Thailand LAB WEBINAR

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามมาตรฐานนานาชาติ

Culture Media Preparation Complied with International Standards



โดย รศ.ดร.นฤมล มาแทน

สาขาอุตสาหกรรมอาหาร ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมน้ำมันหอมระเหย

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร

มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์



หัวข้อ



1 อาหารเลี้ยงเชื้อและประเภทของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2 มาตรฐานอาหารเลี้ยงเชื้อตามมาตรฐานนานาชาติ

3 ข้อแนะนำในการเตรียมและผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 ข้อแนะนำในการปฏิบัติสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2 ข้อแนะนำทั่วไปในการประกันคุณภาพสำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ



อาหารเลี้ยงเชื้อสำคัญกับมาตรฐานอาหารอย่างไร?





1 เพื่อตรวจนับปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในอาหาร

1.1 ตรวจนับเพื่อเปรียบเทียบปริมาณที่พบกับมาตรฐานอาหารต่างๆ

1.2 ตรวจนับเพื่อทำนายอายุการเก็บรักษา เพื่อความปลอดภัยในการบริโภค

1.3 ตรวจนับเพื่อการผลิต การควบคุมคุณภาพให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด

2 การตรวจหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในอาหาร

2.1 ตรวจหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่อนุญาตให้มีในอาหาร

2.2 ตรวจหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อวางแผนการผลิตและการควบคุมคุณภาพ

2.3 ตรวจหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการวิจัยและพัฒนาด้านอาหารปลอดภัย



