บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

ในการทดลองนี้ได้ทำการวิเคราะห์กลุ่มค่าสังเกตหรือข้อมูลเป็น 2 ลักษณะข้อมูลคือ ข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative data) ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีเครื่องมือวัดแน่นอน เมื่อจำแนกการวัดแล้ว ค่าที่วัดได้นั้นสามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ ซึ่งจากการทดลองนี้ได้แก่ ค่าการแจงนับ Total coliforms และ *Escherichia coli* และอีกลักษณะข้อมูลคือ ข้อมูลเชิงคุณภาพหรือคุณลักษณะ (Qualitative data) เป็นข้อมูลที่จำแนกตามคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ลักษณะข้อมูลสามารถตรวจพบ ไม่พบ โดยวิธีหนึ่งๆ เป็นต้น ซึ่งจากการทดลองนี้ได้แก่ การเปรียบเทียบคุณสมบัติด้านความไว ความจำเพาะของการทดสอบเป็นต้น

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล เมื่อมีการจำแนกลักษณะข้อมูลแล้ว ต้องทราบที่มาของข้อมูลด้วยว่า เป็นข้อมูลอิสระต่อกัน (Independent group) หรือเป็นข้อมูลเชิงสัมพันธ์ (Related groups) ในการทดลองนี้สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ การวิเคราะห์ความแปรผัน Analysis of Variance (ANOVA) และในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1990)

การทดลองนี้มีรูปแบบการทดลอง 2 รูปแบบ ได้แก่ การประมาณค่าโดยการนับจำนวนโคโลนี (Plate count technique) ค่าที่ได้เป็น colony forming unit (CFU/g) ได้แก่ Petrfilm™ *E. coli* Count Plates และ Chromocult® Coliform Agar และ การประมาณค่าโดยการนับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกแล้วเทียบค่าที่ได้จากตารางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95 % (MPN technique) ค่าที่ได้เป็น Organisms/g ได้แก่ Most Probable Number และ Fluorocult® LMX Broth ซึ่งค่าที่ได้จากวิธีนี้อาศัยหลักความน่าจะเป็นทางสถิติ (probability statistics) ดังนั้นเพื่อเพิ่มความแม่นยำ และลดความเบี่ยงเบน Greenwood และ Yule กล่าวไว้ว่าในการทดลองควรใช้หลายๆความเจือจาง (several dilution) ในแต่ละชุดการทดลอง (series of tubes) ส่วน Halvorson และ Ziegler กล่าวว่าควรมีความแปรผัน 3 ความเจือจางต่อเนื่องกันเป็นอย่างน้อย อย่างไรก็ดี MPN technique ก็ยังขาดความแม่นยำด้วยปัจจัยภายใน (inherent inaccuracies) (Cowell and Morisetti , 1969)

ถึงแม้ว่าค่าที่ได้จาก Plate count technique จะได้จากการคำนวณออกมาเป็นจำนวนนับได้เลยก็ตาม แต่ก็จะมีค่าสมนัยกัน (corresponds) กับ ค่าที่ได้จาก MPN technique (Oblinger and Koburger, 1975) ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายไม่เป็นปกติ (non-normal distribution) จะนิยมแปลงข้อมูล (transform data) ในรูปลอการิทึม (logarithm) เพื่อให้ข้อมูลมีการแจกแจงอย่างปกติและลดความคลาดเคลื่อนลงได้ (Smith, et al. 1989)

Halvorson และ Ziegler ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบ Plate count technique กับ MPN technique พบว่า ค่าที่ได้จะเท่ากัน (same value) ต่อเมื่อเซลล์นั้นมีการเจริญก่อนที่จะเข้าสู่ระยะสุดท้ายหรือ death phase

เปรียบเทียบวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการแจงนับ Total coliforms และ *E. coli* ที่ระดับการปนเปื้อนต่าง ๆ

จากผลการทดลองเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณ Total coliforms และ *E. coli* ใน natural contamination พบว่า วิธี LMX^a = MPN^a > CCA^b > PEC^b จะเห็นว่า MPN technique จะให้ค่าเฉลี่ยการแจงนับมากกว่า Plate count technique (ตารางที่ 3) เนื่องจากบางตัวอย่างมีการปนเปื้อน Coliforms มาจากธรรมชาติแล้ว แต่จะมี Coliforms ในปริมาณที่ต่ำกล่าวคือ <10 CFU/g แสดงว่า MPN technique ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์เหลว (broth) มีความไวต่อการตรวจพบ Coliforms ได้ดีกว่า Plate count technique ซึ่งการเจริญของจุลินทรีย์ใน MPN technique นั้นอาศัยหลักการที่ว่า จุลินทรีย์จะมีการกระจายตัวแบบสุ่ม (randomly throughout) และมีความสม่ำเสมอทำให้ความสามารถในการตรวจพบจุลินทรีย์กระจายอยู่ทั่วทุกส่วนมีโอกาสตรวจพบได้มากกว่า นอกจากนี้ยังอาจเนื่องมาจาก Coliforms มีความไวต่อความแห้ง (dryness) จึงเจริญได้ไม่ดีนักในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดแข็ง (agar) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Frampton และ คณะ , 1990 นอกจากนี้การวิจัยก่อนหน้านี้(McCarthy ,et al. 1958) ยังพบว่า MPN technique จะให้ค่าการแจงนับ Coliforms สูงกว่า Plate count technique โดยเฉลี่ยประมาณ 10-29% ขึ้นอยู่กับประเภทของตัวอย่างอาหารและอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ว่ามีความจำเพาะต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการเพียงใด

ส่วนการแจงนับ *E. coli* ทั้ง 4 วิธีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เนื่องจากไม่พบการปนเปื้อน *E. coli* ในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ ซึ่งได้ผลการทดลองเช่นเดียวกันในการเปรียบเทียบปริมาณ Total coliforms และ *E. coli* ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่ทำการปนเปื้อนเฉพาะ *E. coli* ในระดับปริมาณ 10^2 CFU/g คือ LMX^a = MPN^a = CCA^a = PEC^a ทั้ง 4 วิธี

สามารถแจงนับ Total coliforms และ *E. coli* แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เนื่องจากตัวอย่างมีการปนเปื้อนของ *E. coli* ในระดับที่สูงพอที่ทั้ง 4 วิธีจะสามารถแจงนับได้และไม่เกิดการรบกวนการเจริญเนื่องจากไม่ได้ทำการปนเปื้อน Coliforms

การเปรียบเทียบปริมาณ Total coliforms และ *E. coli* ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่ทำการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* ในระดับปริมาณ 10^1 CFU/g พบว่า $LMX^a > CCA^{ab} > PEC^b = MPN^b$ จะเห็นว่าเมื่อระดับการปนเปื้อนเริ่มสูงขึ้น Plate count technique เริ่มมีประสิทธิภาพการแจงนับเทียบเท่า MPN technique จากการวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยพบว่า LMX ให้ค่าการแจงนับTotal Coliforms สูงที่สุดและแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับ CCA ($p > 0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ PEC และ MPN ($p < 0.05$) ขณะที่ CCA PEC MPN แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ดังนั้นนอกจากปัจจัยในด้านเทคนิคการวิเคราะห์แล้วยังมีปัจจัยอื่นๆร่วมด้วยจะเห็นว่าวิธี MPN ถึงแม้จะอาศัยเทคนิคเดียวกันกับ LMX (MPN technique)แต่กลับให้ค่าการแจงนับต่ำที่สุดและต่ำกว่า CCA และ PEC ซึ่งเป็น Plate count technique อีกด้วย เนื่องจากวิธี MPN อาศัยหลักการ การย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสแล้วให้ กรดและแก๊สเพียงอย่างเดียว ซึ่งกระบวนการนี้สามารถถูกยับยั้งได้ในกรณีที่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่นปะปนอยู่ด้วย (natural background) โดยเฉพาะ *Proteus vulgaris* (Olson, 1978) นอกจากนี้อาจมี Anaerobic Coliforms ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสได้ ทำให้ได้ค่าการแจงนับต่ำกว่าวิธีอื่น ขณะที่ LMX อาศัยหลักการ เอนไซม์-ซับสเตรท คือ β-D-galactosidase และ β-D-glucuronidase ที่จำเพาะต่อ X-GAL และ MUG ตามลำดับ ทำให้ไม่เกิดปัญหาจากการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตส ขณะที่ Plate count technique ทั้ง 2 วิธี CCA แจงนับได้สูงกว่า PEC อาจเนื่องจากองค์ประกอบอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ของ PEC นั้นประกอบด้วย ไวโอเลดเรดบายล์ ซึ่งเมื่อน้ำตาลแลคโตสถูกย่อยสลายจะให้กรดและแก๊ส แก๊สที่เกิดขึ้นจะถูกดักไว้รอบๆโคโลนี ซึ่งปฏิกิริยานี้ถูกยับยั้งได้ดังกล่าวไว้ข้างต้นแล้ว นอกจากนี้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่จำกัดไว้ที่ 20 ซม^2 ซึ่งเมื่อปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรลงไปเมื่อปิดแผ่นฟิล์มจะมีตัวอย่างบางส่วนซึมอยู่รอบๆขอบฟิล์มซึ่งหลังจากบ่มตัวอย่างครบ 24 ชั่วโมงแล้ว บางครั้งอาจพบโคโลนีที่ให้ผลบวกอยู่รอบนอกของแผ่นฟิล์ม อาจเป็นสาเหตุให้การแจงนับต่ำลงได้ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ไวโอเลดเรดบายล์ (violet red bile)ในแผ่นฟิล์มมี bile salt ซึ่งอาจจะไปยับยั้งการเจริญของ Coliforms เองด้วย (Maxcy, 1970; Scheusner, Busta and Speck, 1971) ขณะที่ วิธี CCA ซึ่งใช้หลักการเอนไซม์-ซับสเตรทไม่ก่อให้เกิดปัญหานี้ทำให้ค่าเฉลี่ยของการแจงนับสูงกว่า ในส่วนของการแจงนับ *E. coli* พบว่าการแจงนับแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

