



การสำรวจคุณภาพยาแผนโบราณทางด้านจุลชีววิทยาที่ขึ้นทะเบียนในประเทศไทยปีพ.ศ. 2557-2561

ธนพล เอี่ยมสอาด* สันติพงษ์ วงศ์เพ็ญทักษ์ อนัญญา สุพันธุ์วนิช ขวัญฤดี ลิ่มทองเจริญ
สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

บทคัดย่อ

สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นหน่วยงานหลักในการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในยาแผนโบราณเพื่อใช้เป็นหลักฐานประกอบการขึ้นทะเบียนตำรับ ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง หลักเกณฑ์การพิจารณาขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณเกี่ยวกับมาตรฐานการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งระบุว่าต้องไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Stapylococcus aureus*/กรัม *Salmonella* spp./10 กรัมและ *Clostridium* spp./10 กรัม โดยใช้วิธีทดสอบตาม Thai Pharmacopoeia Supplement 2005 จากการทดสอบยาแผนโบราณที่ขอขึ้นทะเบียนระหว่างปี พ.ศ. 2557- 2561 จำนวน 828 ตัวอย่าง พบว่าใน ปี 2557 จำนวน 203 ตัวอย่าง ผิดมาตรฐาน 20 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.85) ในปี 2558 จำนวน 235 ตัวอย่าง ผิดมาตรฐาน 39 ตัวอย่าง (ร้อยละ 16.59) ในปี 2559 จำนวน 158 ตัวอย่าง ผิดมาตรฐาน 34 ตัวอย่าง (ร้อยละ 21.50) ในปี 2560 จำนวน 118 ตัวอย่าง ผิดมาตรฐาน 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ7.62) และในปี 2561 จำนวน 114 ตัวอย่าง ผิดมาตรฐาน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 18.50) ทุกตัวอย่างที่ผิดมาตรฐานพบว่าเป็นการปนเปื้อนเชื้อ *Clostridium* spp. ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถพบได้ในดินและเชืื่อนี้ทำให้เกิดโรคท้องร่วง ซึ่งแสดงถึงกระบวนการผลิตและการควบคุมคุณภาพที่ไม่ดีพอ ผู้ผลิตควรมีการปรับปรุงคุณภาพยาเพื่อให้ได้มาตรฐาน ซึ่งข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับพิจารณาทบทวนนโยบาย หรือกฎหมายที่เกี่ยวข้อง

บทนำ

ยาแผนโบราณตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 หมายถึง ยาเตรียมจากสมุนไพรที่มุ่งหมายสำหรับใช้ในการประกอบโรคศิลปะแผนโบราณ หรือการบำบัดสัตว์ ซึ่งอยู่ในตำรายาแผนโบราณที่รัฐมนตรีประกาศหรือ ยาที่รัฐมนตรีประกาศเป็นยาแผนโบราณ หรือ ยาที่ได้รับอนุญาตให้ขึ้นทะเบียนตำรับเป็นยาแผนโบราณ ในปัจจุบันรัฐบาลมีนโยบายให้ประเทศไทยพึ่งพาตนเองในด้านสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุขจึงมีการสนับสนุนและส่งเสริมการใช้สมุนไพรที่สามารถหาได้ง่ายตามท้องถิ่นนำมาผลิตเป็นยาแผนโบราณในการรักษาโรคมกขึ้น เพื่อเป็นการส่งเสริมการรักษาโรคอีกทางเลือกหนึ่ง แต่ในการผลิตยาแผนโบราณนั้นมีแหล่งผลิตหลากหลาย เช่น โรงงานยาสมุนไพร กลุ่มแม่บ้าน วัด กลุ่มชาวบ้าน ก็สามารถผลิตและนำมาขึ้นทะเบียนยาแผนโบราณที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้ ทำให้คุณภาพยาแผนโบราณที่ได้มีคุณภาพแตกต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพและความปลอดภัยของผู้บริโภค โดยแหล่งปนเปื้อนจุลินทรีย์ในการผลิตยาแผนโบราณจะมาจากวัตถุดิบเนื่องจากพืชสมุนไพรโดยเฉพาะในส่วนรากหรือเหง้ามักพบการปนเปื้อนเชื้อจากดินที่ใช้ในการเพาะปลูก ซึ่งเชื่อกันกล่าวทำให้เกิดโรคในมนุษย์ รวมถึงน้ำที่ใช้ในการผลิต สถานที่ผลิต เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต ภาชนะที่ใช้บรรจุยา รวมทั้งบุคลากรที่เกี่ยวข้องในการผลิตยา ปัจจัยดังกล่าวมีโอกาสนำให้ยาแผนโบราณมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนเชื้อได้ ดังนั้นผู้จัดทำจึงได้ทำการสำรวจคุณภาพยาแผนโบราณทางด้านจุลชีววิทยาที่ใช้ประกอบการขึ้นทะเบียนที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ตั้งแต่ พ.ศ. 2557-2561 โดยใช้วิธีการทดสอบตาม Thai Pharmacopoeia Supplement 2005 และเกณฑ์ข้อกำหนดตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เพื่อให้ทราบถึงปัญหาที่เกิดขึ้นและสามารถนำปัญหาดังกล่าวมาพัฒนาเป็นแนวทางการป้องกันการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในการผลิตยาแผนโบราณได้

