผลเท่านั้น แต่ยังเป็นเครื่องมือวินิจฉัยเชิงระบบที่สามารถใช้วิเคราะห์ประสิทธิภาพและระบุจุดที่ควรพัฒนาในแต่ละหน่วยบริการได้อย่างแม่นยำ ข้อมูลนี้จึงสามารถนำไปต่อยอดสู่การกำหนดมาตรการสนับสนุนที่เหมาะสมเฉพาะราย เช่น การออกแบบ การอบรมแบบเฉพาะกลุ่ม การส่งเสริมระบบติดตามผลในพื้นที่ที่ต้องเฝ้าระวัง และการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานเชิงปฏิบัติที่อ้างอิงจากข้อมูลจริงของแต่ละหน่วยงาน ซึ่งเมื่อพิจารณารายหน่วยงาน พบว่าหน่วยงานที่มีค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนต่ำที่สุดและมีประสิทธิภาพสูง โดยพิจารณาจากค่าความเบี่ยงเบนน้อยกว่า 5% ได้แก่ รพ.สต.วังตะเคียน (4.53%) และ LAB (4.84%) แสดงถึงความสม่ำเสมอ มีความเข้าใจ และมีทักษะในการควบคุมคุณภาพภายในในระดับสูง ขณะที่หน่วยงานที่มีค่าความคลาดเคลื่อนสูงกว่ากลุ่มอื่น ได้แก่ รพ.สต.บ้านน้ำพุ (9.45%) และ ER (8.71%) ซึ่งสะท้อนถึงความจำเป็นในการเสริมสร้างทักษะ การอบรมต่อเนื่อง และการส่งเสริมวินัยการปฏิบัติในกระบวนการควบคุมคุณภาพให้เข้มข้นมากยิ่งขึ้น ซึ่งสนับสนุนแนวคิดที่ว่าเครื่องมือควบคุมคุณภาพเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอ หากขาดความเข้าใจและการใช้งานที่ถูกต้องของบุคลากร ปัจจัยแวดล้อมในระดับหน่วยบริการ เช่น ความสม่ำเสมอในการดำเนินการ ความละเอียดรอบคอบ การสนับสนุนเชิงระบบ และการติดตามผลล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมคุณภาพ สอดคล้องกับแนวคิด Human Factors และระบบการจัดการคุณภาพแบบองค์รวมที่เห็นว่า คุณภาพเกิดจาก “กระบวนการ + คน” ไม่ใช่เพียงเครื่องมือหรือระบบ เทคโนโลยีสารสนเทศอย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น⁽³²⁾

ข้อควรระวังที่สำคัญ คือ แม้จะพบแนวโน้มที่ดีในภาพรวมแต่ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความแตกต่างบางประการยังอยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง ซึ่งหมายความว่าพัฒนาคุณภาพผลควบคุมคุณภาพ

ภายในจำเป็นต้องมีการสนับสนุนด้านอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น การอบรมผู้ใช้งานอย่างต่อเนื่องเพื่อรักษามาตรฐานการทดสอบ และการบำรุงรักษาเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดให้ได้มาตรฐานสม่ำเสมอ จึงควรดำเนินการศึกษาแบบติดตามเชิงอนาคต (prospective study)⁽³³⁾ เพื่อลดผลกระทบจากตัวแปรแทรกซ้อนและควรพิจารณาวิเคราะห์ปัจจัยอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อค่าความคลาดเคลื่อน เช่น ประสบการณ์ของผู้ใช้งานหรือสภาพแวดล้อมของหน่วยบริการร่วมด้วย^(33,34) นอกจากนี้การขยายการใช้โปรแกรมไปยังพื้นที่อื่นที่มีลักษณะบริการและบุคลากรที่หลากหลายมากขึ้น จะช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือให้กับข้อสรุปและเสริมสร้างศักยภาพในการนำโปรแกรมไปใช้ในระดับประเทศอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน ทั้งนี้เพื่อเพิ่มศักยภาพของโปรแกรมในการลดค่าความคลาดเคลื่อนอย่างยั่งยืน ควรมีการเสริมสร้างทักษะด้านการควบคุมคุณภาพแก่ผู้ปฏิบัติงานอย่างสม่ำเสมอ รวมถึงกำหนดมาตรฐานการสอบทานทักษะประจำปี เพื่อให้บุคลากรสามารถใช้งานเครื่องตรวจน้ำตาลชนิดพกพาและควบคุมคุณภาพภายในได้อย่างถูกต้องตามมาตรฐาน ส่งผลต่อการยกระดับคุณภาพการดูแลผู้ป่วยในระบบบริการสุขภาพระดับปฐมภูมิและทุติยภูมิอย่างเป็นรูปธรรม^(35,36) อีกทั้งควรดำเนินการศึกษาผลกระทบของการใช้โปรแกรมต่อผลลัพธ์ด้านสุขภาพของผู้ป่วย เช่น การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดที่ดีขึ้นหรือการลดภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน เพื่อยืนยันประสิทธิผลของระบบ Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ไม่เพียงในระดับผลการตรวจวัดแต่รวมถึงในเชิงผลลัพธ์สุขภาพของผู้ป่วยจริงด้วย⁽³⁷⁾

สรุป

การศึกษานี้ยืนยันว่าโปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online มีประสิทธิผลในการลดค่าความคลาดเคลื่อนของผลควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) ของเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา ในระดับหน่วยบริการสุขภาพ โดยพบแนวโน้มค่าความคลาดเคลื่อนที่ลดลงอย่างต่อเนื่องในภาพรวมตลอดจนพบว่าความถี่ในการใช้งานโปรแกรมมีความสัมพันธ์กับระดับความแม่นยำของผลตรวจอย่างมี

นัยสำคัญ ผลการวิเคราะห์หัตถถอยสนับสนุนว่าโปรแกรมนี้มีศักยภาพในการเสริมสร้างความแม่นยำและความสม่ำเสมอของการควบคุมคุณภาพให้มีความสม่ำเสมอและน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามแม้ไม่พบความแตกต่างระหว่างประเภทหน่วยบริการ โรงพยาบาลกับ รพ.สต. แต่การวิเคราะห์รายหน่วยบริการ พบว่ามีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญระหว่างหน่วยบริการ ซึ่งสะท้อนถึงอิทธิพลของปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ ความรู้ ความเข้าใจ ทักษะระบบในการเก็บรักษาและการตรวจสอบความพร้อมของอุปกรณ์ ความสม่ำเสมอในการปฏิบัติงาน การสนับสนุนภายในหน่วยบริการ และระบบติดตาม ดังนั้นโปรแกรมนี้จึงควรพัฒนาเป็นแนวทางมาตรฐานสำหรับการควบคุมคุณภาพภายใน โดยเฉพาะในระดับปฐมภูมิที่มีข้อจำกัดด้านบุคลากรและการบริหารจัดการ ผลักดันให้มีการขยายผลการใช้โปรแกรมไปยังพื้นที่อื่นๆ ที่มีลักษณะบริการคล้ายคลึงกัน เช่น โรงพยาบาลชุมชน และ รพ.สต.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ นายแพทย์มนตรี หนองคาย ผู้อำนวยการโรงพยาบาลหนองมะโมง ที่ให้คำแนะนำและแนวคิดต่างๆ ในการจัดทำโปรแกรมสำเร็จตามวัตถุประสงค์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ผู้ใช้งานเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาในเครือข่ายสุขภาพอำเภอหนองมะโมง ที่ให้ความร่วมมือในการควบคุมคุณภาพเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. Roglic G. WHO Global report on diabetes: a summary. *Int J Noncommunicable Dis* 2016; 1(1): 3-8.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2023. *Diabetes Care*. [serial online]. 2023; [cited 2025 Apr 22]; 46(Suppl 1): [40 screens]. Available from: URL: https://diabetesjournals.org/care/issue/46/Supplement_1.

3. ศิริวรรณ พิชัยรังสรรค์. การจัดการผู้ป่วยเบาหวานในชุมชน. *ว สาธารณสุขชุมชน* 2562; 15(3): 23-30.
4. Rebel A, Rice MA, Fahy BG. The accuracy of point-of-care glucose measurements. *J Diabetes Sci Technol*. [serial online]. 2012; [cited 2025 Apr 20]; 6(2): [16 screens]. Available from: URL: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/193229681200600228>.
5. Ukpe II, Adewole A, Akintunde AA. Advancing internal quality control in point-of-care testing: a prospective study of rural clinics in Sub-Saharan Africa. *Afr J Lab Med* 2025; 14(1): a2045.
6. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2011; 57(6): e1-e47.
7. พัทรี สรรพกิจ. คุณภาพการตรวจวัดระดับน้ำตาลโดยบุคลากรสาธารณสุขในสถานีนอามัย. *ว วิชาการสาธารณสุข*. 2560; 46(5): 520-8.
8. ศุภรัตน์ แสงสุข. การใช้เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดโดย อสม. ความถูกต้องและผลต่อการตัดสินใจทางคลินิก. *ว พยาบาลศาสตร์* 2563; 38(2): 115-26.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). POCT12-A3: Point-of-care blood glucose testing in acute and chronic care facilities; approved guideline—Third edition. Wayne, PA.: CLSI; 2013.
10. ComplianceOnline. Quality control laboratory compliance – documentation and record-keeping explained. [online]. [cited 2025 Apr 29]; [12 screens]. Available from: URL: <https://www.complianceonline.com/resources/quality-control-laboratory-compliance-documentation-and-record-keeping-explained.html>.
11. จิราพร โพธิ์ทอง. การประยุกต์ระบบสารสนเทศในการพัฒนางานควบคุมคุณภาพในสถานีนอามัย. *ว เทคโนโลยีสารสนเทศทางสุขภาพ* 2561; 10(1): 45-56.

12. Buntin MB, Burke MF, Hoaglin MC, Blumenthal D. The benefits of health information technology: a review of the recent literature shows predominantly positive results. *Health Aff* 2011; 30(3): 464-71.
13. สุพัตรา สุวรรณศิริ, วิทยา จันทโรจน์. ผลของการใช้โปรแกรม Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online ในการบริหารจัดการระบบควบคุมคุณภาพเครื่องตรวจวัดน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาในเครือข่ายสุขภาพอำเภอหนองมะโมง จังหวัดชัยนาท. *ว กรมวิทย พ* 2568; 67(1): 135-48.
14. Rauch CA, Nichols JH. Laboratory accreditation and inspection. *Clin Lab Med* 2007; 27(4): 845-58.
15. Nam M, Song DY, Song SH, Roh EY, Shin S, Park KU, et al. Performance evaluation of immunoassay for infectious diseases on the Alinity i system. *J Clin Lab Anal* 2021; 35(3): e23671. (7 pages).
16. Nichols JH, Alter D, Chen Y, Isbell TS, Jacobs E, Moore N, et al. AACC guidance document on best practices for quality control in point-of-care testing. [online]. 2020; [cited 2025 Apr 24]; [20 screens]. Available from: URL: <https://myadlm.org/science-and-research/academy-guidance/management-of-point-of-care-testing>.
17. Wikipedia. Spearman's rank correlation coefficient. [online]. 2025; [cited 2025 Apr 24]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Spearman's_rank_correlation_coefficient.
18. Nachar N. The Mann-Whitney U: a test for assessing whether two independent samples come from the same distribution. *TQMP* [serial online]. 2008; [cited 2025 Apr 24]; 4(1): [8 screens]. Available from: URL: <https://www.tqmp.org/RegularArticles/vol04-1/p013/p013.pdf>.
19. Technology Networks. Mann-Whitney U test: assumptions and example. [online]. 2024; [cited 2025 Apr 24]. Available from: URL: <https://www.technologynetworks.com/informatics/articles/mann-whitney-u-test-assumptions-and-example-363425>.
20. Schneider A, Hommel G, Blettner M. Linear regression analysis: part 14 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int* 2010; 107(44): 776-82.
21. Grotenhuis MT, Thijs P. Dummy variables and their interactions in regression analysis: examples from research on body mass index. *arXiv*. [preprint online]. 2015; [cited 2025 Apr 24]; [22 screens]. Available from: URL: <https://arxiv.org/abs/1511.05728>.
22. Jaber MJ, Bindahmsh AA, Abu Dawwas MA, du Preez SE, Alshodukhi AM, Alateeq IS, et al. Obstacles and challenges affecting quality indicators in a complex tertiary emergency center. *Glob J Qual Saf Healthc*. [serial online]. 2024; [cited 2025 Apr 24]; 7(4): [13 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11554397>.
23. Reißmann S, Guliani M, Wirth T, Groneberg DA, Harth V, Mache S. Psychosocial working conditions and violence prevention climate in German emergency departments - a cross-sectional study. *BMC Emerg Med*. [serial online]. 2025; [cited 2025 Apr 24]; 25(1): [22 screens]. Available from: URL: <https://bmcemergmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12873-024-01155-y>.
24. Best JW, Kahn JV. *Research in education*. 10th ed. Boston: Pearson Education; 2006. p. 284.
25. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates; 1988. p. 79-81.
26. Tomczak M, Tomczak E. The need to report effect size estimates revisited. An overview of some recommended measures of effect size. *Trends Sport Sci* 2014; 21(1): 19-25.

27. Mathew TK, Zubair M, Tadi P. Blood glucose monitoring In: StatPearls. [online]. 2023; [cited 2025 Apr 29]; [8 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555976>.
28. Rghioui A, Lloret J, Harane M, Oumnad A. A smart glucose monitoring system for diabetic patient. Electronics. [serial online]. 2020; [cited 2025 Apr 29]; 9(4): 678. [10 screens]. Available from: URL: <https://doi.org/10.3390/electronics9040678>.
29. Frost J. How to interpret R-squared in regression [online]. Statistics by Jim; 2020 [cited 2025 May 1]; [5 screens]. Available from: URL: <https://statisticsbyjim.com/regression/interpret-r-squared-regression>.
30. Freckmann G, Schmid C, Baumstark A, Rutschmann M, Haug C, Heinemann L. Analytical performance requirements for systems for self-monitoring of blood glucose with focus on system accuracy. J Diabetes Sci Technol 2015; 9(4): 885-94.
31. Gubbi J, Buyya R, Marusic S, Palaniswami M. Internet of Things (IoT): a vision, architectural elements, and future directions. Future Gener Comput Syst 2013; 29(7): 1645-60.
32. Hess DR. Retrospective studies and chart reviews. Respir Care 2004; 49(10): 1171-4.
33. Delgado A, Llorca J. Statistical power, sample size, and their reporting in clinical laboratory science research. Clin Lab Sci. [serial online]. 2012; [cited 2025 May 4]; 25(2): [6 screens]. Available from: URL: <https://journals.sagepub.com/doi/10.29074/ascls.25.2.78>.
34. Song JW, Chung KC. Observational studies: cohort and case-control studies. Plast Reconstr Surg 2010; 126(6): 2234-42.
35. Hudspeth M, Kaplow R. Point-of-care testing in diabetes management: improved clinical outcomes and reduced visits. Clin Diabetes. 2017; 35(2): 96-101.
36. Bui TC, Pham TTT, Nguyen LT, et al. Impact of point-of-care HbA1c testing on clinical decision making and outcomes in diabetes management: a systematic review and meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab 2021; 106(8): e3161-73.
37. Wexler DJ, Grant RW, Wittenberg E, et al. Impact of real-time point-of-care testing of HbA1c on diabetes management: a randomized controlled trial. Diabetes Care. 2020; 43(7): 1504-10.

Effectiveness of the Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online Program on the Accuracy of Portable Glucose Meters in Nongmamong District Health Network, Chainat, Thailand

Supattra Suwansiri and Wittaya Juntaroje

Nongmamong Hospital, Nongmamong District, Chainat 17120, Thailand

ABSTRACT Internal quality control (IQC) of portable blood glucose meters is critical for ensuring the accuracy of test results, particularly in primary and secondary healthcare settings where personnel diversity may contribute to potential errors. This retrospective descriptive study aimed to evaluate the effectiveness of the Nongmamong Blood Glucose Meter IQC Online Program, a system that records real-time data and performs IQC assessments. Data were collected over three fiscal years (2022–2024) from 12 healthcare facilities in Nongmamong District, Chai Nat Province, Thailand, resulting in a total of 1,214 records. Descriptive and inferential statistics were applied, including Spearman’s Rank Correlation, Mann–Whitney U Test, Kruskal–Wallis H Test, and Linear Regression analyses. The average IQC deviation significantly decreased from 9.01% in 2022 to 5.90% in 2024 ($p < 0.001$, $r = 0.421$). Frequency of system usage was positively correlated with lower IQC deviation ($r_s = 0.366$, $p = 0.016$). Simple linear regression showed that each additional use of the program predicted a 0.044% reduction in IQC deviation ($R^2 = 0.407$, $p = 0.026$), while temporal analysis found a 2.65% lower deviation in the later period compared to the earlier phase ($R^2 = 0.118$, $p < 0.001$). No significant difference was found between the hospitals and primary care units ($p = 0.061$), but a significant variation was observed among the 12 facilities ($H = 94.70$, $p < 0.001$, $\eta^2 = 0.141$). These findings demonstrated that the program effectively reduces IQC deviation and has potential for scalable application across all levels of the healthcare system. However, continual monitoring of other influencing factors such as staff training, equipment maintenance, and supervision is recommended to ensure sustainable quality improvement.

Keywords: Portable blood glucose meter, Internal quality control, Nongmamong IQC Online Program

พฤษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ใบขนุน ขี้เหล็ก และไผ่

วรารณ มหัทธพย์ วชิรวิทย์ พามาตี อภัสรา คตขัง ศิริประภา สดุดรินทร์ ญัฐกานต์ สาพันธ์ และ ปาริชาติ อ้นองอาจ

สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา อำเภอเมือง นครราชสีมา 30000

บทคัดย่อ พืชสมุนไพรขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) ขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) และไผ่ (*Cnidioscolus aconitifolius*) มีการใช้ทางยาพื้นบ้านและเป็นแหล่งสารพฤษเคมีที่สำคัญ โดยเฉพาะสารฟีนอลิกซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นและปริมาณฟีนอลิกรวมในพืชเหล่านี้ จึงมีความจำเป็นเพื่อประเมินศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบพืชสามชนิดนี้ เพื่อประเมินองค์ประกอบทางพฤษเคมีทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ รวมถึงศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต้านอนุมูลอิสระ เพื่อทดสอบสารสำคัญกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ นอกจากนี้การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu รวมทั้งทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบขนุนและใบขี้เหล็กมีองค์ประกอบทางพฤษเคมีมากถึง 8 กลุ่ม ขณะที่ใบไผ่ตรวจพบเพียง 6 กลุ่ม เมื่อทดสอบเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าใบขี้เหล็กมีปริมาณสูงสุด (0.89 ± 0.004 mg GAE/g extract) รองลงมา คือ ใบขนุน (0.86 ± 0.016 mg GAE/g extract) และต่ำที่สุด คือ ใบไผ่ (0.49 ± 0.009 mg GAE/g extract) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดจากใบขนุนมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด คือ 0.77 ± 0.289 mg/mL แสดงถึงศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมา คือ ใบไผ่ 0.90 ± 0.880 mg/mL และใบขี้เหล็ก 1.45 ± 0.821 mg/mL การศึกษานี้แสดงถึงศักยภาพของพืชทั้งสามชนิดเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพหรืออาหารเสริมต่อไปได้

คำสำคัญ: ขนุน, ขี้เหล็ก, ไผ่, สารต้านอนุมูลอิสระ, ฟีนอลิก

Corresponding author E-mail: parichat@nmc.ac.th

Received: 8 July 2025

Revised: 27 July 2025

Accepted: 1 August 2025

บทนำ

พืชผักสมุนไพรถือเป็นหนึ่งในแหล่งสำคัญของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ที่มีการนำมาใช้ตั้งแต่สมัยโบราณเพื่อรักษาโรคและบำรุงร่างกาย⁽¹⁾ ปัจจุบันพืชสมุนไพรได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างมาก เนื่องจากสารสกัดจากพืชเหล่านี้ซึ่งเป็นสารเคมีที่พบเฉพาะในพืชมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย พร้อมทั้งมีผลข้างเคียงน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีหรือยาสังเคราะห์ทั่วไป^(2,3) นอกจากนี้พืชสมุนไพรยังมีส่วนช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตรและของเหลือทิ้งที่เป็นวัสดุเกษตร (agricultural waste) อีกทั้งยังช่วยลดความจำเป็นในการนำเข้ายาหรือสารเคมีที่มีราคาสูงจากต่างประเทศอีกด้วย ในปัจจุบันทั่วโลกให้ความสำคัญกับการนำพืชสมุนไพรมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมยา ซึ่งมีการค้นพบยาใหม่ๆ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพรโดยใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาและสังเคราะห์ยาตามกระบวนการทางเภสัชศาสตร์⁽⁴⁾

สารพฤกษเคมีที่พบในพืชสมุนไพรมีคุณสมบัติทางยาและฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายและแตกต่างกันออกไป เช่น ใช้ในการบำบัดด้วยฮอร์โมนทดแทนจากการต้านจุลชีพก่อโรค⁽⁵⁾ นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องเซลล์จากการเสื่อมสภาพ มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็งอันเนื่องมาจากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีความไม่เสถียรและสามารถเกิดปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว โดยสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆ ในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน หรือสารพันธุกรรม เมื่ออนุมูลอิสระมีปริมาณมากเกินไปอาจส่งผลให้ร่างกายเกิดความเสียหาย ซึ่งภาวะนี้เรียกว่า “ความเครียดออกซิเดชัน” (oxidative stress) โดยภาวะดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคร้ายแรงหลายชนิด^(6,7) โดยปกติร่างกายมีระบบการควบคุมอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อรักษาสสมดุลภายในเซลล์และป้องกันการทำลายของเนื้อเยื่อต่างๆ แต่เมื่อร่างกายได้รับความเครียด มลพิษ หรือสารเคมี อาจส่งผลให้ระดับอนุมูลอิสระภายในร่างกายเพิ่มสูงขึ้นซึ่งทำให้ระบบการควบคุมนี้ไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มที่ ส่งผล

ให้เกิดความเสียหายของเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกาย ดังนั้นการใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติซึ่งได้จากอาหารและเครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบจากพืช⁽⁸⁾ จึงเป็นทางเลือกที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน ด้วยเหตุนี้การวิจัยสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชพรรณท้องถิ่นจึงมีความสำคัญในการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติในประเทศ ทั้งในการพัฒนาอาหารและเครื่องดื่มที่ดีต่อสุขภาพ และยังเป็นการสนับสนุนการบริโภคอาหารจากแหล่งที่มีคุณภาพในประเทศ ซึ่งสามารถส่งผลดีต่อสุขภาพประชาชนและส่งเสริมเศรษฐกิจท้องถิ่น

ขนุน (*Artocarpus heterophyllus*) ชื่อหลัก (*Cassia siamea*) และไชยา (*Cnidocaulis chayamansa*)⁽⁹⁾ เป็นพรรณไม้ที่เจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย และการศึกษาวิจัยในต่างประเทศ พบว่ามีสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติในการป้องกันโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคเบาหวาน^(10,11) โรคกระเพาะ⁽¹²⁾ โรคหลอดเลือดหัวใจ⁽¹³⁾ และเวชสำอางสมุนไพร⁽¹⁴⁾ ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพของทรัพยากรพืชพรรณในประเทศไทย งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบของพืชทั้งสามชนิด เพื่อให้ได้ความรู้พื้นฐานทางวิชาการเกี่ยวกับสมุนไพร เพื่อสนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การใช้พืชพื้นถิ่นอย่างเหมาะสมยังมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพของประชากร ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายแรง และส่งเสริมความยั่งยืนของระบบสุขภาพในระยะยาว

วัสดุและวิธีการ

การเก็บและการเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบของต้นขนุน ชื่อหลัก และไชยาจากหมู่บ้านหัวคู ตำบลหัวทุ่ง อำเภอบึงสามพัน จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2568 พืชตัวอย่างได้รับการจำแนกชนิดโดยปราชญ์ชาวบ้านในพื้นที่ และเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ปรากฏในเอกสารประกอบการจำแนกชนิดพืช อย่างไรก็ตามไม่มีการจัดทำหรือส่งตัวอย่างพรรณไม้แห้ง (herbarium specimen) และนำตัวอย่างใบของพืชทั้ง 3 ชนิด มาซึ่ง

ปริมาณ 500 g ล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นบดด้วยเครื่องปั่นละเอียด (PG-ECO-2500, Thailand) และนำมาแช่ในตัวทำละลาย ethanol 50% (QReC, New Zealand) โดยใช้ปริมาณผงพืชต่อตัวทำละลาย 1 g ต่อ 9 mL เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองและนำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกจนกระทั่งแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งสุญญากาศแบบหมุน (RE100-Pro, DLAB, China) ที่อุณหภูมิ 50°C ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) มีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืดสีเขียวเข้ม

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

ตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบแอลกอฮอล์จากใบพืช 3 ชนิดดังกล่าว โดยแบ่งการทดสอบสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ออกเป็น 10 กลุ่ม ได้แก่ alkaloids, flavonoids, anthraquinones, coumarins, saponins, tannins, phlobatannins, terpenoids, steroids และ cardiac glycosides โดยใช้วิธีการทดสอบเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณตัดแปลงจาก Ayoola G^(15,16) ดังนี้

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloids)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.2 g เติมสารละลาย 2% sulfuric acid (QReC, New Zealand) ปริมาตร 1.0 mL เขย่าและนำไปอุ่น เป็นเวลา 5 นาที ด้วยเครื่องให้ความร้อนแบบอ่างน้ำ (Digital Water Bath LWD-Series, LABTECH, Republic of Korea) และกรองส่วนที่ไม่ละลายออก ปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาหยดสารละลาย Dragendorff (Merck, USA) จำนวน 5 หยด แล้วเขย่า หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.2 g ละลายด้วย 50% ethanol ปริมาตร 1.0 mL เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็กๆ ลงไป 1 ชิ้น หยด hydrochloric acid เข้มข้น (QReC, New Zealand) จำนวน 5 หยด เขย่าและนำไปอุ่นบนเครื่องให้ความร้อนแบบอ่างน้ำ เป็นเวลา 5 นาที หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดง แดง หรือส้มแดงแสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Anthraquinones)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 1 g เติม benzyne (QReC, New Zealand) ปริมาตร 10 mL แล้วเขย่าจากนั้นแยกชั้น benzyne และเติมสารละลาย 10% NaOH (QReC, New Zealand) ลงไป 5 mL แล้วเขย่าอีกครั้ง หากพบสีชมพูถึงแดงม่วงแสดงว่ามีสารแอนทราควิโนน⁽¹⁷⁾

การตรวจสอบคูมาริน (Coumarins)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.5 g เติมน้ำกลั่น (Scientific and Technological Instrument Center, Thailand) 3 mL เติม 10% NaOH 2 mL เขย่าเบาๆ ให้สารละลายผสมเข้ากันดี หากมีคูมารินอยู่ในตัวอย่างจะเห็นสีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองทองเกิดขึ้นในสารละลาย⁽¹⁷⁾

การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins)

ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟอง โดยซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 mL นำไปอุ่นบนเครื่องให้ความร้อนแบบอ่างน้ำ เป็นเวลา 5 นาที แล้วเขย่าอย่างแรง หากปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลองแสดงว่าพบซาโปนิน

การตรวจสอบแทนนิน (Tannins)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.1 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 100 mL นำไปอุ่นบนเครื่องให้ความร้อนแบบอ่างน้ำ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองเพื่อนำสารละลายแทนนินที่ได้ไปใช้ทดสอบการทดสอบด้วย FeCl₃ (Loba Chemie, India) นำสารละลายแทนนินประมาณ 2 mL ใส่หลอดทดลอง หยดสารละลาย FeCl₃ 2% จำนวน 5 หยด แล้วเขย่าหากสารละลายเปลี่ยนสี ได้แก่ สีเขียวเข้ม หรือสีน้ำเงินเข้ม (tannin hydrolysis) หรือสีน้ำตาลเข้ม หรือดำ (tannin condensation) แสดงว่าพบแทนนิน⁽¹⁷⁾

การตรวจสอบฟิโอบาแทนนิน (Phlobatannins)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 1 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 10 mL เติมสารละลาย 1% HCl (QReC, New Zealand) ปริมาตร 1 mL ลงในหลอดทดลอง นำไปอุ่นบนเครื่องให้ความร้อนแบบอ่างน้ำ เป็นเวลา 10 นาที หากเกิดตะกอนสีแดงอิฐแสดงว่ามีฟิโอบาแทนนิน⁽¹⁷⁾

การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.2 g ละลายด้วย chloroform (QReC, New Zealand) ปริมาตร 1.0 mL เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองเติม sulfuric acid เข้มข้น 0.5 mL ลงไป หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับ sulfuric acid แสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

การตรวจสอบสเตียรอยด์ (Steroids)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.2 g ละลายด้วย chloroform ปริมาตร 1.0 mL เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาเติม 100% acetic anhydride (Loba Chemie, India) 0.5 mL เขย่าและเติม sulfuric acid เข้มข้น จำนวน 3 หยด หากปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำเงินหรือสีน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสเตียรอยด์⁽¹⁷⁾

การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac Glycosides)

ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง 0.2 g ละลายด้วย chloroform (Loba Chemie, India) ปริมาตร 1.0 mL เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองมาเติมสารละลาย ferric chloride (Loba Chemie, India) จำนวน 5 หยด เขย่าและเติม 100% glacial acetic acid (QReC, New Zealand) ปริมาตร 2 mL ผสมกับ 1% ferric chloride 1-2 หยด และเขย่า จากนั้นค่อยๆ เติม sulfuric acid เข้มข้น ปริมาตร 1 mL อย่างช้าๆ ตามขอบหลอด สังเกตการเปลี่ยนสีที่บริเวณชั้นต่อระหว่างกรดกับสารละลาย หากปรากฏวงสีฟ้าหรือสีน้ำเงินแสดงว่าพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์⁽¹⁷⁾

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin Ciocalteu โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน gallic acid ดัดแปลงมาจาก Singleton VL และคณะ⁽¹⁶⁾ ดังนี้

เตรียมสารละลายสารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg/mL โดยซึ่งสารสกัด 1 g ละลายด้วย 95% ethanol (QReC, New Zealand) 1 mL ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม

ดังนี้ ปิเปตสารละลายสารสกัดหยาบ 0.5 mL ผสมกับสารละลาย 2.8% Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, USA) 2.5 mL ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 7.5% sodium carbonate (Loba Chemie, India) 2 mL เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 746 nm ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometry (Peak C 7000V Visible Spectrophotometer, China) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid แล้วคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมในหน่วยมิลลิกรัมของ Gallic Acid Equivalent ต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g of plant extract)

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม โดยใช้สารละลายมาตรฐาน gallic acid 100% (Sigma-Aldrich, Merck, USA) ซึ่ง gallic acid จำนวน 100 mg ละลายในน้ำกลั่นหรือ methanol แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL จะได้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 µg/mL (หรือ 1 mg/mL) แล้วทำการเจือจางเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้น: 0, 50, 100, 150, 250 และ 500 µg/mL⁽¹⁷⁾

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-di-phenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH Radical Scavenging Activity Assay)

ดัดแปลงจาก Baliyan S และคณะ⁽¹⁸⁾ ดังนี้ เตรียมสารละลายสารสกัดตัวอย่างความเข้มข้น 1,000 µg/mL ใน 95% ethanol นำมาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 5, 10, 50, 100, 250, 500, 750 และ 1,000 µg/mL เตรียมสารละลาย 0.1 mM DPPH โดยซึ่ง DPPH (SRL, India) (MW = 394.33) หนัก 3.9 mg ละลายใน methanol (QReC, New Zealand) 100 mL เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4°C เตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid (SRL™, India) ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 µg/mL โดยการซึ่ง ascorbic acid 25.0 mg ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 25 mL จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1,000 µg/mL นำมาเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นเป็น 100 µg/mL จากนั้นเจือจางจนได้ความเข้มข้นตามที่กำหนด

(0-50 mg/L) นำสารละลายสารสกัดตัวอย่างมา 1.35 mL จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 125 μ L ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm

ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (C 7000V Visible Spectrophotometer, Peak, China) และนำค่าดูดกลืนแสงมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระเป็น IC_{50}

$$\% \text{ Radical Scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

และ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (แกน x) คำนวณค่า IC_{50} จากสมการเส้นตรง $y = ax + b$

ผล

การเตรียมสารสกัด

นำตัวอย่างใบขนุน ชี้เหล็ก และไชยาที่สะอาดและ บดให้แห้ง ซึ่งน้ำหนักแล้วนำมาสกัดด้วยวิธีการหมักด้วย

สารละลาย 50% ethanol นำสารละลายไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้ความดันต่ำ (Rotary evaporator) จนได้สารสกัดหยาบ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะของสารสกัดหยาบและร้อยละผลผลิตของใบขนุน ชี้เหล็ก และไชยาตัวอย่าง

พืช	ลักษณะของสารสกัด	ร้อยละผลผลิต
ขนุน	เหลว สีน้ำตาลเข้ม กลิ่นเหม็นเขียว	12
ชี้เหล็ก	เหลว สีออกเหลืองน้ำตาล กลิ่นเหม็นเขียว	10
ไชยา	เหลว สีเขียวเข้ม กลิ่นเหม็นเขียว	8

การทดสอบสารพฤกษเคมี

ตรวจพบสารพฤกษเคมีจากสารสกัดใบขนุนและชี้เหล็กมากที่สุด ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิอิกไลโคไซด์ รวมทั้งหมด 8 กลุ่ม ยกเว้นซาโปนินและสเตียรอยด์ที่ไม่พบในการทดสอบครั้งนี้ ส่วนสารสกัดจากใบไชยาตรวจพบสาร

พฤกษเคมีเพียง 6 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน โพลีฟีนอล แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ โดยไม่พบแอนทราควิโนน แทนนิน และคาร์ดิอิกไลโคไซด์ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากชนิดของพืชหรือปริมาณสารในตัวอย่างที่ต่ำกว่าระดับการตรวจ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด 50% ethanol จากใบขนุน ชี้เหล็ก และไชยาตัวอย่าง

สารพฤกษเคมี (Phytochemical)	ผลการเกิดปฏิกิริยา	สารสกัด		
		ขนุน	ชี้เหล็ก	ไชยา
แอลคาลอยด์	ตะกอนสีส้มแดง	+	+	+
ฟลาโวนอยด์	สารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม	+	+	+
แอนทราควิโนน	สารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม	+	+	-
คูมาริน	สารละลายเป็นสีเหลืองเข้ม	+	+	+
ซาโปนิน	เกิดฟองถาวร	-	-	-
แทนนิน	สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวดำ	+	+	-

ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด 50% ethanol จากใบขนุน ขี้เหล็ก และไชยา
ตัวอย่าง (ต่อ)

สารพฤกษเคมี (Phytochemical)	ผลการเกิดปฏิกิริยา	สารสกัด		
		ขนุน	ขี้เหล็ก	ไชยา
โพลีฟีนอล	สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวดำ	+	+	+
เทอร์ปีนอยด์	เกิดวงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อสารสกัดกับกรด sulfuric	+	+	+
สเตียรอยด์	สารละลายน้ำเงินเขียว	-	-	+
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	วงแหวนสีน้ำตาลระหว่างรอยต่อสารสกัดกับกรด sulfuric	+	+	-

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากใบขนุน ขี้เหล็ก และไชยาด้วยตัวทำละลาย 50% ethanol โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดใบขี้เหล็กมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 0.89 ± 0.004 mg GAE/g extract รองลงมา คือ ใบขนุน เท่ากับ 0.86 ± 0.016 mg GAE/g extract และสารสกัดจากไชยามีปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่ำที่สุด เท่ากับ 0.49 ± 0.009 mg GAE/g extract ดังแสดงในตารางที่ 3

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบขนุน ขี้เหล็ก และไชยา โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบขนุน เท่ากับ 0.77 ± 0.289 mg/mL ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบไชยา 0.90 ± 0.880 mg/mL และใบขี้เหล็ก 1.45 ± 0.821 mg/mL ซึ่งค่า IC_{50} เป็นค่าที่ใช้บ่งชี้ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50 ซึ่งค่าที่ต่ำกว่าสื่อถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดจากใบขนุนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมา คือ ใบไชยา และใบขี้เหล็ก ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity ของสารสกัดจากใบขนุน ขี้เหล็ก และไชยา

สารสกัดจากพืช	สารฟีนอลิกรวม *mg GAE/g plant extract	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
		DPPH IC_{50} , mg/ml
ขนุน	0.86 ± 0.016	0.77 ± 0.289
ขี้เหล็ก	0.89 ± 0.004	1.45 ± 0.821
ไชยา	0.49 ± 0.009	0.90 ± 0.880

หมายเหตุ: mg GAE/g plant extract = มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม

วิจารณ์

จากผลการทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากใบพืชทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ขนุน ขี้เหล็ก และไชยา พบว่าสารสกัดจากแต่ละพืชมีองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีในกลุ่มต่างๆ ที่แตกต่างกันดังนี้ สารสกัดจาก

ใบขนุนและใบขี้เหล็กพบสารพฤกษเคมี 8 ใน 10 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แต่ไม่พบสเตียรอยด์และซาโปนิน ส่วนสารสกัดจากใบไชยาตรวจพบสารพฤกษเคมีเพียง 6 กลุ่ม ได้แก่

แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ โดยไม่พบแอนทราควิโนน แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และซาโปนิน การพบสารพฤกษเคมี 8 ชนิด ในสารสกัดจากใบขนุน ในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นที่รายงานผลการทดสอบทางพฤกษเคมีของใบขนุนว่ามีองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีหลายชนิด เช่น ฟีนอลิก ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ไตรเทอร์ปีนอยด์ และแอลคาลอยด์^(19,20) ในพืชที่มีลำต้นสูงมักพบฟลาโวนอยด์ ในส่วนของพืชที่อยู่ในระยะเจริญเติบโต เช่น ใบหรือดอก ซึ่งฟลาโวนอยด์มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโต และสรีรวิทยาของพืช ช่วยออกฤทธิ์ต้านจุลชีพและไวรัส และยับยั้งอนุมูลอิสระโดยการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ทำลายเซลล์อีกด้วย ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการแพทย์ทางเลือก นอกจากนี้โครงสร้างของน้ำตาลที่จับกับฟลาโวนอยด์ยังทำให้ฟลาโวนอยด์สามารถละลายในน้ำได้ดี ผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องเล็กน้อยกับงานวิจัยที่ทดสอบสารพฤกษเคมีในใบขนุนที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน สเตียรอยด์ และแอลคาลอยด์⁽²¹⁾ นอกจากนี้งานวิจัยพบฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน สเตียรอยด์ และแทนนิน โดยทดสอบในใบขนุนที่สกัดด้วยสารละลายเมทานอล⁽²²⁾ ส่วนในงานวิจัยที่ทดสอบสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบในใบขนุนด้วยสารละลายเอทานอล พบสารประกอบฟีนอล แทนนิน ซาโปนิน แต่ไม่พบฟลาโวนอยด์และสเตียรอยด์⁽²³⁾

การใช้ใบในการนำมาศึกษา เนื่องจากมีรายงานความแตกต่างในด้านการกระจายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างใบและดอก โดยมีรายงานว่าสารประเภทแอนทราควิโนน (anthraquinone) แซนโธน (zanthone) ฟลาโวนอล (flavonol) และโพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin) ในใบพืช ส่งผลให้ใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดถูกสังเคราะห์ขึ้นเฉพาะในใบพืชเท่านั้นและไม่พบในดอกของพืชชนิดเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากใบต้องเผชิญกับระดับความเครียดที่สูงกว่าในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีการดูดซับ

พลังงานแสงส่วนเกินเข้าสู่เนื้อเยื่อใบ นอกจากนี้คลอโรฟิลล์ในใบต้องผ่านกระบวนการโฟโตเซนซิไทเซชัน (photosensitization) ซึ่งเป็นกระบวนการถ่ายโอนพลังงานแสงที่ดูดซับไว้ และกระบวนการดังกล่าวอาจกระตุ้นการผลิตสารเคมีชนิดที่มีความไวสูงต่อปฏิกิริยาในระดับเซลล์ ใบจึงจำเป็นต้องสร้างสารต้านอนุมูลอิสระและสารดักจับอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง เพื่อช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระรวมถึงลดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากกระบวนการดังกล่าว^(22,24) ปริมาณของสารประกอบพฤกษเคมีที่ตรวจพบในตัวอย่างแสดงถึงประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย โดยฟลาโวนอยด์มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์ในการต้านอนุมูลอิสระและอาจมีบทบาทในการลดความเสี่ยงต่อโรคเบาหวาน ซาโปนินมีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและน้ำตาลในเลือด ขณะที่แทนนินมีคุณสมบัติช่วยในกระบวนการสมานแผล ส่วนแอลคาลอยด์อาจทำงานร่วมกับแทนนินและสารฟีนอลิกในการเสริมฤทธิ์ต้านเบาหวาน⁽²¹⁾ ส่วนคูมารินที่เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโน phenylalanine และพบได้ทั่วไปในพืช ในด้านเภสัชวิทยามีฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด ลดความดันเลือด กดภูมิคุ้มกัน และลดระดับไขมันในเลือด ซึ่งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ อาจมีความเชื่อมโยงกับสรรพคุณทางยาที่กล่าวถึงในตำรายาพื้นบ้านที่ใช้ใบขนุนเป็นส่วนประกอบ⁽²⁵⁾

สารสกัดหยาบจากใบชี้เหล็ก พบกลุ่มสารพฤกษเคมี 8 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แต่ไม่พบสเตียรอยด์และซาโปนิน ซึ่งมีความแตกต่างเล็กน้อยจากงานวิจัยอื่นที่ทดสอบในสารสกัดหยาบใบชี้เหล็กที่สกัดจากสารละลาย methanol พบสารพฤกษเคมีกลุ่มแทนนิน ซาโปนิน แอลคาลอยด์ไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์⁽²⁶⁾ และงานวิจัยที่ทดสอบสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบใบชี้เหล็กที่สกัดในน้ำกลั่น พบทั้งซาโปนิน สเตียรอยด์ แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ แต่ไม่พบแทนนิน⁽²⁷⁾ ขณะที่รายงานอื่นที่ศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดใบชี้เหล็กด้วยสารละลาย methanol พบว่ามีซาโปนิน แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แทนนิน และเทอร์พีนอยด์⁽²⁸⁾ ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบซาโปนินอาจเกิดจากสกัดซาโปนินออกมาได้น้อยจนตรวจสอบไม่พบ ซึ่งมีรายงานผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารพฤกษเคมีในสารสกัดจากใบชี้เหล็ก พบว่ามีซาโปนินในปริมาณที่สูงหากสกัดด้วยน้ำกลั่น (ร้อยละ 9.90) ขณะที่การสกัดในสารละลาย methanol พบในปริมาณที่น้อยกว่ามาก (ร้อยละ 0.79)⁽²⁶⁾ การศึกษาทางพฤกษเคมีของสารสกัดใบชี้เหล็กด้วยสารละลาย ethanol ในครั้งนี้พบว่ามีสารประกอบทางเคมีที่เป็นประโยชน์หลายชนิด โดยพบว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านพิษต่อตับ ต้านการอักเสบ และป้องกันแผลในกระเพาะอาหาร⁽²⁹⁾ ส่วนเทอร์พีนมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายประการ เช่น ฤทธิ์บรรเทาอาการปวด ต้านอาการชัก ส่งผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด รวมถึงมีฤทธิ์ต้านมาลาเรียและต้านแบคทีเรีย⁽³⁰⁾ และมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย อีกทั้งยังช่วยเสริมสร้างกลไกการป้องกันของพืชต่อการติดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ดังนั้นการตรวจสอบสารพฤกษเคมีจึงเป็นประโยชน์ในการคาดการณ์ชนิดของสารออกฤทธิ์ที่มีศักยภาพจากพืช⁽³¹⁾ สารสกัดหยาบจากใบไชยาตรวจพบสารพฤกษเคมีเพียง 6 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน โพลีฟีนอล แทนนิน เทอร์พีนอยด์ และสเตียรอยด์ โดยไม่พบแอนทราควิโนน แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และซาโปนิน ซึ่งมีความแตกต่างเล็กน้อยจากงานวิจัยที่ศึกษาในใบไชยาที่สกัดด้วยสารละลาย 95% ethanol พบแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอนโธไซยานิน ไกลโคไซด์ และแอนทราควิโนน แต่ผลการทดสอบไม่พบแทนนิน⁽³²⁾ ส่วนการศึกษาอื่นที่ศึกษาสารสกัดหยาบไชยาที่สกัดด้วยสารละลาย methanol พบซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ เทอร์พีนอยด์ ฟีนอล และไกลโคไซด์ แต่ไม่พบแทนนิน⁽³³⁾ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ที่ไม่พบแทนนินเช่นกัน นอกจากนี้ งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าไชยาเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยโปรตีน วิตามิน แร่ธาตุ และเส้นใยอาหาร โดยมีรายงานในภูมิปัญญาพื้นบ้านที่ใช้เพื่อบรรเทาอาการของโรคหลายชนิด เช่น โรคเบาหวาน ความดันเลือดสูง และโรคตับ⁽³⁴⁾ และ

จากการวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีในครั้งนี้พบว่าใบไชยามีสารทุติยภูมิหลากหลายชนิด รวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ที่มีศักยภาพในการเป็นตัวยารักษาโรค โดยพบว่าฟลาโวนอยด์ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยช่วยจับอนุมูลอิสระและบรรเทาความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน แอลคาลอยด์เป็นที่รู้จักในด้านคุณสมบัติทางยา ส่วนคูมารินเป็นสารประกอบในกลุ่ม Heterocyclic Compounds มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อ จึงอาจมีศักยภาพในการป้องกันหรือชะลอการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะความเครียดออกซิเดชัน เช่น โรคมะเร็ง เบาหวาน โรคหัวใจ และหลอดเลือด รวมถึงโรคทางระบบประสาท⁽³⁵⁾ จากรายงานต่างๆ ดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของไชยาในการประยุกต์ใช้เพื่อการรักษาโรค หากมีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสมและพัฒนาในรูปแบบเภสัชภัณฑ์หรือผลิตภัณฑ์ยา ความแตกต่างของสารพฤกษเคมีที่พบในพืชอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างในความสามารถในการละลายที่มีคุณสมบัติความเป็นขั้ว (polarity) ต่างกัน หรืออาจเกิดจากความแตกต่างของปัจจัยด้านภูมิประเทศและอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน ฤดูกาล ส่วนของพืชที่นำมาทดสอบ ภาวะที่ต้องเผชิญกับแมลงศัตรูพืชและโรคพืช ภูมิประเทศ ปริมาณน้ำฝน ความแตกต่างของแร่ธาตุและช่วงเวลาทำการเก็บตัวอย่าง ปัจจัยดังกล่าวอาจส่งผลต่อความเข้มข้นของสารทุติยภูมิในพืช⁽³⁶⁾

ในการศึกษานี้ยังประเมินปริมาณฟีนอลิกรวม และทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบพืช ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ตามลำดับ โดยที่สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารสำคัญที่มีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน และหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ พบได้ทั้งในพืชที่บริโภคได้และไม่ได้ พบได้ในพืชหลายชนิด มีแตกต่างทั้งทางโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารเหล่านี้ขึ้นอยู่กับความเสถียรในระบบต่างๆ ตลอดจนจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล⁽³⁷⁾ ปริมาณสารฟีนอลิกรวมของพืชตรวจวัด

ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งเป็นการวัดการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารโพลีฟีนอล และแสดงผลเป็นไมโครกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่ากับไมโครกรัมของสารสกัด (mg GAE/g plant extract) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดใบชี้เหล็กมีมากที่สุด 0.89 ± 0.004 mg GAE/g extract รองลงมา คือ ใบขนุน 0.86 ± 0.016 mg GAE/g extract และสารสกัดจากใบไผ่มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่ำที่สุด 0.49 ± 0.009 mg GAE/g extract สำหรับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อาศัยหลักการที่ตัวอย่างสามารถให้ hydrogen ส่งผลให้สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองความสามารถในการลดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ในระยะเวลาสั้นสะท้อนถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระจากพืชสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้แม้มีปริมาณน้อย โดยการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลออกซิเจนและอนุมูลไนโตรเจน (Reactive oxygen/Reactive nitrogen species)⁽³⁷⁾ โดยพิจารณาจากค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดจากใบขนุนมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดเป็น 0.77 ± 0.289 mg/ml ถือว่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากใบไผ่และใบชี้เหล็กมีค่า 0.90 ± 0.880 mg/ml และ 1.45 ± 0.821 mg/ml ตามลำดับ สารประกอบฟีนอลิกพบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน ยังมีสารฟีนอลิกมาก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็ยิ่งสูงตามไปด้วย สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ทั่วไปในพืช ดังนั้นเมื่อบริโภคพืชอาหารเหล่านี้จึงช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายได้⁽³⁸⁾ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบขนุนด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดใบขนุนด้วยสารละลาย 50% ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าแบบสารละลาย 100% ethanol⁽³⁹⁾ แสดงว่าส่วนผสมของน้ำกับแอลกอฮอล์อาจช่วยสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียวในส่วนต่างๆ ของขนุน พบว่าทั้งราก ใบ และเปลือกต้นของขนุนมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมแตกต่างกัน โดยใบมีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดและส่วนเปลือกมีระดับต่ำที่สุด ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าส่วนของใบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 52.08 mg/mL ซึ่งมีประสิทธิภาพ

ต่ำกว่าส่วนอื่นๆ แต่โดยรวมสรุปแล้วขนุนมีความหลากหลายของสารออกฤทธิ์ เช่น ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน⁽⁴⁰⁾ กล่าวได้ว่าขนุนเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์ทั้งด้านอาหารและยา

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในไผ่ทั้งในใบสดและใบที่ผ่านการปรุงสุกที่ใช้สารละลาย ethanol มีค่า 2,906.2 และ 2,241.4 mg CAE/Kg FM (Chlorogenic acid equivalents/Kg Fresh matter) ตามลำดับ⁽⁴¹⁾ นอกจากนั้นในใบไผ่ที่สกัดด้วยสารละลาย ethanol มีคูมารินและฟลาโวนอยด์ในระดับต่ำ โดยมีปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 35.7 mg GAE/g DM (Dry matter) ซึ่งมากกว่าสารสกัดด้วยสารละลาย hexane ที่เท่ากับ 22.3 mg GAE/g DM ขณะที่สารสกัดจากใบไผ่ที่ใช้ ethanol เป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมื่อเทียบกับสารสกัดที่ใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย และมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 10.6% ขณะที่สารสกัดจาก hexane ยับยั้งอนุมูลอิสระเพียง 0.5% และสารสกัด ethanol มีฤทธิ์การป้องกันและรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือดเมื่อให้หนูทดลองกินในขนาด 500 mg/kg⁽⁴²⁾ จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลิกรวมกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชจากรายงานของนักวิจัยอื่นๆ พบว่าทั้ง 2 ตัวแปรมีความสัมพันธ์เชิงบวก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกอาจมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืช^(23,43,44) อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า มีเพียงสารสกัดจากใบขนุนเท่านั้นที่แสดงทั้งปริมาณสารฟีนอลิกรวมในระดับสูงและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี ขณะที่สารสกัดจากใบชี้เหล็กและใบไผ่ให้ผลการทดสอบที่ไม่สอดคล้องกับรายงานการศึกษาดังกล่าว

แม้ว่ามีรายงานการศึกษาจำนวนมากกล่าวว่า สารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสามารถให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนเพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ผลการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามมีรายงานที่พบว่าเมื่อวิเคราะห์ความเข้มข้น

ของสารฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ
กากผลไม้พบว่าสารสกัดจากเมล็ดส้ม Kinnow ที่มีปริมาณ
สารฟีนอลิกรวมต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจาก
เปลือกผลไม้อื่นๆ แต่แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ
DPPH ได้สูงที่สุด รวมทั้งมีศักยภาพในการลดอนุมูล
อิสระสูงที่สุดในบรรดาสารสกัดจากกากผลไม้ทั้งหมดที่
ศึกษา⁽⁴⁵⁾ นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาความสัมพันธ์
ระหว่างปริมาณสารฟีนอลิกรวมและ EC_{50} ของการ
ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่าสัมประสิทธิ์
การกำหนด (R^2) ไม่สูงมาก และในการศึกษาพืช *Torilis*
leptophylla พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสาร
ฟีนอลิกรวมและการต้านอนุมูลอิสระของอนุมูลไฮโดรเจน
เปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) มีค่า R^2 เท่ากับ 0.0194 อาจกล่าว
ได้ว่าไม่มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจน⁽⁴³⁾ แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์
ต้านอนุมูลอิสระไม่ได้เกิดจากสารประกอบฟีนอลิกเพียง
อย่างเดียว แต่ยังอาจได้รับอิทธิพลจากองค์ประกอบอื่นๆ
เช่น จากกรด ascorbic น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar)
โทโคฟีรอล (tocopherols) แคโรทีนอยด์ (carotenoids)
เทอร์ปีน และระควัตถุต่างๆ ดังนั้นแม้ว่าสารฟีนอลิก
บางชนิดอาจมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูง แต่อาจ
เกิดปฏิกิริยาเสริมฤทธิ์หรือยับยั้งฤทธิ์ซึ่งกันและกัน
ในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างโมเลกุลต่างๆ ทั้งสาร
ฟีนอลิกและสารที่ไม่ใช่ฟีนอลิก ดังนั้นจึงควรทำการศึกษา
วิจัยเพิ่มเติม เพื่อระบุว่าสารประกอบฟีนอลิกชนิดใดที่มี
บทบาทสำคัญในการส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึง
บทบาทของสารที่ไม่ใช่ฟีนอลิกซึ่งอาจมีส่วนในการเสริม
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน เนื่องจากสารสกัดจากพืช
มีส่วนประกอบที่มีความซับซ้อนและหลากหลายซึ่งสาร
แต่ละชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน^(46,47)

สรุป

ผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจาก
ใบของพืช 3 ชนิด ได้แก่ ขนุน ขี้เหล็ก และชะยา
มีศักยภาพที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นแหล่งของสารต้าน
อนุมูลอิสระ ซึ่งอาจนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเป็น
ผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อส่งเสริมสุขภาพ นอกจากนี้
ควรมีการศึกษาด้านพิษวิทยา (Toxicological

studies) เพื่อประเมินความปลอดภัยของสารสกัด
ทั้งในระดับเซลล์และระดับสิ่งมีชีวิต รวมถึงการทดสอบ
ในสัตว์ทดลอง เพื่อประเมินประสิทธิภาพและ
ความปลอดภัยเบื้องต้นก่อนนำไปสู่การทดสอบในมนุษย์
เพื่อให้มั่นใจในประสิทธิภาพและความปลอดภัยของ
สารสกัดในอนาคต และควรมีการศึกษาในการจำแนก
องค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ เพื่อใช้เป็นข้อมูล
พื้นฐานสำหรับการพัฒนายาที่เกี่ยวข้องกับพืชทั้ง 3 ชนิดนี้
ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสาขา
วิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัย
นครราชสีมา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่การทำงานวิจัย
เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci* 2005; 78(5): 431-41.
2. Kim EJ, Park SY, Lee JY, Park JHY. Fucoidan present in brown algae induces apoptosis of human colon cancer cells. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 96. (11 pages).
3. Mahomoodally MF, Sreekeesoon DP. A quantitative ethnopharmacological documentation of natural pharmacological agents used by pediatric patients in Mauritius. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 136757. (14 pages).
4. da Costa MP, Bozinis MCV, Andrade WM, Costa CR, da Silva AL, Alves de Oliveira CM, et al. Antifungal and cytotoxicity activities of the fresh xylem sap of *Hymenaea courbaril* L. and its major constituent fisetin. *BMC Complement Altern Med* 2014; 14: 245. (7 pages).
5. Lay MM, Karsani SA, Banisalam B, Mohajer S, Abd Malek SN. Antioxidants, phytochemicals, and cytotoxicity studies on *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl seeds. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 410184. (13 pages).