การเปรียบเทียบปริมาณ Total coliforms และ *E. coli* ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่ทำการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* ในระดับปริมาณ 10^2 CFU/g พบว่าการแจงนับ Total coliforms ของ $LMX^a > PEC^b = MPN^b = CCA^b$ จะเห็นว่าวิธี LMX ยังคงมีค่าแจงนับสูงกว่าทั้ง 3 วิธีอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ PEC MPN CCA มีค่าเฉลี่ยการแจงนับไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แสดงว่าซับสเตรท และ เอนไซม์ที่ใช้ใน LMX มีความไวสูงต่อ Coliforms และ *E.coli* นอกจากเหนือข้อได้เปรียบอันเนื่องมาจากเป็นอาหารเหลวดังได้กล่าวข้างต้นแล้ว

ในส่วนของการแจงนับ *E. coli* พบว่า $LMX^a = MPN^a > CCA^b = PEC^b$ จะเห็นว่าการแจงนับด้วยวิธี LMX สูงกว่าทั้ง 3 วิธี แต่แตกแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญกับวิธี MPN ($p > 0.05$) ขณะที่ทั้ง LMX และ MPN แตกต่างจาก Plate count technique ของ PEC และ CCA อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อทำการเปรียบกับผลจากการที่ทำการปนเปื้อน *E coli* ATCC 25922 เพียงอย่างเดียวซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทั้ง 4 วิธีนั้น สาเหตุที่ได้ผลต่างกันอาจสันนิษฐานได้ว่าเป็นเพราะ การทดลองที่มีการปนเปื้อน Coliforms ร่วมด้วยในปริมาณที่เพิ่มขึ้นถึง 10^2 CFU/g มีผลทำให้เกิดการเจริญแข่งขันของ Coliforms รวมกับแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาในธรรมชาติที่มีอยู่เดิม (heterotrophic bacteria) ทำให้เกิดการรบกวนต่อการเจริญของ *E. coli* ใน MPN ซึ่งมีอัตราการแจงนับขึ้นๆลงๆหรือแกว่งอยู่แล้ว (fluctuated) (Hackney, Ray and Speck, 1979)เนื่องจาก MPN ไวต่อการรบกวน(interfere)ของแบคทีเรียอื่น(Allen, et al. 1975; Geldrich, et al. 1972 and Hutchison, et al. 1943) และแบคทีเรียเหล่านี้อาจไปรบกวน(interfere)การทำงานของ β -D-glucuronidase (GUD) ซึ่งมีความจำเพาะต่อ E. coli เช่นกันทำให้ค่าที่ได้จากการแจงนับแกว่งไปด้วย

