

สรุปรายงานการประชุมติดตามผลการดำเนินงานตามคำรับรองการปฏิบัติราชการ
กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๗
ประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖

วันที่ ๕ มกราคม ๒๕๖๖ เวลา ๐๙.๓๐ – ๑๔.๓๐ น.
ณ ห้องประชุมผู้อำนวยการ ชั้น ๑ อาคารศูนย์ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย

รายชื่อผู้เข้าร่วมประชุม

๑. ดร.ทพญ.ยุพิน ไฉ่แปง	ผู้อำนวยการกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย
๒. นางวันนี มากันต์	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
๓. นางสาววาสนา คงสุข	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
๔. นางสาวพชรกร แก้วสำราญ	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
๕. นางสาวชिरา ซอโหม	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
๖. นางสาวจิรพรรณ โรมา	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
๗. นายพิสิฐ วีระพันธ์	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
๘. นางสาวหทัยรัตน์ เจียมทรัพย์	นักวิเคราะห์นโยบายและแผน

เริ่มประชุมเวลา ๙.๓๐ น.

วาระที่ ๑ ประธานแจ้งเพื่อทราบ

- ไม่มี

วาระที่ ๒ : รับรองรายงานการประชุม

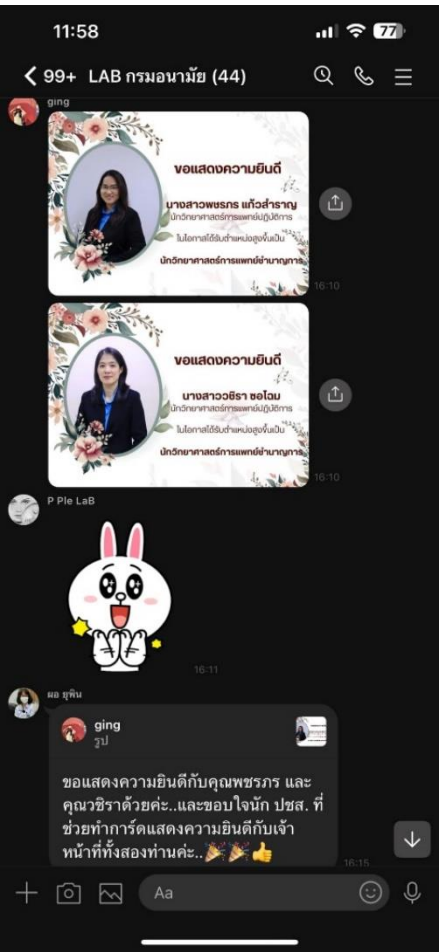
มติที่ประชุม รับรองรายงานการประชุมประชุมติดตามผลการดำเนินงานตามคำรับรองการปฏิบัติราชการ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๗ ประจำเดือนพฤศจิกายน ๒๕๖๖

วาระที่ ๓ : การรายงานผลการดำเนินงานตัวชี้วัดตามคำรับรองการปฏิบัติราชการ ประจำเดือนพฤศจิกายน ๒๕๖๖

ตัวชี้วัดที่ ๒.๑	ระดับความสำเร็จของการดำเนินงานคุณธรรมและความโปร่งใส (Integrity and Transparency Assessment : ITA)
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานอำนวยการ

► ผลการดำเนินงานประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖

ผลการดำเนินงาน	หลักฐาน
๑. กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัยจัดกิจกรรมประกาศเจตนารมณ์ต่อต้านทุจริตกรมอนามัย / นโยบาย No gift Policy และประกาศเจตนารมณ์ป้องกันและแก้ไขปัญหาการล่องละเมิดทางเพศในที่ทำงานฯ ในวันที่ ๒๖ ธันวาคม ๒๕๖๖ ณ ห้องประชุม นฤมล ตปนียะกุล ชั้น ๒ อาคารศูนย์ห้องปฏิบัติการฯ	https://phld.anamai.moph.go.th/th/news-anamai/๒๑๕๘๒๖  พิธีประกาศเจตนารมณ์ “ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ใสสะอาด องค์กรคุณภาพ คู่คุณธรรม ” PHLD Together Against Corruption วันที่ ๒๖ ธันวาคม ๒๕๖๖ ณ ห้องประชุม นฤมล ตปนียะกุล ชั้น ๒ อาคารศูนย์ห้องปฏิบัติการ กรมอนามัย  กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ประกาศเจตนารมณ์ต่อต้านการทุจริต คอรัปชั่น ประกาศเจตนารมณ์นโยบายไม่รับของขวัญ และขอทำบัญชีเงินจากการปฏิบัติหน้าที่ (No Gift Policy) และประกาศเจตนารมณ์การป้องกันและแก้ไขปัญหาการล่วงละเมิดทางเพศในที่ทำงาน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๗ ณ วันที่ ๒๖ ธันวาคม พ.ศ.๒๕๖๖  
๒. รายงานผลการดำเนินงานชมรมจริยธรรม กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ประจำเดือน ธันวาคม ๒๕๖๖	กิจกรรมที่ ๑ กิจกรรมแสดงความยินดีกับผู้ที่ได้รับตำแหน่งสูงขึ้นจาก นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ ไปเป็นนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ (๔ ธันวาคม ๒๕๖๖)

ผลการดำเนินงาน	หลักฐาน
	 

ผลการดำเนินงาน

หลักฐาน

กิจกรรมที่ ๒ กิจกรรมแสดงความยินดีกับผู้ที่ได้รับรางวัลผู้เสียสละเพื่อสังคมไทย ประจำปี ๒๕๖๖ (๑๕ ธันวาคม ๒๕๖๖)



ผลการดำเนินงาน	หลักฐาน
	กิจกรรมที่ ๓ ร่วมพิธีประกาศเจตนารมณ์ กรมอนามัย ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๗ (เข้าร่วม) (๑๒ ธันวาคม ๒๕๖๖) ๑.ต่อต้านทุจริตกรมอนามัย “DOH Together Against Corruption” ๒. นโยบายไม่รับของขวัญและของกำนัลทุกชนิดจากการปฏิบัติหน้าที่ (No Gift Policy) ๓. การป้องกันและแก้ไขปัญหากล่องละเมิดหรือคุกคามทางเพศในที่ทำงาน   กิจกรรมที่ ๔ วันศุกร์สวมใส่ผ้าไทยสืบสานประเพณี (๑, ๘, ๑๕, ๒๒ ธันวาคม ๒๕๖๖)  กิจกรรมที่ ๕ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย จัดกิจกรรมทำบุญ เนื่องในวันขึ้นปีใหม่ประจำปีพุทธศักราช ๒๕๖๗ ร่วมทำบุญตักบาตรข้าวสารอาหารแห้ง พระสงฆ์ ๙ รูปเนื่องในวันขึ้นปีใหม่ประจำปีพุทธศักราช ๒๕๖๗ ในวันที่ ๒๗ ธันวาคม ๒๕๖๖  กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ได้จัดกิจกรรมทำบุญตักบาตรปีใหม่ ๒๕๖๗ เพื่อเป็นสิริมงคลต้อนรับปีใหม่ ให้เป็นปีมงคลตลอดปี โดยร่วมทำบุญตักบาตรพระสงฆ์ จำนวน ๙ รูป ในวันที่ ๒๗ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๖๖

ผลการดำเนินงาน	หลักฐาน
	<u>กิจกรรมที่ ๖</u> กิจกรรมใส่บาตร สวดมนต์ไหว้ นั่งสมาธิ สัปดาห์สุดท้ายของเดือนประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖ ณ ห้องประชุมณฤมล ตบนิยกุล ในวันที่ ๒๗ ธันวาคม ๒๕๖๖  <u>กิจกรรมที่ ๗</u> กิจกรรมสวดมนต์ เจริญสมาธิ และสันทนาการรทรวงสาธารณสุข ประจำปี พ.ศ. ๒๕๖๖ ในวันที่ ๒๘ ธันวาคม ๒๕๖๖ ณ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข  

มติดีที่ประชุม : รับทราบ

ตัวชี้วัดที่ ๒.๒	ระดับความสำเร็จของการจัดการความรู้ (Knowledge Management : KM) และการขับเคลื่อนการเป็นองค์กรแห่งการเรียนรู้ (Learning Organization : LO)
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานจุลชีววิทยา

รายงานผลการดำเนินงานประจำปีเดือนธันวาคม ๒๕๖๗

ผลการดำเนินงานตามแผนปฏิบัติการการจัดการความรู้ (Knowledge Management : KM) และการขับเคลื่อนการเป็นองค์กรแห่งการเรียนรู้ (Learning Organization : LO) ดังนี้

การจัดการความรู้ (Knowledge Management : KM)

๑. การร่วมกิจกรรม KM ของบุคลากรภายในหน่วยงาน : ร่วมส่ง one page การจัดการความรู้รายบุคคลที่เกี่ยวข้องกับภารกิจของหน่วยงาน ทุกวันที่ ๑๕ ของเดือน

เดือนธันวาคม ๒๕๖๖ มีผู้เข้าร่วมส่งผลงาน จำนวน ๒๕ ผลงาน

โดยผลงานที่จะได้คัดเลือกเพื่อเผยแพร่ กำลังอยู่ในขั้นตอนการพิจารณาของคณะกรรมการ กพว.

๒. การสัมมนาวิชาการ (Journal Club) : กำหนดดำเนินการเป็นสัปดาห์ที่ ๓ ของทุกเดือน

โดยครั้งที่ ๑ จัดเมื่อวันที่ ๒๖ ธันวาคม ๒๕๖๖ จำนวน ๒ เรื่อง

เรื่องที่ ๑ Dip test : A litmus test for E. coli detection in water.

ผู้นำเสนอ คือ นางสาวณฐมน ไทยสุริยะ นางสาววิศยา วันแฉะ

และนางสาวมาทวิ อาจหาญ

เรื่องที่ ๒ Extraction and characterization of pectin form passion fruit peels.

ผู้นำเสนอ คือ นางสาวผาติมา ใบนาค

๓. กิจกรรม Like Talk Award ประจำปี ๒๕๖๗

คณะกรรมการบริหารฯ และ คณะกรรมการ กพว. ทำการคัดเลือกตัวแทนผู้นำเสนอ Like Talk Award

ประจำปี ๒๕๖๗ จำนวน ๒ ท่าน คือ

๑) นางสาวอาทิตย์ยา ฐานธรรม

๒) นางสาวณฐมน ไทยสุริยะ

โดยมีกรอบแนวคิดในการนำเสนอเกี่ยวกับ “น้ำที่ใสอาจจะไม่ใช่ น้ำสะอาดเสมอไป และทำไมถึงต้องมีการตรวจคุณภาพน้ำ”

๔. โครงการอบรมเรื่อง การพัฒนาความสามารถและพฤติกรรมบริการที่เป็นเลิศ (Excellence Service Behavior - ESB) วันที่ ๑๘ ธันวาคม ๒๕๖๖ ณ โรงแรมแกรนด์ ริชมอนด์ จังหวัดนนทบุรี

สรุปสาระสำคัญของกิจกรรม

กิจกรรมที่ ๑ การวิเคราะห์ปัญหา/อุปสรรคที่กำลังเผชิญในการทำงาน

ผู้เข้าร่วมการประชุมเลือกการรื้อภาพที่ตรงหรือใกล้เคียงกับสภาพปัญหาและอุปสรรคในการทำงานที่กำลังเผชิญอยู่ในปัจจุบัน เพื่อสะท้อนปัญหาของแต่ละบุคคลออกมา

กิจกรรมที่ ๒

๑. กัดทิศทางความคิดของคนทำงานส่วนใหญ่ ที่ทำให้ไม่สามารถพัฒนาไปสู่กรอบความคิดแบบก้าวหน้าได้

๒. วิธีพาตัวเองออกจากกีดทิศทางความคิด สามารถฝึกฝนได้เพื่อปรับกรอบความคิด ดังนี้

๓. วิธีพัฒนาตนเองให้มี Growth Mindset

๔. ปรับมุมมองปลดล๊อคศักยภาพให้ตัวเอง

ภาพ
การ

กิจกรรมที่ ๓ วิธีการสื่อสารและรับมือกับคนแต่ละประเภท
การฝึกปรับใช้ Growth Mindset กับการรับมือสถานการณ์ต่างๆ



กิจกรรมที่ ๔ การสร้างทัศนคติเชิงบวกและหัวใจบริการ งานบริการงานที่มากด้วยคุณค่า

๑. การบริการ
๒. ลักษณะของการบริการที่ดี
๓. การบริการที่ดีเป็นที่ยอมรับ
๔. คุณสมบัติพื้นฐานของผู้ให้บริการที่ดี
๕. บุคลิกภาพ
๖. การวางตัวในฐานะตัวแทนของหน่วยงาน
๗. การเสริมสร้างบุคลิกภาพให้เป็นที่น่าเชื่อถือ
๘. มาตรฐานการบริการ
๙. การพัฒนาบุคลิกภาพและพฤติกรรมการให้บริการสู่ความเป็นเลิศ
๑๐. เทคนิคในการสื่อสารกับผู้รับบริการ

กิจกรรมที่ ๕ สิ่งที่ยากปรับปรุง ด้านการบริการของกองห้องปฏิบัติการฯ

สรุปข้อคิดเห็นจากบุคลากรผู้เข้าร่วมกิจกรรมกลุ่มทั้ง ๕ กลุ่ม

๑. พฤติกรรมการรับโทรศัพท์และการพูดคุยทางโทรศัพท์ เนื่องจากบุคลากรมีจำนวนจำกัด ทำให้การรับสายโทรศัพท์ลูกค้า ทำได้ล่าช้า และบางครั้งระบบโทรศัพท์ล่ม ทำให้ใช้ไม่ได้ จึงอยากให้มีการปรับปรุงระบบโทรศัพท์ให้ดีขึ้น
๒. รูปแบบการรับสายโทรศัพท์อยากให้เป็นในรูปแบบเดียวกัน
๓. การใช้คำพูด น้ำเสียง และการแสดงออกที่เหมาะสม กระตือรือร้น เต็มใจให้บริการ

การขับเคลื่อนการเป็นองค์กรแห่งการเรียนรู้ (Learning Organization : LO)

กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ขับเคลื่อนองค์กรแห่งการเรียนรู้ (Learning Organization : LO) โดยผลักดันให้เกิดงานวิจัยในปีงบประมาณ ๒๕๖๗ จำนวน ๒ เรื่อง คือ

๑. การพัฒนาชุดทดสอบความเค็มในอาหาร

ผลการดำเนินงานตามแผนปฏิบัติการพัฒนาชุดทดสอบความเค็มในอาหาร ผลการดำเนินงานร้อยละ ๒๐ (กิจกรรมที่ ๑ – ๒) ดังรายละเอียด

สถานการณ์การบริโภคเกลือและโซเดียมในประเทศไทย

การศึกษาวิจัยหรือสำรวจปริมาณโซเดียมในระดับประชากรของประเทศไทยนั้น ไม่ได้มีการวางแผนหรือดำเนินการในเรื่องนี้อย่างจริงจังเหมือนในต่างประเทศ แต่เนื่องจากแนวโน้มของโรคเรื้อรังที่มีความรุนแรง โดยเฉพาะโรคความดันโลหิตสูงที่เป็นปัจจัยเสี่ยงหลักสำคัญของโรคหัวใจและหลอดเลือดการประเมินการได้รับเกลือนั้นได้มีการดำเนินการและข้อมูลอยู่บ้างโดยกรมอนามัย ซึ่งเป็นหน่วยงานหลักของกระทรวงสาธารณสุข ที่มีหน้าที่ในการดำเนินงานสำรวจภาวะโภชนาการของประเทศโดยการสำรวจภาวะอาหารและโภชนาการของประเทศไทยโดยกรมอนามัยนั้นพบว่าคนไทยส่วนมากร้อยละ ๙๘ บริโภคเครื่องปรุงรสทุกวันโดยเครื่องปรุงรสที่นิยมมากที่สุดคือ น้ำปลา รองลงมาคือ กะปิและเกลือตามลำดับ ทั้งนี้การบริโภคเครื่องปรุงรสได้เพิ่มขึ้นจากวันละ ๗.๐ กรัมต่อคนต่อวัน ในปีพ.ศ. ๒๕๐๓ เป็น ๒๐.๕ กรัมต่อคนต่อวัน ในปีพ.ศ. ๒๕๓๘ สำหรับในปีพ.ศ. ๒๕๔๖ ครั้งที่ ๕ นั้น ปริมาณการใช้เครื่องปรุงรสที่สำรวจนั้น พบว่ามีการบริโภคเพียง ๔.๑ กรัมต่อคนต่อวัน

ซึ่งข้อมูลรายงานที่มีปริมาณการใช้เครื่องปรุงรสที่ต่ำลงนี้น่าจะเป็นผลมาจากวิธีการสำรวจอาหารที่เปลี่ยนไป อย่างไรก็ตามปริมาณการใช้เครื่องปรุงรสที่มีรายงานดังกล่าวนี้ไม่สามารถคำนวณหาปริมาณโซเดียมที่มีการบริโภค ได้เนื่องจากไม่มีรายละเอียดมากพอของเครื่องปรุงรสที่กล่าวถึง โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำปลาและเกลือซึ่งเป็นแหล่งของ โซเดียมหลักในอาหารที่คนไทยนิยมบริโภค ไม่ได้มีการคำนวณเป็นปริมาณโซเดียมแต่อย่างใด

ในปีพ.ศ. ๒๕๕๐ ได้มีการริเริ่มในการสำรวจการบริโภคโซเดียมคลอไรด์ของประชากรไทยดำเนินการโดยกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ร่วมมือกับคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าปริมาณการบริโภคโซเดียมคลอไรด์ของประชากรไทยที่สำรวจในปีพ.ศ. ๒๕๕๐ ประชากรไทยได้รับโซเดียมคลอไรด์โดยเฉลี่ย 10.9 ± 2.6 กรัม โดยมาจากเครื่องปรุงรสต่างๆ 8.0 ± 2.6 กรัม คิดเป็นร้อยละ ๘๐.๓ ของโซเดียมคลอไรด์ทั้งหมดที่ได้รับ และเมื่อคำนวณเทียบกลับเป็นปริมาณของโซเดียม (ร้อยละ ๔๐ ของปริมาณโซเดียมคลอไรด์) พบว่า ประชากรไทยได้รับโซเดียมจากอาหารที่บริโภคสูงถึง ๔,๓๕๑.๗ มิลลิกรัมต่อคนต่อวัน

