การทดสอบความคงตัวของตัวอย่างทดสอบความชำนาญในอาหารทางจุลชีววิทยาภายใต้สภาวะจำลองการขนส่งและอุณหภูมิห้อง

อัจฉรา อยู่คง กมลวรรณ กันแต่ง และ สุดารัตน์ ศรีน้อยเมือง
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความคงตัว (stability) ของตัวอย่างทดสอบความชำนาญในอาหารทางจุลชีววิทยา ภายใต้สภาวะจำลองการขนส่งและอุณหภูมิ โดยใช้ตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่เตรียมขึ้นเพื่อส่งให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 ได้ทำการทดสอบโดยเก็บรักษาและขนส่งตัวอย่างภายใต้สภาวะต่าง ๆ กัน ได้แก่ ตัวอย่างชุดที่ 1 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 4 วัน เพื่อเร่งการเสื่อมสภาพของตัวอย่างที่อุณหภูมิสูงกว่าการขนส่งแบบแช่เย็น ตัวอย่างชุดที่ 2 จำลองการขนส่งโดยเก็บตัวอย่างทดสอบที่อุณหภูมิแช่เย็น 2-8°C เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 1 วัน ตัวอย่างชุดที่ 3 คือ ตัวอย่างที่เก็บแช่เย็น 2-8°C จนถึงวันสุดท้ายที่กำหนดให้สมาชิกทดสอบ ผลการทดสอบตัวอย่างเชิงคุณภาพ *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* และ *Salmonella* spp. จากตัวอย่างทั้ง 3 ชุด พบว่ามีความคงตัวตลอดอายุการเก็บรักษา ส่วนผลทดสอบตัวอย่างเชิงปริมาณ Coliforms และ *Escherichia coli* ซึ่ง $0.3\sigma_{pt}$ เท่ากับ 0.129 โดยตัวอย่างชุดที่ 1 มีค่า 1.569 มากกว่า $0.3\sigma_{pt}$ แสดงว่าตัวอย่างไม่มีความคงตัว ชุดที่ 2 และ 3 มีค่า 0.121 และ 0.087 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่า $0.3\sigma_{pt}$ แสดงว่ายังมีความคงตัว และ *Staphylococcus aureus* $0.3\sigma_{pt}$ เท่ากับ 0.105 พบว่าชุดที่ 1 และ 2 มีค่า 1.087 และ 1.090 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่า $0.3\sigma_{pt}$ แสดงถึงความคงตัวของตัวอย่างลดลง อย่างไรก็ตามตัวอย่างชุดที่ 3 ที่เก็บในสภาวะแช่เย็น 2-8°C จนถึงการตรวจวิเคราะห์ มีค่า 0.073 น้อยกว่า $0.3\sigma_{pt}$ แสดงว่าสภาวะแช่เย็นช่วยรักษาความคงตัวของตัวอย่างดีกว่าอุณหภูมิห้อง ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นความสำคัญของการควบคุมอุณหภูมิในการขนส่งและเก็บรักษาตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

คำสำคัญ: ความคงตัวของตัวอย่างทดสอบความชำนาญในอาหาร, การทดสอบความชำนาญทางจุลชีววิทยา, อุณหภูมิและตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

Corresponding author E-mail: atchara.u@dmsc.mail.go.th

Received: 4 July 2025 *Revised: 18 September 2025* *Accepted: 19 September 2025*

บทนำ

การทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing; PT) หมายถึง กระบวนการประเมินสมรรถนะของห้องปฏิบัติการโดยการเปรียบเทียบผลการทดสอบหรือผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการนั้นกับห้องปฏิบัติการอื่น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความถูกต้อง ความแม่นยำ และความสามารถในการดำเนินการทดสอบของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานที่กำหนด โดยผู้ดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญ (PT Provider; PTP) จะทำการเตรียมตัวอย่างทดสอบ จัดส่งตัวอย่างที่แบ่งมาจากตัวอย่างเดียวกันไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิกในช่วงเวลาเดียวกัน เพื่อให้สมาชิกตรวจวิเคราะห์และส่งผลภายในระยะเวลาที่กำหนด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการให้มีประสิทธิภาพตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025:2017[1]

ในการดำเนินโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ การจัดเตรียมตัวอย่างทดสอบที่มีคุณภาพเป็นขั้นตอนสำคัญที่ส่งผลต่อความน่าเชื่อถือของผลการประเมินประสิทธิภาพของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าทางสถิติที่มีความสำคัญแสดงถึงการควบคุมคุณภาพ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการประเมินความสามารถ (Standard Deviation of Proficiency Assessment; SDPA) และค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ในตัวอย่างทดสอบความชำนาญจะต้องมีลักษณะที่เป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) และมีความคงตัว (stability) ตลอดระยะเวลาที่เกี่ยวข้อง ตั้งแต่การเตรียมตัวอย่าง การเก็บรักษา การขนส่ง จนถึงขั้นตอนการทดสอบโดยสมาชิก ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างช่วยให้มั่นใจได้ว่าทุกห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างที่มีลักษณะและคุณสมบัติทางการวิเคราะห์เหมือนกัน สามารถนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกันอย่างยุติธรรม ขณะที่ความคงตัวของตัวอย่างจะช่วยรับประกันว่าคุณสมบัติที่ต้องการทดสอบยังคงอยู่ครบถ้วนตลอดกระบวนการ ทั้งนี้เพื่อป้องกันผลกระทบจากการเสื่อมสภาพของตัวอย่างซึ่งอาจนำไปสู่ผลการทดสอบที่คลาดเคลื่อน นอกจากนี้การจัดส่งตัวอย่างไปยังผู้เข้าร่วมยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ต้องควบคุมอย่างเหมาะสม โดยเฉพาะกรณีที่ตัวอย่างมีความไวต่ออุณหภูมิหรือระยะเวลา การควบคุมสภาวะแวดล้อมระหว่างขนส่งและการติดตามสถานะตัวอย่างจึงมีความสำคัญต่อการรักษาคุณภาพของตัวอย่างทดสอบจนถึงปลายทาง