การเปรียบเทียบปริมาณ Total coliforms และ *E. coli* ในตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่ทำการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* ในระดับปริมาณ 10^3 CFU/g พบว่าการแจงนับ Total coliforms ของ $LMX^a > CCA^{ab} = MPN^{ab} = PEC^b$ จะเห็นว่า LMX ยังคงให้การแจงนับสูงกว่าวิธีอื่นๆขณะเดียวกันก็สูงกว่าในทุกๆระดับการปนเปื้อนด้วย นอกจากข้อได้เปรียบดังได้กล่าวข้างต้นแล้ว เนื่องจากในอาหารเหลว LMX มีองค์ประกอบของ 1-Isopropyl-1-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG) ซึ่งเป็นสารเหนี่ยวนำ β-D-galactosidase (GAL) ทำให้มีปริมาณการแจงนับสูงกว่าวิธีอื่นๆ (Manafi, 1995) ขณะที่ CCA MPN และ PEC แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ในส่วนของการแจงนับ *E. coli* พบว่าการแจงนับสอดคล้องกับการปนเปื้อนที่ระดับ 10^2 CFU/g

เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* ในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง

การเปรียบเทียบคุณสมบัติของวิธีรวดเร็วกับวิธีมาตรฐานในการแจงนับ Total Coliforms และ *Escherichia coli* ในกุ้งกุลาดำแช่แข็งทั้งจากตัวอย่างที่ปนเปื้อนโดยธรรมชาติ (natural contamination) และตัวอย่างที่ได้รับการปนเปื้อน (artificial contamination) พบว่าความไวในการแจงนับ Total Coliforms ของ MPN LMX PEC CCA เท่ากับ 99% , 100% , 95% , 96% ตามลำดับหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งการเกิดผลลบเท็จ 1% , 0% ,5% , 4% ตามลำดับ และ ความไวในการแจงนับ *E. coli* ของ MPN LMX PEC CCA เท่ากับ 97% , 98% ,91.5%, 92% ตามลำดับ หรือการเกิดผลลบเท็จ 3% , 2% ,8.5% , 8%ตามลำดับ จะเห็นว่า MPN และ LMX ซึ่งเป็น MPN technique จะมีความไวในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* กว่า PEC และ CCA ที่เป็น Plate count technique ผลลบเท็จที่เกิดขึ้นของวิธี MPN อาจเนื่องจากเกิดการแข่งขันการเจริญจากแบคทีเรียพวก antagonistic (Evan, et al. 1981) และการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสถูกยับยั้งจากแบคทีเรียบางชนิด (Hussong, et al. 1980) ผลลบเท็จของวิธี LMX PEC และ CCA อาจเนื่องมาจาก β-D-galactosidase (GAL) และ β-D-glucuronidase (GUD) ถูกยับยั้งเมื่อมีการเจริญของแบคทีเรีย heterotrophic ปริมาณสูง (Rychert and Stephenson, 1986) อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าทุกๆวิธีให้ความไวสูงเกินกว่า 90% ทั้งสิ้นซึ่งผู้วิจัยถือว่าอยู่ในระดับน่าพอใจเป็นอย่างยิ่ง ขณะที่ความจำเพาะของทุกวิธีเท่ากับ 100% กล่าวคือไม่พบผลบวกเท็จของวิธีการทดสอบเนื่องจากเป็นการจำแนกข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น มีความสามารถในการตรวจพบ(Detect)ได้ หรือ ไม่ได้ ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงว่าทุกวิธีมีความสามารถในการตรวจพบเท่าๆกันหรือมีความจำเพาะเท่าๆกัน ส่วนความสอดคล้องของวิธีรวดเร็วเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานในการแจงนับ Total Coliforms ของ LMX PEC CCA เท่ากับ 99.4% , 79.2% , 83.2% ตามลำดับ และในการแจงนับ *E. coli* เท่ากับ 99.2% , 95.8% , 83.2% ตามลำดับ จะเห็นว่าวิธี LMX ซึ่งเป็น MPN technique เหมือนกันจะให้เปอร์เซนต์ความสอดคล้องสูงกว่าของวิธี PEC และ CCA