นอกจากการสำรวจของกรมอนามัยแล้ว ยังมีการศึกษาวิจัยเชิงปริมาณ เรื่อง สถานการณ์การบริโภค เกลือโซเดียมในประชากรไทย ของสำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค ในปี พ.ศ. ๒๕๕๐ เพื่อศึกษาสถานการณ์ การบริโภคและแบบแผนความเชื่อเกี่ยวกับการบริโภคโซเดียม และความเชื่อที่เกี่ยวกับความสัมพันธ์ของการบริโภคโซเดียมกับภาวะสุขภาพและการเกิดโรคความดันโลหิตสูงในประชากรไทย อายุระหว่าง ๑๕ - ๕๙ ปีจากพื้นที่ในการ ศึกษาทั้งสิ้น ๔ จังหวัด คือ เชียงใหม่ นครราชสีมา นครปฐม และสุราษฎร์ธานีจำนวน ๒,๒๒๗ ตัวอย่าง ด้วยเครื่องมือ และวิธีการต่างๆ ๒ ชนิดในการเก็บข้อมูล คือ

- การสำรวจพฤติกรรมการบริโภคโซเดียม
- การเก็บปัสสาวะ ๒๔ ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณโซเดียมที่ได้จากการขับทิ้งทางปัสสาวะ

และเป็นการศึกษาวิจัยเดียวที่มีการเก็บข้อมูลจากปัสสาวะร่วมด้วย พบว่า

- ๑) กลุ่มตัวอย่างมีความถี่ของการบริโภคอาหารที่มีปริมาณโซเดียมสูงมากกว่า ๓ ครั้งต่อสัปดาห์
- ๒) ในเรื่องความรู้ความเข้าใจนั้น พบว่า กลุ่มตัวอย่างร้อยละ ๒๕ ระบุว่ารู้จัก “โซเดียม” และ

สามารถ ระบุประเภทอาหารที่พบโซเดียมได้คือ อาหารและเครื่องปรุงรสที่มีรสเค็ม ผงปรุงรสและอาหาร

สำเร็จรูป แต่มีส่วน น้อยเท่านั้นที่ระบุได้ว่า มีตามธรรมชาติของอาหารด้วย ๑๔ ยุทธศาสตร์ลดการบริโภคเกลือ และโซเดียมในประเทศไทย พ.ศ. ๒๕๕๙-๒๕๖๘

๓) ค่ามัธยฐานของปริมาณโซเดียมในปัสสาวะ ๒๔ ชั่วโมงเท่ากับ ๒,๙๕๕.๕ มิลลิกรัมต่อวัน โดยพบว่าร้อยละ ๘๗.๕ ของกลุ่มตัวอย่างมีค่าสูงกว่า ๒๓๐๐ มิลลิกรัมต่อวัน

๔) กลุ่มตัวอย่างอายุ ๓๖-๔๕ ปีมีปริมาณการขับออกของโซเดียมคือ ๑๔๙.๐ มิลลิโมลต่อวันสูงกว่ากลุ่ม ตัวอย่างวัยอื่นๆ สะท้อนให้เห็นว่าเป็นกลุ่มอายุที่มีการบริโภคโซเดียมสูงกว่าช่วงอายุอื่น

๕) เพศชายมีปริมาณการขับออกของโซเดียม คือ ๑๓๑.๐ สูงกว่าเพศหญิง คือ ๑๒๘.๕ มิลลิโมลต่อวัน กลุ่มพ่อบ้านแม่บ้านมีปริมาณโซเดียมขับออกในปัสสาวะมากกว่ากลุ่มอื่น (๑๕๕ มิลลิโมลต่อวัน)

๖) กลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในเขตเทศบาลมีการขับโซเดียม ๑๒๘.๐ มิลลิโมลต่อวัน สูงกว่าผู้ที่อยู่นอกเขต เทศบาลที่มีการขับโซเดียม ๑๓๐.๐ มิลลิโมลต่อวัน

การสำรวจสุขภาพประชาชนไทยโดยการตรวจร่างกายครั้งที่ ๔ พ.ศ. ๒๕๕๑-๒๕๕๒ ที่ดำเนินการโดย สำนักงานสำรวจสุขภาพประชากรไทยสถาบันวิจัยระบบสาธารณสุขได้รายงานผนวก “การสำรวจการบริโภคอาหารของประชาชนไทย” ออกมาเป็นครั้งแรกในปีพ.ศ.๒๕๕๔ โดยได้สัมภาษณ์เกี่ยวกับความถี่ในการบริโภคอาหาร (frequency of food consumption) ในกลุ่มตัวอย่างอายุ ๒-๑๔ ปี จำนวน ๘,๔๖๒ คน และ ๑๕ ปีขึ้นไป จำนวน ๒๐,๔๗๐ คน สัมภาษณ์ เกี่ยวกับอาหารบริโภคพบทวนความจำย้อนหลัง ๒๔ ชั่วโมงจากกลุ่มตัวอย่างจำนวน ๒,๙๖๙ คน มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบ แบบแผนการบริโภคอาหารประเภทต่างๆและประเมินปริมาณของการได้รับพลังงานและสารอาหารของกลุ่มตัวอย่าง ประชากรไทยในการสำรวจครั้งนี้ได้มีการประเมินปริมาณการบริโภคโซเดียมด้วยโดยใช้วิธีการชั่งประวัติการบริโภค อาหารย้อนหลัง ๒๔ ชั่วโมง พบว่ามีการบริโภคโซเดียมสูงกว่าปริมาณที่แนะนำกล่าวคือได้รับมากกว่า ๒,๔๐๐ มิลลิกรัม ต่อวัน โดยค่ามัธยฐานของการบริโภคโซเดียมอยู่ที่ ๓,๒๖๔ มิลลิกรัมต่อวันโดยที่ผู้ใหญ่มียุทธศาสตร์การบริโภค อยู่ระหว่าง ๒,๙๖๑.๙ -๓,๖๓๓.๘ มิลลิกรัมต่อวัน รายละเอียดปริมาณการบริโภคแยกตามอายุและเพศแสดงในตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ แสดงผลการบริโภคโซเดียม (มิลลิกรัมต่อคนต่อวัน) จำแนกตามกลุ่มตัวอย่าง

อายุ (ปี)	เพศชาย				เพศหญิง			
	จำนวน (n)	มัธยฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	จำนวน (n)	มัธยฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
๑-๓	๖๙	๑,๘๐๔.๖	๒,๑๕๔.๔	๑,๖๐๔.๑	๕๕	๑,๔๖๘.๙	๒,๐๖๕.๑	๑,๓๔๐.๒
๔-๕	๖๙	๒,๒๖๒.๖	๒,๕๖๙.๘	๑,๖๔๓.๐	๖๓	๑,๘๑๙.๕	๒,๑๓๑.๑	๑,๔๐๑.๒
๖-๘	๑๐๑	๒,๖๘๒.๕	๓,๐๑๗.๗	๑,๘๗๓.๗	๙๑	๒,๕๒๓.๕	๒,๙๐๔.๕	๒,๐๘๗.๘
๙-๑๒	๑๕๙	๒,๖๕๑.๑	๓,๑๔๔.๓	๒,๘๖๖.๓	๑๙๖	๒,๗๒๐.๐	๓,๒๔๒.๕	๒,๒๕๒.๑
๑๓-๑๕	๘๖	๒,๗๗๖.๕	๓,๑๔๗.๗	๒,๐๗๐.๔	๘๔	๒,๗๔๖.๓	๒,๘๒๔.๕	๑,๗๐๑.๘
๑๖-๑๘	๔๓	๓,๓๘๖.๙	๔,๖๐๒.๗	๓,๕๘๑.๒	๓๔	๒,๘๙๐.๖	๓,๕๓๖.๙	๒,๐๙๘.๒
๑๙-๓๐	๗๒	๓,๖๓๓.๘	๓,๙๒๖.๐	๒,๑๒๗.๗	๕๕	๓,๓๓๗.๖	๔,๒๔๙.๒	๓,๒๙๙.๙
๓๑-๕๐	๒๔๘	๓,๔๗๐.๑	๔,๒๕๙.๖	๒,๙๓๗.๔	๓๑๓	๓,๔๗๑.๒	๔,๑๑๙.๗	๔,๕๕๖.๓
๕๑-๕๙	๑๓๒	๒,๙๖๑.๙	๓,๙๔๗.๐	๓,๑๒๑.๗	๑๑๕	๓,๒๕๑.๙	๓,๖๘๒.๕	๒,๗๔๐.๒
๖๐-๖๙	๒๘๗	๓,๓๖๖.๙	๔,๐๐๑.๕	๒,๗๔๑.๙	๒๗๔	๓,๒๓๗.๙	๓,๘๑๔.๕	๒,๖๘๗.๐
๗๐-๗๙	๑๖๐	๒,๘๓๑.๘	๓,๖๐๖.๑	๒,๔๘๓.๑	๑๗๐	๒,๙๖๓.๐	๓,๓๓๕.๑	๒,๗๖๘.๗
>๘๐	๔๑	๓,๒๔๙.๑	๔,๐๕๙.๘	๓,๖๑๗.๕	๔๓	๒,๘๕๑.๖	๓,๖๒๕.๕	๒,๘๒๘.๕

แหล่งข้อมูล: การสำรวจสุขภาพประชาชนไทยโดยการตรวจร่างกายครั้งที่ ๔ พ.ศ. ๒๕๕๑ - ๒๕๕๒

รายงานวิจัยการสำรวจสถานการณ์การแสดงข้อมูลโภชนาการและปริมาณโซเดียมบนฉลากอาหาร ในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปที่พร้อมบริโภคทันที ปี ๒๕๕๕-๒๕๕๘ โดยการสำรวจปริมาณโซเดียมที่แสดงบนฉลากโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิท ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา พบว่าแหล่งของเกลือและโซเดียมที่ประชาชนไทยได้รับจากผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปที่พร้อมบริโภคทันทีมากที่สุด คือ บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป โดยอยู่ในช่วง ๑,๐๐๐ - ๑,๒๐๐ มิลลิกรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภค และน้อยที่สุด คือ ซีอิกโกแลต โดยอยู่ในช่วง ๐ - ๓๐๐ มิลลิกรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภค รายละเอียดแสดงในตารางที่ ๒

ตารางที่ ๒ แสดงปริมาณโซเดียมที่แสดงบนฉลากโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิท (มิลลิกรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภค) จำแนกตามกลุ่มผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	ปริมาณโซเดียม
บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป	๑,๐๐๐ - ๒,๐๐๐
อาหารแช่เย็นแช่แข็ง	๔๐๐ - ๑,๕๐๐
โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป	๔๐๐ - ๑,๒๐๐
ผลิตภัณฑ์กลุ่มปลาเส้น	๓๐๐ - ๕๐๐
เครื่องปรุงรส เช่น ซอส ซีอิ๊ว น้ำปลา ผลปรุงรส	๒๐๑ - ๓๐๐
ขนมอบ เช่น ขนมปังกรอบ เวเฟอร์ คูกี้ เค้ก	๒๐ - ๓๐๐
สาหร่าย	๓๐ - ๕๐๐
ขนมขบเคี้ยว เช่น มันฝรั่งกรอบ ข้าวโพดคั่วทอด ข้าวเกรียบ	๑๐๐ - ๖๐๐
เครื่องดื่ม เช่น น้ำผัก น้ำผลไม้ ชา กาแฟ	๐ - ๓๐๐
นมและผลิตภัณฑ์นม	๐ - ๒๐๐
ซีอิกโกแลต	๐ - ๑๐๐

แหล่งข้อมูล : รายงานวิจัยการสำรวจสถานการณ์การแสดงข้อมูลโภชนาการและปริมาณโซเดียมบนฉลากอาหาร ในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปที่พร้อมบริโภคทันทีปี ๒๕๕๕ - ๒๕๕๘

ความสำคัญของเกลือและโซเดียมต่อร่างกาย

เกลือแกง (salt) หรือสารประกอบทางเคมีที่เรียกว่า “โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)” ประกอบด้วย โซเดียมไอออน (Na^+) ร้อยละ ๔๐ และคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ร้อยละ ๖๐ โดยน้ำหนัก ดังนั้นเกลือ ๑ กรัม จะประกอบด้วย โซเดียม ๐.๔ กรัม ซึ่งแร่ธาตุทั้ง ๒ ชนิดมีความสำคัญต่อร่างกาย โดยเฉพาะโซเดียมนั้นเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญในการรักษาระดับสมดุลของระบบของเหลวในร่างกาย

โดยปกติร่างกายได้รับโซเดียมผ่านทางกรับบริโภคเป็นหลักโดยเฉพาะเกลือแกงหรือโซเดียมคลอไรด์(NaCl) ซึ่งปกติใช้ในการปรุงอาหารให้มีรสชาติเค็มและเป็นส่วนประกอบหลักของเครื่องปรุงที่ให้รสเค็มเช่น น้ำปลา ซีอิ๊ว นอกจากนี้ยังพบ โซเดียม (Na^+) ที่อยู่ในรูปสารประกอบอื่นๆที่อาจไม่มีรสชาติเค็มได้อีกด้วยได้แก่ โซเดียมตามธรรมชาติของอาหาร โซเดียมจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมอาหารและโซเดียมที่อยู่ในรูปแบบอื่นๆ เช่น ผงชูรส (โมโน โซเดียมกลูตาเมต) หรือผงฟู(โซเดียมไบคาร์บอเนต) เป็นต้น

ปริมาณโซเดียมที่บริโภคเพียงพอต่อวัน องค์การอนามัยโลกกำหนดไว้ไม่เกิน ๒,๐๐๐ มิลลิกรัมต่อวัน การได้รับมากหรือน้อยเกินไปส่งผลเสียต่อร่างกายทั้งสิ้น แต่ปัญหาส่วนใหญ่เกิดจากที่ได้รับในปริมาณที่สูงกว่าความ ต้องการต่อวันแม้โซเดียมจะเป็นแร่ธาตุจำเป็นที่ร่างกายไม่สามารถสร้างได้แต่ร่างกายก็ไม่สามารถเก็บสะสมโซเดียม ไว้ได้ต้องขับส่วนที่เกินจากความต้องการทิ้งทั้งหมด ส่งผลให้ไตต้องทำงานหนัก และในขณะที่มีระดับโซเดียมจำ นวน มากอยู่ภายในร่างกาย ก็จะทำให้ระดับความดันโลหิตสูงขึ้น ส่งผลกระทบเป็นลูกโซ่ต่ออวัยวะอื่นๆ ตามมา ด้วยเหตุนี้ การประชุม Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (CCNFSDU) ครั้งที่ ๓๑ ณ สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนีเมื่อเดือนพฤศจิกายน ๒๕๕๒ ที่ประชุมเห็นชอบให้โซเดียมเป็นสารอาหาร ที่มีความสำคัญ ลำดับแรกๆที่ควรมีการกำหนดค่า Nutrient Reference

Values on Non-communicable diseases หรือ NRVs-NCD ของโซเดียมที่ ๒,๐๐๐ มิลลิกรัม ซึ่งเป็นไปตามข้อแนะนำขององค์การอนามัยโลก นอกจากนี้ยังมีข้อมูลจาก Institute of Medicine ของประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดค่าความต้องการโซเดียมที่เพียงพอต่อการทำงานของหัวใจไว้เพียง ๑,๕๐๐ มิลลิกรัมต่อวัน^(๑)

ผลกระทบต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อต่างๆ จากการได้รับโซเดียมในปริมาณที่สูงเกินความต้องการ

โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension: HT)

การศึกษาเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างการบริโภคเกลือโซเดียมกับการเกิดโรคความดันโลหิตสูงเริ่มต้นโดย Louis Dahl และคณะ ในปีพ.ศ. ๒๕๐๓ พบว่าการได้รับเกลือโซเดียมมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างปริมาณเกลือที่ได้รับและความชุกของโรคความดันโลหิตสูงซึ่งจะนำไปสู่โรคอื่นๆ ที่เป็นภาวะแทรกซ้อนศูนย์ควบคุมโรคของสหรัฐอเมริกาแนะนำ ปริมาณเกลือโซเดียมที่บริโภคได้โดยไม่เกิดอันตราย คือโซเดียม ๒ กรัมต่อวันหรือเท่ากับเกลือ ๕ กรัมต่อวันในทางปฏิบัติปริมาณข้างต้น จะเทียบเท่าเกลือแกง ๑ ช้อนชา หรือเทียบเท่าน้ำปลา ๓-๔ ช้อนชาต่อวันนอกจากนี้ผลการสำรวจที่เกี่ยวกับปริมาณการได้รับเกลือโซเดียมแสดงให้เห็นว่า ประชากรทั่วโลกได้รับปริมาณเกลือโซเดียมสูงกว่าแนะนำ มากกว่า ๒ เท่า

โรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular diseases: CVD)

การได้รับโซเดียมในปริมาณที่สูงเกินความต้องการเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease) โรคอัมพฤกษ์อัมพาต (strokes) ถึงร้อยละ ๔๙ และร้อยละ ๖๒ ของการเกิดโรคทั้งหมด จากการศึกษาของ Mozaffarian และคณะ พบว่าการเสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดหัวใจ จำนวน ๑,๖๕๐,๐๐๐ ราย ที่เกิดขึ้นในปีค.ศ. ๒๐๑๐ มีสาเหตุมาจากการบริโภคโซเดียมเหนือระดับอ้างอิง คือ ๒ กรัมต่อวัน หรือเกลือ ๕ กรัมต่อวันการลดปริมาณโซเดียมในผู้ใหญ่ให้ได้รับโซเดียมน้อยกว่า ๒ กรัมต่อวันมีผลต่อการลดระดับความดันโลหิตและโอกาสต่อการเกิดโรค CVD

โรคไตวายเรื้อรัง (Chronic kidney disease: CKD)

การที่ร่างกายได้รับโซเดียมในปริมาณที่สูงทำให้มีผลกระทบโดยตรงต่อไตซึ่งไตเป็นอวัยวะหลักที่ทำหน้าที่กำจัดโซเดียม โดยทำให้ไตเสื่อมเร็วขึ้นจากการทำงานหนักและโปรตีนรั่วในปัสสาวะและความเสื่อมนั้นจะคงอยู่ตลอดไปแม้จะมีการลดปริมาณโซเดียมลงในภายหลัง นอกจากนี้ภาวะความดันโลหิตสูงก็เป็นอีกปัจจัยสำคัญที่ทำให้ไตเสื่อม ด้วยซึ่งล้วนแต่มีสาเหตุจากการได้รับเกลือและโซเดียมปริมาณสูงดังนั้น การลดความดันโลหิตและโปรตีนในปัสสาวะ จะป้องกันการสูญเสียการทำงานของไต และภาวะแทรกซ้อน เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด

การวิเคราะห์และทดสอบความเค็มหรือเกลือโซเดียมคลอไรด์

การหักเหของแสง

วิธีนี้กำหนดปริมาณเกลือของสารตามดัชนีการหักเหของแสง ดัชนีการหักเหของแสงถูกกำหนดโดยการส่งผ่านแสงผ่านปริซึมไปยังตัวอย่างและวัดว่าแสงโค้งงออย่างไร เครื่องวัดการหักเหของแสงจะกำหนดมุมวิกฤตของตัวอย่าง มุมวิกฤตคือมุมที่ไม่มีแสงหักเหและแสงทั้งหมดจะสะท้อนกลับภายใน การวัดการหักเหของแสงสามารถใช้เพื่อกำหนดพารามิเตอร์ที่หลากหลาย รวมทั้งน้ำตาล โปรตีนไกลคอล เจลาติน และเกลือ

เครื่องวัดการหักเหของแสงแต่ละเครื่องจะขึ้นอยู่กับผลกระทบของความหนาแน่นและอุณหภูมิต่อดัชนีการหักเหของแสงสำหรับพารามิเตอร์ที่วัดได้เฉพาะ ดัชนีการหักเหของแสงจะถูกแปลงเป็นหน่วยการวัด เช่น % Brix (ของแข็งที่ละลายน้ำได้เช่น ซูโครส) หรือ % เกลือ

ค่าการนำไฟฟ้า (EC)

เกลือแกงจะแยกตัวออกเป็นสองไอออนในสารละลาย: โซเดียมและคลอไรด์ เนื่องจากไอออนเป็นอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้า กระแสไฟฟ้าจึงดำเนินการได้ง่ายขึ้น เป็นผลให้สามารถใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC)

เพื่อประมาณปริมาณเกลือที่ละลายในสารละลาย เมื่อได้การวัดค่า EC แล้ว ต้องใช้ปัจจัยการแปลงที่จำเพาะกับเกลือเพื่อให้ได้ปริมาณเกลือในสารละลาย

อิเล็กโทรดคัดเลือกไอออน (ISE)

การทดสอบปริมาณเกลือในอาหารคือการใช้ Ion selective electrodes ซึ่งมักเรียกกันว่า ISE เป็นเซ็นเซอร์เคมีที่ใช้ในการกำหนดความเข้มข้นของไอออนจำเพาะในสารละลาย ใน ISE ของโซเดียม หัววัดจะเป็นหลอดแก้วที่ไวต่อโซเดียมเช่นเดียวกับอิเล็กโทรด pH หัววัด ISE ปฏิบัติตามกาตอบสนองของสมการ Nernstian ซึ่งช่วยให้เราสามารถเทียบเคียงการอ่านมิลลิโวลต์ (mV) กับค่าความเข้มข้นได้

การใช้งาน ISE ต้องการการดูแลเพื่อให้แน่ใจว่าการวัดที่แม่นยำ เหมาะสำหรับห้องทดลองทางวิทยาศาสตร์ ไม่เหมาะสำหรับการใช้งานโดยบุคคลทั่วไปเนื่องจากมีความยุ่งยากในการใช้งานและการบำรุงรักษาเครื่องมือวัด

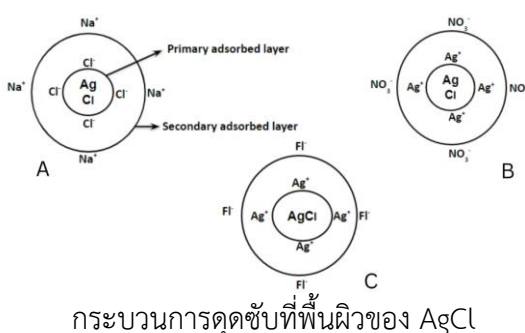
การวิเคราะห์ด้วยการไทเทรต

การวิเคราะห์ความเค็มหรือเกลือโซเดียมคลอไรด์ ส่วนใหญ่นิยมวิธีการไทเทรตแบบอาศัยปฏิกิริยา การเกิดตะกอนหรืออาร์เจนโทเมตริกไทเทรชัน (argentometric titration) ซึ่งเป็นวิธีไทเทรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ ไนเตรท (AgNO_3) เพื่อเกิดการตกตะกอนกับคลอไรด์ไอออน (Cl^-)

การไทเทรตด้วยวิธีของฟาเจนส์ (Fajan's Method)

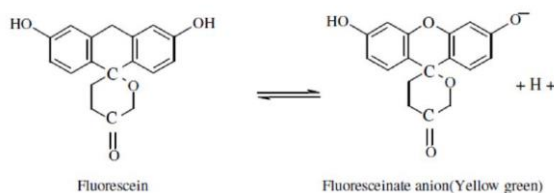
การไทเทรตด้วยวิธีนี้ จะใช้อินดิเคเตอร์สารประกอบอินทรีย์ที่สามารถถูกดูดซับที่ผิวของตะกอน และทำให้เกิดสีขึ้นภายใต้สภาวะที่แน่นอนและคงที่ที่ใกล้เคียงกับจุดสมมูลของการไทเทรต อินดิเคเตอร์ที่ใช้กันมาก ได้แก่ ฟลูออเรสซิน (fluorescein) ซึ่งเป็นกรดอ่อนสารอินทรีย์พวกสีย้อม (weak organic acid dye) ซึ่งใช้ได้กับการไทเทรตหาปริมาณคลอไรด์ อินดิเคเตอร์ฟลูออเรสซินสามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน และไอออนลบที่เรียกว่า ฟลูออเรสซิเนตไอออน ซึ่งมีสีเขียวแกมเหลืองในสารละลาย ฟลูออเรสซิเนตไอออนสามารถรวมตัวกับ Ag^+ ให้เกลือเงินที่ละลายได้น้อย

ดังนั้นการใช้อินดิเคเตอร์ตัวนี้ต้องให้มีปริมาณความเข้มข้นที่พอเหมาะ ถ้าความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้ตกตะกอนเงินฟลูออเรสซิเนตได้ เมื่อเริ่มต้นทำการไทเทรตสารละลายจะมีสีของอินดิเคเตอร์ฟลูออเรสซิเนตเป็นสีเขียวแกมเหลือง



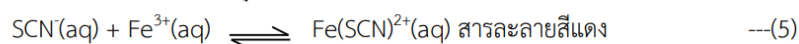
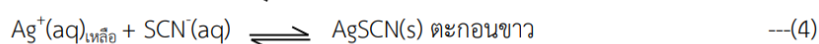
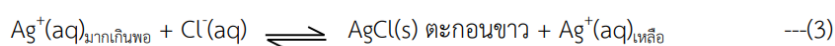
เมื่อเติม Ag^+ ลงไปทำให้เกิด AgCl และในสารละลายยังมี Cl^- มากเกินพอ ถ้าการไทเทรตยังไม่ถึงจุดสมมูล Cl^- จะถูกดูดซับ (adsorb) ที่ผิวของตะกอนทำให้ตะกอนมีประจุเป็นลบ ฟลูออเรสซิเนตไอออนซึ่งมีประจุเป็นลบเช่นกัน จะไม่ถูกดูดซับในขั้นนี้ เมื่อการไทเทรตถึงจุดสมมูลตะกอนจะเริ่มมีประจุเป็นบวก ฟลูออเรสซิเนตจะเริ่มถูกดูดซับด้วยตะกอนที่ชั้นของแคตไอออนให้สีชมพูของเงินฟลูออเรสซิเนตเกิดขึ้น การดูดซับอินดิเคเตอร์นี้สามารถทำให้คลายการดูดซับได้โดยทำการไทเทรตย้อนกลับคือ เติมคลอไรด์ไอออนลงไป ก็จะทำให้ Cl^- เข้าไปที่ผิวของตะกอนแทนที่ฟลูออเรสซิเนตไอออน สีชมพูของซิลเวอร์ฟลูออเรสซิเนตก็จะหายไป





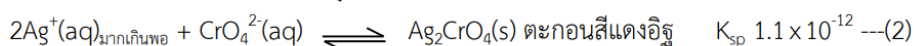
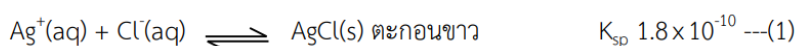
การไทเทรตด้วยวิธีของโวลฮาร์ด (Volhard's method)

จะใช้สารละลายมาตรฐาน AgNO_3 ที่มาก เกินพอเพื่อให้ Cl^- ในตัวอย่างตกตะกอนเป็นตะกอน AgCl จนหมด จากนั้นไทเทรตสารละลาย AgNO_3 ที่ เหลืออยู่ด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต (KSCN) โดยใช้เฟอร์ริกอลัม (ferric alum) เป็น อินดิเคเตอร์ ที่จุดยุติจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) กับไทโอไซยาเนตไอออน (SCN^-) เป็น สารละลายสีแดง ดังแสดงในปฏิกิริยาสมการที่ (3) ถึง (5) อย่างไรก็ตาม วิธีโวลฮาร์ดนี้นิยมเติมไนโตรเบนซีน (nitrobenzene) ลงไปก่อนเติมอินดิเคเตอร์ สำหรับ เขย่า ให้ตะกอนถูกจับลงมาอยู่ด้านล่างขวดรูปชมพู่เพื่อ ลดผลรบกวนการมองจุดยุติของสารละลายจากตะกอน ที่เกิดขึ้น



การไทเทรตแบบโมฮร์ (Mohr's method)

จะใช้สารละลายโพแทสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) เป็นอินดิเคเตอร์ภายใต้สภาวะสารละลายที่เป็นกลาง เมื่อ เติมสารละลายซิลเวอร์ ไนเตรท (AgNO_3) ลงไปในสารละลายตัวอย่างที่มี Cl^- จะเกิดเป็นตะกอนสีขาวออกมาก่อน [สมการที่ (1)] เนื่องจากในการเกิดตะกอนซิลเวอร์ โครเมต (Ag_2CrO_4) นั้น อัตราส่วนของ $\text{Ag}^+ : \text{CrO}_4^{2-}$ จะเป็น 2:1 ในขณะที่การเกิดตะกอนซิลเวอร์ คลอไรด์ (AgCl) ใช้อัตราส่วน $\text{Ag}^+ : \text{Cl}^-$ เพียง 1:1 รวมถึงค่าคงที่สมดุลการละลาย (K_{sp}) ของ Ag_2CrO_4 มีค่าต่ำกว่า K_{sp} ของ AgCl ไม่มากนัก ทำให้ Ag^+ ทำปฏิกิริยากับ Cl^- ในตัวอย่างหมดก่อน แล้วจึงมาทำปฏิกิริยากับอินดิเคเตอร์เกิดเป็นตะกอนสีแดงอิฐขึ้น [สมการที่ (2)] ทำให้สามารถทราบจุดยุติ



การประเมินความใช้ได้ของชุดทดสอบ

- ความจำเพาะของชุดทดสอบ (Specificity) หมายถึง ความสามารถของชุดทดสอบที่สามารถตรวจพบสารเป้าหมายได้อย่างถูกต้องโดยปราศจากการรบกวนจากสารอื่นในตัวอย่างทดสอบ
- ความแม่นยำของชุดทดสอบ (Precision) หมายถึง ความสามารถของชุดทดสอบที่ให้ผลการตรวจซ้ำที่ระดับความเข้มข้นที่สนใจไม่แตกต่างกัน
- ความไวของชุดทดสอบ (Sensitivity) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของสารเป้าหมายที่ให้ผลบวกกับชุดทดสอบ
- ความถูกต้องของชุดทดสอบ (Accuracy) หมายถึง การเปรียบเทียบผลการทดสอบสารเป้าหมายที่ได้จากชุดทดสอบกับวิธีตรวจวิเคราะห์มาตรฐาน

- ความคงสภาพของชุดทดสอบ (Stability) หมายถึง ความสามารถของชุดทดสอบในการดำรงไว้ซึ่งประสิทธิภาพของชุดทดสอบ ณ สภาวะการณ์เก็บรักษาตามที่กำหนด

๒. การพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำ

ผลการดำเนินงานตามแผนปฏิบัติการการพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำ ผลการดำเนินงาน ร้อยละ ๒๐ (กิจกรรมที่ ๑ – ๒) ดังรายละเอียด

กิจกรรมที่ ๓ : ออกแบบขั้นตอนการทดสอบและหาสภาวะที่เหมาะสม

๑. รูปแบบการศึกษา

รูปแบบการศึกษาเป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental Research) เพื่อพัฒนาศักยภาพการทดสอบทางห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขรณนมาชัย ในการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. โดยห้องปฏิบัติการได้พัฒนาวิธีสำหรับตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธี Real time - polymerase chain reaction (Real-time PCR) ขึ้น และดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีเพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างวิธีมาตรฐาน (วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ) และวิธีที่พัฒนาขึ้น (วิธี Real - time PCR) ซึ่งต้องให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างกัน โดยขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบปฏิบัติตามมาตรฐาน ISO ๑๖๑๔๐-๒ : ๒๐๑๖ “Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method

๒. เครื่องมือ/วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์, สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ และเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง

๒.๑ เครื่องมือวิทยาศาสตร์

- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Real-time PCR) ยี่ห้อ Analytik Jena รุ่น qTOWER^{nm}
- เครื่องชั่ง ๒ ตำแหน่ง (Balance) รุ่น ME-T๓๐๐๒T ยี่ห้อ Mettler Toledo
- เครื่องวัดความเป็นกรด – เบส (pH meter) รุ่น S๒๐ ยี่ห้อ Mettler Toledo
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น SX-๗๐๐ ยี่ห้อ Tomy อุณหภูมิ ๑๒๑ ± ๓ องศาเซลเซียส
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) รุ่น NU-๕๕๓ ยี่ห้อ NuAire
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) รุ่น KB๗๒๐ ยี่ห้อ Binder อุณหภูมิ ๓๖ ± ๒ องศาเซลเซียส
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่อุณหภูมิ ๔ องศาเซลเซียส (Eppendorf, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น BAD-๑๒ ยี่ห้อ RAYPA อุณหภูมิ ๕๐ ± ๑ องศาเซลเซียส
- ชุดกรองตัวอย่างน้ำ (Membrane filtration equipment)
- เครื่องเขย่าสารละลาย (Vortex shaker) ยี่ห้อ Heidolph
- เครื่องเขย่าผสมสารละลาย (Vortex mixer) รุ่น Vortex-Genie๒ ยี่ห้อ Genie
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๑-๑๐ มิลลิลิตร ยี่ห้อ Eppendorf
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๑๐๐-๑,๐๐๐ ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๑๐-๑๐๐ ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๐.๕-๑๐ ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf

๒.๒ วัสดุ อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

- แผ่นกรอง (Membrane filter) ชนิด polycarbonate ขนาดรูพรุน ๐.๒ ไมโครเมตร (PALL, USA)
- ปิเปตทิป (pipette tip) ขนาด ๑ และ ๑๐ มิลลิลิตร

- ปิเปตทิปแบบมีแผ่นกรอง (pipette filter tip) ขนาด ๑๐, ๑๐๐ และ ๑,๐๐๐ ไมโครลิตร
- หลอดทดลอง (test tube) ขนาด ๑๕ และ ๕๐ มิลลิลิตร
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (test tube rack)
- จานเพาะเชื้อ (petri dish)
- ขวดแก้วขนาดบรรจุ ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- หลอด PCR ขนาด ๑.๕ มิลลิลิตร
- หลอด PCR ขนาด ๐.๒ มิลลิลิตร

๒.๓ เชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง

- *Legionella pneumophila* (DMST ๑๒๘๐๐)
- *Escherichia coli* (DMST ๔๒๑๒)
- *Klebsiella pneumoniae* (DMST ๓๕๙๒)
- *Klebsiella aerogenes* (DMST ๘๘๔๑)
- *Staphylococcus aureus* (DMST ๘๐๑๓)
- *Staphylococcus epidermidis* (DMST ๕๘๖๘)
- *Pseudomonas aeruginosa* (DMST ๔๗๓๙)
- *Salmonella Typhimurium* (DMST ๕๖๒)

๒.๔ สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ

สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ (Culture)

- Glycine vancomycin polymyxin B cycloheximide agar (GVPC)
- Buffered charcoal yeast extract agar with L-cysteine (BCYE)
- Buffered charcoal yeast extract agar without L-cysteine (BCYE-cys)
- Tryptic Soy Agar (TSA)
- Tryptic Soy Broth (TSB)
- Plate Count Agar (PCA)
- สารละลายบัฟเฟอร์ (buffered water)

สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรม ด้วยวิธี Real time PCR

- ชุดน้ำยาสกัดสารพันธุกรรมสำหรับแบคทีเรีย (GenUPTM Bacteria gDNA Kit, Berlin, Germany)
- ชุดน้ำยา PCR สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรมของ *Legionella* spp. (PCR maxTM)

๒.๕ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายบัฟเฟอร์

๒.๕.๑ Glycine vancomycin polymyxin B cycloheximide agar (GVPC)

ส่วนประกอบ

BCYE agar base

- | | |
|----------------------|---------------|
| - Activated Charcoal | ๒ กรัม |
| - Yeast Extract | ๑๐ กรัม |
| - Agar | ๑๕ กรัม |
| - น้ำกลั่น | ๕๐๐ มิลลิลิตร |

GVPC Supplement

- | | |
|--------------|------------------|
| - Glycine | ๑.๕ กรัม |
| - Vancomycin | ๐.๐๐๐๕ มิลลิลิตร |

- Polymyxin B Sulphate ๔๐๐๐๐ IU
- Cycloheximide ๐.๐๔ กรัม
- น้ำกลั่น sterile ๑๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE agar base ๑๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที
- ละลาย GVPC Supplement ด้วยน้ำกลั่น sterile ปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในขวด BCYE agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- เขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อและ GVPC Supplement ให้เข้ากัน จากนั้นเทแบ่งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับใช้งาน

๒.๕.๒ Buffered charcoal yeast extract agar with L-cysteine (BCYE)

ส่วนประกอบ

BCYE agar base

- Activated Charcoal ๒ กรัม
- Yeast Extract ๑๐ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๕๐๐ มิลลิลิตร