วัสดุและอุปกรณ์

ชนิดตัวอย่าง

ตัวอย่างส่งตรวจที่ใช้สำหรับการขึ้นทะเบียนยาแผนโบราณตั้งแต่ปีพ.ศ. 2557-2561

เชื่อมมาตรฐาน

- ▶ เชื่อมมาตรฐาน *Stapylococus aureus* ATCC 6538
- ▶ เชื่อมมาตรฐาน *Salmonella* Abony NCTC 6017
- ▶ เชื่อมมาตรฐาน *Clostridium sporogenes* ATCC 19404

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- ★ สารละลายบัฟเฟอร์ (Neutralizing fluid)
- ★ TAT Broth Base
- ★ Reinforce clostridium media (RCM)
- ★ Mannitol Salt Agar (MSA)
- ★ Baird-Parker Agar (BPA)
- ★ Tetrathionate Brilliant-green Bile Enrichment Broth (TBG)
- ★ Rappaport Vassiliadis Broth (RVS)
- ★ Brilliant Green Agar (BGA)
- ★ Bismuth Sulfite Agar (BSA)
- ★ Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar (XLD)
- ★ Columbia Agar (1,000 mL) + Gentamicin sulfate corresponding to 20 mg of gentamicin base (CBA+G)
- ★ Liquid paraffin

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- ☛ Erlenmeyer flask
- ☛ Cylinder
- ☛ Loop
- ☛ Incubator
- ☛ Beaker
- ☛ Anaerobic jar
- ☛ Biosafety cabinet class II

วิธีการศึกษา

ทดสอบหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในยาแผนโบราณ (Microbial Limit Tests) วิธีทดสอบตามตำรายาของประเทศไทย (TP Supplement 2005)

ทำการควบคุมคุณภาพการทดสอบโดยทำการทดสอบ Negative control เพื่อตรวจสอบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายที่ใช้มีเชื้อปนเปื้อนหรือไม่ ทำการทดสอบ Positive control เพื่อทดสอบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อที่ต้องการทำการทดสอบได้หรือไม่ และทำการทดสอบ Positive product control เพื่อดูว่าผลิตภัณฑ์ตัวอย่างที่เราต้องการทดสอบนั้นไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ต้องการทดสอบ

วิธีการทดสอบเชื้อ *Stapylococcus aureus*

1. ชั่งตัวอย่าง/ปิเปตตัวอย่าง 10 กรัม/10 มิลลิลิตร ลงใน Flask
2. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ จำนวน 90 มิลลิลิตร ลงใน Flask
3. ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ซึ่งเทียบเท่าปริมาณตัวอย่าง 1 กรัม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TAT Broth บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
4. Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA และ BPA จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง
5. ดูลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น เทียบกับ Positive control

วิธีการทดสอบเชื้อ *Salmonella* spp.

1. ชั่งตัวอย่าง/ปิเปตตัวอย่าง 10 กรัม/10 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TAT Broth
2. นำตัวอย่างที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
3. ปิเปตตัวอย่าง 1 mL ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TBG และ RVS จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
4. Streak อาหารเลี้ยงเชื้อ TBG และ RVS ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BGA BSA และ XLD บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
5. ดูลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น เทียบกับ Positive control

วิธีการทดสอบเชื้อ *Clostridium* spp.

