วารสารชีวผลิตภัณฑ์

ปีที่ 12 ฉบับที่ 1-2 กันยายน 2545

สารบัญ

- กองบรรณาธิการ 9
- เวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอน เซลล์ IFFA-3 ที่อุณหภูมิ 4°C ในถังเพาะเซลล์ ขนาด 3,200 ลิตร ในกระบวนการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย 11
  รัชพล สืบพรหม จาตุรนต์ พลราช
- เปรียบเทียบการทดสอบวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียซนิดน้ำมันโดยวิธี Active Mouse Protection Test ด้วยการฉีดวัคซีนในหนูขาวหนึ่งและสองครั้ง 17
  นิเทศ เลิศลิมชลาลัย นิตยา รักศรี
- การทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในชีวภัณฑ์ 25
  นิตยา รักศรี อนงนาฏ พุ่มสุคันธรส
- บทความพิเศษ: ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง "การกำหนดรายละเอียดเกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบันตามกฎหมายว่าด้วยยา พ.ศ. 2546" 35

The Journal of Veterinary Biologics

Volume 12 No. 1-2 September 2002

Contents

- Editorial board 9

- Appropriate sedimentation time of cell IFFA-3 in 3,200 liters tank at 4 °C in Foot and Mouth Disease vaccine production 11

  Rachapol Subprom Jaturon Polrach

- The comparison between the active mouse protection test of Haemorrhagic Septicaemia oil adjuvant vaccine after one and two vaccination 17

  Niteth Lertlimchalalai Nittaya Rugsri

- Precision of the protein determination in biological products 25

  Nittaya Rugsri Anongnad Pumsukantaros

- Special topic 35

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

The Journal of Veterinary Biologics

ปีที่ 12 ฉบับที่ 1-2 กันยายน 2545 Volume 12 No.1-2 September 2002

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่งานวิชาการด้านการผลิตชีวภัณฑ์
2. เพื่อเผยแพร่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้วัคซีน
3. เพื่อสนับสนุนการศึกษา ค้นคว้า และการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชีวผลิตภัณฑ์
4. เพื่อเพิ่มพูนความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการ

ฉบับที่ 1-2 กันยายน 2545 พิมพ์เผยแพร่ กรกฎาคม 2546 จำนวนพิมพ์ 500 เล่ม

วารสารชีวผลิตภัณฑ์

บรรณาธิการ	พยนต์	สินสุวงศ์วัฒน์
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	รัชนี	อัตถิ
กองบรรณาธิการ	สมใจ	กมลศิริพิชัยพร
	ไชยา	สง่าประโคน
	สหวัชร์	อึ้งวนิชบรรณ
	กฤษดา	ลิมปนานนท์
	รวินันท์	ฉ่ำเฉลิม
	เดิมพล	รัตนวงศ์

สำนักงาน	สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์
	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30130
กำหนดออก	ปีละ 2 ฉบับ : เดือนมีนาคม และกันยายน
พิมพ์ที่	สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์
	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

The Journal of Veterinary Biologics

Editor	Payont	Sinsuwonkwat
Assistant editor	Ratchanee	Atthi
Editorial board	Somjai	Kamolsiripichaiporn
	Chaiya	Sangaprakhon
	Sahawatchara	Ungvanijban
	Kritsada	Limpananont
	Rawinan	Chamchalearm
	Dermpol	Ratanawonk

Office	Bureau of Veterinary Biologics,
	Pakchong, Nakhonratchasima, Thailand, 30130
Publications	twice a year in March and September

ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ เป็นวารสารเผยแพร่งานวิชาการของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออกปีละ 2 ฉบับ คือ เดือนมีนาคมและกันยายน วัตถุประสงค์ เพื่อพิมพ์เผยแพร่งานทางด้านวิชาการของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ และหน่วยงานอื่นที่คล้ายกัน งานวิชาการที่จะพิมพ์ในวารสารนี้ต้องผ่านการอนุมัติให้เผยแพร่ผลงานทางวิชาการแล้ว

เรื่องที่จะนำลง

1. งานวิจัย (Technical papers) : เป็นการเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้ทำขึ้นเอง
2. บทความ (Articles) : เป็นบทความทางวิชาการ ที่รวบรวมข้อมูล ความคิดเห็นและประสบการณ์ของผู้เขียน
3. เรื่องอื่น ๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

การส่งเรื่อง ส่งถึงกองบรรณาธิการวารสารชีวผลิตภัณฑ์ สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130 โทร. 044-311592 Fax. 044-312870

ต้นฉบับ

1. ต้นฉบับที่ส่งมาพิมพ์ในวารสารชีวผลิตภัณฑ์ ไม่ควรเป็นเรื่องที่เคยพิมพ์ หรือกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อลงพิมพ์วารสารอื่น
2. ต้นฉบับเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ บนกระดาษ A 4 ส่งมาพร้อมกัน Diskkette โดยพิมพ์บทความด้วยโปรแกรม MS.word 95-98 พร้อมสำเนาอีก 1 ชุด
3. มีความยาวไม่เกิน 14 หน้า

การลำดับเรื่อง

1. **ชื่อเรื่อง** (Title) ควรตั้งชื่อให้สั้นและสื่อความหมายได้ดี
2. **ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน** (Author and co-workers) เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ใต้ชื่อเรื่องพร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่จะติดต่อได้สะดวกเป็นหมายเหตุ (foot note)
3. **บทคัดย่อ** (Abstract) เขียนสั้นให้ได้เนื้อความคลุมเรื่องทั้งหมดโดยเฉพาะวัตถุประสงค์ วิธีการและผล ไม่ควรเกิน 3% ของตัวเรื่อง มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ แต่ละภาษาเขียนแยกหน้าต่างหาก
4. **คำสำคัญ** (Key words) เป็นคำหรือข้อความสั้น ๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้น ๆ รวมกันแล้วไม่เกิน 4 คำ หากไม่สามารถแปลเป็นภาษาไทยได้ให้ใช้ภาษาไทยสะกดทับศัพท์ อยู่ใต้บทคัดย่อ
5. **เนื้อหา** (Text) สำหรับงานวิจัยประกอบด้วย

บทนำ (Introduction) อธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์และควรมีการตรวจเอกสาร (literature review)

อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) อธิบายเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง วิธีการที่ใช้ถ้าคิดค้นขึ้นควรอธิบายอย่างละเอียด แต่ถ้าเป็นที่ทราบกันควรเขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ถ้าเป็นเครื่องหมายตราหรือชื่อการค้า ควรทำเป็น foot note ไว้ที่ข้างล่างของหน้านั้น

ผล (Results) รายงานผลการทดลองเป็นคำบรรยาย ให้ละเอียดและเข้าใจง่าย โดยแบ่งเป็นหลาย ๆ ย่อหน้า และจัดข้อความที่มีเนื้อหาเดียวกันไว้ด้วยกัน หากเป็นไปได้ควรเสนอในรูปของตาราง หรือ รูปภาพ หรือกราฟ พร้อมทั้งบรรยายประกอบ ทั้งนี้ตาราง รูป หรือกราฟ ไม่ควรแสดงผลที่เหมือนกัน

ตาราง (Tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจนเหมาะกับหน้า ต้องมีความหมายในตัวเอง และมีคำอธิบายตารางอยู่เหนือตารางนั้น ๆ

รูปภาพ (Figures) ควรเป็นภาพขาว-ดำ ภาพสีหากจำเป็นผู้เขียนต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง อธิบายรายละเอียดไว้ใต้รูปนั้น ๆ

สรุปและวิจารณ์ (Conclusion and Discussion) โดยการสรุป เขียนใจความที่สำคัญและคุณค่าของงานเพื่อผู้อ่านจะได้เข้าใจได้ง่ายขึ้น ส่วนการวิจารณ์เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมาย เพื่อให้ผู้อื่นเห็นคล้อย ถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง หรือเพื่อสนับสนุน หรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน หรือเพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น ผู้เขียนควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคตและลู่ทางที่จะนำผลไปใช้เป็นประโยชน์

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) ควรมีในกรณีที่ได้รับความช่วยเหลือหรือความร่วมมือที่ได้การสนับสนุนงานค้นคว้าวิจัยนั้น ๆ

เอกสารอ้างอิง (References)

ก. **กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง** ควรอ้างอิงดังนี้คือ

1. กรณีที่อ้างจากการตรวจเอกสารโดยผู้อื่น ให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (cited by)

2. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นคนไทย เมื่อเป็นประธานของประโยค เช่น นพพร (2539) หรือเมื่อรายงานอยู่กลาง หรือท้ายประโยค เช่น (นพพร, 2539), (วิไลและคณะ, 2532)

3. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นชาวต่างประเทศ เมื่อเป็นประธานของประโยค เช่น Lin และLee (1981), Kumagai และคณะ (1961) หรือเมื่อผู้รายงานอยู่กลางหรือท้ายประโยค เช่น (Lin and Lee, 1981) (Kumagai et al., 1961)

ข. **การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง** ควรขึ้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อน เขียนเรียงตามลำดับพยัญชนะของผู้เขียน ถ้าเป็นภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง แล้วตามด้วยชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างถึง ดังตัวอย่าง

กัญญา สุวินทรากร และอนุทิน หาญวีรพล 1991 (2534) การตรวจสอบหาไวรัสอหิวาต์สุกรไชน่าสเตรนชนิดผ่านกระต่าย โดยใช้เซลล์คัลเจอร์ เวชชสารสัตวแพทย์ 21(2) : 69-78

Jsonson, R.H. and Collings, D.F., 1971. Transplacental infection of piglets with a porcine parvovirus. Res. Vet. Sci., 12 : 570-572

หากเอกสารอ้างอิงเป็นตำราให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่ตีพิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา (พิมพ์ครั้งที่เท่าใด และบรรณาธิการ) สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ หน้าแรกและหน้าสุดท้ายที่อ้างถึง ดังตัวอย่าง

Van Oirschot, J.T. 1986. Hog Cholera. In : Disease of Swine, 6th ed. Leman, A.D. ed., Iowa state university Press, Iowa. p. 293-297

การพิมพ์ผลงานทางวิชาการ

ตัวพิมพ์ ให้พิมพ์ดีด หรือใช้เครื่องพิมพ์ (Printer) หมึกพิมพ์ต้องเป็นสีดำ คมชัด สะดวกแก่การอ่านและใช้ตัวพิมพ์แบบเดียวกันทั้งฉบับ กรณีใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ให้ใช้ตัวอักษร Cordia new ขนาด 16 ยกเว้นหัวข้อให้ใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) แสดงให้ชัดเจน

กระดาษที่ใช้พิมพ์ ให้ใช้กระดาษขาวไม่มีบรรทัด ขนาดมาตรฐาน A4 (210 x 297 mm) ใช้เพียงหน้าเดียว

การเว้นที่ว่างขอบกระดาษ

ตั้งกั้นหน้าบนและซ้ายไว้ที่ 1.5 นิ้ว หรือ 3.17 ซม.

ด้านขวาและด้านล่างไว้ที่ 1 นิ้ว หรือ 2.5 ซม.

การเว้นระยะในการพิมพ์

- การเว้นระยะระหว่างบรรทัดและการย่อหน้า ควรจัดตามความสวยงาม
- กรณีคำสุดท้ายไม่จบในบรรทัดนั้นๆ ให้ยกคำนั้นทั้งคำไปพิมพ์ในบรรทัดต่อไป ไม่ควรตัดส่วนท้ายของคำไปพิมพ์ในบรรทัดใหม่ เช่น กองผลิตชีวภัณฑ์ ไม่ให้แยกเป็น กองผลิตชีว- ภัณฑ์ เป็นต้น
- หลังเครื่องหมาย . และ , เคาะ 1 เคาะ
- ระหว่างคำสุดท้าย กับเครื่องหมาย . และ , ไม่เว้นช่องว่าง
- ไม่ต้องเว้นช่องว่าง ระหว่าง (...) และคำข้างในวงเล็บ

การลำดับหน้า

ลำดับหน้าโดยใช้หมายเลข 1,2,3..... ที่มุมขวาด้านบน

ตาราง รูปภาพ แผนภูมิ กราฟ

- ตารางประกอบด้วย เลขที่ของตาราง (table number) ชื่อของตาราง (table title)

หัวตาราง (table heading) และที่มาของตาราง (ถ้ามี) โดยให้ทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งตาราง พิมพ์อยู่ในหน้าเดียวกันทั้งหมด

- กรณีตารางมีความยาวมาก ไม่สามารถสิ้นสุดในหน้าเดียวได้ ให้พิมพ์ส่วนที่เหลือในหน้าถัดไป โดยพิมพ์เลขที่ตารางและตามด้วยคำว่า (ต่อ)
- กรณีรูปภาพ แผนที่ แผนภูมิ กราฟ ให้ใช้แนวทางข้างต้น

การพิมพ์ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต ให้ใช้ตามประมวลนามศาสตร์สากล (International code of nomenclature) คือ ขีดเส้นใต้ หรือ *พิมพ์ด้วยตัวเอน* ชื่อวิทยาศาสตร์เป็นไปตามการตั้งชื่อระบบทวินาม (Binomial nomenclature) คือประกอบด้วยคำ 2 คำ คำแรกเป็นชื่อ Genus ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ คำหลังเป็น specific epithet พิมพ์เว้นวรรคห่างจากคำแรก และขึ้นต้นด้วยอักษรตัวเล็ก ตัวอย่าง

จุลชีพ เช่น Escherichia coli หรือพิมพ์ตัวเอน

พืช เช่น Oryza sativa L. หรือพิมพ์ตัวเอน

สัตว์ เช่น Spiella inermis หรือพิมพ์ตัวเอน

การตรวจแก้ไข

คณะกรรมการขอสงวนสิทธิตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาพิมพ์ทุกเรื่อง ตามแต่จะเห็นควร ในกรณีที่จำเป็นจะส่งต้นฉบับเดิมหรือฉบับที่แก้ไขแล้ว ให้ผู้เขียนเพื่อตรวจความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

จากกองบรรณาธิการ

วารสารชีวผลิตภัณฑ์ ฉบับปีที่ 12 เล่มที่ 1 - 2 ฉบับนี้เป็นการรวมเล่มเช่นเดียวกับฉบับก่อนหน้านี้ ทั้งนี้ทั้งนั้นเป็นเนื่องมาจาก (1) ผลงานวิชาการที่จะลงในวารสารมีจำนวนไม่เพียงพอในการพิมพ์ (2) กองผลิตชีวภัณฑ์(เดิม) มีการปรับเปลี่ยนองค์กรและเปลี่ยนชื่อจากกองผลิตชีวภัณฑ์เป็นสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ตั้งแต่ปี 2545 เป็นต้นมา ทำให้ต้องเปลี่ยนเจ้าของวารสารจากการเป็นเอกสารเผยแพร่งานวิชาการของกองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ เป็นเอกสารเผยแพร่งานวิชาการของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ ตั้งแต่ฉบับนี้เป็นต้นไป

สำหรับวารสารชีวผลิตภัณฑ์ ฉบับนี้ประกอบด้วยผลงานทางวิชาการจำนวน 3 เรื่อง ที่น่าสนใจได้แก่ (1) เวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ที่อุณหภูมิ 4°C ในถังเพาะเซลล์ ขนาด 3,200 ลิตร ในกระบวนการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย (2) เปรียบเทียบการทดสอบวัคซีนเฮโมรายิก-เซพติซีเมียชนิดน้ำมันโดยวิธี Active Mouse Protection Test ด้วยการฉีดวัคซีนในหนูขาวหนึ่งและสองครั้ง (3) การทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในชีวภัณฑ์ และบทความพิเศษ : ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง "การกำหนดรายละเอียดเกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบันตามกฎหมายว่าด้วยยา พ.ศ. 2546" อีก 1 เรื่อง รวม เป็น 4 เรื่องด้วยกัน ซึ่งหวังว่าผลงานดังกล่าวจะเป็นผลงานที่น่าติดตามและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริงทั้งผู้ผลิต ผู้ใช้ และผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

กองบรรณาธิการ

เวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอน เซลล์ IFFA-3 ที่อุณหภูมิ 4°C ในถังเพาะเซลล์ขนาด 3,200 ลิตร ในกระบวนการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

รัชพล สีบพรหม[1] จาตุรนต์ พลราช[1]

บทคัดย่อ

การหาเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ในถังเพาะเซลล์ขนาด 3,200 ลิตรที่อุณหภูมิ 4°C ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเฉลี่ย 2.61-2.68 x 10^6 cell/ml พบว่า เวลาที่ใช้ในการตกตะกอน 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 และ 32 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเซลล์เฉลี่ย 12.45, 9.96, 6.79, 4.10, 3.82, 9.47, 36.25 และ 48.09 ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้ได้เลือกเวลาการตกตะกอน 24 ชั่วโมง มาทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง โดยใช้เซลล์เริ่มต้นระหว่าง 2.23-2.67 x 10^6 cell/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 4.10 เช่นเดียวกับการทดลองครั้งแรก ดังนั้นการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีความเหมาะสมที่จะใช้ในกระบวนการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

คำสำคัญ : เซลล์ IFFA-3 การตกตะกอน

---

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

ฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ได้ผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยแบบเซลล์แขวนลอย ตั้งแต่ ค.ศ. 1978 (Makarasen and Sinsuwonkwat,1986) และนำเซลล์ IFFA-3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดเลือกจากตัวอ่อนของหนู Hamster (Nardelli and Panina,1976) มาใช้เมื่อ ค.ศ. 1989 ซึ่งการผลิตเซลล์จะต้องเพิ่มปริมาณเซลล์โดยเพาะเลี้ยงในมีเดียมให้ได้จำนวนเพียงพอเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงไวรัส และจะต้องมีการตกตะกอนเซลล์ก่อนการเปลี่ยนมีเดียมเลี้ยงไวรัสโดยวิธีการหยุดปั่นและทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ซึ่งสะดวก ทำได้ง่าย ปลอดภัยและไม่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนถึงแม้จะใช้เวลานานและมีการสูญเสียมากกว่าการ centrifuge

