

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของกรดเปอร์รอกซีแอซิดต่อการเจริญของ *Salmonella* sp.
ซึ่งติดต่อสารต้านจุลชีพที่แยกได้จากเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์เนื้อไก่

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. ดร. สุดสาย ตีรวานิช

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. รศ.ดร. ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)



บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาแยก *Salmonella* sp. จากตัวอย่างไก่และแฮมปีกไก่ รวม 164 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนในเนื้อไก่ส่วนนอกมากกว่าส่วนอื่น และพบการปนเปื้อนของเชื้อในแฮมปีกไก่อ้อยละ 100 เมื่อตรวจยืนยันสายพันธุ์ของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้จำนวน 51 สายพันธุ์ พบว่า *S. Amsterdam* เป็นสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดถึง 13 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบความไวของ *Salmonella* sp. ทั้ง 51 สายพันธุ์ ต่อสารต้านจุลชีพ 16 ชนิด พบว่า *Salmonella* sp. ที่แยกได้ทุกสายพันธุ์คือ ต่อสารต้านจุลชีพอย่างน้อย 1 ชนิด นอกจากนี้จากการศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในการทำลาย *Salmonella* sp. 4 สายพันธุ์คือ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งมีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพต่างกัน ผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทางการค้า 2 ชนิดคือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ขึ้นกับระดับความเข้มข้น ระยะเวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ โดยเมื่อใช้ Inspexx 100™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 10 ppm สามารถทำลายเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ซึ่งมีปริมาณเริ่มต้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU/mL ได้หมดภายใน 15 วินาที ที่อุณหภูมิ 37, 55°C, และอุณหภูมิห้อง (27°C) สำหรับที่อุณหภูมิ 4°C จะใช้เวลามากกว่า 60 วินาทีในการทำลายเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ และเมื่อลดความเข้มข้นของ Inspexx 100™ จะใช้เวลานานขึ้นในการทำลายเชื้อได้หมด สำหรับ Inspexx 200™ ให้ผลทำงานของเดียวกัน ในการทดลองทำลายเชื้อซึ่งสร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่ด้วยปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ $4.00 \log_{10}$ CFU/g พบว่า กรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในสารฆ่าเชื้อทั้งสองชนิดที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ประมาณ $0.39 - 1.72 \log_{10}$ CFU/g ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อยังคงขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้น และระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ โดยอุณหภูมิไม่มีผลต่อการทำลายเชื้อ สำหรับการใส่สารผสมกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดลงไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ปรากฏว่า ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เวลาในการลวก 180 วินาที สามารถลดจำนวนเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ $0.91 - 1.88 \log_{10}$ CFU/g จากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการทำลาย *Salmonella* sp. ทั้งเชื้อบริสุทธิ์ และเชื้อที่สร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่ พบว่าความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ และคุณสมบัติในการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในสารฆ่าเชื้อทั้งสองชนิด

Abstract

The study of antimicrobial-resistant *Salmonella* sp. contaminated in 164 samples of chicken meat and Nham-Peek-Kai was done. The result showed that *Salmonella* sp. contamination in chicken breast is higher than other parts of chicken meat and one hundred percent (100%) of Nham-Peek-Kai was contaminated. The serovars of all 51 isolates of *Salmonella* sp. were identified. It was found that 13 isolates were belonging to *S. Amsterdam*. The antimicrobial susceptibilities of 51 isolates were determined with 16 antimicrobial agents using agar disc diffusion method. All of them were resistant to at least one antimicrobial agent. The antimicrobial efficacy of *in vitro* treatment with two peroxyacetic acid – based commercial sanitizers (Inspexx 100TM and Inspexx 200TM) in reduction *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, and *S. Virchow* DMST 14922, which have the different antimicrobial-resistant patterns, was investigated. The result revealed that the efficacy of both peroxyacetic acid – based commercial sanitizers was affected by their concentrations, contact times, and temperatures. The use of Inspexx 100TM at 10 ppm at 37, 55°C or room temperature (27°C) required 15 seconds for complete killing these salmonellae with the initial population of 6.00 log₁₀ CFU/mL but at 4°C required more than 60 seconds. The use of Inspexx 200TM has the same result as Inspexx 100TM. The use of Inspexx 100TM and Inspexx 200TM to reduce these salmonellae artificially contaminated on chicken meat with the initial population of 4.00 log₁₀ CFU/g was also examined. Peroxyacetic acid at concentration of 100 ppm from both sanitizers with 30 min exposure reduced these salmonellae ranging from 0.39 to 1.72 log₁₀ CFU/g. The result showed that the efficacy of peroxyacetic acid was depended on the concentration and contact time but was independent of the temperature. Peroxyacetic acid at 100 ppm with scalding at 55°C reduced these salmonellae ranging from 0.91 to 1.88 log₁₀ CFU/g in 180 seconds. The results from this study revealed that the differences of *Salmonella* strains and their antimicrobial-resistant patterns did not affect the efficacy of both of peroxyacetic acid – based sanitizers.

	(1)
สารบัญ	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
Executive summary	1
วัตถุประสงค์ของโครงการ	5
บทนำ	6
วิธีการทดลอง	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	16
สรุปผลการทดลอง	56
เอกสารอ้างอิง	60
out put ที่ได้จากโครงการ	65
ภาคผนวก	66

สารบัญตาราง

ตารางที่

1	ผลของการตรวจการปนเปื้อนของ <i>Salmonella</i> sp. ในเนื้อไก่และชิ้นส่วนจากตลาดสด 4 แห่ง	16
2	การปนเปื้อนของ <i>Salmonella</i> sp. ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกจากโรงงานผลิต 3 แห่ง	18
3	สายพันธุ์ของ <i>Salmonella</i> sp. ที่ตรวจพบจากเนื้อไก่จำหน่ายในตลาดสด 4 แห่ง และโรงงานผลิตเพื่อการส่งออก 3 แห่ง	19
4	แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ <i>Salmonella</i> sp. ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่วางจำหน่ายในตลาดสดทั้ง 4 แห่ง	20
5	แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ <i>Salmonella</i> sp. ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง เพื่อส่งออก ผลิตจากโรงงานผลิตทั้ง 3 แห่ง	22
6	แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ <i>Salmonella</i> sp. ซึ่งแยกได้จากแฮมปีกไก่ และปีกไก่ สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบ จากตลาดสด 2 แห่ง	24
7	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	26
8	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	26
9	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	27
10	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	27
11	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	29
12	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	29
13	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	30
14	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	30

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่

15	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ S.Typhimurium ATCC 13311, S. Typhimurium DMST 14921, S. Virchow NE 541, และ S. Virchow DMST 14922 ที่ระยะเวลา 60 และ 180 วินาที ในสารละลายผสมของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, และ 1 ppm อุณหภูมิ 4, 37, และ 55 องศาเซลเซียส	33
16	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ S.Typhimurium ATCC 13311, S. Typhimurium DMST 14921, S. Virchow NE 541, และ S. Virchow DMST 14922 ที่ระยะเวลา 60 และ 180 วินาที ในสารละลายผสมของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, และ 1 ppm อุณหภูมิ 4, 37, และ 55 องศาเซลเซียส	34
17	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>Salmonella</i> sp. บนเนื้อไก่สดที่รอดชีวิตภายหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส	47
18	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>Salmonella</i> sp. บนเนื้อไก่สดที่รอดชีวิตภายหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส	49
19	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ S.Typhimurium ATCC 13311, S. Typhimurium DMST 14921, S. Virchow NE 541, และ S. Virchow DMST 14922 บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิต่างกัน	54
20	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ S.Typhimurium ATCC 13311, S. Typhimurium DMST 14921, S. Virchow NE 541, และ S. Virchow DMST 14922 บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิต่างกัน	55

สารบัญภาพ

ภาพที่

1	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที	36
2	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที	38
3	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที	40
4	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppm เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที	41
5	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที	42
6	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที	43
7	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppm เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที	44
8	จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

- | | | |
|----|---|----|
| 9 | จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 180 วินาที ที่อุณหภูมิ 55 เซลเซียส | 51 |
| 10 | จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 (●), <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 (○), <i>S. Virchow</i> NE 541 (▼), และ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 (▽) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 180 วินาที ที่อุณหภูมิ 55 เซลเซียส | 52 |

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

W	=	Trimethoprim
S3	=	Sulfonamides
Amp	=	Ampicillin
P	=	Penicillin
Aml	=	Amoxycillin
F	=	Nitrofurantoin
Na	=	Nalidixic acid
Pb	=	Polymycin B
Cn	=	Gentamycin
Te	=	Tetracycline
N	=	Neomycin
K	=	Kanamycin
S	=	Streptomycin
C	=	Chloramphenical
E	=	Erythromycin
Ot	=	Oxytetracycline

