

ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของเซลล์ BHK-21 C₁₃ 146 S ไวรัส และ 146 S แอนติเจน ไวรัส ในการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

อารีย์ เกตุสุวรรณวงศ์¹ อมรัตน์ สวัสดิ์สิงห์¹

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการรวบรวมข้อมูลการผลิตแอนติเจนไวรัส วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี ที่หน่วยผลิตไวรัสโครงการ 2 ฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ผลิตขึ้นระหว่างปี 2566-2567 จำนวน 66 ชุด ใช้วิธีการทางสถิติ หาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของเซลล์ BHK-21 C₁₃ กับปริมาณ 146 S ไวรัส และ ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส รวมถึงนำข้อมูลมาวิเคราะห์แนวโน้ม (Trend Analysis) ประเมินความสม่ำเสมอ (consistency) ในกระบวนการผลิต โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบและปรับปรุงการผลิตให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น เป็นไปตามข้อกำหนดของคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)

ผลการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) พบว่ามีค่าความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน การเจริญเติบโตของเซลล์ กับปริมาณ 146 S ไวรัส และ การเจริญเติบโตของเซลล์ กับปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส มีค่าเท่ากับ +0.10 และ +0.12 ตามลำดับ ส่วนปริมาณ 146 S ไวรัสกับปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัสมีค่าเท่ากับ +0.60

ผลการนำข้อมูลมาวิเคราะห์แนวโน้ม ในกระบวนการผลิต พบว่าการเจริญเติบโตของของเซลล์, ปริมาณ 146 S ไวรัส, ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัสที่ผลิตได้ มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ยอมรับขั้นต่ำ (lower control limit, LCL) และไม่เกินเกณฑ์ยอมรับขั้นสูง (upper control limit, UCL) รวมทั้งผ่านเกณฑ์ยอมรับขั้นต่ำของผลิตภัณฑ์ (lower specification limit, LSL) แสดงให้เห็นถึงความสม่ำเสมอในขั้นตอนการผลิตแอนติเจนไวรัส วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่ากระบวนการผลิตแอนติเจนไวรัส วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรีมีความสม่ำเสมอ ส่วนค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ ที่คำนวณได้จากทั้งสามตัวแปร ยังไม่มีความสัมพันธ์ในระดับที่จะนำไปคาดการณ์ ด้านปริมาณ แอนติเจนไวรัส ในการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยได้

คำสำคัญ การเจริญเติบโตของเซลล์ ปริมาณ 146 S ไวรัส ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส

¹ สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

The Correlation of Cell Growth Rate, 146 S Raw Virus and 146 S Antigen Virus in FMD Vaccine Production

Aree katsuwonwong¹ Amornrat sawatsing¹

Abstract

This study compiled production data of type A Lopburi foot-and-mouth disease (FMD) virus antigens generated by the Virus Production Unit 2 of the FMD Vaccine Production Division during fiscal years 2023–2024, covering a total of 66 production batches. Statistical and trend analyses were performed to evaluate the relationships between BHK-21 C₁₃ cell growth, the quantity of 146S virus particles, and the quantity of 146S viral antigens according to food and drug administration.

The calculated correlation coefficients indicated weak positive relationships between cell growth and the amount of 146S virus (0.10), and between cell growth and the amount of 146S viral antigen (0.12). A moderate positive correlation (0.60) was observed between the amount of 146S virus and the amount of 146S viral antigen.

Trend analysis of the production process revealed that cell growth, 146S virus yields, and 146S viral antigen yields were consistently above the lower control limit (LCL) but below the upper control limit (UCL), and also exceeded the lower specification limit (LSL) for product acceptance. These findings demonstrate consistent performance in the production process of type A Lopburi FMD virus antigens.

In conclusion, the production process for type A Lopburi FMD virus antigens shows reliable consistency. However, the correlation coefficients among the three variables remain insufficient to accurately predict viral antigen yields for vaccine production purposes.

Key words: cell growth rate, 146 S raw virus, 146 S antigen virus

¹ Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakhonratchasima 30130

บทนำ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องการกำหนดรายละเอียดเกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบัน และแก้ไขเพิ่มเติมหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนโบราณตามกฎหมายว่าด้วยยา พ.ศ. 2559 หมวดที่ 1 การบริหารคุณภาพข้อ 8 การทบทวนคุณภาพผลิตภัณฑ์ กำหนดว่าสถานที่ผลิตยา ต้องมีการทบทวนคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยา (Annual Product Review) โดยให้ทำเป็นระยะอย่างสม่ำเสมอหรือหมุนเวียนกันทำ วัตถุประสงค์ในการทบทวนจะต้องครอบคลุมเรื่องความสม่ำเสมอของกระบวนการผลิตและการควบคุมความเหมาะสมของข้อกำหนดที่ใช้ในปัจจุบัน สำหรับวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป เพื่อพิจารณาแนวโน้มและเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์และกระบวนการให้ดีขึ้นการทบทวนเหล่านี้ต้องทำเป็นลายลักษณ์อักษรเป็นประจำทุกปีข้อมูลที่รวบรวมในแต่ละรายการควรจัดทำให้อยู่ในรูปแบบที่แสดงผลชัดเจนสะดวกในการพิจารณา เช่นอยู่ในรูปแบบตาราง กราฟ ที่สามารถวิเคราะห์แนวโน้มของผลในอนาคตได้ (Trend Analysis) ซึ่งการวิเคราะห์แนวโน้มเป็นการทบทวนคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยา (Annual Product Review) และทำให้ผู้ผลิตทราบถึงความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิตและนำข้อมูลมาตรวจสอบปรับปรุงการผลิตให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2559)