วัชรี และคณะ (2539) ได้ศึกษาการตกตะกอนเซลล์ $BHK_{21}C_{13}$ suspension ในหลอด 100 ซีซี ถังเพาะขนาด 50 ลิตร และถังเพาะขนาด 5,000 ลิตร พบว่าที่อุณหภูมิ 4°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเซลล์เพื่อการตกตะกอนโดยเซลล์ยังมีชีวิตมากกว่า 80% ส่วนอุณหภูมิ 25°C และ 37°C ไม่ควรใช้ในการตกตะกอนเซลล์ ส่วนการตกตะกอนของเซลล์ IFFA-3 ยังไม่มีข้อมูลการตกตะกอนและเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตแอนติเจนไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ในถังขนาด 3,200 ลิตรที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อให้มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเซลล์น้อยที่สุด และเวลาที่เหมาะสมเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตแอนติเจนไวรัสสำหรับผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ถังเพาะเซลล์-ไวรัส ขนาด 3,200 ลิตร
2. เซลล์ IFFA-3
3. Basal Medium Eagle (BME)
4. Van Bekkum Medium (VBM)

วิธีการ

1. เพาะเลี้ยงเซลล์ IFFA-3 suspension ในมีเดียมเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วย 5% Bovine calf serum ใน BME ที่อุณหภูมิ 35.5°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ใช้รอบการปั่น 80-90 รอบ/นาที ในถังเพาะเซลล์ขนาด 3,200 ลิตร ให้ได้เซลล์จำนวนประมาณ $2.61\text{-}2.68 \times 10^6$ cell/ml โดยเพาะเซลล์จำนวน 24 ครั้ง จากนั้นปรับอุณหภูมิเป็น 4°C

2. หยุดปั่นและทิ้งให้เซลล์ IFFA-3 ตกตะกอน ที่อุณหภูมิ 4°C โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 8 กลุ่มๆละ 3 ถัง ในแต่ละกลุ่มใช้เวลาตกตะกอนที่แตกต่างกันคือ 18, 20 , 22 , 24 , 26 , 28 , 30 และ 32 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นทำการเปลี่ยนมีเดียม BME เป็นมีเดียม VBM ในปริมาณที่เท่ากันและทำการปั่นเซลล์ที่ตกตะกอนแล้วให้เข้ากับมีเดียม VBM เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยใช้ความเร็วรอบของการปั่นประมาณ 80-90 รอบ/นาที จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างตรวจนับเซลล์ IFFA-3 ด้วย Haemocytometer ชนิด spencer bright line โดยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 x 20 เท่า ซึ่งแต่ละถังทำการตรวจนับเซลล์ IFFA-3 จำนวน 5 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยของแต่ละถัง หาค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มและนำมาคำนวนหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเซลล์

3. เมื่อได้ระยะเวลาที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การสูญเสียที่ต่ำจากการทดลองข้อ 2 ประกอบกับความเหมาะสมในการปฏิบัติงาน นำมาทดลองตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ที่อุณหภูมิ 4° C โดยใช้เซลล์เริ่มต้นตกตะกอนที่มีปริมาณแตกต่างกัน จำนวน 5 ครั้ง หลังจากนั้นดำเนินการเปลี่ยนมีเดียมและนับเซลล์ตามวิธีการที่กล่าวในข้อ 2 เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองจากข้อ 2 ก่อนนำไปปฏิบัติงานจริงในการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

ผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้ปริมาณเซลล์ IFFA-3 เริ่มต้นตกตะกอนเฉลี่ย 2.61-2.68 x 10^6 cell/ml ผลการตกตะกอน ในถังขนาด 3,200 ลิตร ที่อุณหภูมิ 4°C จำนวน 8 กลุ่มการทดลอง โดยเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนแตกต่างกัน คือ 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 และ 32 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าเซลล์ IFFA-3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสีย เท่ากับ 12.45, 9.96, 6.79, 4.10, 3.82, 9.47, 36.25 และ 48.09 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และพบว่าเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียกับเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนเซลล์ 26 ชั่วโมง มีปริมาณของการสูญเสียน้อยที่สุดและรองลงมาคือ 24 ชั่วโมง

จากการเลือกใช้ระยะเวลาในการตกตะกอน 24 ชั่วโมงซึ่งเป็นเวลาที่มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียต่ำและเหมาะสมในการปฏิบัติงานโดยใช้เซลล์เริ่มต้นต่างกันจำนวน 5 ครั้ง มีเซลล์เริ่มต้นตั้งแต่ 2.23- 2.67 x 10^6 cell/ml พบว่ามีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียเท่ากับ 4.10

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเมื่อตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ที่อุณหภูมิ 4°C ในถังเพาะเซลล์ขนาด 3,200 ลิตร ในเวลาที่แตกต่างกัน

ชั่วโมงที่ตกตะกอน	เซลล์เริ่มต้นที่ใช้ในการตกตะกอน ($\bar{X}$ x 10^6 cell/ml)	จำนวนเซลล์คงเหลือหลังจากตกตะกอน ($\bar{X}$ x 10^6 cell/ml)	เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสีย
18	2.65	2.32	12.45
20	2.61	2.35	9.96
22	2.65	2.42	6.79
24	2.68	2.57	4.10
26	2.62	2.52	3.82
28	2.64	2.39	9.47
30	2.62	1.67	36.25
32	2.62	1.36	48.09

วิจารณ์

ในการผลิตแอนติเจนไวรัสสำหรับผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย การตกตะกอนเซลล์เพื่อเปลี่ยนมีเดียมควรมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเซลล์ไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการศึกษาการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ในถังขนาด 3,200 ลิตรที่อุณหภูมิ 4°C จำนวน 8 กลุ่มการทดลอง ในเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการตกตะกอนที่ชั่วโมงที่ 18, 30 และ 32 มีเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสีย 12.45, 36.25 และ 48.09 ตามลำดับซึ่งมากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ส่วนเวลาที่ใช้ในการตกตะกอน 20, 22, 24, 26 และ 28 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย 9.96, 6.79, 4.10, 3.82 และ 9.47 ตามลำดับซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดและชั่วโมงที่ 26 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้อยที่สุดรองลงมาคือชั่วโมงที่ 24 ซึ่งการสูญเสียเซลล์ในเวลาที่ใช้ในการตกตะกอน 18, 20, 22, 24 และ 26 ชั่วโมง เป็นการสูญเสียเซลล์ที่มีชีวิตแต่ยังไม่ตกตะกอน และชั่วโมงที่ 28, 30 และ 32 มีเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียส่วนใหญ่อาจเนื่องมาจากการทับถมกันของเซลล์จำนวนมากทำให้เซลล์ตายและบางส่วนเกิดการสูญเสียจากเซลล์ที่มีชีวิตแต่ยังไม่ตกตะกอน นอกจากนี้ในการตกตะกอนเซลล์ในถังเพาะเซลล์ขนาด 3,200 ลิตรที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตโดยมีเซลล์เริ่มต้นตั้งแต่ 2.23- 2.67 x 10^6 cell/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเซลล์เฉลี่ย 4.10 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเฉลี่ยที่เท่ากันกับการทดลองที่กล่าวมาแล้วข้างต้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่างกันไม่มีผลต่อการตกตะกอน และนอกจากนี้ยังมี

ปัจจัยอื่นซึ่งมีผลกระทบต่อการตกตะกอนเช่น ขนาดของเซลล์ถ้าเซลล์มีขนาดเล็กจะทำให้เกิดการตกตะกอนช้า แต่ถ้าเซลล์มีขนาดใหญ่ก็อาจจะทำให้มีการตกตะกอนได้เร็วกว่าเซลล์ที่มีขนาดปกติ ซึ่งการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 และ ลดเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียเซลล์ในการผลิตแอนติเจนไวรัสสำหรับวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

สรุป

เวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนเซลล์ IFFA-3 ในถังเพาะเซลล์ขนาด 3,200 ลิตรที่อุณหภูมิ $4^{\circ}C$ คือ 26 ชั่วโมง ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้อยที่สุด รองลงมาคือ 24 ชั่วโมง และการตกตะกอนเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นระยะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการผลิตแอนติเจนไวรัสสำหรับผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สินสุวงศ์วัฒน์ สุรพล ขุมทรัพย์ และวรากิจ จันทรัศมี 2539 ศึกษาการตกตะกอนของ เซลล์ $BHK_{21}C_{13}$ suspension ในการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 6(2) : 26-32.

Makarasen, P. and Sinsuwonkwat , P. 1986. Vaccine and Vaccine production. Third Country Training Program on Foot and Mouth Disease Control (Group Training Course) February 24 –March 16, Bangkok, Thailand : 180-201.

Nardelli,L. and Panina,G.F. 1976. The Use of Suspension Culture for FMD Vaccine Production. Criteria for Evaluation of Cell, Virus and Vaccine. In : International Symposium on Foot and Mouth Disease, Lyon 1976. Develop. Biol. Standard. Vol 35 : 9-15.

Appropriate sedimentation time of cell IFFA-3 in 3,200 liters tank at 4°C in Foot and Mouth Disease vaccine production

Rachapol Subprom[1] Jaturon Polrach[1]

Abstract

The determination for the appropriate sedimentation time at 4°C of the IFFA-3 cell growth in 3,200 liters tank was studied. It was found that after the sedimentation for 18, 20 22, 24, 26, 28, 30 and 32 hours the cells with the starter amount of 2.61-2.68 x 10^6 cell/ml lost their viability on the average IFFA-3 was lost on the average 12.45, 9.96, 6.79, 4.10, 3.82, 9.47, 36.25 and 48.09 percent, respectively. Based on this result, the sedimentation time at 24 hours was selected for confirmation. The cells with the starter amount of 2.23-2.67 x 10^6 cell/ml were tested five times. The average cell loss was 4.10 percent.

Therefore, the sedimentation of IFFA-3 cell in 3,200 liters tank for 24 hours at 4°C is appropriate for the Foot and Mouth Disease vaccine production process.

Keywords : cell IFFA-3, sedimentation

[1] Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhonratchasima , 30130

เปรียบเทียบการทดสอบวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันโดยวิธี Active Mouse Protection Test ด้วยการฉีดวัคซีนในหนูขาวหนึ่งและสองครั้ง

นิเทศ เลิศลิมชลาลัย[1] นิตยา รักศรี[1]

บทคัดย่อ

ทำการเปรียบเทียบการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน โดยวิธี Active Mouse Protection Test (AMPT) ด้วยการฉีดวัคซีนในหนูขาวครั้งเดียวและสองครั้ง โดยทดสอบวัคซีนจำนวน 15 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างใช้หนูกลุ่มฉีดวัคซีน 2 กลุ่มๆละ 30 ตัว (เป็นกลุ่มฉีดวัคซีนครั้งเดียวและสองครั้ง) และกลุ่มไม่ฉีดวัคซีนเป็นกลุ่มควบคุมจำนวนเท่ากัน พบว่าการฉีดวัคซีนสองครั้ง ทำให้หนูขาวมีค่า log unit protection สูงกว่ากลุ่มที่ฉีดวัคซีนครั้งเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) หนูขาวกลุ่มที่ได้รับวัคซีนสองครั้ง มีค่าเฉลี่ย 5.39 ± 0.48 log unit protection ขณะที่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนหนึ่งครั้งมีค่าเฉลี่ย 4.76 ± 0.42 log unit protection อย่างไรก็ตามการแปลผลถือว่าวัคซีนทุกตัวอย่างที่ทดสอบให้ความคุ้มโรค เนื่องจากวัคซีนต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 4 log unit protection ในหนูขาวถือว่ามีความคุ้มโรค ดังนั้นสามารถใช้การฉีดวัคซีนหนึ่งหรือสองครั้งในการทดสอบ AMPT ของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันได้ ซึ่งจะแปลผลได้เหมือนกัน

คำสำคัญ : ประสิทธิภาพวัคซีน เฮโมรายิกเซพติซีเมีย วัคซีนชนิดน้ำมัน
การทดสอบความคุ้มโรคในหนูขาว

---

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

การทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย ทำได้หลายวิธี ได้แก่ การฉีดเชื้อพิษในโค กระต่ายหรือหนูขาว ภายหลังการฉีดวัคซีน สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ใช้วิธี Active Mouse Protection Test (AMPT) ในการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน ตามวิธีของ Ose and Muenster (1968) โดยฉีดเชื้อพิษทับในหนูขาวหลังฉีดวัคซีนครั้งเดียว วัคซีนที่ถือว่าผ่านการทดสอบจะต้องมีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 2 log unit protection แต่ในปัจจุบันการผลิตและทดสอบคุณภาพวัคซีนจะต้องเป็นไปตามมาตรฐานของอาเซียนซึ่งสอดคล้องกับมาตราฐาน OIE (OIE,1996) แต่วิธีการและเกณฑ์ตัดสินแตกต่างจากวิธีที่สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ใช้อยู่ โดย OIE กำหนดให้ฉีดเชื้อพิษทับหลังฉีดวัคซีนในหนูขาว 2 ครั้ง สังเกตอาการเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ค่าความคุ้มโรคสำหรับวัคซีนในหนูขาวจะต้องมีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 4 log unit protection จึงถือว่าผ่านการทดสอบ ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน โดยวิธี AMPT ด้วยการฉีดวัคซีนในหนูขาวครั้งเดียวและสองครั้ง และเปรียบเทียบการแปลผลจากการทดลองทั้ง 2 วิธี ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ โดยใช้เกณฑ์ตัดสินของ OIE

อุปกรณ์และวิธีการ

1. **วัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน** จำนวน 15 ชุด

เป็นวัคซีนที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ ซึ่งประกอบด้วยเชื้อ *Pasteurella multocida* ซีโรไทป์ B:2,5 สเตรนท้องถิ่น ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน 0.3% โดยปริมาตรในสารละลาย 0.15 M PBS, pH 7.2 และปรับให้มีความขุ่นเป็นค่า OD_{540} เท่ากับ 1.2 แล้วผสมสารแอดจูแวนท์ชนิดน้ำในน้ำมัน Montanide ISA 70 [1] ปริมาณ 70% โดยน้ำหนัก

2. **หนูขาว**

หนูขาวเพศผู้พันธุ์ ICR อายุ 4 – 7 สัปดาห์ จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ต.ศาลายา จ.นครปฐม จำนวน 930 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ฉีดวัคซีน 2 ครั้ง จำนวน 450 ตัว โดยใช้ 30 ตัว ต่อชุด

กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีน 1 ครั้ง จำนวน 450 ตัว โดยใช้ 30 ตัว ต่อชุด

กลุ่มที่ 3 ไม่ฉีดวัคซีน จำนวน 30 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม

---

[1] Seppic, France

3. **การทำ** Active mouse protection test

3.1 การฉีดวัคซีน

กลุ่มที่ 1 ฉีดวัคซีนสองครั้ง ห่างกัน 3 สัปดาห์
ฉีดวัคซีนเข้าช่องท้องหนูขาวตัวละ 0.2 มล.

กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีนครั้งเดียว
ทำพร้อมการฉีดครั้งที่ 2 ของกลุ่มที่ 1

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ฉีดวัคซีน

3.2 การฉีดพิษทับ

หลังจากฉีดวัคซีนครั้งสุดท้าย 3 สัปดาห์ แบ่งหนูขาวออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ฉีดเชื้อพิษโดยเตรียมเชื้อพิษจากการเพาะเชื้อ *P. multocida* ซีโรไทป์ B:2,5 ใน tryptose phosphate broth (TPB) 6 ชั่วโมง แล้วทำ ten fold dilution ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-9} นำไปฉีดหนูขาวเข้าช่องท้อง dilution ละ 5 ตัวๆ ละ 0.1 มล. โดยกลุ่มที่ฉีดวัคซีนฉีดเชื้อพิษตั้งแต่ dilution 10^{-1}ถึง 10^{-6} กลุ่มควบคุมฉีดเชื้อพิษตั้งแต่ dilution 10^{-4} ถึง 10^{-9} สังเกตอาการเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จึงคำนวณค่า LD_{50} ตามวิธีของ Reed and Muench (1938) และหาค่า log protection

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบเปรียบเทียบค่าความคุ้มโรคด้วยการฉีดวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันครั้งเดียวและสองครั้งในหนูขาว โดยวิธี AMPT โดยใช้วัคซีน 15 ตัวอย่าง พบว่า หนูทุกกลุ่มมีความคุ้มโรค โดยค่า log protection การฉีดวัคซีนครั้งเดียวในหนูขาว มีค่า 4.17–5.46 คิดเป็นค่าเฉลี่ย 4.76 $\pm$ 0.42 ค่า log protection การฉีดวัคซีนสองครั้งในหนูขาว มีค่า 4.52 – 6.25 คิดเป็นค่าเฉลี่ย 5.39 $\pm$ 0.48 ตามตารางที่ 1 (Table 1)

Table 1 Comparison between the active mouse protection test of Haemorrhagic Septicaemia oil adjuvant vaccine after one and two vaccination.