6. Fernando CD, Soysa P. Total phenolic, flavonoid contents, *in-vitro* antioxidant activities and hepatoprotective effect of aqueous leaf extract of *Atalantia ceylanica*. BMC Complement Altern Med 2014; 14: 395. (8 pages).
7. Miraloglu M, Kurutas EB, Ozturk P, Arican O. Evaluation of local trace element status and 8-iso-prostaglandin F_{2α} concentrations in patients with Tinea pedis. Biol Proced Online 2016; 18: 1. (6 pages).
8. Al-Sayed E, El-Lakkany NM, Seif El-Din SH, Sabra ANA, Hammam OA. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Melaleuca styphelioides* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. Pharm Biol 2014; 52(12): 1581-90.
9. Kuri-García A, Chávez-Servín JL, Guzmán-Maldonado SH. Phenolic profile and antioxidant capacity of *Cnidioscolus chayamansa* and *Cnidioscolus aconitifolius*: a review. J Med Plant Res 2017; 11(45): 713-27.
10. Ponrasu T, Suguna L. Efficacy of *Annona squamosa* L in the synthesis of glycosaminoglycans and collagen during wound repair in streptozotocin induced diabetic rats. Biomed Res Int 2014; 2014: 124352. (10 pages).
11. Oshimi S, Tomizawa Y, Hirasawa Y, Honda T, Ekasari W, Widyawaruyanti A, et al. Chrobisiamone A, a new bischromone from *Cassia siamea* and a biomimetic transformation of 5-acetonyl-7-hydroxy-2-methylchromone into cassiarin A. Bioorg Med Chem Lett 2008; 18(13): 3761-3.
12. Gomathi AC, Rajarathinam SX, Sadiq AM, Rajeshkumar S. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7 human breast cancer cell line. J Drug Deliv Sci Technol 2020; 55: 101376.
13. Akter H, Rashid MM, Islam MS, Hossen MA, Rahman MA, Algheshairy RM, et al. Biometabolites of *Tamarindus indica* play a remarkable cardioprotective role as a functional food in doxorubicin-induced cardiotoxicity models. J Funct Foods 2022; 96: 105212. (13 pages).
14. Ko HH, Tsai YT, Yen MH, Lin CC, Liang CJ, Yang TH, et al. Norartocarpetin from a folk medicine *Artocarpus communis* plays a melanogenesis inhibitor without cytotoxicity in B16F10 cell and skin irritation in mice. BMC Complement Altern Med 2013; 13: 348. (12 pages).
15. Ayoola GA, Coker HA, Adesegun SA, Adepoju-Bello AA, Obaweya K, Ezennia EC, et al. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. Trop J Pharm Res 2008; 7(3): 1019-24.
16. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol 1999; 299: 152-78.
17. Harborne JB. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 3rd ed. London: Chapman and Hall; 1998.
18. Baliyan S, Mukherjee R, Priyadarshini A, Vibhuti A, Gupta A, Pandey RP, et al. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. Molecules 2022; 27(4): 1326. (19 pages).
19. Utari A, Warly L. Tannin contents of jackfruit leaves (*Artocarpus heterophyllus*) extract and Moringa leaves (*Moringa oleifera*) extract as functional additive feed in ruminant livestock. IOP Conf Ser Earth Environ Sci 2021; 757(1): 012054. (6 pages).
20. Sinaga SP, Situmorang RFR, Singarimbun N, Lestari W, Gurning K. Determination of total phytochemical compounds from ethanol extract nangka (*Artocarpus heterophyllus*

- Lam.) leaves and antioxidant activity from North Sumatera, Indonesia. *Rasayan J Chem* 2023; 16(1): 19–23.
21. Tambunan IYB, Siringo-Ringo E, Butar-Butar MJ, Gurning K. GC-MS analysis of bioactive compounds and antibacterial activity of nangka leaves (*Artocarpus heterophyllus* Lam). *Pharmacia* 2023; 70(1): 67–72.
 22. Tacbas EA, Sumaya NPD, Sumaya NH. *In vitro* antihelminthic activities of *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit) and *Artocarpus camansi* (Breadnut) leaf extracts on the model nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Pak J Nematol* 2024; 42(2): 136–45.
 23. del Baño MJ, Lorente J, Castillo J, Benavente-García O, Marín MP, Del Río JA, et al. Flavonoid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a biosynthetic pathway. *J Agric Food Chem* 2004; 52(16): 4987–92.
 24. Chew YL, Chan EWL, Tan PL, Lim YY, Stanslas J, Goh JK. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. *BMC Complement Altern Med* 2011; 11: 12. (10 pages).
 25. da Costa AM, da Cunha Leite MA, Farias AL, de Castro Cantuária P, Almeida SSM da S de. Phytochemical study of the leaves of *Artocarpus heterophyllus* Lam. In: II International Seven Multidisciplinary Congress. Seven Congress; 2023.
 26. Alkali K, Hamza MM, Shehu MM, Abdulhamid MB, Audu H. Qualitative and quantitative phytochemical screening of aqueous, methanol, and hexane leaf extracts of *Senna siamea*. *Sahel J Life Sci FUDMA* 2025; 3(1): 328–36.
 27. Ogunniran AO, Dauda OS, Rotimi D, Jegede FC, Falodun DJ, Adekunle PO. Nutritional, phytochemical, and antimicrobial properties of *Senna siamea* leaves. *Toxicol Rep* 2024; 13: 101793.
 28. Dikwa KB, Alkali K, Ajibade GA, Magaji Y, Ige OT. Effects of methanol leaves extracts of *Azadirachta indica* (Juss.), *Senna occidentalis* (Linn) and *Senna siamea* (Lam) on the *in vitro* growth of *Plasmodium falciparum* (Laveran) trophozoites. *Sahel J Life Sci FUDMA* 2025; 3(1): 287–98.
 29. Serafim C, Araruna ME, Júnior EA, Diniz M, Hiruma-Lima C, Batista L. A review of the role of flavonoids in peptic ulcer (2010–2020). *Molecules* 2020; 25(22): 5431. (32 pages).
 30. Masyita A, Mustika Sari R, Dwi Astuti A, Yasir B, Rahma Rumata N, Emran TB, et al. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chem X* 2022; 13: 100217. (14 pages).
 31. Redondo-Blanco S, Fernández J, López-Ibáñez S, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. Plant phytochemicals in food preservation: antifungal bioactivity: a review. *J Food Prot* 2020; 83(1): 163–71.
 32. Setiasih S, Anggraeny YN, Latifah E, Puspito S, Istiqomah N, Bakrie B, et al. Nutrient content, phytochemical profile and anti-methanogen potential of Chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) leaf extracts. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 2024; 1362: 012037. (9 pages).
 33. Yusuf A, Abubakar J, Lawal A. Phytochemicals screening and nutritional profile of *Cnidoscolus aconitifolius* leaves collected in Birnin Kebbi, Nigeria. *Sch Int J Biochem* 2022; 5(6): 85–9.
 34. Panghal A, Shaji AO, Sajitharan D, Nain K, Garg MK, Chhikara N. *Cnidoscolus aconitifolius*: Nutritional, phytochemical composition and health benefits – a review. *Bioact Compd Health Dis* 2021; 4(11): 260–86.

35. Todorov L, Saso L, Kostova I. Antioxidant activity of coumarins and their metal complexes. *Pharmaceuticals* 2023; 16(5): 651. (26 pages).
36. Darkwah WK, Ao Y, Adinortey MB, Weremfo A, Abrokwah FK, Afriyie E. Total phenolic, flavonoid and alkaloid contents, oxidative DNA damage protective and antioxidant properties of methanol and aqueous extracts of *Dissotis rotundifolia* whole plant. *Free Radic Antioxid* 2018; 8(2): 82-8.
37. Pandey J, Jaishwal N, Jayswal M, Gupta DC, Dhakal B, Budean D, et al. Evaluation of antioxidant, xanthine oxidase-inhibitory, and antibacterial activity of *Syzygium cumini* Linn. seed extracts. *Plants* 2025; 14(3): 316. (22 pages).
38. Muhamad M, Ai Sze W, Zulkifli NS, Ab-Rahim S. Qualitative analysis on the phytochemical compounds and total phenolic content of *Cissus hastata* (Semperai) leaf extract. *Int J Plant Biol* 2022; 14(1): 53-62.
39. Noor NA, Islam M, Hamid N, Raseetha S. Phytochemical composition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) and Indian jujube (*Ziziphus mauritiana*) leaves extracted using different ethanol concentrations. *J Sustain Sci Manag* 2024; 19(9): 146-62.
40. Sreeja Devi PS, Kumar NS, Sabu KK. Phytochemical profiling and antioxidant activities of different parts of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae): a review on current status of knowledge. *Futur J Pharm Sci* 2021; 7(1): 30. (7 pages).
41. Kuti JO, Konuru HB. Antioxidant capacity and phenolic content in leaf extracts of tree spinach (*Cnidoscolus* spp.). *J Agric Food Chem* 2004; 52(1): 117-21.
42. García-Rodríguez RV, Gutiérrez-Rebolledo GA, Méndez-Bolaina E, Sánchez-Medina A, Maldonado-Saavedra O, Domínguez-Ortiz MÁ, et al. *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh, an important antioxidant, anti-inflammatory and cardioprotective plant used in Mexico. *J Ethnopharmacol* 2014; 151(2): 937-43.
43. Saeed N, Khan MR, Shabbir M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12(1): 221. (12 pages).
44. Clarke G, Ting KN, Wiart C, Fry J. High correlation of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the Malaysian rainforest. *Antioxidants* 2013; 2(1): 1-10.
45. Babbar N, Oberoi HS, Uppal DS, Patil RT. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Res Int* 2011; 44(1): 391-6.
46. Rajurkar NS, Hande SM. Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. *Indian J Pharm Sci* 2011; 73(2): 146-51.
47. Muflihah YM, Gollavelli G, Ling YC. Correlation study of antioxidant activity with phenolic and flavonoid compounds in 12 Indonesian indigenous herbs. *Antioxidants* 2021; 10(10): 1530. (15 pages).

Preliminary Phytochemical Screening, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of *Artocarpus heterophyllus*, *Cassia siamea*, and *Cnidoscolus aconitifolius* Leaves

Waraporn Mahasap, Wachitrawit Pamadee, Aphatsara Khotchang, Siriprapha Sutburin,
Nattakan Sapan, and Parichat Onongarj

Department of Medical Science, Faculty of Allied Health Sciences, Nakhonratchasima College,
Muang District, Nakhonratchasima 30000, Thailand

ABSTRACT Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*), Siamese cassia (*Cassia siamea*), and chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*) are medicinal plants widely used in traditional medicine and recognized as important sources of phytochemicals, especially phenolic compounds known for their antioxidant properties. This study aimed to perform preliminary phytochemical screening and quantify total phenolic content in the leaves of these three plants, alongside evaluating their antioxidant activities. Qualitative and quantitative analyses were conducted to identify major phytochemical groups, including alkaloids, flavonoids, anthraquinones, coumarins, saponins, tannins, phlobatannins, terpenoids, steroids, and cardiac glycosides. Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu method, while antioxidant activity was assessed via DPPH assay. Results showed that extracts of the leaves of jackfruit and Siamese cassia contained up to eight phytochemical groups, whereas chaya had six. Siamese cassia leaves exhibited the highest total phenolic content at 0.89 ± 0.004 mg GAE/g extract, followed by jackfruit at 0.86 ± 0.016 mg GAE/g extract, and chaya with the lowest at 0.49 ± 0.009 mg GAE/g extract, in terms of antioxidant activity, jackfruit leaf extract had the lowest IC_{50} value of 0.77 ± 0.289 mg/mL, indicating the strongest free radical scavenging ability, followed by chaya (0.90 ± 0.880 mg/mL) and cassia (1.45 ± 0.821 mg/mL). This study demonstrated the potential of these three plants as natural sources of antioxidants, supporting their possible applications in health products and dietary supplements.

Keywords: Jackfruit, Siamese cassia, Chaya, Antioxidant, Total phenolic compound

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์การห่อหุ้มเอ็มอาร์เอ็นเอ ในอนุภาคนาโนไขมันของวัคซีนโควิด 19 โดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์

ณัฐกานต์ มิ่งงามทรัพย์¹ วิภาวี วงศ์ชนะ¹ พุติตา โชคเหรียญสุขชัย¹ อชิระ นามจันทร์¹ และ สุภาพร ภูมิอมร²

¹สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

²สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ วัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 ชนิด mRNA มีสาย mRNA ที่ถูกห่อหุ้มในอนุภาคนาโนไขมัน เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของ mRNA เมื่อฉีดเข้าสู่ร่างกายและสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ร้อยละของการห่อหุ้ม mRNA ในอนุภาคนาโนไขมันเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมคุณภาพวัคซีนที่องค์การอนามัยโลกกำหนด ในสถานการณ์ระบาดของโรคโควิด 19 ทำให้ขณะนั้นไม่มีข้อมูลจำเพาะของวิธีทดสอบและไม่มีสารมาตรฐานจากผู้ผลิตวัคซีนเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพ การวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีในการนำ Ribogreen ในชุดน้ำยาสำเร็จรูปซึ่งเป็นสีย้อมเรืองแสง มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ในวัคซีนตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มในอนุภาคนาโนไขมัน โดยเติม Triton X-100 ในตัวอย่างวัคซีนเพื่อหาปริมาณ mRNA ทั้งหมด และเมื่อหาปริมาณ mRNA อิสระจะไม่มีสารดังกล่าว ผลพบว่าวิธีนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณ RNA มาตรฐานและตรวจติดตาม mRNA ในวัคซีนตัวอย่างได้ โดยสามารถสร้างกราฟมาตรฐานเชิงเส้นตรงและมีช่วงที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณ RNA มาตรฐานความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นสูงได้ที่ 2.5–25 และ 50–500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ทุกสภาวะมีค่า R^2 มากกว่า 0.99 ค่า %RE และ %CV น้อยกว่าร้อยละ 10 ช่วงที่เหมาะสมในการเจือจางตัวอย่างวัคซีนเพื่อหา mRNA อิสระ และ mRNA ทั้งหมดของวัคซีนในการศึกษานี้ น้อยกว่า 1:100 และ 1:1,000 ตามลำดับ เมื่อคำนวณหาร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้ม พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับผลการทดสอบจากวิธีของผู้ผลิต วิธีนี้จึงมีความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์การห่อหุ้ม mRNA ในวัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 รวมถึงสามารถนำไปเป็นต้นแบบเพื่อพัฒนาเป็นวิธีวิเคราะห์สำหรับวัคซีนชนิด mRNA ที่อยู่ในการพัฒนาและการศึกษาทางคลินิกในประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: วัคซีนโควิด 19, วัคซีนชนิดเอ็มอาร์เอ็นเอ, อนุภาคนาโนไขมัน, การหาปริมาณ mRNA, วิธีฟลูออเรสเซนซ์

Corresponding author E-mail: natthakarn.m@dmsc.mail.go.th

Received: 18 November 2024

Revised: 4 August 2025

Accepted: 4 August 2025

บทนำ

ความก้าวหน้าที่สำคัญของการพัฒนาวัคซีนชนิดเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) คือ ความรวดเร็วในการสร้างและผลิตวัคซีนของผู้ผลิต และความจำเป็นที่ต้องให้วัคซีนเพื่อต่อต้านเชื้อโรคอุบัติใหม่ โดยเฉพาะไวรัสโรคระบบทางเดินหายใจรุนแรงเฉียบพลัน SARS-CoV-2 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) โดยวัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 ชนิด mRNA ที่นำเข้ามาใช้ในประเทศไทยและใช้กันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ คือ วัคซีน Comirnaty™ ของบริษัทไฟเซอร์ (Pfizer-BioNTech) และวัคซีน Spikevax™ ของบริษัทโมเดอร์นา (Moderna) รวมทั้งวัคซีน mRNA อื่น ๆ ที่อยู่ในการพัฒนาและการศึกษาทางคลินิกในช่วงเวลาดังกล่าว ทั้งนี้กลไกการทำงานของวัคซีน mRNA คือ การนำส่ง mRNA ที่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนหรือแอนติเจนที่ต้องการให้เข้าสู่เซลล์โดยการห่อหุ้ม mRNA ดังกล่าวในอนุภาคนาโนไขมัน (lipid nanoparticle, LNP) เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของ mRNA และเพื่อช่วยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽¹⁻⁴⁾ อย่างไรก็ตามยังมีความกังวลในเรื่องความปลอดภัย การผลิต และกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีใหม่นี้ องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้มีคำแนะนำในการประเมินคุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพของวัคซีน mRNA ที่ใช้ในการป้องกันโรคติดเชื้อในมนุษย์ การประเมินดังกล่าวต้องคำนึงถึง คุณสมบัติทางภูมิคุ้มกัน ภายภาคภูมิ และโครงสร้างของ mRNA และ LNP ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของวัคซีน เพื่อให้แน่ใจว่ามีความเสถียรและความปลอดภัยในร่างกาย รวมถึงการนำส่งที่มีประสิทธิภาพ⁽⁵⁾

อย่างไรก็ตามร้อยละของการห่อหุ้ม mRNA ใน LNP มีความสำคัญ WHO จึงกำหนดให้การวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นหนึ่งในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์วัคซีนสำเร็จรูปชนิด mRNA เพื่อให้แน่ใจว่าระบบนำส่งมีประสิทธิภาพและวัคซีนมีความเสถียร⁽⁵⁾ ทั้งนี้การวิเคราะห์ร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มอยู่ใน LNP นั้นทำได้โดยการหาปริมาณ mRNA อิสระในวัคซีน และนำมาคำนวณอัตราส่วนร้อยละเปรียบเทียบกับปริมาณ mRNA ทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ เมื่อแยก mRNA ที่อยู่ภายใน LNP ด้วย

สารลดแรงตึงผิว (Triton X-100)⁽⁶⁻⁸⁾ อย่างไรก็ตาม ปัญหาของการวิเคราะห์คุณภาพในห้องปฏิบัติการภาครัฐในช่วงสถานการณ์ระบาดโรคโควิด 19 นั้น เกิดจากการที่ไม่มีข้อมูลจำเพาะของวิธีทดสอบและมาตรฐานสำคัญจากผู้ผลิต โดยเฉพาะ mRNA มาตรฐานและสารช่วยทางเภสัชกรรม (excipients) ของวัคซีน ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์และประเมินการห่อหุ้ม mRNA ในอนุภาคนาโนไขมัน โดยนำชุดน้ำยาทดสอบ Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent and Kit ที่มีการอ้างอิงและนำมาใช้ในการหาปริมาณ mRNA⁽⁶⁻⁸⁾ ซึ่ง Ribogreen เป็นสีย้อมเรืองแสง (fluorescent dye) ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการหาปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้ง RNA และ DNA โดยไม่ถูกรบกวนด้วยโปรตีนหรือสารอื่น ๆ ในระบบ⁽⁹⁾ ทั้งนี้ในการศึกษานี้ได้นำ RNA มาตรฐานที่อยู่ในชุดทดสอบมาทดแทนมาตรฐานจากผู้ผลิต รวมถึงวิเคราะห์การรบกวนในการหาปริมาณ mRNA เมื่อมี Triton X-100 ในการทดสอบ และความจำเพาะของชุดน้ำยาทดสอบต่อการหาปริมาณ mRNA ในวัคซีนตัวอย่าง นอกจากนี้ได้ทำการหาช่วงที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ที่อยู่ในวัคซีนตัวอย่าง เพื่อรองรับการพัฒนาสูตรของวัคซีน mRNA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ การศึกษานี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อให้เกิดองค์ความรู้และเป็นแนวทางการควบคุมกำกับทางห้องปฏิบัติการภาครัฐในการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของวัคซีนชนิด mRNA รวมถึงสามารถนำไปเป็นต้นแบบ เพื่อพัฒนาเป็นวิธีวิเคราะห์วัคซีนชนิดนี้ที่อยู่ระหว่างการพัฒนาและการศึกษาทางคลินิกในประเทศต่อไป

วัสดุและวิธีการ

วัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 ชนิด mRNA ตัวอย่าง

วัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 ชนิด mRNA ที่มีการนำเข้ามาทดสอบคุณภาพทางห้องปฏิบัติการระหว่างปี พ.ศ. 2564-2565 ได้แก่ วัคซีน Comirnaty™ ของบริษัทไฟเซอร์ (Pfizer-BioNTech, USA) และวัคซีน Spikevax™ ของบริษัทโมเดอร์นา (Moderna, USA) จำนวน 4 รุ่นการผลิต

สารอ้างอิงมาตรฐานและชุดน้ำยาดตรวจ

สารมาตรฐาน *E. coli* 16S and 23S Ribosomal RNA (Component C) ของชุดน้ำยาดตรวจปริมาณอาร์เอ็นเอ Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent and Kit (Invitrogen, USA)

การเตรียมสารมาตรฐาน RNA

นำสารมาตรฐาน *E. coli* 16S and 23S rRNA (Component C) ของชุดน้ำยาดตรวจปริมาณอาร์เอ็นเอ Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent and Kit มาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15–20 นาที จากนั้นเจือจาง RNA มาตรฐาน ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย 1X TE (Invitrogen, USA) ให้ได้ความเข้มข้น 0–2,000 นาโนกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 1X TE (สำหรับวิเคราะห์ปริมาณ mRNA อิสระ) หรือสารละลาย 1X TE ที่มี 2% Triton X-100 (v/v) (Sigma, USA) (สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ทั้งหมด) ลงในเพลทหลุมทดสอบ (Thermo Fisher Scientific, USA) จากนั้นเติม RNA มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในแต่ละหลุม การทดสอบในอัตราส่วน 1:1 (ความเข้มข้นสุดท้ายของ Triton X-100 (v/v) เป็น 1%) และเติม Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม โดยเจือจางน้ำยา Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent ที่ความเจือจาง 1:200 ด้วยสารละลาย 1X TE สำหรับช่วงการทดสอบปริมาณ RNA ความเข้มข้นสูง 20–1,000 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และเจือจาง 1:2,000 สำหรับช่วงการทดสอบปริมาณ RNA ความเข้มข้นต่ำ 1–50 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปิดเพลทด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์และนำไปวัดค่าความเข้มของการเรืองแสง (Fluorescence emission intensity: FLU) ทันทีด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ไมโครเพลท (SpectraMax® iD5, Molecular Devices, USA) ที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร และ emission ที่ 520 นาโนเมตร

การเตรียมวัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 ชนิด mRNA ตัวอย่าง

นำวัคซีนโควิด 19 ชนิด mRNA ตัวอย่าง มาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ละลายประมาณ 15–20 นาที จากนั้นเจือจางในสารละลาย 1X TE โดยกำหนดให้ช่วงความเจือจางอยู่ระหว่าง 1:100–1:1,000

วิธีการหาปริมาณ mRNA ในวัคซีนตัวอย่างด้วยชุดน้ำยา Quant-iT™ RiboGreen™

เติมสารละลาย 1X TE ลงในหลุมการทดสอบ เติมวัคซีนตัวอย่างที่ความเจือจางต่างๆ ในสารละลาย 1X TE ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อหาปริมาณ mRNA อิสระในวัคซีน และเติมวัคซีนตัวอย่างที่ความเจือจางต่างๆ ในสารละลาย 1X TE ที่มี 2% Triton X-100 (v/v) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม ในอัตราส่วน 1:1 ในการหาปริมาณ mRNA ทั้งหมด ในวัคซีน จากนั้นเติม Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent ลงในทุกหลุม โดยเจือจาง 1:200 ของน้ำยาสำหรับช่วงการทดสอบปริมาณ mRNA ความเข้มข้นสูง 20–1,000 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปิดเพลทด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์และนำไปวัดค่าความเข้มของการเรืองแสงทันทีด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร และ emission ที่ 520 นาโนเมตร

การสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณ mRNA และการคำนวณหาร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอนุภาคนาโนไขมันในวัคซีน

สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารมาตรฐาน *E. coli* 16S and 23S rRNA (Component C) ของชุดน้ำยาดตรวจ Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent and Kit สำหรับการหาปริมาณ mRNA อิสระ และสำหรับการหาปริมาณ mRNA ทั้งหมด โดยให้ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานเป็นแกน x และค่าความเข้มของการเรืองแสงของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นเป็นแกน y เพื่อสร้างสมการเส้นตรงของกราฟ $y = ax + b$

จากนั้นแทนค่าความเข้มข้นของการเรืองแสงของวัคซีน
ตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นของ mRNA อิสระ และ
mRNA ทั้งหมดในวัคซีน ในตัวแปร x เพื่อคำนวณหาค่า

ปริมาณของ mRNA อิสระ และ mRNA ทั้งหมดในวัคซีน
โดยหาร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอนุภาคนาโน
ดังสมการ

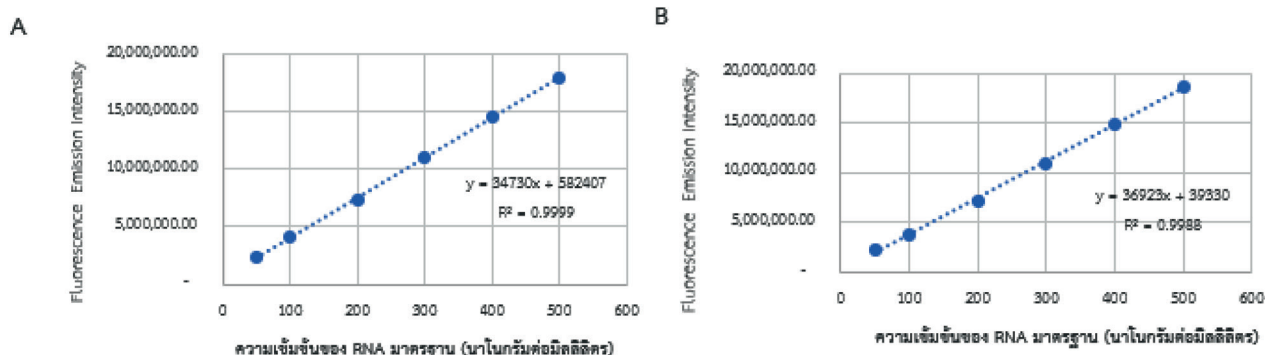
$$\% \text{ ห่อหุ้ม mRNA} = \frac{(\text{mRNA ทั้งหมด} - \text{mRNA อิสระ})}{\text{mRNA ทั้งหมด}} \times 100$$

ผล

การหาปริมาณ RNA ที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ชุดน้ำยา
Quant-iT™ RiboGreen™

ในสภาวะที่ RNA มาตรฐานอยู่ในสารละลาย
1X TE หรือในสารละลาย 1X TE ที่มี 1% Triton
X-100 สามารถหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่าง
ปริมาณ RNA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)
กับค่าความเข้มข้นของ Fluorescence Emission

Intensity ได้ ดังแสดงในภาพที่ 1 และพบว่าน้ำยา
Quant-iT™ RiboGreen™ สามารถตรวจ mRNA
ในวัคซีนตัวอย่างได้ โดยพบว่าค่า Fluorescence
Emission Intensity ลดลงแปรผกผันกับการความ
เจือจางที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่างวัคซีน ในขณะที่ตัวอย่าง
วัคซีนที่ไม่มีการเติมน้ำยา Quant-iT™ RiboGreen™
ไม่มีความแตกต่างของค่า Fluorescence Emission
Intensity ในทุกค่าการเจือจาง ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 RNA มาตรฐานที่ถูกเจือจางด้วย A. สารละลาย 1X TE (ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA อิสระ)
หรือ B. สารละลาย 1X TE ที่มี 1% Triton X-100 (ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ทั้งหมด)
ก่อนการเติมน้ำยา Quant-iT™ Ribogreen™ เพื่อวิเคราะห์การเรืองแสง โดย RNA มาตรฐานมี
ความเข้มข้นระหว่าง 50-500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 การตรวจติดตาม mRNA ในวัคซีนตัวอย่างที่เจือจางในสภาวะต่างๆ โดยใช้ Quant-iT™ RiboGreen™

สภาวะ	ความเจือจาง ของตัวอย่างวัคซีน	ค่าเฉลี่ย Fluorescence Emission Intensity (FLU) (n = 2)	
		มี Ribogreen	ไม่มี Ribogreen
ไม่มี Triton X-100	200x	1,282,479	74,027
	400x	9,928,958	71,348
	800x	5,152,459	71,221
	1,600x	2,814,004	71,599

ช่วงความเป็นเส้นตรงของการหาปริมาณ RNA มาตรฐาน และช่วงการเจือจางตัวอย่างวัคซีนที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ช่วงความเป็นเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ RNA มาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ กับค่า Fluorescence Emission Intensity (FLU) เพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ในสภาวะที่ไม่มีและ มี Triton X-100 ผลพบว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ได้ 2 ระดับคือ ในระดับ mRNA ปริมาณน้อย และระดับ mRNA ปริมาณมาก โดยในสภาวะที่ไม่มี Triton X-100 สามารถวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ได้ระหว่าง 5.0-25 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และ 50-500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ใน

สภาวะที่มี Triton X-100 ระหว่าง 2.5 - 25 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และ 50-500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และทุกสภาวะมี R^2 ที่มากกว่า 0.99 ดังแสดงในตารางที่ 2 และช่วงการเจือจางตัวอย่างวัคซีน พบว่าสามารถคำนวณหาปริมาณ mRNA อิสระจากตัวอย่างวัคซีนได้ เมื่อตัวอย่างวัคซีนเจือจางในสารละลาย 1X TE ที่การเจือจางน้อยกว่า 1:100 และสามารถหาปริมาณ mRNA ทั้งหมดจากตัวอย่างวัคซีน เมื่อตัวอย่างวัคซีนถูกเจือจางในสารละลาย 1X TE ที่มี 1% Triton X-100 โดยมีการเจือจางน้อยกว่า 1:1,000 ดังแสดงในตารางที่ 2 ทั้งนี้ตัวอย่างวัคซีนต้องมีระดับความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่า cut-off กำหนดจากค่า FLU ของ RNA มาตรฐานของแต่ละการทดสอบ

ตารางที่ 2 ช่วงความเป็นเส้นตรงของการหาปริมาณ RNA มาตรฐาน และช่วงการเจือจางตัวอย่างวัคซีนที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ชนิด RNA	ช่วง RNA มาตรฐาน (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)				ช่วงการเจือจาง วัคซีนตัวอย่าง
	สำหรับ RNA ปริมาณน้อย		สำหรับ RNA ปริมาณมาก		
		R ²		R ²	
RNA มาตรฐานในสภาวะที่ไม่มี Triton X-100	5.0-25	0.9989	50-500	0.9999	-
RNA มาตรฐานในสภาวะที่มี Triton X-100	2.5-25	1	50-500	0.9988	-
ตัวอย่างวัคซีน mRNA ในสภาวะที่ไม่มี Triton X-100	-	-	-	-	< 1:100
ตัวอย่างวัคซีน mRNA ในสภาวะที่มี Triton X-100	-	-	-	-	'< 1,000x
FLU cut-off (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)	5.0		100.0		100**

หมายเหตุ: เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่มีข้อมูล

** กำหนดจากค่า FLU cut-off ตาม RNA มาตรฐาน

ผลการหาปริมาณ RNA มาตรฐานและ mRNA ในวัคซีนตัวอย่างโดยใช้น้ำยา Quant-iT™ Ribo-Green™

เมื่อวัดปริมาณ RNA มาตรฐาน ที่มีเข้มข้น 200, 300 และ 400 นาโนกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณ mRNA จริงในวัคซีนตัวอย่างได้จากการคำนวณโดยใช้กราฟมาตรฐานในสภาวะที่ไม่มีและ มี Triton X-100 ในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ปริมาณมาก มีค่า %RE และ %CV ที่คำนวณได้น้อยกว่า

10% ดังแสดงในตารางที่ 3 และเมื่อนำวัคซีนตัวอย่างมาเจือจางที่ระดับการเจือจางต่างๆ ในสารละลาย 1X TE (สำหรับการหาปริมาณ mRNA อิสระ) และ 1X TE ที่มี Triton X-100 (สำหรับการหาปริมาณ mRNA ทั้งหมด) พบว่าสามารถคำนวณหาปริมาณ mRNA และคำนวณกลับเพื่อหาความเข้มข้นของ mRNA ตั้งต้นได้ โดยพบว่าปริมาณ mRNA อิสระ ที่ความเจือจาง 1:40 และ 1:67 มีค่าเฉลี่ยเป็น 7,823 และ 7,748 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณ mRNA ทั้งหมด

ที่ความเจือจาง 1:80, 1:200, 1:400 และ 1:800 มีค่าเฉลี่ย มิลลิลิตรตามลำดับ (ตัวอย่างวัคซีนมีระดับความเข้มข้น เป็น 104,178, 103,585, 95,148 และ 82,141 นาโนกรัม/ 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ RNA มาตรฐาน ในสภาวะที่มีและไม่มี Triton X-100

ปริมาณ RNA มาตรฐาน (นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในสภาวะที่ไม่มี Triton X-100	ปริมาณ RNA ที่คำนวณได้ (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)			ค่าเฉลี่ย	SD	%CV	%RE
	1	2	3				
200	196.07	190.81	194.32	193.74	2.68	1.38	3.13
300	299.43	286.97	294.55	293.65	6.28	2.14	2.12
400	400.33	397.83	394.68	397.62	2.83	0.71	0.60

ปริมาณ RNA มาตรฐาน (นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในสภาวะที่มี Triton X-100	ปริมาณ RNA ที่คำนวณได้ (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)			ค่าเฉลี่ย	SD	%CV	%RE
	1	2	3				
200	190.93	201.07	199.21	197.07	5.40	2.74	1.47
300	295.00	297.90	299.57	297.49	2.31	0.78	0.84
400	402.77	410.37	401.34	404.83	4.85	1.20	-1.21

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA อิสระ และ mRNA ทั้งหมด ในตัวอย่างวัคซีนที่ค่าการเจือจางต่าง ๆ

การเจือจาง วัคซีนตัวอย่าง	ปริมาณ mRNA อิสระ (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
1:40	7,879	7,833	7,757	7,823
1:67	7,801	7,668	7,776	7,748
1:100*	-	-	-	-

การเจือจาง วัคซีนตัวอย่าง	ปริมาณ mRNA ทั้งหมด (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
1:80	103,884	103,510	105,142	104,178
1:200	105,725	99,276	105,755	103,585
1:400	93,064	93,859	98,520	95,148
1:800	80,208	82,079	84,136	82,141
1:1,000	-	-	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่สามารถคำนวณหาปริมาณ mRNA ได้เนื่องจากค่า FLU อยู่นอกช่วงค่า cut-off

เปรียบเทียบวิธีหาร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้ม
ด้วยอนุภาคนาโนไขมันจากการศึกษานี้กับผลของ
ผู้ผลิตวัคซีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ mRNA ในวัคซีน
ตัวอย่าง ทั้งปริมาณ mRNA อิสระ และปริมาณ mRNA

ทั้งหมด (RNA content) สามารถนำมาคำนวณหา
ร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มได้โดยมีค่าใกล้เคียง
กับผลการทดสอบจากวิธีของผู้ผลิตวัคซีน ดังแสดง
ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณ RNA (RNA content) และร้อยละของ RNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอนุภาคนาโนไขมัน (% Encapsulation) จากการศึกษาเกี่ยวกับรายงานผลการวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่ระบุใน Certification of Analysis (COA) ของผู้ผลิตวัคซีน Comirnaty™ ของบริษัทไฟเซอร์ (Pfizer-BioNTech) และวัคซีน Spikevax™ ของบริษัทโมเดอร์นา (Moderna)

ตัวอย่างวัคซีน	ผลจากผู้ผลิต		ผลจากวิธีที่พัฒนาขึ้น	
	RNA content (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	% Encapsulation	RNA content (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	% encapsulation
วัคซีนยี่ห้อ A	0.096	98%	0.097	92.62%
วัคซีนยี่ห้อ B	0.190	91%	0.184	86.27%

หมายเหตุ: วัคซีนยี่ห้อ A คือ วัคซีน Comirnaty™ (Pfizer-BioNTech, USA) วัคซีนยี่ห้อ B คือ วัคซีน Spikevax™ (Moderna, USA)

วิจารณ์

งานวิจัยนี้มีแนวคิดมาจากความพยายามในการหาวิธีวิเคราะห์คุณภาพวัคซีนป้องกันโรคโควิด 19 ชนิด mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอนุภาคนาโนไขมัน (LNP) เพื่อให้สามารถประเมินคุณภาพและความปลอดภัยสำหรับวัคซีนรูปแบบใหม่ ที่มีการนำมาใช้ในสถานการณ์ระบาดโรคโควิด 19 ซึ่งในขณะนั้นมีข้อจำกัดของข้อมูลของวิธีทดสอบและสารมาตรฐานเพื่อใช้ในการพัฒนาวิธี ทั้งนี้การหาร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วย LNP จะต้องพัฒนาวิธีในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA เพื่อใช้ในการคำนวณค่าดังกล่าว โดยการหาปริมาณ mRNA สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวัดค่าด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260/280 นาโนเมตร^(10,11) หรือการใช้รีเอเจนต์ Quant-iT™ RNA ทัวไป⁽¹²⁾ ทั้งนี้วิธีดังกล่าวมีข้อจำกัด เช่น ความไว รวมถึงมีความเที่ยงต่อวิธีต่อการวัดปริมาณ mRNA ต่ำ เป็นต้น และเนื่องจากในวัคซีนดังกล่าว mRNA ถูกห่อหุ้มใน LNP การหาปริมาณ mRNA ทั้งหมดในวัคซีนจะต้องใช้ Triton X-100 ซึ่งสามารถรบกวนการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง fluorescent และ UV ได้⁽¹³⁾ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการนำชุดรีเอเจนต์ Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent and Kit มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วย LNP เมื่อทำการศึกษาผู้วิจัยได้ใช้ ribosomal RNA จาก *E.coli* ที่อยู่ในชุดรีเอเจนต์เป็น RNA มาตรฐาน ทดแทนการใช้ mRNA มาตรฐานจากผู้ผลิต

และมีการเติม 2% Triton X-100 เพื่อการรบกวนของ Triton X-100 ต่อการวัดปริมาณ mRNA พบว่ากราฟมาตรฐานที่ได้เป็นเส้นตรงและสามารถวิเคราะห์ความเข้มข้นของ mRNA มาตรฐานได้ในสภาวะที่มี Triton X-100 เช่นเดียวกับในสภาวะที่ไม่มี Triton X-100 พบว่าค่า FLU สัมพันธ์กับปริมาณ mRNA ตามรายงานก่อนหน้า^(14,15) แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้ชุดรีเอเจนต์ Quant-iT™ RiboGreen™ ตรวจหาปริมาณ mRNA ในสภาวะที่มี Triton X-100 โดยไม่มีการรบกวนการวิเคราะห์ผล และเนื่องจาก pKa มีผลต่อการปลดปล่อย mRNA จาก LNP อาจมีการพัฒนาการใช้สารละลายที่มีค่า pH ที่เหมาะสมในการทดแทนการใช้ Triton X-100⁽¹⁶⁾ และทำการตรวจติดตาม mRNA ในวัคซีนตัวอย่างต่อไป

เมื่อทำการวิเคราะห์แนวโน้ม (Trend Analysis) คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์จากข้อมูลผู้ผลิต พบว่าวัคซีนชนิด mRNA มีปริมาณ mRNA และร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วย LNP สม่่าเสมอในทุกขั้นตอนการผลิต โดยมีปริมาณ mRNA อิสระ เฉลี่ยประมาณ 10% ของปริมาณ mRNA ทั้งหมด เมื่อผู้วิจัยทำการคำนวณเบื้องต้น เพื่อพิจารณาเลือกช่วงการวิเคราะห์ให้เหมาะสมกับปริมาณ RNA มาตรฐานที่ใช้พบว่าช่วงที่เหมาะสมคือช่วงวิเคราะห์ RNA ปริมาณมาก (50–500 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งการหาปริมาณ mRNA อิสระ และปริมาณ mRNA ทั้งหมดในวัคซีนตัวอย่าง

จากช่วงความเป็นเส้นตรงของการหาปริมาณ RNA ดังกล่าว พบว่าสามารถกำหนดค่า FLU cut-off เบื้องต้นจากค่า FLU ที่วัดจากปริมาณ RNA มาตรฐาน เท่ากับ 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร โดยการพิจารณาจาก ค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RE) อย่างไรก็ตามค่า FLU cut-off จะสามารถกำหนดเป็นค่าคงตัวสำหรับการควบคุมการทดสอบได้เมื่อมีข้อมูลเพิ่มมากขึ้น สำหรับการเตรียมตัวอย่างวัคซีน นอกจากค่า FLU cut-off ปริมาณ mRNA ตั้งต้นในวัคซีนยังมีความสำคัญต่อการเจือจางเพื่อเตรียมตัวอย่างวัคซีนในการวิเคราะห์หาปริมาณ mRNA อิสระ และปริมาณ mRNA ทั้งหมด ทั้งนี้งานวิจัยนี้ดำเนินการโดยใช้วัคซีนชนิด mRNA ที่มีความเข้มข้นของ mRNA เริ่มต้นที่ 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้นช่วงของการเจือจางอาจแตกต่างกันไปในวัคซีนที่มีสูตรแตกต่างกัน สุดท้ายเมื่อสามารถวิเคราะห์หาปริมาณ mRNA ในวัคซีนตัวอย่างได้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการคำนวณร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้ม พบว่าให้ค่าสอดคล้องกับการวิเคราะห์ของผู้ผลิตที่ใช้วิธี Fluorescence Assay ที่ผู้ผลิตแสดงในเอกสารผลิตภัณฑ์ เพื่อให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ มีการใช้สารมาตรฐานของผู้ผลิตเอง และผ่านการตรวจสอบวิธีที่เป็นที่เรียบร้อยแล้ว โดยเกณฑ์กำหนดค่าการห่อหุ้ม mRNA ของผลิตภัณฑ์ทั้งสองยี่ห้อที่กำหนดที่ไม่ต่ำกว่า 85% แสดงให้เห็นว่าวิธีดำเนินการนั้นมีความเป็นไปได้ในการประเมินการห่อหุ้ม mRNA ใน LNP ของวัคซีนโควิด 19 ชนิด mRNA ได้ ทั้งนี้ในอนาคตสามารถนำมาตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี โดยต้องแสดงคุณลักษณะของวิธีซึ่งเป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณในการหาปริมาณ mRNA และการห่อหุ้ม mRNA ใน LNP ของวัคซีนตัวอย่าง

ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีสามารถทำได้ตามแนวทาง ของ ICH Q2 (R1) เช่นการประเมินความแม่นยำหรือ Precision (Repeatability และ Intermediate Precision) การทดสอบค่าความเที่ยง (Accuracy) การหาความเป็นเส้นตรง (Linearity) โดยการหา Linear plot ระหว่างปริมาณ mRNA ที่คำนวณได้

(Back calculation concentration) กับปริมาณ mRNA ที่คาดหวัง (Nominal concentration) รวมทั้งหาความทนของวิธี (Robustness) ได้แก่ ระยะเวลาในการอ่านผลการทดสอบ ปริมาณ Triton-X ซึ่งอาจมีความแตกต่างระหว่างผลิตภัณฑ์ รวมทั้งความแรงในการผสม เนื่องจากอาจมีผลต่อสภาวะของ mRNA ได้ เป็นต้น ทั้งนี้การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีสามารถบ่งชี้ได้ว่าวิธีมีมาตรฐานและสามารถใช้สำหรับหาปริมาณ mRNA รวมถึงวิเคราะห์ร้อยละของ mRNA ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอนุภาคนาโนไขมันได้ต่อไป อย่างไรก็ตามจากวัตถุประสงค์ของการพัฒนาวิธี เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์แนวโน้มและความสม่ำเสมอของปริมาณ mRNA และร้อยละการห่อหุ้ม mRNA ใน LNP ของวัคซีน ซึ่งจะสะท้อนคุณภาพของผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิต เมื่อไม่สามารถหาสารมาตรฐานเฉพาะสำหรับผลิตภัณฑ์หรือสารมาตรฐานระดับสากลได้นั้น วิธีนี้ยังสามารถต่อยอดและนำมาเป็นวิธีอ้างอิงหรือวิธีมาตรฐานสำหรับหน่วยงานควบคุมกำกับและผู้ผลิต mRNA วัคซีนได้ เมื่อมีการศึกษาและสอบเทียบสารมาตรฐานร่วมกับผู้ผลิตหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมประเมินวัคซีนให้มีคุณภาพสอดคล้องกับหลักสากลต่อไป

สรุป

วิธีการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาร้อยละการห่อหุ้ม mRNA ในอนุภาคนาโนไขมัน (LNP) ของวัคซีนโควิด 19 ชนิด mRNA ด้วยวิธี Fluorescence โดยใช้น้ำยาตรวจวิเคราะห์ปริมาณอาร์เอ็นเอ Quant-iT™ RiboGreen™ RNA Reagent and Kit สามารถให้ผลการวิเคราะห์ร้อยละการห่อหุ้ม mRNA ใน LNP ในตัวอย่างวัคซีนโควิด 19 ชนิด mRNA ได้ แสดงว่าวิธีการทดสอบเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ และผู้ทดสอบของห้องปฏิบัติการนี้สามารถดำเนินการดังกล่าวได้ เป็นการเพิ่มความสามารถของห้องปฏิบัติการในประเทศไทยให้สูงขึ้นเพื่อรองรับวัคซีนชนิด mRNA-LNP อื่นๆ ได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวรุฬ จตุรกิตตินันท์ ผู้อำนวยการสถาบันชีววัตถุ ที่ให้คำปรึกษา นางสาวสกลิน ไตรศิริวานิชย์ หัวหน้ากลุ่มวัคซีนไวรัส และขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Centers for Disease Control and Prevention. Understanding mRNA COVID-19 vaccines. [online]. 2022; [cited 2024 May 14]; [3 screens]. Available from: URL: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/119428>.
- วิจารณ์ รัตน์วิมานนท์, จิรพงศ์ สุขสิริวรพงศ์. เรื่องนำรู้เกี่ยวกับ mRNA COVID-19 vaccine. กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. [ออนไลน์]. 2564; [สืบค้น 2564 พ.ค. 14]; [7 หน้า]. Available from: URL: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/575>.
- Schoenmaker L, Witzigmann D, Kulkarni JA, Verbeke R, Kersten G, Jiskoot W, et al. mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: structure and stability. *Int J Pharm* 2021; 601: 120586. (14 pages).
- Hou X, Zaks T, Langer R, Dong Y. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nat Rev Mater* 2021; 6(12): 1078-94.
- World Health Organization. Evaluation of the quality, safety and efficacy of RNA-based prophylactic vaccines for infectious diseases: regulatory considerations (WHO/RNA/DRAFT/22 December 2020). Geneva: WHO; 2020.
- Goswami R, O'Hagan DT, Adamo R, Baudner BC. Conjugation of mannans to enhance the potency of liposome nanoparticles for the delivery of RNA vaccines. *Pharmaceutics* 2021; 13(2): 240. (13 pages).
- Carrasco MJ, Alishetty S, Alameh MG, Said H, Wright L, Paige M, et al. Ionization and structural properties of mRNA lipid nanoparticles influence expression in intra-muscular and intravascular administration. *Commun Biol* 2021; 4(1): 956. (15 pages).
- Goswami R, Chatzikleanthous D, Lou G, Giusti F, Bonci A, Taccone M, et al. Mannosylation of LNP results in improved potency for self-amplifying RNA (SAM) vaccines. *ACS Infect Dis* 2019; 5(9): 1546-58.
- Jones LJ, Yue ST, Cheung CY, Singer VL. RNA quantitation by fluorescence-based solution assay: RiboGreen reagent characterization. *Anal Biochem* 1998; 265(2): 368-74.
- Okamoto T, Okabe S. Ultraviolet absorbance at 260 and 280 nm in RNA measurement is dependent on measurement solution. *Int J Mol Med* 2000; 5(6): 657-9.
- Faraldi M, Mangiavini L, Conte C, Banfi G, Napoli N, Lombardi G. A novel methodological approach to simultaneously extract high-quality total RNA and proteins from cortical and trabecular bone. *Open Biol* 2022; 12(5): 210387. (11 pages).
- Bizmark N, Nayagam S, Kim B, Amelemah DF, Zhang D, Datta SS, et al. Ribogreen fluorescent assay kinetics to measure ribonucleic acid loading into lipid nanoparticle carriers. *Adv Mater Interfaces* 2024; 11(17): 2301083. (8 pages).
- Bhowmik BB, Ganguly P. Photophysical studies of some dyes in aqueous solution of Triton X-100. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2005; 62(4-5): 808-13.

14. Hassett KJ, Higgins J, Woods A, Levy B, Xia Y, Hsiao CJ, et al. Impact of lipid nanoparticle size on mRNA vaccine immunogenicity. *J Control Release* 2021; 335: 237-46.
 15. Schober GB, Story S, Arya DP. A careful look at lipid nanoparticle characterization: analysis of benchmark formulations for encapsulation of RNA cargo size gradient. *Sci Rep* 2024; 14(1): 2403. (10 pages).
 16. Patel P, Ibrahim NM, Cheng K. The importance of apparent pKa in the development of nanoparticles encapsulating siRNA and mRNA. *Trends Pharmacol Sci* 2021; 42(6): 448-60.
-

Development of Determination of mRNA Encapsulation in Lipid Nanoparticles of COVID-19 Vaccines using Fluorescence Assay

Natthakarn Mingngamsup¹, Wipawee Wongchana¹, Puthita Chokreansukchai¹, Achira Namjan¹, and Supaporn Phumiamorn²

¹*Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand*

²*Medical Sciences Technical Office, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand*

ABSTRACT The mRNA COVID-19 vaccine contains mRNA strands encapsulated in lipid nanoparticles to prevent degradation of the mRNA when injected into the body, and it can effectively induce immunity. The percentage of mRNA encapsulated in lipid nanoparticles is one of the quality control guidelines for vaccine quality established by the World Health Organization. During the pandemic, the manufacturer had not yet revealed the specifications for the relevant test method and standard substances. This study, therefore, explored development of the method using Ribogreen, a fluorescent dye available in commercial kits, to analyze the amount of mRNA in the lipid nanoparticle-encapsulated mRNA COVID-19 vaccine and examine the percentage of mRNA encapsulated. Triton X-100 was added to the vaccine to determine the total mRNA while quantifying the free mRNA; however, Triton X-100 was not necessary. The results showed that the method could be used to analyze the standard RNA amount and monitor the mRNA in the vaccine samples. The linear standard curve was obtained, and the detection ranges were established at 2.5–25 and 50–500 ng/mL for the amounts of low and high mRNA, respectively. All conditions had R^2 values greater than 0.99, and %RE and %CV were less than 10%. The appropriate ranges to dilute the vaccine samples in determining the free mRNA and total mRNA were less than 1:100 and 1:1,000, respectively. The percentage of encapsulated mRNA calculated was found to be close to the results of the manufacturer's method. The method in this study has been proven to have the potential to determine the encapsulated mRNA COVID-19 vaccines, which may be useful for the mRNA vaccines under development, and in clinical studies in Thailand.

Keywords: Covid-19 vaccine, mRNA vaccine, Lipid nanoparticles, Determination of mRNA, Fluorescence assay

การพัฒนาและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือโดยเทคนิค Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector

ศุภัชญา ลำขาว ศิริพร ทองประกายแสง และ ละเวง นิลมณี

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข อนุญาตให้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือที่มีส่วนผสมของเอทิลแอลกอฮอล์ หรือไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ หรือเอ็นโพรพิลแอลกอฮอล์ เพียงสารเดียวหรือผสมรวมกันอยู่ตั้งแต่หรือมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร สามารถผลิต นำเข้า หรือขายได้ และไม่อนุญาตให้ใช้เมทิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสม สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด ตามกฎหมายกำหนด โดยเทคนิค HS-GC-FID ผลการศึกษาได้สภาวะการสกัดแอลกอฮอล์โดยเครื่อง Headspace ที่อุณหภูมิ 70°C เวลา 5 นาที และสภาวะการวิเคราะห์โดยเครื่อง Gas Chromatography คอลัมน์ชนิด DB-5 อุณหภูมิ 45°C อัตราการไหล 0.5 ml/min ระยะเวลา 8 นาที ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าสามารถแยกสารได้ 5 ชนิด รวมเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็น Internal Standard โดย Resolution > 2 วิธีมีความเป็นเส้นตรง $r > 0.995$ และช่วงของการวิเคราะห์ในช่วง 0.50-8.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 95-110 ความเที่ยงจากการทำซ้ำในวันเดียวกัน ระหว่างวัน และระหว่างนักวิเคราะห์ที่มีค่าที่ยอมรับได้ (% RSD < 3) ขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ร้อยละ 0.01 และร้อยละ 0.001 โดยปริมาตร ตามลำดับ สรุปว่าวิธีที่พัฒนามีความเหมาะสมสำหรับใช้ในงานวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ครอบคลุมตามที่กฎหมายกำหนด ข้อดีของวิธีนี้ คือ วิธีเตรียมตัวอย่างง่าย สะดวก และสามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ได้พร้อมกันภายในเวลา 8 นาที

คำสำคัญ: แอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือ, เอทิลแอลกอฮอล์, ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์, เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์, เซตสเปก-โครมาโตกราฟีแก๊ส ชนิดตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชัน

Corresponding author E-mail: suphatchaya.l@dmsc.mail.go.th

Received: 25 December 2024

Revised: 18 July 2025

Accepted: 13 August 2025

บทนำ

จากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ซึ่งเป็นปัญหาทั้งในประเทศและต่างประเทศ การแพร่ระบาดที่รวดเร็วและต่อเนื่องส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนและระบบสาธารณสุขอย่างรุนแรง การรักษาความสะอาดมือจึงกลายเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการลดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส เนื่องจากมือเป็นสื่อกลางสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ⁽¹⁾ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ ในรูปแบบสารละลายและเจลโดยไม่ใช้น้ำ เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับนิยมนามากสำหรับการป้องกันตนเองของประชาชน โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการจำหน่ายในท้องตลาดอย่างแพร่หลาย ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือเหล่านี้มีส่วนผสมเป็นแอลกอฮอล์ชนิดเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) หรือเอทานอล (ethanol) ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol) หรือไอโซโพรพานอล (isopropanol) และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ (n-propyl alcohol) หรือเอ็น-โพรพานอล (n-propanol) ซึ่งเป็นที่นิยมแต่ยังมีการลักลอบนำเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) หรือ methanol มาเป็นส่วนผสม⁽²⁾ โดยกลไกในการทำงานของแอลกอฮอล์ในการยับยั้งเชื้อไวรัสรวมทั้งไวรัสก่อโรค COVID-19 จะไปทำลายโครงสร้างที่เป็นโปรตีนของไวรัสทำให้โปรตีนเสียสภาพไม่สามารถคงรูปร่างเดิมไว้ได้ เมื่อโปรตีนมีโครงสร้างไม่เหมือนเดิมจึงทำให้ไวรัสไม่สามารถเข้าไปยึดเกาะกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นและไม่สามารถเข้าไปทำลายเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นได้ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังสามารถละลายไขมันที่เป็นโครงสร้างหลักของไวรัสทำให้อนุภาคของไวรัสสลายตัวไม่สามารถแพร่กระจายพันธุ์ได้⁽³⁻⁶⁾

ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เหล่านี้ควรมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 70-95 โดยปริมาตร ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่าร้อยละ 70 อาจไม่สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและไวรัสได้ ขณะที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่สูงกว่าร้อยละ 95 มักจะเหวี่ยงได้ง่ายและไม่มีน้ำเพียงพอในการทำให้โปรตีนและไขมันในโครงสร้างของไวรัสเกิดการเสียสภาพได้^(2,4) ตามประกาศกระทรวง

สาธารณสุข เล่ม 137 ตอนพิเศษ 54ง พ.ศ. 2563 กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2563 โดยให้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือ โดยความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์หรือไอโซโพรพานอล เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์หรือเอ็น-โพรพานอล เพียงสารเดียวหรือผสมรวมกันความเข้มข้นต้องไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร สามารถผลิต นำเข้า หรือขายได้และไม่อนุญาตให้ใช้เมทิลแอลกอฮอล์⁽⁷⁾

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดหรือชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือ โดยสามารถเตรียมตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วใช้ปริมาณสารเคมีน้อยไม่ยุ่งยาก สามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดในเวลาพร้อมกัน ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ Interday และ Intraday และความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์^(8,9) โดยใช้เทคนิค Headspace (HS) Gas Chromatography (GC) ตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) ซึ่งเป็นเทคนิควิเคราะห์ตัวอย่างและแยกสารผสมที่สามารถระเหยได้หรือกลายเป็นไอ

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน: สารมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.77, เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.72, ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.46, เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ (n-propyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์

ร้อยละ 99.73 และเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ (tert-butyl alcohol) (Sigma-Aldrich, USA) ที่มีความบริสุทธิ์มากกว่า 99%

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์

เตรียมผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเองโดยปราศจากแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ดังนี้ เติมน้ำ 0.7% w/w carbopol (Lubrizol, USA) ปริมาณ 20 กรัม ลงในน้ำกลั่นอุ่น 1,137 มิลลิลิตร คนให้ละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกันและตั้งทิ้งไว้ให้ carbopol พองตัว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำ 0.3% w/w trietanolamine (Lubrizol, USA) ปริมาณ 10 กรัม คนจนกระทั่งเจลก่อตัวและเป็นเนื้อเดียวกันจะได้ตัวอย่างเจล ปริมาณ 3,000 กรัม แบ่งบรรจุใส่ขวดเพื่อใช้เป็น Matrix blank สำหรับการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจล จำนวน 40 ตัวอย่าง ดังนี้ มีเมทิลแอลกอฮอล์อย่างเดียว จำนวน 1 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์อย่างเดียว จำนวน 18 ตัวอย่าง เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์อย่างเดียว จำนวน 10 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์ผสมไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 5 ตัวอย่าง และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ผสมเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 6 ตัวอย่าง ที่มีจำหน่ายในตลาดนัดและห้างสรรพสินค้าในจังหวัดนนทบุรีและกรุงเทพมหานคร เพื่อใช้ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการทดสอบผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล

เครื่องมือและอุปกรณ์

Positive Displacement Pipette ขนาด 500 ไมโครลิตร (Brand GMBH, Germany), Piston pipette ขนาด 500 ไมโครลิตร (Transferpette S, Brand GMBH, Germany), ขวด Headspace ขนาด 20 มิลลิลิตร (Agilent Technology, USA), Vortex Mixer (G-560E, Scientific Inc, USA), เครื่องเฮดสเปซ (Headspace) (G1888, Agilent

Technology, USA), เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) (7890A, Agilent Technology, USA) และเครื่องตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) ที่มีคอลัมน์ชนิด DB-5 ขนาด 30 เมตร $\times$ 0.250 มิลลิเมตร $\times$ 0.250 ไมโครเมตร (Agilent Technology, USA)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Internal Standard

ปิเปตสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ (tert-butyl alcohol) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ในขวดสีชาจะได้ความเข้มข้น 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์

การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์

เตรียมสารละลายมาตรฐานของแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ได้แก่ สารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ใช้ปิเปตดูดแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ปริมาตร 5, 10, 20, 40 และ 80 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียว ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย คือ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ เติมน้ำกลั่น 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อให้เป็นสารมาตรฐาน Internal Standard จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detection (HS-GC-FID)

การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจล จำนวนทั้งหมด 40 ตัวอย่าง ประกอบด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ จำนวน

1 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์ จำนวน 18 ตัวอย่าง เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 10 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์ผสมไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 5 ตัวอย่าง ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ผสม เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 6 ตัวอย่าง ชื้อจาก ตลาดนัดและห้างสรรพสินค้าต่างๆ ในจังหวัดนนทบุรี และกรุงเทพมหานคร มีขั้นตอนการเตรียมดังนี้ ปิเปต แต่ละตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิเปตสารละลาย ตัวอย่างที่ได้ 500 ไมโครลิตร ลงในขวด Headspace ขนาด 20 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปิดผนึกด้วย ฝาอะลูมิเนียม เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน สำหรับวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง HS-GC-FID การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ แอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ใช้

สภาวะของเครื่อง ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีปริมาตร การฉีด 1 ไมโครลิตร

การตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (System suitability)

ฉีดสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้น เติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ซึ่งทำหน้าที่เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิเปตขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ทำการฉีด สารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด จำนวน 5 ซ้ำ คำนวณ % Relative Standard Deviation (% RSD) ของ Peak area และ Retention time (RT) โดยเกณฑ์การยอมรับ คือ % RSD ของ Peak area ≤ 3 และ % RT $\geq 2^{(10,11)}$

