

คู่มือ

การให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

ห้องปฏิบัติการ
ทดสอบด้านจุลชีววิทยา



MICRO BIOLOGY



งานตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน
กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4

ผู้จัดทำ

ชัชชา

(นางสาวชาตียา บันหาร)

เจ้าหน้าที่ทดสอบ

ผู้อนุมัติ

(นางนัตยา จันทรส่อง)

ผู้จัดการวิชาการ

ประกาศใช้ : วันที่ 22 สิงหาคม 2565

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

268 หมู่ 12 ตำบลท่าช้าง อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

โทรศัพท์ 045-210-422 โทรสาร 045-210-423 Email. : oard4@doa.in.th

คำนำ

คู่มือการให้บริการห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยานี้จัดทำเพื่อใช้เป็นแนวทางการปฏิบัติงาน การให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (*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 ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารคู่มือการให้บริการห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยานี้ จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้บริหาร ผู้ปฏิบัติงาน และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง เจ้าหน้าที่ตรวจรับรองแปลง GAP แปลง อินทรีย์ เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทดสอบ รวมถึงผู้ขอรับบริการในการวิเคราะห์ เพื่อให้ขั้นตอนการปฏิบัติงานต่างๆเป็นไปในแนวทางเดียวกัน และถูกต้องตามหลักวิชาการ



(นางนัตยา จันทรส่อง)

ผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต

22 สิงหาคม 2565

สารบัญ

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

คู่มือการให้บริการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

1. ประวัติความเป็นมาของห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา

1.1 ความเป็นมา

ห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา ดำเนินการอยู่ภายใต้กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เริ่มดำเนินการมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 โดยมีภารกิจในการให้บริการตรวจสอบรับรองคุณภาพปัจจัยทางการเกษตร และสินค้าเกษตรพืชในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง 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 และเครื่องแก้วที่เกี่ยวข้องกับการวัด และชั่งตวงปริมาณตามระบบ 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 และหน่วยงานอื่นๆในพื้นที่รับขอบ 9 จังหวัด โดยมีรายละเอียดการให้บริการดังนี้

1.4.1 ขอบข่ายการตรวจสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน

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

ขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

ตารางที่ 1 ขอบข่ายการทดสอบด้านจุลชีววิทยา

ลำดับ (No.)	รายการทดสอบ (Test)	ชนิดตัวอย่าง (Type of Sample)	วิธีทดสอบ (Method)	หลักการทดสอบ (Principle) หรือ เทคนิค (Technique)
1.	การทดสอบหา ปริมาณ <i>E. coli</i> ในผักและผลไม้สด	ผักและผลไม้สด	TM-7.2-01-MC Base on AFNOR Certificate No. 3M 01/08-06/01	ใช้ 3M Petrifilm™ SEC ซึ่งเป็นชุดทดสอบ สำเร็จรูปเพื่อบ่งชี้ ปฏิกิริยาจากเอนไซม์กลู คิวโรนิเดส (glucuronidase) ที่มีเฉพาะในเชื้อ <i>E. coli</i>

1.4.2 ขั้นตอนขอรับบริการ

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

1) ผู้ขอรับบริการที่เป็นหน่วยงานราชการ จะต้องทำหนังสือขอส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์ จุลินทรีย์ปนเปื้อน และแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (FS-7.4-01-MC) ที่ระบุ รายละเอียดสำหรับผู้ขอรับบริการ วัตถุประสงค์ ข้อมูลของตัวอย่างที่ขอวิเคราะห์อย่างละเอียดลงในแบบฟอร์มใบ นำส่งตัวอย่างเพื่อทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (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 จะต้องมีหนังสือนำส่งจากหน่วยงานและระบุวัตถุประสงค์ที่จะขอตรวจ วิเคราะห์ และหนังสือขอความอนุเคราะห์เพื่อส่งตัวอย่างวิเคราะห์ จากนั้นติดต่อกับกลุ่มงานที่เกี่ยวข้องเพื่อตกลง ดำเนินการวิเคราะห์ทดสอบ แล้วทำตามรายละเอียดในหัวข้อ 1)

2. วิธีการสุ่มและแผนการชักตัวอย่าง

การสุ่มเก็บตัวอย่างพืช เช่น ผักผลไม้สด ธัญพืช เพื่อส่งตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน ต้องสุ่มโดยวิธีการปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ในขณะที่ผู้ปฏิบัติงาน จะต้องป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อม หรือจากผู้ปฏิบัติงานลงในตัวอย่างที่สุ่มเก็บ

ดังนั้นอุปกรณ์ที่ใช้ในการสุ่มเก็บที่สัมผัสกับตัวอย่างต้องปลอดเชื้อ ให้เก็บตัวอย่างประมาณ $\frac{3}{4}$ ของภาชนะบรรจุ เพื่อป้องกันการรั่วซึม และสามารถเขย่าตัวอย่างขณะทดสอบในห้องปฏิบัติการได้อย่างสะดวก ต้องชี้บ่งตัวอย่างชัดเจน ครบถ้วน และบันทึกรายละเอียดตัวอย่างลงในแบบฟอร์มใบนำส่งตัวอย่าง (FS-7.4-01-MC) และผู้ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างต้องปฏิบัติให้ถูกต้อง หากเป็นตัวอย่างของเหลวหรือตัวอย่างน้ำ จะต้องบรรจุในภาชนะที่เหมาะสมปราศจากการปนเปื้อน และเหลือช่องอากาศในขวดอย่างน้อย 2.5 เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะทันทีหลังจากการสุ่มชักตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว และนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง หลังสุ่มเก็บตัวอย่าง และผู้ส่งตัวอย่างต้องเก็บรักษาสภาพตัวอย่างขณะนำส่งตามคำแนะนำการเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง (ข้อ 2.3)

