SD-4.1-05

คู่มือ

การให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

ห้องปฏิบัติการ
ทดสอบด้านจุลชีววิทยา

MICRO
BIOLOGY

งานตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน
กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

ผู้จัดทำ ชาติย.
(นางสาวชาติยา บันหาร)
เจ้าหน้าที่ทดสอบ

ผู้อนุมัติ
(นางนาตยา จันทร์ส่อง)
ผู้จัดการวิชาการ

ประกาศใช้ : วันที่ 5 ตุลาคม 2566

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

268 หมู่ 12 ตำบลท่าช้าง อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

โทรศัพท์ : 045-959669 โทรสาร : 045-959620 Email : oard4@doa.in.th

คำนำ

คู่มือการให้บริการห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยาฉบับนี้ จัดทำเพื่อใช้เป็นแนวทางการปฏิบัติงานการให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (*Escherichia coli.* และ *Salmonella* spp.)ในพืชและผลผลิตทางการเกษตรเพื่อประกอบการตรวจสอบรับรองแปลง GAP แปลงอินทรีย์ และสนับสนุนงานวิจัยในพื้นที่รับผิดชอบของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 ซึ่งจะครอบคลุมเนื้อหาประวัติความเป็นมาของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ขอบข่ายการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ปนเปื้อน ขั้นตอนขอรับบริการ ค่าธรรมเนียมในการวิเคราะห์ วิธีการสุ่มและแผนการสุ่มตัวอย่าง ขั้นตอนการรับตัวอย่าง การปฏิเสธตัวอย่าง การวิเคราะห์ทดสอบ การจัดการตัวอย่างทดสอบ การทำลายตัวอย่าง ตลอดจนการรายงานผล การแก้ไขรายงานผล และการขอสำเนารายงานผล

ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางสำหรับผู้ปฏิบัติงาน และผู้ขอใช้บริการให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารคู่มือการให้บริการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้บริหาร ผู้ปฏิบัติงาน และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง เจ้าหน้าที่ตรวจรับรองแปลง GAP แปลง อินทรีย์ เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทดสอบ รวมถึงผู้ขอรับบริการในการวิเคราะห์ เพื่อให้ขั้นตอนการปฏิบัติงานต่างๆเป็นไปในแนวทางเดียวกัน และถูกต้องตามหลักวิชาการ

(นางนาตยา จันทร์ส่อง)

ผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

5 ตุลาคม 2566

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ประวัติความเป็นมาของห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา	1
วิธีการสุ่มและแผนการชักตัวอย่าง	3
ขั้นตอนการรับตัวอย่าง	5
การปฏิเสธตัวอย่าง	7
การวิเคราะห์ทดสอบ	7
การจัดการตัวอย่างหลังการทดสอบ และการทำลายตัวอย่าง	7
การรายการผล	8
การแก้ไขรายงานผลการทดสอบ	8
การขอสำเนารายงานผลการทดสอบ	9
เอกสารอ้างอิง	10
ภาคผนวก 1 คำแนะนำในการเก็บตัวอย่างน้ำ	12
ภาคผนวก 2 แผนภาพการจัดการตัวอย่างทดสอบ	15
ภาคผนวก 3 แผนภาพวิธีทดสอบ	20

คู่มือการให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

1. ประวัติความเป็นมาของห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา

1.1 ความเป็นมา

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ดำเนินการอยู่ภายใต้กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 จังหวัดอุบลราชธานี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เริ่มดำเนินการมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 ต่อมาในปี พ.ศ. 2566 ได้รับการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการตามระบบมาตรฐาน ISO/IEC 17025 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (การทดสอบหาปริมาณ *Escherichia coli*. ในผักสด) โดยมีภารกิจในการให้บริการตรวจสอบรับรองคุณภาพปัจจัยทางการเกษตรและสินค้าเกษตรพืชในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง 9 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ อำนาจเจริญ ยโสธร สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด และมหาสารคาม โดยกลุ่มเป้าหมายที่ให้บริการ ได้แก่ เกษตรกร นักวิจัย หน่วยงานราชการ ผู้ประกอบการเอกชน และหน่วยงานอื่นๆ

1.2 วิสัยทัศน์

ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา ได้มีการพัฒนาห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานดำเนินการตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการที่ดี (GLP) และอ้างอิงมาตรฐานของห้องปฏิบัติการในส่วนกลางกรมวิชาการเกษตร มีการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบอยู่เสมอ อีกทั้งได้นำระบบห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ที่ดี (ISO 7218) มาใช้ในการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (IQC) รวมทั้งมีการจัดการเครื่องมือ และเครื่องแก้วที่เกี่ยวข้องกับการวัดและชั่งตวงปริมาตรตามระบบ ISO/IEC 17025 และ ISO 7218 โดยการสอบเทียบและทวนสอบอย่างสม่ำเสมอ นำเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน (Reference Strains) มาใช้ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ มีการพัฒนาบุคลากรโดยการฝึกอบรมหลักสูตรที่เกี่ยวข้อง และมีการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบภายนอก (EQA) โดยการเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ (PT) ซึ่งจัดทำโดยสถาบันวิจัยอาหารแห่งชาติ

1.3 ภารกิจ

1.3.1 ให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อนภารกิจในการให้บริการตรวจสอบรับรองคุณภาพปัจจัยทางการเกษตร และสินค้าเกษตรพืชในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง 9 ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ อำนาจเจริญ ยโสธร สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา ร้อยเอ็ด และมหาสารคาม รวมถึงเกษตรกร นักวิจัย หน่วยงานราชการ ผู้ประกอบการเอกชน และหน่วยงานอื่นๆ

1.3.2 ให้คำปรึกษา ประสานงาน และร่วมดำเนินงานร่วมกับหน่วยงานอื่นๆ

1.4 การให้บริการ

ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา มีหน้าที่ในการให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในผลผลิตพืช ดิน และน้ำเพื่อประกอบการตรวจสอบรับรองแปลง GAP และแปลงอินทรีย์ ภายใต้หน่วยงานราชการในสังกัดกรมวิชาการเกษตร ในพื้นที่รับผิดชอบของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 รวมถึงเกษตรกร ผู้ประกอบการเอกชน และหน่วยงานอื่นๆในพื้นที่รับชอบ 9 จังหวัด โดยมีรายละเอียดการให้บริการดังนี้

1.4.1 ขอบข่ายการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา มีหน้าที่ในการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Escherichia coli*. และ *Salmonella* spp. ในพืชและผลผลิตทางการเกษตรเพื่อประกอบการตรวจสอบรับรองแปลง GAP แปลงอินทรีย์ และสนับสนุนงานวิจัยในพื้นที่รับผิดชอบของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

