

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล (Results and Discussion)

4.1 ผลการประเมินความเสี่ยงระบบ Decontamination system (Autoclave & Hot air oven) ในระดับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพ

ในการประเมินความเสี่ยงของกระบวนการ การทำงาน และลักษณะเฉพาะของระบบ Decontamination system ซึ่งประกอบด้วยเครื่อง Autoclave และ Hot Air Oven โดยใช้วิธี FMEA พบว่าการกำหนดระดับของความรุนแรง (Severity) โอกาสการเกิด (Probability) และความสามารถในการตรวจพบ ความเสี่ยงต่างๆ (Detection) และกำหนดระดับความเสี่ยง (Risk level) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การกำหนดระดับของความรุนแรง (Severity) โอกาสการเกิด (Probability) และความสามารถในการตรวจพบ ความเสี่ยงต่างๆ (Detection) และกำหนดระดับความเสี่ยง (Risk level)

Probability	Risk level
Less than once per year	1
1 to less than 3 times per year	2
3 to less than 5 times per year	3
5 to less than 7 times per year	4
More than 7 times per year	5
Severity	Risk level
ไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของเครื่อง และไม่จำเป็นต้องแก้ไข	1
ทำให้เครื่องทำงานผิดพลาด แต่ยังสามารถแก้ไขได้ทันทีโดยผู้ใช้งาน ไม่จำเป็นต้องหยุดระบบการทำงาน	2
ทำให้เครื่องทำงานผิดพลาด ไม่สามารถแก้ไขได้ทันทีโดยผู้ใช้งาน แต่สามารถแก้ไขโดยผู้รับผิดชอบเครื่องมือ โดยระบบการทำงานของเครื่องยังคงดำเนินต่อไปและไม่หยุดการทำงานของเครื่อง	3
ทำให้เครื่องทำงานผิดพลาด ต้องหยุดระบบการทำงานของเครื่อง ไม่สามารถแก้ไขได้ทันทีโดยผู้ใช้งาน แต่สามารถแก้ไขโดยผู้รับผิดชอบเครื่องมือ	4
ทำให้เครื่องทำงานผิดพลาด ไม่สามารถแก้ไขได้ ต้องหยุดระบบการทำงานของเครื่อง และรอซ่อมแซมจากช่างผู้ชำนาญการเท่านั้น	5
Detection	Risk level
ตรวจพบได้ง่าย มีข้อมูลหรือหลักฐานที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และรับรู้ได้ทันทีว่ามีสิ่งผิดปกติ หรือได้ยินเสียงสัญญาณเตือนชัดเจน	1
ตรวจพบได้จากการใช้แผนการตรวจเช็ค มีข้อมูลหรือหลักฐานที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าถึงสิ่งผิดปกติ หรือได้ยินเสียงสัญญาณเตือนชัดเจน	2
ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยตาเปล่า ต้องอาศัยเครื่องมือตรวจวัด	3
ไม่สามารถตรวจพบได้โดยผู้ใช้งาน แต่สามารถตรวจพบได้โดยช่างผู้ชำนาญการ	4
ไม่สามารถตรวจพบข้อผิดพลาดได้เลย และ/หรือ ไม่มีแผนการตรวจเช็ค	5

ผลการประเมินความเสี่ยงของกระบวนการ การทำงาน และลักษณะเฉพาะของระบบ Decontamination system ซึ่งประกอบด้วยเครื่อง Autoclave และ Hot Air Oven ดังแสดงใน **ตารางที่ 4 และ 5**

