

ข้อแนะนำเกี่ยวกับการบำรุงรักษา สอบเทียบ ทวนสอบ เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทดสอบทางจุลชีววิทยา

เรียบเรียงโดย ดร. รวีวรรณ อาจสำอาง

บทความนี้เป็นแนวทางสำหรับห้องปฏิบัติการทดสอบทางจุลชีววิทยาในการดำเนินงานเรื่องการบำรุงรักษา สอบเทียบ ทวนสอบเครื่องมือเพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 เรียบเรียงจาก EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories (July 2002 rev02)

ตาม ISO/IEC 17025:2005 ข้อ 5.5 ระบุว่า ส่วนหนึ่งของระบบคุณภาพ ห้องปฏิบัติการต้องจัดให้มีโปรแกรมของการบำรุงรักษา การสอบเทียบ และการทวนสอบเครื่องมือ โดยจัดทำไว้เป็นลายลักษณ์อักษร

การบำรุงรักษา

การบำรุงรักษาเครื่องมือที่สำคัญต้องทำตามระยะเวลาที่ระบุไว้โดยตัดสินจากปัจจัยของความถี่ในการใช้งาน ต้องจัดเก็บบันทึกในการบำรุงรักษาไว้ ตัวอย่างของการบำรุงรักษาและระยะเวลาแสดงในตารางที่ 1

ควรให้ความระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนข้ามจากเครื่องมือ

- อุปกรณ์ที่ใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง (disposable) ต้องแน่ใจว่าสะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อก่อนใช้งาน
- เครื่องแก้วที่ต้องใช้ซ้ำหลายครั้ง (re-used glassware) ควรจะมีการล้างทำความสะอาดและมีการฆ่าเชื้ออย่างเหมาะสมก่อนใช้งาน
- ห้องปฏิบัติการควรจัดให้มีหม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave) แยกใช้เฉพาะสำหรับใช้ฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปนเปื้อนแล้ว และทำลายเชื้อในภาชนะโดยเฉพาะ อย่างไรก็ตามหากมีหม้อนึ่งอัดความดันเพียงเครื่องเดียวในห้องปฏิบัติการก็เป็นที่ยอมรับได้ ถ้าห้องปฏิบัติการนั้นแสดงให้เห็นว่ามีมาตรการระวังอย่างพอเพียงในการใช้งานหม้อนึ่งอัดความดัน โดยแยกใช้งานระหว่างการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปนเปื้อนแล้ว (decontamination) กับการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนำมาใช้กับการทดสอบ (sterilization) และห้องปฏิบัติการได้จัดให้มีโปรแกรมการทำความสะอาดจัดทำเป็นเอกสารไว้

โดยปกติแล้วเครื่องมือ หรืออุปกรณ์ต้องจัดให้มีการบำรุงรักษา การทำความสะอาด การตรวจสอบความเสียหาย และการทวนสอบการฆ่าเชื้อ สามารถแยกได้ดังนี้

- เครื่องมือต่างๆ ไป ได้แก่ อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับกรอง (filtration apparatus) ขวดหรือหลอดทดลองที่ทำด้วยแก้วหรือพลาสติก งานเพาะเชื้อที่ทำด้วยแก้วหรือพลาสติก เครื่องมือที่ใช้ในการสูมตัวอย่าง ลูบเขี่ยเชื้อที่ทำจาก platinum, nickel/chromium หรือทำจากพลาสติกที่เป็นแบบใช้ครั้งเดียว
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water baths) ตู้บเพาะเชื้อ (incubators) หม้อนึ่งอัดความดัน เครื่องปั่น (homogenisers) ตู้เย็น (fridges) ตู้แช่แข็ง (freezers)
- เครื่องวัดปริมาตร ได้แก่ ปิเปต (pipettes) เครื่องจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (automatic dispensers) สไปรอลเพลตเตอร์ (spiral platers)
- เครื่องมือวัดต่างๆ ได้แก่ เทอร์โมมิเตอร์ (thermometers) เครื่องจับเวลา (timers) เครื่องชั่ง (balances) เครื่องวัดความเป็นกรด ด่าง (pH meters) เครื่องนับโคโลนี (colony counters)