ขอบข่ายการขอรับรองห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

ตารางที่ 1 ขอบข่ายการทดสอบด้านจุลชีววิทยา

ลำดับ (No.)	รายการทดสอบ (Test)	ชนิดตัวอย่าง (Type of Sample)	วิธีทดสอบ (Method)	หลักการทดสอบ (Principle) หรือ เทคนิค (Technique)
1.	การทดสอบหาปริมาณ *E. coli* ในผักสด	ผักสด	TM-7.2-01-MC Base on AFNOR Certificate No. 3M 01/08-06/01	ใช้ 3M Petrifilm™ SEC ซึ่งเป็นชุดทดสอบสำเร็จรูปเพื่อบ่งชี้ปฏิกิริยาจากเอนไซม์กลูคิวโรนิเดส (glucuronidase) ที่มีเฉพาะในเชื้อ *E. coli*

1.4.2 ขั้นตอนขอรับบริการ

ผู้ขอรับบริการสามารถใช้บริการโดยติดต่อศูนย์บริการวิเคราะห์และทดสอบแบบเบ็ดเสร็จ (One Stop Service) ชั้น 1 อาคารปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 ตามรายละเอียดดังต่อไปนี้

1) ผู้ขอรับบริการที่เป็นหน่วยงานราชการ จะต้องทำหนังสือขอส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ปนเปื้อน และแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) ที่ระบุรายละเอียดสำหรับผู้ขอรับบริการ วัตถุประสงค์ ข้อมูลของตัวอย่างที่ขอวิเคราะห์อย่างละเอียดลงในแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) ให้แก่เจ้าหน้าที่รับตัวอย่าง (One Stop Service) โดยแบบฟอร์มดังกล่าวสามารถขอรับได้ที่ศูนย์บริการวิเคราะห์และทดสอบแบบเบ็ดเสร็จ (One Stop Service) ชั้น 1 อาคารปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 หรือดาวน์โหลดได้ที่เว็บไซต์ http://www.oard4.org

2) หน่วยงานอื่น ๆ จะต้องมีหนังสือนำส่งจากหน่วยงานและระบุวัตถุประสงค์ที่จะขอตรวจวิเคราะห์ และหนังสือขอความอนุเคราะห์เพื่อส่งตัวอย่างวิเคราะห์ จากนั้นติดต่อกับกลุ่มงานที่เกี่ยวข้องเพื่อตกลงดำเนินการวิเคราะห์ทดสอบ แล้วทำตามรายละเอียดในหัวข้อ 1)

2. วิธีการสุ่มและแผนการชักตัวอย่าง

การสุ่มเก็บตัวอย่างพืช เช่น ผักสด ธัญพืช เพื่อส่งตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน ต้องสุ่มโดยวิธีการปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ในขณะที่ผู้ปฏิบัติงาน จะต้องป้องกันไม่ให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อม หรือจากผู้ปฏิบัติงานลงในตัวอย่างที่สุ่มเก็บ

ดังนั้นอุปกรณ์ที่ใช้ในการสุ่มเก็บที่สัมผัสกับตัวอย่างต้องปลอดเชื้อ ให้เก็บตัวอย่างประมาณ ¾ ของภาชนะบรรจุ เพื่อป้องกันการรั่วซึม และสามารถเขย่าตัวอย่างขณะทดสอบในห้องปฏิบัติการได้อย่างสะดวก ต้องชี้บ่งตัวอย่างชัดเจน ครบถ้วน และบันทึกรายละเอียดตัวอย่างลงในแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่าง (FS–7.4–01-MC) และผู้ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างต้องปฏิบัติให้ถูกต้อง หากเป็นตัวอย่างของเหลวหรือตัวอย่างน้ำ จะต้องบรรจุในภาชนะที่เหมาะสมปราศจากการปนเปื้อน และเหลือช่วงอากาศในขวดอย่างน้อย 2.5 เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะทันทีหลังจากการสุ่มชักตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว และนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง หลังสุ่มเก็บตัวอย่าง และผู้ส่งตัวอย่างต้องเก็บรักษาสภาพตัวอย่างขณะนำส่งตามข้อแนะนำการเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง (รายละเอียดในข้อ 2.3)

2.1 ขั้นตอนการสุ่มชักตัวอย่างสำหรับเจ้าหน้าที่สุ่มชักตัวอย่าง

2.1.1. อุปกรณ์

1) ถุงพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง
2) ขวดสเปรย์แอลกอฮอล์ (ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 70%)
3) ถุงมือยางปลอดเชื้อ
4) หนังยางสำหรับรัดถุง
5) กล่องพลาสติกปิดสนิท สำหรับอุปกรณ์สุ่มเก็บตัวอย่าง
6) ภาชนะที่สามารถรักษาความเย็นของตัวอย่างที่อุณหภูมิ 12 – 15 องศาเซลเซียส เช่น กล่องโฟมที่มีสารให้ความเย็นที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้
7) อุปกรณ์สำหรับวัดอุณหภูมิในภาชนะสำหรับจัดเก็บและขนส่งตัวอย่าง

2.1.2. วิธีการ

1) ล้างมือให้สะอาด หรือฉีดพ่นมือด้วยสเปรย์แอลกอฮอล์ 70 %
2) สวมถุงมือยางปลอดเชื้อ จากนั้นฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์อีกครั้งและรอจนแห้ง แล้วจึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างตามแผนการสุ่ม (ตารางที่ 3) ใส่ในถุงพลาสติก รัดหนังยางให้สนิท แล้วสวมถุงพลาสติก และรัดด้วยหนังยางอีกชั้น การสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำจะต้องไม่เปิดขวดเก็บตัวอย่างจนกว่าจะทำการบรรจุตัวอย่าง และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำตามวิธีการให้ถูกต้อง (ภาคผนวก 1)
3) เก็บตัวอย่างใส่ในกล่องเก็บรักษาอุณหภูมิ และปิดฝากล่องทันที เพื่อรักษาอุณหภูมิภายในกล่องตามคำแนะนำการเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง
4) เปลี่ยนถุงมือทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างใหม่
5) เมื่อต้องสุ่มเก็บตัวอย่างใหม่ให้เริ่มปฏิบัติตามข้อ 1- 4

<u>ข้อควรปฏิบัติ</u>

1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างจะต้องเก็บในที่สะอาด ปราศจากฝุ่นละอองหรือการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จัดเก็บอุปกรณ์ทั้งหมดในกล่องพลาสติกที่สะอาด และมีฝาปิด

2) ถุงใส่ตัวอย่างควรเก็บในถุงอีกชั้นและปิดสนิท ไม่ควรเจาะรูถุงใส่ตัวอย่าง และห้ามใช้ลวดเย็บกระดาษปิดปากถุง ควรใช้หนังยางรัดปิดปากถุง

3) ไม่ควรใส่ตัวอย่างในกล่องมากเกินไปเพราะว่าตัวอย่างจะช้ำ และเน่าง่าย

4) ไม่ควรใส่ใบบันทึกรายละเอียดตัวอย่างรวมกับตัวอย่างเพื่อป้องกันการปนเปื้อน

5) กรณีตัวอย่างที่สุ่มเก็บมีอุณหภูมิสูง เช่น ตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงเกษตร ควรเปิดปากถุงในแนวนอน เพื่อให้อุณหภูมิลดลง แล้วจึงปิดปากถุง

