การประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการทดสอบทางจุลชีววิทยา

ตอนที่ 2 : ข้อแนะนำสำหรับการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ: บุคลากร สิ่งอำนวยความสะดวก เครื่องมือและอุปกรณ์ วัสดุที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

➤➤ เรียบเรียงโดย ดร.รวิวรรณ อาจสำอาง

บทความนี้เรียบเรียงมาจาก Standard Methods for the Examination of Water & Waste Water, 21st ed ในหัวข้อ 9020 QUALITY ASSURANCE/QUALITY CONTROL ซึ่งกล่าวถึงการประกันคุณภาพ/การควบคุมคุณภาพการทดสอบทางจุลชีววิทยาของห้องปฏิบัติการทดสอบตัวอย่างน้ำ ตอนนี้เป็นตอนที่ 2 กล่าวถึงข้อแนะนำสำหรับการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการทุกแห่งมีการปฏิบัติในการควบคุมคุณภาพภายในอยู่แล้ว ซึ่งจะเป็นการปฏิบัติเป็นปกติส่วนใหญ่จะได้มาจากการใช้สามัญสำนึกและหลักการของการทดลองที่มีการควบคุมอย่างดี โปรแกรมการควบคุมคุณภาพจะนำมาใช้ปฏิบัติเพื่อที่จะลดความผิดพลาดเชิงระบบและความผิดพลาดแบบสุ่ม รวมทั้งการสุ่มตัวอย่างและวิธีทดสอบ การจัดการข้อมูลและการรายงานผล ดังนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ห้องปฏิบัติการที่ทำการทดสอบทางจุลชีววิทยาต้องมีการนำเอาระบบการควบคุมคุณภาพมาใช้อย่างเข้มงวด ซึ่งรายการ ที่สำคัญ ๆ เกี่ยวกับวิธีปฏิบัติในการควบคุมคุณภาพอยู่ในตาราง 1 และห้องปฏิบัติการควรจะนำวิธีการปฏิบัติเหล่านี้และข้อแนะนำดังกล่าวไปใช้ในการจัดทำและปรับปรุงโปรแกรมการควบคุมคุณภาพภายใน แต่รายละเอียดและความเหมาะสมของการนำไปใช้อาจแตกต่างกันในแต่ละห้องปฏิบัติการ

1. **บุคลากร** (Personnels)

การทดสอบทางจุลชีววิทยาควรจะปฏิบัติโดยนักจุลชีววิทยามืออาชีพหรือเจ้าหน้าที่เทคนิคที่ได้รับการฝึกอบรมมาทางด้านจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อมถ้าเป็นไปได้ หรืออย่างน้อยควรมีนักจุลชีววิทยามืออาชีพ หน้าที่ทดสอบ หรือให้คำแนะนำ ฝึกอบรมและประเมินผลเจ้าหน้าที่ทดสอบในเรื่องขั้นตอนการดำเนินงานของห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ควบคุมงานควรจะทบทวนในเรื่องต่าง ๆ เป็นระยะ ๆ ได้แก่ การเก็บและการจัดการตัวอย่าง การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมอุปกรณ์เครื่องแก้ว การฆ่าเชื้อ การทดสอบที่เป็นงานประจำ การนับเชื้อ การจัดการข้อมูลและเทคนิคของการควบคุมคุณภาพเพื่อที่จะชี้บ่งและแก้ปัญหาที่เกิดขึ้น ผู้บริหารควรให้การสนับสนุนเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการให้ได้รับการฝึกอบรมเพื่อเติมเพื่อเพิ่มทักษะ

2. **สิ่งอำนวยความสะดวก** (Facilities)

- ***การระบายอากาศ*** *(ventilation)*

ห้องปฏิบัติการที่มีแผนในการระบายอากาศที่ดีต้องรักษาสภาวะไม่ให้มีฝุ่นละออง กระแสลม และอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างมาก และถ้าเป็นไปได้ ห้องปฏิบัติการควรจะมีการติดตั้งเครื่องปรับอากาศเพื่อที่จะลดการปนเปื้อน เอื้ออำนวยให้การทำงานของตู้อบเพาะเชื้อมี