2.1 ขั้นตอนการสุ่มชักตัวอย่างสำหรับเจ้าหน้าที่สุ่มชักตัวอย่าง

2.1.1. อุปกรณ์

- 1) ถุงพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง
- 2) ขวดสเปรย์แอลกอฮอล์ (ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 70%)
- 3) ถุงมือยางปลอดเชื้อ
- 4) หนัวยางสำหรับรัดถุง
- 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 รัดหนัวยางให้สนิท แล้วสวมถุงพลาสติก และรัดด้วยหนัวยางอีกชั้น การสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำจะต้องไม่เปิดขวดเก็บตัวอย่างจนกว่าจะทำการบรรจุตัวอย่าง และสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำตามวิธีการให้ถูกต้อง (ภาคผนวก 1)
- 3) เก็บตัวอย่างใส่ในกล่องเก็บรักษาอุณหภูมิ และปิดฝากล่องทันที เพื่อรักษาอุณหภูมิภายในกล่องตามคำแนะนำการเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง
- 4) เปลี่ยนถุงมือทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างใหม่
- 5) เมื่อต้องสุ่มเก็บตัวอย่างใหม่ให้เริ่มปฏิบัติตามข้อ 1- 4

ข้อควรปฏิบัติ

- 1) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างจะต้องเก็บในที่สะอาด ปราศจากฝุ่นละอองหรือการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จัดเก็บอุปกรณ์ทั้งหมดในกล่องพลาสติกที่สะอาด และมีฝาปิด
- 2) ถุงใส่ตัวอย่างควรเก็บในถุงอีกชั้นและปิดสนิท ไม่ควรเจาะรูถุงใส่ตัวอย่าง และห้ามใช้สวดยื่นกระดากปิดปากถุง ควรใช้หนังยางรัดปิดปากถุง
- 3) ไม่ควรใส่ตัวอย่างในกล่องมากเกินไปเพราะว่าตัวอย่างจะชำ และเน่าง่าย
- 4) ไม่ควรใส่ใบบันทึกรายละเอียดตัวอย่างรวมกับตัวอย่างเพื่อป้องกันการปนเปื้อน
- 5) กรณีตัวอย่างที่สุ่มเก็บมีอุณหภูมิสูง เช่น ตัวอย่างที่สุ่มเก็บจากแปลงเกษตร ควรเปิดปากถุงในแนวนอน เพื่อให้อุณหภูมิลดลง แล้วจึงปิดปากถุง
- 6) ถุงมือควรเก็บในกล่องที่ผลิตมาจากโรงงาน

2.2 การบรรจุเพื่อนำส่งตัวอย่างทดสอบ

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

การนำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการต้องมั่นใจว่าการเก็บตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ นำส่งตัวอย่างมายังห้องปฏิบัติการทันทีในสภาวะที่ใกล้เคียงการเก็บรักษาเริ่มต้นที่สุด ซึ่งตัวอย่างให้ชัดเจน และเก็บไว้ในภาชนะบรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันการกระแทก ไม่ควรใช้น้ำแข็งก้อนเพราะอาจทำให้ตัวอย่างปนเปื้อนกรณีบรรจุภัณฑ์แตก หรือรั่วซึม

2.3 การเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง

ระหว่างนำส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการทดสอบด้านจุลชีววิทยา ตัวอย่างอาจเกิดการเน่าเสียได้ ผู้ส่งตัวอย่างต้องเก็บรักษาสภาพตัวอย่างขณะนำส่งตามข้อแนะนำการเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง (ISO 7218) ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อรอการตรวจวิเคราะห์อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างให้เก็บที่อุณหภูมิต่อไปนี้

- 2.3.1 ตัวอย่างผักและผลไม้สดเก็บที่อุณหภูมิ $3 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- 2.3.2 ตัวอย่างทั่วไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง $18-27^{\circ}\text{C}$
- 2.3.3 ตัวอย่างแช่แข็งเก็บที่อุณหภูมิ -15°C ถึง -18°C
- 2.3.4 ตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิห้องไม่ได้เก็บที่อุณหภูมิ $3 \pm 2^{\circ}\text{C}$



3. ขั้นตอนการรับตัวอย่าง

3.1 ผู้ขอรับบริการนำส่งตัวอย่างโดยตรงที่ศูนย์บริการวิเคราะห์ และทดสอบแบบเบ็ดเสร็จ (One Stop Service) ชั้น 1 อาคารปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 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	1) วันและเวลาที่รับตัวอย่าง
2) หน่วยงาน / บริษัท ที่อยู่ และเบอร์โทรศัพท์ติดต่อ	2) เลขที่คำขอรับบริการ
3) วัตถุประสงค์ในการส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์	3) กำหนดวันรายงานผลการทดสอบ
4) ข้อมูลตัวอย่าง	4) ทบทวนคำขอ และตรวจสอบว่าสภาพตัวอย่าง พร้อมสำหรับทดสอบหรือไม่
5) รายการที่ต้องการทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน	5) ลงชื่อเจ้าหน้าที่รับตัวอย่าง และวันที่รับตัวอย่าง
6) การรับตัวอย่างคืน	
7) การรับรายงานผลการทดสอบ	
8) ระบุชนิดตัวอย่าง / สภาพตัวอย่าง	
9) ระบุรายละเอียดตัวอย่างให้ครบถ้วน	
10) ลงชื่อผู้ส่งตัวอย่าง และวันที่ส่งตัวอย่าง	

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

น้ำหนักของ ทั้งรุ่นการผลิต/แปลง	จำนวนจุด ที่เก็บ	น้ำหนักต่อ/จุด	น้ำหนัก ที่ส่งทดสอบจุลินทรีย์	จำนวน ตัวอย่าง
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 เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างจะทำความเข้าใจความตกลงกับผู้ขอรับบริการเรื่องเกณฑ์หรือมาตรฐาน และระดับความเชื่อมั่นที่ใช้ในการประเมิน โดยปฏิบัติตามเกณฑ์การตัดสินใจและการแปลผลจุลินทรีย์ปนเปื้อน (WI-7.8-01-MC)

