

รายงานการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2539

เรื่อง

การเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar และ MSRVR agar กับ differential medium ชนิดอื่นๆ สำหรับการตรวจหา *Salmonella* ในอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอคติวิตีสูงและอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอคติวิตีต่ำ

โดย

RCH

QR

201

S25

ศ86๗๖

นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 27417
วัน, เดือน, ปี..... 7 พ.ค. 2540

b 10350147

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้สูงและอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้ต่ำ รวมทั้งหมด 458 ตัวอย่างซึ่งจำหน่ายบริเวณบาตวิถีและตลาดในเขตกรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือน สิงหาคมถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2539 นำมาตรวจหาเชื้อ *Salmonella* โดยได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ differential media 6 ชนิด ซึ่งได้แก่ Rambach Agar (RAM) , Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis Medium (MSRV) และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในวิธี standard conventional ได้แก่ Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) , Brilliant Green Agar (BGA), Bismuth Sulphite Agar (BSA) และ Salmonella Shigella Agar (SSA) จากการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้สูง ผลปรากฏว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM และ MSRV มีประสิทธิภาพมากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างเด่นชัดระหว่างประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ RAM และ MSRV ส่วนการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้ต่ำนั้นพบว่า การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM ทำให้ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ได้มากที่สุด

นอกจากนี้ จากการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้สูงและอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้ต่ำ ยังพบว่า มี เชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนในอาหารมากถึง 59 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.9 โดยพบในอาหารเกือบทุกชนิดที่นำมาตรวจสอบ อาหารชนิดที่พบเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนมากที่สุดคือ แหนม (ร้อยละ 38.5) อาหารประเภทยำ(ร้อยละ 26.1) กุนเชียง (ร้อยละ 25.0%) และได้กรอก (ร้อยละ 23.1) เชื้อ *Salmonella* ที่พบในอาหารชนิดต่างๆ นั้นมีทั้งหมด 15 ซีโรวารี่ ซีโรวารี่ที่พบมากที่สุดคือ S. Anatum

ABSTRACT

In this study, the 458 high water activity and low water activity food samples sold along footpaths and markets in Bangkok during August to September 1996 were collected for salmonellae detection. The efficiency of six differential media was compared, including Rambach Agar (RAM), Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis medium (MSRV), and other media used in standard conventional method such as Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD), Brilliant Green Agar (BGA), Bismuth Sulphite Agar (BSA), and Salmonella Shigella Agar (SSA). The results indicated that RAM and MSRV have more efficiency than other media for *salmonella* detection in high water activity food. Furthermore, the results indicated that RAM recovered the greatest number of *Salmonella* isolates in low water activity food.

In addition, the result of salmonellae detection in high water activity food and low water activity food showed that *Salmonella* was found in almost all types of food examined. This pathogenic bacteria was detected in 59 food samples (12.9%). The foods highly contaminated with *Salmonella* were nham (38.5%), yum (26.1%), khun Chiang (25.0%) and sausage (23.1%). Fifteen different serovars of salmonellae were found in various types of food and the most common serovar was *S. Anatum*.

คำนิยม

ผู้วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ของ WHO Salmonella - Shigella Center กองพยาธิวิทยา-
คลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทุกท่านที่ได้กรุณาตรวจยืนยันเชื้อ Salmonella ที่ตรวจพบจากการ
ศึกษาในครั้งนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์และวิธีการ	9
ผลและวิจารณ์	12
สรุป	21
เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	25



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในคน ซึ่งโรคที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้นับวันจะมีการระบาดเพิ่มขึ้น จากการรายงานการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ ของกองวิเคราะห์อาหารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระหว่างปี พ.ศ. 2528 - 2538 พบว่ามีการระบาดเกิดขึ้น 17 ครั้ง และหนึ่งในแบคทีเรียหลายชนิดที่เป็นสาเหตุสำคัญของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษก็คือเชื้อ *Salmonella* (จุไรรัตน์, 2538) เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ในช่วง pH และอุณหภูมิที่กว้าง นอกจากนี้บางสายพันธุ์ยังทนต่อความร้อนและทนต่อการแช่แข็งได้ดีจึงสามารถอยู่รอดได้ในอาหารหลายชนิดดังนั้นการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารจึงมีความสำคัญต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค สำหรับวิธีการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* นั้นมีผู้รายงานว่า การตรวจสอบด้วยวิธี standard conventional นั้นเป็นวิธีที่เสียเวลาและค่าใช้จ่ายสูงซึ่งวิธีการดังกล่าวประกอบด้วย 5 ขั้นตอนได้แก่ การ pre-enrichment การใช้ selective enrichment broth การใช้ selective plating media หรือ differential media การทดสอบทางชีวเคมีและการทำ serological test ในขั้นตอนการตรวจสอบที่ใช้ differential media นั้น อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้จะต้องมีประสิทธิภาพในการคัดเลือกเชื้อ *Salmonella* ได้ดี มิฉะนั้นแล้วผลการทดลองอาจผิดพลาด คือตรวจพบน้อยหรือตรวจไม่พบทั้งๆ ที่มีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนอยู่ อย่างไรก็ตามมีผู้ทดลองใช้ differential media หลายชนิด และเมื่อเร็วๆ นี้มีผู้คิดค้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ได้ดีคืออาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar และ MSRV agar ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่า ในการตรวจหาเชื้อชนิดนี้ในอาหารที่มีปริมาณน้ำอิสระหรือมีค่าวอเตอร์แอกทีวิตี (Aw) ระดับต่างๆ นั้น อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดจะให้ผลการตรวจสอบที่ถูกต้องที่สุด และผลจากการศึกษาในครั้งนี้ยังจะได้ทราบถึงข้อมูลการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่นำมาตรวจสอบซึ่งเป็นอาหารที่จำหน่ายบริเวณแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานคร เพื่อที่จะเป็นข้อมูลให้กับผู้บริโภคในการเลือกซื้ออาหารมารับประทานและเป็นข้อมูลให้กับผู้ผลิตเพื่อที่จะนำไปแก้ไขปรับปรุงให้สามารถผลิตอาหารได้อย่างถูกสุขลักษณะมากขึ้น และเป็นแนวทางในการเฝ้าระวังการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Salmonella*

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar และ MSRVR agar กับ differential medium ชนิดอื่นๆ ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้สูง และอาหารที่มีค่าวอเตอร์แอ็คติวิตี้ต่ำ
2. เพื่อแยกเชื้อ และจำแนกชนิดของเชื้อ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารชนิดต่างๆ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

Salmonella เป็นเชื้อที่อยู่ในสกุล *Enterobacteriaceae* เป็นเชื้อที่พบได้ในทุกหนทุกแห่งทั่วโลก พบได้ในคน สัตว์เลี้ยง นก แมลง และสัตว์ทั่วไป นอกจากนี้ยังพบว่ามีการปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่ม *Salmonella* จึงเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร โดยเฉพาะโรคอุจจาระร่วง เชื้อชนิดนี้ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ มีขนาดประมาณ 0.5 x 1-3 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีอากาศ และมีอากาศน้อย (Facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนไหวได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ ยกเว้น *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* และ บางสายพันธุ์ไม่มีแฟลกเจลลาจึงไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยทั่วไป *Salmonella* สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส และเมนิทอลได้ แต่ไม่สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลซูโครส แลคโทส และซอร์บิต ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฟอสเฟตเชื้อชนิดนี้จะไม่สามารถสร้างอินโดลและไม่สามารถย่อยสลายยูเรียมีปฏิริยาออกซิเดสเป็นลบ ส่วนใหญ่สามารถใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน เพียงอย่างเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ยกเว้น *S. Typhi* และ *S. Paratyphi* เชื้อ *Salmonella* ทั่วไปสามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ยกเว้น *S. Enteritidis*, *S. Paratyphi A* และ *S. Choleraesuis* เชื้อชนิดนี้เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ขอบเรียบผิวมัน เจริญได้ที่อุณหภูมิ 37-45° C และ pH 4.5-9.0 อุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 42° C (บุญเทียม, 2537; อรุณและคณะ, 2535)

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่มีเพียง 1 สปีชีส์ (Species) เท่านั้น คือ “enteritica” ซึ่งเป็นคำแสดงคุณลักษณะที่ไม่เคยใช้เรียก *Salmonella* ในซีโรวาร (serovars) ใดๆ มาก่อนโดยที่ *Salmonella enteritica* จะแบ่งออกเป็น 7 Subspecies คือ I, II, IIIa, IIIb, IV, V และ VI ซึ่งก็คือ subspecies ดังนี้ *enteritica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *bongari* และ *indica* ตามลำดับ แต่ละ subspecies จะแยกออกเป็นซีโรวารต่างๆ เชื้อ *Salmonella* ใน subspecies I จะพบมากที่สุดคือ 1,299 ซีโรวาร เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค พบในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ สำหรับเชื้อใน subspecies II - VI พบในลำไส้ของสัตว์เลือดเย็นหรือจากสิ่งแวดล้อม มีจำนวนประมาณ 914 ซีโรวาร (วัฒนาลัย, 2538; อรุณและคณะ, 2535)

การเขียนชื่อของ *Salmonella* ใน subspecies I จะมีวิธีเขียนที่แตกต่างไปจากกลุ่มอื่น คือเขียนเฉพาะชื่อจิ้นัส (genus) และชื่อซีโรวาร ถ้าหากเขียนทั้งหมดคือชื่อจิ้นัส ชื่อสปีชีส์ และชื่อซีโรวาร ซึ่งยาวทำให้เสียเวลามาก ฉะนั้นเพื่อมิให้สับสนกับสปีชีส์จึงได้มีการเขียนชื่อซีโรวาร เป็นอักษรตัวตรงและขึ้นต้นด้วยตัวพิมพ์ใหญ่ เช่น *Salmonella Paratyphi* หรือ *S. Paratyphi* หรืออาจเขียนเฉพาะชื่อซีโรวารก็ได้ เช่น Typhimurium ส่วน *Salmonella* ใน subspecies II, IV, V และ VI จะเขียนในรูปของชื่อ subspecies และชื่อเต็มตามชื่อจิ้นัส เช่น *S. II Mobeni* สำหรับเชื้อ *Salmonella* ใน subspecies IIIa, IIIb และ เชื้อที่ยังไม่ทราบซีโรวารจะเขียนโดยระบุกลุ่มของแอนติเจน (วัฒนาลัย, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือเป็นของนักวิชาการเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจหา *Salmonella* ในอาหาร

การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ด้วยวิธี standard conventional วิธีนี้เป็นวิธีใช้กันทั่วไป ซึ่งประกอบด้วย 5 ขั้นตอน คือ ขั้นที่ 1 การใช้ pre-enrichment broth ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารที่มีคุณค่าสูง ขั้นที่ 2 การใช้ selective enrichment broth ซึ่งจะคัดเลือกเฉพาะ *Salmonella* แต่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่น ขั้นที่ 3 การใช้ selective plating media ในขั้นนี้จะถ่ายเชื้อจาก selective enrichment broth ลาก (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ จากนั้นจะคัดเลือกโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Salmonella* ไปทดสอบใน ขั้นที่ 4 ซึ่งเป็นการทดสอบทางชีวเคมี และนำเชื้อที่แยกได้ไปทดสอบใน ขั้นที่ 5 ซึ่งเป็นการทดสอบทางซีโรวิทยา (serological test) (Andrews, 1985) วิธีนี้สามารถตรวจสอบได้ว่าเชื้อที่แยกได้เป็นเชื้อ *Salmonella* หรือไม่ รายละเอียดของการตรวจสอบในขั้นต่างๆ มีดังนี้

สำหรับในขั้นแรกคือ การ pre-enrich ด้วยตัวอย่างอาหารด้วยอาหารเหลวที่มีคุณค่าโดยในขั้นนี้จะนำตัวอย่างอาหารใส่ลงในอาหารเสริมประเภท non-selective คือไม่มีสารยับยั้งที่เรียกว่า pre-enrichment broth โดยจะทำให้ตัวอย่างอาหารเจือจางเป็น (1:10) จุดประสงค์ของขั้นตอนนี้ก็เพื่อให้เชื้อ *Salmonella* ที่อยู่ในสภาพที่อ่อนแอ หรือไม่ active นั้นกลับมามีชีวิตในสภาพที่สมบูรณ์ อาหารเลี้ยงเชื้อประเภทนี้ที่ใช้กันมาก ได้แก่ Lactose Broth และ Buffered Peptone Water (BPW) (Varnam และ Evans, 1991)

ขั้นต่อไปเป็นการใช้ selective enrichment ซึ่งเป็นขั้นตอนที่นำตัวอย่างอาหารที่เจือจางเป็น 1:10 แล้ว ใส่ลงในอาหารเหลวที่มีสารยับยั้ง เช่น bile, tetrathionate, selenite และสีเขียวพวก brilliant green และ malachite green ในอาหารเหลวประเภทนี้ จะคัดเลือกเฉพาะเชื้อ *Salmonella* ให้สามารถเจริญและแบ่งตัวได้ แต่จะยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียลบที่ไม่ก่อโรค selective enrichment broth ที่ใช้กัน ได้แก่ Tetrathionate Broth, Selenite F Broth, Selenite Cystine Broth, Brilliant Green MacConkey Broth (Varnam และ Evans, 1991) ต่อมา International Standard Organization (ISO) ได้แนะนำให้ใช้ Muller-Kauffmann Tetrathionate Broth โดยบ่มที่ 43° C หลังจาก pre-enrich ด้วย BPW (Anon, 1975) และในปี 1976 Vassiliadis และคณะได้แนะนำให้ใช้ Rappaport's broth (R 10) โดยบ่มที่ 43° C ต่อมาจึงได้มีการคิดค้นอาหารเลี้ยงเชื้อประเภทนี้ขึ้นใหม่ เรียกว่า Rappaport-Vassiliadis medium (RV) ซึ่งพัฒนามาจาก R10 โดยลดปริมาณ malachite green ลงเหลือ 0.004% น้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อแก้ปัญหาการยับยั้งที่มากเกินไป สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ RV นี้มีผู้ศึกษาพบว่า มีความเหมาะสมมากต่อขั้นตอนนี้ทำให้เชื้อ *Salmonella* เพิ่มจำนวนขึ้น นอกจากนี้ Beckers และคณะ (1987); Vassiliadis (1983) ยังได้ศึกษาพบว่า RV ให้ผลดีกว่า TT ในการแยกเชื้อ *Salmonella* จากตัวอย่างอาหารหลายชนิดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อชนิดนี้ และยังพบว่าอัตราส่วนของ

เอกสารนี้ลอกสำเนาขึ้นใหม่โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่และใช้ประโยชน์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณตัวอย่าง (จาก pre-enrichment broth) ต่อปริมาณ RV จะต้องน้อยจึงจะให้ผลดี โดยทั่วไป แนะนำให้ใช้ 1:100

ในขั้นตอนที่สามเป็นการใช้ Selective plating media โดยใช้ลูป ถ่ายเชื้อจาก selective enrichment broth ลาก (streak) ลงบน selective plating media หรือ differential media อาหารเลี้ยงเชื้อประเภทนี้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารยับยั้ง เช่น bile salts, sodium deoxycholate, brilliant green เป็นต้น สารยับยั้งเหล่านี้จะยับยั้งไม่ให้แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่ก่อโรค- อูจจาระร่วงเจริญและแบ่งตัวได้ มีเฉพาะแบคทีเรียที่ก่อโรคอุจจาระร่วง เช่น *Salmonella* เจริญได้เท่านั้น ลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *Salmonella* ที่ปรากฏขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อประเภทนี้ มีความสำคัญมากต่อการแยกเชื้อ *Salmonella* ซึ่งลักษณะของโคโลนีที่ปรากฏขึ้นขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาของจุลินทรีย์กับ substrate เฉพาะบางอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนั้นๆ เช่นใน Brilliant Green Agar (BGA) เชื้อ *Salmonella* จะมีโคโลนีสีชมพูและพื้นอาหารรอบๆจะมีสีแดง ใน Bismuth Sulphite Agar (BGA) เชื้อ *Salmonella* จะมีโคโลนีสีดำมีลักษณะเป็นมันวาวคล้ายโลหะ ใน Salmonella Shigella agar (SSA) จะมีโคโลนีสีชมพูซีดหรือไม่มีสี อาจทึบหรือโปร่งแสง ใน Dexycolate Citrate Agar (DCA) จะมีโคโลนีไม่มีสีล้อมรอบด้วยพื้นสีดำ ใน Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) จะมีโคโลนีสีแดงพร้อมทั้งมีจุดดำตรงกลาง (Varnam และ Evans, 1991; Varadaraj, 1993) อย่างไรก็ตามอาหารเลี้ยงเชื้อ differential media ที่ใช้กันทั่วไปนั้น จะให้ลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* ที่แตกต่างจากโคโลนีของจุลินทรีย์ชนิดอื่นอย่างไม่เด่นชัดนัก ดังนั้นในปี 1990 นาย Rambach ซึ่งเป็นชาวฝรั่งเศสได้พัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ขึ้น คือ Rambach agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยก *Salmonella* ซึ่งสีของโคโลนีจะแตกต่างจาก enteric bacteria ชนิดอื่นอย่างเห็นได้ชัด อาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach ประกอบด้วย propylene glycol 10 กรัม peptone 5 กรัม yeast extract 2 กรัม sodium deoxycholate 1 กรัม neutral red 0.03 กรัม X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-galactopyranoside) 0.1 กรัม รุน 15 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร การที่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach มี propylene glycol นั้น *Salmonella* ที่ไม่ใช่ *S. Typhi* จะเปลี่ยน propylene glycol เป็นกรด propionic ในสภาพที่เป็นกรดเช่นนี้ อินดิเคเตอร์ที่มีอยู่ คือ neutral red จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ทำให้โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* ดังกล่าวมีสีแดง ส่วนการที่มี X-gal เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็มีประโยชน์เช่นกัน โดยจะทำให้เกิดความแตกต่างของสีโคโลนีของ *Salmonella* กับสีโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นในสกุล *Enterobacteriaceae* ที่สามารถให้แลคโตสได้ เนื่องจากเอนไซม์ β -galactosidase ที่แบคทีเรียที่สร้างขึ้นจะไปย่อย X-gal ให้เป็น Bromochloroindico ซึ่งมีสีน้ำเงิน ทำให้สีของโคโลนีเป็นสีน้ำเงิน แบคทีเรียสร้างเอนไซม์ β -galactosidase และให้โคโลนีสีน้ำเงินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach ได้แก่ *E. coli* และ *Krebsiella* ส่วนแบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างกรดและเอนไซม์ β -galactosidase ได้ ก็จะทำให้โคโลนีที่ไม่มีสีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach เช่น *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* และ *Proteus* (วัฒนาลัย, 2538; Rambach, 1990) แต่ต่อมาได้มีผู้พบว่า *Salmonella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยและพัฒนาเท่านั้น มิใช่เพื่อใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

subspecies IIIa, IIIb และ IV ก็สามารถสร้างเอนไซม์ β -galactosidase ได้ ทำให้โคโลนีบน อาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach เป็นสีเขียวแกมน้ำเงินทำให้ไม่สามารถแยกออกจาก *E.coli* และ แบคทีเรียในสกุล *Enterobacteriaceae* ชนิดอื่นๆ ที่สามารถใช้แลคโตสได้ (Kühn และคณะ, 1994)

หลังจากที่พบโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Salmonella* จะทำการถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron Agar (TSI) และ Lysine Indole Motility medium (LIM) ถ้าหากเชื้อนั้นเป็น *Salmonella* ก็จะทำให้ผลใน TSI และ LIM ดังนี้ คือใน TSI บริเวณ slant จะมีสีแดง บริเวณ butt จะมีสีเหลือง อาจมีตะกอนสีดำหรือไม่ก็ได้ ส่วนใน LIM จะมีสีม่วงทั้งหมด และมีลักษณะพุ่งจากการเคลื่อนที่ของเชื้อ *Salmonella* เชื้อที่ให้ผลบวกใน TSI และ LIM จะถูกนำมาทดสอบทางซีโรวิทยาต่อไป (Varadaraj, 1993)

