

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

การศึกษาพัฒนาชุดทดสอบ *Staphylococcus aureus* ในน้ำและน้ำแข็งDevelopment of Test Kit of *Staphylococcus aureus* in Water and Ice

สุจิตรา แสนทวีสุข วท.บ.

Suchittra Saentaweek B.Sc.

สุดารัตน์ แก้วมณี วท.บ.

Sudarata Kaewmanee B.Sc.

สุทธิพงษ์ แสงโชติ ป.พจ.วพ.

Sutthipong Saengchot

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 อุบลราชธานี

Regional Medical Sciences Center 7 UbonRatchathani

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

ชุดทดสอบ *Staphylococcus aureus* ในน้ำ น้ำแข็ง พัฒนาสูตรขึ้นโดยอาศัยหลักการของอาหารเลี้ยงเชื้อ enrichment media และ selective media ที่มีเกลือ Sodium chloride น้ำตาล D-Mannitol Potassium tellurite เป็นส่วนประกอบ และ Phenol red เป็น indicator อ่านผลบวกเมื่อชุดทดสอบเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลืองและมีตะกอนสีดำเกิดขึ้น ผลการทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน *S. aureus* จำนวน 11 สายพันธุ์ พบว่าให้ผลบวก เมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ ห้องปริมาณเชื้อตั้งแต่ 10^8 ถึง 10^3 ให้ผลบวกในเวลา 1-3 วัน ปริมาณเชื้อต่ำสุดที่สามารถตรวจได้คือ 1 เซลล์ แต่จะให้ผลบวกนานขึ้นเป็น 4-5 วัน ทดสอบกับเชื้อ Enterobacteriaceae และเชื้อกลุ่มอื่นๆ พบว่าให้ผลลบ การประเมินประสิทธิภาพโดยเปรียบเทียบผลวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยากับชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น พบว่ามีค่าความถูกต้อง (accuracy) ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ ร้อยละ 92.5 100 และ 87.8 ตามลำดับ สรุปชุดทดสอบนี้สามารถนำไปใช้ตรวจเบื้องต้นหาเชื้อ *S. aureus* ในน้ำและน้ำแข็งได้ ผู้ประกอบการและเจ้าหน้าที่ในพื้นที่สามารถนำไปใช้ควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ในเบื้องต้นได้

Abstract

Test kit for screening of *Staphylococcus aureus* in water and ice was developed from the formula of enrichment medium and selective medium that contain sodium chloride D-mannitol potassium tellurite and phenol red indicator. Positive result showed the color of test kit changes from a red to a yellow color and the black precipitate was produced. The result of test kit with standard culture of *S. aureus* 11 strains were showed positive result. At the room temperature the positive rapidly showed 1 to 3 days depend on amount of *S. aureus* about 10^8 to 10^3 cells, the detection limit of test kit was detected 1 cell but the detection time lasted to 4 to 5 days. The result of test kit with Enterobacteriaceae were showed negative result. The accuracy sensitivity and specificity of test kit are 92.5 100 and 87.8 percent respectively. Conclusion the test kit can be easily used to screening *S. aureus* in water and ice by the producers and the government officer for the monitoring plan.

ประเด็นสำคัญ-

ชุดทดสอบ *S. aureus* น้ำ น้ำแข็ง
ตรวจเบื้องต้น

Keywords

Test kit, *S. aureus*, water, ice, screening

บทนำ

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ใน family Micrococcaceae รูปร่างกลมอยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงอุ้งน หรือสายสั้นๆ ไม่เกิน 4 เซลล์ ย้อมติดสีแกรมบวกโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่ใช้แยกเชื้อคือ mannitol salt agar มีสีเหลืองทอง มีลักษณะกลมมนเป็นมัน ขนาด 1-2 มิลลิเมตร⁽¹⁾ *S. aureus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 10 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ pH ที่เจริญได้ดี 7.0-7.5 pH ต่ำสุด และสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 4.2 และ 9.3 ตามลำดับ⁽²⁾ ความสำคัญในการทำให้เกิดโรค เนื่องจาก enterotoxin ของเชื้อ ซึ่งละลายน้ำได้ดี สามารถทนความร้อนสูงถึง 100 องศาเซลเซียสนานประมาณ 30 นาที และทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร อาการของโรคท้องร่วงรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง แต่ไม่มีไข้