6) ถุงมือควรเก็บในกล่องที่ผลิตมาจากโรงงาน

2.2 การบรรจุเพื่อนำส่งตัวอย่างทดสอบ

กรณีนำส่งตัวอย่างเพื่อตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน การบรรจุหีบห่อตัวอย่างต้องอยู่ในสภาพที่สามารถรักษาความสมบูรณ์ของตัวอย่างขณะนำส่ง ควรป้องกันตัวอย่างจากการปนเปื้อน ภาชนะบรรจุต้องเหมาะสม เช่น การใช้ถุงพลาสติกบรรจุหีบห่อ ควรสวมถุงพลาสติกเพิ่มอีกชั้นเพื่อป้องการการฉีกขาดขณะขนส่ง หากเป็นของเหลวและต้องมั่นใจว่าการเก็บตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ ตัวอย่างที่ต้องเก็บในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็งอาจเก็บไว้ในกล่องที่ป้องกันการกระแทก และไม่ควรใช้น้ำแข็งก้อนเพราะอาจปนเปื้อนตัวอย่างที่บรรจุภัณฑ์แตกหรือรั่วซึม หลังจากสุ่มเก็บตัวอย่างควรนำส่งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง

การนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการต้องมันใจว่าการเก็บตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ นำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการทันทีในสภาวะที่ใกล้เคียงการเก็บรักษาเริ่มต้นที่สุด ชี้บ่งตัวอย่างให้ชัดเจน และเก็บไว้ในภาชนะบรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันการกระแทก ไม่ควรใช้น้ำแข็งก้อนเพราะอาจทำให้ตัวอย่างปนเปื้อนกรณีบรรจุภัณฑ์แตก หรือรั่วซึม

2.3 การเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง

ระหว่างนำส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา ตัวอย่างอาจเกิดการเน่าเสียได้ ผู้ส่งตัวอย่างต้องเก็บรักษาสภาพตัวอย่างขณะนำส่งตามข้อแนะนำการเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง (ISO 7218) ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อรอการตรวจวิเคราะห์อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างให้เก็บที่อุณหภูมิต่อไปนี้

2.3.1 ตัวอย่างผักและผลไม้สดเก็บที่อุณหภูมิ 3 ± 2 °C

2.3.2 ตัวอย่างทั่วไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง 18-27 °C

2.3.3 ตัวอย่างแช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -15 °C ถึง -18 °C

2.3.4 ตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิห้องไม่ได้เก็บที่อุณหภูมิ 3 ± 2 °C

3. ขั้นตอนการรับตัวอย่าง

3.1 ผู้ขอรับบริการนำส่งตัวอย่างโดยตรงที่ศูนย์บริการวิเคราะห์ และทดสอบแบบเบ็ดเสร็จ (One Stop Service) ชั้น 1 อาคารปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 วันเวลาราชการ จันทร์ - ศุกร์ เวลา 08.30 – 16.30 น. และเพื่อให้ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยาเตรียมความพร้อม ให้ผู้ขอรับบริการแจ้งเจ้าหน้าที่รับตัวอย่างล่วงหน้าอย่างน้อย 1 วันก่อนนำส่งตัวอย่าง

3.2 กรอกรายละเอียดตามแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) และหนังสือบันทึกข้อความขอส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์ หรือหนังสือขอความอนุเคราะห์เพื่อส่งตัวอย่างวิเคราะห์ (สำหรับหน่วยงานภายนอก) โดยต้องระบุรายละเอียดตาม ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายละเอียดตามแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

สำหรับผู้ขอรับบริการ	**สำหรับเจ้าหน้าที่**
1) ชื่อ - สกุล ผู้ส่งตัวอย่าง 2) หน่วยงาน / บริษัท ที่อยู่ และเบอร์โทรฯติดต่อ 3) วัตถุประสงค์ในการส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์ 4) ข้อมูลตัวอย่าง 5) รายการที่ต้องการทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน 6) การรับตัวอย่างคืน 7) การรับรายงานผลการทดสอบ 8) ระบุชนิดตัวอย่าง / สภาพตัวอย่าง 9) ระบุรายละเอียดตัวอย่างให้ครบถ้วน 10) ลงชื่อผู้ส่งตัวอย่าง และวันที่ส่งตัวอย่าง	1) วันและเวลาที่รับตัวอย่าง 2) เลขที่คำขอรับบริการ 3) กำหนดวันรายงานผลการทดสอบ 4) ทบทวนคำขอ และตรวจสอบว่าสภาพตัวอย่างพร้อมสำหรับทดสอบหรือไม่ 5) ลงชื่อเจ้าหน้าที่รับตัวอย่าง และวันที่รับตัวอย่าง

3.3 เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะตรวจสอบความถูกต้องของเอกสารตามข้อ 3.2 และตรวจสอบสภาพตัวอย่างว่าตรงตามข้อ 2.3 หรือไม่ แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่ส่งทดสอบต้องไม่น้อยกว่าข้อกำหนดของห้องปฏิบัติการตามตารางที่ 3 บันทึกข้อมูลสำหรับเจ้าหน้าที่ลงในแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) และบันทึกรายละเอียดลงในทะเบียนรับตัวอย่าง (FS-7.4-02 MC)

ตารางที่ 3 การสุ่มตัวอย่าง และกำหนดน้ำหนักตัวอย่างที่ส่งทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

น้ำหนักของทั้งรุ่นการผลิต/แปลง	**จำนวนจุดที่เก็บ**	**น้ำหนักต่อ/จุด**	**น้ำหนักที่ส่งทดสอบจุลินทรีย์**	**จำนวนตัวอย่าง**
น้อยกว่า 50 กิโลกรัม	3	ไม่น้อยกว่า 200 กรัม	1,000 กรัม	1
50 – 500 กิโลกรัม	5	ไม่น้อยกว่า 200 กรัม	1,000 กรัม	1
501 – 2,000 กิโลกรัม	10	ไม่น้อยกว่า 200 กรัม	2,000 กรัม	1
มากกว่า 2,000 กิโลกรัม	15	ไม่น้อยกว่า 200 กรัม	1,500 กรัม	2

(ที่มา : ดัดแปลงจาก CAC/GL 33-1999)

