

การทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์โคลิสตินใน เนื้อสัตว์ โดยเทคนิค LC-MS/MS

รัตติยา สบู่ทอง นันทพร จีวแดง เย็นฤทัย เศรษฐา อภิษฎา สังข์ทอง

บทคัดย่อ

การทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ออกแบบและดำเนินการตามแนวทางของ Commission Decision 2002/657/EC ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ LC-MS/MS Applied Biosystem รุ่น API4000 และ LC-MS/MS ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น LCMS – 8050 ผลของการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ได้ข้อสรุปดังนี้ วิธีวิเคราะห์มีความไวเพียงพอที่จะวัดปริมาณสารที่ระดับต่ำกว่าครึ่งหนึ่งของระดับความเข้มข้นของสารตกค้างสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้ ช่วงความเข้มข้นที่ทดลองทำการพิสูจน์ความเป็นเส้นตรง ได้แก่ 75-300 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และวิธีมีความจำเพาะกับสารตกค้างโคลิสตินเมื่อเปรียบเทียบกับสารตกค้างยาสัตว์ประเภทโพลีเพปไทด์ชนิดอื่น วิธีการวิเคราะห์ควรมีการพัฒนาต่อไปเพื่อให้มาตรฐานเกณฑ์การวิเคราะห์ผ่านตามเกณฑ์การพิสูจน์ความใช้ได้ทุกปัจจัยตามแนวมติคณะกรรมาธิการยุโรป 2002/657/EC

คำสำคัญ: การทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี โคลิสติน เนื้อสัตว์ LC-MS/MS

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์
กรมปศุสัตว์

**A trial of method validation of colistin in muscle
by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)**

Rattiya Saboothong Nuntaporn Ngiwdang Yenrutai Shettha Apichaya Sungthong

Abstract

A trial of method validation was designed and performed according to European Commission Decision 2002/657/EC. It was analysed by LC-MS/MS of Applied Biosystem, model API4000 and Shimadzu model LCMS – 8050. The results of the trial against method validation parameters were examined and demonstrated that the method is sensitive enough to quantify concentration of compounds at the lower at half of maximum residue limit (MRL), the working range that was examined is 75-300 microgram per kilogram. The specificity of colistin to this method was achievable when the analysis was performed with another group of polypeptides. However, the method needs further development to achieve the method validation parameters of the Commission Decision 2002/657/EC.

Key words: A trial of method validation, colistin, muscle, LC-MS/MS

Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products,
Department of Livestock Development

การทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์โคลิสตินในเนื้อสัตว์ โดยเทคนิค LC-MS/MS

รัตติยา สมนูทอง

นันทพร จิวแดง

เย็นฤทัย เศรษฐา

อภิษฎา สังข์ทอง

บทนำ

โคลิสตินหรือโพลีมิกซิน อี (colistin หรือ polymyxin E) ถูกนำมาใช้เป็นยาปฏิชีวนะทำลายเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* *Salmonella* spp. *Acinetobacter* spp. *Pseudomonas aeruginosa* *Klebsiella* spp. และ *Enterobacter* spp. (Falagas and Kasiakou, 2005) ในทางปศุสัตว์ โคลิสตินเริ่มถูกใช้ตั้งแต่ พ.ศ. 2493 (European Medicines Agency, 2016) เป็นยารักษาภายใต้การควบคุมของสัตวแพทย์ เพื่อยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในลำไส้หรืออาการท้องเสียรุนแรงจากเชื้อแบคทีเรียของสุกร เป็ด ไก่ และวัว แต่อย่างไรก็ตามควรให้ความสำคัญกับการให้ความรู้ในการใช้ยาแก่เกษตรกร และให้อยู่ในการกำกับดูแลของสัตวแพทย์อย่างใกล้ชิด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาสารตกค้างมาสู่ผู้บริโภค โดยกรมปศุสัตว์ได้ออกประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสารตกค้างสำหรับสินค้าปศุสัตว์ ซึ่งระบุปริมาณสารตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) ที่กำหนดให้พบได้ในสินค้าปศุสัตว์สำหรับโคลิสตินในสัตว์เพื่อบริโภคทุกชนิดระบุปริมาณให้พบได้ในกล้ามเนื้อ 150 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และในไข่ 300 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2549) สำหรับสหภาพยุโรปซึ่งเป็นกลุ่มประเทศผู้นำเข้าสินค้าปศุสัตว์ไทยรายสำคัญ ได้กำหนดมาตรฐานสารตกค้างในสินค้าปศุสัตว์ไว้เช่นกันซึ่งมีค่าเท่ากับที่ระบุไว้ในประกาศกรมปศุสัตว์ (European Commission, 2009)

