

## 1. วัตถุประสงค์

เพื่อใช้เป็นวิธีการควบคุมประสิทธิภาพการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ และสารที่ใช้เจือจางก่อนการทดสอบ รวมถึงคุณภาพการฆ่าเชื้อของเครื่องแก้ว

## 2. ขอบข่าย

ใช้ควบคุมประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ สารที่ใช้เจือจาง เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบ โดยครอบคลุมถึงการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ สารที่ใช้เจือจาง เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบ

## 3. อ้างอิง

- 3.1. ISO 7218: Microbiology of food and animal feeding stuff – General requirements and guidance for microbiological examinations, ISO, 3<sup>rd</sup> ed., 2007.
- 3.2. ISO 11133 – 1: Microbiology of food and animal feeding stuff – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 1: General Guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory, ISO, 2<sup>nd</sup> ed., 2009.
- 3.3. ISO 11133 – 2: Microbiology of food and animal feeding stuff – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 2: Practical Guidelines on performance testing of culture media in the laboratory, ISO, 1<sup>st</sup> ed., 2003.
- 3.4. วิธีทดสอบ เรื่อง Aerobic Plate Count (T - 303)
- 3.5. แบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ (Sterility check) (F - 322)

## 4. นิยาม

-

## 5. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

- 5.1. การตรวจสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ (Sterility check) อาหารเลี้ยงเชื้อ สารเจือจาง เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบ

5.1.1. สุ่มอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละ Batch no. สารเจือจาง แต่ละ Batch no. และเครื่องแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ในแต่ละ Lot no. ที่ต้องการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาตรวจสอบโดยให้ทำการทดสอบพร้อมกับการทดสอบตัวอย่าง ดังนี้

1) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอาหารแข็งทั่วไป

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในแต่ละ Batch ก่อนเริ่มทำการทดสอบให้เทอาหารที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 12 – 15 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อเปล่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 1 คู่ แล้วนำไปบ่มตามวิธีทดสอบที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนั้น

**หมายเหตุ** จานเพาะเชื้อต้องทำการฆ่าเชื้อที่  $170 \pm 10$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอาหารเหลว หรืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับการทดสอบทางชีวเคมี

เมื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในแต่ละ Batch เสร็จแล้วให้สุ่ม 1 หลอดหรือเพลท ไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1$  องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เพื่อสังเกตการณ์เจริญของเชื้อ

5.1.2. การทดสอบ Sterility check ของ Butterfield's phosphate-buffered dilution water (BPB) และเครื่องแก้วที่ใช้ในการทดสอบ

ให้ดูดสารละลาย BPB ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากขวด BPB 450 มิลลิลิตร และหลอด 9 มิลลิลิตร ใน Batch no. ที่ต้องการตรวจประสิทธิภาพ โดยใช้ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร จาก lot การอบที่ต้องการตรวจสอบประสิทธิภาพ ใส่ลงในจานเพาะเชื้อเปล่าอย่างละ 2 คู่ แล้วจึงทำตามวิธีทดสอบ เรื่อง Aerobic plate count (T - 303) นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมตามชนิดของเชื้อจุลินทรีย์

5.1.3. การตรวจสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น กรรไกร ช้อน ฯลฯ ให้นำอุปกรณ์ไป ใน non – selective broth หรือทดสอบโดยการตรวจหาจุลินทรีย์บนพื้นผิว (swab contract) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมตามชนิดของเชื้อจุลินทรีย์

5.1.4. เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้ทำการตรวจสอบผลการทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ (Sterility check) ต้องตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ ถ้าตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ต้องทำการทดสอบตัวอย่างที่ใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ Batch นั้นใหม่ทั้งหมด พร้อมลงบันทึกในแบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกผลการตรวจสอบ ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ (Sterility check) (F - 322)

## 5.2. การตรวจประเมินประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทดสอบ

5.2.1. ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังเตรียมแล้ว ทางด้านสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความขุ่น แล้วบันทึกลงในแบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกผลการตรวจสอบประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทดสอบ (F - 311)

5.2.2. ตรวจสอบโดยใช้จุลินทรีย์อ้างอิง (Positive หรือ Negative control) ที่เหมาะสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ตามตารางที่ 1 (การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ให้ปฏิบัติตามวิธีการปฏิบัติงาน เรื่อง การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง (W - 319)

- 1) อาหารแข็ง Non – Selective Medium / Selective Medium ใช้เชื้อ Positive และ Negative culture 1 หลวงถ่ายเชื้อ มาขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของจุลินทรีย์นั้น ๆ และประเมินผล
- 2) อาหารเหลว Non – Selective Broth / Selective Broth ใช้เชื้อ Positive และ Negative culture 1 หลวงถ่ายเชื้อ Inoculate ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของจุลินทรีย์นั้น ๆ และประเมินผล
- 3) การประเมินผล

### 3.1. อาหารแข็ง (Solid medium)

- เจริญดี หรือเจริญเต็มเส้น = 2 คะแนน
- เจริญไม่ดี หรือเจริญครึ่งเส้น = 1 คะแนน
- ไม่เจริญ = 0 คะแนน

### 3.2. อาหารเหลว

- เจริญดี หรือขุ่นมาก = 2 คะแนน
- เจริญไม่ดี หรือขุ่นน้อย = 1 คะแนน
- ไม่เจริญ = 0 คะแนน

5.2.3. บันทึกผลการทดสอบลงในแบบฟอร์ม เรื่อง แบบบันทึกสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (F - 315)

## หมายเหตุ

- 1) ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อในแต่ละ Batch ไม่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพ ห้ามนำอาหารเลี้ยงเชื้อใน Batch no. นั้นไปทำการทดสอบ ให้ดำเนินการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นใหม่
- 2) เชื้อจุลินทรีย์ Positive/Negative สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดอ้างอิงตามตารางที่ 1

5.3. การตรวจสอบประสิทธิภาพของน้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ให้ปฏิบัติตามวิธีการปฏิบัติงาน เรื่อง การควบคุมคุณภาพน้ำใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (W - 309)

6. ข้อควรระวัง

-