3.4 กรณีเจ้าหน้าที่รับตัวอย่างตรวจสอบตัวอย่างแล้วพบว่า สภาพตัวอย่าง/การบรรจุตัวอย่างเพื่อทดสอบ/การเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลทดสอบด้านชีววิทยาไม่เป็นไปตามข้อกำหนดในคู่มือการให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (SD-4.1-05) เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะแจ้งให้ผู้ขอรับบริการทราบทันทีว่าตัวอย่างไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของห้องปฏิบัติการเพื่อสรุปผลการทบทวนกับผู้ขอรับบริการจะยินยอม/ไม่ยินยอมให้ห้องปฏิบัติการดำเนินการทดสอบต่อ หากผู้ขอรับบริการยินยอมต้องลงชื่อเพื่อรับทราบ และเจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะบันทึกข้อมูลลงในแบบฟอร์มการทบทวนข้อตกลงการบริการทดสอบ (FS-7.1-01) และเจ้าหน้าที่ออกรายงานผลการทดสอบจะระบุปัญหาและความเบี่ยงเบนนี้ในรายงานผลการทดสอบ (FS-7.8-01-MC)

3.4.1 ในกรณีผู้ขอรับบริการระบุเกณฑ์การรายงานผลการทดสอบ เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะทำความตกลงกับผู้ขอรับบริการเรื่องเกณฑ์หรือมาตรฐาน และระดับความเชื่อมั่นที่ใช้ในการประเมิน โดยปฏิบัติตามเกณฑ์การตัดสินและการแปลผลจุลินทรีย์ปนเปื้อน (WI-7.8-01-MC)

3.4.2 ในกรณีที่ลูกค้าแจ้งความประสงค์ขอรับตัวอย่างคืน ให้เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างประสานงานกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อนัดหมายเวลาการรับตัวอย่างคืน พร้อมกับลงบันทึกเวลานัดหมายการรับตัวอย่างคืนในแบบฟอร์มการรับตัวอย่างทดสอบคืน (FS-7.4-05) พร้อมกับแจ้งให้ผู้ขอรับบริการทราบ

3.5 เมื่อดำเนินการจากข้อ 3.1 - 3.4 เสร็จสิ้น เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างทำสำเนาหนังสือขอส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์ที่ระบุเลขที่คำขอรับบริการ และสำเนาใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) รวม 2 ฉบับให้กับผู้รับบริการ

3.6 เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างนำใบนำส่งตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) ส่งให้เจ้าหน้าที่รายงานผลการทดสอบ

3.7 เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะติดป้ายชี้บ่งตัวอย่างทดสอบ (FS-7.4-03-MC) พร้อมทั้งนำส่งใบการทบทวนข้อตกลงการบริการทดสอบ (FS-7.1-01) ใบกำกับตัวอย่างและการจัดการตัวอย่าง (FS-7.4-02) ให้กับเจ้าหน้าที่ทดสอบเพื่อแจ้งให้หัวหน้างานรับทราบ จากนั้นเคลื่อนย้ายตัวอย่างมายังห้องเตรียมตัวอย่าง (MC-03) เพื่อดำเนินการทดสอบตามวิธีการจัดการตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (WI-7.4-01-MC)

<u>กรณีที่ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทันที</u>

หากเกิดกรณีที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันทีหลังตัวอย่างถึงห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ทดสอบตัวอย่างจะเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อรอทดสอบ แต่เก็บตัวอย่างไว้ได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง และอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่าง อุณหภูมิในการเก็บรักษาจะยึดตามชนิดของตัวอย่างดังต่อไปนี้ (ISO 7218)

1) ตัวอย่างทั่วไปที่เก็บที่อุณหภูมิ 18 – 27 °C (ห้อง MC-03)
2) ตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิห้องไม่ได้ เก็บที่ 3 ± 2 °C (MC-RF-05)
3) ตัวอย่างแช่แข็ง เก็บที่ -25 ± 5 °C (MC-FZ-01)
4) ตัวอย่างน้ำเก็บที่อุณหภูมิ < 8 °C (AWWA 2017) ; (MC-RF-05)

3.8 ชำระค่าธรรมเนียมการวิเคราะห์ และรับใบเสร็จรับเงิน

ตารางที่ 4 ค่าธรรมเนียมในการวิเคราะห์

ลำดับ	รายการตรวจวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน *	ค่าธรรมเนียม (บาท) *
1	*Escherichia coli*	≤ 100 (CFU/g) (ใน 50 กรัม)	750
2	*Salmonella* spp.	ไม่พบ (ใน 25 กรัม)	750

(*ค่าธรรมเนียมอ้างอิงตาม ประกาศกรมวิชาการเกษตร, 2563)

หมายเหตุ

1. การทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อนทางห้องปฏิบัติการจะใช้เวลาในการทดสอบ 7 วันทำการ โดยจะเริ่มนับการปฏิบัติงานตั้งแต่ห้องปฏิบัติได้รับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการรายงานผลการทดสอบ

2. ตัวอย่างที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด จะระบุปัญหาและความเบี่ยงเบนในรายงานผลการทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.8-01-MC)

4. การปฏิเสธตัวอย่าง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ขอปฏิเสธตัวอย่างในกรณีตัวอย่างเน่าเสียสภาพ ภาชนะบรรจุตัวอย่างรั่ว ซึม หรือแตก ซึ่งจะทำให้ผลการทดสอบเกิดความผิดพลาด รวมถึงตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยกว่าที่กำหนด (น้อยกว่า 1 กิโลกรัม)

5. การวิเคราะห์ทดสอบ

ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์จุลชีววิทยา ได้มีการพัฒนาห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐานดำเนินการตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการที่ดี (GLP) และอ้างอิงมาตรฐานของห้องปฏิบัติการในส่วนกลางกรมวิชาการเกษตร มีการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบอยู่เสมอ อีกทั้งได้นำระบบห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ที่ดี (ISO 7218) มาใช้ในการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (IQC) รวมทั้งมีการจัดการเครื่องมือและเครื่องแก้วที่เกี่ยวข้องกับการวัดและชั่งตวงปริมาตรตามระบบ ISO/IEC 17025 และ ISO 7218 โดยการสอบเทียบและทวนสอบอย่างสม่ำเสมอนำเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน (Reference Strains) มาใช้ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ มีการพัฒนาบุคลากรโดยการฝึกอบรมหลักสูตรที่เกี่ยวข้อง และมีการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบภายนอก (EQA) โดยการเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ (PT) ซึ่งจัดทำโดยสถาบันวิจัยอาหารแห่งชาติ

5.1 เมื่อห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างจากเจ้าหน้าที่รับตัวอย่างแล้ว จะทำการสุ่มตัวอย่างตามขั้นตอนวิธีปฏิบัติการจัดการตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (WI-7.4-01-MC) เพื่อทดสอบหาปริมาณ *E. coli* โดยใช้วิธีทดสอบหาปริมาณ *E. coli* ในผักสด (TM-7.2-01-MC) และทดสอบหา *Salmonella* spp. โดยใช้วิธี AOAC Official Method 2014.01 (ภาคผนวก 3)

