

การตรวจหาความปราศจากเชื้อ (Sterility Test)



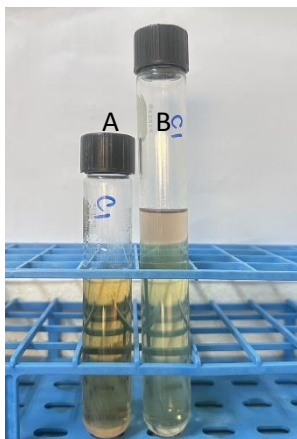
นางภาวศุทธิ์ จันทร์กระจำ
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
ศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์

ความปราศจากเชื้อ หมายถึง ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอกผลิตภัณฑ์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น วัคซีนชนิดเชื้อเป็นจะมีเชื้อมีชีวิตอยู่ ดังนั้นการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ปราศจากเชื้อจึงเป็นเรื่องที่สำคัญมาก โดยการตรวจหาความปราศจากเชื้อ (Sterility test) คือ การตรวจหาจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่อาจมีในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หรือชีววัตถุ เมื่อทำการบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิและเวลาเหมาะสม หากมีการปนเปื้อน จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสังเกตเห็นความขุ่นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งการทดสอบต้องดำเนินการด้วยความระมัดระวังด้วยการใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique)

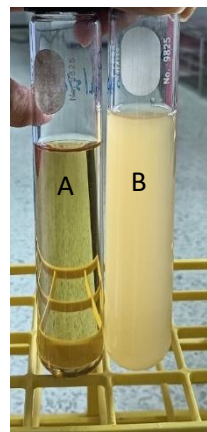
การตรวจหาความปราศจากเชื้อ มี 2 วิธี คือ **direct inoculation method** และ **membrane filtration method** ซึ่งการตรวจหาความปราศจากเชื้อทั้ง 2 วิธีนี้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมือนกัน จำนวน 2 ชนิด คือ Fluid Thioglycollate Medium (FTM) และ Tryptic Soy Broth (TSB) (รูปที่ 1) โดย FTM จะบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส สำหรับ TSB จะบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส และ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 14 วัน โดยสังเกตความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 2)

ตาราง แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่ใช้ในการตรวจหาความปราศจากเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	อุณหภูมิ °C	เชื้อที่ตรวจหา
Fluid Thioglycollate Medium (FTM)	30-35	แบคทีเรีย
Tryptic Soy Broth (TSB)	30-35	แบคทีเรีย
	20-25	รา



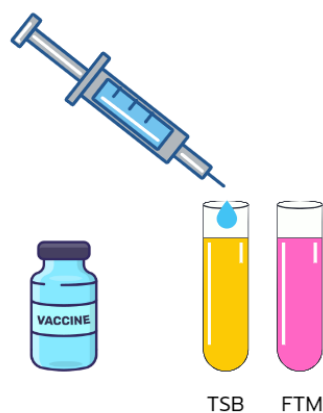
รูปที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (A) และ FTM (B)



รูปที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ (A)
อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ (B)

1. วิธี direct inoculation

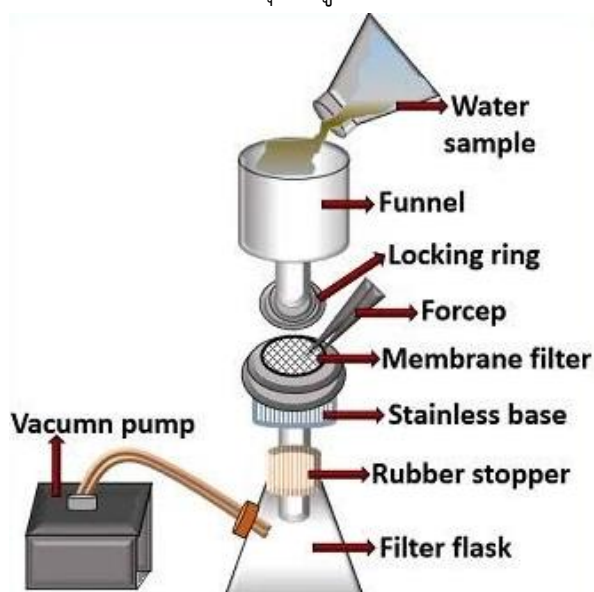
เป็นการนำตัวอย่างใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง แล้วบ่มที่อุณหภูมิและเวลาตามกำหนด



รูปที่ 3 วิธี direct inoculation

2. วิธี membrane filtration

เป็นการนำตัวอย่างมากรองด้วยแผ่นเยื่อกรองที่มีขนาดรูเท่ากับหรือน้อยกว่า 0.45 ไมครอน จากนั้นนำแผ่นเยื่อกรองมาเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มที่อุณหภูมิและเวลาตามกำหนด



รูปที่ 4 วิธี membrane filtration

ที่มา : <https://biologyreader.com/membrane-filtration-method.html#MembraneFilter>

การแปลผล : การตรวจหาความปราศจากเชื้อเป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ โดยตรวจหาการปนเปื้อน จุลินทรีย์ว่าพบหรือไม่พบ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เพียงจำนวนเล็กน้อย เมื่อบ่มในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและแบ่งตัวเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า คืออาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสภาพจากของเหลวใสเป็นของเหลวขุ่น ส่วนในกรณีที่ผลิตภัณฑ์นั้นไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 2)

เอกสารอ้างอิง

- มะลิ วิโรจน์แสงทอง. 2565. การทดสอบความปราศจากเชื้อ (Sterility Test). บทความวิชาการเพื่อการศึกษา ต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์. [Online]. Available: https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=1279
- Bureau of Drug and Narcotic. 2011. Sterility Test. *Thai Pharmacopeia*. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. pp 615-621.
- Supriya, N. 2024. Membrane Filtration Method. [Online]. Available: <https://biologyreader.com/membrane-filtration-method.html#MembraneFilter>. Accessed February 12, 2024.
- World Organisation for Animal Health. 2023. Chapter 1.1.9. Tests for sterility and freedom from Contamination of Biological materials interested for veterinary use. Manual of Diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. [Online]. Available: www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/. Accessed January 9, 2024.