ตารางที่ 1 แสดงสภาวะพารามิเตอร์ของเครื่อง HS-GC-FID

ชื่อพารามิเตอร์	Gas Chromatography	Headspace	
	Agilent รุ่น 7890 DB5, 30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 μ m	Agilent รุ่น G1888	
		Oven temperature	70°C
Column temperature	45°C	Loop temperature	80°C
Injector temperature	150°C	Transferline temperature	90°C
Detector temperature	250°C	Vial Equilibration	5.0 min
Carrier gas/flow rate	He/1.5 mL/min	Pressurization time	0.20 min
Split ratio	50:1	Loop Fill time	0.20 min
Hydrogen Flow	40 mL/min	Loop Equilibration	0.05
Air flow	400 mL/min	Inject time	0.30 min
Make up gas/flow rate	N ₂ /45 mL/min	Incubator time	5 min
		GC cycle time	9 min

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

การตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ฉีดสารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ

สารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ เป็น Internal Standard และสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC ภายใต้ สภาวะที่กำหนด ดังแสดงในตารางที่ 1 เพื่อตรวจสอบการ แยกของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-แอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จากการรบกวน ของสารอื่นในตัวอย่าง โดยต้องมีค่า Retention time (RT) แยกจากกันชัดเจนและค่า Resolution $\geq 2^{(10,11)}$

การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานของแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ได้แก่ สารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ โดยใช้ปิเปตดูดแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ปริมาตร 5, 10, 20, 40 และ 80 ไมโครลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย คือ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นดูดสารละลายมาตรฐานที่ได้จากการเตรียม ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อให้เป็นสารมาตรฐาน Internal Standard จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท เขย่าให้รวมเป็นเนื้อเดียวกัน พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detection (HS-GC-FID) เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) กับพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน (แกน y) คำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient, R) โดยค่าความสัมพันธ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่น้อยกว่า 0.995^(10,11)

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) ที่เติมสารละลายมาตรฐาน

เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 50, 100 และ 150 โดยปริมาตร ความเข้มข้นสุดท้าย ร้อยละ 1.0, 2.0 และ 3.0 โดยปริมาตร ตามลำดับ จากนั้นปิเปตสารมาตรฐานของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ 2 เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในขวดปรับปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้สารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด ที่เติมน้ำกลั่นในตัวอย่างเจลงเป็นเนื้อเดียวกัน ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการเตรียม 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวด Headspace เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์เป็น Internal Standard ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท เขย่าให้รวมเป็นเนื้อเดียวกัน พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detection (HS-GC-FID) ทำการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ คำนวณปริมาณเปรียบเทียบ กับสารมาตรฐานจาก Calibration curve แล้วคำนวณค่าเฉลี่ย % Recovery และ % RSD โดยประเมินผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีตามเกณฑ์กำหนดดังนี้ ความแม่นยำ (Accuracy) กำหนดเกณฑ์ยอมรับค่าร้อยละของการกลับคืน (% Recovery) 95–110% และ % RSD ≤ 3% ค่าความเที่ยง (Precision) ได้จากคำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD ≤ 3%^(10,11)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาตรของแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดที่เติมน้ำกลั่นในสารตัวอย่างเจลง

ชนิดของแอลกอฮอล์	250 มก.	500 มก.	750 มก.
เมทิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร
เอทิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร
ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร
เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร

การทดสอบความความเที่ยง (Precision)

การวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน (Repeatability)

ใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) เติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID วิเคราะห์ตัวอย่างละ 7 ซ้ำในวันเดียว แล้วคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างเป็นร้อยละโดยปริมาตร คำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

การวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน (Intermediate Precision, Between-Day)

ใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) เติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ในปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ตัวอย่างจะวิเคราะห์เป็นเวลา 5 วัน วันละ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างเป็นร้อยละโดยปริมาตร คำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

การวิเคราะห์ซ้ำโดยเปลี่ยนนักวิเคราะห์ (Intermediate Precision, Between-Analysts)

ใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix

blank) เติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ในปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID วิเคราะห์โดยนักวิเคราะห์ 2 คน คนละ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างเป็นร้อยละโดยปริมาตร คำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD)

ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ที่ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) และเติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ เป็น Internal Standard ทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ จากนั้นยืนยันค่า LOD โดยทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ผลที่ได้ต้องไม่พบ False negative และต้องให้สัญญาณค่า Signal-to-Noise Ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 3 คำนวณเป็นร้อยละโดยปริมาตรของตัวอย่าง^(10,11)

การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ที่มีความเข้มข้นใกล้เคียงค่าต่ำสุดของกราฟมาตรฐาน ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) และเติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ เป็น Internal Standard จากนั้นทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณเป็นค่าร้อยละโดยปริมาตรของ % Recovery และ % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับค่าร้อยละของ % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 95–110% และค่า % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

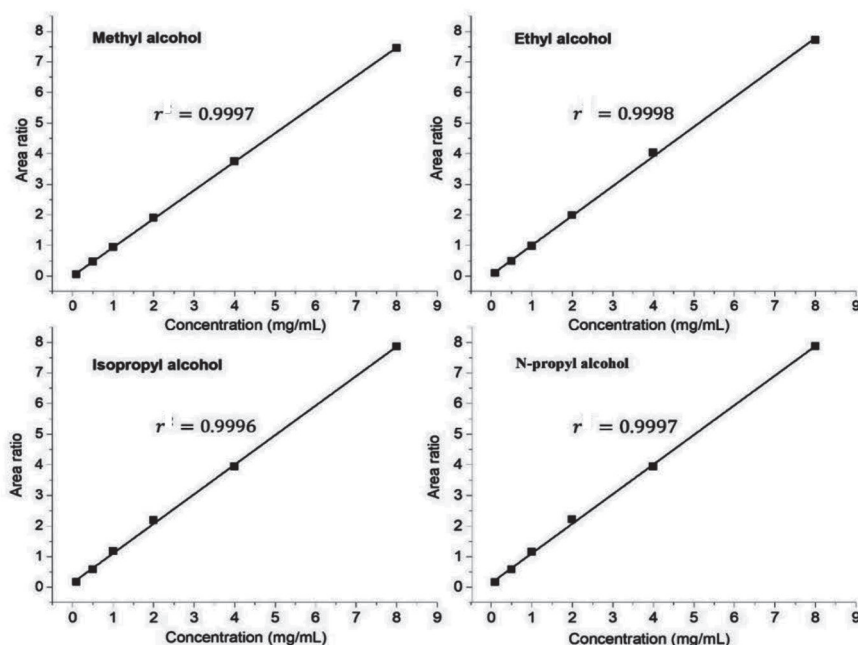
การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ (Measurement Uncertainty, MU)

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด คำนึงถึง แหล่งของความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง ได้แก่ ปริมาตร กราฟมาตรฐาน ความเที่ยง และความแม่นยำ แล้วคำนวณ รวมค่าความไม่แน่นอนทั้งหมด จากนั้นหาค่าความ ไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($k = 2$) เพื่อ ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ตามวิธีที่ได้ ทดสอบ ปริมาณสารที่พบหน่วยเป็นร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) และคำนวณความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบ จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สมการเส้นตรง⁽⁸⁾

ผล

การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล- แอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ช่วงความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระหว่าง ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมกับพื้นที่ใต้พีค จากการวิเคราะห์ด้วย GC มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง โดยคำนวณหาความเข้มข้นของสารมาตรฐานเฉลี่ยที่ตรวจ วิเคราะห์ได้ พบว่าค่าประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.9997, 0.9996, 0.9995 และ 0.9995 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1

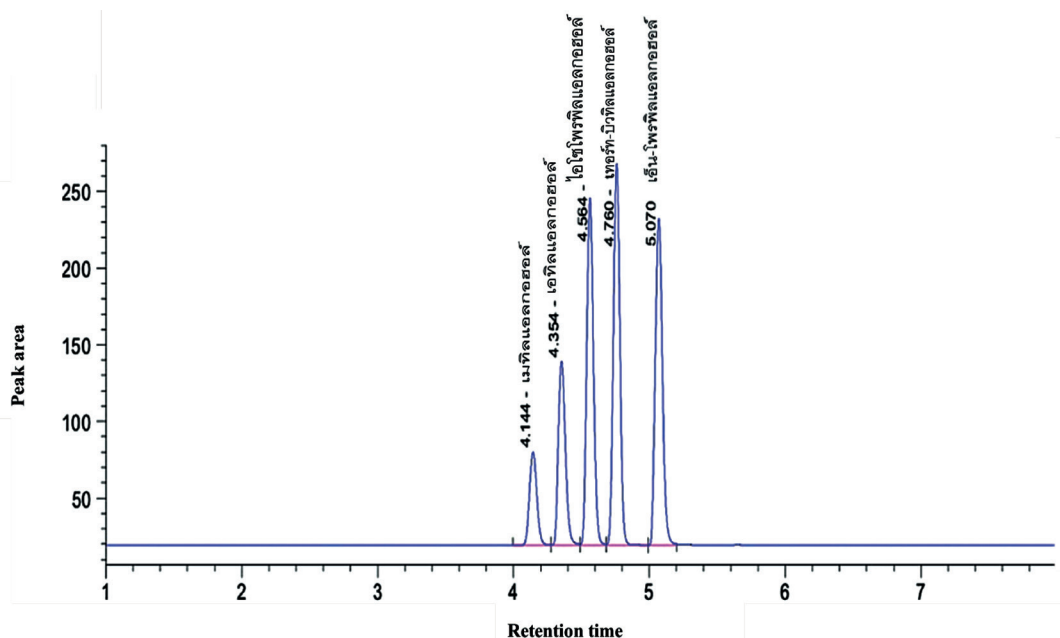


ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคจากการวิเคราะห์ด้วย GC มีความ เป็นเส้นตรงและแสดงช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and working range) ของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ผลการตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity) เมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ภายใต้สภาวะเครื่อง HS-GC-FID พบว่าสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 5 สาร คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-

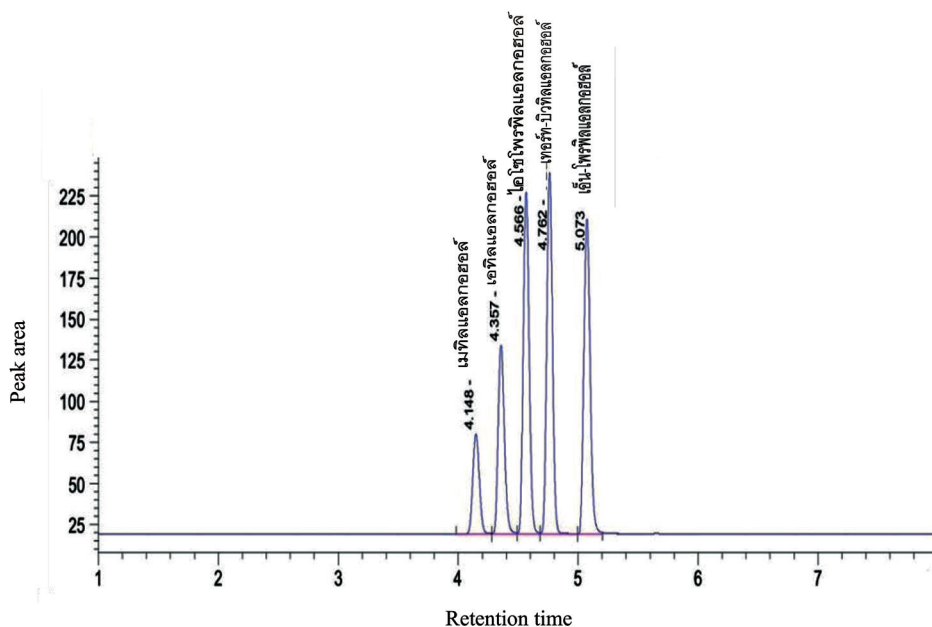
แอลกอฮอล์ เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ (Internal Standard) และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ออกจากกันได้ โดยมีค่า Retention time (RT) ประมาณ 4.1, 4.4, 4.6, 4.8 และ 5.1 นาที โดยประมาณ ตามลำดับ ดังแสดงใน ภาพที่ 2 โดยมี Resolution time เท่ากับ 1.2, 1.2, 1.1, 1.2 และ 1.4 ตามลำดับ



ภาพที่ 2 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ และเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ ในตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือที่มี แอลกอฮอล์ในรูปแบบเจล พบว่าการแยกพีคได้ ทั้งหมด 5 พีค โดยมีค่า Retention time (RT) ของ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล- แอลกอฮอล์ เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ และ

เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ใกล้เคียงกับค่า Retention time ของกราฟมาตรฐาน ดังในแสดงภาพที่ 3 โดยมีค่า Resolution time ในตัวอย่างเท่ากับ 1.2, 1.2, 1.1, 1.2 และ 1.4 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าใกล้เคียงกับสาร มาตรฐานแอลกอฮอล์ เท่ากับ 1.2, 1.2, 1.1, 1.2 และ 1.4 ตามลำดับ



ภาพที่ 3 โครมาโตแกรมของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจล ที่มีเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ผสมกัน

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 1.0, 2.0 และ 3.0 โดยปริมาตรวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ($n = 7$) พบว่า % Recovery เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับ เมทิลแอลกอฮอล์

อยู่ในช่วงร้อยละ 99-100 เอทิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วงร้อยละ 98-100 ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วงร้อยละ 98-100 และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วงร้อยละ 99-100 และความเที่ยงที่ประเมินค่า % RSD ของเมทิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 0.78-1.03 เอทิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 1.00-1.08 ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 0.97-1.21 และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 0.78-0.99 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์

ชนิดแอลกอฮอล์	Spiked level (ร้อยละ)	% Recovery of Mean of $\pm$ SD	% RSD (เกณฑ์ยอมรับ ≤ 3)
Methyl alcohol	1.0	100.14 $\pm$ 0.01	0.78
	2.0	99.74 $\pm$ 0.27	0.98
	3.0	100.75 $\pm$ 0.11	1.03
Ethyl alcohol	1.0	98.57 $\pm$ 0.08	1.00
	2.0	99.67 $\pm$ 0.30	1.08
	3.0	100.45 $\pm$ 0.22	1.01
Isopropyl alcohol	1.0	98.77 $\pm$ 0.70	1.02
	2.0	99.93 $\pm$ 0.31	1.21
	3.0	100.69 $\pm$ 0.37	0.97
n-propyl alcohol	1.0	99.02 $\pm$ 0.25	0.78
	2.0	99.68 $\pm$ 0.31	0.99
	3.0	100.81 $\pm$ 0.40	0.78

การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ LOD ได้เท่ากับร้อยละ 0.001 โดยปริมาตร โดยให้สัญญาณฟิสิกส์ค่าสูงกว่า 3 เท่าของ Signal to Noise ส่วนค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ LOQ เท่ากับร้อยละ 0.01 โดยปริมาตรในทุกชนิดสาร ผลการพิสูจน์ค่า LOQ ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่มีแอลกอฮอล์รูปแบบเจล

โดยการเติมสารมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ โดยวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ($n = 7$) ได้ค่า % Recovery ในช่วงร้อยละ 100.56-102.14, 98.56-96.75, 97.78-99.77 และ 100.45-101.02 ตามลำดับ และ % RSD ในช่วง 0.91, 1.22, 1.83, 1.82 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ % Recovery และ % RSD ของค่า LOQ

ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	% Recovery	% RSD
Methyl alcohol	100.56-102.14	0.91
Ethyl alcohol	98.56-96.75	1.22
Isopropyl alcohol	97.78-99.77	1.83
n-propyl alcohol	100.45-101.02	1.82

การทดสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน (Repeatability) ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด ผสมกัน คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ วิเคราะห์ตัวอย่าง 5 ซ้ำในวันเดียว พบว่ามีค่า % RSD เท่ากับ 0.47, 0.69, 0.67 และ 0.66 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล

ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	ครั้งที่	ปริมาณ (ร้อยละโดยปริมาตร) (*n = 5)			
		ค่าเฉลี่ย	% RSD	ค่าเฉลี่ยในวันเดียวกัน	% RSD
Methyl alcohol	1	67.7900	0.46	67.7765	0.47
	2	67.7373	0.53		
	3	67.6346	0.45		
	4	67.8904	0.41		
	5	67.8304	0.51		
Ethyl alcohol	1	78.8453	0.69	78.8811	0.69
	2	78.9025	0.45		
	3	78.9784	0.87		
	4	78.7382	0.87		
	5	78.9413	0.56		
Isopropyl alcohol	1	73.7309	0.68	73.5753	0.67
	2	73.6578	0.87		
	3	73.5760	0.93		
	4	73.4564	0.34		
	5	73.4554	0.54		
n-propyl alcohol	1	68.9874	0.52	68.9212	0.66
	2	68.8865	0.57		
	3	68.9769	0.49		
	4	68.8903	0.78		
	5	68.8648	0.92		

หมายเหตุ: * จำนวนครั้งของการวิเคราะห์

**การทดสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน
(Intermediate Precision, Between-Day)**

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด
ผสมกัน คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์

ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์
ในตัวอย่างวิเคราะห์ เป็นเวลา 5 วัน วันละ 7 ซ้ำ พบว่า
มีค่า % RSD เท่ากับ 0.32, 0.29, 0.15 และ 0.44
ดังแสดงในตารางที่ 6

**ตารางที่ 6 ผลการสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล**

ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	วันที่	ปริมาณ (ร้อยละโดยปริมาตร) (*n = 7)			
		ค่าเฉลี่ย	% RSD	ค่าเฉลี่ยระหว่างวัน	% RSD
Methyl alcohol	1	67.9879	0.56	67.4563	0.32
	2	67.7873	0.43		
	3	67.2346	0.65		
	4	67.5674	0.44		
	5	67.8984	0.41		
Ethyl alcohol	1	79.4563	0.89	79.0984	0.29
	2	79.3245	0.56		
	3	79.8764	0.78		
	4	79.6342	0.23		
	5	79.4536	0.12		
Isopropyl alcohol	1	73.7874	0.48	73.5644	0.15
	2	73.3432	0.72		
	3	73.4531	0.80		
	4	73.5667	0.62		
	5	73.7677	0.13		
n-propyl alcohol	1	69.6574	0.64	69.2332	0.44
	2	69.4565	0.80		
	3	69.3422	0.78		
	4	69.4333	0.32		
	5	69.5405	0.45		

หมายเหตุ: * จำนวนครั้งของการวิเคราะห์

**การทดสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำโดยเปลี่ยน
นักวิเคราะห์ (Intermediate Precision,
Between-Analysts)**

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด

ผสมกัน คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์
ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์
ในตัวอย่างวิเคราะห์ โดยนักวิเคราะห์ 2 คน คนละ 7 ซ้ำ
พบว่ามีค่า % RSD เท่ากับ 1.12, 0.27, 0.42 และ 0.26
ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์โดยต่างนักวิเคราะห์ ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์
ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล

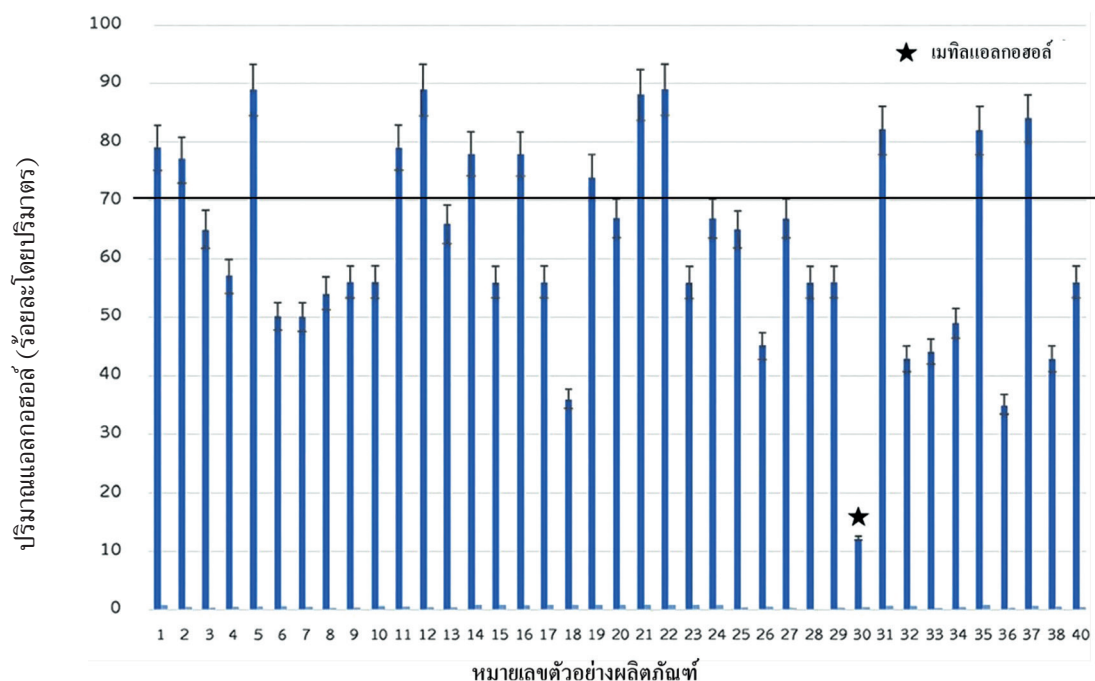
ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	นักวิเคราะห์	ปริมาณ (ร้อยละโดยปริมาตร)		
		ค่าเฉลี่ย (n = 7)	ค่าเฉลี่ยนักวิเคราะห์ (n = 2)	% RSD
Methyl alcohol	1	68.8776	68.33865	1.12
	2	67.7997		
Ethyl alcohol	1	80.1879	80.0324	0.27
	2	79.8769		
Isopropyl alcohol	1	74.5365	74.3136	0.42
	2	74.0907		
n-propyl alcohol	1	70.5098	70.3826	0.26
	2	70.2554		

หมายเหตุ: * จำนวนครั้งของการวิเคราะห์

การทดสอบผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือ รูปแบบเจลที่มีจำหน่าย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด
คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-
แอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล จำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่า

ผลทดสอบของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาด
มือที่ผ่านมาตรฐาน ซึ่งมีปริมาณของแอลกอฮอล์ชนิดที่
กฎหมายกำหนดตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 13
ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 33) และไม่ผ่านมาตรฐาน
26 ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 67) นอกจากนี้ยังพบ
1 ตัวอย่าง ที่มีส่วนผสมของเมทิลแอลกอฮอล์ ดังแสดง
ในภาพที่ 4

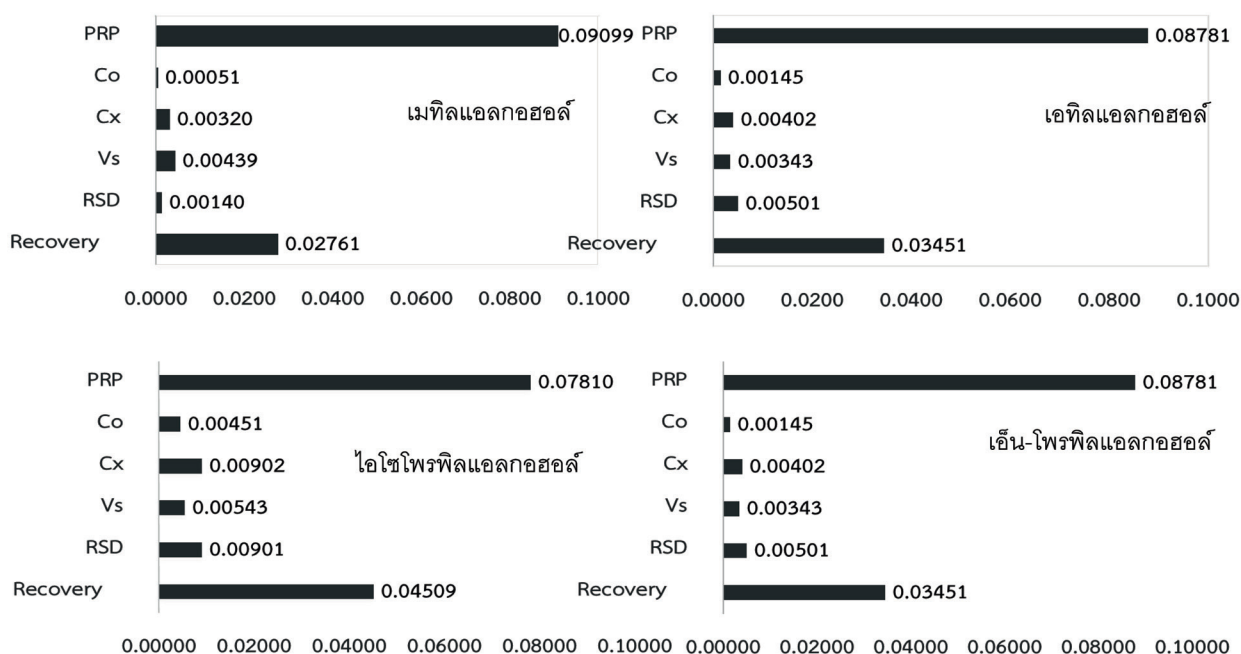


ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือแบบเจล จำนวน 40 ตัวอย่าง
ด้วยวิธี HS-GC-FID ซึ่งพบผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์ชนิดที่ใช้ได้ตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และต่ำกว่า
70 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งพบหนึ่งตัวอย่างที่มีเมทิลแอลกอฮอล์

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์แสดงให้เห็นถึงสายโซ่การสอบกลับได้ของการวัด โดยพิจารณาแหล่งความไม่แน่นอนที่จะมีผลกระทบต่อการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ ความไม่แน่นอนจากความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน การสอบเทียบเครื่องมือ ความเข้มข้นของตัวอย่างที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน ความเที่ยงของวิธีเมื่อทำซ้ำ และ

ค่าร้อยละการคืนกลับของการทดสอบความถูกต้องของวิธี นำมาคำนวณค่าความไม่แน่นอนรวม (Combined Uncertainty, UC) และค่าความไม่แน่นอนขยาย (Expanded Uncertainty, U) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ค่า Coverage Factor (k) เท่ากับ 2 เท่ากับ ร้อยละ 0.48, 0.34, 0.14 และ 0.32 โดยปริมาตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 สัดส่วนขององค์ประกอบแห่งความไม่แน่นอนที่สำคัญที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือโดยเทคนิค HS-GC-FID

หมายเหตุ: Recovery = ค่าร้อยละการคืนกลับของการทดสอบความถูกต้องของวิธี

RSD = ความเที่ยงของวิธีเมื่อทำซ้ำ

Vs = ปริมาตรของตัวอย่าง

Cx = ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

Co = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

PRP = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่รายงาน

วิจารณ์

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ พร้อมกันในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือ โดยเทคนิค Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (HS-GC-FID) ได้พัฒนามาจากวิธีการวิเคราะห์โดย

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) จาก ILIADe143:2019⁽¹¹⁾ ซึ่งเป็นวิธีที่ยุงยาก ซับซ้อน วิเคราะห์สารกลุ่มแอลกอฮอล์ได้ 3 ชนิด และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน วิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด ตามกฎหมายกำหนดพร้อมกันโดยใช้เทคนิค HS-GC-FID ผลการศึกษาได้สภาวะการสกัดสำหรับ Headspace ที่อุณหภูมิ 70°C เวลา 5 นาที ใช้คอลัมน์

ชนิด DB-5 อุณหภูมิ 45°C อัตราการไหล 0.5 ml/min และใช้ Flame Ionization Detector (FID) เป็นตัวตรวจวัด ซึ่งภายใต้สภาวะเหล่านี้พบว่าสามารถแยกพีคของแอลกอฮอล์ได้ 5 ชนิด รวมทั้งเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็น Internal Standard ออกจากกันได้อย่างชัดเจนในเวลาเดียวกัน ทำให้รวดเร็วและประหยัดเวลา ใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย และไม่ยุ่งยากในการเตรียม วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ได้ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถตรวจสอบสารที่มีปริมาณน้อยได้อย่างแม่นยำ

จากการทดสอบความถูกต้องของวิธี (Method Validation) ยืนยันได้ว่าวิธีที่ได้มีความถูกต้องเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานและมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด พร้อมกันในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือนี้ยังมีข้อจำกัดของวิธีการ คือ ในการเตรียมสารละลายแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดนี้ มีความหนืดสูงทำให้ต้องใช้ Positive Displacement Pipette (สำหรับสารที่มีความหนืดสูง) และแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียสเพื่อป้องกันการระเหยของแอลกอฮอล์จากการประเมินข้อจำกัดของวิธีวิเคราะห์แอลกอฮอล์ 4 ชนิดดังกล่าว ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือโดยใช้เทคนิค HS-GC-FID ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดไอระเหยของสารพร้อมกันหลายชนิด ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าแม้เทคนิคนี้ จะมีความไวและความจำเพาะดี แต่ยังมีข้อจำกัดที่ควรพิจารณา เช่น ความยากในการเตรียมสารมาตรฐานอย่างแม่นยำ ความเสี่ยงจากการระเหยของแอลกอฮอล์ และผลกระทบจากองค์ประกอบในสูตรผลิตภัณฑ์ (Matrix Effect) ดังนั้นข้อเสนอแนะเพื่อการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ในลำดับต่อไป ได้แก่ การควบคุมอุณหภูมิและการใช้เครื่องมือที่เหมาะสมในการเปิดแอลกอฮอล์ การศึกษา

ความคงตัวของแอลกอฮอล์ในระยะยาว และการประเมินผลของ Matrix Effect อย่างเป็นระบบ รวมถึงการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐานสากล เช่น วิธี Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) และ Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) เพื่อยืนยันความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีที่พัฒนา ได้แก่ Chun HJ และคณะ รายงานว่า GC-FID สามารถวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มได้อย่างแม่นยำโดยใช้ Internal Standard ที่เหมาะสม⁽¹²⁾ ในขณะที่ Nisbar ND และคณะ ได้ใช้เทคนิคเดียวกันในการตรวจสอบแอลกอฮอล์ในเจลล้างมือเชิงพาณิชย์ พร้อมเสนอแนวทางควบคุมการระเหยเพื่อเพิ่มความแม่นยำของผลวิเคราะห์⁽¹³⁾ สำหรับแนวทางของ WHO ได้ระบุให้ใช้เทคนิค Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) หรือ GC-MS เป็นแนวทางมาตรฐานสำหรับการควบคุมคุณภาพแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค⁽⁴⁾ ทั้งนี้การปรับปรุงกระบวนการวิเคราะห์ การควบคุมสภาวะในการเตรียมตัวอย่าง และการประยุกต์ใช้ข้อเสนอแนะจากการศึกษานี้จะสามารถยกระดับความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ HS-GC-FID ได้ในระยะยาว^(2,12,13)

จากผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์รูปแบบเจลที่ผ่านมาตรฐาน ซึ่งมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ผ่านมาตรฐาน จำนวน 13 ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 33) และไม่ผ่านมาตรฐาน จำนวน 26 ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 67) นอกจากนี้ยังพบ จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่มีส่วนผสมของเมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ชนิดห้ามใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง แสดงว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่มีการวางจำหน่ายในท้องตลาดให้แก่ผู้บริโภคมีคุณภาพและปริมาณของแอลกอฮอล์ไม่เป็นไปตามที่กฎหมายกำหนด จนอาจไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส รวมทั้งเชื้อไวรัสก่อโรค COVID-19 ดังนั้นจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังต่อไปเพื่อติดตามคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังจำหน่ายให้ เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อสุขภาพและอนามัยของประชาชน

สรุป

การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัย สำหรับมือโดยเทคนิค HS-GC-FID ได้สภาวะการสกัดสำหรับ Headspace ที่อุณหภูมิ 70°C เวลา 5 นาที ใช้คอลัมน์ชนิด DB-5 อุณหภูมิ 45°C อัตราการไหล 0.5 mL/min พบว่าสามารถแยกพีคได้ทั้งหมด 5 พีค คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ และเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ออกจากกันได้ มีค่า LOD และ LOQ ของทุกสาร เท่ากับร้อยละ 0.001 และ 0.01 โดยปริมาตร และสามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ได้พร้อมกันภายในเวลา 8 นาที จากข้อมูลขั้นตอนแสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีคุณลักษณะเฉพาะแสดงสมรรถนะที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับและเหมาะสม มีความถูกต้อง แม่นยำ มีความไวและความจำเพาะต่อสารที่ต้องการทดสอบ ให้ผลทุกพารามิเตอร์ผ่านเกณฑ์ยอมรับของสากล เหมาะกับการใช้งาน สามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ เพื่อสุขอนามัยตามกฎหมาย และเพื่อคุ้มครองผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่สำนักเครื่องและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ตลอดจนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจนบรรลุผลสำเร็จในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ข้อมูลสำหรับการป้องกันตนเองจากไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 14 มี.ค. 2567]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/introduction/introduction01.pdf>.
2. World Health Organization. สถานการณ์โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในประเทศไทย. [ออนไลน์]. 2567; [สืบค้น 15 มี.ค. 2567]; [4 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.who.int/thailand/news/detail/07-02-2024-update-on-covid-19-in-thailand--7-february-2024-THA>.
3. ไทยพีบีเอส. เตือน! หลอกขาย “เมทิลแอลกอฮอล์” เป็นส่วนผสมเจลล้างมือมีโทษ. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 23 มี.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.thaipbs.or.th/news/content/290143>.
4. World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV): situation report-1. [online]. 2020; [cited 2020 Oct 5]. Available from: URL: <https://iris.who.int/handle/10665/330760>.
5. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19). [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 19 มี.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia>.
6. Sithersingh MJ, Snow NH. Chapter 9 – Headspace gas chromatography. In: Poole CF, editor. Handbooks in separation science gas chromatography. 2nd ed. Elsevier; 2021. p. 251–265.
7. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือ ที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2563. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 137 ตอนพิเศษ 54 ง (วันที่ 9 มีนาคม 2563). หน้า 6.
8. สุวรรณ จารุสุข และคณะ. แนวปฏิบัติการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดทางเคมี. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2550.
9. EURACHEM/CITAC. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2nd ed. [online]. 2000; [cited 2020 Jun 15]; [126 screens]. Available from: URL: <https://www.eurachem.org/imager/stories/Guides/pdf/QUAM2000-1.pdf>.
10. EURACHEM. The fitness for purpose of analytical method: a laboratory guide to method validation and related topics. 2nd ed. [online]. 2014; [cited 2000 Jun 15]; [70 screens].

- Available from: URL: https://www.eurachem.org/imager/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.
11. Customer Laboratories European Network. ILIADe 143:2019 CLEN Method. Determination of ethanol in alcoholic products by GC-FID version 14, October 2019. [online]. 2019; [cited 2020 Jun 15]; [7 screens]. Available from: URL: <https://www.scribd.com/document/447884817/iliade-143-ethanol-gc-fid>.
 12. Chun HJ, Poklis JL, Poklis A, Wolf CE. Development and validation of a method for alcohol analysis in brain tissue by headspace gas chromatography with flame ionization detector. *J Anal Toxicol* 2016; 40(8): 653-8.
 13. Nisbar ND, Jamal Khair SK, Bujang NB, Mohd Yusop AY. Determination of ethanol, isopropyl alcohol and methanol in alcohol-based hand sanitiser to ensure product quality, safety and efficacy. *Sci Rep* 2023; 13(1): 9478. (10 pages).
-

Method Development and Validation for Determination of Alcohol Contents in Hand Sanitizer Products by Headspace-Gas Chromatography- Flame Ionization Detector

Suphatchaya Lamkhao, Siriporn Thongprakaisang, and Laweng Nilmanee

*Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Nonthaburi
11000, Thailand*

ABSTRACT The Ministry of Public Health, Thailand, has issued a notification stating that alcohol-containing cosmetics for hand hygiene with a concentration $\geq 70\%$ by volume of ethyl alcohol, isopropyl alcohol, or n-propyl alcohol, alone or combined, are allowed to be produced, imported, or sold, and methyl alcohol should not be used as an ingredient. The Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Thailand, developed a quantitative method for the determination of the four alcohols. The optimum extraction conditions for headspace were obtained at 70°C for 5 min. Gas Chromatograph conditions were performed using a DB-5 column with a temperature of 45°C and a flow rate of 0.5 mL/min. Method validation showed resolution > 2 of five alcohols, including tert-butyl alcohol as the internal standard. The linearity of the working range was from 0.50 to 8.00 mg/mL, with the Coefficient of Determination, $R > 0.995$. The accuracy was shown as % Recovery in the range of 95–110. The repeatability and intermediate precision were in an acceptable range (% RSD < 3). The Limit of detection and quantitation were 0.01 and 0.001% by volume, respectively. In summary, this method was appropriate to use in routine analysis. The advantages of this method were simple, convenient, fast, and capable of analyzing the content of all four alcohol components within 8 minutes.

Keywords: Alcohol-containing hand hygiene, Ethyl alcohol, Isopropyl alcohol, n-propyl alcohol, Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector

การเปรียบเทียบข้อกำหนดมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2562 กับมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 และ การวิเคราะห์ข้อบกพร่องของห้องปฏิบัติการที่ผ่าน การรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 – 2566

วรรณปรัชญ์ เรืองเดช สิริพรรณ แสงอรุณ เรวดี สิริธัญญานนท์ และ สุรศักดิ์ หมั่นพล
สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ข้อกำหนดในมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ฉบับปี พ.ศ. 2562 มีความสอดคล้องกับมาตรฐานสากล ISO 15189:2012 แต่ปัจจุบันมาตรฐานสากล ISO 15189 มีการปรับปรุงใหม่ในปี ค.ศ. 2022 ดังนั้น มาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข จึงต้องมีการปรับปรุงเพื่อให้สอดคล้องกับมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 ในการศึกษาจึงได้เปรียบเทียบมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข กับมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 และศึกษาผลการตรวจประเมินของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หลังจากมีการปรับปรุงข้อกำหนดในปี พ.ศ. 2562 ผลการศึกษาพบว่ามาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ฉบับปี พ.ศ. 2562 พบข้อกำหนดโดยส่วนใหญ่มีความครอบคลุมและสอดคล้องกับมาตรฐานสากล และห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง 180 แห่ง ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 ถึง กันยายน พ.ศ. 2566 โดยเฉลี่ยห้องปฏิบัติการหนึ่งแห่งได้รับข้อบกพร่องและข้อสังเกตรวมกันจำนวน 15 ข้อ จาก 75 ข้อกำหนด ข้อบกพร่องที่พบบ่อย 5 อันดับแรก คือ การควบคุมคุณภาพภายใน การประเมินคุณภาพ การตรวจวิเคราะห์ การทบทวนการบริหารจัดการคุณภาพ การสื่อสารและทบทวนคู่มือการใช้บริการ การทวนสอบผล คิดเป็นร้อยละ 4.7, 4.4, 2.8, 2.7 และ 2.6 ตามลำดับ สาเหตุของข้อบกพร่องที่พบบ่อยที่สุดในเรื่องการควบคุมคุณภาพภายใน คือ ไม่มีตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายในจึงไม่ได้ดำเนินการ ซึ่งมีมากถึง 35 รายการทดสอบ ดังนั้นในการปรับปรุงมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขฉบับใหม่ จึงต้องให้ครอบคลุมและสอดคล้องกับมาตรฐานสากลฉบับล่าสุด นอกจากนั้นห้องปฏิบัติการต้องได้รับการสนับสนุนจากผู้บริหารในเรื่องทรัพยากรต่าง ๆ รวมถึงการให้ความรู้เรื่องระบบคุณภาพที่จะส่งผลต่อการพัฒนาระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องตามมาตรฐานและลดข้อบกพร่องที่เกิดขึ้น เพื่อจะทำให้เกิดความมั่นใจรวมทั้งการยอมรับจากผู้รับบริการ

คำสำคัญ: มาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข, ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์, ระบบคุณภาพ, การวิเคราะห์ข้อบกพร่อง

Corresponding author E-mail: wannaprach.r@dmssc.mail.go.th

Received: 25 August 2024

Revised: 28 July 2025

Accepted: 1 August 2025

บทนำ

ระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการมีบทบาทสำคัญอย่างมาก ในการประกันคุณภาพความสามารถของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์สำหรับการให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางการแพทย์ เพื่อให้มั่นใจว่าผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้อยู่ตลอดเวลา ดังนั้นองค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน (International Organization for Standardization, ISO) จึงได้จัดทำมาตรฐานเพื่อสนับสนุนระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์อย่างต่อเนื่อง จนมาถึงเอกสารฉบับที่ใช้กันในปัจจุบัน คือ ISO 15189 (Medical Laboratories-Requirements for Quality and Competence)⁽¹⁾ ซึ่งเป็นมาตรฐานที่มีข้อกำหนดด้านคุณภาพและความสามารถในการให้บริการสำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มีรากฐานจากมาตรฐาน ISO 9001 และ ISO/IEC 17025 ฉบับล่าสุด ค.ศ. 2022 ปัจจุบันกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้นำมาใช้เป็นเครื่องมือสำหรับการรับรองห้องปฏิบัติการทางการแพทย์สำหรับมาตรฐาน ISO 15189 จะเน้นสิทธิของผู้ป่วย ซึ่งเป็นผู้รับบริการ และการรักษาความลับของผู้รับบริการ กระบวนการตรวจวินิจฉัยโรคต้องมีการเก็บตัวอย่างจากส่วนต่างๆ จากร่างกายผู้ป่วย เพื่อนำผลการตรวจไปใช้ประกอบการตัดสินใจวางแผนการดูแลรักษาผู้ป่วย เฝ้าระวัง ควบคุม หรือป้องกันโรค ดังนั้นผลตรวจวิเคราะห์ต้องมีความถูกต้อง ครบถ้วน และส่งมอบให้แพทย์หรือบุคลากรทางการแพทย์ได้ทันเวลาในการรับรองมาตรฐานสากลนี้จะรับรองตามขอบเขตรายการทดสอบที่ยื่นมา⁽²⁾ อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญที่สุดสำหรับการขอการรับรองตามมาตรฐานสากล ISO 15189 คือต้องเตรียมความพร้อมในการขอการรับรองอย่างหนัก และรวมถึงความมุ่งมั่นของบุคลากรของห้องปฏิบัติการในทุกระดับ เพื่อให้ได้รับการรับรองสำเร็จ⁽³⁾ ดังนั้นเพื่อเป็นทางเลือกในปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ จึงได้พัฒนาระบบรับรองคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ โดยมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งเป็นการดำเนินการตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุข ที่มุ่งเป้าการพัฒนาคุณภาพมาตรฐาน

การให้บริการในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของกระทรวงสาธารณสุข ที่ยังไม่ผ่านการรับรองคุณภาพระบบใด ๆ ต้องได้รับการรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ในครั้งนั้น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ประสบความสำเร็จในการพัฒนามาตรฐานคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข โดยมีข้อกำหนดสอดคล้องตามมาตรฐานสากล ISO 15189 ซึ่งมีเนื้อหาน้อยกว่า เพื่อให้ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ต่างๆ สามารถนำไปดำเนินการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการของตนเองอย่างเป็นระบบและสามารถขอการรับรองได้⁽²⁾ ผลจากการรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ทำให้ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของกระทรวงสาธารณสุขและหน่วยงานภายนอกกระทรวงสาธารณสุข สามารถให้บริการประชาชนได้ด้วยระบบคุณภาพมาตรฐานมาอย่างต่อเนื่อง จำนวนกว่า 180 แห่ง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557–2566⁽⁴⁾

สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นหน่วยงานที่ได้รับมอบหมายจากคณะกรรมการมาตรฐานแห่งชาติ (กมช.) ให้ทำหน้าที่เป็นหน่วยรับรองและได้รับการยอมรับร่วม (Mutual Recognition Arrangement, MRA) จากองค์การระดับภูมิภาค Asia Pacific Accreditation (APAC) และ International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) ในการให้การรับรองระบบคุณภาพตามมาตรฐานสากล ISO 15189: Medical Laboratories-Requirements for Quality and Competence⁽⁵⁾ ส่วนการให้บริการรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข (มาตรฐาน MOPH LAB) แม้ว่าไม่อยู่ในขอบเขตของการยอมรับร่วม สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการได้ดำเนินการรับรองโดยเป็นหน่วยรับรองที่มีระบบคุณภาพมาตรฐานสากล ISO/IEC 17011: Conformity Assessment Requirements for Accreditation Bodies Accrediting Conformity Assessment Bodies กระบวนการรับรองโดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐานสากล ISO 15189

และมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข หรือเรียกโดยย่อว่า มาตรฐาน MOPH LAB เริ่มจากให้ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่เป็นนิติบุคคลที่ประสงค์ขอรับการรับรองโดยสมัครใจ (voluntary) ส่งเอกสาร หลักฐานตามที่กำหนดมายังหน่วยรับรอง โดยหน่วยรับรองจะแต่งตั้งมอบหมายผู้ตรวจประเมิน (assessor) ที่มีความรู้ความสามารถ ทั้งด้านระบบคุณภาพและวิชาการ มีความเป็นกลาง ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนกับห้องปฏิบัติการที่ตรวจประเมิน เพื่อพิจารณาเอกสาร หลักฐาน และตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ (assessment) เพื่อพิจารณาสุ่มตรวจหาหลักฐานเชิงประจักษ์ยืนยันว่าห้องปฏิบัติการดำเนินการถูกต้องและสอดคล้องตามข้อกำหนดในมาตรฐาน หากผู้ตรวจประเมินตรวจพบสิ่งที่ไม่สอดคล้องตามข้อกำหนด (ข้อบกพร่อง) ร้องขอให้ห้องปฏิบัติการแก้ไขสิ่งเหล่านั้นให้แล้วเสร็จ ก่อนส่งรายงานผลการตรวจประเมินพร้อมระบุการแก้ไขข้อบกพร่องเสนอต่อสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ เพื่อให้คณะกรรมการรับรองที่ประกอบด้วยบุคคลที่มีความเชี่ยวชาญหลากหลายสาขาจากหลายหน่วยงานที่ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน มีความเป็นกลาง ยอมรับการรักษาความลับของข้อมูล มีความรู้ความสามารถด้านระบบคุณภาพและวิชาการ โดยคณะกรรมการรับรองจะพิจารณารายงานผลการตรวจประเมิน ก่อนมีมติเห็นชอบเสนอผู้มีอำนาจลงนามในใบรับรอง (Certificate of Accreditation) ต่อไป จากกระบวนการรับรองดังกล่าวมีสิ่งที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน คือ มาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจประเมิน ประกอบกับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของประเทศไทยมีหลายสังกัดทั้งในและนอกกระทรวงสาธารณสุข รวมทั้งห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของเอกชน ซึ่งมีความแตกต่างกันในโครงสร้างพื้นฐาน จำนวนบุคลากร และศักยภาพการให้บริการ

มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 ครอบคลุมเฉพาะห้องปฏิบัติการทางการแพทย์เท่านั้น ไม่ได้รวมห้องปฏิบัติการรังสีวินิจฉัย โดยต้องการให้ข้อกำหนดมีความกระชับ จึงตัดประเด็นเนื้อหาที่ซ้ำซ้อนโดยนำมารวมเป็นข้อกำหนดข้อเดียวกัน เพิ่มข้อกำหนดเรื่อง ความเสี่ยง (Risk Assessment) และการทบทวน

ระบบบริหารคุณภาพ (Management Review)⁽⁶⁾ ซึ่งทำให้ข้อกำหนดในมาตรฐาน MOPH LAB มีความสอดคล้องกับมาตรฐานสากล ISO 15189:2012 และ ISO 15190:2003⁽⁷⁾ ซึ่งเป็นมาตรฐานข้อกำหนดด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ นอกจากนั้นยังมีการปรับเกณฑ์การประเมินใหม่ โดยการนำข้อกำหนดมาจัดทำเป็นแบบประเมิน (Checklist) วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงเป็นการนำเสนอข้อมูลเชิงเปรียบเทียบของมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 สำหรับใช้ในการพัฒนาปรับปรุงมาตรฐาน MOPH ให้มีข้อกำหนดที่ครอบคลุมกับข้อกำหนดมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 มากขึ้น เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่ประสงค์จะยกระดับการรับรองตามมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 ต่อไป รวมทั้งประโยชน์ต่อผู้ตรวจประเมินที่ทำหน้าที่ตรวจประเมินทั้งสองมาตรฐาน นอกจากนั้น การศึกษานี้ยังวิเคราะห์สิ่งที่ไม่สอดคล้องตามข้อกำหนดจากรายงานการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ระหว่างปี พ.ศ. 2562–2566 หลังจากมีการปรับปรุงมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB) ฉบับปี พ.ศ. 2562 เพื่อค้นหาคำปัจจัยที่เป็นจุดอ่อน จุดแข็ง อุปสรรค และโอกาส เพื่อใช้ในการปรับปรุงระบบคุณภาพมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุขให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การศึกษาเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB) ปี พ.ศ. 2562 และมาตรฐานสากล ISO 15189:2022

ศึกษารายละเอียดข้อกำหนดที่ใช้ตรวจประเมินของแต่ละมาตรฐาน แล้วนำมาจัดกลุ่ม เรียบเรียงตามลำดับข้อกำหนดโดยใช้มาตรฐานสากล ISO 15189:2022⁽⁵⁾ เป็นหลักในการเปรียบเทียบกับมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB) ฉบับปี พ.ศ. 2562⁽⁶⁾ โดยเรียงตามข้อกำหนด ซึ่งในแต่ละมาตรฐานจะกำหนดหมายเลขข้อกำหนดแตกต่างกัน มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุขมีการจัดทำแนวทางปฏิบัติในการ

ตรวจประเมิน หรือเรียกคู่มือตรวจประเมินมาตรฐาน
ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข 2562
เรียกว่า “แบบตรวจติดตามและประเมินผล (Checklist)
ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวง
สาธารณสุข” หมายถึง ข้อกำหนดที่นำมาเป็นข้อๆ เพื่อ
ให้ห้องปฏิบัติการสามารถประเมินตนเองได้ นำไปใช้
เป็นแนวทางประเมิน และเกณฑ์การตรวจประเมินแต่ละ
ข้อกำหนด การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นข้อกำหนดมาตรฐาน
MOPH LAB ที่ยังไม่ครอบคลุมมาตรฐานสากล ISO
15189 และเกณฑ์การตรวจประเมินเพื่อยกระดับ
มาตรฐาน MOPH LAB

**การวิเคราะห์ข้อบกพร่องจากรายงานผลการตรวจ
ประเมินตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB)**

การศึกษานี้เป็นการรวบรวมข้อมูลรายงานผล
การตรวจประเมินในปีงบประมาณ พ.ศ. 2563–2566 ตั้งแต่
เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 ถึง กันยายน พ.ศ. 2566 หลังมี
การปรับปรุงข้อกำหนด ในปี พ.ศ. 2562 ห้องปฏิบัติการ
ที่ยื่นขอการรับรองมาตรฐาน MOPH LAB เพื่อขอ
การรับรองใหม่และต่ออายุ และได้รับการตรวจประเมิน
จำนวนทั้งสิ้น 180 แห่ง เป็นการขอรับรองใหม่ 57 แห่ง
และต่ออายุการรับรอง 123 แห่ง แบ่งเป็น ห้องปฏิบัติการ
ของโรงพยาบาลชุมชน (รพช.) จำนวน 146 แห่ง
โรงพยาบาลทั่วไป (รพท.) จำนวน 16 แห่ง โรงพยาบาลศูนย์
(รพศ.) จำนวน 5 แห่ง สังกัดกรมอื่นๆ 8 แห่ง และ
เอกชน 5 แห่ง นำข้อมูลมาจัดกลุ่มและแจกแจงข้อมูล
ความถี่ของข้อกำหนดที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด
หรือเรียกว่า ข้อบกพร่อง (Non-Conformity, NC) เพื่อ
วิเคราะห์สาเหตุที่ห้องปฏิบัติการได้รับข้อบกพร่อง โดย
จำแนกหมวดหมู่ของข้อบกพร่องและข้อสังเกตออกเป็น
ด้านระบบและด้านวิชาการ นอกจากการวิเคราะห์ข้อมูล
ดังกล่าว ได้ทำการสำรวจและวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติม
จากรายละเอียดที่ยื่นประกอบการรับรอง ในประเด็น
จำนวนรายการทดสอบในแต่ละสาขางานที่เปิดให้บริการ
และรายการที่เปิดให้บริการแต่ไม่มีการควบคุมคุณภาพ
ภายใน (Internal Quality Control, IQC) และ
การเข้าร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์

(External Quality Assessment, EQA) จากแบบ
บันทึกข้อมูลจำเพาะของห้องปฏิบัติการที่ใช้ยื่น
ประกอบการขอการรับรองมาตรฐาน MOPH LAB

ผล

**การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐานสากล
ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB
ฉบับปี พ.ศ. 2562**

เมื่อศึกษารายละเอียดข้อกำหนดของทั้งสอง
มาตรฐาน โดยมาตรฐานสากล ISO 15189:2022
ประกอบด้วย ข้อกำหนด 5 ข้อใหญ่ คือ ข้อที่ 4 ข้อกำหนด
ทั่วไป แบ่งเป็น ข้อย่อย 3 ข้อ ได้แก่ ข้อที่ 4.1–4.3 ข้อที่ 5
ข้อกำหนดโครงสร้างและการกำกับกิจการ แบ่งเป็น
ข้อย่อย 6 ข้อ ได้แก่ ข้อที่ 5.1–5.6 ข้อที่ 6 ข้อกำหนด
ด้านทรัพยากร แบ่งเป็น ข้อย่อย 8 ข้อ ได้แก่ ข้อที่ 6.1–6.8
ข้อที่ 7 ข้อกำหนดวิธีปฏิบัติ แบ่งเป็น ข้อย่อย 7 ข้อ ได้แก่
ข้อที่ 7.1–7.7 และข้อที่ 8 ข้อกำหนดด้านการจัดการ
แบ่งเป็น ข้อย่อย 9 ข้อ ได้แก่ ข้อที่ 8.1–8.9 ส่วนมาตรฐาน
MOPH LAB⁽⁶⁾ มีข้อกำหนด 12 ข้อหลัก และมีการ
จัดทำคู่มือการตรวจประเมิน (Checklist) จำนวนทั้งหมด
75 ข้อย่อย เพื่อใช้เป็นแนวทางในการตรวจประเมิน
สำหรับผู้ตรวจประเมินและเป็นแนวทางให้ห้องปฏิบัติการ
จัดทำระบบคุณภาพ เกณฑ์ในการคิดคะแนน โดยเป็น
ข้อกำหนดทั่วไป 67 ข้อ และข้อกำหนดจำเป็น (The must)
8 ข้อ รวมเป็น 75 ข้อ มีการกำหนดเกณฑ์การให้คะแนน
ของแต่ละข้อกำหนด ได้แก่ ดำเนินการตามข้อกำหนด
ได้ครบถ้วนได้ 2 คะแนน ดำเนินการได้ไม่สอดคล้อง
ตามข้อกำหนดทั้งหมดหรือดำเนินการได้บางส่วนได้
1 คะแนน และไม่ดำเนินการได้ 0 คะแนน ส่วน
ข้อกำหนดที่ห้องปฏิบัติการไม่มีกิจกรรมที่เกี่ยวข้อง
จะไม่นำมาคิดคะแนน ซึ่งคิดเป็นคะแนนเต็มทั้งหมด
150 คะแนน

เมื่อนำข้อกำหนดของมาตรฐานระดับประเทศ
MOPH LAB เปรียบเทียบกับมาตรฐานสากล ISO 15189
ดังแสดงในตารางที่ 1 ข้อกำหนดที่เหมือนกันจะวางอยู่
แถวเดียวกัน ส่วน No คือ ข้อกำหนดที่ MOPH LAB
ไม่ได้กล่าวถึง การวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า Checklist
บางข้อจะกล่าวถึงข้อกำหนดหลายเรื่องไว้ในข้อเดียวกัน

นอกจากนี้ยังพบว่ามาตรฐาน MOPH LAB มีรายละเอียดแตกต่างจาก ISO 15189 สรุปสาระสำคัญ ดังนี้ มาตรฐาน MOPH LAB ข้อกำหนดที่ 59-62 ซึ่งเป็นข้อกำหนดที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการในมาตรฐาน ISO 15189 ไม่ได้กำหนดไว้ (เนื่องจากการจัดทำมาตรฐานสากล ISO 15190 ซึ่งห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่จะขอรับรองตามมาตรฐาน ISO 15189 ต้องขอการรับรองตามมาตรฐาน ISO 15190 ด้วย⁽⁷⁾) และมีข้อกำหนดที่เพิ่มเติมจาก ISO 15189 หลายข้อ ได้แก่ ข้อที่ 12 ผู้ปฏิบัติงานมีใบอนุญาตประกอบวิชาชีพ ข้อที่ 13 การวิเคราะห์อัตราค่าจ้าง ข้อที่ 31 เครื่องสำรองไฟฟ้า ข้อที่ 32 พ.ร.บ.เครื่องมือแพทย์ ข้อที่ 33 มีบัญชีรายชื่อเครื่องมือครุภัณฑ์ ข้อที่ 73 การตรวจติดตามภายใน ผู้ตรวจติดตามต้องผ่านการฝึกอบรม มีรายชื่อขึ้นทะเบียนสำหรับ Checklist มาตรฐาน MOPH LAB กล่าวถึงเรื่อง สถานที่และสภาวะแวดล้อม มีจำนวนมากที่สุด คือ 15 ข้อ และมีข้อกำหนดที่ไม่ได้ระบุในมาตรฐาน MOPH LAB ดังนี้ ความเป็นกลาง (ข้อที่ 4.1) การจัดการข้อมูลสารสนเทศ (ข้อที่ 4.2.1) การปล่อยข้อมูลผู้ป่วย (ข้อที่ 4.2.2) ข้อกำหนดเกี่ยวกับผู้ป่วย (ข้อที่ 4.3) ขอบข่าย