BCYE Growth Supplement

- ACES Buffer (N-๒-Acetamido-๒-Aminoethanesulfonic acid) ๕ กรัม
- Potassium Hydroxide ๑.๔ กรัม
- Ferric Pyrophosphate ๐.๑๒๕ กรัม
- Potassium Alfa-Ketoglutarate ๐.๕ กรัม
- L-Cysteine HCl ๐.๒ กรัม
- Sterile solvent ๑๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE agar base ๑๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที
- ละลาย BCYE Growth Supplement ด้วย Sterile solvent ปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในขวด BCYE agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- เขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อและ BCYE Growth Supplement ให้เข้ากัน จากนั้นเทแบ่งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับใช้งาน

๒.๕.๓ Buffered charcoal yeast extract agar without L-cysteine (BCYE-cys)

ส่วนประกอบ

BCYE agar base

- Activated Charcoal ๒ กรัม
- Yeast Extract ๑๐ กรัม

- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๕๐๐ มิลลิลิตร

BCYE without Cysteine Supplement

- ACES Buffer (N-๒-Acetamido-๒-Aminoethanesulfonic acid) ๕ กรัม
- Potassium Hydroxide ๑.๔ กรัม
- Ferric Pyrophosphate ๐.๑๒๕ กรัม
- Potassium Alfa-Ketoglutarate ๐.๕ กรัม
- Sterile solvent ๑๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE agar base ๑๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที
- ละลาย BCYE without Cysteine Supplement ด้วย Sterile solvent ปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในขวด BCYE agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- เชยอาหารเลี้ยงเชื้อและ BCYE without Cysteine Supplement ให้เข้ากัน จากนั้นเทแบ่งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับใช้งาน

๒.๕.๔ Tryptic Soy Agar (TSA)

ส่วนประกอบ

- Pancreatic Digest of Casein ๑๕ กรัม
- Papaic Digest of Soybean ๕ กรัม
- Sodium Chloride ๕ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ๔๐ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดหรือหลอดตามปริมาตรที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๒.๕.๕ Tryptic Soy Broth (TSB)

ส่วนประกอบ

- Pancreatic Digest of Casein ๑๗ กรัม
- Papaic Digest of Soybean ๓ กรัม
- Dextrose ๒.๕ กรัม
- Sodium Chloride ๕ กรัม
- Dipotassium Phosphate ๒.๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ๓๐ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดหรือหลอดตามปริมาณที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๒.๕.๖ Plate Count Agar (PCA)

ส่วนประกอบ

- Pancreatic Digest of Casein ๕ กรัม
- Yeast Extract ๒.๕ กรัม
- Dextrose ๑ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ๒๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดตามปริมาณที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๒.๕.๗ สารละลายบัฟเฟอร์ (buffered water)

ส่วนประกอบ

๑) phosphate buffer stock solution

- Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) ๓๔ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ชั่ง KH_2PO_4 ๓๔ กรัม ละลายในน้ำกลั่น ๕๐๐ มิลลิลิตร ปรับ pH ๗.๒±๐.๕ โดยใช้ ๑ N NaOH และปรับปริมาตรเป็น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

๒) magnesium chloride stock solution

- magnesium chloride (MgCl_2 หรือ $\text{MgCl}_2 \cdot ๖\text{H}_2\text{O}$) ๓๘ หรือ ๘๑.๑ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ชั่ง magnesium chloride ตามสัดส่วน ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

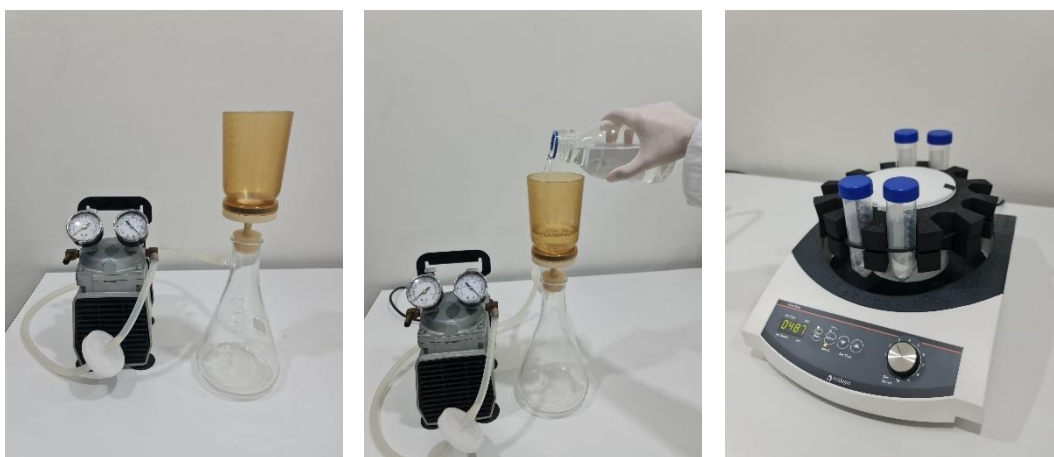
- ปิเปต phosphate buffer stock solution ปริมาตร ๑.๒๕ มิลลิลิตร และ magnesium chloride stock solution ปริมาตร ๐.๕ มิลลิลิตรลงในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง ๗.๒±๐.๑
- แบ่งใส่หลอดหรือขวดตามปริมาณที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๓. ขั้นตอนการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ทางห้องปฏิบัติการ
การทดสอบเพื่อตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำ มีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

๓.๓.๑ การทำให้ตัวอย่างเข้มข้นขึ้น (Sample concentration)

เป็นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างทดสอบ เพื่อให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นมากขึ้น เหมาะสมสำหรับนำไปทดสอบในขั้นตอนการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ และวิธี Real-time PCR ต่อไป โดยในการศึกษาครั้งนี้ทำการ concentrate ตัวอย่างด้วยวิธีการกรองผ่านแผ่นกรอง (Membrane filtration) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

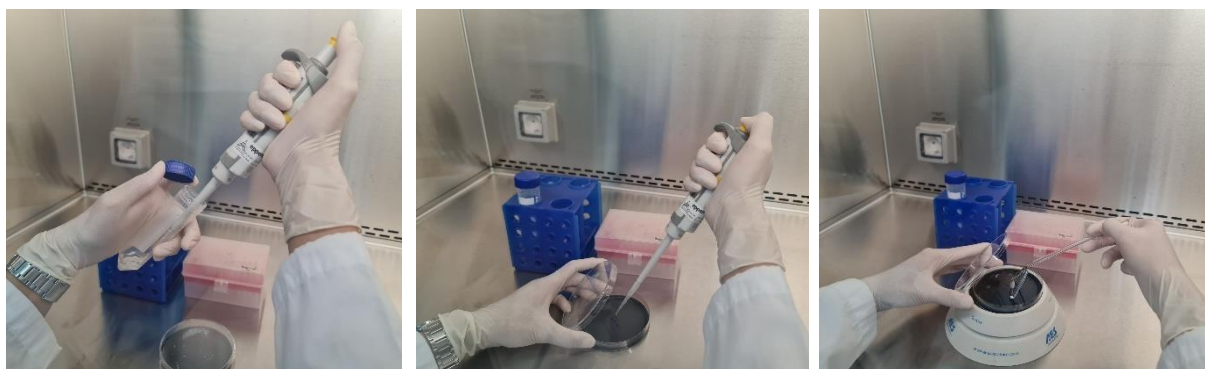
- ๑) นำตัวอย่างปริมาตร ๒๕๐ มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรอง ขนาดรูพรุน ๐.๒ ไมครอนเมตร
- ๒) นำแผ่นกรองที่ผ่านการกรองตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และ resuspend ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร ๕ มิลลิลิตร
- ๓) นำไป Vortex ประมาณ ๑๕ นาที เพื่อช่วยให้เชื้อหลุดออกจากแผ่นกรอง ได้เป็นตัวอย่างที่มีความเข้มข้นเพียงพอสำหรับนำไปทดสอบต่อด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ และวิธี Real-time PCR



ภาพที่ ๑ ขั้นตอนการทำให้ตัวอย่างเข้มข้นขึ้น ด้วยวิธีการกรอง (Membrane filtration)

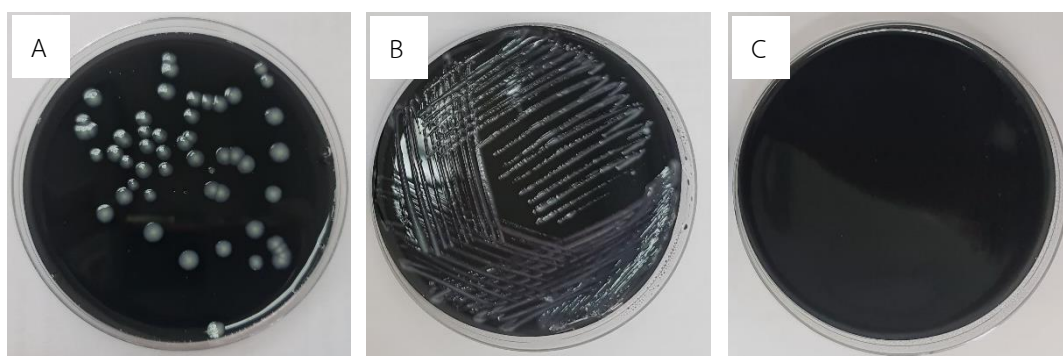
๓.๓.๒ การตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ

- ๑) ทำการ Inoculate ตัวอย่างที่ผ่านการ Concentrate ด้วยวิธี Membrane filtration ปริมาตร ๑๐๐ ไมครอลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GVPC plate
- ๒) spread plate ให้ตัวอย่างเกลี่ยทั่วผิวน้ำอาหาร



ภาพที่ ๒ ขั้นตอนการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยใช้เทคนิค Spread plate

- ๓) นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๕ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๓ - ๑๐ วัน
- ๔) ถ้าพบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม มันวาว สีขาว-เทาเกิดขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ GVPC และเมื่อนำไปย้อมสีแกรมพบลักษณะ gram negative rod ให้นำโคโลนีดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE ที่มีส่วนประกอบของ L-cysteine (BCYE) และ BCYE ที่ไม่มีส่วนประกอบของ L-cysteine (BCYE-cys) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๕ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒-๕ วัน
- ๕) กรณีเชื้อสามารถเจริญได้เฉพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE ที่มีส่วนประกอบของ L-cysteine เท่านั้น ให้บันทึกผลเป็น Detected (พบเชื้อ *Legionella* spp.) แต่หากเชื้อเจริญหรือไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง ๒ ชนิด ให้บันทึกผลเป็น Not Detected (ไม่พบเชื้อ *Legionella* spp.)



ภาพที่ ๓ ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Legionella* spp. ที่ขึ้นบน plate GVPC agar (A) จากนั้นไปเพาะเลี้ยงต่อ (re-streak) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE (B) และ BCYE-cys (C)

๓.๓.๓ การตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธี Real-time PCR

- ๑) นำตัวอย่างที่ผ่านการ Concentrate ด้วยวิธี Membrane filtration ปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตร มาสกัด DNA โดยใช้ชุดน้ำยาสกัดสารพันธุกรรมสำหรับแบคทีเรีย (GenUP™ Bacteria gDNA Kit, Berlin, Germany) ทำตามขั้นตอนต่างๆ ตามที่ระบุในชุดสกัด



ภาพที่ ๔ ขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ชุดน้ำยาสกัดสารพันธุกรรม GenUP™ Bacteria gDNA Kit

- ๑) DNA ที่สกัดได้ นำไปตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *Legionella* ด้วยวิธี Real-time PCR หรือ เก็บที่อุณหภูมิ - ๒๐ องศาเซลเซียสสำหรับรอการทดสอบต่อ
- ๒) เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (master mix) ลงในหลอด PCR ซึ่งปริมาตรที่ใช้ แสดงดังตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ แสดงส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR (Master Mix) สำหรับ ๑ ตัวอย่างทดสอบ (Reaction)

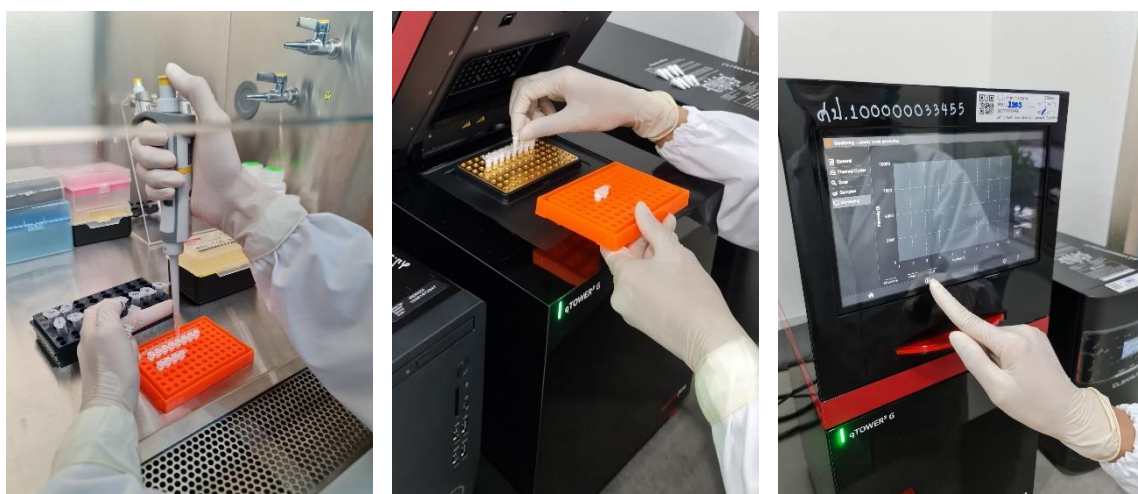
ส่วนผสม/ 1 reaction	
2X qPCR Master Mix	10 ไมโครลิตร
<i>Legionella</i> spp. Primer/probe mix	1 ไมโครลิตร
Internal Extraction Control Primer/probe mix	1 ไมโครลิตร
nuclease-free water	3 ไมโครลิตร
DNA sample (Template)	5 ไมโครลิตร
Final volume	20 ไมโครลิตร

- ๓) นำหลอด PCR ที่บรรจุส่วนผสมหลักของปฏิกิริยา PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Real-time PCR) ยี่ห้อ Analytik Jena รุ่น qTOWER๓ โดยใช้ DNA ของเชื้อ *Legionella pneumophila* เป็นตัวควบคุมผลบวก และ nuclease-free water เป็นตัวควบคุมผลลบ โดยสถานะของปฏิกิริยา PCR ตั้งค่าดังตารางที่ ๒

ตารางที่ ๒ สถานะของปฏิกิริยาสำหรับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Legionella* spp.

ขั้นตอน	อุณหภูมิ	เวลา	จำนวนรอบ
Enzyme activation	95 องศาเซลเซียส	2 นาที	1 รอบ
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	10 วินาที	50 รอบ
Annealing and extension *	60 องศาเซลเซียส	60 วินาที	

* เป็นขั้นตอนที่มีการเก็บข้อมูลการเรืองแสงของสารเรืองแสงเป้าหมาย คือ FAM

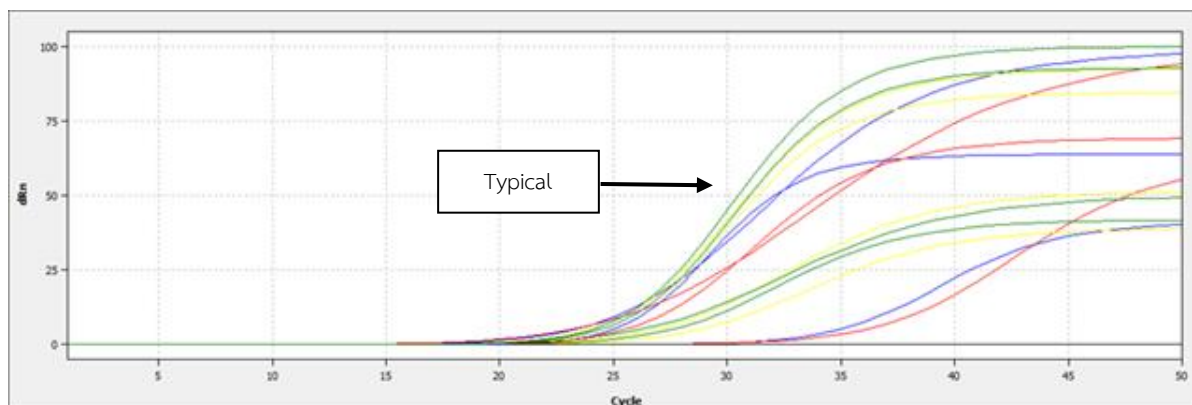


ภาพที่ ๕ ขั้นตอนการเตรียม master mix และการตั้งค่าสถานะของปฏิกิริยาสำหรับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Legionella* spp.