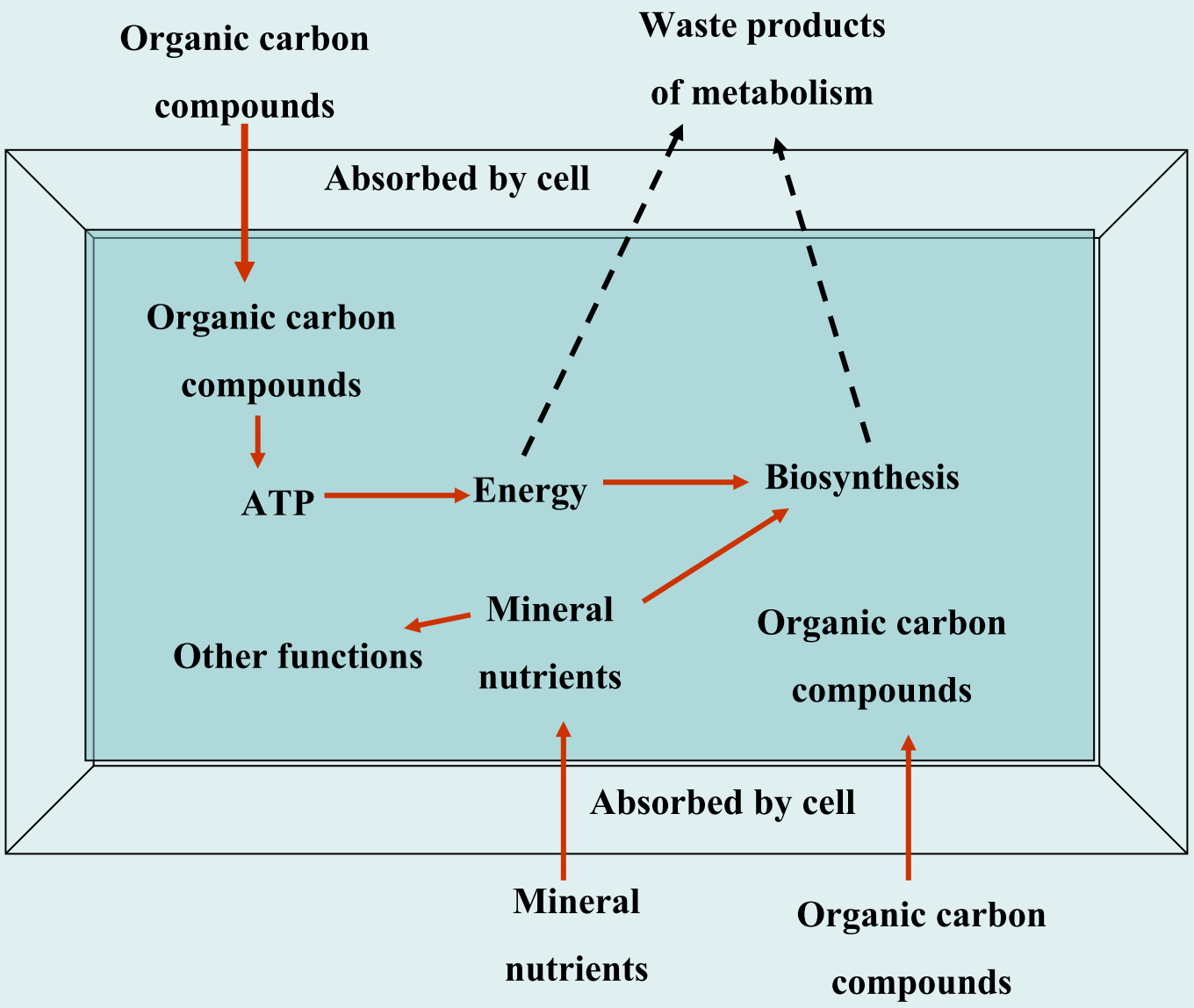
อาหารเลี้ยงเชื้อ

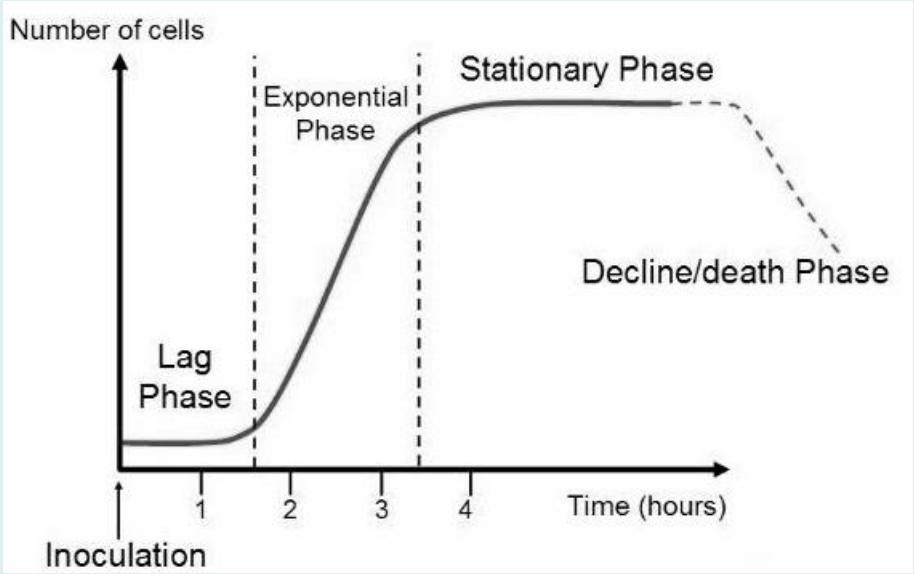
สารอาหารเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพราะอาหารเป็นแหล่งพลังงาน และเป็นแหล่งแร่ธาตุให้เชื้อจุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างหรือซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ

Chemoheterotrophs

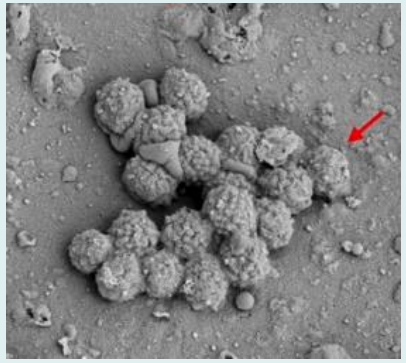
เป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ มีการดูดสารอาหารเข้าไปแล้วใช้ ATP เป็นแหล่งพลังงาน

Element	%Dry weight
Carbon	50
Oxygen	20
Nitrogen	14
Hydrogen	8
Phosphorus	3
Sulphur	1
Potassium	1
Sodium	1
Calcium	0.5
Magnesium	0.5
Chlorine	0.5
Iron	0.2
Boron	0.3
Cobalt	
Manganese	

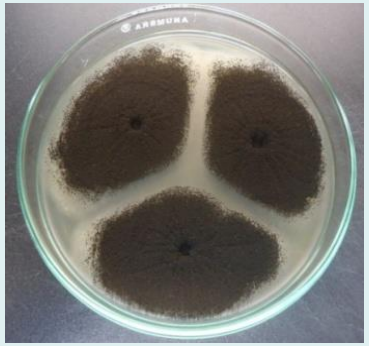

Organic carbon compounds
Waste products of metabolism
Absorbed by cell
Organic carbon compounds
ATP
Energy
Biosynthesis
Mineral nutrients
Other functions
Organic carbon compounds
Absorbed by cell
Mineral nutrients
Organic carbon compounds

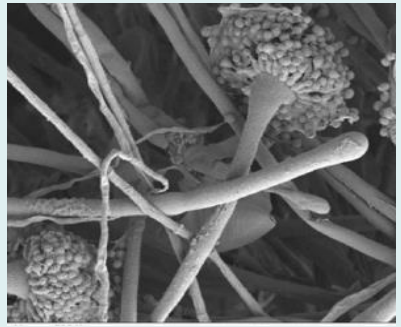

Number of cells
Exponential Phase
Stationary Phase
Decline/death Phase
Lag Phase
1
2
3
4
Time (hours)
Inoculation













หน้าที่ของสารต่างๆต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

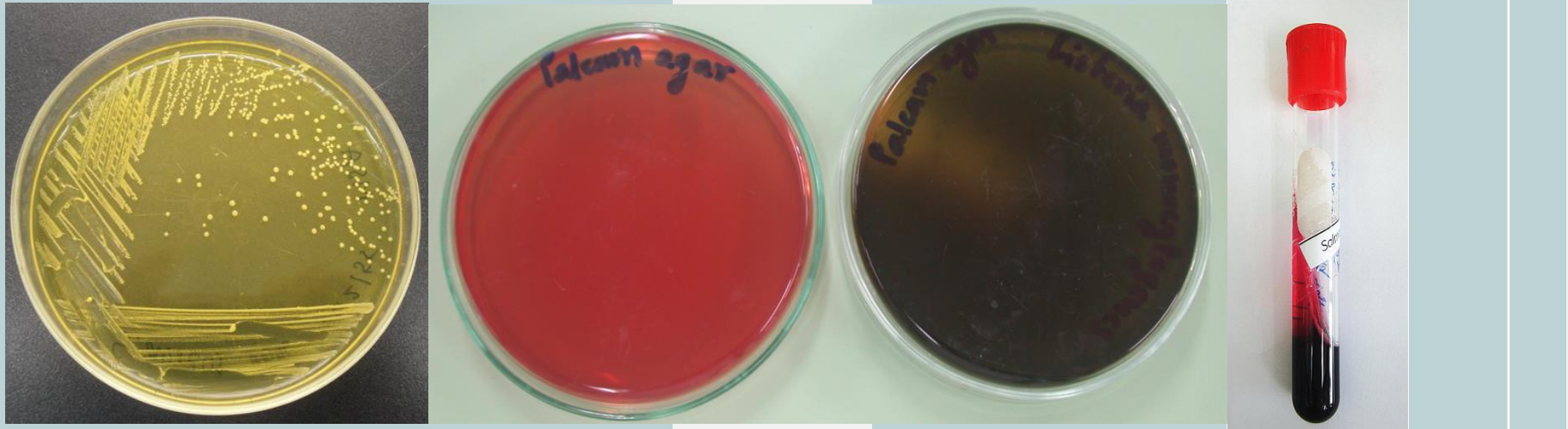
Element	หน้าที่
Hydrogen	เป็นส่วนประกอบของน้ำซึ่งต้องใช้ภายในส่วนต่างๆของเซลล์
Oxygen	เป็นส่วนประกอบของน้ำ ใช้ในการหายใจ ใช้ในระดับโมเลกุลของเซลล์
Carbon	เป็นส่วนประกอบของโมเลกุลต่างๆของเซลล์
Nitrogen	เป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน สร้าง ATP และ เอ็นไซม์
Sulphur	พบในกรดอะมิโนพวก cystine, methionine สร้าง co-enzyme
Phosphorus	พบในนิวคลีอิก DNA RNA พบใน phospholipid, สร้าง co-enzyme
Potassium	เป็นส่วนสำคัญสำหรับใช้ osmotic pressure และสร้าง co-enzyme
Magnesium	ใช้สำหรับสร้างเนื้อเยื่อเซลล์ ไรโบโซม DNA, RNA สร้าง enzyme
Calcium	ใช้สร้างพนังเซลล์ เป็นส่วนประกอบหลักของ endospores
Iron	ใช้สร้าง cytochromes สำหรับการหายใจแบบใช้ออกซิเจนและสร้าง enzyme
Trace elements	ใช้สร้าง enzyme และ co-enzyme