โรคปากและเท้าเปื่อยหรือโรค FMD หรือโรคกีบเป็นโรคหนึ่ง ที่สร้างปัญหาให้เกษตรกรไทยมาช้านานมีรายงานการระบาด ทั่วโลกทั้งหมด 7 ไทยป์ คือ O, A, C, Asia 1, SAT1, SAT2 และ SAT3 พบในประเทศไทย 3 ไทยป์คือ O, A, Asia 1 (วีไล, 2549) ซึ่งมีรายงานการเกิดโรคทุกปีโดยเฉพาะโค กระบือ และสุกร มีผลกระทบต่อกิจกรรมการผลิตสัตว์ของไทยเป็นอย่างมากทั้งความเสียหายด้านการผลิตและการจำหน่ายรวมถึงเป็นข้อกีดกันทางการค้าทำให้เกษตรกรไทยสูญเสียรายได้และโอกาสทางการค้าการควบคุมป้องกันโรคทำได้โดย การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา การเสริมสร้างภูมิคุ้มกันโรคโดยการฉีดวัคซีน การควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์และซากสัตว์ป่วย การทำลายสัตว์ป่วย ดำเนินการโดยหน่วยงานภายใต้กรมปศุสัตว์

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (สทช.) มีพันธกิจหลักในการผลิตชีวภัณฑ์สัตว์และสารทดสอบโรค สำหรับจำหน่ายเพื่อควบคุมป้องกันโรคระบาดสัตว์ตามนโยบายของกรมปศุสัตว์รวมทั้งการวิจัยและพัฒนาวัคซีนให้ได้ตรงความต้องการของเกษตรกร (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2566) และเป็นหน่วยงานรับผิดชอบในการผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย ในประเทศไทย ดำเนินการผลิตโดยได้รับการถ่ายทอดความรู้จากบริษัท โรห์น เมอริเออร์ ประเทศฝรั่งเศส เมื่อปี 2532 เริ่มจากการเตรียมน้ำยาเคมีและซีรัม (Rhone Merieux, 1986a) เพาะเลี้ยงเซลล์แบบ suspension cell culture (Rhone Merieux, 1986b) ในถังเพาะเซลล์และเพิ่มปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเซลล์ (Rhone Merieux, 1986c) ทำการตกตะกอนและทำการขจัดกากเซลล์ออกโดยเครื่อง continuous centrifuge นำน้ำไวรัสเข้าสู่กระบวนการทำเข้มข้นด้วยเครื่อง cross flow ทำบริสุทธิ์และทำเข้มข้นด้วยสารเคมี polyethylene oxide polymer หลังจากนั้นทำให้เชื้อไวรัสหมดความรุนแรง (inactivated virus) โดยใช้สารเคมี ไบนารีเอทิลีนเอมีน (BEI) (พยนต์, 2547 ; Bahnemann, 1990 ; Rhone Merieux, 1986d) ซึ่งหลังจากผ่านขั้นตอนทั้งหมดจะทำให้ได้แอนติเจนไวรัสเข้มข้น 100 เท่า จาก 146 S ไวรัสตั้งต้น ไวรัสที่ทำให้หมดฤทธิ์แล้วจะถูกนำไปตรวจสอบคุณภาพ (Rhone Merieux, 1986f) และผสมเป็นวัคซีน (Rhone Merieux, 1986e) ทำการทดสอบ Potency, Safety และ Sterility ตามข้อกำหนดของ World Organization of Animal Health (OIE, 2009) และนำไปใช้ควบคุมโรคในประเทศต่อไป

การศึกษาในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (Cell growth rate) BHK-21 C13 กับปริมาณ 146 S ไวรัสและ ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส รวมถึงนำข้อมูลมาวิเคราะห์แนวโน้ม (Trend Analysis) ในกระบวนการผลิต วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย โดยรวบรวมข้อมูลการผลิตแอนติเจนไวรัส วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทยป์ เอ ลพบุรี ที่หน่วยผลิตไวรัสโครงการ 2 ฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ผลิตขึ้นระหว่างปี 2566-2567 จำนวน 66 ชุดมาหาความสัมพันธ์ วิเคราะห์แนวโน้ม (Trend Analysis) และประเมินความสม่ำเสมอ (consistency) ซึ่งในขั้นตอนการผลิต ประกอบด้วยการเพาะเซลล์ การเพาะไวรัส การทำแอนติเจนไวรัส โดยขั้นตอนการทำแอนติเจนไวรัสประกอบด้วย การสัลดกากเซลล์ การทำเข้มข้น การทำเข้มข้นและทำบริสุทธิ์ด้วยสารเคมี การทำไวรัสให้หมดฤทธิ์ เพื่อเป็นข้อมูลที่จะทำให้สามารถคาดการณ์ถึงแนวโน้มทิศทางของปริมาณการผลิต ตรวจสอบและปรับปรุงการผลิตให้มีความคงตัวและมีประสิทธิภาพ ตามข้อกำหนดของ อย.

