

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. จากการเปรียบเทียบการวิเคราะห์หาปริมาณของโคไลฟอร์มทั้งหมด และฟิคอลโคไลฟอร์มโดยวิธี multiple tube dilution 6 วิธี และ plate count 2 วิธี ในหอยตะกอกและหอยนางรมปากจیب ไม่พบนัยสำคัญของความแตกต่างของปริมาณโคไลฟอร์มทั้งหมดและฟิคอลโคไลฟอร์มที่ได้จากวิธีการทั้งหมด ส่วนในหอยแครง พบว่าปริมาณของโคไลฟอร์มทั้งหมดที่ได้จากวิธี multiple tube dilution จะแตกต่างจากที่ได้จากวิธี plate count อย่างมีนัยสำคัญ โดยวิธี plate count จะให้ค่าที่สูงกว่า ส่วนในเฉพาะวิธี multiple tube dilution เองนั้นไม่พบนัยสำคัญของความแตกต่างเช่นกัน รวมทั้งปริมาณของฟิคอลโคไลฟอร์มจากตัวอย่างหอยแครงซึ่งได้จากวิธี multiple tube dilution เพียงอย่างเดียวก็ไม่พบนัยสำคัญของความแตกต่างด้วย แสดงว่าวิธี multiple tube dilution ทุกวิธีสามารถใช้ได้ สำหรับวิธีที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์ปริมาณของโคไลฟอร์มทั้งหมดและฟิคอลโคไลฟอร์มเราจะเห็นว่าถ้าใช้วิธีที่ 4 หรือ 5 ร่วมกับวิธีที่ 6 คือหาปริมาณโคไลฟอร์มทั้งหมดโดยใช้ Brilliant Green Lactose 2% Bile Broth หรือ MacConkey Broth เพียงอย่างเดียว และหาปริมาณฟิคอลโคไลฟอร์มโดยใช้อาหาร EC medium เพียงอย่างเดียวจะสามารถหาให้ทราบผลได้ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งประหยัดเวลาและอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ซึ่งผลที่ได้จากวิธีดังกล่าวนี้นอกจากจะให้ค่าที่เชื่อถือได้ คือไม่แตกต่างจากวิธีอื่น ๆ เช่นวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของ American Public Health Association (APHA) ประเทศสหรัฐอเมริกาแล้ว ถ้าพิจารณาจากตารางที่ 3, 4 และ 5 จะพบว่าวิธีที่ 4, 5 และ 6 นี้จะให้ปริมาณของโคไลฟอร์มและฟิคอลโคไลฟอร์มที่สูงกว่าวิธีอื่น ๆ แม้ว่าเมื่อทดสอบทางสถิติแล้วจะไม่ต่างกันก็ตาม

2. คุณภาพของหอยตะเภากรม หอยนางรมปากจีบ และหอยแครงจากแหล่งเพาะเลี้ยงและจากตลาดนั้น พบว่าในหอยทุกชนิดที่เก็บจากแหล่งเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณแบคทีเรียพวกโคโลฟอร์มต่ำกว่าหอยทุกชนิดที่เก็บจากตลาด โคยเฉพาะอย่างยิ่งในหอยตะเภากรมและหอยนางรมปากจีบ ส่วนแบคทีเรียพวกมารินิวibriโอนั้นในหอยจากแหล่งเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณสูงกว่าในหอยจากตลาด และในหอยนางรมปากจีบนั้นตรวจไม่พบมารินิวibriโอในหอยที่เป็นตัวอย่างจากตลาดเลย นอกจากตัวอย่างที่ซื้อจากตลาดจังหวัดชลบุรีซึ่งผู้ชายแกะใหม่ ๆ ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและโคโลฟอร์มสูงมาก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของฟิโคลโคโลฟอร์มซึ่งมาตรฐานของหอยที่ขายส่งกำหนดว่าจะมีได้ไม่เกิน 230 เซลล์ต่อ 100 กรัม (2.3 เซลล์ต่อกรัม) นั้นจะพบว่าในหอยทุกชนิดส่วนใหญ่แล้วจะตรวจพบว่ามีปริมาณของฟิโคลโคโลฟอร์มเกินกว่ามาตรฐานนี้ทั้งนั้น มีบางตัวอย่างที่ตรวจไม่พบฟิโคลโคโลฟอร์มเลย ได้แก่ ตัวอย่างของหอยแครงที่เก็บจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2530 ทั้งหมด รวมทั้งหอยตะเภากรมที่เก็บจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีในเดือนมีนาคม ซึ่งพบว่าตรวจไม่พบฟิโคลโคโลฟอร์มถึง 3 ใน 5 ตัวอย่าง และหอยนางรมปากจีบจากแหล่งเพาะเลี้ยงจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจากแหล่งเพาะเลี้ยงจังหวัดชลบุรีในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2530 ที่มีบางตัวอย่างตรวจไม่พบฟิโคลโคโลฟอร์มเช่นกัน ส่วนหอยที่เก็บจากตลาดนั้นหอยตะเภากรมจะพบฟิโคลโคโลฟอร์มสูงกว่ามาตรฐานนี้ทั้งหมด หอยนางรมปากจีบที่ซื้อมาจากตลาดอ่างศิลาจังหวัดชลบุรีตรวจไม่พบฟิโคลโคโลฟอร์ม 4 ใน 5 ตัวอย่าง ส่วนหอยแครงนั้นมีเพียงตัวอย่างเดียวซึ่งซื้อจากตลาดสาโรงตรวจไม่พบฟิโคลโคโลฟอร์ม นอกเหนือจากนี้จะตรวจพบสูงกว่า 2.3 เซลล์ต่อกรัมทั้งสิ้น