องค์ประกอบที่อนุญาติให้มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ

- Peptones and meat or yeast extract variable in their nutritive properties
- Agar variable in its gelling properties
- Buffering substances
- Bile salts, bile extract and deoxycholate, antibacterial dyes, depending on their selective properties
- Antibiotic depending on their activity

อาหารเลี้ยงเชื้อ



อาหารแข็ง (agar)

อาหารเลี้ยงเชื้อ





อาหารเหลว (broth)

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ



1 General purpose media (non-selective)

มีสารอาหารที่สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์หลายๆชนิดสามารถเจริญได้ เช่น อาหาร Nutrient agar/broth (NA) อาหาร plate count agar (PCA) อาหาร malt extract agar (MEA)



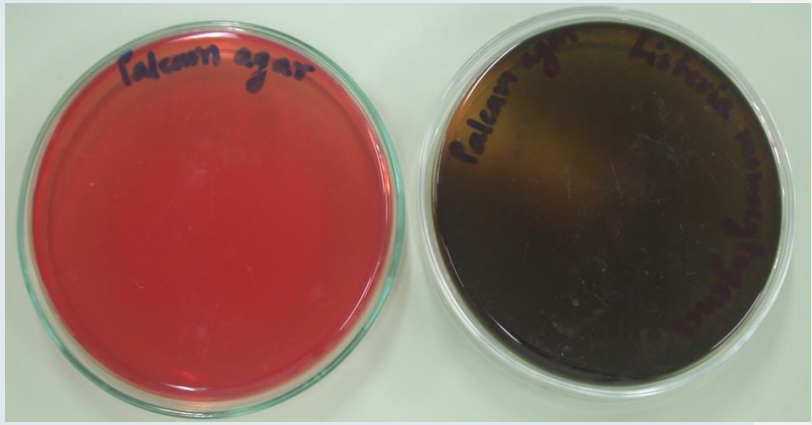
2 Selective media

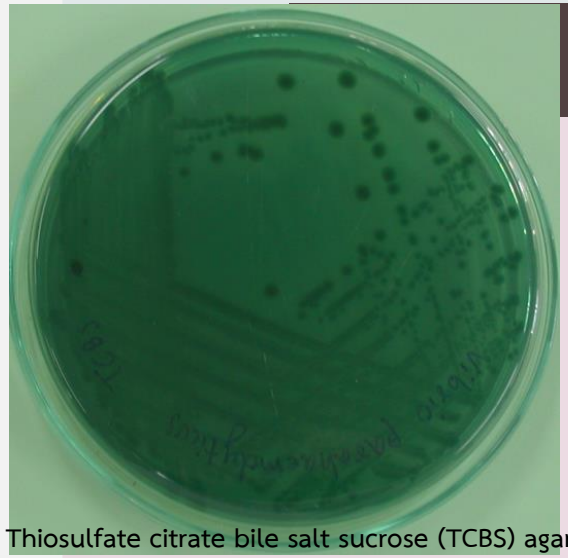
สารอาหารที่ยับยั้งเชื้อชนิดหนึ่งแต่เชื้อที่ต้องการสามารถเจริญได้ เช่น เติมกรดเฉพาะ มีการควบคุมค่า aw มีแหล่ง nitrogen ระดับหนึ่ง และหรือมีสาร antibiotic อยู่เป็นต้น เช่น **อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified oxford (MOX) agar** มีเกลือ Lithium chloride สำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Enterococci และมีสาร Moxalactam ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *Listeria* สามารถเจริญได้และทำให้เกิดสีดำบนจานอาหาร เป็นต้น

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3 Differential media

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่งเจริญขึ้นมา เช่นเกิดการขุ่นของอาหารแข็ง การเปลี่ยนสีอันเกิดจากการเปลี่ยนแปลง pH หรือการเปลี่ยนแปลงสีเริ่มต้นของอาหารโดยการปฏิกิริยาทางเคมี





Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar

V. parahaemolyticus

Differential agents ที่นิยมเติมคือ

- สารที่ทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์ เช่น Bromothymol blue
- น้ำตาลและกรดอะมิโน หากเชื้อมีการใช้น้ำตาลหรือกรดอะมิโนอาจสร้างสารชนิดอื่นๆ เช่น กรด แล้วทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสี
- สารประกอบเคมี เช่น potassium tellurite ทำให้เกิดสีดำของ tellurium
- Iron salt เมื่อเชื้อใช้จะสร้างไฮโดรเจนออกมาแล้วทำให้เกิดสีดำของ iron sulphide เป็นต้น