ในการตรวจหา *Salmonella* โดยใช้วิธี standard conventional นั้นต้องใช้เวลาามากกว่าจะทราบผล จึงได้มีผู้พยายามใช้วิธีรวดเร็วในการตรวจสอบเช่นวิธีทาง immunological (อิมมิวโนวิทยา) และวิธีทาง nonimmunological สำหรับวิธีทาง immunological ได้แก่ fluorescent antibody technique, enrichment serology, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), direct immunoenzyme และ membrane filter disc immun-immobilization assay ส่วนวิธีทาง nonimmunological ได้แก่ การใช้ lysine-iron-cystine-neutral red broth, 14 C-dulcitol radiometric technique, hydrophobic-grid-membrane technique และ DNA hybridization (D' Aoust, 1984) เมื่อเร็วๆ นี้ได้มีผู้แนะนำให้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MSRV (Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis medium) ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* วิธีนี้ให้ผลการตรวจสอบที่รวดเร็วและเสียค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธี standard conventional โดยสามารถทดสอบยืนยันเชื้อ *Salmonella* ทางซีโรวิทยาได้ภายใน 48 ชั่วโมงนับตั้งแต่เริ่มทำ pre-enrichment (De Smedt, 1986)

MSRV เป็น selective enrichment agar ที่มีลักษณะเป็นอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หลังจากที่ทำ pre-enrich ด้วยตัวอย่างใน Buffered Peptone Water (BPW) แล้วจะหยดสารละลายนี้ลงบน MSRV นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 42°C ประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ด้วย MSRV นี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อ การเจริญที่ 42°C และการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นของสารยับยั้งที่เป็นส่วนประกอบใน MSRV ได้แก่ มาลาไคท์กรีน (malachite green) และ โนวิไบโอซิน (novobiocin) (De Smedt และ Bolderdijk, 1987 ; O'Donoghue, 1992) ในปัจจุบันได้มีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้กันมากขึ้นในการแยกเชื้อ *Salmonella* ในอุจจาระผู้ป่วย ในสิ่งต่างๆ ที่มาจากสัตว์ปีก และในผลิตภัณฑ์เนื้อ (Pope และ Duncan, 1996)

ในการเตรียม MSRV นั้นจะต้องเตรียมสารละลาย ขึ้น 3 ชนิด ก่อนคือ สารละลาย A สารละลาย B และสารละลาย C แล้วจึงนำสารละลายทั้งสามมาผสมกัน ซึ่งจะต้องทำการเตรียมสารละลาย A โดยละลายทริปโตส (tryptose) 5 กรัม เคซีนไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) 5 กรัม เกลือโซเดียมคลอไรด์ 8 กรัม KH_2PO_4 1.6 กรัม ในน้ำกลั่น 600 ml จากนั้นจึงเติมสารละลาย B 80 มล. และสารละลาย C 10 มล. ซึ่งจะทำให้การเตรียมสารละลาย B ได้โดยละลาย $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 400

กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร หรือเท่ากับ 31.8% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และสารละลาย C เตรียมได้โดยละลายมาลาไคท์กรีนออกซาเลต (malachite green oxalate) 0.4 กรัมในน้ำกลั่น 100 มล. แล้วจากผสมส่วนผสมต่างๆ เข้าด้วยกันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115° C 15 นาที ทำให้เย็นลงถึง 50° C แล้วจึงเติมวุ้น 0.74% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และเติมสารละลายโนโวไบโอซิน ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ถูกทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรอง (De Smedt, 1987)

Salmonella และการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* กำลังเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญในปัจจุบันนี้ถึงแม้ว่า แบคทีเรียในจีนัส *Salmonella* จะมีมากถึง 2,300 ซีโรวาร์กก็ตาม แต่ก็มีเพียง *Salmonella enteritica* subsp. *enterica* เท่านั้นที่ติดต่อไปสู่คน เชื้อ *Salmonella* ใน subspecies นี้ทั้งหมดเป็นเชื้อ *Salmonella* ก่อให้เกิดโรคในสัตว์ ซึ่งมักจะถ่ายเทสู่คนและปนเปื้อนไปสู่อาหาร เช่นไข่ สัตว์ปีก เนื้อ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อ โดยเฉพาะในช่วง 10 ปี ที่ผ่านมา ได้มีรายงานการระบาดของเชื้อ *S. Enteritidis* มากในหลายประเทศ แถบยุโรป รวมทั้งอเมริกาเหนือ และอเมริกาใต้ เชื่อกันว่าเชื้อชนิดนี้ส่วนใหญ่ ถ่ายเทไปสู่คนโดยผ่านทางไข่ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ (Pignato และคณะ, 1995)

การเกิดโรคจากเชื้อ *Salmonella* มีสาเหตุจากสารพิษ 2 ชนิดที่สร้างโดยแบคทีเรียชนิดนี้ คือ เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) และไซโตทอกซิน (cytotoxin) โดยที่เอนเทอโรทอกซินจะมีผลต่อ adenylate cyclase system ทำให้ปริมาณ cAMP ในลำไส้เพิ่มขึ้นและชักนำให้เกิดการสะสมของของเหลวภายในเซลล์ของลำไส้ ส่วนไซโตทอกซินจะไปทำลายเซลล์บุผนังลำไส้ทำให้เชื้ออื่นๆ เข้าทำลายเยื่อบุผนังลำไส้ได้ง่าย ทำให้ลำไส้อักเสบ เยื่อบุผนังลำไส้ถูกทำลายเพิ่มมากขึ้น (บุญเทียม, 2537)

โรคที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Salmonella* อาจแบ่งตามอาการได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. Enteric Fever เป็นโรคที่มีไข้สูง ได้แก่ ไข้รากสาด (typhoid fever) และไข้รากสาดน้อย (paratyphoid fever) โรคไข้รากสาด มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. Typhi* เป็นโรคที่รุนแรงที่สุดที่เกิดจากแบคทีเรียสกุลนี้ เชื้อ *S. Typhi* ที่ปนเปื้อนกับอาหารเข้าไปจะผ่านลำไส้เล็กแล้วเข้าสู่กระแสโลหิตกระจายสู่อวัยวะต่างๆ ผู้ป่วยจะมีอาการอ่อนเพลีย ปวดศีรษะ มีไข้สูงเป็นเวลานาน ไอ เบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย หรือท้องผูก ชีพจรเต้นช้า ท้องบวมและนุ่ม ม้ามโต มีเลือดกำเดาไหล เลือดออกเป็นจุดๆ ใต้ผิวหนัง บริเวณหน้าอก และลำตัว เหงื่อออกมาก รู้สึกหนาว ตัวสั่น มึนงง และถ้าอาการรุนแรงจะถ่ายเป็นเลือด โรคนี้จะมีระยะฟักตัวของเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ หรือ 7-28 วันหลังจากได้รับเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ได้รับจะต้องมากกว่า 10 เซลล์ต่อกรัม จึงจะทำให้เกิดโรคได้ ส่วนไข้รากสาดน้อยมีลักษณะการเกิดโรค และอาการคล้ายกับไข้รากสาด แต่เชื้อที่เป็นสาเหตุคือ *S.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมหนังสือเรียบร้อยแล้วต้องนำคืนให้โรงเรียน
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paratyphi มีอาการรุนแรงน้อยกว่าใช้รากสาด มีระยะฟักตัวของเชื้อสั้นกว่า และมีไข้ต่ำกว่า (บุญเทียม, 2537)

2. Septicemia เชื้อ *Salmonella* เข้าสู่กระแสโลหิตโดยตรง สามารถตรวจพบเชื้อนี้ได้ ในกระแสโลหิต โดยไม่มีอาการของโรคอุจจาระร่วง ผู้ป่วยมีอาการไข้สูงเป็นระยะๆ ตับและม้ามโต น้ำหนักลด เชื้องซึม อาจทำให้เกิดอาการปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เยื่อปอดอักเสบ เชื้อที่เป็นสาเหตุ ได้แก่ *S. Choleraesuis* (อรุณและคณะ , 2535)

3. Gastroenteritis เชื้อ *Salmonella* ส่วนมากจะทำให้เกิดอาการแบบที่ 3 นี้ โดยเชื้อติดเข้าไปกับอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไข่ นม หรือสิ่งอื่นๆ ผู้ป่วยเมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป เชื้อจะแทรกเข้าไปอยู่ในเยื่อลำไส้เล็กส่วนกลาง ระยะฟักตัวของเชื้อประมาณ 8-24 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการอักเสบ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง มีไข้เล็กน้อย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 ตัวอย่างอาหาร

ในการทดลองครั้งนี้ ได้ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารทั้งหมด 458 ตัวอย่าง ที่จำหน่าย บริเวณบาทวิถีในแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานคร รวม 8 เขต ดังนี้ เยาวราช ลาดพร้าว บางเขน รามอินทรา บางกะปิ รามคำแหง มีนบุรี และลาดกระบัง ระหว่างเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน 2539 อาหารที่สุ่มตัวอย่างมาตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลานั้น แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ อาหารที่มีค่า a_w สูง และ อาหารที่มีค่า a_w ต่ำ สำหรับกรณีของอาหารที่มีค่า a_w สูงนั้น สุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์รวม 11 ชนิด มีจำนวนทั้งหมด 326 ตัวอย่าง ได้แก่ ส้มตำ ไข่กรอกอีสาน ลูกชิ้นปิ้ง อาหารประเภทยำ ขนมจีน แหนม ไข่กรอก ผลไม้ดอง มะกอกทรงเครื่อง และไอศกรีม และเครื่องดื่ม ส่วนอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ สุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์รวม 6 ชนิด มีจำนวนทั้งหมด 132 ตัวอย่าง ได้แก่ มะขามคลุกน้ำตาล ขนมเบื้อง ฝอยทอง ขนมปังกรอบไส้ครีม (ชนิดแบ่งจำหน่าย) ถั่วลิสงปั่น และ กุนเชียง

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ได้แก่ Buffered Peptone Water (BPW), Tetrathionate Broth (TT, Difco), Selenite Cystein Broth (SC, Difco), Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis Medium (MSRV, Mast Diagnostics), Rambach Agar (RAM, Merck), Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD, Difco), Bismuth Sulfite Agar (BSA, Difco), Brilliant Green Agar (BGA, Difco), Salmonella-Shigella Agar (SSA, Difco), Triple Sugar Iron Agar (TSI, Difco), Lysine Indole Motility Medium (LIM, Difco), Antiserum และ Kovac's Reagent

2. วิธีการ

ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในการทดลองนี้ ได้ใช้ทั้งวิธี standard conventional และวิธี Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) เพื่อ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

2.1 การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* โดยวิธี standard conventional

(สูมาลีและคณะ , 2539 ; AOAC,1990)

2.1.1 ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม BPW ปริมาณ 225 มล. นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที ถ่ายใส่ขวดที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ใช้ปิเปตต์ดูดสารละลายจาก BPW 1 มล. ใส่ลงในหลอดทดลอง 2 หลอดที่บรรจุ TT และ SC ชนิดละ 10 มล. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม.