อย่างไรก็ตามความสามารถของโคลิสตินในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย มาพร้อมกับผลข้างเคียงที่อันตราย เช่น เป็นพิษต่อไตและระบบประสาท จึงทำให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นที่มีความปลอดภัยมากกว่าโคลิสติน จนกระทั่ง พ.ศ. 2530 โคลิสตินได้ถูกนำกลับมาใช้ในการรักษาอีกครั้ง โดยได้รับการจัดอันดับเป็นยาขนานสุดท้ายสำหรับการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา (วิษณุ, 2552; นิธิมา และคณะ, 2558) แต่ปัจจุบันประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะลดลงอย่างมาก เพราะแบคทีเรียมีการปรับตัวให้ดื้อต่อยาปฏิชีวนะตลอดช่วง 30 ปีที่ผ่านมา ในขณะที่ไม่มียาปฏิชีวนะตัวใหม่ๆ มาใช้แทนที่ตัวเดิมที่ซึ่งมีประสิทธิภาพลดลง จึงทำให้เกิดปัญหาในการดื้อยาที่สำคัญ สำหรับประเทศไทย มีปัญหาการดื้อยาที่สำคัญ โดยเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในการเลี้ยง

สัตว์และในอาหาร คือ E. coli, Campylobacter spp. และ Salmonella spp. ซึ่งเป็นเชื้อดื้อยาที่สำคัญจากการจัดอันดับจากองค์การอนามัยโลก (คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2559) นอกจากนี้ Liu et al. (2015) ยังมีการค้นพบยีนดื้อยาโคลิสตินในฟาร์มสุกรในประเทศจีน ซึ่งเป็นยีนที่สามารถส่งต่อยีนดื้อยาข้ามสายพันธุ์ได้ (horizontal transferable resistance)

นอกจากนี้ยังมีการระบุไว้ในรายงานของ European Medicines Agency (2016) ว่าปัจจัยสำคัญในการพิจารณาและประเมินความเสี่ยงในการส่งต่อเชื้อดื้อยาจากสัตว์สู่คน คือ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ถึงแม้ว่าปัจจุบันจะยังไม่มีหลักฐานที่บ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อมาจากสัตว์สู่คนก็ตาม และนอกจากนี้แผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564 ยังระบุไว้ให้โคลิสตินเป็นยาต้านจุลชีพที่มีผลกระทบสำคัญต่อมนุษย์และสัตว์ที่ใช้เป็นสัญญาณเตือนระดับประเทศอีกด้วย (คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2559)

ดังนั้นงานวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์และฮอร์โมน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์ ผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ซึ่งรับผิดชอบในการตรวจวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ เห็นความสำคัญในการตรวจสอบสารตกค้างยาสัตว์โคลิสตินในเนื้อสัตว์เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการวางแผนการจัดการความปลอดภัยทางอาหารและประกอบการป้องกันเชื้อดื้อยาแพร่ระบาดในคนและสัตว์ จึงวางแผนเพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์และพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างโคลิสตินในกล้ามเนื้อไก่ โดยเทคนิค Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry ให้มีความไวเพียงพอที่จะตรวจสอบสารตกค้างดังกล่าวอย่างน้อยที่ระดับความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของปริมาณสารตกค้างสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในอาหาร (0.5 MRL) และสามารถยืนยันชนิดและปริมาณของโคลิสตินได้ และทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ตามปัจจัยต่างๆ ของเกณฑ์การประเมินสมรรถนะของสหภาพยุโรป (Commission Decision 2002/657/EC) เพื่อให้วิธีการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพที่จะดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้และนำไปใช้ในการเฝ้าระวังและตรวจติดตามการตกค้างของยาต้านจุลชีพในแผนการเฝ้าระวังประจำปีและมีความสอดคล้องกับประเด็นยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย

1. วัตถุประสงค์

เพื่อทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ว่ามีปัจจัยใดที่ต้องมีการปรับปรุงและพัฒนา เพื่อให้มีความพร้อม เหมาะสมที่จะใช้ยืนยันชนิดและปริมาณสารตกค้างโคลิสตินทั้ง 2 ชนิดในกล้ามเนื้อไก่และผ่านเกณฑ์ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป 2002/657/EC

2. ขอบข่าย

เพื่อทดสอบพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารตกค้างสารตกค้างยาปฏิชีวนะโคลิสติน เอ และบีในกล้ามเนื้อไก่ โดยเทคนิค LC-MS/MS

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้ประเมินความพร้อม ปัจจัยต่างๆที่ต้องปรับปรุง เพื่อให้วิธีมีความพร้อมในการดำเนินการพิสูจน์ความใช้ได้ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป 2002/657/EC เพื่อใช้เป็นวิธีวิเคราะห์สำหรับการตรวจตัวอย่างกิจกรรมตามแผนสารตกค้างประจำปี ซึ่งเป็นการตรวจรับรองคุณภาพสินค้าปศุสัตว์เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคทั้งภายในและภายนอกประเทศ

4. วิธีดำเนินการ

4.1 ค้นคว้า ทบทวนเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์สารตกค้าง คัดเลือกวิธีที่จะใช้ มาพัฒนาปรับปรุงให้เหมาะสม

4.2 จัดเตรียมสารเคมี สารมาตรฐาน วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่จำเป็น

4.3 ทำการทดลองสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีที่คัดเลือกไว้ ปรับเปลี่ยนวิธีสกัด และหาสภาวะของเครื่อง LC-MS/MS ที่เหมาะสม

4.4 วางแผน จัดเตรียมตัวอย่าง อุปกรณ์ และออกแบบการทดลองเพื่อพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS 2 เครื่อง ได้แก่

4.4.1 LC: Shimadzu 20A, MS/MS: Applied Biosystem รุ่น API4000, HPLC column ยี่ห้อ Waters รุ่น Cortecs+ ขนาด 2.7 μ m 3.0 x 50 mm

4.4.2 LC: Shimadzu LC-20ADXR, MS/MS: Shimadzu รุ่น LCMS-8050, HPLC column ยี่ห้อ Phenomenex รุ่น Kinetex C18 ขนาด 50 x 4.6 mm

4.5 ทำการทดสอบตัวอย่างตามแผนการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

4.6 สรุปผลการพัฒนาวิธีและการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

5. ผลการทดลอง

5.1 วิธีวิเคราะห์ที่ทำการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้มีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

สารตกค้างยาสัตว์สารตกค้างยาปฏิชีวนะโคลิสติน เอ และบีในกล้ามเนื้อไก่จะถูกสกัดออกมาจากตัวอย่างเนื้อสัตว์ ด้วย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 10% โดยปริมาตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วจึงเติมสารละลาย MeOH: 10% TCA ความเข้มข้น 50% โดย

ปริมาตร หลังจากนั้นเขย่าโดยเครื่องเขย่าแนวนอนความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วถ่ายส่วนใสด้านบนลงหลอดใหม่ เติม NaOH ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยสารละลาย 0.2 % formic acid: acetonitrile ความเข้มข้น 20:80 % โดยปริมาตร หลังจากนั้นเป็นขั้นตอนการสกัดด้วย SPE ชนิด C18

