



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

PT Protocol MW  
แผนทดสอบความชำนาญ  
การตรวจวิเคราะห์น้ำทางจุลชีววิทยา  
(Protocol for Water Microbiological  
Proficiency Testing Scheme)

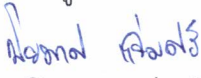
Revision No. 02

วันที่อนุมัติใช้ 18 ส.ค. 2563




หน้า 1/6


ผู้แก้ไข

  
(นางปิยมาศ แจ่มศรี)

ผู้ทบทวน

  
(นางสาวจิตตภา สันต์ตรบ)

ผู้อนุมัติใช้

  
(นายอรุณ ทนันทิติ)

แผนทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์น้ำทางจุลชีววิทยา  
(Protocol for Water Microbiological Proficiency Testing Scheme)

1. คำนำ (Introduction)

การทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing, PT) คือการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการโดยการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่เข้าร่วมในแผนทดสอบความชำนาญ หน่วยงานดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญ (PT provider) จัดส่งตัวอย่างที่แบ่งมาจากตัวอย่างเดียวกันไปยังห้องปฏิบัติการสมาชิกในเวลาเดียวกัน เพื่อให้สมาชิกตรวจวิเคราะห์และส่งผลภายในระยะเวลาที่กำหนด การเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญเป็นกระบวนการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ภายนอก (external quality control) ซึ่งถึงความสามารถในการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการได้ระดับหนึ่ง ดังที่มีกำหนดไว้ในมาตรฐาน ISO/IEC 17025 นอกจากนี้หน่วยงานที่ให้การรับรองบางแห่งกำหนดให้ห้องปฏิบัติการที่จะขอการรับรองต้องมีการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ภายนอกโดยการเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญในรายการที่ห้องปฏิบัติการนั้นขอรับการรับรองด้วย ผลการเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญสามารถนำมาใช้ชี้แจงคุณภาพและปัญหาของการปฏิบัติงานในส่วนอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่นการรายงานผลที่ชัดเจน การใช้หน่วยที่ถูกต้อง และการส่งผลในระยะเวลาที่กำหนด

2. นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

แผนทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ (Proficiency testing scheme, PT scheme) คือ การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการโดยใช้การเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยห้องปฏิบัติการสมาชิกทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบ (PT sample) ที่ได้รับจากหน่วยงานดำเนินการ (PT Provider) แล้วรายงานผลวิเคราะห์ตามกรอบเวลาที่กำหนด ผู้ประสานแผนฯ (scheme coordinator) จะประเมินค่าที่ห้องปฏิบัติการรายงานว่าเป็นเบี่ยงเบนจากค่ากำหนด (assigned value) ของตัวอย่างทดสอบมากน้อยเพียงใด

ตัวอย่างทดสอบความชำนาญ (PT sample) คือ ตัวอย่างที่ scheme coordinator ส่งให้แก่ห้องปฏิบัติการสมาชิก โดยตัวอย่างทดสอบฯ ต้องมีความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) และมีความคงตัว (stable) ที่เหมาะสม

หน่วยงานดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญ (PT Provider) คือ หน่วยงานที่รับผิดชอบในการดำเนินการทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์

ผู้ประสานแผนทดสอบความชำนาญ (Scheme coordinator) คือ บุคคลหรือกลุ่มบุคคลที่รับผิดชอบประสานงานทุกกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการสมาชิก คือ ห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์น้ำทางจุลชีววิทยา ซึ่งได้แจ้งความจำนงที่จะเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์ และตอบผลการตรวจวิเคราะห์ตามกรอบเวลาที่กำหนด

ค่ากำหนด (Assigned value) คือ ค่าที่นำมาใช้ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิกโดยการคำนวณผลทางสถิติกรณีที่ตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ หรือค่ากำหนดเป้าหมายกรณีที่ตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

3. หน่วยงานดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญ (PT Provider)

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร  
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข  
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

4. ผู้ประสานแผนทดสอบความชำนาญ (Scheme coordinator) และทีมงาน

นางปิยามาศ	แจ่มศรี	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ (Scheme coordinator)
นางสาวกรรณา	ดิระสมิทธิ์	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
นายบัณฑิต	พานิชกุล	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญงาน

นางสาวจันทิมา พรหมวิหาร	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
นางสาวนลินี อยู่เพชร	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
นายอภิชาติ แก้วชื่นชัย	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
นางสาวหนึ่งฤทัย กาญจนพันธ์	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ

5. วัตถุประสงค์ของการทดสอบความชำนาญ (Purpose of the scheme)  
เพื่อพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์น้ำทางจุลชีววิทยาทั้งภาครัฐและเอกชน โดยจำกัดจำนวนสมาชิกไม่เกิน 100 แห่ง หากมีสมาชิกสมัครเข้าร่วมแผนฯ น้อยกว่า 18 แห่ง จะไม่เปิดบริการในรอบนั้น
6. ค่าธรรมเนียมการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (Participation fee)  
ไม่มีค่าใช้จ่าย
7. กำหนดการทดสอบความชำนาญ (Timetable for PT scheme)  
ดำเนินการทดสอบปีละ 1 รอบ  
รับสมัครสมาชิก : เริ่มตั้งแต่ สิงหาคม ของทุกปี
  - แผน *Salmonella* spp และ *Staphylococcus aureus* (พบ/ไม่พบ ต่อ 100 มิลลิลิตร)  
ส่งตัวอย่างทดสอบให้สมาชิก : กุมภาพันธ์ ของทุกปี  
สมาชิกตอบผลกลับ : มีนาคม ของทุกปี  
ส่งรายงานให้สมาชิก : เมษายน ของทุกปี
  - แผน Coliforms (MPN/100 มิลลิลิตร), Fecal coliforms (MPN/100 มิลลิลิตร), *E. coli* (พบ/ไม่พบ ต่อ 100 มิลลิลิตร)  
ส่งตัวอย่างทดสอบให้สมาชิก : พฤศจิกายน ของทุกปี  
สมาชิกตอบผลกลับ : ธันวาคม ของทุกปี  
ส่งรายงานให้สมาชิก : กุมภาพันธ์ ของทุกปี  
(การกำหนดวันที่ของทุกกิจกรรมถูกระบุในการรับสมัครของแต่ละรอบปี)
8. ตัวอย่างทดสอบความชำนาญ (PT sample)  
อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมจุลินทรีย์ และทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilized cultures) ตัวอย่างทดสอบเมื่อผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแล้วจะถือว่าเป็นตัวอย่างทดสอบประเภทน้ำ
9. การบริหารจัดการตัวอย่างทดสอบความชำนาญ (Handling of PT sample)
  - 9.1 การเตรียมตัวอย่างทดสอบความชำนาญ  
การเตรียมตัวอย่างทดสอบโดยเติมจุลินทรีย์ในอาหารจำเพาะบรรจุในขวดแก้ว และทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilized cultures) โดยให้ตัวอย่างทดสอบมีจุลินทรีย์เป้าหมายคงเหลือ 10-100 CFU ต่อหน่วยทดสอบ และมีจุลินทรีย์อื่นคงเหลืออย่างน้อย 10<sup>4</sup> CFU ต่อหน่วยทดสอบสำหรับการวิเคราะห์แบบเชิงคุณภาพ และจุลินทรีย์เป้าหมายคงเหลือระหว่าง 1.8 ถึง 1600 MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร และมีจุลินทรีย์อื่นคงเหลืออย่างน้อย 10<sup>4</sup> CFU ต่อหน่วยทดสอบสำหรับการวิเคราะห์ แบบ MPN และจัดเก็บตัวอย่างที่เตรียมแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส
  - 9.2 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)
    - 9.2.1 การตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ  
ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการสุ่มตัวอย่างแบบอิสระ (random sampling) ชุดละ 10 ขวด และทำการวิเคราะห์ขวดละ 1 ซ้ำ โดยใช้วิธีทดสอบ ดังนี้

- *Salmonella* spp. (พบ/ไม่พบ ต่อ 100 มิลลิลิตร) วิธี ISO 19250:2010
- *S. aureus* (พบ/ไม่พบ ต่อ 100 มิลลิลิตร) วิธี APHA 2017 (9213 B) และ BAM 2016, Chapter 12
- *E. coli* (พบ/ไม่พบ ต่อ 100 มิลลิลิตร) วิธี APHA 2017 (9221 A-C, E, G, 9225 C-D)

#### นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่ากำหนดเป้าหมาย

#### 9.2.2 การตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบ MPN

ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันโดยการสุ่มตัวอย่างแบบอิสระ (random sampling) จำนวน 10 ขวด และทำการวิเคราะห์ขวดละ 2 ซ้ำ โดยใช้วิธีทดสอบ ดังนี้

- Coliforms (MPN/100 มิลลิลิตร) วิธี APHA 2017 (9221 A-C)
- Fecal coliforms (MPN/100 มิลลิลิตร) วิธี APHA 2017 (9221 A-C, E)

นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติที่เหมาะสมตาม ISO 13528: 2015; Annex B

#### 9.3 การทดสอบความคงตัว (Stability test)

##### 9.3.1 การตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

ทดสอบความคงตัวของตัวอย่างโดยการสุ่มตัวอย่างแบบอิสระ (random sampling) ชุดละ 5 ขวด วิเคราะห์ตัวอย่างหลังวันสุดท้ายที่กำหนดให้สมาชิกตรวจวิเคราะห์ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่เป็นวิธีเดียวกันกับการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน (ขวดละ 1 ซ้ำ) และนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่ากำหนดเป้าหมาย