5.2 การสุ่มตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ/ตัวอย่างรวม (composite sample) ที่เตรียมโดยการสุ่มจากตัวอย่างทั้งหมดที่ได้รับ (ไม่น้อยกว่า 1 กิโลกรัม) จะต้องสุ่มให้มีปริมาณเพียงพอต่อการทดสอบ และเก็บไว้สำหรับกรณีที่ต้องทดสอบซ้ำ (retain sample) ที่อุณหภูมิ -25 ± 5 °C ตามขั้นตอนวิธีปฏิบัติการจัดการตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (WI-7.4-01-MC) ซึ่งจะเก็บตัวอย่างเพื่อทดสอบซ้ำประมาณ 7 วัน หลังจากวันออกรายงานผล

6. การจัดการตัวอย่างหลังการทดสอบ และการทำลายตัวอย่าง

6.1 ในกรณีลูกค้าที่ลูกค้าแจ้งความประสงค์ขอรับตัวอย่างคืน ให้เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างประสานงานกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อนัดหมายเวลาการรับตัวอย่างคืน พร้อมกับลงบันทึกเวลานัดหมายการรับตัวอย่างคืนในแบบฟอร์มการรับตัวอย่างทดสอบคืน (FS-7.4-05) และเก็บรักษาตัวอย่างตามข้อ 2.3 (การเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง)

6.2 ในกรณีตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคให้นำตัวอย่างใส่ในถุงขยะสีดำ และมัดปากถุงให้สนิท แล้วทิ้งลงถังขยะมูลฝอยของห้องปฏิบัติการเพื่อรอกำจัด

6.3 ในกรณีตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการทดสอบแล้ว จะมีปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น จะต้องบรรจุตัวอย่างใส่ในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท และนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave (MC-AC-01) ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 30 นาที และต้องทดสอบกระบวนการฆ่าเชื้อเพื่อทิ้งโดยใช้ Spore test ทุกครั้ง ตามขั้นตอนการจัดการตัวอย่างหลังการทดสอบ (WI-7.4-01-MC) จากนั้นนำตัวอย่างใส่ในถุงขยะสีแดง และมัดปากถุงให้สนิท แล้วทิ้งลงถังขยะฆ่าเชื้อแล้วของห้องปฏิบัติการเพื่อรอกำจัดพร้อมขยะมูลฝอย หากตัวอย่างยังไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อจะนำตัวอย่างใส่ในถุงขยะสีแดงและมัดปากถุงให้สนิททิ้งลงในถังขยะติดเชื้อเพื่อรอฆ่าเชื้อก่อนทิ้ง ดำเนินการตามข้อ 6.3

6.4 ในกรณีตัวอย่างที่ต้องทดสอบซ้ำ (retain sample) จะเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -25 ± 5 °C ระยะเวลานาน 7 วัน โดยนับจากวันที่ออกรายงานผลการทดสอบ เมื่อถึงครบกำหนดทำลายตัวอย่างให้ดำเนินการตามข้อที่ 6.2 และ 6.3

7. การรายงานผลการทดสอบ

ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา จะรายงานผลการทดสอบไม่เกิน 7 วันทำการ โดยนับจากวันที่ห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างจนถึงวันรายงานผลลงในแบบฟอร์มรายงานผลการทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.8-01-MC)

7.1 ในกรณีการส่งรายงานผลการทดสอบทางไปรษณีย์ จะส่งแบบลงทะเบียนตามข้อมูลที่ระบุไว้ตามแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC)

7.2 ในกรณีผู้ขอรับบริการมารับด้วยตัวเอง ให้มารับได้ที่ศูนย์บริการวิเคราะห์และทดสอบแบบเบ็ดเสร็จ (One Stop Service) ชั้น 1 อาคารปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

7.3 ไม่ส่งรายงานผลการทดสอบทางอิเล็กทรอนิกส์ โดยคำนึงถึงหลักการรักษาความลับของลูกค้า

หมายเหตุ : รายละเอียดที่ระบุในแบบฟอร์มรายงานผลการทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.8-01-MC)

[1/] ทดสอบ *Escherichia coli* โดยใช้วิธี TM-7.2-01-MC Base on AFNOR Certificate No. 3M 01/08-06/01

[2/] ทดสอบ *Salmonella* spp. โดยใช้วิธี AOAC Official Method 2014.01 *Salmonella* in Selected Foods 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express System

[3/] เกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยในผัก-ผลไม้สดต้องตรวจพบ *E. coli* ไม่เกิน 100 CFU/g และต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในผัก-ผลไม้สด 25 g อ้างอิงตามมาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 9007-2548 (มกอช. 9007-2548) ยึดตาม m, n-1

- EST (Estimated count) หมายถึง ค่าประมาณ
- รายงานนี้เป็นผลของตัวอย่างที่ได้รับ มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น และรายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกสำเนาเฉพาะบางส่วนยกเว้นทำทั้งฉบับโดยได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ
- ห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO /IEC 17025
- * หมายถึง รายการทดสอบที่ไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

ปัญหาและความเบี่ยงเบน (ถ้ามี) : .....

8. การแก้ไขรายงานผลการทดสอบ

8.1 เมื่อจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงแก้ไขหรือออกรายงานผลการทดสอบใหม่ โดยกำหนดให้ผู้ที่มีความประสงค์จะแก้ไขรายงานผลการทดสอบใหม่ เขียนบันทึกข้อความเพื่อขอแก้ไขเอกสารรายงานผลการทดสอบใหม่ โดยจะต้องระบุข้อมูลที่จะให้เปลี่ยนแปลงแก้ไขพร้อมด้วยเหตุผลที่มีการเปลี่ยนแปลงในรายงานผลอย่างชัดเจน นำเสนอต่อผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิตหรือผู้จัดการด้านคุณภาพ เพื่อสั่งการต่อไป

8.2 เมื่อมีความจำเป็นต้องแก้ไขข้อความในรายงานผลการทดสอบที่ได้ออกไปแล้วนั้น ต้องออกเอกสารเพิ่มเติมเท่านั้น หรือโดยการถ่ายโอนข้อมูล ซึ่งต้องระบุข้อความดังนี้ “รายงานผลการทดสอบฉบับแก้ไขของเลขที่รายงานผลการทดสอบ.....แก้ไขครั้งที่.....” บริเวณด้านบนของเอกสารรายงานผลการทดสอบ และอ้างอิงหมายเลขรายงานเดียวกับฉบับเดิม โดยการแก้ไขดังกล่าวต้องสอดคล้องกับขั้นตอนการดำเนินงานการรายงานผลการทดสอบ (QP-7.8) ทั้งหมด

9. การขอสำเนารายงานผลการทดสอบ

ในกรณีที่ผู้ใช้บริการมีความจำเป็นต้องขอสำเนารายงานผลการทดสอบ เนื่องจากทำรายงานผลการทดสอบฉบับจริงสูญหาย ผู้ขอใช้บริการจะต้องทำหนังสือบันทึกข้อความขอสำเนารายงานผลการทดสอบ และนำส่ง ณ ศูนย์บริการวิเคราะห์และทดสอบแบบเบ็ดเสร็จ (One Stop Service) ชั้น 1 อาคารปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 เพื่อขอสำเนารายงานผลการทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2554. หลักเกณฑ์การประกันคุณภาพในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด. 2562. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การประกันคุณภาพผลการทดสอบทางจุลชีววิทยา

ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง อัตราค่าวิเคราะห์ตัวอย่างและออกใบรับรองสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออก. 2563.