กิจกรรมห้องปฏิบัติการ (ข้อที่ 5.3.1) ความสอดคล้องกับข้อกำหนด (ข้อที่ 5.3.2) การรายงานเมื่อเครื่องมือมีปัญหา (ข้อที่ 6.4.6) การสอบกลับทางมาตรวิทยา (ข้อที่ 6.5.3) คู่มือการใช้งาน (ข้อที่ 6.6.5) การรายงานอุบัติการณ์ไม่พึงประสงค์ (ข้อที่ 6.6.6) ข้อตกลงกับการตรวจ POCT (ข้อที่ 6.7.2) การประเมินค่าความไม่แน่นอน (ข้อที่ 7.3.4) ค่าอ้างอิงและการตัดสินใจทางคลินิก (ข้อที่ 7.3.5) แผนรับมือระบบสารสนเทศ (ข้อที่ 7.6.4) การจัดการนอกสถานที่ (ข้อที่ 7.6.5) ข้อคำนึงถึงระบบบริหาร (ข้อที่ 8.1.3) การจัดทำบันทึก (ข้อที่ 8.4.1) การแก้ไขบันทึก (ข้อที่ 8.4.2) การปฏิบัติงานความเสี่ยงและโอกาสพัฒนา (ข้อที่ 8.5.2) ดังแสดงในตารางที่ 1 และสำหรับในการปรับปรุงมาตรฐาน MOPH ฉบับปีล่าสุด พ.ศ. 2568 ได้มีการจัดเรียงหัวข้อมาตรฐานใหม่เพื่อให้ง่ายต่อการตีความ โดยมีการปรับจาก 75 ข้อ เป็น 90 ข้อ มีการเพิ่มมาตรฐาน เรื่อง ความเป็นกลางและความเสี่ยงเข้ามา เพื่อให้สอดคล้องตามมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562

มาตรฐาน ISO 15189:2022	มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562	
	ข้อกำหนดใหญ่ (12 ข้อ)	ข้อกำหนดย่อย (75 ข้อ)
4. ข้อกำหนดทั่วไป		
4.1 ความเป็นกลาง	No	No
4.2 ความลับ		
4.2.1 การจัดการข้อมูลสารสนเทศ	No	No
4.2.2 การปล่อยข้อมูลผู้ป่วย	No	No
4.2.3 ความรับผิดชอบในการรักษาความลับ	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 3 การรักษาความลับและสิทธิของผู้ป่วย
4.3 ข้อกำหนดเกี่ยวกับผู้ป่วย	No	No
5. ข้อกำหนดโครงสร้างและการกำกับติดตาม		
5.1 นิติบุคคล	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การดำเนินการถูกต้องตามกฎหมาย
5.2 ผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ		
5.2.1 ความสามารถของผู้บริหาร	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 2 ผู้บริหารกำหนดความรับผิดชอบกำหนดนโยบาย
5.2.2 ความรับผิดชอบของผู้บริหาร	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 2 ผู้บริหารกำหนดความรับผิดชอบกำหนดนโยบาย
5.2.3 การมอบหมายหน้าที่	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 2 ผู้บริหารกำหนดความรับผิดชอบอำนาจหน้าที่

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 (ต่อ)

มาตรฐาน ISO 15189:2022	มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562	
	ข้อกำหนดใหญ่ (12 ข้อ)	ข้อกำหนดย่อย (75 ข้อ)
5.3 กิจกรรมของห้องปฏิบัติการ		
5.3.1 ขอบข่ายของกิจกรรม	No	No
5.3.2 ความสอดคล้องกับข้อกำหนด	No	No
5.3.3 การให้คำปรึกษา	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 5 การให้คำปรึกษาทางวิชาการของห้องปฏิบัติการ
5.4 โครงสร้างและอำนาจหน้าที่		
5.4.1 ทั่วไป	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การแสดงแผนผังโครงสร้างการบริหารจัดการองค์กร ข้อที่ 2 ผู้บริหารกำหนดความรับผิดชอบอำนาจหน้าที่ ข้อที่ 2 การสนับสนุนทรัพยากรให้เพียงพอต่อการให้บริการ
5.4.2 การบริหารจัดการคุณภาพ	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 2 การกำหนดนโยบาย วัตถุประสงค์ ตัวชี้วัดคุณภาพ
5.5 วัตถุประสงค์และนโยบาย	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การกำหนดนโยบาย วัตถุประสงค์ ตัวชี้วัดคุณภาพ
5.6 การจัดการความเสี่ยง	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 66 การวิเคราะห์ ค้นหา ประเมินความเสี่ยง
6. ข้อกำหนดด้านทรัพยากร		
6.1 ทั่วไป	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 2 การสนับสนุนทรัพยากรให้เพียงพอต่อการให้บริการ
6.2 บุคลากร		
6.2.1 ทั่วไป	ข้อที่ 4 บุคลากร	ข้อที่ 12 ผู้ปฏิบัติงานมีใบประกอบวิชาชีพ ข้อที่ 13 บุคลากรมีเพียงพอ
6.2.2 ข้อกำหนดด้านความสามารถ	ข้อที่ 4 บุคลากร	ข้อที่ 12 ผู้ปฏิบัติงานมีใบประกอบวิชาชีพ ข้อที่ 13 บุคลากรมีเพียงพอ ข้อที่ 14 การฝึกอบรมบุคลากร ข้อที่ 15 การประเมินความสามารถบุคลากร (The must)
6.2.3 การมอบหมายหน้าที่	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 2 การกำหนดความรับผิดชอบอำนาจหน้าที่ ข้อที่ 48 การแต่งตั้งบุคลากรตรวจสอบรายงานผล
6.2.4 การศึกษาต่อเนื่องและพัฒนาทางวิชาชีพ	ข้อที่ 4 บุคลากร	ข้อที่ 14 การฝึกอบรมบุคลากร (แผนพัฒนาบุคลากร)
6.2.5 บันทึกบุคลากร	ข้อที่ 4 บุคลากร	ข้อที่ 16 การจัดทำบันทึกบุคลากร
6.3 สิ่งอำนวยความสะดวกและสภาพแวดล้อม		
6.3.1 ทั่วไป	ข้อที่ 5 สถานที่และสภาวะแวดล้อม	ข้อที่ 17 พื้นที่เหมาะสมกับการดำเนินงาน สะดวกปลอดภัย (The must)
6.3.2 การควบคุมสิ่งอำนวยความสะดวก	ข้อที่ 5 สถานที่และสภาวะแวดล้อม ข้อที่ 9 ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ	ข้อที่ 22 ระบบควบคุมการเข้าออกป้องกันการเข้าถึงการแยกพื้นที่เพื่อป้องกันการปนเปื้อน ข้อที่ 59 อุปกรณ์ด้านความปลอดภัย
6.3.3 สิ่งอำนวยความสะดวกสำหรับการจัดเก็บ	ข้อที่ 5 สถานที่และสภาวะแวดล้อม ข้อที่ 9 ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ	ข้อที่ 23 การแยกตู้เย็นเก็บ น้ยาตัวอย่าง ข้อที่ 30 การควบคุมและบันทึกอุณหภูมิตู้เย็นเก็บตัวอย่างน้ยา ข้อที่ 62 การเก็บรักษาและทำลายวัสดุอันตราย การแยกขยะประเภทต่างๆ
6.3.4 สิ่งอำนวยความสะดวกสำหรับเจ้าหน้าที่	ข้อที่ 9 ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ	ข้อที่ 60 เครื่องป้องกันอันตรายส่วนบุคคล ข้อที่ 17 การแบ่งพื้นที่ 4 ส่วน (มีส่วนที่หักบุคลากร) (The must)
6.3.5 สิ่งอำนวยความสะดวกสำหรับเก็บตัวอย่าง	ข้อที่ 5 สถานที่และสภาวะแวดล้อม ข้อที่ 5 สถานที่และสภาวะแวดล้อม	ข้อที่ 18 บริเวณเจาะเก็บตัวอย่างมีความเป็นส่วนตัว ข้อที่ 18 บริเวณเจาะเลือดผู้บริจาคมีชุดปฐมพยาบาลเบื้องต้น ข้อที่ 20 ห้องน้ำ สะอาด สะดวก เหมาะสมกับผู้ใช้บริการ

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 (ต่อ)

มาตรฐาน ISO 15189:2022	มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562	
	ข้อกำหนดใหญ่ (12 ข้อ)	ข้อกำหนดย่อย (75 ข้อ)
6.4 เครื่องมือ		
6.4.1 ทั่วไป	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 32 มีการบริหารจัดการเครื่องให้เหมาะสม
6.4.2 ข้อกำหนดเครื่องมือ	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 33 ทะเบียนประวัติเครื่องมือหลักที่สำคัญ
6.4.3 การตรวจรับเครื่องมือ	ข้อที่ 7 การควบคุม กระบวนการ	ข้อที่ 47 การทวนสอบวิธีทดสอบ เครื่องมือ น้ำยา
6.4.4 คู่มือการใช้เครื่อง	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 34 คู่มือการใช้เครื่องมือหลัก
6.4.5 การบำรุงรักษาและซ่อมแซมเครื่องมือ	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 35 การบำรุงรักษาเครื่องมือหลัก
6.4.6 การรายงานเมื่อเครื่องมือมีปัญหา	No	No
6.4.7 บันทึกเครื่องมือ	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 33 ทะเบียนประวัติเครื่องมือหลักที่สำคัญ
6.5 การสอบเทียบเครื่องมือ และการ สอบกลับทางมาตรวิทยา		
6.5.1 ทั่วไป	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 36 การสอบเทียบเครื่องมือหลัก (The must)
6.5.2 การสอบเทียบเครื่องมือ	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 36 การสอบเทียบเครื่องมือหลัก (The must) ข้อที่ 37 การแก้ไขสำหรับเครื่องมือที่สอบเทียบไม่ผ่าน
6.5.3 การสอบกลับทางมาตรวิทยา	No	No
6.6 น้ำยาและวัสดุสิ้นเปลือง		
6.6.1 ทั่วไป	ข้อที่ 3 การจัดซื้อและการใช้ บริการภายนอก	ข้อที่ 9 เกณฑ์ในการจัดซื้อน้ำยา และการตรวจรับ ตามเกณฑ์
6.6.2 การตรวจรับและจัดเก็บน้ำยา	ข้อที่ 3 การจัดซื้อและการใช้ บริการภายนอก	ข้อที่ 9 เกณฑ์ในการจัดซื้อน้ำยา และการตรวจรับ ตามเกณฑ์
6.6.3 การทดสอบตามเกณฑ์ยอมรับ	ข้อที่ 3 การจัดซื้อและการใช้ บริการภายนอก	ข้อที่ 9 เกณฑ์ในการจัดซื้อน้ำยา และการตรวจรับ ตามเกณฑ์
6.6.4 การจัดการวัสดุคงคลัง	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 39 ระบบการบันทึกควบคุมวัสดุ น้ำยา คงคลัง
6.6.5 คู่มือการใช้งาน	No	No
6.6.6 การรายงานอุบัติการณ์ไม่พึงประสงค์	No	No
6.6.7 บันทึกน้ำยาและวัสดุสิ้นเปลือง	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุ วิทยาศาสตร์	ข้อที่ 39 ระบบการบันทึกควบคุมวัสดุ น้ำยา คงคลัง ข้อที่ 40 คุณภาพตามคุณลักษณะเชิงเทคนิคที่กำหนด
6.7 ข้อตกลงการบริการ		
6.7.1 ข้อตกลงกับผู้รับบริการ	ข้อที่ 7 การควบคุม กระบวนการ	ข้อที่ 42 การทบทวนคู่มือให้บริการร่วมกับผู้รับบริการ
6.7.2 ข้อตกลงกับการตรวจ POCT	No	No
6.8 ผลลัพธ์และบริการจากภายนอก		
6.8.1 ทั่วไป	ข้อที่ 3 การจัดซื้อและการใช้ บริการภายนอก	ข้อที่ 8 เกณฑ์การคัดเลือกและประเมินผลผู้ขาย
6.8.2 ห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อ และที่ปรึกษา	ข้อที่ 3 การจัดซื้อและการใช้ บริการภายนอก	ข้อที่ 10 การใช้บริการส่งต่อห้องปฏิบัติการภายนอก
6.8.3 การทบทวนและอนุมัติผลิตภัณฑ์ และบริการจากภายนอก	ข้อที่ 3 การจัดซื้อและการใช้ บริการภายนอก	ข้อที่ 8 เกณฑ์การคัดเลือกและประเมินผลผู้ขาย ข้อที่ 10 การใช้บริการส่งต่อห้องปฏิบัติการภายนอก

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 (ต่อ)

มาตรฐาน ISO 15189:2022	มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562	
	ข้อกำหนดใหญ่ (12 ข้อ)	ข้อกำหนดย่อย (75 ข้อ)
7. ข้อกำหนดกระบวนการ		
7.1 ทั่วไป	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 66 การวิเคราะห์ความเสี่ยง
7.2 ขั้นตอนก่อนวิเคราะห์		
7.2.1 ทั่วไป	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 41 คู่มือการใช้บริการห้องปฏิบัติการ
7.2.2 ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการสำหรับผู้ป่วยและผู้รับบริการ	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 41 คู่มือการใช้บริการห้องปฏิบัติการ
7.2.3 คำขอส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 43 ใบคำขอส่งตรวจ
7.2.4 การเก็บตัวอย่างปฐมนุ้และจัดการ	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 41 คู่มือการใช้บริการห้องปฏิบัติการ
7.2.5 การขนส่งตัวอย่าง	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 44 การสอบกลับตัวอย่าง
7.2.6 การรับตัวอย่าง	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 41 คู่มือการใช้บริการห้องปฏิบัติการ
7.2.7 การจัดการ การเตรียมและจัดเก็บตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 45 บันทึกการรับตัวอย่าง
		ข้อที่ 41 คู่มือการใช้บริการห้องปฏิบัติการ
7.3 กระบวนการตรวจวิเคราะห์		
7.3.1 ทั่วไป	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 46 วิธีทดสอบเป็นมาตรฐาน มีเอกสารวิธีทดสอบ
7.3.2 การทวนสอบวิธีวิเคราะห์	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 47 การทวนสอบวิธีทดสอบ เครื่องมือ น้ำยา
7.3.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 47 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์
7.3.4 การประเมินค่าความไม่แน่นอน	No	No
7.3.5 คำอ้างอิงและการตัดสินใจทางคลินิก	No	No
7.3.6 เอกสารวิธีตรวจวิเคราะห์	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 46 วิธีทดสอบเป็นมาตรฐาน มีเอกสารวิธีทดสอบ
7.3.7 การสร้างความมั่นใจในความถูกต้องของผลการตรวจวิเคราะห์	ข้อที่ 8 การประกันคุณภาพ	ข้อที่ 56 การควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) (The must)
		ข้อที่ 57 การประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (EQA) (The must)
		ข้อที่ 58 การทบทวนผลการเข้าร่วม EQA
7.4 ขั้นตอนหลังการวิเคราะห์		
7.4.1 การรายงานผล	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 48 ระบบตรวจสอบการรายงานผล
		ข้อที่ 49 วิธีการรายงานผล
		ข้อที่ 51 การรายงานผลค่าวิกฤต
		ข้อที่ 52 เนื้อหารายงานผล
		ข้อที่ 53 การรายงานผลทางโทรศัพท์ หรือวิธีอื่น ๆ
7.4.2 การจัดการตัวอย่างหลังการวิเคราะห์	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 49 การจัดการตัวอย่างหลังการวิเคราะห์
7.5 สิ่งไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 64 สิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด
7.6 การควบคุมข้อมูลและการจัดการสารสนเทศ		
7.6.1 ทั่วไป	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 54 การจัดเก็บสำเนารายงานผล
7.6.2 อำนาจหน้าที่ และความรับผิดชอบในการจัดการสารสนเทศ	ข้อที่ 2 ระบบเอกสารคุณภาพ	ข้อที่ 7 การจัดการเอกสารในระบบสารสนเทศ
7.6.3 การจัดการระบบสารสนเทศ	ข้อที่ 7 การควบคุมกระบวนการ	ข้อที่ 54 การจัดเก็บสำเนารายงานผล
7.6.4 แผนรับมือระบบล่ม	No	No
7.6.5 การจัดการนอกสถานที่	No	No
7.7 ขอร้องเรียน		
7.7.1 กระบวนการ	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 63 การจัดการข้อร้องเรียน
7.7.2 การรับข้อร้องเรียน	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 63 การจัดการข้อร้องเรียน
7.7.3 การแก้ไขข้อร้องเรียน	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 68 แนวทางในการจัดข้อร้องเรียน

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 (ต่อ)

มาตรฐาน ISO 15189:2022	มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562	
	ข้อกำหนดใหญ่ (12 ข้อ)	ข้อกำหนดย่อย (75 ข้อ)
7.8 การวางแผนเพื่อความต่อเนื่องและเตรียมความพร้อมกรณีฉุกเฉิน	ข้อที่ 6 เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์	ข้อที่ 38 แนวทางรองรับกรณีเครื่องมือชำรุดเกิดการระบาด
8. ข้อกำหนดระบบบริหาร		
8.1 ข้อกำหนดด้านการจัดการ		
8.1.1 ทั่วไป	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การกำหนดนโยบาย วัตถุประสงค์ ตัวชี้วัดคุณภาพ (คู่มือคุณภาพ)
8.1.2 ความสำเร็จตามข้อกำหนดระบบบริหาร	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การกำหนดนโยบาย วัตถุประสงค์ ตัวชี้วัดคุณภาพ (คู่มือคุณภาพ)
8.1.3 ข้อคำนึงถึงของระบบบริหาร	No	No
8.2 เอกสารระบบบริหาร		
8.2.1 ทั่วไป	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การกำหนดนโยบาย วัตถุประสงค์ ตัวชี้วัดคุณภาพ (คู่มือคุณภาพ)
8.2.2 ความสามารถและคุณภาพ	ข้อที่ 1 องค์กรและการบริหาร	ข้อที่ 1 การกำหนดนโยบาย วัตถุประสงค์ ตัวชี้วัดคุณภาพ (คู่มือคุณภาพ)
8.2.3 หลักฐานคำมั่นสัญญา	ข้อที่ 11 กระบวนการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง	ข้อที่ 69 การปรับปรุงประสิทธิภาพของระบบบริหารคุณภาพ (The must)
8.2.4 เอกสาร	ข้อที่ 2 ระบบเอกสารคุณภาพ	ข้อที่ 6 การจัดทำเอกสารคุณภาพ การควบคุมเอกสาร การเข้าถึง
8.2.5 การเข้าถึงของบุคลากร	ข้อที่ 2 ระบบเอกสารคุณภาพ	ข้อที่ 6 การจัดทำเอกสารคุณภาพ การควบคุมเอกสาร การเข้าถึง
8.3 การควบคุมเอกสารของระบบบริหาร		
8.3.1 ทั่วไป	ข้อที่ 2 ระบบเอกสารคุณภาพ	ข้อที่ 6 การจัดทำเอกสารคุณภาพ การควบคุมเอกสาร การเข้าถึง
8.3.2 การควบคุมเอกสาร	ข้อที่ 2 ระบบเอกสารคุณภาพ	ข้อที่ 6 การจัดทำเอกสารคุณภาพ การควบคุมเอกสาร การเข้าถึง ข้อที่ 7 การจัดการเอกสารในระบบสารสนเทศ
8.4 การควบคุมบันทึก		
8.4.1 การจัดทำบันทึก	No	No
8.4.2 การแก้ไขบันทึก	No	No
8.4.3 การเก็บรักษาบันทึก	ข้อที่ 2 ระบบเอกสารคุณภาพ	ข้อที่ 7 การจัดการเอกสารในระบบสารสนเทศ
8.5 การปฏิบัติเพื่อป้องกันความเสี่ยงและโอกาสพัฒนา		
8.5.1 การระบุความเสี่ยงและโอกาส	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 66 การวิเคราะห์ ค้นหา ระบุ ประเมินความเสี่ยง
8.5.2 การปฏิบัติบนความเสี่ยงและโอกาสพัฒนา	No	No
8.6 การปรับปรุงพัฒนา		
8.6.1 การปรับปรุงพัฒนาอย่างต่อเนื่อง	ข้อที่ 11 กระบวนการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง	ข้อที่ 69 การปรับปรุงประสิทธิภาพของระบบบริหารคุณภาพ (The must)
8.6.2 ความคิดเห็นของผู้ป่วย บุคลากร และผู้รับบริการ	ข้อที่ 11 กระบวนการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง	ข้อที่ 70 การสำรวจความพึงพอใจ
8.7 สิ่งที่ไม่สอดคล้องข้อกำหนดและปฏิบัติการแก้ไข		
8.7.1 การปฏิบัติเมื่อพบ NC	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 64 สิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด
8.7.2 ประสิทธิภาพการแก้ไข	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 64 สิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด
8.7.3 บันทึก NC และปฏิบัติการแก้ไข	ข้อที่ 10 การจัดการเหตุการณ์	ข้อที่ 64 สิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อกำหนดระหว่างมาตรฐาน ISO 15189:2022 และมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 (ต่อ)

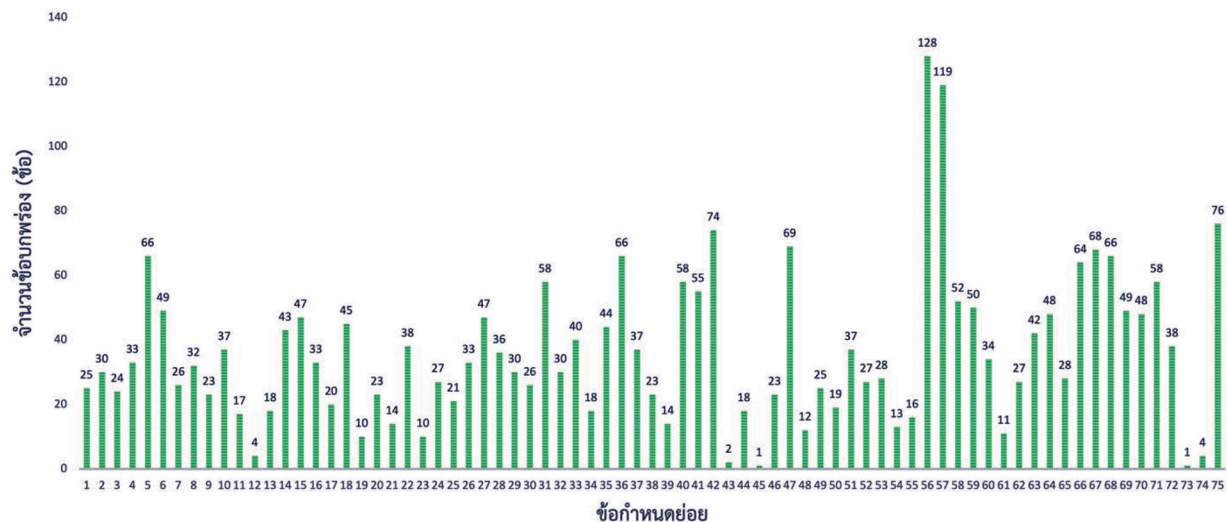
มาตรฐาน ISO 15189:2022	มาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562	
	ข้อกำหนดใหญ่ (12 ข้อ)	ข้อกำหนดย่อย (75 ข้อ)
8.8 การประเมิน		
8.8.1 ทั่วไป	ข้อที่ 12 การประเมินคุณภาพ	ข้อที่ 71 ตัวชี้วัดคุณภาพ ข้อที่ 72 การตรวจติดตามภายใน ข้อที่ 74 การประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอก
8.8.2 ตัวชี้วัดคุณภาพ	ข้อที่ 12 การประเมินคุณภาพ	ข้อที่ 71 ตัวชี้วัดคุณภาพ
8.8.3 การตรวจติดตามภายใน	ข้อที่ 12 การประเมินคุณภาพ	ข้อที่ 72 การตรวจติดตามภายใน
8.9 การทบทวนระบบบริหารจัดการ		
8.9.1 ทั่วไป	ข้อที่ 12 การประเมินคุณภาพ	ข้อที่ 75 การทบทวนระบบบริหาร
8.9.2 ข้อมูลนำเข้าสู่การทบทวน	ข้อที่ 12 การประเมินคุณภาพ	ข้อที่ 75 การทบทวนระบบบริหาร
8.9.3 ผลลัพธ์การทบทวน	ข้อที่ 12 การประเมินคุณภาพ	ข้อที่ 75 การทบทวนระบบบริหาร

หมายเหตุ: No หมายถึง ไม่มีกล่าวถึงในมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข

ผลการวิเคราะห์ข้อบกพร่องจากรายงานผลการตรวจประเมินมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB)

ในการศึกษานี้มีผลของห้องปฏิบัติการที่ยื่นขอการรับรองใหม่และขอต่ออายุตามมาตรฐาน MOPH LAB ตามข้อกำหนดที่มีการปรับปรุงใหม่ในปี พ.ศ. 2562 และได้รับการตรวจประเมิน จำนวนทั้งสิ้น 180 แห่ง เป็นการขอรับรองใหม่ 57 แห่ง และต่ออายุการรับรอง 123 แห่ง แบ่งเป็น ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลชุมชน (รพช.) จำนวน 146 แห่ง โรงพยาบาลทั่วไป (รพท.) จำนวน 16 แห่ง โรงพยาบาลศูนย์ (รพศ.) จำนวน 5 แห่ง สังกัดกรมอื่นๆ 8 แห่ง และเอกชน 5 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 81.1, 8.9, 2.8, 4.4 และ 2.8 ตามลำดับ จากรายงานผลการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทั้ง 180 แห่ง พบข้อบกพร่อง (ข้อที่ได้ 0 คะแนน) และข้อสังเกต (ข้อที่ได้ 1 คะแนน) จำนวนทั้งหมด 2,705 ข้อ แบ่งเป็น ข้อกำหนดด้านระบบ 1,097 ข้อ และข้อกำหนดด้านวิชาการ 1,608 ข้อ ค่าเฉลี่ยห้องปฏิบัติการหนึ่งแห่งได้รับข้อบกพร่องและข้อสังเกต รวมจำนวน 15 ข้อ จากการวิเคราะห์ข้อมูลข้อบกพร่องที่พบแยกตามข้อกำหนด Checklist จำนวน 75 ข้อ พบว่ามีข้อบกพร่องที่พบสูงสุด

5 อันดับแรก ได้แก่ ด้านระบบ ข้อกำหนดที่ 75 เรื่อง การทบทวนระบบบริหารจัดการคุณภาพ 76 ข้อ (ร้อยละ 2.8) ข้อกำหนดที่ 67 เรื่อง การค้นหาสาเหตุของความเสียหาย 68 ข้อ (ร้อยละ 2.5) ข้อกำหนดที่ 68 เรื่อง แนวทางปฏิบัติการจัดการสิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด และข้อร้องเรียน 66 ข้อ (ร้อยละ 2.4) ข้อกำหนดที่ 5 เรื่อง ที่ปรึกษาทางห้องปฏิบัติการ 66 ข้อ (ร้อยละ 2.4) และข้อกำหนดที่ 64 เรื่อง การแก้ไขสิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด (ร้อยละ 2.3) 64 ข้อ ด้านวิชาการ ได้แก่ ข้อกำหนดที่ 56 เรื่อง การควบคุมคุณภาพภายใน 128 ข้อ (ร้อยละ 4.7) ข้อกำหนดที่ 57 เรื่อง การประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์จากองค์กรภายนอก 119 ข้อ (ร้อยละ 4.4) ข้อกำหนดที่ 42 เรื่อง การทบทวนข้อตกลงการใช้บริการและการสื่อสารคู่มือให้บริการห้องปฏิบัติการ (ร้อยละ 2.7) ข้อกำหนดที่ 47 เรื่อง การทวนสอบผล (Method Validation and Verification) 69 ข้อ (ร้อยละ 2.6) และข้อที่ 36 เรื่อง การสอบเทียบเครื่องมือ 66 ข้อ (ร้อยละ 2.4) อย่างไรก็ตามพบว่ามีข้อกำหนด 2 ข้อ ที่พบข้อบกพร่องจำนวน 1 ข้อ ได้แก่ ข้อกำหนดที่ 45 เรื่อง บันทึกการรับตัวอย่าง และข้อที่ 73 เรื่อง ผู้ตรวจติดตามคุณภาพภายในที่ผ่านการฝึกอบรม ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 จำนวนข้อบกพร่องและข้อสังเกตที่พบ จำแนกตามข้อกำหนดย่อยมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติมจาก ข้อบกพร่องเรื่องการการควบคุมคุณภาพภายในและการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ พบข้อบกพร่อง ในรายการทดสอบที่เปิดให้บริการแต่ไม่ได้ทำการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control) หรือ เข้าร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์จากองค์กรภายนอก (External Quality Assessment, EQA)

ได้แก่ งานโลหิตวิทยาคลินิก งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก งานเคมีคลินิก งานจุลชีววิทยาคลินิก และงานภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก จำนวน 9, 8, 8, 3 และ 7 รายการทดสอบตามลำดับ ซึ่งแต่ละงานได้แจกแจงรายการทดสอบไว้ โดยมีรายละเอียดแสดงเป็นร้อยละของห้องปฏิบัติการที่ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพจากจำนวนห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการที่รับการตรวจประเมิน จำนวน 180 แห่ง ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในหรือเข้าร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์จากองค์กรภายนอก

สาขา	จำนวนรายการทดสอบ	*รายการทดสอบที่ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในหรือร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์	ร้อยละของห้องปฏิบัติการที่ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพจากจำนวนห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองทั้งหมด
งานโลหิตวิทยาคลินิก	9	20-minutes WBCT	22.8
		ESR	12.2
		Microbilirubin	11.1
		PT/INR	9.4
		Bleeding time	7.8
		Reticulocyte count	5.6
		Hct	5.0
		DCIP	3.3
		OF test	2.8
งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก	8	Wet smear	19.4
		Tzanck smear	13.9
		Body fluid analysis	12.8

ตารางที่ 2 รายการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการที่รับการตรวจประเมิน จำนวน 180 แห่ง ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในหรือเข้าร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์จากองค์กรภายนอก (ต่อ)

สาขา	จำนวนรายการทดสอบ	*รายการทดสอบที่ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในหรือร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์	ร้อยละของห้องปฏิบัติการที่ไม่ได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพจากจำนวนห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองทั้งหมด
		Fern test	11.7
		Microfilaria	10.6
		Occult blood	7.8
		Semen analysis	5.0
		THC	5.0
งานเคมีคลินิก	8	Troponin T	11.1
		Microalbumin	7.8
		Capillary blood sugar	4.4
		HbA1C	3.9
		Blood lactate	3.9
		CK-MB	2.2
		CO ₂	1.7
		NTpro BNP	1.1
งานจุลชีววิทยาคลินิก	3	KOH preparation	13.9
		India Ink	7.8
		Scabies	7.0
งานภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก	7	Leptospira antibody	5.0
		Rheumatoid Factor	2.2
		Dengue Ag /Ab	2.2
		Influenza A/B	1.7
		Covid-19 Ag	1.1
		Scrub typhus	1.1
		D-dimer	0.6

หมายเหตุ: * ข้อมูลรวบรวมจากห้องปฏิบัติการที่รับการตรวจประเมิน จำนวน 180 แห่ง คำอธิบาย: 20-minutes WBCT = การทดสอบความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือดหรือถูกพิษกัด, ESR = อัตราการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง, Microbilirubin = การตรวจระดับบิลิรูบินในเด็กแรกเกิดเพื่อวินิจฉัยภาวะตัวเหลือง, PT/INR = การทดสอบความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดและการติดตามการรักษาในเด็กแรกเกิด, Bleeding time = การทดสอบความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือด, Reticulocyte count = การประเมินภาวะโลหิตจาง จากอัตราการสร้างเม็ดเลือดแดง, Hct = การตรวจความเข้มข้นของเลือด, DCIP และ OF test = การตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย, Wet smear = การตรวจหาปรสิตโดยการดูสดด้วยกล้องจุลทรรศน์, Tzanck smear = การตรวจความผิดปกติของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสบางชนิด, Body fluid analysis = การตรวจวิเคราะห์ของเหลวจากช่องต่างๆ ในร่างกาย, Fern test = การตรวจวินิจฉัยภาวะอุ้งน้ำคร่ำแตกก่อนการเจ็บครรภ์, Microfilaria = การตรวจหาพยาธิโรคเท้าช้างในเลือด, Occult blood = การตรวจหาเลือดแฝงในอุจจาระ, Semen analysis = การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ, THC = การตรวจหาสารเสพติดกัญชาในปัสสาวะ, Troponin T = การวินิจฉัยภาวะหัวใจขาดเลือด, Microalbumin = การตรวจปัสสาวะเพื่อวินิจฉัยภาวะไตเสื่อม, Capillary blood sugar = การตรวจเบาหวานแบบใช้เลือดปลายนิ้ว, HbA1C = การตรวจค่าน้ำตาลสะสมในเลือด, Blood lactate = การตรวจหา Lactate เพื่อบ่งบอกถึงเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกายขาดออกซิเจน, CK-MB = การวินิจฉัยภาวะหัวใจขาดเลือด, CO₂ = การตรวจก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดแดง, NTpro BNP = การวินิจฉัยภาวะหัวใจล้มเหลว, KOH preparation = การตรวจเชื้อราทางผิวหนัง, India ink = การตรวจหาเชื้อ Cryptococcal โดยใช้หมึก India, Scabies = การตรวจหาเชื้อหิด, Leptospira antibody = การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ Leptospira, Rheumatoid Factor = การวินิจฉัยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์, Dengue Ag /Ab = การตรวจวินิจฉัยโรคไข้เลือดออก และ Influenza A/B = การตรวจวินิจฉัยโรคไข้หวัดใหญ่, Covid-19 Ag = การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อโควิด 19, Scrub typhus = การตรวจวินิจฉัยโรคไข้รากสาดใหญ่, D-dimer = การวินิจฉัยภาวะอุดตันของลิ่มเลือด

วิจารณ์

จากการศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลการเปรียบเทียบข้อกำหนดของมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB) ฉบับปี พ.ศ. 2562 และมาตรฐาน ISO 15189:2022 ข้อกำหนดของมาตรฐาน MOPH LAB ฉบับปี พ.ศ. 2562 มีข้อกำหนดที่ครอบคลุมข้อกำหนดสำคัญทั้งด้านระบบบริหารและด้านวิชาการของมาตรฐานสากล ISO 15189:2022 แต่ยังคงขาดข้อกำหนด เรื่อง ความเป็นกลาง การจัดการข้อมูลสารสนเทศ การปล่อยข้อมูลผู้ป่วย ข้อกำหนดเกี่ยวกับผู้ป่วย ขอบข่ายกิจกรรมห้องปฏิบัติการ ความสอดคล้องกับข้อกำหนด การรายงานเมื่อเครื่องมือมีปัญหา การสอบกลับทางมาตรวิทยา คู่มือการใช้งาน การรายงานอุบัติการณ์ไม่พึงประสงค์ ข้อตกลงกับการตรวจ POCT การประเมินค่าความไม่แน่นอนค่าอ้างอิง และการตัดสินใจทางคลินิก แผนรับมือระบบสารสนเทศล่ม การจัดการนอกสถานที่ ข้อคำนึงถึงระบบบริหาร การจัดทำบันทึก การแก้ไขบันทึก และการปฏิบัติบนความเสี่ยงและโอกาสพัฒนา ทั้งนี้มีข้อกำหนดที่กำหนดไว้แตกต่างกันในบางข้อกำหนด กล่าวคือ ข้อกำหนดที่ 59-62 ของมาตรฐาน MOPH LAB เป็นข้อกำหนดที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการที่ไม่ปรากฏในหัวข้อที่ชัดเจนในมาตรฐาน ISO 15189 แต่กล่าวไว้ในหัวข้อย่อย โดยพบว่าตรงกับข้อกำหนดด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ตามมาตรฐาน ISO 15190 ซึ่งหน่วยรับรองห้องปฏิบัติการได้กำหนดให้ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ทุกแห่งที่ขอการรับรองตามมาตรฐานสากล ISO 15189 ต้องรับการรับรองด้านข้อกำหนดความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ไปพร้อมกันด้วย จึงจะถือว่าได้รับการรับรองตามมาตรฐานสากลและมาตรฐาน MOPH LAB ครอบคลุมทั้งประเด็นการให้บริการตามระบบคุณภาพบริหาร วิชาการ และมาตรฐานความปลอดภัย จึงแสดงให้เห็นว่ามาตรฐาน MOPH LAB ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อให้การรับรองครบจบในมาตรฐานฉบับเดียว ซึ่งสอดคล้องตามมาตรฐานสากลที่ห้องปฏิบัติการสามารถไปต่อยอดเพื่อขอการรับรองต่อไปได้ มากไปกว่านั้นยังพบว่าข้อกำหนดบางข้อที่พบในมาตรฐาน ISO 15189 แต่ไม่พบ

ในมาตรฐาน MOPH LAB ได้แก่ เรื่องการสอบกลับทางมาตรวิทยา ความไม่แน่นอนของการวัด เป็นต้น เนื่องจากในการกำหนดมาตรฐาน MOPH LAB มีจุดประสงค์เริ่มแรกเพื่อนำไปใช้ในการรับรองของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ในสถานพยาบาลขนาดเล็ก เพื่อให้ห้องปฏิบัติการมีระบบคุณภาพในการให้บริการ จึงนำข้อกำหนดที่จำเป็นของมาตรฐานสากลมาปรับให้เหมาะสมกับบริบทของห้องปฏิบัติการของสถานพยาบาลขนาดเล็ก แต่ในปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของสถานพยาบาลขนาดใหญ่ รวมถึงสถานพยาบาลเอกชนมาขอการรับรอง จึงต้องมีการปรับปรุงและพัฒนามาตรฐานให้เหมาะสมกับบริบทของสถานพยาบาลทุกระดับ อย่างไรก็ตามการรับรองตามมาตรฐานสากล ISO 15189 และมาตรฐาน MOPH LAB ไม่กำหนดให้หัวหน้าห้องปฏิบัติการต้องเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์เท่านั้น โดยมาตรฐาน MOPH LAB กำหนดไว้ในข้อที่ 12 “ห้องปฏิบัติการต้องมีผู้ปฏิบัติงานที่ได้รับใบอนุญาตประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ มีความรู้ ความชำนาญ และมีประสบการณ์ทั้งด้านทฤษฎี และวิธีปฏิบัติ” ซึ่งเป็นการเปิดโอกาสให้ผู้ปฏิบัติงานที่มีความรู้และประสบการณ์มานานก่อนมีผู้ประกอบวิชาชีพสามารถปฏิบัติหน้าที่หัวหน้าห้องปฏิบัติการได้ ได้แก่ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์หรือเจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีบุคลากรอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการเป็นนักเทคนิคการแพทย์ ส่วนมาตรฐานสากล (ISO) เป็นมาตรฐานที่มีข้อกำหนดว่าด้วย laboratory director ที่มีบุคคลที่มีหน้าที่รับผิดชอบและมีอำนาจในการจัดการภายในห้องปฏิบัติการ (person(s) with responsibility for, and authority over, a laboratory) โดยมีหน้าที่กำหนดไว้ในข้อกำหนดที่ 5.2.2 ซึ่งเป็นการเปิดกว้างให้ทุกคนที่มีคุณสมบัติตามข้อกำหนดเป็นหัวหน้าห้องปฏิบัติการได้ อย่างไรก็ตามจากการสำรวจข้อมูลห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรอง ISO 15189 พบว่าหัวหน้าห้องปฏิบัติการเป็นนักเทคนิคการแพทย์หรือเป็นแพทย์เท่านั้น จากข้อมูลการเปรียบเทียบข้อกำหนดทั้งสองมาตรฐานแม้ว่ามีความแตกต่างในรายละเอียดของข้อกำหนดบางข้อไม่ได้ทำให้ห้องปฏิบัติการที่ได้รับ

การรับรองโดยมาตรฐานระดับประเทศ มีความแตกต่างกันในประเด็นของการได้รับการยอมรับความเชื่อมั่นและไว้วางใจจากผู้รับบริการมีเพียงประเด็นที่แตกต่างกันระหว่างการได้รับการรับรองตามมาตรฐานระดับประเทศกับการได้รับการรับรองตามมาตรฐานสากล รายงานผลการตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองจะถูกยอมรับและนำไปใช้กับหน่วยงานต่างประเทศโดยไม่ถูกตรวจวิเคราะห์ซ้ำมากไปกว่านั้นจะได้รับความน่าเชื่อถือสำหรับตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยทางกฎหมาย รวมทั้งการทำงานวิจัยกับองค์กรต่าง ๆ⁽⁸⁾ อย่างไรก็ตามถือว่ามาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ฉบับปี พ.ศ. 2562 เป็นมาตรฐานระดับประเทศที่ส่งเสริมพัฒนาคุณภาพและมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ให้มีศักยภาพมากขึ้นสามารถขอการรับรองตามมาตรฐานสากลต่อไปได้

จากข้อมูลจำนวนห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน MOPH LAB จำนวน 180 แห่ง เป็นห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 174 แห่ง แบ่งเป็น โรงพยาบาลชุมชนจำนวน 146 แห่ง โรงพยาบาลทั่วไปจำนวน 16 แห่ง โรงพยาบาลศูนย์จำนวน 5 แห่ง สังกัดกรมอื่น ๆ จำนวน 8 แห่ง ตามลำดับ⁽⁹⁾ ซึ่งโรงพยาบาลทั้งสามระดับรวมถึงโรงพยาบาลสังกัดกรมต่าง ๆ มีความแตกต่างกันในโครงสร้างพื้นฐาน จำนวนบุคลากร ศักยภาพการให้บริการ ดังนั้นการเลือกใช้มาตรฐานระดับประเทศเป็นเครื่องมือในการพัฒนาระบบคุณภาพการให้บริการทางห้องปฏิบัติการจึงเป็นการเริ่มต้นของระบบบริหารจัดการคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ภายในประเทศที่เหมาะสม การศึกษานี้ได้เลือกศึกษาระดับคุณภาพห้องปฏิบัติการที่ยื่นขอการรับรองใหม่และต่ออายุตามมาตรฐาน MOPH LAB ในปี พ.ศ. 2563-2566 ซึ่งเริ่มตั้งแต่ปีแรกหลังกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ปรับปรุงข้อกำหนดการรับรองเป็น ฉบับปี พ.ศ. 2562 เพื่อให้ได้ข้อมูลตามมาตรฐานที่ปรับปรุงแล้ว โดยเลือกวิเคราะห์รายงานผลข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินในภาพรวมของห้องปฏิบัติการทั้ง 180 แห่ง เป็นข้อมูลจากห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลชุมชน จำนวน 146 แห่ง (ร้อยละ 81.1) รายงาน

ข้อบกพร่องเป็นข้อมูลที่เป็นข้อบ่งชี้ที่ชัดเจนของการธำรงรักษาระบบคุณภาพให้สอดคล้องตามข้อกำหนด จึงใช้เป็นข้อมูลสะท้อนระดับคุณภาพของห้องปฏิบัติการที่ขอการรับรองได้ดี อีกทั้งข้อบกพร่องเหล่านี้ได้ผ่านกระบวนการตรวจประเมินจากหน่วยงานภายนอก รวมทั้งได้ผ่านการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ เพื่อค้นหาสาเหตุ แก้ไขข้อบกพร่อง รวมทั้งวิเคราะห์เพื่อกำหนดวิธีการป้องกันการเกิดซ้ำ ซึ่งทำให้ทราบแนวทางวิธีปฏิบัติการจัดการระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการในภาพรวม จากข้อมูลพบว่าห้องปฏิบัติการได้รับข้อบกพร่องมีค่าเฉลี่ยสูงถึง 15 ข้อ จาก 75 ข้อ จากข้อมูลการขอรับรองเป็นห้องปฏิบัติการรายใหม่ประมาณร้อยละ 80 จึงพบข้อบกพร่องจำนวนมาก อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการทุกแห่งได้ดำเนินการแก้ไขข้อบกพร่องและวางแนวทางการเกิดปัญหาซ้ำไว้แล้ว ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดปัญหาซ้ำ สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยการติดตามผลการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการเหล่านี้ในรอบการตรวจประเมินครั้งต่อไป

ทั้งนี้จากการวิเคราะห์ จำนวน 2,705 ข้อ และจำแนกความถี่ข้อบกพร่องด้านวิชาการที่รายงานสูงสุด 5 ลำดับแรก ได้แก่ Checklist ข้อที่ 56 เรื่องการควบคุมคุณภาพภายใน และ Checklist ข้อที่ 57 เรื่องการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญกับองค์กรภายนอก ซึ่งเป็นข้อกำหนดที่จำเป็น (The must) สาเหตุที่ห้องปฏิบัติการได้รับข้อบกพร่องในข้อกำหนดทั้งสองข้อนี้มากน่าจะมีสาเหตุส่วนหนึ่งจากรายการทดสอบที่โรงพยาบาลเปิดให้บริการมีจำนวนน้อยหรือมากแตกต่างกันไปตามบทบาทภารกิจการให้บริการของโรงพยาบาลแต่ละระดับ และจากข้อมูลที่ได้ศึกษาเพิ่มเติมพบรายการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการสามารถเข้าร่วมการประกันคุณภาพหรือการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์หรือการทดสอบความชำนาญ (External Quality Assessment, EQA/PT Provider) ได้ครบทุกรายการทดสอบเฉพาะสาขานาการเลือดเท่านั้น ส่วนที่เหลืออีก 35 รายการทดสอบ (ตารางที่ 2) เป็นรายการทดสอบที่ไม่มี EQA/PT Provider อาจเป็นเพราะรายการทดสอบบางรายการเตรียมตัวอย่างสำหรับ

EQA/PT ได้ยาก เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่ต้องเตรียมให้มีความคงทน (stable) เช่น Bleeding time, 20WBCT, capillary blood sugar บางรายการทดสอบต้องเตรียมตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วยจริง และทำตัวอย่างเลียนแบบยาก (simulated sample) เช่น KOH preparation, Tzanck smear, Semen analysis, Fern test, Wet smear และ India ink เป็นต้น⁽¹⁰⁾ นอกจากนั้นหน่วยรับรองควรปรับปรุงเกณฑ์การให้คะแนนข้อกำหนดที่ 56 (IQC) และข้อ 57 (EQA/PT) ให้ห้องปฏิบัติการสามารถเลือกใช้วิธีทางเลือกอื่นๆ ที่ยอมรับ เหมือนข้อกำหนดของ ISO 15189 เช่น การเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory Comparison) และการประเมินความสามารถการทดสอบ (Laboratory's Performance in Test) แทนการเข้าร่วมประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์/การทดสอบความชำนาญ (EQA/PT) ในกรณีที่ไม่มีหน่วยบริการ EQA/PT ทั้งนี้หน่วยรับรองมีการจัดทำเอกสาร N 07 15 029 เพื่อใช้เป็นแนวทางการควบคุมคุณภาพรายการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่มีหน่วยงานจัดทำโปรแกรมการทดสอบความชำนาญในประเทศไทย สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

ส่วนข้อบกพร่องด้านวิชาการอีกสามลำดับถัดมาได้แก่ข้อที่ 47 เรื่องการทวนสอบผล (Method Validation and Verification) ห้องปฏิบัติการไม่มีการทวนสอบผล ข้อที่ 42 เรื่อง การสื่อสารและทบทวนคู่มือการใช้บริการทางห้องปฏิบัติการ และข้อที่ 36 การสอบเทียบเครื่องมือรวมทั้งข้อบกพร่องด้านระบบบริหารจัดการ ได้แก่ ข้อที่ 75 เรื่อง การทบทวนระบบบริหารจัดการคุณภาพ ข้อที่ 67 เรื่อง การค้นหาสาเหตุของความเสียหาย ข้อที่ 68 เรื่อง แนวทางปฏิบัติการจัดการสิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนดและข้อร้องเรียน ข้อที่ 5 เรื่อง ที่ปรึกษาทางห้องปฏิบัติการ ข้อที่ 64 เรื่อง การแก้ไขสิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนด เป็นข้อบกพร่องที่เกิดจากความรู้ความเข้าใจ และการปฏิบัติงานของบุคลากรที่ต้องรับผิดชอบให้เป็นไปตามแผนปฏิบัติการและเงื่อนไขวิธีการที่กำหนดและประกาศใช้ร่วมกันในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้ข้อบกพร่องที่พบในการศึกษานี้ สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการได้มีการดำเนินงานสนับสนุนต่างๆ แล้ว

ซึ่งในอนาคตคาดว่าข้อบกพร่องที่ห้องปฏิบัติการจะได้รับจากการตรวจประเมินจะมีจำนวนลดลง เนื่องจากหากห้องปฏิบัติการมีความเข้าใจและมีความรู้ในระบบคุณภาพ สามารถนำไปปฏิบัติได้ถูกต้องและครบถ้วนตามมาตรฐาน อย่างไรก็ตามสำหรับห้องปฏิบัติการที่ขอการรับรองรายใหม่อาจยังพบข้อบกพร่องจำนวนมาก ซึ่งต้องใช้เวลาในการเรียนรู้เพื่อพัฒนาระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการต่อไป

สรุป

การรับรองห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของประเทศไทยตามมาตรฐานสากล ISO 15189 ปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการผ่านการรับรอง จำนวน 332 แห่ง⁽¹¹⁾ และมีห้องปฏิบัติการผ่านการรับรองตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข (MOPH LAB) จำนวน 241 แห่ง⁽⁹⁾ จากห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่สังกัดกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 946 แห่ง⁽¹²⁾ และห้องปฏิบัติการนอกสังกัดกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 512 แห่ง⁽¹³⁾ ข้อกำหนดหลักของมาตรฐานทั้งสองไม่แตกต่างกัน ซึ่งเฉพาะมาตรฐานสากลเท่านั้นที่สามารถนำรายงานผลไปใช้งานได้ตามเงื่อนไขการยอมรับร่วมระหว่างประเทศ (Mutual Recognition Arrangement, MRA) จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองด้วยมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ฉบับปี พ.ศ. 2562 พบรายงานข้อบกพร่องที่พบบ่อย นำไปสู่ข้อเสนอแนะในการพัฒนา ได้แก่ การพัฒนาการบริการทดสอบความชำนาญ การควบคุมคุณภาพภายใน การปรับปรุงเกณฑ์การรับรองให้ใช้ Interlaboratory Comparison หรือเสริมสร้างความเข้มแข็งให้ห้องปฏิบัติการ โดยการเพิ่มองค์ความรู้ด้านการทวนสอบ (Method Validation and Verification) อย่างไรก็ตามการเข้าสู่ระบบคุณภาพตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข เมื่อปี พ.ศ. 2563 มีทั้งโรงพยาบาลขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่ ด้วยมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข มุ่งเน้นให้ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่เพิ่งเริ่มนำระบบคุณภาพมาใช้ในการพัฒนาคุณภาพและมาตรฐานการให้บริการ

เพื่อขอรับการรับรองคุณภาพห้องปฏิบัติการ และเตรียมความพร้อมของระบบคุณภาพให้สอดคล้องกับมาตรฐานสากล ISO 15189 ในการขอรับรองต่อไปในอนาคต ซึ่งจะทำให้เกิดความเชื่อมั่นและการยอมรับจากผู้รับบริการ นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการยังต้องการการสนับสนุนจากผู้บริหารในเรื่องทรัพยากรต่างๆ ตั้งแต่คน สถานที่ เครื่องมือ และการให้ความรู้ในเรื่องระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่องเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่มีส่วนทำให้การศึกษานี้ประสบความสำเร็จ อาทิ ห้องปฏิบัติการทุกแห่งที่ขอรับการรับรอง คณะผู้ตรวจประเมิน คณะทำงานปรับปรุงมาตรฐานและคู่มือการตรวจประเมินฯ มาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ขอขอบคุณ นายแพทย์ศุภกิจ ศิริลักษณ์ และนายแพทย์ปิยะ ศิริลักษณ์ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษานี้ และขอขอบคุณ นางสาวปนัดดา วิรุฬห์บุญภัทร ในการทวนสอบ Checklist มาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข เปรียบเทียบกับ ISO 15189

เอกสารอ้างอิง

1. Garcia LS, Bachner P, Baselski VS, Lewis MR, Linscott AJ, Schwab DA, et al. Clinical laboratory management. 2nd ed. Washington, DC.: ASM Press; 2014.
2. เรวดี สิริธัญญานนท์, ชมโฉไล สีนุสาร, จุไร โชติชนาทวีวงศ์, วาสิฏฐี แก้วกระจ่าง. การพัฒนาระบบการรับรองคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ตามมาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข. ว กรรมวิทย พ 2559; 58(4): 246-56.
3. Yanikkaya-Demirel G. ISO 15189 accreditation: requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory II. Clin Biochem 2009; 42(4-5): 279-83.
4. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานประจำปี 2563. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 9 พ.ย. 2566]; [77 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://blqs.dmsc.moph.go.th/page-view/101>.
5. ISO 15189:2022, Medical laboratories -- requirements for quality and competence. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2022.
6. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. คู่มือการตรวจประเมินมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข 2562. [ออนไลน์] 2562; [สืบค้น 9 พ.ย. 2566]; [35 หน้า] เข้าถึงได้ที่: URL: <http://mophstd.dmsc.moph.go.th/webblqs/asp/checkstd/document/AssessmentGudeline2562.pdf>.
7. ISO 15190:2020, Medical laboratories -- requirements for safety. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2020.
8. The ILAC Mutual Recognition Arrangement (MRA). Information for regulators. [online]. 2024; [cited 2024 Nov 26]; [1 screen]. Available from: URL: <https://ilac.org/about-ilac/information-for-regulators>.
9. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หน่วยงานที่ผ่านการรับรองระบบบริหารคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข. [ออนไลน์]. 2566; [สืบค้น 9 พ.ย. 2566] เข้าถึงได้ที่: URL: <https://blqs.dmsc.moph.go.th/page-view/522>.
10. Opartkiattikul N, Bejrachandra S, Byori R. The external quality assessment schemes in Thailand. Rinsho byori. Jpn J Clin Pathol 2002; 50(2): 121-5.
11. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. การรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO 15189 และ ISO 15190. [ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 6 เม.ย. 2568]; [1 หน้า] เข้าถึงได้ที่: URL: <https://blqs.dmsc.moph.go.th/page-view/84>.

12. สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. ข้อมูลพื้นฐาน
โรงพยาบาลสังกัดสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข.
[ออนไลน์]. 2568; [สืบค้น 6 เม.ย. 2568]; [125 หน้า].
เข้าถึงได้ที่: URL: [https://phdb.moph.go.th/
main/index/downloadlist/57/0](https://phdb.moph.go.th/main/index/downloadlist/57/0).
13. สำนักสถานพยาบาลและการประกอบโรคศิลปะ
กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ. รายชื่อสถานพยาบาล
ประเภทที่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน (โรงพยาบาลเอกชน)
ทุกจังหวัด. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 6 เม.ย.
2568]; [20 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://mrd.
hss.moph.go.th/mrd1_hss/wp-content/up-
loads/2020/09/Download-List-of-hospital-
update-15-September-2020.pdf](http://mrd.hss.moph.go.th/mrd1_hss/wp-content/uploads/2020/09/Download-List-of-hospital-update-15-September-2020.pdf).

Comparison between Requirements of Thailand Medical Laboratory, Ministry of Public Health (MOPH) Standards 2019, with ISO 15189:2022, and Non-conformities in Laboratories Accredited by the MOPH Standards 2019 during Fiscal Years 2020–2023

**Wannaprach Ruengdet, Siriphan Saeng-aroon, Raevadee Siritunyanont,
and Surasak Muenphon**

*Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000,
Thailand*

ABSTRACT The requirements of the Ministry of Public Health (MOPH) Standards for Medical Laboratories have been met by complying with the international standard ISO 15189:2012. In 2022, the international standard ISO 15189 underwent revision; therefore, the MOPH Standards must be revised to comply more with ISO 15189:2022. This report is based on a retrospective review that compared the MOPH Standards with ISO 15189:2022 and analyzed the conditions and non-conformities of 180 medical laboratories accredited by the MOPH Standards (edition 2019) from October 2019 to September 2023. The study showed that most of the requirements of the MOPH Standards 2019 were comprehensive, aligning with the international standards. The average number of non-conformities and observations was 15 out of 75 requirements per laboratory. The top five non-conformities were internal quality control, external quality assurance, management review, laboratory information for patients and users, and method verification at 4.7%, 4.4%, 2.8%, 2.7%, and 2.6%, respectively. Among 35 testing items, there was no internal quality control and external quality assessment. In addition, laboratories required support from management in terms of resources, as well as knowledge about quality systems and the continuous development of these systems. This will reassure and provide acceptance from service recipients.