V. cholerae

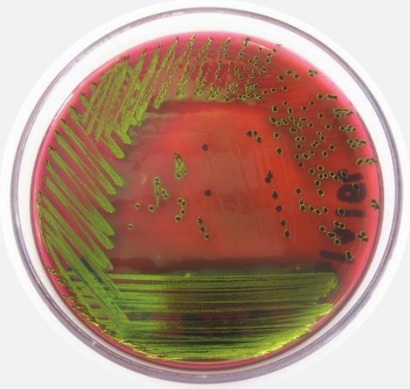
ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

4 Selective/differential media

ใช้ในการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันออกจากกัน และแยกชนิดของเชื้อในกลุ่มของเชื้อเดียวกันออกจากกัน เช่น การเติมสาร 4-methyl-umbelliferyl β-D-glucuronide (MUG) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB สามารถช่วยให้ตรวจหาเอ็นไซม์ β-glucuronidase ที่มีอยู่ในเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ได้ โดยเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* จะใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวในการเปลี่ยนสาร MUG ให้กลายเป็นสารเรืองแสง Fluorogen, 4-methyl-umbelliferone ซึ่งจะตรวจพบโคโลนีที่สามารถเรืองแสงได้ภายใต้แสงยูวี โดยเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 จะไม่มีเอ็นไซม์ดังกล่าวในการเปลี่ยนสาร MUG ให้กลายเป็นสารเรืองแสง จึงพบโคโลนีสีม่วงเข้มไม่มีสีเขียวมันวาวคล้ายโลหะล้อมรอบ



เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB+MUG



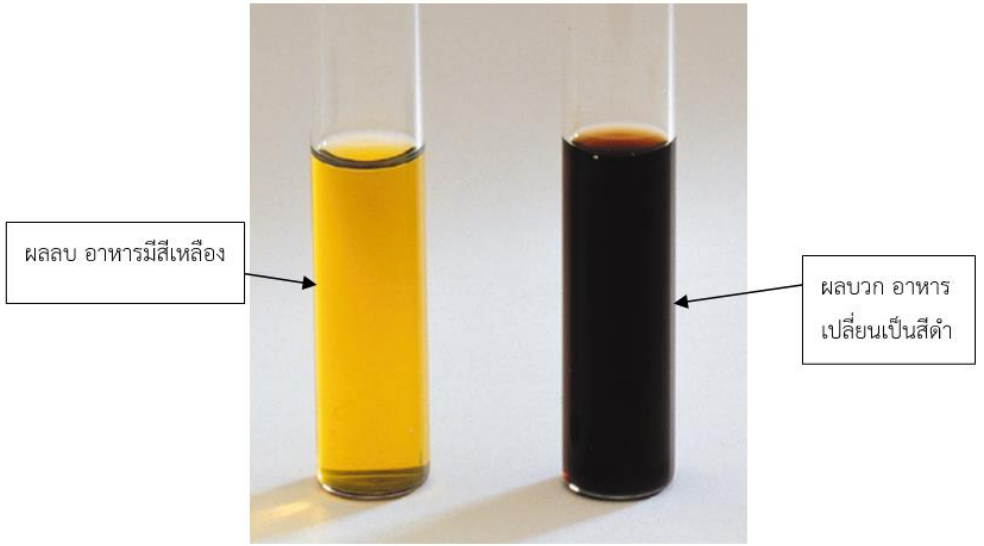
เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่เจริญในอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB+MUG

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

5 **Enrichment media** ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ต้องการให้มากขึ้น เช่นอาหาร Fraser broth ใช้ในการ Enrichment เชื้อแบคทีเรีย *L. monocytogenes* โดยหลังจากที่มีการบ่มไว้ในอาหาร UVM แล้วสามารถนำมาบ่มเพื่อเพิ่มจำนวนต่อในอาหาร Fraser broth ได้อีก อาหารนี้มีส่วนผสมของสาร Acriflavine สาร Nalidixic acid และสารละลายเกลือ ซึ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่ม Enterococci



อาหาร UMV





มาตรฐานอาหารเลี้ยงเชื้อตามมาตรฐานนานาชาติ

ISO 11133

Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ ๓๔๓๓ (พ.ศ. ๒๕๔๘) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. ๒๕๑๑ เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม จุลชีววิทยาของอาหารและอาหารสัตว์ ข้อแนะนำในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เล่ม 1 ข้อแนะนำทั่วไปในการประกันคุณภาพสำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ

เล่ม 2 ข้อแนะนำในการปฏิบัติสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

AOAC INTERNATIONAL

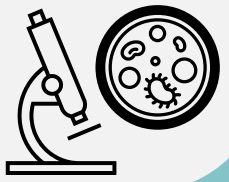
Bacteriological Analytical Manual (BAM)

Standard Operating Procedures

ขอบข่าย (มอก 2240)



การทดสอบทางจุลชีววิทยาที่เชื่อถือได้มีความจำเป็นต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการตรวจสอบคุณภาพ ดังนั้นจึงต้องมีการกำหนดเกณฑ์การยอมรับขั้นต่ำ



ครอบคลุม

- อาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้จากบริษัทเชิงพาณิชย์ / หน่วยงานที่ผลิต และหรือ จัดจำหน่ายอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมใช้ กึ่งสำเร็จรูป แห้ง ในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา
- อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมขึ้นเองจากห้องปฏิบัติการ
- อาหารเลี้ยงเชื้อจากหน่วยงานที่ไม่ใช่เชิงพาณิชย์ที่เตรียมให้กับหน่วยงานอื่น / ห้องปฏิบัติการทำการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข้อแนะนำในการปฏิบัติสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ

(General purpose, Non-selective media, Selective media, Solid, Agar, Liquid, broth)

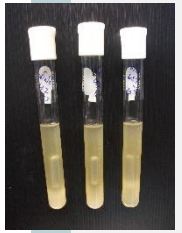
Quantitative

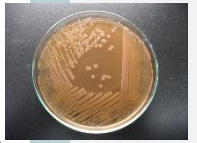
- Productivity (P_R)