วิธีการวิจัย

1. รวบรวมข้อมูลการผลิตแอนติเจนไวรัส โรคปากและเท้าเปื่อย ไทยป์ เอ ลพบุรี ในปีงบประมาณ 2566-2567 จำนวน 66 ชุด โดย ทำการบันทึกค่า จำนวนเซลล์เมื่อเริ่มการเพาะเลี้ยง และจำนวนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง หลังการเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนเซลล์/มล. ปริมาณ 146 S ไวรัสเป็นไมโครกรัม/มล. ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัสเป็นไมโครกรัม/มล.

2. คำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ของ Cell growth rate, ปริมาณ 146S ไวรัส และปริมาณ 146S แอนติเจนไวรัส ค่า Cell growth rate คำนวณได้จาก จำนวนเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ลบด้วยจำนวนเซลล์เริ่มต้น นำผลที่ได้หารด้วยจำนวนเซลล์เริ่มต้น (อารีย์และวรัญญู, 2546)

3. คำนวณหาค่า Mean $\pm 2SD$ และ Mean $\pm 3SD$ เพื่อหาช่วงเกณฑ์ขีดจำกัดเตือน (Alert limit) และขีดจำกัดปฏิบัติการ (Action limit) ตามลำดับและกำหนดให้ค่า Mean +3SD เป็น upper control limit (UCL) และค่า Mean -3SD เป็น Lower control limit (LCL) (เพียรกิจ, 2559)

4. คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient) หาความสัมพันธ์ระหว่าง Cell growth rate, ปริมาณ 146 S ไวรัส และปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส สำหรับวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทยป์ เอ ลพบุรี

Correlation coefficient หาค่าได้จากสูตรการคำนวณ

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n \sum x^2 - (\sum x)^2][n \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

r คือ Correlation coefficient ซึ่งมีค่าระหว่าง -1 ถึง +1.

n คือ จำนวนข้อมูลคู่ (x, y) ที่ใช้ในการคำนวณ

Σ (Sigma) หมายถึงผลรวมของค่าทั้งหมด

Correlation coefficient มีค่าได้ตั้งแต่ -1 ถึง 1 ($-1 \leq r \leq 1$) ถ้า Correlation coefficient มีค่าเป็นบวกแสดงว่าเมื่อตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย แต่ถ้า Correlation coefficient มีค่าเป็นลบแสดงว่าเมื่อตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าลดลง คือเป็นไปในทิศทางตรงกันข้าม ขนาดหรือระดับของความสัมพันธ์พิจารณาจากค่าของ Correlation coefficient ถ้าค่า Correlation coefficient มีค่าเข้าใกล้ +1 หรือ -1 แสดงว่าตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันมาก แต่ถ้าค่า Correlation coefficient มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันระดับต่ำหรือไม่มีความสัมพันธ์กันเลย (กรมวิชาการเกษตร, 2563) เครื่องหมาย + หรือ - หน้าตัวเลขแสดงถึงทิศทางของความสัมพันธ์ หาก r มีเครื่องหมาย + หมายถึง มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และหาก r มีเครื่องหมาย - หมายถึง มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้าม (Moore *et al.*, 2009)

5. นำข้อมูลที่ได้มาจัดทำในรูปแบบของแผนภูมิดังนี้

- 5.1 จัดทำแผนภูมิ cell growth rate
- 5.2 จัดทำแผนภูมิ ปริมาณ 146 S ไวรัส
- 5.3 จัดทำแผนภูมิ ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส
- 5.4 แผนภูมิความสัมพันธ์ระหว่าง cell growth rate, ปริมาณ 146 S ไวรัสและปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส

ผล

ผลการรวบรวมข้อมูลการผลิตแอนติเจน ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี ที่หน่วยผลิตไวรัส โครงการ 2 ฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ได้ผลิตขึ้นระหว่างปี 2566-2567 จำนวน 66 ชุดพบว่า Cell growth rate มีค่า Mean $\pm$ SD เท่ากับ 4.29 ± 1.11 เท่า มีค่า Mean $\pm 2SD$ อยู่ในช่วง 2.07-6.51 เท่า และมีค่า Mean $\pm 3SD$ อยู่ในช่วง 0.96-7.62 เท่า (ตารางที่ 1, รูปที่ 1)

ค่าปริมาณ 146 S ไวรัส มีค่า Mean $\pm$ SD เท่ากับ 2.60 ± 0.88 ไมโครกรัม/มล. มีค่า Mean $\pm 2SD$ อยู่ในช่วง 0.84-4.36 ไมโครกรัม/มล. และมีค่า Mean $\pm 3SD$ อยู่ในช่วง - 0.04-5.24 ไมโครกรัม/มล. (ตารางที่ 1, รูปที่ 2)