2.1.3 ใช้ลูปเย็บเชื้อถ่ายเชื้อจาก TT และ SC ลาก (steak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด คือ RAM, XLD, BSA, BGA และ SSA โดยใช้เทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว จากนั้นนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม.

2.1.4 ตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็นเชื้อ *Salmonella* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* บน RAM จะมีสีแดงสด ยกเว้น *S. Paratyphi A* และ *S. Paratyphi B* จะไม่มีสี (ทงนพันธ์และอชฌมา,2535) บน XLD โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* จะมีรูปร่างกลมขนาดปานกลาง มีสีแดง และมีจุดดำตรงกลาง บน BSA โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* จะมีสีดำเงาวาว อาหารที่อยู่ใต้โคโลนีก็จะดำด้วย บน BGA โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* จะมีรูปร่างกลม ขนาดปานกลาง สีชมพู หรือขาวทึบแสง และบน SSA โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* จะมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก โปร่งแสง ไม่มีสีหรือสีเหลืองซีด ขอบเรียบ ส่วนมากจะสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์สีดำตรงกลาง โคโลนี (อรุณและคณะ,2535)

2.1.5 เลือกโคโลนีที่สงสัยว่าจะเป็นเชื้อ *Salmonella* โดยพยายามเลือกโคโลนีที่อยู่เดี่ยว ๆ ถ่ายเชื้อลงในอาหาร TSI และ LIM โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วแต่เชื้อ แล้วลากบนผิวหน้า slant ของอาหาร TSI ก่อนแล้วจึงแทง (stab) ลงในวุ้นจนถึงก้นหลอด จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้ออันเดียวกัน (ไม่ต้องเผาไฟ) แทงลงในอาหาร LIM นำหลอดทั้งสองไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม.

2.1.6 อ่านปฏิกิริยาของอาหาร TSI และ LIM สำหรับเชื้อ *Salmonella* จะให้ผลการทดสอบในอาหาร TSI ตรงส่วน slant เป็นสีของอาหาร (แดง) ส่วน butt จะเป็นสีเหลือง อาจมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือไม่ก็ได้ โดยสังเกตจากอาหารจะเป็นสีดำ ส่วนในอาหาร LIM นั้น เชื้อ *Salmonella* จะให้ผลของ lysine เป็นบวกคือ มีสีม่วง อาจมีรอยขุ่นขาวรอบรอย stab คือให้ผลของ motility เป็นบวก และทดสอบการสร้างอินโดล (indole) โดยใช้ Kovac's reagent หยดลงบนผิวของอาหาร LIM สำหรับเชื้อ *Salmonella* จะให้ผลการสร้างอินโดลเป็นลบ คือเกิดสีเหลือง ถ้าเป็นบวกจะเกิดสีแดง จากนั้นคัดเลือกเชื้อที่สงสัยว่าจะเป็นเชื้อ *Salmonella* ไปทดสอบกับ antiserum เพื่อหาซีโรกรุ๊ป โดยการทำให้ slide agglutination แล้วจึงส่งเชื้อไปตรวจยืนยันที่ศูนย์ WHO National Salmonella and Shigella Center กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

2.2 การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* โดยวิธี Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) (สุมาลีและคณะ,2539)

2.2.1 ถ่ายเชื้อจาก BPW หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม. แล้ว (ในข้อ 2.1.1) โดยใช้ปิเปตต์ดูดมา 0.1 มล. หยดลงบนผิวหน้าของอาหาร MSRV จำนวน 5 หยด โดยให้แต่ละหยดห่างเท่า ๆ กัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42°C นาน 18 - 24 ชม.

2.2.2 อ่านผลบนอาหาร MSRV โดยพิจารณาสีของอาหาร MSRV รอบ ๆ หยดตัวอย่าง ถ้าหากตัวอย่างนั้นมีเชื้อ *Salmonella* จะปรากฏเป็นสีขาวขุ่นรอบ ๆ จุดที่หยดเชื้อลงไป เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* มีแฟลกเจลลาจะเจริญและเคลื่อนที่ไปรอบ ๆ จุดที่หยดเชื้อ หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อตะเชื้อตรงจุดที่แผ่ไปไกลที่สุดจากตำแหน่งที่หยดเชื้อ โดยถ่ายเชื้อลงในอาหาร TSI และ LIM แล้วทำการทดสอบขั้นต่อไป เช่นเดียวกับวิธี standard conventional



ผลและวิจารณ์

1. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ differential medium ชนิดต่างๆ ในการตรวจหา

Salmonella

จากการสุ่มตัวอย่างอาหารที่มีค่า a_w สูง และอาหารที่มีค่า a_w ต่ำรวมทั้งหมด 458 ตัวอย่างที่จำหน่ายบริเวณบาทวิถีและตลาดในแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานคร รวม 8 เขต มาตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ปรากฏว่ามีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนในอาหารทั้งหมด 59 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.9 ซึ่งได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 6 ชนิด คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM, MSRV และ differential media อีก 4 ชนิดที่ใช้กันทั่วไปตามวิธี standard conventional ได้แก่ XLD, BGA, BSA และ SSA ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 และตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อในการตรวจหา *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w สูง

ชนิดของอาหาร	ค่า a_w ค่าเฉลี่ย	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด/ จำนวนตัวอย่างที่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบ <i>Salmonella</i>					
			RAM	MSRV	XLD	BGA	BSA	SSA
ส้มตำ	>0.99	32/3	1	1	1	0	1	0
ไส้กรอกอีสาน	0.97	20/2	2	0	0	0	0	0
ลูกชิ้นปิ้ง	>0.99	40/2	1	0	0	0	0	2
อาหารประเภทยำ	>0.99	23/6	3	3	0	0	1	0
ขนมจีน	>0.99	32/6	4	0	0	0	1	3
แหนม	0.97	39/15	4	9	0	0	0	1
ไส้กรอก	0.98	26/6	3	2	1	1	1	0
ผลไม้ดอง	>0.99	32/1	0	0	0	0	1	0
มะกอกทรงเครื่อง	>0.99	10/1	1	0	0	0	0	0
ไอศกรีม	>0.99	22/1	1	0	0	0	1	1
เครื่องดื่ม	1.00	50/5	2	2	0	0	3	1
รวม	-	326/48	22	17	2	1	9	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อในการตรวจหา *Salmonella* จากอาหารที่มีค่า aw ต่ำ

ชนิดของอาหาร	ค่า aw เฉลี่ย	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด/ จำนวนตัวอย่างที่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบ <i>Salmonella</i>					
			RAM	MSRV	XLD	BGA	BSA	SSA
มะขามคลุกน้ำตาล	0.54	32/1	1	0	0	0	0	0
ขนมเบื้อง	0.50	16/0	0	0	0	0	0	0
ฝอยทอง	0.75	21/0	0	0	0	0	0	0
ขนมปังกรอบไส้ครีม	0.15	24/2	2	0	1	1	1	2
ถั่วลิสงป่น	0.42	19/3	3	0	0	2	0	3
กุนเชียง	0.71	20/5	5	2	0	0	0	2
รวม	-	132/11	11	2	1	3	1	7

ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า aw สูง 11 ชนิด ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ จากตารางที่ 1 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM และ MSRV ให้ผลดีกว่า differential media ชนิดอื่นๆ ที่นิยมใช้ในวิธี standard conventional ซึ่งก็คือ XLD, BGA, BSA และ SSA โดยสามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM มากที่สุดคือ 22 ตัวอย่าง รองลงมาเป็น MSRV (17 ตัวอย่าง) BSA (9 ตัวอย่าง) SSA (8 ตัวอย่าง) XLD(2 ตัวอย่าง) และ BGA(1 ตัวอย่าง) แต่เมื่อนับจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดรวมกัน ปรากฏว่า พบเชื้อชนิดนี้ปนเปื้อนในอาหารทั้งหมด 48 ตัวอย่าง ซึ่งมากกว่าจำนวนที่พบในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด จะเห็นได้ว่าถ้าหากใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งในการตรวจวิเคราะห์ จะทำให้ได้ผลการทดลองที่ไม่ถูกต้อง คือตรวจพบ *Salmonella* น้อยต่างๆ ที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ แต่เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างระหว่างประสิทธิภาพของ RAM และ MSRV ในการตรวจหา *Salmonella* แล้วพบว่าค่อนข้างผันแปรขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่นำมาตรวจวิเคราะห์ ในตัวอย่างอาหารส่วนใหญ่ RAM จะให้ผลที่ใกล้เคียงหรือดีกว่า MSRV ยกเว้นในแฮม ซึ่ง MSRV มีประสิทธิภาพดีกว่า คือตรวจพบ *Salmonella* มาก ถึง 9 ตัวอย่าง ในขณะที่ RAM พบเพียง 4 ตัวอย่าง ดังนั้นจึงไม่สามารถสรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดจะมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการตรวจหา *Salmonella* แต่พอจะสรุปได้ว่า การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM และ MSRV ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ หลายชนิดในวิธี standard conventional ในการตรวจหา *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า aw สูง จะทำให้สามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ได้มากกว่าการใช้วิธี standard conventional อย่างเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อในการตรวจหา *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ จำนวน 6 ชนิดนั้น จากตารางที่ 2 จะเห็นว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM มีประสิทธิภาพดีกว่า MSRV และ differential media ชนิดอื่นๆ ที่นิยมใช้ในวิธี standard conventional กล่าวคือการใช้ RAM สามารถตรวจพบ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ (11 ตัวอย่าง) รองลงมาเป็น SSA (7 ตัวอย่าง) BGA (3 ตัวอย่าง) MSRV (2 ตัวอย่าง) XLD (1 ตัวอย่าง) และ BSA (1 ตัวอย่าง) เมื่อพิจารณาถึงผลการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วพบว่า MSRV มีประสิทธิภาพต่ำในการตรวจหา *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเชื้อ *Salmonella* ในอาหารประเภทนี้มีน้อยเกินไปที่จะสามารถตรวจพบโดย MSRV ได้ Banwart (1989) กล่าวว่าเชื้อ *Salmonella* ต้องการปริมาณน้ำอิสระหรือค่า a_w ต่ำสุดสำหรับการเจริญเท่ากับ 0.93 แต่ในอาหารประเภทนี้มีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.15 - 0.75 (ตารางที่ 2) ซึ่งไม่เพียงพอที่เชื้อชนิดนี้จะเจริญ และเพิ่มจำนวนได้ ซึ่ง De Smedt และ Bolderdijk (1987) ได้รายงานว่าการใช้ MSRV ในการตรวจหา *Salmonella* จะขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์ของ *Salmonella* ด้วย โดยจะต้องมีเชื้อ *Salmonella* มากกว่าหรือเท่ากับ 60 เซลล์ต่อมล. การใช้ MSRV จึงจะได้ผลนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวอีกด้วย MSRV จะใช้ได้ผลกับเชื้อ *Salmonella* ที่สามารถเคลื่อนที่ได้เท่านั้นแต่ไม่สามารถใช้กับเชื้อ *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* และ *Salmonella* บางชนิดที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เช่น *S. Gallinarum* และ *S. Pullorum* (บุญเทียม, 2538; Pless และ Reissbrodt, 1995)

2. การแยกเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารชนิดต่างๆ

จากการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w สูง 11 ชนิด รวม 326 ตัวอย่าง ปรากฏว่าพบเชื้อ *Salmonella* ทั้งหมด 48 ตัวอย่าง (ร้อยละ 14.7) จำนวนตัวอย่างและซีโรวาร์ของ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารที่มีค่า a_w สูง แสดงดังตาราง ที่ 3 ซึ่งจะเห็นได้ว่าอาหารชนิดที่พบเชื้อ *Salmonella* มากที่สุดคือ แหนม พบร้อยละ 38.5 รองลงมาได้แก่ อาหารประเภทยำ (ร้อยละ 26.1) ไข่กรอก (ร้อยละ 23.1) ขนมจีน (ร้อยละ 18.8) ไข่กรอกอีสาน (ร้อยละ 10.0) มะกอกทรงเครื่อง (ร้อยละ 10.0) เครื่องดื่ม (ร้อยละ 10.0) ส้มตำ (ร้อยละ 9.4) ลูกชิ้นปิ้ง (ร้อยละ 5.0) ไอศกรีม (ร้อยละ 4.5) และผลไม้ดอง (ร้อยละ 3.1)

การที่พบเชื้อ *Salmonella* ในแหนมมากที่สุดถึงร้อยละ 38.5 นั้น แสดงให้เห็นว่าคุณภาพของแหนมในปัจจุบันยังไม่ดีพอ ทั้งนี้เนื่องจากจากการผลิตแหนมส่วนใหญ่ยังเป็นแบบอุตสาหกรรมในครอบครัว ใช้แรงงานคนในการเลาะพังผืด หั่นเนื้อหมูและหนังหมู คลุกเคล้าส่วนผสม ถ้าหากสุขลักษณะในการผลิตไม่ดี อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ง่าย ฉะนั้นการรับประทานแหนมดิบจึงเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ จึงควรทำให้สุกก่อนบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงวนเวสสำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญตให้นาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่างและซีโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาที่ตรวจพบในอาหารที่มีค่า a_w สูง

ชนิดของอาหาร	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ <i>Salmonella</i> /ร้อยละ	ซีโรวาร์ของเชื้อ <i>Salmonella</i>
ส้มตำ	32	3/9.4	<i>S. Anatum</i> , <i>S. Lexington</i> , <i>S. Typhimurium</i>
ไส้กรอกอีสาน	20	2/10.0	<i>S. Anatum</i> , <i>S. Senftenberg</i>
ลูกชิ้นปิ้ง	40	2/5.0	<i>S. Agona</i> , <i>S. Rissen</i>
อาหารประเภทยำ	23	6/26.1	<i>S. Agona</i> , <i>S. Anatum</i> , <i>S. Derby</i>
ขนมจีน	32	6/18.8	<i>S. Anatum</i> , <i>S. Cerro</i> , <i>S. Derby</i> , <i>S. Rissen</i>
แหนม	39	15/38.5	<i>S. Agona</i> , <i>S. Anatum</i> , <i>S. Derby</i> , <i>S. Give</i> , <i>S. London</i> , <i>S. Rissen</i> , <i>S. Stanley</i> ,
ไส้กรอก	26	6/23.1	<i>S. Agona</i> , <i>S. Anatum</i> , <i>S. Emek</i> , <i>S. Derby</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Weltevreden</i>
ผลไม้ดอง	32	1/3.1	<i>S. Agona</i>
มะกอกทรงเครื่อง	10	1/10.0	<i>S. Anatum</i>
ไอศกรีม	22	1/4.5	<i>S. Anatum</i>
เครื่องดื่ม	50	5/10.0	<i>S. Typhimurium</i>

สำหรับอาหารประเภทยำ เป็นอาหารที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* สูงเป็นอันดับสอง รองจากแหนม คือ พบมากถึงร้อยละ 26.1 โดยพบในยำวุ้นเส้น 2 ตัวอย่าง ยำหมู 1 ตัวอย่าง ยำหมวย 1 ตัวอย่าง ยำหนังกุ้ง 1 ตัวอย่าง และยำขาไก่ 1 ตัวอย่าง เนื่องจากอาหารประเภทนี้ประกอบด้วยทั้งของสุกและของดิบ หลังปรุงเสร็จแล้วไม่ได้ผ่านความร้อนอีก ถ้าหากล้างผักไม่สะอาด ภาชนะที่ใส่ไม่สะอาด หรือมือผู้ผลิตสกปรก ก็อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนสูง เช่นเดียวกับอาหารประเภทส้มตำ ซึ่งเป็นอาหารที่ประกอบด้วยผักสดเป็นส่วนใหญ่ ถ้าหากมีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่ดีอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนสูง โดยเฉพาะเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งในการทดลองนี้พบเชื้อ *Salmonella* ในส้มตำ 9.4% และก่อนหน้านี้อภิชาติและคณะ(2538) ได้สุ่มตัวอย่างอาหารพร้อมบริโภคนานาชาติของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้างสรรพสินค้ามาตรวจสอบ พบว่าส้มตำและสลัดไม่ถูกสุขลักษณะมากที่สุด ตัวอย่างที่สุ่มมาตรวจวิเคราะห์ไม่เข้าเกณฑ์กำหนดถึงร้อยละ 87.5 นอกจากนี้มาลัยและคณะ (2536) ได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารหาบเร่แผงลอยในกรุงเทพมหานคร พบว่าในส้มตำมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงถึง $10^5 - 10^7$ โคโลนีต่อกรัม อย่างไรก็ตาม เชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในอาหารประเภทยำและส้มตำ เป็นไปได้ที่จะมาจากผักสดที่ใช้เป็นส่วนผสม อติศรและปรีชา(2538) ได้ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในผักสด ถึงร้อยละ 8.8 โดยพบเชื้อชนิดนี้ในใบสะระแหน่มากที่สุด ถึงร้อยละ 23.1 และซีโรวาร์ของเชื้อ *Salmonella* ที่พบมากที่สุดคือ *S. Weltevreden*

ไส้กรอก เป็นอาหารที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนสูงเป็นอันดับสามรองจากอาหารประเภทยำ คือพบร้อยละ 23.1 ถึงแม้ว่าไส้กรอกจะผ่านความร้อนมาแล้วในระหว่างขั้นตอนการผลิต ก็ไม่ควรที่จะรับประทานทันทีหลังจากที่ซื้อมา ก่อนรับประทานควรนำมาผ่านความร้อนอีกครั้ง เพื่อทำลายเชื้อ *Salmonella* และ จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ปนเปื้อนในไส้กรอก

ขนมจีนเป็นอาหารอีกประเภทหนึ่งที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ค่อนข้างสูง ในการทดลองนี้พบร้อยละ 18.8 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อโรคอาหารเป็นพิษนี้ปนเปื้อนมาจากแหล่งผลิต หรือปนเปื้อนมาจากมือผู้จำหน่าย และถ้าหากผู้จำหน่ายเป็นพาหะนำโรคอุจจาระร่วงด้วยแล้ว ก็ยังมีโอกาสสูงที่เชื้อโรคอาหารเป็นพิษจะปนเปื้อนลงในขนมจีน ดังเช่นการศึกษาของพัชรินทร์และชัยยศ (2531) ได้สำรวจพาหะนำโรคอุจจาระร่วงของผู้สัมผัสอาหารในสถานศึกษาระดับต่าง ๆ ในจังหวัดพิษณุโลก โดยการตรวจอุจจาระของผู้สัมผัสอาหารจำนวน 152 ราย พบเชื้อ *Salmonella* 7 ราย เป็น *S. Derby* 3 ราย *S. Typhimurium* 1 ราย *S. Langensalza* 2 ราย และ *S. Lexington* 1 ราย ฉะนั้นถ้าผู้สัมผัสอาหารเหล่านี้ไม่ล้างมือให้สะอาดหลังจากเข้าห้องน้ำ ก็มีโอกาสูงที่เชื้อ *Salmonella* จะปนเปื้อนลงในอาหาร และเช่นเดียวกัน สละและคณะ (2539) ได้ตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารชนิดต่าง ๆ ภาชนะอุปกรณ์ และมีผู้ประกอบการของโรงอาหารกระทรวงสาธารณสุข ปรากฏว่าพบเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 54.25, 24.17 และ 20.80 ตามลำดับและยังตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ในขนมจีนสูงถึงร้อยละ 43.8 อีกด้วย