ตารางที่ 4 ผลการประเมินความเสี่ยงเครื่อง Autoclave

Rating Question	Probability	Detectability	Severity	RPN
1. Control system				
1.1 ไฟฟ้าลัดวงจร	1	1	5	5
1.2 เครื่องไม่สามารถเปิดได้	2	1	3	2
1.3 ไม่สามารถปิดเครื่องได้	2	1	5	2
1.4 ตั้งโปรแกรมของเครื่องผิดพลาด	3	1	2	6
2. Personnel				
2.1 ประมาท	4	2	5	40
2.2 ไม่มีความรู้	1	2	5	10
3. Utility				
3.1 ไม่ได้เปิดท่อให้น้ำประปาเข้า	2	2	2	6
3.2 ไฟดับกระชั้นหัน	4	1	4	16
3.3 สัมเดมน้ำกลั่น	5	2	4	40
3.4 เครื่องดูดควันไม่ทำงาน	2	1	1	2
4. Environment				
4.1 Humidity ของ working area สูงหรือต่ำเกินไป	3	1	1	3
4.2 Temperature ของ working area สูงหรือต่ำเกินไป	3	1	1	3
5. Hardware				
5.1 อุณหภูมิไม่ถึงกับค่าที่ตั้งไว้	2	1	5	10
6. Equipment and assessor				
6.2 pneumatic valve	1	5	5	25
6.3 Compact CYL เสีย	1	5	5	25
7. Document				
7.1 คู่มือใช้งานเครื่องไม่สมบูรณ์/ไม่ปรับปรุง	2	1	1	2
7.2 ไม่มีเอกสาร Installation Qualification และ Operation Qualification	2	1	1	2
7.3 ไม่มีเอกสารสอบเทียบ	2	1	1	2
7.4 ไม่มีเอกสารบำรุงรักษา	2	1	1	2
Acceptance criteria	RPN < 2 x 2 x 2			

ตารางที่ 5 ผลการประเมินความเสี่ยงเครื่อง Hot air oven

Rating Question	Probability	Detectability	Severity	RPN
1. Control system				
1.1 ไฟฟ้าลัดวงจร	1	1	5	5
1.2 ตั้งโปรแกรมของเครื่องผิดพลาด	3	1	2	6
2. Personnel				
2.1 ประมาท	4	2	5	40
2.2 ไม่มีความรู้	1	2	5	10
3. Utility				
3.1 ไฟดับกระทันหัน	4	1	4	16
4. Environment				
4.1 Humidity ของ working area สูงหรือต่ำเกินไป	3	1	1	3
4.2 Temperature ของ working area สูงหรือต่ำเกินไป	3	1	1	3
5. Hardware				
5.1 อุณหภูมิไม่ถึงกับค่าที่ตั้งไว้	2	1	5	10
5.2 ไม่สามารถตั้งเวลาได้	1	1	5	5
6. Equipment and assessor				
6.1 พัดลมไม่ทำงาน	1	1	5	5
6.2 Temperature sensor เสีย	1	5	5	25
6.3 ไม่สามารถตั้งค่าโปรแกรมได้	1	1	5	5
6.4 หน้าจอเสีย	1	1	5	5
7. Document				
7.1 คู่มือใช้งานเครื่องไม่สมบูรณ์/ไม่ปรับปรุง	2	1	1	2
7.2 ไม่มีเอกสาร Installation Qualification และ Operation Qualification	2	1	1	2
7.3 ไม่มีเอกสารสอบเทียบ	2	1	1	2
7.4 ไม่มีเอกสารบำรุงรักษา	2	1	1	2
Acceptance criteria	$RPN < 2 \times 2 \times 2$			

จากนั้นนำผลการประเมินความเสี่ยงที่ได้ไปใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพระบบ Decontamination system (Autoclave & Hot air oven) ในระดับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพ รวมทั้งออกแบบโปรแกรมการสอบเทียบและบำรุงรักษาระบบ Decontamination system (Autoclave & Hot air oven) ในระดับห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพ

4.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้นโดยใช้เครื่อง Autoclave

เครื่อง Autoclave ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้น ซึ่งเป็นหนึ่งในระบบ Decontamination system จึงต้องมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องก่อนการใช้งาน โดยก่อนการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้นโดยใช้เครื่อง Autoclave ต้องมีการจัดทำโปรโตคอลประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ขอบเขต ผู้รับผิดชอบ การตรวจสอบเกณฑ์การยอมรับ เอกสารอ้างอิง ผู้จัดทำ ผู้มีอำนาจลงนาม ดังแสดงในภาคผนวก ข.