ค่าปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัสมีค่า Mean $\pm$ SD เท่ากับ 241.65 ± 77.95 ไมโครกรัม/มล. มีค่า Mean $\pm 2SD$ อยู่ในช่วง 85.75-397.55 ไมโครกรัม/มล. และมีค่า Mean $\pm 3SD$ อยู่ในช่วง 7.80-475.50 ไมโครกรัม/มล. (ตารางที่ 1, รูปที่ 3)

การหาความสัมพันธ์ระหว่าง cell growth rate กับค่าปริมาณ 146 S ไวรัส ได้ค่า Correlation Coefficient เท่ากับ +0.10 (ตารางที่ 2, รูปที่ 4)

การหาความสัมพันธ์ระหว่าง cell growth rate กับค่าปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส ได้ค่า Correlation Coefficient เท่ากับ +0.11 (ตารางที่ 2, รูปที่ 4)

การหาความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าปริมาณ 146 S ในไวรัสกับค่าปริมาณ 146 S ในแอนติเจนไวรัส ได้ค่า Correlation Coefficient เท่ากับ +0.60 (ตารางที่ 2, กราฟที่ 4)

วิจารณ์

ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า cell growth rate กับค่าปริมาณ 146 S ไวรัส ได้ค่า Correlation Coefficient เท่ากับ +0.10 แสดงให้เห็นถึงการมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ (กรมวิชาการเกษตร, 2563) ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า cell growth rate กับค่าปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส ได้ค่า Correlation Coefficient เท่ากับ +0.12 แสดงให้เห็นถึงการมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำเช่นเดียวกัน จึงควรทำการ ศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมในส่วนนี้ ว่าเหตุใดเมื่อเซลล์เจริญเติบโตดี ซึ่งส่งผลโดยตรงให้จำนวนเซลล์ที่ใช้เพาะไวรัส (cell density) มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ค่าไวรัสที่ได้จึงไม่เพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่ควรเป็น ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Mousavi-Nasab et.al, (2023) ที่ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่จะทำให้การผลิตวัคซีนพิษสุนัขบ้ามีปริมาณไวรัสสูงสุดโดยใช้เซลล์ BHK-21 C13 พบว่าจำนวนเซลล์ (cell density) เป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะไวรัสให้ปริมาณไวรัสพิษสุนัขบ้าสูงสุด รวมถึงไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Wu et. al, (2021) ที่ได้ทำการการศึกษการเพาะเลี้ยง influenza A virus ในเซลล์ MDCK suspension cell พบว่าจำนวนเซลล์ (cell density) ที่สูงจะให้ค่า influenza A virus สูงตามไปด้วย

ส่วนการหาความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า 146 S ไวรัสกับค่า 146 S แอนติเจนไวรัส มีค่า Correlation Coefficient เท่ากับ +0.60 หมายถึงการมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และมีความสัมพันธ์ ในระดับปานกลาง แสดงให้เห็นว่าขั้นตอนในการ สกัดกากเซลล์ ทำเข้มข้น ทำบริสุทธิ์ และ inactivated ซึ่งต้องอาศัยการปั่นเหวี่ยงแยกกากเซลล์ การกรองผ่านเมมเบรนแรงดันสูง, การทำบริสุทธิ์ด้วยสารเคมี poly-ethylene oxide polymer และการ inactivated ด้วยสาร Binary ethyleneimine (BEI) ซึ่งขั้นตอนนี้จะทำให้เกิดการสูญเสีย ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส ไปส่วนหนึ่ง มีอัตราที่สัมพันธ์กับ 146 S ไวรัสที่เพาะได้ ซึ่งขั้นตอนนี้ควร มีการทำ วิเคราะห์ แนวโน้มโดยสม่ำเสมอ เพื่อจัดทำแผนแก้ไขและป้องกัน (Corrective Action Preventive Action, CAPA) เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ละเอียด ซับซ้อน ถือเป็นจุดวิกฤต (Critical Control Point, CCP) ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณ การผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

จากผลการรวบรวมข้อมูลการผลิตแอนติเจน ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรีจำนวน 66 ชุด เพื่อทบทวนคุณภาพของผลิตภัณฑ์ (Annual Product Review) ขั้นตอนการผลิตแอนติเจน วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี มีค่า อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ cell growth rate, ค่าปริมาณ 146S ไวรัสและค่า ปริมาณ 146S แอนติเจนไวรัส อยู่ในช่วง Mean $\pm$ 3SD โดยมีเพียง 1 ชุด ของค่าปริมาณ 146 S ไวรัส ไทป์ เอ ลพบุรี ที่มีค่าสูงกว่า Mean $\pm$ 3SD ซึ่งจะได้ตรวจสอบข้อมูลและดำเนินการแก้ไขตามระบบคุณภาพต่อไป โดย ภาพรวม แสดงให้เห็นว่าการผลิตแอนติเจน ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรีของฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปาก และเท้าเปื่อยมีความสม่ำเสมอในการผลิต

