

## 1. วัตถุประสงค์

เพื่อใช้เป็นวิธีปฏิบัติงานในการควบคุมสถานที่และสภาวะแวดล้อมในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา เพื่อเป็นการลดโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอกไปสู่ตัวอย่างทดสอบ ทำให้ผลการทดสอบถูกต้องและเป็นจริงมากที่สุด

## 2. ขอบข่าย

ใช้ควบคุมสถานที่และสภาวะแวดล้อมในการทดสอบและการปฏิบัติงานด้านจุลชีววิทยา จำนวน 4 ห้องปฏิบัติการ ได้แก่

- 2.1. ห้องปฏิบัติการศูนย์บริการวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์
- 2.2. ห้องปฏิบัติการหมวดเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์
- 2.3. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ (ห้องหมายเลข 1204 – 1205)
- 2.4. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ (ห้องหมายเลข 1204 – 1206)

## 3. อ้างอิง

- 3.1. ISO 7218:2007/Amd 1:2013: Microbiology of food and animal feeding stuff – General requirements and guidance for microbiological examinations - Amendment 1, ISO, 3<sup>rd</sup> ed., 2013.
- 3.2. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA, AWWA & WEF, 22<sup>nd</sup> ed., 2012, part 9020.
- 3.3. Richard B. Smittle and Anita J. Okrend,; Laboratory Quality Assurance, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food, 4<sup>th</sup> ed., Chapter 1
- 3.4. พระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558

## 4. นิยาม

- 4.1. สถานที่ หมายถึง บริเวณที่ใช้ในการปฏิบัติงานทดสอบในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา
- 4.2. สภาวะแวดล้อม หมายถึง สิ่งแวดล้อมที่อยู่บริเวณห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ได้แก่ สภาพอากาศ อุณหภูมิ ความชื้น แสง สั่นสะเทือน เป็นต้น

## 5. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

5.1. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาต้องแยกออกจากกิจกรรมอื่น ๆ ภายในห้องปฏิบัติการจัดเป็นส่วนแยกจากกัน โดยเฉพาะ มีการจำกัดการเข้าออกของบุคคลซึ่งสามารถเข้า – ออกได้โดยไม่ต้องขออนุญาต ดังนี้

- 5.1.1. นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา หรือเจ้าหน้าที่ที่ได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
- 5.1.2. ผู้ที่ทำหน้าที่ผู้ดำเนินการ และผู้มีหน้าที่ปฏิบัติการ ตามหนังสือรับรองการจดแจ้งเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ ตามพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558
- 5.1.3. บุคคลอื่นนอกเหนือจากข้อ 5.1.1. และ 5.1.2. ต้องปฏิบัติตามขั้นตอนการดำเนินงาน เรื่อง การควบคุมดูแลสถานที่และสภาวะแวดล้อม และต้องได้รับอนุญาตจากผู้จัดการวิชาการเท่านั้น
- 5.2. ผู้ที่เข้าไปปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ก่อนเข้าห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติ ดังนี้
  - 5.2.1. เปลี่ยนรองเท้าก่อนเข้าห้อง
  - 5.2.2. เปลี่ยนหรือสวมเสื้อกราวน์ให้เรียบร้อยก่อนเข้าห้อง
  - 5.2.3. ล้างมือทุกครั้งก่อนและหลังการปฏิบัติงาน
  - 5.2.4. ห้ามสวมเสื้อกราวน์และรองเท้าของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ออกมาภายนอกห้องปฏิบัติการ
- 5.3. ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา แบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ
  - 5.3.1. บริเวณที่ใช้สำหรับเปลี่ยนเสื้อกราวน์ รับและเตรียมตัวอย่าง เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ช่วงเวลาที่แตกต่างกันในแต่ละกิจกรรมโดยเป็นที่ตั้งของเครื่องซัง ตู้เก็บสารเคมี ตู้เก็บเครื่องแก้ว ตู้ปัม และตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง
  - 5.3.2. บริเวณที่ตั้งของตู้ปลอดเชื้อ บริเวณที่ใช้ในการปฏิบัติงานทดสอบ และอ่านผลการทดสอบ
  - 5.3.3. บริเวณที่ตั้งของตู้ปัม ตู้เย็นสำหรับเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแล้ว ตู้เก็บอุปกรณ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และตู้เย็นสำหรับเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์
  - 5.3.4. บริเวณที่ใช้สำหรับการฆ่าเชื้ออุปกรณ์ และอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนการทดสอบ และทำลายอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการทดสอบแล้ว โดยเป็นที่ตั้งของหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ และ/หรือตู้อบ และอ่างสำหรับล้างของที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- 5.4. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้งานให้จัดวางในตำแหน่งที่สะดวกต่อการใช้งาน ให้มีพื้นที่การทำงานที่เหมาะสมต่อการทำความสะอาด และไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน พร้อมทั้งมีการดูแลและบำรุงรักษาเครื่องมือตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การควบคุมคุณภาพสถานที่/เครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบทางจุลชีววิทยา

สถานที่ /เครื่องมือ/สารเคมี	รายการตรวจสอบ	ความถี่
น้ำกลั่น	คุณภาพของน้ำกลั่น	ตามวิธีการปฏิบัติงาน เรื่อง การควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
อาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะและค่าพีเอช	ทุกครั้งที่ใช้งาน
พื้นที่ที่ใช้ในการทดสอบ	การปนเปื้อนของจุลินทรีย์	ทุกเดือน
อากาศในพื้นที่ที่ใช้ในการทำงาน	ปริมาณแบคทีเรีย	ทุกเดือน
เทอร์โมมิเตอร์	ตรวจสอบความแม่นยำ	ปีละ 1 ครั้ง
เครื่องชั่ง	Daily check	ทุกครั้งที่ใช้งาน
	ตรวจสอบความแม่นยำ	ทุกเดือน
	สอบเทียบ	ปีละ 1 ครั้ง
เครื่องพีเอชมิเตอร์	Internal Calibration	ทุกครั้งที่ใช้งาน
เครื่องแก้วตวงสาร	ทวนสอบความแม่นยำของปริมาตร	ทุกครั้งที่ใช้งาน
ตู้เย็น	ตรวจสอบอุณหภูมิ	วันละ 2 ครั้ง (เช้า-บ่าย)
ตู้บ่ม	ตรวจสอบอุณหภูมิ	ทุกครั้งที่ใช้งาน วันละ 2 ครั้ง (เช้า-บ่าย)
เครื่องแก้ว	ตรวจสอบความสะอาด	ทุกครั้งที่ใช้งาน
	ตรวจสอบค่า pH	ทุก ๆ lot
	ทดสอบการตกค้างของสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์	ปีละ 1 ครั้ง
ตู้ปลอดเชื้อ	ตรวจสอบอากาศและหลอด UV	ทุกเดือน
	ตรวจการไหลของอากาศ	ปีละ 1 ครั้ง
หลอด UV ในตู้ปลอดเชื้อ	ทดสอบโดยใช้ UV meter	3 เดือน
ตู้อบความร้อนแห้ง	ตรวจสอบการทำงาน	ทุกเดือน
หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ	ตรวจสอบการทำงาน	ทุกเดือน

5.5. การรักษาความสะอาดในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาให้ปฏิบัติ ดังนี้

5.5.1. การทำความสะอาดโต๊ะและพื้นที่ทำงาน

หลังจากการปฏิบัติงานเสร็จให้ใช้ผ้าชุบน้ำหมาดเช็ดทำความสะอาด 1 ครั้ง จากนั้นใช้ผ้าชุบน้ำยาฆ่าเชื้อทำความสะอาดอีกครั้ง โดยทำการปฏิบัติทุกวันหลังจากปฏิบัติงานเสร็จ โดย นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา หรือเจ้าหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย

#### 5.5.2. การทำความสะอาดพื้น

การทำความสะอาดพื้นให้ใช้ผ้าหมาดเช็ดเศษตัวอย่าง ฟันละอองก่อน จากนั้นใช้ไม้ถูพื้นสำหรับห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ชุบน้ำพอมหาถูบริเวณพื้นให้สะอาด และใช้ไม้ถูพื้นชุบน้ำยาฆ่าเชื้อพอมหาถูทำความสะอาดอีกครั้ง โดยทำการปฏิบัติทุกวันหลังจากปฏิบัติงานเสร็จ

5.5.3. ผ้าที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ควรมีการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) เป็นประจำหรือทุกครั้งที่น่าไปเช็ดบริเวณที่มีเชื้ออยู่

- 5.6. ขณะที่ปฏิบัติงานทดสอบให้มีการเปิดประตูเข้า – ออก เมื่อจำเป็นเท่านั้น ห้ามมีการเปิดประตูทิ้งไว้
- 5.7. บริเวณที่ทำการทดสอบต้องไม่มีวัสดุอุปกรณ์ เอกสารหรือสิ่งอื่น ๆ ที่ไม่จำเป็นในการทดสอบวางอยู่ เพื่อให้สะดวกต่อการทำงาน
- 5.8. มีการควบคุมอุณหภูมิของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาให้มีค่าอยู่ระหว่าง 18 – 27 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจสอบอุณหภูมิทุกวันจากเทอร์โมมิเตอร์ภายในห้อง และลงบันทึกในแบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกอุณหภูมิสำหรับงานจุลชีววิทยา (F - 331)
- 5.9. มีการควบคุมความชื้นของห้องปฏิบัติการโดยทำการตรวจสอบความชื้นทุกวันจากไฮโกรมิเตอร์ภายในห้อง และลงบันทึกในแบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกความชื้นห้อง (F - 3)
- 5.10. ตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศ โดยพื้นที่ในการตรวจสอบ อ้างอิงตามตารางที่ 2 (วิธีการปฏิบัติงานให้ปฏิบัติตามวิธีการปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจสอบจุลินทรีย์ในอากาศ) แล้วบันทึกผลลงในแบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในอากาศ (F - 318)

#### ตารางที่ 2 ความถี่ในการควบคุมคุณภาพจุลินทรีย์ในอากาศ

ลำดับ	สถานที่ /เครื่องมือ	ความถี่	เกณฑ์การยอมรับ
1	ห้องทดสอบ, ห้องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	ทุกเดือน	ไม่เกิน 15 โคลนต่อ 1 เพลท ต่อ 15 นาที
2	ตู้ปลอดเชื้อ	ทุกเดือน	ไม่พบแบคทีเรีย ต่อ 1 ชั่วโมง
3	หลอด UV ในตู้ปลอดเชื้อ	3 เดือน	ต้องทำลายเชื้อได้ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 99 ในเวลา 2 นาที
4	ตู้บ่มเชื้อ	ทุกเดือน	ไม่เกิน 15 โคลนต่อ 1 เพลท ต่อ 15 นาที

ที่มา: APHA - AWWA (2012)

#### 6. ข้อควรระวัง

-