ห้องปฏิบัติการสมาชิกที่เข้าร่วมในโครงการทดสอบความชำนาญมักมีคำถามว่า สภาพการขนส่งโดยเฉพาะระยะเวลาและอุณหภูมิ ส่งผลกระทบต่อตัวอย่างทดสอบหรือไม่ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ของตัวอย่างทดสอบความชำนาญในอาหารทางจุลชีววิทยาในสภาวะขนส่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ระยะเวลา และสภาพแวดล้อมในการขนส่ง ซึ่งอาจส่งผลให้จุลินทรีย์เพิ่มหรือลดจำนวนหรือแม้แต่ตายหมดได้ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นความท้าทายที่ผู้ดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญจะต้องควบคุมสภาวะการขนส่งให้เหมาะสม เพื่อสร้างความมั่นใจในตัวอย่างทดสอบที่จัดส่งให้สมาชิกว่ามีความคงตัว เพื่อให้สอดคล้องกับระบบคุณภาพ ISO/IEC 17043:2023[2] ตามข้อ 7.4.4 ระบุว่าผู้จัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญต้องมั่นใจว่า ตัวอย่างทดสอบ (PT items) มีความคงตัวตลอดระยะเวลาการจัดเก็บ การขนส่ง และระยะเวลาทั้งหมดของรอบการทดสอบความชำนาญ ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาสภาวะการขนส่งที่มีผลต่อความคงตัวของตัวอย่างทดสอบความชำนาญด้านการตรวจวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา โดยจำลองอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน และนำผลที่ได้มาประเมินผลการทดสอบความคงตัวเพื่อนำไปใช้คัดเลือกรูปแบบการขนส่งที่เหมาะสมต่อไป

วัสดุและวิธีการ

เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน *Escherichia coli* (DMST 24373), *Listeria monocytogenes* (DMST 17303), *Staphylococcus aureus* (DMST 8013), *Clostridium perfringens* (DMST 16637), *Salmonella Rissen* (DMST 17365), *Staphylococcus epidermidis* (DMST 15505), *Bacillus subtilis* (DMST 15896) และ *Enterobacter aerogenes* (DMST 8841) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์

การแพทย์ เก็บรักษาที่ตู้แช่แข็ง -80°C (DW-86L 728D, Haier, China) อุณหภูมิต่ำกว่า -70°C

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Brain heart infusion broth (BHI) (Oxoid, England), Tryptic Soy Agar (TSA) (Scharlau, Spain), Buffered Peptone Water (BPW) (Scharlau, Spain), Lauryl sulphate tryptose broth (LST) (Oxoid, England) 2% brilliant green lactose bile broth (2% BGLB) (Difco, France), EC broth (Difco, France), Levine eosin methylene blue (L-EMB agar)(Scharlau, Spain), Tryptone broth (Gibco, USA), methyl red-Voges Proskauer broth (MR-VP) (Merck, Germany), Baird-Parker (BP agar) (Scharlau, Spain), Coagulase rabbit plasma with EDTA (BBL, USA) Rappaport-Vassiliadis medium with soya (RVS broth)(Merck, Germany), Muller-Kauffmann tetrathionate novobiocin broth (MKTTn broth)(Merck, Germany), Xylose lysine deoxycholate agar (XLD agar) (Scharlau, Spain), Hektoen enteric agar (HE agar) (Oxoid, England), Bismuth sulphite agar (BS agar) (Oxoid, England), Nutrient agar (NA) (Oxoid, England), Triple sugar iron agar (TSI agar) (Oxoid, England), Motility indole lysine (MIL) (Difco, France), Urea agar (Difco, France) Fraser broth agar Listeria according to Ottaviani and Agosti (ALOA) (Scharlau, Spain), Oxford agar (OXA) (Oxoid, England), Blood agar (Oxoid, England), Carbohydrate utilization broth L-rhamnose and D-xylose agar (CDH, india), Yeast extract agar (TSYEA) (Scharlau, Spain) และ Voges-Proskauer (VP medium) (Scharlau, Spain)

น้ำยาและสารเคมี

Gram stain reagents (BIOTECH, Biotech reagent Co., Ltd., Thailand), Kovacs′ reagent (Scharlau, Spain) และสารละลายสำหรับเจือจาง (diluent) 0.1% peptone water (Oxoid, England)

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilizer) (EPSILON 2-10D LSCplus, Martin Christ, Germany) เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (GE L600, Getinge getting group, Sweden) เครื่องนับโคโลนี (3328, Leica, USA), ตู้อบเพาะเชื้อ 25±1°C (MIR 522, SANYO, Japan), ตู้อบเพาะเชื้อ 35±1°C (MIR 252, SANYO, Japan) ตู้อบเพาะเชื้อ 36±1°C (MIR 553, SANYO, Japan), กล้องจุลทรรศน์แบบสองตา (Leica, Germany), อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ 41.5±1°C (MEMMERT, Germany), อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ 47±2°C (MEMMERT, Germany), เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด 0.01-0.1 กรัม (BP2100, Sartorius, Germany), เครื่องผสม vortex mixer (VX100, LABNET, USA) และเครื่องให้ความร้อนพร้อมกวนด้วยแม่เหล็ก (Stuart, USA)

การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมเชื้อสำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา โดยนำเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐานมาเตรียมเป็นเชื้อสำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างแต่ละรอบการทดสอบ โดยทวนสอบคุณสมบัติของเชื้อมาตรฐานควบคู่ไปด้วยทุกครั้งว่า เป็นจุลินทรีย์ที่ถูกต้องตรงตามชนิดที่ต้องการ ยังมีชีวิตและมีความบริสุทธิ์[3] ดังนี้ เชื้อชนิด Coliforms, *E. coli, S. aureus, L. monocytogenes* และเชื้อจุลินทรีย์แข่งขัน[4] นำเม็ด bead มากลิ้งและ streak บน TSA plate บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เชื้อชนิด clostridium[5] ทำการ streak บน TSA plate หรือ TSC-EY บ่มที่อุณหภูมิ 35°C บ่มที่สภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวนำไปตรวจสอบลักษณะเฉพาะหรือรูปร่าง และคุณสมบัติทางชีวเคมี กรณีที่เชื้อมีคุณสมบัติผ่านนำไปใช้งานได้ เลือกโคโลนีเดี่ยวเขี่ยลงอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว TSB หรือ BHI บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และเชื้อ

กลุ่ม clostridium เขี่ยลง BHI (ที่เตรียมใหม่ ๆ หรือต้มไล่อากาศ) บ่มที่อุณหภูมิ 35°C บ่มที่สภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง นำเชื้อ working culture ที่ได้เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–8°C เพื่อใช้ในการเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

การเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญ

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ตัวอย่างเชิงคุณภาพ (qualitative test) เตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชุด โดยเติมเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย (target microorganisms) ให้เหลือรอดปริมาณน้อย ๆ 10 ถึง 10^2 cfu[3] ต่อหน่วยทดสอบ และเติมจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่เป้าหมายหรือจุลินทรีย์แข่งขัน (non target หรือ competitive microorganisms) ให้เหลือรอดในปริมาณมากกว่าจุลินทรีย์เป้าหมายอย่างน้อย 100 เท่า[3]

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ตัวอย่างเชิงปริมาณ (quantitative test) เตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญ 1 ชุด โดยเติมจุลินทรีย์เป้าหมายให้เหลือรอดในปริมาณที่อยู่ในช่วงของการนับของแต่ละวิธี 10^2 ถึง 10^6 cfu ต่อกรัม[3] และเติมจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่เป้าหมายหรือจุลินทรีย์แข่งขัน ให้เหลือรอดใกล้เคียงตัวอย่างอาหารในธรรมชาติมากที่สุด และปริมาณมากกว่าจุลินทรีย์เป้าหมายอย่างน้อย 100 เท่า[3] นำเชื้อจุลินทรีย์ผสมลงใน 10% skim milk (Oxoid, England) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 5 นาที และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนสารละลายแบบแม่เหล็กตลอดการแบ่งบรรจุใส่ในขวดแก้ว (vial) นำเข้าเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียม ตัวอย่างที่เตรียมแล้วเก็บรักษาไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 2–8°C

การสุ่มตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างเพื่อทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว โดยใช้โปรแกรมในเว็บไซต์ https://www.randomizer.org[6] เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่เหมาะสมและเป็นตัวแทนชุดตัวอย่างทั้งหมด

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)

ตัวอย่างทดสอบวิเคราะห์เชิงคุณภาพ สุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ จำนวน 2 ชุด ชุดละ 10 ตัวอย่าง โดยทั้ง 2 ชุด ต้องมีผลการวิเคราะห์ตรงตามค่ากำหนดทั้ง 2 ตัวอย่าง

ตัวอย่างทดสอบวิเคราะห์เชิงปริมาณ นำตัวอย่างทดสอบมาตรวจวิเคราะห์ จำนวน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาคำนวณทางสถิติโดยใช้ Cochran's test เพื่อเปรียบเทียบนัยสำคัญของความแตกต่างเพื่อทดสอบ Within sample variation แล้วทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันตาม ISO 13528:2022[7] คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (s_s; Between sample standard deviation) การทดสอบนี้เลือกใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation for proficiency assessment; σ_{pt}) ของการประเมินผลการทดสอบความชำนาญ ตาม ISO 22117:2019[8] ซึ่งรอบการทดสอบ Coliforms และ *E. coli* ปริมาณเป็น Most Probable Number/gram (MPN/g) มีค่า 0.43 $\log_{10}$MPN/g และรอบการทดสอบ *S. aureus* ปริมาณเป็น Colony Forming Unit/gram (cfu/g) มีค่า 0.35 $\log_{10}$ cfu/g โดยค่า Within sample variation: Cochran_{cal} (ค่าสถิติที่คำนวณได้จากข้อมูลตัวอย่าง) ต้องมีค่าน้อยกว่า Cochrancrit (ค่าวิกฤติจากตาราง Cochran's test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ s_s ต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 ของค่า Standard deviation ของ Proficiency testing (PT) ($\leq 0.3\sigma_{pt}$) จึงจะสรุปได้ว่าตัวอย่างทดสอบมีความเป็นเนื้อเดียวกันเหมาะสมที่จะนำไปใช้