อุณหภูมิคงที่มากขึ้น และลดปัญหาของความชื้นจากอาหารเลี้ยงเชื้อและเครื่องมือ

- ***พื้นที่ในการใช้ประโยชน์*** *(space utilization)*

ควรออกแบบและการปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการเพื่อจัดการการเข้าออกของเจ้าหน้าที่และบุคคลภายนอกที่มาเยี่ยมชม โดยจัดให้มีการแยกพื้นที่การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ การฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ การฆ่าเชื้อเครื่องแก้วและเครื่องมือ การใช้ laminar flow hood สำหรับการเทอาหารเลี้ยงเชื้อและเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว การถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ (transferring microbial cultures) หรือการทำงานกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ ในห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก อาจจำเป็นต้องปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วในห้องเดียวกันถึงแม้ว่าเป็นสิ่งที่ไม่พึงต้องการ

- ***พื้นที่ของโต๊ะปฏิบัติการ*** *(laboratory bench areas)*

ควรจัดให้มีความยาวอย่างน้อย 2 เมตรต่อผู้ทดสอบ 1 คน และมีพื้นที่อื่นสำหรับกิจกรรมในการเตรียมการทดสอบ สำหรับการปฏิบัติการที่ต้องยืนทำ โต๊ะควรมีความสูง 90-97 เซนติเมตร และลึก 70-76 เซนติเมตร สำหรับงานที่นั่งทำเช่นการใช้กล้องจุลทรรศน์ และการนับเชื้อจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อ โต๊ะควรสูง 75-80 เซนติเมตร วัสดุของพื้นโต๊ะควรทำด้วย stainless steel, epoxy plastic หรือพื้นผิวอย่างอื่นที่เรียบ น้ำซึมเข้าไม่ได้ และทนต่อการกัดกร่อน มีรอยต่อน้อยที่สุด มีการติดตั้งไฟที่ให้แสงทั่วถึงกันอย่างสม่ำเสมอ แสงไม่เข้าตา มีความเข้มของแสงประมาณ 1000 lux (100 ft-candles)

- ***ผนังห้องและพื้น*** *(walls and floors)*

ต้องมั่นใจว่าผนังห้องถูกครอบคลุมด้วยวัสดุที่มีผิวเรียบที่ง่ายต่อการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ พื้นห้องควรมีผิวเรียบทำด้วยคอนกรีต พลาสติกประเภทไวนิล (vinyl) กระเบื้องยาง (asphalt tile) หรือพื้นที่ทำด้วยวัสดุอื่น ๆ ที่ล้างทำความสะอาดได้ น้ำซึมเข้าไม่ได้ และมีการ seal รอยต่อทั้งหมด

- ***การเฝ้าระวังพื้นที่การทำงาน*** *(work area monitoring)*

มีการรักษามาตรฐานของความสะอาดของพื้นที่การปฏิบัติงานอย่างสูง จัดให้มีการเฝ้าระวังอากาศอย่างน้อยเดือนละครั้งโดยใช้ air density plates จำนวนของโคโลนีบน air density plate test ไม่ควรเกิน 160 ต่อลูกบาศก์เมตร ต่อ 15 นาที (15 โคโลนี/plate/15นาที)

วิธี plate หรือ swab method ใช้สัปดาห์ละครั้งหรือบ่อยกว่านั้นเพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนของพื้นผิวโต๊ะปฏิบัติการ ถึงแม้ว่าขอบเขตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นแบบเดียวกันสำหรับ bacterial density ยังไม่ได้มีการกำหนดเกณฑ์ไว้ ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งสามารถใช้การทดสอบแบบนี้ในการจัดทำ base line และ take action ต่อการเปลี่ยนแปลงที่มีนัยสำคัญ