๒) การแปลผลการทดสอบ

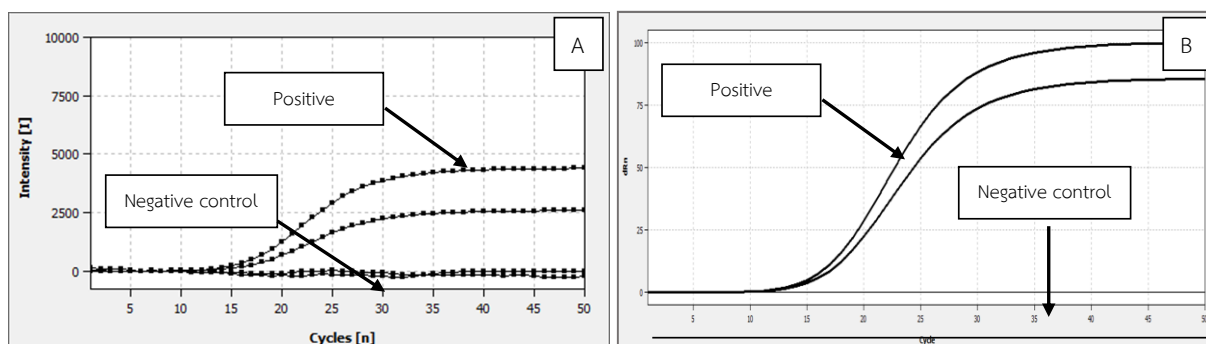
๕.๑) ก่อนการแปลผลการทดสอบตัวอย่างต้องตรวจสอบค่าการควบคุมคุณภาพการทดสอบทุกครั้ง ดังนี้

- ตรวจสอบลักษณะ curve ของ real time plot ว่าเป็น curve ที่มีลักษณะปกติ (S curve: Typical curve)



ภาพที่ ๖ ลักษณะของกราฟที่มีลักษณะปกติ (S curve: Typical curve)

- Positive control ต้องให้ค่า Ct value อยู่ในช่วงที่กำหนด (อยู่ในช่วง 16 ถึง 23)
- Negative control ใช้ Nuclease free water เป็น Negative control ทุกครั้งในการทำปฏิกิริยา PCR ต้องซึ่งต้องไม่มีค่า Ct values



ภาพที่ ๗ ลักษณะของกราฟ Positive control และ Negative control

(A) คือ raw data (B) คือ calculate Ct

- Internal control ใช้สำหรับตรวจสอบคุณภาพของขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่าง และการเกิดปฏิกิริยา amplification ซึ่งในการทดสอบต้องแสดงค่า Ct ของ Internal control เพื่อยืนยันว่าขั้นตอนการสกัดและการเกิดปฏิกิริยา amplification เป็นไปอย่างสมบูรณ์
- Duplication เป็นตัวอย่างที่มาจากการทำซ้ำ โดยทำซ้ำอย่างน้อย ๑๐% ของตัวอย่างแต่ละชุดที่ทดสอบ ซึ่งต้องให้ผลการทดสอบเหมือนกับตัวอย่างเดียวกัน

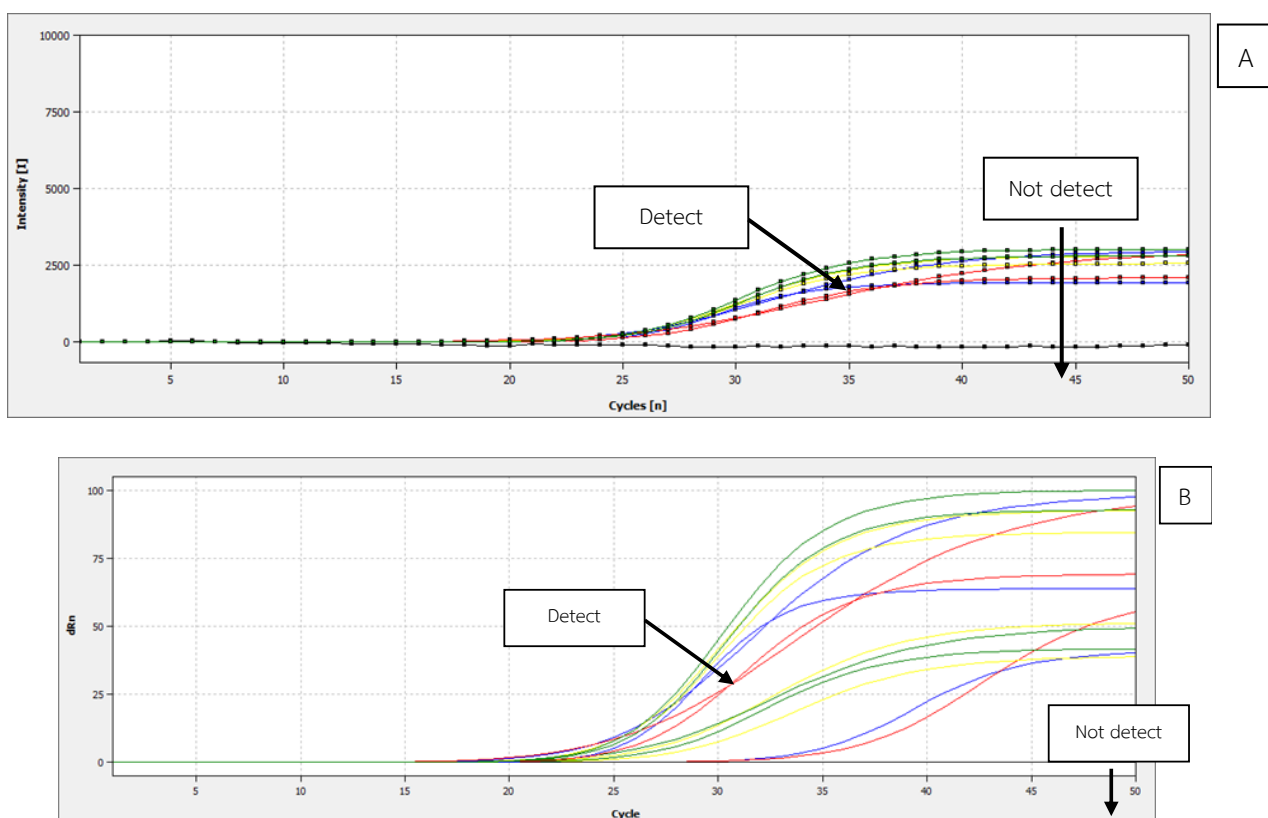
กรณีค่าการควบคุมคุณภาพไม่ผ่านต้องมีการหาสาเหตุและแก้ไขจนค่าการควบคุมคุณภาพผ่านจึงสามารถแปลผลการทดสอบได้

๕.๒) การแปลผลการทดสอบตัวอย่าง

การอ่านผลจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนรอบที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมจนสามารถตรวจวัดได้ (Cycles) และปริมาณแสง Fluorescence ที่ตรวจวัดได้ ถ้าในตัวอย่างมีสารพันธุกรรมของเชื้อ *Legionella* spp. อยู่ จะแสดงลักษณะกราฟเป็น S-curve ถ้าไม่มีจะแสดงลักษณะกราฟเป็นเส้นตรง โดยจากกราฟสามารถรายงานได้เป็นค่า Ct ซึ่งค่า Ct คือ จำนวนรอบที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมาย จนถึงระดับที่เครื่อง PCR สามารถตรวจวัดได้ การรายงานผลทดสอบดำเนินการดังตารางที่ ๓

ตารางที่ ๓ การแปลผลการทดสอบ โดยพิจารณาจากค่า Ct และค่าการควบคุมคุณภาพ

Target	Internal control	Positive control	Negative control	การแปลผล
≤ 30	+ / -	+	-	พบเชื้อ (Detect)
> 30	+	+	-	พบเชื้อ (Detect)
> 30	-	+	-	พบเชื้อ (Detect)
-	+	+	-	ไม่พบเชื้อ (Not detect)



ภาพที่ ๔ ลักษณะกราฟของตัวอย่างที่พบเชื้อ (Detect) และไม่พบเชื้อ (Not detect)

(A) คือ raw data (B) คือ calculate Ct

มติที่ประชุม : มอบผู้รับผิดชอบหลักเร่งรัดการดำเนินงานเพื่อขับเคลื่อนตัวชี้วัดให้ประสบความสำเร็จรวมทั้งดำเนินการรายงานผลในระบบ DOC ภายในวันที่ ๑๐ ของทุกเดือน

ตัวชี้วัดที่ ๒.๓	ร้อยละของการเบิกจ่ายงบประมาณ
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานบริหารยุทธศาสตร์

*** ผลการดำเนินงานประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖ * ร้อยละ ๖๐**

ได้กำหนดมาตรการ / แนวทาง ในการเร่งรัดการเบิกจ่ายงบประมาณ และแต่งตั้งคณะกรรมการเร่งรัดติดตามการใช้เงินงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๗ พร้อมนำขึ้น website ของหน่วยงานเรียบร้อยแล้ว และรายงานผลติดตามเร่งรัดการใช้งบประมาณ (รบก.๑) ณ วันที่ ๑๕ ของทุกเดือน พร้อมนำข้อมูลขึ้น website ของหน่วยงานภายในวันที่ ๒๐ ของทุกเดือน กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขสุขรณามัย ได้รับการจัดสรรงบประมาณปีงบประมาณ ๒๕๖๗ (งบพยางก่อนปี ๒๕๖๖) ดังนี้

กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขสุขรณามัย ได้รับการจัดสรรงบประมาณปีงบประมาณ ๒๕๖๗ (งบพยางปี ๒๕๖๖)ดังนี้

๑. งบดำเนินงาน ๔,๕๖๖,๒๐๐บาท แจ้งโอนจัดสรรครั้งที่ ๑ = ๑,๘๙๖,๒๐๐ บาท

รวมงบได้รับจัดสรรทั้งหมด ๑,๘๙๖,๒๐๐ บาท

๒. แจ้งโอนจัดสรรงบดำเนินงานจากกรมอนามัย ครั้งที่ ๑ = ๑,๘๙๖,๒๐๐ บาท

๓. แจ้งรับโอน ณ วันที่ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๖ = ๒๗๒,๒๐๐ บาท (จาก กอณ., ศอ.๕ และ สอน.)

วันที่รับงบประมาณ	แหล่งที่มา	วัตถุประสงค์	ชื่อรหัสงบประมาณ	งบหน่วยบฯ สุทธิ
				2,168,400.00
12 ต.ค 66	กรมอนามัย	งบดำเนินงาน	แผนบุคลากรภาครัฐ ผ1	69,700.00
			ยุทธศาสตร์จัดการมลพิษและสิ่งแวดล้อม ผ1	1,826,500.00
		รวมงบจัดสรรจากกรม		1,896,200.00
รับโอน				
8 พ.ย 66	ศอ.5 ตรวจ	ตรวจน้ำ	แผนงานสุขภาวะที่ดี ผ2	45,600.00
13 พ.ย 66	สอน	อ11 อ13 สนับสนุน ค.ราชภัฏ	แผนงานสุขภาวะที่ดี ผ3	127,600.00
14 พ.ย 66	กรมอนามัย (กอจ)	อ31 สำหรับสาธารณสุข	แผนงานสุขภาวะที่ดี ผ3	96,000.00
21 ธ.ค 66	ศอ.5 ตรวจ	ตรวจโซ่พยาธิ		3,000.00
		รวมงบรับโอน		272,200.00
			รวมงบประมาณ	2,168,400.00

๔. ผลการเบิกจ่ายงบประมาณ

: งบประมาณรวมทุกหมวด ณ วันที่ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๖ = ๒,๑๖๘,๔๐๐ บาท

: ผลเบิกจ่าย ณ วันที่ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๖ = ๑,๓๘๐,๘๖๕.๖๓ บาท คิดเป็น **๖๓.๖๘๑ %**

(ตามGFMS)

การเบิกจ่ายงบประมาณ ผลการเบิกจ่าย ณ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๖ สูงกว่าเป้าหมายที่กรมอนามัยกำหนด โดยกรมฯกำหนดเป้าหมายการเบิกจ่ายในภาพรวมสะสมเดือน ธันวาคม ๒๕๖๖ = ๓๘ %

๕. ผลการเบิกจ่ายงบประมาณในระบบ GFMS ณ วันที่ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๖

แผนงบประมาณ	งบหน่วยงา สุทธิ	ใบสั่งซื้อ/สัญญา	เบิกจ่าย	งบคงเหลือ
	2,168,400.00	109,815.22	1,380,865.63	677,719.15
แผนบุคลากรภาครัฐ ผ1	69,700.00	0	21,000.00	48,700.00
แผนสุขภาวะที่ดี ผ2	48,600.00	0	0	48,600.00
แผนสุขภาวะที่ดี ผ3	223,600.00	0	94,909.00	128,691.00
ยุทธศาสตร์จัดการมลพิษและสิ่งแวดล้อม ผ1	1,826,500.00	109,815.22	1,264,956.63	451,728.15
รวมงบประมาณ	2,168,400.00	109,815.22	1,380,865.63	677,719.15
ร้อยละเบิกจ่ายจากจัดสรรงวด 1 ณ 31 ธ.ค 66			63.681	

ผลการเบิกจ่ายงบประมาณ ผลการเบิกจ่าย ณ ๓๐ พฤศจิกายน ๒๕๖๖ = **๕๑.๐๓ %** สูงกว่าเป้าหมายที่กรมอนามัยกำหนด โดยกรมอนามัยกำหนดเป้าหมายการเบิกจ่าย (งบพลาถก่อนปี ๒๕๖๖) ในภาพรวมเดือนธันวาคม = ๓๘ %

มติที่ประชุม : มอบผู้รับผิดชอบหลักเร่งรัดการดำเนินงานเพื่อขับเคลื่อนตัวชี้วัดให้ประสบความสำเร็จและปรับแผน-ผลการดำเนินงานในระบบ DOC ทุกวันที่ ๒๘ - ๓๐ ของทุกเดือน รวมทั้งดำเนินการรายงานผลในระบบ DOC ทุกเดือน

ตัวชี้วัดที่ ๒.๔	ระดับความสำเร็จของร้อยละการดำเนินงานตามแผนปฏิบัติการระดับหน่วยงาน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๗
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานบริหารยุทธศาสตร์

* ผลการดำเนินงานประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖ *

ผลการดำเนินงาน ร้อยละ ๖๐ ของแผนปฏิบัติการในรอบ ๓ เดือนแรกดำเนินการได้ตามแผนและบันทึกกิจกรรมการดำเนินงาน ผลการเบิกจ่ายงบประมาณทุกหมวดเงินให้เป็นไปตามเป้าหมายที่กรมกำหนดและเป้าหมายโครงการ ในระบบติดตามผลการดำเนินงานรายงานผล DOC ทุกเดือนและติดตามผลการเบิกจ่ายงบประมาณ (งบพลาถก่อนปี ๒๕๖๖)

กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย มีโครงการที่ได้รับอนุมัติในงบประมาณ ๒๕๖๗ จำนวน ๔ โครงการ ดังนี้

หน่วยงาน	จำนวนโครงการ	จำนวนเงินที่ได้รับ	จำนวนเงินที่จ่ายไป	ร้อยละการใช้จ่ายเงิน				
				ไตรมาสที่ 1	ไตรมาสที่ 2	ไตรมาสที่ 3	ไตรมาสที่ 4	สถานะ
กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย	4	4,905,100.00	1,660,572.21	33.85	-	-	-	

ติดตามแผนปฏิบัติการ (โครงการ) ปีงบประมาณ ๒๕๖๗

ลำดับ	โครงการ	จำนวนกิจกรรม	งบประมาณที่ขอ	เบิกจ่าย	คงเหลือ
1	โครงการสนับสนุนและขับเคลื่อนการดำเนินงานตามนโยบายและโคร...	14	2,303,920.00	666,650.05	1,637,269.95
2	โครงการบริหาร กำกับและติดตามการพัฒนาองค์กร	7	643,480.00	85,611.00	557,869.00
3	โครงการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการ	10	1,888,000.00	880,311.16	1,007,688.84
4	โครงการค่าใช้จ่ายขั้นต่ำตามสิทธิ์	2	69,700.00	28,000.00	41,700.00

มติที่ประชุม : มอบผู้รับผิดชอบหลักเร่งรัดการดำเนินงานเพื่อขับเคลื่อนตัวชี้วัดให้ประสบความสำเร็จ และปรับแผน-ผลการดำเนินงานในระบบ DOC ทุกวันที่ ๒๘ - ๓๐ ของทุกเดือน รวมทั้งดำเนินการรายงานผลในระบบ DOC

ตัวชี้วัดที่ ๒.๕	ระดับความสำเร็จของการพัฒนาระบบบัญชีข้อมูล (Data Catalog) เพื่อนำไปสู่การเปิดเผยข้อมูลภาครัฐ (Open Data)
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานบริหารยุทธศาสตร์

► ผลการดำเนินงานประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖

คณะทำงานพัฒนาระบบบัญชีข้อมูล (Data Catalog) ได้หารือการดำเนินงาน เพื่อบางแผนและดำเนินการ คัดเลือกรายชื่อชุดข้อมูล (Data Set) สำหรับจัดทำเป็นบัญชีข้อมูลของกองห้องฯ ตามเกณฑ์ที่ตัวชี้วัดกำหนด ดังนี้

๑. คัดเลือกรายชื่อชุดข้อมูลที่จะนำมาจัดทำเป็นบัญชีข้อมูลของหน่วยงาน อย่างน้อย ๑ ชุดข้อมูล โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกชุดข้อมูล ดังนี้

- ๑) สอดคล้องกับขอบเขตการให้หน่วยงานอื่นสามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ได้

๑.๑) ชุดข้อมูลผลการดำเนินงานตามตัวชี้วัดของแผนระดับ ๒ (แผนแม่บทภายใต้ยุทธศาสตร์ชาติ แผนการปฏิรูปประเทศ แผนพัฒนา การเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ นโยบายและแผนระดับชาติว่าด้วยความมั่นคงแห่งชาติ) และแผนระดับ ๓ ที่เกี่ยวข้องกับภารกิจของหน่วยงาน

- ๑.๒) ชุดข้อมูลสนับสนุนการให้บริการประชาชน (e-Service)

- ๑.๓) ชุดข้อมูลสนับสนุนภารกิจของหน่วยงาน

- ๒) เป็นข้อมูลปฐมภูมิ (Primary Data) ที่หน่วยงานเป็นผู้ทำการเก็บข้อมูลด้วยตนเองเท่านั้น

- ๓) เป็นข้อมูลเปิด (Open Data) และพร้อมเปิดเผยข้อมูลออกสาธารณะได้

คณะทำงานเสนอ : ให้ใช้ข้อมูลการนำส่งตัวอย่างเพื่อการตรวจวิเคราะห์

๑.๒ จัดทำคำอธิบายข้อมูล ตามแบบฟอร์มที่ ๑ Dataset & Metadata & Resource โดยดำเนินการตามมาตรฐานที่สำนักงานพัฒนารัฐบาลดิจิทัล (สพร.) กำหนด