การทดสอบความคงตัว (Stability test)

ทดสอบความคงตัวในการขนส่ง (เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่จัดส่งให้กับห้องปฏิบัติการสมาชิกในปีงบประมาณ พ.ศ. 2567) โดยการนำตัวอย่างมาเก็บตามอุณหภูมิที่กำหนดไว้ในวันเดียวกันกับวันที่

ขนส่งมารับตัวอย่างเพื่อส่งให้กับสมาชิกในรอบนั้น โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่ได้รับการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หมายเลขทะเบียน 4043/50 ดังนี้

รายการทดสอบ Coliforms (MPN/g) วันที่เริ่มทดสอบ 30 ตุลาคม พ.ศ. 2566 โดยวิธีวิเคราะห์ FDA BAM Online, 2020 (Chapter 4)[9]

รายการทดสอบ *E. coli* (MPN/g) วันที่เริ่มทดสอบ 30 ตุลาคม พ.ศ. 2566 โดยวิธีวิเคราะห์ FDA BAM Online, 2020 (Chapter 4)[9]

รายการทดสอบ *L. monocytogenes* (พบ/ไม่พบ /25 g) วันที่เริ่มทดสอบ 13 พฤศจิกายน พ.ศ. 2566 โดยวิธีวิเคราะห์ ISO/IEC 17025:2017[10]

รายการทดสอบ *S. aureus* (cfu/g) วันที่เริ่มทดสอบ 8 มกราคม พ.ศ. 2567 โดยวิธีวิเคราะห์ FDA BAM Online, 2016 (Chapter 12)[11]

รายการทดสอบ *C. perfringens* (พบ/ไม่พบ/ 0.1 g) วันที่เริ่มทดสอบ 15 มกราคม พ.ศ. 2567 โดยวิธีวิเคราะห์ FDA BAM Online, 2001 (Chapter 16)[12]

รายการทดสอบ *Salmonella* spp. (พบ/ไม่พบ /25 g) วันที่เริ่มทดสอบ 18 มีนาคม พ.ศ. 2567 โดยวิธีวิเคราะห์ ISO 6579-1:2017/Amd.1, 2020[13]

สุ่มตัวอย่างที่เตรียมไว้ในแต่ละแผนทดสอบ เฉพาะตัวอย่างที่เติมจุลินทรีย์เป้าหมาย แบ่งตัวอย่างเป็น 3 ชุด ชุดละ 5 ตัวอย่าง วางตัวอย่างทดสอบในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ หลังจากครบตามเวลาที่กำหนด นำตัวอย่างทดสอบทั้ง 3 ชุด มาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีทดสอบเดียวกันกับการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (ตัวอย่างทดสอบเชิงปริมาณ ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ สำหรับตัวอย่างทดสอบเชิงคุณภาพ ตรวจตัวอย่างละ 1 ซ้ำ)

ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1 เก็บตัวอย่างทดสอบไว้ที่อุณหภูมิห้อง (34–37°C) เป็นเวลา 4 วัน เพื่อเร่งการเสื่อมสภาพที่อุณหภูมิสูงขึ้นจากการขนส่ง

ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 2 จำลองการขนส่งโดยเก็บตัวอย่างทดสอบไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น 2–8°C เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 1 วัน เพื่อจำลองระยะเวลาที่บริษัทขนส่งตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างอาจติดค้างอยู่ที่อุณหภูมินอกห้องก่อนถึงห้องปฏิบัติการสมาชิก

ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 3 เก็บตัวอย่างทดสอบไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 2–8°C จนถึงวันหลังวันสุดท้ายที่กำหนดให้สมาชิกทดสอบในรอบนั้น ๆ

การประเมินผลการทดสอบความคงตัว

ตัวอย่างทดสอบเชิงคุณภาพที่เติมจุลินทรีย์เป้าหมาย ต้องตรวจพบจุลินทรีย์เป้าหมายทั้ง 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างทดสอบเชิงปริมาณ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยจากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ($mean_{homo}$) ที่ดำเนินการวิเคราะห์ก่อนส่งตัวอย่างให้สมาชิก กับค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์ที่สภาวะทดสอบความคงตัว ($mean_{sta}$) ต่างกันทั้ง 3 ชุด ผลการทดสอบ $|mean_{homo} - mean_{sta}|$ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.3 ของค่า Standard deviation[7] ของ PT ($\leq 0.3\,\sigma_{pt}$) จึงจะสรุปได้ว่าตัวอย่างมีความคงตัวที่เหมาะสม[7]

ผล

ผลการทดสอบความคงตัวและความเป็นเนื้อเดียวกันเชิงคุณภาพ

ผลการทดสอบเชิงคุณภาพ ตัวอย่าง *L. monocytogenes* (พบ/ไม่พบ/25 g) *C. perfringens* (พบ/ไม่พบ/ 0.1 g) และ *Salmonella* spp. (พบ/ไม่พบ/25 g) ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของแต่ละเชื้อเมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ จำนวน 2 ชุด ชุดละ 10 ตัวอย่าง พบว่าทั้ง 2 ชุด มีผลการวิเคราะห์ตรงตามค่ากำหนดทั้ง 2 ตัวอย่าง แสดงว่าตัวอย่างทดสอบมีความเป็นเนื้อเดียวกันที่เหมาะสม และผลการทดสอบความคงตัวตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1–3 (รหัสตัวอย่าง A, B และ C) ที่ออกแบบสภาวะการขนส่ง โดยจำลองอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกันของทั้ง 3 เชื้อดังกล่าว ตรวจพบจุลินทรีย์เป้าหมายทั้ง 5 ตัวอย่าง แสดงว่าตัวอย่างมีความคงตัวในทุกสภาวะการทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความคงตัวเชิงคุณภาพ *L. monocytogenes, C. perfringens* และ *Salmonella* spp.