Semi-Quantitative

- Productivity (P_R)
- Selectivity (S_F)
- Streaking method (*Gi*)





Qualitative

-Qualitative streaking method

-Qualitative single tube method

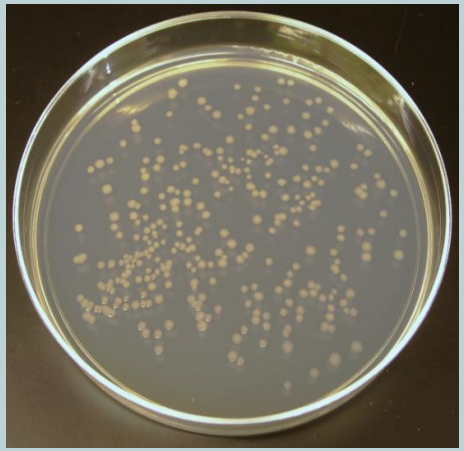




การทดสอบ Productivity ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Quantitative
Semi-Quantitative

Staphylococcus aureus



TSA reference

158 colony



PCA

137 colony

Inoculum

-10^2 cfu, quantitative for wanted microorganism

-10^3-10^4 cfu, semi-quantitative or qualitative test,

-10-100 cfu, for productivity tests of liquid media)

of the working culture

P_R Calculation = 137/158 = 0.86



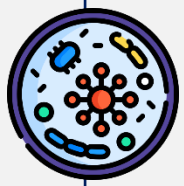
การทดสอบ Productivity ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

- Productivity shall reach a defined minimum limit
- Productivity ratio ($P_R = N_s/N_o$)

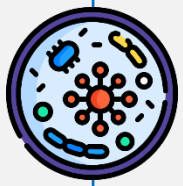
  -N_s is the total colony count obtained on the culture medium under test

  -N_o is the total colony count obtained on the defined reference culture medium, and shall be ≥ 100 cfu
- P_R of a non-selective medium is at least 0.7 for m.o. that can grow easily on the medium
- P_R of the target m.o. on a selective medium should be at least 0.1

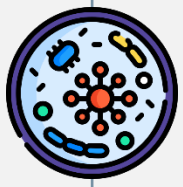
เชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง



เชื้อจุลินทรีย์อ้างอิง (Reference Culture) เป็นเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่ทราบสายพันธุ์ รายละเอียดลักษณะทางชีวเคมี น้ำเหลืองวิทยา (Serology) ลักษณะทางพันธุกรรม และแหล่งที่มาแน่ชัดระบุว่าคัดแยกมาจากแหล่งใด



ศูนย์เก็บเชื้อจุลินทรีย์ (Culture Collection Center) ที่เป็นที่ยอมรับ ในระดับนานาชาติ เช่น World Federation for Culture Collections (WFCC), World Data Center for Microorganisms (WDCM), National Collection of Type Cultures (NCTC) ประเทศอังกฤษ American Type Culture Collection (ATCC) ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นต้น



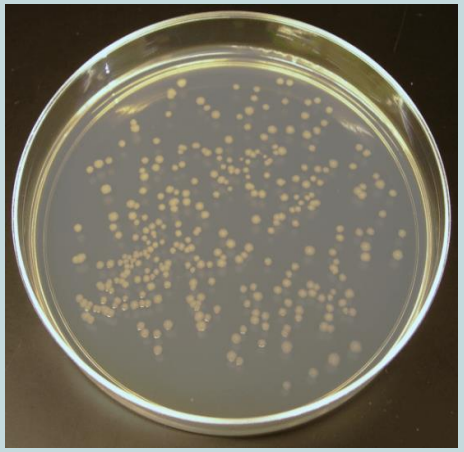
ระดับชาติ เช่น สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (DMSc) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BCC) หรือกรมวิชาการเกษตร เป็นต้น เพื่อแสดงถึงการสอบกลับได้ไปยังมาตรฐานการวัดระดับประเทศหรือระดับระหว่างประเทศ

Quantitative

Semi-Quantitative

Staphylococcus aureus

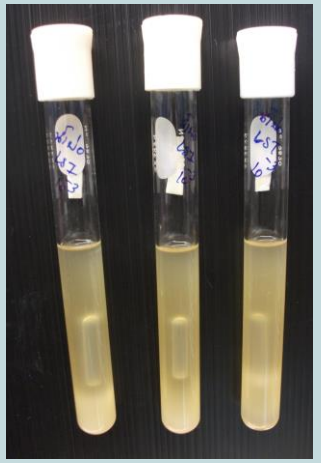
E. coli



TSA reference



PCA



LST reference



LST

P_R Calculation = 137/158 = 0.86

Turbidity 2+ Gas in 1/3 of Durham tube

Quantitative — Non-selective media for enumeration of microorganisms

Media	Type	Micro-organisms	Standard	Function	Incubation	Control strains	Reference media	Method of control	Criteria	Characteristic reactions
PCA	S[a]	Total flora	ISO 4833	Productivity	72h / 30°C	E. coli ATCC 25922 or 8739[b]	TSA	Quantitative	PR ≥ 0,7	
						S. aureus ATCC 6538 or 6538P				
						B. subtilis ATCC 6633[b]				

[a] S = solid medium
[b] Strains to be used by the user laboratory (minimum)

Semi-Quantitative — Non-selective media for enumeration of microorganisms

LST	L	Coliforms	ISO 4831	Productivity	24-48h / 30°C	E. coli ATCC 25922 or 8739[b] C. freundii ATCC 43864	-	Semi-quantitative	Turbidity 2 + Gas in 1/3 of Durham tube	Gas production and turbidity
				Selectivity		E. faecalis ATCC 29212 or 19433[b]	-	Qualitative	No growth	-

Quantitative — Selective media for enumeration of microorganisms

Media	Type	Micro-organisms	Standard	Function	Incubation	Control strains	Reference media	Method of control	Criteria	Characteristic reactions
Baird - Parker	S[a]	Coagulase positive Staphylo-cocci	EN ISO 6888-1	Productivity	24-48 h/ 37°C	S. aureus ATCC 6538 S. aureus ATCC 25923[b]	TSA	Quantitative	PR ≥ 0,5	Black / grey colonies with clear halo (Egg yolk clearing reaction)