ส่วนอาหารประเภทไส้กรอกอีสานและลูกชิ้นปิ้ง ในการตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้พบเชื้อ *Salmonella* ร้อยละ 10.0 และ 5.0 ตามลำดับ แม้ว่าอาหารทั้งสองชนิดนี้จะผ่านความร้อนมาแล้วก็ตามก็มีโอกาสที่จะพบเชื้อ *Salmonella* ได้ ถ้าหากผ่านความร้อนไม่เพียงพอ โดยเฉพาะเชื้อ *S. Senftenberg* เป็นเชื้อที่สามารถทนความร้อนสูงได้ดีกว่าเชื้อ *Salmonella* ทั่ว ๆ ไปถึง 10-20 เท่า การทำลายเชื้อ *S. Senftenberg* ต้องให้ความร้อน 62°C นาน 1 ชม. (อรุณและคณะ, 2535) ดังนั้นจึงมีโอกาสที่เชื้อ *Salmonella* ซีโรวาร์นี้จะรอดชีวิต และเป็นไปได้ที่จะพบเชื้อ *S. Senftenberg* ในไส้กรอกอีสานที่ผ่านความร้อนแล้ว ดังเช่นการตรวจวิเคราะห์ในครั้งนี้ นอกจากนี้เชื้อ *Salmonella* ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานและลูกชิ้นปิ้งก็อาจมาจากการปนเปื้อนหลังจากผ่านความร้อนหรือช่วงที่รอจำหน่ายไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากในแหล่งชุมชนโดยเฉพาะบริเวณบาทวิถี เป็นที่ทราบกันดีว่าเต็มไปด้วยฝุ่นผง ควันจากท่อไอเสีย และมลภาวะต่าง ๆ ผู้จำหน่ายมักจะวางอาหารที่สุกแล้วโดยไม่ปิดภาชนะ ฉะนั้นจึงมีโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนได้สูง หรืออีกนัยหนึ่งเชื้อ *Salmonella* ที่พบอาจมาจากน้ำจิ้มลูกชิ้น ถ้าหากมีการผลิตน้ำจิ้มที่ไม่ถูกสุขลักษณะ

สำหรับอาหารประเภทผลไม้ดองนั้นค่อนข้างปลอดภัยต่อการบริโภค เนื่องจากพบเชื้อ *Salmonella* เพียงเล็กน้อย (ร้อยละ 3.1) โดยพบในมะยมดอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลไม้ดองมีปริมาณกรดค่อนข้างสูง โอกาสที่เชื้อชนิดนี้จะเจริญได้จึงน้อย ในขณะที่มะกอกทรงเครื่องซึ่งใช้มะกอกดองในการผลิต และปรุงแต่งด้วยส่วนผสมชนิดต่าง ๆ นั้น พบเชื้อ *Salmonella* สูงกว่า คือร้อยละ 10.0 ก็เป็นไปได้ที่เชื้อจะปนเปื้อนมาจากส่วนผสมที่ใช้ ส่วนไอศกรีมที่นำมาตรวจวิเคราะห์พบเชื้อ *Salmonella* เพียงเล็กน้อย คือร้อยละ 4.5 ซึ่งให้เห็นว่าค่อนข้างปลอดภัย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจะขึ้นอยู่กับสุขลักษณะในการผลิตและจำหน่าย

จากผลการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายทั่วไปบริเวณบาทวิถีในเขตกรุงเทพมหานคร ซึ่งเป็นเครื่องดื่มชนิดที่ผู้จำหน่ายผลิตขึ้นเอง ตักใส่แก้วหรือถุงพลาสติกจำหน่ายให้กับลูกค้าที่สัญจรไปมา พบว่าในเครื่องดื่มที่นำมาตรวจวิเคราะห์ทั้งหมด 50 ตัวอย่าง มีเชื้อซาลโมเนลลาปนเปื้อน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 10.0) โดยพบเชื้อชนิดนี้ใน น้ำลำไย ชาดำเย็น น้ำอ้อย น้ำเขียว และน้ำกะทิสดช่อง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าคุณภาพของเครื่องดื่มไม่ดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับที่ลดาพรรณและคณะ ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพของน้ำหวาน หรือเครื่องดื่มหาบเร่จำนวน 360 ตัวอย่าง จากแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานครไว้เมื่อปี พ.ศ. 2533 ซึ่งได้ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ร้อยละ 0.8 ดังนั้นเครื่องดื่มที่จำหน่ายทั่วไปดังกล่าว จึงมีโอกาสที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ ผู้ผลิตควรปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตให้ถูกสุขลักษณะมากขึ้น และผู้บริโภคก็ควรตระหนักถึงอันตรายที่จะเกิดจากการบริโภคเครื่องดื่มเหล่านี้

ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ รวมทั้งหมด 132 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่าพบเชื้อ *Salmonella* เพียง 11 ตัวอย่าง (ร้อยละ 8.3) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าพบเชื้อ *Salmonella* ในกุนเชียงมากที่สุดคือร้อยละ 25.0 รองลงมาได้แก่ ถั่วลิสงป่น (ร้อยละ 15.8) ขนมปังกรอบไส้ครีม (ร้อยละ 8.3) มะขามคลุกน้ำตาล (ร้อยละ 3.1) ส่วนในขนมเบี๊อง และฝอยทองไม่พบเชื้อ *Salmonella* เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการพบเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ และอาหารที่ค่า a_w สูงแล้ว ปรากฏว่าในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำพบเชื้อชนิดนี้น้อยกว่า คือร้อยละ 8.3 ในขณะที่อาหารที่ค่า a_w สูงพบมากถึงร้อยละ 14.7 การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ มีปริมาณน้ำอิสระหรือค่า a_w อยู่บ่อย คือระหว่าง 0.15 - 0.75 (ตารางที่ 4) ซึ่งไม่เพียงพอที่เชื้อ *Salmonella* จะเจริญและเพิ่มจำนวนได้ เนื่องจากเชื้อชนิดนี้ต้องการค่า a_w ต่ำสุดเอ็ก สำหรับการเจริญเท่ากับ 0.93 (Banwart, 1989) ฉะนั้นโอกาสที่จะพบเชื้อชนิดนี้ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำกว่า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่ำจึงไม่มากนัก อย่างไรก็ตามถ้าหากมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นก็มีโอกาสที่จะพบเชื้อ *Salmonella* ได้บ้าง แต่เชื้ออาจไม่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ ดังเช่นการตรวจพบในครั้งนี การที่มีเชื้อ *Salmonella* ใน กุนเชียง ถั่วลิสงป่น มะขามคลุกน้ำตาล และขนมปังกรอบไส้ครีม นั้นชี้ให้เห็นถึงความเสี่ยงของผู้บริโภคต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยเฉพาะถั่วลิสงป่นที่คนไทยนิยมรับประทานกันมากโดยเติมลงในถ้วยเตี๋ยวต้มยำ

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างและซีโรวาร์ของเชื้อ *Salmonella* ที่พบในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำ

ชนิดของอาหาร	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา/ร้อยละ	ซีโรวาร์ของเชื้อ <i>Salmonella</i>
มะขามคลุกน้ำตาล	32	1/3.1	S. Rissen
ขนมเบื้อง	16	0/0	ไม่พบ
ฝอยทอง	21	0/0	ไม่พบ
ขนมปังกรอบไส้ครีม	24	2/8.3	S. Rissen
ถั่วลิสงป่น	19	3/15.8	S. Tennessee
กุนเชียง	20	5/25.0	S. Anatum, S. Cerro, S. Eastbourne, S. Rissen

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ซีโรวาร์ของเชื้อ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารที่มีค่า a_w สูง อาหารที่มีค่า a_w ต่ำ และเครื่องดื่ม

ซีโรวาร์ของเชื้อ <i>Salmonella</i>	ชนิดของอาหารที่ตรวจพบ/ จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างอาหาร ทั้งหมดที่ตรวจพบเชื้อ <i>Salmonella</i>
S. Agona	ลูกชิ้นปิ้ง/2 ยำหมูยอ/1 แหนม/1 มะยมดอง/1 ไส้กรอก/1	6
S. Anatum	ส้มตำ/1 ไส้กรอกอีสาน/1 ยำวุ้นเส้น/1 ยำหมู/1 ยำขาไก่/1 ขนมจีน/1 แหนม/4 ไส้กรอก/1 มะกอกทรงเครื่อง/1 ไอศกรีม/1 น้ำกะทิหลอดช่อง/1 กุนเชียง/1	15
S. Cerro	ขนมจีน/1 กุนเชียง/1	2
S. Derby	ยำวุ้นเส้น/1 ยำหนังหมู/1 ขนมจีน/1 แหนม/7 ไส้กรอก/1 น้ำลำไย/1	12
S. Eastbourne	กุนเชียง/1	1
S. Emek	ไส้กรอก/1	1
S. Give	แหนม/1	1
S. Lexington	ส้มตำ/1	1
S. London	แหนม/1	1
S. Rissen	ลูกชิ้นปิ้ง/1 ขนมจีน/3 แหนม/1 กุนเชียง/2 มะขามคลูกน้ำตาล/1 ขนมปังกรอบไส้ครีม/2	10
S. Senftenberg	ไส้กรอกอีสาน/1	1
S. Stanley	แหนม/1	1
S. Tennessee	ถั่วลิสงป่น/3 ชาดำเย็น/1 น้ำอ้อย/1	5
S. Typhimurium	ส้มตำ/1 น้ำเขียว/1 ไส้กรอก/1	3
S. Weltevreden	ไส้กรอก/1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาถึงผลการทดลองทั้งหมด ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w สูง และ อาหารที่มีค่า a_w ต่ำ ผลปรากฏว่าพบเชื้อ *Salmonella* ทั้งหมด 15 ซีโรวาร์ดังตารางที่ 5 ซีโรวาร์ที่ตรวจพบมากที่สุดคือ *S. Anatum* โดยตรวจพบในอาหารทั้งหมด 15 ตัวอย่าง รองลงมาคือ *S. Derby* พบในอาหารทั้งหมด 12 ตัวอย่าง *S. Rissen* พบในอาหารทั้งหมด 10 ตัวอย่าง *S. Agona* พบในอาหารทั้งหมด 6 ตัวอย่าง *S. Tennessee* พบในอาหารทั้งหมด 5 ตัวอย่าง *S. Typhimurium* พบในอาหารทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ส่วน *S. Cerro*, *S. Eastbourne*, *S. Emek*, *S. Give*, *S. Lexington*, *S. London*, *S. Senftenberg*, *S. Stanley* และ *S. Weltevreden* พบในอาหารทั้งหมดซีโรวาร์ละ 1 ตัวอย่าง เชื้อ *Salmonella* ที่พบปนเปื้อนในอาหารเหล่านี้ บางซีโรวาร์ก็พบได้บ่อยในคน จากการรายงานของกองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กล่าวว่าเชื้อ *Salmonella* ที่พบในอาหารเมื่อปี 2534 - 2536 มีความสัมพันธ์กับเชื้อ *Salmonella* ที่พบในคน โดยพบว่าซีโรวาร์ที่พบมากในคนนั้นมี *S. Anatum*, *S. Derby*, *S. Agona*, *S. Typhimurium* และ *S. Stanley* รวมอยู่ด้วย ซึ่งเป็นเชื้อ *Salmonella* ซีโรวาร์เดียวกับที่พบในการตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้ ดังนั้นเป็นไปได้ว่าเชื้อ *Salmonella* อาจมีการปนเปื้อนจากอาหารไปสู่คน หรือจากคนไปสู่อาหาร