3.4.2 ในกรณีที่ลูกค้าแจ้งความประสงค์ขอรับตัวอย่างคืน ให้เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างประสานงานกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อบันทึกหมายเวลารับตัวอย่างคืน 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)

กรณีที่ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทันที

หากเกิดกรณีที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันทีหลังตัวอย่างถึงห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ทดสอบตัวอย่างจะเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อรอทดสอบ แต่เก็บตัวอย่างไว้ได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง และอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่าง อุณหภูมิในการเก็บรักษาจะยึดตามชนิดของตัวอย่างดังต่อไปนี้ (ISO 7218)

- 1) ตัวอย่างทั่วไปที่เก็บที่อุณหภูมิ 18 – 27 °C
- 2) ตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิห้องไม่ได้ เก็บที่ 3 ± 2 °C
- 3) ตัวอย่างแช่แข็ง เก็บที่ -20 °C
- 4) ตัวอย่างน้ำเก็บที่อุณหภูมิ < 8 °C (AWWA 2017)

3.8 ค่าธรรมเนียมการวิเคราะห์ และรับใบเสร็จรับเงิน

ตารางที่ 4 ค่าธรรมเนียมในการวิเคราะห์

ลำดับ	รายการตรวจวิเคราะห์	ค่ามาตรฐาน *	ค่าธรรมเนียม (บาท) *
1	<i>Escherichia coli</i>	≤ 100 (CFU/g) (ใน 50 กรัม)	750
2	<i>Salmonella</i> 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) รวมทั้งมีการจัดการเครื่องมือและเครื่องแก้วที่เกี่ยวข้องกับการวัดและชั่งตวงปริมาณตามระบบ ISO/IEC 17025 และ ISO 7218 โดยการสอบเทียบและทวนสอบอย่างสม่ำเสมอ นำเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน (Reference Strains) มาใช้ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ มีการพัฒนาบุคลากรโดยการฝึกอบรมหลักสูตรที่เกี่ยวข้อง และมีการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบภายนอก (EQA) โดยการเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ (PT) ซึ่งจัดทำโดยสถาบันวิจัยอาหารแห่งชาติ

5.1 เมื่อห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างจากเจ้าหน้าที่รับตัวอย่างแล้ว จะทำการสุ่มตัวอย่างตามขั้นตอนวิธีปฏิบัติการจัดการตัวอย่างทดสอบจุลินทรีย์ปนเปื้อน (WI-7.4-01-MC) เพื่อทดสอบหาปริมาณ *E. coli* โดยใช้วิธีทดสอบหาปริมาณ *E. coli* ในผักและผลไม้สด (TM-7.2-01-MC) และทดสอบหา *Salmonella* spp. โดยใช้วิธี AOAC Official Method 2014.01 และ ISO 6579 : 2017-1 (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 1 เดือนหลังจากออกรายงานผล

6. การจัดการตัวอย่างหลังการทดสอบ และการทำลายตัวอย่าง

6.1 ในกรณีลูกค้าที่ลูกค้าแจ้งความประสงค์ขอรับตัวอย่างคืน ให้เจ้าหน้าที่รับตัวอย่างประสานงานกับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อกำหนดระยะเวลาการรับตัวอย่างคืน พร้อมกับลงบันทึกเวลานัดหมายการรับตัวอย่างคืน ในแบบฟอร์มการรับตัวอย่างทดสอบคืน (FS-7.4-05) และเก็บรักษาตัวอย่างตามข้อ 2.3 (การเก็บรักษาตัวอย่างขณะนำส่ง)

6.2 ในกรณีตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคให้นำตัวอย่างใส่ในถุงขยะสีดำ และมัดปากถุงให้สนิท แล้วทิ้งลงถังขยะมูลฝอยของห้องปฏิบัติการเพื่อรอกำจัด



6.3 ในกรณีตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการทดสอบแล้ว จะมีปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น จะต้องบรรจุตัวอย่างใส่ในถุงพลาสติก และปิดปากถุงให้สนิท และนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave (MC-AC-01) ที่ 121 °C นาน 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างใส่ในถุงขยะสีแดง และมัดปากถุงให้สนิท แล้วทิ้งลงถังขยะฆ่าเชื้อแล้วของห้องปฏิบัติการเพื่อรอการจัดพร้อมขยะมูลฝอย หากตัวอย่างยังไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อจะนำตัวอย่างใส่ในถุงขยะสีแดง และมัดปากถุงให้สนิททิ้งลงในถังขยะติดเชื้อเพื่อรอฆ่าเชื้อก่อนทิ้ง

6.4 ในกรณีตัวอย่างที่ต้องทดสอบซ้ำ (retain sample) จะเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -25 ± 5 °C ระยะเวลา 1 เดือน 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)

ปัญหาและความเบี่ยงเบน (ถ้ามี)

หมายเหตุ ^{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 และวิธี ISO 6579 : 2017-1

^{3/} เกณฑ์มาตรฐาน.....