ส่วน *Salmonella* spp. ในตัวอย่างหอยที่เก็บจากตลาดทั้งหมดและหอยตะเภากรมและหอยนางรมปากจีบจากแหล่งเพาะเลี้ยงตรวจไม่พบ แต่ตรวจพบในหอยแครงที่เก็บตัวอย่างจากแหล่งเพาะเลี้ยงจังหวัดสุราษฎร์ธานีในเดือนสิงหาคม

3. การแยกชนิดของมารินิวibriโอ พบว่ามีมารินิวibriโออยู่ 3 ชนิด ที่พบมากคือ *Vibrio parahaemolyticus* และ *V. alginolyticus*

และไวรัสที่ไม่สามารถแยกชนิดซึ่งเมื่อขึ้นบน TCBS จะมีจุดสีเหลือง และตรงกลางนูนขึ้น (ambonate) หรือมีลักษณะแบบ MV2 ครอบคลุม V. parahaemolyticus ในหอยตะเภาจากแหล่งเพาะเลี้ยง 9 ใน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างจากตลาดพบ 12 ใน 22 ตัวอย่าง ในหอยนางรมปากจับตัวอย่างจาก แหล่งเพาะเลี้ยงพบ 4 ใน 12 ตัวอย่าง ในหอยแครงจากแหล่งเพาะเลี้ยงพบ 16 ใน 17 ตัวอย่าง จากตลาดพบ 26 ใน 36 ตัวอย่าง และ V. parahaemolyticus ที่ตรวจพบทุกตัวอย่างจะมีปริมาณสูงเกินกว่า  $10^2$  เซลล์ต่อกรัม ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานของปลาที่รับประทานดิบ

ส่วน V. alginolyticus นั้น ในหอยตะเภาจากแหล่งเพาะเลี้ยงพบทุกตัวอย่าง ส่วนจากตลาดจะพบ 12 ใน 22 ตัวอย่าง ในหอยนางรมปากจับจากแหล่งเพาะเลี้ยงพบ 5 ใน 12 ตัวอย่าง ในหอยแครงจากแหล่งเพาะเลี้ยงพบ 10 ใน 17 ตัวอย่าง จากตลาดพบ 19 ใน 36 ตัวอย่าง

ส่วน Vibrio spp. ซึ่งมีลักษณะแบบ MV2 นั้น พบมากเช่นกัน แต่ไม่สามารถจะแยกชนิดได้ ในหอยแครงจะพบมากที่สุด ครอบคลุมแหล่งเพาะเลี้ยงพบเกิน 10 ใน 17 ตัวอย่าง จากตลาดพบ 29 ใน 36 ตัวอย่าง และปริมาณที่พบก็ค่อนข้างสูง

#### ข้อเสนอแนะ

1. วิธีที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์หาแบคทีเรียพวกโคเลฟอร์มและฟิคอลโคเลฟอร์มจากการทดลองในครั้งนี้ คือวิธีที่ 4 (ใช้อาหาร Brilliant Green Lactose 2% Bile Broth) และวิธีที่ 5 (ใช้อาหาร MacConkey Broth) ในการวิเคราะห์หาปริมาณโคเลฟอร์มทั้งหมด และวิธีที่ 6 (ใช้อาหาร EC medium) ในการวิเคราะห์หาโคเลฟอร์มซึ่งต้องการทราบทั้งปริมาณโคเลฟอร์มทั้งหมดและฟิคอลโคเลฟอร์มก็อาจใช้วิธีที่ 4 ร่วมกับวิธีที่ 6 หรือ วิธีที่ 5 ร่วมกับวิธีที่ 6 ซึ่งจะทำให้ทราบผลภายใน 48 ชั่วโมง แต่ทั้งนี้อาจจะต้องทำการทดลองต่อไปอีกในการใช้วิธีดังกล่าว เพื่อให้ได้ข้อมูลเพียงพอในการที่จะยืนยันว่าวิธีดังกล่าวเหล่านี้ให้ผลที่เชื่อถือได้

2. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่า หอยนางรมปากจีบและ หอยตะรุกรมที่เป็นตัวอย่างจากตลาดซึ่งจะขายให้แก่ผู้บริโภคในรูปแกะ เสริม แล้วนั้น ปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียพวกโคโลฟอร์มจะสูงกว่า ตัวอย่างจากแหล่ง เพาะ เลี้ยง แสดงว่าแบคทีเรียเหล่านี้มีการปนเปื้อนภายหลัง จากแกะเปลือกแล้วซึ่งอาจจะมาจากน้ำที่ใช้ล้าง เครื่องมือที่ใช้แกะ หรือภาชนะที่ ใช้บรรจุ ซึ่งสามารถจะแก้ไขได้โดยเพิ่มความระมัดระวังในการแกะ ครอบต้อง ใช้ เครื่องมือที่สะอาด รวมทั้งน้ำที่ใช้ล้างและใช้แช่หอยระหว่างการขายจะต้อง เป็น น้ำสะอาดไม่มีแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ปนเปื้อนอยู่

ส่วนปริมาณของฟิโคลโคโลฟอร์มในตัวอย่างหอยจากแหล่ง เพาะ เลี้ยง พบว่าส่วนใหญ่จะมีปริมาณสูงกว่ามาตรฐานของหอยสำหรับขายส่งออกสู่ตลาด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องกำจัดแบคทีเรียพวกนี้เสียก่อนที่จะนำไปส่ง ออกสู่ตลาด ซึ่งปัจจุบันหลายประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ฟิลิปปินส์ มาเลเซียรวมทั้งประเทศไทยเราด้วย ได้ทดลองที่จะกำจัดแบคทีเรียพวกนี้ให้มี ปริมาณลดลงและอยู่ในมาตรฐานที่กำหนดไว้คือไม่เกิน 230 เซลล์ต่อ 100 กรัม พบว่าถ้าใช้น้ำทะเลที่มีความเค็มในช่วง 17.5-30 ส่วนในพันส่วน มากรองให้ สะอาดแล้วฆ่าเชื้อด้วยแสงอุลตราไวโอเล็ต แล้วนำไปล้างเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ครอบให้น้ำผ่านหอยตลอดเวลา จะทำให้ปริมาณของฟิโคลโคโลฟอร์มลดลงจาก  $10^4$  MPN ต่อกรัม เหลือเพียง  $10^2$  MPN ต่อกรัมได้ (Palpal-Iatoc, 1986)

3. สำหรับ V. parahaemolyticus นั้นจะเห็นว่าในทุกตัวอย่างที่ ตรวจพบจะมีปริมาณสูงเกินกว่ามาตรฐานซึ่งกำหนดไว้สำหรับบลาธิบดีประทานคิบ คือไม่เกิน  $10^2$  เซลล์ต่อกรัม ซึ่ง Desmarchelier (1978) รายงานว่า เมื่อเชื้อนี้เข้าสู่ร่างกาย สามารถ ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดิน อาหารอย่างเฉียบพลันในคนได้โดยการกินโดยตรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่ รับประทานอาหารทะเลคิบ ครอบปริมาณที่สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ คือ  $10^6-10^9$  เซลล์ต่อกรัม ซึ่งขึ้นกับสายพันธุ์ของ เชื้อและสุขภาพของผู้ที่ได้ รับประทานเชื้อเข้าไป เพราะฉะนั้นจากผลการตรวจครั้งนี้จะเห็นว่า ถ้ารับประทานหอย คิบ ๆ ครอบเฉพาะหอยตะรุกรมและหอยนางรมปากจีบซึ่งคนไทยนิยมรับประทานคิบ

