มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
ชุดปีกผีเสื้อใช้ในการแพทย์

1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ครอบคลุมเฉพาะชุดปีกผีเสื้อใช้ในการแพทย์สำหรับการใช้งานเพียงครั้งเดียว

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 ชุดปีกผีเสื้อใช้ในการแพทย์ ซึ่งต่อไปในมาตรฐานนี้จะเรียกว่า "ชุดปีกผีเสื้อ" หมายถึง อุปกรณ์ที่ใช้ร่วมกับอุปกรณ์อื่น เช่น กระบอกฉีดยา ชุดให้สารละลายทางหลอดเลือด ชุดให้เลือด เพื่อนำผลิตภัณฑ์เภสัชหรือส่วนประกอบของเลือดเข้าสู่ร่างกายทางหลอดเลือด หรือนำเลือดเข้าสู่ร่างกายหรือออกจากร่างกาย โดยทั่วไปมีรูปร่างและส่วนประกอบตามรูปที่ 1

2.2 ฝาพลาสติก หมายถึง ส่วนประกอบที่ทำด้วยพลาสติก ใช้ปิดข้อต่อรูปกรวยของชุดปีกผีเสื้อประเภท I และเปิดออกได้เพื่อนำไปต่อกับอุปกรณ์อื่น

2.3 ฝายาง หมายถึง ส่วนประกอบที่ทำด้วยยาง ใช้ปิดข้อต่อรูปกรวยของชุดปีกผีเสื้อประเภท II สำหรับแทงเข็มฉีดยา เพื่อให้ยาทางหลอดเลือด

2.4 ประเภท I หมายถึง ชุดปีกผีเสื้อที่ใช้นำผลิตภัณฑ์เภสัช เลือด หรือส่วนประกอบของเลือดเข้าสู่ร่างกายทางหลอดเลือดอย่างต่อเนื่อง

2.5 ประเภท II หมายถึง ชุดปีกผีเสื้อที่ใช้ให้ยาทางหลอดเลือดเป็นช่วง (intermittent) หรือใช้นำผลิตภัณฑ์เภสัช เลือด หรือส่วนประกอบของเลือดเข้าสู่ร่างกายทางหลอดเลือดอย่างต่อเนื่อง

3. ประเภทและชนิด

3.1 ชุดปีกผีเสื้อแบ่งตามการใช้งานเป็น 2 ประเภท คือ

3.1.1 ประเภท I ใช้ต่อเนื่อง

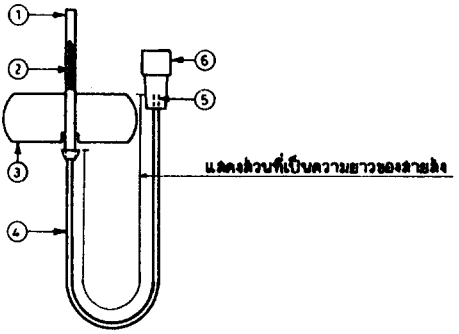
3.1.2 ประเภท II ใช้ต่อเนื่องหรือใช้เป็นช่วง

3.2 ชุดปีกผีเสื้อแบ่งตามความหนาของผนังตัวเข็มเป็น 3 ชนิด คือ

3.2.1 ชนิดธรรมดา

3.2.2 ชนิดบาง

3.2.3 ชนิดบางมาก



① ปลอกหุ้มเข็มแทงเข้าเส้นเลือด
② เข็มแทงเข้าเส้นเลือด
③ ปีก
④ สายส่ง
⑤ ข้อต่อรูปกรวย
⑥ ฝาพลาสติกหรือฝายาง

รูปที่ 1 ตัวอย่างส่วนประกอบโดยทั่วไปของชุดปีกผีเสื้อ

(ข้อ 2.1)

4. ความจุ ขนาดและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน

4.1 ความจุและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน

4.1.1 ประเภท I ให้ความจุเป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก โดยมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน ± 0.1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4.1.2 ประเภท II ให้ความจุไม่เกิน 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และเป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก โดยมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน ± 0.1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 9.1

4.2 ขนาดและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน

4.2.1 เข็มแทงเข้าเส้นเลือด

4.2.1.1 ขนาดระบุ เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก และเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน ให้เป็นไปตามตารางที่ 1 การทดสอบให้วัดด้วยเครื่องวัดละเอียด 0.001 มิลลิเมตร

ตารางที่ 1 ขนาดระบุ เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก และเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของเข็มแทงเข้าเส้นเลือด

(ข้อ 4.2.1.1)

หน่วยเป็นมิลลิเมตร

ขนาดระบุ	เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก		เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน				
			ชนิดธรรมดา		ชนิดบาง		ชนิดบางมาก
mm	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด	สูงสุด	ต่ำสุด
0.4	0.400	0.420	0.184	0.240	0.241	-	-
0.45	0.440	0.470	0.232	0.291	0.292	-	-
0.5	0.500	0.530	0.232	0.291	0.292	-	-
0.55	0.550	0.580	0.280	0.342	0.343	-	-
0.6	0.600	0.650	0.317	0.359	0.360	0.379	0.380
0.7	0.698	0.730	0.390	0.439	0.440	0.459	0.460
0.8	0.800	0.830	0.490	0.529	0.530	0.549	0.550
0.9	0.860	0.920	0.560	0.609	0.610	0.629	0.630
1.1	1.030	1.100	0.648	0.749	0.750	0.849	0.850
1.2	1.200	1.300	0.790	0.909	0.910	1.040	1.041

4.2.1.2 ความยาวของตัวเข็มให้เป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก โดยมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เกณฑ์ความคลาดเคลื่อนของความยาวของตัวเข็ม
(ข้อ 4.2.1.2)

หน่วยเป็นมิลลิเมตร

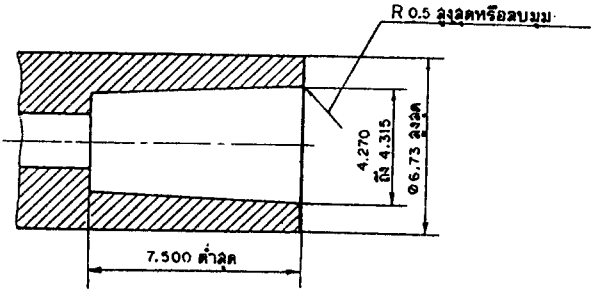
ความยาวของตัวเข็ม	เกณฑ์ความคลาดเคลื่อน
น้อยกว่า 25	+1 -2
25 ถึง 39	+1.5 -2.5
40	0 -4
เกิน 40	+1.5 -2.5

4.2.2 สายส่ง

ความยาวของสายส่ง ให้เป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก โดยมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน $\pm$ 10 มิลลิเมตร
การทดสอบให้วัดด้วยเครื่องวัดละเอียด 1 มิลลิเมตร