- EST (Estimated count) หมายถึง ค่าประมาณ

- รายงานนี้เป็นผลของตัวอย่างที่ได้รับ มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น และรายงานผลการทดสอบ ต้องไม่ถูกสำเนาเฉพาะบางส่วนยกเว้นทำทั้งฉบับโดยได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ

- * รายการทดสอบที่ไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2017



8. การแก้ไขรายงานผลการทดสอบ

8.1 เมื่อจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงแก้ไขหรือออกรายงานผลการทดสอบใหม่ โดยกำหนดให้ผู้ที่มีความประสงค์จะแก้ไขรายงานผลการทดสอบใหม่ เขียนบันทึกข้อความเพื่อขอแก้ไขเอกสารรายงานผลการทดสอบใหม่ โดยจะต้องระบุข้อมูลที่将会ให้เปลี่ยนแปลงแก้ไขพร้อมด้วยเหตุผลที่มีการเปลี่ยนแปลงในรายงานผลอย่างชัดเจน นำเสนอต่อผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิตหรือผู้จัดการด้านคุณภาพ เพื่อส่งการต่อไป

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

9. การขอสำเนารายงานผลการทดสอบ

ในกรณีที่ผู้ใช้บริการมีความจำเป็นต้องขอสำเนารายงานผลการทดสอบ เนื่องจากทำรายงานผลการทดสอบฉบับจริงสูญหาย ผู้ใช้ขอบริการจะต้องทำหนังสือบันทึกข้อความขอสำเนารายงานผลการทดสอบ 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 Petrifilm Select E. coli Count Plate NF Validation Certificate Number 3M 01/8-06/01 (as compared to ISO 16649 - 2 E. coli method)
- 3M Petrifilm™ 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 ซึ่งเป็นตัวแทนน้ำที่จะตรวจโดยวิธีปราศจากเชื้อแล้วให้เหลือช่องอากาศในขวดอย่างน้อย 2.5 เซนติเมตร (เพื่อให้สามารถ เขย่าขวดเพื่อผสมตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์) แล้วรีบปิดฝาจุกทันทีสำหรับการเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำต่างๆ มีรายละเอียดดังนี้

- น้ำประปาหรือน้ำที่ไหลจากก๊อก เตรียมขวดแก้วที่สะอาดปราศจากเชื้อมีจุกปิดสนิท ทำความสะอาดก๊อกโดยเช็ดด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 % หรือใช้ฟลนก่อนแล้วปล่อยให้ น้ำไหลเต็มที่ เป็นเวลา 1 นาที เพื่อระบายน้ำที่อยู่ในท่อทิ้ง นำขวดไปรองน้ำจากก๊อกประมาณ 4/5 ของขวด แล้วปิดจุก (หรือฝาขวด) ทันทีระวังอย่าให้จุกหรือฝาขวดสัมผัสมือหรือสิ่งอื่นใด เพื่อป้องกันการ ปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอก ปิดฉลากแล้วนำส่งวิเคราะห์

- เก็บจากบ่อบาดาล บ่อบาดาลชนิดเครื่องสูบน้ำด้วยมือ ให้สูบน้ำประมาณ 5 นาทีทิ้งไป ก่อนเก็บตัวอย่าง หากเป็นบ่อชนิดติดเครื่องสูบน้ำด้วยเครื่องจักร ให้เก็บตัวอย่างน้ำจากก๊อกที่ปล่อยออกมา หากไม่มีเครื่องสูบน้ำเลย เก็บตัวอย่างโดยตรงจากบ่อ โดยใช้ขวดเก็บซึ่งถ่วงน้ำหนักโดย ตรงที่ก้นขวดหรือใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่าง โดยหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกบนผิว

- 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



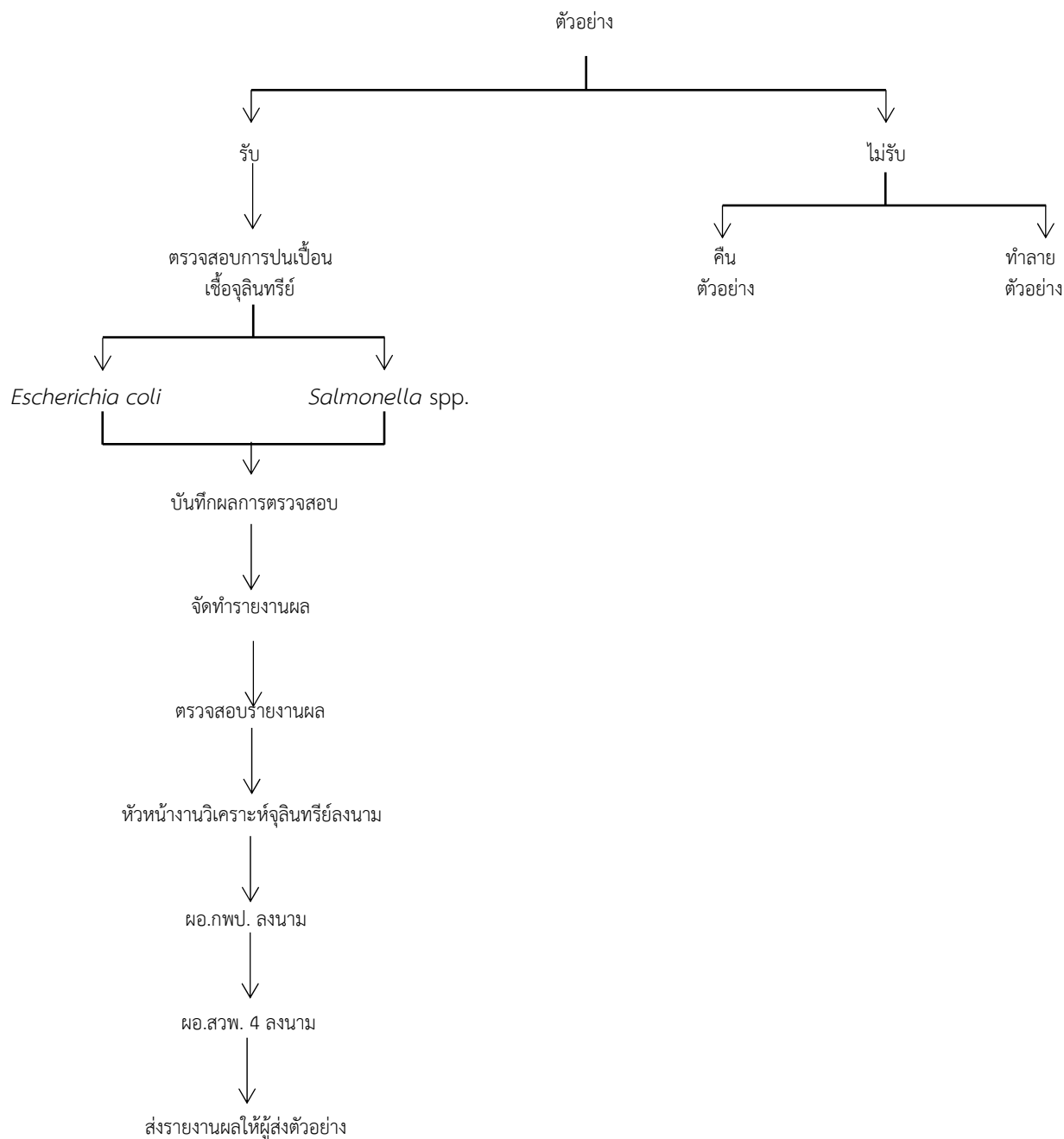
- น้ำบริโภคน้ำจืดและน้ำแร่ เก็บตัวอย่างโดยการสุ่มจากหลายๆ ตำแหน่ง ในโรงงานผลิต 6 ขวด ต่อ 1 ตัวอย่าง ในขนาดบรรจุ 1,000 ลบ.ซม. (1 ลิตร) หรือสุ่มจากสถานที่จำหน่าย จาก หลายๆ ลัง ในกรณีที่บรรจุถุงที่ไม่รั่วและในกรณีที่ขนาดบรรจุมากกว่า 4,000 ลบ.ซม. (4 ลิตร) ขึ้นไปให้สุ่ม 2 ขวด
- น้ำผลิตน้ำแข็ง เก็บตัวอย่างจากจุดก่อนเข้าช่องน้ำแข็ง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