Selectivity





- Selective culture media and a reference medium are inoculated with appropriate inoculum (10^4-10^6 cfu) of the defined test m.o. using appropriate device.
- Selectivity Factor (S_F) = D_o-D_s

  -D_o is the highest dilution showing growth at least 10 colonies on the reference medium (log_{10} units)

  -D_s is the highest dilution showing comparable growth on the test medium (log_{10} units)
- For semi-quantitative methods the growth of the non strain(s) shall be inhibited partly or completely

Selective enrichment media

Media	Type	Micro-organisms	Standard	Function	Incubation	Control strains	Reference media	Method of control	Criteria	Characteristic reactions of target microorganism
EE	L[a]	Enterobac-teriaceae	ISO 7402 ISO 8523	Productivity	24h / 37°C	E. coli ATCC 25922 or 8739[b] or S. typhimurium ATCC14028	-	Semi-quantitative	>10 col. on VRBG	Pink to red colonies with or without precipitation halo
				Selectivity	24h / 37°C	+ E. faecalis ATCC 29212 or 19433[b]		Semi-quantitative	Total inhibition	
Half-Fraser	L	Listeria mono-cytogenes	EN ISO 11290-1	Productivity	24h / 30°C	L. mono 1/2a ATCC 19111	-	Semi-quantitative	>10 col. on Oxford or PALCAM	Grey to black colonies with black halo
						or L. mono 4b ATCC 13932[b]				
						+ E. coli ATCC 25922 or 8739[b]				
						+ E. faecalis ATCC 29212 or 19433[b]				
				Selectivity	24h / 30°C	E. coli ATCC 25922 or 8739[b]	-	Semi-quantitative	Total inhibition on TSA	-
						E. faecalis ATCC 29212 or 19433			<100 colonies on TSA	



Semi-quantitative streaking method

- Agar solid plates are prepared in the usual manner with about 15 ml of agar. Four parallel lines are drawn with 1 µl loop at ~0.5 cm intervals over sector A. Streaking is prepared for sector B, C and D with a single line (Figure A)
- The growth index (G_I) calculated. Each steaking line showing growth is scored with 1 (maximum =16). The steak is scored as 0.5 if growth only occurs along half of its length. A streak without growth or with scanty growth (less than half the length) is scored as 0.
- G_I should be at least 6 (medium is acceptable)
- G_I for non-selective media is normally higher
- G_I for non-target strains shall be partly or completely inhibited

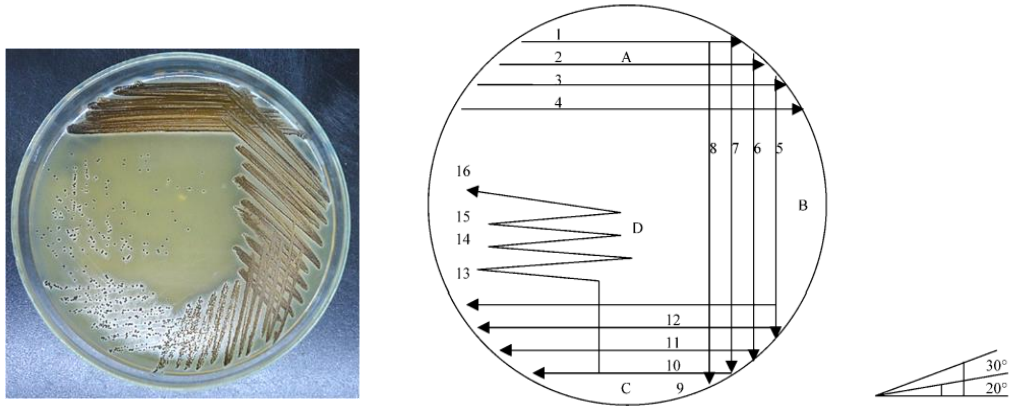


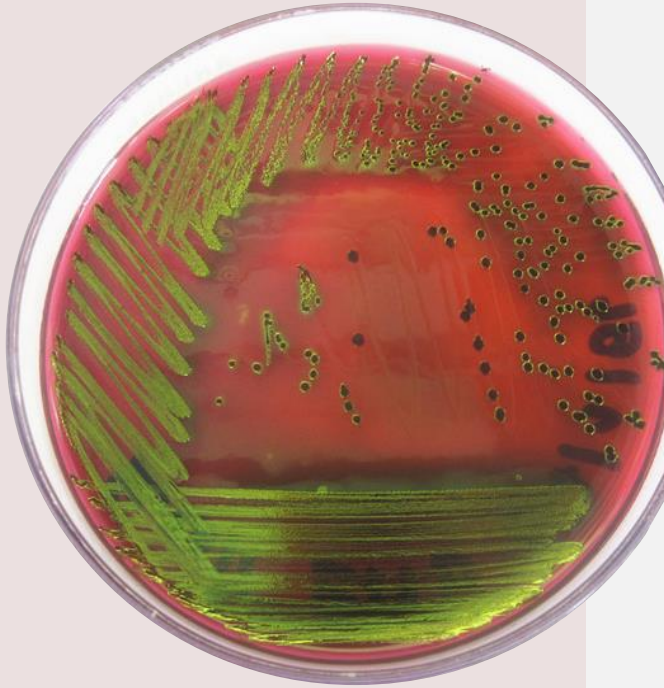
Figure A Pattern of inoculation



Qualitative streaking method

- The test M.O. are streaked in parallel straight lines a 1 µl loop on the surface of the test medium (solid).
- Interpretation of results
  - The growth on the plates after incubation is assessed as
  - 0 corresponds to zero growth
  - 1 corresponds to weak growth
  - 2 corresponds to good growth
- Target M.O. shall score 2 and have typical appearance size and colony morphology.
- The growth of non-target microorganisms shall be partly or completely inhibited