4.2.3 ข้อต่อรูปกรวย

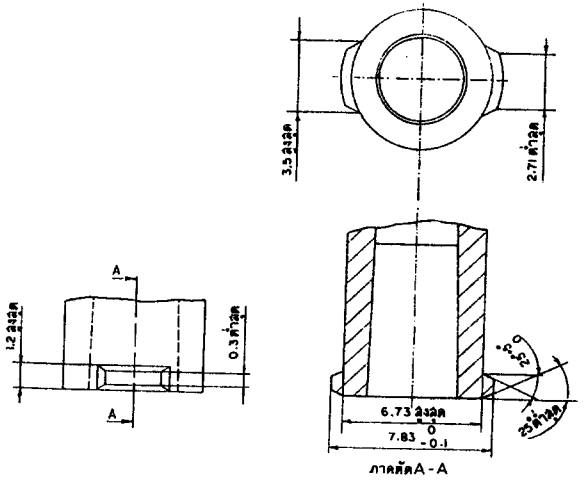
ต้องมีมิติเป็นไปตามรูปที่ 2 หรือรูปที่ 3
การทดสอบให้ปฏิบัติตาม มอก.1387 เล่ม 1 หรือ เล่ม 2



หน่วยเป็นมิลลิเมตร

รูปที่ 2 ข้อต่อรูปกรวยแบบธรรมดา

(ข้อ 4.2.3)



หน่วยเป็นมิลลิเมตร

รูปที่ 3 ข้อต่อรูปกรวยแบบล็อก

(ข้อ 4.2.3)

5. คุณลักษณะที่ต้องการ

5.1 ลักษณะทั่วไป

5.1.1 ต้องสะอาด และไม่มีตำหนิที่อาจเป็นผลเสียต่อการใช้งาน

5.1.2 ข้อต่อรูปกรวยต้องมีฝาปิดได้สนิท ไม่หลุดออกก่อนใช้งาน และต้องเรียบ สวมได้สนิทกับอุปกรณ์อื่นที่ใช้ประกอบเข้าด้วยกัน

5.1.3 สายส่งต้องทำจากวัสดุที่โค้งงอได้ (flexible) โดยไม่เสียรูปเมื่อใช้งาน ผิวต้องเรียบ ไม่มีสี นอกจากสีตามธรรมชาติของวัสดุที่ใช้ทำ และต้องมองเห็นฟองอากาศในของเหลวที่อยู่ภายในได้ชัดเจน

5.1.4 ปีกต้องพับงอได้โดยไม่เสียรูป หรือมีรอยหักหรือแตก

5.1.5 ปลอกหุ้มเข็มแทงเข้าเส้นเลือดต้องหุ้มตลอดความยาวของตัวเข็ม ไม่หลุดออกก่อนใช้งาน และสามารถดึงออกได้ง่าย

การทดสอบให้ตรวจพินิจ

5.2 คุณลักษณะทางฟิสิกส์

5.2.1 รอยต่อเชื่อมภายในชุดปีกผีเสื้อ

เมื่อทดสอบด้วยแรงดึงสถิต 15 นิวตัน เป็นเวลา 15 วินาที แล้ว รอยต่อเชื่อมภายในชุดปีกผีเสื้อทุกตำแหน่งต้องไม่หลุด

5.2.2 เข็มแทงเข้าเส้นเลือด

5.2.2.1 ต้องทำจากเหล็กกล้าไร้สนิมออสเทไนต์ และมีสมบัติดังนี้

(1) ความทนการกัดกร่อน

เมื่อทดสอบตามข้อ 9.2 แล้ว ต้องไม่มีร่องรอยการกัดกร่อน

(2) ความแข็งตึง (stiffness)

เมื่อทดสอบตามข้อ 9.3 แล้ว เข็มแทงเข้าเส้นเลือดต้องมีความแข็งตึงเหมาะสมโดยมีค่าการแอ่นตัวเป็นไปตามตารางที่ 3

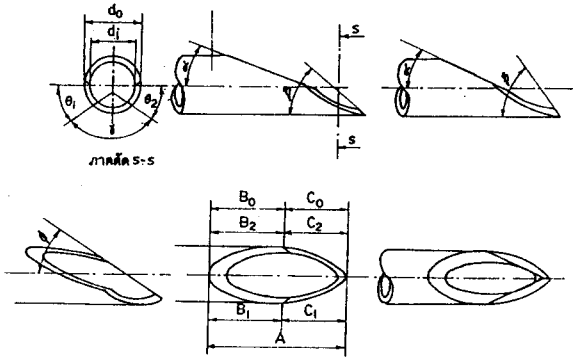
ตารางที่ 3 ความแข็งตึงของเข็มแทงเข้าส้นเฉือด
(ข้อ 5.2.2.1(2) ข้อ 9.3.2.1 และข้อ 9.3.2.2)

ขนาดระบุ	ชนิดธรรมดา			ชนิดบาง			ชนิดบางมาก		
	ระยะห่างของที่รองรับ	แรงกด	การแอ่นตัวสูงสุด	ระยะห่างของที่รองรับ	แรงกด	การแอ่นตัวสูงสุด	ระยะห่างของที่รองรับ	แรงกด	การแอ่นตัวสูงสุด
mm	mm ± 0.1	N ± 0.1	mm	mm ± 0.1	N ± 0.1	mm	mm ± 0.1	N ± 0.1	mm
0.4	9.5	5.5	0.60	7.5	5.5	0.65	-	-	-
0.45	10	6	0.56	10	5.5	0.61	-	-	-
0.5	10	7	0.38	10	7	0.43	-	-	-
0.55	10	10	0.50	10	10	0.55	-	-	-
0.6	12.5	10	0.40	12.5	10	0.45	12.5	10	0.50
0.7	15	10	0.45	15	10	0.50	15	10	0.55
0.8	15	15	0.41	15	15	0.50	-	-	-
0.9	17.5	15	0.48	17.5	15	0.65	-	-	-
1.1	25	10	0.45	25	10	0.55	25	10	0.65
1.2	25	20	0.45	25	20	0.55	-	-	-

5.2.2.2 ปลายเข็มต้องคม ปราศจากเสี้ยน ขอบ หรือตำหนิอื่นใด การทดสอบให้ใช้เครื่องมือที่มีกำลังขยาย 2.5 เท่า

หมายเหตุ 1. โดยปกติปลายเข็มปาดเฉียงเป็นมุม (α) 11 องศา ±2 องศา (ดูรูปที่ 4) แต่อาจปาดเฉียงเพื่อให้หน้าตัดปลายเข็มสั้นลงเป็นมุมอื่นได้ เช่น 17 องศา ±2 องศา

2. การระบุมิติของปลายเข็มให้เป็นไปตามรูปที่ 4 และรูปแสดงโครงแบบ (configuration) ของปลายเข็มเป็นโครงแบบปกติที่มีการทำกันอยู่ แต่อาจเป็นโครงแบบอื่นก็ได้ไม่จำกัด



d_o คือ เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอกของตัวเข็ม

d_i คือ เส้นผ่านศูนย์กลางภายในของตัวเข็ม

A คือ ความยาวปลายเข็ม

B_o คือ ความยาวปลายเฉียงปฐมภูมิ ($B_o = A - C_o$)