มีการจัดเตรียมเครื่องมือวัดอุณหภูมิ เครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพ โดยผลการตรวจสอบพบว่าเครื่องมือวัดอุณหภูมิและเครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ใช้คือ Data logger 3 ผ่านการสอบเทียบดังแสดงในภาคผนวก ง.และภาคผนวก จ. และมีการตรวจสอบใบ certificate ของ Biological indicator ที่ใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพ คือ spore strip และ spore suspension ของ *Geobacillus stearothermophilus* พบว่า Biological indicator ที่ใช้ยังไม่หมดอายุ และจำนวนสปอร์ของ spore strip มีค่า 1.8×10^6 CFU และ spore suspension ค่า 2.6×10^6 CFU ดังแสดงในภาคผนวก ฉ. และก่อนการใช้งาน Biological indicator ต้องทำการตรวจสอบจำนวนสปอร์ของ Biological indicator ว่าอยู่ในเกณฑ์คือ 1×10^6 CFU ที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง Autoclave ได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก. จากนั้นจึงเริ่มการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนขึ้นโดยใช้เครื่อง Autoclave

4.2.1 Heat Distribution Studies

4.2.1.1 Empty Chamber Temperature Distribution

การศึกษาเพื่อดูการกระจายความร้อนภายในตู้ขณะที่ตู้ว่าง และตรวจสอบถึงความคงที่และสม่ำเสมออย่างทั่วถึงของอุณหภูมิภายในเครื่อง Autoclave โดยใช้ Thermocouples ที่ผ่านการสอบเทียบ แล้วจำนวน 3 อันจะถูกจัดวางไว้ที่จุดต่าง ๆ ภายในเครื่อง Autoclave ดังแสดงในรูปที่ 30 จากนั้นดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดังแสดงในรูปที่ 31 โดยการทำการตรวจสอบ 3 ครั้ง พบว่าอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 121.37 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 0.07 ถึง 0.03 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.3 ถึง 0.4 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่าในช่วง (± 0.3) ถึง (± 0.4) องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่ว่างเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือบริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 2 และ 3 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. มีค่า indicating temperature ในช่วง 0.5 ถึง 0.7 องศาเซลเซียส ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการศึกษา Empty Chamber Temperature Distribution ของเครื่อง Autoclave

Channel	Sterile Phase : Empty chamber (°C)				
	Cycle 1 (121 °C 15 minutes)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.3	121.37	0.06	121.5	-0.07
2	121.4				0.03
3	121.4				0.03
Temperature stability			± 0.3		
Temperature Maximum			121.4		
Temperature Minimum			121.3		
Channel	Sterile Phase : Empty chamber (°C)				
	Cycle 2 (121 °C 15 minutes)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.3	121.37	0.06	121.5	-0.07
2	121.4				0.03
3	121.4				0.03
Temperature stability			± 0.4		
Temperature Maximum			121.4		
Temperature Minimum			121.3		
Channel	Sterile Phase : Empty chamber (°C)				
	Cycle 3 (121 °C 15 minutes)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.3	121.37	0.06	121.7	-0.07
2	121.4				0.03
3	121.4				0.03
Temperature stability			± 0.4		
Temperature Maximum			121.4		
Temperature Minimum			121.3		

