

แบบสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการวิจัย การคัดกรองการปนเปื้อนยาเอ็นโรฟลอกซ์ซาซินในเนื้อไก่และไข่

Screening test for Enrofloxacin residues in chicken and eggs

ชื่อคณะผู้วิจัย 1. ศศ. ดร. นงลักษณ์ เรืองวิเศษ

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์ 02-6448677-91 ต่อ 5406, 5402 โทรสาร 02-644-8695

2. อาจารย์ ดร. ปิยนุช โรจน์สง่า

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์ 02-6448677-91 ต่อ 5404 โทรสาร 02-644-8695

3. ภญ. ทศนีย์ โชกเจริญรัตน์

หน่วยงานที่สังกัด กลุ่มตรวจคุณภาพเภสัชภัณฑ์ทางเคมีฟิสิกส์ สำนักยาและวัตถุเสพติด

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จ.นนทบุรี

โทรศัพท์ 02-951-0000 ต่อ 99154, 99145

งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2551 จำนวนเงิน 444,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ 29 กันยายน 2551 ถึง 29 กันยายน 2552

สรุปโครงการวิจัย

Enrofloxacin เป็นยาปฏิชีวนะ กลุ่ม Quinolones ซึ่งมีการใช้อย่างแพร่หลายในสัตว์ที่เลี้ยงไว้เพื่อจำหน่ายเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ พบได้ในหมู วัว ไก่ ปลา และกุ้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และไข่ซึ่งมีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด หากมียาปฏิชีวนะปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบย่อมส่งผลให้อาหารเหล่านั้นไม่มีคุณภาพ และส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ผู้บริโภคด้วย เช่น ทำให้เกิดการแพ้ ทำให้การรักษาโรคติดเชื้อในมนุษย์ด้วยยาปฏิชีวนะเดิมไม่ได้ผลเนื่องจากการดื้อยาของจุลชีพ เป็นต้น ผลกระทบด้านเศรษฐกิจ เช่น สินค้าส่งออกประเภทเนื้อไก่และไข่ ที่ส่งไปยังประเทศในกลุ่มยุโรป จะต้องถูกตรวจสอบและประเมินปริมาณสารตกค้างชนิดต่างๆ รวมทั้งยาปฏิชีวนะด้วยการตรวจสอบสารตกค้างของยา enrofloxacin ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยปกติจะใช้ Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีราคาแพง (6-10 ล้านบาท) ทำให้เป็นข้อจำกัดของหน่วยงานภาครัฐ เช่น ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในต่างจังหวัดไม่สามารถจัดหาได้อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง เช่น ค่าแก๊สในโตรเจน ที่ใช้กับ LC-MS มีราคาสูงมากต่อ 1 ตัวอย่าง จึงควรมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ง่าย สะดวก ราคาถูกและรวดเร็วกว่า เพื่อใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของยา enrofloxacin เบื้องต้น (screening test)

การวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีตรวจคัดกรองโดยอาศัยหลักการโครมาโทกราฟีแนวราบ วิธีโครมาโทกราฟีแนวราบเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ วิธีนี้มีข้อดี คือ ง่าย รวดเร็ว ราคาไม่แพง สามารถจัดทำได้ง่ายในห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก เครื่องมือที่ใช้ไม่ยุ่งยากและไม่ต้องการการบำรุงรักษามากเท่าเครื่องมือชนิดอื่น สามารถใช้ในการคัดกรองการปนเปื้อนยาในเนื้อไก่และไข่ได้ซึ่งมีความถูกต้องและแม่นยำ และสามารถตรวจประเมินปริมาณเบื้องต้นที่ระดับ 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง ขั้นตอนการตรวจคัดกรองทำได้โดยการสกัดสารตกค้างออกจากตัวอย่างด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้วนำสารสกัดมาตรวจหาสารด้วยโครมาโทกราฟีแนวราบที่ได้พัฒนาขึ้นทำให้สามารถแยกสารตกค้างออกจากสารอื่นในตัวอย่างได้แล้วเปรียบเทียบระดับความเข้มของแถบสารในโครมาโทแกรมซึ่งต้องไม่เกินกว่าความเข้มของแถบสารมาตรฐาน การตรวจคัดกรองนี้มีความไวร้อยละ 90 และ 80 ในตัวอย่างเนื้อไก่และไข่ไก่ตามลำดับ และมีความจำเพาะร้อยละ 100 ทั้งตัวอย่างเนื้อไก่และไข่ไก่ ทั้งนี้ความผิดพลาดของการตรวจคัดกรองด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแนวราบในตัวอย่างเนื้อไก่และไข่อาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากการรบกวนขององค์ประกอบบางชนิดในตัวอย่าง เนื่องจากเนื้อสัตว์มีองค์ประกอบหลากหลาย หากมีการเตรียมตัวอย่างไม่เหมาะสมอาจไม่สามารถตรวจเจอสารปนเปื้อนได้ เนื่องจากมีความเข้มข้นในตัวอย่างต่ำกว่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ นอกจากนี้การเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนการบด ความละเอียดของตัวอย่างย่อมส่งผลต่อการสกัดสารออกจากตัวอย่างด้วย สภาวะในการทดสอบตัวอย่าง เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความพร้อมของเครื่องมือและสารเคมีต่างๆ ส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนของการทดสอบได้ และสภาวะการเก็บรักษาตัวอย่าง ที่ส่งผลต่อความคงตัวของตัวอย่างตลอดระยะเวลาการทดสอบก็เป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงด้วย