B_1 คือ ความยาวปลายเฉียงปฐมภูมิส่วนขวา

B_2 คือ ความยาวปลายเฉียงปฐมภูมิส่วนซ้าย

C_o คือ ความยาวปลายเฉียงทุติยภูมิ

C_1 คือ ความยาวปลายเฉียงทุติยภูมิส่วนขวา

C_2 คือ ความยาวปลายเฉียงทุติยภูมิส่วนซ้าย

α คือ มุมเฉียงปฐมภูมิ

ϕ คือ มุมเฉียงทุติยภูมิ

β คือ มุมปลายแหลม

θ_1 คือ มุมหมุนปลายเฉียงทุติยภูมิส่วนขวา

θ_2 คือ มุมหมุนปลายเฉียงทุติยภูมิส่วนซ้าย

Υ คือ มุมเฉียงทุติยภูมิร่วม

รูปที่ 4 ปลายเข็ม

(ข้อ 5.2.2.2)

5.2.3 การรั่วซึม

เมื่อทดสอบตามข้อ 9.4 แล้ว ต้องไม่ปรากฏฟองอากาศ

5.3 คุณลักษณะทางเคมี

เมื่อทดสอบตามข้อ 9.5 แล้ว สารละลายที่สกัดได้ต้องมีสมบัติดังนี้

5.3.1 ลักษณะทั่วไป

ใส ไม่มีสี

5.3.2 สารรีดิวซ์ (reducing or oxidizable matter)

ปริมาณสารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต 0.002 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ที่ใช้ทำปฏิกิริยาต้องไม่เกิน 2.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5.3.3 ปริมาณโลหะ

ปริมาณแบเรียม โครเมียม ทองแดง ตะกั่ว และตีบุก รวมกัน ต้องไม่เกิน 1 ไมโครกรัมต่อสารละลายที่สกัดได้ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ปริมาณแคดเมียมต้องไม่เกิน 0.1 ไมโครกรัมต่อสารละลายที่สกัดได้ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5.3.4 ความเป็นกรด-ด่าง

ผลต่างระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายที่สกัดได้กับสารละลายแบลงก์ ต้องน้อยกว่า 2

5.3.5 ปริมาณกากที่ไม่ระเหย (non-volatile residue)

ต้องไม่เกิน 5 มิลลิกรัม

5.3.6 การดูดกลืนแสง

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใด ๆ ระหว่าง 250 นาโนเมตร ถึง 320 นาโนเมตร ต้องไม่เกิน 0.1

5.4 คุณลักษณะทางชีวภาพ

5.4.1 ความปราศจากเชื้อ

ต้องไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม USP 26 หัวข้อ Sterility Tests

5.4.2 สารไพโรเจน

ต้องเป็นไปตามข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้

1) ไม่มีสารไพโรเจน หรือ

2) ถือว่าไม่มีสารไพโรเจน เมื่อระดับเอ็นโดท็อกซิน (endotoxin) ไม่เกิน 20.0 หน่วยเอ็นโดท็อกซินต่อชุด

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม USP 26 หัวข้อ Pyrogen Test หรือ Bacterial Endotoxins Test

5.4.3 การทำลายเม็ดเลือด

เมื่อทดสอบตามข้อ 9.6 แล้ว ต้องไม่มีการแตกตัวของเม็ดเลือด

5.4.4 ความเป็นพิษ

ต้องเป็นไปตามข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้

1) ไม่เป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อสัตว์ทดลอง หรือ

2) ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

การทดสอบให้ปฏิบัติตามภาคผนวก ข.

6. การบรรจุ

6.1 ให้บรรจุชุดปีกผีเสื้อแต่ละชุดในภาชนะหุ้มห่อที่ผนึกเรียบร้อย สามารถรักษาสภาพปราศจากเชื้อได้ตลอดระยะเวลาการเก็บ และผลิตภัณฑ์ต้องไม่หักพับ ปลอกหุ้มเข็มแทงเข้าเส้นเลือดต้องไม่หลุด

7. เครื่องหมายและฉลาก

7.1 ที่ภาชนะหุ้มห่อชุดปีกผีเสื้อทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(1) ชื่อผลิตภัณฑ์ตามชื่อมาตรฐานนี้

(2) คำว่า "ปราศจากเชื้อ" และ "ปราศจากสารไพโรเจน" และ "ใช้ได้ครั้งเดียว"

(3) คำว่า "INTERMITTENT" หรือ "INT" เฉพาะประเภท II

(4) ชนิด

(5) ความจุ เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

(6) ขนาดระบุและความยาวของเข็มแทงเข้าเส้นเลือด เป็นมิลลิเมตร

(7) ความยาวของสายส่ง เป็นมิลลิเมตร

(8) วิธีทำให้ปราศจากเชื้อ

(9) เดือน ปีที่ทำ และรหัสรุ่นที่ทำ

(10) เดือน ปีที่หมดอายุ

(11) วิธีใช้

(12) คำเตือนหรือข้อควรระวังในการใช้และการทำลาย เช่น ห้ามใช้เมื่อภาชนะหุ้มห่อชำรุด ควรแยกทำลายแบบขยะติดเชื้อ

(13) ชื่อผู้ทำหรือโรงงานที่ทำ หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

7.2 ที่ภาชนะบรรจุชุดปีกผีเสื้อทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดตามข้อ 7.1(1) ข้อ 7.1(2) ข้อ 7.1(3) ข้อ 7.1(4) ข้อ 7.1(6) ข้อ 7.1(8) ข้อ 7.1(9) ข้อ 7.1(10) ข้อ 7.1(13) จำนวนเป็นชุด และวิธีเก็บรักษาให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

7.3 ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

8. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

8.1 การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสินให้เป็นไปตามภาคผนวก ก.

9. การทดสอบ

9.1 ความจุ

9.1.1 เครื่องมือ

9.1.1.1 เครื่องชั่งละเอียด 0.001 กรัม

9.1.1.2 ภาชนะรองรับที่เหมาะสม

9.1.1.3 กระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

9.1.1.4 เข็มฉีดยาขนาดตามความเหมาะสม

9.1.2 วิธีทดสอบ

9.1.2.1 ชุดปีกผีเสื้อประเภท I

(1) ชั่งชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง และกระบอกฉีดยา บนภาชนะรองรับที่เหมาะสม

(2) ใช้กระบอกฉีดยาดูดน้ำกลั่น แล้วนำมาต่อเข้ากับข้อต่อรูปกรวยของชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง ฉีดน้ำกลั่นจากกระบอกฉีดยาเข้าไปในชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างจนหมด โดยต้องมีน้ำกลั่นบรรจุเต็มชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง เช็ดภายนอกชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างให้แห้ง แล้วนำไปชั่งอีกครั้งบนภาชนะรองรับใบเดิม

(3) คำนวณความจุของชุดปีกผีเสื้อ จากสูตร

$$c = (m_2 - m_1) D$$

เมื่อ c คือ ความจุของชุดปีกผีเสื้อ เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

m_2 คือ ค่าที่ชั่งได้ตามข้อ (2) เป็นกรัม

m_1 คือ ค่าที่ชั่งได้ตามข้อ (1) เป็นกรัม

D คือ ความหนาแน่นของน้ำ เป็นกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

9.1.2.2 ชุดปีกผีเสื้อประเภท II

(1) ชั่งชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง บนภาชนะรองรับที่เหมาะสม