4.2.1.2 Load Chamber Temperature Distribution

การศึกษาความสม่ำเสมอของอุณหภูมิที่มีผลกระทบจากรูปแบบการเรียง (load pattern) และจำนวนของที่เข้า autoclave ซึ่งจะศึกษาความสม่ำเสมอของอุณหภูมิภายใน chamber ของ autoclave เมื่อทำการจัดเรียงผลิตภัณฑ์ แบบ maximum load และ minimum load อย่างน้อย 1 ครั้ง โดยใช้ probes 3 อันวางตำแหน่งต่างๆ (ไม่ได้สอดเข้าไปในผลิตภัณฑ์) ของ chamber ดัง

แสดงในรูปที่ 32 และดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที ดังแสดงในรูปที่ 31 พบว่าการจัดเรียงผลิตภัณฑ์ แบบ maximum load มีอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 121.47 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 0.17 ถึง 0.13 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.3 ถึง 0.6 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่าในช่วง ± 2.0 องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่วางเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือบริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 3 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. มีค่า indicating temperature 0.6 องศาเซลเซียส ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 7 และการจัดเรียงผลิตภัณฑ์ แบบ minimum load มีอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 121.37 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 0.07 ถึง 0.03 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.3 ถึง 0.4 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่าในช่วง ± 0.4 องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่วางเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือบริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 2 และ 3 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. มีค่า indicating temperature 0.5 องศาเซลเซียส ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการศึกษา Load Chamber Temperature Distribution ของเครื่อง Autoclave

Channel	Sterile Phase : Maximum load (°C)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.3	121.47	0.15	121.6	-0.17
2	121.5				0.03
3	121.6				0.13
Temperature stability			± 2.0		
Temperature Maximum			121.6		
Temperature Minimum			121.3		
Channel	Sterile Phase : Minimum Load (°C)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.3	121.37	0.06	121.5	-0.07
2	121.4				0.03
3	121.4				0.03
Temperature stability			± 0.4		
Temperature Maximum			121.4		
Temperature Minimum			121.3		

4.2.2 Heat Penetration Studies

การศึกษาและประกันว่าผลิตภัณฑ์ตรงตำแหน่งที่ได้รับความร้อนน้อยที่สุดใน load pattern ได้รับความร้อนเพียงพอที่ทำให้ปราศจากเชื้อ และตำแหน่งที่ได้รับความร้อนสูงสุด ไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสลาย โดยทำการศึกษาแบบ Maximum load โดยทำการตรวจสอบ 3 ครั้ง โดยวาง thermocouples ในสิ่งของในตำแหน่งที่คาดว่าไอน้ำจะแพร่เข้าไปได้ยากที่สุด จากนั้นดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที ดังแสดงในรูปที่ 31 พบว่าอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 121.50 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 0.17 ถึง 0.17 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.3 ถึง 0.7 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่าในช่วง (± 2.0) ถึง (± 2.1) องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่วางเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือบริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 3 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. มีค่า indicating temperature ในช่วง 0.4 ถึง 0.7 องศาเซลเซียส ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการศึกษา Heat Penetration ของเครื่อง Autoclave

Channel	Sterile Phase : Maximum load (°C)				
	Cycle 1 (121 °C 15 minutes)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.3	121.47	0.15	121.6	-0.17
2	121.5				0.03
3	121.6				0.13
Temperature stability			± 2.0		
Temperature Maximum			121.6		
Temperature Minimum			121.3		
Channel	Sterile Phase : Maximum load (°C)				
	Cycle 2 (121 °C 15 minutes)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.4	121.53	0.15	121.4	-0.13
2	121.5				0.03
3	121.7				0.17
Temperature stability			± 2.1		
Temperature Maximum			121.7		
Temperature Minimum			121.4		

Channel	Sterile Phase : Maximum load (°C)				
	Cycle 3 (121 °C 15 minutes)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	121.4	121.50	0.10	121.7	-0.10
2	121.5				0.00
3	121.6				0.10
Temperature stability			± 2.0		
Temperature Maximum			121.4		
Temperature Minimum			121.3		