บทสรุป

การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่มีค่า a_w สูงพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM และ MSRVR มีประสิทธิภาพมากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลองนี้ ฉะนั้นการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RAM และ MSRVR ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่นิยมใช้กันในวิธี Standard conventional จะทำให้สามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ได้มากขึ้น ส่วนการตรวจหาเชื้อชนิดนี้ในอาหารที่มีค่า a_w ต่ำนั้นพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ RAM ให้ผลดีที่สุด สำหรับเชื้อ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารที่มีค่า a_w สูงและอาหารที่มีค่า a_w ต่ำนั้นพบทั้งหมด 15 ซีโรวาร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาหารที่จำหน่ายบริเวณบาทวิถีในเขตกรุงเทพมหานคร มีคุณภาพไม่ดีพอ เนื่องจากมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ค่อนข้างสูง เชื้อชนิดนี้พบได้ในอาหารเกือบทุกชนิดที่นำมาตรวจวิเคราะห์ ยกเว้นขนมเบิ้งและผ่อยทองตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* สำหรับอาหารที่พบเชื้อ *Salmonella* มาก 4 อันดับแรก ได้แก่ แหนม (ร้อยละ 38.5) อาหารประเภทยำ (ร้อยละ 26.1) กุนเชียง (ร้อยละ 25.0) และไส้กรอก (ร้อยละ 23.1) ฉะนั้นผู้บริโภคควรตระหนักถึงอันตรายที่อาจจะเกิดจากการบริโภคอาหารเหล่านี้ ถ้าหากจำเป็นที่จะต้องซื้ออาหารเหล่านี้มารับประทาน ควรมีความระมัดระวังในการเลือกซื้อ และถ้าเป็นไปได้ควรนำอาหารที่ซื้อมาให้ความร้อนอีกครั้ง เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่มีในอาหาร และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ สำหรับผู้ผลิตนั้นมีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากเป็นผู้สัมผัสอาหาร ซึ่งควรผลิตอาหารให้ถูกสุขลักษณะมากขึ้น เช่นล้างมือทุกครั้งที่ปรุงอาหาร ตัดเล็บให้สั้นอยู่เสมอ สวมเสื้อผ้าที่สะอาด ใช้ผ้ากันเปื้อนและเน็คคูลุ่มผมที่สะอาด หลังเข้าห้องน้ำต้องล้างมือด้วยสบู่ให้สะอาดและตรวจสุขภาพทุกปี เมื่อป่วยเป็นโรคควรหยุดประกอบอาหารทันที ส่วนภาชนะและเครื่องมือเครื่องใช้ จะต้องล้างและเก็บอย่างเหมาะสม สำหรับผู้จำหน่ายอาจหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารได้โดยใช้อุปกรณ์ช่วยในการตักอาหารใส่ภาชนะให้ผู้ซื้อไม่ควรใช้มือหยิบจับอาหารโดยตรง และภาชนะที่ใส่อาหารเพื่อรอจำหน่ายควรมีฝาปิด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

- จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์.2538. ปะการุกการณัของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหาร. ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจสอบจุลินทรีย์และสารปนเปื้อน ในอาหาร.24 - 28 เมษายน 2538 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ.
- ดวงดาว วงศ์สมมาตร นงคราญ เรื่องประพันธ์ จุริภรณ์ บุญวงศ์โรจน์ น้อย ทองสกุลพานิชย์ และ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์.2537.พยาธิและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในแฮมม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 36(3) : 163 - 171.
- ทองพันธ์ สัจจาปะละ และอัครมา สุวานานูวัฒน์.2535.การทดสอบ differential medium ชนิดใหม่ สำหรับ *Salmonella*.วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 34(2) : 89 - 94
- บุญเทียม พันธุ์เพ็ง.2537.การตรวจหาแบคทีเรียซาลโมเนลลาในอาหาร.อาหาร 24(4):282-290
- ปรีชา จึงสมานกุล มณฑนา พันธุ์บัวหลวง และ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์.2538. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารในศูนย์อาหารของห้างสรรพสินค้า.วารสารกระทรวงสาธารณสุข 14(4-6) : 76 - 82.
- พัชรินทร์ รัตนเกษตรสิน และ ชัยยศ หลิมเจริญ.2531.การสำรวจพาหะนำโรคอุจจาระร่วงของผู้สัมผัสอาหารในสถานศึกษาระดับต่าง ๆ ในจังหวัดพิษณุโลก.วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 30(2) : 129 - 133.
- มาลัย บุญรัตนกรกิจ ปทุมพร ฉิมเอนก ศรีเมือง มาลีหวล พรทิพย์ เจริญธรรมวัฒน์ สิริพร สธนเสาวภาคย์ และบุญเทียม พันธุ์เพ็ง.2536.คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารหีบแ่งลอยที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร.อาหาร 23(1) : 35 - 43.
- ลดาพรรณ แสงคล้าย จุไร โชติชนาทวีวงศ์ ใจภักดี พรหมมณัพันธุ์ นฤมล เหลืองดำรงกิจ และ สุวรรณี ธีรภาพรรณกุล.2533.คุณภาพน้ำหวานหีบแ่งจากแหล่งชุมชนในเขตกรุงเทพมหานคร.วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 32 : 121 - 132.
- วัฒน์ลัย ปานบ้านเกร็ด. 2538. การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* และ enterotoxigenic *E. coli* จากอาหาร และ *E. coli* จากน้ำดื่มโดยใช้ DNA probe และ PCR technique. ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจสอบจุลินทรีย์และสารปนเปื้อนในอาหาร. 24-28 เมษายน 2538. ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ.
- สุมาลี บุญมา อรุณ บ่างตระกูลนนท์ นพรัตน์ หมากริม และชุมพจน์ อมาตยกุล.2539. การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่าในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์โดยวิธี Standard Conventional และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสิทธิ์ Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis. อาหาร 26(2) : 88 - 97. ใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สละ ชูจกกล ศาภานุ เอี่ยมศิลา นภาพรรณ นันทพงษ์ พัชรี จงเกียรติเจริญ
 อภากร ศรีปรัชญาอนันต์ และธนชีพ พีระธรรณศิริ.2539.การเฝ้าระวังสภาวะการ
 สุขาภิบาลอาหาร : ศึกษารณเฑีโรงอาหารของกระทรวงสาธารณสุข.วารสารกอง
 สุขาภิบาล 23(1) : 25-37.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ ปรีชา จึงสมานกุล มณฑนา พันธุ์บัวหลวง และอรุณ บ้างตระกูลนนท์.
 2537.การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เนื้อที่จำหน่ายในเขต
 กรุงเทพมหานคร.วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 12(2) : 15 - 24.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ ปรีชา จึงสมานกุล.2538.ซาลโมเนลลาและลิสทีเรียในผักสด.อาหาร
 25(3) : 185 - 189.

อรุณ บ้างตระกูลนนท์ สุวัฒน์ บ้างตระกูลนนท์ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ อัญชลี กิจจะการะ และ
 เสกสรรค์ สโมสรรุช.2535.คู่มือประกอบการวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคลำไส้. ศูนย์
 ซัลโมเนลลาและซีกেলা กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.64 น.

Andrews, W.H. 1985. A review of culture methods and their relation to rapid methods for the
Salmonella in foods. - Food Technol. 39: 77-82.

Anon. 1975. Meat and meat products-detection of *Salmonella* (Reference method). International
 Standard ISO 3565. Geneva. Switzerland: International Organization for
 Standardization.

Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association
 of Official Analytical Chemists, Inc., USA.

Banwart, G.T. 1989. Basic Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold, New York. 773 p.

Beckers, H.J., D. Roberts, O.Pietzsch, M.van Schothost, P.Vassiliadis and E.H. Kampelmacher.
 1987. Replacement of Muller-kauffman's tetrathionate brilliant green bile broth by
 Rappaport-Vassiliadis' magnesium chloride malachite green broth in the standard
 method for the detection of *salmonella*. Int. J. Food Microbiol. 4: 59-64.

D' Aoust, J.-Y. 1984. Effective enrichment-plating conditions for detection of *Salmonella* in Foods.
 47(8) : 588-590.

De Smedt, J.M., R.F. Bolderdijk, H. Rappold and D. Lautenschlaeger. 1986. Rapid *Salmonella*
 detection in Foods by motility enrichment on a Modified Semi-solid Rappaport-
 Vassiliadis medium. J. Food Prot. 49(7):510-514.