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 9007-2548. ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหาร

3M Petriflim Select E. coli Count Plate NF Validation Certificate Number 3M 01/8-06/01 (as compared to ISO 16649 - 2 E. coli method)

3M PetrifilmTM Salmonella Express (SALX) System

ISO 6579-1.2017. Microbiology of Food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella spp. Part 1: detection of Salmonella spp. 1st edition 47 P.

ISO 7218:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs – General Requirement and guidance for microbiological examination

Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, APHA, AWWA, WEF, 23rd Edition ,2017 , Part 4500-H^+ B *(Include sampling)*

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1
คำแนะนำในการเก็บตัวอย่างน้ำ

ภาคผนวก 1

คำแนะนำในการเก็บตัวอย่างน้ำ

1. การสุ่มตัวอย่าง

- การสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ การบรรจุตัวอย่างน้ำ และการเก็บรักษาสภาพตัวอย่างน้ำก่อนส่ง ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หรือทดสอบมีความสำคัญ ซึ่งมีผลกระทบต่อความถูกต้องและน่าเชื่อถือของตัวอย่าง
- การบรรจุตัวอย่าง ถ้าได้บรรจุในภาชนะที่เหมาะสมปราศจากการปนเปื้อนและเก็บรักษาสภาพ ตัวอย่างถูกวิธีตามหลักการทางวิทยาศาสตร์ก่อนนำส่งห้องปฏิบัติการจะช่วยให้ตัวอย่างคงสภาพ เป็นตัวแทนที่ดีของแหล่งน้ำที่สุ่มเก็บ กระบวนการเหล่านี้จะส่งผลให้ผลการตรวจวิเคราะห์และ ทดสอบในห้องปฏิบัติการมีความน่าเชื่อถือ
- ห้องปฏิบัติการมีนโยบายไม่มีการ ชักตัวอย่าง/สุ่มตัวอย่าง

2. สภาพตัวอย่างก่อนส่งทดสอบ

- ตัวอย่างต้องสมบูรณ์เป็นไปตามลักษณะปกติของตัวอย่างนั้นๆ
- น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ไม่มีรอยถูกเปิดหรือฉีกขาด ชำรุด
- มีฉลาก หากเก็บตัวอย่างเองให้เขียนฉลากติด มีรายละเอียด เช่น ชื่อ/ชนิด สถานที่เก็บ วัน/เวลา ที่เก็บ หรือรายละเอียดอื่นๆ เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจวิเคราะห์

3. การเก็บตัวอย่างน้ำ

การเก็บต้องไม่เปิดขวดเก็บตัวอย่างจนกว่าจะทำการบรรจุตัวอย่างเมื่อเก็บตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวแทนน้ำที่จะตรวจโดยวิธีปราศจากเชื้อแล้วให้เหลือช่วงอากาศในขวดอย่างน้อย 2.5 เซนติเมตร (เพื่อให้สามารถ เขย่าขวดเพื่อผสมตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์) แล้วรีบปิดฝาจุกทันทีสำหรับการเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำต่างๆ มีรายละเอียดดังนี้

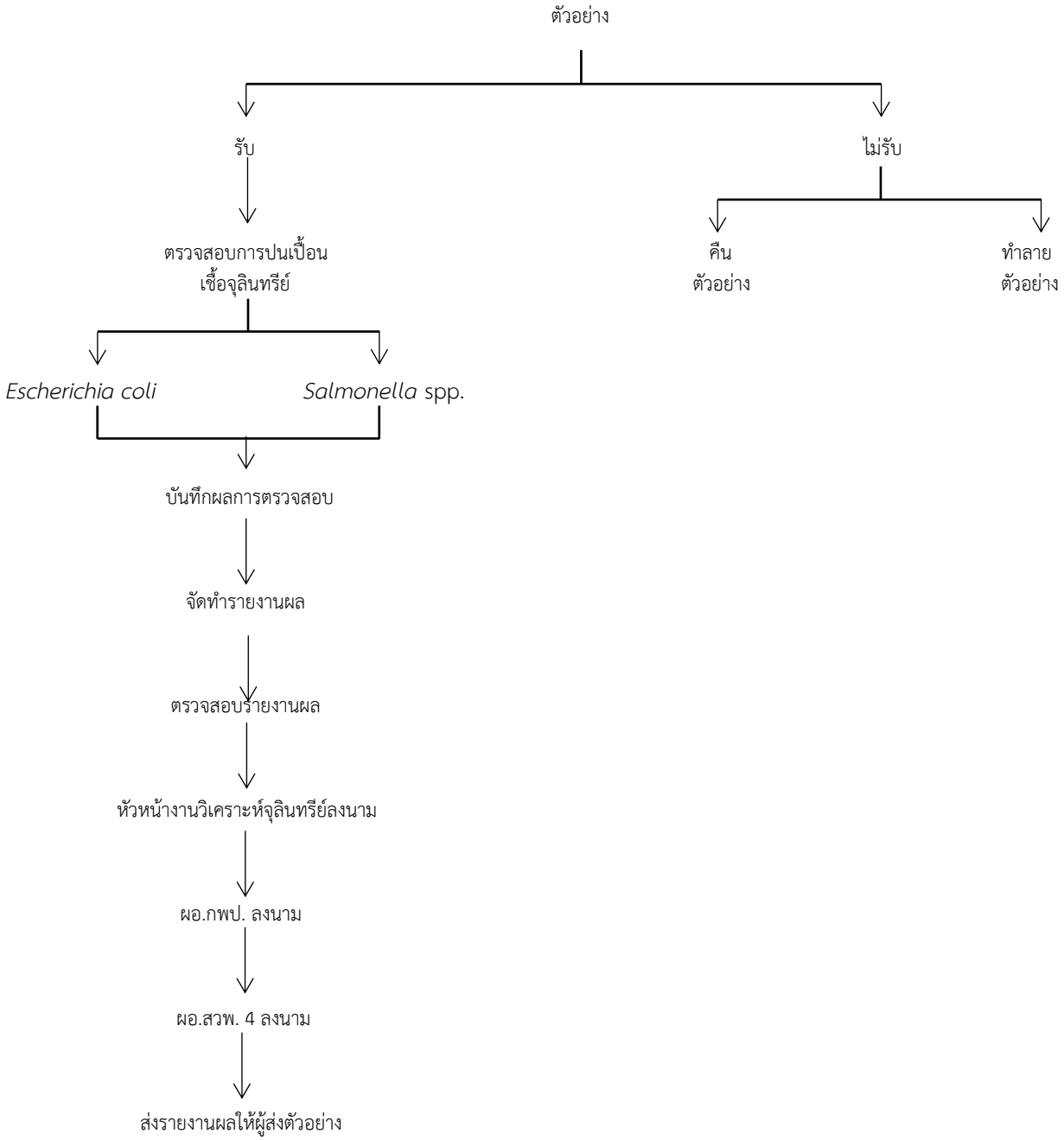
- น้ำประปาหรือน้ำที่ไหลจากก๊อก เตรียมขวดแก้วที่สะอาดปราศจากเชื้อมีจุกปิดสนิท ทำความสะอาดก๊อกโดยเช็ดด้วยสำลีชุบแแอลกอฮอล์ 70 % หรือใช้ไฟลนก่อนแล้วปล่อยให้น้ำไหลเต็มที่ เป็นเวลา 1 นาที เพื่อระบายน้ำที่อยู่ในท่อทิ้ง นำขวดไปรองน้ำจากก๊อกประมาณ 4/5 ของขวด แล้วปิดจุก (หรือฝาขวด) ทันทีระวังอย่าให้จุกหรือฝาขวดสัมผัสมือหรือสิ่งอื่นใด เพื่อป้องกันการ ปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอก ปิดฉลากแล้วนาส่งวิเคราะห์
- เก็บจากบ่อบาดาล บ่อบาดาลชนิดเครื่องสูบโยกด้วยมือ ให้สูบน้ำประมาณ 5 นาทีทิ้งไป ก่อนเก็บตัวอย่าง หากเป็นบ่อชนิดติดเครื่องสูบน้ำด้วยเครื่องจักร ให้เก็บตัวอย่างน้ำจากก๊อกที่ปล่อยออกมา หากไม่มีเครื่องสูบน้ำเลย เก็บตัวอย่างโดยตรงจากบ่อ โดยใช้ขวดเก็บซึ่งถ่วงน้ำหนักโดย ตรงที่ก้นขวดหรือใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างโดยหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกบนผิว
- แหล่งน้ำดิบ การเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำดิบโดยตรง ได้แก่ แม่น้ำลำธาร ทะเลสาบ อ่างเก็บน้ำ น้ำพุหรือบ่อน้ำตื้น ไม่ควรเก็บตัวอย่างใกล้ฝั่งมากเกินไป หรือเก็บตัวอย่างที่ห่างจุดเก็บน้ำดิบมากเกินไป วิธีการเก็บเปิดจุกหรือฝาขวดใช้มือจับบริเวณก้นขวด คว่ำปากขวดลงใต้ผิวน้ำประมาณ 50 เซนติเมตร แล้วจึงค่อยๆ เอียงปากขวดขึ้น เพื่อรับน้ำในกรณีน้ำนิ่งให้เอียงขวด และก้นขวดไปข้างหน้าในทิศทางขนานเพื่อรับน้ำแล้วรีบยกขวดขึ้นโดยเร็วปิดฝาขวดและปิดฉลาก
- สระว่ายน้ำ เก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 2 จุด คือ ส่วนลึก (ความลึกจากผิวน้ำถึงพื้นสระว่ายน้ำ มากกว่า 1.50 เมตร) และส่วนตื้น (ไม่น้อยกว่า 1.50 เมตร) ในขณะที่มีผู้ใช้สระว่ายน้ำมากที่สุด