4.2.3 Microbiological Challenge Studies

การศึกษาความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ ภายใต้สภาวะที่กำหนดโดยใช้ Biological Indicators (BI) ดังแสดงในรูปที่ 34 ซึ่งเป็นตัวแทนของสปอร์จุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูง เพื่อทดสอบความสามารถทำลายสปอร์จุลินทรีย์ โดยการทำการ loaded chamber microbiological challenge studies ไปพร้อม ๆ กับการทำการศึกษา heat penetration โดยใช้ spore strip และ spore suspension ของ *Geobacillus stearothermophilus* ซึ่งมีจำนวนสปอร์ 1.8×10^6 CFU และ 2.6×10^6 CFU ตามลำดับ การวาง spore strip และ spore suspension ควรวางในตำแหน่งคู่กับ penetration thermocouple ดังแสดงในรูปที่ 35 และ 36 จากนั้นดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที ดังแสดงในรูปที่ 31 หลังเสร็จสิ้นการทำให้ปราศจากเชื้อ นำตัวอย่าง spore strip และ spore suspension ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาที บ่มตัวอย่าง spore strip และ spore suspension, positive control (non-sterilized spore strips) และ negative control (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ Biological Indicators) ใน incubator ที่อุณหภูมิ 57 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ± 12 ชั่วโมง หลังการบ่ม พบว่าตัวอย่าง spore strip, spore suspension และ negative control ไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่นหรือไม่มีการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ (ยังคงเป็นสีม่วง) และ positive control มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นหรือมีการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 48 และตารางที่ 9 ตารางที่ 9 ผลการศึกษา Microbiological Challenge Studies ของเครื่อง Autoclave

Sample Name	Position	Test result		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
<i>G. Stearothermophilus</i> spore strip (1.8×10^6 CFU)	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
<i>G. Stearothermophilus</i> spore suspension (2.6×10^6 CFU)	5	-	-	-
	6	-	-	-
	7	-	-	-
	8	-	-	-

Sample Name	Position	Test result		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
Negative control (media ของ spore strip)		-	-	-
Negative control (media ของ spore suspension)		-	-	-
Positive control (<i>G. Stearotherophilus</i> , spore strip 1.8×10^6 CFU)		+	+	+
Positive control (<i>G. Stearotherophilus</i> , spore suspension 2.6×10^6 CFU)		+	+	+
Acceptance criteria: 1) The negative control and test sample must have no growth of microorganisms (no turbidity or no color change from purple to yellow (-)). 2) The positive control must have growth of microorganisms (turbidity or a color change from purple to yellow (+)).				

Cycle 1 (121 °C 15 minute) : Maximum load											
											
Positive	Negative	1	2	3	4	Positive	Negative	5	6	7	8
Cycle 2 (121 °C 15 minute) : Maximum load											
											
Positive	Negative	1	2	3	4	Positive	Negative	5	6	7	8
Cycle 3 (121 °C 15 minute) : Maximum load											
											
Positive	Negative	1	2	3	4	Positive	Negative	5	6	7	8

รูปที่ 48 แสดงผลการศึกษา Microbiological Challenge Studies ของเครื่อง Autoclave

4.3 การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้งโดยใช้เครื่อง Hot Air Ovens

เครื่อง Hot air oven ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้ง ซึ่งเป็นหนึ่งในระบบ Decontamination system จึงต้องมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องก่อนการใช้งาน โดยก่อนการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้งโดยใช้เครื่อง Hot air oven ต้องมีการจัดทำโปรโตคอลประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ขอบเขต ผู้รับผิดชอบ การตรวจสอบเกณฑ์การยอมรับเอกสารอ้างอิง ผู้จัดทำ ผู้มีอำนาจลงนาม ดังแสดงในภาคผนวก ซ.

