

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusions and Recommendations)

งานวิจัยฉบับนี้จึงทำการศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาโดยใช้ Microbial Limit Test Method ซึ่งประกอบด้วย Pour plate method และ Membrane Filtration method ผลการศึกษาพบว่า negative control (peptone water) ทั้งหมด ไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นดังแสดงในตารางที่ 12 positive control ทั้งหมดมีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 6538 และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ดังแสดงในตารางที่ 12 water sample ทั้งหมดไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดังแสดงในตารางที่ 12 spike sample plate ทั้งหมดไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นดังแสดงในตารางที่ 12 ผลการศึกษาความแม่นยำของวิธีการตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาโดยใช้ Microbial Limit Test Method พบว่ามี % recovery ของวิธีการตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำ อยู่ในช่วง 89-117% สำหรับวิธี membrane filtration และ 75-107% สำหรับวิธี pour plate ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ (70-130%) ดังแสดงในตารางที่ 13 สำหรับการศึกษาการทวนซ้ำได้ (Repeatability) และ Intermediate precision ของวิธีการตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาโดยใช้ Microbial Limit Test Method พบว่าสัมประสิทธิ์ร้อยละของการเปลี่ยนแปลง (%CV) อยู่ในช่วงของค่าเกณฑ์การยอมรับคือ 15, 25 หรือ 35% ดังแสดงในตารางที่ 13 ทุกการทดสอบของการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาโดยใช้ Microbial Limit Test Method พบว่าผลการทดสอบที่ได้ผ่านตามเกณฑ์การยอมรับทุกการทดสอบ โดยไม่มีการเบี่ยงเบนใด ๆ จากที่ระบุไว้ จากการดำเนินงานวิจัยฉบับนี้ ยังขยายผลออกไปถึงการสร้างบุคลากรซึ่งมีความเชี่ยวชาญในด้านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทดสอบตามมาตรฐาน GMP และการจัดทำโปรโตคอล รวมทั้งการดำเนินการตรวจตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทดสอบและจัดทำรายงานสรุปผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ เพื่อรองรับความต้องการของอุตสาหกรรมยา ซึ่งต้องดำเนินการตาม GMP ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องการกำหนดรายละเอียดเกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการในการผลิตยาแผนปัจจุบัน ตามกฎหมายว่าด้วยยา พ.ศ. 2554

ตารางที่ 12 แสดงผลในหน่วย CFU ของ negative control, positive control, water sample และ spiked samples plate

Pour Plate Method					
Parameter	Number of colonies (CFU) on PCA plates				
	Negative control	Positive control		Water Sample	
		150-300 CFU	20-50 CFU		
Analyst 1	$<1 \pm 0.00$	175 ± 14.03	36 ± 4.47	$<1 \pm 0.00$	
Analyst 2	$<1 \pm 0.00$	195 ± 7.61	36 ± 4.47	$<1 \pm 0.00$	
Analyst 3	$<1 \pm 0.00$	181 ± 10.92	35 ± 5.31	$<1 \pm 0.00$	
Parameter	Spiked microbiological suspension (150 – 300 CFU) at the volume of				
	0.10 ml	0.25 ml	0.50 ml	0.75 ml	1.00 ml
Analyst 1	17 ± 4.81	46 ± 6.67	87 ± 8.87	130 ± 8.13	177 ± 13.84
Analyst 2	16 ± 3.78	42 ± 6.12	83 ± 9.37	130 ± 12.50	201 ± 10.08
Analyst 3	20 ± 4.43	48 ± 6.11	91 ± 7.50	133 ± 10.67	186 ± 10.22
Parameter	Spiked microbiological suspension (20 – 50 CFU) at the volume of				
	0.10 ml	0.25 ml	0.50 ml	0.75 ml	1.00 ml
Analyst 1	3 ± 0.74	8 ± 1.93	17 ± 1.89	25 ± 3.09	36 ± 4.86
Analyst 2	3 ± 0.92	9 ± 2.46	17 ± 2.50	26 ± 2.22	36 ± 4.66
Analyst 3	3 ± 0.84	9 ± 1.70	16 ± 3.17	25 ± 2.75	35 ± 4.67
Values are mean $\pm$ SD of 10 replicates analysis.					
Membrane Filtration Method					
Parameter	Number of colonies (CFU) on PCA plates				
	Negative control	Positive control		Water Sample	
		100-200 CFU	10-50 CFU		
Analyst 1	$<1 \pm 0.00$	193 ± 8.50	36 ± 4.14	$<1 \pm 0.00$	
Analyst 2	$<1 \pm 0.00$	185 ± 10.31	37 ± 4.48	$<1 \pm 0.00$	
Analyst 3	$<1 \pm 0.00$	185 ± 10.77	37 ± 3.54	$<1 \pm 0.00$	
Parameter	Spiked microbiological suspension (100 – 200 CFU) at the volume of				
	0.10 ml	0.25 ml	0.50 ml	0.75 ml	1.00 ml
Analyst 1	22 ± 3.21	57 ± 6.94	98 ± 9.12	157 ± 11.27	195 ± 8.96
Analyst 2	19 ± 2.91	48 ± 6.69	81 ± 7.60	121 ± 8.69	177 ± 12.69
Analyst 3	21 ± 4.00	51 ± 7.47	102 ± 4.12	145 ± 6.80	183 ± 7.89
Parameter	Spiked microbiological suspension (10 – 50 CFU) at the volume of				
	0.10 ml	0.25 ml	0.50 ml	0.75 ml	1.00 ml
Analyst 1	3 ± 4.14	8 ± 2.21	17 ± 2.11	26 ± 2.16	37 ± 3.24
Analyst 2	3 ± 4.48	9 ± 2.35	19 ± 1.71	25 ± 3.06	37 ± 4.23
Analyst 3	3 ± 3.54	9 ± 2.39	19 ± 2.95	26 ± 3.84	36 ± 4.89
Values are mean $\pm$ SD of 10 replicates analysis.					

ตารางที่ 13 ผลการศึกษาความแม่นยำและความเที่ยงของการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการตรวจสอบหาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาโดยใช้วิธี Microbial limit test ประกอบด้วย วิธี pour plate และวิธี membrane filtration

Pour Plate Method						
CFU per plate	Accuracy		Repeatability		Intermediate Precision	
	% Recovery		Maximum allowable %CV	Experimental %CV	Maximum allowable %CV	Experimental %CV
	Acceptance criteria	Results				
30 - 300	70 – 130%	102 - 107%	15%	8 – 15%	15%	8 – 14%
10 - 30	70 – 130%	82 – 101%	25%	12 - 20%	25%	10 – 23%
<10	70 – 130%	75 –97%	35%	22 – 25%	35%	23 – 28%
Membrane Filtration Method						
CFU per plate	Accuracy		Repeatability		Intermediate Precision	
	% Recovery		Maximum allowable %CV	Experimental %CV	Maximum allowable %CV	Experimental %CV
	Acceptance criteria	Results				
20 - 200	70 – 130%	97 – 117 %	15%	5 – 13%	15%	6 – 13%
10 - 20	70 – 130%	95 – 110 %	25%	9 – 15%	25%	10 – 15%
<10	70 – 130%	89 – 100%	35%	23 – 28%	35%	24 – 28%