การสอบเทียบและการทวนสอบความสามารถของเครื่องมือ

ห้องปฏิบัติการต้องจัดทำโปรแกรมการสอบเทียบและการทวนสอบความสามารถของเครื่องมือที่มีผลกระทบต่อ การทดสอบ ความถี่ของการสอบเทียบ ทวนสอบตัดสินโดยประสบการณ์ที่ระบุไว้ในเอกสารและโดยยึดพื้นฐานของความ ต้องการ ชนิดและประวัติของการใช้ เครื่องมือที่ผ่านมา ระยะเวลาระหว่างการสอบเทียบและการทวนสอบควรสั้นกว่า ระยะเวลาที่เครื่องมือถูกตรวจพบว่ามีค่าเบี่ยงเบนออกจากค่าที่ยอมรับได้ ตัวอย่างของความถี่ในการสอบเทียบและการ ทวนสอบเครื่องมือต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

เครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิ (Temperature measurement devices)

- เมื่ออุณหภูมิส่งผลกระทบต่อเครื่องมือที่ใช้ในการสอบเทียบ ได้แก่ liquid-in-glass thermometer, thermocouples และ platinum resistance thermometer ที่ใช้สอบเทียบต้องเพาะเชื้อและหม้อนึ่งอัดความดัน ต้องมีคุณภาพเหมาะสมเพื่อที่จะให้ค่าอุณหภูมิตามความแม่นยำที่ต้องการได้ (accuracy required)
- เครื่องมือดังกล่าวต้องสามารถสอบกลับได้ไปยังมาตรฐานแห่งชาติหรือมาตรฐานระหว่างประเทศ เครื่องมือ เหล่านี้ใช้วัดอุณหภูมิในตู้เย็น ตู้แช่แข็ง ตู้บเพาะเชื้อ และอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ โดยคำนึงถึงค่าที่ยอมรับ ได้ของค่าที่ต้องการวัด เครื่องวัดอุณหภูมิเหล่านี้ต้องจัดให้มีการทวนสอบถ้าจำเป็น

ตู้บเพาะเชื้อ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ และตู้อบ (Incubators, water baths, ovens)

ความคงที่ของอุณหภูมิและความสม่ำเสมอของการกระจายของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ถึงสภาวะสมดุลย์ในตู้บเพาะเชื้อ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ตู้อบ และห้องควบคุมอุณหภูมิ ต้องมีการจัดทำในครั้งแรกก่อนจะนำเครื่องมือมาใช้ งานและจัดทำไว้เป็นเอกสาร โดยคำนึงถึงลักษณะการใช้งาน (ตัวอย่างเช่น ตำแหน่งที่ใช้งาน ระยะห่าง ความสูงของแต่ละ ชั้นหรือความสูงของจานเพาะเชื้อที่วาง) ลักษณะเฉพาะของเครื่องมือแต่ละอันที่บันทึกไว้เป็นเอกสารครั้งแรกก่อนนำมา ใช้งานต้องมีการตรวจสอบอีกครั้งและบันทึกไว้ ถ้าเครื่องมือนั้นมีการซ่อมแซมหรือปรับปรุง และห้องปฏิบัติการต้องจัด ให้มีการเฝ้าระวังอุณหภูมิเมื่อมีการใช้งานและบันทึกไว้

หม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave) รวมถึงเครื่องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (media preparators)

ต่อไปนี้จะกล่าวถึงแนวทางสำหรับการสอบเทียบ การจัดทำ และการเฝ้าระวังการทำงานของหม้อนึ่งอัดความดัน อย่างไรก็ตามหากมีการใช้วัสดุหรืออุปกรณ์ที่ทดสอบได้เชิงปริมาณที่ใช้ในหม้อนึ่งอัดความดัน ก็สามารถแสดงถึงความ เหมาะสมของการเปลี่ยนแปลงระหว่างภายใน batch เดียวกัน หรือ batch ต่างกัน ซึ่งใช้แทนการประกันคุณภาพได้อีกวิธีหนึ่ง