Keywords: MOPH Medical Laboratory Standards, Medical laboratory, Quality system, Non-conformity analysis

ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับในหัตถการทาง รังสีรักษาระบบลำตัว โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี

กัณตินันท์ สมใจ

หน่วยงานรังสีร่วมรักษา โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34000

บทคัดย่อ รังสีร่วมรักษาเป็นหัตถการที่มีเป้าหมายในการให้การรักษาแก่ผู้ป่วยผ่านทางหลอดเลือด โดยการใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์จำเพาะที่มีขนาดเล็กหรือสารอนุภาคขนาดเล็กใส่เข้าไปในร่างกายของผู้ป่วย เพื่อการวินิจฉัยและรักษาโดยเครื่องเอกซเรย์หลอดเลือดเพื่อนำทางในการทำหัตถการที่มักใช้เวลานานส่งผลทำให้ผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีมากขึ้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการนำค่าปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับมาวิเคราะห์ เพื่อศึกษาปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากการตรวจทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว และนำไปเปรียบเทียบกับค่าปริมาณรังสีอ้างอิงของการตรวจทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว จากการเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่ได้รับการทำหัตถการทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว จำนวน 96 ราย ระยะเวลาตั้งแต่เดือนมกราคม ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2565 โดยศึกษาใน 3 หัตถการ คือ การให้สารเคมีบำบัดเฉพาะที่ทางหลอดเลือดแดง การฉีดสารอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติระบบลำตัว และการใส่สายระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนังหน้าท้อง พบว่าปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับเฉลี่ย คือ 68.26, 67.20 และ 8.91 Gy/cm² ตามลำดับ สรุปว่าค่าปริมาณรังสีสะสมจากงานวิจัยนี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณรังสีอ้างอิงมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2566 และมาตรฐานสากล พบว่าค่าปริมาณรังสีสะสมจากการศึกษานี้มีค่าน้อยกว่าค่าอ้างอิงมาตรฐาน

คำสำคัญ: ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ, ค่าปริมาณรังสีอ้างอิง, รังสีร่วมรักษา

Corresponding author E-mail: kantinansomjai@gmail.com

Received: 2 May 2025

Revised: 30 July 2025

Accepted: 1 August 2025

บทนำ

รังสีร่วมรักษาเป็นการตรวจเพื่อหาความผิดปกติของหลอดเลือดแดงทั่วร่างกาย โดยจะทำการตรวจภายใต้เครื่องเอกซเรย์หลอดเลือดระบบดิจิทัล (Angiography) การตรวจจะมีสองลักษณะ ลักษณะแรกเพื่อตรวจหาความผิดปกติของหลอดเลือดแดงทั่วไป และลักษณะที่สองเพื่อตรวจหาความผิดปกติของหลอดเลือดและใช้สารอุดกั้นฉีดเข้าหลอดเลือดที่ผิดปกติ เพื่อลดปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงก้อนเนื้อก่อนการผ่าตัดหลอดเลือดเพื่อห้ามเลือด และขยายหลอดเลือดตีบตัน⁽¹⁾ เป็นต้น รังสีร่วมรักษาสามารถตรวจได้หลายระบบ เช่น ระบบประสาท ระบบลำตัว และระบบกระดูก ซึ่งทำให้ได้ภาพทางรังสีที่มีคุณภาพดี สามารถเห็นอวัยวะต่างๆ ภายในได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ช่วยต่อการแปลผลและการวินิจฉัยโรค ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากการตรวจรังสีร่วมรักษามีค่าที่แตกต่างกันตามลักษณะของการตรวจและระยะเวลาที่ตรวจซึ่งไม่เท่ากัน ยิ่งใช้เวลานานยิ่งจะทำให้เกิดอันตรายจากการได้รับรังสีต่อผู้ป่วยเพิ่มขึ้นด้วย จึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาและควบคุมปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับให้เหมาะสม รวมถึงการประเมินอันตรายจากรังสีที่ส่งผลต่อบริเวณผิวหนัง เช่น มีลักษณะเป็นรอยไหม้แดง เนื้อตาย และแผลเน่าเปื่อย⁽²⁾ ค่าปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากการหัตถการทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว ได้แก่ 1) การให้สารเคมีบำบัดเฉพาะที่ทางหลอดเลือดแดง (Trans-Arterial Chemo Embolization, TACE) 2) การฉีดสารอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติระบบลำตัว (Body Embolization) และ 3) การทำหัตถการใส่สายระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนัง (Percutaneous Transhepatic Biliary Drainage, PTBD) โดยควรนำค่าที่ผู้ป่วยได้รับเปรียบเทียบกับปริมาณรังสีอ้างอิงมาตรฐาน (Diagnostic Reference Levels, DRLs)

จากความสำคัญดังกล่าวจึงมีหลายประเทศทั้งยุโรปและเอเชีย ที่ทำการสำรวจหาขนาดปริมาณการดูดกลืนรังสีของผู้ป่วยที่ตรวจทางรังสีร่วมรักษาว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยหรือไม่^(3,4) ส่วนในประเทศไทยยังมีการสำรวจน้อย จากสถิติของโรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี พบว่าจำนวนผู้ป่วยที่เข้ารับการตรวจรักษาทางรังสีร่วมรักษาในระบบลำตัวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้เกิดความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับ

ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ และเพื่อประเมินระดับความปลอดภัยของหัตถการดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงมาตรฐานที่ยอมรับได้ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ ผลที่ได้จากการศึกษาไม่เพียงเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับประเมินความปลอดภัยของผู้ป่วยเท่านั้น แต่ยังสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงเทคนิคการถ่ายภาพรังสีให้มีคุณภาพยิ่งขึ้น ช่วยให้แพทย์สามารถวินิจฉัยได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ ตลอดจนสามารถกำหนดแนวทางปฏิบัติที่เหมาะสม ในการป้องกันอันตรายจากรังสีต่อไป

วัตถุประสงค์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

ข้อมูลผู้ป่วยย้อนหลังที่ได้รับการทำหัตถการทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว จำนวน 96 ราย ได้แก่ การให้สารเคมีบำบัดเฉพาะที่ทางหลอดเลือดแดง (Trans Arterial Chemo Embolization, TACE) จำนวน 57 ราย การฉีดสารอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติระบบลำตัว (Body Embolization) จำนวน 7 ราย และการทำหัตถการใส่สายระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนัง (Percutaneous Transhepatic Biliary Drainage, PTBD) จำนวน 32 ราย ณ โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2565

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาและการวัดผล

เครื่องเอกซเรย์หลอดเลือด (Digital subtraction angiography, DSA) ชนิดหนึ่งระนาบ (INFX-8000C, Toshiba) เครื่องวัดผลคูณของปริมาณรังสีกับพื้นที่ (Dose Area Product, DAP) (RaySafe i3, Sweden) และแบบบันทึกข้อมูลปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ ประกอบด้วยข้อมูลการทำหัตถการ เพศ อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง และค่าปริมาณรังสีที่วัดได้จากเครื่อง DSA

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์และประมวลผลข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา หาค่าร้อยละ ค่าสูงสุด ต่ำสุด ค่าเฉลี่ย และการเบี่ยงเบนมาตรฐานของแต่ละพารามิเตอร์ นำค่าปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับไปเปรียบเทียบกับค่ารังสีอ้างอิง

มาตรฐานของประเทศไทย⁽⁵⁾ และสากล⁽⁶⁻⁸⁾ เพื่อประเมินความเสี่ยงในการได้รับปริมาณรังสีของการทำหัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว

จริยธรรมวิจัยในมนุษย์

การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี เลขที่ EC003/2025 ลงวันที่ 13 พฤษภาคม พ.ศ. 2568

ผล

กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับหัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว

ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจรักษาในหัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี

จำนวน 96 ราย แบ่งเป็น หัตถการให้สารเคมีบำบัดเฉพาะที่ผ่านทางหลอดเลือดแดงรักษามะเร็งตับ 57 ราย คิดเป็นร้อยละ 59.38 เพศชาย 40 ราย คิดเป็นร้อยละ 41.67 เพศหญิง 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 17.71 อายุเฉลี่ย 63.06 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 58.56 กิโลกรัม และส่วนสูงเฉลี่ย 166 เซนติเมตร หัตถการการฉีดสารอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติระบบลำตัว 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.29 เพศชาย 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.12 เพศหญิง 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.17 อายุเฉลี่ย 59.83 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 59.33 กิโลกรัม และส่วนสูงเฉลี่ย 168 เซนติเมตร หัตถการใส่สายระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนัง 32 ราย คิดเป็นร้อยละ 33.33 เพศชาย 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 17.71 เพศหญิง 15 ราย คิดเป็นร้อยละ 15.62 อายุเฉลี่ย 63.06 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 58.56 กิโลกรัม และส่วนสูงเฉลี่ย 164 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่ได้รับในหัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี จำนวน 96 ราย

ประเภทหัตถการ	จำนวนผู้ป่วย (ร้อยละ)			อายุ (ปี) Mean (SD) Range	น้ำหนัก (กก.) Mean (SD) Range	ส่วนสูง (ซม.) Mean (SD) Range
	ทั้งหมด	เพศชาย	เพศหญิง			
TACE	57 (59.38)	40 (41.67)	17 (17.17)	63.06 (8.70) 48-78	58.56 (9.29) 34-81	166 (7.77) 150-180
Body Embolization	7 (7.29)	3 (3.12)	4 (4.17)	59.83 (6.93) 52-70	59.33 (10.19) 48-81	168 (6.96) 160-180
PTBD	32 (33.33)	17 (17.71)	15 (15.62)	63.06 (8.71) 48-78	58.56 (9.29) 34-81	164 (8.27) 145-180

ปริมาณรังสีที่กลุ่มผู้ป่วยได้รับในหัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว

พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจรักษาในหัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี จำนวน 96 ราย แบ่งเป็น หัตถการการให้สารเคมีบำบัดเฉพาะที่ผ่านทางหลอดเลือดแดงรักษามะเร็งตับ ใช้เวลาในการเอกซเรย์เฉลี่ย 9.94 นาที จำนวนภาพเฉลี่ย

59.63 ภาพ ปริมาณรังสีสะสมเฉลี่ย 67.20 Gy/cm² หัตถการการฉีดสารอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติระบบลำตัว เวลาเฉลี่ย 10.59 นาที จำนวนภาพเฉลี่ย 70.42 ภาพ ปริมาณรังสีสะสมเฉลี่ย 68.26 Gy/cm² และหัตถการใส่สายระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนัง เวลาเฉลี่ย 2.21 นาที จำนวนภาพเฉลี่ย 3.41 ภาพ ปริมาณรังสีสะสมเฉลี่ย 8.91 Gy/cm² ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณรังสีสะสมในกลุ่มผู้ป่วยและพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้อง ตามประเภท
หัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว

ประเภทหัตถการ	ปริมาณรังสีสะสม เป็น Gy/cm ² Mean (SD) Range	เวลาในการเอกซเรย์ (นาที) Mean (SD) Range	จำนวน (ภาพ) Mean (SD) Range
TACE	67.20 (31.23) 9.66–164.81	9.94 (3.80) 5.1–22.4	59.63 (20.50) 22–110
Body Embolization	68.26 (25.18) 25.65–113.62	10.59 (2.06) 8.2–14.2	70.42 (28.94) 45–118
PTBD	8.91 (8.34) 0.52–34.46	2.21 (1.99) 0.2–9.1	3.41 (1.66) 2–8

ตามปริมาณรังสีสะสมเฉลี่ยที่พบในหัตถการทาง
รังสีรักษาระบบลำตัว โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี
เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณรังสีอ้างอิงในการถ่ายภาพ
รังสีวินิจฉัยทางการแพทย์ของประเทศไทย (2566)
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์⁽⁵⁾ พบว่าการตรวจ
ทางรังสีรักษาของการศึกษานี้มีค่าไม่เกินค่าอ้างอิง
ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และเมื่อเปรียบเทียบ

กับค่าอ้างอิงปริมาณรังสีสะสมของมาตรฐานสากล
พบว่ามีค่าปริมาณรังสีสะสมน้อยกว่าค่าอ้างอิงมาตรฐาน
สากลของ Progress in Medical Physics (2019)⁽⁶⁾,
National Diagnostic Reference Levels in
Japan (2020)⁽⁷⁾, และ Health Information and
Quality Authority (2021)⁽⁸⁾ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าปริมาณรังสีสะสมที่ผู้ป่วยได้รับของการศึกษานี้กับค่าปริมาณรังสีอ้างอิงมาตรฐานของ
หน่วยงานต่าง ๆ ทั้งในและต่างประเทศ

ประเภทหัตถการ	ปริมาณรังสีสะสม (Gy/cm ²)				
	การศึกษานี้	กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ (2023)	Progress in Medical Physics (2019)	National Diagnostic Reference Levels in Japan (2020)	Health Informa- tion and Quality Authority (2021)
TACE	67.20	141	237.7	270	300
Body Embolization	68.26	151	383.5	–	–
PTBD	8.91	13	37.5	–	–

วิจารณ์

จากการศึกษาปริมาณรังสีสะสมที่ผู้ป่วยได้รับจาก
หัตถการทางรังสีรักษาระบบลำตัว ณ โรงพยาบาล
มะเร็งอุบลราชธานี ได้แก่ การให้ยาเคมีบำบัดเฉพาะที่ทาง
หลอดเลือดแดง (TACE) การอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติ

ในระบบลำตัว (Body Embolization) และการใส่สาย
ระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนัง (PTBD) พบว่าค่าปริมาณ
รังสีที่ผู้ป่วยได้รับโดยเฉลี่ยยังอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าเกณฑ์
อ้างอิงจากทั้งในประเทศและต่างประเทศ (ตารางที่ 3)
เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ สมศักดิ์ วงษ์ศานนท์

และคณะ⁽⁹⁾ รวมถึง ญัตติกิตติพัฒ กิติ์คุณรักษ์⁽¹⁰⁾ ซึ่งได้ศึกษาปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากหัตถการทางรังสีร่วมรักษาในระบบลำตัวเช่นเดียวกัน พบว่าผลการศึกษาอยู่ในแนวทางเดียวกัน กล่าวคือ ปริมาณรังสีดูดกลืนสะสมเฉลี่ยสูงสุดและปริมาณการดูดกลืนรังสีสูงสุดต่อรายที่ผู้ป่วยได้รับต่ำกว่าค่ามาตรฐานอ้างอิง

ค่าประเมินความเสี่ยงปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ (Dose Area Product, DAP) แสดงในรูปของปริมาณรังสีต่อพื้นที่เป็นตารางเซนติเมตร (Gy/cm^2) ซึ่งเป็นค่าที่สะท้อนปริมาณรังสีสะสมจากหลายพื้นที่บนผิวหนังของผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม ค่า DAP ไม่สามารถระบุปริมาณรังสีสูงสุดที่บริเวณใดบริเวณหนึ่งของผิวหนังได้อย่างชัดเจน จึงจำเป็นต้องนำค่า DAP มาคำนวณเพื่อประมาณค่าปริมาณรังสีที่ผิวหนังได้รับโดยตรง (Entrance Skin Dose, ESD) เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบกับค่าระดับรังสีที่ยอมรับได้สูงสุด (Threshold Dose) ตามข้อแนะนำของคณะกรรมการระหว่างประเทศว่าด้วยการป้องกันอันตรายจากรังสี (International Commission on Radiological Protection: ICRP, 2000)⁽¹¹⁾ เพื่อประเมินระดับความปลอดภัยอย่างเหมาะสม ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจริงในแต่ละกรณีขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิ ประสิทธิภาพของเครื่องมือทางรังสี เทคนิคและกระบวนการที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัย ซึ่งขึ้นอยู่กับทักษะของรังสีแพทย์ ตลอดจนลักษณะทางกายภาพของผู้ป่วย เช่น ขนาด ความหนา และลักษณะทางพยาธิสภาพของรอยโรค รวมถึงความซับซ้อนของหัตถการที่ดำเนินการ^(3,12) ปัจจัยเหล่านี้เป็นตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อระดับรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ และส่งผลให้ค่าปริมาณรังสีที่วัดได้มีความแปรปรวน ซึ่งบางปัจจัยไม่สามารถควบคุมได้โดยตรง ส่งผลให้กระบวนการประเมินปริมาณรังสีมีความซับซ้อนและจำเป็นต้องใช้วิธีการวัดและวิเคราะห์ที่แม่นยำ

สรุป

จากการศึกษาปริมาณรังสีสะสมเฉลี่ยของการทำหัตถการรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว การให้สารเคมีบำบัดเฉพาะที่ทางหลอดเลือดแดง การฉีดสารอุดหลอดเลือดที่ผิดปกติในระบบลำตัว และการทำหัตถการใส่สายระบายน้ำดีผ่านทางผิวหนังของโรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี

ระหว่างเดือนมกราคม ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2565 พบว่าค่าปริมาณรังสีสะสมที่ผู้ป่วยได้รับ เท่ากับ 67.20, 68.26 และ $8.91 \text{ Gy}/\text{cm}^2$ ตามลำดับ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณรังสีอ้างอิงมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และมาตรฐานสากล National Diagnostic Reference Levels in Japan Health Information and Quality Authority และ Progress in Medical Physics พบว่าค่าปริมาณรังสีสะสมจากการศึกษานี้มีค่าน้อยกว่าค่าอ้างอิงมาตรฐานดังกล่าว ถือได้ว่าหัตถการนี้อยู่ในระดับมีความปลอดภัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รังสีแพทย์ นักรังสีการแพทย์ และบุคลากรในหน่วยงานรังสีร่วมรักษา โรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี ในการบันทึกข้อมูลผู้ป่วย ขอขอบพระคุณคณะผู้บริหารโรงพยาบาลมะเร็งอุบลราชธานี ที่ได้สนับสนุนการศึกษาเป็นผลให้งานครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- พงษ์ศักดิ์แสงครุฑ, คงบุญคุ้ม, ศาสตราวุธ ธรรมกิตติพันธ์, เอนก สุวรรณบัณฑิต, วิรัช หมอหวั่ง. ปริมาณรังสีที่ได้รับจากการตรวจรักษาทางรังสีร่วมรักษา. ว ชมรมรังสีเทคนิคและพยาบาลเฉพาะทางรังสีวิทยาหลอดเลือดและรังสีร่วมรักษาไทย 2550; 1(2): 51-60.
- นิตยา ทองประพาฬ, พรณี สมจิตประเสริฐ, วิชุดา สิริเมธานโนปกรณ์. ภาวะผิวหนังลอกไหม้จากการได้รับรังสีเกินกำหนด. ว ชมรมรังสีเทคนิคและการพยาบาลเฉพาะทางรังสีวิทยาหลอดเลือดและรังสีร่วมรักษาไทย 2553; 4(1): 18-20.
- สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ. แนวทางความปลอดภัยด้านรังสีในการตรวจวินิจฉัยทางรังสีร่วมรักษา. กรุงเทพฯ: สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ; 2563.
- Vano E, Miller DL, Martin CJ, Rehani MM, Kang K, Rosenstein M, et al. Patient dose in interventional radiology: a review of current guidelines and practical recommendations. Radiat Prot Dosimetry 2010; 139(1-3): 443-8.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. ค่าปริมาณรังสีอ้างอิงในการถ่ายภาพรังสีวินิจฉัย

- ทางการแพทย์ของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: บริษัท
ปิยอนด์ พับลิชชิง จำกัด; 2566.
6. Hong CS, Ju SG, Choi DH, Han Y, Huh SJ, Park W, et al. Dosimetric effects of intrafractional organ motion in field-in-field technique for whole-breast irradiation. *Prog Med Phys*. 2019; 30(3): 65-73.
 7. Japan Network for Research and Information on Medical Exposure (J-RIME). National diagnostic reference levels in Japan. [online]. 2020; [cited 2023 Jul 17]; [22 screens]. Available from: URL: https://j-rime.qst.go.jp/report/DRL2020_Engver.pdf.
 8. Health Information and Quality Authority. Diagnostic reference level. [online]. 2021; [cited 2023 Jun 26]. Available from: URL: <http://hiqa.ie/sites/default/files/2021-07/diagnostic-Reference-Levels>.
 9. สมศักดิ์ วงษ์ตานนท์, วิชัย วิชาธรตระกูล, วัฒนา วงษ์ตานนท์. ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากการตรวจทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว. *ศรีนครินทร์เวชสาร* 2552; 24(4): 339-43.
 10. ญัตติกิตติพัฒน์ กิตติคุณรักษ์. ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับจากการตรวจทางรังสีร่วมรักษาระบบลำตัว. *ว วิทยาศาสตร์สุขภาพและสาธารณสุข วชิระภูเก็ต*, 2566; 3(2): 27-38.
 11. Valentin J. Avoidance of radiation injuries from medical interventional procedures. ICRP Publication 85. *Ann ICRP* 2000; 30(2): 7-67.
 12. Valentin J. The 2007 recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP Publication 103. *Ann ICRP* 2007; 37(2-4): 1-332.

Patient Radiation Doses by Body Interventional Radiology in Ubon Ratchathani Cancer Hospital, Ubon Ratchathani, Thailand

Kantinan Somjai

Interventional Radiology, Ubon Ratchathani Cancer Hospital, Ubon Ratchathani 34000, Thailand

ABSTRACT Body interventional radiology is a procedure that aims to provide treatment to a patient through the use of blood vessels, by inserting a small, specific medical device or a small particle substance into the patient's body for diagnosis and treatment, guided by an angiography. The procedure usually takes longer than a regular X-ray and results in the patient receiving higher radiation doses. Therefore, it is necessary to analyze the amount of radiation dose that the patient received from the radiological examination and treatment, and compare it with the reference radiation dose values, by collecting data from 96 patients who received radiotherapy of the body system during January and December 2022 at the Ubon Ratchathani Cancer Hospital, Ubon Ratchathani, Thailand. The study included three procedures of trans-arterial chemoembolization, intravascular embolization of abnormal blood vessels in the trunk, and insertion of a bile drainage tube through the skin. The average radiation doses received by the patients were found to be 68.26, 67.20, and 8.91 Gy/cm², respectively. By comparing with the standard reference radiation doses, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand, 2023, and some international standards, it could be concluded that the cumulative radiation doses were found to be less than the reference dose limits.

Keywords: Radiation absorbed dose, Radiation dose reference, Interventional radiology

การพัฒนาการจำแนกสิ่งแปลกปลอมในอาหาร และการจัดทำฐานข้อมูล

อนัญญา ยิ่งเจริญธนา วนิดา ยุธยาติ พรนภา เนตรจุฬารัตน์ ประภัสรา บุตรพรหม และ ทิพา เขียนวงษ์
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ การปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอมทางกายภาพในอาหารสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดกระบวนการผลิตจากตัวบุคคล อุปกรณ์ เครื่องมือในการผลิต สถานที่และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสิ่งแปลกปลอมทางกายภาพมีความหลากหลายทำให้ยากต่อการจำแนก เพื่อพัฒนาศักยภาพการตรวจวิเคราะห์ของนักวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ให้สามารถตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างที่หลากหลาย และใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ให้สั้นที่สุดได้ จึงได้รวบรวมข้อมูลของกลุ่มสิ่งแปลกปลอมและสิ่งแปลกปลอมชนิดเบาของ สิ่งที่มีโอกาสปนเปื้อนในอาหาร บันทึกรูปภาพแล้วจัดทำเป็นฐานข้อมูล โดยรวบรวมระหว่างปี พ.ศ. 2564-2566 ได้ 143 ชนิด แบ่งเป็นกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ ชิ้นส่วนวัสดุ แผลง เส้นขน พยาธิและปรสิต ฟิช และเนื้อสัตว์ เมื่อทวนสอบวิธีโดยให้นักวิเคราะห์ จำนวน 5 คน ศึกษาฐานข้อมูลแล้วคัดแยก spike materials คือ ขนอ่อนของหนูและปีกของด้วงงวงทั้งในตัวอย่างแป้งข้าวเจ้า และมัทกะโรนี ทดสอบ 2 ครั้ง ครั้งแรกเติมจำนวน spiked materials ชุดที่ 1 ขนอ่อนของหนู จำนวน 5 เส้น และปีกของ ด้วงงวง จำนวน 5 ชิ้น ชุดที่ 2 ขนอ่อนของหนู จำนวน 10 เส้น และปีกของด้วงงวง จำนวน 10 ชิ้น พบว่าสามารถคัดแยก ได้ถูกต้อง คิดเป็นร้อยละ 100 และเมื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอม พบว่าสามารถช่วยให้จำแนกสิ่งแปลกปลอม ได้ง่ายและชัดเจน ช่วยลดเวลาลงเนื่องจากไม่ต้องเสียเวลาในการเปิดหนังสือภาพหรือหาข้อมูลเพิ่มเติม อีกทั้งยังสามารถช่วยให้ ผู้ประกอบการสามารถแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนทางกายภาพได้อย่างถูกต้องอีกด้วย

คำสำคัญ: สิ่งแปลกปลอมในอาหาร, การปนเปื้อนอาหารทางกายภาพ, การวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหาร, การจำแนก สิ่งแปลกปลอมในอาหาร

Corresponding author E-mail: ananya.y@dmsc.mail.go.th

Received: 16 December 2024

Revised: 23 July 2025

Accepted: 13 August 2025

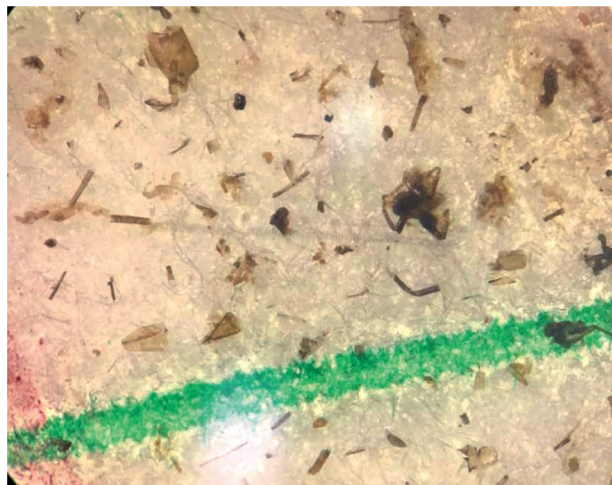
บทนำ

อาหารเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญของการดำรงชีวิตของมนุษย์ ดังนั้นการดูแลคุณภาพและความปลอดภัยในอาหารเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องใส่ใจเพราะนอกจากส่งผลกระทบต่อสุขภาพแล้ว ยังส่งผลต่อความเชื่อมั่นของผู้บริโภคในการเลือกบริโภค การปนเปื้อนในอาหารสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดกระบวนการผลิตอาหาร ตั้งแต่การคัดเลือกวัตถุดิบ การแปรรูป การบรรจุ จนถึงการจัดเก็บรักษาและการขนส่ง อันตรายจากการปนเปื้อนในอาหาร แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ อันตรายทางเคมี (chemical hazard) หมายถึง อันตรายที่เกิดจากสารเคมีที่มีอยู่ตามธรรมชาติในวัตถุดิบที่ใช้แปรรูปอาหารหรือเกิดการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิต อันตรายทางชีวภาพ (biological hazard) หมายถึง อันตรายในอาหารที่เกิดจากจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย (bacteria) โปรโตซัว (protozoa) หนอนพยาธิ (helminth) และไวรัสที่ทำให้เกิดโรค และอันตรายทางกายภาพ (physical hazard) หมายถึง สิ่งแปลกปลอมต่างๆ ที่ปนเปื้อนลงในอาหารที่อาจทำให้เกิดการบาดเจ็บแก่ผู้บริโภค⁽¹⁾

อันตรายทางกายภาพในอาหารเกิดจากสิ่งแปลกปลอม 2 แบบ คือ สิ่งแปลกปลอมที่ไม่ได้ตั้งใจเติมลงในอาหาร เช่น เศษโลหะ ตะปู กรวด เป็นต้น และสิ่งแปลกปลอมที่พบในธรรมชาติ เช่น เศษกระดูก แมลง เป็นต้น⁽²⁾ การปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอมทางกายภาพส่วนใหญ่มาจากกระบวนการผลิต ตัวบุคคล อุปกรณ์เครื่องมือในการทำงาน สถานที่และสิ่งแวดล้อม อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภคทางตรง คือ ทำให้เกิดบาดแผลที่ ปาก ลิ้น คอ กระเพาะอาหาร ลำไส้ รวมทั้งฟันและเหงือก จากคู่มือ Food Defect Levels ของ United States Food & Drug Administration นิยามคำว่าสิ่งแปลกปลอมทั่วไป (extraneous materials) คือ สิ่งแปลกปลอมในผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างไปจากสิ่งที่ควรพบ อาจเกิดจากสภาพแวดล้อมหรือวิธีการปฏิบัติที่ไม่พึงประสงค์ในกระบวนการผลิต การเก็บรักษาหรือการขนส่ง ประกอบด้วย สิ่งที่เกิดจากแมลง สัตว์ฟันแทะ นก เป็นต้น สิ่งที่เกิดจากการเสื่อมสลาย

และสิ่งอื่นๆ เช่น ทราาย ดิน แก้ว สนิม เป็นต้น และสิ่งแปลกปลอมประเภทสิ่งที่น่ารังเกียจ (filth) คือ สิ่งที่เกิดจากการปนเปื้อนของสัตว์ลงในผลิตภัณฑ์ เช่น ชิ้นส่วนของสัตว์ฟันแทะ แมลง หรือนก หรือสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ที่เกิดจากหลักสุขาภิบาลที่ไม่ถูกต้อง⁽³⁾ สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าหรือมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถสังเกตเห็นได้ แบ่งประเภทตามวิธีวิเคราะห์เป็น 3 ประเภท ได้แก่ Heavy Filth หมายถึง สิ่งแปลกปลอมที่มีน้ำหนักรวมมากซึ่งสามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์ด้วยการตักตะกอน โดยอาศัยหลักของความหนาแน่นที่แตกต่างกันระหว่างสิ่งแปลกปลอม ผลิตภัณฑ์และสารเคมีที่ใช้ในการแยก Sieved Filth หมายถึง สิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเฉพาะตัว ซึ่งสามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์โดยใช้ตะแกรงร่อน (sieve) ที่มีขนาดเฉพาะของช่องที่แตกต่างกันของขนาดของสิ่งแปลกปลอมในอาหาร และ Light Filth หมายถึง สิ่งแปลกปลอมชนิดเบาหรือที่มีน้ำหนักเบาและมักเป็นพวก oleophilic ซึ่งสามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์โดยใช้ของเหลวผสมระหว่างสารกลุ่มน้ำมันและน้ำ ซึ่งสิ่งแปลกปลอมประเภทนี้จะลอยตัวอยู่ในชั้นของน้ำมัน⁽⁴⁾ ยกตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักตบที่ตรวจวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการ จากการตรวจด้วยตาเปล่าไม่พบสิ่งแปลกปลอม แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์หาสิ่งแปลกปลอมชนิดเบาภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบแมลงทั้งตัวหรือชิ้นส่วนแมลงจำนวนมาก ดังแสดงในภาพที่ 1

นอกจากนี้ยังพบสิ่งแปลกปลอมที่มาในรูปแบบอาหารปลอมปน (Food Fraud) คือ อาหารที่ทดแทนบางส่วนด้วยวัตถุดิบเพื่อลดต้นทุนทำให้อาหารไม่มีคุณภาพ⁽⁵⁾ เช่น การผสมสำลีในหมูหยอง หากพบว่าอาหารมีสิ่งแปลกปลอมปะปนอยู่ จะจัดว่าเป็นอาหารที่มีสิ่งที่น่าจะเป็นอันตรายแก่สุขภาพเจือปนเข้าข่ายเป็นอาหารไม่บริสุทธิ์ ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522⁽⁶⁾ ส่วนสิ่งแปลกปลอมประเภทสิ่งที่น่ารังเกียจยังไม่มีข้อกำหนดตามพระราชบัญญัติอาหารที่ครอบคลุมการปนเปื้อนของสิ่งแปลกปลอมชนิดนี้ เนื่องจากมีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและ



ภาพที่ 1 สิ่งแปลกปลอมชนิดเบา (Light Filth) ที่พบในผลิตภัณฑ์ผักตบ

ไม่ก่อให้เกิดอันตรายทางตรง แต่สามารถบ่งบอกถึงสุขลักษณะการผลิตอาหารตามมาตรฐานหลักการผลิตอาหารที่ดี เช่น มาตรฐาน GMP (Good Manufacturing Practice) และมาตรฐาน HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point System) โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้นำเอาหลักเกณฑ์มาตรฐาน GMP มาบังคับใช้เป็นกฎหมายประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 420 พ.ศ. 2563 เรื่อง วิธีการผลิตเครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร⁽⁷⁾ เพราะสามารถควบคุมคุณภาพการผลิตที่ครอบคลุมทุกด้านนับตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงมือผู้บริโภค เพื่อให้ผู้ประกอบการมีมาตรการป้องกันการปนเปื้อนอันตรายแต่ยังอาจเกิดข้อผิดพลาดจากกระบวนการผลิตได้ ทำให้ยังพบการปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอมอยู่

การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมของห้องปฏิบัติการกายภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มี 2 วิธีหลัก คือ การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่า เป็นการตรวจหาสิ่งแปลกปลอมที่ตัดแยกออกจากอาหารได้ด้วยตาเปล่า และการวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นการตรวจหาสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็กมาก และจำแนกโครงสร้างของสิ่งแปลกปลอม ซึ่งจะใช้เวลา 2 ชนิด คือ กล้อง Zoom Stereo Microscope และกล้อง Compound Microscope สำหรับศึกษาลักษณะและโครงสร้างของสิ่งแปลกปลอม⁽⁸⁻¹⁰⁾ โดยขั้นตอนการวิเคราะห์

สิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถจำแนกโดยศึกษาสิ่งต่างๆ ได้แก่ 1) คู่มือ ใช้เป็นแนวทางวิธีปฏิบัติต่างๆ เพื่อให้สามารถทราบวัตถุประสงค์ของแมลงตัวเต็มวัยหรือหนอนที่ตรวจพบ 2) รูปภาพจากแผ่นภาพหรือหนังสือ เช่น ภาพของแมลงศัตรูทางการเกษตรชนิดต่างๆ ในโรงเก็บจะช่วยให้สามารถจำแนกแมลงที่ตรวจพบได้ว่าเป็นชนิดใด 3) รายละเอียดรูปร่างลักษณะ (Description) จากหนังสือวิชาการ เอกสาร รายงานต่างๆ จะช่วยให้การจำแนกถูกต้องยิ่งขึ้น 4) สไลด์ของจริง (Authentic Slide) เมื่อตรวจพบสิ่งแปลกปลอม เช่น เศษชิ้นส่วนแมลงจึงใช้สไลด์ของจริงมาเปรียบเทียบ 5) การจำได้ (Recognition) ประสบการณ์จากการศึกษาสิ่งแปลกปลอมจำนวนมาก ทำให้จำได้ว่าคืออะไร และ 6) ศึกษาจากผู้เชี่ยวชาญ (Expert) ที่มีความรู้และความชำนาญ⁽¹⁰⁾ แต่การวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดังกล่าวมักมีปัญหาในการวิเคราะห์ คือ รูปภาพอาจขาดความชัดเจนหรือการเก็บข้อมูลต่างๆ ไม่เหมาะสม เช่น สไลด์ของจริง เมื่อเวลาผ่านไปข้อมูลอาจเลือนรางหรือเสื่อมสลายตามเวลาทำให้นำมาใช้จำแนกสิ่งแปลกปลอมได้ยาก การรายงานผลจึงรายงานเบื้องต้น คือ พบแมลงทั้งตัว ชิ้นส่วนแมลงหรือเส้นขนโดยไม่ได้จำแนกถึงชนิดสิ่งแปลกปลอมนั้นๆ ว่าคืออะไร ทำให้นำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้แก้ปัญหาไม่ได้

ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาการวิเคราะห์จำแนกชนิดของสิ่งแปลกปลอมให้สามารถจำแนกชนิดได้ง่ายขึ้น จึงมีแนวคิดจัดทำฐานข้อมูลรูปภาพสิ่งแปลกปลอม เพื่อใช้สำหรับจำแนกรายละเอียดสิ่งแปลกปลอมที่พบได้ในอาหาร และเพื่อช่วยแก้ปัญหาผู้ประกอบการได้ถูกต้อง จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาศักยภาพการตรวจวิเคราะห์ให้สามารถจำแนกสิ่งแปลกปลอมที่หลากหลาย โดยใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ให้สั้นที่สุดและระบุรายละเอียดของสิ่งแปลกปลอมนั้นๆ ได้ จึงทำเป็นฐานข้อมูลของกลุ่มสิ่งแปลกปลอม โดยรวบรวมข้อมูลผลวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมที่พบในตัวอย่างอาหารและเครื่องดื่มระหว่างปี พ.ศ. 2562–2564 จำนวน 147 ตัวอย่าง ได้แก่ อาหาร จำนวน 130 ตัวอย่าง และเครื่องดื่ม จำนวน 17 ตัวอย่าง

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

กล้องจุลทรรศน์ชนิด Widefield Zoom Stereo Microscope (Olympus Optical, Japan), กล้องจุลทรรศน์ชนิด Compound Microscope (Olympus Optical, Japan), งานเพาะเชื้อ, มีดผ่าตัด, กรรไกร, ปากคีบ, dropper, แผ่นสไลด์ (slide) และแผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover slip) สำหรับใช้เตรียมตัวอย่างสิ่งแปลกปลอมที่นำมาถ่ายรูป รวบรวมข้อมูลมาจากการวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมจากห้องปฏิบัติการ และจากคู่มือ Food Defect Levels (United States Food and Drug Administration)⁽³⁾ ที่กำหนดเกณฑ์การพบสิ่งแปลกปลอม ได้แก่ แมลง ชิ้นส่วนแมลง ขนหนู เป็นต้น

ตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารและเครื่องดื่มทั้งหมด 147 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างอาหาร จำนวน 130 ตัวอย่าง ได้แก่ อาหาร

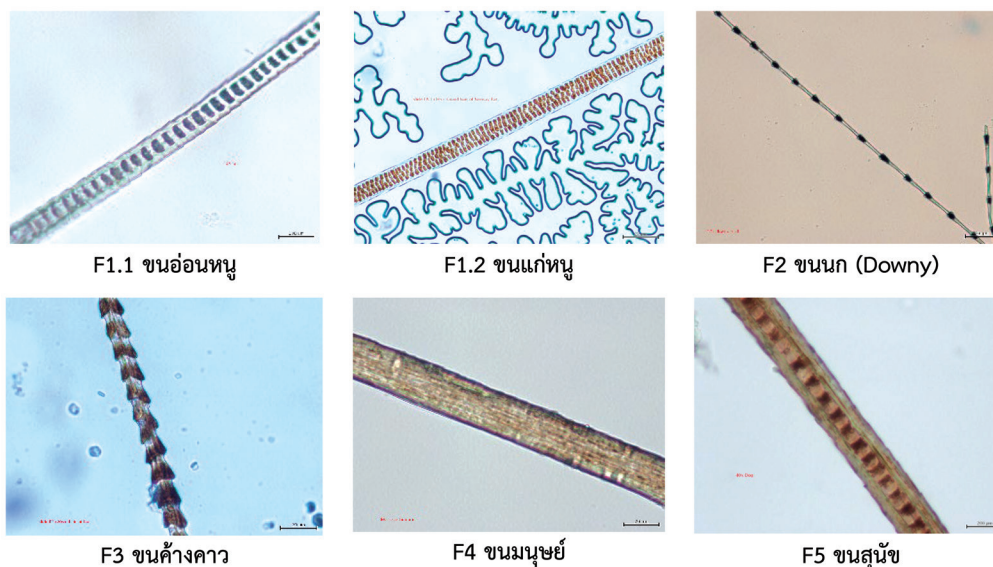
ทั่วไป เช่น ข้าวสาร ปลาสด พริกไทย และกระเทียม จำนวน 23 ตัวอย่าง อาหารแปรรูป เช่น ชีส ไส้กรอก หมูหย็อง เต้าหู้ และน้ำพริก จำนวน 32 ตัวอย่าง และอาหารพร้อมทาน เช่น โจ๊ก ไก่ย่าง อาหารกระป๋อง ไข่ตุ๋น และไข่เค็ม จำนวน 75 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างเครื่องดื่ม จำนวน 17 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำดื่ม น้ำแข็ง น้ำผลไม้ น้ำอัดลม และผลิตภัณฑ์นม

การจัดทำฐานข้อมูล

ขั้นตอนที่ 1 รวบรวมข้อมูลวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตที่มีโอกาสปนเปื้อน เช่น ชุดทำงาน ถุงมือ หมวก ผ้ากันเปื้อน และอุปกรณ์ทำความสะอาด เช่น ผ้าเช็ดทำความสะอาด ขนแปรงขัด รวมไปถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต เช่น แห เชือก กระดาษลัง เป็นต้น และสิ่งที่มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารจากบุคคลหรือสภาพแวดล้อมโดยรอบได้ เช่น เส้นผม เส้นขนต่างๆ จากคน สัตว์ และแมลง

ขั้นตอนที่ 2 แบ่งประเภทตัวอย่างที่รวบรวมมา ศึกษาลักษณะที่ปรากฏภายนอกและลักษณะโครงสร้างภายใน เตรียมตัวอย่างโดยตัดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กหรือวางทั้งชิ้น เช่น แมลงขนาดเล็ก ที่สามารถวางบนจานเพาะเชื้อได้ แล้วถ่ายรูปภายใต้กล้อง Widefield Zoom Stereo Microscope เพื่อศึกษาลักษณะภายนอก แล้วนำมาทำให้มีขนาดเล็กหรือบางที่สุดด้วยกรรไกรหรือมีดผ่าตัด จากนั้นวางบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำแล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ถ่ายรูปภายใต้กล้อง Compound Microscope เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างภายใน

ขั้นตอนที่ 3 นำรูปถ่ายมาจัดทำบัญชีรายการสิ่งแปลกปลอม บันทึกลง 2 ช่องทาง คือ หน่วยเก็บข้อมูลชั่วคราวใน external hard disk และเครือข่ายอินเทอร์เน็ตภายในหน่วยงาน ซึ่งการเข้าถึงจำเป็นต้องใช้รหัสผ่าน เพื่อให้นักวิเคราะห์สามารถใช้งานร่วมกันได้และเป็นการรักษาความปลอดภัยของข้อมูล ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ตัวอย่างภาพสิ่งแปลกปลอมจากฐานข้อมูลที่บันทึกในเครือข่ายอินเทอร์เน็ตภายในห้องปฏิบัติการกายภาพ
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

การทวนสอบฐานข้อมูล

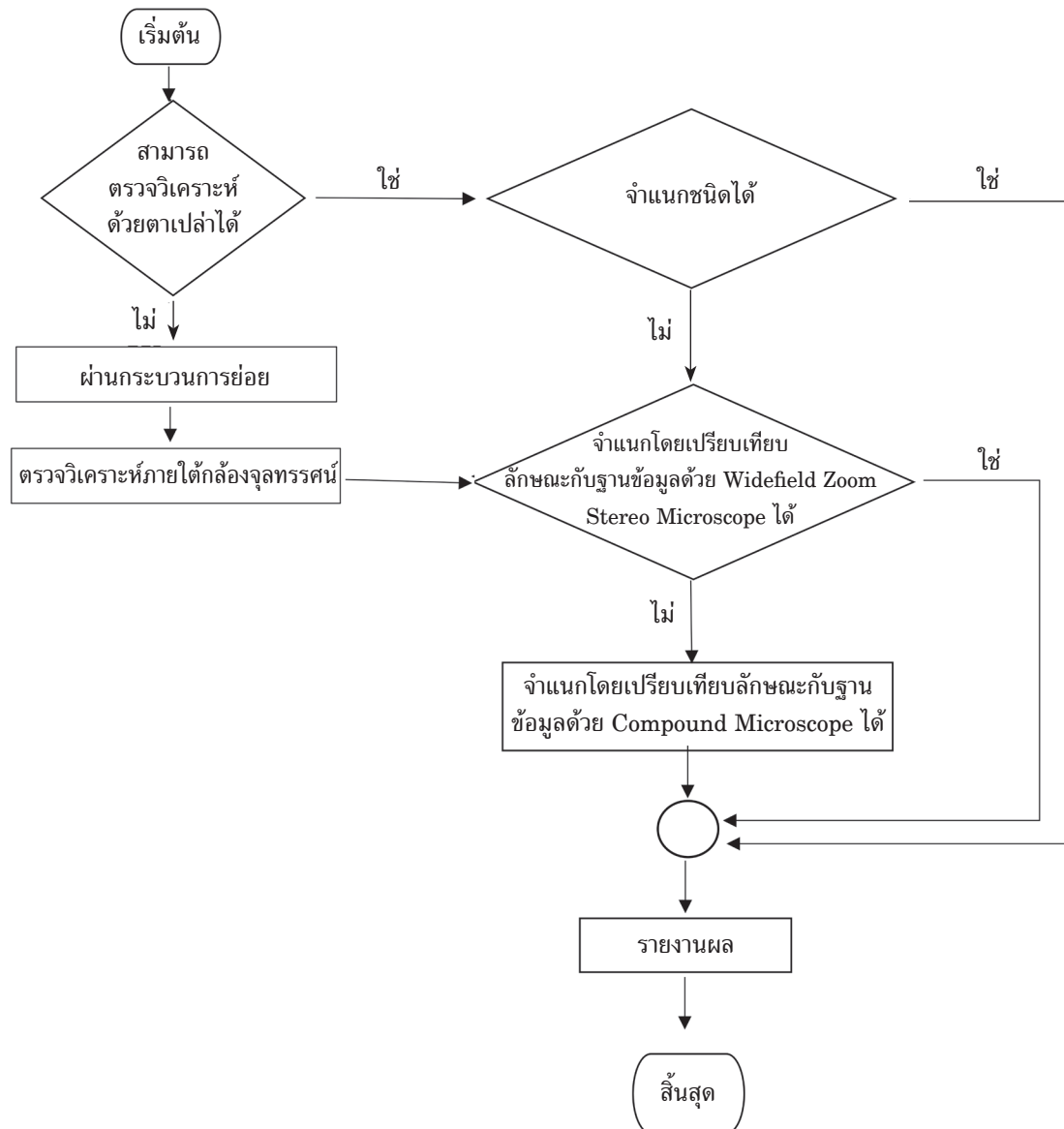
เพื่อทดสอบความใช้ได้ของฐานข้อมูลว่าสามารถใช้ในการจำแนกได้อย่างมีประสิทธิภาพ เติม spiked materials คือ ขนอ่อนของหนูและปีกของด้วงงวง⁽¹⁰⁾ เพราะเป็นสิ่งแปลกปลอมที่สามารถพบได้ทั่วไปในผลิตภัณฑ์อาหารและมีเกณฑ์กำหนดตามคู่มือ Food Defect Levels (United States Food and Drug Administration)⁽³⁾ ลงในตัวอย่างอาหารที่สามารถพบสิ่งแปลกปลอมชนิดอื่นที่ปะปนมาตามธรรมชาติ แต่ไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่เหมือนกับ spiked materials ได้แก่ แป้งข้าวเจ้าและมัทกะโรนี โดยเติม spiked material ชุดที่ 1 ขนอ่อนของหนู จำนวน 5 เส้น และปีกของด้วงงวง จำนวน 5 ชิ้น ชุดที่ 2 ขนอ่อนของหนู จำนวน 10 เส้น และปีกของด้วงงวง จำนวน 10 ชิ้น ลงในตัวอย่างทั้งแป้งข้าวเจ้าและมัทกะโรนี แล้วให้นักวิเคราะห์ จำนวน 5 คน ที่ผ่านการอบรมการตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหารศึกษาภาพจากฐานข้อมูลแล้วคัดแยก spiked materials ออกจากตัวอย่างให้ถูกต้อง

การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมและการใช้ฐานข้อมูล

การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมจะมีขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ ดังแสดงในภาพที่ 3 คือ การตรวจ

วิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่าเป็นการตรวจหาสิ่งแปลกปลอมขนาดที่สามารถคัดแยกออกจากอาหารได้ด้วยตาเปล่า ตั้งแต่ใหญ่จนถึงเล็กที่สามารถมองเห็นได้ กรณีพบสิ่งแปลกปลอมพิจารณาว่าจำแนกได้หรือไม่ หากจำแนกได้สามารถรายงานผลได้เลย แต่หากจำแนกไม่ได้ให้นำไปวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กรณีไม่พบสิ่งแปลกปลอมให้นำตัวอย่างมาผ่านกระบวนการตามวิธี AOAC⁽⁴⁾ ก่อน คือ ย่อยตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกพร้อมให้ความร้อน หรือกรณีไม่ย่อยตัวอย่างจะใช้วิธี Heptane Water⁽¹⁰⁾ เพื่อแยกสิ่งแปลกปลอมชนิดเบาออกจากเนื้ออาหารและนำไปวิเคราะห์ต่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำแนกด้วยกล้อง Widefield Zoom Stereo Microscope เพื่อจำแนกจากลักษณะภายนอก หากจำแนกไม่ได้ให้จำแนกด้วยกล้อง Compound Microscope เพื่อดูลักษณะโครงสร้าง นำฐานข้อมูลมาช่วยในการจำแนกสิ่งแปลกปลอม โดยนำภาพของตัวอย่างภายใต้กล้องเปรียบเทียบกับภาพจากฐานข้อมูลที่มีลักษณะใกล้เคียง ทวนสอบความถูกต้องของผลวิเคราะห์โดยนักวิเคราะห์อย่างน้อย 2 คน หากจำแนกไม่เหมือนกันต้องมีนักวิเคราะห์คนที่ 3 ร่วมวิเคราะห์และตัดสินใจ⁽⁸⁻¹⁰⁾



ภาพที่ 3 กระบวนการตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหาร

สำหรับการบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหาร ประกอบด้วย วิธีการตรวจวิเคราะห์ การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่า การตรวจวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยในการตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมทุกครั้งจะมีการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการตรวจสอบสิ่งแปลกปลอม คือ การตรวจสอบอากาศโดยรอบพื้นที่ปฏิบัติงาน น้ำที่ใช้ในการวิเคราะห์ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ มีการสำรวจภาชนะบรรจุก่อนวิเคราะห์ เพื่อให้แน่ใจในผลการทดสอบว่ามีความถูกต้องทั้งการตรวจวิเคราะห์ด้วยตาเปล่าและ

ตรวจวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีการบันทึกภาพเพื่อใช้ประกอบการรายงานผล และเมื่อพบสิ่งแปลกปลอมจะนำภาพสิ่งแปลกปลอมจากฐานข้อมูลมาเปรียบเทียบกับด้านโครงสร้างกับสิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผล

ฐานข้อมูลในการจำแนกสิ่งแปลกปลอม

จากการรวบรวมข้อมูลสิ่งแปลกปลอมระหว่างปี พ.ศ. 2564–2566 จำนวน 143 ชนิด จัดเป็นประเภทตามการใช้เป็น 2 ประเภท ประเภทที่ 1 สำหรับใช้เปรียบเทียบกับลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารและ

เครื่องมือ ได้แก่ เศษชิ้นส่วนวัสดุต่าง ๆ ที่มีโอกาสสามารถพบได้จากกระบวนการผลิต เช่น เศษพลาสติก เส้นใย และกระดาษ จำนวน 22 ชนิด แผลงชนิดต่าง ๆ ตั้งแต่ระยะไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย เช่น แผลงวัน ตัวงวงข้าว เพลี้ยหอย มอดยาสูบ เป็นต้น โดยจัดเก็บในรูปแบบทั้งตัวและเป็นชิ้นส่วนต่าง ๆ จำนวน 39 ชนิด เส้นขนที่รวบรวมจากคนและสัตว์ชนิดต่าง ๆ เช่น สุนัข นก หนู ค้างคาว แต่ละสายพันธุ์และแต่ละสีที่อาจปนเปื้อนจากกระบวนการผลิตหรือจากวัตถุดิบ โดยเก็บในรูปแบบทั้งเส้นขนอ่อนและขนแก่ จำนวน 30 ชนิด พยาธิและปรสิต ตั้งแต่ระยะไข่ ตัวอ่อน (metacercaria) และตัวเต็มวัย จำนวน 12 ชนิด ประเภทที่ 2 คือ พืชและเนื้อสัตว์สำหรับใช้

เปรียบเทียบโครงสร้างลักษณะสิ่งแปลกปลอมและกรณีร้องเรียนอาหารปลอมปน แบ่งเป็น กลุ่มที่ 1 โครงสร้างของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งในรูปแบบชิ้นส่วนของพืชสำหรับงานวิเคราะห์อาหารปลอมปน เช่น ผักชนิดต่าง ๆ สาหร่าย เป็นต้น และวัสดุแปรรูปจากพืชสำหรับงานวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอม เช่น ดอกหญ้าจากไม้กวาด ไม้เลียบลูกชิ้น และเปลือกไม้ เป็นต้น จำนวน 18 ชนิด และกลุ่มที่ 2 โครงสร้างของเนื้อสัตว์ทั้งในรูปแบบเนื้อสด ปรงสุก และแปรรูป เช่น เนื้อหมูสด หมูย่าง หมูหยิ่ง เป็นต้น สำหรับงานวิเคราะห์อาหารปลอมปน จำนวน 22 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายการสิ่งแปลกปลอมในอาหารที่รวบรวมได้ระหว่างปี พ.ศ. 2564–2566 จำนวน 143 ตัวอย่าง

ประเภท	กลุ่มตัวอย่าง	รูปแบบที่ใช้เป็นฐานข้อมูล	จำนวน (ชนิด)
วิเคราะห์สิ่งแปลกปลอม	ชิ้นส่วนวัสดุ	• จำนวนรวม	22
		• เศษพลาสติก	3
		• เส้นใย	15
		• กระดาษ	4
	แผลง	• จำนวนรวม	39
		• ระยะไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย	17
		• ทั้งตัวและเป็นชิ้นส่วนต่าง ๆ	22
	เส้นขน	• จำนวนรวม	30
		• ประเภทเส้นขนของคน และสัตว์ (สุนัข นก หนู ค้างคาว เป็นต้น)	
		• เส้นขนอ่อน	17
		• เส้นขนแก่	13
	พยาธิและปรสิต	• จำนวนรวม	12
		• ระยะไข่	4
		• ตัวอ่อน	2
		• ตัวเต็มวัย	6
วิเคราะห์อาหารปลอม	พืช	• ชิ้นส่วนของพืช	8
		• วัสดุแปรรูปจากพืช	10
	เนื้อสัตว์	• เนื้อสด	22
		• ปรงสุก	18
		• แปรรูป	4

การทวนสอบฐานข้อมูล

จากทวนสอบการใช้ฐานข้อมูล โดยการเติม spiked materials ที่เป็นเดิมขนอ่อนของหนูและปีกของตัวงวงทั้งในตัวอย่างแป้งข้าวเจ้าและมักกะโรนี พบว่า

นักวิเคราะห์ จำนวน 5 คน สามารถคัดแยกออกมาได้ถูกต้องตามจำนวนที่กำหนดคิดเป็น % Recovery เท่ากับร้อยละ 100 ทั้งสองตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการคัดแยก spiked materials ในตัวอย่างแป้งข้าวเจ้าและมักกะโรนี

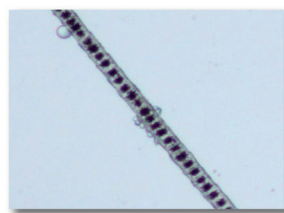
ชุดตัวอย่าง	นักวิเคราะห์	แป้งข้าวเจ้า		มักกะโรนี	
		ขนอ่อนของหนู	ปีกของด้วงงวง	ขนอ่อนของหนู	ปีกของด้วงงวง
		% Recovery	% Recovery	% Recovery	% Recovery
ชุดที่ 1 (เติมชนิดละ 5 ชิ้น)	คนที่ 1	100	100	100	100
	คนที่ 2	100	100	100	100
	คนที่ 3	100	100	100	100
	คนที่ 4	100	100	100	100
	คนที่ 5	100	100	100	100
ชุดที่ 2 (เติมชนิดละ 10 ชิ้น)	คนที่ 1	100	100	100	100
	คนที่ 2	100	100	100	100
	คนที่ 3	100	100	100	100
	คนที่ 4	100	100	100	100
	คนที่ 5	100	100	100	100

ผลวิเคราะห์และการใช้ฐานข้อมูล

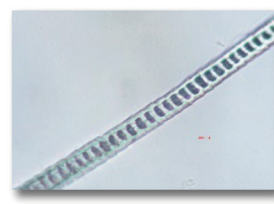
สำหรับการใช้ฐานข้อมูลในการจำแนกสิ่งแปลกปลอมในอาหาร พบว่านักวิเคราะห์ทุกคนสามารถใช้ภาพสิ่งแปลกปลอมจากฐานข้อมูลจำแนกสิ่งแปลกปลอมได้ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น ทำให้การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหารใช้เวลาวิเคราะห์เร็วขึ้น จากเดิมการตรวจวิเคราะห์เพื่อจำแนกสิ่งแปลกปลอมใช้เวลาในการหาข้อมูลหรือค้นหาภาพมาเปรียบเทียบอย่างน้อย 3-5 วัน เมื่อมีการนำฐานข้อมูลนี้มาใช้ พบว่าสามารถลดเวลาวิเคราะห์ลงเหลือ 1 วัน และสามารถแสดงรายละเอียดสิ่งแปลกปลอมที่พบตรงกับความต้องการของผู้ส่งตัวอย่าง เป็นประโยชน์ต่อผู้ประกอบการและผู้บริโภคที่สามารถนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาแก้ไขปัญหาที่พบ

ตัวอย่างการตรวจวิเคราะห์เพื่อจำแนกสิ่งแปลกปลอมในผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมอบกรอบ เมื่อนำมาวิเคราะห์หาสิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่า เบื้องต้นไม่พบ

สิ่งแปลกปลอมที่สามารถมองเห็นได้จึงได้นำมาวิเคราะห์โดยการย่อยตัวอย่างเพื่อหาสิ่งแปลกปลอมและส่งแปลกปลอมชนิดเบที่ปะปนในเนื้ออาหาร และใช้ parafin oil ในการดักจับสิ่งแปลกปลอมนั้น แล้วนำมากรองบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 8 นำมาดูลักษณะสิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้อง Widefield Zoom Stereo Microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า พบมีสิ่งแปลกปลอมลักษณะเป็นเส้นขนปะปน จึงนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound Microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อดูโครงสร้างเปรียบเทียบเส้นขนกับฐานข้อมูล จะเห็นว่าเส้นขนนั้นมีโครงสร้างคล้ายขนหนู ดังแสดงในภาพที่ 4 จากผลวิเคราะห์เห็นได้ว่าการปนเปื้อนของหนูที่เป็นเครื่องบ่งชี้ทางสุขลักษณะ ทำให้เกิดความเสี่ยงด้านสุขภาพและอนามัย ผู้ประกอบสามารถนำทวนสอบระบบการผลิตได้ว่า อาจเกิดจากปัญหาการควบคุมระบบปิดในการเก็บวัตถุดิบหรือการผลิตได้



(ก)

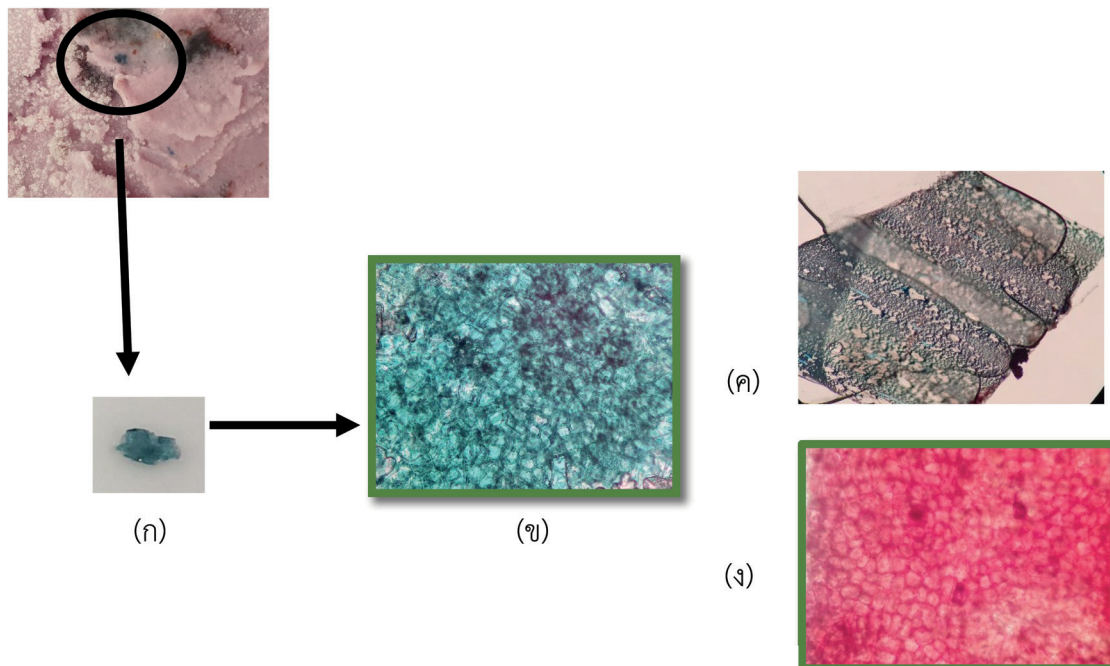


(ข)