Sample no.	*LD_{50}			Log protection	
	non vaccination	One vaccination	Two vaccination	One vaccination	Two vaccination
1	$10^{-8.73}$	$10^{-3.97}$	$10^{-3.5}$	4.76	5.22
2	$10^{-8.68}$	$10^{-4.15}$	$10^{-3.62}$	4.50	5.01
3	$10^{-8.68}$	$10^{-3.59}$	$10^{-3.46}$	5.09	5.22
4	$10^{-8.68}$	$10^{-4.00}$	$10^{-3.42}$	4.68	5.26
5	$10^{-8.68}$	$10^{-4.29}$	$10^{-3.22}$	4.39	5.46
6	$10^{-8.68}$	$10^{-4.33}$	$10^{-3.67}$	4.35	5.01
7	$10^{-9.63}$	$10^{-4.84}$	$10^{-3.38}$	4.79	6.25
8	$10^{-9.63}$	$10^{-4.32}$	$10^{-3.47}$	5.31	6.61
9	$10^{-9.63}$	$10^{-4.17}$	$10^{-3.82}$	5.46	5.81
10	$10^{-9.63}$	$10^{-4.27}$	$10^{-3.67}$	5.36	5.96
11	$10^{-8.68}$	$10^{-3.72}$	$10^{-3.57}$	4.28	5.11
12	$10^{-8.17}$	$10^{-3.00}$	$10^{-2.76}$	5.17	5.41
13	$10^{-8.17}$	$10^{-4.00}$	$10^{-2.90}$	4.17	5.27
14	$10^{-8.17}$	$10^{-3.57}$	$10^{-2.36}$	4.60	5.81
15	$10^{-8.17}$	$10^{-3.67}$	$10^{-3.65}$	4.50	4.52
Mean $\pm$ SD	$10^{-8.80}$	$10^{-3.99}$	$10^{-3.36}$	4.76 ± 0.42	5.39 ± 0.48

*LD_{50} = Median Lethal Dose, dilution

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการทดลอง พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนสองครั้งมีค่า log protection สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนครั้งเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นไปตามกลไกของการสร้างภูมิคุ้มโรค การฉีดวัคซีนสองครั้งร่างกายได้รับการกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันมากขึ้น (วิชัย, 2523)

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบค่า log unit protection ในหนูขาวทั้งสองกลุ่ม จากการทดสอบวัคซีนแต่ละตัวอย่าง พบว่ามีค่าสูงกว่า 4 ทั้งหมด ซึ่งการแปลผลความคุ้มโรคของวัคซีนตามมาตรฐาน OIE (1996) ถือว่าวัคซีนผ่านการทดสอบ ชี้ให้เห็นว่าการฉีดวัคซีนในหนูขาวครั้งเดียวหรือสองครั้งในการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย ชนิดน้ำมัน ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ การแปลผลการทดสอบจะเหมือนกัน ดังนั้นเพื่อประหยัดเวลา แรงงาน ค่าอาหาร การเลี้ยงหนูและความสะดวกในการปฏิบัติงาน ก็สามารถใช้วิธีการฉีดวัคซีนครั้งเดียว ในการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิเซพติซีเมียชนิดน้ำมันได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ. รัชนี อัตถิ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและสนับสนุนให้การทดลองนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

วิชัย ศุภสินธุ์ 2523 อิมมูนและซีรั่มวิทยาทางสัตวแพทย์ (Veterinary immunology and serology) ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : 41.

รัชนี อัตถิ, วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา และนิเทศ เลิศลิมชลาลัย 2540 การพัฒนาการผลิตวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันเพื่ออุตสาหกรรม 2. การผลิตในขนาดอุตสาหกรรม สัตวแพทย์สาร 48(1) : 29-34.

วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา และนิเทศ เลิศลิมชลาลัย 2536 เปรียบเทียบวิธีการฉีดในการตรวจความคุ้มโรคในหนูขาวสำหรับโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 4(1) : 9-12.

Bain, R.V.S. 1979. Report on the International Workshop on Haemorrhagic Septicaemia. 10-14 December 1979, Department of Animal Production and Health, Columbo, Sri Lanka : 32.

Bain, R.V.S., De alwis, M.C.L., Carter, G.R. and Gupta, B.K. 1982. Haemorrhagic Septicaemia, FAO Animal Production and Health, paper No.33 FAO, Rome, Italy.

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการทดลอง พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนสองครั้งมีค่า log protection สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนครั้งเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นไปตามกลไกของการสร้างภูมิคุ้มโรค การฉีดวัคซีนสองครั้งร่างกายได้รับการกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันมากขึ้น (วิชัย, 2523)

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบค่า log unit protection ในหนูขาวทั้งสองกลุ่ม จากการทดสอบวัคซีนแต่ละตัวอย่าง พบว่ามีค่าสูงกว่า 4 ทั้งหมด ซึ่งการแปลผลความคุ้มโรคของวัคซีนตามมาตรฐาน OIE (1996) ถือว่าวัคซีนผ่านการทดสอบ ชี้ให้เห็นว่าการฉีดวัคซีนในหนูขาวครั้งเดียวหรือสองครั้งในการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมีย ชนิดน้ำมัน ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ การแปลผลการทดสอบจะเหมือนกัน ดังนั้นเพื่อประหยัดเวลา แรงงาน ค่าอาหาร การเลี้ยงหนูและความสะดวกในการปฏิบัติงาน ก็สามารถใช้วิธีการฉีดวัคซีนครั้งเดียว ในการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิเซพติซีเมียชนิดน้ำมันได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ. รัชนี อัตถิ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและสนับสนุนให้การทดลองนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

วิชัย ศุภสินธุ์ 2523 อิมมูนและซีรั่มวิทยาทางสัตวแพทย์ (Veterinary immunology and serology) ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : 41.

รัชนี อัตถิ, วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา และนิเทศ เลิศลิมชลาลัย 2540 การพัฒนาการผลิตวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันเพื่ออุตสาหกรรม 2. การผลิตในขนาดอุตสาหกรรม สัตวแพทย์สาร 48(1) : 29-34.

วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา และนิเทศ เลิศลิมชลาลัย 2536 เปรียบเทียบวิธีการฉีดในการตรวจความคุ้มโรคในหนูขาวสำหรับโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 4(1) : 9-12.

Bain, R.V.S. 1979. Report on the International Workshop on Haemorrhagic Septicaemia. 10-14 December 1979, Department of Animal Production and Health, Columbo, Sri Lanka : 32.

Bain, R.V.S., De alwis, M.C.L., Carter, G.R. and Gupta, B.K. 1982. Haemorrhagic Septicaemia, FAO Animal Production and Health, paper No.33 FAO, Rome, Italy.

Chandrasekaran, S. and Yeab, P.C.1978. Safety and potency testing of haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine by the mouse protection test. Kajian Vet. 10 : 28-34.

De Alwis M.C.L. 1999. Haemorrhagic Septicaemia. ACIAR Monograph No.57: 64-65.

OIE, 1996. Haemorrhagic Septicaemia. In:Manual of Standards for Diagnostic Test vaccines.Office International Des Epizooties, world Organization for Animal Health : 33-337.

Ose E.E. and Muenster O.A. 1968. A method of evaluating vaccines containing *Pasteurella multocida*. American Journal of Veterinary Research, 29:1863-1866.

Reed, L.J. and Muench, H. 1938. A simple method for estimating fifty percent endpoints. Am.J. Hyg. 27 : 493-497.

The comparison between the active mouse protection test of Haemorrhagic Septicaemia oil adjuvant vaccine after one and two vaccination

Niteth Lertlimchalalai[1] Nittaya Rugsri[1]

Abstract

The comparison between one and two vaccination program using in the potency test of haemorrhagic septicaemia (HS) oil adjuvant vaccine were carried out in order to standardize the vaccine quality assay. Fifteen HS oil adjuvant vaccine samples were tested. Two groups of 30 mice (one and two vaccinated group) were used for each sample with an equal number for non vaccinated group. The two vaccination program was found to induce significantly higher log unit protection in mice compared to an one vaccination program ($P>0.05$). The group of mice received two vaccination had 5.39 ± 0.48 log unit protection whereas the other group had 4.76 ± 0.42 log unit protection. However, these results showed that the protective quality of vaccine samples were qualified because the vaccine should provide a minimum of 4 log unit protection in mice. Moreover, it might conclude that either one or two vaccination program can give the same interpretation for the active mouse protection test of HS oil adjuvant vaccine.

Key words : potency, haemorrhagic septicaemia, oil adjuvant vaccine, Active Mouse Protection Test (AMPT)

---

[1] Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhonratchasima, 30130

การทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในชีวภัณฑ์

นิตยา รักศรี[1] อนงนาฏ พุ่มสุคันธรส[2]

บทคัดย่อ

ทำการทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาวรี่ (Lowry's method) ในตัวอย่างวัคซีนแอนแทรกซ์ และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ โดยทดสอบตัวอย่างเดียวกันซ้ำๆ กัน จำนวน 20 ครั้ง นำผลที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย (X) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย (CV) พบว่าค่าที่ตรวจได้ทั้งหมดจากการวัดปริมาณโปรตีนในวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ อยู่ในเกณฑ์ $X \pm 2SD$ คือ เท่ากับ 0.37 ± 0.04 และ 3.51 ± 0.18 มก./มล. ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย เท่ากับ 5.41% และ 2.56% ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ไม่เกิน 10% เป็นที่ยอมรับสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป ดังนั้นผลการตรวจหาปริมาณโปรตีนสำหรับวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาห์เป็ด-ไก่ โดยวิธีลาวรี่นี้ ถือว่ามีความแม่นยำ จัดอยู่ในเกณฑ์ที่ใช้ได้สำหรับการทดสอบคุณภาพวัคซีน

คำสำคัญ : วัคซีนแอนแทรกซ์ วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ วิธีลาวรี่

---

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

[2] ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

การควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการทางเคมี มีความสำคัญมาก เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการนั้นมีปัจจัยหลายประการเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น สภาพห้องปฏิบัติการ ความชำนาญความแม่นยำของผู้ปฏิบัติงาน ซึ่งส่งผลต่อการตรวจสอบ ทำให้ค่าการตรวจสอบผิดพลาดไปจากค่าจริง ดังนั้นจึงเป็นหน้าที่ของห้องปฏิบัติการที่จะต้องควบคุมความผันแปรที่เกิดขึ้น เพื่อควบคุมห้องปฏิบัติการนั้นให้มีประสิทธิภาพและคุณภาพที่ดี น่าเชื่อถือ

ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ มีหน้าที่ตรวจสอบและควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์ชนิดต่างๆ ก่อนนำชีวภัณฑ์ออกจำหน่ายหรือก่อนที่เกษตรนำไปใช้ การตรวจหาปริมาณโปรตีนเป็นส่วนหนึ่งของการตรวจสอบคุณภาพชีวภัณฑ์ เพื่อควบคุมปริมาณแอนติเจนในชีวภัณฑ์ให้มีปริมาณที่เหมาะสมในการกระตุ้นสร้างภูมิคุ้มกันโรค หากมีปริมาณแอนติเจนมากเกินไปจะทำให้สัตว์เกิดการแพ้ได้ และหากมีปริมาณแอนติเจนน้อยเกินไปสัตว์ก็ไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้ ศูนย์ควบคุมคุณภาพชีวภัณฑ์วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างวัคซีน โดยวิธีลาวรี่ (lowry's method) (Lowry, O.H., et. al., 1951) ใช้สารละลายคอปเปอร์(Copper) ไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนภายใต้สภาวะที่เป็นด่างเกิดเป็นคอปเปอร์คอมเพลกซ์ (Copper complex) จากนั้นเติมสารละลาย Folin phenol reagent ซึ่งจะไปรีดิวส์คอปเปอร์คอมเพลกซ์ให้สารละลายสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกราฟค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) (วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด, 2536)

วัตถุประสงค์การทดลองครั้งนี้ เพื่อควบคุมความผันแปรในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการและควบคุมความผันแปรที่อาจเกิดจากผู้ปฏิบัติงาน โดยทดสอบปริมาณโปรตีนในตัวอย่างชีวภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ วัคซีนแอนแทรกซ์ (Anthrax vaccine) และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ (Flow cholera vaccine)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างวัคซีน 2 ชนิด ผลิตโดย สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ จำนวน 2 ชนิด ชนิดละ 1 ตัวอย่าง ได้แก่
   - วัคซีนแอนแทรกซ์ (Anthrax vaccine)
   - วัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ (Fowl cholera vaccine)
2. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Kontron รุ่น Unikon 943
3. เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius basic รุ่น BA 2100 S

4. vortex mixer ยี่ห้อ Genie™ model K-550-GE
5. หลอดทดลองแก้ว ขนาด 15 x 100 มม.
6. ไมโครไปเปต ขนาด 1000 ไมโครลิตร
7. ไมโครไปเปตทิป

สารเคมี

1. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA, Gibco,Cat.no. 810-1018 IM) ความเข้มข้น 1 มก./มล. เตรียมโดยชั่ง BSA 0.1 กรัม ละลายใน distilled water (DW) ปริมาตร 100 มล. ดูดสารละลาย จาก Stock Standard Bovine Serum Albumin เข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 1 มล. ใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มล. เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิลบ18-20 $^{\circ}$C
2. Lowry Reagent (เก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 5-8°C)
   1. เตรียมสารละลาย 2% โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2Co_3 , AR grade) ใน สารละลาย 0.1 N NaOH (เตรียมโดย ชั่ง NaOH 4 กรัม ละลายใน DW เติม 20 กรัม Na_2Co_3 เติม DW จนปริมาตรครบ 1000 มล. ละลายจนหมดเป็นเนื้อเดียวกัน)
   2. เตรียมสารละลาย 1% คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate , $CuSO_4$ .5 H_2O , AR grade)) เตรียมโดยชั่ง $CuSO_4$ .5 H_2O 1 กรัม ละลายใน DW ปริมาตร 100 มล.
   3. เตรียมสารละลาย 2% Na or K Tartrate (Sodium or Potassium Tartrate) เตรียมโดยชั่ง Sodium or Potassium Tartrate 2 กรัม ละลายใน DW ปริมาตร 100 มล.
   4. ผสมสารละลาย 1% คอปเปอร์ซัลเฟต และ สารละลาย 2% Na or K Tartrate อย่างละ 1 มล. ค่อยๆ เติมลงในสารละลาย 2% โซเดียมคาร์บอเนต 100 มล. ผสมให้เข้ากัน
3. 1 N Folin phenol reagent

   เตรียมโดย เจือจาง Folin phenol reagent 2 N ด้วย DW ในอัตราส่วน 1 : 1 (เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน)

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry (Lowry method)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BSA สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน โดยเจือจางสารละลายโปรตีนมาตรฐาน BSA กับ DW ให้มีความเข้มข้น 100, 200, 400, 800 และ 1000 ไมโครกรัม / มล. ปริมาตรหลอดละ 100 ไมโครลิตร (ตามตารางข้างล่าง) ความเข้มข้นละ 2 หลอด

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน BSA (µg/ml)	Volume BSA (µl)	Volume DW (µl)
100	10	90
200	20	80
400	40	60
800	80	20
1000	100	-

2. นำตัวอย่างวัคซีนทั้ง 2 ชนิด ที่ทดสอบ ใส่หลอดทดลอง ชนิดละ100 ไมโครลิตร
3. เติมสารละลาย Lowry reagent หลอดละ 3 มล.เขย่าให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
4. เติม 1 N Folin phenol reagent หลอดละ 0.3 มล. เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน BSA และตัวอย่างชีวภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 650 nm
6. สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน
7. อ่านผลของตัวอย่างชีวภัณฑ์เทียบกับเส้นกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีน โดยทำการทดสอบซ้ำ จำนวน 20 ครั้ง (โดยทำการทดสอบช่วงเช้า 1 ครั้งและช่วงบ่าย 1 ครั้ง แต่ละวันเป็นเวลา 10 วัน เพื่อทดสอบความแม่นยำของผู้ปฏิบัติ)
8. ใช้ค่าทางสถิติในการแปลผลความแม่นยำ (precision) โดยใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และค่าสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย (coefficient of variation, CV)

ผลการทดลอง

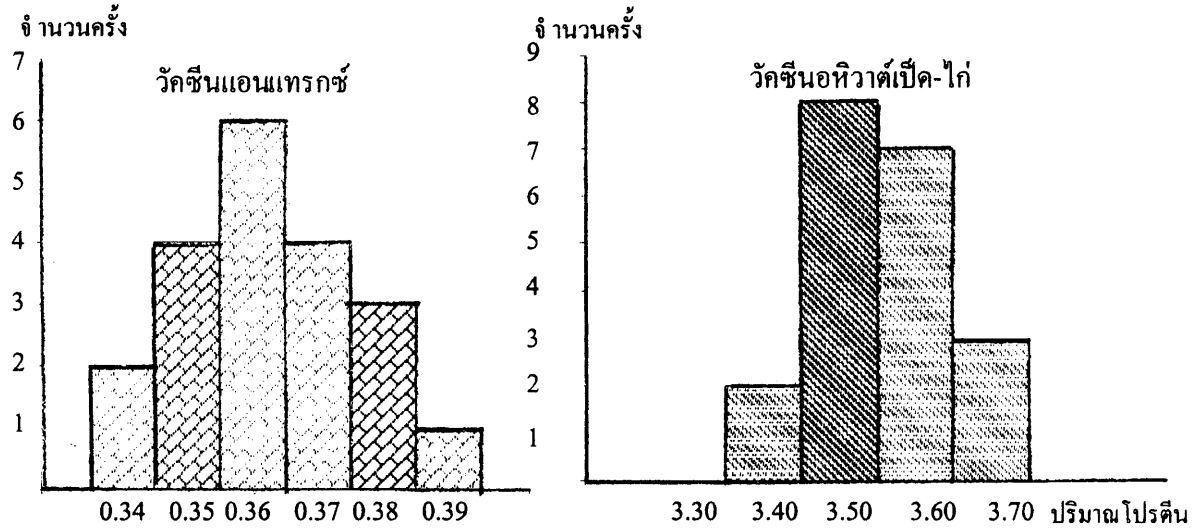
ผลการทดสอบตัวอย่างวัคซีน 2 ชนิด โดยทดสอบซ้ำ 20 ครั้ง ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีนในวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาต์เป็ด - ไก่