- หม้อนึ่งอัดความดันต้องมีความสามารถในการใช้งานได้ที่อุณหภูมิที่ระบุไว้และตามระยะเวลาภายในค่าการ ยอมรับหากเป็นหม้อนึ่งอัดชนิด pressure cooker ที่มีเพียง pressure gauge จะไม่เป็นที่ยอมรับในการใช้งาน ตัวตรวจวัด (sensors) ที่ใช้ควบคุมและเฝ้าระวังรอบการใช้งานจำเป็นต้องมีการสอบเทียบ รวมทั้งระยะเวลา ในการใช้งานต่อรอบต้องมีการทวนสอบ
- การตรวจสอบความใช้ได้ครั้งแรก (initial validation) ควรรวมถึงการศึกษาลักษณะเฉพาะ autoclave (spatial temperature distribution surveys) สำหรับการใช้งานต่อรอบ กระบวนการนี้ต้องทำซ้ำอีกถ้ามี การซ่อมแซมหรือตัดแปลง หรือเมื่อผลของการตรวจสอบการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อแสดงให้เห็นถึง ความผิดปกติ ตัวตรวจวัดสำหรับวัดอุณหภูมิต้องมีวางในตำแหน่งที่พอเพียงในแต่ละรอบของการใช้งาน (เช่น ในภาชนะที่บรรจุของเหลว หรือบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ) ทั้งนี้เพื่อที่จะแสดงให้เห็นถึงตำแหน่งที่ต่างๆ กัน ของการวัดอุณหภูมิในรอบการใช้งาน ในกรณีของเครื่องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (media preparators) ที่ไม่ สามารถแสดงให้เห็นถึงการกระจายความร้อนอย่างสม่ำเสมอได้โดยวิธีอื่นๆ การใช้ตัวตรวจวัดสองอัน อันหนึ่ง วางไว้ใกล้ control probe และอีกอันวางให้ห่างจาก control probe ก็นับว่าเพียงพอแล้ว
- ต้องจัดให้มีคู่มือการใช้งานที่ชัดเจนยึดหลัก heating profile ที่จัดทำจากการใช้งานจริงในหนึ่งรอบ และตั้งจัด ทำเกณฑ์การยอมรับ หรือไม่ยอมรับและมีการบันทึกการใช้งาน autoclave เมื่อมีการใช้งานแต่ละครั้ง

ซึ่งรวมถึงอุณหภูมิ ระยะเวลา

- การเฝ้าระวัง สามารถทำได้โดย ข้อใดข้อหนึ่งดังต่อไปนี้
 - การใช้ thermocouple และมีการบันทึกใน recorder เพื่อที่จะทำแผนภูมิ (chart) หรือพิมพ์ออกมาได้
 - การเฝ้ามองโดยตรงและบันทึกอุณหภูมิเมื่อถึงจุดสูงสุดและเวลาที่อุณหภูมิถึงจุดสูงสุด

นอกเหนือจากการเฝ้าระวังอุณหภูมิโดยการเฝ้ามองอุณหภูมิ ประสิทธิภาพของการทำงานแต่ละรอบการใช้งานอาจตรวจสอบได้โดยการใช้ chemical หรือ biological indicators สำหรับจุดประสงค์ sterilization หรือ decontamination ก็ได้ อย่างไรก็ตามการใช้ autoclave tape หรือ indicator strips ใช้เพียงเพื่อแสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์ หรืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ใน autoclave นี้ได้ผ่านการทำงานครบรอบแล้ว แต่ไม่ได้แสดงให้เห็นว่าการทำงานของ autoclave นี้เป็นที่ยอมรับ

ตุ้มน้ำหนักและเครื่องชั่ง (weights and balances)

ตุ้มน้ำหนักและเครื่องชั่งต้องผ่านการสอบเทียบตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ (ขึ้นอยู่กับการใช้งาน)

เครื่องวัดปริมาตร (volumetric equipment)