สรุป

จากผลการศึกษา ขั้นตอนการผลิต แอนติเจนไวรัส ไทป์ เอ ลพบุรีในครั้งนี้ สรุปผลได้ดังนี้ จากค่า Correlation Coefficient ที่คำนวณได้จากทั้ง 3 ตัวแปรที่ศึกษาในครั้งนี้ยังไม่สามารถนำไป คาดการณ์ล่วงหน้าในด้านปริมาณการผลิต เนื่องจากมีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำและปานกลาง และจากผลการวิเคราะห์แนวโน้ม ในขั้นตอนการผลิต สำหรับวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี สรุปได้ว่าขั้นตอนในการผลิตแอนติเจนไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี มีความสม่ำเสมอ ช่วงค่า Mean $\pm 2SD$ และช่วงค่า Mean $\pm 3SD$ ที่คำนวณได้ สามารถใช้กำหนดเป็น Alert limit และ Action limit เพื่อจัดทำแผนแก้ไขและป้องกัน ได้ตามหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะกรรมการพัฒนาวิชาการ น.สพ. ฤทธิ์ลือชัย ปุ่สูงเนิน ผู้เชี่ยวชาญด้านพัฒนาไวรัสวัคซีน (ที่ปรึกษา) เจ้าหน้าที่และผู้ร่วมงานหน่วยผลิตไวรัสโครงการ 2 ฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย เจ้าหน้าที่ฝ่ายทดสอบคุณภาพวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย เจ้าหน้าที่งานสารสนเทศ เจ้าหน้าที่กลุ่มบริการวิชาการและการตลาด และผู้ให้ความอนุเคราะห์ในหลายๆด้านทุกท่านสำหรับการจัดทำผลงานในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร 2563 การวิเคราะห์ความถดถอยและสหสัมพันธ์ การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ คลังเอกสารความรู้กรมวิชาการเกษตร หน้า 55-97 แหล่งที่มา <https://www.doa.go.th/share/showthread.php?tid=2410> 5 มกราคม 2568
- พยนต์ สินสูงศรีวัฒน์ 2547 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 14(1) : 1-64
- เพียรกิจ แดงประเสริฐ 2559 ความสามารถของกระบวนการ (Process capability) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต กรุงเทพฯ หน้า 1-7
- วิไล ลิ้นจงสุข 2549 เชื้อไวรัสที่ระบาดในพื้นที่ที่มีความสำคัญต่อการผลิตวัคซีนอย่างไร ประมวลเรื่องการประชุมสัมมนาวิชาการสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ : หน้า 21-37
- สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2565 เรื่องระบบการแก้ไขและการป้องกัน (Corrective Action and Preventive Action: CAPA) (QP-QA-005)
- สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2566 แผนยุทธศาสตร์เงินทุนหมุนเวียนเพื่อผลิตวัคซีนจำนายระยะยาว (พ.ศ.2566-พ.ศ.2570) หน้า 37-47
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา 2559 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องการกำหนดรายละเอียดเกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบันและแก้ไขเพิ่มเติมหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนโบราณตามกฎหมายว่าด้วยยา พ.ศ.2559 กระทรวงสาธารณสุข หน้า 4-5

อารีย์ เกตุสุวรรณวงศ์และวรัญญู ชมเฟื่องแก้ว 2546 ผลของสารต้านจุลชีพ Marbofloxacin ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ IFFA-3 วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 13 (1) : 29-36

Bahnemann, H.G.1990. Inactivation of viral antigen for vaccine production with particular reference to the application for binary ethyleneimine. Vaccine. 8: 299-303

Rhone Merieux. 1986a. section 1: culture media *-in*-FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986. Department of livestock development, Ministry of agriculture and cooperatives, KINGDOM OF THAILAND. pp 1-178

Rhone Merieux. 1986b. section 2: cell production unit *-in*-FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986. Department of livestock development, Ministry of agriculture and cooperatives, KINGDOM OF THAILAND. pp 1-70

Rhone Merieux. 1986c. section 3: Initial virus strain, seed batch, industrial cultures *-in*-FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986. Department of livestock development, Ministry of agriculture and cooperatives, KINGDOM OF THAILAND. pp 1-44

Rhone Merieux. 1986d. section 4: virus treatment *-in*-FMD VACCINE PRODUCTION CENTER Contract n.27/1986. Department of livestock development, Ministry of agriculture and cooperatives, KINGDOM OF THAILAND. pp 1-51

Rhone Merieux. 1986e. section 5: Vaccine preparation *-in*-FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986. Department of livestock development, Ministry of agriculture and cooperatives, KINGDOM OF THAILAND. pp 1-69

Rhone Merieux. 1986f. section 6: Laboratory tests. *-in*- FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986. Department of livestock development, Ministry of agriculture and cooperatives, KINGDOM OF THAILAND. pp 1-114

Mousavi-Nasab, S.D., Gholami, A , Ahmadi, N.A., Mardani, R., Doroud, D., Naseri, N., Zali F., Javdani, G. and Shahali, M. 2023. Optimization of Virus Yield as a Strategy to Increase the Efficiency of Rabies Vaccine by BHK-21 Cells in a Bioreactor pp 1-11

Available from : <https://doi.org/10.5812/archcid-135951> [Accessed 20 February 2025]

World Organization for Animal Health (WOAH): OIE Terrestrial Manual 2009 Foot and Mouth disease Chapter 2.1.5 pp 1-29