มีการจัดเตรียมเครื่องมือวัดอุณหภูมิ เครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพ โดยผลการตรวจสอบพบว่าเครื่องมือวัดอุณหภูมิและเครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ใช้คือ Data logger 9 ผ่านการสอบเทียบดังแสดงในภาคผนวก ง. และภาคผนวก จ. และมีการตรวจสอบใบ certificate ของ Biological indicator ที่ใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพ คือ spore strip ของ Bacillus atrophaeus พบว่า Biological indicator ที่ใช้ยังไม่หมดอายุ และจำนวนสปอร์ของ spore strip มีค่า 2.2×10^6 CFU ดังแสดงในภาคผนวก ฉ. และก่อนการใช้งาน Biological indicator ต้องทำการตรวจสอบจำนวนสปอร์ของ Biological indicator ว่าอยู่ในเกณฑ์คือ 1×10^6 CFU ที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง Hot air oven ได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก. จากนั้นจึงเริ่มการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำให้ปราศจากเชื้อด้วยความร้อนแห้งโดยใช้เครื่อง Hot air oven

4.3.1 Heat Distribution Studies

4.3.1.1 Empty Chamber Temperature Distribution

การศึกษาเพื่อดูการกระจายความร้อนภายในตู้ขณะที่ตั้งว่าง และตรวจสอบถึงความคงที่และสม่ำเสมออย่างทั่วถึงของอุณหภูมิภายในเครื่อง Hot air oven โดยใช้ Thermocouples ที่ผ่านการ calibrate แล้วจำนวน 9 อันจะถูกจัดวางไว้ที่จุดต่าง ๆ ภายในเครื่อง Hot air oven ดังแสดงในรูปที่ 39 โดยไม่ให้ probe สัมผัสกับพื้นผิวด้านในของ chamber ด้วยการใช้อุปกรณ์ เช่น เชือก ตัวหนีบหรือกระดาษกาวช่วยในการแขวนหรือยึดเครื่องมือวัดอุณหภูมิ ดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 40 โดยการทำการตรวจสอบ 3 ครั้ง พบว่าอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 180.83 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 2.64 ถึง 1.47 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.25 ถึง 2.37 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่าในช่วง (± 0.11) ถึง (± 0.15) องศาเซลเซียส มีค่า temperature uniformity 2.29 ถึง 2.33 องศาเซลเซียส มีค่า overall variation 4.24 องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่วางเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือบริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 5 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการศึกษา Empty Chamber Temperature Distribution ของเครื่อง Hot air oven

Channel	Sterile Phase : Empty chamber (°C)				
	Cycle 1 (180 °C 3 hours)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	178.06	180.70	1.41	180.00	-2.64
2	180.47				-0.23
3	180.40				-0.30
4	179.30				-1.40
5	182.13				1.43
6	182.10				1.40
7	182.02				1.32
8	181.60				0.90
9	180.25				-0.45
temperature uniformity			2.31		
overall variation			4.24		
Temperature stability			± 0.15		
Temperature Maximum			182.13		
Temperature Minimum			178.06		
Channel	Sterile Phase : Empty chamber (°C)				
	Cycle 2 (180 °C 3 hours)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	178.24	180.88	1.40	180.00	-2.64
2	180.66				-0.22
3	180.65				-0.23
4	179.49				-1.39
5	182.35				1.47
6	182.27				1.39
7	182.17				1.29
8	181.70				0.82
9	180.43				-0.45
temperature uniformity			2.29		
overall variation			4.24		
Temperature stability			± 0.14		
Temperature Maximum			182.35		
Temperature Minimum			178.24		

Channel	Sterile Phase : Empty chamber (°C)				
	Cycle 3 (180 °C 3 hours)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	178.28	180.92	1.38	180.00	-2.64
2	180.67				-0.25
3	180.72				-0.20
4	179.56				-1.36
5	182.37				1.45
6	182.29				1.37
7	182.19				1.27
8	181.70				0.78
9	180.50				-0.42
temperature uniformity			2.33		
overall variation			4.24		
Temperature stability			± 0.11		
Temperature Maximum			182.37		
Temperature Minimum			178.28		