จากนั้นนำไปวิเคราะห์แยกสารด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ ชนิด C18 เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมแบบสัดส่วนไม่คงที่ ระหว่าง 0.2% formic acid ในน้ำ กับ acetonitrile และตรวจยืนยันชนิดและวัดปริมาณสารด้วย Triple Quadrupole Mass Spectrometer (MS/MS) โดยการตรวจวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) ที่เกิดจากแหล่งกำเนิดประจุบวกแบบเล็กไอออนบวก (ESI+) และใช้เทคนิค internal standard dilution mass spectrometry (IDMS) คือ การเติม internal standard ทุกหลอดในปริมาณเท่ากันตั้งแต่เริ่มต้น และใช้คำนวณกลับโดยการชดเชยส่วนที่สูญหายไปในแต่ละหลอด เพื่อให้คำนวณปริมาณสารได้ถูกต้องแม่นยำขึ้น

5.2 ผลการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

5.2.1 การทดลองด้วยเครื่อง LC: Shimadzu 20A, MS/MS: Applied Biosystem รุ่น API4000, HPLC column ยี่ห้อ Waters รุ่น Cortecs+ ขนาด 2.7 μm 3.0 x 50 mm

ผลการทดลองพบว่าการทดสอบ linearity of working range โดยวิเคราะห์เนื้อสัตว์ปลอดสาร (sample blank) ที่เติมสารตกค้างของโคลิสติน เอและบี 5 ระดับความเข้มข้น (ตามตารางที่ 1) และนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคของสาร ต่อพื้นที่ใต้พีคของ internal standard เพื่อศึกษาความเป็นเส้นตรง ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, r) ของกราฟมาตรฐาน 5 ระดับความเข้มข้น ต้องมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.991 (อ้างอิงจากคู่มือการพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามแนวมติคณะกรรมการอาหารยุโรป 2002/657/EC สพ.ญ สุจิตตรา พงศ์วิวัฒน์ 2555 หน้า 73) พบว่าการทดลองครั้งนี้ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับ เนื่องจากพบปัญหาว่า sensitivity ของเครื่อง LC-MS/MS ลดลงอย่างต่อเนื่องขณะทำการทดลอง ทำให้ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารไม่แปรผันตามสัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งมีความจำเป็นให้วิศวกรเครื่องมือต้องเข้ามาแก้ไขปัญหาและดำเนินการวิเคราะห์ใหม่อีกครั้ง

5.2.2 การทดลองด้วยเครื่อง LC: Shimadzu LC-20ADXR, MS/MS: Shimadzu รุ่น LCMS-8050, HPLC column ยี่ห้อ Phenomenex รุ่น Kinetex C18 ขนาด 50 x 4.6 mm

ผลการทดลองพบว่าการทดสอบ linearity of working range ของการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี พบว่าสารตกค้างโคลิสติน เอ ผ่านเกณฑ์การยอมรับที่กำหนดโดยงานวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์และฮอโมน คือ 0.995 แต่อย่างไรก็ตามสารตกค้างโคลิสติน บี ไม่ผ่านเกณฑ์การยอมรับสำหรับการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธี ครั้งที่ 2 และ 3 ซึ่งสังเกตพบว่าสัดส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารที่ระดับความเข้มข้นสุดท้ายไม่แปรผันตามความเข้มข้นของปริมาณสารตกค้างที่เติมลงในตัวอย่างปลอดสาร ซึ่งต้องทำการวิเคราะห์ต่อไปว่าอาจเกิดจากสาเหตุอะไรบ้างและทำการวิเคราะห์และทดสอบความใช้ได้อีกครั้ง

ตารางที่ 1 แสดงระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ linearity of working range

ลำดับ	สาร	ระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ Linearity of working range (µg/kg)				
		ระดับที่ 1	ระดับที่ 2	ระดับที่ 3	ระดับที่ 4	ระดับที่ 5
1	Colistin (A+B)	0	75	150	225	300

5.2.3 การทดสอบ Specificity โดยวิเคราะห์เนื้อสัตว์ปลอดสาร (sample blank) ที่เติมสารกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ เจนตาไมซิน นีโอมิซิน พาโรโมไมซิน อะพราไมซิน กานาไมซิน สเปคตินโนไมซิน ทั้งหมด 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 75 µg/kg พบว่าไม่พบสัญญาณรบกวน (interfere) และไม่พบพีคของสารกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ บริเวณ retention time window ของสารโคลิสตินเอ และ บี แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความจำเพาะต่อสารตกค้างยาสัตว์โคลิสติน

