สรุปความรู้ที่ได้จากการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ ด้วยเทคนิคชุมชนนักปฏิบัติ (CoP)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ชื่อ CoP: สมุนไพร

หัวข้อ/เรื่องที่แลกเปลี่ยนความรู้ (Knowledge): ปัญหาที่พบในการทดสอบด้านจุลชีววิทยาในสมุนไพรและการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

วันที่แลกเปลี่ยนเรียนรู้: 26 เมษายน 2559

เนื้อหาความรู้โดยสรุป: จากการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในสมุนไพร และการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (PT) กับบริษัท IFM Quality Services Pty. Ltd. ในโปรแกรม Pharmaceutical/Cosmetic Microbiology : Herbal Tea ประเทศออสเตรเลีย ของสถาบันวิจัยสมุนไพร สำนักยาและวัตถุเสพติด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 (เชียงใหม่), 2 (พิษณุโลก), 5 (สมุทรสงคราม), 6 (ชลบุรี), 7 (ขอนแก่น), 9 (นครราชสีมา) สรุปได้ดังนี้

ลำดับ	ปัญหา	สาเหตุ	วิธีการแก้ไข
1	ผลการตรวจเชื้อเป็น False negative หรือพบเชื้อปริมาณน้อยกว่าเป็นจริง	- ตัวอย่างที่ได้รับจากการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ลักษณะตัวอย่างมีทั้งผงละเอียด ผงหยาบ และเมล็ดข้าว ทำให้การกระจายของเชื้อไม่สม่ำเสมอ	- เขย่าขวดให้ตัวอย่างเข้ากัน วางทิ้งไว้สักครู่ เวลาตักตัวอย่าง ให้ตักทั้งผงละเอียดผงหยาบและเมล็ดข้าว (ไม่ควรใช้วิธีปั่นตัวอย่าง เนื่องจากอาจทำให้เชื้อถูกทำลาย)
		- อุณหภูมิของตัวอย่างระหว่างการขนส่งสูงกว่าที่กำหนด อาจทำให้เชื้อบางส่วนตาย	- แจ้งบริษัท IFM ให้ทราบถึงปัญหานี้เพื่อทำการแก้ไข และเมื่อห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างแล้วควรรีบดำเนินการตรวจวิเคราะห์ให้เร็วที่สุด
2	Coagulase positive *Staphylococcus* spp เป็น False negative	เนื่องจากตัวอย่างที่ได้รับไม่ได้ผ่านการทำลายเชื้อมาก่อนจึงมีเชื้อเจ้าถิ่นอยู่ ทำให้บดบังการเจริญของเชื้อที่เติมเข้าไป ประกอบกับวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตาม Thai Pharmacopoeia 2005 ซึ่งไม่มี secondary enrichment broth	เนื่องจาก *Staphylococcus* จะชอบเกลือ จึงใช้วิธีที่ประยุกต์ขึ้น โดยบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) ก่อน แล้วใช้ secondary enrichment ได้แก่ TSB + NaCl + pyruvate เป็นการฟื้นฟูเชื้อที่ไม่แข็งแรง ทำให้ปริมาณเชื้อมีมากขึ้นจนสามารถวิเคราะห์ได้

ลำดับ	ปัญหา	สาเหตุ	วิธีการแก้ไข
3	*Clostridium perfringens* เป็น False negative	- วิธีตรวจวิเคราะห์ตาม Thai Pharmacopoeia 2005 ที่ใช้ตรวจหาปริมาณ Pathogenic *Clostridium* spp. ใช้ตัวอย่าง 10 กรัม ซึ่งตัวยาสมุนไพรอาจยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ปริมาณ media ที่ใช้ไม่เพียงพอที่จะ neutralize ตัวอย่าง ทำให้เชื้อถูกยับยั้งโดยสมุนไพร จึงตรวจไม่พบเชื้อ	- ใช้วิธีตาม Thai Pharmacopoeia 2010 ที่ใช้ตัวอย่าง 1 กรัม จะมีโอกาสตรวจเจอเชื้อสูงกว่า - การเลือกใช้ selective media ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Clostridium perfringens* คือ Tryptose Sulfite Cycloserine agar (TSC) ในการเลี้ยงเชื้อ
		- ใช้ขวดปากกว้างเป็นภาชนะในการเลี้ยงเชื้อ	- เนื่องจากเชื้อ *Clostridium* spp. เป็น anaerobic bacteria ภาชนะที่ใช้ต้องให้ media สัมผัสอากาศน้อยที่สุด จึงควรใช้หลอดทรงสูง แล้วเท paraffin oil ทับ หนา 0.5 cm และเวลาดูดเชื้อให้จุ่มปลาย pipette ลงที่ก้นหลอด ปริมาตร media ที่ใช้ 100 ml
4	*Pseudomonas aeruginosa* เป็น False negative	เนื่องจากตัวอย่างที่ได้รับไม่ได้ผ่านการทำลายเชื้อมาก่อนจึงมีเชื้อเจ้าถิ่นอยู่ ทำให้บดบังการเจริญของเชื้อที่เติมเข้าไป ประกอบกับวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตาม Thai Pharmacopoeia 2005 ซึ่งไม่มี secondary enrichment broth	บ่มเชื้อใน Tryptic Soy Broth (TSB) ก่อน แล้วใช้ secondary enrichment broth ที่เหมาะสมกับ *Pseudomonas aeruginosa*
5	*E. coli* เป็น False negative	- เกิดจากการอ่านผล และจากตัวอย่างที่ได้รับไม่ได้ผ่านการทำลายเชื้อมาก่อนจึงมีเชื้อเจ้าถิ่นอยู่ ทำให้บดบังการเจริญของเชื้อที่เติมเข้าไป	การอ่านผลต้องอ่านภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าอ่านผลช้ากว่านี้จะทำให้เชื้อกลุ่ม Enterobacter ชนิดอื่นเจริญจนปกคลุมเชื้อนี้ได้ ทำให้การอ่านผลผิดพลาด

ข้อเสนอแนะจากที่ประชุม:

1. ควรมีการรวบรวมข้อมูลจากการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ แล้วเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ

2. มีการทำ interlab comparison โดยมีหน่วยงานศูนย์กลางเป็น ผู้กระจายตัวอย่างโดยใช้ตัวอย่างเดียวกันก่อน ถ้าได้ผลดีจึงทำเป็น PT Provider โดยเติมเชื้อลงในตัวอย่าง เป็นการประหยัดงบประมาณในการทำ PT

จะจัดทำบันทึกความรู้เพื่อนำไปใช้งานต่อโดยการ :

จัดทำเอกสารสรุปแนวทางการแก้ปัญหาที่พบในการทดสอบด้านจุลชีววิทยาในสมุนไพรและการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ เพื่อเผยแพร่บน website ของสถาบันวิจัยสมุนไพร และห้องสมุดสถาบันวิจัยสมุนไพร