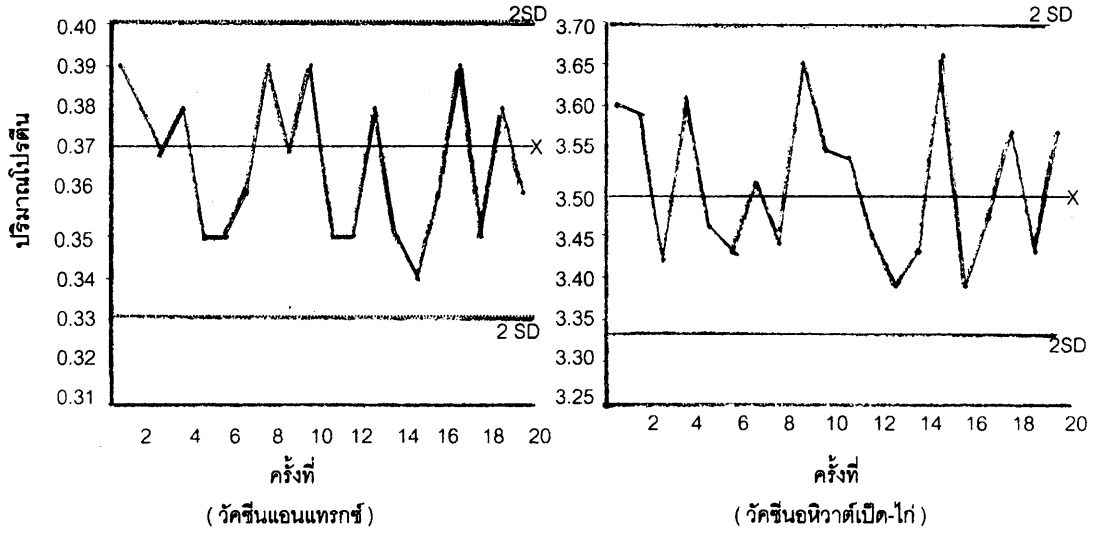
ครั้งที่	ปริมาณโปรตีน (มก./มล.)	
	วัคซีนแอนแทรกซ์	วัคซีนอหิวาต์เป็ด - ไก่
1	0.39	3.60
2	0.38	3.59
3	0.37	3.42
4	0.38	3.61
5	0.35	3.46
6	0.35	3.43
7	0.36	3.51
8	0.39	3.44
9	0.37	3.65
10	0.39	3.55
11	0.35	3.54
12	0.35	3.45
13	0.38	3.39
14	0.35	3.43
15	0.34	3.66
16	0.36	3.39
17	0.39	3.47
18	0.35	3.57
19	0.38	3.43
20	0.36	3.57

ตารางที่ 2 แสดงผลสรุปการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่

วัคซีน	จำนวนครั้ง	ค่าเฉลี่ย (Mean)	Mean ± 2SD	%CV
แอนแทรกซ์	20	0.37	0.37 ± 0.04	5.41
อหิวาต์เป็ด-ไก่	20	3.51	3.51 ± 0.18	2.56



ภาพที่ 1 แสดงจำนวนครั้งผลการวิเคราะห์ค่าโปรตีนในตัวอย่างวัคซีนแอนแทรกซ์ และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่



ภาพที่ 2 แสดงผลการทดสอบความแม่นยำวิธีการวิเคราะห์โปรตีน

สรุปและวิจารณ์

ผลการทดสอบปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาวรี่ (Lowry's method)ในตัวอย่างวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ พบว่าปริมาณโปรตีนในวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ มีค่าเฉลี่ย (X) เท่ากับ 0.37 และ 3.51 ตามลำดับ เมื่อนำผลการทดสอบมาคำนวณค่าทางสถิติ (ตารางที่ 2) ปริมาณโปรตีนในวัคซีนแอนแทรกซ์ และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ กระจายตัวอยู่ในเกณฑ์ $X \pm SD$ และมากกว่า 95 % ของค่าทดสอบมีการกระจายตัวอยู่ในเกณฑ์ $X \pm 2SD$ ตามหลักสถิติถือว่า 95%ของค่าที่ตรวจพบนั้นอยู่ในเกณฑ์และเป็นที่ยอมรับกันทั่วไป (ทัสสนี, 2541) ค่าสัมประสิทธิ์แห่งการกระจายของวัคซีนแอนแทรกซ์ และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ เท่ากับ 5.41% และ 2.56% ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับในห้องปฏิบัติการทั่วไป ($\%CV \leq 10$) (พิพัฒน์, 2542) ค่า CV ต่างกันเนื่องจากวัคซีนต่างชนิดกัน

การทดสอบปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry ในตัวอย่างวัคซีนแอนแทรกซ์และวัคซีนอหิวาต์เป็ด-ไก่ ไม่ว่าผู้ปฏิบัติงานจะทำการทดสอบในช่วงเวลาใด สภาวะห้องปฏิบัติการที่เปลี่ยนไปผลการทดสอบปริมาณโปรตีนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน $X \pm 2SD$ ทุกค่า ดังนั้น การควบคุมห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐาน ค่าที่วัดได้ย่อมมีความคลาดเคลื่อนหรือความผันแปร เนื่องจากปัจจัยต่างๆ น้อย วิธีการทดสอบน่าเชื่อถือ มีความถูกต้อง และความแม่นยำ สำหรับห้องปฏิบัติการทดสอบคุณภาพชีวภัณฑ์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะกรรมการตรวจสอบผลงานทางวิชาการกองผลิตชีวภัณฑ์ทุกท่าน ที่ช่วยตรวจสอบและแก้ไขต้นฉบับ สพ.ญ. รัชนี อัตถิ สพ.ญ.กมลทิพย์ ธัญพิมล คุณพัฒนี สุนามะ ที่ช่วยให้คำแนะนำและพนักงานห้องปฏิบัติการกลุ่มงานจุลชีววิทยา เคมีและชีวเคมี ที่ช่วยให้งานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และ สรวง อุดมวรภัณฑ์ 2536 คู่มือปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ " เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ และพันธุวิศวกรรม" สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย เล่ม 1 : 3.1 – 3.9.

ทัสสนี นุชประยูร และ เติมศรี ชำนิจารกิจ 2541 สถิติในงานวิจัยทางการแพทย์, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย พิมพ์ครั้งที่ 2 : 258 – 293.

พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล 2542 กระบวนการวิจัยทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล : 83.

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A. lewis Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265-275.

Precision of the protein determination in biological products

Nittaya Rugsri[1] Anongnad pumsukantaros[2]

Abstract

The precision of the determined in Anthrax vaccine and Fowl cholera vaccine by Lowry's method was studied. One sample of each vaccine was tested repeatedly for 20 times and all resulted protein content values were calculated for mean (X), standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV). The analysis show that all values of both Anthrax vaccine and Fowl cholera vaccine samples were in the standard range of $X \pm 2SD$ which were equal to 0.37 ± 0.04 and 3.51 ± 0.18 mg/ml, respectively and CV were (less than 10%) which were equal to 5.41% and 2.56%, respectively .

The results indicated that the protein determination by Lowry's method in Anthrax and Fowl cholera vaccine performed in this experiment was precise and acceptable for routine assay.

Key words : Anthrax vaccine, potency, Fowl cholera vaccine, Lowry's method

---

[1] Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhonratchasima, 30130

[2] Veterinary Biologics Assay Sub-Division, Pakchong, Nakhonratchasima, 30130

(สำเนา)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

เรื่อง การกำหนดรายละเอียดเกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบัน ตามกฎหมายว่าด้วยยา

พ.ศ. ๒๕๔๖

อาศัยอำนาจตามความในข้อ ๒ ข้อ ๕ ข้อ ๖(๙) และ (๑๐) และข้อ ๗(๔) ของกฎกระทรวงกำหนดหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขการผลิตยาแผนปัจจุบัน พ.ศ. ๒๕๔๖ ซึ่งออกตามความในพระราชบัญญัติยา พ.ศ. ๒๕๑๐ อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิ และเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๕ มาตรา ๓๙ มาตรา ๔๘ และมาตรา ๕๐ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย บัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมายรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษา

ข้อ ๒ ในประกาศนี้

"การผลิตยา" หมายความว่า การดำเนินการทุกอย่างที่เกี่ยวข้องกับการจัดหาวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ การดำเนินการผลิต การควบคุมคุณภาพยา การอนุมัติให้ปล่อยหรือผ่านการเก็บรักษา การขนส่งยาสำเร็จรูป และการควบคุมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

"ครั้งที่ผลิต" หมายความว่า การผลิตยาแต่ละครั้งในวงจรการผลิตเดียวกันในปริมาณที่แน่นอนมีคุณลักษณะและคุณภาพที่สม่ำเสมอกันตลอด

"วันที่ผลิต" หมายความว่า วันที่เริ่มต้นกระบวนการผลิตยาแต่ละครั้ง

"วันสิ้นอายุ" หมายความว่า วันที่กำหนดอายุการใช้สำหรับยาที่ผลิตแต่ละครั้ง ซึ่งแสดงว่าในช่วงระยะเวลาก่อนวันนั้น ยาดังกล่าวยังมีคุณภาพมาตรฐานตามข้อกำหนด

"วัตถุดิบ" หมายความว่า สารหรือวัตถุใดๆ ที่มีคุณภาพตามที่กำหนดซึ่งนำมาใช้ในการผลิตยา แต่ไม่หมายความรวมถึงวัสดุสำหรับการบรรจุ

"วัสดุสำหรับการบรรจุ" หมายความว่า วัสดุทุกอย่างที่ใช้ในขั้นตอนการบรรจุ เช่น ขวด หลอด ซอง ฝา จุกขวด ถุง กล่อง ฉลาก เอกสารกำกับยา ที่คาดฝาขวด กาว และแถบกาว

"ยาระหว่างผลิต" หมายความว่า สารเดี่ยวหรือสารผสมที่อยู่ในลักษณะพร้อมที่จะนำไปผ่านกระบวนการผลิตในขั้นต่อไปก่อนที่จะเป็นยารอการบรรจุ

"ยารอการบรรจุ" หมายความว่า ยาที่ผ่านกระบวนการผลิตแล้ว พร้อมที่จะบรรจุเป็นยาสำเร็จรูปต่อไป

"ยาสำเร็จรูป" หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้ผ่านกรรมวิธีการผลิตยาทุกขั้นตอนจนเสร็จการผลิต รวมทั้งการบรรจุใส่ภาชนะ ปิดฉลาก และจะบรรจุหีบห่อหรือไม่ก็ตาม

"เอกสาร" หมายความว่า กระดาษหรือวัตถุอื่นใดที่ผู้รับอนุญาตจัดทำขึ้นเป็นลายลักษณ์อักษรเกี่ยวกับกรรมวิธีการผลิต ข้อแนะนำ และบันทึกต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตยา

"เอกสารแม่บท" หมายความว่า เอกสารที่มีรายละเอียดเกี่ยวกับวัตถุดิบและวัสดุสำหรับการบรรจุ พร้อมทั้งปริมาณที่ใช้ รวมทั้งรายละเอียดเกี่ยวกับวิธีการ ข้อแนะนำ และข้อควรระวังในการผลิตยาตามปริมาณที่กำหนดไว้

"มาตรฐานสำหรับวิธีการปฏิบัติ" หมายความว่า วิธีการปฏิบัติที่ผู้รับอนุญาตกำหนดขึ้นเป็นลายลักษณ์อักษร ซึ่งมีรายละเอียดข้อแนะนำในการปฏิบัติงานทั่วๆ ไป ในแต่ละหน่วยของการปฏิบัติงาน เช่น การใช้อุปกรณ์ การบำรุงรักษา การทำความสะอาด การตรวจสอบความถูกต้อง

"การดำเนินการผลิต" หมายความว่า การดำเนินงานทุกอย่างที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ตั้งแต่รับวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ผ่านกระบวนการผลิต และการบรรจุจนได้ยาสำเร็จรูป

"กระบวนการผลิต" หมายความว่า ขั้นตอนในการดำเนินการผลิต ซึ่งเริ่มตั้งแต่การชั่งการผสมวัตถุดิบ จนได้เป็นยาที่พร้อมจะบรรจุ

"การควบคุมระหว่างการผลิต" หมายความว่า การทำสอบและตรวจสอบในระหว่างการดำเนินการผลิต เพื่อให้แน่ใจว่ายาที่ผลิตขึ้นได้มาตรฐานตามที่กำหนดไว้ และรวมถึงการควบคุมสภาวะแวดล้อมหรืออุปกรณ์ต่างๆ

"การบรรจุ" หมายความว่า ขั้นตอนในการดำเนินการผลิต ซึ่งเริ่มตั้งแต่การบรรจุใส่ภาชนะ ปิดฉลาก บรรจุหีบห่อพร้อมสำหรับจัดส่ง

"ผลผลิตที่ได้ตามทฤษฎี" หมายความว่า ปริมาณที่ควรจะผลิตได้ในขั้นตอนต่างๆ ของการผลิต เช่น กระบวนการผลิต การบรรจุของยาแต่ละชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับส่วนประกอบที่ใช้ โดยไม่คำนึงถึงส่วนที่สูญเสียหรือขาดหายไปในการผลิตจริง

"การทำให้ปราศจากเชื้อ" หมายความว่า การทำลายหรือกำจัดจุลินทรีย์ โดยวิธีการต่างๆ เช่น นึ่ง อบ ใช้ก๊าซ การกรอง การฉายรังสี

"ยาปราศจากเชื้อ" หมายความว่า ยาสำเร็จรูปที่ผลิตขึ้นซึ่งไม่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อน เช่น ยาฉีด ยาตา น้ำยาล้างไต

"ยาปราศจากเชื้อที่มีปริมาตรมาก" หมายความว่า สารละลายปราศจากเชื้อที่ใช้ฉีดเข้าร่างกายซึ่งมีปริมาตรตั้งแต่ ๑๐๐ มิลลิลิตรขึ้นไปในหนึ่งภาชนะบรรจุของยาสำเร็จรูป

"บริเวณที่สะอาด" หมายความว่า ห้องหรือบริเวณที่มีการควบคุมฝุ่นหรือละอองและจุลินทรีย์ให้อยู่ในปริมาณที่กำหนด

"แอร์ล็อค" หมายความว่า บริเวณปิดสนิท มีประตูเปิดได้ ๒ ทางหรือมากกว่า เพื่อเปิดครั้งละ ๑ ประตูเท่านั้น บริเวณนี้จะตั้งประชิดอยู่ระหว่างห้อง ๒ ห้องหรือมากกว่าที่มีระดับความสะอาดแตกต่างกัน เพื่อควบคุมการไหลของอากาศจากบริเวณที่สะอาดมากกว่ามาสู่บริเวณที่สะอาดน้อยกว่า โดยไม่มีการไหลย้อนกลับ ซึ่งอาจออกแบบให้เป็นทางผ่านสำหรับพนักงานหรือสิ่งของ

"การประกันคุณภาพยา" หมายความว่า การปฏิบัติการหรือการดำเนินการทุกอย่าง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพมาตรฐานตามที่กำหนด ซึ่งรวมถึงหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตตลอดจนการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์

"การตรวจสอบความถูกต้อง" หมายความว่า การทำการทดสอบหรือการพิสูจน์ที่มีการบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษร โดยวิธีการอันเหมาะสมต่อวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ กระบวนการ วิธีการ กิจกรรม อุปกรณ์ ระบบต่างๆ เพื่อให้เชื่อมั่นว่ามีความถูกต้องเหมาะสม

"การสอบเทียบ" หมายความว่า การดำเนินการภายใต้สภาวะที่กำหนดเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าชี้บอกของเครื่องมือ หรือระบบที่เกี่ยวกับการชั่ง ตวง วัด เทียบกับค่ามาตรฐานอ้างอิงและกำหนดเกณฑ์ที่ยอมรับ

"การควบคุมคุณภาพยา" หมายความว่า มาตรการที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพ เพื่อให้แน่ใจได้ว่ายาที่ผลิตออกมาแต่ละครั้งตรงตามข้อกำหนดของลักษณะเฉพาะ ความแรง ความบริสุทธิ์ และคุณสมบัติอื่นของยานั้น

"ข้อกำหนด" หมายความว่า เอกสารที่แสดงรายละเอียดของวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และยาสำเร็จรูป

"ตัวอย่าง" หมายความว่า สิ่งของส่วนหนึ่งที่ได้จากกรรมวิธีการสุ่มตัวอย่างที่ถูกต้องซึ่งเชื่อมั่นว่าจะเป็นตัวแทนของสิ่งทั้งหมดนั้น

"การกักกัน" หมายความว่า การจัดแยกหรือกักวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุหรือผลผลิตไว้เป็นสัดส่วนต่างหากหรือโดยวิธีการอื่นที่เหมาะสมทัดเทียมกันในระหว่างที่รอผลการตรวจสอบ

"การปล่อยหรือผ่าน" หมายความว่า การอนุญาตให้นำวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุหรือผลผลิตมาใช้ผลิตหรือจำหน่าย

"สุขลักษณะ" หมายความว่า การควบคุมดูแลในการผลิต เริ่มตั้งแต่วัตถุดิบและวัสดุสำหรับการบรรจุที่ใช้ในการผลิตจนเสร็จเป็นยาสำเร็จรูป และหมายความรวมถึงอาคารสถานที่ผลิต ผู้ปฏิบัติงาน อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต และการเคลื่อนย้ายวัสดุต่างๆ ให้ถูกสุขอนามัย