ภาคผนวก 2
แผนภาพการจัดการตัวอย่างทดสอบ

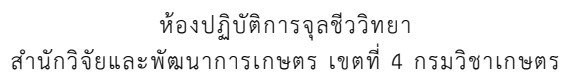
ภาคผนวก 2

แผนภาพที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง



หมายเหตุ

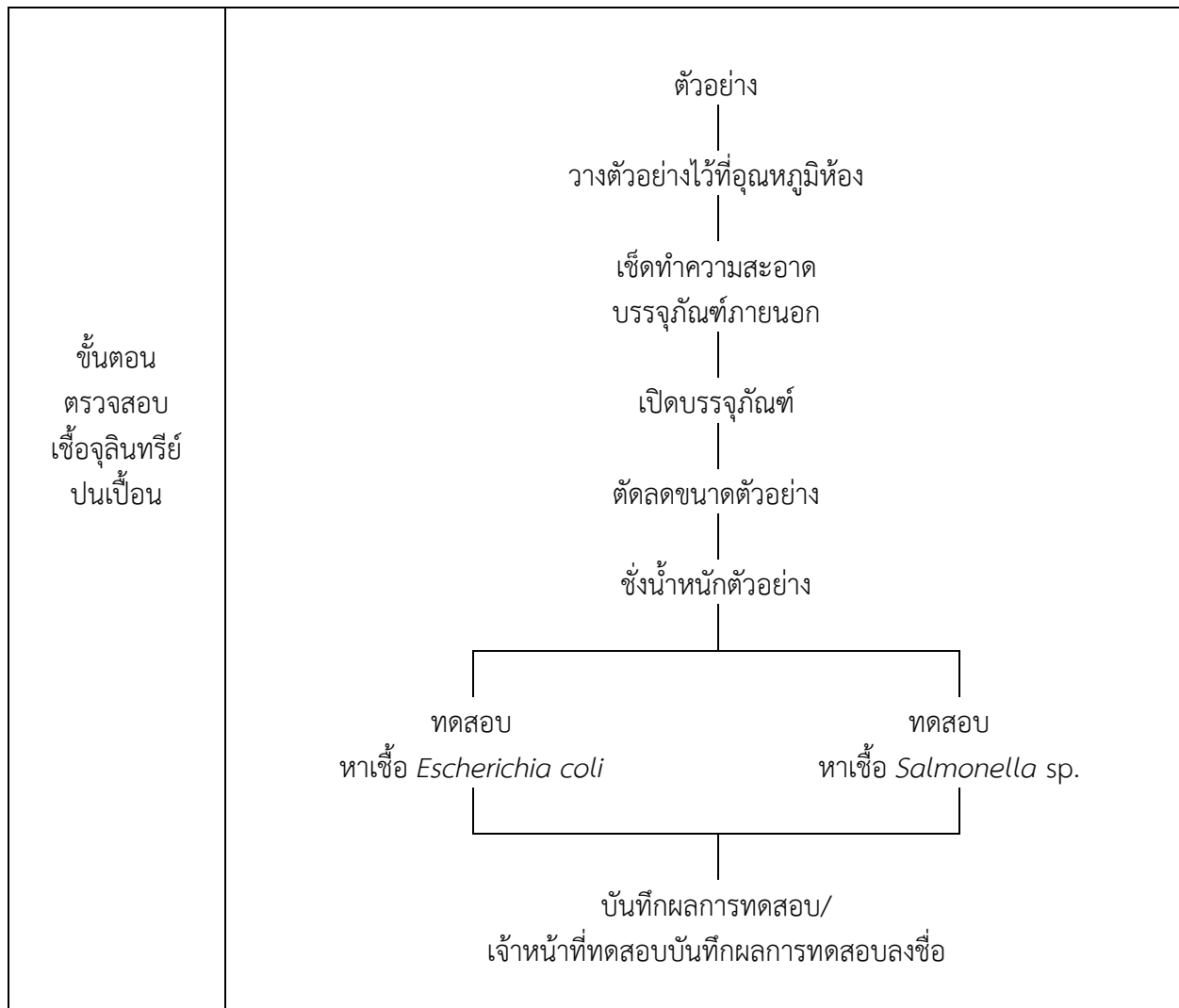
- ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการส่งรายงานผลไม่เกิน 7 วันทำการ