Executive Summary

Salmonella sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ที่พบการปนเปื้อนบนเนื้อไก่ และผลิตภัณฑ์ นอกจากสายพันธุ์ปกติที่พบโดยทั่วไปแล้ว ปัจจุบันยังพบ *Salmonella* sp. ที่เกิดสภาวะดื้อต่อสารต้านจุลชีพ จากการตรวจสอบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่และชิ้นส่วนที่จำหน่ายในตลาดสด 4 แห่ง พบการปนเปื้อนร้อยละ 33.75 โดยเป็นการปนเปื้อนจากเนื้อส่วนหน้าอกร้อยละ 42.50 จากเนื้อน่องร้อยละ 10.00 และจากเครื่องใน (ตับและกระเพาะอาหาร) ร้อยละ 30.00 และการตรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกจากโรงงานผลิต 3 แห่งในจังหวัด ลพบุรี สระบุรี และกรุงเทพมหานคร พบการปนเปื้อนร้อยละ 15.00 โดยเป็นการปนเปื้อนจากเนื้อส่วนหน้าอกร้อยละ 16.66 จากเนื้อน่องร้อยละ 16.00 และจากปีกเต็มร้อยละ 12.00 การปนเปื้อนเกิดขึ้นในเนื้อส่วนหน้าอกมากกว่าส่วนอื่นเพราะเป็นส่วนที่สัมผัสกับขนซึ่งมีรายงานว่าเป็นแหล่งของ *Salmonella* sp. ที่สำคัญ นอกจากนี้ จากการสำรวจการปนเปื้อนในแฮมปีกไก่และปีกบน จากตลาดสด พบการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* sp. ร้อยละ 100

การตรวจยืนยันสายพันธุ์ของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้ทั้งสิ้น 51 สายพันธุ์ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบทั้งสิ้น 14 ซีโรวาร์ โดยเป็น *S. Amsterdam* 13 สายพันธุ์ *S. Lexington* 11 สายพันธุ์ *S. Agona*, *S. Newport* และ *S. Virchow* ซีโรวาร์ละ 4 สายพันธุ์ *S. Schwarzengrund* และ *S. Weltevreden* ซีโรวาร์ละ 3 สายพันธุ์ *S. Hardar* และ *S. 3,10:i:-* ซีโรวาร์ละ 2 สายพันธุ์ นอกจากนั้นเป็น *S. Bovismorbificans*, *S. London*, *S. Thompson*, *S. Stanley* และ *Salmonella* rough strain ซีโรวาร์ละ 1 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบความไวของ *Salmonella* sp. ทั้ง 51 สายพันธุ์ ต่อสารต้านจุลชีพ 16 ชนิด ได้แก่ Chloramphenicol, Nitrofurantoin, Erythromycin, Kanamycin, Streptomycin, Sulfonamides, Trimethoprim, Penicillin 10 unit, Neomycin, Polymyxin B, Gentamycin, Tetracycline, Oxytetracycline, Nalidixic acid, Amoxycillin, และ Ampicillin พบว่า *Salmonella* sp. ที่แยกได้ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อสารต้านจุลชีพอย่างน้อย 1 ชนิด โดย *S. Amsterdam* ดื้อต่อ Nitrofurantoin, Erythromycin, และ Tetracycline สูงสุดถึงร้อยละ 92.00 *S. Lexington* ดื้อต่อ Oxytetracycline สูงสุดถึงร้อยละ 64.00 *S. Agona* ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อ Nitrofurantoin, Erythromycin, Streptomycin, Sulfonamides, Trimethoprim, Penicillin 10 unit, Tetracycline, Oxytetracycline, Amoxycillin,

เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดต่อประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ โดยศึกษาเปรียบเทียบที่อุณหภูมิ 4, 37, และ 55 องศาเซลเซียส ใช้ความเข้มข้นและเวลาเดียวกับการศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) พบว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น การใช้ Inspexx 100™ ความเข้มข้น 1.0 ppm จะใช้เวลามากกว่า 300 วินาทีในการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่ใช้เวลา 300 วินาทีจึงจะทำลายเชื้อดังกล่าวได้หมดที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส ส่วนที่ระดับอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเพียง 180 วินาที ในการทำลายเชื้อดังกล่าวได้หมด และเป็นไปในทำนองเดียวกันสำหรับการใช้ Inspexx 200™ ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ และคุณสมบัติการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบความแตกต่างกันแบบไม่ชัดเจน ต่อการถูกทำลายโดยกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิด โดยที่ระดับความเข้มข้น ระยะเวลา และอุณหภูมิหนึ่งๆ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ถูกทำลายไปในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน

จากการศึกษาการเลียนแบบการใช้ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ลดจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, และ *S. Virchow* DMST 14922, *S. Typhimurium* DMST 14921, และ *S. Virchow* NE 541 ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง พบว่า การล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้ง 2 ชนิด แปรตามความเข้มข้น และระยะเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อล้างไก่ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากที่สุดคือ $0.42 - 1.14 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100™ และ $0.39 - 1.72 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200™ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำล้างเป็น 37 องศาเซลเซียส ก็ไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างกันของความสามารถในการลดจำนวนเชื้อ ส่วนการเลียนแบบการแช่เย็นซากไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก ยังคงแปรตามความเข้มข้น และเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อ โดยเมื่อแช่เย็นซากไก่ที่มีการปนเปื้อน *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนได้มากที่สุดคือ $0.64 - 0.75 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100™ และ $0.32 - 0.88 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx

200™ ส่วนการเลียนแบบการลวกซากไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 0 – 180 วินาทีพบว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก แปรตามความเข้มข้น และระยะเวลา โดยที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลาการลวก 180 วินาที สามารถลดจำนวนได้มากที่สุดคือ $0.91 - 1.88 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100™ และ $1.12 - 1.65 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200™ จากการศึกษาพบว่าความแตกต่างระหว่างคุณสมบัติการดีหรือไม่ต่อสารต้านจุลชีพไม่มีผลอย่างชัดเจนต่อประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิด

และ Ampicillin S. Newport ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อ Nalidixic acid S. Virchow ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อ Erythromycin และ Nalidixic acid S. Schwarzengrund ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อสารต้านจุลชีพ Tetracycline S. Weltevreden ดื้อต่อ Erythromycin, Streptomycin, Penicillin 10 unit, และ Ampicillin ร้อยละ 100.00 สำหรับ S. Hardar ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อ Nitrofurantoin, Erythromycin, Sulfonamides, Trimethoprim, Neomycin, Tetracycline, Oxytetracycline, Nalidixic acid, และ Ampicillin และ S. 3,10:i- ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อ Nitrofurantoin, Erythromycin, Streptomycin, และ Sulfonamides สำหรับ S. London, S. Stanley S. Bovismorbificans, S. Thompson และ *Salmonella* rough strain ต่างก็มีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพแตกต่างกัน

สำหรับการศึกษาการใช้กรดเปอร์รอกซีแอซิดิก ซึ่งเป็นเปอร์รอกไซด์ของกรดแอซิดิก และมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ โดยไม่ก่อให้เกิดการกัดกร่อน และไม่มีปฏิกิริยากับสารอินทรีย์แล้วให้สารพิษ อีกทั้งได้รับการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ผสมในน้ำเพื่อใช้ทำความสะอาดผักและผลไม้ (21CFR173:315) นอกจากนั้นยังยอมรับให้ใช้ได้สำหรับการสัมผัสอาหารโดยตรง (21CFR:173:1010) และได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นสารฆ่าแมลงในหมวดที่ 3 ของ EPA (United States Environmental Protection Agency) พบว่า ประสิทธิภาพของสารผสมกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกสองชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm เพื่อทำลาย S. Typhimurium ATCC 13311, S. Typhimurium DMST 14921, S. Virchow NE541, และ S. Virchow DMST 14922 ซึ่งมีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็น S₃, Amp-C-S-Te-S₃-W, Amp-Aml-Cn-E-F-K-Na-P-S-W, และ Non Resistance ตามลำดับ ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 6.00 log₁₀ CFUต่อมิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก โดยการเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก จะช่วยลดระยะเวลาในการทำลายเชื้อให้สั้นลงได้ การใช้ Inspexx 100™ ซึ่งกำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 0.5 ppm จะต้องใช้เวลามากกว่า 300 วินาที ในการทำลาย S. Typhimurium ATCC 13311, S. Typhimurium DMST 14921, S. Virchow NE541, และ S. Virchow DMST 14922 จนหมด ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกเป็น 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm จะใช้เวลาสั้นลงเพียง 300, 60, และ 15 วินาที ตามลำดับ ส่วนการใช้ Inspexx 200™ ให้ผลในทำนองเดียวกัน

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้กรดเปอร์รอกซีแอซิดิกเพื่อป้องกันและลด การปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้ซึ่งดื้อสารต้านจุลชีพหลายชนิด
2. ศึกษาเพื่อแยก *Salmonella* sp. จากตัวอย่างเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่ รวมทั้งศึกษา antibiogram ของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้
3. ศึกษาและสำรวจสถานการณ์การปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพในตัวอย่างเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่ที่ผลิตภายในประเทศเพื่อการจำหน่ายภายในประเทศและต่างประเทศ

การดำเนินงานวิจัยตามวัตถุประสงค์ในรอบ 1 ปี 4 เดือน

1. เก็บรวบรวมข้อมูลของ *Salmonella* sp. ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพที่แยกได้จากเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ รวมทั้งทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อไก่ส่วนเนื้อหน้าอก เนื้อน่องและเครื่องในเพิ่มเพื่อแยกและคัดเลือกเฉพาะ *Salmonella* sp. และทำการศึกษา antibiogram ของเชื้อที่คัดแยกได้
2. ศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 2 ยี่ห้อในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. ที่แยกได้ซึ่งดื้อต่อสารต้านจุลชีพ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารและอุณหภูมิในอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. ศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 2 ยี่ห้อในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. ที่แยกได้ซึ่งดื้อต่อสารต้านจุลชีพ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารและอุณหภูมิในสภาวะเลียนแบบกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง

บทนำ

โรคซัลโมเนลโลซิสมีสาเหตุจาก *Salmonella* sp. สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในคนและสัตว์ โดยในคนจะแสดงอาการทางระบบทางเดินอาหาร หรืออาจมีอาการโลหิตเป็นพิษร่วมด้วย ซึ่งอาการของโรคอาจรุนแรงจนถึงเสียชีวิต (สุมาลี และคณะ, 2543) มีรายงานหลายฉบับที่กล่าวว่า พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สด เนื้อไก่แช่เยือกแข็ง ไช้ รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่ และไข่ (Bryan, 1980; Tood, 1980; de Boer และคณะ, 1982; Stern และคณะ, 1985; Brackett, 1988; Rasrinust และคณะ, 1988; Pini และ Gilbert, 1988; และ Bergdoll, 1989) ทำให้มีการใช้ยาต้านจุลชีพรักษาโรคซัลโมเนลโลซิสอย่างกว้างขวาง ทั้งผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์ หรือใช้รักษาผู้ป่วย จึงก่อให้เกิดอุบัติการณ์ของเชื้อดื้อยาตามมา (Campos และ Hofer, 1989; Hefferman, 1991; Boonmar และคณะ, 1998)

เรื้อรังนี้ *S. Typhimurium* definitive type 104 (DT104) ได้รับความสนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมากเนื่องจากเชื้อมีคุณสมบัติดื้อต่อสารต้านจุลชีพได้หลายชนิด เช่น Ampicillin (A), Chloramphenicol (C), Streptomycin (S), Sulfonamides (Su) และ Tetracycline (T) ซึ่ง *S. Typhimurium* ที่มีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพดังกล่าวเรียกว่า R-type ACSSuT Jordan และคณะ (1997) รายงานการเกิด Salmonellosis ในสหรัฐอเมริกาว่าในแต่ละปีมีจำนวนถึง 696,000 - 31,840,000 ซึ่งสาเหตุหลักเกิดจากการบริโภคอาหารที่ทำมาจากสัตว์และวัตถุดิบทางการเกษตร ในปี ค.ศ. 1998 Glynn และคณะ รายงานว่า *S. Typhimurium* DT104 ตรวจพบครั้งแรกในสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1985 และมีการระบาดเพิ่มขึ้นในช่วงกลาง ค.ศ. 1990s อย่างไรก็ตาม *S. Typhimurium* DT104 ที่ตรวจพบครั้งแรกไม่ได้ความแตกต่างกับที่แยกได้ในช่วงหลัง และมีโครงสร้างของ resistace genes ที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ Glynn และคณะ (1999) รายงานการตรวจพบ *S. Typhimurium* DT104 ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพร้อยละ 8.5 จากจำนวน 40,000 ไอโซเลตของ *Salmonella* sp. ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 มีการตรวจพบ *S. Typhimurium* DT104 ที่แยกจากคนเพิ่มขึ้นถึง 30 เท่า โดยในปี ค.ศ. 1979 - 1980 พบเพียงร้อยละ 1 แต่ในปี ค.ศ. 1996 ตรวจพบถึงร้อยละ 34 ส่วน Ferris และ Miller (1998) รายงานว่าในช่วงปี ค.ศ. 1997 - 1998 มีการตรวจพบ *S. Typhimurium* ชนิด R-type ACSSuT ถึงร้อยละ 25 ของ *S. Typhimurium* ที่แยกได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้องและยังมีการรายงานว่าการตรวจพบ *S. Typhimurium* ชนิด R-type ACSSuT จากสุกรและสัตว์ปีก (Anonymous, 1996; Besser et al., 1997 และ Evans, 1996) ในอังกฤษได้ประกาศว่าการบริโภคอาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากสัตว์ที่มีการ

ติดเชืื่อนี้ เช่น เนื้อไก่ ไส้กรอกหมู จัดเป็นอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ (Wall et.al, 1994) อาหารชนิดอื่นๆที่อาจเป็นแหล่งของเชื้อ เช่น นมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์หรือเนยแข็งที่ทำจากนมดังกล่าว รวมทั้งดับที่ผ่านการให้ความร้อนไม่เพียงพอ จากการศึกษาของ Wall และคณะพบว่าการติด *S. Typhimurium* DT104 เป็นปัญหาที่สำคัญมากกว่าการติดเชื้อ non-typhoid *Salmonella* sp. เนื่องจากมีร้อยละของผู้ติดเชื้อที่ต้องเข้ารับการรักษาร้อยละในการเสียชีวิตสูงกว่า Rajashekara และคณะ (2000) ได้ศึกษาแยก *S. Typhimurium* DT104 ในองค์ประกอบอาหารสัตว์และในสัตว์ปีกในระหว่างปี ค.ศ. 1995 ถึง 1997 จากสถานที่ต่างๆในรัฐMinnesota ผลพบว่า มีเพียง 7 ตัวอย่างจากทั้งหมด 43 ตัวอย่างของสัตว์ปีกที่ตรวจพบ *S. Typhimurium* DT104 นักวิจัยในสหรัฐอเมริกา (วงการแพทย์, 2545) ได้แยก *Salmonella* จากตัวอย่างเนื้อไก่บด เนื้อวัวบด หมูปอดและไก่วงบดที่วางขายในซูเปอร์มาร์เก็ตในนครวอชิงตัน จำนวน 200 ตัวอย่างพบว่า ร้อยละ 20 ตรวจพบ *Salmonella* และ *Salmonella* ที่ตรวจพบร้อยละ 84 มีคุณสมบัติดื้อต่อยาปฏิชีวนะ อย่างน้อย 1 ชนิด และร้อยละ 53 ดื้อต่อยาปฏิชีวนะอย่างน้อย 3 ชนิด ร้อยละ 16 ดื้อต่อยา ceftriaxone โดยเชื้อที่แยกได้เป็น *S. Typhimurium* , *S. Agona* , และ *S. Typhimurium* DT 208

ในประเทศไทย Jayanetra และคณะ (1990) ได้ศึกษาพบว่า *S. Krefeld* ที่แยกได้ในประเทศไทยช่วงปี ค.ศ. 1978 ถึง 1987 สามารถดื้อต่อสารต้านจุลชีพได้หลายชนิด (มากถึง 7 ชนิด) โดยแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพที่พบมากคือ ApCmKmSuTp และ AmCmKmSmSuTc นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ในซากไก่ที่ส่งตรวจของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2537 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2539 พบ *Salmonella* sp. ที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม Oxytetracycline, Streptomycin และ Chlortetracycline สูงถึงร้อยละ 50 – 70 (พรเพ็ญ, 2539) ในปี พ.ศ. 2541 สุมาลีและคณะ รายงานการศึกษาการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้จากคนและเนื้อไก่แช่เยือกแข็งในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2536, 2537 และ 2539 ผลการศึกษาพบว่าอัตราการดื้อต่อสารต้านจุลชีพชนิด Ceftriaxone ของ *S. Enteritidis* และ *S. Anatum* สูงขึ้นทุกปี และพบว่าในปี พ.ศ. 2539 สูงกว่าปี พ.ศ. 2536 และ พ.ศ. 2537 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้ง *Salmonella* sp. เกือบทุกสายพันธุ์ดื้อต่อ Ofloxacin จากการศึกษาของสุมาลี (2542) ความไวต่อสารต้านจุลชีพ 11 ชนิด (Ampicillin, Amikacin, Cefotaxime, Chloramphenicol, Doxycycline, Gentamycin, Kanamycin, Norfloxacin, Streptomycin, Sulfamethoxazole-trimethoprim และ Tetracycline) ของ *Salmonella* sp. 40 สายพันธุ์ที่แยกได้จากเนื้อไก่และเนื้อสัตว์

อื่นๆจากตลาดสด พบว่า *S. Bovismorbificans* ตี้อต่อ Streptomycin และ Doxycycline ร้อยละ 95 – 100 ส่วน *S. Weltevreden* มีความไวต่อสารต้านจุลชีพทั้ง 11 ชนิด รวมทั้งพบว่า *Salmonella* sp. ส่วนใหญ่จะตี้อต่อสารต้านจุลชีพมากกว่า 1 ชนิด

การปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. จะเกิดขึ้นตั้งแต่โรงเรือนเลี้ยงไก่ (Lahellec และ Collin, 1985) และมีการปนเปื้อนข้ามระหว่างการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง เช่น การลวก ตัดแต่ง และแช่เย็น (Lillard, 1989) ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิธีการต่างๆเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ และผลิตภัณฑ์ เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค เช่น การฉีดพ่นด้วยน้ำ (Thomson และคณะ, 1974) การฉายรังสี (Mulder และคณะ, 1977) การใช้พลังงานจากไมโครเวฟ (Teotia และ Miller, 1975) และ การใช้น้ำร้อน (Cox และคณะ, 1974; Morrison และ Fleet, 1985)