##### 9.3.2 การตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบ MPN

ทดสอบความคงตัวของตัวอย่างโดยการสุ่มตัวอย่างแบบอิสระ (random sampling) จำนวน 5 ขวด วิเคราะห์ตัวอย่างหลังวันสุดท้ายที่กำหนดให้สมาชิกตรวจวิเคราะห์ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่เป็นวิธีเดียวกันกับการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน (ขวดละ 2 ซ้ำ) และใช้การคำนวณค่าทางสถิติที่เหมาะสมตาม ISO 13528: 2015; Annex B

#### 9.4 การหาค่า assigned value

##### 9.4.1 การตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ ใช้ค่ากำหนดเป้าหมายประเมินผลสมาชิก

##### 9.4.2 การตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบ MPN ใช้ค่าพ้องจากห้องปฏิบัติการสมาชิก (consensus value)

#### 9.5 การจัดส่งตัวอย่างให้ห้องปฏิบัติการสมาชิก

จัดส่งตัวอย่างให้สมาชิกทางบริการจัดส่งพัสดุด่วนแบบแช่เย็น พร้อมคำแนะนำและแบบรายงานผลการวิเคราะห์

### 10. วิธีทดสอบ (Method of analysis)

ห้องปฏิบัติการสามารถตอบผลวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคที่ใช้อยู่เป็นประจำ

#### 10.1 กรณีตอบผลวิเคราะห์เป็นเชิงคุณภาพ มีหน่วยเป็น พบหรือไม่พบ ได้แก่

- *Salmonella* spp. ต่อ 100 มิลลิลิตร
- *S. aureus* ต่อ 100 มิลลิลิตร
- *E. coli* ต่อ 100 มิลลิลิตร

#### 10.2 กรณีตอบผลวิเคราะห์เป็นเชิงปริมาณ มีหน่วยเป็น MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร ได้แก่

- Coliforms MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร
- Fecal coliforms MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร

### 11. การประเมินผลสมาชิก (Evaluation of participant's results)

ห้องปฏิบัติการที่จัดส่งผลวิเคราะห์กลับภายในเวลาที่กำหนด จะได้รับการประเมินผล

### 11.1 การทดสอบความชำนาญเชิงคุณภาพ

ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้รับจากสมาชิกรายมาเปรียบเทียบกับค่ากำหนด (assigned value) กล่าวคือ ห้องปฏิบัติการที่มีผลการทดสอบเป็นที่น่าพอใจ (satisfactory) ต้องมีผลการตรวจวิเคราะห์ตรงตามค่ากำหนด ส่วนห้องปฏิบัติการที่มีผลการทดสอบเป็นที่ไม่น่าพอใจ (not satisfactory) คือมีผลการตรวจวิเคราะห์ไม่ตรงตามค่ากำหนด โดย

- ค่ากำหนดสำหรับตัวอย่างที่เติม *Salmonella* spp. คือ พบต่อ 100 มิลลิลิตร
- ค่ากำหนดสำหรับตัวอย่างที่ไม่เติม *Salmonella* spp. คือ ไม่พบต่อ 100 มิลลิลิตร
- ค่ากำหนดสำหรับตัวอย่างที่เติม *S. aureus* คือ พบต่อ 100 มิลลิลิตร
- ค่ากำหนดสำหรับตัวอย่างที่ไม่เติม *S. aureus* คือ ไม่พบต่อ 100 มิลลิลิตร
- ค่ากำหนดสำหรับตัวอย่างที่เติม *E. coli* คือ พบต่อ 100 มิลลิลิตร
- ค่ากำหนดสำหรับตัวอย่างที่ไม่เติม *E. coli* คือ ไม่พบต่อ 100 มิลลิลิตร

### 11.2 การทดสอบความชำนาญเชิงปริมาณแบบ MPN

11.2.1 การประเมินผลการตรวจวิเคราะห์ Coliforms และ Fecal coliforms ที่ใช้วิธี MPN Method ของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้รับจากสมาชิกรายมาเปรียบเทียบกับค่ากำหนด (assigned value) ที่ได้มาจากสมาชิก โดยนำค่าจากการรายงานของสมาชิกรายมาแปลงเป็นหน่วย  $\log_{10}$  ใช้สถิติ robust statistical method คำนวณโดยใช้ Algorithm A หาค่า robust mean ( $x^*$ ), robust standard deviation ( $s^*$ ) และหาค่า standard uncertainty ของค่ากำหนด ( $U_{x^*}$ )

$$u_{(x_{pt})} = 1.25 \times \frac{s^*}{\sqrt{p}}$$

เมื่อ  $s^*$  คือ robust standard deviation ที่คำนวณมาจาก Algorithm A  
 $p$  คือ จำนวนของผลการตรวจวิเคราะห์

