

แนวทางปฏิบัติสำหรับนักวิเคราะห์ทาง

จุลชีววิทยา

อสรีย์ สิลลาพอนาพร, องค์กรพัฒนา โธมัสประภว

บทนำ

ในงานวิเคราะห์ทดสอบที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ การที่ผู้ปฏิบัติงานมีความรู้เรื่องวิธีวิเคราะห์ที่ถูกต้อง เพียงอย่างเดียวไม่อาจยืนยันผลการตรวจพิสูจน์ความถูกต้อง แม่นยำของผลการวิเคราะห์ ผู้ปฏิบัติงานจะต้องมีทักษะที่ใช้ในการปฏิบัติงาน ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับ สุขลักษณะที่เหมาะสมในการปฏิบัติงาน การออกแบบ สถานที่เพื่อป้องกันการปนเปื้อน และรักษาสุขภาพของ ผู้ปฏิบัติงาน ข้อจำกัด วิธีการใช้และการบำรุงรักษา เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ วิธีการฆ่าเชื้อและการ ทำความสะอาดวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ การเตรียมอาหาร เลี้ยงเชื้อและการควบคุมคุณภาพ การจัดการกับ ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ เทคนิคการทดสอบและ การรายงานผล การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ ทางจุลชีววิทยา และการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ สิ่งเหล่านี้จะช่วยสร้างความเชื่อมั่นให้กับลูกค้า ดังนั้น ผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาจึงควรมีความรู้ เกี่ยวกับแนวทางปฏิบัติเหล่านี้ด้วย

สถานที่

การจัดการเกี่ยวกับสถานที่เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการ ทดสอบทางจุลชีววิทยา เพื่อให้มั่นใจว่าสิ่งแวดล้อม ภายในบริเวณทดสอบตัวอย่างไม่มีผลต่อการทดสอบ และเพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการทดสอบ จึงจำเป็น ที่จะต้องมีการแยกพื้นที่ต่างๆ โดยแยกบริเวณที่เกี่ยวข้อง กับการทดสอบตัวอย่างออกจากบริเวณอื่นๆ ได้แก่ ห้อง เปลี่ยนเสื้อผ้า ห้องน้ำ ห้องล้างและทำความสะอาด สำนักงาน ห้องเก็บของ และห้องพัก สำหรับบริเวณที่ เกี่ยวข้องกับตัวอย่างและการทดสอบนั้นควรแยกพื้นที่ ต่างๆ ออกจากกันอย่างชัดเจน ได้แก่ บริเวณรับและเก็บ

ตัวอย่าง บริเวณที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง บริเวณที่ใช้ สำหรับทดสอบตัวอย่าง บริเวณที่ใช้สำหรับทดสอบจุลินทรีย์ ก่อโรค บริเวณที่ใช้ในการเก็บเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง บริเวณ ที่ใช้สำหรับเตรียมและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และเครื่องมือ บริเวณสำหรับเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี บริเวณ ทดสอบตัวอย่างปลอดเชื้อ บริเวณล้างและทำความสะอาด วัสดุอุปกรณ์ บริเวณที่ใช้ในการเก็บสารเคมี อันตราย ความสะอาดเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง ดังนั้นห้อง ปฏิบัติการจุลชีววิทยาจะต้องรักษาความสะอาดอย่าง สม่าเสมอ

บุคลากร

บุคลากรที่ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา จะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้ความสามารถเพียงพอที่จะปฏิบัติงาน ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม โดยที่ห้องปฏิบัติการ ต้องมีแนวทางในการทดสอบความสามารถของบุคลากร เช่น การทดสอบวัสดุอ้างอิง (reference material) หรือผล การทดสอบความชำนาญ (proficiency test) หากพบว่า บุคลากรมีความรู้ความสามารถไม่เพียงพอต่อการปฏิบัติงาน บุคลากรเหล่านั้นควรได้รับการฝึกอบรมในหลักสูตรที่ เหมาะสมต่อการปฏิบัติงาน

สุขลักษณะส่วนบุคคลเป็นสิ่งสำคัญเช่นกัน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ ผู้ปฏิบัติงานควร ปฏิบัติตามข้อกำหนดเหล่านี้คือ สวมเสื้อกราวน์ด์ สวมหมวก ตัดเล็บ ล้างมือก่อนและหลังปฏิบัติงาน ไม่พูดคุย ไอ จามขณะปฏิบัติงาน ถ้ามีผู้ป่วยติดเชื้อที่ผิวหนังจะต้อง ปฏิบัติงานอย่างระมัดระวังเพื่อป้องกันการปนเปื้อน ไม่กินดื่มในห้องปฏิบัติการ ไม่ใช้ปากดูดปิเปต และห้าม เช้าอาหารไว้ในตู้เย็นที่ใช้แช่เชื้อจุลินทรีย์