ขั้นตอน การรับตัวอย่าง	ตัวอย่าง
	ตรวจสอบเอกสาร/ข้อมูลตัวอย่าง
	ตรวจสอบสภาพตัวอย่าง/บรรจุภัณฑ์
	ตรวจสอบน้ำหนักตัวอย่าง
	ผอ. กพป. พิจารณา รับ/ปฏิเสธตัวอย่าง
	รับ กำหนดหมายเลขตัวอย่าง (Lab No.) ส่งตัวอย่าง เก็บตัวอย่าง ไว้ในตู้เย็น $3 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Retain Sample เก็บที่ $-25 \pm 5^{\circ}\text{C}$) เข้าห้องปฏิบัติการฯ ปฏิเสธ คืน ตัวอย่าง ทำลาย ตัวอย่าง

- ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานไม่เกิน 1 วัน หรือ 24 ชั่วโมง

แผนภาพที่ 3 ขั้นตอนการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน

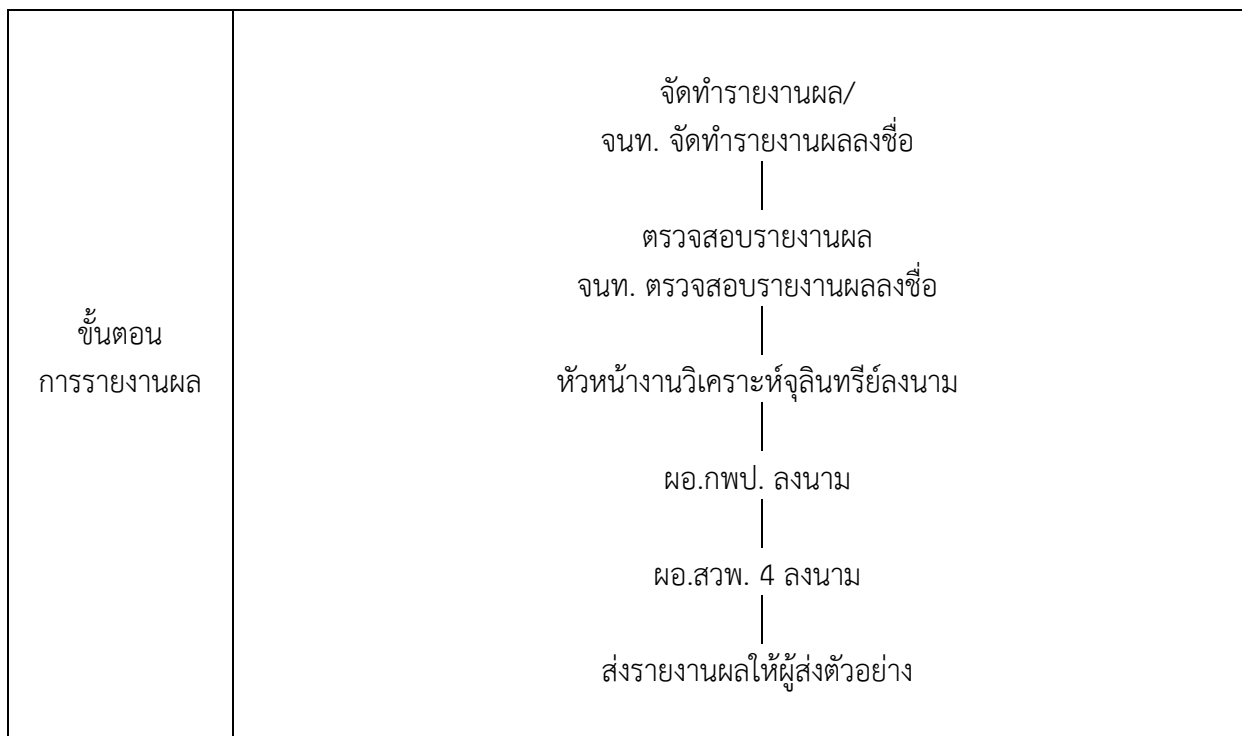


หมายเหตุ

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



แผนภาพที่ 4 ขั้นตอนการรายงานผล



หมายเหตุ

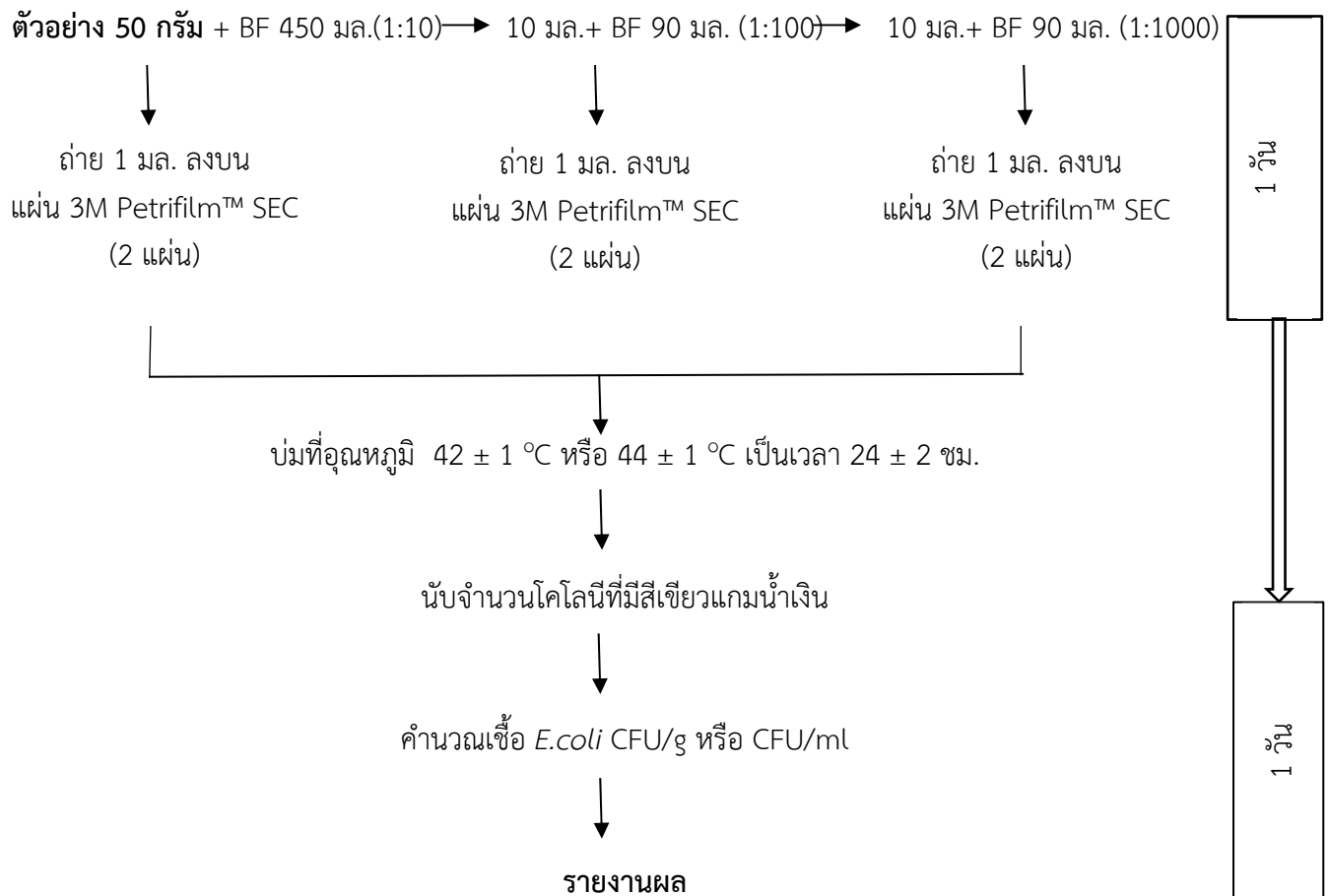
- ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานไม่เกิน 1 วัน



ภาคผนวก 3
แผนภาพวิธีทดสอบ

แผนภาพที่ 1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* โดยวิธีทดสอบ AOAC โดยใช้ 3M Petrifilm™ Select *E. coli* Count (SEC) Plate (TM-7.2-01-MC)

ขั้นตอนการทดสอบ *Escherichia coli*. (Petrifilm SEC)