ภาพที่ 4 เปรียบเทียบโครงสร้างของสิ่งแปลกปลอมระหว่าง (ก) โครงสร้างของสิ่งแปลกปลอมลักษณะเป็นเส้นขนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมอบกรอบ และ (ข) โครงสร้างของขนหนูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากฐานข้อมูลสิ่งแปลกปลอมที่จัดทำ

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไอศกรีมบลูเบอร์รี่ ผู้ส่งตัวอย่างสงสัยว่ามีการปนเปื้อนเศษพลาสติกสีฟ้า เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์หาสิ่งแปลกปลอมด้วยตาเปล่า พบวัตถุเป็นแผ่นสีฟ้าวัดขนาดได้ประมาณ 1 มิลลิเมตร ซึ่งตรงตามลักษณะที่สงสัย ได้นำสิ่งแปลกปลอมที่พบมาตรวจวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound Microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 5 เพื่อดูโครงสร้าง พบว่ามีการเรียงตัวของเซลล์พืช ซึ่งโดยปกติจะไม่พบการเรียงตัวของเซลล์ในพลาสติก เมื่อนำโครงสร้างที่พบเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่กำลังขยาย

400 เท่า เห็นได้ว่ามีโครงสร้างไม่ตรงกันทำให้เห็นชัดเจนมากขึ้นว่าไม่ใช่เศษพลาสติกตามที่สงสัย เพื่อแก้ข้อสงสัยจึงได้นำโครงสร้างของผลบลูเบอร์รี่มาเปรียบเทียบกับว่ามีโครงสร้างการจัดเรียงของเซลล์พืชที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นสิ่งแปลกปลอมที่พบในตัวอย่างไอศกรีม คือ เศษของผลบลูเบอร์รี่ที่ลักษณะทางกายภาพมีความแตกต่างกันตามธรรมชาติ ผลวิเคราะห์ที่ได้นี้จึงสามารถจึงช่วยยืนยันความปลอดภัยในอาหารและสร้างความเชื่อมั่นให้ผู้ประกอบการได้



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบระหว่าง (ก) สิ่งแปลกปลอมที่พบด้วยตาเปล่ามีลักษณะคล้ายเศษพลาสติกสีฟ้าที่พบในไอศกรีม และ (ข) โครงสร้างของสิ่งแปลกปลอมที่พบในไอศกรีมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กับ (ค) โครงสร้างของพลาสติกภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากฐานข้อมูลสิ่งแปลกปลอม และ (ง) โครงสร้างของผลบลูเบอร์รี่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากฐานข้อมูลสิ่งแปลกปลอม

วิจารณ์

ห้องปฏิบัติการกายภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้จัดทำฐานข้อมูลสิ่งแปลกปลอม ซึ่งช่วยให้เจ้าหน้าที่จำแนกชนิดสิ่งแปลกปลอมได้สะดวกมากขึ้น ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นลง ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเมื่อมีการเปรียบเทียบสิ่งแปลกปลอมที่พบกับฐานข้อมูล ทำให้เห็นภาพชัดเจนสามารถจำแนกชนิดสิ่งแปลกปลอมได้ง่ายและมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ช่วยให้ทราบชนิดที่แท้จริงของสิ่งแปลกปลอมที่พบ เนื่องจากการปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอม

แต่ละชนิดมีสาเหตุการปนเปื้อนและการแก้ไขปัญหาที่แตกต่างกันไป เช่น การพบแมลงในอาหาร อาจเกิดจากการปนเปื้อนของแมลงพาหะเนื่องจากมีระบบการควบคุมแมลงพาหะไม่ดี หากเป็นแมลงศัตรูพืชที่มากับวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีการล้างทำความสะอาดไม่ดีเพียงพอ หรือการพบเส้นขน เส้นขนของคนอาจเกิดจากการแต่งกายป้องกันการปนเปื้อนไม่เหมาะสม ขาดขั้นตอนการทำความสะอาดตัวเองก่อนเข้าพื้นที่การผลิต หากเป็นเส้นขนของสัตว์อาจเกิดจากระบบควบคุมสัตว์พาหะไม่เหมาะสม โดยเฉพาะขนหนูตามมาตรฐานขององค์การ

อาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration) ระบุเกณฑ์มาตรฐานการพบขุ่นขึ้นอยู่กับแต่ละผลิตภัณฑ์⁽³⁾ เช่น ผลิตภัณฑ์ Alimentary Pastes ต้องพบขุ่นไม่เกิน 4.5 เส้น หากตรวจวิเคราะห์แล้วพบว่าไม่ผ่านมาตรฐานจะส่งผลต่อการส่งออกสินค้าไปต่างประเทศ ซึ่งการแก้ไขปัญหานั้นที่ถูกต้องจะช่วยให้สามารถลดเวลาและค่าใช้จ่ายในการควบคุมดูแลกระบวนการผลิตได้

เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้ฐานข้อมูลกับวิธีจำแนกแบบเดิมตามคู่มือการวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหาร⁽¹⁰⁾ พบว่าสามารถใช้เวลาได้เร็วขึ้น ใช้งานง่าย และชัดเจนกว่าวิธีเก่าที่เน้นการใช้ประสบการณ์มากกว่า แต่เนื่องจากฐานข้อมูลตอนนี้เป็นการรวบรวมตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการการผลิตจึงมีลักษณะที่ยังสมบูรณ์ แต่สิ่งแปลกปลอมที่พบจริงในอาหารจะผ่านกระบวนการ เช่น การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงหรือการปั่นผสมทำให้มีลักษณะเป็นเศษเล็กไม่สมบูรณ์ ดังนั้นในอนาคตจะทำการรวบรวมและจัดทำฐานข้อมูลรูปภาพโครงสร้างของสิ่งที่สามารถปนเปื้อนในอาหารที่ผ่านกระบวนการผลิตจริงต่อไป

สรุป

การจัดทำฐานข้อมูลสิ่งแปลกปลอมโดยรวบรวมข้อมูลตัวอย่างสิ่งแปลกปลอมที่สามารถพบได้ในอาหารจำนวน 143 ตัวอย่าง สามารถช่วยให้การจำแนกชนิดของสิ่งแปลกปลอมง่ายขึ้น ถูกต้อง และใช้เวลาในการวิเคราะห์เร็วขึ้น จากการทวนสอบฐานข้อมูลโดยให้ผู้วิเคราะห์ศึกษาลักษณะของ spiked materials จากฐานข้อมูลแล้วคัดแยก spiked materials ออกจากตัวอย่างอาหาร 2 ตัวอย่าง ผู้วิเคราะห์สามารถคัดแยกได้อย่างถูกต้องตามจำนวนที่กำหนดคิดเป็น % Recovery ร้อยละ 100 ทั้ง 2 ตัวอย่างอาหาร เมื่อนำฐานข้อมูลมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างอาหารและเครื่องดื่ม พบว่าจากเดิมที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์อย่างน้อย 3 – 5 วัน สามารถลดเวลาวิเคราะห์ลงเหลือ 1 วันได้ และสามารถระบุรายละเอียดชนิดของสิ่งแปลกปลอมที่พบในอาหารทำให้มีความชัดเจนมากขึ้น ทำให้ผู้ประกอบการสามารถนำผลวิเคราะห์ไปใช้ในการปรับปรุงกระบวนการผลิตได้ถูกต้อง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ถูกต้องลักษณะตามมาตรฐาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางจำปา เปลี่ยนกลิ่น พนักงานประจำห้องทดลอง ห้องปฏิบัติการกายภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยจัดเตรียมตัวอย่างวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตและสิ่งที่มีโอกาสปนเปื้อนในอาหารในการจัดทำฐานข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

1. นงนุช เมธิยนต์พิริยะ. วศ. กับความปลอดภัยทางอาหาร. ว กรมวิทยาศาสตร์บริการ [วารสารออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 22 ก.ค. 2567]; 62(195): [3 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2557_62_195_P8-10.pdf.
2. สุคันธา โอศิริพันธุ์. อันตรายทางกายภาพในอาหาร. ว วิทยาศาสตร์บูรพา 2561; 23(1): 237-246.
3. Food defect action levels: levels of natural or unavoidable defects in foods that present no health hazards for humans. Washington, DC: Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition; 1995.
4. Whitlock LL, Chapter editor. Chapter 16, Extraneous materials: isolation. In: Latimer GW, editor. Official methods of analysis of AOAC International. 21st ed. Gaithersburg, MD: AOAC International; 2019.
5. บังอร บุญชู, นิภาพร ชนะคช, กมลกาญจน์ จิณกาญจน์. ระวังอาหารปลอม. ว กรมวิทยาศาสตร์บริการ [วารสารออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 22 ก.ค. 2567]; 62(194): [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2557_62_194_P7-9.pdf.
6. กองอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. การตรวจสอบสถานที่ผลิตอาหารตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตที่บังคับใช้เป็นกฎหมาย (GMP 420). กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2564
7. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับปรับปรุงปี 2556). กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา; 2556.

8. ชันทอง เพ็ชรนอก. การตรวจสอบการปลอมและการปนเปื้อนทางกายภาพของอาหาร ระหว่างปี พ.ศ. 2552-2563. ว กรรมวิทย์ พ [วารสารออนไลน์]. 2565; [สืบค้น 22 ก.ค. 2567]; 64(3): [15 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/dmasc/article/view/255192/177194>.
9. ชันทอง เพ็ชรนอก. การตรวจสอบสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตรที่ส่งออก ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2560. ว กรรมวิทย์ พ [วารสารออนไลน์]. 2565; [สืบค้น 22 ก.ค. 2567]; 64(3): [15 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/dmasc/article/view/256039/177195>.
10. ทนงพันธ์ สัจจปาละ. คู่มือการวิเคราะห์ Light Filth. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2557

Development for Filth Identification in Food and Database Preparation

Ananya Yingjaroentana, Vanida Yurayart, Pondnapa Netchularrat,
Prapassara Butprom, and Tiwa Keanwong

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

ABSTRACT Physical foreign matter contamination in food can occur at any stage of the production process, originating from personnel, equipment, tools, facilities, or the environment. Due to its heterogeneous nature, physical contaminants are often difficult to identify. To enhance the analytical capabilities of laboratory personnel and reduce processing time, a comprehensive database was developed, focusing on various types of foreign matter groups, including light filth contaminants. Between 2021 and 2023, a total of 143 distinct foreign matter types were collected, imaged, and categorized into groups, including material fragments, insects, hair, parasites, plants, and animal components. To validate the effectiveness of this system, five laboratory analysts used the database to analyze spiked rat hair and elytra in both rice flour and macaroni samples. The test was conducted twice: firstly with 5 rat hairs and 5 elytra, and secondly with 10 of each. The results showed a 100% accuracy in detecting and identifying the contaminants. This method significantly improved analysis efficiency and clarity, eliminating the need for external references such as picture books. It may also enable more accurate and timely responses to physical contamination issues during food production.

Keywords: Foreign matters in food, Physical contamination in food, Analysis for filth in food, Identification of filth in food

การวิเคราะห์ข้อบกพร่องตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ของห้องปฏิบัติการทดสอบ เปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการให้การรับรอง ในปี พ.ศ. 2564 และ 2566

เสาวนีย์ อารมย์สุข¹ ธนวัฒน์ ศรีตาพันธ์¹ และ สิริพรรณ แสงอรุณ²

¹สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

²สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์จำนวนและประเภทของข้อบกพร่อง (Nonconformities; NCs) ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ของห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขที่ยื่นขอรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยเปรียบเทียบผลการตรวจประเมินก่อนให้การรับรองในปี พ.ศ. 2564 กับผลการตรวจประเมินในปี พ.ศ. 2566 การศึกษาใช้ข้อมูลทุติยภูมิจากรายงานการตรวจประเมินของห้องปฏิบัติการ 138 แห่ง แบ่งเป็น หน่วยงานภาครัฐ 37 แห่ง และภาคเอกชน 101 แห่ง วิเคราะห์ข้อมูลตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ได้แก่ ข้อ 4 ข้อกำหนดทั่วไป ข้อ 5 ข้อกำหนดด้านโครงสร้าง ข้อ 6 ข้อกำหนดด้านทรัพยากร ข้อ 7 ข้อกำหนดด้านกระบวนการ และข้อ 8 ข้อกำหนดด้านระบบการบริหาร ผลการศึกษาพบว่าจำนวนข้อบกพร่องรวม (total NCs) และข้อบกพร่องแบบรุนแรง (major NCs) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายหลังการรับรองมาตรฐาน ($X^2 = 19.487$, $p < 0.001$ และ $X^2 = 9.635$, $p = 0.047$) ตามลำดับ โดยข้อบกพร่องในข้อกำหนดด้านกระบวนการ (ข้อ 7) พบมากที่สุด จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่ากลไกการรับรองมาตรฐานช่วยยกระดับคุณภาพของห้องปฏิบัติการ ช่วยให้ห้องปฏิบัติการปรับปรุงคุณภาพอย่างต่อเนื่องให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล และลดจำนวนข้อบกพร่องที่อาจมีผลกระทบต่อความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของผลการตรวจวิเคราะห์ การดำเนินงานของหน่วยรับรองและการตรวจประเมินอย่างต่อเนื่อง มีบทบาทสำคัญต่อการรักษามาตรฐานคุณภาพและการพัฒนาอย่างยั่งยืนของห้องปฏิบัติการทดสอบในประเทศไทย

คำสำคัญ: ISO/IEC 17025:2017, ข้อบกพร่อง, ห้องปฏิบัติการทดสอบ

Corresponding author E-mail: soavane.a@dmsc.mail.go.th

Received: 19 March 2025

Revised: 16 July 2025

Accepted: 13 August 2025

บทนำ

การรับรองระบบงาน (Accreditation) หมายถึง กระบวนการรับรองหรือประกาศอย่างเป็นทางการ โดยหน่วยงานอิสระ (Accreditation Body; AB) ว่า หน่วยตรวจสอบและรับรอง (Conformity Assessment Body; CAB) มีความสามารถในการดำเนินการตรวจสอบและรับรองหรือให้บริการทดสอบ/สอบเทียบได้ตาม มาตรฐานที่กำหนด โดยพิจารณาว่าหน่วยตรวจสอบและรับรองนั้นสามารถดำเนินการตามข้อกำหนดในการรับรองระบบงานหรือไม่⁽¹⁾ การรับรองระบบงานในประเทศไทยเป็นหนึ่งในห้าด้านของโครงสร้างพื้นฐานทางคุณภาพของประเทศหรือ National Quality Infrastructure; NQI⁽²⁾ โดยเป็นกลุ่มแกนที่มีการเชื่อมโยงในระดับนานาชาติที่ต้องดำเนินการให้สอดคล้องประสานกัน เพื่อสร้างการยอมรับร่วมกันระหว่างประเทศสมาชิก ได้แก่ มาตรวิทยา (Metrology) การกำหนดมาตรฐาน (Standardization) และการรับรองระบบงาน (Accreditation) ทั้งสามแกนหลักมีความสำคัญแตกต่างกันตามบริบทของบทบาทหน้าที่ โดยการรับรองระบบงานเน้นในการผลักดันให้เกิดการยอมรับผลิตภัณฑ์และบริการข้ามพรมแดน ส่งผลให้เกิดการยกเลิกกำแพงการค้า โดยมีหน่วยรับรองนานาชาติ ได้แก่ International Accreditation Forum (IAF) รับผิดชอบบริหารข้อตกลงเกี่ยวกับการรับรองระบบบริหาร ผลิตภัณฑ์ บริการ บุคลากร และโปรแกรมอื่นๆ ที่เกี่ยวกับการตรวจสอบและรับรอง ส่วน International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) รับผิดชอบบริหารข้อตกลงเกี่ยวกับการรับรองระบบงานห้องปฏิบัติการและหน่วยตรวจ⁽³⁾

กลไกการรับรองระบบงานที่มีประสิทธิภาพจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการดำเนินการ ทั้งในส่วนของภาครัฐที่จะใช้กลไกการรับรองระบบงานเป็นกรอบที่เข้มแข็งและน่าเชื่อถือในการเจรจาทางการค้าระหว่างรัฐต่อรัฐ (Government-to-Government)⁽⁴⁾ นอกจากนี้กลไกการรับรองระบบงานยังถูกใช้เป็นข้อกำหนดขั้นต่ำในการยอมรับผลการตรวจสอบและรับรองระหว่างประเทศต่างๆ หรือหน่วยงานกำกับดูแลสามารถใช้กลไกการรับรองระบบงานไปใช้ในการรับรอง

ของบริการการตรวจสอบและรับรองในระดับสากล เพื่อแสดงให้เห็นว่าสินค้าเป็นไปตามข้อกำหนดทางเทคนิคและมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ซึ่งการมีกลไกการรับรองระบบงานที่น่าเชื่อถือจะช่วยพัฒนาให้สินค้าเป็นไปตามมาตรฐานสากลได้ รวมถึงมีส่วนช่วยหน่วยงานกำกับดูแลในการปฏิบัติตามหน้าที่ที่กฎหมายกำหนดอีกด้วย ส่วนภาคธุรกิจจะเห็นผลลัพธ์ได้อย่างชัดเจนว่าผลิตภัณฑ์และบริการของผู้ประกอบการมีความน่าเชื่อถือ โดยผ่านการตรวจสอบและรับรองโดยหน่วยตรวจสอบและรับรอง รวมถึงผู้ประกอบการสามารถเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากผู้ผ่านกลไกการรับรองระบบงานแล้ว

การประกอบธุรกิจในตลาดการค้าเสรีที่มีการแข่งขันสูงทั้งด้านราคาและด้านคุณภาพ หากผู้ประกอบการต้องการสร้างโอกาสทางการแข่งขันให้เกิดขึ้นด้วยการเพิ่มคุณภาพสินค้าและบริการ นอกจากจะตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคแล้ว ยังเป็นการเพิ่มโอกาสทางธุรกิจ สร้างภาพลักษณ์ที่ดี เกิดความน่าเชื่อถือกลไกที่สำคัญมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในฐานะหน่วยรับรองของประเทศ ในการให้การรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17011:2017⁽³⁾ ของประเทศ มีอำนาจหน้าที่ตามมาตรา 13 และมาตรา 30 แห่งพระราชบัญญัติการมาตรฐานแห่งชาติ พ.ศ. 2551⁽⁵⁾ ในการให้การรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ให้กับห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชนในขอบข่ายผลิตภัณฑ์สุขภาพ นอกจากนี้ยังเป็นสมาชิกสามัญและลงนามความร่วมมือระหว่างประเทศ (Mutual Recognition Arrangement) กับ Asia Pacific Accreditation Cooperation (APAC) และ International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) ซึ่งเป็นกลไกระหว่างประเทศที่ส่งเสริมการยอมรับผลการรับรองในระดับสากล โดยประเทศไทยได้รับการยอมรับจาก APAC ในด้านการรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025⁽⁶⁾ ตั้งแต่วันที่ 14 พฤศจิกายน พ.ศ. 2545 มาตรฐาน ISO 15189 วันที่ 18 เมษายน พ.ศ. 2550 และ ISO 17034 วันที่ 17 มิถุนายน พ.ศ. 2558 รวมถึงได้รับการยอมรับจาก ILAC ในด้าน

การรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025 และ ISO 15189 ตั้งแต่วันที่ 4 เมษายน พ.ศ. 2546 และมาตรฐาน ISO 17034 ตั้งแต่วันที่ 21 กันยายน พ.ศ. 2563⁽⁷⁾

สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทำการตรวจประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการด้านสาธารณสุขที่ให้บริการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ ได้แก่ อาหาร ยา วัตถุเสพติด เครื่องสำอาง สมุนไพร วัตถุอันตรายที่ใช้ทางสาธารณสุข ชีววัตถุ เครื่องมือแพทย์ รังสี และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ เพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคจากห้องปฏิบัติการที่สมัครใจยื่นขอรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ เพื่อควบคุมกิจกรรมในระบบคุณภาพให้มีผลลัพธ์อยู่ในเกณฑ์ตามที่กำหนดไว้โดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ จะดำเนินการเรียกเอกสารที่เกี่ยวข้องกับระบบคุณภาพจากห้องปฏิบัติการที่ยื่นขอการรับรองอย่างเป็นระบบ ความเป็นอิสระ และเป็นลายลักษณ์อักษร จากนั้นทำการแต่งตั้งผู้ตรวจประเมินที่มีความรู้ความสามารถ และไม่เป็นผู้ที่มีส่วนได้ส่วนเสียกับห้องปฏิบัติการ ไปทำการตรวจประเมิน ณ ห้องปฏิบัติการโดยตรง (onsite assessment) คณะผู้ตรวจประเมินจะทำการวิเคราะห์ข้อบกพร่องที่ไม่ตรงตามระบบคุณภาพที่วางไว้ อันจะส่งผลกระทบต่อความถูกต้องและความเชื่อมั่นของผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และแจ้งให้ห้องปฏิบัติการดำเนินการแก้ไขข้อบกพร่องอย่างเป็นระบบ และเสนอแนวทางป้องกันให้แล้วเสร็จ เพื่อให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ที่ห้องปฏิบัติการตั้งไว้ การตรวจประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นต้องดำเนินการอย่างต่อเนื่อง มีการตรวจเฝ้าระวังภายใน 2 ปีถัดมาสำหรับการต่ออายุการรับรอง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อบกพร่องจากรายงานการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ที่ได้รับการรับรองจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยเปรียบเทียบระหว่างการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 กับการตรวจประเมินเพื่อเฝ้าระวังในปี พ.ศ. 2566 เพื่อประเมินแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพหลังจากได้รับการรับรองมาตรฐานดังกล่าว

วัสดุและวิธีการ

การรวบรวมข้อมูล

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนา (Descriptive Research) โดยใช้รูปแบบการศึกษาเฉพาะกรณีทำการเก็บรวบรวมข้อมูลทุติยภูมิเกี่ยวกับจำนวนและประเภทของข้อบกพร่อง (NCs) ที่ตรวจพบจากการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ซึ่งได้ยื่นขอรับรองจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จากห้องปฏิบัติการ จำนวน 138 แห่ง แบ่งเป็น หน่วยงานภาครัฐ จำนวน 37 แห่ง และภาคเอกชน จำนวน 101 แห่ง โดยการวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อบกพร่องที่ตรวจพบจากการประเมินก่อนการได้รับการรับรอง (Pre-accreditation Audit) ในปี พ.ศ. 2564 กับข้อบกพร่องที่ตรวจพบจากการประเมินหลังได้รับการรับรอง (Post-accreditation Audit) ในปี พ.ศ. 2566 เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงด้านจำนวนและประเภทของข้อบกพร่อง ตลอดจนประสิทธิผลของกระบวนการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ที่มีต่อการยกระดับสมรรถนะของห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข การวิเคราะห์ครอบคลุมข้อกำหนดทุกหมวดในมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ได้แก่ หมวดที่ 4 ข้อกำหนดทั่วไป (General Requirements) หมวดที่ 5 ข้อกำหนดด้านโครงสร้าง (Structural Requirements) หมวดที่ 6 ข้อกำหนดด้านทรัพยากร (Resource Requirements) หมวดที่ 7 ข้อกำหนดด้านกระบวนการ (Process Requirements) และหมวดที่ 8 ข้อกำหนดด้านระบบการบริหาร (Management System Requirements)

ข้อบกพร่องที่พบจากการตรวจประเมินตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ได้ถูกจำแนกออกเป็น 2 ประเภทหลัก ตามรหัสการรายงาน ประกอบด้วย รหัส C คือ ข้อบกพร่องที่เป็นเงื่อนไข (Condition - C) หมายถึง ข้อบกพร่องที่ส่งผลกระทบต่อการทำงานหรือระบบคุณภาพอย่างมีนัยสำคัญ อันอาจทำให้ผลการทดสอบขาดความน่าเชื่อถือหรือไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐาน รหัส O คือ ข้อสังเกต (Observation - O) หมายถึง ข้อเสนอแนะหรือประเด็นที่อาจก่อให้เกิดปัญหา

ในอนาคต หรือเป็นข้อสังเกตจากผู้ตรวจประเมินที่พบว่าอาจยังไม่เป็นไปตามเจตนารมณ์ของข้อกำหนด เป็นประเด็นที่ควรได้รับการปรับปรุงเพื่อป้องกันการเกิดข้อบกพร่องในอนาคต โดยข้อบกพร่องรวม (Total nonconformities; Total NCs) หมายถึง การรวมทั้งรหัส C และรหัส O ขณะที่ข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major NCs) จะพิจารณาเฉพาะรหัส C เท่านั้น

วิเคราะห์ข้อมูล

ประเภทของข้อบกพร่อง แบ่งออกเป็น ข้อบกพร่องรวม (Total NCs) ข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major Nonconformities; Major NCs) คือ มีผลกระทบต่อระบบคุณภาพที่จะทำให้ระบบนั้นล้มเหลว/กระทบต่อความถูกต้องของผลการทดสอบ และข้อบกพร่องแบบไม่รุนแรง (Minor Nonconformities; Minor NCs) คือ ไม่ส่งผลกระทบรุนแรงต่อระบบคุณภาพ ซึ่งไม่มีผลทำให้ระบบนั้นล้มเหลวหรือกระทบต่อผลการทดสอบ แต่หากปล่อยไว้อาจนำมาซึ่งความเสียหายได้ภายหลัง นำเสนอข้อมูลจำนวนข้อบกพร่องด้วยค่าความถี่ ร้อยละ (จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนด/จำนวนข้อบกพร่องรวมทั้งหมด $\times 100$) และทำการวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์ด้วยการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ด้วย SPSS Software (Version 29, SPSS Inc., USA)

การดำเนินการวิจัย ประกอบด้วย 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ศึกษาจำนวนข้อบกพร่องรวม (Total NCs) ที่ตรวจพบจากห้องปฏิบัติการในช่วงก่อนการรับรอง (ปี พ.ศ. 2564) และหลังการรับรอง (ปี พ.ศ. 2566)

ส่วนที่ 2 ศึกษาจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major NCs) ที่ตรวจพบในช่วงก่อนและหลังการรับรองจากห้องปฏิบัติการเดียวกัน

ส่วนที่ 3 ศึกษาจำนวนข้อบกพร่องรวม (Total NCs) เฉพาะข้อที่ 7 ข้อกำหนดด้านกระบวนการ เปรียบเทียบจำนวนและประเภทของข้อบกพร่องที่ตรวจพบก่อนและหลังการได้รับการรับรอง

ในการดำเนินการวิจัยผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลและนำเสนอข้อมูลโดยไม่ให้เชื่อมโยงข้อมูลกับห้องปฏิบัติการใดๆ ได้โดยตรง เพื่อรักษาความลับของห้องปฏิบัติการ

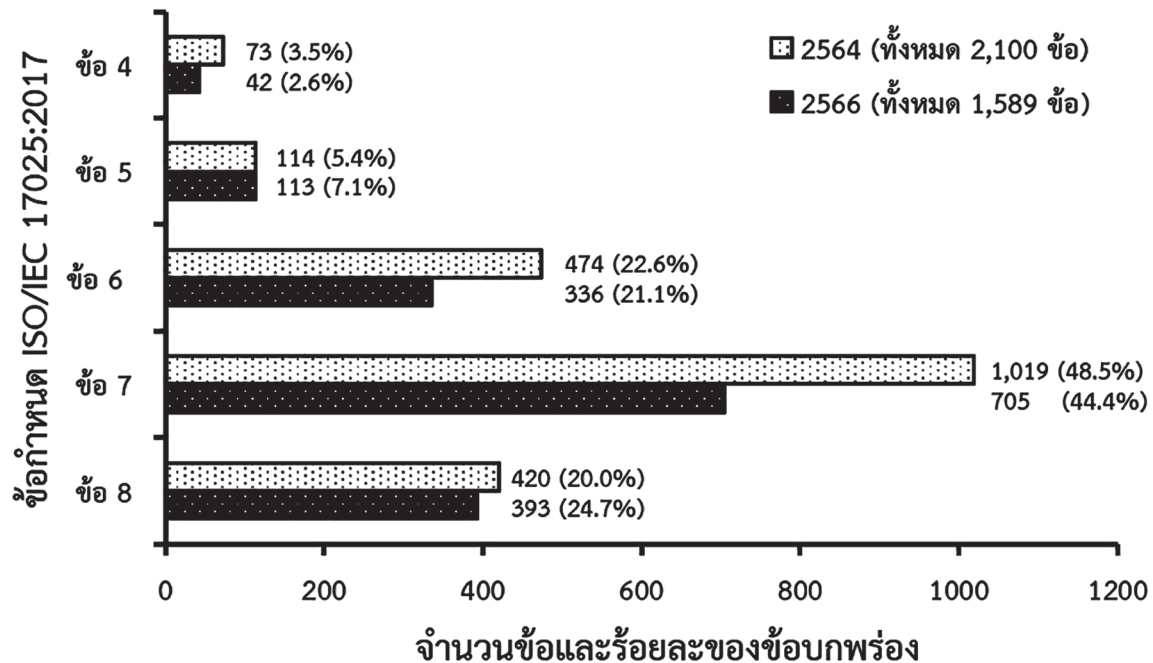
ผล

จากการตรวจประเมินรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ห้องปฏิบัติการ จำนวน 138 แห่ง แบ่งเป็น หน่วยงานภาครัฐ จำนวน 37 แห่ง ซึ่งมีจำนวนรายการทดสอบอยู่ในช่วง 1-245 รายการ (ค่านิยาม) และภาคเอกชน จำนวน 101 แห่ง มีจำนวนรายการทดสอบอยู่ในช่วง 1-2,692 รายการ ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลข้อบกพร่องซึ่งเป็นจำนวนรวมจากทุกห้องปฏิบัติการ 138 แห่ง ที่เป็นห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ซึ่งได้รับการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 และได้รับการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังหลังการรับรองในปี พ.ศ. 2566 พบว่าในปี พ.ศ. 2564 (ก่อนการรับรอง) ตรวจพบข้อบกพร่องรวมทั้งสิ้น 2,100 ข้อ ขณะที่ในปี พ.ศ. 2566 (หลังการรับรอง) ตรวจพบข้อบกพร่องรวม 1,589 ข้อ เมื่อจำแนกตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 พบว่าข้อ 7 ข้อกำหนดด้านกระบวนการ (Process Requirements) เป็นหมวดที่พบข้อบกพร่องมากที่สุดในทั้งสองช่วงเวลา คือ ปี พ.ศ. 2564 พบจำนวน 1,019 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 48.5 ขณะที่ในปี พ.ศ. 2566 พบจำนวน 705 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 44.4 ตามลำดับ รองลงมาเป็นข้อบกพร่องในข้อ 8 ข้อกำหนดด้านระบบการบริหาร, ข้อ 6 ข้อกำหนดด้านทรัพยากร, ข้อ 5 ข้อกำหนดด้านโครงสร้าง และข้อ 4 ข้อกำหนดทั่วไปตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติเมื่อเปรียบเทียบจำนวนข้อบกพร่องรายข้อในแต่ละข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 และการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังหลังการรับรองในปี พ.ศ. 2566 อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจำนวนข้อบกพร่องรวม (Total NCs) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($X^2 = 19.487, p < 0.001$) โดยจำนวนข้อบกพร่องในการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังในปี พ.ศ. 2566 มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน

เมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มการลดลงของจำนวนข้อบกพร่องรวม

หลังการได้รับการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017



ภาพที่ 1 จำนวนข้อบกพร่องรวม (Total NCs) จากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ของห้องปฏิบัติการ 138 แห่ง ที่ได้รับการตรวจก่อนให้การรับรอง (ปี พ.ศ. 2564) และการตรวจเฝ้าระวังหลังการให้การรับรอง (ปี พ.ศ. 2566)

ผลการศึกษาจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major NCs) พบว่าในปี พ.ศ. 2564 ตรวจพบข้อบกพร่องแบบรุนแรงรวมทั้งสิ้น 1,089 ข้อ ขณะที่ในปี พ.ศ. 2566 ตรวจพบลดลงเหลือ 830 ข้อ เมื่อจำแนกตามหมวดหมู่ของข้อกำหนดในมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 พบว่าข้อกำหนดข้อ 7 เป็นหมวดที่มีข้อบกพร่องแบบรุนแรงมากที่สุดในทั้งสองช่วงเวลา โดยในปี พ.ศ. 2564 พบจำนวน 570 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 52.3 และในปี พ.ศ. 2566 พบจำนวน 403 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 48.5 รองลงมา ได้แก่ ข้อ 6, ข้อ 8, ข้อ 5 และข้อ 4 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2

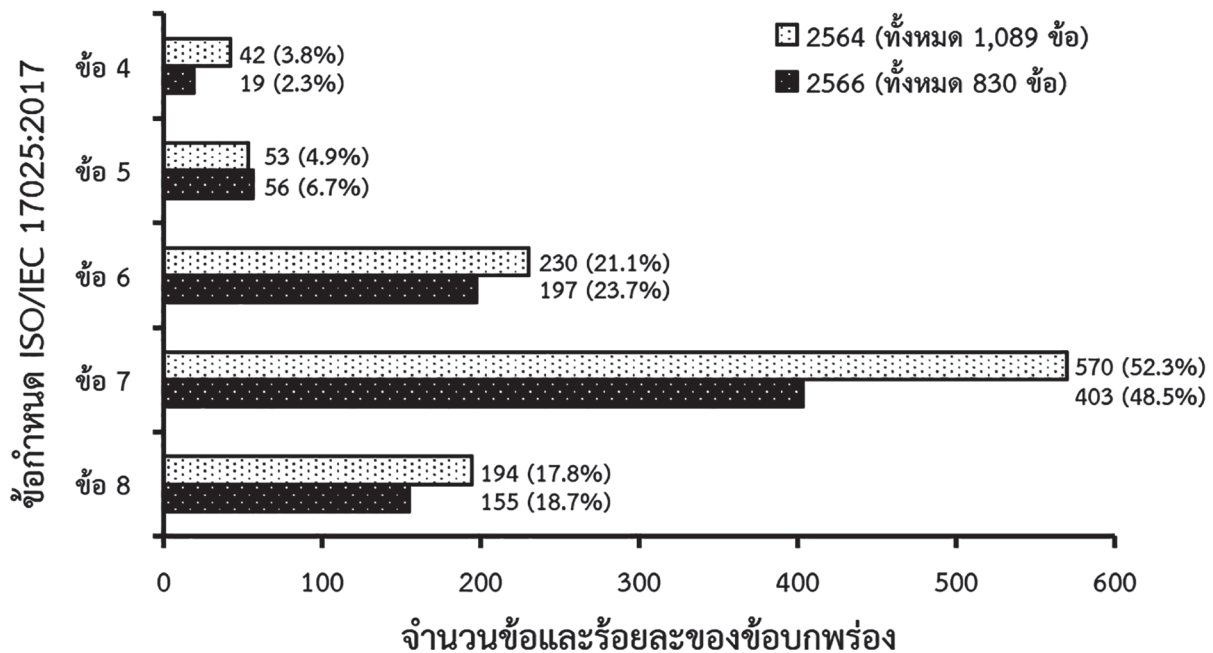
จากการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติเพื่อเปรียบเทียบจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงรายข้อ ภายใต้ข้อกำหนดแต่ละข้อของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ระหว่างการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 และการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังหลังการรับรองในปี

พ.ศ. 2566 พบว่าจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงรายข้อในแต่ละข้อกำหนดของมาตรฐาน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสองช่วงเวลา อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงทั้งหมด พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($X^2=9.635, p=0.0047$) โดยผลการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังในปี พ.ศ. 2566 แสดงให้เห็นว่าจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564

จากการวิเคราะห์ข้อบกพร่องรวม (Total NCs) และข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major NCs) พบว่าข้อ 7 ข้อกำหนดด้านกระบวนการ (Process Requirements) คือ ข้อที่พบสูงสุดทั้งสองช่วงเวลา เนื่องจากข้อ 7 คือ ข้อกำหนดที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับกิจกรรมของห้องปฏิบัติการ (Laboratory Activities) ตามที่ข้อกำหนดๆ ไว้นั้น

คือ การรับตัวอย่าง การทดสอบ และการรายงานผล ข้อบกพร่องที่พบรองลงมา คือ ข้อ 6 ข้อกำหนดด้านทรัพยากร (Resource Requirements) เนื่องจากข้อกำหนดข้อนี้กล่าวถึงทรัพยากรที่สำคัญที่จะสนับสนุนให้กิจกรรมของห้องปฏิบัติการเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์

ทั้งคน สถานที่ และภาวะแวดล้อม เครื่องมือ เป็นต้น โดยเฉพาะเรื่องของคน เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงบุคลากรที่สำคัญในกิจกรรมของห้องปฏิบัติการ ย่อมส่งผลกระทบต่อการทำงานของห้องปฏิบัติการไม่มากนัก



ภาพที่ 2 จำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major NCs) จากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ของห้องปฏิบัติการ 138 แห่ง ในปี พ.ศ. 2564 เปรียบเทียบกับ พ.ศ. 2566

ผลการศึกษาในส่วนที่ 3 ดังแสดงในตารางที่ 1 ข้อบกพร่องตามข้อกำหนดข้อ 7 ด้านกระบวนการ (Process Requirements) ของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 พบว่าเป็นหมวดที่มีจำนวนข้อบกพร่องมากที่สุดทั้งในช่วงก่อนการรับรอง (ปี พ.ศ. 2564) และภายหลังการรับรอง (ปี พ.ศ. 2566) ดังนั้นจึงได้ดำเนินการวิเคราะห์รายละเอียดเพิ่มเติมในข้อกำหนดนี้ ข้อกำหนดข้อ 7 ประกอบด้วย 11 ข้อย่อย ดังแสดงในตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ พบว่าปี พ.ศ. 2564 ตรวจพบจำนวนข้อ NCs รวม 1,019 ข้อ ขณะที่ในปี พ.ศ. 2566 ตรวจพบ จำนวน 705 ข้อ เมื่อตรวจสอบในระดับรายข้อย่อย พบว่าข้อ 7.2 การคัดเลือก การทวนสอบ และการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีเป็นข้อที่มีจำนวนข้อบกพร่องมากที่สุด โดยในปี พ.ศ. 2564 พบจำนวน 319 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 31.3 และในปี พ.ศ. 2566 พบจำนวน 229 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 32.5 ขณะที่ ข้อ 7.3

การชักตัวอย่าง เป็นข้อบกพร่องที่พบน้อยที่สุด โดยในปี พ.ศ. 2564 พบจำนวน 3 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 0.29 และในปี พ.ศ. 2566 พบจำนวน 2 ข้อ คิดเป็นร้อยละ 0.3 นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square Test) เพื่อเปรียบเทียบจำนวนข้อบกพร่องที่อยู่ภายใต้ข้อกำหนดด้านกระบวนการ (ข้อ 7) ของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ระหว่างการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 และการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังในปี พ.ศ. 2566 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($X^2 = 12.731, p = 0.239$) แม้ว่าจำนวนข้อบกพร่องรวมในข้อ 7 มีแนวโน้มลดลงจาก 1,019 ข้อ ในปี พ.ศ. 2564 เหลือ 705 ข้อ ในปี พ.ศ. 2566 แต่การลดลงดังกล่าวไม่อยู่ในระดับที่มีนัยสำคัญทางสถิติตามเกณฑ์ที่กำหนด ($p < 0.05$)

ตารางที่ 1 จำนวนข้อบกพร่องข้อที่ 7 ข้อกำหนดด้านกระบวนการ จากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 จำนวน 138 แห่ง ในปี พ.ศ. 2564 และ พ.ศ. 2566

ข้อ	ISO/IEC 17025:2017 ข้อที่ 7 ด้านกระบวนการ	จำนวนข้อบกพร่อง (ร้อยละ)			
		ปี 2564		ปี 2566	
7.1	การทบทวนคำขอ การประเมินและสัญญา	85	(8.3)	40	(5.7)
7.2	การคัดเลือก การทวนสอบและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี	319	(31.3)	229	(32.5)
7.3	การชักตัวอย่าง	3	(0.3)	2	(0.3)
7.4	การจัดการตัวอย่างทดสอบหรือสอบเทียบ	95	(9.3)	68	(9.6)
7.5	บันทึกด้านวิชาการ	81	(7.9)	63	(8.9)
7.6	การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด	84	(8.2)	65	(9.2)
7.7	การประกันความถูกต้องของผลการทดสอบ	113	(11.1)	99	(14.0)
7.8	การรายงานผล	138	(13.5)	76	(10.8)
7.9	ข้อร้องเรียน	29	(2.8)	13	(1.8)
7.10	งานที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดและ/หรือ สอบเทียบที่ไม่เป็นไปตามที่กำหนด	39	(3.8)	26	(3.7)
7.11	การควบคุมข้อมูลและการจัดการสารสนเทศ	33	(3.2)	24	(3.4)
รวมทั้งหมด		1,019	(100)	705	(100)

วิจารณ์

การรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เป็นการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการที่ครอบคลุมทั้งด้านบริหารคุณภาพและวิชาการ เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค ทำให้ประชาชนเกิดความเชื่อมั่นในการใช้สินค้าและบริการที่มีคุณภาพ และมาตรฐานผ่านกลไกการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการส่งเสริมให้ห้องปฏิบัติการเหล่านี้ปฏิบัติตามมาตรฐานสากลได้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้ยังส่งผลให้รายงานผลการทดสอบเป็นที่ยอมรับซึ่งกันและกันอีกด้วย ในการดำเนินงานด้านการรับรอง ISO/IEC 17025 การตรวจประเมินแบบเฝ้าระวัง (Surveillance Audit) ถือเป็นกลไกสำคัญที่ช่วยรักษาระดับคุณภาพของห้องปฏิบัติการในระยะยาว โดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จะแต่งตั้งคณะผู้ตรวจประเมินที่มีความรู้ความสามารถไปตรวจที่ห้องปฏิบัติการหลังได้รับการรับรองภายใน 2 ปี เพื่อประเมินสมรรถนะความสอดคล้องของระบบคุณภาพ และการปฏิบัติงานตามข้อกำหนดให้ห้องปฏิบัติการยังคงรักษาระดับคุณภาพและความสามารถทางวิชาการไว้ ไม่ให้คุณภาพลดลงหรือมีข้อผิดพลาดสะสม และป้องกันการเสื่อมถอยของ

ระบบคุณภาพที่อาจเกิดขึ้นจากการขาดการติดตามอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งห้องปฏิบัติการที่มีการเปลี่ยนแปลงบุคลากรหรือปรับโครงสร้างภายใน การลดลงของจำนวนข้อบกพร่องรวมทั้งหมดและจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงจากการศึกษานี้ จึงอาจสะท้อนให้เห็นถึงประโยชน์เชิงระบบของการตรวจติดตามภายหลังการรับรองอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้การรักษาคุณภาพของผลการทดสอบอย่างสม่ำเสมอส่งผลให้มีความเชื่อมั่นในความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของผลการทดสอบ ช่วยเสริมสร้างความเชื่อมั่นของผู้ใช้บริการและตลาดต่างประเทศอีกด้วย การศึกษาโดยการวิเคราะห์ข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการเป็นเครื่องมือสำคัญในการประเมินผลการปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการ หากพบข้อบกพร่องหรือมีสิ่งที่ไม่สอดคล้องกับข้อกำหนดหรือไม่ปฏิบัติตามระบบที่วางไว้ อาจส่งผลกระทบต่อระบบบริหารคุณภาพและความถูกต้องของการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ได้⁽⁶⁾ การศึกษานี้ใช้ข้อมูลจากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ จำนวน 138 แห่ง ที่สมัครใจยื่นขอการรับรองจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งมีจำนวนมากเพียงพอและมีความหลากหลายของ

ตัวอย่าง โดยครอบคลุมห้องปฏิบัติการที่มีลักษณะแตกต่างกันทั้งในด้านขนาดองค์กร ประเภทของการทดสอบที่ดำเนินการ จำนวนบุคลากร รายการทดสอบที่ขอการรับรอง ตลอดจนการกระจายตัวในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศ ซึ่งช่วยลดอคติในการเลือกตัวอย่าง (selection bias) และเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ นอกจากนี้ความหลากหลายดังกล่าวไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการประเมินจำนวนข้อบกพร่องที่พบมากนัก แต่พบว่าการเปลี่ยนแปลงบุคลากรมีผลกระทบมากกว่า ผลการวิเคราะห์พบว่าในช่วงเวลาระหว่างการยื่นขอรับการรับรองในปี พ.ศ. 2564 และการตรวจเฝ้าระวังในปี พ.ศ. 2566 นั้น จำนวนข้อบกพร่องที่ตรวจพบลดลงอย่างมีนัยสำคัญในช่วงหลังการรับรอง แสดงให้เห็นว่าการรับรองห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพช่วยส่งผลให้ห้องปฏิบัติการปฏิบัติตามข้อกำหนดคุณภาพ ISO/IEC 17025:2017 ได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การรับรองยังช่วยลดความรุนแรงของข้อบกพร่อง โดยจากการทดสอบโคสแควร์ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างปีที่ตรวจก่อนและหลังการรับรอง พบว่าความรุนแรงของข้อบกพร่องได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในช่วงหลังการรับรองอีกด้วย โดยผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่ได้ดำเนินการในห้องปฏิบัติการประเภทอื่นๆ เช่น ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพที่อยู่ในความดูแลของหน่วยงานกำกับดูแลยาแห่งชาติ (The National Medicines Regulatory Authority; NMRA) เป็นหน่วยงานตรวจสอบคุณภาพของยาที่ใช้ในประชาชนในประเทศไนจีเรีย พบว่าระบบบริหารคุณภาพในห้องปฏิบัติการได้ถูกปรับปรุงให้ดีขึ้นหลังจากได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025 ดังนั้นการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 จึงเป็นกระบวนการหนึ่งที่จะช่วยปรับปรุงคุณภาพของห้องปฏิบัติการในประเทศอีกด้วย⁽⁹⁾

ผลการดำเนินการศึกษาในส่วนที่ 1 ซึ่งทำการเปรียบเทียบจำนวนข้อบกพร่องรวมทั้งหมดระหว่างการตรวจประเมินก่อนการรับรองในปี พ.ศ. 2564 และการตรวจประเมินแบบเฝ้าระวังหลังการรับรองในปี พ.ศ. 2566 พบว่าจำนวนข้อบกพร่องรวมทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการตรวจประเมินแบบ

เฝ้าระวัง สะท้อนให้เห็นถึงประสิทธิผลของกระบวนการรับรองมาตรฐาน มีผลให้ห้องปฏิบัติการมีการปรับปรุงระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง ในทำนองเดียวกัน การศึกษาส่วนที่ 2 ซึ่งเน้นการประเมินผลของกระบวนการรับรองต่อจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงได้แสดงผลในทิศทางเดียวกัน คือ จำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรงมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังการรับรอง แสดงให้เห็นว่าการตรวจติดตามอย่างต่อเนื่องไม่เพียงเป็นการประเมินความสอดคล้อง แต่ยังส่งเสริมการปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงลึก พบว่าข้อกำหนดด้านกระบวนการ (ข้อ 7) มาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เป็นส่วนที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ประสบปัญหาในการปฏิบัติตามมากที่สุด ทั้งในด้านจำนวนข้อบกพร่องรวมทั้งหมดและจำนวนข้อบกพร่องแบบรุนแรง ซึ่งพบในอัตราสูงสุดในทั้งสองช่วงของการตรวจประเมิน ทั้งก่อนการรับรองปี พ.ศ. 2564 และหลังการรับรองปี พ.ศ. 2566 แม้ว่าจะพบแนวโน้มการลดลงของจำนวนข้อบกพร่องจาก 1,019 รายการ ในปี พ.ศ. 2564 เหลือ 705 รายการ ในปี พ.ศ. 2566 ซึ่งแสดงถึงการมีแนวโน้มการปรับปรุงที่ดีขึ้น แต่การลดลงดังกล่าวไม่อยู่ในระดับที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สะท้อนให้เห็นว่ากระบวนการให้การรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 เพียงอย่างเดียว ยังไม่สามารถยกระดับคุณภาพของการปฏิบัติตามข้อกำหนดในข้อ 7 ได้อย่างครอบคลุมเพียงพอ โดยข้อกำหนดย่อยในข้อ 7 พบว่ามี 3 ข้อย่อย (7.2, 7.8 และ 7.7) ที่พบข้อบกพร่องสูงสุด สำหรับข้อ 7.2 การคัดเลือก การทวนสอบและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีนั้น ข้อบกพร่องในข้อนี้สาเหตุหลักเกิดจากการเลือกใช้วิธีทดสอบไม่เหมาะสมหรือไม่เป็นปัจจุบัน รวมทั้งขาดหลักฐานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีในแต่ละพารามิเตอร์ทั้งในด้านและเกณฑ์การตัดสินใจยอมรับ ไม่สามารถแสดงให้เห็นว่าเหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการใช้งานจริง บ่งชี้ช่องว่างในความรู้เชิงเทคนิคของห้องปฏิบัติการ และขาดแนวทางปฏิบัติที่เป็นระบบในการทบทวนและควบคุมวิธีการทดสอบ แนวทางการแก้ไข คือ ห้องปฏิบัติการต้องศึกษาเอกสารอ้างอิงที่เลือกวิธีทดสอบนั้นมาใช้ว่าตรงกับวัตถุประสงค์

ของการทดสอบ (Fit for Purpose) ต้องทำการพิสูจน์ โดยการทวนสอบวิธี (Method Verification) ว่าสามารถนำมาใช้กับตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการต้องการทดสอบ หรือหากมีการเปลี่ยนแปลงวิธีทดสอบจะต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) ให้ครอบคลุมและสร้างความเชื่อมั่นในการที่จะใช้วิธีทดสอบนี้มาทำการทดสอบ ส่วนข้อ 7.8 การรายงานผล สาเหตุหลักเกิดจากการระบุรายละเอียดในใบรายงานผลการทดสอบไม่ครบถ้วนตามที่กำหนด อาจเกิดจากมีความเข้าใจที่คลาดเคลื่อนว่าผลการทดสอบที่ได้เป็นการรับรองผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นในแต่ละรุ่นการผลิต (Certificate of Analysis; COA) ซึ่งการรับรองผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่ตรงตามหลักการรับรอง ISO/IEC 17025 ที่มุ่งหมายรับรองผลการทดสอบ (Test Report) ในชนิดตัวอย่างที่ห้องปฏิบัติการทำการทดสอบเท่านั้น ไม่ครอบคลุมการรับรองผลิตภัณฑ์ หรือกรณีที่ห้องปฏิบัติการไม่มีการชักตัวอย่าง การระบุในใบรายงานผลการทดสอบจะระบุรับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น รวมถึงประเด็นการจัดทำเอกสารและข้อมูลเกณฑ์การตัดสิน (Decision Rule) ซึ่งห้องปฏิบัติการในประเทศไทยไม่มีการจัดทำข้อมูลนี้อย่างเป็นรูปธรรมมีเพียงการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดเท่านั้น แต่ในเวอร์ชัน 2017 เกณฑ์การตัดสินถูกยกขึ้นมาให้เห็นถึงความสำคัญในการนำค่าความไม่แน่นอนของการวัดมาใช้ในการตัดสินผลเพื่อระบุถึงความสอดคล้องตามข้อกำหนดเฉพาะที่ระบุไว้ทำให้ห้องปฏิบัติการต้องทำความเข้าใจและนำมาประยุกต์ใช้ ทั้งนี้ปัจจุบันสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการมีนโยบายให้ห้องปฏิบัติการพิจารณาถึงความเหมาะสมในการรายงานความสอดคล้องตามข้อกำหนด หรือมาตรฐานที่ห้องปฏิบัติการใช้ด้วยตัวเอง ตามบริบทที่ห้องปฏิบัติการดำเนินการเพื่อตัดสินผลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2565 ดังนั้นในประเด็นนี้เมื่อตรวจประเมินจึงยังพบว่าห้องปฏิบัติการยังมีความเข้าใจที่ไม่ตรงกัน สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการจึงได้มีการสื่อสารทั้งในเรื่องการห้ามใช้ใน COA หรือการเปลี่ยนแปลงนโยบายที่ห้องปฏิบัติการต้องตัดสินผลในการสัมมนาผู้รับบริการประจำปี สื่อสารบนเว็บไซต์ สื่อสารในช่องทาง Open Chat ของสมาชิกห้องปฏิบัติการเพื่อทำความเข้าใจที่ตรงกัน ในส่วนข้อ 7.7 เรื่อง

การประกันความถูกต้องของผลการทดสอบ ข้อบกพร่องในข้อนี้เกิดจากการไม่เข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing; PT) ในรายการทดสอบที่ยื่นขอการรับรองตามนโยบาย และเกณฑ์ที่สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกำหนด รวมถึงขาดระบบการควบคุมคุณภาพภายในอย่างเป็นระบบ โดยเฉพาะการไม่วิเคราะห์หรือไม่ดำเนินการเมื่อผลการควบคุมอยู่นอกเกณฑ์ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อความเชื่อถือได้ของผลการทดสอบ นอกจากนี้ยังพบว่าห้องปฏิบัติการบางแห่งให้บริการทดสอบความชำนาญจากผู้ให้บริการที่ไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043:2023 เพราะ ISO/IEC 17043:2023⁽¹⁰⁾ เป็นมาตรฐานสากลที่เป็นข้อกำหนดสำหรับความสามารถของผู้ให้บริการทดสอบความชำนาญ (PT Provider) ที่แสดงถึงความสามารถในการให้ผลการทดสอบที่แม่นยำและเชื่อถือได้ กรณีไม่พบการวิเคราะห์ข้อมูลผลการควบคุมคุณภาพภายใน เมื่อพบว่าอยู่นอกเกณฑ์ควบคุมที่กำหนดไว้จะต้องดำเนินการตามแผนที่วางไว้ เพื่อแก้ไขปัญหาและป้องกันไม่ให้มีการรายงานผลการทดสอบที่ไม่ถูกต้องออกไป แนวทางการแก้ไขเน้นย้ำและสร้างความตระหนักให้ห้องปฏิบัติการเห็นถึงความสำคัญในการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญให้เป็นไปตามนโยบาย

กรณีของข้อกำหนดด้านกระบวนการ (ข้อ 7) ที่พบเป็นข้อบกพร่องสูงสุดทั้งข้อบกพร่องรวม (Total NCs) และข้อบกพร่องแบบรุนแรง (Major NCs) สอดคล้องกับผลการศึกษาการพัฒนาคุณภาพการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขจากมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ที่เป็นเวอร์ชันเดิมก่อนปรับสู่มาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017⁽¹¹⁾ พบข้อบกพร่องสูงสุด คือ ข้อ 7 เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาเชิงลึกต้องอาศัยมากกว่าการรับรอง เช่นการพัฒนาแนวทางปฏิบัติและคู่มือที่ชัดเจนจากหน่วยรับรอง เพื่อช่วยลดความคลาดเคลื่อนในการตีความข้อกำหนด การพัฒนาความรู้เชิงเทคนิค การสนับสนุนอย่างต่อเนื่องจากหน่วยรับรอง และการสื่อสารที่ชัดเจนเกี่ยวกับข้อกำหนดในมาตรฐานและปรับให้เข้ากับบริบทของห้องปฏิบัติการในประเทศไทย สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการจึงได้จัดทำคู่มือการตรวจประเมิน โดยการ

แปลความข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 สู่ภาคการปฏิบัติ เพื่อให้ห้องปฏิบัติการมีความเข้าใจถึงข้อกำหนดในแต่ละข้อ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับห้องปฏิบัติการของตนเองได้ มีการจัดอบรมประจำปีให้กับห้องปฏิบัติการในการแลกเปลี่ยนและยกระดับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 โดยเฉพาะข้อ 7 เน้น เรื่อง การเลือกวิธีทดสอบ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Method Validation) การทวนสอบวิธี (Method Verification) การประกันความถูกต้องของผลการทดสอบ ซึ่งเป็นหัวข้อด้านวิชาการที่เป็นประเด็นที่ห้องปฏิบัติการต้องการนำไปใช้

แม้ว่ากระบวนการรับรองจะมีบทบาทช่วยกำหนดมาตรฐานขั้นต่ำและเป็นแรงผลักดันให้ห้องปฏิบัติการจัดทำระบบคุณภาพที่ครอบคลุมข้อกำหนดตามมาตรฐานสากล ข้อจำกัดของการศึกษานี้ ได้แก่ ข้อมูลที่นำมาใช้วิเคราะห์ขึ้นอยู่กับคุณภาพและความครบถ้วนของรายงานการตรวจประเมิน ผลการตรวจประเมินอาจมีความแตกต่างในวิธีการดำเนินการและความเข้มงวดของผู้ตรวจประเมินแต่ละราย ซึ่งอาจส่งผลต่อผลลัพธ์ที่ได้รับ นอกจากนั้นแม้ว่าผลการศึกษาจะแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มการลดลงของข้อบกพร่อง แต่ยังขาดการวิเคราะห์เชิงลึกเกี่ยวกับปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อจำนวนข้อบกพร่อง เช่น จำนวนรายการทดสอบที่ขอการรับรอง การเปลี่ยนแปลงบุคลากร การฝึกอบรมบุคลากร การปรับปรุงโครงสร้างองค์กร หรือการใช้เทคโนโลยีใหม่เข้ามาช่วยให้ระบบบริหารจัดการคุณภาพมีประสิทธิภาพมากขึ้น ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมสำหรับการศึกษาในอนาคต ควรมีการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพเพิ่มเติม เช่น การสัมภาษณ์ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรงกับระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ไม่ว่าจะเป็นผู้บริหาร ผู้ปฏิบัติงาน หรือผู้ตรวจประเมิน เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกหรือกระบวนการที่นำไปสู่การปรับปรุงคุณภาพอย่างแท้จริง การผสานข้อมูลเชิงปริมาณกับข้อมูลเชิงคุณภาพจะช่วยให้การประเมินผลมีความรอบด้านและสามารถใช้เป็นแนวทางพัฒนาระบบคุณภาพในระดับเชิงนโยบายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

สรุป

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลกระทบของการรับรอง ISO/IEC 17025:2017 ที่มีต่อระบบการบริหารคุณภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการส่งเสริมความน่าเชื่อถือของรายงานผลการทดสอบซึ่งออกโดยห้องปฏิบัติการเหล่านั้น ทั้งนี้ผลการศึกษายังชี้ถึงการปฏิบัติตามข้อกำหนดด้านคุณภาพซึ่งมีการพัฒนาไปในทิศทางที่ดีขึ้น โดยพบว่าจำนวนข้อบกพร่องรวมได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญจากปี พ.ศ. 2564 ไปสู่ปี พ.ศ. 2566 นอกจากนี้พบว่าระดับความรุนแรงของข้อบกพร่องได้ลดลงอีกด้วย สะท้อนถึงการปรับปรุงที่เกิดขึ้นในระบบงานซึ่งครอบคลุมทั้งการบริหารจัดการคุณภาพและกระบวนการทางเทคนิค จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่า กลไกการรับรองตามมาตรฐานมีบทบาทสำคัญในการยกระดับคุณภาพของห้องปฏิบัติการให้ได้ตามเกณฑ์สากล และช่วยลดจำนวนข้อบกพร่องซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความน่าเชื่อถือของผลการตรวจวิเคราะห์ ทั้งนี้การดำเนินงานของหน่วยรับรองโดยเฉพาะด้านการตรวจประเมินและการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่องหลังการรับรอง มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมให้ห้องปฏิบัติการรักษาระดับคุณภาพให้คงอยู่ รวมถึงกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง จึงมีความสำคัญต่อการธำรงไว้ซึ่งมาตรฐานคุณภาพและการพัฒนาที่ยั่งยืนของห้องปฏิบัติการทดสอบภายในประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่สนับสนุนงบประมาณการดำเนินงานการรับรองตามมาตรฐานสากล ขอขอบคุณ ผู้อำนวยการสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการทั้งในอดีตและปัจจุบัน และเจ้าหน้าที่ผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ได้สนับสนุนข้อมูลผลการตรวจประเมินการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. เสาวนีย์ อารมย์สุข, ชมโฉไล สินธุสาร, อรุณ ทนันทิต, สุวรรณ จารุณช. แนวโน้มข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขของหน่วยงานภาครัฐและเอกชนที่ให้บริการทดสอบสาธารณะ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005 ระหว่างปี พ.ศ. 2551-พ.ศ. 2554. ว วิจัยราชภัฏเชียงใหม่ 2556; 14(2): 1-14.
2. สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สมุดปกขาว โครงสร้างพื้นฐานทางคุณภาพของประเทศ. [ออนไลน์]. 2562; [สืบค้น 1 ม.ค. 2564]; [42 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://mx.nimt.or.th/?p=6199>.
3. สุรศักดิ์ หมั่นพล, ภัทรวีร์ สร้อยสังวาลย์, ศิริพรรณ วงศ์วานิช, นัฐกาญจน์ ละเอียดดี. การพัฒนาระบบการรับรองคุณภาพของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ในประเทศไทยสู่มาตรฐานสากล ISO 15189. ว กรรมวิทย 2564; 63(1): 119-34.
4. ธนสร สุทธิบัติ. กฎหมายการค้าระหว่างประเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2563.
5. พระราชบัญญัติการมาตรฐานแห่งชาติ พ.ศ. 2551. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนที่ 42 ก (วันที่ 4 มีนาคม 2551).
6. AsiaPacific Accreditation Cooperation (APAC). APAC MRA-001 APAC mutual recognition arrangement procedures Ver 1.18 (20230727). [online]. 2024; [cited 2024 Jan 1]; [47 screens]. Available from: URL: <https://www.apac-accreditation.org/publications/mra-series/apac-mra-001-procedures-for-establishing-and-maintaining-mutual-recognition-ver-1-18-20230727>.
7. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานประจำปี 2558. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 17 มิ.ย. 2568]; [69 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: https://www3.dmsc.moph.go.th/annual_report/pdf/2558/58-blqs.pdf.
8. นิตยา เพียรทรัพย์, วรันตร พิรุณรักษ์, บุษบง สุจเร, ศรัณยพร กิจไชยา, วันนพ สุนันทรุ่งอังคณา, วัชรชัย รุจิโรจน์กุล. การศึกษาข้อบกพร่องที่ได้รับการตรวจประเมินเพื่อรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ. ว เทคนิคการแพทย์ 2553; 38(3): 3464-74.
9. Okezue MA, Adeyeye MC, Byrn SJ, Abiola VO, Clase KL. Impact of ISO/IEC 17025 laboratory accreditation in sub-Saharan Africa: a case study. BMC Health Serv Res 2020; 20(1): 1065. (9 pages).
10. ISO/IEC 17043:2023. Conformity assessment- General requirements for the competence of proficiency testing providers. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2023.
11. เสาวนีย์ อารมย์สุข, ชื่นสมน บุญเจริญ. การพัฒนาระบบคุณภาพการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขจากมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 สู่มาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017. ว วิชาการสาธารณสุข. 2564; 30(ฉบับเพิ่มเติม 2): 351-66.