  (0 or 1)

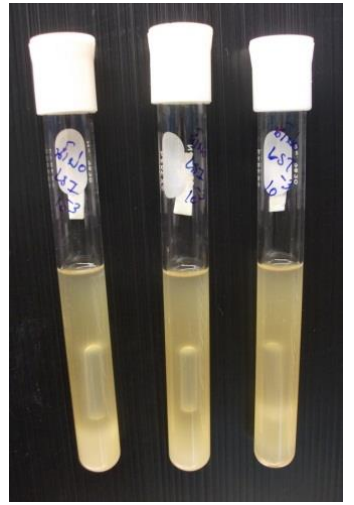


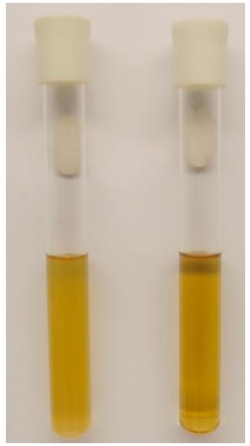


Qualitative single tube method

- The test M.O. are streaked in parallel straight lines a 1 µl loop on the surface of the test medium (liquid culture media).
- Interpretation of results
  - The growth on the plates after incubation is assessed as
  - 0 corresponds to zero turbidity
  - 1 corresponds to very light turbidity
  - 2 corresponds to good turbidity
- Target M.O. shall score 2 and have typical appearance size and colony morphology.
- Cell aggregation / deposit at the base of the tube or bottle can be observed.
- Gas formation, color change etc. can also be assessed











ข้อแนะนำทั่วไปในการประกันคุณภาพสำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ



ระบุ lot ในการผลิต วันหมดอายุ สภาวะในการเก็บรักษา



ตรวจสอบ

- Distributed quantity and or thickness
- Appearance, color and homogeneity
- Moisture content
- PH value
- Buffering capacity
- Microbial contamination (at least 1 plate or tube or 1% of plates or tubes)

Example of card for recording test results of culture media prepared by the user laboratory

Table A.1 — Example of a card

Control card for internal quality testing of culture media				
culture medium:		volume prepared:	pouring date:	internal batch number:
dehydrated medium (& code):	supplier:	batch	amount:	date/signature:
Supplement:	supplier:	batch	amount:	date/signature:
Process details:				
Physical quality control				
expected pH-value:	measured pH:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected quantity filed and/or layer thickness:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected colour:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected clarity/presence of optical artefacts:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected gel stability / consistency / moisture:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
Microbial contamination				
No. of tested plates or tubes: Incubation:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	No. of contaminated plates or tubes:	date/signature:
Microbiological growth —Productivity		Method of control:	Quantitative ☐	Qualitative ☐
strains: incubation: reference medium:	criteria:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	date/signature:
Microbiological growth —Selectivity		Method of control:	Quantitative ☐	Qualitative ☐
strains: incubation: reference medium:	criteria:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	date/signature:
Microbiological growth —Specificity		Method of control:	Quantitative ☐	Qualitative ☐
strains: incubation: reference medium:	criteria:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	date/signature:
Release of the batch				
Details of storage		release of the batch yes ☐ no ☐		date/signature:

Example of card for recording test results of culture media prepared by the user laboratory