- น้ำบริโภคบรรจุขวดและน้ำแร่ เก็บตัวอย่างโดยการสุ่มจากหลายๆ ตำแหน่ง ในโรงงานผลิต 6 ขวด ต่อ 1 ตัวอย่าง ในขนาดบรรจุ 1,000 ลบ.ซม. (1 ลิตร) หรือสุ่มจากสถานที่จำหน่าย จาก หลายๆ ลัง ในกรณีที่บรรจุถุงที่ไม่รั่วและในกรณีที่ขนาดบรรจุมากกว่า 4,000 ลบ.ซม. (4 ลิตร) ขึ้นไปให้สุ่ม 2 ขวด
- น้ำผลิตน้ำแข็ง เก็บตัวอย่างจากจุดก่อนเข้าซองน้ำแข็ง นำภาชนะที่เตรียมไว้แล้วล้างด้วยน้ำตัวอย่างก่อน จึงเก็บตัวอย่างให้เต็มภาชนะปิดจุกหรือฝาให้สนิท หากใช้ภาชนะหลาย ๆ ใบ ควรบรรจุพร้อมกันในวันและเวลาเดียวกัน
- น้ำแข็งก้อน หรือ Cube เลือกแบ่งน้ำแข็งก้อนจากหลายๆ ซอง โดยแบ่งเป็นก้อนๆ ขนาดพอ บรรจุในภาชนะได้ หากตัดก้อนใหญ่เกินไปจะบรรจุได้น้อย จึงควรทำเป็นก้อนเล็กๆ หลายก้อน บรรจุให้เต็มปิดฝาให้สนิท ถ้าเป็นน้ำแข็ง Cube สุ่มตัวอย่างโดยเลือกตัดจากหลายๆ จุดในเครื่องทำน้ำแข็งเครื่องเดียวกัน
- ชนิดก้อนเล็ก ให้ใช้อุปกรณ์ที่สะอาดปราศจากเชื้อตักน้ำแข็งบรรจุในภาชนะที่เตรียมไว้หรือ กระติกน้ำแข็งบรรจุในภาชนะที่เตรียมไว้หรือกระติกน้ำแข็งที่สะอาดและแห้งปิดฝาให้สนิท ปิดฉลาก
- ชนิดก้อนใหญ่ พยายามเก็บตัวอย่างจากน้ำแข็งที่มีก้อนใหญ่พอควรกะว่าเมื่อละลายแล้วจะ ได้ปริมาณน้ำรวมกันประมาณ 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร บรรจุในกระติกน้ำแข็งที่สะอาดและ แห้ง ปิดฝาให้สนิท ปิดฉลาก