6. สรุปผลการทดลอง

การทดลองพิสูจน์ความใช้ได้วิธีวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์โคลิสตินในเนื้อสัตว์ โดยเทคนิค LC-MS/MS พบว่าจำเป็นต้องได้รับการพัฒนาเพื่อให้ได้สภาวะของเครื่องมือวิเคราะห์ที่เหมาะสม ผ่านเกณฑ์การยอมรับในทุกปัจจัยของการพิสูจน์ความใช้ได้ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป 2002/657/EC

7. ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนั้นสามารถวัดที่ระดับความเข้มข้นอย่างน้อยที่ระดับความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของปริมาณสารตกค้างสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในอาหาร (0.5 MRL) ได้ แต่เมื่อทำการทดลองพิสูจน์ความใช้ได้ของ

วิธีวิเคราะห์ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป 2002/657/EC ยังมีปัจจัยของเครื่องมือที่ต้องแก้ไข และนำมาปรับปรุงสถานะของเครื่องมือให้มีความพร้อมและเหมาะสม รวมถึงทำการตรวจสอบ สัญญาณรบกวนบริเวณใกล้เคียงกับโคลิสตินนั้น จะสามารถกำจัดได้ด้วยการปรับปรุงวิธีการสกัด หรือการปรับสถานะของเครื่องมือได้อย่างไร เพื่อให้การวิเคราะห์สารโคลิสติน เอและบี มีความสามารถในการทำซ้ำได้และนอกจากนี้ยังผ่านเกณฑ์การยอมรับในทุกปัจจัยของการพิสูจน์ ความใช้ได้ตามแนวมติคณะกรรมการยุโรป 2002/657/EC

8. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์ไพโรจน์ อารังโสภาส ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพ สัตว์ปีกที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงานและบุคลากรของงานวิเคราะห์สารตกค้างยาสัตว์ และฮอร์โมน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ในความร่วมมือนปฏิบัติงานให้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

9. เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง กำหนดมาตรฐาน สารตกค้างสำหรับสินค้าสัตว์. 12 กรกฎาคม 2549.

คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ. 2559. แผน ยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560–2564. กระทรวงสาธารณสุข และกระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

นิธิตา สุ่มประดิษฐ์, ศิริตรี สุทธิจิตต์, ลิตานันท์ พูลผลทรัพย์, รุ่งทิพย์ ชวนชื่น และภูษิต ประคองสาย. 2558.

ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย. สำนักพิมพ์ อักษรกราฟฟิคแอนดี้ไซน์, กรุงเทพฯ.

วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. 2551. โคลิสติน: ยาต้านจุลชีพสำหรับรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่เรื้อรัง ลบดื้อยา. เวชบัณฑิตยสาร 1(3): 152-158.

Decolin, D., P. Leroy and A. Nicolas.1997. Hyphenated liquid chromatographic method for the determination of colistin residues in bovine tissues. Journal of Chromatographic Science 35: 557-564.

European Commission. 2009. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on Pharmacologically active substances and their classification

regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union L15:1-72.

European Medicines Agency. 2016. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health 27 July 2016. European Medicines Agency, United Kingdom.

Falagas, M. E. and S. K. Kasiakou. 2005. Colistin: the revival of Polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Reviews of anti-infective agents 40:1333-1340.

Liu, Y. Y., Y. Wang, T.R. Walsh, L.X. Yi, R. Zhang, J. Spencer, Y. Doi, G. Tian, B. Dong, and X. Huang. 2015. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. The Lancet infectious diseases 16(2): 161-168.

Sin, D.W.M, C. Ho, Y.C. Wong, S.K. Ho and A.C.B. Ip. 2005. Analysis of major components of residual bacitracin and colistin in food samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 535: 23–31.