(2) ใช้กระบอกฉีดยาดูดน้ำกลั่น แล้วนำมาต่อเข้ากับเข็มฉีดยา ฉีดน้ำกลั่นจากกระบอกฉีดยาเข้าในชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างทางฝายางจนเต็ม โดยไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ภายในชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง ดึงเข็มฉีดยาออก เช็ดภายนอกชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างให้แห้ง แล้วนำไปชั่งอีกครั้งบนภาชนะรองรับใบเดิม

(3) คำนวณความจุของชุดปีกผีเสื้อ จากสูตร

$$c = (m_2 - m_1) D$$

เมื่อ c คือ ความจุของชุดปีกผีเสื้อ เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

m_2 คือ ค่าที่ชั่งได้ตามข้อ (2) เป็นกรัม

m_1 คือ ค่าที่ชั่งได้ตามข้อ (1) เป็นกรัม

D คือ ความหนาแน่นของน้ำ เป็นกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

9.2 ความทนการกัดกร่อนของเข็มแทงเข้าเส้นเลือด

9.2.1 สารเคมี

สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.5 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

9.2.2 วิธีทดสอบ

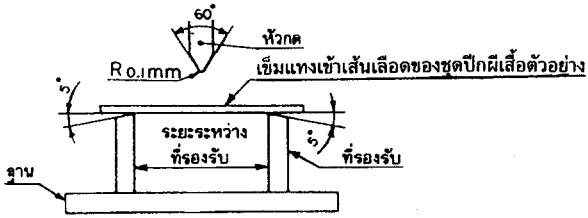
ใส่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีอุณหภูมิ (27 ± 2) องศาเซลเซียส ลงในภาชนะแก้วบอโรซิลิเกต ให้มีปริมาณเพียงพอที่จะแช่เข็มแทงเข้าเส้นเลือดของชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างลงได้ประมาณครึ่งหนึ่งของความยาวตัวเข็ม แช่เข็มเป็นเวลา 7 ชั่วโมง ± 5 นาที โดยรักษาอุณหภูมิของสารละลายไว้ที่ (27 ± 2) องศาเซลเซียส นำขึ้นมาเช็ดให้แห้ง แล้วเปรียบเทียบร่องรอยการกัดกร่อนบนตัวเข็มส่วนที่แช่กับส่วนที่ไม่ได้แช่

9.3 ความแข็งตึงของเข็มแทงเข้าเส้นเลือด

9.3.1 เครื่องมือ

9.3.1.1 เครื่องทดสอบความแข็งตึง (ดูรูปที่ 5) ที่สามารถให้แรงตั้งแต่ 0 นิวตัน ถึงไม่น้อยกว่า 20 นิวตัน มีความแม่น ± 0.1 นิวตัน มีหัวกดรูปลิ่มตัดปลาย มีความยาวช่วงรูปลิ่มอย่างน้อย 5 มิลลิเมตร

9.3.1.2 เครื่องวัดการแอ่นตัว ที่อ่านค่าละเอียด 0.01 มิลลิเมตร



รูปที่ 5 เครื่องทดสอบความแข็งตึง

(ข้อ 9.3.1.1)

9.3.2 วิธีทดสอบ

9.3.2.1 ดึงเข็มแทงเข้าเส้นเลือดออกจากชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง วางบนที่รองรับของเครื่องทดสอบความแข็งตึง โดยมีลักษณะ ดังนี้

(1) ระยะห่างของที่รองรับเป็นไปตามที่กำหนดในตารางที่ 3

(2) ปลายของหัวกดอยู่ตรงจุดกึ่งกลางของระยะระหว่างที่รองรับ

(3) เข็มวางในแนวนอน เป็นมุมฉากกับที่รองรับ และจุดกึ่งกลางของตัวเข็มอยู่ที่จุดกึ่งกลางของระยะระหว่างที่รองรับ

9.3.2.2 เดินเครื่องทดสอบให้หัวกดเคลื่อนที่ลงมาด้วยอัตราเร็ว 1 มิลลิเมตรต่อนาที ด้วยแรงตามที่กำหนดในตารางที่ 3

9.3.2.3 วัดและบันทึกระยะแอ่นตัวตรงจุดที่ถูกกดให้ละเอียดถึง 0.01 มิลลิเมตร

9.4 การรั่วซึม

9.4.1 เครื่องมือ

9.4.1.1 เครื่องอัดอากาศที่สามารถอัดอากาศให้ได้ความดันไม่น้อยกว่า 50 กิโลพาสคัล

9.4.1.2 อ่างน้ำที่บรรจุน้ำที่มีอุณหภูมิระหว่าง 20 องศาเซลเซียส ถึง 30 องศาเซลเซียส

9.4.2 วิธีทดสอบ

ต่อข้อต่อรูปกรวยของชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างเข้ากับเครื่องอัดอากาศ อุดปลายเข็มแทงเข้าเส้นเลือด แล้วจุ่มลงในอ่างน้ำ อัดอากาศเข้าไปในชุดปีกผีเสื้อตัวอย่าง จนความดันภายในเป็น 50 กิโลพาสคัล เป็นเวลา 2 นาที สังเกตว่ามีฟองอากาศหรือไม่

9.5 คุณลักษณะทางเคมี

9.5.1 การเตรียมสารละลายที่สกัดได้และสารละลายแบลงก์

9.5.1.1 สารละลายที่สกัดได้

ตัดชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างจำนวน 10 ชุด ตรงบริเวณที่เป็นพลาสติกและยาง ให้ได้ชิ้นตัวอย่างที่มีขนาดเท่า ๆ กัน โดยประมาณ นำมารวมกัน และชั่งให้ได้น้ำหนัก 15 กรัม โดยถ้ามีส่วนที่เป็นยางให้มียางไม่เกิน 1.5 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไป 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร

9.5.1.2 สารละลายแบลงก์

ให้ปฏิบัติตามข้อ 9.5.1.1 แต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

9.5.2 วิธีทดสอบ

9.5.2.1 ลักษณะทั่วไป

ตรวจพินิจสารละลายที่สกัดได้

9.5.2.2 สารรีดิวซ์

(1) เครื่องมือ

ขวดแก้วรูปกรวย ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร พร้อมจุก

(2) สารเคมี สารละลายและวิธีเตรียม

(2.1) สารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต 0.002 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต 31.6 มิลลิกรัม ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยในขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเก็บสารละลายที่ได้ในขวดสีชา

(2.2) สารละลายกรดซัลฟิวริก 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

(2.3) โพแทสเซียมไอโอไดด์

(2.4) สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.005 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
ละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 1.3 กรัม และโซเดียมคาร์บอเนต 10 มิลลิกรัม ด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ และปล่อยไว้ให้เย็นแล้ว ปริมาตรเล็กน้อย ในขวดแก้วปริมาตรขนาด 1 000 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่และปล่อยไว้ให้เย็นแล้วจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

(2.5) น้ำแป้ง ที่เตรียมใหม่
ละลายแป้ง 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเทลงในน้ำเดือด 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร อย่างช้า ๆ พร้อมกับคนอย่างสม่ำเสมอ ต้มให้เดือดจนกระทั่งสารละลายมีลักษณะโปร่งแสง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน เก็บสารละลายส่วนใสไว้