เครื่องมือ

ผู้ที่ปฏิบัติงานต้องมีความมั่นใจว่าเครื่องมือที่ใช้อยู่ในสภาพพร้อมใช้งาน นั่นคือ จะต้องมีการตรวจสอบเครื่องมือก่อนใช้งาน และระหว่างการใช้งานอย่างเหมาะสม เครื่องมือที่มีผลต่อการทดสอบควรจะสอบเทียบเพื่อให้แน่ใจว่าสามารถให้ผลการทดสอบที่ถูกต้องแม่นยำ ห้องปฏิบัติการควรทำการตรวจสอบและบำรุงรักษาเครื่องมือแต่ละชิ้นอย่างถูกวิธี ควรกำหนดความถี่ในการสอบเทียบและทวนสอบโดยพิจารณาจากชนิดของเครื่องมือ คำแนะนำจากผู้ผลิต ความถี่จากการใช้งาน ควรมีคู่มือการติดตั้ง การบำรุงรักษา การทำความสะอาด วิธีการใช้งาน และการทวนสอบอย่างถูกวิธี

การเตรียมเครื่องแก้วและวัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ

เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้จะต้องมั่นใจว่าสะอาดและปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อนนำมาใช้ ควรล้างสิ่งบ่งชี้เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ปราศจากเชื้อออกจากอุปกรณ์ที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

การจัดเก็บของเสียจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

ของเสียจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ซึ่งได้แก่ ขยะทั่วไป ที่เกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการ ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ที่เหลือจากการทดสอบ ขยะติดเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เป็นผลจากการทดลอง เศษเครื่องแก้ว ของมีคมอื่นๆ เช่น ใบมีดโกน ต้องมีวิธีการจัดเก็บ จัดการ ที่เหมาะสม ผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ ควรกำหนดแนวทางปฏิบัติที่ชัดเจน ต้องมีแผนปฏิบัติการ ก่อนส่งออกสู่ภายนอกเพื่อจัดการกำจัด แนวทางที่ปฏิบัติขั้นต้นในการจัดการของเสียเหล่านี้ ได้แก่

1. ในขั้นต้น ต้องจำแนกแยกประเภทขยะเหล่านี้ก่อน รวบรวมบรรจุลง หรือภาชนะที่ปิดปากให้มิดชิด เช่น ของเสียประเภททั่วไป ขยะทั่วไป บรรจุลงดา, ของเสียติดเชื้อ เศษเครื่องแก้ว และของมีคม แยกใส่ถังเหลือง เป็นต้น

2. สำหรับของเสียติดเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อจากการทดลอง ต้องทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยการนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 30 นาที ก่อนทิ้ง

3. เศษเครื่องแก้ว ของมีคมต่างๆ ต้องหักย่อยลงคม ถ้ามีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ต้องทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้เครื่องมือหนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ก่อนรวบรวมทิ้งเช่นกัน

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปใช้ควรมีการบันทึกข้อมูลต่างๆ ดังนี้ บริษัทผู้ผลิต (manufacturer) รหัสของบริษัทผู้ผลิต (manufacturer code) ปริมาณ ขนาด และจำนวน วันที่ตรวจรับ วันที่เปิดใช้งาน สถานที่เก็บชื่อผู้รับ และนำไปเก็บ และผลของการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ (productivity และ selectivity)

สำหรับการเก็บรักษาอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นควรเก็บตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต รวมทั้งวันหมดอายุที่ได้รับระบุข้างภาชนะบรรจุ ซึ่งส่วนใหญ่จะแนะนำให้เก็บในสภาวะที่แห้ง ปราศจากแสง อายุในการเก็บตามที่บริษัทผู้ผลิตระบุ อาหารเลี้ยงเชื้อที่คุณภาพดีควรมีลักษณะแห้งเป็นผง (free-flowing powders)

น้ำที่ใช้สำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อควรใช้น้ำที่มีคุณภาพดี และปราศจากสารยับยั้งหรือกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบ การชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อผู้ปฏิบัติงานควรระวังการฟุ้งกระจาย เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดมีส่วนผสมของสารพิษซึ่งเป็นอันตรายต่อระบบทางเดินหายใจ ควรปรับค่าความเป็นกรด-เบสสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เนื่องจากจะมีค่าความเป็นกรด-เบส (pH) เปลี่ยนแปลงไป

อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมเสร็จแล้วควรมีการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาตร (กรณีที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว) และการทดสอบความปลอดภัยเชื้อ (sterility test)

ตัวอย่างที่ใช้สำหรับทดสอบ

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบผู้ปฏิบัติงานจะต้องดูแลตัวอย่างตั้งแต่กระบวนการขนส่งตัวอย่าง การรับตัวอย่าง และการเก็บรักษาตัวอย่างที่รอการวิเคราะห์ ซึ่งขั้นตอนการขนส่งตัวอย่างจะต้องแน่ใจว่าระหว่างการขนส่งได้เก็บตัวอย่างไว้ภายใต้สภาวะที่จะทำให้มีการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์น้อยที่สุด จะต้องระวังไม่ให้ตัวอย่างเสียหาย หรือเปลี่ยนแปลงระหว่างการขนส่ง และต้องป้องกันตัวอย่างจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่

อยู่ในอากาศ ดังนั้นภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างจะต้องปราศจากเชื้อ