- ***การรักษาความสะอาดของห้องปฏิบัติการ*** *(laboratory cleanliness)*

ทำความสะอาดห้องปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอ และเช็ดโต๊ะปฏิบัติการ ชั้นวางของ พื้นห้อง และหน้าต่าง ถูพื้นโดยใช้ผ้าเปียกโดยใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ ไม่ใช้การกวาดหรือถูพื้นโดยใช้ผ้าแห้ง เช็ดโต๊ะปฏิบัติการด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อก่อน

และหลังการทำงาน ไม่ให้มีของเกะกะหรือรกรุงรังอยู่ในห้องปฏิบัติการ

3. เครื่องมือและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (Laboratory Equipment and Instrumentation)

ทวนสอบเครื่องมือแต่ละชิ้นว่าเป็นไปตามความต้องการของผู้ใช้งานในเรื่องของ precision และให้มีค่า bias น้อยที่สุด มีการบำรุงรักษาอย่างสม่ำเสมอตามคำแนะนำของผู้ผลิตหรือมีการบำรุงรักษาตามมาตรการการป้องกันโดยการจ้างเหมาบริการจากภายนอก ได้แก่ autoclave เครื่องชั่ง กล้องจุลทรรศน์ และเครื่องมืออื่น ๆ และมีการบันทึกการตรวจสอบการควบคุมคุณภาพดังกล่าว

4. วัสดุที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (Laboratory Supplies)

- ***อุปกรณ์เครื่องแก้ว*** *(glassware)*

ก่อนใช้งานควรตรวจสอบเครื่องแก้วว่ามีสภาพสมบูรณ์ไม่แตกหักหรือบิ่น ถ้าพบต้องทิ้งไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งตรวจสอบขวด dilution ที่มีฝาจุกแบบเกลียวและ flask ว่าไม่บิ่นที่ขอบขวดเพราะจะทำให้เกิดการรั่วไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อและเกิดการปนเปื้อนไปสู่ผู้ทดสอบและสิ่งแวดล้อมได้ ทำการตรวจสอบเครื่องแก้วหลังจากการล้างถ้าพบว่ามีหยดน้ำเกาะอยู่เป็นเม็ด ๆ ควรล้างใหม่อีกครั้ง และทำการทดสอบความสะอาดของเครื่องแก้วดังนี้

a) pH check

เนื่องจากสารที่ใช้ในการล้างจะถูกล้างให้หมดไปยาก ควรทำการสุ่มตรวจเครื่องแก้วที่ล้างแล้วในแต่ละ batch โดยทำการทดสอบ pH โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าแช่ไว้ในด่างหรือกรด การตรวจสอบการตกค้างของด่างหรือกรดหลังการความสะอาดของเครื่องแก้ว ทำได้โดยเติม 0.04% bromthymol blue (BTB) หรือ indicator สำหรับทดสอบ pH ตัวอื่น แล้วสังเกตการเปลี่ยนสี BTB จะให้สีน้ำเงินเขียว (ในสภาพที่เป็นกลาง)

การเตรียมสารละลาย 0.04% bromthymol blue indicator ให้เติม 16 ml ของ 0.01 N NaOH ลงใน 0.1 g BTB และ dilute เป็น 250 ml โดย reagent water

b. Test for inhibitory residues on glassware and plasticware

น้ำยาหรือสารที่ใช้เคลือบฟิล์ม (wetting agents) หรือ detergent ที่ใช้ในการล้างเครื่องแก้วอาจมีส่วนประกอบเป็น bacteriostatic หรือ สารยับยั้งซึ่งต้องการการล้าง 6-12 ครั้งเพื่อกำจัดสิ่งที่ตกค้างและให้แน่ใจว่าปราศจาก bacteriostatic action ให้ทำการทดสอบแบบนี้ทุกปีและก่อนใช้ detergent ที่ซื้อมาใหม่ ถ้ามีการใช้อุปกรณ์พลาสติกและที่ล้างมาก่อน (prewashed) หรือมีการฆ่าเชื้อมาแล้ว (presterilization) ให้ทดสอบสารตกค้างก่อนนำมาใช้