- เครื่องวัดปริมาตร เช่น เครื่องจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (automatic dispensers) เครื่องจ่ายสารละลาย/เครื่องเจือจาง (dispenser/diluters) mechanical hand pipettes และ disposable pipettes สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาได้ แต่ห้องปฏิบัติการควรทำการทวนสอบปริมาตรของเครื่องมือเหล่านี้ครั้งแรกก่อนนำมาใช้งาน และทำการตรวจสอบตามระยะเวลา เพื่อให้แน่ใจว่าเครื่องมือเหล่านี้วัดปริมาตรได้ตามที่ระบุไว้ การทวนสอบไม่จำเป็นสำหรับเครื่องแก้วที่มีใบรับรองที่ระบุค่ายอมรับไว้แล้ว สำหรับเครื่องมือที่ไม่มีใบรับรอง เครื่องมือเหล่านี้ควรจะตรวจสอบความถูกต้องของปริมาตรโดยตรวจสอบกับปริมาตรที่ตั้งเอาไว้ (หลายๆ ปริมาตรในกรณีเครื่องมือวัดปริมาตรที่ใช้ได้หลายปริมาตร) และควรวัดหาค่าความเที่ยง (precision) ของการวัดปริมาตรหลายๆ ครั้ง
- สำหรับเครื่องมือวัดปริมาตรแบบใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง (single-use disposable volumetric equipment) ห้องปฏิบัติการควรตรวจสอบว่าผู้ผลิตมีการจัดการเกี่ยวกับระบบคุณภาพที่เป็นที่ยอมรับหรือไม่ และหลังจากทำการตรวจสอบความใช้ได้ของปริมาตรในครั้งแรกก่อนใช้งาน ควรมีการตรวจสอบแบบสุ่มถึงความถูกต้องของปริมาตร ถ้าผู้ผลิตไม่มีระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการควรมีการตรวจสอบทุก batch ถึงความเหมาะสมในการใช้งาน

เครื่องมืออื่นๆ

Conductivity meters, oxygen meters, pH meters และเครื่องมืออื่นๆ ที่ใกล้เคียง ต้องมีการทวนสอบเป็นระยะๆ ก่อนใช้งาน buffer ที่ใช้ในการทวนสอบ ควรมีการเก็บรักษาในสภาวะที่เหมาะสมและควรระบุอายุการใช้งานไว้ที่ภาชนะด้วย ถ้าความชื้นสัมพัทธ์มีความสำคัญต่อการทดสอบ ต้องจัดให้มี hygrometer ไว้ใช้งานและต้องมีการสอบเทียบ การสอบเทียบต้องสอบกลับไปไต่ยังมาตรฐานแห่งชาติหรือมาตรฐานระหว่างประเทศ

เครื่องจับเวลา (timers) รวมถึงเครื่องจับเวลาการใช้ autoclave ต้องมีการทวนสอบโดยการใช้เครื่องจับเวลาที่สอบเทียบแล้วหรือสัญญาณเวลามาตรฐานของประเทศ

ถ้ามีการใช้ centrifuge ในการทดสอบ ต้องการมีประเมิน centrifuge force และถ้าจำเป็นส่งผลกระทบต่อทดสอบ ต้องมีการสอบเทียบ centrifuge

ตารางที่ 1: ข้อแนะนำเกี่ยวกับการบำรุงรักษาเครื่องมือ

(Guidance on maintenance of equipment)

ข้อมูลนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นข้อแนะนำเท่านั้น ความถี่ในการปฏิบัติมีพื้นฐานจากความต้องการ ชนิดและประวัติความสามารถของเครื่องมือที่ผ่านมา

(ที่มา EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories (July 2002 rev02))

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
(a) Incubators (b) Fridges (c) Freezers, ovens	Clean and disinfect internal surfaces	(a) Monthly (b) When required (e.g. every 3 months) (c) When required (e.g. annually)
Water baths	Empty, clean, disinfect and refill	Monthly, or every 6 months if biocide used
Centrifuges	(a) Service (b) Clean and disinfect	(a) Annually (b) Each use
Autoclaves	(a) Make visual checks of gasket, clean/drain chamber (b) Full service (c) Safety check of pressure vessel	(a) Regularly, as recommended by manufacturer (b) Annually or as recommended by manufacturer (c) Annually
Safety cabinets Laminar flow cabinets	Full service and mechanical check	Annually or as recommended by manufacturer
Microscopes	Full maintenance service	Annually
pH meters	Clean electrode	Each use
Balances, gravimetric diluters	(a) Clean (b) Service	(a) Each use (b) Annually
Stills	Clean and de-scale	As required (e.g. every 3 months)
De-ionisers, reverse osmosis units	Replace cartridge/membrane	As recommended by manufacturer
Anaerobic jars	Clean/disinfect	After each use
Media dispensers, volumetric equipment, pipettes, and general service equipment	Decontaminate, clean and sterilise as appropriate	Each use
Spiral platers	(a) Service (b) Decontaminate, clean and sterilise	(a) Annually (b) Each use
Laboratory	(a) Clean and disinfect working surfaces (b) Clean floors, disinfect sinks and basins (c) Clean and disinfect other surfaces	(a) Daily, and during use (b) Weekly (c) Every 3 months