คณะทำงานเสนอ : อยู่ระหว่างดำเนินการ

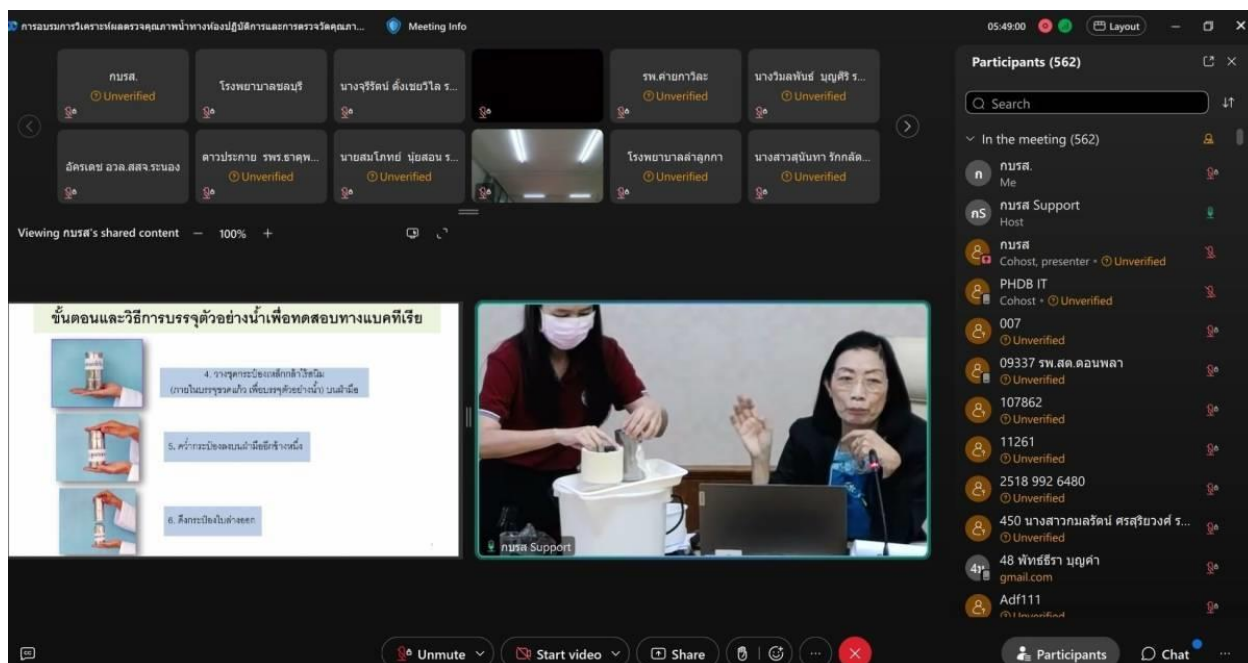
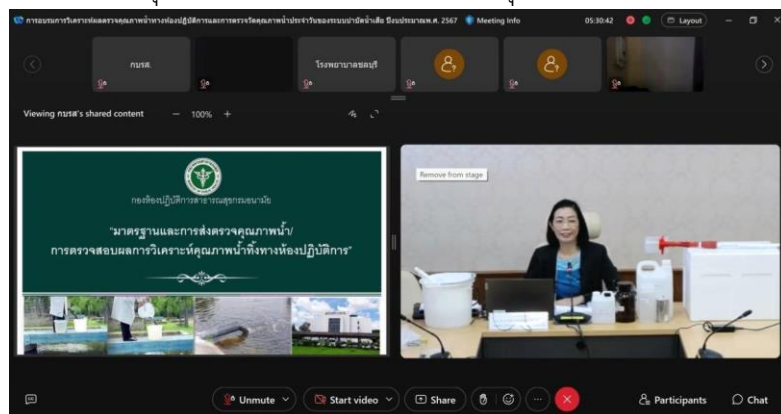
มติที่ประชุม : มอบผู้รับผิดชอบหลักเร่งรัดการดำเนินงานเพื่อขับเคลื่อนตัวชี้วัดให้ประสบความสำเร็จ โดยให้เร่งดำเนินการตาม TP ที่เจ้าภาพกำหนดและกำหนดเป็นแผนการดำเนินงานที่ชัดเจนต่อไป

ตัวชี้วัดที่ ๓.๒๒	ร้อยละของโรงพยาบาลที่พัฒนาอนามัยสิ่งแวดล้อมได้ตามเกณฑ์ GREEN & CLEAN Hospital Challenge (ระดับมาตรฐานขึ้นไป)
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานบริการ

▶ ผลการดำเนินงานตามแผนการดำเนินงาน ประจำปีเดือนธันวาคม ๒๕๖๖

กิจกรรม : เข้าร่วมและสนับสนุนการดำเนินงานกับหน่วยงานเจ้าภาพ

นางวันนี มากันต์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ ได้รับเชิญเป็นวิทยากรการอบรมการวิเคราะห์ผลตรวจคุณภาพน้ำทางห้องปฏิบัติการและการตรวจวัดคุณภาพน้ำประจำวันของระบบบำบัดน้ำเสีย บรรยายในหัวข้อ “มาตรฐานและการส่งตรวจคุณภาพน้ำ/การตรวจสอบผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้งทางห้องปฏิบัติการ” ผ่านระบบประชุมทางไกล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อขับเคลื่อนการพัฒนากระบวนการสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อม และอาชีวอนามัยในหน่วยบริการให้ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด ในวันที่ ๒๒ ธันวาคม ๒๕๖๖ ห้องประชุม ๒ ชั้น ๖ อาคาร ๗ กองบริหารการสาธารณสุข สำนักปลัดกระทรวงสาธารณสุข



ตัวชี้วัดที่ ๓.๒๕	ร้อยละของพื้นที่เขตเมือง (เทศบาลนคร/เทศบาลเมือง/เทศบาลตำบล) และเขตเศรษฐกิจพิเศษขับเคลื่อนเป็นเมืองสุขภาพดี
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานบริการ

► ผลการดำเนินงานตามแผนการดำเนินงาน ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๖

กิจกรรม : เข้าร่วมและสนับสนุนการดำเนินงานกับหน่วยงานเจ้าภาพ

กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัยเข้าร่วมการอบรมการเตรียมความพร้อมและตอบโต้ภาวะฉุกเฉินด้านอนามัยสิ่งแวดล้อมและอาชีวอนามัย โดยมี นางสาวพชรกร แก้วสำราญ นางสาวพัทยา พลวิชัย และนางสาวอาทิตยา ฐานธรรม ร่วมเป็นวิทยากรการบรรยายในหัวข้อ “เทคนิคการใช้ชุดทดสอบทางห้องปฏิบัติการด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม รongรับภาวะฉุกเฉินทางสาธารณสุข” โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนา องค์ความรู้ด้านการเตรียมความพร้อมและตอบโต้ภาวะฉุกเฉินด้านอนามัยสิ่งแวดล้อมและอาชีวอนามัย สำหรับบุคลากรหน่วยบริการสาธารณสุขในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ ในวันที่ ๑๕ ธันวาคม ๒๕๖๖ ณ ห้องประชุม ปากน้ำ อาคาร ๕ ชั้น ๕ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ



มติที่ประชุม : มอบผู้รับผิดชอบหลักเร่งรัดการดำเนินงานเพื่อขับเคลื่อนตัวชี้วัดให้ประสบความสำเร็จ รวมทั้งดำเนินการรายงานผลในระบบ DOC ให้มีความครบถ้วน

การประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์และทดสอบ

ห้องปฏิบัติการต้องมีการควบคุมเครื่องมือ สารเคมี อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็นต่อการปฏิบัติงาน และอาจส่งผลกระทบต่อผลการตรวจวิเคราะห์ โดยห้องปฏิบัติการมีการบันทึกการใช้งานและตรวจสอบความพร้อมของเครื่องมือทุกครั้งที่มีการใช้งาน

กรมการศึกษาระดับกลาง
กรมการศึกษาระดับสูง

บันทึกการใช้งานเครื่องมือวิทยาศาสตร์

ชื่อเครื่องมือ : pH water Lab Code : PH-02

วันที่	เวลา		จำนวนตัวอย่าง	การตรวจสอบเครื่องมือ		ผู้ใช้งาน	หมายเหตุ
	เริ่ม	ถึง		ผ่าน	ไม่ผ่าน		
11/12/66	9:30	16:30	31	หัตถ์	✓		อชย
4/12/66	9:30	16:30	25	หัตถ์	✓		อชย
6/12/66	9:30	16:30	3	หัตถ์	✓		อชย
7/12/66	9:30	16:30	26	หัตถ์	✓		อชย
8/12/66	9:30	16:30	33	หัตถ์	✓		อชย
12/12/66	9:30	17:30	28	หัตถ์	✓		อชย
17/12/66	9:30	17:30	14	หัตถ์	✓		อชย
14/12/66	9:30	17:45	31	หัตถ์	✓		อชย
15/12/66	9:30	16:30	11	หัตถ์	✓		อชย
19/12/66	9:30	16:30	43	หัตถ์	✓		อชย
20/12/66	9:30	18:30	37	หัตถ์	✓		อชย
21/12/66	9:30	16:30	60	หัตถ์	✓		อชย
22/12/66	9:09	18:00	74	หัตถ์	✓		อชย
25/12/66	9:10	16:30	12	หัตถ์	✓		อชย

FM-CH-010

แก้ไขครั้งที่ 01

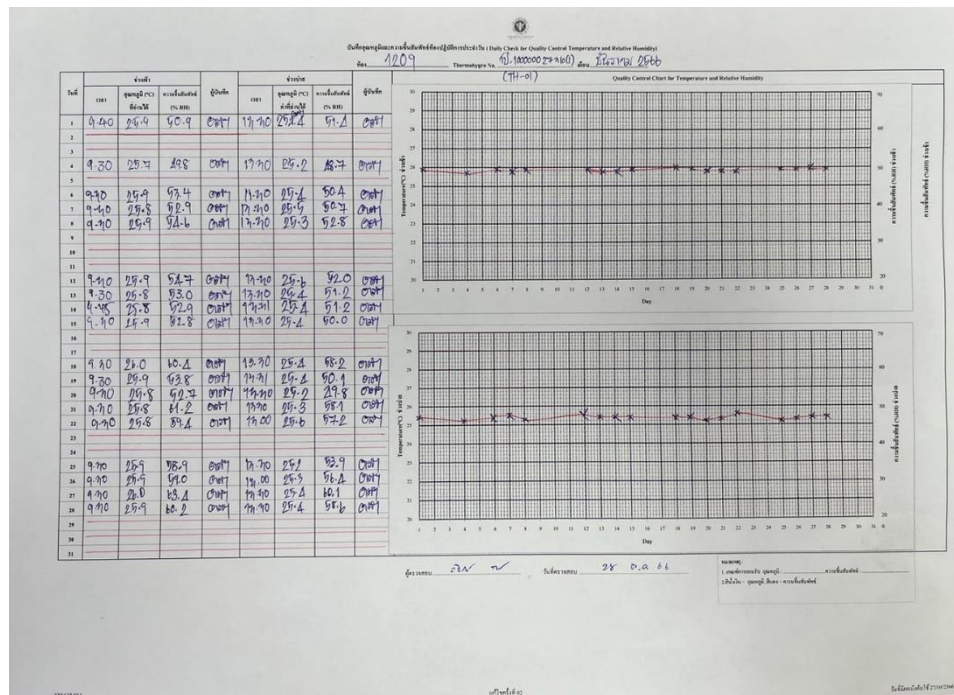
วันที่ผลบังคับใช้ 23/05/2565

[illegible]

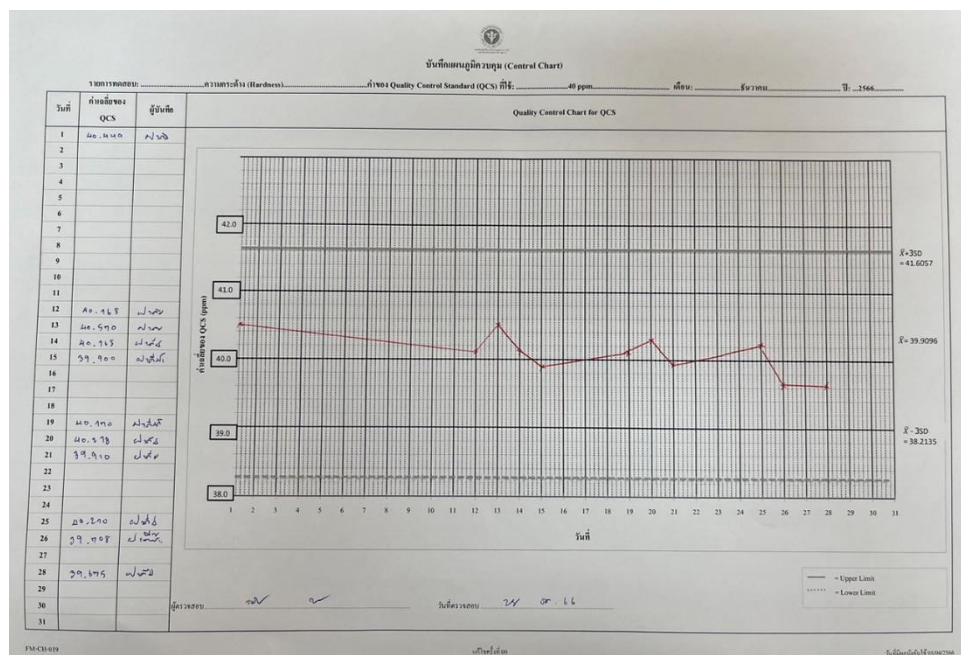
๒. การควบคุมสภาวะแวดล้อม

การควบคุมสภาวะแวดล้อมในห้องปฏิบัติการ เป็นหนึ่งในข้อกำหนดระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025 : 2017 โดยระบุสิ่งที่ปฏิบัติในการควบคุมสภาวะแวดล้อมในระหว่างดำเนินการตรวจวิเคราะห์ อาจเป็นปัจจัยที่จะส่งผลกระทบต่อความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์ เงื่อนไขสภาวะแวดล้อมต้องทำการติดตามและควบคุม เพื่อให้อยู่ในระดับที่กำหนดตลอดเวลาระหว่างตรวจวิเคราะห์ ซึ่งห้องปฏิบัติการมีการควบคุมอุณหภูมิเป็นประจำทุกวัน

๒.๑ บันทึกการควบคุมอุณหภูมิ



๑.๒ บันทึกแผนภูมิควบคุม



การควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

การควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ น้ำกลั่น และน้ำ DI โดยตรวจสอบค่าความนำไฟฟ้าเป็นประจำทุกวัน

๑. บันทึกผลการวัดความนำไฟฟ้า (Conductivity)

บันทึกผลการวัดความนำไฟฟ้า (Conductivity)

ประจำเดือน กันยายน ปีงบประมาณ ๒๕๖๗

รหัสเครื่องวัดความนำไฟฟ้า : 100000030730

วันที่	เวลา	ชนิดตัวอย่าง/วัสดุ (น้ำกลั่น น้ำประปา หรืออื่น ๆ)	ค่าความนำไฟฟ้า (Conductivity) หน่วย $\mu\text{S}/\text{cm}$	ผู้ตรวจวัด	หมายเหตุ
1	๙.๐๐	น้ำกลั่น 100000030730	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
2					
3					
4					
5					
6	๙.๕๐	ห	๒.๙๙	ผศ.ดร.	
7	๙.๐๐	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
8	๙.๑๐	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
9					
10					
11					
12	๙.๐๕	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
13	๙.๕๕	ห	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
14	๙.๐๐	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
15	๙.๑๐	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
16					
17					
18	๙.๐๐	ห	๒.๙๕	ผศ.ดร.	
19	๙.๕๐	ห	๒.๙๘	ผศ.ดร.	
20	๙.๕๕	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
21	๙.๑๐	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
22	๙.๑๕	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
23					
24					
25	๙.๑๕	ห	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
26	๙.๕๐	ห	๒.๙๕	ผศ.ดร.	
27	๙.๐๐	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
28	๙.๕๕	ห	๒.๙๕	ผศ.ดร.	
29					
30					
31					

Ref : Standard Method for examination of water and wastewater AWWA, APHA, 23rd

มาตรฐานค่าความนำไฟฟ้า (Conductivity) : น้ำกลั่น = 0.5-3.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$, น้ำประปาตามกติกาสอน ไม่นเกิน 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$

PM-CH-016 วันที่แก้ไข ๓๐ วันที่มีฉบับแก้ไข 23-05-2565

บันทึกผลการวัดความนำไฟฟ้า (Conductivity)

ประจำเดือน กันยายน ปีงบประมาณ ๒๕๖๗

รหัสเครื่องวัดความนำไฟฟ้า : 100000030730

วันที่	เวลา	ชนิดตัวอย่าง/วัสดุ (น้ำกลั่น น้ำประปา หรืออื่น ๆ)	ค่าความนำไฟฟ้า (Conductivity) หน่วย $\mu\text{S}/\text{cm}$	ผู้ตรวจวัด	หมายเหตุ
1	๙.๐๐	น้ำกลั่น 100000030730	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
2					
3					
4					
5					
6	๙.๕๐	ห	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
7	๙.๐๐	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
8	๙.๑๐	ห	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
9					
10					
11					
12	๙.๐๕	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
13	๙.๕๕	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
14	๙.๐๐	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
15	๙.๑๐	ห	๒.๙๕	ผศ.ดร.	
16					
17					
18	๙.๐๐	ห	๒.๙๕	ผศ.ดร.	
19	๙.๕๐	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
20	๙.๕๕	ห	๒.๙๖	ผศ.ดร.	
21	๙.๑๐	ห	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
22	๙.๑๕	ห	๒.๙๙	ผศ.ดร.	
23					
24					
25	๙.๑๕	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
26	๙.๕๐	ห	๒.๙๗	ผศ.ดร.	
27	๙.๐๐	ห	๒.๙๕	ผศ.ดร.	
28	๙.๕๕	ห	๒.๙๐	ผศ.ดร.	
29					
30					
31					

Ref : Standard Method for examination of water and wastewater AWWA, APHA, 23rd

มาตรฐานค่าความนำไฟฟ้า (Conductivity) : น้ำกลั่น = 0.5-3.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$, น้ำประปาตามกติกาสอน ไม่นเกิน 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$

PM-CH-016 วันที่แก้ไข ๓๐ วันที่มีฉบับแก้ไข 23-05-2565

บันทึกผลการวัดความนำไฟฟ้า (Conductivity)

ประจำเดือน กันยายน ปีงบประมาณ ๒๕๖๗

รหัสเครื่องวัดความนำไฟฟ้า : 100000030730

วันที่	เวลา	ชนิดตัวอย่าง/วัสดุ (น้ำกลั่น น้ำประปา หรืออื่น ๆ)	ค่าความนำไฟฟ้า (Conductivity) หน่วย $\mu\text{S}/\text{cm}$	ผู้ตรวจวัด	หมายเหตุ
1	๙.๐๐	น้ำ DI 100000030730	0.๙๐	ผศ.ดร.	
2					
3					
4					
5					
6	๙.๕๐	ห	0.๕๗	ผศ.ดร.	
7	๙.๐๐	ห	0.๕๗	ผศ.ดร.	
8	๙.๑๐	ห	0.๕๖	ผศ.ดร.	
9					
10					
11					
12	๙.๐๕	ห	0.๕๗	ผศ.ดร.	
13	๙.๕๕	ห	0.๕๘	ผศ.ดร.	
14	๙.๐๐	ห	0.๕๙	ผศ.ดร.	
15	๙.๑๐	ห	0.๕๖	ผศ.ดร.	
16					
17					
18	๙.๐๐	ห	0.๕๙	ผศ.ดร.	
19	๙.๕๐	ห	0.๕๗	ผศ.ดร.	
20	๙.๕๕	ห	0.๕๙	ผศ.ดร.	
21	๙.๑๐	ห	0.๕๘	ผศ.ดร.	
22	๙.๑๕	ห	0.๕๐	ผศ.ดร.	
23					
24					
25	๙.๑๕	ห	0.๕๙	ผศ.ดร.	
26	๙.๕๐	ห	0.๕๗	ผศ.ดร.	
27	๙.๕๕	ห	0.๕๖	ผศ.ดร.	
28	๙.๕๕	ห	0.๕๖	ผศ.ดร.	
29					
30					
31					