(3) วิธีวิเคราะห์

(3.1) ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายที่สกัดได้ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดแก้วรูปกรวย เติมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายกรดซัลฟิวริก 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดจุก เขย่า ปล่อยไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ 0.1 กรัม แล้วไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต จนสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เติมน้ำแป้ง 5 หยด แล้วไทเทรตต่อจนสีน้ำเงินจางหายไป บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต

(3.2) ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ (3.1) อีกครั้งหนึ่งโดยใช้สารละลายแบลงก์ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร แทนสารละลายที่สกัดได้

(3.3) การคำนวณ
คำนวณหาปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนตที่ใช้ทำปฏิกิริยา ได้จากผลต่างระหว่างการไทเทรตข้อ (3.1) กับข้อ (3.2)

9.5.2.3 ปริมาณโลหะ
นำสารละลายที่สกัดได้มาวิเคราะห์ปริมาณแบเรียม โครเมียม ทองแดง ตะกั่ว ดีบุก และแคดเมียม โดยใช้อะตอมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ หรือเครื่องมืออื่นที่เทียบเท่า

9.5.2.4 ความเป็นกรด-ด่าง

(1) ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายที่สกัดได้ และสารละลายแบลงก์ อย่างละ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร อย่างละใบ

(2) เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 1 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ลงในบีกเกอร์ทั้ง 2 ใบ ใบละ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายในบีกเกอร์แต่ละใบด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

(3) เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่สกัดได้กับสารละลายแบลงก์

9.5.2.5 ปริมาณกากที่ไม่ระเหย

(1) เครื่องมือ

(1.1) เครื่องชั่งละเอียด 0.1 มิลลิกรัม

(1.2) ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ (105 ± 2) องศาเซลเซียส

(1.3) ครูซิเบิล ทำจากควอตซ์หรือกระเบื้องเคลือบ ที่อบจนน้ำหนักคงที่แล้ว 2 ใบ

(1.4) เครื่องอังไอน้ำ

(1.5) เดซิกเคเตอร์

(2) วิธีวิเคราะห์

(2.1) ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายที่สกัดได้ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในครูซิเบิลใบที่หนึ่ง และสารละลายแบลงก์ปริมาตรเท่ากัน ใส่ลงในครูซิเบิลใบที่สอง นำไประเหยให้แห้งบนเครื่องอังไอน้ำ

(2.2) อบครูซิเบิลทั้ง 2 ใบ ในตู้อบที่อุณหภูมิ (105 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในเดซิกเคเตอร์ ปล่อยไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่ง แล้วอบซ้ำเป็นเวลาครั้งละ 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ ผลต่างของน้ำหนักกากในครูซิเบิลใบที่หนึ่งและใบที่สองคือปริมาณกากที่ไม่ระเหย

9.5.2.6 การดูดกลืนแสง

(1) เครื่องมือ

(1.1) สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 250 นาโนเมตร ถึง 320 นาโนเมตร

(1.2) แผ่นกรอง ขนาดรูเปิด 0.45 ไมโครเมตร

(2) วิธีวิเคราะห์

กรองสารละลายที่สกัดได้ผ่านแผ่นกรอง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ถึง 320 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลายแบลงก์ ทั้งนี้ให้วัดค่าการดูดกลืนแสงภายใน 5 ชั่วโมง หลังจากกรองผ่านแผ่นกรองแล้ว

9.6 การทำลายเม็ดเลือด

9.6.1 เครื่องมือ

9.6.1.1 ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ (70 ± 2) องศาเซลเซียส

9.6.1.2 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

9.6.1.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง

9.6.1.4 หม้อนึ่งอัด

9.6.1.5 ตู้อบเพาะเชื้อ (incubator) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ (37 ± 1) องศาเซลเซียส

9.6.2 สารเคมี สารละลาย และวิธีเตรียม

9.6.2.1 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.9 ที่ปราศจากเชื้อ

9.6.2.2 สารมาตรฐานอ้างอิงฮีโมโกลบิน (haemoglobin reference standard) 6 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

9.6.2.3 สารละลายแดรบคิน (Drabkin's solution)

ละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 1 กรัม โพแทสเซียมไซยาไนด์ 0.05 กรัม และโพแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์ 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น และเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 1 000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

9.6.3 การเตรียมเลือดกระต่าย

เจาะเลือดกระต่ายอย่างน้อย 3 ตัว ผสมกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เช่น แอซิดซิเทรตเด็กซ์โทรส (acid citrate dextrose, ACD) ซิทริกฟอสเฟตเด็กซ์โทรส (citric phosphate dextrose, CPD) แยกเก็บในภาชนะเก็บเลือดของกระต่ายแต่ละตัวที่อุณหภูมิ (4 ± 2) องศาเซลเซียส และควรนำมาทำการทดสอบภายใน 96 ชั่วโมง

9.6.4 การเตรียมสารละลายทดสอบ

ตัดชุดปีกผีเสื้อตัวอย่างอย่างน้อย 3 ชุด ให้ได้ชิ้นตัวอย่างที่มีขนาดเท่า ๆ กันโดยประมาณ นำมารวมกันและชั่งให้ได้น้ำหนักรวม 5 กรัม เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร อบในตู้อบที่อุณหภูมิ (70 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง

9.6.5 วิธีทดสอบ

9.6.5.1 การเตรียมกราฟสอบเทียบ

(1) เตรียมสารละลายสอบเทียบ โดยใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายมาตรฐานอ้างอิงฮีโมโกลบิน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 5 ใบตามลำดับ เจือจางด้วยสารละลายแดรบคินจนถึงขีดปริมาตร สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร 0.3 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร 0.12 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร 0.06 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และ 0.03 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ

(2) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสอบเทียบแต่ละความเข้มข้น โดยใช้สารละลายแดรบคินเป็นแบลงก์

(3) สร้างกราฟสอบเทียบระหว่างความเข้มข้นของฮีโมโกลบินมาตรฐาน เป็นมิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร กับค่าการดูดกลืนแสง

9.6.5.2 การตรวจหาระดับพลาสมาฮีโมโกลบินในเลือด

(1) นำเลือดกระต่ายในแต่ละภาชนะบรรจุ ตามข้อ 9.6.3 ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แยกใส่ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงและนำไปหมุนเหวี่ยงในแนวระดับด้วยอัตราเร็ว 700 G ถึง 800 G เป็นเวลา 15 นาที

(2) ดูดส่วนใสด้านบน (พลาสมา) 100 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ไมโครลิตร) เติมลงในสารละลายแดรบคิน 5.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายแดรบคินเป็นแบลงก์

(3) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟสอบเทียบ หาปริมาณฮีโมโกลบินในพลาสมาของเลือดกระต่ายแต่ละตัว เป็นมิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

(4) ถ้าเลือดกระต่ายตัวใดมีปริมาณฮีโมโกลบินในพลาสมาเกิน 1.0 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จะไม่นำเลือดกระต่ายตัวนั้นมาใช้ในการทดสอบต่อไป และต้องใช้เลือดกระต่ายในการทดสอบ 3 ตัว

9.6.5.3 การเจือจางเลือด

(1) นำเลือดกระต่ายแต่ละตัวที่ผ่านการทดสอบหาปริมาณฮีโมโกลบินในพลาสมาแล้ว 20 ลูกบาศก์มิลลิเมตร เติมลงในสารละลายแดรบคิน 5.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