ตารางที่ 2: ข้อแนะนำเกี่ยวกับการสอบเทียบและตรวจสอบสถานะการสอบเทียบ

(Guidance of calibration and calibration checks)

ข้อมูลนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นข้อแนะนำเท่านั้น ความถี่ในการปฏิบัติมีพื้นฐานจากความต้องการ ชนิดและประวัติความสามารถของเครื่องมือที่ผ่านมา

(ที่มา EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories (July 2002 rev02))

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
Reference thermometers (liquid-in-glass)	Full traceable re-calibration Single point (e.g. ice-point check)	Every 5 years Annually
Reference thermocouples	Full traceable re-calibration Check against reference thermometer	Every 3 years Annually
Working thermometers & Working thermocouples	Check against reference thermometer at ice-point and/or working temperature range	Annually
Balances	Full traceable calibration	Annually
Calibration weights	Full traceable calibration	Every 5 years
Check weight(s)	Check against calibrated weight or check on balance immediately following traceable calibration	Annually
Volumetric glassware	Gravimetric calibration to required tolerance	Annually
Microscopes	Traceable calibration of stage micrometer (where appropriate)	Initially
Hygrometers	Traceable calibration	Annually
Centrifuges	Traceable calibration or check against an independent tachometer, as appropriate	Annually

Table 3: ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการตรวจสอบความใช้ได้และการทวนสอบเครื่องมือ**(Guidance on equipment validation and verification of performance)**

ข้อมูลนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นข้อเสนอแนะเท่านั้น ความถี่ในการปฏิบัติมีพื้นฐานจากความต้องการ ชนิดและประวัติความสามารถของเครื่องมือที่ผ่านมา

(ที่มา EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories (July 2002 rev02))

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
Temperature controlled equipment (incubators, baths, fridges, freezers)	(a) Establish stability and uniformity of temperature (b) Monitor temperature	(a) Initially, every 2 years and after repair/modification (b) Daily/each use
Sterilising ovens	(a) Establish stability and uniformity of temperature (b) Monitor temperature	(a) Initially, every 2 years and after repair/modification (b) Each use
Autoclaves	(a) Establish characteristics for loads/cycles (b) Monitor temperature/time	(a) Initially, every 2 years and after repair/modification (b) Each use
Safety cabinets	(a) Establish performance (b) Microbiological monitoring (c) Air flow monitoring	(a) Initially, every year and after repair/modification (b) Weekly (c) Each use
Laminar air flow cabinets	(a) Establish performance (b) Check with sterility plates	(a) Initially, and after repair/modification (b) Weekly
Timers	Check against national time signal	Annually
Microscopes	Check alignment	Daily/each use
pH meters	Adjust using at least two buffers of suitable quality	Daily/each use
Balances	Check zero, and reading against check weight	Daily/each use
De-ionisers and reverse osmosis units	(a) Check conductivity (b) Check for microbial contamination	(b) Weekly (b) Monthly
Gravimetric diluters	(a) Check weight of volume dispensed (b) Check dilution ratio	(a) Daily (b) Daily
Media dispensers	Check volume dispensed	Each adjustment or replacement
Pipettors/pipettes	Check accuracy and precision of volume dispensed	Regularly (to be defined by taking account of the frequency and nature of use)

Type of equipment	Requirement	Suggested frequency
Spiral platers	(a) Establish performance against conventional method (b) Check stylus condition and the start and end points (c) Check volume dispensed	(a) Initially and annually (b) Daily/each use (c) Monthly
Colony counter	Check against number counted manually	Annually
Centrifuges	Check speed against a calibrated and independent tachometer	Annually
Anaerobic jars/incubators	Check with anaerobic indicator	Each use
Laboratory environment	Monitor for airborne and surface microbial contamination using, e.g. air samplers, settle plates, contact plates or swabs	Weekly

เอกสารอ้างอิง

EA-4/10 Accreditation for Microbiological Laboratories (July 2002 rev02)