แนวทางในการให้คำปรึกษาด้านความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับงานที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยี RNAi และ double-stranded RNA (dsRNA)

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		การวิจัยและพัฒนา	
1.	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ dsRNA กำกับดูแลอย่างไร? ตัวอย่างงานวิจัยที่มีการใช้ dsRNA ● งานวิจัยที่มีการถ่ายพลาสมิดลูกผสมเข้าสู่คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายหรือเซลล์จุลินทรีย์ ● งานวิจัยที่มีการสกัดและตรวจสอบปริมาณ dsRNA ที่สาหร่ายหรือจุลินทรีย์ผลิต ● งานวิจัยที่มีการทดสอบประสิทธิภาพของ dsRNA ในการยับยั้งโรคในกุ้ง ● งานวิจัยที่มีการทดสอบประสิทธิภาพของ dsRNA ในการป้องกันการติดเชื้อก่อโรคในพืชและสัตว์	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน (Institutional Biosafety Committee – IBC) หรือคณะกรรมการควบคุมความปลอดภัยทางชีวภาพ 2) หากมีการทดลองที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ให้ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว 3) หากมีการทดลองในสัตว์หรือพืชให้ตรวจสอบขอบเขตของกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น หากมีการใช้สัตว์ภายใต้พระราชบัญญัติสัตว์เพื่องานทาง	1) ขอบเขตการดูแลของ IBC ตามแนวทางปฏิบัติฯ ครอบคลุมทั้งกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ เช่น การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในจีโนม (genome) ของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัย เป็นต้น และครอบคลุมถึงผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ด้วย เช่น dsRNA 2) ระหว่างการดำเนินการวิจัย IBC ควรมีการตรวจติดตามการดำเนินงานของโครงการเป็นระยะตามความเหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ dsRNA หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม 3) งานวิจัยที่ใช้สาหร่าย ต้องมีมาตรป้องกันการหลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อมที่รัดกุม เนื่องจากสาหร่ายสามารถอยู่ในน้ำและสามารถแพร่กระจายได้ง่าย

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		วิทยาศาสตร์ พ.ศ. 2558 ต้องทำการยื่นโครงการวิจัยต่อคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ เป็นต้น	
2.	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดการผลิตในระดับระดับโรงงานต้นแบบ กำกับดูแลอย่างไร? หมายเหตุ ขอบเขตของโรงงานต้นแบบ คลอบคลุมเฉพาะการดำเนินงานในสภาพควบคุมแบบปิดที่ไม่มีการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอก	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการใช้จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมในสภาพควบคุม เพื่อใช้ในระดับโรงงานต้นแบบและอุตสาหกรรม ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC โดยอาจขอรับคำปรึกษาจากอนุกรรมการเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพด้านจุลินทรีย์เพิ่มเติม 2) IBC ให้คำแนะนำในเรื่องการกำจัดยีนดื้อยาปฏิชีวนะ และขอรับคำปรึกษาจากคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพิ่มเติม 3) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว	1) สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเข้าขอบข่ายตามแนวทางปฏิบัติฯ ระดับโรงงานต้นแบบและอุตสาหกรรม 2) การใช้ระดับโรงงานต้นแบบจะเกิดการเลี้ยงในปริมาตรมาก จึงควรมีการกำจัดหลังการทดลองดังนี้ ● <u>กรณีไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: ทำลายการมีชีวิตของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม และทดสอบการมีชีวิตภายหลังการทำลาย ● <u>กรณีมียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: ทำลายการมีชีวิตของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม และยีนดื้อยาปฏิชีวนะ รวมทั้งมีการยืนยันประสิทธิภาพการทำลาย เช่น ผล PCR ในการยืนยันการทำลายยีนดื้อยาปฏิชีวนะ เป็นต้น