การปนเปื้อนของ *S. aureus* และ enterotoxin ในกระบวนการผลิตหรือปนเปื้อนอุปกรณ์ เครื่องมือมือผู้สัมผัสอาหาร ซึ่งถือว่าเป็นดัชนีชี้วัดด้านสุขลักษณะ และเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ⁽³⁾ ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข กำหนดคุณภาพน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท และน้ำแข็ง ต้องไม่พบเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ^(4,5) ปี พ.ศ. 2550 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีการแจ้งเตือน ปัญหาคุณภาพน้ำแข็งช่วงหน้าร้อนที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจวิเคราะห์น้ำแข็งจำนวน 169 ตัวอย่าง ไม่ได้มาตรฐาน 49 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจพบ *S. aureus* ถึง 5 ตัวอย่าง อาจทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค จากข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ ผลผลิตน้ำ สุขภาพ ในรายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ปี พ.ศ. 2549 - 2551 พบการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท น้ำแข็ง ทั้งก่อนและหลังการจำหน่าย

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นชุดทดสอบอย่างง่ายสำหรับตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในน้ำ น้ำแข็ง

และให้ผลบวกเร็ว ซึ่งการตรวจวิเคราะห์ตามวิธีเพาะเชื้อมาตรฐานในห้องปฏิบัติการนี้ ใช้เวลานาน 4 วันถึง 1 สัปดาห์ จึงจะทราบผลการตรวจวิเคราะห์ การพัฒนาสูตรชุดทดสอบโดยอาศัยหลักการ ตามวิธีมาตรฐานและข้อมูลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ *S. aureus* ซึ่งมีส่วนประกอบสำคัญ คือ เกลือ sodium chloride 10 % และสาร potassium tellurite เพื่อเสริมการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และยับยั้งการเจริญของเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae และแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มอื่นๆ ใช้น้ำตาล mannitol เป็น carbon source โดยใช้ phenol red เป็น acid indicator เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง สาร potassium tellurite สำหรับทดสอบ reduction test ของเอนไซม์ coagulase ที่เชื้อสร้างขึ้นเกิดเป็นตะกอนสีดำ คาดว่าชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นจะมีประสิทธิภาพสามารถนำไปใช้เป็นเครื่องมือตรวจการปนเปื้อนของ *S. aureus* เบื้องต้นในน้ำและน้ำแข็ง ในการเฝ้าระวังดูแลคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำและน้ำแข็งในภาคสนามต่อไป

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. สูตรชุดทดสอบ ส่วนประกอบสำคัญ-

Trypticase peptone D-Mannitol Sodium chloride g Beef extract Glycine Pyruvate Lithium chloride Phenol red Dipotassium phosphate น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้มส่วนผสมอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดให้ละลาย เทใส่ในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร มาเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. การเตรียมเชื้อมาตรฐาน

เตรียมเชื้อที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.5 McFarland (ความเข้มข้นประมาณ 0.5×10^8 cells)⁽⁶⁾

2.1 เชื้อมาตรฐาน *S. aureus*

S. aureus ATCC 25923 *S. aureus* ATCC 6538 *S. aureus* ATCC 29213 *S. aureus* ATCC 12715 *S. aureus* ATCC 43300 *S. aureus* DMST No. 2978 *S. aureus* DMST No. 3437 *S. aureus* DMST No. 4243 *S. aureus* DMST No. 4819 *S. aureus* DMST No. 5037 และ *S. aureus* DMST No. 5202

2.2 เชื้อมาตรฐาน เชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มอื่นๆ กลุ่ม Enterobacteriaceae และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มอื่นๆ *E. coli* ATCC 8738 *Salmonella typhi* ATCC 6539 *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853 *Enterobacter aerogenes* (PT) *Salmonella* gr. C (RMSc.7) *Salmonella* gr. D (RMSc.7) *Salmonella* gr. F (RMSc.7) *Salmonella* gr. I (RMSc.7) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 *Vibrio cholerae* Ogawa (PT) และ *Vibrio cholerae* Inaba (PT)

3. ตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่างน้ำและน้ำแข็งที่ผ่านกระบวนการที่คาดว่าจะให้ผลลบและตัวอย่างน้ำ น้ำแข็งบดทั่วไปที่คาดว่าจะให้ผลบวก รวม 120 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท 40 ตัวอย่าง น้ำแข็ง 27 ตัวอย่าง น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำดิบสำหรับผลิตน้ำบริโภคฯ จำนวน 53 ตัวอย่าง

ขั้นตอนการศึกษา

1. ใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นทดสอบความสามารถในการเพิ่มจำนวนและแสดงเอกลักษณ์ของเชื้อ *S. aureus* strain ต่าง ๆ ได้ กับเชื้อมาตรฐาน *S. aureus* ที่มีความเข้มข้น 0.5 McFarland เติมเชื้อแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลองปริมาณ 1 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด แล้วเติมอาหารทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเวลา 5 วัน อ่านผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีภาพที่ 1 การทดสอบด้วยชุดทดสอบ

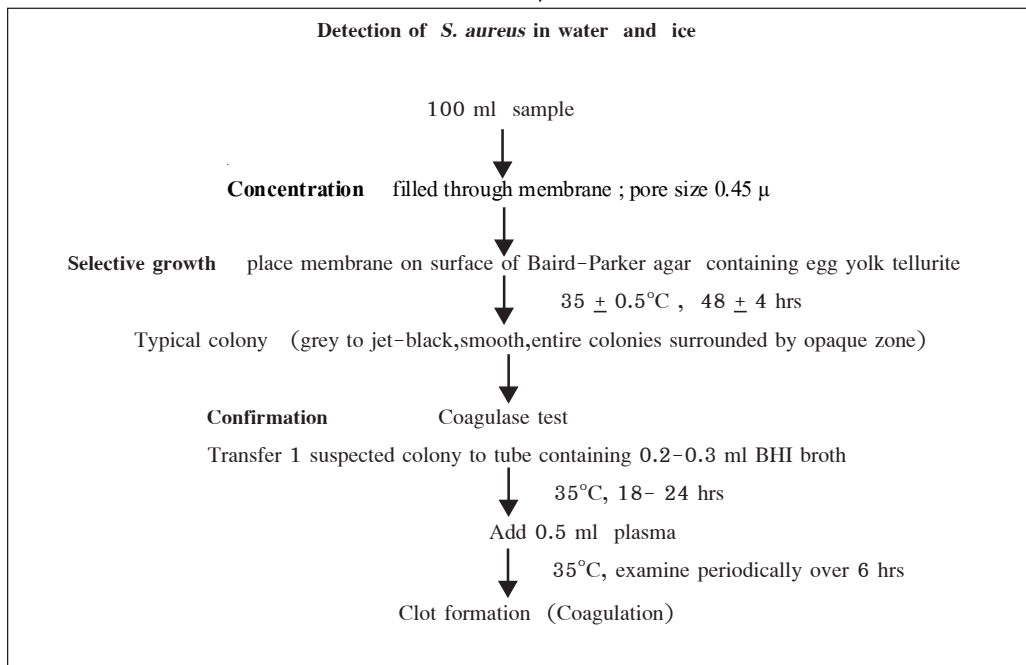
ของอาหาร เลี้ยงเชื้อจากสีแดงเป็นสีเหลือง และการเกิดตะกอนสีดำ และทำเป็น positive control สำหรับการทดสอบกับตัวอย่างทุกครั้ง

2. ใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น ทดสอบการยับยั้งต่อเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มอื่น ๆ โดยเตรียมเชื้อที่ความเข้มข้น 0.5 McFarland ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 1. ทำเป็น negative control สำหรับการทดสอบอายุการใช้งานของชุดทดสอบ ตามข้อ 5.

3. ใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น ทดสอบหาปริมาณต่ำสุดของเชื้อ *S. aureus* ที่ชุดทดสอบสามารถตรวจได้ โดยการเตรียมเชื้อมาตรฐาน *S. aureus* ATCC 25923 ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.5 (McFarland 0.5) นำมาเจือจางที่ความเจือจาง ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-9} นำมาทดสอบกับอาหารทดสอบ ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 1

4. การประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบเพื่อหาความถูกต้อง (accuracy) ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของการตรวจสอบ^(7,8) ใช้ชุดทดสอบทดสอบกับตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง โดยเปิดตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง 10 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 1. จำนวน 120 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างโดยวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา membrane filter technique และตรวจยืนยันด้วยวิธี coagulase test^(9,10)



ภาพที่ 2 การตรวจวิเคราะห์ *S. aureus* โดยวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา

5. ทดสอบอายุการใช้งานของชุดทดสอบโดยเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส นำมาทดสอบกับตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง และทำ positive control และ negative control ควบคุมเดือนละครั้งเป็น เวลา 6 เดือน

ผลการศึกษา

การทดสอบชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น กับเชื้อมาตรฐาน *S. aureus* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland ที่อุณหภูมิห้องและ 35 องศาเซลเซียส เวลา 5 วัน พบว่าสามารถให้ผลบวก โดยอ่านผลการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีเหลืองและมีตะกอนสีดำ ที่อุณหภูมิห้องให้ผลบวกเช่นเดียวกับ 35 องศาเซลเซียส หลังจากบ่มตั้งแต่วันที่ 1 ดังภาพที่ 3

การทดสอบชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นเพื่อทดสอบภาพที่ 3 ผลบวก



การยับยั้งต่อเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae และเชื้อกลุ่มอื่นๆ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เวลา 5 วัน พบว่าให้ผลลบ อาหารทดสอบไม่เปลี่ยนสีหลังจากที่บ่มอุณหภูมิห้องและ 35 องศาเซลเซียส ตั้งแต่วันที่ 1-5 แสดงว่าอาหารทดสอบนี้สามารถยับยั้งเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มอื่นๆ ได้

การหาปริมาณต่ำสุดของเชื้อ *S. aureus* ที่ชุดทดสอบสามารถตรวจได้ พบว่าผลการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง และ 35 องศาเซลเซียส อาหารทดสอบนี้ สามารถตรวจเชื้อที่มีปริมาณสูงได้ภายในเวลา 1 วัน และตรวจหาเชื้อต่ำสุดที่ความเจือจาง 10⁻⁷ ถึง 10⁻⁹ ได้ ซึ่งครอบคลุม 1-10 เซลล์ แต่เริ่มอ่านผลบวกได้จะใช้เวลานาน 3 วัน ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การหาปริมาณต่ำสุดของเชื้อมาตรฐาน S. aureus ATCC 25923 ที่ชุดทดสอบสามารถตรวจได้

ความเจือจางที่ (ปริมาณเชื้อ) S. aureus ATCC 25923	ผลการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง (RT) และ 35 องศาเซลเซียส (35°C)										ตรวจวิเคราะห์ โดยวิธี มาตรฐาน
	วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4		วันที่ 5		
	RT	35°C	RT	35°C	RT	35°C	RT	35°C	RT	35°C	
10 ⁸	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻¹ (10 ⁷)	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻² (10 ⁶)	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻³ (10 ⁵)	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻⁴ (10 ⁴)	N	N	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻⁵ (10 ³)	N	N	N	N	++	++++	++++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻⁶ (10 ²)	N	N	N	N	+	++	+++	++++	++++	++++	พบ
10 ⁻⁷ (10 ¹)	N	N	N	N	N	N	+	++	+++	++++	พบ
10 ⁻⁸ (10 ⁰)	N	N	N	N	N	N	+	++	++	+++	พบ
10 ⁻⁹	N	N	N	N	N	N	+	++	++	+++	พบ

การประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบ ตรงกับวิธีมาตรฐาน) = 46 ตัวอย่าง
 เปรียบเทียบกับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างโดยวิธี FP = False positive (ชุดทดสอบให้ผลบวก/
 มาตรฐานกับตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง จำนวน 120 ตัวอย่าง วิธีมาตรฐานให้ผลลบ) = 9 ตัวอย่าง
 พบว่า วิธีเพาะเชื้อมาตรฐานตรวจพบ เชื้อ S. aureus FN = False negative (ชุดทดสอบให้ผลลบ/
 46 ตัวอย่าง และชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นตรวจพบ 55 วิธีมาตรฐานให้ผลบวก) = 0 ตัวอย่าง
 ตัวอย่าง TN = True negative (ชุดทดสอบให้ผลลบตรง
 TP = True positive (ชุดทดสอบให้ผลบวก กับวิธีมาตรฐาน) = 65 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน (membrane filter technique)

ผลการตรวจน้ำ น้ำแข็ง โดยใช้ชุดทดสอบ (ตัวอย่าง)	ผลการตรวจน้ำ น้ำแข็ง โดยวิธีmembrane filter technique (ตัวอย่าง)		จำนวนตัวอย่าง ทั้งหมด
ผลบวก	46	9	55
ผลลบ	TP(a) FN(b) 0	FP(c) TN(d) 65	65
จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	46	74	120

$$\text{ความถูกต้อง (Accuracy)} = \frac{TP + TN}{(TP + FP) + (FN + TN)} \times 100\% = \frac{46 + 65}{(46 + 9) + (0 + 65)} \times 100\% = 92.5\%$$

$$\text{ความไว (Sensitivity)} = \frac{TP}{TP + FN} \times 100\% = \frac{46}{46 + 0} \times 100\% = 100\%$$

$$\text{ความจำเพาะ (Specificity)} = \frac{TN}{TN + FP} \times 100\% = \frac{65}{65 + 9} \times 100\% = 87.8\%$$

วิจารณ์

การศึกษาพัฒนาสูตรชุดทดสอบตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* เบื้องต้นในน้ำและน้ำแข็ง เพื่อใช้เป็นชุดทดสอบที่มีลักษณะเป็นอาหารเหลวสีแดงใส (broth) ทำการทดสอบตัวอย่างโดยการเติมตัวอย่างลงไปในช่วงที่บรรจุอาหารทดสอบ การอ่านผลจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารทดสอบ ผลบวกจะมีสองลักษณะควบคู่กันคืออาหารทดสอบเปลี่ยนแปลงจากสีแดงเป็นสีเหลืองและมีตะกอนสีดำ เชื้อเกิดขึ้น (ภาพที่ 3) จากผลการทดสอบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถเพิ่มจำนวนและแสดงเอกลักษณ์ของเชื้อ *S.aureus* strain ต่างๆ ได้ การพัฒนาสูตรให้มีการอ่านผล สองลักษณะนี้เพื่อลดหรือจำกัด ผลบวกปลอม เนื่องจากชุดทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเหลวแต่เดิมจะอาศัยหลักการของการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของ indicator เพียงอย่างเดียว ซึ่งค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่างจะมีผลกับการอ่านผลและเป็นข้อจำกัดของชุดทดสอบจึงทำให้การอ่านผลลบมีหลายลักษณะคือ สีแดงไม่มีเชื้อเจริญ สีแดงมีตะกอนดำ และสีเหลืองแต่ไม่มีตะกอนดำ เนื่องจากสูตรอาหารทดสอบ มีส่วนประกอบ กลีโกล 10 % NaCl สารยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม Enterobacteriaceae และ กลุ่มอื่นๆ ไม่สามารถเจริญได้จึงไม่เกิดใช้น้ำตาล D-mannitol ได้อาหารทดสอบจึงไม่เปลี่ยนสี หรือเชื้อบางชนิดอาจใช้น้ำตาล D-mannitol เกิดกรดทำให้อาหารทดสอบเปลี่ยนสี แต่ถ้าเชื้อไม่มีเอนไซม์ coagulase ที่สามารถรีดิวซ์ potassium tellurite ให้เกิดเป็นตะกอนสีดำ อาหารทดสอบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแต่ไม่มีตะกอนดำเกิดขึ้น ซึ่งจะอ่านผลเป็นลบเช่นกัน

เมื่อนำชุดทดสอบไปใช้กับเชื้อมาตรฐานที่อุณหภูมิห้องเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อตั้งแต่ 10^8 ถึง 10^3 ให้ผลบวกในเวลา 1-3 วัน ซึ่งเร็วกว่าวิธีมาตรฐานที่ใช้เวลาวิเคราะห์ 4 วันถึง 1 สัปดาห์ ปริมาณเชื้อต่ำสุดที่สามารถตรวจได้คือ 1 เซลล์ แต่จะให้ผลบวกนานขึ้นเป็น 4-5 วัน เท่ากับวิธีมาตรฐาน (ตารางที่ 1) จากการประเมิน

ประสิทธิภาพอาหารทดสอบกับตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง เทียบกับวิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา มีค่าความถูกต้อง ความไว และความจำเพาะ มากกว่าร้อยละ 85 (ตารางที่ 2) ซึ่งเป็นค่าที่สามารถใช้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อนี้เป็นชุดทดสอบในภาคสนามได้ จากค่าที่คำนวณได้นี้ยังมีค่าที่เป็นผลบวกปลอม (false positive) ซึ่งมีลักษณะเหมือนผลบวกคือเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและมีตะกอนสีดำ เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐานแล้วไม่พบเชื้อ *S. aureus* บางชนิดมีลักษณะเป็นตะกอน เมื่อใช้ลูปเขี่ยเชื้อแล้วไม่มีลักษณะเป็นยางเหมือน *S. aureus* ซึ่งอาจจะเป็นเชื้อในกลุ่มแกรมบวก (gram positive) ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (10 % NaCl) ทั้งนี้อาจพบตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการหรือในตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนจากกระบวนการผลิตที่ไม่ดีจึงทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ และเมื่อนำมาทดสอบกับตัวอย่างเดือนละครั้ง เป็นเวลา 6 เดือนพบว่าคุณภาพยังไม่เปลี่ยนแปลง

สรุปผลการศึกษาพัฒนาในห้องปฏิบัติการพบว่าสูตรอาหารทดสอบนี้ สามารถใช้เป็นชุดทดสอบสำหรับตรวจเบื้องต้นหาเชื้อ *S. aureus* ในน้ำและน้ำแข็งได้ การอ่านผลไม่ยุ่งยาก โดยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี จากสีแดงเป็นสีเหลืองและมีตะกอนเชื้อสีดำ แต่ก็มีข้อควรระวังคือการปนเปื้อนจากผู้ทดสอบขณะเติมตัวอย่างลงไปในช่วงชุดทดสอบอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมเนื่องจากเชื้อในกลุ่ม *Staphylococcus* sp. มักจะอยู่ตามผิวหนังและมือ แนวทางที่จะดำเนินการต่อไป นำชุดทดสอบนี้ให้ผู้ประกอบการ เจ้าหน้าที่ของรัฐทดลองใช้เพื่อประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบในภาคสนาม ทั้งนี้หากผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบเปรียบเทียบกับผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการแล้วให้ผลสอดคล้องกัน ผู้ใช้ประเมินขั้นตอนการทดสอบและอ่านผลได้ง่าย ก็จะสรุปว่าชุดทดสอบนี้สามารถนำไปใช้ได้อย่างสมบูรณ์

องค์ความรู้ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้สร้างเครือข่ายในการถ่ายทอดองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์การแพทย์สู่ชุมชนเพื่อให้ชุมชนมี

ความเข้มแข็งสามารถดูแลตนเอง ชุดทดสอบนี้จะเป็นอีกเครื่องมือหนึ่งที่ใช้ในการเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำแข็งในชุมชน ผู้ประกอบการนำไปใช้ควบคุมคุณภาพกระบวนการผลิตด้วยตนเองอย่างสม่ำเสมอเจ้าหน้าที่ของรัฐ เช่น หน่วยเคลื่อนที่ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ใช้ชุดทดสอบตรวจคัดกรองผลิตภัณฑ์และส่งผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบไม่ผ่าน ตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการ เพื่อสำรวจเฝ้าระวังกำกับติดตามคุณภาพในการดำเนินการเพื่อส่งเสริม และสนับสนุนด้านวิชาการแก่ผู้ประกอบการ ประโยชน์ทางการสาธารณสุขเป็น early detection กรณีเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ และสงสัยการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างน้ำและน้ำแข็ง เจ้าหน้าที่สาธารณสุขสามารถใช้ชุดทดสอบนี้ตรวจเบื้องต้น และดำเนินการแก้ไขได้อย่างรวดเร็ว และทันต่อเหตุการณ์ไม่ต้องรอผลการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เวลานานเป็นสัปดาห์ซึ่งอาจทำให้การดำเนินการล่าช้า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุบลราชธานีที่ 7 ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนการศึกษาครั้งนี้ ขอขอบคุณกลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกของศูนย์ฯ ที่ความอนุเคราะห์เชื่อมาตรฐานและผู้ทรงคุณวุฒิ เพ็ญศรี รอดมา ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ

เอกสารอ้างอิง

- มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเภสัชศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา. เภสัชจุลชีววิทยา. กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา; 2536.
- Kenneth T. Nutrition and Growth of bacteria. Microtextbook. [Online]2001[Cited2003 Dec28]; [11 screens]. Available from: URL: <http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/NutritionGrowth/Physicalandenv. html>.
- Benette RW, Lancette GA, Chapter editors. Chapter 12. *Staphylococcus aureus*. In : U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. Bacteriological analytical manual. [Online] 2001 Jan [Cited 2001 Jan] ; [6 screens]. Available from: URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12. html>.
- พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ลงวันที่ 7 กันยายน พ.ศ. 2524)
- พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ. 2527) เรื่อง น้ำแข็ง (ลงวันที่ 16 มกราคม พ.ศ. 2527)
- Murray R P, Baron Jo E, Pfaller A M, Tenover C P, Tenover H R. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington, DC : American Society for Microbiology; 1999.
- จุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์. ชุดทดสอบยาคักในนมและผลิตภัณฑ์นม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2541; 40(2): 209-220.
- จุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์ ดวงดาว วงศ์สมมาตร และปรีชา จึงสมานกุล. การพัฒนาชุดทดสอบยาปฏิชีวนะ และสารต้านจุลชีพ ตกค้างในเนื้อสัตว์. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2544; 43(1): 113-129.
- Greenberg AE, Clescerl L.S, Eaton AD, editors. Standard method for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA); 2005.
- Ohashi M, Murakami H, Kudoh Y, Sakai S. Manual for the laboratory diagnosis of bacterial food poisoning and the assessment of the sanitary quality of food. Tokyo : SEAMIC Publication No.12; 1978. p.12-60.