



ข้อแนะนำในการประกันคุณภาพ
ผลการทดสอบห้องปฏิบัติการ
จุลชีววิทยาด้านอาหาร
(LA-G-21)

สำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม
75/7 ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ : 0-2201-7125 0-2201-7165 0-2201-7134
<http://bla.dss.go.th>

บทนำ

เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการประกันคุณภาพผลการทดสอบห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
ด้านอาหารให้มีความเหมาะสมตามหลักวิชาการและสอดคล้องกับมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นประโยชน์
สำหรับการเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการในการยื่นขอรับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ
ตาม ISO/IEC 17025 และมาตรฐานการยอมรับความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
รวมทั้งคณะผู้ประเมินได้นำไปใช้เป็นแนวทางในการดำเนินการในการรับรองระบบงานห้องปฏิบัติการ

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	i
สารบัญ	ii
1. ขอบข่าย	1
2. นิยาม	1
3. แนวทางการประกันคุณภาพผลการทดสอบห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาด้านอาหาร	2
3.1 การควบคุมคุณภาพการทดสอบในการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative)	2
3.2 การควบคุมคุณภาพการทดสอบในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative)	2
3.3 การทวนสอบความสามารถของบุคลากร	3
เอกสารอ้างอิง	4

1. ขอบข่าย

เอกสารฉบับนี้ใช้สำหรับห้องปฏิบัติการที่ยื่นขอการรับรองหรือได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบตาม ISO/IEC 17025 และมาตรฐานการยอมรับความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์บริการ

2. นิยาม

- 2.1 Positive Control หมายถึง ตัวอย่างที่ทราบผลแน่นอนว่าให้ผลเป็นบวกหรือมีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์
- 2.2 Negative Control หมายถึง ตัวอย่างที่ทราบผลแน่นอนว่าให้ผลเป็นลบหรือไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์
- 2.3 Working Culture หมายถึง เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่ผ่านการเตรียมและเก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อนำมาใช้งานในกระบวนการทดสอบและมีการควบคุมเพื่อรักษาคุณลักษณะและความมีชีวิตของเชื้อ

3. แนวทางการประกันคุณภาพผลการทดสอบห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาด้านอาหาร

3.1 การควบคุมคุณภาพการทดสอบในการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative)

3.1.1 การทำ Positive Control ในตัวอย่างทดสอบ

การดำเนินงาน

- ใส่ Working Culture ของ Positive Control ที่มีปริมาณเชื้อประมาณ 10 CFU ในตัวอย่างทดสอบ
- ดำเนินการตามวิธีทดสอบตั้งแต่ต้นจนจบกระบวนการวิเคราะห์
- ในกรณีที่ผลการทดสอบของ Positive Control ให้ผลเป็น Negative ห้องปฏิบัติการต้องหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขทันที

ความถี่

อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

3.1.2 การทำ Positive Control ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง

การดำเนินงาน

- ใส่ Working Culture ของ Positive Control ที่มีปริมาณเชื้อประมาณ 10 CFU ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในขั้นตอน Enrichment
- ดำเนินการตามวิธีทดสอบตั้งแต่ต้นจนจบกระบวนการวิเคราะห์
- ในกรณีที่ผลการทดสอบของ Positive Control ให้ผลเป็น Negative ห้องปฏิบัติการต้องหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขทันที

ความถี่

อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

3.1.3 การทำ Negative Control ในตัวอย่างทดสอบที่ทราบผลแล้วว่าเป็น Negative

การดำเนินงาน

- ใส่ Working Culture ที่เป็น Non-target โดยใช้ปริมาณเชื้อประมาณ 100 CFU ในตัวอย่างทดสอบ
- ดำเนินการตามวิธีทดสอบตั้งแต่ต้นจนจบกระบวนการวิเคราะห์
- ในกรณีที่ผลการทดสอบของ Negative Control ให้ผลเป็น Positive ห้องปฏิบัติการต้องหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขทันที

ความถี่

อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

3.2 การควบคุมคุณภาพการทดสอบในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative)

3.2.1 การทำ Duplicate sample

การดำเนินงาน

- แบ่งตัวอย่างเป็น 2 ส่วน
- ดำเนินการตามวิธีทดสอบตั้งแต่ต้นจนจบกระบวนการวิเคราะห์
- ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทำ Duplicate และทำการเปรียบเทียบ ผลการวิเคราะห์ดังนี้

- กรณีรายงานผลการวิเคราะห์เป็นหน่วย CFU/g หรือ CFU/mL ผลการวิเคราะห์ต้องมีความแตกต่างกันไม่เกิน $\pm 0.5 \log$ หากเกินเกณฑ์ที่กำหนดห้องปฏิบัติการต้องหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขทันที
- กรณีรายงานผลการวิเคราะห์เป็นหน่วย MPN/g หรือ MPN/mL ผลการวิเคราะห์ต้องมีความแตกต่างกันไม่เกินช่วง Lower และ Upper ตามตาราง MPN ที่ใช้ โดยผลการทดสอบมีระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % หากเกินเกณฑ์ที่กำหนดห้องปฏิบัติการต้องหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขทันที

ความถี่

ร้อยละ 10 ของตัวอย่าง/วัน กรณีที่ตัวอย่างน้อยกว่า 10 ตัวอย่าง ต้องทำอย่างน้อย 1 ตัวอย่าง

3.2.2 การทำ Positive Control ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง

การดำเนินงาน

- ใส่ Working Culture ของ Positive Control โดยปริมาณเชื้อที่ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นไปตาม ISO 11133: 2014
- ดำเนินการตามวิธีทดสอบตั้งแต่ต้นจนจบกระบวนการวิเคราะห์
- นับจำนวน หากเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ Selective Media ให้ตรวจสอบลักษณะปรากฏ กรณีลักษณะปรากฏไม่ถูกต้อง ห้องปฏิบัติการต้องหาสาเหตุและดำเนินการแก้ไขทันที

ความถี่

อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

3.3 การทวนสอบความสามารถของบุคลากร

3.3.1 การทวนสอบความสามารถของบุคลากร

- ประเมินการนับจำนวนโคโลนี โดยให้เจ้าหน้าที่แต่ละคนนับจำนวนโคโลนีบนเพลทเดียวกัน เกณฑ์การประเมินคือจำนวนโคโลนีแตกต่างกันไม่เกิน 10 %

$$\text{สูตรการคำนวณ} = \frac{(\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้สูงสุด} - \text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ต่ำสุด}) \times 100}{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ต่ำสุด}}$$

ความถี่

อย่างน้อย 3 เดือน/ครั้ง

- ประเมินการเจือจาง โดยประเมินจากจำนวนโคโลนีที่พบในแต่ละ Dilution เกณฑ์การประเมินคือจำนวนโคโลนีที่พบในแต่ละ Dilution อยู่ในช่วงการเจือจาง 10 เท่า (Ten fold dilution)

ความถี่

ทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

3.3.2 การเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญ (proficiency testing)

มีการจัดทำแผนและเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ และ/หรือ การเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม (ถ้ามี) อย่างน้อย 1 โปรแกรมทุก 2 ปี

เอกสารอ้างอิง

1. ISO 7218 : 2024, Microbiology of the food chain — General requirements and guidance for microbiological examinations
2. ISO 11133: 2014, Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media