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		กรณีมีการเพาะเลี้ยงในปริมาณมากต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การประเมินความปลอดภัยของเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2561	3) ระหว่างการดำเนินการวิจัย IBC ควรมีการตรวจติดตามการดำเนินงานของโครงการเป็นระยะตามความเหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ dsRNA หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม
3.	การทดสอบประสิทธิภาพ*ในระบบปิด*ที่มีการควบคุมการหลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม		ระบบปิด หมายถึง การทดลองที่มีการจำกัดการติดต่อหรือสัมผัสกับสิ่งมีชีวิตกับสิ่งแวดล้อมภายนอก
	3.1 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่ยัง*มีเซลล์ที่ยังมีชีวิต* กำกับดูแลอย่างไร?	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC 2) ต้องขอรับการประเมินจากคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อให้คำแนะนำในการประเมินและจัดการความเสี่ยงเป็นรายกรณี โดยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย ดังนี้ ข้อมูลการดำเนินงานของระบบปิดที่ใช้ทดสอบ และระบบกำจัดน้ำทิ้งจากบ่อทดสอบ 3) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติ	1) สิ่งมีชีวิตดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเข้าขอบข่ายตามแนวทางปฏิบัติฯ ด้านเทคโนโลยี ชีวภาพสมัยใหม่ 2) ต้องมีมาตรการป้องกันการหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและรัดกุม รวมทั้งตรวจสอบยืนยันผลประสิทธิภาพมาตรการด้วย เช่น การทดสอบประสิทธิภาพการทำลายหลังเสร็จสิ้นการทดลอง ระบบการทำลายน้ำในบ่อเลี้ยงภายหลังการใช้งาน การมีระบบรางเพื่อรองรับกรณีน้ำล้นจากบ่อเลี้ยง เป็นต้น

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว	3) การกำจัดหลังการทดลอง มีดังนี้ ● กรณี<u>ไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: ทำลายการมีชีวิตของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม และทดสอบการมีชีวิตภายหลังการทำลาย ● กรณี<u>มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: ไม่แนะนำให้ทดสอบ เนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น) 4) ระหว่างการดำเนินการวิจัย IBC ควรมีการตรวจติดตามการดำเนินงานของโครงการเป็นระยะตามความเหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ dsRNA หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม
	3.2 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในรูปแบบ *<u>เซลล์ที่ไม่มีมีชีวิต</u>* กำกับดูแลอย่างไร?	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC	1) เซลล์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเข้าขอบข่ายตามแนวทางปฏิบัติฯ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		2) ต้องขอรับการประเมินจากคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อให้คำแนะนำในการประเมินและจัดการความเสี่ยงเป็นรายกรณี โดยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย ดังนี้ ข้อมูลการดำเนินงานของระบบปิดที่ใช้ทดสอบ และระบบกำจัดน้ำทิ้งจากบ่อทดสอบ 3) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว	2) ต้องมีมาตรการป้องกันการหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและรัดกุม ต้องมีมาตรการป้องกันการหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและรัดกุม รวมทั้งตรวจสอบยืนยันผลประสิทธิภาพมาตรการด้วย เช่น การทดสอบประสิทธิภาพการทำลายหลังเสร็จสิ้นการทดลอง 3) การกำจัดหลังการทดลอง มีดังนี้ ● กรณี<u>ไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: นำไปทดสอบได้ตามแผนงานที่ผ่านการอนุมัติจาก IBC โดยมีผลยืนยันการปราศจากการมีชีวิต และปราศจากยีนดื้อยาปฏิชีวนะ (ตามเอกสารแนบ) ● กรณี<u>มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: ไม่แนะนำให้ทดสอบ เนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น)

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
			4) ระหว่างการดำเนินการวิจัย IBC ควรมีการตรวจติดตามการดำเนินงานของโครงการเป็นระยะตามความเหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ dsRNA หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม
	3.3 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของเฉพาะ dsRNA กำกับดูแลอย่างไร?	ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC	1) ต้องระบุวิธีการเตรียม dsRNA เพื่อพิจารณาการปราศจากเซลล์ที่มีชีวิตและยีนดื้อยาปฏิชีวนะ 2) dsRNA ผลิตจากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม จึงยังเข้าขอบเขตกำกับดูแลตามแนวทางปฏิบัติฯ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่
4	การทดสอบประสิทธิภาพ*ในระบบเปิด* หรือภาคสนาม		ระบบเปิด หมายถึง การทดลองในพื้นที่จำกัด ที่มีการควบคุมการติดต่อหรือสัมผัสกับสิ่งมีชีวิตหรือสิ่งแวดล้อมภายนอก
	4.1 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่ยัง*มีเซลล์ที่ยังมีชีวิต* กำกับดูแลอย่างไร?	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC 2) ต้องขอรับการประเมินจากคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อให้คำแนะนำใน	1) สิ่งมีชีวิตดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่จึงจัดเป็นสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเข้าขอบข่ายตามแนวทางปฏิบัติฯ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ 2) กรณี*มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ*: ไม่แนะนำให้ทดสอบเนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะ

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		การประเมินและจัดการความเสี่ยงเป็นรายกรณี โดยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย ดังนี้ ข้อมูลการดำเนินงานของระบบเปิดที่ใช้ทดสอบ และระบบกำจัดน้ำทิ้งจากบ่อทดสอบ 3) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว	ในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น) 3) ในการทดสอบประสิทธิภาพในระดับภาคสนามจำเป็นต้องมีมาตรการการกำจัดและป้องกันการหลุดรอดที่เหมาะสม เช่น น้ำจากบ่อทดลองต้องผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งที่มีชีวิตที่ใช้ในการวิจัย โดยมีผลยืนยันการกำจัดก่อนปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม เป็นต้น 4) ระหว่างการดำเนินการวิจัย IBC ควรมีการตรวจติดตามการดำเนินงานของโครงการเป็นระยะตามความเหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ dsRNA หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม
	4.2 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในรูปแบบ *เซลล์ที่ไม่มีชีวิต* กำกับดูแลอย่างไร?	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC	1) เซลล์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเข้าขอบข่ายตามแนวทางปฏิบัติฯ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		2) ต้องขอรับการประเมินจากคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อให้คำแนะนำในการประเมินและจัดการความเสี่ยงเป็นรายกรณี โดยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย ดังนี้ ข้อมูลการดำเนินงานของระบบเปิดที่ใช้ทดสอบ และระบบกำจัดน้ำทิ้งจากบ่อทดสอบ 3) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว	2) กรณี<u>มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ</u>: ไม่แนะนำให้ทดสอบ เนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น) 3) ในการทดสอบประสิทธิภาพในระดับภาคสนามจำเป็นต้องมีมาตรการการกำจัดและป้องกันการหลุดรอดที่เหมาะสม เช่น น้ำจากบ่อทดลองต้องผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งที่มีชีวิตที่ใช้ในการวิจัย โดยมีผลยืนยันการกำจัดก่อนปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม เป็นต้น 4) นำไปทดสอบได้ตามแผนงานที่ผ่านการอนุมัติจาก IBC โดยมีผลยืนยันการปราศจากการมีชีวิต 5) ระหว่างการดำเนินการวิจัย IBC ควรมีการตรวจติดตามการดำเนินงานของโครงการเป็นระยะตามความเหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในงานวิจัยและผลิตภัณฑ์ dsRNA หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
	4.3 การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของเฉพาะ dsRNA กำกับดูแลอย่างไร?	1) ประเมินความเสี่ยงของงานวิจัย และดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ภายใต้การกำกับดูแลของ IBC 2) ต้องขอรับการประเมินจากคณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อให้คำแนะนำในการประเมินและจัดการความเสี่ยงเป็นรายกรณี โดยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย ดังนี้ ข้อมูลการดำเนินงานของระบบเปิดที่ใช้ทดสอบ และระบบกำจัดน้ำทิ้งจากบ่อทดสอบ	1) ต้องระบุวิธีการเตรียม dsRNA เพื่อพิจารณาการปราศจากเซลล์ที่มีชีวิตและยืนดื้อยาปฏิชีวนะ 2) dsRNA ผลิตจากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม จึงยังเข้าขอบเขตกำกับดูแลตามแนวทางปฏิบัติฯ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่
การใช้ประโยชน์เพื่อการค้า			
5.	กระบวนการผลิต (process) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมในสภาพควบคุมในระดับอุตสาหกรรมเพื่อค้า กำกับดูแลอย่างไร?	1) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 ของพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว 2) ตรวจสอบชื่อจุลินทรีย์ในรายชื่อศัตรูพืชตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติ	1) จุลินทรีย์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรม ต้องดำเนินการตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องซึ่งครอบคลุมตั้งแต่สถานที่ดำเนินการ ไปจนถึงแนวทางการกำจัดก่อนปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม 2) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ต้องไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		กักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6 และ 7) พ.ศ. 2550 กรณีอยู่ในรายการให้ดำเนินการตามอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว 3) ดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติคู่มือ หลักเกณฑ์ เงื่อนไข และวิธีปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ สำหรับผู้ประกอบการโรงงานอุตสาหกรรมของกรมโรงงานอุตสาหกรรม และกฎหมายอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากโรงงาน พ.ศ. 2560 กำหนดคุณภาพมาตรฐานน้ำทิ้งที่ระบายออกจาโรงงานหรือเขตประกอบการอุตสาหกรรม	3) ต้องมีมาตรการป้องกันการหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและรัดกุม 4) ภายหลังกระบวนการผลิต ควรมีการกำจัดจุลินทรีย์ที่ใช้ก่อนปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม
6.	การใช้ประโยชน์เพื่อวัตถุประสงค์วินิจฉัย บำบัด บรรเทา รักษา หรือป้องกันโรค หรือความเจ็บป่วยของสัตว์ กำกับดูแลอย่างไร?	กรณีที่มีวัตถุประสงค์เพื่อวินิจฉัย บำบัด บรรเทา รักษา หรือป้องกันโรค หรือความเจ็บป่วยของมนุษย์หรือสัตว์ ต้องปฏิบัติตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 และอนุบัญญัติของพระราชบัญญัติดังกล่าว โดยขอรับคำปรึกษาจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา	1) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 34 (พ.ศ. 2548) เรื่อง วัตถุที่ได้รับยกเว้นไม่เป็นยา มีข้อกำหนดยกเว้นการเป็นยา เช่น จุลินทรีย์ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้รักษาสภาพแวดล้อมของสัตว์ เช่น ปรับปรุงคุณภาพน้ำและดิน บำบัดน้ำเสีย หรือปรับสภาพแวดล้อม ในฟาร์ม และจุลินทรีย์ที่ผสมกับอาหารสัตว์ที่อยู่ในรูปสารผสมล่วงหน้า