4.3.1.2 Load Chamber Temperature Distribution

การศึกษาความสม่ำเสมอของอุณหภูมิที่มีผลกระทบจากรูปแบบการเรียง (load pattern) และจำนวนของที่เข้า Hot air oven ซึ่งจะศึกษาความสม่ำเสมอของอุณหภูมิภายใน chamber ของ Hot air oven เมื่อทำการจัดเรียงผลิตภัณฑ์ แบบ maximum load อย่างน้อย 1 ครั้ง โดยใช้ probes 9 อันวางตำแหน่งต่างๆ (ไม่ได้สอดเข้าไปในผลิตภัณฑ์) ของ chamber ดังแสดงในรูปที่ 41 และดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 40 พบว่าการจัดเรียงผลิตภัณฑ์ แบบ maximum load มีอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 180.71 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 3.54 ถึง 2.72 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.09 ถึง 3.43 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่า ±0.20 องศาเซลเซียส มีค่า temperature uniformity 3.79 องศาเซลเซียส มีค่า overall variation 6.49 องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่วางเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือ บริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 8 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลการศึกษา Load Chamber Temperature Distribution ของเครื่อง Hot air oven

Channel	Sterile Phase (180 °C 3 hours) : Maximum Load (°C)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	177.17	180.71	2.24	180.00	-3.54
2	179.42				-1.29
3	179.04				-1.67
4	179.43				-1.28
5	181.55				0.84
6	183.37				2.66
7	183.09				2.38
8	183.43				2.72
9	179.91				-0.80
temperature uniformity			3.79		
overall variation			6.49		
Temperature stability			± 0.20		
Temperature Maximum			183.43		
Temperature Minimum			177.17		

4.3.2 Heat Penetration Studies

การศึกษาและประกันว่าผลิตภัณฑ์ตรงตำแหน่งที่ได้รับความร้อนน้อยที่สุดใน load pattern ได้รับความร้อนเพียงพอที่ทำให้ปราศจากเชื้อ และตำแหน่งที่ได้รับความร้อนสูงสุด ไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสลาย โดยทำการศึกษาแบบ Maximum load โดยทำการตรวจสอบ 3 ครั้ง โดยวาง thermocouples ในสิ่งของในตำแหน่งที่คาดว่าความร้อนจะแพร่เข้าไปได้ยากที่สุด จากนั้นดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อในช่วง sterilization cycle คือ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 40 พบว่าอุณหภูมิโดยเฉลี่ยคือ 180.60 องศาเซลเซียส ค่าเฉลี่ยของการกระจายของอุณหภูมิภายในตู้ คือ - 3.54 ถึง 2.72 องศาเซลเซียส และพบว่า thermocouples แต่ละอันอ่านค่าได้ในช่วงอุณหภูมิแตกต่างกันในช่วง 0.09 ถึง 3.49 องศาเซลเซียส มีค่า temperature stability ของ thermocouples แต่ละอันมีค่าในช่วง (±0.17) ถึง (±0.20) องศาเซลเซียส มีค่า temperature uniformity 3.72 ถึง 3.79 องศาเซลเซียส มีค่า overall variation 6.20 ถึง 6.49 องศาเซลเซียส และพบว่าเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 อ่านค่าอุณหภูมิได้ต่ำที่สุด ดังนั้นบริเวณที่วางเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 1 คือ บริเวณที่เย็นที่สุด (cold spot) และเทอร์โมคัปเปิ้ลเส้นที่ 6 อ่านค่าอุณหภูมิได้สูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 30 และภาคผนวก ค. ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการศึกษา Heat Penetration ของเครื่อง Hot air oven