"การวิจัยและพัฒนา" หมายความว่า การดำเนินการศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับยา อันได้แก่ การศึกษาค้นคว้าคุณสมบัติของยา ทั้งในด้านฟิสิกส์ เคมี พิษวิทยา เภสัชวิทยา เภสัชกรรม และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง การศึกษาวิธีการควบคุมคุณภาพยา การศึกษาทางคลินิก รวมทั้งการพัฒนาตำรับยาและการศึกษาความคงสภาพของยาด้วย

"ยาที่เรียกเก็บคืน" หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ถูกเรียกเก็บโดยพนักงานเจ้าหน้าที่ผู้ผลิตหรือผู้จำหน่าย

"ยาคืน" หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ลูกค้าส่งคืนผู้ผลิตหรือผู้จำหน่าย

"ผู้รับอนุญาต" หมายความว่า ผู้รับอนุญาตผลิตยาแผนปัจจุบัน

ข้อ ๓ แบบ ผ.ย.๑ แบบ ผ.ย.๒ แบบ ผ.ย.๓ แบบ ผ.ย.๔ แบบ ผ.ย.๕ แบบ ผ.ย.๖ แบบ ผ.ย.๗ แบบ ผ.ย.๘ แบบ ผ.ย.๙ แบบ ผ.ย.๑๐ แบบ ผ.ย.๑๑ และแบบ ผ.ย.๑๒ ให้เป็นไปตามแบบที่แนบท้ายประกาศนี้

หมวด ๑
บริเวณที่เกี่ยวกับการผลิตยา

ข้อ ๔ บริเวณที่ใช้ในการผลิตยาต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

(๑) มีพื้นผิวเรียบไม่มีรอยแตกร้าว ไม่ลื่นและไม่มีน้ำขัง สามารถทำความสะอาดและฆ่าเชื้อได้ง่าย

(๒) ฝาผนังและฝ้าของเพดานให้ใช้วัสดุที่มีผิวเรียบและไม่มีรอยแตกหรือร้าวและต้องเป็นวัสดุที่ทนทานต่อน้ำยาทำความสะอาดและน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้

(๓) สามารถป้องกันสัตว์และแมลงเข้ามาปะปนหรือทำความเสียหาย

(๔) มีแสงสว่างเพียงพอและเหมาะสมแก่การปฏิบัติงาน

(๕) มีการควบคุมการถ่ายเทอากาศควบคุมอุณหภูมิและความชื้นให้เหมาะสมกับกระบวนการผลิต การเก็บรักษายาและอุปกรณ์วิเคราะห์ยาที่จำเป็น

(๖) สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากฝุ่น ละอองและสิ่งสกปรก

(๗) ท่อต่างๆ ที่เกี่ยวกับการผลิตยาต้องติดตั้งเพื่อให้สามารถทำความสะอาดได้ง่าย

(๘) ท่อระบายน้ำภายในบริเวณที่ใช้ในการผลิตยาต้องเป็นท่อปิดที่มีขนาดให้น้ำทิ้งไหลลงได้สะดวก โดยน้ำทิ้งต้องได้มาตรฐานน้ำทิ้งตามกฎหมายว่าด้วยการควบคุมอาคาร

(๙) มีห้องเปลี่ยนเสื้อผ้าที่ถูกสุขลักษณะและมีจำนวนเพียงพอ

(๑๐) มีห้องน้ำห้องส้วมพร้อมทั้งอุปกรณ์อำนวยความสะดวกที่ถูกสุขลักษณะและมีจำนวนซึ่งเป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่กฎหมายว่าด้วยโรงงานและกฎหมายอื่นที่เกี่ยวข้องกำหนด

(๑๑) บริเวณที่ใช้ในการผลิตยากลุ่มที่มีความเป็นพิษสูงหรืออาจทำให้เกิดการแพ้ได้ง่ายตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนด ต้องแยกจากบริเวณที่ใช้ในการผลิตยาชนิดอื่น

(๑๒) กรณีที่มีการใช้สัตว์ทดลองในบริเวณที่ใช้ในการผลิตยา บริเวณที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทดลอง และห้องปฏิบัติการด้านสัตว์ทดลองนั้น ให้ทางเข้าออกและระบบควบคุมอากาศแยกจากบริเวณอื่น

(๑๓) กรณีที่มีสถานที่รับประทานอาหารต้องแยกออกจากบริเวณที่ใช้ในการผลิตยา

ข้อ ๕ บริเวณที่ใช้ในการผลิตยาปราศจากเชื้อ นอกจากมีลักษณะตามข้อ ๔ ต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

(๑) ต้องแยกจากบริเวณอื่นและต้องออกแบบให้มีลักษณะป้องกันการเข้าออกของบุคคลโดยไม่จำเป็นและต้องไม่ใช้ประตูปิดเปิดชนิดบานเลื่อน

(๒) ฝ้าของเพดานต้องมีการเชื่อมต่อให้สนิทเพื่อป้องกันการปลดปล่อยหรือสะสมของฝุ่นละอองหรือจุลินทรีย์

(๓) ในกรณีที่มีการติดตั้งที่ล้างมือและท่อน้ำทิ้งภายในบริเวณที่ใช้ในการผลิตยาปราศจากเชื้อต้องออกแบบให้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและติดตั้งอยู่ในที่เหมาะสม สามารถล้างทำความสะอาดได้ง่าย ท่อหรือทางระบายน้ำทิ้งภายในบริเวณดังกล่าวต้องเป็นแบบเปิดและตื้น โดยเชื่อมต่อกับท่อหรือทางระบายน้ำทิ้งภายนอกสถานที่ผลิตยาในลักษณะที่มีการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์

(๔) ห้องเปลี่ยนเสื้อผ้า ต้องกั้นให้เป็นสัดส่วนโดยมีแอร์ล็อค เพื่อลดการปนเปื้อนจากฝุ่นหรือละอองและจุลินทรีย์ รวมทั้งอากาศที่เข้าไปภายในห้องเปลี่ยนเสื้อผ้าต้องผ่านการกรองแล้ว และถ้ามีที่ล้างมือให้มีใช้ได้เฉพาะภายในห้องเปลี่ยนเสื้อผ้าเท่านั้น

ข้อ ๖ บริเวณที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพยา ต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

(๑) แยกจากบริเวณที่ใช้ในการผลิตยา บริเวณที่ใช้ในการผลิตยาปราศจากเชื้อ และบริเวณที่ใช้ในการเก็บยาและวัสดุอื่นๆ

(๒) ออกแบบให้เหมาะสมกับงานที่ปฏิบัติเพื่อการควบคุมคุณภาพยาที่มีประสิทธิภาพ โดยคำนึงถึงความเหมาะสมของวัสดุที่ใช้ในการก่อสร้าง การป้องกันควัน ก๊าซ ไอระเหย และระบบระบายอากาศ รวมทั้งมีพื้นที่เพียงพอสำหรับการเก็บตัวอย่างยา สารมาตรฐานและบันทึกต่างๆ

(๓) ให้แยกพื้นที่และระบบควบคุมอากาศของห้องปฏิบัติการเคมี ชีววิทยา จุลชีววิทยา และห้องปฏิบัติการกัมมันตรังสี ออกจากกัน

(๔) ให้แยกห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพยาซึ่งใช้ในสภาวะพิเศษ ออกจากห้องปฏิบัติการอื่น เพื่อป้องกันกระแสไฟฟ้ารบกวน การสั่นสะเทือน การสัมผัสกับความชื้นสูงเกินไป และปัจจัยภายนอกอื่นที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเครื่องมือ

ข้อ ๗ บริเวณที่ใช้ในการเก็บยา วัตถุดิบและวัสดุอื่นๆ ต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

(๑) มีพื้นที่เพียงพอที่จะแยกเก็บวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และยาสำเร็จรูปให้เป็นสัดส่วน

(๒) มีพื้นที่หรือบริเวณที่เป็นสัดส่วนเหมาะสมสำหรับการกักกันวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และยาสำเร็จรูปที่รอผลการตรวจสอบ โดยมีป้ายแสดงการกักกันหรืออาจใช้วิธีอื่นที่เหมาะสมในการกักกันเพื่อรอผลการตรวจสอบ

(๓) มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นตามความจำเป็น มีระบบถ่ายเทอากาศที่ดี มีแสงสว่างเพียงพอและสะอาดถูกสุขลักษณะ

(๔) มีพื้นที่หรือบริเวณเฉพาะที่มีความแข็งแรงและปลอดภัยสำหรับเก็บวัตถุไวไฟ วัตถุที่ระเบิดได้ง่าย วัตถุมีพิษร้ายแรง วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทหรือยาเสพติดให้โทษ

(๕) มีพื้นที่หรือบริเวณเฉพาะสำหรับเก็บวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และยาสำเร็จรูปที่ไม่ได้มาตรฐาน รวมทั้งยาคืนหรือยาที่เรียกเก็บคืนจากท้องตลาดเป็นการเฉพาะตามความจำเป็นและเหมาะสม

หมวด ๒
เครื่องมือและอุปกรณ์

ข้อ ๘ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตยาและการควบคุมคุณภาพยาต้องมีจำนวนเพียงพอและเหมาะสมตามความจำเป็นในการผลิตยาแต่ละตำรับ และต้องออกแบบ สร้าง ติดตั้ง และมีลักษณะดังต่อไปนี้

(๑) ออกแบบ สร้าง ติดตั้งให้เหมาะสมและปลอดภัยกับการปฏิบัติงาน สามารถบำรุงรักษาและทำความสะอาดได้ง่าย ไม่เป็นที่สะสมของฝุ่นและสิ่งสกปรก

(๒) ท่อนำส่งยาให้ระบุชื่อยาที่อยู่ภายในให้ชัดเจน และแสดงทิศทางการไหลของยานั้นๆ ด้วย

(๓) ท่อและอุปกรณ์ต่างๆ ให้ทำเครื่องหมายให้ชัดเจน เพื่อป้องกันการสับสนในการใช้ โดยเฉพาะข้อต่อสำหรับก๊าซหรือของเหลวที่เป็นอันตราย

(๔) เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ติดตั้งใหม่ ให้ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องในการใช้งานก่อนการใช้จริง

(๕) อุปกรณ์การผลิตต้องไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อยาที่ผลิต และชิ้นส่วนของอุปกรณ์ที่สัมผัสกับยาในระหว่างกระบวนการผลิตต้องไม่มีปฏิกิริยาหรือดูดซับยาเหล่านั้นไว้

(๖) อุปกรณ์ที่ใช้ทำความสะอาดในสถานที่ผลิตยาต้องเหมาะสม เพื่อมิให้เป็นแหล่งสะสมสิ่งสกปรกและทำให้เกิดการปนเปื้อน

ข้อ ๙ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตยาปราศจากเชื้อ นอกจากจะต้องปฏิบัติตามข้อ ๘ ยังต้องออกแบบ สร้าง ติดตั้ง และมีลักษณะดังต่อไปนี้ด้วย

(๑) ออกแบบ สร้างหรือติดตั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ที่กรองอากาศภายนอกที่เข้าไปในบริเวณที่สะอาดและทำให้เกิดความดันอากาศสูงกว่าบริเวณข้างเคียง ซึ่งสามารถปรับเปลี่ยนระดับความดันอากาศภายในห้องปฏิบัติงานในบางกรณีให้เหมาะสมได้ รวมทั้งต้องติดตั้งเครื่องวัดความแตกต่างของความดันอากาศระหว่างห้องไว้ในบริเวณที่เห็นได้ชัดเจนและบันทึกข้อมูลไว้ ในกรณีที่มีการปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารที่มีความเป็นพิษสูง สารกัมมันตรังสี จุลินทรีย์ ยาที่อาจทำให้เกิดการแพ้ได้ง่าย หรือยาตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนด ต้องมีเครื่องมือหรืออุปกรณ์กำจัดสิ่งปนเปื้อนในอากาศก่อนปล่อยออกสู่ภายนอก

(๒) มีเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ควบคุมให้ทิศทางการไหลของอากาศซึ่งไม่ก่อให้เกิดการนำสิ่งปนเปื้อนไปสู่บริเวณที่สะอาดมากกว่า

(๓) อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตยาปราศจากเชื้อ ให้เลือกใช้ชนิดที่สามารถทำให้ปราศจากเชื้อได้

(๔) ออกแบบและติดตั้งอุปกรณ์ต่างๆ เพื่อให้สามารถนำไปซ่อมบำรุงนอกบริเวณที่สะอาดได้ หลังจากซ่อมบำรุงเรียบร้อยแล้วต้องทำให้อุปกรณ์นั้นปราศจากเชื้อเท่าที่จะทำได้

(๕) ออกแบบ ติดตั้ง และบำรุงรักษาอุปกรณ์การเตรียมน้ำในลักษณะที่ทำให้เกิดความมั่นใจได้ว่าน้ำที่ผลิตออกมามีคุณภาพตามที่กำหนด และต้องเตรียม เก็บ และจ่ายน้ำในลักษณะป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น เก็บน้ำที่อุณหภูมิ ๘๐ องศาเซลเซียส และเป็นระบบหมุนเวียนตลอดเวลา

หมวด ๓
การผลิตยา

ข้อ ๑๐ ให้มีการบริหารงานด้านคุณภาพในการผลิตยาดังต่อไปนี้

(๑) ให้มีระบบคุณภาพซึ่งครอบคลุมถึงนโยบายคุณภาพ โครงสร้างขององค์กร วิธีปฏิบัติ กระบวนการและทรัพยากร

(๒) ดำเนินการตามแผนงานอย่างเป็นระบบ เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่ายาที่ผลิตขึ้นเป็นไปตามข้อกำหนดด้านคุณภาพที่ระบุไว้ซึ่งเรียกว่า การประกันคุณภาพยา

ข้อ ๑๑ ให้มีระบบประกันคุณภาพยาดังต่อไปนี้

(๑) มีการออกแบบและพัฒนายา โดยคำนึงถึงข้อกำหนดต่างๆ ตามที่กำหนดในประกาศนี้ และตามหลักปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการ หลักปฏิบัติที่ดีทางคลินิกและหรือหลักปฏิบัติอื่น ตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนด

(๒) กำหนดการปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินการผลิตและการควบคุมคุณภาพยาไว้เป็นลายลักษณ์อักษรและเป็นไปตามข้อกำหนดตามที่กำหนดในประกาศนี้

(๓) กำหนดหน้าที่ความรับผิดชอบในการบริหารจัดการอย่างชัดเจนตามลักษณะงาน

(๔) จัดการเกี่ยวกับการผลิต การจัดหาและการใช้วัตถุดิบและวัสดุสำหรับการบรรจุที่ถูกต้อง

(๕) มีการควบคุมตั้งแต่วัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิตและยารอการบรรจุ รวมทั้งการควบคุมระหว่างผลิต

(๖) ดำเนินการผลิตตามกระบวนการผลิตและตรวจสอบตามวิธีการที่กำหนดไว้

(๗) ยาทุกรุ่นที่ผลิตต้องได้รับการอนุมัติเป็นลายลักษณ์อักษรจากหัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพยาก่อนนำไปจำหน่าย

(๘) กำหนดวิธีจัดการที่เหมาะสมเกี่ยวกับการเก็บรักษายาในสถานที่ผลิตยา ในระหว่างการขนส่งและในสถานที่จำหน่ายยา เพื่อรักษาคุณภาพยาตลอดอายุการใช้งาน

(๙) กำหนดให้มีวิธีการปฏิบัติสำหรับการตรวจสอบตนเอง หรือการตรวจสอบคุณภาพเพื่อประเมินประสิทธิภาพของระบบประกันคุณภาพยาอย่างสม่ำเสมอ

ข้อ ๑๒ ให้มีพนักงานในการผลิตยาดังต่อไปนี้

(๑) หัวหน้าฝ่ายดำเนินการผลิตและหัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพยาซึ่งเป็นเภสัชกรชั้นหนึ่งฝ่ายละหนึ่งคน และมีประสบการณ์เกี่ยวกับการดำเนินการผลิตหรือการประกันคุณภาพยา แล้วแต่กรณี

(๒) พนักงานซึ่งมีความรู้ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องตามความจำเป็น

(๓) พนักงานซึ่งปฏิบัติงานเกี่ยวกับการดำเนินการผลิตและการควบคุมคุณภาพยา ซึ่งมีพื้นฐานการศึกษาที่เหมาะสม มีความรู้พื้นฐานในการผลิตยาตามที่กำหนดในประกาศนี้ มีความสามารถตัดสินใจดำเนินการตามหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย มีความเข้าใจและรับผิดชอบในการปฏิบัติงานให้ลุล่วงไปด้วยดีและต้องมีจำนวนที่เพียงพอ

(๔) พนักงานตาม (๑) (๒) และ (๓) ต้องมีสุขภาพอนามัยที่ดี

ข้อ ๑๓ ให้มีการกำหนดโครงสร้างการบริหารงาน หน้าที่ และความรับผิดชอบของพนักงานในการผลิตยาในแต่ละระดับเป็นลายลักษณ์อักษร

หัวหน้าฝ่ายดำเนินการผลิตและหัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพยาต้องแยกความรับผิดชอบในการทำงานเป็นอิสระไม่ขึ้นต่อกัน

ข้อ ๑๔ ให้หัวหน้าฝ่ายดำเนินการผลิตยามีหน้าที่ดังต่อไปนี้

(๑) ควบคุมการดำเนินการผลิตและการเก็บรักษายาที่ผลิตขึ้นตามที่ระบุไว้ในเอกสารการผลิตยา เพื่อให้ได้คุณภาพตามที่กำหนด

(๒) อนุมัติวิธีการปฏิบัติเกี่ยวกับการดำเนินการผลิตและควบคุมระหว่างการผลิตและควบคุมให้เป็นไปตามวิธีการปฏิบัติดังกล่าวทุกขั้นตอน

(๓) ควบคุมดูแลให้พนักงานตรวจสอบบันทึกการดำเนินการผลิตและลงลายมือชื่อก่อนส่งให้ฝ่ายควบคุมคุณภาพยา