นอกจากนี้ สารเคมีหลายชนิดมีบทบาทสำคัญในการลดการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง เช่น ขั้นตอนการเตรียมไก่สดก่อนการแช่เยือกแข็ง โดยเฉพาะขั้นตอนการล้างทำความสะอาด และการลดอุณหภูมิ เป็นขั้นตอนที่สำคัญที่จะต้องควบคุมเพื่อลดอันตรายจาก *Salmonella* sp. สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ สารประกอบคลอรีน แต่พบว่า สารประกอบคลอรีนมีข้อจำกัดบางประการ กล่าวคือ ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนจะลดลงในสภาวะที่เป็นด่าง รวมทั้งสารอินทรีย์ในอาหารทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษขึ้น เช่น สารไตรแฮโลมีเทน (Lin และคณะ, 1996) นอกจากนี้ สารประกอบคลอรีนมีฤทธิ์กัดกร่อน และเป็นอันตรายต่อผิวหนัง จึงมีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง และทำลายจุลินทรีย์จากสารเคมีชนิดอื่นๆ แทนการใช้สารประกอบคลอรีน เช่น กรดอินทรีย์ (Thomson และคณะ, 1976) Hydrogen peroxide (Lillard และ Thomson, 1985) Potassium sorbate (Todd และ Robach, 1980) Ozone (Yang และ Chen, 1979) หรือกรดอินทรีย์ร่วมกับเปอร์ออกซิ หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น แม้ว่าสารเคมีชนิดดังกล่าวจะมีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ได้ แต่การปนเปื้อนของเชื้อบนเนื้อไก่ก็ยังเป็นปัญหาสำคัญ (Bryan และ Doyle, 1995) รวมทั้ง ภาวะการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. อาจมีผลต่อประสิทธิภาพการทำลายของสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในปัจจุบัน

งานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้กรดเปอร์ออกซิแอซีติกที่สภาวะเหมาะสมในการลดจำนวน *Salmonella* sp. สายพันธุ์ที่ดื้อยาต้านจุลชีพ ในขั้นตอนการล้าง และแช่เย็นซากไก่ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการประกันคุณภาพความปลอดภัยของอาหาร ตลอดจนเป็นข้อมูลเพื่อประกอบการ

วิเคราะห์ความเสี่ยงของกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง ทั้งคาดว่าจะเป็ข้อมูลช่วยปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตให้ดีขึ้น

วิธีการทดลอง

การแยก *Salmonella* sp. จากเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ และการตรวจสอบแบบแผนการกระจายด้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้

1. การสำรวจ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่สดและผลิตภัณฑ์จากตลาดสดและโรงงานผลิต

1.1 การเก็บตัวอย่าง

สำหรับเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในตลาดสด ทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดต่างๆ โดยเก็บตัวอย่างตลาดละ 3-20 ตัวอย่าง และเนื้อไก่จากโรงงานผลิต ทำการสุ่มตัวอย่างจากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านกระบวนการสำเร็จ โรงงานผลิตละ 20-30 ตัวอย่าง บรรจุตัวอย่างที่เก็บได้ในถุงพลาสติก แยกขึ้น แล้วบรรจุลงในลังน้ำแข็ง นำมาตรวจแยกเชื้อภายใน 3 ชั่วโมง ส่วนผลิตภัณฑ์แฮมปีกไก่ได้สุ่มจากตลาดสดรังสิตและตลาดโชคชัย 4 จำนวน 2 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังสุ่มปีกไก่จากตลาดดังกล่าวจำนวน 2 ตัวอย่าง

1.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990 และ อรุณ, 2540)

ชั่งตัวอย่างจำนวน 25 กรัมใส่ในถุงพลาสติกสำหรับตีปน ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ตีปนด้วยเครื่องตีปนอาหารที่ความแรงระดับปานกลาง 2 นาที บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายตัวอย่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อ NB 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Tetrathionate Broth (TT Broth) บรรจุในหลอดทดลองขนาด 16X250 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD), Hektoen Enteric Agar (HE) และ Bismuth Sulfite Agar (BS) โดยใช้ลูปถ่ายเชื้อจากอาหาร Tetrathionate Broth (TT) 1 ลูป แล้วขีดแนวแบบข้าม (cross streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกมาตรวจแยกเชื้อ เลือกโคโลนีที่ให้ลักษณะของ *Salmonella* sp. เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

1.3 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

1.3.1 การทดสอบความสามารถหมักน้ำตาลและการสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์

ใช้เข็มเย็บเย็บเชื้อโคโลนีที่สงสัยจากข้อ 1.2 แทะลึกและขีดแนวนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดเย็บ Triple Sugar Iron Agar (TSI) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์จะเกิดสีดำของเหล็กซัลไฟด์ที่ก้นหลอด

1.3.2 การทดสอบความสามารถในการดั่งหมูคาร์บอกซีของกรดแอมิโนไลซีน

ใช้เข็มเย็บเชื้อ colony ที่สงสัยจากข้อ 1.2 แทะลึกและขีดแนวนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดเย็บ Lysine iron agar (LIA) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำออกมาตรวจสอบผล ที่แสดงให้เห็นว่าเป็น *Salmonella* sp.

1.4 การทดสอบคุณสมบัติทางเซรัม

ทำ Slide agglutination กับ Serotest[®] *Salmonella* Antisera ซึ่งประกอบด้วย O polyvalent A-67 Antiserum และ O polyvalent A-I โดยตัวอย่างเชื้อที่นำมาทดสอบต้องผ่านการทดสอบทางซีวเคมีมาก่อน โดยหยด O polyvalent A-67 Antiserum ลงบนแผ่นแก้วที่สะอาด ปราศจากไขมัน และน้ำเกลือเข้มข้น 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอย่างละ 1 หยดลงบนแผ่นใสที่สะอาด เผลูปให้ร้อนแดงเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อหลอดเย็บของ TSI จำนวนเล็กน้อยมาผสมกับ Antiserum และน้ำเกลือเย็บแผ่นใสกลับไปมาประมาณ 1 นาที อ่านผลการเกิด agglutination ถ้าให้ผลบวกกับ O polyvalent A-67 Antiserum และน้ำเกลือให้ผลลบ ทดสอบเชื้อนี้ต่อไปด้วย O polyvalent A-I ถ้าให้ผลลบแสดงว่าเชื้อนี้อยู่ระหว่าง O group J (O group 17) ถึง O group 67 ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าเชื้อนี้อยู่ระหว่าง O group A ถึง O group I ถ้าให้ผลลบกับ O polyvalent A-67 Antiserum ให้ทำการทดสอบกับ Vi Antiserum และ H group d antiserum ต่อไป

1.5 การตรวจยืนยันสายพันธุ์ของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้

ตรวจยืนยันสายพันธุ์ของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

2. การตรวจสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

2.1 การเตรียม *Salmonella* sp.

เชื้อ *Salmonella* sp. จากข้อ 1.2 ที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกในข้อ 1.3.1, 1.3.2 และการทดสอบในข้อ 1.4 จำนวน 1 ลูบลงในอาหาร Trypicase Soy Broth บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ปิเปิดเชื้อที่มีอายุ 18 ชั่วโมง 0.5 มิลลิตรลงในอาหาร Mueller-Hinton Agar ที่มี

ปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อหนึ่งจานเพาะเชื้อ และหนา 0.4 มิลลิเมตร เกลี่ยให้ทั่วด้วยแท่งแก้วอ ใช้
 เครื่องวางแผ่นกระดาษเคลือบสารด้านจุลชีพประกอบด้วย ไทรเมทโทพริม 5 ไมโครกรัม แอมพิซิลิน 10
 ไมโครกรัม นีโอมัยซิน 30 ไมโครกรัม คลอแรมฟีนิคอลล 30 ไมโครกรัม เพนิซิลิน 10 ยูนิต คานามัยซิน
 30 ไมโครกรัม เจนตามัยซิน 10 ไมโครกรัม เททราซัยคลิน 30 ไมโครกรัม ซัลโฟนามายด์ 300
 ไมโครกรัม กรดนาลิดิซิก 30 ไมโครกรัม สเตรปโตมัยซิน 10 ไมโครกรัม แอมมอกซัยลิซิน 10
 ไมโครกรัม อีริโทรมัยซิน 15 ไมโครกรัม ไนโตรฟูรานโตอิน 300 ไมโครกรัม โพลีมัยซิน บี 300
 ไมโครกรัม และอีอกซีเททราซัยคลิน 300 ไมโครกรัม บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็น
 เวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดรอบสารด้านจุลชีพด้วยเวอร์เนียร์ แปลผลในรูป
 ของ ความต้านทาน (Resistance) ความไว (Sensitivity) และ อินเทอร์มีเดีย (Intermediate) เลือกเชื้อ
 ที่สนใจเลี้ยงในอาหารแข็งของ stock cell culture agar โดยให้เข็มแทงลึกในอาหาร บ่มเพาะเชื้อที่ 37
 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เก็บในที่มืด

การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในการลดปริมาณของ *Salmonella* sp. ที่
 ติดต่อสารด้านจุลชีพในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer

1. การเตรียมสารละลายเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 สารละลายเข้มข้นของ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311

ถ่ายเชื้อจากอาหารแข็งหลอดแข็งของ Trypticase Soy Agar (TSA) 1 หลอด ลงในหลอด
 ทดลองขนาด 16×250 ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy Broth (TSB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
 บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเปิดเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ
 TSB 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ไว้ 100 มิลลิลิตร
 บ่มเพาะเชื้อบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็น
 เวลา 16 ชั่วโมง ทำให้เซลล์เข้มข้นโดยการหมุนเหวี่ยงในเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่
 3000×g อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วย Butterfield's phosphate buffer
 1 ครั้ง หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเดิม แล้วจึงล้างใหม่ด้วย Butterfield's phosphate buffer
 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 10^9 CFU ต่อ มิลลิลิตร (Dickson, 1991; Glass และ Doyle,
 1991; Thayer และคณะ, 1991)

1.2 สารละลายเข้มข้นของ *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow NE541, และ *Salmonella* Virchow DMST 14922

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1.1

2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในการทำลาย *Salmonella* sp.