(2) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายแดรบคินเป็นแบลงก์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟสอบเทียบ หาปริมาณฮีโมโกลบิน

(3) เจือจางเลือดกระต่ายแต่ละตัวด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ปราศจากเชื้อ ให้มีปริมาณฮีโมโกลบินอยู่ในช่วง (25.0 ± 2.5) มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นค่าฮีโมโกลบินปรากฏ (haemoglobin present)

9.6.5.4 การทดสอบตัวอย่าง

(1) นำเลือดกระต่ายที่ได้จากข้อ 9.6.5.3(3) มาตัวละ 5.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายทดสอบ 4.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปบ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ (37 ± 1) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

(2) นำไปหมุนเหวี่ยงในแนวระดับ ด้วยอัตราเร็ว 100 G ถึง 200 G เป็นเวลา 15 นาที

(3) ดูดส่วนใสด้านบนออก ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงหลอดใหม่ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยอัตราเร็ว 700 G ถึง 800 G เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใส่ในหลอดแก้วหลอดใหม่ แล้วนำไปหาค่าดัชนีการแตกตัวของเม็ดเลือด

9.6.5.5 การหาค่าดัชนีการแตกตัวของเม็ดเลือด

(1) นำส่วนใสจากข้อ 9.6.5.4(3) มา 1.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมลงในสารละลายแดรบคิน 3.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทิ้งไว้ 15 นาที

(2) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายแดรบคินเป็นแบลงก์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟสอบเทียบ หาปริมาณฮีโมโกลบิน เป็นค่าฮีโมโกลบินปลดปล่อย (haemoglobin released)

(3) คำนวณค่าดัชนีการแตกตัวของเม็ดเลือดจากสูตร

$$\text{ดัชนีการแตกตัวของเม็ดเลือด} = \frac{\text{ฮีโมโกลบินปลดปล่อย}}{\text{ฮีโมโกลบินปรากฏ}} \times 100$$

(4) คำนวณค่าเฉลี่ยของดัชนีการแตกตัวของเม็ดเลือด แล้วเทียบหาระดับการแตกตัวของเม็ดเลือดตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ระดับการแตกตัวของเม็ดเลือด

(ข้อ 9.6.5.5(4))

ดัชนีการแตกตัวของเม็ดเลือด	ระดับการแตกตัวของเม็ดเลือด
0 ถึงน้อยกว่า 2	ไม่มีการแตกตัว
2 ถึงน้อยกว่า 10	มีการแตกตัวเล็กน้อย
10 ถึงน้อยกว่า 20	มีการแตกตัวปานกลาง
20 ถึงน้อยกว่า 40	มีการแตกตัวอย่างเห็นได้ชัด
40 ขึ้นไป	มีการแตกตัวอย่างรุนแรง

ภาคผนวก ก.

การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

(ข้อ 8.1)

ก.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ชุดปักผีเสื้อที่ทำจากวัสดุอย่างเดียวกัน ประเภทและชนิดเดียวกัน มีส่วนประกอบเหมือนกัน และทำให้ปราศจากเชื้อในคราวเดียวกัน

ก.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้ หรืออาจใช้แผนการชักตัวอย่างอื่นที่เทียบเท่ากันทางวิชาการกับแผนที่กำหนดไว้

ก.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบความจุ ขนาดและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน ลักษณะทั่วไป การบรรจุและเครื่องหมายและฉลาก

ก.2.1.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันตามจำนวนที่กำหนดในตารางที่ ก.1 นำไปตรวจสอบการบรรจุ เครื่องหมายและฉลาก และลักษณะทั่วไปก่อน แล้วจึงทดสอบความจุ และขนาดและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนตามลำดับ

ก.2.1.2 จำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นไปตามข้อ 4.1 ข้อ 4.2 ข้อ 5.1 ข้อ 6. และข้อ 7. ในแต่ละรายการ ต้องไม่เกินเลขจำนวนที่ยอมรับที่กำหนดในตารางที่ ก.1 จึงจะถือว่าชุดปักผีเสื้อรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ตารางที่ ก.1 แผนการชักตัวอย่างสำหรับการทดสอบความจุ ขนาดและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน ลักษณะทั่วไป การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก

(ข้อ ก.2.1)

ขนาดรุ่น ชุด	ขนาดตัวอย่าง ชุด	เลขจำนวนที่ยอมรับ
ไม่เกิน 35 000	13	0
35 001 ขึ้นไป	50	1

ก.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางฟิสิกส์

ก.2.2.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน 30 ชุด เพื่อทดสอบรอยต่อเชื่อมภายในชุดปักผีเสื้อความทนการกัดกร่อน ความแข็งตึงและปลายเข็ม รายการละ 5 ชุด และทดสอบการรั่วซึม 10 ชุด

ก.2.2.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5.2.1 ข้อ 5.2.2.1 (1) ข้อ 5.2.2.1(2) ข้อ 5.2..2.2 และข้อ 5.2.3 จึงจะถือว่าชุดปักผีเสื้อรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ก.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางเคมี

ก.2.3.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 10 ชุด

ก.2.3.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5.3 จึงจะถือว่าชุดปีกผีเสื้อรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ก.2.4 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบความปราศจากเชื้อ

ก.2.4.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 20 ชุด เพื่อใช้ทดสอบ 10 ชุด และสำรองไว้เพื่อการทดสอบซ้ำ 10 ชุด

ก.2.4.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5.4.1 จึงจะถือว่าชุดปีกผีเสื้อรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ก.2.5 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบสารไพโรเจน การทำลายเม็ดเลือด และความเป็นพิษ

ก.2.5.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 30 ชุด เพื่อใช้ทดสอบรายการละ 10 ชุด

ก.2.5.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5.4.2 ข้อ 5.4.3 และข้อ 5.4.4 จึงจะถือว่าชุดปีกผีเสื้อรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ก.3 เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างชุดปีกผีเสื้อต้องเป็นไปตามข้อ ก.2.1.2 ข้อ ก.2.2.2 ข้อ ก.2.3.2 ข้อ ก.2.4.2 และ ข้อ ก.2.5.2 ทุกข้อ จึงจะถือว่าชุดปีกผีเสื้อรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้

ภาคผนวก ข.