การรับตัวอย่างควรตรวจสอบสภาวะของตัวอย่างในขณะที่รับ ตรวจสอบสภาพทางกายภาพของภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่าง บันทึกข้อมูลต่างๆ ดังต่อไปนี้ วัน เวลา ที่รับตัวอย่าง รายละเอียดต่างๆ ของการสุ่มตัวอย่าง (วัน เวลาที่สุ่มตัวอย่าง สภาวะของตัวอย่าง) ชื่อ ที่อยู่ของลูกค้า ควรทดสอบตัวอย่างภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากรับตัวอย่าง หากไม่สามารถทดสอบตัวอย่างได้ทันทีสามารถเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส หรือในสภาวะที่เหมาะสมกับชนิดของตัวอย่าง

การทดสอบตัวอย่าง และการรายงานผล

การทดสอบตัวอย่างสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ การเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง การเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว การทดสอบด้วย real time polymerase chain reaction

วิธีการทดสอบตัวอย่าง และการรายงานผลการทดสอบสำหรับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีหลายวิธีการที่ผู้ทำการวิเคราะห์จะเลือกใช้วิธีการใดนั้นขึ้นอยู่กับข้อตกลงกับลูกค้า ซึ่งจะขอยกตัวอย่างวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ดังนี้ Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual (FDA-BAM), Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (AOAC), The International Commission on Microbiological Specification for Food of the International Association of Microbiology Societies (ICMSF), Thai Industrial Standard (TIS, มอก.), International Standard Organization (ISO), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Standard methods for the Examination of Water & Wastewater

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางจุลชีววิทยา

การตรวจสอบความใช้ได้เป็นกระบวนการตรวจสอบเพื่อยืนยันว่าวิธีการทดสอบนั้นเหมาะสม และสามารถใช้งานได้ ตามวัตถุประสงค์ การตรวจสอบความ

ใช้ได้จะทำเมื่อนำวิธีมาตรฐานไปใช้แล้วต้องตรวจสอบยืนยันว่าเป็นไปตามข้อกำหนดของวิธี หรือทำเมื่อใช้วิธีทดสอบใหม่ซึ่งอาจจะเป็นวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน หรือวิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นเอง (In-house method)

การควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ

การควบคุมคุณภาพเป็นกิจกรรมที่ทำขึ้นเพื่อควบคุมและปรับปรุงคุณภาพของการปฏิบัติงาน เพื่อให้เกิดความมั่นใจในผลการทดสอบ โดยมีการตรวจสอบกิจกรรมต่างๆ ว่าได้ดำเนินการตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้ ซึ่งแบ่งออกเป็น การควบคุมคุณภาพภายใน และการควบคุมคุณภาพภายนอก การควบคุมคุณภาพภายในจัดทำโดยห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เฝ้าระวังผลการทดสอบและประเมินผลการทดสอบในแต่ละวันว่ามีผลการทดสอบที่ถูกต้องตรงตามเกณฑ์ที่วางไว้ สำหรับการควบคุมคุณภาพภายนอก เป็นการเปรียบเทียบผลการทดสอบตัวอย่างเดียวกันกับห้องปฏิบัติการอื่นๆ เช่น เปรียบเทียบผลการทดสอบจากหน่วยงานที่ให้การรับรองหรือการเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญ (proficiency testing) ซึ่งจัดโดยหน่วยงานภายนอก

สรุป

การแข่งขันทางการตลาดที่เพิ่มสูงขึ้น ผู้ผลิตจะต้องสร้างความเชื่อมั่นให้กับลูกค้า ซึ่งผลการทดสอบที่ถูกต้องและแม่นยำ จะเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถดึงดูดความสนใจของลูกค้า ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องจะบ่งบอกถึงคุณภาพการผลิต ดังนั้นผู้ที่ปฏิบัติงานในส่วนของการวิเคราะห์และทดสอบทางจุลชีววิทยา จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับข้อกำหนดพื้นฐานที่เกี่ยวกับวิธีการทดสอบเหล่านี้ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้อง เหมาะสม

เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพในการปฏิบัติงานให้แก่นักวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา สำนักพัฒนาศักยภาพนักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์บริการ โดยความร่วมมือจากผู้เชี่ยวชาญด้านจุลชีววิทยา ได้ร่วมกันพัฒนาหลักสูตรแนวทางปฏิบัติสำหรับนักวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาอาหารขึ้น ซึ่งคาดว่าจะบริการจัดการฝึกอบรมประมาณกลางปี 2551 นี้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

International organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs-General requirements and guidance for microbiological examinations. ISO 7218. 2007.

_____. Microbiology of food and animal feeding stuffs-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 11133-1. 2000.

_____. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Guidelines on preparation and production of culture media-Part 2 : practical guidelines on performance testing of culture media. ISO 11133-2. 2003.

วิทยาศาสตร์บริการ, กรม. จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ. โดย อรทัย สีสภาพจนานพร และ วงศ์ทิพา ไรจนประภพ, วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2549, ปีที่ 54, ฉบับที่ 170, หน้า 40.