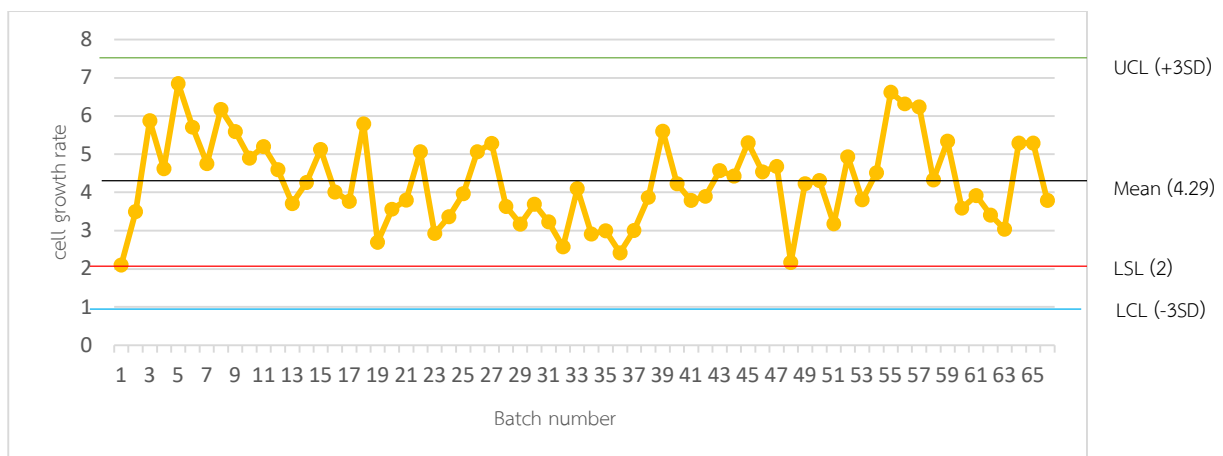
Available from : http://www.woah.org>pdf>2.01.05_FMD.pdf [Accessed 18 February 2025]

Wu, Y., Bissinger, T., Genzel, Y., Liu, X., Reichl, U., Tan, W.S. 2021. High cell density perfusion process for high yield of influenza A virus production using MDCK suspension cells pp 1-5 Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7847233/>

[Accessed 18 February 2025]

ตารางที่ 1 แสดงค่า BHK-21 C13 cell growth rate, ปริมาณ 146S ไวรัส และค่าปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส
การผลิตแอนติเจน ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี (n= 66)

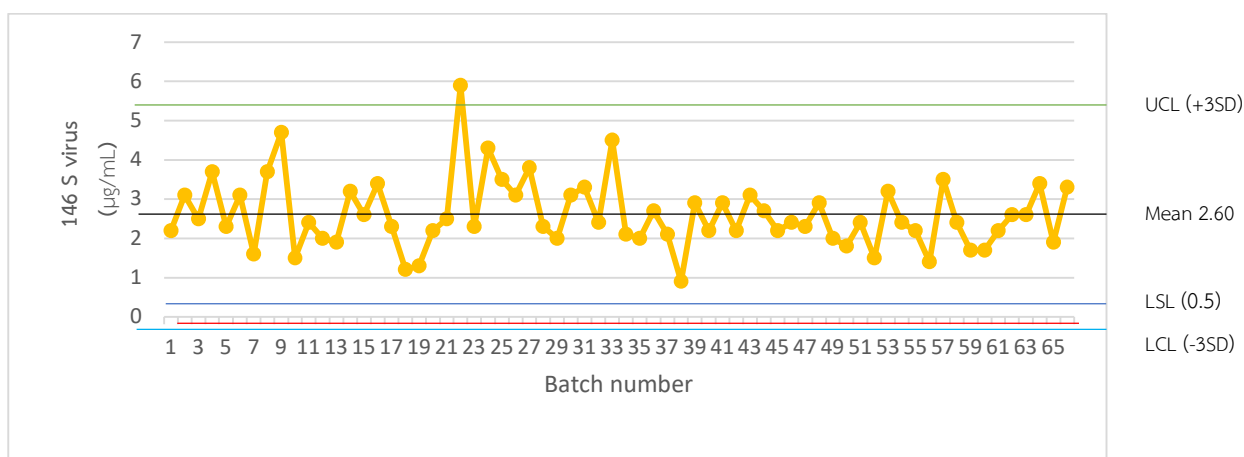
ค่า	BHK-21 C13 cell growth rate (times)	ปริมาณ 146S ไวรัส (ไมโครกรัม/มล.)	ปริมาณ 146S แอนติเจน ไวรัส (ไมโครกรัม/มล.)
Mean	4.29	2.60	241.65
SD	1.11	0.88	77.95
Mean $\pm$ 2SD range	0.07 - 6.25	0.84 - 4.36	85.75 - 397.55
Mean $\pm$ 3SD range	0.96 - 7.62	-0.04 - 5.24	7.80 - 475.50



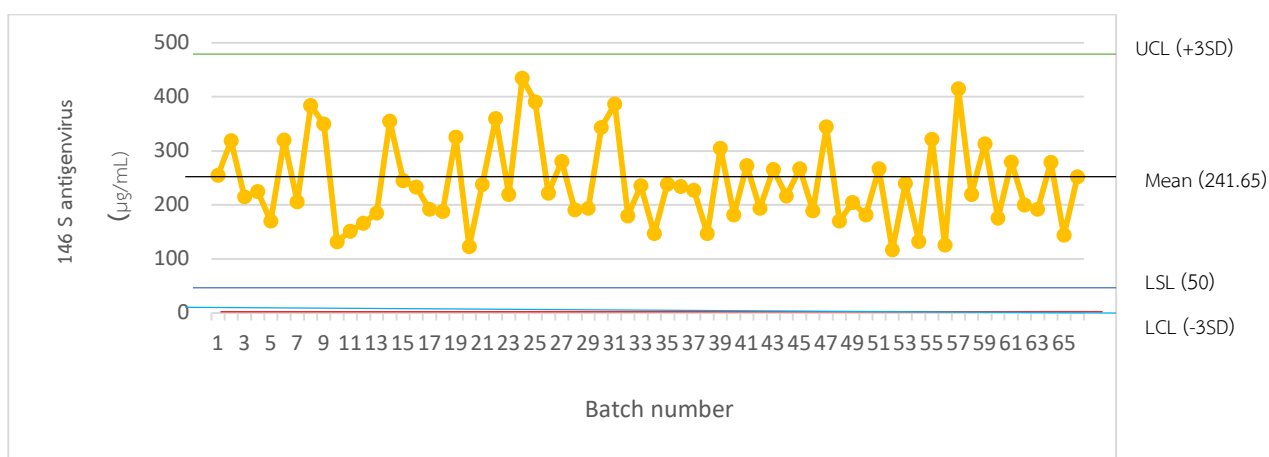
รูปที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ BHK-21 C₁₃ จำนวน 66 ชุดการผลิต

ตารางที่ 2 แสดงค่า Correlation Coefficient ระหว่าง การเจริญเติบโตของเซลล์ BHK-21 C13, ปริมาณ 146 S ไวรัส และปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส โรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์ เอ ลพบุรี (n= 66)

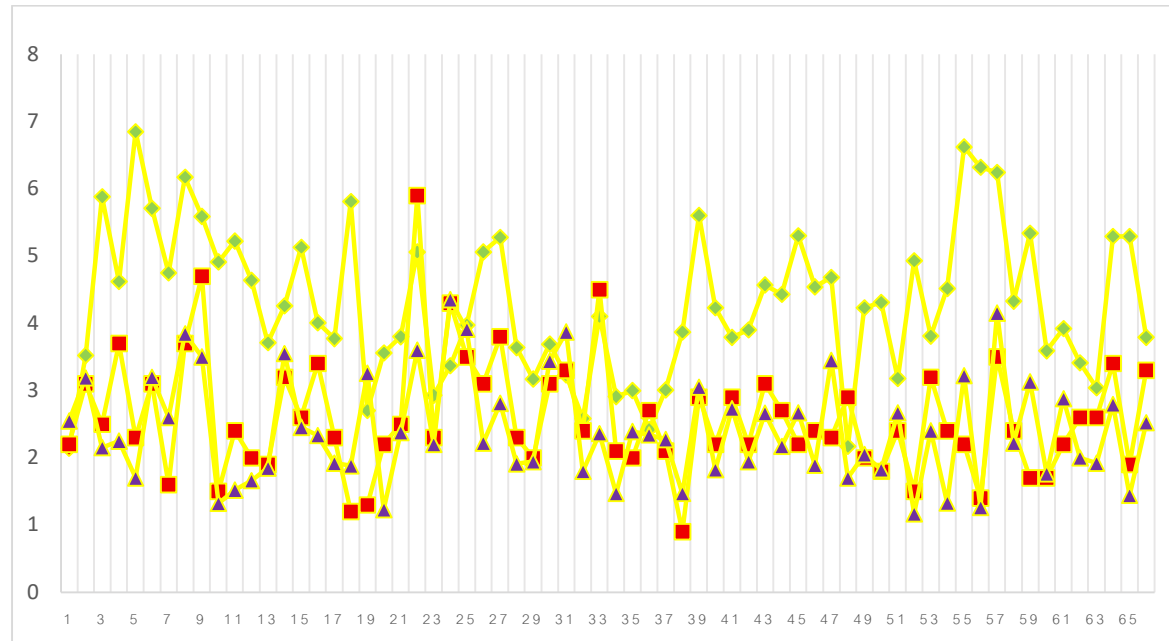
ค่า	Cell growth rate และ ปริมาณ 146 S ไวรัส	Cell growth rate และ ปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส	ปริมาณ 146S ไวรัส และปริมาณ 146S แอนติเจนไวรัส
Correlation Coefficient (r)	+ 0.10	+ 0.12	+ 0.60



รูปที่ 2 แสดงปริมาณ 146 S ไวรัส ไทป์ เอ ลพบุรี จำนวน 66 ชุดการผลิต



รูปที่ 3 แสดงปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส ไทป์ เอ ลพบุรี จำนวน 66 ชุดการผลิต



 cell growth rate
  146 S virus (ug/ml)
  146 S antigen virus (x 100 ug/ml)

รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์, ปริมาณ 146 S ไวรัส
 และปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส ไทป์ เอ ลพบุรี จำนวน 66 ชุดการผลิต