ภาคผนวก 2
แผนภาพการจัดการตัวอย่างทดสอบ

ภาคผนวก 2

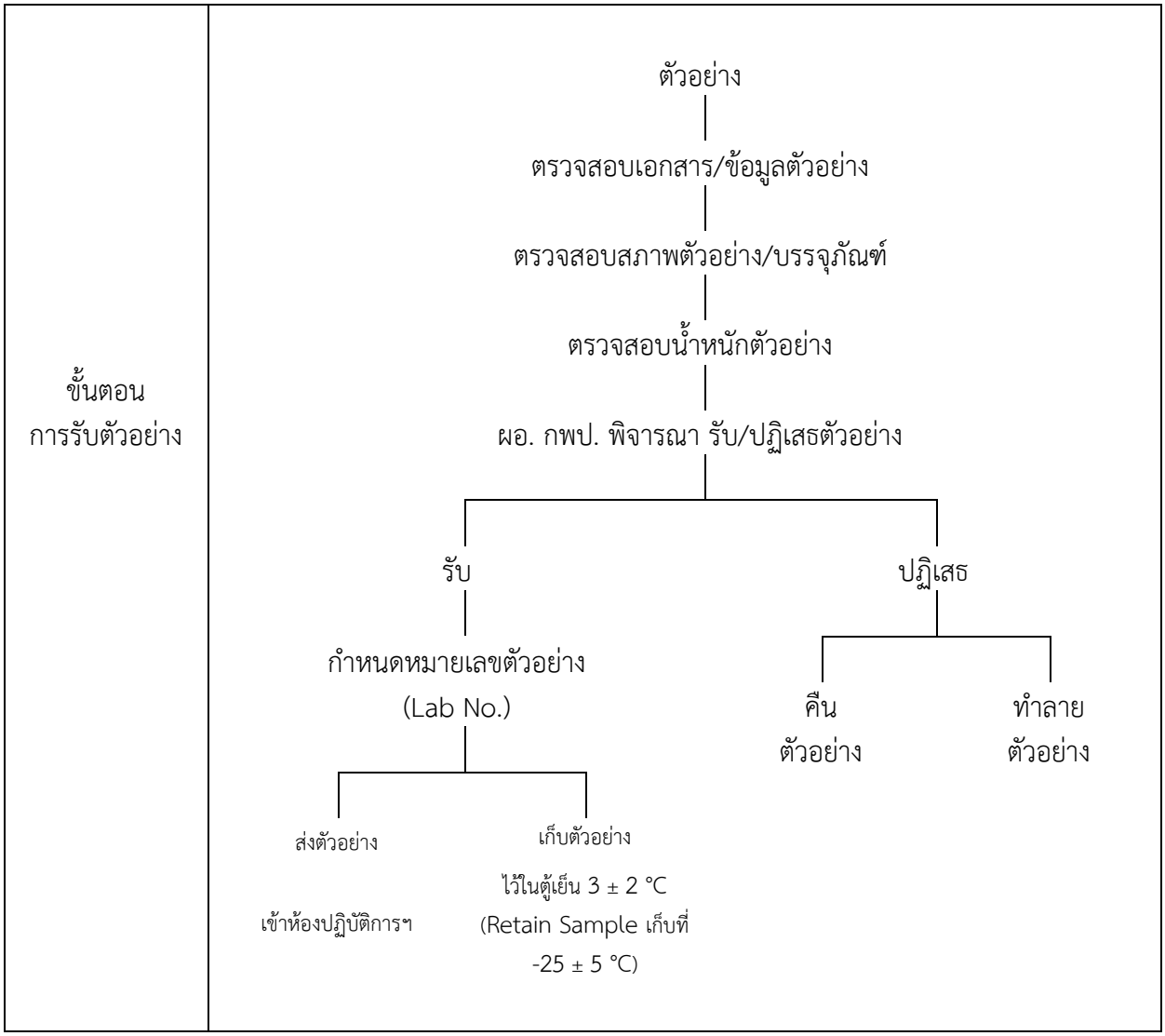
แผนภาพที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง



หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการส่งรายงานผลไม่เกิน 7 วันทำการ

แผนภาพที่ 2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ทดสอบ



หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานไม่เกิน 1 วัน หรือ 24 ชั่วโมง

แผนภาพที่ 3 ขั้นตอนการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน

ขั้นตอนตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน	ตัวอย่าง ↓ วางตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง ↓ เช็ดทำความสะอาดบรรจุภัณฑ์ภายนอก ↓ เปิดบรรจุภัณฑ์ ↓ ตัดลดขนาดตัวอย่าง ↓ ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง ↓ ทดสอบหาเชื้อ *Escherichia coli* / ทดสอบหาเชื้อ *Salmonella* spp. ↓ บันทึกผลการทดสอบ/เจ้าหน้าที่ทดสอบบันทึกผลการทดสอบลงชื่อ

หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการรายงานผลใช้ระยะเวลาดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสิ้น 6 วันทำการ

แผนภาพที่ 4 ขั้นตอนการรายงานผล

ขั้นตอน การรายงานผล	จัดทำรายงานผล/ จนท. จัดทำรายงานผลลงชื่อ | ตรวจสอบรายงานผล จนท. ตรวจสอบรายงานผลลงชื่อ | หัวหน้างานวิเคราะห์จุลินทรีย์ลงนาม | ผอ.กพป. ลงนาม | ผอ.สวพ. 4 ลงนาม | ส่งรายงานผลให้ผู้ส่งตัวอย่าง

หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานไม่เกิน 1 วัน

ภาคผนวก 3
แผนภาพวิธีทดสอบ

แผนภาพที่ 1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* โดยวิธีทดสอบ : AFNOR Certificate No. 3M 01/8-06/01 (TM-7.2-01-MC)

ขั้นตอนการทดสอบ *Escherichia coli.* (3M Petrifilm™ SEC)

ตัวอย่าง 50 กรัม + PSB 450 มล.(1:10) → 10 มล.+ PSB 90 มล. (1:100) → 10 มล.+ PSB 90 มล. (1:1000)

↓ ถ่าย 1 มล. ลงบน แผ่น 3M Petrifilm™ SEC (2 แผ่น)

↓ ถ่าย 1 มล. ลงบน แผ่น 3M Petrifilm™ SEC (2 แผ่น)

↓ ถ่าย 1 มล. ลงบน แผ่น 3M Petrifilm™ SEC (2 แผ่น)

1 วัน

↓

บ่มที่อุณหภูมิ 42 ± 1 °C เป็นเวลา 24 ± 2 ชม.

↓

นับจำนวนโคโลนีที่มีสีเขียวแกมน้ำเงิน

↓

คำนวณเชื้อ *E.coli* CFU/g หรือ CFU/ml

↓

รายงานผล

1 วัน

หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ *E. coli* ตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการรายงานผล ใช้ระยะเวลาดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสิ้น 3 วันทำการ

แผนภาพที่ 2 วิเคราะห์ *Salmonella* spp. โดยใช้วิธี AOAC Official Method 2014.01 *Salmonella* in Selected Foods 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express System

ขั้นตอนการทดสอบ *Salmonella* spp.

ตัวอย่าง 25 กรัม

↓

+ SEB 225 มล. (+Suplement 4.5 มล.) ตีป่น 1 นาที เขย่าให้เข้ากัน
บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชม. ± 2 ชม. — 1 วัน

↓

ถ่าย 100 ไมโครลิตร ลงใน RVS
บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชม. — 1 วัน

↓

ถ่าย 10 ไมโครลิตร Steak บน Salx Petrifilm
บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชม. — 1 วัน

↓

พบ Typical colony
ใส่ Confirm disk ลงในแผ่น Salx

↓

บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1 °C เป็นเวลา 4-5 ชม.

↓

โคโลนีเปลี่ยนจาก
สีแดงเป็นตกตะกอนสีน้ำเงินดำ
สรุปผล = ***Salmonella* spp.**

ไม่พบ Typical colony
สรุปผล = Not Detected

↓

รายงานผล — 1 วัน

หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ *Salmonella* spp. ตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการรายงานผลใช้ระยะเวลาดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสิ้น 4 วันทำการ