ควรเพิ่มความระมัดระวังในการรับประทาน โดยกำจัด V. parahaemolyticus เสียก่อน โดยก่อนแกะเปลือกต้องล้างให้สะอาดด้วยน้ำที่ไม่มีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ และเมื่อแกะแล้วควรล้างอีก ครึ่งด้วยน้ำสะอาดจะช่วยลดปริมาณของ V. parahaemolyticus ลงได้ เนื่องจากรายงานว่าในหอยนางรมปากจีบจากตลาดเรามักตรวจไม่พบยกเว้นที่ซื้อจากอ่างศิลา ซึ่งผู้ชายแกะให้ห่ม ๆ จะพบ V. parahaemolyticus ซึ่งแสดงว่าเมื่อผ่านการล้างด้วยน้ำจืดและทิ้งไว้เป็นเวลานานจะทำให้ V. parahaemolyticus ลดจำนวนลงและหมดไปได้ในที่สุด ซึ่งอาจเนื่องจากถูกกำจัดออกไปกับน้ำที่ชำระล้างหรืออาจจะตายไปก่อนเพราะขาดวิตามินไอออนซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของมัน ซึ่งการล้างน้ำสะอาดนี้จะช่วยลดปริมาณของฟิโคคอลโลราลฟอร์มลงได้ด้วย

4. ในการแยกมารีน vibrio จากตัวอย่างหอยก่อนที่จะนำมาทำการพิสูจน์เพื่อแยกชนิดในการศึกษาครั้งนี้ใช้อาหาร TCBS เพียงอย่างเดียวที่ใช้ TCBS เพราะว่า TCBS นี้เป็น high selective media ของ vibrio โดยจะยับยั้งแบคทีเรียพวกแกรมบวก แบคทีเรียทางเดินอาหาร (enteric bacteria) และ Pseudomonas (Sakaski and Balows, 1982) แต่มี vibrio บางชนิดที่ไม่เจริญบน TCBS เช่น V. hollisae (Hickman et al, 1982) V. cholerae บางสายพันธุ์ V. anguillarum เกือบทุกสายพันธุ์ (Sakasaki and Balows, 1981) ซึ่ง Lee et al (1981) รายงานว่า V. anguillarum จะเจริญได้ดีบน TCBS ที่เติม 3% NaCl นอกจากนี้มี vibrio บางชนิดต้องการ enrichment media ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันออกไป เช่น V. fluvialis ต้องการ enrichment media ที่ประกอบด้วย 1% peptone, 4% NaCl และ Novobiocin 5 ug/ml, pH 8.5 (Nishibuchi et al, 1983) ส่วน V. cholerae ต้องการ alkaline peptone water เป็น enrichment media (West and Lee, 1982) เพราะฉะนั้นการใช้ TCBS เป็นอาหารแยก vibrio จากสัตว์ทะเลอาจจะไม่ได้จำนวนของ vibrio ทั้งหมดที่มีอยู่ในสัตว์เหล่านั้น แต่ก็สามารถจะตรวจหา vibrio โดยเฉพาะอย่างยิ่ง V. parahaemolyticus

ซึ่งมีความสำคัญ และตรวจพบเสมอในสภาพแวดล้อมทางทะเล และสัตว์ทะเลโดยทั่ว ๆ ไปได้เป็นอย่างดี

5. การตรวจสอบในครั้งนี้จะเห็นว่าตัวอย่างจากแหล่ง เพาะ เลี้ยง บางแห่ง เก็บเพียงครั้งเดียว บางแห่งเก็บ 2 ครั้ง ซึ่งถ้าจะให้ได้ผลที่เป็นการยืนยันอย่างแน่ชัดควรจะวางแผนเก็บตัวอย่างจากแหล่ง เพาะ เลี้ยงและจากตลาดที่มีความสอดคล้องกันมากกว่านี้ โดยอาจจะเก็บตัวอย่างจากแหล่ง เพาะ เลี้ยงและจากตลาดทุก ๆ เดือนในรอบ 1 ปี ซึ่งอาจจะทำให้เราเห็นผลของการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยเฉพาะพวกโคโลฟอร์มได้เด่นชัดขึ้นว่าเกิดช่วงใดมาก และอาจสรุปถึงฤดูกาลของการปนเปื้อนได้แน่นอนขึ้น ซึ่งผลของการศึกษานี้ หอจะเป็นแนวทางได้ว่าการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยเฉพาะพวกโคโลฟอร์ม จะสูงในช่วงฤดูฝน (สำหรับตัวอย่างจากแหล่ง เพาะ เลี้ยงจังหวัดสุราษฎร์ธานี) ส่วนตัวอย่างจากตลาดซึ่ง เราสามารถจะทราบฤดูกาลของการปนเปื้อนได้จากตัวอย่างหอยแครงแต่การศึกษานี้ไม่แสดงให้เห็น ส่วนหอยกะป๋องและหอยนางรมปากจیبที่เป็นตัวอย่างจากตลาดไม่สามารถบอกถึงฤดูกาลของการปนเปื้อนได้ เนื่องจากมีการปนเปื้อนจากการแกะและล้างดังกแล้ว