ภาคผนวก

ตารางแสดง ข้อมูล Cell growth rate ปริมาณ 146 S ไวรัส และปริมาณ 146 S แอนติเจนไวรัส ไทป์ เอ ลพบุรี

ชุดการ ผลิต	เซลล์เริ่ม เพาะเลี้ยง $\times 10^6$ เซลล์/มล.	เซลล์หยุด เพาะเลี้ยง $\times 10^6$ เซลล์/มล.	เซลล์สำหรับ เพาะเลี้ยงไวรัส $\times 10^6$ เซลล์/มล.	Cell growth rate	146 S ไวรัส ไมโครกรัม/ มล.	146 S แอนติเจนไวรัส ไมโครกรัม/มล.
1	0.70	2.20	2.15	2.14	2.20	255
2	0.60	2.71	2.80	3.52	3.10	319
3	0.45	3.10	3.10	5.88	2.50	215
4	0.48	2.70	2.57	4.62	3.70	225
5	0.42	3.30	2.57	6.85	2.30	170
6	0.41	2.75	2.43	5.71	3.10	320
7	0.40	2.30	2.50	4.75	1.60	260
8	0.39	2.80	2.70	6.17	3.70	384
9	0.44	2.90	2.90	5.59	4.70	350
10	0.45	2.66	2.58	4.91	1.50	132
11	0.46	2.86	2.75	5.22	2.40	152
12	0.45	2.54	2.75	4.64	2.00	166
13	0.55	2.59	2.80	3.71	1.90	185
14	0.49	2.58	2.81	4.26	3.20	355
15	0.46	2.82	2.80	5.13	2.60	245
16	0.52	2.61	2.52	4.01	3.40	233
17	0.54	2.58	2.65	3.77	2.30	192
18	0.43	2.93	2.88	5.81	1.20	188
19	0.81	3.00	2.70	2.70	1.30	326
20	0.73	3.33	2.64	3.56	2.20	123
21	0.67	3.22	2.64	3.80	2.50	238
22	0.58	3.52	2.74	5.06	5.90	360
23	0.75	2.95	2.73	2.93	2.30	220
24	0.70	3.06	2.89	3.37	4.30	435
25	0.72	3.58	2.95	3.97	3.50	391
26	0.50	3.03	2.57	5.06	3.10	222
27	0.53	3.33	2.71	5.28	3.80	281
28	0.64	2.97	2.52	3.64	2.30	191
29	0.70	2.92	2.65	3.17	2.00	194
30	0.75	3.52	3.60	3.69	3.10	344
31	0.79	3.34	2.78	3.23	3.30	387
32	0.80	2.87	2.56	2.58	2.40	180

ชุดการ ผลิต	เซลล์เริ่ม เพาะเลี้ยง $\times 10^6$ เซลล์/มล.	เซลล์หยุด เพาะเลี้ยง $\times 10^6$ เซลล์/มล.	เซลล์สำหรับ เพาะเลี้ยงไวรัส $\times 10^6$ เซลล์/มล.	Cell growth rate	146 S ไวรัส ไมโครกรัม/ มล.	146 S แอนติเจนไวรัส ไมโครกรัม/มล.
33	0.60	3.06	2.51	4.10	4.50	236
34	0.84	3.29	2.71	2.91	2.10	147
35	0.71	2.84	2.08	3.00	2.00	239
36	0.63	2.16	2.02	2.42	2.70	234
37	0.61	2.45	2.35	3.01	2.10	227
38	0.49	2.39	2.09	3.87	0.90	147
39	0.41	2.71	2.70	5.60	2.90	305
40	0.42	2.2	2.11	4.23	2.20	182
41	0.48	2.30	2.03	3.79	2.90	273
42	0.50	2.45	2.20	3.90	2.20	194
43	0.40	2.23	1.24	4.57	3.10	266
44	0.42	2.28	2.32	4.43	2.70	217
45	0.46	2.90	2.65	5.30	2.20	267
46	0.42	2.33	2.56	4.54	2.40	189
47	0.41	2.33	1.96	4.68	2.30	345
48	0.42	1.33	1.81	2.17	2.90	170
49	0.42	2.20	2.55	4.23	2.00	205
50	0.41	2.18	2.43	4.31	1.80	182
51	0.60	2.51	2.60	3.18	2.40	267
52	0.41	2.43	2.41	4.93	1.50	117
53	0.54	2.60	2.53	3.81	3.20	240
54	0.42	2.32	2.00	4.52	2.40	133
55	0.32	2.44	2.30	6.62	2.20	322
56	0.32	2.34	2.20	6.32	1.40	126
57	0.33	2.39	2.31	6.24	3.50	415
58	0.45	2.40	2.25	4.33	2.40	222
59	0.41	2.60	2.41	5.34	1.70	313
60	0.54	2.48	2.73	3.59	1.70	176
61	0.51	2.51	2.16	3.92	2.20	288
62	0.60	2.65	2.65	3.41	2.60	200
63	0.62	2.51	2.26	3.04	2.60	192
64	0.56	0.56	2.91	5.29	3.40	279
65	0.44	2.77	2.66	5.29	1.90	144
66	0.57	2.73	2.93	3.79	3.30	252