De Smedt, J.M. and R.E. Bolderdijk. 1987. Dynamics of *Salmonella* isolation with Modified
 Semisolid Rappaport Vassiliadis medium. J. Food Protect. 50 : 658-661.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kuhn, H., B. Wonde, W. Rabsch and R. Reissbrodt. 1994. Evaluation of Rambach agar for detection of *Salmonella* subspecies I to VI. *Appl. Env. Microbiol.* 60(2) : 749-751.
- Lacey, R.W. 1993. Food poisoning : The rise continues. *British Food Journal* 95(3) : 25-31
- O' Donoghue, R. Morgan, S. Pugh and C. Davda. 1992. Comparison of the MSRV method with various rapid and conventional *Salmonella* detection methods for chocolate, confectionery and biscuit ingredients. *Letters in Applied Microbiology.* 15 : 92-95.
- Pignato, S., A.M. Marino, M.C. Emanuele, V. Iannotta, S. Caracappa and G. Giammanco. 1995. Evaluation of new culture media for rapid detection and isolation of *salmonella* in foods. *Appl. Env. Microbiol.* 61(15) : 1996-1999.
- Pless, P. and R. Reissbrodt. 1995. Improvement of *Salmonella* detection on motility enrichment media by ferrioxamine E-supplementation of pre-enrichment culture. *Int. J. Food Microbiol.* 27 : 147-159.
- Poppe, C. and C.L. Duncan. 1996. Comparison of detection of *Salmonella* by the Tecro^R UniqueTM *Salmonella* test and the modified Rappaport Vassiliadis medium. *Food Microbiol.* 13 : 75-81.
- Rambach, A. 1990. New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp. and other enteric bacteria. *Appl. Env. Microbiol.* 56(1) : 301-303.
- Varadaraj, M.C. 1993. Methods for detection and enumeration of foodborne bacterial pathogens : a critical evaluation. *J. Food Sci Technol.* 30(1) : 1-13.
- Varnam, A.H. and M.G. Evans. 1991. *Foodborne Pathogens. An Illustrated Text* Wolfe Publishing Ltd. London.
- Vassiliadis, P. 1983. The Rappaport-Vassiliadis(RV) enrichment medium for the isolation of salmonellae : An overview. *J. Appl. Bacteriol.* 54:69-76.

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบ และวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1 Buffered Peptone Water (BPW)

ส่วนประกอบ

Peptone	10.0	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Na ₂ HPO ₄ 12 H ₂ O	9.0	กรัม
KH ₂ PO ₄	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

pH 7.0

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น บรรจุใส่ขวดๆ ละ 225 มล. นำไปฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121° C 15 นาที

2. Tetrathionate Broth (TT, Difco)

ส่วนประกอบ

Proteose Peptone	5	กรัม
Bacto Bile Salts	1	กรัม
Sodium Thiosulfate	30	กรัม
Calcium Carbonate	10	กรัม

pH 8.4 ± 0.2 ที่ 25° C

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 4.6 กรัมในน้ำกลั่น 100 มล. ต้มให้เดือดแล้วทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 60° C จากนั้นเติม สารละลายไอโอดีนลงไป 2 มล. (เตรียมโดยละลายผลึก ไอโอดีน 6 กรัม และโปแตสเซียมไอโอไดน์ 5 กรัมในน้ำกลั่น 20มล) ไม่ต้องให้ความร้อนอีกหลังจากเติมไอโอดีน บรรจุใส่หลอดทดลองประมาณหลอดละ 10-12 มล. ควรเตรียมในวันที่ต้องการใช้

3. Selenite Cystine Broth (SC, Difco)

ส่วนประกอบ

Bacto Tryptone 5 กรัม

Bacto Lactose 4 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Disodium Phosphate	10	กรัม
Sodium Acid Selenite	4	กรัม
L-Cystine	0.01	กรัม
pH 7.0 ± 0.2 ที่ 25° C		

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 23 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนเดือดบรรจจุใส่หลอดทดลองที่ฆ่าเชื้อแล้ว หรืออาจนำหลอดไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ การให้ความร้อนสูงเกินไปจะทำลาย คุณสมบัติในการคัดเลือกเชื้อที่จะเจริญ ควรเตรียมวันที่ ต้องการใช้

4. Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis medium (MSRV, Mast Diagnostics)

ส่วนประกอบ

Peptone Mixture	8.25	กรัม
Yeast Extract	0.92	กรัม
Sodium Chloride	7.33	กรัม
Potassium Dihydrogen phosphate	1.47	กรัม
Magnesium Chloride (anhydrous)	12.37	กรัม
Malachite Green Oxalate	0.037	กรัม
Agar	2.57	กรัม
pH 5.5		

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 32.95 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร บรรจจุขวดนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° C 15 นาที

5. Rambach Agar (RAM, Merck)

ส่วนประกอบ

Peptone	8.0	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Sodium Deoxycholate	1.0	กรัม
Chromogenic mix	1.5	กรัม
Propylene glycol	10.5	กรัม

Agar 10.5 กรัม

pH 7.3 ± 0.2 ที่ 25°C

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร บรรจุขวดนำไปต้มในน้ำเดือดจนกระทั่ง
วุ้นละลาย (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ) ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ $45-50^{\circ}\text{C}$ เทลงจานเพาะเชื้อ

6. Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD, Difco)

ส่วนประกอบ

Bacto Yeast Extract	3.0	กรัม
L-Lysine	5.0	กรัม
Bacto Xylose	3.75	กรัม
Bacto Lactose	7.5	กรัม
Bacto Saccharose	7.5	กรัม
Ferric Ammonium Citrate	0.8	กรัม
Sodium Thiosulfate	6.8	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Bacto phenol Red	0.08	กรัม
Bacto Agar	15.0	กรัม
pH 7.4 ± 0.2 ที่ 25°C		

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 57 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนกระทั่งเดือด
(ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ) ทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ $55-60^{\circ}\text{C}$ เทลงจานเพาะเชื้อ

7. Bismuth Sulfite Agar (BSA, Difco)

ส่วนประกอบ

Bacto Beef Extract	5.0	กรัม
Bacto Peptone	10.0	กรัม
Bacto Dextrose	5.0	กรัม
Disodium Phosphate	4.0	กรัม
Ferrous Sulfate	0.3	กรัม
Bismuth Sulfite Indicator	8.0	กรัม

Bacto Agar	20.0	กรัม
Bacto Brilliant Green	0.025	กรัม

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 52 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนกระทั่งเดือด ไม่เกิน 1-2 นาที หลีกเลี่ยงการให้ความร้อนมากเกินไป (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ) ทำให้เย็นถึง 50-55°C เทลงจานเพาะเชื้อ

8. Brilliant Green Agar (BGA, Difco)

ส่วนประกอบ

Proteose Peptone	10.0	กรัม
Bacto Yeast Extract	3.0	กรัม
Bacto Lactose	10.0	กรัม
Bacto Saccharose	10.0	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Bacto Agar	20.0	กรัม
Bacto Brilliant Green	0.0125	กรัม
Bacto Phenol Red	0.08	กรัม
pH 6.9 ± 0.2 ที่ 25° C		

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 58 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนกระทั่งอุ่น ละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° C 15 นาที

9. Salmonella Shigella Agar (SSA, Difco)

ส่วนประกอบ

Bacto Beef Extract	5.0	กรัม
Proteose Peptone	5.0	กรัม
Bacto Lactose	10.0	กรัม
Bacto Bile Salts	8.5	กรัม
Sodium Citrate	8.5	กรัม
Sodium Thiosulfate	8.5	กรัม
Ferric Citrate	1.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacto Agar	13.5	กรัม
Bacto Brilliant Green	0.33	มก.
Bacto Neutral Red	0.025	กรัม
pH 7.0 ± 0.2 ที่ 25° C		

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 60 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนเดือดประมาณ 2-3 นาที หลีกเลียงการให้ความร้อนมากเกินไป (ไม่ต้องนั่งผ่าเชื้อ) ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ 55-60° C เทลงจานเพาะเชื้อ

10. Triple Sugar Iron Agar (TSI, Difco)

ส่วนประกอบ

Bacto Beef Extract	3.0	กรัม
Bacto yeast Extract	3.0	กรัม
Bacto Peptone	15.0	กรัม
Proteose Peptone	5.0	กรัม
Bacto Dextrose	1.0	กรัม
Bacto Lactose	10.0	กรัม
Bacto sucrose	10.0	กรัม
Ferrous sulfate	0.2	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Sodium Thiosulfate	0.3	กรัม
Bacto Agar	12.0	กรัม
Bacto Phenol Red	0.024	กรัม
pH 7.4 ± 0.2 ที่ 25° C		

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 65 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมละลาย บรรจุลงหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121° C 15 นาที นำมาเลี้ยงเพื่อทำ stant

11. Lysine Indole Motility Medium (LIM, Difco)

ส่วนประกอบ

Bacto Peptone	10.0	กรัม
---------------	------	------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacto Tryptone	10.0	กรัม
Bacto Yeast Extract	3.0	กรัม
L-Lysine Hydrochloride	10.0	กรัม
Bacto Dextrose	1.0	กรัม
Ferric Ammonium Citrate	0.5	กรัม
Bacto Brom Cresol Purple	0.02	กรัม
Bacto Agar	2.0	กรัม

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมทั้งหมด 36.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนเดือดบรรจุใส่หลอดทดลอง ขนาด 13 x 100 มม. ปริมาณ 5 มล. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° C 15 นาที

สารเคมี

1. Kovac's Reagent

p-Dimethylaminobenzaldehyde	50.0	กรัม
Amyl or isoamyl alcohol	750.0	มล.
Hydrochloric acid, concentrated	250.0	มล.

วิธีเตรียม

ละลาย p-Dimethylaminobenzaldehyde ใน amyl alcohol หรือ isoamyl alcohol ใน water bath อุณหภูมิ 50° C ทำให้เย็น จากนั้นจึงเติมกรดแล้วเก็บในขวดสีชาที่ 4° C

การวัดค่า a_w ของอาหาร

นำตัวอย่างอาหารที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในกล่องพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ซม. สูง 1-2 ซม. โดยบรรจุตัวอย่างอาหารประมาณ 2 ใน 3 ของความจุ ของกล่องตัวอย่าง นำไปวัดค่า a_w โดยวางกล่องตัวอย่างลงใน chamber ของเครื่องวัด ตั้งทิ้งไว้จนสภาพภายใน chamber สมดุลที่อุณหภูมิที่กำหนดไว้ คือ 25° C จึงอ่านค่า a_w ของตัวอย่างอาหาร เครื่องมือนี้แสดงค่า a_w ในรูปความชื้นสัมพัทธ์ที่สภาวะสมดุล (Equilibrium relative humidity) ซึ่งเปลี่ยนเป็น ค่า a_w ได้ดังนี้

$$a_w = \frac{\% \text{ ERH}}{100}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้