Channel	Sterile Phase: Maximum Load (°C)				
	Cycle 1 (180 °C 3 hours)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	177.17	180.71	2.24	180.00	-3.54
2	179.42				-1.29
3	179.04				-1.67
4	179.43				-1.28
5	181.55				0.84
6	183.37				2.66
7	183.09				2.38
8	183.43				2.72
9	179.91				-0.80
temperature uniformity			3.79		
overall variation			6.49		
Temperature stability			± 0.20		
Temperature Maximum			183.43		
Temperature Minimum			177.17		
Channel	Sterile Phase: Maximum Load (°C)				
	Cycle 2 (180 °C 3 hours)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	177.05	180.42	2.15	180.00	-3.37
2	179.15				-1.27
3	179.04				-1.38
4	178.99				-1.43
5	181.45				1.03
6	183.03				2.61
7	182.81				2.39
8	182.80				2.38
9	179.47				-0.95
temperature uniformity			3.72		
overall variation			6.20		
Temperature stability			± 0.17		
Temperature Maximum			183.03		
Temperature Minimum			177.05		

Channel	Sterile Phase: Maximum Load (°C)				
	Cycle 1 (180 °C 3 hours)				
	(1) Average channel temperature	(2) Average Autoclave temperature	SD	Indicating temperature reading	Temperature deviation (1) - (2)
1	177.25	180.67	2.20	180.00	-3.42
2	179.61				-1.06
3	179.19				-1.48
4	178.88				-1.79
5	181.76				1.09
6	183.49				2.82
7	182.84				2.17
8	183.15				2.48
9	179.85				-0.82
temperature uniformity			3.76		
overall variation			6.42		
Temperature stability			± 0.19		
Temperature Maximum			183.43		
Temperature Minimum			177.17		

4.3.3 Microbiological Challenge Studies

การศึกษาความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ ภายใต้สภาวะที่กำหนดโดยใช้ Biological Indicators (BI) ดังแสดงในรูปที่ 43 ซึ่งเป็นตัวแทนของสปอร์จุลินทรีย์ที่ทนความร้อนสูง เพื่อทดสอบความสามารถทำลายสปอร์จุลินทรีย์ โดยการทำให้ loaded chamber microbiological challenge studies ไปพร้อม ๆ กับการทำการศึกษา heat penetration โดยใช้ spore strip ของ *Bacillus atrophaeus* ซึ่งมีจำนวนสปอร์ 2.2×10^6 CFU การวาง spore strip ควรวางในตำแหน่งคู่กับ penetration thermocouple ดังแสดงในรูปที่ 44 และ 45 จากนั้นดำเนินการทำให้ปราศจากเชื้อ ในช่วง sterilization cycle คือ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 40 หลังเสร็จสิ้นการทำให้ปราศจากเชื้อ นำตัวอย่าง spore strip ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปล่อยให้เย็นลงที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาที บ่มตัวอย่าง spore strip, positive control (non-sterilized spore strips) และ negative control (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ Biological Indicators) ใน incubator ที่อุณหภูมิ 33 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ± 12 ชั่วโมง หลังการบ่ม พบว่าตัวอย่าง spore strip, spore suspension และ negative control ไม่มีการเจริญของ เชื้อจุลินทรีย์ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่น และ positive control มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ คือ อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น ดังแสดงในรูปที่ 49 และตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการศึกษา Microbiological Challenge Studies ของเครื่อง Hot air oven

Sample Name	Position	Test result		
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
<i>Bacillus atrophaeus</i> spore strip (2.2×10^6 CFU)	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
	5	-	-	-
	6	-	-	-
	7	-	-	-
	8	-	-	-
	9	-	-	-
Negative control (media)		-	-	-
Positive control (<i>Bacillus atrophaeus</i> , spore strip 2.2×10^6 CFU)		+	+	+
Acceptance criteria: 1) The negative control and test sample must have no growth of microorganisms (no turbidity (-)). 2) The positive control must have growth of microorganisms (turbidity (+)).				



รูปที่ 49 แสดงผลการศึกษา Microbiological Challenge Studies ของเครื่อง Autoclave