(๔) ควบคุมให้มีการบำรุงรักษาอาคารสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ของฝ่ายดำเนินการผลิต

(๕) ควบคุมให้มีการดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการผลิตยาและการสอบเทียบเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้อง และบันทึกรายงานเป็นลายลักษณ์อักษร

(๖) ควบคุมให้มีการอบรมพนักงานใหม่ในฝ่ายดำเนินการผลิตก่อนเริ่มปฏิบัติงาน และให้มีการอบรมพนักงานฝ่ายดำเนินการผลิตอย่างต่อเนื่องตามความเหมาะสม

ข้อ ๑๕ ให้หัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพยามีหน้าที่ดังต่อไปนี้

(๑) อนุมัติวิธีการสุ่มตัวอย่าง ข้อกำหนด วิธีวิเคราะห์ทดสอบ และวิธีการอื่นในการควบคุมคุณภาพยา

(๒) ควบคุมให้มีการวิเคราะห์ทดสอบที่จำเป็น

(๓) ตรวจสอบบันทึกการดำเนินการผลิต และควบคุมคุณภาพยา เพื่อประกอบการพิจารณาอนุมัติให้ผ่านยาสำเร็จรูป

(๔) อนุมัติให้ผ่านหรือไม่ผ่านสำหรับการตรวจสอบวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และยาสำเร็จรูป

(๕) ควบคุมให้มีการดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการควบคุมคุณภาพยาและการสอบเทียบเครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์ และบันทึกรายงานเป็นลายลักษณ์อักษร

(๖) ควบคุมดูแลการใช้ และเก็บรักษาสารมาตรฐาน

(๗) จัดให้มีการตรวจสอบความคงสภาพของยาสำเร็จรูป

(๘) ควบคุมให้มีการบำรุงรักษาอาคารสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ของฝ่ายควบคุมคุณภาพยา

(๙) จัดให้มีส่วนร่วมในการสืบสวนข้อร้องเรียนที่เกี่ยวกับคุณภาพยา และร่วมในการตรวจสอบสภาวะแวดล้อม

(๑๐) ควบคุมให้มีการอบรมพนักงานใหม่ในฝ่ายควบคุมคุณภาพยาก่อนเริ่มปฏิบัติงาน และให้มีการอบรมพนักงานฝ่ายควบคุมคุณภาพยาอย่างต่อเนื่องตามความเหมาะสม

ข้อ ๑๖ ให้มีการดำเนินการเกี่ยวกับพนักงานที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินการผลิตและการควบคุมคุณภาพยา ดังต่อไปนี้

(๑) จัดฝึกอบรมตามกำหนดเวลาที่ระบุไว้เป็นลายลักษณ์อักษรแก่พนักงานทุกคนที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินการผลิตและการควบคุมคุณภาพยา รวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมบำรุงรักษาเครื่องมือและอุปกรณ์ การทำความสะอาด และงานด้านอื่นๆ ที่จะมีผลต่อคุณภาพของยา และให้บันทึกการฝึกอบรมไว้เป็นลายลักษณ์อักษร

(๒) จัดฝึกอบรมพนักงานใหม่เกี่ยวกับความรู้ขั้นพื้นฐานในการผลิตยาตามที่กำหนดในประกาศนี้ ทั้งในด้านทฤษฎีและปฏิบัติ รวมทั้งความรู้เกี่ยวกับงานที่ได้รับมอบหมายจนสามารถปฏิบัติงานได้ดี และต้องจัดให้มีการฝึกอบรมอย่างต่อเนื่องและเพียงพอ พร้อมทั้งประเมินผลเป็นระยะๆ ทั้งนี้หัวข้อการฝึกอบรมต้องได้รับความเห็นชอบจากฝ่ายดำเนินการผลิตหรือฝ่ายควบคุมคุณภาพยาแล้วแต่กรณี

(๓) จัดฝึกอบรมเป็นพิเศษแก่พนักงานซึ่งปฏิบัติงานในบริเวณที่สะอาดและพนักงานที่เกี่ยวข้องกับสารที่มีฤทธิ์แรง สารพิษ สารที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ และสารที่ก่อให้เกิดอันตรายร้ายแรงขึ้นได้หากมีการปนเปื้อน

(๔) จัดฝึกอบรมพนักงานเกี่ยวกับสุขอนามัยส่วนบุคคล โดยเฉพาะพนักงานที่ปฏิบัติงานในฝ่ายดำเนินการผลิต

ข้อ ๑๗ ให้มีการกำหนดข้อปฏิบัติเกี่ยวกับสุขอนามัยของพนักงานดังต่อไปนี้

(๑) ตรวจสุขภาพพนักงานก่อนรับเข้าทำงาน และในระหว่างปฏิบัติงานอย่างน้อยปีละหนึ่งครั้ง

(๒) ให้พนักงานสวมชุดปฏิบัติงานที่สะอาดและเหมาะสมกับงานที่ได้รับมอบหมาย รวมทั้งการสวมหมวกคลุมผม ผ้าปิดปากและถุงมือ ตามความจำเป็น

(๓) ห้ามมิให้พนักงานใช้มือสัมผัสกับยาโดยตรงขณะปฏิบัติงาน

(๔) ห้ามมิให้พนักงานที่มีโรคติดต่อร้ายแรงหรือมีบาดแผลเปิดบริเวณผิวหนังของร่างกายปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับการดำเนินการผลิต

(๕) ห้ามมิให้พนักงานรับประทานอาหาร ดื่มน้ำ สูบบุหรี่ และเก็บอาหาร เครื่องดื่ม บุหรี่ และยารักษาโรคประจำตัวภายในบริเวณที่ใช้ในการผลิตยา บริเวณที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพยา และบริเวณที่ใช้ในการเก็บยา เก็บวัตถุดิบและวัสดุอื่นๆ รวมทั้งบริเวณอื่นที่ซึ่งสิ่งดังกล่าวอาจมีผลต่อคุณภาพของยาที่ผลิต

ข้อ ๑๘ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ต้องดำเนินการดังต่อไปนี้

(๑) ต้องจัดให้มีการสอบเทียบเครื่องชั่ง ตวง วัด และเครื่องมืออื่นๆ ตามความจำเป็น และบันทึกไว้เป็นหลักฐาน

(๒) อุปกรณ์การผลิตต้องมีการทำความสะอาดภายหลังการใช้แต่ละครั้ง

(๓) เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ต้องมีการบำรุงรักษาตามระยะเวลาที่กำหนดและบันทึกไว้เป็นหลักฐาน

(๔) ในกรณีที่เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ชำรุดใช้งานไม่ได้ ต้องเคลื่อนย้ายออกจากบริเวณผลิตยาหรือบริเวณควบคุมคุณภาพยา สำหรับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ชำรุดรอการซ่อมแซม ต้องจัดให้มีฉลากติดแสดงให้เห็นชัดเจนว่า "ชำรุด รอการซ่อมแซม"

ข้อ ๑๙ ให้มีสุขลักษณะของสถานที่ผลิตยาดังต่อไปนี้

(๑) มีการดูแลรักษาสถานที่ผลิตยาให้เป็นระเบียบ สะอาด และปราศจากสัตว์และแมลง

(๒) มีระบบการรักษาความสะอาด โดยกำหนดหน้าที่ความรับผิดชอบในการดูแลรักษาความสะอาดไว้เป็นลายลักษณ์อักษร ระบุรายละเอียดต่างๆ เช่น กำหนดระยะเวลาการทำความสะอาด วิธีทำความสะอาด เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในการทำความสะอาดอาคารสถานที่และสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ รวมทั้งมีภาชนะรองรับขยะมูลฝอย

(๓) จัดเก็บและกำจัดขยะมูลฝอยและวัสดุที่เหลือใช้ที่เป็นวัตถุอันตรายตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และมาตรการตามที่กำหนดขึ้นตามกฎหมายว่าด้วยการสาธารณสุขและกฎหมายว่าด้วยวัตถุอันตรายหรือกฎหมายอื่นที่เกี่ยวข้อง ถ้ากฎหมายดังกล่าวไม่ได้กำหนดไว้ จะต้องแยกเก็บในภาชนะปิดแล้วรวบรวมนำไปเก็บกักไว้นอกอาคารผลิตยา และกำจัดให้ถูกสุขลักษณะและอนามัยตามระยะเวลาที่เหมาะสม

(๔) ดูแลซ่อมแซมสถานที่ผลิตยาและสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ เช่น ระบบท่อน้ำ ดวงไฟ พัดลม เครื่องปรับอากาศให้อยู่ในสภาพดี และการซ่อมแซมต้องระมัดระวังป้องกันมิให้ปนเปื้อนยาที่ผลิต

(๕) มีแนวทางปฏิบัติหรือคำแนะนำสำหรับผู้ที่มาเยี่ยมชมสถานที่ผลิตยาหรือผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการผลิตยาหรือการควบคุมคุณภาพยา เพื่อป้องกันการปนเปื้อนและอันตรายที่อาจเกิดขึ้น

ข้อ ๒๐ ให้มีวิธีปฏิบัติเกี่ยวกับวัตถุดิบดังต่อไปนี้

(๑) ตรวจสอบวัตถุดิบที่รับเข้ามาแต่ละรุ่นให้ตรงกับใบสั่งซื้อ ทำความสะอาดภาชนะบรรจุหรือหีบห่อของวัตถุดิบตามความจำเป็น และต้องปิดฉลากและกักกันวัตถุดิบไว้เพื่อรอการตรวจสอบจากฝ่ายควบคุมคุณภาพยา

(๒) ถ้าพบว่าภาชนะบรรจุหรือหีบห่อของวัตถุดิบได้รับความเสียหาย หรือมีปัญหาที่อาจมีผลต่อคุณภาพของวัตถุดิบ ต้องบันทึกไว้และรายงานให้ฝ่ายควบคุมคุณภาพยาทราบเพื่อทำการตรวจสอบ

(๓) การรับมอบวัตถุดิบแต่ละครั้งที่มีหลายครั้งที่ผลิต ให้แยกเก็บวัตถุดิบแต่ละครั้งที่ผลิตให้เป็นสัดส่วน เพื่อสะดวกในการเก็บตัวอย่างส่งตรวจวิเคราะห์และอนุมัติการใช้วัตถุดิบนั้น

(๔) ฉลากบนภาชนะบรรจุวัตถุดิบแต่ละชนิด ต้องระบุชื่อวัตถุดิบ เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิตจากแหล่งผลิตวัตถุดิบหรือที่กำหนดขึ้นเอง สถานภาพของวัตถุดิบ เช่น อยู่ระหว่างกักกันรอผลตรวจวิเคราะห์ ไม่ได้มาตรฐาน ได้รับอนุมัติแล้ว เป็นต้น วันที่ต้องมีการทำสอบซ้ำตามความจำเป็นถ้ามีรหัสอ้างอิงและวันสิ้นอายุให้ระบุไว้ด้วย

(๕) มีวิธีการที่เหมาะสมในการจำแนกชนิดของวัตถุดิบ และทำเครื่องหมายให้ชัดเจนบนภาชนะบรรจุที่มีการเก็บตัวอย่างวัตถุดิบเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์

(๖) วัตถุดิบที่ได้รับอนุมัติจากฝ่ายควบคุมคุณภาพยาแล้ว ให้นำไปใช้ภายในอายุการใช้ตามที่ระบุไว้ และวัตถุดิบที่รับเข้าก่อนต้องนำไปผลิตก่อน

(๗) ให้พนักงานซึ่งผ่านการฝึกอบรมและได้รับมอบหมาย เป็นผู้ชั่งวัตถุดิบตามวิธีการที่กำหนดเป็นลายลักษณ์อักษร เพื่อให้แน่ใจว่าชั่งวัตถุดิบแต่ละชนิดได้อย่างถูกต้อง แล้วบรรจุวัตถุดิบนั้นในภาชนะที่สะอาดและปิดฉลากให้ชัดเจน

(๘) ให้มีพนักงานทำการตรวจสอบชนิดและปริมาณวัตถุดิบที่ชั่งแล้วแต่ละครั้งและลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน และวัตถุดิบที่ตรวจสอบแล้วสำหรับผลิตยาในแต่ละรุ่น ให้นำมาเก็บรวมกันและปิดฉลากให้เห็นชัดเจน

(๙) วัตถุดิบที่ผลการตรวจสอบไม่ได้มาตรฐาน ให้แยกเก็บไว้ต่างหากและปิดฉลากให้ชัดเจนและอาจส่งวัตถุดิบดังกล่าวคืนผู้จำหน่ายหรือนำไปทำลาย โดยจะต้องได้รับอนุมัติจากผู้รับผิดชอบและบันทึกไว้เป็นหลักฐาน

ข้อ ๒๑ ให้มีวิธีปฏิบัติเกี่ยวกับวัสดุสำหรับการบรรจุดังต่อไปนี้

(๑) จัดการและควบคุมวัสดุสำหรับการบรรจุในแนวทางเดียวกับการปฏิบัติเกี่ยวกับวัตถุดิบตามที่กำหนดในข้อ ๒๐ เฉพาะส่วนที่เกี่ยวข้อง

(๒) ต้องเก็บวัสดุสำหรับการบรรจุที่พิมพ์ข้อความแล้วไว้ในที่ปลอดภัย ผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องห้ามเข้าไปในบริเวณดังกล่าว และวัสดุสำหรับการบรรจุที่ระบุข้อความ เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิตหรือวิเคราะห์ยา วันที่ผลิต และวันสิ้นอายุของแต่ละตำรับให้แยกเก็บเป็นสัดส่วนเพื่อป้องกันการสับสน

(๓) วัสดุสำหรับการบรรจุที่จะส่งไปยังฝ่ายบรรจุเพื่อนำไปใช้ให้ตรวจสอบความถูกต้องทั้งจำนวนและชนิดให้ตรงตามที่เบิกไว้ พร้อมบันทึกและลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

(๔) วัสดุสำหรับการบรรจุตาม (๒) ที่เหลือจากการใช้และวัสดุสำหรับการบรรจุอื่นที่ไม่ประสงค์จะใช้แล้วรวมทั้งที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อไป ให้นำไปทำลายและบันทึกไว้เป็นหลักฐาน

ข้อ ๒๒ ให้มีวิธีปฏิบัติเกี่ยวกับสารเคมี น้ำยาทดสอบ และอาหารเลี้ยงเชื้อดังต่อไปนี้

(๑) บันทึกหลักฐานการรับสารเคมี น้ำยาทดสอบและอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งบันทึกการเตรียมน้ำยาทดสอบและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบทุกครั้ง

(๒) น้ำยาทดสอบต้องเตรียมตามวิธีการที่กำหนดไว้เป็นลายลักษณ์อักษร และปิดฉลากแสดงความเข้มข้น ค่ามาตรฐาน อายุของน้ำยาทดสอบ วันที่ต้องวิเคราะห์ค่ามาตรฐานซ้ำ และสภาวะการเก็บรักษา รวมทั้งลงลายมือชื่อผู้เตรียมและวัน เดือน ปีที่เตรียม

(๓) ต้องทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนนำไปใช้โดยเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่เชื้อที่ใช้ทดสอบ ซึ่งเชื้อที่ใส่ลงไปต้องมีปริมาณพอเหมาะที่จะแสดงความไวต่อการทดสอบตามที่กำหนด

ข้อ ๒๓ ให้มีวิธีปฏิบัติเกี่ยวกับสารมาตรฐานดังต่อไปนี้

(๑) สารมาตรฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ต้องเป็นสารมาตรฐานอ้างอิงตามตำรายา หรือสารมาตรฐานอ้างอิงที่ผู้ผลิตเตรียมขึ้น ซึ่งต้องผ่านการทดสอบมาตรฐาน อนุมัติให้ผ่านและเก็บรักษาในบริเวณที่ปลอดภัยในความรับผิดชอบของผู้ที่ได้รับมอบหมายเช่นเดียวกับสารมาตรฐานอ้างอิงตามตำรายา

(๒) สารมาตรฐานทุติยภูมิซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ได้จากการสอบเทียบกับสารมาตรฐานอ้างอิงตามตำรายาหรือสารมาตรฐานอ้างอิงที่ผู้ผลิตเตรียมขึ้น ต้องวิเคราะห์ทดสอบตามความเหมาะสมและตรวจสอบเป็นระยะๆ เพื่อให้มั่นใจในมาตรฐาน

(๓) สารมาตรฐานทั้งหมดให้เก็บรักษาและใช้ในลักษณะที่ไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพของสารมาตรฐาน

ข้อ ๒๔ ให้มีการควบคุมการดำเนินการผลิตดังต่อไปนี้

(๑) กระบวนการผลิต

(ก) ควบคุมให้พนักงานในฝ่ายดำเนินการผลิตปฏิบัติตามกระบวนการผลิตที่ระบุไว้ทุกขั้นตอน การเปลี่ยนแปลงใดๆ จากกระบวนการผลิตที่ระบุไว้ ต้องได้รับอนุมัติจากผู้รับผิดชอบเป็นลายลักษณ์อักษร

(ข) ก่อนที่จะเริ่มการผลิตต้องมีการตรวจสอบให้แน่ใจว่าบริเวณที่เกี่ยวกับการผลิตยา เครื่องมือและอุปกรณ์การผลิตมีความสะอาด และไม่มีวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ยาอื่น วัสดุสำหรับการบรรจุ และเอกสารต่างๆ จากการผลิตครั้งก่อนหลงเหลืออยู่

(ค) ต้องดำเนินการควบคุมระหว่างการผลิต และควบคุมสภาวะแวดล้อมที่จำเป็น พร้อมบันทึกไว้เป็นหลักฐาน

(ง) การควบคุมระหว่างการผลิตในบริเวณที่เกี่ยวกับการผลิตยา ต้องไม่ให้เกิดความเสี่ยงต่อคุณภาพยาที่ผลิต