2.1 *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311

2.1.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกที่เวลาต่างๆ กัน

เตรียมสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีแท่งกวนแบบแม่เหล็ก นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ในการทำการทดลอง วางขวดรูปชมพู่บนเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกเติมลงในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm แล้วปิเปิดสารละลายเชื้อ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในข้อ 1.1 เจือจางให้มีความเข้มข้นของเซลล์ 10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกต่างกัน สุ่มตัวอย่างสารละลายตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ที่เวลา 0 คือปริมาณเชื้อเริ่มต้น นำตัวอย่างสารละลายไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่รอดชีวิตโดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ปิเปิดตัวอย่างสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วงอ ทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ปิเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA คำนวณหาร้อยละการรอดชีวิตของ *S. Typhimurium* ATCC 13311

2.1.2 ผลของอุณหภูมิของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกที่ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ กัน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 โดยที่อุณหภูมิของน้ำเท่ากับอุณหภูมิห้อง แต่ละความเข้มข้นจะทำการสุ่มตัวอย่างสารละลายตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ที่เวลา 0 คือปริมาณเชื้อเริ่มต้น นำตัวอย่างสารละลายไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่รอดชีวิต โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ปิเปิดตัวอย่างสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วงอ ทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ปิเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบน

อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และคำนวณหาร้อยละการรอดชีวิตของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 แล้วเปรียบเทียบกับเมื่อใช้อุณหภูมิของน้ำ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกัน

2.2 *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow NE541, และ *Salmonella* Virchow DMST 14922

ทำการทดลองเหมือนข้อ 2.1 โดยเปลี่ยนมาใช้เชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 1.2

การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดต่อการลดปริมาณของ *Salmonella* sp. ที่ติดต่อสารด้านจุลชีพซึ่งปนเปื้อนบนเนื้อไก่

1. การเตรียมสารละลายเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 สารละลายเข้มข้นของ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311

ถ่ายเชื้อจากอาหารแข็งหลอดเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) 1 หลอด ลงในหลอดทดลองขนาด 16X250 ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy Broth (TSB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ไว้ 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทำให้เซลล์เข้มข้นโดยการหมุนเหวี่ยงในเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 3000Xg อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วย Butterfield's phosphate buffer 1 ครั้ง หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเดิม แล้วจึงล้างใหม่ด้วย Butterfield's phosphate buffer 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 10^9 CFU ต่อมิลลิลิตร (Dickson, 1991; Glass และ Doyle, 1991; Thayer และคณะ, 1991)

1.2 สารละลายเข้มข้นของ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, *S. Virchow* DMST 14922

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1.1

2. การเตรียมตัวอย่างไก่ปลอดเชื้อ

นำอกไก่สดบรรจุถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน ขนาด 10X15 นิ้ว บรรจุลงละ 8 ชิ้น น้ำหนัก 650-850 กรัม ปิดผนึกแบบสุญญากาศ นำไปแช่เยือกแข็งแบบระบบแผ่นสัมผัส จึงบรรจุลงในกล่องโฟม

จำนวน 6 ถุง โดยวางสลับชั้นกับน้ำแข็งเทียม (freeze pack) นำไปฉายรังสีแกมมา ความเข้มข้นของรังสี 25 กิโลเกรย์ เพื่อให้ตัวอย่างปลอดเชื้อ จึงนำมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (Thayer และคณะ, 1991) สำหรับใช้ในการทดลอง

3. การปนเปื้อน *Salmonella* sp. บนตัวอย่างไก่

นำสารละลายเชื้อเข้มข้นในข้อ 3 มาเจือจางด้วย Butterfield's phosphate buffer ให้มีเชื้อ 10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร นำตัวอย่างไก่ที่ปลอดเชื้อแล้วและผ่านการละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แช่ในสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้โดยการจุ่มแล้วนำขึ้นทันที เป็นเวลา 0 นาที จะได้เนื้อไก่ที่มีเชื้อปนเปื้อน 10^4 CFU ต่อกรัม (สุภัทราพร, 2535)

4. การวิเคราะห์ปริมาณ *Salmonella* sp. บนตัวอย่างไก่

ชั่งตัวอย่างเนื้อไก่ 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกสำหรับตีปน เติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปนเป็นเวลา 2 นาที ได้ตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1: 10 ทำให้เจือจางด้วยสารละลายเปปโตนโดยเจือจางเป็นลำดับ ลำดับละ 10 เท่า โดยเปิดสารละลายที่ระดับความเจือจางต่ำกว่า 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีจะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางสูงขึ้น 10 เท่า จากนั้นเปิดสารละลายเชื้อที่ระดับความเจือจางที่ต้องการ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA เคลือบให้ทั่วด้วยแท่งแก้วจุ่ม นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณเป็นปริมาณเชื้อต่อกรัม (Thayer และคณะ, 1991)

5. ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิติก ต่อการลดปริมาณ *Salmonella* sp. ในกระบวนการผลิตไก่แช่เยือกแข็ง

5.1 ประสิทธิภาพที่มีต่อ *S. Typhimurium* ATCC 13311

5.1.1 ความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิติก ที่ใช้ในการล้างไก่

นำไก่ที่มี *S. Typhimurium* ATCC 13311 10^4 CFU ต่อกรัม มาล้างในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิติก 60 ppm โดยจุ่มไก่ลงไปในน้ำและนำขึ้นทันที เป็นการล้างที่เวลา 0 นาที แล้วนำไก่ที่ล้างไปวิเคราะห์หาปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เหลือ

อยู่แล้วทำการทดลองเช่นเดิมโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกเป็น 80, และ 100 ppm โดยใช้สารละลายเปปโตเนเข้มข้น 0.1% ล้างไก่เป็นเวลา 0 นาที เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ แล้วคำนวณหาปริมาณเชื้อที่เหลืออยู่จากการทำลายด้วยสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกเป็นเปอร์เซ็นต์ได้

5.1.2 ระยะเวลาที่ใช้สารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในการล้างไก่

นำไก่ที่ผ่านการปนเปื้อน *S. Typhimurium* ATCC 13311 จนมีปริมาณเชื้อ 10^4 CFU ต่อกรัม มาล้างในน้ำที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 60 ppm โดยจะทำการล้างที่เวลาต่างๆกันคือ 0, 15, และ 30 นาที จึงนำไก่ที่ผ่านการล้างในแต่ละช่วงมาวิเคราะห์หาปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เหลืออยู่ เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ล้างด้วยสารละลายเปปโตเนเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 0, 5, 15, และ 30 นาที ทำการทดลองเช่นเดียวกันแต่เพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก เป็น 80, 100 ppm

5.1.3 ผลของอุณหภูมิของน้ำล้างที่เติมสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก ในระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการทำลายเชื้อในไก่

นำตัวอย่างไก่ที่ปนเปื้อน *S. Typhimurium* ATCC 13311 10^4 CFU ต่อกรัม มาล้างด้วยน้ำที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก 60, 80, และ 100 ppm โดยที่มีอุณหภูมิของน้ำเท่ากับอุณหภูมิห้องแต่ละความเข้มข้นจะทำการล้างเป็นเวลา 0, 15, และ 30 แล้วจึงนำตัวอย่างที่ล้างครบกำหนดเวลาแล้วมาตรวจหาปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เหลืออยู่แล้วเปรียบเทียบ เมื่อใช้อุณหภูมิของน้ำ 4 และ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกัน

5.1.4 ผลของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการลวกไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 5.1.3 แต่ทำการลวกที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 90, และ 120 วินาที

5.2 ประสิทธิภาพที่มีต่อ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 5.1 แต่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ในข้อ 1.2

ผลการทดลองและวิจารณ์การแยก *Salmonella* sp. จากเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ และการตรวจสอบแบบแผนการกระจายด้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้

1. การสำรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สดและผลิตภัณฑ์ และการทดสอบคุณสมบัติการต่อต้านสารต้านจุลชีพ

1.1 การสำรวจการปนเปื้อนบนเนื้อไก่

จากการตรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สดและชิ้นส่วน สำรวจเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดสด 4 แห่ง คือตลาดอมรพันธ์ ตลาดยิ่งเจริญ ตลาดบางเขน และตลาดบางบัวจำนวนตัวอย่างที่ทำการตรวจการปนเปื้อนทั้งสิ้น 80 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นเนื้อส่วนหน้าอก 40 ตัวอย่าง เนื้อน่อง 20 ตัวอย่าง และเครื่องใน (ตับและกระเพาะอาหาร) 20 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ทั้งสิ้น 27 ตัวอย่างซึ่งเป็นการปนเปื้อนจากเนื้อหน้าอก 17 ตัวอย่าง จากเนื้อน่อง 2 ตัวอย่าง และจากเครื่องใน (ตับและกระเพาะอาหาร) 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.75 ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* sp. ในชิ้นส่วนต่างๆ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่และชิ้นส่วนจากตลาดสด 4 แห่ง

ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ <i>Salmonella</i> sp.	ร้อยละของตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน
เนื้อหน้าอก	40	17	42.50
เนื้อน่อง	20	2	10.00
เครื่องใน	20	8	30.00
รวม	80	27	33.75

จากตารางที่ 1 จะพบว่า การปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. เกิดขึ้นในเนื้อหน้าอกมากกว่าส่วนอื่น คือ มีการปนเปื้อนร้อยละ 42.50 รองลงไปเป็นการปนเปื้อนจากเครื่องใน และเนื้อน่องซึ่งมีการปนเปื้อนร้อยละ 30.00 และ 10.00 ตามลำดับ Daengprom และคณะ (1993) รายงานว่า การปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. และการปนเปื้อนข้ามของเชื้อนี้เกิดจากแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญคือ ขน เนื่องจากเนื้อหน้าอกเป็นส่วนที่สัมผัสกับขนมากที่สุดในการชำแหละซากไก่ จึงทำให้มีโอกาสพบการปนเปื้อนของเชื้อจากเนื้อหน้าอกมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นๆ ของไก่