Analysis of Nonconformities to ISO/IEC 17025:2017 Laboratory Accreditation, Comparing Pre- and Post-Accreditation Audit in 2021 and 2023

Saovanee Aromsook¹, Thanawat Sridapan¹, and Siriphan Saeng-aroon²

¹*Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand*

²*Medical Sciences Technical Office, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand*

ABSTRACT This study aimed to analyze the number and types of nonconformities (NCs) identified in public health testing laboratories based on the ISO/IEC 17025:2017 standard, which have applied for laboratory accreditation from the Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences, Thailand. It compared the assessment results before accreditation in 2021 with the surveillance assessment results in 2023. The study utilized secondary data from assessment reports of 138 laboratories, consisting of 37 public health laboratories and 101 private sector laboratories. The data were analyzed according to the requirements of ISO/IEC 17025:2017, including Clause 4 (General requirements), Clause 5 (Structural requirements), Clause 6 (Resource requirements), Clause 7 (Process requirements), and Clause 8 (Management system requirements). The results indicated that the total number of nonconformities (total NCs) and major nonconformities (major NCs) significantly decreased after accreditation ($X^2 = 19.487$, $p < 0.001$ and $X^2 = 9.635$, $p = 0.047$, respectively). The most frequently observed nonconformities were related to process requirements (Clause 7). These results suggest that the accreditation mechanism effectively enhances laboratory quality, promotes continual improvement aligned with international standards, and reduces the occurrence of nonconformities that may compromise the accuracy and reliability of test results. The role of accreditation bodies and ongoing surveillance assessments is crucial in maintaining quality standards and ensuring the sustainable development of testing laboratories in Thailand.

Keywords: ISO/IEC 17025:2017, Nonconformities (NCs), Testing laboratory

การเก็บรักษาดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ เพื่อการวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล

กิ่งกาญจน์ รักษาณัฏ และ ตริวัฒน์ วัฒนะโชคชัย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

บทคัดย่อ DNA และ RNA เป็นรหัสข้อมูลทางพันธุกรรม มีบทบาทสำคัญในการควบคุมและถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิต สารพันธุกรรมเหล่านี้อาจเสื่อมสลายได้จากปัจจัยแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น รังสียูวี เอนไซม์ DNase และ RNase ที่ปนเปื้อนในวัสดุและอุปกรณ์ของห้องปฏิบัติการ การเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ส่งผลกระทบต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางด้านชีวโมเลกุล การยับยั้งการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมสามารถทำได้ผ่านกระบวนการทางเคมี เช่น การใช้สารต้านอนุมูลอิสระ การใช้สารคีเลต การใช้สารควบคุมความเป็นกรด-ด่าง กระบวนการทางกายภาพ เช่น การเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และหลีกเลี่ยงแสงยูวี และกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ปราศจากเชื้อ และการระงับการทำงานของจุลินทรีย์ กระบวนการเหล่านี้ช่วยรักษาคุณภาพสารพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหมาะสมสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในการเก็บรักษา DNA RNA และตัวอย่างทางชีวภาพ สำหรับการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

คำสำคัญ: สารพันธุกรรม, DNA, RNA, การเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม, การเก็บรักษาสารพันธุกรรม

Corresponding author E-mail: treevirusrama@gmail.com

Received: 3 February 2025

Revised: 25 July 2025

Accepted: 29 July 2025

บทนำ

ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid, DNA) และอาร์เอ็นเอ (Ribonucleic acid, RNA) เป็นสารพันธุกรรมซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุล (Biomolecule) ที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม DNA บรรจุข้อมูลทั้งหมดที่จำเป็นต่อการดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิต โดยทำหน้าที่จำลองตัวเอง (replicate) ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมและการเกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต⁽¹⁾ DNA เป็นโมเลกุลที่มีความเสถียรสูงเมื่อเทียบกับ RNA และโปรตีน ทำให้สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่รุนแรงต่อการย่อยสลายได้เป็นเวลานาน⁽²⁾ การย่อยสลายของ DNA เป็นกระบวนการที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา⁽²⁾ โดยได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น รังสีอัลตราไวโอเลต⁽²⁾ และระยะเวลา⁽³⁾ อย่างไรก็ตาม ช่วงเวลาหลังการตาย (post-mortem) ของสิ่งมีชีวิตก็มีผลต่อความเร็วในการสลายของ DNA เช่นกัน เนื่องจากสภาพแวดล้อมและปฏิกิริยาทางเคมีเกิดขึ้นในเซลล์หลังการตายมีความแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด⁽²⁾ การรักษาสารพันธุกรรมก่อนการตรวจวิเคราะห์จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวิจัยและการวินิจฉัยทางการแพทย์⁽⁴⁾

แม้ว่าการย่อยสลายของ DNA และ RNA สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตและสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว แต่ปัจจัยที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลาย DNA ล้วนแตกต่างกันในแต่ละกรณี⁽²⁾ ความคงทนของ DNA และ RNA ต่อการเสื่อมสลายจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะปัจจัยจากภายนอก เช่น อุณหภูมิ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถช่วยในการรักษาสภาพและการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม หากเก็บรักษา DNA และ RNA ไว้ในช่วงอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดการเสื่อมสลาย⁽⁵⁾ ผ่านกลไกต่าง ๆ เช่น การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ออกซิเดชัน (oxidation) และดีพิวรีนชัน (depurination) ส่งผลต่อความสมบูรณ์ของโครงสร้างของ DNA ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกความเสียหายของ DNA ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติและพบได้บ่อยที่สุดในเซลล์⁽²⁾

DNA-RNA hybrid เป็นโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก ประกอบด้วย สาย DNA และ RNA ที่จับคู่กัน

ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบสคู่สม (complementary base) เป็นโครงสร้างที่สำคัญของกระบวนการทางชีวภาพ⁽⁶⁾ เอนไซม์ ribonuclease H (RNase H) เป็น endonuclease ประเภทหนึ่งที่ทำหน้าที่ย่อยสลาย RNA ใน DNA-RNA hybrid ให้กลายเป็นโมโนไรโบนิวคลีโอไทด์ (mono-ribonucleotide) และโอลิโกไรโบนิวคลีโอไทด์ (oligo-ribonucleotide) ที่มีปลาย 5'-phosphate ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจวิเคราะห์ เช่น นำมาใช้ในปฏิกิริยา cDNA synthesis สำหรับการทำ RT-PCR หากมีการปนเปื้อน RNase H ในปฏิกิริยา cDNA synthesis จะทำให้ RNA ต้นแบบถูกย่อยสลาย ส่งผลให้กระบวนการ reverse transcription เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ขาดความต่อเนื่องหรือหยุดกลางคัน ทำให้ได้ cDNA ที่มีขนาดสั้น มีลำดับเบสไม่ครบหรือขาดหายไป ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดผลทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณได้⁽⁶⁾ ส่งผลกระทบต่อการศึกษาและกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางด้านชีวโมเลกุล (Molecular Biology) การเก็บรักษาตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ DNA และ RNA ในอุณหภูมิต่ำถือเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาคุณภาพข้อมูลทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตามการเก็บรักษา DNA และ RNA ในอุณหภูมิต่ำในบางพื้นที่อาจมีข้อจำกัดด้านทรัพยากรจึงไม่สามารถดำเนินการเก็บรักษาได้⁽³⁾ ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาสารพันธุกรรม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ให้มีทั้งคุณภาพและปริมาณที่เพียงพอต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

วิธีการสืบค้น

ในการจัดทำบทความนี้ได้ดำเนินการสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ฐานข้อมูลทางวิชาการ เช่น PubMed และ SpringerLink รวมทั้งเอกสารงานวิจัย บทความ สื่อสิ่งพิมพ์ และแหล่งข้อมูลทางวิชาการอื่น ๆ จาก Google Scholar โดยใช้คำสำคัญในการค้นหา ได้แก่ Deoxyribonucleic acid (DNA), Ribonucleic acid (RNA), DNA and RNA degradation, DNA and RNA storage, Preservation of nucleic acid และ DNA preservation methods เป็นต้น

เนื้อหา

การเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม

การเสื่อมสลายของ DNA และ RNA มีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อม เวลา และปัจจัยต่างๆ⁽³⁾ เช่น ความชื้น⁽²⁾ อุณหภูมิ รังสีอัลตราไวโอเลต^(2,5) การสูญเสียเบสพิวรีน (Depurination) ใน DNA เป็นหนึ่งในรูปแบบความเสียหายของ DNA ที่พบบ่อยที่สุดในกระบวนการของสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) และในการทดลองทางห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)⁽⁷⁾ ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ออกซิเดชัน (Oxidation) และ Depurination⁽²⁾

การสูญเสียเบสพิวรีนจากกระบวนการ Depurination เกิดจากพันธะ Glycosidic ของสาย DNA ถูกทำลายด้วยกระบวนการ Hydrolysis⁽⁶⁾ เหลือเพียงโครงสร้างของน้ำตาลและหมู่ฟอสเฟต การขาดหายไปของเบสพิวรีนหรือที่เรียกว่า Apurinic site และการขาดหายไปของเบส pyrimidine หรือที่เรียกว่า Apyrimidinic site บริเวณที่เบสหายไปบนสาย DNA หรือที่เรียกว่า บริเวณ AP site⁽⁹⁾ เมื่อไม่มีเบสเชื่อมต่ออยู่จะทำให้พันธะ Phosphodiester ภายในแกนกลางของ DNA ถูกทำลาย ทำให้สาย DNA ขาดและหลุดออกจากกัน⁽²⁾ การสูญเสียเบส ได้แก่ adenine หรือ guanine ซึ่งใน DNA มีแนวโน้มการเสื่อมสลายมากกว่า RNA เป็นอย่างมาก ส่วนในการสูญเสียเบส pyrimidine ได้แก่ cytosine และ thymine เกิดขึ้นด้วยกลไกที่คล้ายคลึงกันแต่มีอัตราที่ต่ำกว่า⁽⁸⁾

นอกจากนี้ในการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสถานะต่างๆ ของเซลล์ พบว่าเซลล์มีการถอดรหัส RNA (RNA transcription) มากกว่าปริมาณ RNA ที่มีอยู่ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการย่อยสลาย RNA (RNA degradation) เกิดขึ้น โดยทั่วไปแล้ว RNA จะถูกย่อยสลายเมื่อสิ้นสุดอายุการใช้งาน แม้ว่ากระบวนการย่อยสลาย RNA จะมีอยู่ในเซลล์และมีความซับซ้อนอย่างมาก แต่กระบวนการย่อยสลาย RNA ของแบคทีเรีย อาร์เคีย (Archaea) และ Eukaryote ก็มีหลักการพื้นฐานคล้ายคลึงกัน⁽¹⁰⁾

การยับยั้งการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรม

การเกิด Depurination ใน DNA และ RNA เป็นสาเหตุของการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมที่พบบ่อยที่สุด การยับยั้งกระบวนการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการนำสารพันธุกรรมไปใช้ในงานทางชีวโมเลกุลและทางการแพทย์⁽⁷⁾ การรักษาคุณภาพของสารพันธุกรรมต้องใชการผสมผสานระหว่างกระบวนการทางเคมี กายภาพ และชีวภาพเพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของสารพันธุกรรมจากปัจจัยต่างๆ ได้อย่างครอบคลุม ซึ่งกระบวนการป้องกันการเสื่อมสลาย แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ กระบวนการทางเคมี กระบวนการทางฟิสิกส์ และกระบวนการทางชีวภาพ ดังนี้

กระบวนการทางเคมี

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) เป็นสารประกอบที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation เป็นปฏิกิริยาเคมีที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นจะทำให้สารประกอบอินทรีย์เสื่อมสลาย ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น α -tocopherol, ascorbic acid, carotenes, glutathione, lipoic acid, ubiquinol, uric acid⁽¹¹⁾ ที่พบในเซลล์มนุษย์ และ spermine⁽⁷⁾ เป็นต้น

สารคีเลต (Chelating agent) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการจับกับไอออนของโลหะ เช่น แมกนีเซียม (magnesium; Mg 2+) และแคลเซียม (calcium; Ca 2+) ซึ่งแมกนีเซียมจัดเป็น cofactor ที่สำคัญสำหรับเอนไซม์ DNase และ RNase ในการย่อยสลาย DNA และ RNA แม้ DNA จะได้รับการปกป้องในนิวเคลียส แต่เมื่อผ่านกระบวนการสกัดสารพันธุกรรมก็จะมีโอกาสสัมผัสกับเอนไซม์ nuclease ที่ถูกกระตุ้นด้วยไอออนโลหะดังกล่าว ทำให้ DNA ถูกย่อยสลาย นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ในหลายขั้นตอนตั้งแต่การสกัดไปจนถึงปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction; PCR⁽¹²⁾ สารคีเลตจึงนิยมนำมาใช้ป้องกันการเสื่อมสภาพของสารพันธุกรรม โดยจะไปแย่งจับ

กับโลหะที่เป็น cofactor ของเอนไซม์ เช่น chitosan, citrate, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA)⁽¹³⁾ เป็นต้น

สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibitor) โดยทั่วไปใช้สารซักฟอก (detergent) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ มีคุณสมบัติในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์เยื่อหุ้มนิวเคลียส ทำให้เอนไซม์สูญเสียโครงสร้างและการทำงาน เช่น sodium lauryl sulfate (SDS)⁽¹⁴⁾ นอกจากนี้ยังมีสารเคมีอื่นๆ ที่นำมาใช้ร่วมกันในการทำลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรม และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เช่น dithiothreitol (DTT) ทำลายพันธะ disulfide ทำให้โครงสร้างของเอนไซม์และโปรตีนเสียหาย⁽¹⁵⁾ เป็นต้น

สารละลาย Buffer ควบคุมความเป็นกรด-ด่าง เป็นสารละลายที่ใช้รักษาความสมดุลของค่า pH นิยมใช้ในงานทางด้านชีวโมเลกุล เช่น Tris-acetate-EDTA

(TAE) buffer และ Tris-borate-EDTA (TBE) buffer ใช้ในงาน gel-electrophoresis ซึ่งมีส่วนประกอบของ Tris base หรือ Tris (hydroxymethyl) aminomethane ที่ช่วยควบคุม pH ป้องกันการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง pH สามารถเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ทำให้พันธะ phosphodiester ในสาย DNA หรือ RNA เกิดการแตกหักและเสื่อมสลายได้ โดยช่วง pH ที่เหมาะสมของ Tris อยู่ที่ pH 7-9 การใช้ Tris นอกจากจะช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายสารพันธุกรรมได้โดยตรงแล้ว ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ผ่านกระบวนการ chelation ไอออนของโลหะได้อีกด้วย⁽¹⁶⁾

การรักษาคุณภาพสารพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการนิยมใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีส่วนประกอบของสารต่างๆ เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม กระบวนการตรวจวิเคราะห์ และการรักษาสารพันธุกรรมไว้งานในภายหลัง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารละลายสำหรับใช้ในการรักษาคุณภาพ DNA และ RNA ในกระบวนการต่าง ๆ

สารละลาย	ส่วนประกอบและหน้าที่	การนำไปใช้
Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB) Buffer ⁽¹⁷⁾	ทำลายเมมเบรนของเซลล์และช่วยในการตกตะกอน DNA และ RNA	ใช้ในการสกัด DNA จากแบคทีเรียและเชื้อรา
dimethyl sulfoxide, disodium EDTA, และ Saturated NaCl (DESS) Buffer ⁽¹⁸⁾	dimethyl sulfoxide (DMSO) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation, disodium EDTA จับกับไอออนของโลหะ, NaCl รักษาความเข้มข้นของไอออนในสารละลาย	เหมาะสำหรับใช้เก็บรักษาตัวอย่างเนื้อเยื่อ สารคัดหลั่ง แบคทีเรีย ใช้เก็บตัวอย่างในพื้นที่ห่างไกลที่ไม่สามารถจัดเก็บในสภาวะแช่เย็นได้
Diethylpyrocarbonate (DEPC)-Treated Water ⁽¹⁹⁾	ยับยั้งเอนไซม์ ribonuclease	ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง ยับยั้งการย่อยสลาย RNA
DNA/RNA Defend (DRD) หรือ DNA/RNA Defend Pro (DRDP) ⁽²⁰⁾	guanidinium thiocyanate ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค และการทำงานของ DNase และ RNase, mucolytic agent สำหรับละลายสารที่มีความข้นหนืด	buffer สำหรับเก็บและขนส่งตัวอย่าง โดยเฉพาะสามารถยับยั้ง (inactivation) เชื้อก่อโรค ป้องกันการเสื่อมสภาพ DNA และ RNA
Formamide and EDTA (FAE) Solution ⁽²¹⁾	formamide ใช้ทำลายพันธะไฮโดรเจนในการเตรียม DNA และ RNA สายเดี่ยว, EDTA จับกับไอออนของโลหะ	ใช้ในการจัดสภาพโครงสร้าง DNA และ RNA ให้เป็นสายเดี่ยว
Forensic DNA Laboratory (FDL) Buffer ⁽⁴⁾	FDL Buffer อาจมีส่วนประกอบของ Tris-HCl ปกป้อง DNA จากการเปลี่ยนแปลง pH, EDTA จับกับไอออนโลหะ, detergents ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีน, proteinase K ย่อยโปรตีนในตัวอย่าง	การเก็บรักษาตัวอย่างทางนิติวิทยาศาสตร์ เช่น เลือด น้ำลาย เส้นผม หรือสารคัดหลั่งอื่นๆ เพื่อรักษาคุณภาพของ DNA

ตารางที่ 1 สารละลายสำหรับการรักษาคุณภาพ DNA และ RNA ในกระบวนการต่าง ๆ (ต่อ)

สารละลาย	ส่วนประกอบและหน้าที่	การนำไปใช้
Milli-Q PF Plus Water ⁽²²⁾	น้ำบริสุทธิ์ที่ไม่มีสารปนเปื้อนของ RNase ใช้รักษาสภาพ RNA	ใช้ในการเตรียม RNA สำหรับงานทางด้านชีวโมเลกุล
Nucleic Acid Preservation (NAP) Buffer ⁽²³⁾	ammonium sulfate เพิ่มความเข้มข้นของเกลือ ลดกิจกรรม DNase และ RNase, sodium citrate ควบคุมสมดุลไอออนิกในสารละลาย รักษาระดับ pH 5.2, EDTA จับกับไอออนของโลหะ	ใช้ในการเก็บรักษากรดนิวคลีอิกในอุณหภูมิต่ำ ช่วยรักษาความคงตัวของ DNA และ RNA ในการแช่แข็งระยะยาว
Phosphate Buffer Saline (PBS) ⁽²⁴⁾	phosphate salts: รักษา pH 7.4, NaCl รักษาความเข้มข้นของเกลือ (osmolarity) ให้เหมาะสม, KCl ช่วยรักษาสสมดุลไอออนในสารละลาย	ใช้ล้างเซลล์ เก็บรักษาตัวอย่างภายใต้อุณหภูมิที่เย็นจัด เพื่อรักษาความสมบูรณ์ของ DNA และ RNA
RNA Later Solution ^(25,26)	เป็นสารละลายที่ซึมผ่านเนื้อเยื่อได้อย่างรวดเร็ว มีหน้าที่รักษาเสถียรภาพและเก็บรักษา RNA	จัดเก็บตัวอย่างได้ในระยะยาวที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยไม่กระทบต่อความสมบูรณ์ของ RNA
Tris-EDTA (TE) buffer ⁽²⁷⁾	Tris รักษาความเป็นกลางของ pH, EDTA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ที่ย่อยสลาย DNA โดยแย่งจับกับไอออนของโลหะ	ใช้สำหรับเก็บรักษา DNA และ RNA ให้มีความเสถียร
Tris-EDTA- NaCl-Tween 20 (TENT) buffer ⁽²⁸⁾	Tris ควบคุม pH, EDTA จับกับไอออนของโลหะ, NaCl รักษาสมดุลออสโมซิส และโครงสร้าง DNA และ RNA, Tween 20 สารลดแรงตึงผิว ลดการยึดจับที่ไม่จำเป็น	การเก็บรักษาและคงสภาพตัวอย่าง และ DNA เหมาะสำหรับสถานที่ทางไกล มีอุณหภูมิและความชื้นที่รุนแรง หรือไม่มีตู้เย็น
Tris-HCl Buffer ⁽²⁹⁾	Tris ควบคุม pH, HCl ช่วยรักษาสภาพแวดล้อมไอออนิกที่เหมาะสม	ใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียม DNA และ RNA ในหลอดทดลอง
Tris-Acetate-EDTA (TAE) Buffer ⁽³⁰⁾	Tris ควบคุม pH, acetate นำไฟฟ้า, EDTA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลาย DNA	สำหรับ Gel-electrophoresis
Tris-Borate-EDTA (TBE) Buffer ⁽³¹⁾	Tris ควบคุม pH, borate นำไฟฟ้า, EDTA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จะย่อยสลาย DNA	สำหรับ Gel-electrophoresis
Saline-Sodium Citrate (SSC) Buffer ⁽³²⁾	NaCl รักษาแรงดันออสโมซิส, sodium citrate ควบคุมความเป็นกรด	ใช้ในกระบวนการ Hybridization ของกรดนิวคลีอิก

กระบวนการทางฟิสิกส์

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญที่มีผลต่อการเสื่อมสลายของกรดนิวคลีอิก จากการศึกษาข้อมูลการเก็บรักษา DNA และ RNA ในอุณหภูมิแช่แข็งต่อการคงทนของคุณภาพของ DNA พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดอยู่ที่ -80 องศาเซลเซียส⁽³³⁾ การสลายตัวของ DNA มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ DNA สัมผัสกับอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น⁽³⁴⁾ โดยอุณหภูมิจะไปทำลายโครงสร้างการยึดจับกันระหว่างพันธะ hydrogen ของเบสคู่สม และพันธะ phosphodiester ทำให้สาย DNA และ RNA แตกหัก การสัมผัสความร้อนในระดับสูงและระยะเวลานาน

สามารถกระตุ้นให้ DNA เกิดความเสียหายผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การจับกันของโปรตีนตามธรรมชาติ (protein aggregation) การสร้าง Reactive Oxygen Species (ROS) การตายของเซลล์ทั้งในสภาวะร้อนชื้นและร้อนแห้ง⁽³⁵⁾

ความชื้น ความชื้นในอากาศสามารถเพิ่มโอกาสที่โมเลกุลน้ำจะทำลายพันธะ phosphodiester โดยเร่งให้เกิดกระบวนการ hydrolysis⁽¹¹⁾ และยังสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการก่อตัวของอนุมูลอิสระ เช่น hydrogen peroxide ไปทำปฏิกิริยากับ guanine ใน DNA และ RNA โดยเปลี่ยนเป็น 8-oxoguanine ซึ่ง

8-oxoguanine สามารถจับคู่กับเบส adenine แทนที่จะเป็น cytosine ทำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบ $G > T$ ($C > A$)⁽³⁶⁾ ซึ่ง RNA ที่มี 8-oxoguanine อาจถูกกำจัดผ่านกระบวนการ Nonsense-mediated RNA Decay Pathway⁽³⁷⁾ ยังมีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูงจะส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของ DNA โดยความชื้นทำให้คุณภาพของ DNA ลดลง ดังนั้นการจัดการปัจจัยแวดล้อม เช่น การลดระยะเวลาการนำส่งตัวอย่างและวิธีเก็บตัวอย่างจึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อลดผลกระทบจากความชื้นและรักษาคุณภาพของ DNA⁽³⁴⁾

แสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet light; UV)
ควรหลีกเลี่ยงแสง UV เพื่อป้องกันการเกิด pyrimidine dimer ซึ่งจะทำให้โครงสร้าง DNA และ RNA เสียหายจากปฏิกิริยาเคมี เมื่อแสง UV โดยเฉพาะ UVC โดย UV photon จะกระตุ้นให้เบสสองตัวใน DNA หรือ RNA ที่อยู่ติดกันเกิดพันธะ covalent ระหว่างเบส pyrimidine ที่อยู่ติดกัน เช่น thymine หรือ cytosine ใน DNA สายเดียวกัน ซึ่งยังสามารถเกิดขึ้นใน RNA สายคู่ (double-stranded RNA, dsRNA) เช่น uracil หรือ cytosine ส่งผลทำให้เกิดการบิดเบี้ยวของโครงสร้างเกิดเป็น cyclobutane ring ทำลายคู่เบสของโครงสร้างสายคู่ (double-stranded) บริเวณนั้น^(38,39)

การใช้อุปกรณ์ปลอดเชื้อ เนื่องจากจุลชีพอาจมีการปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ เพื่อลดความเสี่ยงและหลีกเลี่ยงการย่อยสลายกรดนิวคลีอิกจากเอนไซม์ nuclease ของจุลชีพที่ปนเปื้อน ควรเลือกใช้วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่สะอาดปราศจากการปนเปื้อนของเอนไซม์ DNase และ RNase ในอุปกรณ์และวัสดุสิ้นเปลืองต่างๆ และปฏิบัติตามระบบคุณภาพมาตรฐานของห้องปฏิบัติการอย่างเคร่งครัด เช่น การทำความสะอาดพื้นที่ก่อนและหลังการปฏิบัติงานจะช่วยลดการเสื่อมสภาพของกรดนิวคลีอิกจากเอนไซม์ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมลงได้⁽¹⁷⁾

กระบวนการทางชีวภาพ

การใช้กลุ่มเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant enzyme) เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation เช่น การเติมเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ catalase และเอนไซม์

peroxidase ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้เก็บสารพันธุกรรมหรือสารละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรมเพื่อป้องกันการเกิด DNA/RNA degradation ในขั้นตอนแรกเอนไซม์ SOD จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสลายตัวของ superoxide anion ให้เป็น oxygen และ hydrogen peroxide จากนั้นเอนไซม์ catalase จะเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน hydrogen peroxide เป็นน้ำและ oxygen และเอนไซม์ peroxidase จะทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา กระบวนการรีดิวซ์ hydrogen peroxide ให้กลายเป็นน้ำ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญในการเผาผลาญสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant metabolism) เพิ่มความเสถียรให้กับสารพันธุกรรมสำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลต่อไป⁽¹¹⁾

การใช้เอนไซม์ proteinase K เพื่อย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์และทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ DNase และ RNase โดยทั่วไปความเข้มข้นสุดท้ายของเอนไซม์ proteinase K ที่เหมาะสม คือ 0.25 mg/mL อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถกำจัดโปรตีนทั้งหมดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการจัดเก็บเอนไซม์ proteinase K ควรหลีกเลี่ยงการแช่แข็งและการละลายซ้ำๆ เพราะอาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์⁽⁴⁰⁾

การใช้สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase และ RNase (DNase and RNase inhibitor) เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ด้วย DNase inhibitor และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RNase ด้วย RNase inhibitor โดย DNase inhibitor เช่น EDTA จะทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase ด้วยการไปแย่งจับกับไอออนโลหะ เช่น Mg^{2+} ซึ่งเป็น cofactor จะทำให้เอนไซม์ DNase ไม่สามารถทำงานได้⁽⁴¹⁾ สำหรับ RNase inhibitor เช่น hydroxyisoquinoline-dione (HID)-type active-site inhibitors ด้วยการไปแย่งจับกับตำแหน่ง active-site ของเอนไซม์ RNase เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นั้นโดยตรง⁽⁴²⁾

การใช้จุลินทรีย์ (Microorganisms) จุลินทรีย์ทั้งภายในและภายนอกร่างกายล้วนมีส่วนทำให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพ จุลินทรีย์ไม่ได้ย่อย DNA โดยตรง แต่จุลินทรีย์จะผลิตเอนไซม์ ในกระบวนการย่อยสลาย

ทางชีวภาพซึ่งจะทำลายโมเลกุล DNA⁽⁴³⁾ การป้องกันการย่อยสลายจากจุลินทรีย์ เช่น การใช้ Viral Transport Medium (VTM) ที่มีส่วนผสมของ antibiotics ในการเก็บและขนส่งสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ จะช่วยทำลายเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่าง ยับยั้งการย่อยสลายสารพันธุกรรมจากเอนไซม์ nuclease ที่หลั่งมาจากเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นที่อาจปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างดังกล่าว⁽⁴⁴⁾ และป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อก่อโรค

วิจารณ์

การเก็บรักษาสารพันธุกรรมให้มีความคงตัวและมีคุณภาพสูงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความแม่นยำในการวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีความจำเป็นต้องเก็บรักษาตัวอย่างในภาชนะหรือพื้นที่ห่างไกล การสกัดสารพันธุกรรมด้วย CTAB ร่วมกับ phenol-chloroform และ isoamyl alcohol พบว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดและรักษาคุณภาพของ DNA ที่มีคุณภาพสูงได้จากตัวอย่างหลายชนิด⁽¹⁷⁾ ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่ง คือ ลดการปนเปื้อนของ RNase ซึ่งเป็นตัวเร่งการเสื่อมสลายของ RNA การเลือกใช้น้ำบริสุทธิ์จาก Milli-Q PF plus หรือ DEPC-treated water รวมถึงการปฏิบัติงานที่ดี เช่น การสวมถุงมือขณะปฏิบัติงานและการอบเครื่องแก้วที่อุณหภูมิ 250–300 องศาเซลเซียส จะช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเสื่อมคุณภาพของ RNA^(20,22)

สำหรับห้องปฏิบัติการที่ไม่มีเครื่องทำความเย็น เช่น ในพื้นที่ห่างไกล การใช้สารละลายที่สามารถเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องได้ เช่น NAP buffer สำหรับ RNA และ DESS buffer สำหรับ DNA โดยสามารถเก็บรักษา RNA ได้นานถึง 2 เดือน และ DNA ได้นานถึง 10 เดือน^(23,45) นอกจากนี้สาร guanidinium isothiocyanate (GITC) สามารถเก็บรักษา RNA และ DNA ไว้ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียสได้นาน 8 สัปดาห์ ซึ่งเหมาะสำหรับตัวอย่างที่ต้องขนส่งจากพื้นที่ภาคสนามหรือพื้นที่ห่างไกลไปยังห้องปฏิบัติการ⁽⁴⁶⁾ ทั้งนี้มีรายงานว่า การใช้ FDL buffer สามารถเก็บตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น น้ำลายหรือเลือดได้นานถึง 8 ปี โดยไม่จำเป็นต้องแช่แข็ง ซึ่งแสดงถึงศักยภาพของการเก็บตัวอย่าง

ในระยะยาว เพื่อการวิเคราะห์ DNA โดยไม่ต้องใช้กระบวนการที่ซับซ้อน^(3,4) RNAlater (น้ำยาสำหรับรักษาสภาพ RNA ในตัวอย่างเนื้อเยื่อและเซลล์เพื่อป้องกันการย่อยสลายของ RNA ก่อนการสกัด) ใช้ในการแช่แข็งแทนไนโตรเจนเหลวสำหรับการเก็บรักษาตัวอย่างโปรตีนภาคสนาม สามารถคงสภาพการเก็บรักษาได้ดีเทียบเท่ากับวิธี Flash freezing (การแช่แข็งแบบรวดเร็วโดยใช้อุณหภูมิต่ำมาก) สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานถึง 4 สัปดาห์ ซึ่งข้อดีเหล่านี้ทำให้ RNAlater เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการเก็บรักษาไม่เฉพาะแค่โปรตีนแต่รวมถึงการรักษา DNA และ RNA ดังนั้นในสถานการณ์ที่การใช้น้ำแข็งแห้งหรือไนโตรเจนเหลวมีข้อจำกัด สามารถใช้ RNAlater ในการเก็บรักษา DNA และ RNA ให้คงคุณภาพของตัวอย่างได้ดีเทียบเท่ากับการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว นอกจากนี้ยังสามารถนำไปพัฒนาเทคโนโลยีวัสดุและระบบควบคุมอุณหภูมิที่ดีได้ในอนาคต⁽²⁵⁾

ตัวอย่างของผลกระทบจากการเก็บรักษาตัวอย่างที่ไม่เหมาะสม เช่น ในการตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของโรค COVID-19 ด้วย Real-Time PCR ต้องอาศัย RNA ที่มีความสมบูรณ์จากตัวอย่าง nasopharyngeal swab หากเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกิน 24 ชั่วโมง โดยไม่ได้ใช้สารเพื่อช่วยเก็บรักษา RNA เช่น RNAlater หรือไม่ได้แช่เย็นไว้ที่อุณหภูมิ 2–8 องศาเซลเซียส จะมีความเสี่ยงต่อการเสื่อมสภาพของ RNA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้ความไวของการตรวจวิเคราะห์ลดลง เกิดผลลบปลอมได้ และอาจส่งผลกระทบต่อการวินิจฉัยและควบคุมโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ห่างไกลที่ไม่มีระบบทำความเย็น การเลือกใช้วิธีการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม จึงอาจลดคุณภาพของสารพันธุกรรมจนไม่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ได้

สรุป

การเก็บรักษา DNA และ RNA ให้มีความคงตัวในระยะยาวเป็นส่วนสำคัญที่ส่งผลต่อการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุล มีหลายปัจจัยที่ควรพิจารณาก่อนจะนำมาใช้รักษาสารพันธุกรรมให้มีความเสถียร การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ การเสื่อมสลายของสาร

พันธุกรรมจะช่วยให้สามารถเลือกใช้วิธีการต่างๆ ร่วมกันในการเก็บรักษา DNA และ RNA ได้อย่างมีประสิทธิภาพและให้ผลดีกว่าการเลือกใช้เพียงวิธีการเดียว เช่น ใช้การควบคุมอุณหภูมิร่วมกับการใช้สารเคมี เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNase และ RNase นอกจากนี้การเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์เฉพาะที่เหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิดจะช่วยลดการเสื่อมสลายของ DNA และ RNA ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะพื้นที่ที่อยู่ห่างไกลหรือขาดแคลนอุปกรณ์เก็บรักษาความเย็น การพัฒนานวัตกรรมใหม่ๆ โดยใช้วัสดุการเก็บรักษาที่มีต้นทุนต่ำ ไม่ต้องควบคุมอุณหภูมิ และมีขั้นตอนการเตรียมและการใช้งานที่ไม่ซับซ้อนจะช่วยเสริมสร้างเทคโนโลยีและเครื่องมือในการรักษาสารพันธุกรรมให้มีคุณภาพสูงขึ้นได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา และภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้การสนับสนุนในการจัดทำบทความนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Kawane K, Motani K, Nagata S. DNA degradation and its defects. Cold Spring Harb Perspect Biol 2014; 6(6): a016394. (14 pages).
2. Bhojar L, Mehar P, Chavali K. An overview of DNA degradation and its implications in forensic caseworks. Egypt J Forensic Sci 2024; 14(1): 15. (19 pages).
3. Camacho-Sanchez M, Burraco P, Gomez-Mestre I, Leonard JA. Preservation of RNA and DNA from mammal samples under field conditions. Mol Ecol Resour 2013; 13(4): 663-73.
4. Kasu M, Ristow PG, Burrows AM, Kuplik Z, Gibbons MJ, D'Amato ME. Novel buffer for long-term preservation of DNA in biological material at room temperature. Biotechniques 2024; 76(8): 357-70.
5. Żarczyńska M, Żarczyński P, Tomsia M. Nucleic acids persistence—benefits and limitations in forensic genetics. Genes 2023; 14(8): 1643. (26 pages).
6. Keller W, Crouch R. Degradation of DNA RNA hybrids by ribonuclease H and DNA polymerases of cellular and viral origin. Proc Natl Acad Sci USA 1972; 69(11): 3360-4.
7. An R, Dong P, Komiyama M, Pan X, Liang X. Inhibition of nonenzymatic depurination of nucleic acids by polycations. FEBS Open Bio 2017; 7(11): 1707-14.
8. Wikipedia. Depurination. [online]. 2021; [cited 2024 Dec 22]; [2 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Depurination>.
9. Wikipedia AP site. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 22]; [3 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/AP_site.
10. Houseley J, Tollervey D. The many pathways of RNA degradation. Cell 2009; 136(4): 763-76.
11. Wikipedia. Antioxidant. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 22]; [11 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Antioxidant>.
12. Nkuna R, Ijoma GN, Matambo TS. Applying EDTA in chelating excess metal ions to improve downstream DNA recovery from mine tailings for long-read amplicon sequencing of acidophilic fungi communities. J Fungi 2022; 8(5): 419. (18 pages).
13. Wikipedia. Category: chelating agents. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 23]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Category:Chelating_agents.
14. Wikipedia. Sodium dodecyl sulfate. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 23]; [4 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_dodecyl_sulfate.

15. Wikipedia. Dithiothreitol. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 23]; [4 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Dithiothreitol>.
16. Wikipedia. Pyrimidine dimer. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 27]; [5 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrimidine_dimer.
17. Minas K, McEwan NR, Newbold CJ, Scott KP. Optimization of a high-throughput CTAB-based protocol for the extraction of qPCR-grade DNA from rumen fluid, plant and bacterial pure cultures. *FEMS Microbiol Lett* 2011; 325(2): 162-9.
18. Beknazarova M, Millsteed S, Robertson G, Whiley H, Ross K. Validation of DESS as a DNA preservation method for the detection of *Strongyloides* spp. in canine feces. *Int J Environ Res Public Health* 2017; 14(6): 624. (7 pages).
19. Jones A, Fujiyama C, Smith K. RNA purification and quantification methods. *Methods Mol Med* 2001; 57: 241-53.
20. Claeys M, Al Obaidi S, Bruyland K, Vandecandelaere I, Vandesompele J. Assessment of DNA/RNA defend pro: an inactivating sample collection buffer for enhanced stability, extraction-free PCR, and rapid antigen testing of nasopharyngeal swab samples. *Int J Mol Sci* 2024; 25(16): 9097. (9 pages).
21. Shedlovskiy D, Shcherbik N, Pestov DG. One-step hot formamide extraction of RNA from *Saccharomyces cerevisiae*. *RNA Biol* 2017; 14(12): 1722-6.
22. Huang YH, Leblanc P, Apostolou V, Stewart B, Moreland RB. Comparison of Milli-Q PF Plus water to DEPC-treated water in the preparation and analysis of RNA. *Biotechniques* 1995; 19(4): 656-61.
23. Mordant A, Kleiner M. Evaluation of sample preservation and storage methods for metaproteomics analysis of intestinal microbiomes. *Microbiol Spectr* 2021; 9(3): e0187721. (14 pages).
24. Dankai W, Khunamornpong S, Siriaunkgul S, Soongkhaw A, Aithin P, Lekawanvijit S. An evaluation of phosphate buffer saline as an alternative liquid-based medium for HPV DNA detection. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021; 22(11): 3441-5.
25. Jensen M, Wippler J, Kleiner M. Evaluation of RNAlater as a field-compatible preservation method for metaproteomic analyses of bacterium-animal symbioses. *Microbiol Spectr* 2021; 9(2): e0142921. (14 pages).
26. Thermo Fisher Scientific. RNAlater solutions for RNA stabilization and storage. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 29]; [5 screens]. Available from: URL: <https://www.thermofisher.com/th/en/home/brands/product-brand/rnalater.html>.
27. Panda BB, Meher AS, Hazra RK. Comparison between different methods of DNA isolation from dried blood spots for determination of malaria to determine specificity and cost effectiveness. *J Parasit Dis* 2019; 43(3): 337-42.
28. Sorensen A, Berry C, Bruce D, Gahan ME, Hughes-Stamm S, McNevin D. Direct-to-PCR tissue preservation for DNA profiling. *Int J Legal Med* 2016; 130(3): 607-13.
29. MySkinRecipes. TRIS HCl (Tris Hydrochloride). [online]. 2024; [cited 2024 Dec 29]. Available from: URL: <https://www.myskin-recipes.com/shop/th/biological-buffers/35430-tris-hcl-tris-hydrochloride.html>.
30. Wikipedia. TAE buffer. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 29]; [2 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/TAE_buffer.
31. Wikipedia. TBE buffer. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 29]; [2 screens]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/TBE_buffer.

32. Wikipedia. SSC buffer. Securly – Geolocation sharing. [online]. 2025; [cited 2025 Mar 29]; [1 screen]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/SSC_buffer.
33. Smith S, Morin PA. Optimal storage conditions for highly dilute DNA samples: a role for trehalose as a preserving agent. *J Forensic Sci* 2005; 50(5): 1101–8.
34. Habibi P, Ostad SN, Heydari A, Aliebrahimi S, Montazeri V, Foroushani AR, et al. Effect of heat stress on DNA damage: a systematic literature review. *Int J Biometeorol* 2022; 66(11): 2147–58.
35. Wikipedia. Tris. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 27]; [4 screens]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Tris>.
36. Goetz AE, Wilkinson M. Stress and the non-sense-mediated RNA decay pathway. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74(19): 3509–31.
37. Fowler EV, Starkie ML, Blacket MJ, Mayer DG, Schutze MK. Effect of temperature and humidity on insect DNA integrity evaluated by real-time PCR. *J Econ Entomol* 2024; 117(5): 1995–2002.
38. National Center for Biotechnology Information (NCBI). Pyrimidine Dimers [MeSH Terms]. MeSH Database. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?Cmd=DetailsSearch&Term=%22Pyrimidine+Dimers%22%5BMeSH+Terms%5D>.
39. Henry E, Charalambous E, Betsou F, Mathieson W. Implementing routine monitoring for nuclease contamination of equipment and consumables into the quality Management system of a laboratory. *Heliyon* 2024; 10(2): e24603. (11 pages).
40. Qamar W, Khan MR, Arafah A. Optimization of conditions to extract high quality DNA for PCR analysis from whole blood using SDS-proteinase K method. *Saudi J Biol Sci* 2017; 24(7): 1465–9.
41. Sohrabipour S, Muniz VS, Sharma N, Dwivedi DJ, Liaw PC. Mechanistic studies of DNase I activity: impact of heparin variants and PAD4. *shock* 2021; 56(6): 975–87.
42. Xi Z, Wang Z, Sarafianos SG, Myshakina NS, Ishima R. Determinants of active-site inhibitor interaction with HIV-1 RNase H. *ACS Infect Dis* 2019; 5(11): 1963–74.
43. Latham KE, Miller JJ. DNA recovery and analysis from skeletal material in modern forensic contexts. *Forensic Sci Res* 2018; 4(1): 51–9.
44. Kirkland PD, Frost MJ. The impact of viral transport media on PCR assay results for the detection of nucleic acid from SARS-CoV-2. *Pathology* 2020; 52(7): 811–4.
45. Nunes JS, Pimentel-Vera LN, Silva SB, de Bem Prunes B, Rados PV, Visioli F. Comparison of different DNA preservation solutions for oral cytological samples. *Arch Oral Biol* 2024; 158: 105867. (7 pages).
46. Tuttle RM, Waselenko JK, Yosseff P, Weigand N, Martin RK. Preservation of nucleic acids for polymerase chain reaction after prolonged storage at room temperature. *Diagn Mol Pathol* 1998; 7(6): 302–9.

Preservation of DNA and RNA for Molecular Biological Diagnosis

Kingkan Rakmanee and Treewat Watthanachockchai

Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ABSTRACT DNA and RNA are genetic information codes that play a crucial role in the regulation and transmission of hereditary traits in living organisms. These genetic materials can be degraded by various environmental factors such as temperature, humidity, UV radiation, and contamination with DNase and RNase enzymes in laboratory materials and equipment. Degradation of DNA and RNA can interfere with molecular diagnostic procedures. Preventing the degradation of genetic materials can be accomplished by chemical methods, such as the use of antioxidants, chelating agents, pH, physical processes such as storing samples at -80°C and avoiding exposure to UV light, and biological methods such as using sterile materials and equipment and preventing microbial activity. These processes are suitable for applications in preserving DNA, RNA, and biological samples for molecular analysis in medical laboratories.

Keywords: Genetic material, DNA, RNA, Genetic material degradation, Genetic material preservation

การย่อยสลายเซลล์โฮสต์และอนุภาคไวรัส ในการสกัดกรดนิวคลีอิกของไวรัส จากตัวอย่างมนุษย์

ตรีวัฒน์ วัฒนะโชคชัย และ กิ่งกาญจน์ รักษมณี

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

บทคัดย่อ การย่อยสลายเซลล์และทำลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรมเป็นขั้นตอนแรกสำหรับการสกัดกรดนิวคลีอิก ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญสำหรับกระบวนการตรวจวิเคราะห์เชื้อไวรัสก่อโรค เช่น HIV, SAR-CoV-2, MERS-CoV และ Influenza เป็นต้น ซึ่งจะช่วยควบคุม ใ้การแพร่ระบาด รวมทั้งศึกษาวิวัฒนาการสายพันธุ์ของไวรัสก่อโรค ขั้นตอนนี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางด้านชีวโมเลกุล เช่น PCR, Real-Time PCR และ Next-Generation Sequencing (NGS) การพัฒนาวิธีการสกัดเพื่อใช้ทำลายโครงสร้างนิวคลีโอโปรตีน ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นิวคลีเอส และการกำจัดสิ่งปนเปื้อนถือเป็นสิ่งสำคัญ วิธีการเหล่านี้ช่วยให้เซลล์และอนุภาคไวรัสย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประสบการณ์ในการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่า คุณภาพของกรดนิวคลีอิกที่สกัดได้มีผลโดยตรงต่อความแม่นยำของการวิเคราะห์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อไวรัสต่ำๆ การพัฒนาวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพจึงเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากช่วยให้ได้กรดนิวคลีอิกที่มีความบริสุทธิ์และมีปริมาณเพียงพอต่อการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการและการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

คำสำคัญ: การย่อยสลายเซลล์, การทำลายอนุภาคไวรัส, นิวคลีโอโปรตีน, การสกัดกรดนิวคลีอิก

Corresponding author E-mail: kingvirusrama@gmail.com

Received: 29 April 2025

Revised: 24 July 2025

Accepted: 29 July 2025

บทนำ

ไวรัสก่อโรคเป็นภัยคุกคามร้ายแรงต่อสุขภาพของประชาชน โดยทั่วไปการวิเคราะห์กรดนิวคลีอิกจากตัวอย่างทางชีวภาพหรือสิ่งแวดล้อมเป็นการศึกษาเพื่อระบุสายพันธุ์และวิวัฒนาการของเชื้อไวรัส⁽¹⁾ การสกัดกรดนิวคลีอิก (nucleic acid extraction) เป็นขั้นตอนแรก และเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะช่วยให้สามารถทำการตรวจวิเคราะห์ในระดับโมเลกุลได้⁽¹⁾ เช่น DNA Hybridization, RNA Hybridization, Polymerase Chain Reaction (PCR), Real-Time PCR, DNA หรือ DNA หรือ RNA sequencing (RNA-Seq) หรือ Whole Transcriptome Sequencing ซึ่งวิธีการเหล่านี้ได้รับความสนใจและถูกนำไปใช้ในประโยชน์ต่างๆ มากมาย รวมถึงด้านสาธารณสุข การวินิจฉัยทางคลินิก และชีววิทยา⁽²⁾

ปัจจุบันมีการวิเคราะห์หาเชื้อไวรัสที่ยังไม่ทราบสายพันธุ์ (unknown virus) หรือไวรัสหลายชนิดในสิ่งส่งตรวจเดียวกันโดยใช้เทคนิค Viral Metagenomics ร่วมกับ Next-Generation Sequencing นั้น การเลือกวิธีการสกัดมีผลต่อความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์ รวมทั้งการสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่อาศัยในมนุษย์ (Human Virome) เนื่องจากวิธีการสกัดที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่ม DNA หรือ RNA จากตัวอย่าง หากวิธีการไม่เหมาะสมอาจทำให้สูญเสียสารพันธุกรรมของไวรัสบางส่วนทำให้ปริมาณไม่เพียงพอต่อการวิเคราะห์หรืออาจมีการปนเปื้อนสารอื่นๆ ในสิ่งส่งตรวจได้⁽³⁾ เช่น การสกัดแบบฟีนอล-คลอโรฟอร์ม (phenol-chloroform extraction) และการปั่นเหวี่ยงแบบไล่ระดับความหนาแน่น (density gradient centrifugation) หากมีสารเคมีที่ใช้ตกค้างหลงเหลืออยู่อาจส่งผลรบกวนหรือยับยั้งปฏิกิริยา PCR ได้⁽²⁾

การสกัดกรดนิวคลีอิก โดยทั่วไปประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ได้แก่ การทำให้เซลล์แตก (cell disruption) การทำลายโครงสร้างระหว่างโปรตีนและกรดนิวคลีอิก (nucleoprotein complex denaturation) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นิวคลีเอส (nuclease inactivation) และการกำจัดสารปนเปื้อน (contaminant removal)⁽¹⁾ ในช่วงสถานการณ์การแพร่ระบาด

COVID-19 ทั่วโลกต่างขาดแคลนอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการตรวจวิเคราะห์รวมทั้งชุดสกัด จึงมีการพัฒนาและประยุกต์ใช้วิธีการสกัดแบบ Precipitation-Enhanced Analyte Retrieval โดยใช้สารละลาย lysis solution ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มไวรัส จากนั้นจึงตกตะกอน RNA, DNA และโปรตีนโดยใช้แอลกอฮอล์ สามารถสกัดสารพันธุกรรมได้อย่างรวดเร็ว ต้นทุนต่ำ และมีประสิทธิภาพเทียบเท่าชุดสกัดในเชิงพาณิชย์ต่าง ๆ⁽⁴⁾

แม้ว่าข้อมูลเกี่ยวกับการย่อยสลายเซลล์และอนุภาคไวรัสจะมีหลากหลาย แต่ข้อมูลเหล่านี้ยังไม่ได้มีการรวบรวมเพื่อประโยชน์ต่อการใช้ในการตรวจวิเคราะห์และการศึกษาทางชีวโมเลกุล ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารที่ใช้ในการย่อยสลายเซลล์และอนุภาคไวรัส เพื่อสนับสนุนการพัฒนาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในงานการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และด้านชีวโมเลกุล

วิธีการสืบค้น

สืบค้นข้อมูลทางวิชาการจากบทความ งานวิจัย เอกสารที่ตีพิมพ์ และแหล่งข้อมูลทางวิชาการอื่นๆ จากฐานข้อมูล PubMed และ Google Scholar โดยเน้นเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับการสกัดกรดนิวคลีอิก คำสำคัญที่ใช้ในการค้นหา ได้แก่ nucleic acid extraction, cell lysis, viral particle disruption และ nucleoprotein เป็นต้น

เนื้อหา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์โฮสต์และไวรัส

เซลล์ร่างกายมนุษย์มีเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีฟอสโฟลิปิด (phospholipid) เป็นองค์ประกอบพื้นฐาน⁽⁵⁾ เป็นเยื่อหุ้ม (cell membrane) ซึ่งเป็นโมเลกุล amphipathic โดยฟอสโฟลิปิดจะจัดเรียงตัวกันเป็นไบเลเยอร์ (bilayer) ในน้ำ มีส่วนหัวที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนหางที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยส่วนหัวที่มีฟอสเฟตอยู่ด้านนอก (phosphate-containing head group) จะสัมผัสกับน้ำและหางไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon tail)

จะอยู่ด้านใน การก่อตัวเป็นโครงสร้างของ phospholipid bilayer เพื่อสร้างเกราะป้องกันและแยกส่วนภายในเซลล์ออกจากสภาพแวดล้อมภายนอก⁽⁵⁾

โครงสร้างของเซลล์ ประกอบด้วย เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ไซโทพลาซึม (cytoplasm) ไลโซโซม (lysosome) เวสิเคิลและแวคิวโอล (vesicle and vacuole) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ไรโบโซม (ribosome) เซนทริโอลและเซนโทรโซม (centriole and centrosome) กอลจิแอปพาราตัส (golgi apparatus) เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมแบบหยาบ (rough endoplasmic reticulum) เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมแบบเรียบ (smooth endoplasmic reticulum) และนิวเคลียส (nucleus)^(6,7) ภายในนิวเคลียส ประกอบด้วย เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) โครมาติน (chromatin) และ นิวคลีโอลัส (nucleolus)⁽⁸⁾ นิวเคลียสเป็นที่เก็บข้อมูลทางพันธุกรรมและศูนย์ควบคุมการแสดงออกของเซลล์ ในการจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication) การถอดรหัส (transcription) ซึ่งกระบวนการอาร์เอ็นเอทั้งหมดเกิดขึ้นภายในนิวเคลียสและกระบวนการแปลรหัส (translation) ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายในการแสดงออกของยีนเกิดขึ้นในไซโทพลาซึม⁽⁸⁾

ฮิสโตน (histone) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่จัดเก็บและบรรจุ DNA ในโครงสร้างที่เรียกว่าโครมาติน (chromatin) ทำให้ DNA ที่มีความยาวมากบรรจุอยู่ในนิวเคลียสได้อย่างมีระบบ มี 4 หน่วยย่อย ได้แก่ H2A, H2B, H3 และ H1 โดย DNA จะพันรอบฮิสโตน เรียกโครงสร้างนี้ว่า นิวคลีโอโซม (nucleosome)⁽⁹⁾ เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างดีออกซีไรโบนิวคลีโอโปรตีน (deoxyribonucleoprotein) ที่พบมากที่สุดคือนมนุษย์⁽¹⁰⁾