(จ) ในระหว่างการผลิตต้องติดป้ายหรือฉลากที่แสดงชื่อยา ความแรง เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต และขั้นตอนการผลิตตามความจำเป็นไว้ที่ภาชนะบรรจุ วัตถุดิบ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และอุปกรณ์การผลิตที่สำคัญ

(ฉ) มีมาตรการที่เหมาะสมในการป้องกันการปนเปื้อนในระหว่างการผลิต

(ช) ตรวจสอบผลผลิตที่ได้ตามความเป็นจริงในขั้นตอนการผลิตที่สำคัญ และที่ผลิตได้ในขั้นตอนสุดท้ายเทียบกับผลผลิตที่ควรได้ตามทฤษฎีในแต่ละขั้นตอน ถ้ามีความแตกต่างไปจากเกณฑ์ที่ยอมรับได้ต้องหยุดดำเนินการผลิตจนกว่าจะหาสาเหตุได้

(๒) การบรรจุ

(ก) การบรรจุยาแต่ละตำรับ ให้ดำเนินการตามวิธีการบรรจุที่ระบุไว้ในเอกสารแม่บท ซึ่งได้รับอนุมัติจากผู้รับผิดชอบเป็นลายลักษณ์อักษร

(ข) วัสดุสำหรับการบรรจุของผลิตภัณฑ์ยาแต่ละชนิด ให้แยกเก็บให้เป็นสัดส่วนเพื่อป้องกันการสับสน และต้องอยู่ในความดูแลของผู้รับผิดชอบ โดยเฉพาะฉลากยาต้องเข้มงวดเป็นพิเศษ

(ค) ก่อนเริ่มการบรรจุให้ตรวจสอบบริเวณที่บรรจุยาในแต่ละสาย เครื่องพิมพ์และอุปกรณ์อื่นๆ ว่าสะอาดและปราศจากผลิตภัณฑ์ยาอื่นๆ หรือเอกสารใดๆ ในการผลิตครั้งก่อนหลงเหลืออยู่ โดยบันทึกการตรวจสอบไว้เป็นหลักฐาน

(ง) ยารอการบรรจุและวัสดุสำหรับการบรรจุ ต้องผ่านการตรวจสอบและได้รับอนุมัติจากฝ่ายควบคุมคุณภาพยาเป็นลายลักษณ์อักษรก่อนนำไปใช้

(จ) การบรรจุยาให้ระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนหรือเกิดการสับสนของผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกัน

(ฉ) การบรรจุยาในแต่ละสาย ต้องแสดงชื่อและเลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิตของยาที่กำลังบรรจุ

(ช) หลักการบรรจุยาใส่ภาชนะและปิดผนึกต้องปิดฉลากทันที ในกรณีที่ไม่สามารถดำเนินการได้ต้องมีวิธีที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการสับสนหรือปิดฉลากยาผิด

(ซ) ข้อความที่ตีพิมพ์บนวัสดุสำหรับการบรรจุ ต้องชัดเจนและคงทนถาวร

(ฌ) เมื่อเสร็จการบรรจุแล้ว ให้ตรวจสอบจำนวนวัสดุสำหรับการบรรจุที่ใช้ที่เสียหายและที่เหลือ และต้องตรวจสอบปริมาณยาสำเร็จรูปที่ผลิตได้จริงเทียบกับปริมาณยาสำเร็จรูปที่ควรผลิตได้ ถ้าพบว่ามีจำนวนขาดหายไป ต้องตรวจสอบหาสาเหตุที่แน่ชัด

(ญ) วัสดุสำหรับการบรรจุที่เหลือจากการใช้ ถ้าได้ระบุรหัสแสดงครั้งที่ผลิตและวันเดือน ปีที่ผลิตแล้วต้องทำลายทิ้ง และบันทึกไว้เป็นหลักฐาน ส่วนวัสดุสำหรับการบรรจุที่มิได้ระบุรหัสดังกล่าวให้ส่งคืนฝ่ายเก็บพัสดุและบันทึกไว้เป็นหลักฐานด้วยเช่นกัน

(ฏ) ยาสำเร็จรูปทุกชนิด ต้องมีฉลากซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของกฎหมายและต้องกักกันไว้จนกว่าจะผ่านการตรวจสอบและได้รับอนุมัติเป็นลายลักษณ์อักษรจากฝ่ายควบคุมคุณภาพยา

ข้อ ๒๕ ให้ฝ่ายควบคุมคุณภาพยามีการควบคุมคุณภาพยาดังต่อไปนี้

(๑) ฝ่ายควบคุมคุณภาพยาต้องแยกเป็นอิสระจากฝ่ายดำเนินการผลิตและฝ่ายอื่นๆ โดยอยู่ภายใต้ความรับผิดชอบของผู้ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมและมีประสบการณ์บริหารงานห้องปฏิบัติการ รวมทั้งบุคลากร เครื่องมือ และอุปกรณ์ต้องมีเพียงพอที่จะดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพ

(๒) มีวิธีปฏิบัติที่ได้รับอนุมัติแล้วในด้านการสุ่มตัวอย่าง การตรวจวิเคราะห์ ทดสอบวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุ และยาสำเร็จรูป รวมทั้งมีการควบคุมดูแลสภาวะแวดล้อมของสถานที่ผลิตยาให้เป็นไปตามที่กำหนดไว้ในประกาศนี้

(๓) การสุ่มตัวอย่างทุกขั้นตอน ต้องปฏิบัติตามวิธีที่กำหนดโดยพนักงานซึ่งได้รับมอบหมายจากฝ่ายควบคุมคุณภาพยา

(๔) ใช้วิธีวิเคราะห์ทดสอบที่ตรวจสอบความถูกต้องแล้ว

(๕) ให้มีบันทึกการสุ่มตัวอย่าง การตรวจสอบ และการวิเคราะห์ทดสอบซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการปฏิบัติจริงตามวิธีการที่กำหนด รวมทั้งบันทึกข้อเบี่ยงเบนจากวิธีการที่กำหนดพร้อมทั้งเหตุผล

(๖) ให้มีการควบคุมคุณภาพยาสำเร็จรูปให้มีมาตรฐานตามที่ขึ้นทะเบียนไว้ วัตถุดิบที่ใช้ต้องมีความบริสุทธิ์ตามมาตรฐานที่กำหนด และยาสำเร็จรูปต้องบรรจุในภาชนะที่เหมาะสม พร้อมทั้งปิดฉลากที่มีรายละเอียดอย่างถูกต้อง

(๗) ให้มีบันทึกผลการตรวจสอบ การวิเคราะห์ทดสอบวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุและยาสำเร็จรูปตามข้อกำหนด และการประเมินคุณภาพของยาสำเร็จรูป ให้รวมถึงการทบทวนและการประเมินเอกสารการผลิต ตลอดจนข้อเบี่ยงเบนจากวิธีการที่กำหนด

(๘) ยาสำเร็จรูปทุกรุ่นที่ปล่อยหรือผ่านเพื่อจำหน่าย ต้องได้รับอนุมัติจากผู้รับผิดชอบเป็นลายลักษณ์อักษร

ข้อ ๒๖ ในกรณีที่มีความจำเป็นที่ผู้ผลิตมีความประสงค์จะใช้ห้องปฏิบัติการภายนอกในการตรวจวิเคราะห์ทดสอบยาและวัสดุสำหรับการบรรจุ จะต้องได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาในการว่าจ้างห้องปฏิบัติการนั้น โดยจะต้องมีสัญญาว่าจ้างที่จัดทำเป็นลายลักษณ์อักษรที่แสดงถึงหน้าที่ความรับผิดชอบของผู้ว่าจ้างและผู้รับจ้าง ส่วนการตรวจวิเคราะห์ทดสอบยาและวัสดุดังกล่าวนั้นต้องดำเนินการตามวิธีที่ขึ้นทะเบียนไว้

ข้อ ๒๗ ให้มีการประเมินคุณภาพของยาสำเร็จรูปโดยพิจารณาจากสภาวะการผลิตเอกสารที่เกี่ยวกับการผลิต ผลการทดสอบยาระหว่างผลิต การได้มาตรฐานตามข้อกำหนดของยาสำเร็จรูป และการตรวจสอบยาที่บรรจุหีบห่อแล้ว รวมทั้งปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง

ข้อ ๒๘ ให้มีการควบคุมวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต ยารอการบรรจุและยาสำเร็จรูปดังต่อไปนี้

(๑) ให้มีการวิเคราะห์ทดสอบ โดยปฏิบัติตามวิธีที่กำหนดไว้สำหรับยาหรือวัสดุสำหรับการบรรจุแต่ละชนิดซึ่งหัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพยาต้องตรวจสอบผลวิเคราะห์ก่อนที่จะอนุมัติให้ผ่านหรือไม่ให้ผ่าน

(๒) การสุ่มตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ทดสอบ ให้สุ่มตามวิธีการที่ได้รับอนุมัติแล้ว

(๓) ในการสุ่มตัวอย่าง ให้กระทำในลักษณะที่ป้องกันการปนเปื้อน หรือไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพของยา ภาชนะบรรจุที่ถูกเปิดเพื่อสุ่มตัวอย่างต้องทำเครื่องหมายให้ชัดเจนและปิดผนึกให้เรียบร้อยเหมือนเดิมหลังการสุ่มตัวอย่าง ยาบางชนิดที่เป็นอันตรายร้ายแรงต้องทำการสุ่มอย่างระมัดระวังเป็นพิเศษ

(๔) ให้ทำความสะอาดอุปกรณ์สำหรับสุ่มตัวอย่างและเก็บแยกจากอุปกรณ์อื่นที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทดสอบ ในกรณีที่จำเป็นอุปกรณ์สำหรับสุ่มตัวอย่างต้องทำให้ปราศจากเชื้อก่อนและหลังการใช้ทุกครั้ง

(๕) ตัวอย่างที่สุ่มได้ ให้บรรจุในภาชนะที่ปิดฉลากที่มีข้อความดังต่อไปนี้

(ก) ชื่อสาร และรหัส (ถ้ามี)

(ข) เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต

(ค) เลขที่ของภาชนะบรรจุที่ได้สุ่มตัวอย่าง

(ง) ลายมือชื่อของผู้สุ่มตัวอย่าง

(จ) วัน เดือน ปีที่สุ่มตัวอย่าง

ข้อ ๒๙ การวิเคราะห์ทดสอบวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาระหว่างผลิต และยาสำเร็จรูป ให้ดำเนินการดังต่อไปนี้

(๑) ก่อนที่หัวหน้าฝ่ายควบคุมคุณภาพยาจะอนุมัติให้นำวัตถุดิบหรือวัสดุสำหรับการบรรจุไปใช้ในการผลิต ต้องมั่นใจว่าวัตถุดิบหรือวัสดุเหล่านั้นได้ผ่านการทดสอบตามข้อกำหนดเกี่ยวกับลักษณะเฉพาะ ความแรง ความบริสุทธิ์ และคุณภาพอื่นๆ

(๒) ให้ตรวจลักษณะเฉพาะของตัวอย่างวัตถุดิบจากแต่ละภาชนะบรรจุที่สุ่มมาทั้งหมด

(๓) ให้ตรวจสอบวัสดุสำหรับการบรรจุที่พิมพ์ข้อความแล้วทุกรุ่นที่ผลิตให้ถูกต้อง

(๔) ให้มีการบันทึกการควบคุมระหว่างผลิตและจะต้องเก็บรักษาไว้ โดยให้ถือเป็นส่วนหนึ่งของบันทึกการดำเนินการผลิต

(๕) ยาที่ผลิตขึ้นทุกครั้งต้องผ่านการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และผลการตรวจต้องเป็นไปตามข้อกำหนดของยาสำเร็จรูป แล้วจึงอนุมัติให้ผ่านได้

(๖) ยาที่ผลการตรวจไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของยาสำเร็จรูป ต้องไม่ให้ผ่านซึ่งในทางปฏิบัติอาจจะนำยานั้นกลับมาแก้ไขใหม่ได้ แต่ยาที่แก้ไขแล้วต้องอยู่ในเกณฑ์ตามข้อกำหนดของยาสำเร็จรูปแล้ว จึงอนุมัติให้ผ่านได้

ข้อ ๓๐ ให้มีการทบทวนบันทึกการดำเนินการผลิตและบันทึกการควบคุมคุณภาพยาที่ผลิตและในกรณียาที่ผลิตรุ่นใดที่คุณภาพแตกต่างหรือไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของยาสำเร็จรูป ต้องสืบสวนหาสาเหตุซึ่งอาจรวมถึงบันทึกการดำเนินการผลิตของยารุ่นอื่นของยาชนิดเดียวกันและยาอื่นที่อาจมีผลกระทบตามความจำเป็น ผลการสืบสวนให้บันทึกไว้เป็นลายลักษณ์อักษร รวมทั้งต้องสรุปผลและการดำเนินงานติดตามผล

ข้อ ๓๑ ให้ดำเนินการเกี่ยวกับตัวอย่างยาที่เก็บดังต่อไปนี้

(๑) เก็บตัวอย่างยาสำเร็จรูปทุกรุ่นที่ผลิตไว้อย่างน้อยหนึ่งปีหลังจากวันสิ้นอายุ โดยเก็บในภาชนะบรรจุสุดท้ายภายใต้สภาวะการเก็บตามที่กำหนด ยกเว้นยาที่บรรจุในภาชนะบรรจุขนาดใหญ่อาจแบ่งบรรจุเก็บในภาชนะขนาดเล็กลงตามความเหมาะสม สำหรับยาที่ไม่กำหนดวันสิ้นอายุ ให้เก็บตัวอย่างยาสำเร็จรูปไว้อย่างน้อยห้าปี นับจากวันที่ผลิต

(๒) เก็บตัวอย่างวัตถุดิบที่เป็นสารออกฤทธิ์ไว้อย่างน้อยหนึ่งปีหลังจากวันสิ้นอายุของยาสำเร็จรูปที่ผลิตโดยวัตถุดิบนั้น

(๓) เก็บตัวอย่างวัตถุดิบและยาสำเร็จรูปไว้ไม่น้อยกว่าสองเท่าของปริมาณที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด

ข้อ ๓๒ ให้มีการตรวจสอบความคงสภาพของยาแต่ละชนิดตามความจำเป็นดังต่อไปนี้

(๑) จัดให้ฝ่ายควบคุมคุณภาพยาประเมินคุณภาพและความคงสภาพของยาสำเร็จรูปและในกรณีที่จำเป็นอาจรวมถึงวัตถุดิบและยาระหว่างผลิต

(๒) จัดให้ฝ่ายควบคุมคุณภาพยากำหนดวันสิ้นอายุและข้อกำหนดอายุการใช้ของยาโดยอาศัยข้อมูลที่ได้จากการตรวจสอบความคงสภาพของยาที่เกี่ยวข้องกับสภาวะการเก็บ

(๓) จัดทำแผนการตรวจสอบเพื่อติดตามความคงสภาพของยาเป็นลายลักษณ์อักษรโดยมีรายละเอียดต่อไปนี้

(ก) รายละเอียดทั้งหมดของยาที่ใช้ในการตรวจสอบ

(ข) หัวข้อตรวจสอบทั้งหมดและรายละเอียดวิธีการตรวจสอบที่เกี่ยวกับความแรง ความบริสุทธิ์ และลักษณะที่สำคัญทางกายภาพ รวมทั้งหลักฐานที่แสดงว่าวิธีตรวจสอบนี้ใช้ในการตรวจสอบความคงสภาพของยาได้

(ค) จำนวนครั้งที่ผลิตซึ่งกำหนดไว้สำหรับการตรวจสอบ

(ง) ตารางเวลาการตรวจสอบสำหรับยาแต่ละตัว

(จ) สภาวะการเก็บตัวอย่างและจำนวนตัวอย่างที่เก็บ

(ฉ) การรวบรวมข้อมูลและประเมินผลการตรวจสอบ รวมทั้งสรุปผลการตรวจสอบ

(๔) การตรวจสอบความคงสภาพของยา ต้องดำเนินการก่อนการผลิตเพื่อจำหน่าย หากมีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิต เครื่องมือ อุปกรณ์ วัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ และอื่นๆ ซึ่งอาจมีผลต่อความคงสภาพของยาต้องดำเนินการตรวจสอบอีกครั้งหนึ่ง

ข้อ ๓๓ ให้มีวิธีดำเนินการและจัดทำเอกสารดังต่อไปนี้

(๑) เอกสารที่จัดทำขึ้นต้องได้รับความเห็นชอบจากผู้รับผิดชอบ โดยลงลายมือชื่อ พร้อมวัน เดือน ปีกำกับ ซึ่งการแก้ไขใดๆ ต้องได้รับอนุมัติเป็นลายลักษณ์อักษรจากผู้รับผิดชอบเท่านั้น

(๒) เอกสารต้องมีข้อความที่ชัดเจน ใช้ภาษาที่เข้าใจง่าย และต้องจัดรูปแบบและลำดับขั้นตอนของเอกสารให้ตรวจสอบได้ง่าย การบันทึกข้อมูลในเอกสารให้ใช้หมึกและเขียนให้ชัดเจน

(๓) การเปลี่ยนแปลงแก้ไขข้อมูลในเอกสาร ให้ใช้วิธีขีดฆ่าข้อความเดิมพร้อมลงลายมือชื่อของผู้แก้ไขและวัน เดือน ปีกำกับ เพื่อให้เห็นข้อความเดิมก่อนการแก้ไขอย่างชัดเจน และต้องบันทึกเหตุผลในการแก้ไขกำกับไว้ในกรณีที่จำเป็น

(๔) ให้ลงบันทึกในเอกสารทุกขั้นตอนของการผลิตยาให้ครบถ้วนเพื่อให้สามารถตรวจสอบได้และต้องเก็บเอกสารที่เกี่ยวข้องไว้อย่างน้อยห้าปี