***L. monocytogenes, C. perfringens* และ *Salmonella* spp.**					
ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1		**ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 2**		**ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 3**	
รหัสตัวอย่าง	**ผล**	**รหัสตัวอย่าง**	**ผล**	**รหัสตัวอย่าง**	**ผล**
A1	พบ	B1	พบ	C1	พบ
A2	พบ	B2	พบ	C2	พบ
A3	พบ	B3	พบ	C3	พบ
A4	พบ	B4	พบ	C4	พบ
A5	พบ	B5	พบ	C5	พบ

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของ Coliforms และ *E. coli* เชิงปริมาณ

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยทดสอบ Coliforms (MPN /g) และ *E. coli* (MPN /g) พบว่า Cochran's test (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %) Within sample variation $Cochran_{cal}$ = 0.219 น้อยกว่า $Cochran_{crit}$= 0.602 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (s_s; Between sample standard deviation) คำนวณค่า s_s ตาม ISO 13528 Annex B s_s = 0.000 เมื่อค่า σ_{pt} = 0.430[8] 0.3 σ_{pt} = 0.129 โดยมีค่า Between sample variation; s_S น้อยกว่า 0.3 σ_{pt} จึงมีความเป็นเนื้อเดียวกันที่เหมาะสม ดังแสดงในตารางที่ 2

ผลการทดสอบความคงตัวของแต่ละเชื้อตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1–3 ที่ออกแบบสภาวะการขนส่ง โดยจำลองอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยจากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน กับค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์การทดสอบความคงตัวของ Coliforms และ *E. coli* พบว่าตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1 เก็บตัวอย่างอย่างทดสอบไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน มีค่า $|mean_{homo} - mean_{sta}|$ มากกว่า 0.3 σ_{pt} ส่วนตัวอย่างทดสอบชุดที่ 2 เก็บตัวอย่างทดสอบไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น 2–8°C 3 วัน และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 1 วัน และตัวอย่างทดสอบชุดที่ 3 เก็บตัวอย่างทดสอบไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 2–8°C จนถึงวันหลังวันสุดท้ายที่กำหนดให้สมาชิกทดสอบ มีค่า $|mean_{homo} - mean_{sta}|$ น้อยกว่า 0.3 σ_{pt} ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ของ Coliforms และ *E. coli* (MPN/g)

PT sample number	**Coliforms และ *E. coli* (MPN /g)**		**Coliforms และ *E. coli* (log_{10} MPN/g)**	
	Replicate 1	**Replicate 2**	**Replicate 1**	**Replicate 2**
102	24,000	46,000	4.380	4.663
244	24,000	9,300	4.380	3.968
105	24,000	24,000	4.380	4.380
160	9,300	24,000	3.968	4.380
150	24,000	46,000	4.380	4.663
199	46,000	24,000	4.663	4.380
193	24,000	24,000	4.380	4.380
145	9,300	24,000	3.968	4.380
184	16,000	46,000	4.204	4.663
114	24,000	24,000	4.380	4.380
			$mean_{homo}$ = 4.366	

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความคงตัวเชิงปริมาณของ Coliforms และ *E.coli* (MPN/g)

Coliforms และ *E. coli*							
ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)		**ตัวอย่างทดสอบ ชุดที่ 1**		**ตัวอย่างทดสอบ ชุดที่ 2**		**ตัวอย่างทดสอบ ชุดที่ 3**	
Rep. 1	**Rep. 2**	**Rep. 1**	**Rep. 2**	**Rep. 1**	**Rep. 2**	**Rep. 1**	**Rep. 2**
4.380	4.663	2.968	2.968	4.380	4.322	4.380	4.663
4.380	3.968	2.875	2.875	4.380	4.380	3.968	4.176
4.380	4.380	2.633	2.633	4.380	4.380	3.968	4.380
3.968	4.380	2.633	2.633	3.968	3.968	4.322	4.380
4.380	4.663	2.875	2.875	4.322	3.968	4.176	4.380
4.663	4.380						
4.380	4.380						
3.968	4.380						
4.204	4.663						
4.380	4.380						
$mean_{homo}$ = 4.366		$mean_{homo}$ = 2.797		$mean_{homo}$ = 4.245		$mean_{sta}$ = 4.279	
$\lvert mean_{homo} - mean_{sta} \rvert$ 0.3 σ_{pt} เท่ากับ 0.129		$\lvert 4.366-2.797 \rvert$ = 1.569		$\lvert 4.366 - 4.245 \rvert$ = 0.121		$\lvert 4.366 - 4.279 \rvert$ = 0.087	

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของ *S. aureus*

การทดสอบ *S. aureus* (cfu/g) การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน พบว่า Cochran's test (ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%) Within sample variation $Cochran_{cal}$ = 0.616 น้อยกว่า $Cochran_{crit}$ = 0.718 แสดงว่าข้อมูลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างตัวอย่าง (s_s; Between sample standard deviation) เมื่อคำนวณค่า s_s ตาม ISO 13528 Annex B ได้ s_s = 0.002 เมื่อค่า 0.3= 0.350[8] เพราะฉะนั้น 0.3 σ_{pt} = 0.105 Between sample variation; s_s น้อยกว่า 0.3σ_{pt} แสดงว่าตัวอย่างทดสอบมีความเป็นเนื้อเดียวกันที่เหมาะสม ดังแสดงในตารางที่ 4

ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1–3 ที่ออกแบบสภาวะการขนส่งโดยจำลองอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยจากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันกับค่าเฉลี่ยผลวิเคราะห์การทดสอบความคงตัว พบว่าตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1 เก็บตัวอย่างอย่างทดสอบไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน และตัวอย่างทดสอบชุดที่ 2 เก็บตัวอย่างทดสอบไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น 2–8°C เป็นเวลา 3 วัน และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 1 วัน มีค่า $\lvert mean_{homo} - mean_{sta} \rvert$ มากกว่า 0.3 σ_{pt} ส่วนตัวอย่างทดสอบชุดที่ 3 เก็บตัวอย่างทดสอบไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 2–8°C จนถึงวันหลังวันสุดท้ายที่กำหนดให้สมาชิกทดสอบ มีค่า $\lvert mean_{homo} - mean_{sta} \rvert$ น้อยกว่า 0.3 σ_{pt} ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของ *S. aureus* (cfu/g)

PT sample number	*S. aureus* (cfu /g)		*S. aureus* (log_{10} cfu /g)	
	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 1	Replicate 2
143	180,000	170,000	5.255	5.230
152	160,000	180,000	5.204	5.255
141	170,000	190,000	5.230	5.279
136	160,000	180,000	5.204	5.255
148	320,000	180,000	5.505	5.255
140	180,000	180,000	5.255	5.255
130	180,000	200,000	5.255	5.301
101	190,000	200,000	5.279	5.301
155	260,000	180,000	5.415	5.255
108	180,000	160,000	5.255	5.204
			$mean_{homo}$ = 5.273	

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความคงตัวเชิงปริมาณ ของ *S. aureus* (cfu/g)

S. aureus							
ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)		ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 1		ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 2		ตัวอย่างทดสอบชุดที่ 3	
Rep. 1	Rep. 2	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 1	Rep. 2
5.255	5.230	3.919	4.826	4.204	4.204	5.146	5.255
5.204	5.255	4.114	4.146	4.176	4.176	5.204	5.230
5.230	5.279	4.176	4.146	4.146	4.114	5.146	5.230
5.204	5.255	4.079	4.230	4.230	4.230	5.204	5.176
5.505	5.255	4.114	4.114	4.176	4.176	5.204	5.204
5.255	5.255						
5.255	5.301						
5.279	5.301						
5.415	5.255						
5.255	5.204						
$mean_{homo}$ = 5.273		$mean_{homo}$ = 4.186		$mean_{homo}$ = 4.183		$mean_{sta}$ = 5.200	
$\lvert mean_{homo} - mean_{sta} \rvert$ $0.3\sigma_{pt}$ เท่ากับ 0.105		$\lvert 5.273-4.186 \rvert$ = 1.087		$\lvert 5.273- 4.183 \rvert$ =1.090		$\lvert 5.273- 5.200 \rvert$ = 0.073	

วิจารณ์

จากตัวอย่างทดสอบความชำนาญเชิงคุณภาพที่เติมเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย *L. monocytogenes C. perfringens* และ *Salmonella* spp. ในสภาวะต่าง ๆ พบว่าตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิแช่เย็น เป็นเวลา 3 วัน และที่อุณหภูมิห้องอีก 1 วัน และตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิแช่เย็นที่ทดสอบหลังสมาชิกทำการทดสอบแล้ว ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่างทั้งสามชุดยังตรวจพบจุลินทรีย์เป้าหมาย แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อในการคงอยู่ภายใต้สภาวะเหล่านี้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา

ของ Ertürk A และคณะ[14] และ Jasson V และคณะ[15] ที่ระบุว่า *Salmonella* spp. และ *L. monocytogenes* สามารถคงอยู่ในอาหารที่แห้งหรือกึ่งแห้งได้นานหลายวันในอุณหภูมิห้อง โดยไม่สูญเสียความสามารถในการเจริญเติบโตเมื่อเข้าสู่สภาวะที่เหมาะสมอีกครั้ง ดั้งนั้นห้องปฏิบัติการสมาชิกที่ได้รับตัวอย่างทดสอบจึงสามารถมั่นใจได้ว่า ตัวอย่างทดสอบยังมีความคงตัวอยู่ตลอดจนถึงห้องปฏิบัติการสมาชิก แม้ว่าตัวอย่างจะติดค้างอยู่ภายนอกห้องก่อนถึงมือสมาชิก ส่วนตัวอย่างทดสอบความชำนาญเชิงปริมาณ พบว่าการจัดเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานส่งผลให้ค่าที่วัดได้มีความเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ซึ่งแสดงถึงการสูญเสียความคงตัวของตัวอย่างในระดับที่มีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในกรณีของจุลินทรีย์ Coliforms และ *E. coli* ที่มีความไวต่อสภาวะแวดล้อม การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจนำไปสู่ความคลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์เมื่อส่งตัวอย่างให้กับสมาชิก ในทางตรงกันข้ามตัวอย่างที่เก็บในอุณหภูมิที่ควบคุมได้ เช่น การแช่เย็น พบว่าสามารถคงสภาพของตัวอย่างได้ดี การวางไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาสั้น ๆ ภายหลังจากการแช่เย็นไม่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวอย่างมีนัยสำคัญ ชี้ให้เห็นว่าการขนส่งที่อาจมีระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสั้น ๆ ยังสามารถรักษาคุณภาพของตัวอย่างได้อยู่ในระดับที่เหมาะสม สำหรับการทดสอบเชื้อ *S. aureus* ผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างทั้งที่เก็บในอุณหภูมิห้องและที่เก็บแช่เย็นแล้ว มีการสัมผัสกับอุณหภูมิห้องในช่วงระยะเวลาหนึ่ง มีแนวโน้มเกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจแสดงถึงความไวของเชื้อชนิดนี้ต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