Ref : Standard Method for examination of water and wastewater AWWA, APHA, 23rd

มาตรฐานค่าความนำไฟฟ้า (Conductivity) : น้ำกลั่น = 0.5-3.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$, น้ำประปาตามกติกาสอน ไม่นเกิน 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$

PM-CH-016 วันที่แก้ไข ๓๐ วันที่มีฉบับแก้ไข 23-05-2565

กิจกรรม : ประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการโดยเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญรายการทดสอบความกระด้าง (Hardness as CaCO₃) โดยการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (PT) กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย (กลุ่มงานเคมี) ร่วมกับกรมวิทยาศาสตร์บริการ

การเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (PT) เพื่อเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานในด้านการประกันคุณภาพผลการตรวจวิเคราะห์และทดสอบของห้องปฏิบัติการ ให้ความถูกต้องและแม่นยำ และสร้างความมั่นใจให้แก่ผู้ให้บริการในการนำเอาผลการตรวจวิเคราะห์และทดสอบไปใช้ประโยชน์

การตอบรับทางอีเมลจากกรมวิทยาศาสตร์บริการในการได้รับใบรายงานผลการทดสอบความกระด้าง

✕ Close | Previous Next

กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

c clpt@dss.go.th
To: You

เรียน ผู้เข้าร่วมกิจกรรม
ทางกลุ่มทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ได้รับเอกสาร ๓. แบบข้อตกลงร่วม
๒. แบบบันทึกการรับตัวอย่าง
๓. ใบรายงานผลการทดสอบ

เรียบร้อยแล้วค่ะ

ขอแสดงความนับถือ

บุญนุช

Best Regards

Center for Laboratory Proficiency Testing (CLPT),
Department of Science Service (DSS),
Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation
75/7 Rama 6 Rd, Bangkok 10400 Thailand
Ph : 02 201 7331-3
[http : //www.dss.go.th](http://www.dss.go.th)

ใบรายงานผลการทดสอบความกระด้าง

C 001037		รหัสห้องปฏิบัติการ W08 - 2401 019	
กิจกรรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์บริการ สาขาสิ่งแวดล้อม รายการ Total hardness (as CaCO ₃) and Chlorides (as Cl) in water PTEN - W08 - 2401 ใบรายงานผลการทดสอบ (results sheet)			
ชื่อห้องปฏิบัติการ วันที่ทดสอบ		กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย 1/12/2566	
Test Items, mg/L	Sample number*	Replicate 1	Replicate 2
Total hardness (as CaCO ₃)	A 246	246.4	246.2
	B 102	120.1	120.1
Chlorides (as Cl)	A 246	42.4	42.0
	B 102	190.9	190.7
Method	Code	Part	Accredited
2	2340 C	No	
3	-	No	

***หากข้อมูลไม่สามารถระบุได้หรือไม่ได้ให้ทำเครื่องหมาย X ในช่องว่างต่อไปนี้ - ** สำหรับรายการนี้

หมายเหตุ

- * ให้นำบันทึก Sample number ตามที่ระบุไว้ให้ชัดเจนด้วย
- ** MU คือ ค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (กรณีที่สามารถคำนวณได้)
- ใบรายงานผลการทดสอบในหน่วยอิเล็กทรอนิกส์ (mg/L) จำนวนทดสอบ 1 ตัวอย่าง โดยรายงานผลจำนวน 2 ค่า พร้อมค่าเฉลี่ย
- Method Code

Code 1 Drinking-water, Thai Industrial Standard (std. 257 - 2549)
Code 2 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, AWWA, APHA, WEF (22nd ed., 2012 or 23rd ed., 2017 or 24th ed., 2023)
Code 3 U.S. Environmental Protection Agency: EPA
Code 4 อื่นๆ

ผู้รายงานผลการทดสอบ นางสาววิชา จอโฉม
ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
วันที่ 12 ธ.ค. 66

โปรดส่งใบรายงานผลการทดสอบ ภายในวันที่ 12 ธันวาคม 2566 ผ่านทางอีเมล clpt@dss.go.th เท่านั้น โดยส่งแบบไฟล์ excel (xlsx) เพียง 1 ครั้งเท่านั้น เพื่อป้องกันความสับสนจากผลการทดสอบที่ได้รับ และห้ามส่งไฟล์หรือแปลงไฟล์เป็นเอกสารหากพบข้อผิดพลาดในการออกข้อมูล โปรดติดต่อ คุณสุประวีณ์ วงศ์รุ่งโรจน์ หรือ คุณสุรศักดิ์ ธนชาติคุชชี โทร. 02 201 7331-3 เพื่อแจ้งปัญหาการพิมพ์ใบรายงานผลการทดสอบเพื่อเป็นหลักฐานทุกครั้ง

ตัวชี้วัดที่ ๓.๓๕	ระดับความสำเร็จของการพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อ <i>Legionella</i> spp. ในตัวอย่างน้ำ
	กลุ่มงานรับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานจุลชีววิทยา

► ผลการดำเนินงานประจำเดือนธันวาคม ๒๕๖๖

กิจกรรมที่ ๓ : ออกแบบขั้นตอนการทดสอบและหาสภาวะที่เหมาะสม

๑. รูปแบบการศึกษา

รูปแบบการศึกษาเป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental Research) เพื่อพัฒนาศักยภาพการทดสอบทางห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ในการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. โดยห้องปฏิบัติการได้พัฒนาวิธีสำหรับตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธี Real time - polymerase chain reaction (Real-time PCR) ขึ้น และดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีเพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างวิธีมาตรฐาน (วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ) และวิธีที่พัฒนาขึ้น (วิธี Real - time PCR) ซึ่งต้องให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างกัน โดยขั้นตอนการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบปฏิบัติตามมาตรฐาน ISO ๑๖๑๔๐-๒ : ๒๐๑๖ “Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method

๒. เครื่องมือ/วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์, สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ และเชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง

๒.๑ เครื่องมือวิทยาศาสตร์

- เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Real-time PCR) ยี่ห้อ Analytik Jena รุ่น qTOWER[™]
- เครื่องชั่ง ๒ ตำแหน่ง (Balance) รุ่น ME-T๓๐๐๒T ยี่ห้อ Mettler Toledo
- เครื่องวัดความเป็นกรด – เบส (pH meter) รุ่น S๒๐ ยี่ห้อ Mettler Toledo
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น SX-๗๐๐ ยี่ห้อ Tomy อุณหภูมิ ๑๒๑ ± ๓ องศาเซลเซียส
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) รุ่น NU-๕๔๓ ยี่ห้อ NuAire
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) รุ่น KB๗๒๐ ยี่ห้อ Binder อุณหภูมิ ๓๖ ± ๒ องศาเซลเซียส
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่อุณหภูมิ ๔ องศาเซลเซียส (Eppendorf, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น BAD-๑๒ ยี่ห้อ RAYPA อุณหภูมิ ๕๐ ± ๑ องศาเซลเซียส
- ชุดกรองตัวอย่างน้ำ (Membrane filtration equipment)
- เครื่องเขย่าสารละลาย (Vortex shaker) ยี่ห้อ Heidolph
- เครื่องเขย่าผสมสารละลาย (Vortex mixer) รุ่น Vortex-Genie๒ ยี่ห้อ Genie
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๑-๑๐ มิลลิลิตร ยี่ห้อ Eppendorf
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๑๐๐-๑,๐๐๐ ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๑๐-๑๐๐ ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Autopipettes) ปริมาตร ๐.๕-๑๐ ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf

๒.๒ วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

- แผ่นกรอง (Membrane filter) ชนิด polycarbonate ขนาดรูพรุน ๐.๒ ไมโครเมตร (PALL, USA)
- ปิเปตทิป (pipette tip) ขนาด ๑ และ ๑๐ มิลลิลิตร
- ปิเปตทิปแบบมีแผ่นกรอง (pipette filter tip) ขนาด ๑๐, ๑๐๐ และ ๑,๐๐๐ ไมโครลิตร

- หลอดทดลอง (test tube) ขนาด ๑๕ และ ๕๐ มิลลิลิตร
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (test tube rack)
- จานเพาะเชื้อ (petri dish)
- ขวดแก้วขนาดบรรจุ ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- หลอด PCR ขนาด ๑.๕ มิลลิลิตร
- หลอด PCR ขนาด ๐.๒ มิลลิลิตร

๒.๓ เชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง

- *Legionella pneumophila* (DMST ๑๒๘๐๐)
- *Escherichia coli* (DMST ๔๒๑๒)
- *Klebsiella pneumoniae* (DMST ๗๕๙๒)
- *Klebsiella aerogenes* (DMST ๘๘๔๑)
- *Staphylococcus aureus* (DMST ๘๐๑๓)
- *Staphylococcus epidermidis* (DMST ๕๘๖๘)
- *Pseudomonas aeruginosa* (DMST ๔๗๓๙)
- *Salmonella Typhimurium* (DMST ๕๖๒)

๒.๔ สารเคมี/อาหารเลี้ยงเชื้อ

สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ (Culture)

- Glycine vancomycin polymyxin B cycloheximide agar (GVPC)
- Buffered charcoal yeast extract agar with L-cysteine (BCYE)
- Buffered charcoal yeast extract agar without L-cysteine (BCYE-cys)
- Tryptic Soy Agar (TSA)
- Tryptic Soy Broth (TSB)
- Plate Count Agar (PCA)
- สารละลายบัฟเฟอร์ (buffered water)

สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรม ด้วยวิธี Real time PCR

- ชุดน้ำยาสกัดสารพันธุกรรมสำหรับแบคทีเรีย (GenUP™ Bacteria gDNA Kit, Berlin, Germany)
- ชุดน้ำยา PCR สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรมของ *Legionella* spp. (PCR max™)

๒.๕ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายบัฟเฟอร์

๒.๕.๑ Glycine vancomycin polymyxin B cycloheximide agar (GVPC)

ส่วนประกอบ

BCYE agar base

- | | |
|----------------------|---------------|
| - Activated Charcoal | ๒ กรัม |
| - Yeast Extract | ๑๐ กรัม |
| - Agar | ๑๕ กรัม |
| - น้ำกลั่น | ๕๐๐ มิลลิลิตร |

GVPC Supplement

- | | |
|------------------------|------------------|
| - Glycine | ๑.๕ กรัม |
| - Vancomycin | ๐.๐๐๐๕ มิลลิลิตร |
| - Polymyxin B Sulphate | ๔๐๐๐๐ IU |

- Cycloheximide ๐.๐๔ กรัม
- น้ำกลั่น sterile ๑๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE agar base ๑๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที
- ละลาย GVPC Supplement ด้วยน้ำกลั่น sterile ปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในขวด BCYE agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- เขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อและ GVPC Supplement ให้เข้ากัน จากนั้นเทแบ่งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับใช้งาน

๒.๕.๒ Buffered charcoal yeast extract agar with L-cysteine (BCYE)

ส่วนประกอบ

BCYE agar base

- Activated Charcoal ๒ กรัม
- Yeast Extract ๑๐ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๕๐๐ มิลลิลิตร

BCYE Growth Supplement

- ACES Buffer (N-๒-Acetamido-๒-Aminoethanesulfonic acid) ๕ กรัม
- Potassium Hydroxide ๑.๔ กรัม
- Ferric Pyrophosphate ๐.๑๒๕ กรัม
- Potassium Alfa-Ketoglutarate ๐.๕ กรัม
- L-Cysteine HCl ๐.๒ กรัม
- Sterile solvent ๑๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE agar base ๑๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที
- ละลาย BCYE Growth Supplement ด้วย Sterile solvent ปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในขวด BCYE agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- เขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อและ BCYE Growth Supplement ให้เข้ากัน จากนั้นเทแบ่งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับใช้งาน

๒.๕.๓ Buffered charcoal yeast extract agar without L-cysteine (BCYE-cys)

ส่วนประกอบ

BCYE agar base

- Activated Charcoal ๒ กรัม
- Yeast Extract ๑๐ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม

- น้ำกลั่น ๕๐๐ มิลลิลิตร
- BCYE without Cysteine Supplement
- ACES Buffer (N-๒-Acetamido-๒-Aminoethanesulfonic acid) ๕ กรัม
 - Potassium Hydroxide ๑.๔ กรัม
 - Ferric Pyrophosphate ๐.๑๒๕ กรัม
 - Potassium Alfa-Ketoglutarate ๐.๕ กรัม
 - Sterile solvent ๑๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE agar base ๑๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร ๕๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที
- ละลาย BCYE without Cysteine Supplement ด้วย Sterile solvent ปริมาตร ๑๐ มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในขวด BCYE agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- เชยอาหารเลี้ยงเชื้อและ BCYE without Cysteine Supplement ให้เข้ากัน จากนั้นแบ่งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับใช้งาน

๒.๕.๔ Tryptic Soy Agar (TSA)

ส่วนประกอบ

- Pancreatic Digest of Casein ๑๕ กรัม
- Papaic Digest of Soybean ๕ กรัม
- Sodium Chloride ๕ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ๔๐ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดหรือหลอดตามปริมาตรที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๒.๕.๕ Tryptic Soy Broth (TSB)

ส่วนประกอบ

- Pancreatic Digest of Casein ๑๗ กรัม
- Papaic Digest of Soybean ๓ กรัม
- Dextrose ๒.๕ กรัม
- Sodium Chloride ๕ กรัม
- Dipotassium Phosphate ๒.๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ๓๐ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดหรือหลอดตามปริมาณที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๒.๕.๖ Plate Count Agar (PCA)

ส่วนประกอบ

- Pancreatic Digest of Casein ๕ กรัม
- Yeast Extract ๒.๕ กรัม
- Dextrose ๑ กรัม
- Agar ๑๕ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ๒๓.๕ กรัม ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ขวดตามปริมาณที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๒.๕.๗ สารละลายบัฟเฟอร์ (buffered water)

ส่วนประกอบ

๓) phosphate buffer stock solution

- Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) ๓๔ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ชั่ง KH_2PO_4 ๓๔ กรัม ละลายในน้ำกลั่น ๕๐๐ มิลลิลิตร ปรับ pH ๗.๒±๐.๕ โดยใช้ ๑ N NaOH และปรับปริมาตรเป็น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

๔) magnesium chloride stock solution

- magnesium chloride (MgCl_2 หรือ $\text{MgCl}_2 \cdot ๖\text{H}_2\text{O}$) ๓๘ หรือ ๘๑.๑ กรัม
- น้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ชั่ง magnesium chloride ตามสัดส่วน ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

- ปิเปต phosphate buffer stock solution ปริมาตร ๑.๒๕ มิลลิลิตร และ magnesium chloride stock solution ปริมาตร ๐.๕ มิลลิลิตรลงในน้ำกลั่น ๑,๐๐๐ มิลลิลิตร
- ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง ๗.๒±๐.๑
- แบ่งใส่หลอดหรือขวดตามปริมาณที่ต้องการใช้งาน
- จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ ๑๒๑ องศาเซลเซียส นาน ๑๕ นาที

๓. ขั้นตอนการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ทางห้องปฏิบัติการ

การทดสอบเพื่อตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำ มีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

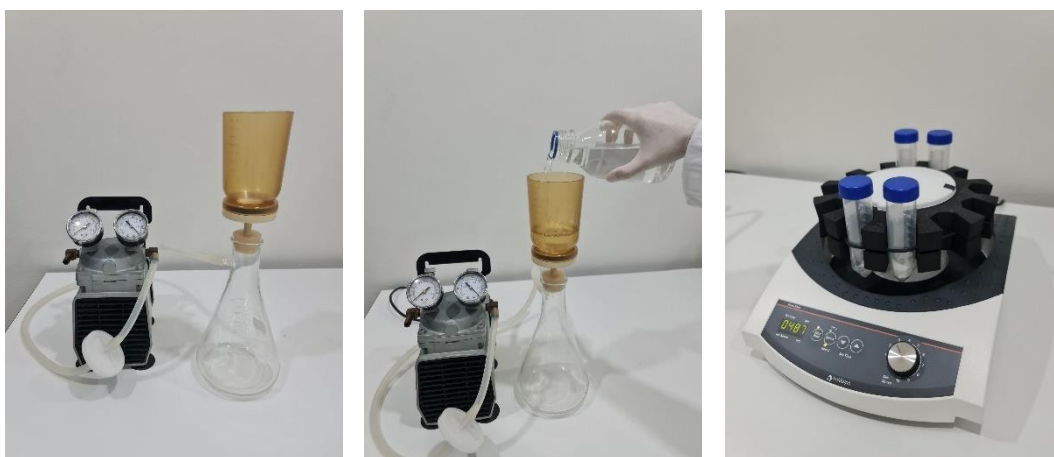
๓.๑ การทำให้ตัวอย่างเข้มข้นขึ้น (Sample concentration)

เป็นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างทดสอบ เพื่อให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นมากขึ้น เหมาะสมสำหรับนำไปทดสอบในขั้นตอนการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ และวิธี Real-time PCR ต่อไป โดยในการศึกษาครั้งนี้ทำการ concentrate ตัวอย่างด้วยวิธีการกรองผ่านแผ่นกรอง (Membrane filtration) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

๑) นำตัวอย่างปริมาตร ๒๕๐ มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นกรอง ขนาดรูพรุน ๐.๒ ไมโครเมตร

๒) นำแผ่นกรองที่ผ่านการกรองตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และ resuspend ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร ๕ มิลลิลิตร

๓) นำไป Vortex ประมาณ ๑๕ นาที เพื่อช่วยให้เชื้อหลุดออกจากแผ่นกรอง ได้เป็นตัวอย่างที่มีความเข้มข้นเพียงพอสำหรับนำไปทดสอบต่อด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ และวิธี Real-time PCR

