

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบสารอาหารและสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นแตกต่างกัน ซึ่งสารยับยั้งบางชนิดนอกจากจะยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์อื่นแล้ว บางครั้งอาจทำอันตรายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดที่ต้องการอีกด้วย ดังนั้นก่อนจะนำอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดใหม่ๆมาใช้จำเป็นต้องมีการทดสอบก่อนว่าเหมาะสมหรือใช้ได้หรือไม่กับตัวอย่างหรือสภาวะแวดล้อมของเรา (validation) จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่วิธีทดสอบที่ให้ความรวดเร็วใหม่ๆ จะต้องนำมาทดสอบเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานเสียก่อนที่จะนำไปใช้ต่อไป (Ogden and Watt, 1991)

การเปรียบเทียบวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วเพื่อเจนนับ Total Coliforms และ *E. coli* ในกึ่งกลางด้าแซแข็งทั้งจากที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนโดยธรรมชาติ 18 ตัวอย่างและจากที่ทำการปนเปื้อนใน 3 ระดับ จำนวน 174 ตัวอย่าง พบว่าค่าการเจนนับ Total Coliforms ที่ระดับการปนเปื้อนต่ำกว่า 10 CFU/g $LMX=MPN>CCA=PEC$ และค่าการเจนนับ *E. coli* $LMX=MPN=CCA=PEC$ ความไวในการเจนนับ Total Coliforms และ *E. coli* $LMX=MPN>CCA=PEC$ ความจำเพาะในการเจนนับ Total Coliforms และ *E. coli* $LMX=MPN=CCA=PEC$ อัตราการเกิดผลบวกแท้จากการทดสอบยืนยัน Coliforms $LMX>MPN=CCA=PEC$ อัตราการเกิดผลบวกแท้จากการทดสอบยืนยัน *E. coli* $MPN=LMX>PEC=CCA$ เวลาที่ใช้ $MPN>LMX=PEC=CCA$ ค่าใช้จ่าย $MPN>PEC>CCA=LMX$ แรงงานที่ใช้ $MPN>LMX=CCA>PEC$ ความสะอาด $PEC>CCA=LMX>MPN$ ความสอดคล้องของวิธีรวดเร็วทั้ง 3 วิธีคือ LMX PEC และ CCA เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในการเจนนับ Total Coliforms เท่ากับ 94.2%, 79.2%, 83.2% ตามลำดับ ขณะที่ในการเจนนับ *E. coli* เท่ากับ 99.2%, 95.8%, 83.2% ตามลำดับ

วิธีรวดเร็ว Fluorocult^R LMX Broth (LMX) หรือ PetrifilmTM *E. coli* Count Plates (PEC) หรือ Chromocult^R Coliform Agar (CCA) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการทดแทนวิธีมาตรฐานในการเจนนับ Total Coliforms และ *E. coli* ในกึ่งกลางด้าแซแข็ง อย่างไรก็ตามวิธีการจะเลือกใช้วิธีหนึ่งวิธีใดขึ้นอยู่กับเป้าหมายของการทดสอบของแต่ละห้องปฏิบัติการในการประเมินข้อดี ข้อจำกัด และปัญหาซึ่งขึ้นกับสถานการณ์แวดล้อมของแต่ละห้องปฏิบัติการอันจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ข้อดี ข้อจำกัด ข้อเสนอแนะ ของวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการจางนับ Total Coliforms และ *E.coli* ในกึ่งกลางดำแช่แข็ง

คุณสมบัติ	วิธีวิเคราะห์			
	MPN	LMX	PEC	CCA
ความไว	***	***	**	**
ความจำเพาะ	***	***	***	***
ความสอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน	-	***	**	**
เวลา	7-10 วัน	1-2 วัน	1-2 วัน	1-2 วัน
ความสะดวก	*	**	***	**
ค่าใช้จ่าย (บาท)	478.19	93.00	319.00	94.50
แรงงานที่ใช้	***	**	*	**
ผลบวกเท็จจาก	**	***	*	*
การทดสอบยืนยัน Coliforms				
ผลบวกเท็จจาก	***	***	*	*
การทดสอบยืนยัน <i>E. coli</i>				

หมายเหตุ * = ผลเพิ่มขึ้นตามจำนวนเครื่องหมาย *

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ข้อดี ข้อจำกัด ข้อเสนอแนะ ของวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการแ่งนับ Total Coliforms และ *E.coli* ในกึ่งกลูตาต้าแซนซ์