- ***อุปกรณ์และภาชนะบรรจุในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ***

ใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และภาชนะที่ทำด้วยแก้วชนิด borosilicate, stainless steel, aluminium หรือวัตถุที่ทนต่อการกัดกร่อน ไม่ใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ทำด้วยทองแดง (copper)

- *Dilution water bottles*

ใช้ขวดที่ทำด้วยแก้วชนิด borosilicate ที่ไม่ทำปฏิกิริยา หรือพลาสติกที่มีจุกแบบเกลียวที่มี inert liners ทำความสะอาดก่อนใช้งาน ขวดพลาสติกฆ่าเชื้อแล้วที่มี dilution water บรรจุอยู่ชนิดใช้ครั้งเดียวทิ้งมีขายในเชิงพาณิชย์และเป็นที่ยอมรับสำหรับใช้งาน ก่อนนำมาใช้แต่

ละ lot ต้องทำการตรวจสอบ pH และปริมาตร และตรวจสอบว่ามีการตกตะกอนหรือไม่ ถ้ามีต้องทิ้งไป ถ้าจำเป็นต้องทำความสะอาดขวดอีกครั้งควรใช้กรดในการทำความสะอาด และเตรียม dilution water ใหม่ ถ้ายังมีการตกตะกอนอีก ควรจัดหาขวดจากผู้ขายรายใหม่

- *Reagent-grade water quality*

คุณภาพของน้ำที่ทำจากระบบการทำน้ำให้บริสุทธิ์ในระบบหนึ่ง จะมีความแตกต่างกันของระบบที่ใช้และการบำรุงรักษา เกณฑ์แนะนำสำหรับคุณภาพของน้ำที่เป็น reagent grade อยู่ในตาราง 2 ถ้าเกณฑ์ในตารางไม่สามารถทำได้ ต้องมีการสืบสวนหาสาเหตุและแก้ไขหรือเปลี่ยนแหล่งที่ได้น้ำมาใหม่

- *Use test for evaluation of reagent water, media, and membranes*

เมื่อได้รับ lot ใหม่ของอาหารเลี้ยงเชื้อหรือ membrane filters หรือ reagent grade water ที่มาจากแหล่งใหม่ ต้องนำมาทดสอบเปรียบเทียบกับ lot ที่กำลังใช้งานอยู่ (current lot in use against the new lot)

a) **ขั้นตอน**

ใช้ single batch ของ control water (redistilled or distilled water polished by deionization) glassware, membrane filters, หรือวัสดุอื่นๆ การใช้ single batch หรือ batch เดียวกันเพื่อเป็นการควบคุมตัวแปรตัวอื่น ๆ ยกเว้นปัจจัยเดียวที่ต้องการศึกษา ทำการ pour plate หรือ spread plate หรือ membrane filter plate กับ reference lot และ test lot ทำการทดสอบครั้งเดียวกับตัวอย่างน้ำที่แตกต่างกันอย่างน้อยที่สุด 5 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับ target organism ถ้าต้องการเพิ่ม sensitivity ของการทดสอบความแตกต่างระหว่าง reference และ test lots สามารถเพิ่มจำนวนครั้งของการทดสอบและเพิ่มจำนวนตัวอย่าง

ถ้าต้องการเพิ่มการตรวจสอบ reagent water ให้ทำการทดสอบหาแบคทีเรียเชิงปริมาณ quantitative bacterial tests โดยการทดสอบคู่ขนานไปพร้อมกันกับการทดสอบน้ำที่มีคุณภาพดี (high-quality water) โดยเตรียม dilution/rinse water และ อาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำจากแหล่งใหม่ (new source of reagent water) และน้ำที่ใช้อยู่ปัจจุบัน (control water) ให้ทดสอบน้ำที่ใช้ทุกรูปแบบคือ dilution, rinse, media preparation เป็นต้น)

b) Counting and calculations:

หลังจากการอบเพาะเชื้อ ให้เปรียบเทียบโคโลนีของแบคทีเรียจากทั้งสอง lot ให้เปรียบเทียบ ขนาดและรูปร่างลักษณะ ถ้าลักษณะโคโลนีบน test lot plates เป็น atypical หรือ พบว่า เล็กกว่าโคโลนีบน reference lot plates อย่างเห็นได้ชัด ให้บันทึกไว้เป็นหลักฐานว่าเป็นผลของการถูกยับยั้งหรือปัญหาอื่น ๆ โดยไม่คำนึงถึงความแตกต่างของจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้

นับโคโลนีบน plates ทั้งหมด คำนวณผลการนับแต่ละ plate ต่อ 1 ml หรือ ต่อ 100 ml เปลี่ยนตัวเลข (transform) ให้เป็น logarithms และใส่ค่า log-transformed results สำหรับ two lots ลงใน columns เป็นคู่ ๆ ขนานกัน

Calculate the difference, d , between the two transforms results for each sample, including the + or - sign, the mean, $\bar{d}$ and the standard deviation S_d of these differences.

คำนวณ Student's t จากสูตรข้างล่าง โดย n คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d / \sqrt{n}}$$

c) Interpretation การแปลผล

ใช้ critical *t* value จาก Student's *t* table สำหรับการเปรียบเทียบ กับค่าที่คำนวณได้ (calculated value) ที่ 0.05 significance level ซึ่งคือค่า 2.78 สำหรับ 5 ตัวอย่าง (degrees of freedom คือ 4) ถ้าค่า t ที่คำนวณได้ไม่เกินค่า 2.78 สรุปได้ว่าการนำ lot ใหม่มาใช้ไม่เกิดความแตกต่างกับ lot เก่าที่ใช้อยู่ แต่ถ้า t ที่คำนวณได้มากกว่า 2.78 แสดงว่า lot ใหม่ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญและ test lot ไม่เป็นที่ยอมรับ

ถ้าพบโคโลนีใน test lot เป็น atypical colonies หรือขนาดของโคโลนีเล็กกว่าอย่างมองเห็นได้ชัด หรือค่า Student's t มากกว่า 2.78 ต้องทบทวนสภาวะของการทดสอบ ทำการทดสอบซ้ำ และ/หรือ reject the test lot และหา lot ใหม่มาทดแทน

- **Reagents**

เนื่องจาก reagents เป็นส่วนหนึ่งของการทดสอบทางจุลชีววิทยา จึงต้องมั่นใจในคุณภาพของ reagent ต้องใช้สารเคมีจาก American Chemical Society (ACS) หรือที่มีคุณภาพใกล้เคียง เนื่องจาก impurities จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ หรือให้อาหารจุลินทรีย์มากขึ้น หรือ fail ที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ต้องการได้ บันทึกวันที่ได้รับสารเคมีและ reagent เมื่อได้รับมาแล้วและเมื่อเริ่มใช้งานครั้งแรก การปรับปริมาตรของ reagent ให้ใช้ volumetric flasks แล้วย้ายไปเก็บรักษาใน good-quality inert plastic หรือ borosilicate glass bottles ซึ่งมีจุกปิด (stoppers or caps) ทำด้วย borosilicate, polyethylene หรือจุกปิดที่ทำด้วย plastic ชนิดอื่น ปิดฉลาก reagents ที่เตรียมแล้วโดยระบุชื่อ reagent ความเข้มข้น วันที่ที่เตรียม ชื่อผู้เตรียม