แม้ว่าการแช่เย็นจะช่วยยืดอายุของความคงตัวได้บ้าง แต่ยังไม่เพียงพอที่จะป้องกันการลดลงของปริมาณเชื้อเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการจัดส่ง อย่างไรก็ตามเมื่อตัวอย่างถูกเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็นอย่างต่อเนื่องและทำการทดสอบหลังสมาชิกวิเคราะห์ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสามารถรักษาความคงตัวได้ ซึ่งตอกย้ำความสำคัญของการควบคุมอุณหภูมิในทุกขั้นตอน ตั้งแต่การเตรียมตัวอย่างไปจนถึงการจัดส่ง เพื่อให้แน่ใจว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ ผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในการกำหนดแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาและขนส่งตัวอย่างทดสอบความชำนาญ ทำให้มั่นใจในคุณภาพและความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ และเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญทางจุลชีววิทยาให้มีความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ ได้ดีขึ้น เพื่อนำไปใช้เป็นวัสดุอ้างอิง (reference material) หรือวัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material) ต่อไป อีกทั้งผลการศึกษานี้เป็นฐานข้อมูลสำคัญที่ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของการออกแบบตัวอย่าง PT ที่ไม่ต้องพึ่งการแช่เย็นในอนาคต โดยเฉพาะหากมีการนำแนวทางการเติมเชื้อจุลินทรีย์ร่วมกับการเติมสารช่วยคงตัว (stabilizer) หรือการปรับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างมาใช้ร่วมกัน หากสามารถควบคุมความคงตัวของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตัวอย่างที่พัฒนาอาจถูกใช้เป็น reference material สำหรับการทดสอบความชำนาญ และอาจขยายสู่การใช้งานในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น ใช้เป็น positive control หรือ internal quality control ได้ด้วย ซึ่งจะช่วยในการลดต้นทุนในการที่ต้องเตรียมเชื้อใหม่ทุกครั้งหรือต้องซื้อเชื้อจุลินทรีย์ที่รู้ค่าจากต่างประเทศ

ทั้งนี้การวิจัยในอนาคตเกี่ยวกับการพัฒนาตัวอย่างทดสอบความชำนาญทางจุลชีววิทยาให้มีความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นวัสดุอ้างอิงหรือวัสดุอ้างอิงรับรองนั้น อาจเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัยทั้งด้านวิชาการ เทคนิค กฎหมาย และทรัพยากร การเติมสารช่วยความคงตัว แม้อาจเพิ่มความคงตัวของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่าง แต่ก็อาจมีผลต่อคุณสมบัติของจุลินทรีย์ เช่น การเจริญเติบโตหรือการตรวจพบที่เปลี่ยนแปลงไป[16] ทำให้การนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการอาจเกิดความคลาดเคลื่อน อีกทั้งกระบวนการประเมินความคงตัวในระยะยาวตามเกณฑ์มาตรฐาน เช่น ISO 17034 จำเป็นต้องใช้เวลา ทรัพยากร และการควบคุมที่รัดกุม ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดของการดำเนินงาน ณ ปัจจุบัน นอกจากนี้ข้อกำหนดด้านกฎหมายและความปลอดภัยทางชีวภาพในการจัดส่ง

หรือนำเข้าส่งออกตัวอย่างที่มีการเติมเชื้อเป็นอุปสรรคที่ต้องพิจารณาอย่างรอบคอบ โดยเฉพาะหากต้องการใช้ในระดับนานาชาติหรือในห้องปฏิบัติการที่มีข้อจำกัดทางเทคนิค เช่น การคืนสภาพเชื้อที่ต้องใช้ขั้นตอนเฉพาะ สุดท้ายแม้จะสามารถพัฒนาตัวอย่างให้มีความคงตัวในสภาวะที่ไม่ต้องแช่เย็นได้ แต่การนำไปใช้เป็นวัสดุอ้างอิงหรือควบคุมคุณภาพภายในยังต้องพิจารณาความพร้อมของห้องปฏิบัติการ การฝึกอบรมผู้ใช้งาน และการสนับสนุนจากหน่วยงานกำกับดูแล เพื่อให้เกิดการยอมรับและใช้งานได้อย่างแพร่หลายและเชื่อถือได้