การทดสอบความเป็นพิษ

(ข้อ 5.4.3)

ข.1 การทดสอบความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อสัตว์ทดลอง

ข.1.1 เครื่องมือ

ข.1.1.1 ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ (70 ± 2) องศาเซลเซียส

ข.1.2 สารละลาย

ข.1.2.1 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.9 ที่ปราศจากเชื้อ

ข.1.3 การเตรียมสารละลายทดสอบและสารละลายแบลงก์

ข.1.3.1 ตัดชุดปักผีเสื้อตัวอย่างอย่างน้อย 3 ชุด ให้ได้ชิ้นตัวอย่างที่มีขนาดเท่า ๆ กันโดยประมาณ นำมารวมกันและชั่งให้ได้น้ำหนักรวม 5 กรัม เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร อบในตู้อบที่อุณหภูมิ (70 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง

ข.1.3.2 ให้ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เป็นสารละลายแบลงก์

ข.1.4 วิธีทดสอบ

ข.1.4.1 แบ่งหนูทดสอบที่มีสุขภาพดีและไม่เคยใช้ทดสอบมาก่อน มีน้ำหนักระหว่าง 17 กรัม ถึง 23 กรัม จำนวน 10 ตัว ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว

ข.1.4.2 ฉีดสารละลายทดสอบ และสารละลายแบลงก์เข้าทางเส้นเลือดดำของหนูทดสอบกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ตามลำดับ ตัวละ 1.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วปล่อยไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ข.1.4.3 สังเกตอาการของหนูแต่ละกลุ่ม หลังฉีดทันที ที่ 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง หลังฉีด

ข.1.5 เกณฑ์ตัดสิน

ข.1.5.1 ถ้าหนูทดสอบกลุ่มที่ฉีดด้วยสารละลายทดสอบทั้ง 5 ตัว ไม่ตาย และตัวใดตัวหนึ่งไม่มีอาการป่วยมากกว่าที่ฉีดด้วยสารละลายแบลงก์ ให้ถือว่าชุดปักผีเสื้อตัวอย่างไม่เป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อสัตว์ทดลอง

ข.1.5.2 ถ้าหนูทดสอบกลุ่มที่ฉีดด้วยสารละลายทดสอบแสดงอาการป่วยมากกว่า 1 ตัว หรือมีหนูทดสอบตัวใดตัวหนึ่งตาย ให้ทดสอบซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยใช้หนูทดสอบที่มีสมบัติตามข้อ ข.1.4.1 แต่มีน้ำหนัก (20 ± 1) กรัม กลุ่มละ 10 ตัว หนูทดสอบกลุ่มที่ฉีดด้วยสารละลายทดสอบทั้ง 10 ตัว ต้องไม่ตาย และไม่แสดงอาการป่วย หรือแสดงอาการป่วยที่ไม่มากกว่าที่ฉีดด้วยสารละลายแบลงก์ จึงจะถือว่าชุดปักผีเสื้อตัวอย่างไม่เป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อสัตว์ทดลอง

ข.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง (cytotoxicity testing)

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ให้ใช้วิธีทดสอบที่กำหนดต่อไปนี้ หรืออาจใช้วิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่าตามที่กำหนดใน ISO 10993-5 ในกรณีที่มีข้อโต้แย้งให้ใช้วิธีทดสอบที่กำหนดต่อไปนี้เป็นวิธีตัดสิน

ข.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

ข.2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้ลามินาร์แอร์โฟลว์ (laminar airflow hood) ตู้อบเพาะเชื้อชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ กล้องจุลทรรศน์ เครื่องนับเม็ดเลือด (haemocytometer)

ข.2.1.2 อุปกรณ์ฆ่าเชื้อ ได้แก่ หม้อนึ่งอัด ตู้อบ

ข.2.1.3 ถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 หลุม

ข.2.1.4 ขวดแก้วฝาเกลียวสำหรับสกัดตัวอย่าง

ข.2.1.5 ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อ (tissue culture flask) ขนาดพื้นที่ 75 ตารางเซนติเมตร

ข.2.2 สารละลายและวิธีเตรียม

ข.2.2.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ปราศจากเชื้อ

ละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.2 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 8.0 กรัม และแอนไฮดรัสไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.15 กรัม ในน้ำกลั่น และเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 1 000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดที่อุณหภูมิ (121 ± 2) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หรือกรองผ่านแผ่นกรองขนาดรูเปิด 0.22 ไมโครเมตร

ข.2.2.2 สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 100 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ที่ปราศจากเชื้อ

ข.2.2.3 สารละลายทริปซิน (trypsin) 0.5 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ที่ปราศจากเชื้อ

ข.2.2.4 สารละลายกลูทามีน (glutamine) 29.2 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ที่ปราศจากเชื้อ

ข.2.2.5 อาหารเลี้ยงเซลล์อีเกิลส์เอ็มอีเอ็ม (Eagle's MEM)

ข.2.2.6 อาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับการเจริญเติบโต และอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับสกัดตัวอย่าง

เติมสารละลายกลูทามีน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 1.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร เซรุ่มฟีทัลโบไวน์ (fetal bovine serum) 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์อีเกิลส์เอ็มอีเอ็ม 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยวิธีปราศจากเชื้อ เก็บไว้ในขวดแก้วฝาเกลียว ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ถึง 8 องศาเซลเซียส เก็บไว้ได้ไม่เกิน 1 สัปดาห์

ข.2.2.7 สารละลายฟอร์มาลิน-คริสทัลไวโอเลต (formalin-crystal violet)

ละลายคริสทัลไวโอเลต 500 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ (BP) 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 90 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บไว้ที่อุณภูมิห้อง

ข.2.2.8 สีย้อมทริปแพนบลู (trypan blue stain) 4.0 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ข.2.2.9 สารละลายซิงก์แอซีเทต 200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ละลายซิงก์แอซีเทต 20.14 มิลลิกรัม ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.9 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร และทำให้ปราศจากเชื้อโดยกรองผ่านแผ่นกรองขนาดรูเปิด 0.22 ไมโครเมตร

ข.2.2.10 การควบคุมเชิงบวก

- สารเคมีควบคุมเชิงบวก (positive chemical control)

เจือจางสารละลายซิงก์แอซีเทต 200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับสกัดตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

- วัสดุควบคุมเชิงบวก (postitive material control)
  แผ่นพลาสติกที่มีซิงก์ไดเอทิลไดไทโอคาร์บาเมตร้อยละ 0.1

ข.2.2.11 การควบคุมเชิงลบ

- สารเคมีควบคุมเชิงลบ (negative chemical control)
  เจือจางสารละลายซิงก์แอซีเทต 200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับสกัดตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
- วัสดุควบคุมเชิงลบ (negative material control)
  พลาสติก เช่น โพลิเอทิลีน โพลิโพรพิลีน หรือแผ่นยาง ที่ปราศจากสารเติมแต่ง

ข.2.3 การเตรียมเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

ข.2.3.1 การเตรียมสารแขวนลอยของเซลล์เนื้อเยื่อ (cell suspension)

นำเซลล์เนื้อเยื่อ L-929 (ATCC cell line CCL 1, NCTC clone 929) ที่เพาะเลี้ยงไว้ในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดพื้นที่ 75 ตารางเซนติเมตร มาล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เติมสารละลายทริปซิน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และอบในตู้อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ (37 ± 1) องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ถึง 5 นาที เคาะขวดเบา ๆ จนเซลล์หลุดร่อนจากพื้นผิวขวด แล้วจึงเติมอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับการเจริญเติบโต 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถึง 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในขวด เขย่าขวดให้ได้สารแขวนลอยของเซลล์ที่เป็นเนื้อเดียวกัน นำสารแขวนลอยที่ได้นี้ ไปวัดความเข้มข้นของเซลล์ โดยดูดสารแขวนลอยของเซลล์ 0.1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาผสมกับสีย้อมทริปแพนบลู 0.1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตพร้อมทั้งคำนวณความเข้มข้นของเซลล์ในสารแขวนลอยโดยใช้เครื่องนับเม็ดเลือด เจือจางสารแขวนลอยของเซลล์นี้ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับการเจริญเติบโต ให้ได้ความเข้มข้น 3×10^5 เซลล์ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ข.2.3.2 นำเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้น 3×10^5 เซลล์ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมลงในถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 หลุม หลุมละ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วนำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ (37 ± 1) องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 วัน จนเซลล์โตเป็นชั้นเดี่ยว (monolayer) อย่างน้อยร้อยละ 80 ของพื้นที่เลี้ยงเซลล์