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม/10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM ปิดด้วย liquid paraffin เพื่อให้เกิดสภาวะ Anaerobe นำตัวอย่างที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
2. ใช้ Pasteur pipette ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อลงบน Plate CBA+G แล้วใช้ Loop streak
3. จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสที่สภาวะ Anaerobe เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
4. ดูลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น เทียบกับ Positive control

เกณฑ์การประเมินผลการทดสอบ

ตัวอย่างที่ทดสอบจะต้องไม่พบเชื้อ *Staphylococcus aureus*/กรัม *Salmonella* spp./10 กรัม และเชื้อ*Clostridium* spp./10 กรัม ตัวอย่างจึงจะเข้ามาตรฐาน ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

ผลการศึกษา

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการปนเปื้อนยาแผนโบราณที่ทำการสำรวจตั้งแต่ปีพ.ศ. 2557-2561 (828 ตัวอย่าง)

ยาแผนโบราณ ปีพ.ศ.	จำนวนยาแผนโบราณทั้งหมด	จำนวนยาแผนโบราณที่เข้ามาตรฐาน (ร้อยละ)	จำนวนยาแผนโบราณที่ผิดมาตรฐาน (ร้อยละ)
2557	203 ตัวอย่าง	183 ตัวอย่าง (90.15)	20 ตัวอย่าง (9.85)
2558	235 ตัวอย่าง	196 ตัวอย่าง (83.41)	39 ตัวอย่าง (16.59)
2559	158 ตัวอย่าง	124 ตัวอย่าง (78.50)	34 ตัวอย่าง (21.50)
2560	118 ตัวอย่าง	109 ตัวอย่าง (92.38)	9 ตัวอย่าง (7.62)
2561	114 ตัวอย่าง	97 ตัวอย่าง (81.50)	17 ตัวอย่าง (18.50)

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ผิดมาตรฐานจำแนกตามชนิดของเชื้อที่กำหนด

มาตรฐานเชื้อที่กำหนด	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ	ผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์	
		จำนวนที่ผิดมาตรฐาน/จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนที่ผิดมาตรฐานร้อยละ
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0/828	0
<i>Salmonella</i> spp.	0	0/828	0
<i>Clostridium</i> spp.	119	119/828	14.37

สรุปผลและวิจารณ์

การผลิตยาแผนโบราณให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน จำเป็นต้องมีการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับสมุนไพรซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของยาแผนโบราณ หรือปนเปื้อนในระหว่างขั้นตอนกระบวนการผลิต การทดสอบหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในยาแผนโบราณจึงมีความสำคัญ เพื่อหาวิธีลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จากผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในยาแผนโบราณที่ใช้ประกอบการขึ้นทะเบียนกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ปี พ.ศ. 2557-2561 พบว่าแนวโน้มในแต่ละปีขึ้น-ลงไม่แน่นอนแสดงถึงความสามารถในการผลิตยาแผนโบราณและการควบคุมคุณภาพยาแผนโบราณที่ไม่คงที่ ตัวอย่างที่สำรวจส่วนมากผลิตโดยโรงงานผลิตยาเอกชน โรงพยาบาลของรัฐ และประชาชนทั่วไป ซึ่งยังพบปัญหาด้านการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง ผู้ผลิตควรตระหนักถึงการปฏิบัติตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตยาอย่างเคร่งครัดโดยเริ่มตั้งแต่การคัดเลือกวัตถุดิบสมุนไพรที่มีคุณภาพที่ดีและสะอาด มีมาตรฐานในการเก็บเกี่ยว กรรมวิธีหลังการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาที่ดี การควบคุมความสะอาดในทุกขั้นตอน การอบรมสุขอนามัยให้กับบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับการผลิต การใช้ภาชนะบรรจุยาที่มีคุณภาพ ดังนั้นเพื่อเป็นการยกระดับคุณภาพและมาตรฐานด้านการผลิตยาแผนโบราณของประเทศไทยให้ได้มาตรฐานสากล หน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้อง เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา จะต้องให้ความรู้อย่างจริงจังเรื่องหลักเกณฑ์ วิธีการที่ดีในการผลิตยาแผนโบราณแก่ผู้ประกอบการผลิตยาแผนโบราณ รวมทั้งให้คำแนะนำเรื่องสุขลักษณะแก่เกษตรกรผู้เพาะปลูกสมุนไพร ทั้งนี้เพื่อเป็นการสร้างหลักประกันคุณภาพมาตรฐานการบริหารด้านยาแผนโบราณ และสร้างความมั่นใจแก่ผู้บริโภคที่ได้รับยาที่ดีมีคุณภาพ

เอกสารอ้างอิง

- 1.ศิริพรรณ วงศ์วานิช การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียอากาศในห้องปฏิบัติการ หน้า 15-47
2. Thai Herbal Pharmacopoeia Volume I and II Appendix X Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health 2005: page 11-27