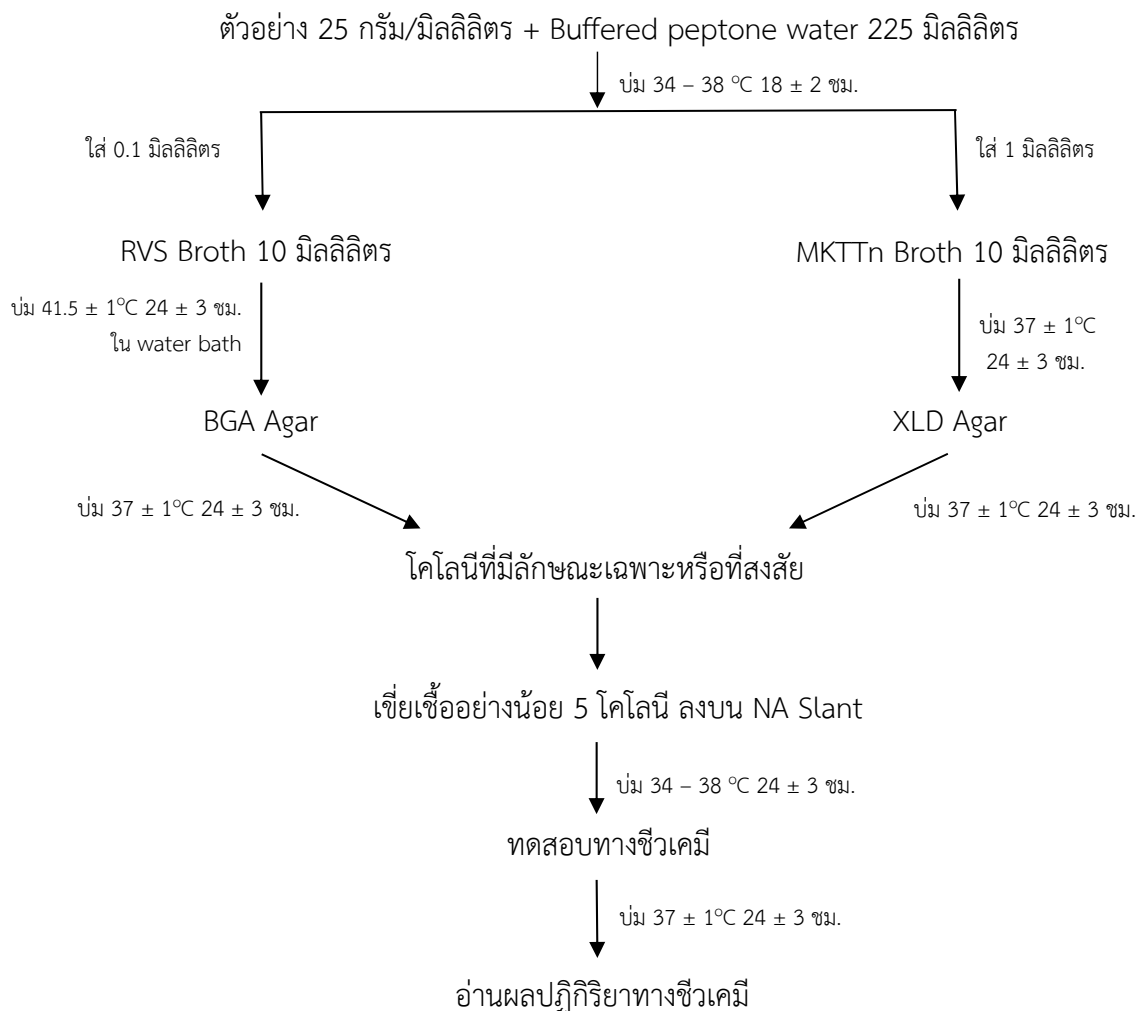


หมายเหตุ

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

แผนภาพที่ 2 วิเคราะห์ *Salmonella* spp. โดยใช้วิธี ISO 6579 : 2017-1

ขั้นตอนการทดสอบ *Salmonella* spp.



TSI agar				Lysine medium	Tryptone media	Urea agar	0.85% Sodium chloride (β-galactosidase)	เชื้อก่อโรคที่สงสัย
Slant	Butt	Gas	H ₂ S					
แดง	เหลือง	+	+	+	-	-	-	<i>Salmonella</i> spp.ทั่วไป
แดง	เหลือง	-	+	+	-	-	-	<i>S. Typhi</i>

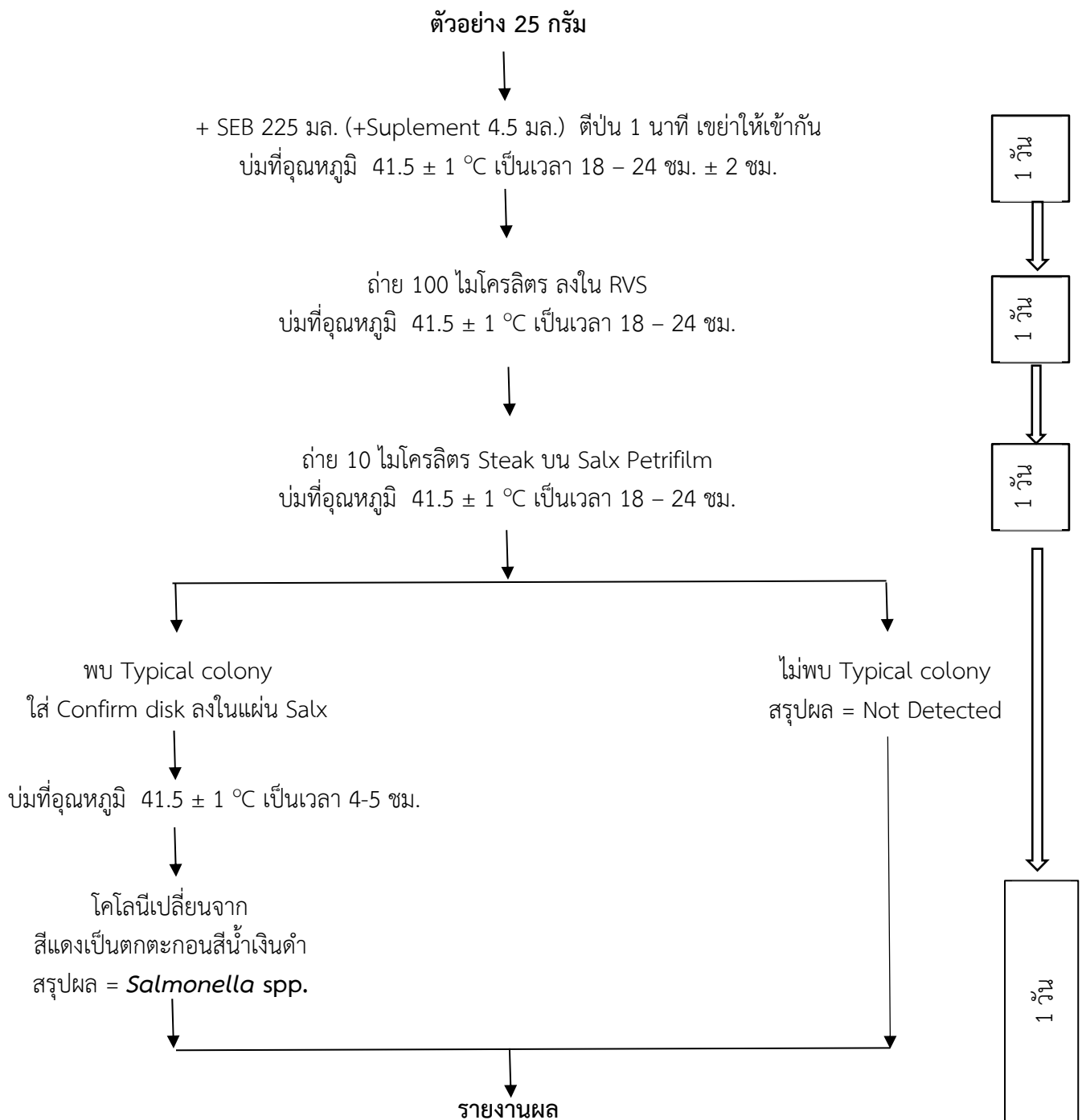
รายงานผล

หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ *Salmonella* spp. ตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการรายงานผลใช้ระยะเวลาดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสิ้น 6 วันทำการ

แผนภาพที่ 3 วิเคราะห์ *Salmonella* spp. โดยใช้วิธี 3M Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX) System

ขั้นตอนการทดสอบ *Salmonella* spp.



หมายเหตุ

- ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ *Salmonella* spp. ตั้งแต่ขั้นตอนการรับตัวอย่างจนถึงขั้นตอนการรายงานผลใช้ระยะเวลาดำเนินงานอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสิ้น 4 วันทำการ