สรุป

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความคงตัวของตัวอย่างทดสอบความชำนาญทางจุลชีววิทยาในอาหารภายใต้สภาวะจำลองการขนส่งและการเก็บที่อุณหภูมิห้อง การทดสอบความคงตัวเชิงคุณภาพสำหรับเชื้อ *L. monocytogenes*, *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างมีความคงตัวภายใต้สภาวะการทดสอบทั้งหมด แม้ปริมาณเชื้อในตัวอย่างอาจลดลงตามอุณหภูมิที่จัดเก็บแต่ก็ยังคงสามารถตรวจพบได้ ในการทดสอบความคงตัวเชิงปริมาณของเชื้อ Coliforms, *E. coli* และ *S. aureus* ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิแบบแช่เย็นตลอดอายุการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่างมีความคงตัวลดลงหรือไม่มีความคงตัว ทั้งนี้อาจพิจารณาจากค่าความเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อ (log CFU) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงหรือมากกว่า $0.3\,\sigma_{pt}$ ซึ่งบ่งชี้ว่าปริมาณเชื้อมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการเลือกอุณหภูมิการเก็บรักษาที่เหมาะสม จึงเป็นปัจจัยสำคัญในการรักษาคุณภาพของตัวอย่าง เพื่อให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือ การพัฒนาเพิ่มเติมอาจทำโดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ร่วมกับสารช่วยความคงตัวหรือปรับเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง เพื่อให้สามารถควบคุมความคงตัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ และนำไปสู่การผลิตวัสดุอ้างอิงที่ใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญ หรือควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการทั่วไปได้ โดยไม่จำเป็นต้องพึ่งการแช่เย็น ลดต้นทุน และเพิ่มความสะดวกในการใช้งาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนในการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญทางอาหารด้านจุลชีววิทยา และขอขอบคุณ นายปรีชา จึงสมานุกูล และนางสาวปิยมาศ แจ่มศรี ที่ให้คำปรึกษาในการวางแผนทดสอบความชำนาญและงานวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: International Organization for Standardization; 2017.
2. ISO/IEC 17043:2023. Conformity assessment – General requirements for the competence of proficiency testing providers. 2nd ed. Geneva: International Organization for Standardization; 2023.
3. ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. Geneva: International Organization for Standardization; 2014.
4. Boone DR, Garrity GM, Castenholz RW. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1, section 5. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 2001.
5. Garrity G, editor. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 2, section 12-14. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 2001.
6. Research Randomizer. [online]. [cited 2023 Oct 30]. Available from: URL: http://www.randomizer.org/form.htm.

7. ISO 13528:2022. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. Geneva: International Organization for Standardization; 2022.
8. ISO 22117:2019. Microbiology of the food chain – Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison. Geneva: International Organization for Standardization; 2019.
9. Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. In: U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual. [online]. 2002; [cited 2022 Nov 1]. Available from: URL: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria.
10. ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. – Part 1: Detection method. Geneva: International Organization for Standardization; 2017.
11. Chapter 12: Staphylococcus aureus. In: U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual. [Online]. Silver Spring (MD): FDA; 2016 [cited 2021 Jan 14]. Available from: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus.
12. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 16: *Clostridium perfringens*. [online]. 2001; [cited 2023 Oct 30]. Available from: URL: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-16-clostridium-perfringens.
13. ISO 6579-1:2017/Amd.1:2020. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella – Part 1: Detection of *Salmonella* spp. Geneva: International Organization for Standardization; 2020.
14. Ertürk A, Ekdal A, Gürel M, Karakaya N, Guzel C, Gönenç E. Evaluating the impact of climate change on groundwater resources in a small Mediterranean watershed. Sci Total Environ 2014; 499: 437-47.
15. Jasson V, Jacxsens L, Luning P, Rajkovic A, Uyttendaele M. Alternative microbial methods: an overview and selection criteria. Food Microbiol 2009; 27(6): 710-30.
16. Martinez OV, Malinin TI. Effect of osmotic stabilizers on the radiometric detection of cell wall-damaged bacteria. J Clin Microbiol 1979; 10(5): 657-61.

Stability Testing of Food Microbiological Proficiency Testing Samples under Simulated Transportation and Room Temperature Conditions

Atchara Ukong, Kamonwan Kantaeng, and Sudarat Srinoimueang
Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT This study aimed to evaluate the stability of microbiological proficiency testing samples in food under simulated transport conditions and temperatures. The research was conducted using proficiency testing samples prepared for distribution to laboratory members for the fiscal year 2024. The samples were stored and transported under different conditions: Set 1, where samples were kept at room temperature for 4 days to accelerate degradation due to higher temperatures than normal cold-chain transport, Set 2, simulating transport where the samples were stored at refrigerated temperatures 2–8°C for 3 days and then left at room temperature for 1 day, and Set 3, where samples were kept at refrigerated temperatures 2–8°C until the final testing day set for members. Results from the qualitative testing of *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, and *Salmonella* spp. showed stability throughout the storage period. Quantitative test results for Coliforms and *Escherichia coli* with a threshold of $\leq 0.3\sigma_{pt}$ which equals ≤ 0.129, it was found that the sample set 1 had a value of 1.569, which was greater than $0.3\sigma_{pt}$, indicating that the sample was not stable. Sample sets 2 and 3 had values of 0.121 and 0.087, respectively, which were less than $0.3\,\sigma_{pt}$, indicating these samples remained stable. For *Staphylococcus aureus*, with a threshold of $0.3\,\sigma_{pt}$ value of 0.105, the sample sets 1 and 2 had values of 1.087 and 1.090, respectively, which were greater than $0.3\,\sigma_{pt}$ indicating decreases in sample stability. However, sample set 3, which was stored under refrigerated conditions of 2–8 °C until analysis, had a value of 0.073, which was less than $0.3\,\sigma_{pt}$ demonstrating that refrigeration helped maintain sample stability better than room temperature conditions. This study highlights the importance of temperature control during the transportation and storage of proficiency testing samples to ensure the quality and accuracy of analytical results.

Keywords: Stability of food proficiency testing samples, Microbiological proficiency testing, Temperature