- ***Dyes and stains***

ในการทดสอบทางจุลชีววิทยา สารอินทรีย์ (organic chemicals) ถูกใช้เป็น selective agents เช่น brilliant green และถูกใช้เป็น indicators เช่น phenol red และใช้เป็นสีย้อม เช่น gram stain ผู้ผลิตที่ผลิตสีย้อมจะผลิตสีย้อมที่แตกต่างกันแต่ละ lot โดยต่างกันที่ percent dye, dye complex, insolubles, and inert materials เนื่องจาก dyes ที่ใช้ในการทดสอบทางจุลชีววิทยาจะต้องมีความเข้มข้นอย่างเหมาะสมและมีความคงตัว (stability) เพื่อที่จะให้ปฏิกิริยาที่ถูกต้อง ให้ใช้สีที่ได้รับการ certified โดย Biological Stan Commission ให้ตรวจสอบสีย้อมแบคทีเรียก่อนใช้งาน โดยใช้อย่างน้อย one positive และ one negative control culture แล้วทำการบันทึกผลการทดสอบ

- ***Membrane filters and pads:***

คุณภาพและ performance ของ membrane filters จะแตกต่างกันระหว่างผู้ผลิต type, brand, และ lot ผลของความแตกต่างจะมาจากความแตกต่างในวิธีการผลิตวัสดุที่ใช้ ในการควบคุมคุณภาพของ MF ต้องตรวจสอบแต่ละ lot ของ MF ก่อนใช้งานทุกครั้งและระหว่างการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่า MF มีลักษณะกลมและดัดงอได้ (round and pliable) และมี gridlines ที่ไม่บิดเบี้ยว หลังจากฆ่าเชื้อใน autoclave หลังจากการอบเพาะเชื้อ จะปรากฏโคโลนีขึ้น

อย่างชัดเจน และมีสีชัดเจน มีรูปร่างลักษณะโคโลนีตรงตามที่ระบุไว้ในวิธีทดสอบ โคโลนีต้องมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอบนแผ่น MF

สำหรับตอนต่อไปจะได้กล่าวถึงการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการควบคุมคุณภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการควบคุมคุณภาพของการทดสอบ

ตาราง 1: Key Quality Control Practice

Item	Action	Frequency
Bench surface	Monitor for contamination	Weekly
Air in workplace	Monitor bacterial density	Monthly
Thermometers	Check accuracy	Semiannually
Balances and weights	Check accuracy	Monthly
Balances	Service and recalibrate	Annually
pH meter	Standardize	Each use
	Check against another meter	Monthly
Media-dispensing apparatus	Check volume accuracy	Each use
Hot-air oven	Check performance	Monthly
Autoclave	Check performance	Monthly
Refrigerator	Check temperature	Daily
Freezer	Check temperature	Daily
	Defrost	Annually
Membrane filtration equipment	Check for leaks and surface scratches	Each use
UV lamps	Test with UV meter	Quarterly
Biohazard hood	Monitor air and UV lamps	Monthly
	Inspect for airflow	Quarterly
Incubator	Check temperature	Twice daily
Microscope	Clean optics and stage	Each use

Item	Action	Frequency
Glassware	Inspect for cleanliness, chips , and etching	Each use
	Check pH	Each batch
	Conduct inhibitory residue test	Annually
Dilution water bottles	Check pH and volume	Each use
Media	Check pH and appearance	Each use
Plate counts	Perform duplicate analyses	Weekly
	Repeat counts	Monthly

ตาราง 2: Quality of Reagent Water Used in Microbiological testing

Test	Monitoring Frequency	Limit
Chemical test : Conductivity	Continuously or with each use	>0.5 megohms resistance or <2 µmhos/cm at 25 °C
pH	With each use	5.5-7.5
Total organic carbon	Monthly	<1.0 mg/L
Heavy metals, single (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn)	Annually	<0.05 mg/L
Heavy metals, total	Annually	<0.10 mg/L
Ammonia/organic nitrogen	Monthly	<0.10 mg/L
Total chlorine residual	Monthly or with each use	<0.01 mg/L
Bacteriological tests: Heterotrophic plate count	Monthly	< 1000 CFC/mL