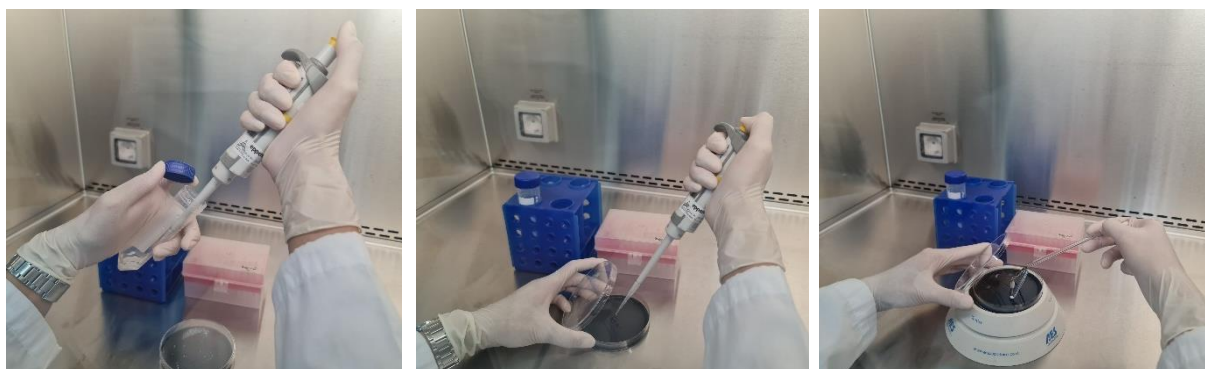


ภาพที่ ๑ ขั้นตอนการทำให้ตัวอย่างเข้มข้นขึ้น ด้วยวิธีการกรอง (Membrane filtration)

๓.๒ การตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ

๑) ทำการ Inoculate ตัวอย่างที่ผ่านการ Concentrate ด้วยวิธี Membrane filtration ปริมาตร ๑๐๐ ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GVPC plate

๒) spread plate ให้ตัวอย่างเกลี่ยทั่วผิวหน้าอาหาร

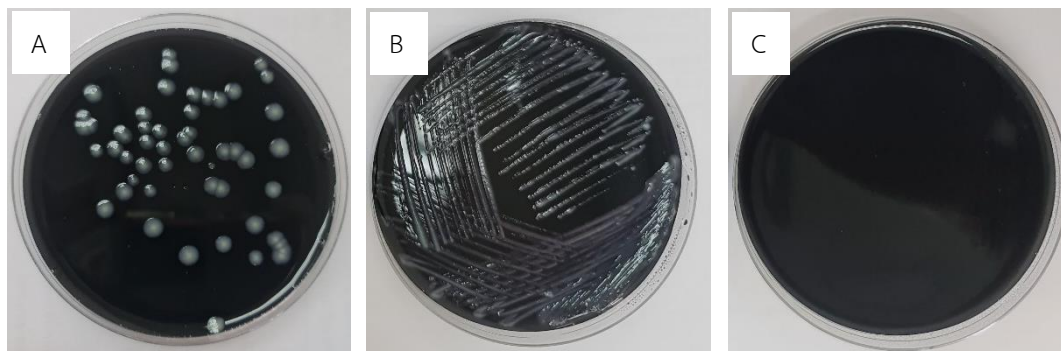


ภาพที่ ๒ ขั้นตอนการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยใช้เทคนิค Spread plate

๓) นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๕ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๓ - ๑๐ วัน

๔) ถ้าพบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม มันวาว สีขาว-เทาเกิดขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ GVPC และเมื่อนำไปย้อมสีแกรมพบลักษณะ gram negative rod ให้นำโคโลนีดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE ที่มีส่วนประกอบของ L-cysteine (BCYE) และ BCYE ที่ไม่มีส่วนประกอบของ L-cysteine (BCYE-cys) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ ๓๕ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๒ - ๕ วัน

๕) กรณีเชื้อสามารถเจริญได้เฉพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE ที่มีส่วนประกอบของ L-cysteine เท่านั้น ให้บันทึกผลเป็น Detected (พบเชื้อ *Legionella* spp.) แต่หากเชื้อเจริญหรือไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง ๒ ชนิด ให้บันทึกผลเป็น Not Detected (ไม่พบเชื้อ *Legionella* spp.)



ภาพที่ ๓ ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Legionella* spp. ที่ขึ้นบน plate GVPC agar (A) จากนั้นไปเพาะเลี้ยงต่อ (re-streak) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE (B) และ BCYE-cys (C)

๓.๓ การตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ด้วยวิธี Real-time PCR

๑) นำตัวอย่างที่ผ่านการ Concentrate ด้วยวิธี Membrane filtration ปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตร มาสกัด DNA โดยใช้ชุดน้ำยาสกัดสารพันธุกรรมสำหรับแบคทีเรีย (GenUP™ Bacteria gDNA Kit, Berlin, Germany) ทำตามขั้นตอนต่างๆ ตามที่ระบุในชุดสกัด



ภาพที่ ๔ ขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ชุดน้ำยาสกัดสารพันธุกรรม GenUP™ Bacteria gDNA Kit

๒) DNA ที่สกัดได้ นำไปตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *Legionella* ด้วยวิธี Real-time PCR หรือเก็บที่ อุณหภูมิ - ๒๐ องศาเซลเซียสสำหรับรอการทดสอบต่อ

๓) เตรียมส่วนผสมประกอบของปฏิกิริยา PCR (master mix) ลงในหลอด PCR ซึ่งปริมาตรที่ใช้ แสดงดัง ตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ แสดงส่วนผสมประกอบปฏิกิริยา PCR (Master Mix) สำหรับ ๑ ตัวอย่างทดสอบ (Reaction)

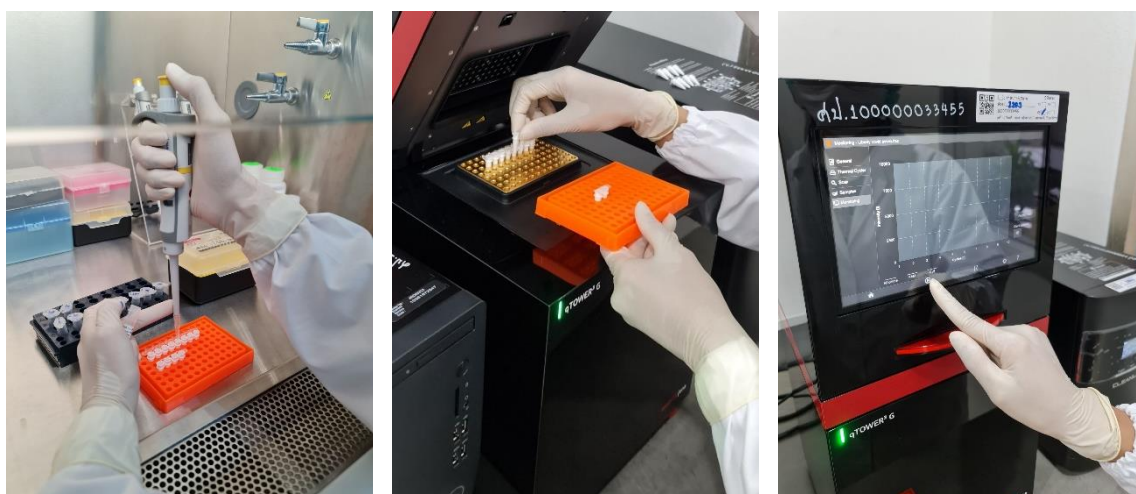
ส่วนผสมประกอบ/ 1 reaction	
2X qPCR Master Mix	10 ไมโครลิตร
<i>Legionella</i> spp. Primer/probe mix	1 ไมโครลิตร
Internal Extraction Control Primer/probe mix	1 ไมโครลิตร
nuclease-free water	3 ไมโครลิตร
DNA sample (Template)	5 ไมโครลิตร
Final volume	20 ไมโครลิตร

๔) นำหลอด PCR ที่บรรจุส่วนผสมหลักของปฏิกิริยา PCR เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Real-time PCR) ยี่ห้อ Analytik Jena รุ่น qTOWER๓ โดยใช้ DNA ของเชื้อ *Legionella pneumophila* เป็นตัวควบคุมผลบวก และ nuclease-free water เป็นตัวควบคุมผลลบ โดยสภาวะของปฏิกิริยา PCR ตั้งค่าดังตารางที่ ๒

ตารางที่ ๒ สภาวะของปฏิกิริยาสำหรับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Legionella* spp.

ขั้นตอน	อุณหภูมิ	เวลา	จำนวนรอบ
Enzyme activation	95 องศาเซลเซียส	2 นาที	1 รอบ
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	10 วินาที	50 รอบ
Annealing and extension *	60 องศาเซลเซียส	60 วินาที	

* เป็นขั้นตอนที่มีการเก็บข้อมูลการเรืองแสงของสารเรืองแสงเป้าหมาย คือ FAM

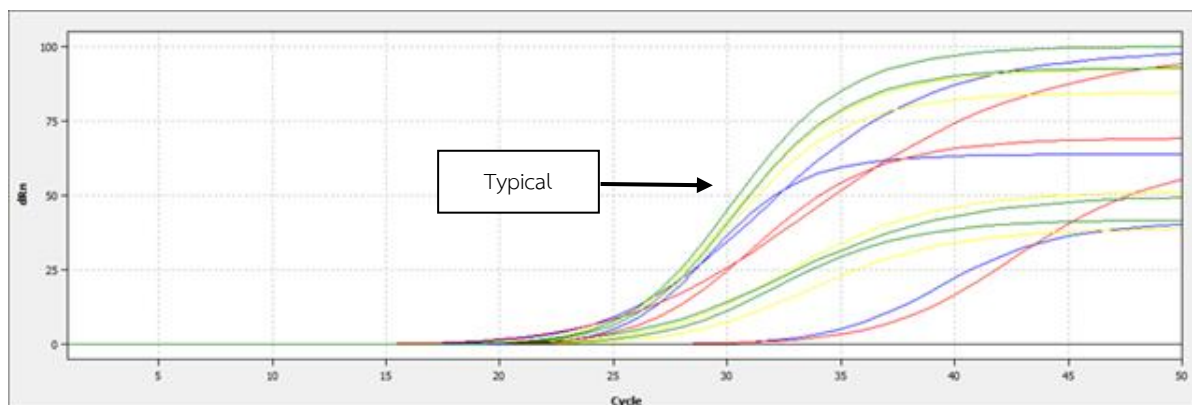


ภาพที่ ๕ ขั้นตอนการเตรียม master mix และการตั้งค่าสภาวะของปฏิกิริยา สำหรับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Legionella* spp.

๕) การแปลผลการทดสอบ

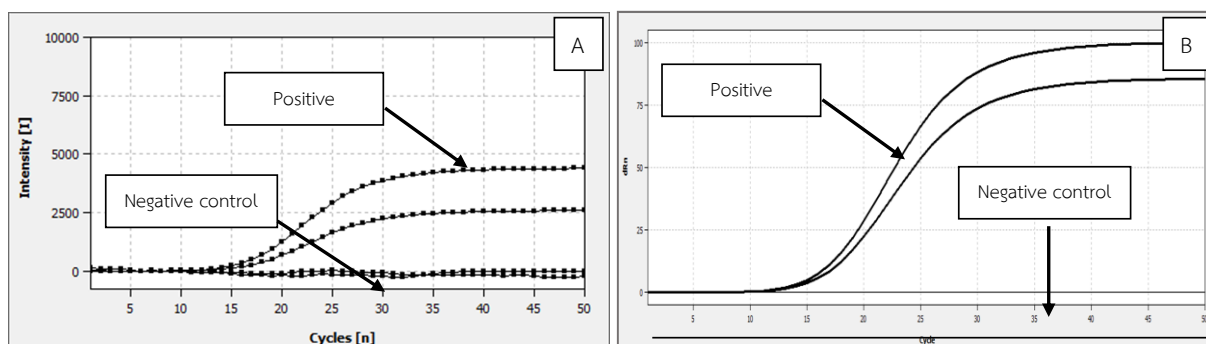
๕.๑ ก่อนการแปลผลการทดสอบตัวอย่างต้องตรวจสอบค่าการควบคุมคุณภาพการทดสอบทุกครั้ง ดังนี้

- ตรวจสอบลักษณะ curve ของ real time plot ว่าเป็น curve ที่มีลักษณะปกติ (S curve: Typical curve)



ภาพที่ ๖ ลักษณะของกราฟที่มีลักษณะปกติ (S curve: Typical curve)

- Positive control ต้องให้ค่า Ct value อยู่ในช่วงที่กำหนด (อยู่ในช่วง 16 ถึง 23)
- Negative control ใช้ Nuclease free water เป็น Negative control ทุกครั้งในการทำปฏิกิริยา PCR ต้องซึ่งต้องไม่มีค่า Ct values



ภาพที่ ๗ ลักษณะของกราฟ Positive control และ Negative control

(A) คือ raw data (B) คือ calculate Ct

- Internal control ใช้สำหรับตรวจสอบคุณภาพของขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่าง และการเกิดปฏิกิริยา amplification ซึ่งในการทดสอบต้องแสดงค่า Ct ของ Internal control เพื่อยืนยันว่าขั้นตอนการสกัดและการเกิดปฏิกิริยา amplification เป็นไปอย่างสมบูรณ์
- Duplication เป็นตัวอย่างที่มาจากการทำซ้ำ โดยทำซ้ำอย่างน้อย ๑๐% ของตัวอย่างแต่ละชุดที่ทดสอบ ซึ่งต้องให้ผลการทดสอบเหมือนกับตัวอย่างเดียวกัน

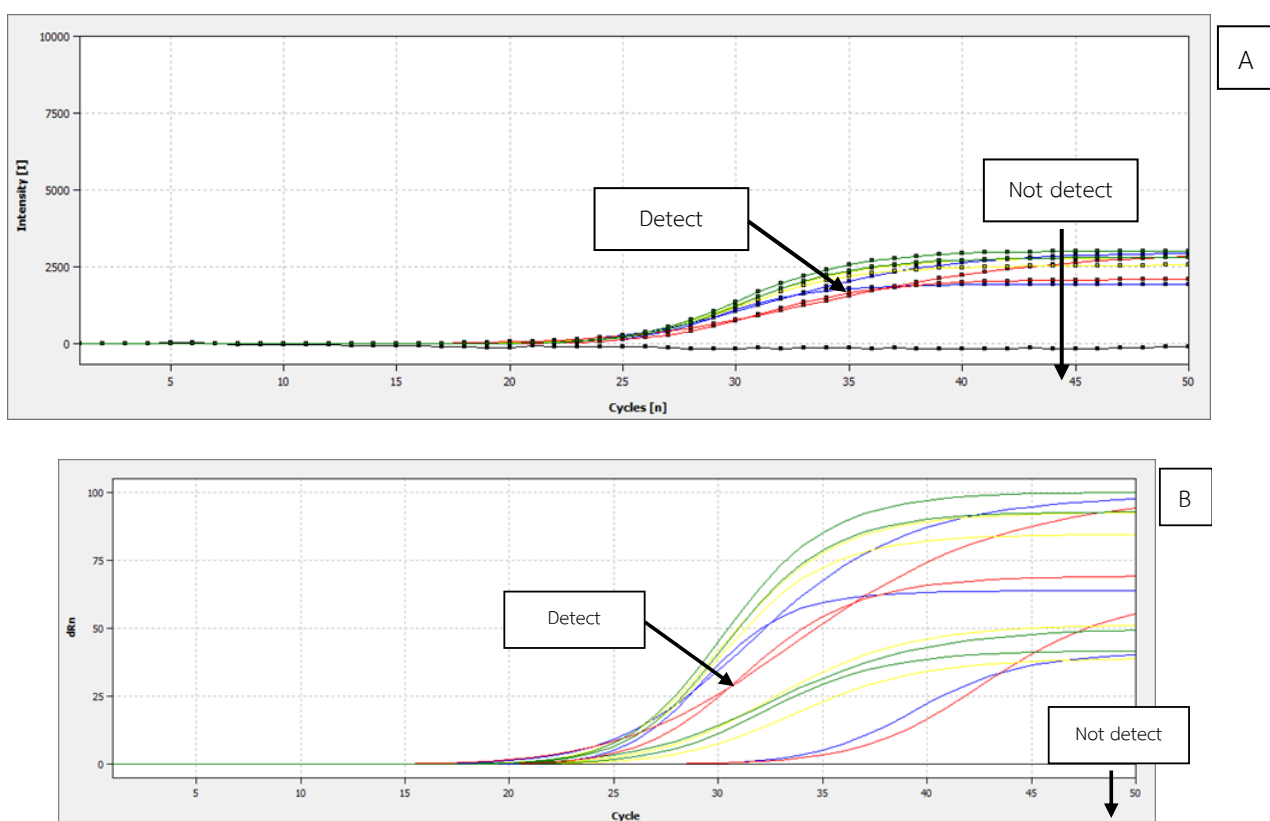
กรณีค่าการควบคุมคุณภาพไม่ผ่านต้องมีการหาสาเหตุและแก้ไขจนค่าการควบคุมคุณภาพผ่านจึงสามารถแปลผลการทดสอบได้

๕.๒ การแปลผลการทดสอบตัวอย่าง

การอ่านผลจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนรอบที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมจนสามารถตรวจวัดได้ (Cycles) และปริมาณแสง Fluorescence ที่ตรวจวัดได้ถ้าในตัวอย่างมีสารพันธุกรรมของเชื้อ *Legionella* spp. อยู่ จะแสดงลักษณะกราฟเป็น S-curve ถ้าไม่มีจะแสดงลักษณะกราฟเป็นเส้นตรง โดยจากกราฟสามารถรายงานได้เป็นค่า Ct ซึ่งค่า Ct คือ จำนวนรอบที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายจนถึงระดับที่เครื่อง PCR สามารถตรวจวัดได้ การรายงานผลทดสอบดำเนินการดังตารางที่ ๓

ตารางที่ ๓ การแปลผลการทดสอบ โดยพิจารณาจากค่า Ct และค่าการควบคุมคุณภาพ

Target	Internal control	Positive control	Negative control	การแปลผล
≤ 30	+ / -	+	-	พบเชื้อ (Detect)
> 30	+	+	-	พบเชื้อ (Detect)
> 30	-	+	-	พบเชื้อ (Detect)
-	+	+	-	ไม่พบเชื้อ (Not detect)



ภาพที่ ๔ ลักษณะกราฟของตัวอย่างที่พบเชื้อ (Detect) และไม่พบเชื้อ (Not detect)

(A) คือ raw data (B) คือ calculate Ct

ปิดประชุม เวลา ๑๔.๓๐ น.

นางสาวหทัยรัตน์ เจียมทรัพย์ ตำแหน่งนักวิเคราะห์นโยบายและแผน

ผู้จัดรายงานการประชุม

นางสาววาสนา คงสุข ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ

ผู้ตรวจรายงานการประชุม