เปรียบเทียบความสามารถในการตรวจสอบยืนยัน Coliforms และ *E.coli* ระหว่างวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็วในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* ในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง

การเปรียบเทียบความสามารถในการตรวจสอบยืนยัน Coliforms และ *E.coli* จะเห็นว่าวิธี MPN ให้ผลบวกเท็จเท่ากับ 4% , 7.5% ตามลำดับ เนื่องจากในตัวอย่างซึ่งมีแบคทีเรียอื่นๆ

ปนเปื้อนร่วมอยู่ด้วยทำให้เกิดการแข่งขันของแบคทีเรียซึ่งไม่ถูกยับยั้งด้วย อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์เหลวลอริลทริปโตสและบริลเลียนกรีนบายล์แลคโตส (Nelson,Fox and Busta, 1984) หรือไปเลือกถูกแบคทีเรียที่มีการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสเกินกว่า 48 ชั่วโมงโดยบังเอิญ (delay หรือ slow lactose ferment) (Brenner, et al. 1982; Hitchins, Hartman and Todd. 1922) หรือเกิดจากแบคทีเรียชนิด non-*E.coli* บางชนิดที่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสได้ (Hsu H, et al. 1991) วิธี LMX ให้ผลบวกเท็จเท่ากับ 8% , 6% ตามลำดับ เนื่องจากบางสายพันธุ์ของแบคทีเรียในแฟมมิลี่ Enterobacteriaceae มีความสามารถในการสร้าง β-D-galactosidase (GAL) และ β-D-glucuronidase (GUD) โดย GUD นี้พบครั้งแรกใน *E. coli* (Buehler, et al. 1951) *E. coli* 94-97% ที่สามารถสร้าง GUD ได้ (Kilian and Bulow, 1976) GUD ยังตรวจพบใน Enterobacteriaceae อื่นๆ และ Vibrionaceae เช่น *Salmonella spp.* 17-29% (LeMinor, 1979 ; Feng and Hartman, 1982) *Shigella* 40-67% (Kilian and Bulow, 1979; Feng and Hartman, 1982; Cleuziat and Robert-Baudouy, 1990) นอกจากนั้นยังพบใน *Yersinia spp.* อีกเล็กน้อย (Petzel and Hartman, 1985; Kampfer et al. 1991; Manafi and Rotter, 1991) *Citrobacter, Enterobacter, Edwardia* and *Hafnia spp.* (Perez, et al. 1986; Sharpe ,et al. 1989; Kampfer, et al. 1991; Manafi and Rotter, 1991) และยังสามารถพบ GUD ได้จากแบคทีเรียแกรมบวกได้อีกหลายชนิดเช่น *Staphylococcus* (Barber, et al. 1984; Sing and Ng, 1986) *Streptococcus* (Robinson, et al. 1952; Jacox 1953; Williams 1954; Schultz-Haudt and Scherp, 1955; Rod, et al. 1974) anaerobic corynebacteria (Dahlen and Linde 1973) and *Clostridium* (Sakaguchi and Murata, 1983) ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าว สามารถย่อยสลายซับสเตรท X-GAL และ MUGได้เช่นกัน (Frampton ,et al. 1988; Ley, et al. 1988; Watkins, et al. 1988; Sharpe, et al. 1989)

นอกจากนั้นผลบวกเท็จอาจเกิดจากการเรืองแสงของหลอดแก้วเองซึ่งจากสาเหตุนี้สามารถลดความผิดพลาดได้โดยการตรวจสอบหลอดแก้วทุกชิ้นก่อนนำมาทดลอง หรืออีกประการหนึ่งที่พบได้คือเกิดจากตัวอย่างอาหารที่นำมาทดสอบเองซึ่งมี GUDอยู่แล้วในตัวอย่างจากธรรมชาติ (endogenous GUD) ซึ่งพบมากในตัวอย่างอาหารประเภท กุ้ง (Singh and ng, 1986 ; Peterson, et al. 1987) หอยนางรม (Koburger and Miller 1985 ; Motes and Peeler, 1991) หอยแครง (Rippy, et al. 1987 ; Balebona , et al. 1990) ปู (Ingham and Moody, 1990) หอยแมลงภู่ (Singh and ng, 1986 ; Rippy, et al. 1987) และจะมีโอกาสเกิดผลบวกเท็จได้สูงในกรณีใช้อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีซับสเตรท (MUG)ของสารเรืองแสง(fluorogenic)ในการทดสอบขั้นต้นโดยตรง (primary isolation) (Singh and ng, 1986) ซึ่งถ้าต้องการลดการเกิดผล