ข้อดี	วิธีวิเคราะห์			
	MPN	LMX	PEC	CCA
วิธีมาตรฐานยอมรับกันทั่วโลก	-	-	-	-
-	-	วิธีใหม่ที่นักจุลชีววิทยาทางอาหารสนใจ ¹	1	1
แ่งนับทั้งColiforms และ <i>E. coli</i> ¹	1	1	1	1
ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้มีช่วงกว้าง 0.1-10.0 มิลลิลิตร ¹	1	-	-	ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้อยู่ในช่วง 0.1-1.0 มิลลิลิตร
ไวต่อปริมาณปนเปื้อนจุลินทรีย์ต่ำ ¹	1	-	-	-
-	-	ไม่ใช่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ¹	1	1
-	-	ประยุกต์ใช้แบบ 1 หลอดหรือ 3 หลอด	-	-
-	-	ทดลองและรายงานผลแบบพบ หรือไม่พบ	-	-
-	-	มี X-GAL และ MUG ที่จำเพาะต่อ Coliforms และ <i>E. coli</i> เห็นความแตกต่างชัดเจน	มี Tetrazolium และ BCIG ที่จำเพาะต่อ Coliforms และ <i>E. coli</i> เห็นความแตกต่างชัดเจน	มี Sal-GAL และ XGLU ที่จำเพาะต่อ Coliforms และ <i>E. coli</i> เห็นความแตกต่างชัดเจน
-	-	-	ไม่เปลืองพื้นที่ในการบ่มเพาะจุลินทรีย์	-
-	-	-	สะดวก มีน้ำหนักเบาเหมาะกับงานภาคสนาม	-

สถาบันวิทยุศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ข้อดี ข้อจำกัด ข้อเสอแนะ ของวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการจรงนับ Total Coliforms และ E.coli ในกึ่งกลางตำแหน่ง

		วิธีวิเคราะห์		
	MPN	LMX	PEC	CCA
	-	-	ไม่ต้องเตรียมอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์	-
	-	-		สามารถใช้ได้ทั้งเทคนิค pour plate และ spread plate
ข้อจำกัด	ใช้เครื่องมืออุปกรณ์มาก	-	-	-
	ค่าใช้จ่ายสูง	-	-	-
	สิ้นเปลืองอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ และสารเคมี	-	-	-
	ใช้แรงงานมาก	-	-	-
	ใช้พื้นที่ห้องปฏิบัติการและห้อง บ่มเพาะจุลินทรีย์มาก	-	-	-
	มีจุลินทรีย์อื่นปนเปื้อนมาก ความถูกต้องในการจรงนับลดลง ¹	1	1	1
	-	การอ่านผลต้องศึกษาและอาศัย	1	1
	-	ความชำนาญ ¹		
	-	มีโอกาสเกิดผลบวกเท็จจากอุปกรณ์ที่ใช้	-	-

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ข้อดี ข้อจำกัด ข้อเสนอแนะ ของวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการจําแนบ Total Coliforms และ *E.coli* ในกึ่งอุตสาหกรรม

	MPN	LMX	วิธีวิเคราะห์	CCA
ข้อจำกัด	-	-	PEC	-
	-	-	แผ่น Petrifilm™ ราคาแพง	-
	-	-	ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ถูกจำกัด	-
	-	-	ที่ 1 มิลลิลิตร	-
	-	-	-	ไม่สะดวกในการเลือกโคโลนีที่อยู่ได้วันมาทดสอบทางชีวเคมี
	-	-	-	กรณีตัวอย่างมีการปนเปื้อน
	-	-	-	จุลินทรีย์อื่นที่สามารถย่อย
	-	-	-	ซัลเฟอร์ XGLU ได้เช่นกันมี
	-	-	-	ผลทำให้สีน้ำเงินของ <i>E. coli</i>
	-	-	-	เปลี่ยนเป็นสีฟ้าอมเขียวทำให้
	-	-	-	รายงานผลผิดพลาด

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติ ข้อดี ข้อจำกัด ข้อเสนอแนะ ของวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการจําแนบ Total Coliforms และ *E.coli* ในกึ่งกลางค่าช่วงแข็ง

วิธีวิเคราะห์

	MPN	LMX	PEC	CCA
ข้อเสนอแนะ	เพิ่มความถูกต้องโดยการเพิ่มจำนวนหลอดในแต่ละความเจือจาง	ตรวจสอบการเรืองแสงเครื่องแก้วทุกชิ้น เพิ่มขั้นตอนทดสอบขั้นต้น(primary isolate) ในอาหารที่จำเพาะ(selective medium) ต่อ Coliforms หรือ <i>E. coli</i> เติม Novobiocin เพื่อยับยั้ง background bacteria	นับเฉพาะโคโลนีที่ฟองแก๊สอยู่ห่างจากโคโลนีไม่เกินเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี นับเฉพาะแผ่นฟิล์มที่มีโคโลนีไม่เกิน 150	เพิ่มระยะเวลาบ่มเพื่อให้โคโลนีมีสีชัดเจนขึ้น เติม Cefsulodin เพื่อยับยั้ง background bacteria

หมายเหตุ MPN = Most Probable Number (Conventional Method)

LMX = Fluorocult^R LMX Broth (Rapid Method)

PEC = PetrifilmTM *E. coli* Count Plates (Rapid Method)

CCA = Chromocult^R Coliform Agar (Rapid Method)

1 = เหตุผลสอดคล้องกัน

- = เหตุผลไม่สอดคล้องกัน