11.2.2 เกณฑ์การประเมินผลสมาชิกที่ใช้วิธี MPN แบบ 5-5-5 ตาม ISO 22117: 2019 ค่าความแปรปรวนของห้องปฏิบัติการต้องอยู่ในช่วง  $\pm 2.68\sigma$  และ  $\pm 4\sigma$  เมื่อ  $\sigma$  คือ standard deviation;

ค่า  $\sigma$  ของ  $\log_{10}$  MPN 5-5-5 ประมาณ 0.24 ดังนั้น  $\pm 2.68\sigma$  คือ  $\pm 0.64 \log_{10}$  และ  $\pm 4\sigma$  คือ  $\pm 0.96 \log_{10}$   
การตัดสินใจ

$x_i \leq x^* \pm 0.64 \log_{10}$  คือ satisfactory  
 $x^* \pm 0.64 \log_{10} < x_i < x^* \pm 0.96 \log_{10}$  คือ questionable  
 $x_i \geq x^* \pm 0.96 \log_{10}$  คือ unsatisfactory

เมื่อ  $x^*$  คือ robust mean ที่คำนวณมาจาก Algorithm A  
 $x_i$  คือ ข้อมูลผลวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการสมาชิก ( $\log_{10}$ )

สมาชิกที่รายงานผลเป็นค่า “น้อยกว่า” หรือ “มากกว่า” จะไม่สามารถแปลงเป็นหน่วย  $\log_{10}$  ได้ และจะไม่ได้รับการประเมินผล หรือประเมินผลเป็นที่น่าพอใจ (satisfactory) หรือไม่น่าพอใจ (unsatisfactory) ซึ่งขึ้นกับผลการทดสอบแต่ละรอบการทดสอบ

สมาชิกที่รายงานผลโดยมีหน่วยไม่ตรงกับรายการทดสอบแต่ละรอบ เช่น รายงานจากหน่วย cfu ต่อกรัม เป็น MPN ต่อกรัม อาจไม่ได้รับการประเมินผล ซึ่งจะพิจารณาตามความเหมาะสมและหลักวิชาการ

## 12. รายงานการทดสอบความชำนาญ (PT report)

ห้องปฏิบัติการสมาชิกจะได้รับรหัสของห้องปฏิบัติการทางไปรษณีย์ด่วนพิเศษ ส่วนรายงานการทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ฉบับสมบูรณ์จัดส่งในรูปแบบ PDF file ทาง E-mail ในส่วนของรายงานจะแสดงเฉพาะรหัสของห้องปฏิบัติการ และค่าที่สมาชิกรายงานกับค่า assigned value โดยแสดงผลในรูปแบบตารางและกราฟตามความเหมาะสม

13. การรักษาความลับและจริยธรรมของสมาชิก (Confidentiality and ethical considerations)

13.1 ค่า assigned value จะไม่ถูกเปิดเผยแก่สมาชิก จนกว่าการประเมินผลจะแล้วเสร็จ นอกจากนี้สมาชิกแต่ละแห่งจะได้รับรหัสห้องปฏิบัติการเฉพาะ โดยการรายงานผลการทดสอบความชำนาญจะไม่มีการระบุรหัสห้องปฏิบัติการพร้อมกับชื่อห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นการรักษาความลับของสมาชิก หากมีความจำเป็นในการนำผลหรือผลสรุปไปเผยแพร่ต่อสาธารณชน ผู้ดำเนินแผนฯจะไม่ระบุชื่อห้องปฏิบัติการใดๆในการเผยแพร่ใดๆ

13.2 ในส่วนของห้องปฏิบัติการสมาชิกควรมีความรับผิดชอบในการรายงานผลด้วยความซื่อสัตย์ โดยไม่ควรเปิดเผยผลการวิเคราะห์ของตนเองหรือสอบถามคำตอบกับสมาชิกอื่น ทั้งนี้เพื่อให้สมาชิกสามารถใช้ประโยชน์จากการเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญฯ ได้ตรงตามวัตถุประสงค์และเกิดประโยชน์สูงสุด

14. การติดต่อสื่อสารกับสมาชิก (Communication with participants)

ผู้ประสานแผนทดสอบความชำนาญ ยินดีที่จะได้รับการติดต่อจากห้องปฏิบัติการสมาชิกในกรณีที่มีปัญหาข้อสงสัยเกี่ยวกับการทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์ สามารถติดต่อได้ที่

นางปิยมาศ แจ่มศรี (Scheme coordinator)

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ถนนติวานนท์ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000

โทรศัพท์ 0 2951 0000 ต่อ 99567 และ 08 9456 6321

e-mail: piyamas.j@dmsc.mail.go.th หรือ bqsf\_pt@dmsc.mail.go.th