(๕) ให้มีการทบทวนปรับปรุงเอกสารให้ทันสมัยอยู่เสมอ และเมื่อมีการปรับปรุงแก้ไขแล้วต้องกำหนดวิธีการป้องกันไม่ให้นำเอกสารเก่ากลับมาใช้อีก

ข้อ ๓๔ การบันทึกข้อมูลด้วยระบบคอมพิวเตอร์ การถ่ายภาพหรือวิธีการอื่น ต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องของการบันทึกข้อมูลดังกล่าว และต้องกำหนดผู้มีหน้าที่รับผิดชอบที่สามารถใช้หรือเปลี่ยนแปลงข้อมูลได้ การเก็บข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตยาด้วยระบบดังกล่าวต้องทำสำเนาข้อมูลและเก็บไว้อย่างน้อยห้าปี

ข้อ ๓๕ การจัดทำป้ายหรือฉลากต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ป้ายหรือฉลากที่ติดบนอุปกรณ์การผลิต ภาชนะบรรจุ หรือสถานที่ต่างๆ ต้องชัดเจนและอาจใช้สีของป้ายหรือฉลากที่แตกต่างกันเพื่อแสดงสถานภาพ เช่น กักกัน ผ่าน ไม่ผ่าน

(๒) ยาสำเร็จรูป ให้ติดฉลากตามที่กฎหมายกำหนด

(๓) ฉลากหรือเอกสารกำกับของสารมาตรฐาน ให้แสดงชื่อสาร ความแรง ครั้งที่ผลิต วัน เดือน ปีที่เปิดใช้ครั้งแรก สภาวะการเก็บรักษา และวันสิ้นอายุ (ถ้ามี)

ข้อ ๓๖ การจัดทำข้อกำหนดและวิธีทดสอบต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ให้มีข้อกำหนดและวิธีทดสอบวัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุและยาสำเร็จรูป รวมทั้งยาระหว่างผลิตและยารอการบรรจุตามความจำเป็น

(๒) ต้องมีการตรวจสอบว่าวิธีทดสอบใช้ได้

(๓) ข้อกำหนดและวิธีทดสอบต้องได้รับอนุมัติโดยฝ่ายควบคุมคุณภาพยาพร้อมทั้งระบุวัน เดือน ปีที่อนุมัติ และเก็บรักษาไว้ โดยปรับปรุงให้ทันสมัยอยู่เสมอ

ข้อ ๓๗ ข้อกำหนดเกี่ยวกับวัตถุดิบและวัสดุสำหรับการบรรจุต้องมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อและลักษณะของวัตถุดิบและวัสดุสำหรับการบรรจุ

(๒) เอกสารอ้างอิง (ถ้ามี)

(๓) ข้อกำหนดมาตรฐานและเกณฑ์การยอมรับ

(๔) ชื่อผู้แทนจำหน่ายและผู้ผลิต

(๕) ตัวอย่างของวัสดุสำหรับการบรรจุที่พิมพ์ข้อความไว้แล้ว

(๖) วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีทดสอบ และเอกสารอ้างอิงสำหรับวิธีนั้นๆ

(๗) สภาวะการเก็บรักษาและข้อควรระวัง (ถ้ามี)

(๘) ระยะเวลาที่ต้องทำการทดสอบวัตถุดิบซ้ำ

(๙) วัน เดือน ปีที่สิ้นอายุ (ถ้ามี)

ข้อ ๓๘ ข้อกำหนดเกี่ยวกับยาระหว่างผลิตและยารอการบรรจุต้องมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อและลักษณะของยา

(๒) ข้อกำหนดมาตรฐานและเกณฑ์การยอมรับ

(๓) วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีทดสอบและเอกสารอ้างอิงสำหรับวิธีนั้นๆ

(๔) สภาวะการเก็บรักษา และข้อควรระวัง (ถ้ามี)

ข้อ ๓๙ ข้อกำหนดเกี่ยวกับยาสำเร็จรูปต้องมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อและลักษณะของยา

(๒) ชื่อและปริมาณตัวยาสำคัญต่อหน่วย

(๓) เลขทะเบียนตำรับยา

(๔) รายละเอียดของภาชนะบรรจุ

(๕) ข้อกำหนดมาตรฐานและเกณฑ์การยอมรับ

(๖) วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีทดสอบ และเอกสารอ้างอิงสำหรับวิธีนั้นๆ

(๗) สภาวะการเก็บรักษาและข้อควรระวัง (ถ้ามี)

(๘) วัน เดือน ปีที่สิ้นอายุ (ถ้ามี)

ข้อ ๔๐ ให้มีการจัดทำเอกสารแม่บทของยาทุกตำรับ โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อ ลักษณะ และปริมาณตัวยาสำคัญต่อหน่วย

(๒) สูตรของยา พร้อมทั้งปริมาณและขนาดบรรจุ

(๓) อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตและบรรจุ

(๔) รายการแสดงชนิด ขนาด และปริมาณของวัสดุสำหรับการบรรจุที่ใช้ ซึ่งมีรหัสอ้างอิงถึงข้อกำหนดมาตรฐานของวัสดุนั้น

(๕) ตัวอย่างวัสดุสำหรับการบรรจุที่บ่งบอกตำแหน่งที่จะพิมพ์เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต วัน เดือน ปีที่ผลิต และวัน เดือน ปีที่สิ้นอายุบนวัสดุนั้น

(๖) รายละเอียดของขั้นตอนวิธีการผลิตและบรรจุ รวมทั้งข้อควรระวัง (ถ้ามี)

(๗) การควบคุมระหว่างผลิตและบรรจุ รวมทั้งเกณฑ์การยอมรับ

(๘) ปริมาณยาที่ผลิตได้ตามทฤษฎี

(๙) ปริมาณยาที่ควรผลิตได้

(๑๐) ข้อกำหนดของวัตถุดิบ

(๑๑) ข้อกำหนดของยาสำเร็จรูป

(๑๒) ข้อกำหนดของวัสดุสำหรับการบรรจุ

(๑๓) ข้อแนะนำและข้อพึงระวังเกี่ยวกับการเก็บรักษายาสำเร็จรูป

ข้อ ๔๑ ให้มีการจัดทำบันทึกกระบวนการผลิตของยาทุกรุ่นที่สอดคล้องกับเอกสารแม่บท โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อยา และรหัส (ถ้ามี)

(๒) เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิตและวัน เดือน ปีที่ผลิต

(๓) ปริมาณยาของรุ่นที่ผลิต

(๔) ปริมาณยาที่ผลิตได้ตามทฤษฎี

(๕) ปริมาณยาที่ควรผลิตได้

(๖) ปริมาณยาที่ผลิตได้

(๗) ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้และเลขที่แสดงครั้งที่วิเคราะห์วัตถุดิบ

(๘) รายชื่ออุปกรณ์การผลิตที่สำคัญ

(๙) บันทึกการทำความสะอาดอุปกรณ์การผลิต

(๑๐) รายละเอียดของขั้นตอนวิธีการผลิต รวมทั้งข้อควรระวัง (ถ้ามี)

(๑๑) วัน เดือน ปี และเวลาของแต่ละขั้นตอนที่สำคัญของการผลิต ตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดกระบวนการผลิต รวมทั้งลายมือชื่อของผู้ปฏิบัติงานและผู้ควบคุมในแต่ละขั้นตอน

(๑๒) การควบคุมยาระหว่างผลิตหากมีการทดสอบต้องทำเป็นบันทึกและลงลายมือชื่อผู้ทดสอบ และผลที่ได้

(๑๓) ปริมาณยาที่ผลิตได้ในขั้นตอนต่างๆ ที่สำคัญ

ข้อ ๔๒ ให้มีการทำบันทึกการบรรจุของยาทุกรุ่น ที่สอดคล้องกับเอกสารแม่บท โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อยา และรหัส (ถ้ามี)

(๒) เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต

(๓) วัน เดือน ปีและช่วงเวลาที่ใช้ในการบรรจุ รวมทั้งลายมือชื่อของผู้ปฏิบัติงานและผู้ควบคุม

(๔) จำนวนยาที่รอการบรรจุ

(๕) ปริมาณยาที่คาดว่าจะบรรจุได้

(๖) ปริมาณยาที่บรรจุได้และที่เหลือ

(๗) รายชื่ออุปกรณ์การบรรจุที่สำคัญ (ถ้ามี)

(๘) หลักฐานการตรวจสอบก่อนการบรรจุว่าไม่มียาหรือวัสดุอื่นจากการบรรจุครั้งก่อนหลงเหลืออยู่

(๙) รายละเอียดของขั้นตอนวิธีการบรรจุ รวมทั้งข้อควรระวัง (ถ้ามี)

(๑๐) ผลการตรวจสอบวัสดุสำหรับการบรรจุที่เบิกมาใช้ รวมทั้งผลการตรวจสอบยาระหว่างการบรรจุ พร้อมลายมือชื่อผู้ตรวจสอบ

(๑๑) ตัวอย่างของวัสดุสำหรับการบรรจุที่ใช้พิมพ์ข้อความแล้ว เช่น เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต วัน เดือน ปีที่ผลิต วัน เดือน ปีที่สิ้นอายุ

(๑๒) ชนิดและจำนวนของวัสดุสำหรับการบรรจุที่เบิก ที่ใช้ ที่เสียและที่ส่งคืนฝ่ายเก็บพัสดุ

(๑๓) จำนวนของตัวอย่างยาที่เก็บไปตรวจสอบในระหว่างการบรรจุและหลังการบรรจุ

(๑๔) ผลการตรวจสอบความสอดคล้องของปริมาณวัสดุสำหรับการบรรจุที่ใช้กับปริมาณของยาที่ผลิตได้

ข้อ ๔๓ ในกรณีที่มีปัญหาในระหว่างการผลิตหรือการบรรจุยาของแต่ละครั้งที่ผลิต ให้บันทึกรายละเอียดของปัญหาที่เกิดขึ้น หากมีการเปลี่ยนแปลงแก้ไขวิธีการผลิตหรือการบรรจุไปจากเอกสารแม่บทหรือเอกสารวิธีการบรรจุ แล้วแต่กรณีต้องได้รับอนุมัติจากผู้รับผิดชอบในกระบวนการนั้น

ข้อ ๔๔ ให้จัดทำมาตรฐานสำหรับวิธีการปฏิบัติเกี่ยวกับเรื่องดังต่อไปนี้

(๑) การรับวัตถุดิบและวัสดุสำหรับการบรรจุ

(๒) การกำหนดเลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต

(๓) การใช้และตรวจสอบความถูกต้องของอุปกรณ์ที่สำคัญในการผลิต

(๔) การใช้และสอบเทียบอุปกรณ์ที่สำคัญในการวิเคราะห์

(๕) การบำรุงรักษาและการทำความสะอาดอุปกรณ์ที่สำคัญในการผลิตและการวิเคราะห์

(๖) การฝึกอบรม การแต่งกายและการรักษาสุขอนามัยของพนักงาน

(๗) การจัดการเกี่ยวกับข้อร้องเรียนของผู้เกี่ยวข้องกับการใช้ยา

(๘) การเรียกเก็บยาคืนและการจัดการกับยาที่ถูกส่งคืน

(๙) การตรวจสอบตนเองตามข้อ ๔๘

การปฏิบัติงานตามวรรคหนึ่งให้มีการบันทึกไว้ด้วย

ข้อ ๔๕ ให้มีการบันทึกการวิเคราะห์ทดสอบซึ่งต้องมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ชื่อตัวอย่างที่วิเคราะห์ทดสอบ เช่น วัตถุดิบ วัสดุสำหรับการบรรจุ ยาสำเร็จรูป

(๒) ลักษณะยา และปริมาณตัวยาสำคัญต่อหน่วย

(๓) เลขที่หรืออักษรแสดงครั้งที่ผลิต ชื่อผู้ผลิต

(๔) เอกสารอ้างอิงของข้อกำหนดและวิธีวิเคราะห์ทดสอบ

(๕) วัน เดือน ปีที่เริ่มทำการวิเคราะห์ทดสอบแต่ละครั้ง

(๖) รายละเอียดของข้อมูล ผลการวิเคราะห์ทดสอบ รวมทั้งข้อสังเกตและการคำนวณ

(๗) สรุปผลการวิเคราะห์ทดสอบ พร้อมทั้งลงลายมือชื่อและวัน เดือน ปีของผู้วิเคราะห์ทดสอบ

(๘) การอนุมัติให้ผ่านหรือไม่ผ่าน พร้อมทั้งลงลายมือชื่อและวัน เดือน ปีของผู้รับผิดชอบ

ข้อ ๔๖ ให้มีการตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการผลิต การวิเคราะห์ทดสอบและวิธีการทำความสะอาด โดยดำเนินการตามแบบแผนปฏิบัติและวิธีการที่กำหนดไว้และต้องจัดให้มีการรายงานการตรวจสอบเป็นลายลักษณ์อักษร และให้ทำการตรวจสอบความถูกต้องซ้ำเป็นระยะๆ

ข้อ ๔๗ การตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการผลิตให้ปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการผลิตที่สำคัญตามความจำเป็น

(๒) ในกรณีที่มีการผลิตยาตำรับใหม่ ต้องทำการศึกษาทดลองว่ากระบวนการผลิตนั้นๆ เหมาะสมหรือไม่ และยาที่ผลิตได้มีคุณภาพมาตรฐานอย่างสม่ำเสมอตามที่กำหนด

(๓) ในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงแก้ไขกระบวนการผลิตที่สำคัญ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงอุปกรณ์การผลิต วัตถุดิบหรือวัสดุสำหรับการบรรจุที่ใช้ ซึ่งอาจมีผลต่อคุณภาพของยาต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องด้วย

ข้อ ๔๘ ให้มีการตรวจสอบตนเองโดยจัดตั้งทีมงานรับผิดชอบในการตรวจสอบ ประเมินผล และจัดทำรายงานโดยต้องมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๑) ผลการตรวจสอบ

(๒) การประเมินและสรุปผล

(๓) ข้อแนะนำการแก้ไขข้อบกพร่อง พร้อมทั้งกำหนดระยะเวลา

ข้อ ๔๙ การเรียกเก็บยาคืนต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) มีระบบที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วในการเรียกเก็บยาที่พบข้อบกพร่องคืน ซึ่งต้องกำหนดผู้รับผิดชอบ ในการจัดการให้ดำเนินงานจากหลักฐานการจัดจำหน่ายยา ซึ่งมีข้อมูลรายละเอียดของลูกค้าอย่างเพียงพอ

(๒) การเรียกเก็บยาคืนต้องครอบคลุมถึงโรงพยาบาล คลินิก และสถานที่ขายยา โดยปฏิบัติตามวิธีการเรียกเก็บยาคืนที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนด

(๓) มีบันทึกการเรียกเก็บคืนจากลูกค้าแต่ละรายและสรุปผลจำนวนยาที่ส่งขายและยาที่เรียกเก็บคืนได้ เพื่อประเมินประสิทธิภาพการเรียกเก็บยาคืน แล้วหาข้อบกพร่องสำหรับการปรับปรุงแก้ไขในครั้งต่อไป

(๔) แยกเก็บยาที่เรียกเก็บคืนไว้ในบริเวณเฉพาะซึ่งสามารถป้องกันการสูญหายและต้องตัดสินใจดำเนินการเกี่ยวกับยาที่เรียกเก็บคืนโดยเร็ว

ข้อ ๕๐ ให้จัดทำบันทึกการจัดจำหน่ายยาทุกครั้งที่ผลิตซึ่งมีข้อมูลรายละเอียดของลูกค้าอย่างเพียงพอที่จะทำให้สามารถติดตามได้ง่ายและรวดเร็วเมื่อต้องการเรียกเก็บยาคืนจากท้องตลาด

ข้อ ๕๑ ให้ปฏิบัติเกี่ยวกับข้อร้องเรียนของผู้เกี่ยวข้องกับการใช้ยาดังต่อไปนี้

(๑) ดำเนินการกับข้อร้องเรียนที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ยาไว้เป็นลายลักษณ์อักษร และกำหนดผู้รับผิดชอบดำเนินการเกี่ยวกับข้อร้องเรียนดังกล่าว

(๒) สอบสวนข้อเท็จจริงเกี่ยวกับข้อร้องเรียนอย่างรอบคอบ และบันทึกรายละเอียดไว้

(๓) ถ้าพบข้อบกพร่องหรือสงสัยว่าบกพร่องในครั้งที่ผลิตใด ต้องตรวจสอบครั้งที่ผลิตอื่นด้วยโดยเฉพาะครั้งที่ผลิตอื่นซึ่งนำเอาผลิตภัณฑ์ของครั้งที่มีปัญหามาผสม

(๔) ถ้าผลการสอบสวนพบว่าข้อบกพร่องมีผลต่อคุณภาพของยาซึ่งทำให้ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ต้องรีบดำเนินการเรียกเก็บยาดังกล่าวคืน

(๕) ต้องมีการทบทวนบันทึกข้อร้องเรียนอย่างสม่ำเสมอ เพื่อหามาตรการป้องกันและแก้ไขข้อบกพร่องที่อาจจะเกิดขึ้นซ้ำ

ข้อ ๕๒ การดำเนินการเกี่ยวกับยาคืนต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) แยกเก็บยาที่ลูกค้าส่งคืนไว้ในบริเวณเฉพาะ เพื่อรอการตรวจสอบจากฝ่ายควบคุมคุณภาพยา

(๒) ตรวจสอบสภาพโดยทั่วไป ประวัติ และคุณภาพยา เพื่อนำมาพิจารณาตัดสินใจทำลาย แก้ไขใหม่ หรือนำไปจำหน่ายต่อไป

(๓) บันทึกการดำเนินงานเป็นลายลักษณ์อักษร