ข.2.4 วิธีทดสอบ

ข.2.4.1 การเตรียมสารละลายทดสอบ และสารละลายควบคุม

(1) การเตรียมสารละลายทดสอบ

ตัดส่วนต่าง ๆ ของชุดปักผีเสื้อตัวอย่างที่ล้างและนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดแล้วใส่ลงในขวดแก้วฝาเกลียวสำหรับสกัดตัวอย่าง เติมอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับสกัดตัวอย่างปริมาตร 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อตัวอย่าง 1 กรัม นำไปอบในตู้อบเพาะเชื้อชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ (37 ± 1) องศาเซลเซียส เป็นเวลา (24 ± 1) ชั่วโมง เขย่าขวดเป็นระยะ สารละลายที่ได้เป็นสารละลายทดสอบร้อยละ 100 เตรียมสารละลายทดสอบร้อยละ 66 ร้อยละ 44 ร้อยละ 30 และร้อยละ 20 จากสารละลายร้อยละ 100 โดยเจือจางเป็นอนุกรม (serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับสกัดตัวอย่างในอัตราส่วน 2 : 1 ตามลำดับ

(2) การเตรียมสารละลายควบคุม เลือกข้อใดข้อหนึ่งดังนี้

(2.1) เตรียมสารละลายวัสดุควบคุมเชิงบวก และสารละลายวัสดุควบคุมเชิงลบ โดยสกัดวัสดุควบคุมเชิงบวก และวัสดุควบคุมเชิงลบ ตามวิธีในข้อ ข.2.4.1(1)

(2.2) เตรียมสารเคมีควบคุมเชิงบวก และสารเคมีควบคุมเชิงลบ ตามข้อ ข.2.2.10 และข้อ ข.2.2.11 ตามลำดับ

ข.2.4.2 ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ในถาดเลี้ยงเซลล์แต่ละหลุมออก

ข.2.4.3 เติมสารละลายทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ และสารละลายควบคุม ดังต่อไปนี้ ลงสัมผัสกับเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง หลุมละ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยเติมชนิดละ 3 หลุม

(1) สารละลายทดสอบ ความเข้มข้นร้อยละ 100 ร้อยละ 66 ร้อยละ 44 ร้อยละ 30 และร้อยละ 20 ตามลำดับ

(2) สารละลายวัสดุควบคุมเชิงบวก หรือสารเคมีควบคุมเชิงบวก

(3) สารละลายวัสดุควบคุมเชิงลบ หรือสารเคมีควบคุมเชิงลบ

(4) อาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับสกัดตัวอย่างเพื่อใช้เป็นแบลงก์

ข.2.4.4 นำถาดเลี้ยงเซลล์ไปอบในตู้อบเพาะเชื้อชนิดคาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ (37 ± 1) องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ให้ประเมินผลตามวิธีในข้อ ข.2.5

ข.2.5 การประเมินผล

หลังจากปล่อยให้เซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในถาดเลี้ยงเซลล์ สัมผัสกับสารละลายทดสอบ สารละลายควบคุม และแบลงก์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง แล้ว ดูความเป็นพิษที่เกิดกับเซลล์ โดยดูลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกการตายของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphological change) และความหนาแน่นของเซลล์ที่มีชีวิต (cell density) แล้วประเมินผลตามตารางที่ ข.1

หลังจากบันทึกผลที่ 48 ชั่วโมงแล้ว ให้ยึด (fix) และย้อมสีเซลล์ติดบนถาดเลี้ยงเซลล์ด้วยสารละลายฟอร์มาลิน-คริสทัลไวโอเลต เพื่อเก็บไว้เป็นหลักฐานสำหรับการตรวจสอบ

ตารางที่ ข.1 การประเมินระดับความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

(ข้อ ข.2.5)

ระดับ	ปฏิกิริยา	สภาพของเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง
0	ไม่เป็นพิษ	พบเซลล์แผ่เป็นชั้นเดี่ยว มีเม็ดอินทราไซโทพลาสมิก (intracytoplasmic granule) กระจายอยู่ในเซลล์ตามปกติ ไม่พบการแตกทำลายของเซลล์
1	เป็นพิษน้อยมาก	พบเซลล์มีลักษณะกลม ใกล้หลุดออกจากพื้นผิว ไม่เกินร้อยละ 20 อาจพบการแตกทำลายของเซลล์ได้บ้าง
2	เป็นพิษน้อย	พบเซลล์มีลักษณะกลม ไม่เกินร้อยละ 50 อาจพบการแตกทำลายของเซลล์แต่ไม่รุนแรง และไม่พบช่องว่างระหว่างเซลล์ชั้นเดี่ยว
3	เป็นพิษปานกลาง	พบเซลล์มีลักษณะกลมหรือพบการแตกทำลายของเซลล์ ไม่เกินร้อยละ 70
4	เป็นพิษอย่างรุนแรง	พบการทำลายของเซลล์ชั้นเดี่ยวเกือบทั้งหมดหรือทั้งหมด

ข.2.6 การแปลผล

ข.2.6.1 การทดสอบจะมีผลเชื่อถือได้ต่อเมื่อ

(1) แบลงก์ และสารเคมีควบคุมเชิงลบหรือสารละลายวัสดุควบคุมเชิงลบไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (ความเป็นพิษระดับ 0)

(2) สารเคมีควบคุมเชิงบวก หรือสารละลายวัสดุควบคุมเชิงบวก มีความเป็นพิษต่อเซลล์ระดับ 3 ขึ้นไป

ข.2.7 เกณฑ์ตัดสิน

ผลการทดสอบจะถือว่าตัวอย่างไม่เป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง เมื่อเป็นไปตามข้อใดข้อหนึ่งดังนี้

(1) สารละลายทดสอบร้อยละ 100 มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่มากกว่าระดับ 2

(2) สารละลายทดสอบร้อยละ 44 มีความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับ 0

ภาคผนวก ค.

ขนาดระบุ และรหัสสีของปีก

ขนาดระบุ		รหัสสีของปีก	
mm	G	ระบบยุโรป และออสเตรเลีย	ระบบอเมริกา ญี่ปุ่น และเอเชียแปซิฟิก
0.4	27	เทา	เทา
0.45	26	น้ำตาล	น้ำตาลอ่อน
0.5	25	ส้ม	น้ำเงิน
0.55	24	ม่วง	แดง
0.6	23	น้ำเงิน	ฟ้า
0.7	22	ดำ	ดำ
0.8	21	เขียว	เขียว
0.9	20	เหลือง	เหลือง
1.1	19	ครีม	น้ำตาลเข้ม
1.2	18	ชมพู	ชมพู

หมายเหตุ *G หมายถึง gauge size ตาม standard wire gauge*