Boonmar และคณะ (1998) ศึกษาความชุกของ *Salmonella* sp. จากเนื้อไก่ในประเทศไทย ในปี 2539 พบการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่ร้อยละ 72 จากและซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดคือ Enteritidis โดยพบร้อยละ 28 จากเนื้อไก่ในตลาดสด จากรายงานดังกล่าวจะเห็นว่าในการทดลองครั้งนี้ตรวจพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ได้ในร้อยละที่ต่ำกว่า สาเหตุเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างที่สุ่มไม่เท่ากัน และการกระจายของแหล่งการสุ่มตัวอย่างไม่เหมือนกัน อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ก็ยังสามารถตรวจพบได้และตรวจพบในปริมาณสูงซึ่งแสดงถึงความเสี่ยงของผู้บริโภคในการรับประทานเนื้อไก่ในกรณีที่น่าไปประกอบเป็นอาหารไม่ถูกวิธี หรือเก็บเนื้อไก่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมเป็นสาเหตุให้ *Salmonella* sp. มีจำนวนเพิ่มขึ้นได้ และก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคอาหาร

สำหรับการสุ่มตรวจการปนเปื้อน *Salmonella* sp. ของตัวอย่างเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็งจากโรงงานผลิตเพื่อการส่งออก 3 แห่ง ในจังหวัด สระบุรี ลพบุรี และกรุงเทพมหานคร จำนวนตัวอย่างที่สุ่มทั้งสิ้น 80 ตัวอย่าง แบ่งเป็น เนื้อหน้าอก 30 ตัวอย่าง เนื้อน่องและปีกเต็ม ชิ้นส่วนละ 25 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง โดยเป็นการปนเปื้อนจากเนื้อส่วนหน้าอก 5 ตัวอย่าง เนื้อน่อง 4 ตัวอย่าง และปีกเต็ม 3 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ที่ตรวจพบในตัวอย่างไก่แช่เยือกแข็งส่งออกร้อยละ 15.00 (ตารางที่ 2) จะเห็นว่าการปนเปื้อนเกิดขึ้นในเนื้อหน้าอกมากที่สุดคือ พบการปนเปื้อนร้อยละ 16.66 ในขณะที่เนื้อน่อง และปีกเต็ม ตรวจพบการปนเปื้อนร้อยละ 16.00 และ ร้อยละ 12.00 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจการปนเปื้อนในตลาดสด แสดงให้เห็นว่าส่วนที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* sp. มากที่สุดคือ เนื้อหน้าอก ซึ่งเป็นส่วนที่สัมผัสกับขนไก่ และเป็นเนื้อส่วนที่ได้รับความนิยมในการบริโภคมากกว่าเนื้อส่วนอื่นๆ

จากข้อมูลการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกในปี 2534 สามารถแยก *Salmonella* sp. จากตัวอย่างเนื้อไก่แช่เยือกแข็งได้ 3,578 สายพันธุ์ ซึ่งตรวจพบจากอวัยวะส่วนต่างๆ 1,410 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 39.41 นอกจากนั้นเป็นการแยกได้จากอาหารสัตว์และมูลสัตว์ (อรุณ และคณะ, 2534) ในปีเดียวกันยังมีรายงานว่าสามารถตรวจพบการปนเปื้อนในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งได้ 1,673 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งสิ้น 4,990 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 33.53 เมื่อเปรียบเทียบจะเห็นว่าการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกมีร้อยละการปนเปื้อนที่ค่อนข้างแน่นอนในช่วงประมาณร้อยละ 30 ถึง 40 จากการวิจัยครั้งนี้พบร้อยละการปน

เบื้องต้น อาจเป็นเนื่องจากโรงงานที่ผลิตไข่เยือกแข็งส่งออกมีระบบและมาตรการในการควบคุม การเลี้ยง การผลิตที่ดีขึ้น และประเทศผู้รับซื้อมีมาตรการและข้อกำหนดที่เข้มงวดในการรับซื้อ

ตารางที่ 2 การปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกจากรองานผลิต 3 แห่ง

ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ <i>Salmonella</i> sp.	ร้อยละของตัวอย่าง ที่มีการปนเปื้อน
เนื้อหน้าอก	30	5	16.66
เนื้อน่อง	25	4	16.00
ปีกเต็ม	25	3	12.00
รวม	80	12	15.00

เหตุที่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็ง และเนื้อไก่สดเนื่องจาก *Salmonella* sp. เป็นโรคที่ติดเชื้อได้ดีในไก่อายุต่างๆ โดยเฉพาะในลูกไก่อายุไม่เกิน 2-3 สัปดาห์ และเมื่อไก่อายุมากขึ้นจะเป็นโรคแบบเรื้อรัง อย่างไรก็ตามการติดเชื้อ *Salmonella* sp. ในไก่ อาจเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อจากอาหารเลี้ยงไก่ก็ได้ ทั้งนี้การตรวจพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. เป็นดัชนีที่แสดงให้เห็นว่าเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็งมีโอกาสทำให้เกิดโรค Salmonellosis ต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการป้องกันมิให้มีการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็ง ซึ่งอาจทำได้โดยวิธีการต่างๆ เช่น การตรวจสอบสุขภาพของไก่และอาหารไก่ รวมทั้งจะต้องมีการตรวจสอบสุขภาพของผู้ที่ปฏิบัติงานในโรงงาน และสุขาภิบาลของโรงงาน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่จะเกิดขึ้นภายหลัง การป้องกันดังกล่าวนอกจากจะทำให้ได้เนื้อไก่สดที่มีคุณภาพด้านจุลินทรีย์ที่ดีแล้ว ยังเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อโรคที่เกิดจาก *Salmonella* sp. ไปสู่ผู้บริโภคได้อีกด้วย

จากเชื้อที่คาดว่าเป็น *Salmonella* sp. ซึ่งให้ผลบวกตามวิธีการมาตรฐาน ได้ส่งตรวจยืนยันสายพันธุ์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (ตารางที่ 3) จากตารางพบว่าสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดจากตัวอย่างที่สุ่มจากตลาดสดและโรงงานผลิตไก่แช่เยือกแข็งส่งออก ได้แก่ S. Amsterdam ร้อยละ 34.21 (13/38) รองลงไป ได้แก่ S. Lexington

ร้อยละ 26.31 (10/38) นอกจากนี้ ตรวจพบ *S. Newport* ร้อยละ 10.53 (4/38), *S. Virchow* ร้อยละ 7.89 (3/38) สำหรับ *S. Schwarzengrund*, *S. 3,10:i:-* และ *S. Thompson* ตรวจพบร้อยละ 5.26 (2/38) นอกจากนั้นเป็น *S. Bovismorbifican* และ *S. Stanley* ร้อยละ 2.63 (1/38)

จากการศึกษาพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่จากตลาดสดมากกว่าโรงงานผลิตเพื่อการส่งออก แสดงให้เห็นว่าเนื้อไก่จากตลาดสดมีโอกาสปนเปื้อนมากกว่าเนื้อไก่จากโรงงานผลิตเพื่อการส่งออก และสาเหตุของการปนเปื้อนอาจมาจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการหั่น เช่น มีด เขียง สุขลักษณะของแหล่งจำหน่าย หรือจากคนขาย เป็นต้น Jerngklinchan และคณะ (1994) ศึกษาการปนเปื้อนจากเนื้อไก่ในแหล่งอื่นๆ พบว่า ตรวจพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. จากเนื้อไก่ในตลาดสดและโรงงานผลิตร้อยละ 87 และ 51 ตามลำดับ ซึ่งซีโรวาร์ที่พบมากได้แก่ *S. Enteritidis* อรุณ และคณะ (2536) ศึกษาการปนเปื้อนในเนื้อไก่ส่งออกในประเทศไทยระหว่างปี 2531 ถึง 2535 พบสายพันธุ์ต่างๆ ดังนี้ *S. Blockley*, *S. Paratyphi B biovar Java*, *S. Virchow*, และ *S. Hadar* ซึ่งพบร้อยละ 12.3, 10.1, 8.0, และ 7.5 ตามลำดับ จากการวิจัยนี้อาจแสดงให้เห็นว่า มีการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์และความถี่ของ *Salmonella* sp ที่ปนเปื้อนในไก่

ตารางที่ 3 สายพันธุ์ของ *Salmonella* sp. ที่ตรวจพบจากเนื้อไก่จำหน่ายในตลาดสด 4 แห่ง และโรงงานผลิตเพื่อการส่งออก 3 แห่ง

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ชิ้นส่วน	สายพันธุ์ของ <i>Salmonella</i> sp.	จำนวนที่ตรวจพบ (สายพันธุ์)
ตลาดสด	เนื้อหน้าอก	Lexington	8
		Amsterdam	4
		3,10:i:-	2
		Virchow	1
		Schwarzengrund	1
	น่อง	Amsterdam	3
		Lexington	1
	เครื่องใน	Amsterdam	5

		Schwarzengrund	1
โรงงานผลิต	เนื้อหน้าอก	Virchow	2
		Bovismorbificans	1
		Lexington	1
		Thompson	1
		Stanley	1
		Newport	2
	น่อง	Amsterdam	1
		Thompson	1
		Newport	2
	ปีก		
รวม			38