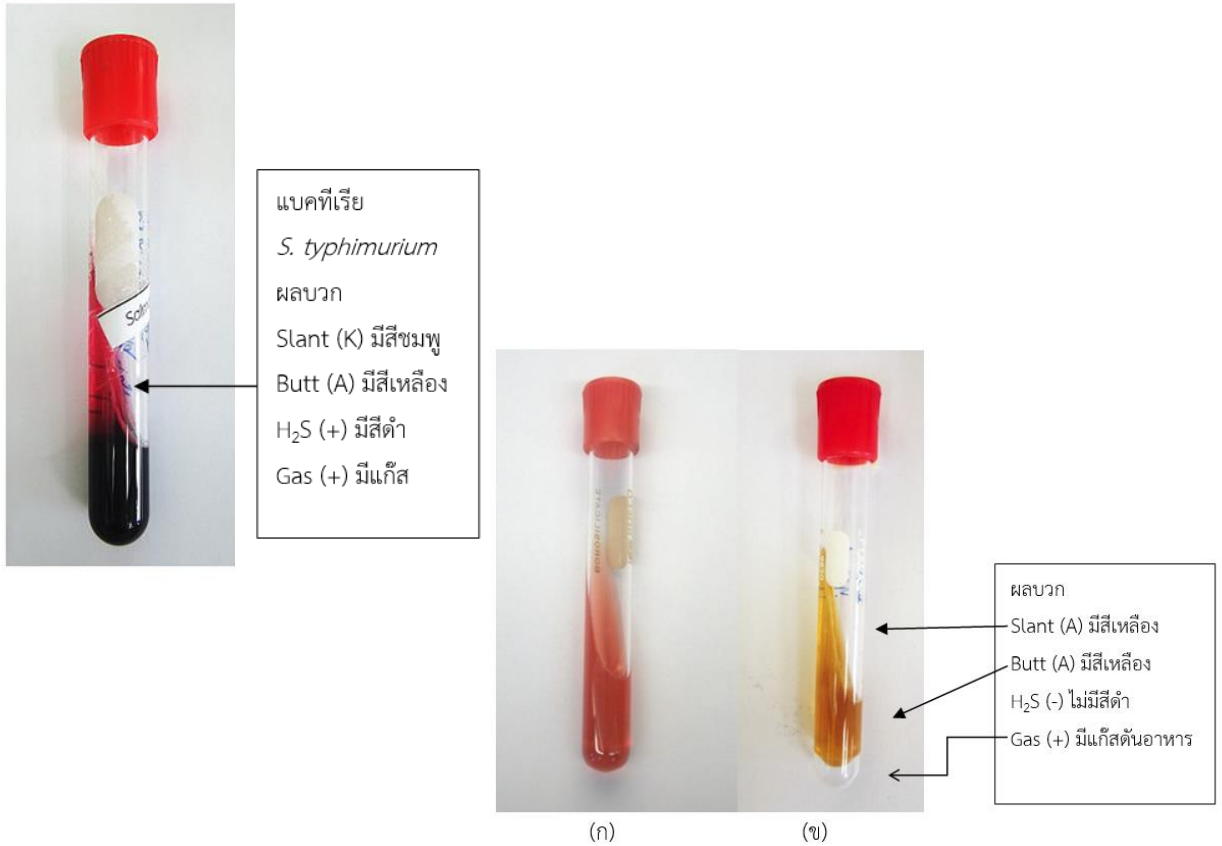
Table A.1 — Example of a card

Control card for internal quality testing of culture media				
culture medium:		volume prepared:	pouring date:	internal batch number:
dehydrated medium (& code):	supplier:	batch	amount:	date/signature:
Supplement:	supplier:	batch	amount:	date/signature:
Process details:				
Physical quality control				
expected pH-value:	measured pH:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected quantity filed and/or layer thickness:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected colour:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected clarity/presence of optical artefacts:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
expected gel stability / consistency / moisture:	observed:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	defects:	date/signature:
Microbial contamination				
No. of tested plates or tubes: Incubation:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	No. of contaminated plates or tubes:	date/signature:
Microbiological growth —Productivity		Method of control:	Quantitative ☐	Qualitative ☐
strains: incubation: reference medium:	criteria:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	date/signature:
Microbiological growth —Selectivity		Method of control:	Quantitative ☐	Qualitative ☐
strains: incubation: reference medium:	criteria:	result:	quality confirmed: yes ☐ no ☐	date/signature:

Biochemical and physiological characteristics and specificity

The colony morphology and the diagnostic features together with the degree of selectivity should be established in order to obtain a complete picture of the performance of the medium

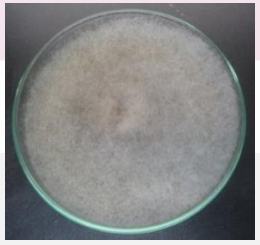
The essential characteristics of specificity shall be defined and achieved. For differential media the quality of biochemical/physiological characteristics of the target microorganisms and the degree of inhibition of non-target microorganisms should be determined with an appropriate set of test strains

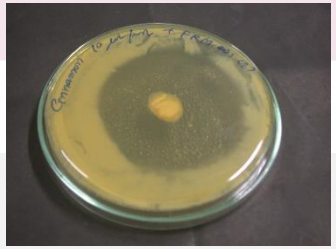
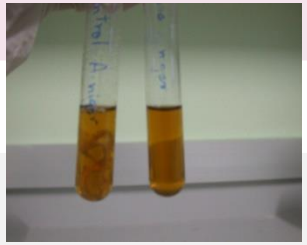


อาหาร TSI (ก) เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 ที่เจริญบนหลอดอาหาร TSI (ข)

Antimicrobial testing characteristics

The antimicrobial action of antibiotics depends upon their agar diffusion characteristics and any antagonistic effects from the components present. Media for testing the presence or absence of antimicrobial substances in food samples should conform to reference methods

Checking the pH of a culture medium





- The pH of most culture media is near neutral.
- The pH of a dehydrated medium should not require adjustment providing it has been prepared correctly using pure water and clean equipment, and it has not been over-autoclaved. The manufacturer's instructions must be followed strictly.
- Minor adjustments should be carried out using 0.1mol/l (N/10) sodium hydroxide when the medium is too acidic, and 0.1 mol/l (N/10) hydrochloric acid when too alkaline.
- When adjusting the pH of a large volume of medium it is best to measure the amount of acid that needs to be added to adjust 10 ml of the medium, and then calculate the amount required to adjust the remaining volume.



Sterility testing of culture media

- Sterility test routinely media to which blood or other substances have been added after autoclaving.
- Incubate 5 % of the batch at 35-37°C overnight. Contamination by microorganisms capable of overnight growth will be shown by turbidity in a fluid medium and growth on or in a solid medium. Media in petri dishes are best examined for contamination immediately before use





Performance testing (QC testing)

- Quality control testing of prepared media is performed by inoculating, say 2% of each batch with control organisms whose growth should be supported on the tested media. For the following media and organisms, testing is performed at 35-37˚C incubation at 5-10 % CO_2.

Culture medium	Recommended control species	Maintenance medium	Subculturing interval
Blood agar	*Streptococcus pyogenes* *Streptococcus pneumoniae*	Cooked meat medium	3 months
	Haemophilus influenzae (with *S.aureus* streak)	Chocolate agar slope (35-37˚C)	1 month
Mac Conkey agar	*Escherichia coli* *Proteus mirabilis*	Nutrient agar semi solid or deep	6 months
SS agar (Salmonell-Shigella agar)	*Shigella* spp. *Salmonella typhimurium*	Dorset egg medium	12 months
	Escherichia coli	Nutrient agar semi solid or deep	6 months

References



- International Organization for Standardization. (2014). Microbiology of food, animal feed and water—preparation, production, storage, and performance testing of culture media. ISO 11133: 2014.
- มอก.2240 เล่ม 1 2548 จุลชีววิทยาอาหารของอาหารและอาหารสัตว์ ข้อแนะนำในการเตรียมและผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อ ข้อแนะนำทั่วไปในการประกันคุณภาพสำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ
- มอก.2240 เล่ม 2 2548 จุลชีววิทยาอาหารของอาหารและอาหารสัตว์ ข้อแนะนำในการเตรียมและผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อ ข้อแนะนำในการปฏิบัติสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ
- Credit some photo from google search



ยินดีต้อนรับค่ะ



ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมน้ำมันหอมระเหย
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร
มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์





Facebook: ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมน้ำมันหอมระเหย

Website: https://essentialoil.wu.ac.th/

Email: wu_essentialoil@hotmail.com