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
			(พรีมิกซ์) หรืออาหารสัตว์สำเร็จรูป รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีวิธีใช้โดยการผสมน้ำให้สัตว์กินโดยตรง เป็นต้น 2) จุลินทรีย์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมต้องดำเนินการตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้อง 3) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ต้องไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ 4) ต้องมีมาตรการป้องกันการหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและรัดกุม
7.	การใช้เป็นอาหารสัตว์ กำกับดูแลอย่างไร?		
	7.1 ใช้ในรูปแบบจุลินทรีย์ที่*ยังมีชีวิต*	ใช้ได้เฉพาะจุลินทรีย์ที่กำหนดในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ ปริมาณการใช้ และเงื่อนไขในการห้ามผลิต นำเข้า หรือขายอาหารสัตว์ พ.ศ. 2559 และ ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2561 ภายใต้พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 กรณีเป็นจุลินทรีย์อื่นที่ไม่มีใน	1) จัดเป็นการปลดปล่อยจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมออกสู่สิ่งแวดล้อม ต้องมีการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมด้วย ทั้งนี้ การใช้ประโยชน์ในรูปแบบอาหารสัตว์ควรใช้ในรูปแบบเฉพาะ dsRNA

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		ประกาศ ต้องขอขึ้นทะเบียนเป็นกรณีๆ ไป โดยขอรับคำปรึกษาจากกรมปศุสัตว์ หรือกรมประมงแล้วแต่กรณี	2) จุลินทรีย์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมต้องดำเนินการตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้อง 3) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ต้องไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ เนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่ายด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น)
	7.2 ใช้ในรูปแบบจุลินทรีย์ที่*ไม่มีชีวิต*	ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ ปริมาณการใช้ และเงื่อนไขในการห้ามผลิต นำเข้า หรือขายอาหารสัตว์ พ.ศ. 2559 และ ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2561 ภายใต้พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2558 กำหนดเฉพาะจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต	1) จุลินทรีย์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมต้องดำเนินการตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้อง 2) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ต้องไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ เนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะในปริมาณมากและอาจ

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
		กรณีเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีชีวิตหรือจุลินทรีย์อื่นที่ไม่มีในประกาศ ต้องขอขึ้นทะเบียนเป็นกรณีๆ ไป โดยขอรับคำปรึกษาจากกรมปศุสัตว์ หรือกรมประมงแล้วแต่กรณี	ถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่ายด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น)
	7.3 ใช้*เฉพาะ dsRNA* ไม่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต	ขอรับคำปรึกษาจากกรมปศุสัตว์ หรือกรมประมงแล้วแต่กรณี	ต้องระบุวิธีการเตรียม dsRNA เพื่อพิจารณาการปราศจากเซลล์ที่มีชีวิตและยีนดื้อยาปฏิชีวนะ
8.	การใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืช กำกับดูแลอย่างไร?		
	8.1 ใช้ในรูปแบบจุลินทรีย์ที่*ยังมีชีวิต*	สารกำจัดศัตรูพืชจัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 2 หรือ 3 แล้วแต่กรณี การขึ้นทะเบียนดำเนินการตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง การขึ้นทะเบียนการออกใบสำคัญและการต่ออายุใบสำคัญการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย พ.ศ. 2551 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 และที่แก้ไขเพิ่มเติม โดยขอรับคำปรึกษาจากกรมวิชาการเกษตร	1) จัดเป็นการปลดปล่อยจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมออกสู่สิ่งแวดล้อม ต้องมีการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพด้านสิ่งแวดล้อมด้วย 2) จุลินทรีย์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมต้องดำเนินการตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้อง 3) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ต้องไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ เนื่องจากในการดำเนินงานจะมียีนดื้อยาปฏิชีวนะในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
			ด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น)
	8.2 ใช้ในรูปแบบจุลินทรีย์ที่*ไม่มีชีวิต*		1) จุลินทรีย์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมด้วยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ จึงจัดเป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมต้องดำเนินการตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้อง 2) จุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรมที่ใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการค้า ต้องไม่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ เนื่องจากจะมียีนดื้อยาในปริมาณมากและอาจถ่ายทอดสู่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย ด้วยกระบวนการ gene transfer (เช่น conjugation, transformation และ transduction เป็นต้น)
	8.3 ใช้*เฉพาะ dsRNA* ไม่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต		ระบุวิธีการเตรียม dsRNA เพื่อพิจารณาการปราศจากเซลล์ที่มีชีวิตและยีนดื้อยาปฏิชีวนะ

ข้อที่	คำถาม	แนวทางการตอบคำถาม	เหตุผล/ข้อเสนอแนะ
9.	การใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ กำกับดูแลอย่างไร? ตัวอย่างงานวิจัย ใช้เฉพาะ dsRNA ในการเปลี่ยนเพศกุ้ง (ชั่วคราว)	ขอรับคำปรึกษาจากกรมปศุสัตว์ หรือกรมประมง แล้วแต่กรณี	1) ระบุวิธีการเตรียม dsRNA เพื่อพิจารณาการปราศจากเซลล์ที่มีชีวิตและยืนดื้อยาปฏิชีวนะ 2) การใช้ dsRNA โดยไม่ได้มีการสอดแทรกเข้าสู่โครโมโซมของกุ้งและไม่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ไม่จัดเป็นกุ้งดัดแปลงพันธุกรรม โดยต้องมีเอกสารยืนยันการไม่มี dsRNA ในรุ่นลูกของกุ้ง 3) หาก dsRNA ที่ใช้มีการสอดแทรกเข้าสู่โครโมโซมของสัตว์และถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูก จัดเป็นสัตว์ดัดแปลงพันธุกรรม 4) dsRNA ที่ไม่ได้ถูกสร้างในรูปแบบเวคเตอร์ มีโอกาสที่จะแทรกเข้าจีโนมได้น้อยมาก แต่หากแทรกเข้าไปได้ ต้องทำการทดสอบและควบคุมอย่างดีเพื่อไม่ให้หลุดรอดสู่สิ่งแวดล้อม 5) ต้องมีมาตรการป้องกันการหลุดรอดออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและรัดกุม

คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ

29 กันยายน 2564

ตัวอย่างวิธีตรวจสอบการปราศจากการมีชีวิต และปราศจากยีนดื้อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์

---

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่าง จำนวน 3 ชุด แต่ละชุดมีปริมาตรที่เหมาะสมสำหรับเป็นตัวแทน และเพียงพอต่อวิธีการวิเคราะห์ที่เลือกใช้หรือออกแบบไว้ การเก็บตัวอย่างต้องเก็บในช่วงเวลาที่ต่างกัน ได้แก่

1) ก่อนเริ่มกระบวนการกำจัด

2) หลังกระบวนการกำจัดเสร็จสิ้น

บันทึกการขั้นตอนเก็บตัวอย่างที่ได้ปฏิบัติ ในเอกสารบันทึกการตรวจสอบความถูกต้องโดยละเอียด พร้อมทั้งระบุจุดที่เก็บและปริมาณการเก็บ ทั้งนี้ เพื่อให้ได้ผลการตรวจสอบที่มีความถูกต้อง และน่าเชื่อถือมากที่สุด ควรทำการตรวจสอบภายหลังการเก็บตัวอย่างทันที

2. การตรวจสอบการคงเหลือของเซลล์

นำตัวอย่างปริมาตร 250 มิลลิลิตร ไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น 2 เท่า (double strength broth) ปริมาณ 250 มิลลิลิตร เลี้ยงไว้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม[1] ตามชนิดของจุลินทรีย์ จากนั้นนำไปปั่นแยกด้วยเครื่อง centrifuge ที่อัตรา 8,000-10,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที

ส่วนของเหลว (supernatant) นำไปกรองผ่านแผ่นกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.0 เซนติเมตร ความละเอียด 0.45 ไมโครเมตร นำไปวางบนอาหารที่เหมาะสม เช่น LB agar และเลี้ยงไว้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม[1] ตามชนิดของจุลินทรีย์

ส่วนตะกอน (sediment) นำไปกระจายในสารละลาย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพาะเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค spread plate บนอาหารที่เหมาะสม เช่น lysogeny หรือ luria-bertani (LB) agar และเลี้ยงไว้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม[1] ตามชนิดของจุลินทรีย์

พร้อมทั้งมีผลของชุดควบคุมผลบวก (positive control) และชุดควบคุมผลลบ (negative control) ควบคู่กับตัวอย่างที่ตรวจสอบ ทั้งนี้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ต้องมีความจำเพาะกับเชื้อและยังอยู่ในอายุการใช้งาน (ต้องมีผลของ growth promotion test ของอาหารเลี้ยงเชื้อ)

[1] สภาวะที่เหมาะสม หมายถึง ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ ชนิดของอาหารที่ใช้ และความต้องการอากาศ (aeration) เป็นต้น

3. การตรวจสอบการคงเหลือของยีนดื้อยาปฏิชีวนะ

นำตัวอย่างปริมาตร100 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง ขนาดไม่เกิน 2.5 เซนติเมตร ความละเอียด 0.45 ไมโครเมตร นำแผ่นกรองที่ได้มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มเดือดในสารละลายบัฟเฟอร์ *TE* (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA pH 8.0) ปริมาตร 100 ถึง 200 ไมโครลิตร เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาที จากนั้นแช่ลงในน้ำแข็งทันที และดูดเฉพาะส่วนใสนำไปเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) นำผลิตผลจากปฏิกิริยา *PCR* ไปตรวจวิเคราะห์ด้วย polyacrylamide gel หรือ agarose gel electrophoresis โดยมีองค์ประกอบในปฏิกิริยา PCR ดังนี้

1) ไพร์เมอร์ (primer) ได้แก่ DNA primer ที่จำเพาะต่อยีนดื้อยายาปฏิชีวนะ
2) ชุดควบคุมผลลบ (negative control) ได้แก่ ดีเอ็นเอของจุลินทรีย์เจ้าบ้านที่ไม่ได้ดัดแปลงพันธุกรรม (host)
3) ชุดควบคุมผลบวก (positive control) ได้แก่ พาหะ (vector) ที่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ

ทั้งนี้กระบวนการข้างต้น สามารถปรับเปลี่ยนวิธีการเก็บตัวอย่างและวิธีการตรวจสอบได้ตามความเหมาะสมแล้วแต่กรณี

คณะกรรมการเทคนิคด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ

29 กันยายน 2564