Salmonella sp. ที่แยกได้ทั้งหมดจากตัวอย่างที่สุ่มจากตลาดสดและโรงงานผลิตไก่แช่เยือกแข็งส่งออก ได้นำมาทดสอบหาความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ ชนิดต่างๆ 16 ชนิด ดังได้กล่าวไว้ในวิธีการทดลอง โดยทำทั้งสิ้น 2 ซ้ำเพื่อหาค่าเฉลี่ยของวงใสที่เกิดขึ้นจากผลของสารต้านจุลชีพ ในการอ่านผลของการทดสอบทำได้โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นที่เรียกว่า zone of inhibition โดยใช้เวอร์เนียร์ จากผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้จากเนื้อไก่และชิ้นส่วนวางจำหน่ายในตลาดสด จำนวนเชื้อทั้งสิ้น 26 สายพันธุ์ซึ่งเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่วางจำหน่ายในตลาดสดทั้ง 4 แห่ง

สายพันธุ์	ชิ้นส่วน	แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพ
Amsterdam	เนื้อหน้าอก	C E F Ot S Te W
Amsterdam	เนื้อหน้าอก	E F Na Ot Te
Amsterdam	เนื้อหน้าอก	E F Na Ot Te
Amsterdam	เนื้อหน้าอก	E F Na Ot S S ₃ Te W

3,10:i:-	เนื้อหน้าอก	E F S S ₃
3,10:i:-	เนื้อหน้าอก	Aml C E F K Na Ot S S ₃ Te W
Amsterdam	น่อง	Aml Amp C E F K Na Ot P S S ₃ Te W
Amsterdam	น่อง	Aml Amp E F K N Na Ot P S S ₃ Te W
Amsterdam	เครื่องใน	E F Ot Pb S ₃ Te
Amsterdam	เครื่องใน	Aml Amp Cn E F K Na Ot P S S ₃ Te W
Amsterdam	เครื่องใน	Aml C E F K Na Ot S S ₃ Te W
Lexington	เนื้อหน้าอก	Aml C Cn P S ₃
Lexington	เนื้อหน้าอก	K Ot S ₃
Lexington	เนื้อหน้าอก	E K Na Ot Te W
Lexington	เนื้อหน้าอก	E F Na P S ₃ Te
Virchow	เนื้อหน้าอก	E Na Ot S ₃ Te
Lexington	เนื้อหน้าอก	C E F Na Ot P S S ₃ Te
Lexington	เนื้อหน้าอก	P
Lexington	เนื้อหน้าอก	Amp E Ot P S S ₃ Te W
Lexington	เนื้อหน้าอก	Ot Te
Schwarzengrund	เนื้อหน้าอก	F Te
Amsterdam	น่อง	C E Na Ot Te
Lexington	น่อง	Aml C E K Ot Pb Te
Schwarzengrund	เครื่องใน	Aml Amp Ot P S S ₃ Te
Amsterdam	เครื่องใน	Aml C F Na Te
Amsterdam	เครื่องใน	Aml E F S

จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า *Salmonella* sp. ที่แยกได้ดื้อต่อสารต้านจุลชีพมากกว่า 1 ชนิด โดยสารต้านจุลชีพที่ *Salmonella* sp. ที่แยกได้จากเนื้อไก่วางจำหน่ายในตลาดสดดื้อมากที่สุดคือ Tetracycline จำนวนทั้งสิ้น 19 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 80.77 รองลงไปได้แก่ Oxytetracycline, Erythromycin, Nitrofurantoin, Sulfonamides, และ Streptomycin ร้อยละการดื้อคิดเป็น 73.08,

73.08, 61.54, 53.85, และ 42.31 ตามลำดับ สำหรับสารต้านจุลชีพที่ *Salmonella* sp. แสดงลักษณะ ตี้อยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึง 20 ได้แก่ Nalidixic acid, Amoxycillin, Penicillin, Chloramphenical, Trimethoprim, และ Kanamycin โดยมีร้อยละการตีคือคิดเป็น 50.00, 38.46, 34.62, 34.62, 34.62, และ 30.77 ตามลำดับ นอกจากนั้นเป็นสารต้านจุลชีพที่เชื้อแสดงลักษณะต่อน้อยกว่าร้อยละ 20 ได้แก่ Ampicillin, Gentamycin, Neomycin, และ Polymycin B โดยมีร้อยละการตีคือคิดเป็น 19.23, 7.69, 3.85, และ 3.85 ตามลำดับ

สำหรับผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้จากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกของโรงงานผลิต 3 แห่ง จำนวนเชื้อทั้งสิ้น 12 สายพันธุ์ซึ่งเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีแบบแผนการตีต่อสารต้านจุลชีพดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แบบแผนการตีต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกผลิตจากโรงงานผลิตทั้ง 3 แห่ง

สายพันธุ์	ชิ้นส่วน	แบบแผนการตีต่อสารต้านจุลชีพ
Virchow	เนื้อหน้าอก	E F Na
Bovismorbificans	เนื้อหน้าอก	E F Na S ₃
Lexington	เนื้อหน้าอก	C E F Na Ot Pb S ₃ Te
Amsterdam	น่อง	Aml Amp C Cn E F K N Na Ot P S S ₃ Te W
Virchow	ปีกเต็ม	Aml Amp C E F Na Ot P Pb S ₃ Te W
Thompson	เนื้อหน้าอก	Aml Amp C Cn E F K P S ₃ Te W
Stanley	เนื้อหน้าอก	E P S ₃
Newport	น่อง	E Na S ₃
Newport	น่อง	E F Na
Newport	ปีกเต็ม	Na
Newport	ปีกเต็ม	Na
Thompson	น่อง	E Na Ot S ₃

จากข้อมูล พบว่าสารต้านจุลชีพที่ *Salmonella* sp. ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกมากที่สุด 2 ชนิดคือ Nalidixic acid และ Erythromycin คือมีจำนวนเชื้อดื้อทั้งสิ้น 10 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 83.33 รองลงไปได้แก่ Sulfonamides, Nitrofurantoin, Oxytetracycline, Tetracycline, Chloramphenical, Penicillin, และ Streptomycin โดยร้อยละการดื้อคิดเป็น 66.67, 58.33, 33.33, 33.33, 33.33, 33.33, และ 8.33 ตามลำดับ สำหรับสารต้านจุลชีพที่ *Salmonella* sp. แสดงลักษณะดื้อร้อยละ 25.00 ได้แก่ Amoxycillin, Ampicillin, Polymycin B, และ Trimethoprim นอกจากนั้นเป็นสารต้านจุลชีพที่เชื้อแสดงลักษณะดื้อน้อยกว่าร้อยละ 20 ได้แก่ Gentamycin, Kanamycin, และ Neomycin โดยมีร้อยละการดื้อคิดเป็น 16.67, 16.67, และ 8.33 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาเปรียบเทียบกับงานวิจัยเกี่ยวกับการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกพบว่า ในปี 2537 สามารถแยก *Salmonella* sp. ได้จากเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็ง 407 สายพันธุ์ นำมาทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพทั้งสิ้น 9 ชนิด โดยวิธี disc diffusion พบว่า อัตราการดื้อต่อ Ceftriaxone, Amikacin และ Kanamycin ของ *S. Enteritidis* เป็นร้อยละ 10.7, 8.6, และ 17.8 ตามลำดับ ในขณะที่ *S. Typhimurium* มีอัตราการดื้อต่อสารต้านจุลชีพ 3 ชนิดดังกล่าวข้างต้นเป็นร้อยละ 18.9, 15.7, และ 37.8 ตามลำดับ (Boonmar และคณะ, 1998) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้้อัตราการดื้อต่อ Kanamycin ของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้จากตลาดสด และโรงงานเป็นร้อยละ 30.77 และ 28.57 เปรียบเทียบกับการตรวจการดื้อในงานวิจัยนี้ พบว่าอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่า ปัญหาการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ยังคงเป็นปัญหาที่ต้องได้รับการแก้ไข ซึ่งในปัจจุบัน เจ้าของฟาร์มนิยมเติมสารต้านจุลชีพประเภท Sulfonamide หรือ Nitrofurantoin อย่างหนึ่งอย่างใดลงในอาหารเลี้ยงไก่ โอกาสที่ *Salmonella* sp. กลายพันธุ์และดื้อต่อสารต้านจุลชีพจึงมีมาก

1.2 การปนเปื้อนบนผลิตภัณฑ์แฮมมิกไก่

จากการตรวจการปนเปื้อนบนแฮมมิกไก่ และปีกไก่สดซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักแฮมจากตลาดสด 2 แห่ง พบว่า แยก *Salmonella* sp. ได้ทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ ซึ่งแยกได้จากแฮมมิกไก่ 6 สายพันธุ์ และแยกได้จากปีกไก่สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบ 7 สายพันธุ์ จากการตรวจยืนยันสายพันธุ์โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่า *Salmonella* sp. ทั้ง 13 สายพันธุ์ประกอบไปด้วย *S. Agona* 4 สายพันธุ์ *S. Weltevreden* 3 สายพันธุ์

S. Hadar 2 สายพันธุ์ S. London 1 สายพันธุ์ S. Virchow 1 สายพันธุ์ S. Schwarzengrund 1 สายพันธุ์ และ *Salmonella* rough strain 1 สายพันธุ์