ไวรัสจำเป็นต้องอาศัยอยู่ในสิ่งมีชีวิตเพื่อขยายพันธุ์ สารพันธุกรรมทั้งหมดของไวรัส (viral genome) ประกอบด้วย DNA หรือ RNA ทำหน้าที่ในการควบคุมการจำลองตัวเอง โดยจะสังเคราะห์ส่วนประกอบของไวรัสโดยใช้ระบบของเซลล์โฮสต์ที่เหมาะสม อนุภาคของไวรัสหรือเรียกว่า ไวริออน (virion) ถูกสร้างขึ้นจากส่วนประกอบที่สังเคราะห์ใหม่ในเซลล์โฮสต์ทำหน้าที่เป็นพาหะในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมทั้งหมด (genome)

ไปยังเซลล์โฮสต์ถัดไปเพื่อเริ่มกระบวนการติดเชื้อใหม่ของไวรัส⁽¹¹⁾ องค์ประกอบชิ้นสำคัญของไวรัส ประกอบด้วย viral genome สำหรับจำลองตัวเองและแคปซิด (capsid) ซึ่งเป็นชั้นโปรตีนที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรมสำหรับไวรัสที่มีเยื่อหุ้ม (envelope virus) แคปซิดจะถูกล้อมรอบด้วย lipid bilayer ที่ได้มาจากเซลล์โฮสต์ โดยมีไกลโคโปรตีน (glycoprotein) เฉพาะของไวรัส (virus-specific glycoproteins) แทรกอยู่ ไวรัสต้องพึ่งพาเซลล์โฮสต์ในการสังเคราะห์โปรตีนและโมเลกุลที่จำเป็นในการจำลองตัวเอง⁽¹¹⁾ โปรตีนเยื่อหุ้ม (membrane protein) เป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดคือนไวรัสและเป็นองค์ประกอบสำคัญของโครงสร้างในการกำหนดรูปร่างของไวรัส โดยจะเชื่อมโยงระหว่างนิวคลีโอแคปซิด (nucleocapsid) กับเยื่อหุ้มไวรัสทำให้โครงสร้างไวรัสมีความเสถียร เช่น ในเชื้อไวรัส Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) มีลักษณะเป็นเกลียวสามสาย (triple helix bundle)⁽¹²⁾ เป็นต้น

Nucleocapsid เป็นไกลโคโปรตีนที่จับกับ viral genome ทำหน้าที่เป็นแกนกลางของไวรัส ปกป้องกรดนิวคลีอิกจากสภาพแวดล้อมภายนอกและเป็นส่วนสำคัญในโครงสร้างไวรัส⁽¹²⁾ ซึ่งโปรตีนที่จับกับ DNA หรือ RNA จะถูกบรรจุใน capsid อย่างแน่นหนา เรียกว่า นิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein) โดยโปรตีนที่จับกับ DNA เรียกว่า ดีออกซีไรโบนิวคลีโอโปรตีน (deoxyribonucleoprotein) และโปรตีนที่จับกับ RNA เรียกว่า ไรโบนิวคลีโอโปรตีน (ribonucleoprotein) ซึ่งทำหน้าที่ในการปกป้องกรดนิวคลีอิกและช่วยในกระบวนการจำลองตัวเองของไวรัส⁽¹⁰⁾ เช่น ไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์เอ (Influenza A Virus)⁽¹³⁾ กล่าวได้ว่า nucleoprotein มีส่วนสำคัญในกระบวนการต่างๆ มากมายในวงจรชีวิตของไวรัส ได้แก่ การห่อหุ้ม (coating) การปกป้อง (protection) RNA ของไวรัส การควบคุมกระบวนการถอดรหัส (regulation of transcription) การควบคุมกระบวนการจำลองตัวเอง (regulation of replication) และการกระตุ้นให้เกิดการยับยั้งภูมิคุ้มกัน (induction of immunosuppression) ในร่างกายของโฮสต์⁽¹⁴⁾

การย่อยสลายเซลล์โฮสต์และการทำลายโครงสร้างไวรัส

ในการสกัดเซลล์ การเลือกวิธีการทำลายเซลล์ที่เหมาะสมเป็นขั้นตอนที่สำคัญ สามารถแบ่งตามกระบวนการออกเป็นหลายประเภท ได้แก่ กระบวนการทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ กระบวนการทางฟิสิกส์ เช่น การใช้แสงเลเซอร์ คลื่นเสียง เครื่องกล และไฟฟ้า กระบวนการทางชีววิทยา เช่น การใช้เอนไซม์ย่อยสลายเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดต่างกัน ทั้งนี้ความเหมาะสมของแต่ละวิธีขึ้นกับลักษณะของการศึกษา เช่น เซลล์อยู่ในสารละลายหรือยึดติดกับพื้นผิวและต้องการโปรตีนที่คงสภาพตามธรรมชาติหรือยอมให้เสียสภาพธรรมชาติ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อวิธีการทำลายเซลล์ให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ของการศึกษา⁽¹⁵⁾ ดังนี้

กระบวนการทางเคมี

ใช้สารละลาย lysis buffer ในการสกัดกรดนิวคลีอิก เพื่อแยกและทำลายองค์ประกอบของเซลล์หรืออนุภาคไวรัสออกจากกัน lysis buffer ส่วนใหญ่มีเกลือบัฟเฟอร์ (buffering salt) เช่น Tris-HCl เพื่อควบคุมค่า pH และเกลือไอออนิก (ionic salt) เช่น NaCl เพื่อควบคุมความเข้มข้นของสารละลาย (osmolality) ในการสกัดกรดนิวคลีอิก มีการเติมสารซักฟอก (detergent) เช่น Triton X-100 หรือ Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) เพื่อทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์⁽¹⁶⁾

สารซักฟอก คือ สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ใช้ในห้องปฏิบัติการชีววิทยาโมเลกุลในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม เพื่อทำลาย cell membrane และไขมันในรูปแบบ lipid bilayer ทำให้โครงสร้างเยื่อหุ้มเหล่านั้นเสียหายส่งผลให้ DNA และ RNA หลุดออกจากโครงสร้างที่ห่อหุ้มภายในเซลล์ ซึ่งโปรตีนและเยื่อหุ้มมีอยู่หลายชนิดและมีความคงตัวในสารละลายบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้สารซักฟอกจึงควรเลือกให้เหมาะสมกับโปรตีนและเยื่อหุ้มชนิดต่าง ๆ⁽¹⁷⁾ สารซักฟอกที่นิยมใช้ในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรมเช่น SDS, Triton X-100, Tween-20⁽¹⁶⁾ และ Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB)⁽¹⁸⁾ เป็นต้น

การเลือกใช้ lysis buffer เพื่อแยก DNA และ RNA จากโครงสร้างโปรตีนและเยื่อหุ้มสารพันธุกรรมด้วยสารซักฟอกเพื่อย่อยสลายเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีนที่ห่อหุ้มกรดนิวคลีอิกช่วยให้ DNA และ RNA หลุดออกมา ซึ่งมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด ได้แก่ Tergitol-type NP-40 (NP-40) lysis buffer, SDS lysis buffer, Ammonium-Chloride-Potassium (ACK) lysis buffer และ Gentle lysis buffer⁽¹⁶⁾

กระบวนการทางกายภาพ

การทำลายเซลล์โดยใช้แรงกล (mechanical disruption) เป็นการบดหรือทำให้เซลล์แตกด้วยแรงกล เช่น การบดตัวอย่างด้วยโกร่งและลูกโกร่งสำหรับเซลล์ที่มีความแข็ง⁽¹⁹⁾ หรือการใช้โฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) เช่น Dounce Homogenizer ใช้บดตัวอย่างในสารละลายบัฟเฟอร์⁽²⁰⁾ ได้แก่

การบดด้วยมือ (manual grinding) การใช้เครื่องมือ ครก และสาก (mortar and pestle) หรือ โกร่งและลูกโกร่งในการบด เช่น ตัวอย่างจากหมอนรองกระดูกสันหลังของมนุษย์ (human intervertebral disc)⁽¹⁹⁾

การใช้แรงกระแทก (impact force) เป็นการบดหรือกระแทกตัวอย่างเซลล์ด้วยมือโดยใช้ลูกสูบ (pestle) ในกระบอกแก้ว เช่น อุปกรณ์ Dounce Homogenizer ร่วมกับสารละลายบัฟเฟอร์ไฮโปโทนิก (hypotonic buffer) ช่วยให้เซลล์แตกสลายได้ง่ายด้วยแรงกล ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยไม่ต้องใช้สารซักฟอก⁽²⁰⁾ เช่น การใช้ Potter-Elvehjem Tissue Grinder และ Dounce Homogenizer เพื่อสกัดเนื้อเยื่อจากสมอง^(20,21)

การใช้แรงเฉือนสูง (high-shearing homogenizer) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับสลายเซลล์โดยใช้หลักการ Rotor-Stator เช่น เครื่อง Polytron Homogenizer ที่ใช้สกัด RNA จากหัวใจ⁽²²⁾

การใช้แรงดัน (high-pressure homogenization) การใช้แรงดันสูงหรือระบบแรงดันอื่น ๆ โดยใช้แรงดันจากลูกสูบ (piston) โดยการบีบอัดตัวอย่างผ่านช่องขนาดเล็ก (orifice) เพื่อให้เกิดแรงเฉือน (shearing force) และแรงอัด (compressive force) เพื่อทำลายเซลล์ เช่น การใช้เครื่อง French Press ทำลายโครงสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงของมนุษย์⁽²³⁾ หรือ

การใช้เครื่อง Gaulin Homogenizer ที่สร้างแรงดันสูงมากกว่า French Press ทำให้เกิดการสร้างฟองอากาศ (cavitation) ในสภาวะสุญญากาศ (vacuum condition) และเคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูงเหมือนเครื่องบินเจ็ต (high-speed jet) ทำให้เกิดแรงเฉือนด้วยของเหลว (fluid shear) ขึ้น⁽²⁴⁾

การใช้ลูกปัดขนาดเล็ก (bead) เพื่อทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และปลดปล่อยสารพันธุกรรมออกจากเซลล์มีอยู่ด้วยกัน 2 แบบ ได้แก่ อาศัยกลไกการหมุน (rotating mechanism) เป็นการปั่นตัวอย่างพร้อมกับลูกปัดขนาดเล็กในของเหลว ซึ่งจะทำให้เซลล์ที่ถูกเหวี่ยงภายใน grinding chamber แตก เช่น เครื่อง Bead Mill Homogenizer ในการสกัดตัวอย่างสมอง⁽²⁵⁾ และอาศัยแรงชน (collision force) เป็นการสกัดตัวอย่างโดยใส่ลงไปในหลอดตัวอย่างร่วมกับสารละลาย จากนั้นใส่ลูกปัดแล้วนำไปปั่นด้วยความเร็วสูงจะทำให้เกิดแรงเฉือน (shearing force) แรงกระแทก (impact force) และแรงตี (hitting force) ของลูกปัดขนาดเล็กกับเซลล์ ทำให้โครงสร้างเซลล์ถูกทำลาย⁽²⁶⁾ เช่น การใช้ลูกปัด (bead beating) ในการสกัด DNA จากตัวอย่างอุจจาระของมนุษย์⁽²⁷⁾

ละอองของเหลวเคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูง (Liquid Aerosol-High-Velocity Stream) อาศัยกระบวนการ nebulization ในการสร้างละอองของเหลว (liquid aerosol) ที่มีความเร็วสูงในการทำลายเซลล์ เช่น BioNeb Cell Disruption เป็นเครื่อง nebulizer ที่พ่นละอองของเหลวขนาดเล็กที่มีความละเอียดเพื่อสร้างแรงที่สม่ำเสมอในการทำลายเซลล์และโมเลกุล⁽²⁸⁾

การทำลายเซลล์โดยใช้อุณหภูมิ (thermal disruption) เป็นการใช้อุณหภูมิที่มีความร้อนและความเย็น เพื่อทำให้ผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการแตกหักและเสียสภาพทางโครงสร้าง ได้แก่

การใช้ความร้อน (heat lysis) ในการสกัดสารพันธุกรรมด้วยการต้มหรือบ่มที่อุณหภูมิสูงเพียงอย่างเดียว พบว่ามีประสิทธิภาพต่ำจึงต้องเติมสารเข้าไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด เช่น การสกัดสารพันธุกรรมด้วย chelating resin หรือเรียกว่า Chelex พบว่าช่วยเพิ่มความไวในการตรวจเชื้อไวรัส

SARS-CoV-2 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียว ซึ่งสามารถลดระยะเวลาและขั้นตอนการสกัดที่มีความซับซ้อนหลายขั้นตอนลงได้ นอกจากนี้ขั้นตอนการต้มหรือการบ่มที่อุณหภูมิสูงจะช่วยยับยั้งการติดเชื้อ เช่น SARS-CoV-2 ทำให้ขั้นตอนการทำงานมีความปลอดภัยขึ้น⁽²⁹⁾

การสลับระหว่างแช่แข็งและทำละลาย (freeze-thaw cycle) เป็นการแช่ตัวอย่างในไนโตรเจนเหลวหรือแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80°C และทำให้ละลายแบบรวดเร็ว โดยการทำให้ตัวอย่างรอบเพื่อให้ผนังเซลล์แตกออก เหมาะสำหรับเซลล์ที่มีผนังบาง เช่น การใช้วิธีผสมผสานระหว่างวิธีทำให้เซลล์บวมด้วยน้ำ (hypotonic burst) ร่วมกับการแช่แข็ง-ทำละลายหลายๆ รอบ และโซนิเคชัน (sonication) ในการสกัดเชื้อ Lymphocytic Choriomeningitis Virus วิธีการย่อยสลายนี้เป็นวิธีที่เร็วและมีประสิทธิภาพสูงสุดในการปล่อยอนุภาคไวรัสที่ติดเชื้อ สามารถนำไปใช้กับไวรัสอื่นๆ ที่มีวงจรชีวิตแบบฟังพาเซลล์ที่ยากต่อการปลดปล่อยเชื้อไวรัสปริมาณมาก ๆ ออกจากเซลล์โฮสต์ได้⁽³⁰⁾

การสลับระหว่างความร้อนและความเย็น (cycling heating and cooling) เป็นวิธีการที่ทำลายโครงสร้างของเซลล์และอนุภาคไวรัส โดยอาศัยการสลับกันของอุณหภูมิไปมาระหว่างความร้อนและความเย็น เช่น การให้ความร้อนกับตัวอย่างที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยการทำให้เย็น 6°C เป็นเวลา 5 นาที เป็นวิธีการทำลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรมในกระบวนการสกัดกรดนิวคลีอิกได้อย่างรวดเร็ว เหมาะสำหรับสถานการณ์การระบาดใหญ่หรือโรคที่มีการระบาดสูง เช่น การระบาดของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2⁽³¹⁾

การทำลายเซลล์ที่เกิดจากคลื่นความถี่ (wave-induced cell disruption) การใช้คลื่นเสียงและคลื่นความถี่เพื่อทำลายผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ คลื่นความถี่ทำให้โครงสร้างเซลล์ระเบิดหรือแตกออกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ การทำลายเซลล์โดยใช้คลื่นเสียง (Sound Wave-Based Cell Disruption) และการทำลายเซลล์โดยใช้คลื่นความถี่ (Frequency-Based Cell Disruption) ได้แก่

การทำลายเซลล์โดยใช้คลื่นเสียง (Sound Wave-Based Cell Disruption) เช่น การใช้คลื่นเสียง (sonication) ที่อยู่ในช่วงความถี่สูงในการสั่นสะเทือนทำให้เกิดแรงเฉือนทำลายโครงสร้างทางกายภาพของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอย่าง เช่น การสกัดกรดนิวคลีอิกจากเลือดที่แข็งตัว โดยใช้คลื่นเสียงความถี่ 100 Hz อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง⁽³²⁾ และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมาก (ultrasonication) ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ที่รวดเร็ว⁽²⁹⁾ การใช้ความถี่สูงจะเกิดโพรงอากาศจากกระบวนการ cavitation ในของเหลว ซึ่งจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามความถี่ คาดว่าเกิน 1,000 W/cm² ที่ 1 MHz การก่อตัวของฟองอากาศในระดับจุลภาคและระเบิดออกจะสร้างแรงกระแทกและแรงเฉือนสูง ซึ่งจะไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ทำให้เซลล์แตก⁽³³⁾

การทำลายเซลล์โดยใช้คลื่นความถี่ (Frequency-Based Cell Disruption) เช่นการใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic wave) เกิดจากการสั่นแบบประสานกัน (synchronized oscillation) ของสนามไฟฟ้า (electric field) และสนามแม่เหล็ก (magnetic field) ทำให้เกิดคลื่นความถี่ เช่น คลื่นวิทยุ (radio wave) คลื่นไมโครเวฟ (microwave) คลื่นอินฟราเรด (infrared) เป็นต้น⁽³⁴⁾ การใช้คลื่นไมโครเวฟ (Microwave-Assisted Lysis) อาศัยพลังงานไมโครเวฟที่ส่งไปยังตัวอย่าง ซึ่งปริมาตร ตำแหน่ง และปริมาณตัวอย่าง สารเจือจางที่ใช้ ประเภทของหลอด และการตั้งค่าพลังงานที่แตกต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดกรดนิวคลีอิก ถ้าให้พลังงานที่มากเกินไปอาจส่งผลให้ DNA เสื่อมสภาพ วิธีนี้มีต้นทุนต่ำ ซึ่งเตาไมโครเวฟมีอยู่ทั่วไป ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดในการสกัดใช้คลื่นไมโครเวฟที่ 300 วัตต์ เป็นเวลา 40 วินาที⁽³⁵⁾

การทำลายเซลล์ด้วยกระแสไฟฟ้า (Electric-Induced Cell Disruption) เช่น การสลายเซลล์ด้วยไฟฟ้าเคมี (electrochemical cell lysis) อาศัยขั้วไฟฟ้าที่รับอิเล็กตรอน (cathode) หรือขั้วบวก และขั้วไฟฟ้าที่ให้อิเล็กตรอน (anode) หรือขั้วลบในการแลกเปลี่ยนไอออนโดยใช้สารละลายน้ำเกลือ (saline solution) ในภาวะ cathode and anode chamber เพื่อสร้างไอออนไฮดรอกไซด์ (hydroxide ions; OH⁻) ที่ขั้วลบทำให้เกิดด่างในการทำลายเซลล์ (alkaline lytic agent)⁽³⁶⁾

กระบวนการทางชีวภาพ

การใช้เอนไซม์โปรตีนเนสเค (Proteinase K) เอนไซม์ Proteinase K เป็นเอนไซม์เซอรีนโปรตีเอส (serine protease) ซึ่งเอนไซม์นี้ผลิตจากเชื้อรา *Tritirachium album* Limber มีลักษณะเฉพาะโดยจะแยกพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ที่ปลาย carbon terminal ออกจากกรดอะมิโนหลายชนิด ใช้ในการย่อยสลายเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและโปรตีนเปลือกหุ้มไวรัส เอนไซม์ Proteinase K ช่วยย่อยสลายเซลล์ส่งผลให้เอนไซม์นิวคลีเอสภายในเซลล์ที่ปลดปล่อยออกมาสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว และสามารถแยกกรดนิวคลีอิกที่สมบูรณ์ได้ในขั้นตอนการสกัด⁽³⁷⁾ เช่น การใช้เอนไซม์ Proteinase K ที่อุณหภูมิ 25°C ในการสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 โดยตรงจาก Viral Transport Medium (VTM) นอกจากนี้การสกัดกรดนิวคลีอิกยังถูกนำมาใช้ในการลดความหนืดของเมือกให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน เพื่อให้ตัวอย่างเหมาะสมสำหรับการสกัดกรดนิวคลีอิก เช่น การตรวจไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์เอ (Influenza A Virus) จากตัวอย่างเสมหะ⁽³⁸⁾

การใช้เอนไซม์ไลเปส (Lipase) เอนไซม์ Lipase เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของไขมัน (fat) ใช้ย่อยเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ⁽³⁹⁾ เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของเยื่อหุ้ม⁽⁵⁾ หรือโครงสร้างของเชื้อไวรัสที่มีเปลือกหุ้ม (envelope virus) ที่มีส่วนประกอบของ lipid bilayer ที่ได้มาจากเซลล์โฮสต์⁽¹¹⁾ ทำให้เยื่อหุ้มเหล่านี้ถูกทำลายเพื่อช่วยให้เอนไซม์และการใช้สารเคมีอื่นๆ ทำงานได้ดีขึ้นในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม⁽³⁹⁾

วิธีการและสารละลายที่ใช้ในการย่อยสลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรม

การย่อยสลายและทำลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรมเป็นขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการสกัดกรดนิวคลีอิก ช่วยให้ DNA และ RNA หลุดออกจากโครงสร้างหรือโปรตีนที่ห่อหุ้ม วิธีการและสารต่างๆ ที่ใช้ล้วนมีบทบาทเฉพาะในกระบวนการสลายและทำลายโครงสร้างที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรม ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารเคมี เอนไซม์ และวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างเซลล์และอนุภาคไวรัส

วิธีการ/สารเคมี/ เอนไซม์	ประเภท	กลไกการทำลายโครงสร้าง	ข้อดี	ข้อจำกัด
Guanidinium thiocyanate	เกลือไอออนิก (ionic salt)	ทำลายพันธะไฮโดรเจน และโครงสร้างโปรตีน ให้เสียสภาพ	ใช้ในการสลายเซลล์ และอนุภาคไวรัสในสาร สกัด RNA และ DNA ยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ RNase และ DNase โดยการ ทำให้เอนไซม์เสื่อมสภาพ	เป็นสารเคมีอันตราย และ ต้องใช้งานร่วมกับฟีนอล คลอโรฟอร์มหรือแอลกอฮอล์ หากตกค้างจะรบกวนปฏิกิริยา PCR
Sodium dodecyl sulfate	สารลดแรงตึงผิว ชนิด ionic	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และโปรตีนโดย denaturation	มีประสิทธิภาพสูงใน การทำลายโปรตีน ใช้ร่วมกับไลโซไซม์ (lysozyme) ในการ สลายผนังเซลล์แบคทีเรีย แกรมบวก	หากมีสารตกค้างเหลืออยู่จะ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และทำให้โปรตีนเสียสภาพ
Triton X-100	สารลดแรงตึงผิว ชนิด non-ionic	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และ ช่วยให้เอนไซม์อื่นทำงานได้	ส่งเสริมกิจกรรม การทำงานของเอนไซม์	ต้องใช้งานร่วมกับวิธีอื่น เนื่องจาก มีประสิทธิภาพในการทำลาย เซลล์ต่ำ
Tween-20/13	สารลดแรงตึงผิว ชนิด non-ionic	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ในลักษณะ ที่ไม่รุนแรง	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ โดยไม่ทำลายโปรตีน หรือโครงสร้างอื่น	ต้องใช้งานร่วมกับวิธีอื่น เนื่องจาก มีประสิทธิภาพในการทำลาย เซลล์ต่ำ
Cetyltrimethyl ammonium bromide	สารลดแรงตึงผิว ชนิด cationic	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และ จับกับ DNA และ RNA	แยกกรดนิวคลีอิกได้ดี	หากล้างออกไม่หมดและตกค้าง จะรบกวนปฏิกิริยา PCR
Tergitol-type NP-40	สารลดแรงตึงผิว	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์โดย ไม่ทำลายโปรตีนหรือ DNA	รักษาสภาพโครงสร้าง DNA	ต้องใช้งานร่วมกับวิธีอื่น เนื่องจาก มีประสิทธิภาพในการทำลาย เซลล์ต่ำ
Ammonium- Chloride-Potassium	สารเคมี	สร้างแรงดันออสโมติก เพื่อทำลายเซลล์	เหมาะกับเซลล์ เม็ดเลือดแดง	ไม่เหมาะกับเซลล์ชนิดอื่น
Dounce Homogenizer	เครื่องมือเชิงกล	ใช้แรงบดเบาๆ เพื่อทำลาย โครงสร้างเซลล์	ควบคุมระดับการทำลายได้	ใช้แรงมากเหมาะกับ ตัวอย่างปริมาณน้อย
Mortar and pestle	เครื่องมือเชิงกล	บดเซลล์อย่างหยาบ เพื่อเปิดโครงสร้างเซลล์	ใช้งานง่าย ราคาถูก	ประสิทธิภาพต่ำต้องใช้งาน ร่วมกับวิธีอื่น
Potter-Elvehjem Tissue Grinder	เครื่องมือเชิงกล	ใช้แรงบดหมุนในการทำลาย โครงสร้างเซลล์	เหมาะกับเนื้อเยื่ออ่อน	ไม่เหมาะกับเซลล์ที่แข็งแรง
Polytron Homogenizer	เครื่องมือเชิงกล	ใช้แรงตัดหมุนความเร็วสูง เพื่อทำลายโครงสร้างเซลล์	ประสิทธิภาพสูง	อาจทำให้กรดนิวคลีอิก ถูกทำลาย เกิดการแตกหัก
French Press	เครื่องมือ แรงดันสูง	ใช้แรงดันไฮดรอลิกสูง ทำลายเซลล์	ประสิทธิภาพสูง	เครื่องมือมีราคาแพง
Gaulin Homogenizer	เครื่องมือ แรงดันสูง	ใช้แรงเฉือนและ แรงดันทำลายเซลล์	ใช้กับตัวอย่างปริมาณมาก	อาจทำลายโครงสร้าง สารพันธุกรรม
Bead mill	เครื่องมือเชิงกล	ใช้ลูกปัดบดเซลล์ในระบบปิด	เหมาะกับเซลล์ที่แข็งแรง เช่น เชื้อรา	ต้องควบคุมอุณหภูมิ เนื่องจาก อาจมีความร้อนในระบบสูง

ตารางที่ 1 สารเคมี เอนไซม์ และวิธีกลต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างเซลล์และอนุภาคไวรัส (ต่อ)

วิธีการ/สารเคมี/ เอนไซม์	ประเภท	กลไกการทำลายโครงสร้าง	ข้อดี	ข้อจำกัด
Bead beating	เครื่องมือเชิงกล	ใช้ลูกปัดบดในหลอดทำลายเซลล์	เหมาะกับเซลล์ที่มีความแข็งแรง	ต้องควบคุมอุณหภูมิ
Nebulizer	เครื่องมือเชิงกล	ใช้พ่นตัวอย่างในของเหลวให้เป็นละอองละเอียด	ใช้งานง่าย ลดแรงเฉือน ไม่ทำลายกรดนิวคลีอิก	ไม่เหมาะกับเซลล์ที่มีผนังหนา เช่น เซลล์พืชหรือแบคทีเรียแกรมบวก
Heat lysis	ความร้อน	ทำให้โปรตีนและเยื่อหุ้มเสียโครงสร้าง	ใช้งานง่าย ต้นทุนต่ำ	อาจทำลายโครงสร้างสารพันธุกรรม ให้เสียสภาพธรรมชาติ
Freeze-thaw cycles	ความเย็น/การละลาย	สร้างแรงดันภายในเซลล์จากการเปลี่ยนสถานะน้ำ	ต้นทุนต่ำ ใช้งานง่าย เหมาะกับเซลล์ที่มีผนังบาง	ใช้เวลานาน ไม่เหมาะกับตัวอย่างปริมาณมาก
Cycling heating and cooling	ความเย็น/ความร้อน	การสลับอุณหภูมิเพื่อทำให้โครงสร้างเซลล์เปราะและแตกตัว	ไม่ต้องใช้สารเคมี ต้นทุนต่ำ	ประสิทธิภาพต่ำเมื่อใช้เพียงวิธีนี้เพียงอย่างเดียว
Sonication	คลื่นเสียง	ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อทำลายเยื่อหุ้มและเซลล์	มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเซลล์ ใช้งานง่าย ไม่ต้องใช้สารเคมี	ไม่เหมาะกับตัวอย่างปริมาณมาก เสียงดัง
Ultrasonication	คลื่นเสียงความถี่สูง	ใช้ความถี่เสียงที่สูงมาก ๆ สำหรับทำลายโครงสร้างเซลล์	มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเซลล์ ใช้งานง่าย ไม่ต้องใช้สารเคมี	ไม่เหมาะกับตัวอย่างปริมาณมาก หากใช้เวลานานเกินไป อาจทำให้ DNA และ RNA เกิดการแตกหัก
Microwaves	คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	ใช้คลื่นไมโครเวฟเพิ่มอุณหภูมิทำลายโครงสร้างเซลล์	ใช้งานง่าย สะดวก และรวดเร็ว	ความร้อนสูง อาจทำลายกรดนิวคลีอิก
Electrochemical cell lysis	ไฟฟ้าเคมี	ใช้สนามไฟฟ้าและปฏิกิริยาเคมีทำลายเยื่อหุ้มเซลล์	ไม่ต้องใช้เอนไซม์หรือสารเคมีรุนแรง	ต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะและมีความเสี่ยงต่อการทำลาย DNA และ RNA จากสารอนุมูลอิสระและสารตกค้าง
Proteinase K	เอนไซม์โปรตีเอส	ย่อยสลายโปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์หรือเปลือกไวรัส	ย่อยสลายโปรตีนได้ดีโดยไม่ทำลาย DNA และ RNA	ต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสม ต้องใช้ร่วมกับวิธีอื่นหรือใช้สารเคมีบางชนิดไม่ได้ เช่น EDTA ที่มีความเข้มข้นสูง
Lipase	เอนไซม์ไลเปส	ย่อยสลายไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์และเปลือกไวรัสที่มีไขมัน	ลดการใช้สารเคมีรุนแรง เหมาะกับไวรัสที่มี envelope	ต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมและต้องใช้ร่วมกับวิธีอื่น ต้นทุนสูง ไม่เหมาะกับไวรัสแบบ non-envelope

ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายโครงสร้างเซลล์โฮสต์ และอนุภาคไวรัสที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรม

ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายโครงสร้างที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรมของเซลล์โฮสต์

และอนุภาคไวรัส แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ ปัจจัยทางเคมี ปัจจัยทางกายภาพ และปัจจัยทางชีวภาพ

ปัจจัยทางเคมี

ความเข้มข้นและปริมาณของสารเคมีที่ใช้เป็นปัจจัยสำคัญในการทำลายเซลล์ เช่น หากความเข้มข้นของ

สารซักฟอกต่ำเกินไปหรือปริมาณของตัวอย่างมากเกินไป อาจทำให้กระบวนการสกัดกรดนิวคลีอิกไม่สมบูรณ์^(16,17) ระยะเวลาที่ใช้การทำปฏิกิริยาที่สั้นเกินไป ส่งผลให้สารเคมีไม่สามารถทำลายโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์หรือโปรตีนได้อย่างเต็มที่ เช่น การใช้ไลซิสบัฟเฟอร์ต้องใช้ระยะเวลาเพียงพอ เพื่อให้เซลล์และอนุภาคไวรัสถูกทำลายอย่างสมบูรณ์^(18,37) การสกัดตัวอย่างที่มีสารเติมแต่ง เช่น ตัวอย่างเนื้อเยื่อในพาราฟิน อาจต้องใช้สารละลายเฉพาะเพื่อทำการสลายพาราฟินก่อนทำการย่อย แล้วจึงนำเข้าสู่กระบวนการสกัดสารพันธุกรรมในขั้นตอนต่อไป⁽³⁹⁾

ปัจจัยทางกายภาพ

ประสิทธิภาพของการย่อยสลายเซลล์และอนุภาคไวรัสขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง เช่น ความหนืดของตัวอย่างที่สูง เช่น เมือกในเสมหะหรือความเหนียวของเนื้อเยื่อ อาจลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์หรือสารเคมีที่ใช้ในการสกัดกรดนิวคลีอิก^(37,39) ตัวอย่างที่มีผนังหนา เช่น ตัวอย่างจากหัวใจอาจต้องใช้วิธีการทำลายเซลล์ที่เหมาะสม เช่น การบดด้วยโกร่งหรือการใช้แรงดันสูง^(19,23) นอกจากนี้ตัวอย่างที่มีเยื่อหุ้มไขมันสูง เช่น ไวรัสที่มีเปลือกหุ้ม อาจต้องใช้เอนไซม์ไลเปสหรือสารซักฟอก เพื่อทำลายโครงสร้าง lipid bilayer^(11,39) การเลือกใช้วัสดุหรืออุปกรณ์ที่ไม่เหมาะสม เช่น การใช้โกร่งบดตัวอย่าง

เนื้อเยื่อที่มีความแข็งแรง และใช้แรงบดไม่เพียงพอ อาจลดประสิทธิภาพของกระบวนการบดหรือทำลายเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการแบบอัตโนมัติ^(20,25)

ปัจจัยทางชีวภาพ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลโดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ หากใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไปอาจทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลล์ เช่น เอนไซม์ proteinase K หรือเอนไซม์ lipase เสื่อมสภาพ^(37,39) ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายควรเหมาะสม เพื่อให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ เช่น หากใช้ระยะเวลาที่สั้นเกินไปอาจทำให้โปรตีนห่อหุ้มโครงสร้างและเยื่อหุ้มบางส่วนยังคงอยู่⁽³⁸⁾ ชนิดของสิ่งส่งตรวจมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เช่น ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบที่ซับซ้อนหรือมีโปรตีนสูง อาจต้องใช้สารซักฟอก หรือเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมและจำเพาะกับชนิดของตัวอย่าง^(11,16) การปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม เช่น pH และความเข้มข้นของสารละลาย มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม⁽³⁹⁾

โดยสรุปการสกัดกรดนิวคลีอิกจากไวรัสในสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธีทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 วิธีการสกัดกรดนิวคลีอิกจากไวรัสในสิ่งส่งตรวจจากมนุษย์ชนิดต่าง ๆ ทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ

สิ่งส่งตรวจ	การเตรียมตัวอย่าง	วิธีทางเคมี	วิธีทางกายภาพ	วิธีทางชีวภาพ	หมายเหตุ
Bronchoalveolar lavage	ปั่นตกตะกอน	Lysis buffer, CTAB, SDS	Centrifuge, Vortex	Proteinase K, Lysozyme, DNase/RNase inhibitor	หากมีความชื้นหนืดต้อง pre-treatment ด้วย mucolytic agent
Blood	ปั่นแยกพลาสมาหรือซีรัม	Guanidine HCl, CTAB, SDS	Centrifuge, Vortex	Proteinase K	หลีกเลี่ยงตัวอย่างที่มีภาวะเม็ดเลือดแดงแตก ซึ่งอาจทำให้เกิดผลลบปลอมจากการยับยั้งปฏิกิริยา PCR
Cerebrospinal fluid	ใช้ได้โดยตรงหรือปั่นแยกสารตกค้าง เช่น เม็ดเลือด	Lysis buffer, Guanidine Isothiocyanate	Centrifuge, Vortex	DNase/RNase inhibitor	หากมีการปนเปื้อนของเม็ดเลือดจากกระบวนการเจาะน้ำไขสันหลัง ให้ปั่นตกตะกอนก่อนใช้ตัวอย่าง

ตารางที่ 2 วิธีการสกัดกรดนิวคลีอิกจากไวรัสในสิ่งส่งตรวจจากมนุษย์ชนิดต่างๆ ทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ (ต่อ)

สิ่งส่งตรวจ	การเตรียมตัวอย่าง	วิธีทางเคมี	วิธีทางกายภาพ	วิธีทางชีวภาพ	หมายเหตุ
Nasal swab	เก็บตัวอย่างใน VTM หรือ UTM หรือปั่นผสมด้วยเครื่อง Vortex ก่อน	Lysis buffer+ Mucolytic agent, Guanidine Isothiocyanate, SDS	Vortex	DNase/RNase inhibitor	ควรเก็บรักษาไว้ในภาชนะ เก็บรักษาความเย็นระหว่างนำส่งตัวอย่าง
Nasopharyngeal swab	เก็บตัวอย่างใน VTM หรือ UTM หรือปั่นผสมด้วยเครื่อง vortex ก่อน	Lysis buffer+ Mucolytic agent, Guanidine Isothiocyanate, SDS	Vortex	DNase/RNase inhibitor	ควรเก็บรักษาไว้ในภาชนะ เก็บรักษาความเย็นระหว่างนำส่งตัวอย่าง
Sputum	เก็บตัวอย่างในภาชนะที่สะอาด ปราศจากเชื้อ ก่อนใช้งานให้ละลายเสมหะเพื่อลดความข้นหนืดด้วย mucolytic agent ก่อน	Lysis buffer+ Mucolytic agent,	Vortex, Heating, Freeze-thaw	Proteinase K, Lysozyme, DNase/RNase inhibitor	หากตัวอย่างมีความข้นหนืด หลีกเลี่ยงการสกัดด้วยเครื่องสกัดแบบอัตโนมัติ
Throat swab	เก็บตัวอย่างใน VTM หรือ UTM ก่อนใช้ตัวอย่างให้ปั่นผสมด้วยเครื่อง vortex	Lysis buffer+ Mucolytic agent, Lysis buffer+ Detergent	Vortex	Proteinase K	ระหว่างนำส่งตัวอย่าง ควรเก็บรักษาไว้ในภาชนะ เก็บรักษาความเย็น
Tissue	เก็บตัวอย่างในภาชนะที่สะอาด ปราศจากเชื้อ หรือหั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก	Lysis buffer, SDS, Triton X-100	Bead mill, Homogenizer, Manual grinding	Proteinase K	หากตัวอย่างมีความแข็งและเหนียวมาก ควรแบ่งตัวอย่างให้มีขนาดเล็กเพื่อให้สารเคมีและเอนไซม์เข้าไปทำปฏิกิริยาได้ดียิ่งขึ้น
Urine	เก็บตัวอย่างในภาชนะที่สะอาด ปราศจากเชื้อ ก่อนใช้งานให้ปั่นแยกตะกอนก่อนใช้งาน	Lysis buffer, Guanidine Isothiocyanate	Centrifuge, Vortex	DNase/RNase inhibitor	ระหว่างนำส่งตัวอย่าง ควรเก็บรักษาไว้ในภาชนะ เก็บรักษาความเย็น

วิจารณ์

ในการย่อยสลายเซลล์และทำลายอนุภาคไวรัส กระบวนการสกัดกรดนิวคลีอิกที่ใช้กันทั่วไป เช่น การสกัดแบบฟีนอล-คลอโรฟอร์ม และการปั่นเหวี่ยงแบบไล่ระดับความหนาแน่น (density-gradient centrifugation) การสกัดแบบใช้สาร TRIzol (TRIzol extraction) การสกัดด้วยคอลัมน์แบบปั่นเหวี่ยง (centrifugal column extraction) การสกัดด้วยคอลัมน์ซิลิกาเจล

(silica gel column extraction) และการสกัดด้วยลูกปัดแม่เหล็ก (magnetic bead extraction)⁽²⁾ นั้นถือว่าเป็นขั้นตอนแรกในกระบวนการสกัดกรดนิวคลีอิกที่มีความสำคัญในการเตรียมตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ไวรัสในระดับชีวโมเลกุล วิธีการและสารเคมีที่ใช้สำหรับการสกัดกรดนิวคลีอิกจะมีความแตกต่างจากการสกัดโปรตีน เช่น การใช้ guanidine isothiocyanate ในการย่อยสลายเซลล์ การใช้ phenol และ chloroform

ช่วยแยกชั้นสารชีวโมเลกุลตามคุณสมบัติทางเคมีเป็นต้น⁽²⁾ ชนิดของ lysis buffer ที่ใช้ในการสกัดสารพันธุกรรมจะขึ้นอยู่กับชนิดของกรดนิวคลีอิกที่ต้องการสกัด เช่น DNA จากจีโนม (genomic DNA) จากไมโทคอนเดรีย (mitochondria DNA) หรือจากพลาสมิด (plasmid DNA) โดยทั่วไปสารเคมีสำหรับสกัดสารพันธุกรรม ประกอบด้วย lysis buffer ที่มี SDS ซึ่งช่วยย่อยสลายเซลล์และโปรตีน แมทริกซ์สำหรับจับกรดนิวคลีอิก (nucleic acid-binding matrix) เช่น ซิลิกาเมมเบรน เพื่อแยกกรดนิวคลีอิกออกจากสิ่งเจือปน สำหรับการสกัด RNA จะใช้ lysis buffer ที่มีคุณสมบัติในการทำลายโครงสร้างเซลล์ได้สูง ประกอบด้วย phenol และ guanidine isothiocyanate เพื่อทำลายโปรตีนและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RNase ที่ย่อยสลาย RNA⁽⁴⁰⁾

ในการทำลายโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ และ lipid bilayer ของไวรัส เพื่อให้ DNA และ RNA หลุดออกจากโครงสร้างที่ห่อหุ้ม การเลือกใช้สารซักฟอกต้องคำนึงถึงโปรตีนและคุณสมบัติของเยื่อหุ้มแต่ละชนิดเนื่องจากสารเหล่านี้มีความคงตัวในบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ ขณะเดียวกันการใช้เอนไซม์ เช่น proteinase K และ lipase จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้ม และแยกสารชีวเคมีต่างๆ ที่ปนเปื้อนในตัวอย่าง DNA และ RNA^(37,39) การใช้วิธีการทางกายภาพ เช่น การใช้แรงกลหรือคลื่นเสียงความถี่สูงจะช่วยสร้างแรงเฉือนและแรงกระแทกที่มีประสิทธิภาพในการทำลายโครงสร้างเซลล์^(20,33) ส่วนการใช้ความร้อน หรือการแช่แข็ง-ทำละลายหลายรอบ (freeze-thaw cycle) จะช่วยเพิ่มความสะอาดและลดขั้นตอนการสกัด โดยเฉพาะในสถานการณ์เร่งด่วน เช่น การตรวจหาเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ในตัวอย่างทางคลินิก⁽²⁹⁻³¹⁾

ข้อจำกัดหรือปัจจัยในการย่อยสลายเซลล์โฮสต์และอนุภาคไวรัสขึ้นอยู่กับลักษณะของสิ่งส่งตรวจทาง การแพทย์และวิธีการที่เลือกใช้ด้วย เช่น ตัวอย่างที่มีผนังเซลล์หนา อาจต้องใช้วิธีการควบคุมกับการใช้สารเคมีและเอนไซม์ช่วยในการย่อย ส่วนตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเมือกหรือมีความหนืด ซึ่งสามารถขัดขวางการย่อยสลาย

โดยทำให้สารเคลื่อนที่หรือซึมผ่านได้ยาก ตัวอย่างที่มีความหนืด เช่น ตัวอย่างจากเสมหะ จึงไม่สามารถนำไปสกัดโดยวิธีอัตโนมัติได้⁽⁴¹⁾ ด้วยเหตุนี้จึงไม่เหมาะสมที่จะนำตัวอย่างเสมหะมาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี RT-PCR แบบอัตโนมัติ เนื่องจากตัวอย่างที่มีความหนืดอาจจะอุดตันในเครื่อง⁽⁴²⁾ ในตัวอย่างมักมีเอนไซม์ Deoxyribo-nuclease (DNase) และ Ribonuclease (RNase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย DNA และ RNA ปนเปื้อนอยู่เพื่อป้องกันตัวอย่างถูกย่อยสลาย จึงควรเติม DNase inhibitor และ Ribonuclease (RNase) เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวในกระบวนการสกัด^(43,44)

การพัฒนาวิธีการสกัดด้วยเยื่อหุ้มใยแก้ว (glass fiber membranes) ด้วย nontoxic buffer ประกอบด้วย การสลายไวรัส การยึดจับ และการละลาย RNA โดยใช้ KCl, เอนไซม์ proteinase K และตัวนำพา RNA (carrier RNA) สามารถเก็บรักษาสารพันธุกรรมไว้ได้โดยไม่ต้องใช้ระบบควบคุมความเย็นหรืออุปกรณ์ที่มีราคาแพง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและประหยัด ช่วยเพิ่มความสามารถในการตรวจหาเชื้อไวรัส และตอบสนองต่อสถานการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อก่อโรคในพื้นที่ที่มีข้อจำกัดด้านทรัพยากรต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽⁴⁵⁾

จากการทบทวนองค์ความรู้ พบว่าแม้ในปัจจุบันจะมีการพัฒนาวิธีการสกัดสารพันธุกรรมทั้งแบบ manual และแบบอัตโนมัติ (automated) ด้วยนวัตกรรมและเทคโนโลยีที่ทันสมัย เช่น การเสริมสมรรถนะการสกัดกรดนิวคลีอิก โดยใช้กระบวนการทางเคมี ทางฟิสิกส์ และทางชีวภาพแบบผสมผสาน จึงช่วยให้สามารถสกัดกรดนิวคลีอิกได้ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้การเตรียมตัวอย่างเบื้องต้นอย่างเหมาะสมก่อนสกัดก็มีความสำคัญเช่นกัน เช่น ตัวอย่างชิ้นเนื้อปอด ควรบดเนื้อเยื่อด้วยวิธีกลจนมีลักษณะละเอียดก่อนใช้วิธีทางเคมีหรือชีวภาพต่อไป เป็นต้น วิธีการที่กล่าวมานี้จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลล์และอนุภาคไวรัส แม้ไวรัสที่จะอยู่ในชิ้นเนื้อ เนื้อเยื่อ หรือมีเชื้อไวรัสในปริมาณต่ำ จะช่วยให้สามารถสกัดกรดนิวคลีอิกที่มีความบริสุทธิ์และมีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น ทำให้ได้ปริมาณและคุณภาพของกรดนิวคลีอิกที่เหมาะสมสำหรับนำไปวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลต่อไป

สรุป

การย่อยสลายโครงสร้างห่อหุ้มสารพันธุกรรมของไวรัสเริ่มตั้งแต่การย่อยสลายเซลล์โฮสต์ การทำลายโครงสร้างไวรัส และย่อยสลายโปรตีนที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรม เป็นขั้นตอนสำคัญสำหรับกระบวนการสกัดกรดนิวคลีอิก การเลือกวิธีการที่เหมาะสมจึงขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง รวมทั้งข้อจำกัดและทรัพยากรของห้องปฏิบัติการ ในการสกัดกรดนิวคลีอิกต้องพิจารณาการใช้วิธีการต่างๆ เช่น วิธีทางด้นเคมี กายภาพ และชีวภาพ เพื่อให้ได้สารพันธุกรรมของไวรัสที่มีความบริสุทธิ์และลดการปนเปื้อนของสารตกค้างจากกระบวนการสกัด นอกจากนี้การควบคุมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา และการรักษาความสมดุลของกรด-ด่าง มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของกระบวนการสกัดสารพันธุกรรม เพื่อให้ได้สารพันธุกรรมที่มีคุณภาพสูงในการนำไปใช้ประโยชน์ต่างๆ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา และภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยให้เกิดการศึกษาและจัดทำบทความนี้

เอกสารอ้างอิง

1. The Scientist, MilliporeSigma. Viral nucleic acid purification in a single spin: a simple nucleic acid extraction approach quickly purifies genomic viral RNA and DNA while minimizing cross-contamination risks. [online]. 2022; [cited 2024 Dec 13]. Available from: URL: <https://www.the-scientist.com/viral-nucleic-acid-purification-in-a-single-spin-69881>.
2. Zeng Y, Tang X, Chen J, Kang X, Bai D. Optimizing total RNA extraction method for human and mice samples. PeerJ 2024; 12: e18072. (22 pages).
3. Sabatier M, Bal A, Destras G, Regue H, Quéromès G, Cheynet V, et al. Comparison of nucleic acid extraction methods for a viral metagenomics analysis of respiratory viruses. Microorganisms 2020; 8(10): 1539. (17 pages).
4. Ponce-Rojas JC, Costello MS, Proctor DA, Kosik KS, Wilson MZ, Arias C, et al. A fast and accessible method for the isolation of RNA, DNA, and protein to facilitate the detection of SARS-CoV-2. J Clin Microbiol 2021; 59(4): e02403-20. (9 pages).
5. The origin and evolution of cells. In: Cooper GM. The cell: a molecular approach. 2nd ed. Sunderland, MA.: Sinauer Associates. [online]. 2000; [cited 2024 Dec 13]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9841>.
6. Histology, Cell. [updated 2023 May 1]. In: Khan YS, Farhana A. StatPearls. Treasure Island, FL.: StatPearls Publishing; [online]. 2024; [cited 2024 Dec 13]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554382>.
7. SEER Training Modules. Module name U.S. National Institutes of Health, National Cancer Institute. [online]. [cited 2024 Dec 7]. Available from: URL: <https://training.seer.cancer.gov>.
8. Chapter 8, The nucleus. In: Cooper GM. The cell: a molecular approach. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates. [online]. 2000; [cited 2024 Dec 13]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9845>.
9. Genetics, histone code. [updated 2023 Aug 8]. In: Shahid Z, Simpson B, Miao KH, et al. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 13]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538477>.
10. Wikipedia. Nucleoprotein. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 7]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Nucleoprotein>.
11. Pellett PE, Mitra S, Holland TC. Basics of virology. Handb Clin Neurol 2014; 123: 45-66.

12. Srivastava V, Ahmad A. New perspective towards therapeutic regimen against SARS-CoV-2 infection. *J Infect Public Health* 2021; 14(7): 852-62.
13. Turrell L, Lyall JW, Tilely LS, Fodor E, Vreede FT. The role and assembly mechanism of nucleoprotein in influenza A virus ribonucleoprotein complexes. *Nat Commun* 2013; 4: 1591. (24 pages).
14. Šantak M, Matic Z. The role of nucleoprotein in immunity to human negative-stranded RNA viruses-not just another brick in the viral nucleocapsid. *Viruses* 2022; 14(3): 521. (37 pages).
15. Brown RB, Audet J. Current techniques for single-cell lysis. *J R Soc Interface* 2008; 5(Suppl 2): S131-8.
16. Wikipedia. Lysis buffer. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 8]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Lysis_buffer.
17. Linke D. Detergents: an overview. *Methods Enzymol* 2009; 463: 603-17.
18. Wikipedia. Cetrimonium bromide. [online]. 2020; [cited 2024 Dec 8]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Cetrimonium_bromide.
19. Ivanov AA, Leonova ON, Wiebe DS, Krutko AV, Gridina MM, Fishman VS, et al. Method for the isolation of "RNA-seq-quality" RNA from human intervertebral discs after mortar and pestle homogenization. *Cells* 2022; 11(22): 3578. (10 pages).
20. DeCaprio J, Kohl TO. Using Dounce homogenization to lyse cells for immunoprecipitation. *Cold Spring Harb Protoc* 2019; 2019(7): pdb-prot098574. (5 pages).
21. Hartz AMS, Schulz JA, Sokola BS, Edelmann SE, Shen AN, Rempe RG, et al. Isolation of cerebral capillaries from fresh human brain tissue. *J Vis Exp* 2018; (139): 57346. (12 pages).
22. National Center for Biotechnology Information. GEO accession viewer: GSM3067997. Bethesda, MD.: NCBI. [online]. 2018; [cited 2024 Dec 9]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSM3067997>.
23. Dehazya P, Coles RS, Jr. Extraction and properties of hemagglutinin from cell wall fragments of *Fusobacterium nucleatum*. *J Bacteriol* 1982; 152(1): 298-305.
24. Lander R, Manger W, Scouloudis M, Ku A, Davis C, Lee A. Gaulin homogenization: a mechanistic study. *Biotechnol Prog* 2000; 16(1): 80-5.
25. National Center for Biotechnology Information (NCBI). GEO accession viewer: GSM708138. Bethesda, MD.: NCBI. [online]. 2011; [cited 2024 Dec 10]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSM708138>.
26. Goldberg S. Mechanical/physical methods of cell disruption and tissue homogenization. *Methods Mol Biol* 2021; 2261: 563-85.
27. Rintarhat P, Cho YJ, Koh H, Park S, Lee EJ, Lim H, et al. Assessment of DNA extraction methods for human gut mycobiome analysis. *R Soc Open Sci* 2024; 11(1): 231129. (12 pages).
28. Thermo Fisher Scientific. Nebulizers. [online]. [cited 2024 Dec 10]. Available from: URL: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/nebulizer_man.pdf.
29. Guan B, Frank KM, Maldonado JO, Beach M, Pelayo E, Warner BM, et al. Sensitive extraction-free SARS-CoV-2 RNA virus detection using a chelating resin. *iScience* 2021; 24(9): 102960. (17 pages).
30. Laposova K, Oveckova I, Tomaskova J. A simple method for isolation of cell-associated viral particles from cell culture. *J Virol Methods* 2017; 249: 194-6.
31. Wiraswati HL, Ma'ruf IF, Ekawardhani S, Faridah L, Laelalugina A, Septanto H, et al.

- Optimization of nucleic acid extraction methods for rapid detection in pandemic situations or diseases with high prevalence. *J Pharm Anal* 2023; 13(12): 1577-9.
32. Zakaria Z, Umi SH, Mokhtar SS, Mokhtar U, Zaiharina MZ, Aziz AT, et al. An alternate method for DNA and RNA extraction from clotted blood. *Genet Mol Res* 2013; 12(1): 302-11.
33. Branch DW, Vreeland EC, McClain JL, Murton JK, James CD, Achyuthan KE. Rapid nucleic acid extraction and purification using a miniature ultrasonic technique. *Micro-machines* 2017; 8(7): 228. (17 pages).
34. Wikipedia Contributors. Electromagnetic radiation. Wikipedia. [online]. 2019; [cited 2024 Dec 10]. Available from: URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_radiation.
35. Taglia F, Wang L, Setser CH, Fernández-Tejero N, McCord BR, Lee SB. Development of a microwave-based extraction for forensic biological samples. *Forensic Sci Int Synerg* 2022; 5: 100291. (8 pages).
36. Lee HJ, Kim JH, Lim HK, Cho EC, Huh N, Ko C, et al. Electrochemical cell lysis device for DNA extraction. *Lab Chip* 2010; 10(5): 626-33.
37. Sweeney PJ, Walker JM. Proteinase K (EC 3.4.21.14). *Methods Mol Biol* 1993; 16: 305-11.
38. Shukla A, Gangwar M, Sharma G, Prakash P, Nath G. Vitality of proteinase K in rRTPCR detection of SARS-CoV2 bypassing RNA extraction. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 11: 717068. (7 pages).
39. Wikipedia Contributors. Lipase. Wikipedia. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 10]. Available from: URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Lipase>.
40. Bio-Rad Laboratories. Lysis buffer. [online]. 2024; [cited 2024 Dec 12]. Available from: URL: <https://www.bio-rad.com/en-th/feature/lysis-buffer.html>.
41. Yu F, Qiu T, Zeng Y, Wang Y, Zheng S, Chen X, et al. Comparative evaluation of three preprocessing methods for extraction and detection of influenza A virus nucleic acids from sputum. *Front Med* 2018; 5: 56. (4 pages).
42. Branche AR, Walsh EE, Formica MA, Falsey AR. Detection of respiratory viruses in sputum from adults by use of automated multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2014; 52(10): 3590-6.
43. Kolarevic A, Yancheva D, Kocic G, Smelcerovic A. Deoxyribonuclease inhibitors. *Eur J Med Chem* 2014; 88: 101-11.
44. Lomax JE, Bianchetti CM, Chang A, Phillips GN Jr, Fox BG, Raines RT. Functional evolution of ribonuclease inhibitor: insights from birds and reptiles. *J Mol Biol* 2014; 426(17): 3041-56.
45. Hernandez S, Cardozo F, Myers DR, Rojas A, Waggoner JJ. Simple and economical extraction of viral RNA and storage at ambient temperature. *Microbiol Spectr* 2022; 10(3): e00859-22. (9 pages).

Lysis of Host Cells and Viral Particles in Extracting Viral Nucleic Acids from Human Samples

Treewat Watthanachockchai and Kingkan Rakmanee

Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ABSTRACT Cell lysis and disruption of the structures encapsulating the genetic materials of viruses are the initial steps in nucleic acid extraction, a critical process in the molecular diagnostics of viral pathogens such as HIV, SARS-CoV-2, MERS-CoV, and influenza, which are essential for controlling outbreaks, monitoring their spread, and studying the evolution of pathogenic viruses. Nucleic acid extraction plays a pivotal role in molecular biology techniques, including PCR, Real-Time PCR, and Next-Generation Sequencing (NGS). The development of extraction methods that destroy the genetic material envelope structure, inhibit nuclease activity, and eliminate contaminants is essential. These approaches contribute to the efficient degradation of cells and virus particles. Laboratory diagnostic experience indicates that the quality of extracted nucleic acid has a direct impact on analytical accuracy. This effect is particularly significant in samples containing low viral loads. Therefore, the development of efficient extraction methods is crucial for obtaining pure nucleic acids in sufficient quantities for laboratory analysis and medical applications.

Keywords: Cell lysis, Viral particle disruption, Nucleoprotein, Nucleic acid extraction

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	Yongyot Thammawut Ballang Uppapong	Phichet Banyati Watcharapong Kumla
Technical Advisor	Pimjai Naigowit Panadda Silva Sumol Pavitranon	Busarawan Sriwanthana Prapai Wongsinkongman
Executive Editor	Supaporn Phumiamorn	
Editor	Duanthanorm Promkhatkaew	
Assistant Editor	Siripakorn Sangkitporn Kriangsak Ruchusatsawat	Nuanjun Wichukchinda Siriphan Saeng-Aroon
Editorial Board	Pilaipan Puthavathana Prasert Auewarakul Danai Tiwawech Suwanna Charunut Padet Siriyasatien Pornpimol Kongtip Srisurang Tantimavanich Sunee Sirivichayakul Chanitra Thuwajit Pintip Pongpech Salakchit Chutipongvivate Usavadee Thavara Suthon Vongsheree Wichuda Chittangkura Supanee Duangteraprecha Nuanchawee Wetprasit Wantana Paveenkittiporn Uruyakorn Chansang	Mahidol University Mahidol University Naresuan University Huachiew Chalermprakiet University Chulalongkorn University Mahidol University Mahidol University Chulalongkorn University Mahidol University Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar
Administration	Numfon Noiprasert Aphimon Jiraphongsathorn Navy Srivarom Pawinee Sukcharoen Apisara Khomduean Chamaiporn Chumjurn	Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences
Office	Medical Sciences Technical Office, Department of Medical Sciences 88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand. Tel. 0-2951-0000 ext. 99662 Fax: 0-2951-1297 E-mail : bull.dmsc@dmsc.mail.go.th	
Printed by	Thanaaroonkarnpim Co., Ltd. 457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200 Tel. 0-2282-6033-4	



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences



 <https://bit.ly/BullDmsc>