การประเมินคุณภาพวัตถุดิบจากแหล่งวัตถุดิบภายในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑลนั้นพบว่าตัวอย่างเนื้อไก่ที่ไม่ผ่านการทดสอบคือมีปริมาณยาต้านจุลชีพเอ็นโรฟลอกซาซินตกค้างเกินกว่าระดับการยอมรับ (100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) 1 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างเนื้อไก่ทั้งหมดจำนวน 116 ตัวอย่าง และไม่พบการปนเปื้อนในตัวอย่างไข่ไก่เกินระดับ 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จากจำนวนที่สุ่มตรวจทั้งหมด 62 ตัวอย่าง เห็นได้ว่าแม้ปัจจุบันได้มีการห้ามใช้ยา enrofloxacin ในสัตว์ปีกแล้ว ก็ยังมีการใช้ยานี้อยู่ในพื้นที่ที่สุ่มตรวจซึ่งจะก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพต่อผู้บริโภค และเป็นปัญหาด้านเศรษฐกิจต่อไปอีกด้วย

วิธีอื่นที่ใช้ในการตรวจหาปริมาณและยืนยันผลจากการตรวจคัดกรองตัวอย่างจากแหล่งวัตถุดิบ ได้แก่ วิธีลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทเมตรี(LC-MS) ได้ถูกนำมาตรวจหาสารตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากวิธีตรวจคัดกรองเบื้องต้นนี้ พบผลการทดสอบที่สอดคล้องกัน ทำให้วิธีคัดกรองที่พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

บทคัดย่อ

เอ็นโรฟลอกซ์ซาซินเป็นยาต้านจุลชีพกลุ่มควิโนโลน ซึ่งใช้กันแพร่หลายในสัตว์ที่เลี้ยงไว้เพื่อเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ และอาหารที่มีต้นกำเนิดจากสัตว์ ได้แก่ หมู วัว ไก่ ปลา และกุ้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และไข่อาจมีการปนเปื้อนยาต้านจุลชีพเอ็นโรฟลอกซ์ซาซิน และ เมทาบอลิไทซ์โพรฟลอกซ์ซาซิน การปนเปื้อนของยาข่มส่งผลให้อาหารไม่มีคุณภาพและส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ การตรวจคัดกรองการปนเปื้อนยาเอ็นโรฟลอกซ์ซาซินในเนื้อไก่และไข่ที่พัฒนาขึ้นนี้อาศัยหลักการไฮเพอร์ฟลูออเรสเซนซ์ทินแลเซอร์โครมาโทกราฟี ทำได้โดยการสกัดสารตกค้างออกจากตัวอย่างด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้วนำสารสกัดมาตรวจหาสารด้วยไฮเพอร์ฟลูออเรสเซนซ์ทินแลเซอร์โครมาโทกราฟี ที่ได้พัฒนาขึ้นทำให้สามารถแยกสารตกค้างออกจากสารอื่นในตัวอย่างได้ การตรวจประเมินปริมาณเบื้องต้นที่ระดับ 100 พีพีบี ความไวของวิธีเท่ากับร้อยละ 90 และ มีความจำเพาะของวิธีเท่ากับร้อยละ 100 ในตัวอย่างเนื้อไก่ ส่วนตัวอย่างไข่ไก่ พบว่าสามารถตรวจประเมินปริมาณเบื้องต้นที่ระดับ 100 พีพีบี ความไวของวิธีเท่ากับร้อยละ 80 และ มีความจำเพาะของวิธีเท่ากับร้อยละ 100 วิธีลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทเมตรี ได้ถูกนำมาตรวจสอบตัวอย่างที่ได้ตรวจคัดกรองเบื้องต้นแล้ว ในขั้นการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีไฮเพอร์ฟลูออเรสเซนซ์ทินแลเซอร์โครมาโทกราฟี พบว่าผลการทดสอบจากทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกัน ทำให้วิธีคัดกรองที่พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น การประเมินคุณภาพวัตถุดิบจากแหล่งวัตถุดิบภายในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑลนั้นพบว่าตัวอย่างเนื้อไก่ที่ไม่ผ่านการทดสอบคือมีปริมาณยาต้านจุลชีพเอ็นโรฟลอกซ์ซาซินตกค้างเกินกว่าระดับการยอมรับ (100 พีพีบี) 1 ตัวอย่าง จากตัวอย่างเนื้อไก่ที่สุ่มตรวจ 116 ตัวอย่าง และไม่พบการปนเปื้อนเกินระดับ 100 พีพีบี จากตัวอย่างไข่ไก่ที่สุ่มตรวจ 62 ตัวอย่าง

Abstract

Enrofloxacin is an antibiotic widely used in animal husbandry. Foods from animal origins such as pork, beef, chicken, fish, and shrimp, especially chicken and eggs were suspected to be contaminated by enrofloxacin and its metabolite, ciprofloxacin. Antibiotic contamination causes deterioration in meat quality and effects on human health. Screening test for enrofloxacin and ciprofloxacin residues in chicken breast and eggs by High Performance Thin layer Chromatography have been developed. Appropriate solvents were used for extracting the residues from samples before analyzing by high performance thin layer chromatography which could distinguish the residues from other substances. The detection limit, sensitivity and specificity in chicken breast were 100 ppb, 90% and 100%, respectively. The detection limit, sensitivity and specificity in eggs were 100 ppb, 80% and 100%, respectively. Liquid chromatography mass spectrometry was used as the confirmatory method to analyze the same samples that were used in validation experiments of High Performance Thin layer Chromatography. According to Liquid chromatography mass spectrometry, all samples were conformed. Chicken breast and egg samples from various sources around Bangkok were sampled and tested by High Performance Thin layer Chromatography. From 116 samples of chicken meat, only one sample was out of the limit of enrofloxacin residue (100 ppb). All 62 egg samples were within the same limit of enrofloxacin residue (100 ppb).