เมื่อนำมาทดสอบการดื้อต่อสารต้านจุลชีพ 16 ชนิด พบว่า *Salmonella* sp. ดื้อต่อ Erythromycin เข้มข้น 15 ไมโครกรัม ถึงร้อยละ 100 และดื้อต่อ Ampicillin, Trimethoprim, Sulfonamides, Penicillin, Amoxycillin, Nitrofurantoin, Polymyxin B, Gentamycin, Tetracycline, Neomycin, Kanamycin, Streptomycin, Chloramphenical, Nalidixic acid, และ Oxytetracycline ร้อยละ 92.31, 76.92, 76.92, 84.62, 61.54, 76.92, 23.00, 38.46, 69.23, 30.77, 23.08, 92.31, 46.15, 46.15, และ 69.23 ตามลำดับ ซึ่งแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ที่แยกได้ แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ซึ่งแยกได้จากแฮมมิงไก่ และปีกไก่สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบ จากตลาดสด 2 แห่ง

สายพันธุ์	แหล่งเก็บตัวอย่าง	แบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพ
Rough strain	ปีกบน	Aml Amp C Cn E F K Ot P Pb S S ₃ Te W N
Agona	ปีกบน	Aml Amp C Cn E F K Ot P Pb S S ₃ Te W
Agona	ปีกบน	Aml Amp Cn E F Ot P S S ₃ Te W N
London	ปีกบน	Amp C E F Ot P S S ₃ Te W
Agona	ปีกบน	Aml Amp Cn E F Na Ot P S S ₃ Te W
Agona	ปีกบน	Aml Amp C E F Ot P S S ₃ Te W
Weltevrenden	ปีกบน	Amp E P S
Virchow	แฮมมิงไก่	Aml Amp Cn E F K Na P S W Pb
Weltevrenden	แฮมมิงไก่	Amp E Na P S N
Weltevrenden	แฮมมิงไก่	Amp E P S S ₃
Hadar	แฮมมิงไก่	Amp C E F Na Ot S S ₃ Te W N
Hadar	แฮมมิงไก่	Amp E F Na Ot S ₃ Te W N
Schwarzengrund	แฮมมิงไก่	Aml Amp C E F Na Ot P S S ₃ Te W

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองและวิจารณ์การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในการลดปริมาณของ *Salmonella* sp. ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer

1. ประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ในการลดปริมาณ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow NE541, และ *Salmonella* Virchow DMST 14922

1.1 ผลของความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกสองชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM เพื่อลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งมีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็น S_3 , Amp-C-S-Te- S_3 -W, Amp-Aml-Cn-E-F-K-Na-P-S-W, และ Non Resistance ตามลำดับ โดยกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0 ทั้งสิ้น 5 ระดับคือ 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm และในสารละลายมีเซลล์เริ่มต้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร ตรวจนับจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่รอดชีวิตที่เวลาต่างๆ กันคือ 0, 15, 60, 180, 300 วินาที พบว่า การใช้ Inspexx 100TM ที่ความเข้มข้น 10 ppm สามารถทำลายเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้หมดภายในเวลา 15 วินาที และเมื่อลดระดับความเข้มข้นเป็น 5 ppm พบว่าจะใช้เวลานานขึ้นในการทำลายเชื้อได้หมด กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm สามารถทำลาย *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมดภายในระยะเวลา 60 วินาที สำหรับ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ต้องใช้เวลา 180 วินาที จึงสามารถทำลายเชื้อได้หมด เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อเท่ากัน พบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100TM เพิ่มขึ้น ร้อยละการอยู่รอดจะลดลง (ตารางที่ 7) จากตารางที่ 7 พบ

ว่าฆ่าเชื้อที่ 60 วินาที *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 51.60, 51.47, 0.10, และ 0.00 เมื่อระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100TM เป็น 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ตามลำดับ

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 100TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	95.00	54.52	54.41	65.37	2.29
60	90.00	51.60	51.47	0.10	0.00
180	92.50	47.23	3.77	0.00	0.00
300	97.50	5.83	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 100TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	96.97	63.33	47.19	16.45	0.00
60	90.91	68.15	53.44	0.00	0.00
180	93.94	67.04	0.04	0.00	0.00
300	87.88	11.14	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* NE 541 ในกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 100TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	95.00	103.94	103.33	0.95	0.00
60	77.50	86.67	64.55	0.00	0.00
180	70.00	76.97	0.45	0.00	0.00
300	72.50	3.94	0.11	0.00	0.00

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* DMST 14922 ในกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 100TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	113.79	55.17	30.27	51.67	0.00
60	106.90	48.62	37.57	0.10	0.00
180	103.45	46.21	9.08	0.00	0.00
300	82.76	28.55	0.00	0.00	0.00

สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921 เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการฆ่าเชื้อเท่ากัน คือ 60 วินาที จะมีร้อยละการอยู่รอดที่ระดับความเข้มข้นของ Inpexx 100TM 0.5, 1, 5, และ 10 ppm เท่ากับ 68.15, 53.44, 0.00, 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ซึ่งให้ผลทำนองเดียวกันกับ *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 86.67, 64.55, 0.00, และ 0.00 (ตารางที่ 9) และเป็น 48.62, 37.57, 0.10, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

สำหรับการใช้ Inpexx 200TM นั้นให้ผลทำนองเดียวกันกล่าวคือ เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการฆ่าเชื้อเท่ากันที่ 60 วินาที ประสิทธิภาพจะแปรตามความเข้มข้นที่ใช้ พิจารณาการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ATCC 13311 พบว่า เชื้อจะมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 66.52, 34.00, 0.04, และ 0.00 (ตารางที่ 11) เมื่อใช้ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ตามลำดับ สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 77.83, 58.00, 0.00, 0.00 เมื่อใช้ความเข้มข้น 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 12) ซึ่งให้ผลทำนองเดียวกันกับ *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 73.79, 283.70, 0.00, และ 0.00 (ตารางที่ 13) และร้อยละ 61.05, 46.68, 0.00, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

1.2 ผลของระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก (Inpexx 100TM และ Inpexx 200TM) ต่อการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันสำหรับการใช้ Inpexx 100TM คือ 1 ppm พบว่า เมื่อระยะเวลาสัมผัสเชื้อนานขึ้น ร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะลดลง กล่าวคือ จะมีร้อยละการอยู่รอดที่เวลา 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที เป็น 100, 54.41, 54.41, 3.77, และ 0.00 ตามลำดับ สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100, 47.19, 53.44, 0.04, และ 0.00 ตามลำดับ *S. Virchow* NE541 จะมีร้อยละการอยู่รอดเท่ากับ 100, 103.33, 64.55, 0.45, และ 0.00 ตามลำดับ ส่วน *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100, 30.27, 37.57, 9.08, และ 0.00 ตามลำดับ

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	95.00	72.61	42.00	14.19	0.00
60	90.00	66.52	34.00	0.04	0.00
180	92.50	38.26	5.71	0.00	0.00
300	97.50	3.00	0.38	0.00	0.00

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในกรดเปอร์รอกซีแอซิดิก (Inspexx 200TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	96.97	73.04	68.50	0.09	0.00
60	90.91	77.83	58.00	0.00	0.00
180	93.94	63.48	0.01	0.00	0.00
300	87.88	12.56	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* NE 541 ในกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 311 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	95.00	100.00	75.19	0.45	0.00
60	77.50	73.79	23.70	0.00	0.00
180	70.00	28.62	0.67	0.00	0.00
300	72.50	1.38	0.07	0.00	0.00

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* DMST 14922 ในกรดเปอร์รอกซีแอซีติก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 5, และ 10 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์รอกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer pH 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
0	100	100	100	100	100
15	113.79	75.26	78.75	0.05	0.00
60	106.90	61.05	46.88	0.00	0.00
180	103.45	17.89	0.01	0.00	0.00
300	82.76	0.09	0.00	0.00	0.00

การใช้ Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ยังให้ผลในทำนองเดียวกันคือ เมื่อระยะเวลาสัมผัสเชื้อนานขึ้น ร้อยละการอยู่รอดของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ จะลดลงกล่าวคือ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100, 42.00, 34.00, 5.71, และ 0.00 ตามลำดับ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100, 68.50, 58.00, 0.01, และ 0.00 ตามลำดับ สำหรับ *S. Virchow* NE541 จะมีร้อยละการอยู่รอดเท่ากับ 100, 75.19, 23.70, 0.67, และ 0.00 ตามลำดับ ส่วน *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100, 78.75, 46.88, 0.01, และ 0.00 ตามลำดับ

จากผลการทดลองข้อ 1.1 และ 1.2 แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ในการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) จะแปรตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

1.3 ผลของอุณหภูมิของกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกต่อประสิทธิภาพในการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ข้อ 1.1 และ 1.2 โดยเปลี่ยนระดับอุณหภูมิของสารละลายกรดเปอร์รอกซีแอซิดิกทั้งสองชนิด เป็น 4, 37, และ 55 องศาเซลเซียส เพื่อสังเกตผลของอุณหภูมิในการทำลายเชื้อ เมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่สามารถทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมดภายในระยะเวลา 180 วินาที โดยจะมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 72.50, 80.56, 71.11, และ 70.00 ตามลำดับ แต่เมื่อใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาเดียวกันนี้ พบว่า ร้อยละการอยู่รอดเป็น 2.10, 2.79, 2.05, และ 1.49 ตามลำดับ เมื่อเปลี่ยนเป็นอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสพบว่า *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์จะถูกทำลายจนหมดที่เวลา 180 วินาที โดยมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 0.00 (ตารางที่ 15)