บวกเท็จอาจเพิ่มขั้นตอนการทดสอบขั้นต้นด้วยอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์เหลวลอริลทริปโตสอีกขั้นตอนหนึ่ง (Koburger and Miller, 1985; Rippy, et al. 1987)

วิธี PEC ให้ผลบวกเท็จ 2%, 0.7% ตามลำดับสาเหตุเนื่องจากโคโลนีที่เลือกมาทดสอบนั้นเป็นโคโลนีที่ฟองแก๊สที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากฟองอากาศไม่ใช่เกิดจากการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตส (Restaino and Lyon, 1987) และวิธี CCA ให้ผลบวกเท็จ 3% และ 0.6% ตามลำดับ เนื่องจากอาจเป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดเช่น *Streptococcus*, *Micrococcus* และ *Staphylococcus* ซึ่งสามารถให้สารเรืองแสง (fluorescent)ได้ขณะเดียวกันก็สามารถให้สารสีน้ำเงินกับ BCIG หรือ X-GLU ด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ดีต้องทำการตรวจสอบต่อไป (Restaino, Frampton and Lyon, 1990)

อนึ่งการวิจัยครั้งนี้ไม่ทำการทดสอบการเกิดผลลบเท็จจากการทดสอบยืนยัน *E. coli* เนื่องจากจากการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง 5 ปี (2535-2540) ในรายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ไม่เคยตรวจพบ atypical colony บนอาหารแข็งอี เอ็ม บี (EMB agar)ที่ให้ผลทดสอบยืนยันว่าใช่ *E. coli* จากการทดสอบทางชีวเคมี (IMViC Test) ผู้วิจัยจึงไม่เห็นความจำเป็นในการทำการทดสอบการเกิดผลลบเท็จ

เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* ของวิธีรวดเร็วและวิธีมาตรฐานในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง 1 ตัวอย่าง

การเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* ของวิธีรวดเร็วและวิธีมาตรฐานในกุ้งกุลาดำแช่แข็ง 1 ตัวอย่าง โดยดัดแปลงจาก Chain and Fung, 1991 พบว่าค่าใช้จ่ายในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* ของวิธีรวดเร็วต่ำกว่าวิธีมาตรฐาน อย่างไรก็ดีค่าใช้จ่ายเป็นเพียงปัจจัยหนึ่งเท่านั้น การตัดสินใจเลือกใช้วิธีใดๆต้องพิจารณาคุณสมบัติอื่นๆร่วมด้วย

การศึกษาการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* รวมถึงคุณสมบัติต่างๆของวิธีมาตรฐานและวิธีรวดเร็ว Fluorocult^{R} LMX Broth (LMX) , Petrifilm^{TM} *E. coli* Count Plates(PEC) และ Chromocult^{R} Coliform Agar (CCA) พบว่าในส่วนของวิธีรวดเร็วนั้นปัจจุบันมีเพียง Petrifilm^{TM} *E. coli* Count Plates(PEC) ที่ผ่านการทดสอบโดย collaborative study

และได้รับการรับรองจาก AOAC โดยทำการทดสอบในตัวอย่างอาหาร 6 ประเภท คือ เนื้อวัว(beef with gravy), ไก่งวง(raw turkey), ถั่ว(nuts), แป้ง(flour), เนยแข็ง(cheese), เห็ด(mushrooms) (Curiale, et al. 1991)

จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าวิธีรวดเร็วทั้ง 3 วิธีดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการแจงนับ Total Coliforms และ *E. coli* ในอาหารประเภทอื่นๆนอกเหนือจากกุ้งกุลาดำได้เช่นกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย