ห้องสมุดสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

ความคงทนของเชื้อ *Streptococcus suis* และ *Salmonella* Enteritidis ในก๋วยเตี๋ยวน้ำตก

พรเพ็ญ พัฒนโสภณ* **และสมหมาย ยุวพาณิชสัมพันธ์**

กลุ่มแบคทีเรียวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: E-mail: pornpenp@dld.go.th โทร 0-2579-8908-14, โทรสาร 0-2579-8918-19

บทคัดย่อ

ก๋วยเตี๋ยวน้ำตกเป็นอาหารที่ต้องมีส่วนผสมของเลือดสัตว์ในน้ำซุป ซึ่งเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับเลือด หรือเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะ *Streptococcus suis*, *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงสูง อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ไม่ทนความร้อน ปัญหาคือก๋วยเตี๋ยวน้ำตกมีความร้อนเท่าไรในขั้นตอนการปรุงและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้หรือไม่ การทดลองที่ 1 จึงได้ทำการวัดอุณหภูมิของน้ำซุปขณะเดือด (0 วินาที) ขั้นตอนที่เลือดผสมกับน้ำซุป จนเลือดเปลี่ยนสี แล้วเทใส่ชามที่มีเส้นก๋วยเตี๋ยวพร้อมผัก วัดอุณหภูมิต่อเนื่องรวม 10 นาที และได้ทดสอบความคงทนของเชื้อในน้ำซุปเดือดรวม 4 การทดลอง โดยการทดลองที่ 2 และ 3 ใส่เชื้อ *Streptococcus suis* ลงในเลือดแกะขนาดความเข้มข้น $2.1x10^7$ และ $2.1x10^6$ colony forming unit (CFU)/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อผสมเลือดที่มีเชื้อกับน้ำซุปเดือดในอัตราส่วน 1:10 ซึ่งใกล้เคียงกับก๋วยเตี๋ยวน้ำตกแล้วจะได้เชื้อเข้มข้น $2.1x10^6$ และ $2.1x10^5$ CFU/มิลลิลิตร ในการทดลองที่ 2 และ 3 ตามลำดับ วัดอุณหภูมิตั้งแต่น้ำซุปเดือด เลือดที่ใส่น้ำซุปเดือด พร้อมกับเก็บตัวอย่างออกมาเพาะเชื้อ ทุกๆ 5 วินาทีจนครบ 1 นาที แล้วทำต่อทุกๆ นาทีจนครบ 10 นาที ส่วนการทดลองที่ 4 และ 5 ใส่เชื้อ *Salmonella* Enteritidis ในขนาดความเข้มข้น และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 และ 3 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส อ่านผลที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พร้อมกับเชื้อควบคุมที่ไม่ได้ผ่านความร้อน

ผลการทดลองพบว่า น้ำซุปก๋วยเตี๋ยวเดือดที่ 93 องศาเซลเซียส เมื่อใส่เลือดแล้วเลือดจะเปลี่ยนเป็นสีคล้ำที่ 5-15 วินาที ซึ่งอุณหภูมิจะปรับลดลงเป็น 80 แล้วเปลี่ยนเป็น 86 และ 88 องศาเซลเซียสที่ 5, 10 และ 15 วินาทีตามลำดับ และลดลงเป็น 67 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 1 จนถึง 51 องศาเซลเซียส ใน นาทีที่ 10 ผลการเพาะแยกเชื้อพบว่าหลังการผสมเลือดในน้ำซุปเพียง 5 วินาที และตลอดการทดลอง ทั้งเชื้อ *Streptococcus suis* และเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ตายหมดทั้ง 4 การทดลอง ในขณะที่เชื้อควบคุมมีการขึ้นได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ การทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าก๋วยเตี๋ยวน้ำตกที่ปรุงด้วยน้ำเดือดจนเลือดเปลี่ยนเป็นสีคล้ำสามารถทำลายเชื้อ *Streptococcus suis* และเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ได้

คำสำคัญ: ก๋วยเตี๋ยวน้ำตก, อุณหภูมิ, *Streptococcus suis*, *Salmonella* Enteritidis

บทนำ

เชื้อ *Streptococcus suis* (*S. suis*) เป็นแบคทีเรียรูปกลม ติดสีแกรมบวก มีทั้งหมด 35 ซีโรไทป์ พบได้ในสุกรทั่วไปในโลก ทั้งที่ก่อโรค และเป็นตัวฉวยโอกาส จัดเป็นโรคสัตว์สู่คน (zoonosis)(Staats, *et al.*, 1997) การติดเชื้อ *S. suis* ในคนมีรายงานการระบาดอย่างรุนแรงในปี 2548 ที่ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนในระหว่างกลางเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม ผู้ป่วยเป็นเกษตรกรจากหมู่บ้าน 49 แห่งรอบเมืองจื้อหยางและเหน่ยเจียง มณฑลเสฉวน มีอาการไข้ อ่อนเพลีย คลื่นเหียน และอาเจียน ทุกรายมีประวัติสัมผัสสุกรป่วย เลี้ยงสุกรไว้ที่บ้านไม่ใช่เป็นอุตสาหกรรม และมีประวัติการฆ่าสุกรหรือแพะที่ป่วยโดยไม่ทราบสาเหตุ และการชำแหละไม่ถูกตามสุขอนามัย จากนั้นก็มีการระบาดในเมืองใกล้เคียง รวมผู้ป่วยทั้งหมด 215 ราย อายุระหว่าง 30-70 ปี เป็นผู้ป่วยเยื่อหุ้มสมองอักเสบ 102 ราย (48%) ติดเชื้อเข้าในกระแสโลหิต 52 ราย (24%) และมีอาการช็อกจากพิษของเชื้อ (toxic shock syndrome, TSS) 61 ราย (28%) เสียชีวิต 39 ราย (18%) (Yu *et al.*, 2006) สำหรับประเทศไทยในปี 2550 มีผู้ป่วยติดเชื้อ *S. suis* ทั้งหมด 131 ราย เสียชีวิต 16 ราย ผู้ป่วยส่วนใหญ่อยู่ในเขตจังหวัดภาคเหนือ และมีประวัติการบริโภคเนื้อหรือเลือดสุกรดิบ (ธีรศักดิ์, 2550)

เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง พบได้ทั้งคนและสัตว์ทั่วโลกทั้งที่แสดงอาการป่วยและไม่มีอาการใดๆ อย่างไรก็ตามความเจ็บป่วยในคนจากการติดเชื้อ *Salmonella* โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* ที่ไม่ใช่เชื้อก่อโรคไทฟอยด์ (non-typhoidal salmonella, NTS) ถือว่าเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขที่มีสาเหตุมาจากสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารและเป็นปัญหาทั่วโลก คนสามารถติดเชื้อได้โดยผ่านทางอาหารหลายชนิด ได้แก่ เนื้อโค เนื้อสุกร เนื้อไก่ ไข่ นม เนยแข็ง ปลา หอย ผลไม้ และ น้ำผลไม้ (Gomez *et al.*, 1997) เชื้อ *Salmonella* มีรายงานแล้วทั่วโลกกว่า 2,500 ซีโรวาร์ ซึ่งส่วนใหญ่สามารถทำให้เกิดความเจ็บป่วยในคนได้ (Boonmar *et al.*, 1998) โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* Enteritidis (*S.* Enteritidis) เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขไปทั่วโลก ในอเมริกาตั้งแต่ปี 2533 เป็นต้นมา เป็นเชื้อ *Salmonella* ที่พบในผู้ป่วยมากที่สุด (Patrick *et al.*, 2004) เช่นเดียวกับประเทศไทยในช่วงปี 2536 - 2537 พบ *S.* Enteritidis มากที่สุด (15.64%) จากเชื้อ *Salmonella* รวม 14,603 สายพันธุ์ที่ส่งตรวจที่ WHO National Salmonella and Shigella Center จากห้องปฏิบัติการทั่วประเทศไทย (อรุณ และคณะ, 2536) ดังนั้นเชื้อ *S.* Enteritidis จึงเป็นเชื้อที่ห้ามมีการปนเปื้อนในสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ส่งออกไปทั่วโลกอีกด้วย

ก๋วยเตี๋ยวน้ำตกเป็นอาหารที่นิยมรับประทานในประเทศไทย ซึ่งต้องมีส่วนผสมของเลือดสัตว์ในน้ำซุป ก่อให้เกิดความวิตกกังวลถึงความเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับเลือดสัตว์ ในการศึกษาครั้งนั้นจึงเลือกเชื้อแบคทีเรียสองชนิด ได้แก่ *S. suis* และ *S.* Enteritidis เพื่อเป็นตัวแทนสำหรับทดสอบความคงทนต่อความร้อนในสภาพที่ปรุงเป็นก๋วยเตี๋ยวน้ำตก

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อ *S. suis* สเตรน NCTC 10156 เพาะเลี้ยงใน 5% defibrinated blood agar (Oxoid, Hampshire, England) ส่วน เชื้อ *S.* Enteritidis สเตรน ATCC 13076 เพาะเลี้ยงใน Brilliant green agar (BGA)(Difco, USA)

การเตรียมเลือดที่มีเชื้อ 10^7 และ 10^6 CFU/มิลลิลิตร

ตลอดทั้ง 5 การทดลองนี้ใช้เลือดแกะปลอดเชื้อซึ่งใช้สำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อตัดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อที่มาจากเลือดสัตว์

ทำสต็อคเชื้อ *S. suis* / *S.* Enteritidis 10^8 CFU/มิลลิลิตร โดยละลายเชื้อจากจานเพาะเลี้ยงลงใน phosphate buffer saline (PBS) ปรับความขุ่นที่ OD540 nm เท่ากับ 0.1 โดยเครื่องวัดความขุ่น Spectonic 20 A (Shimitsu, Japan) แล้วทำการนับจำนวนเชื้อโดยวิธี drop plate method (Slack and Wheldon, 1978) บนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวข้างต้น จะได้เชื้อจำนวน 2.1 x 10^8 CFU/มิลลิลิตร นำสต็อคเชื้อ 2.1 x 10^8 CFU/มิลลิลิตร มาเจือจางสิบเท่าด้วย PBS ก็จะได้สต็อคเชื้อ 2.1 x 10^7 CFU/มิลลิลิตร ใช้สต็อคเชื้อ 10^8 CFU/มิลลิลิตร และ 10^7 CFU/มิลลิลิตร จำนวนอย่างละ 1 มิลลิลิตรเติมในเลือดแกะปลอดเชื้อ (defibrinated blood) 9 มิลลิลิตร จะได้เลือดแกะที่มีเชื้อ *S. suis* / *S.* Enteritidis 10^7 CFU/มิลลิลิตร และ 10^6 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การวัดอุณหภูมิก๋วยเตี๋ยวน้ำตก

การทดลองที่ 1 ทำการวัดอุณหภูมิทุกขั้นตอนการปรุงก๋วยเตี๋ยวน้ำตกทุก 5 วินาที เมื่อครบ 60 วินาที วัดต่อทุกๆ นาทีจนครบ 10 นาที ตั้งต้นที่น้ำซุปเดือด (0 วินาที) กระบวยตักเลือดที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตักน้ำเดือดในสัดส่วนเลือด 10 มิลลิลิตรต่อน้ำซุปประมาณ 90 มิลลิลิตร ใส่ลงในชามก๋วยเตี๋ยว (ตารางที่ 1)

การทดสอบความคงทนของเชื้อ *S. suis* และ เชื้อ *S.* Enteritidis ในน้ำซุปเดือด

การทดสอบความคงทนของเชื้อ *S. suis* และ เชื้อ *S.* Enteritidis ในน้ำซุปเดือด แบ่งเป็น 4 การทดลอง ดังต่อไปนี้คือ การทดลองที่ 2 และ 3 ใส่เลือดที่มีเชื้อ *S. suis* ในขนาดความเข้มข้น 10^7 CFU/มิลลิลิตร และ 10^6 CFU/มิลลิลิตร จำนวน 10 มิลลิลิตร ในน้ำซุปเดือด 90 มิลลิลิตร ซึ่งอยู่ในขวดแก้ว ขนาด 250 มิลลิลิตร จะได้เชื้อเข้มข้นเชื้อ 10^6 CFU/มิลลิลิตร และ 10^5 CFU/มิลลิลิตร ในการทดลองที่ 2 และ 3 ตามลำดับ พร้อมกับวัดอุณหภูมิตั้งแต่น้ำซุปเดือด น้ำซุปผสมเลือดในระยะเวลาต่างๆ ในขณะเดียวกันก็เก็บตัวอย่างออกมาเพาะเชื้อโดยวิธี drop plate method (Slack and Wheldon, 1978) บน 5% defibrinated blood agar (Oxoid, Hampshire, England) ทุกๆ 5 วินาทีจนครบ 1 นาที แล้วทำต่อทุกๆ นาทีจนครบ 10 นาที นำจานอาหารที่เพาะเชื้อบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส อ่านผลที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พร้อมกับสต็อคเชื้อควบคุมซึ่งไม่ได้ผ่านความร้อน

การทดลองที่ 4 และ 5 ใส่เชื้อ *S.* Enteritidis ในขนาดความเข้มข้น และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 และ 3 และเพาะเชื้อบน Brilliant green agar (BGA) (Difco, USA) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส อ่านผลที่ 24 และ 48 ชั่วโมง พร้อมกับสต็อดเชื้อควบคุมซึ่งไม่ได้ผ่านความร้อน

ผล

ผลการทดลองที่ 1 พบว่า น้ำซุปก๋วยเตี๋ยวเดือดที่ 93 องศาเซลเซียส เมื่อใส่เลือดแล้วเลือดจะเปลี่ยนสีที่ 5-15 วินาที ซึ่งในตอนแรกอุณหภูมิจะลดลงเป็น 80 และปรับขึ้นเป็น 86 และ 88.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และลดลงเป็น 67 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 1 จนถึง 51 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 10 ในขณะที่การทดลองที่ 2 และ 3 อุณหภูมิของน้ำซุปผสมเลือดที่มีเชื้อ *S. suis* อยู่ในช่วง 65-68, 70-71 และ 71-72 องศาเซลเซียส ที่ 5-15 วินาที ตามลำดับ และลดลงเป็น 68.5-69 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 1 จนถึง 51-51.5 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 10 ส่วนการทดลองที่ 4 และ 5 อุณหภูมิของน้ำซุปผสมเลือด ที่มีเชื้อ *S.* Enteritidis อยู่ในช่วง 71-73, 73-75 และ 73-76 องศาเซลเซียส ที่ 5-15 วินาที ตามลำดับ และลดลงเป็น 65-71 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 1 จนถึง 51-53 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 10 ตามตารางที่ 1

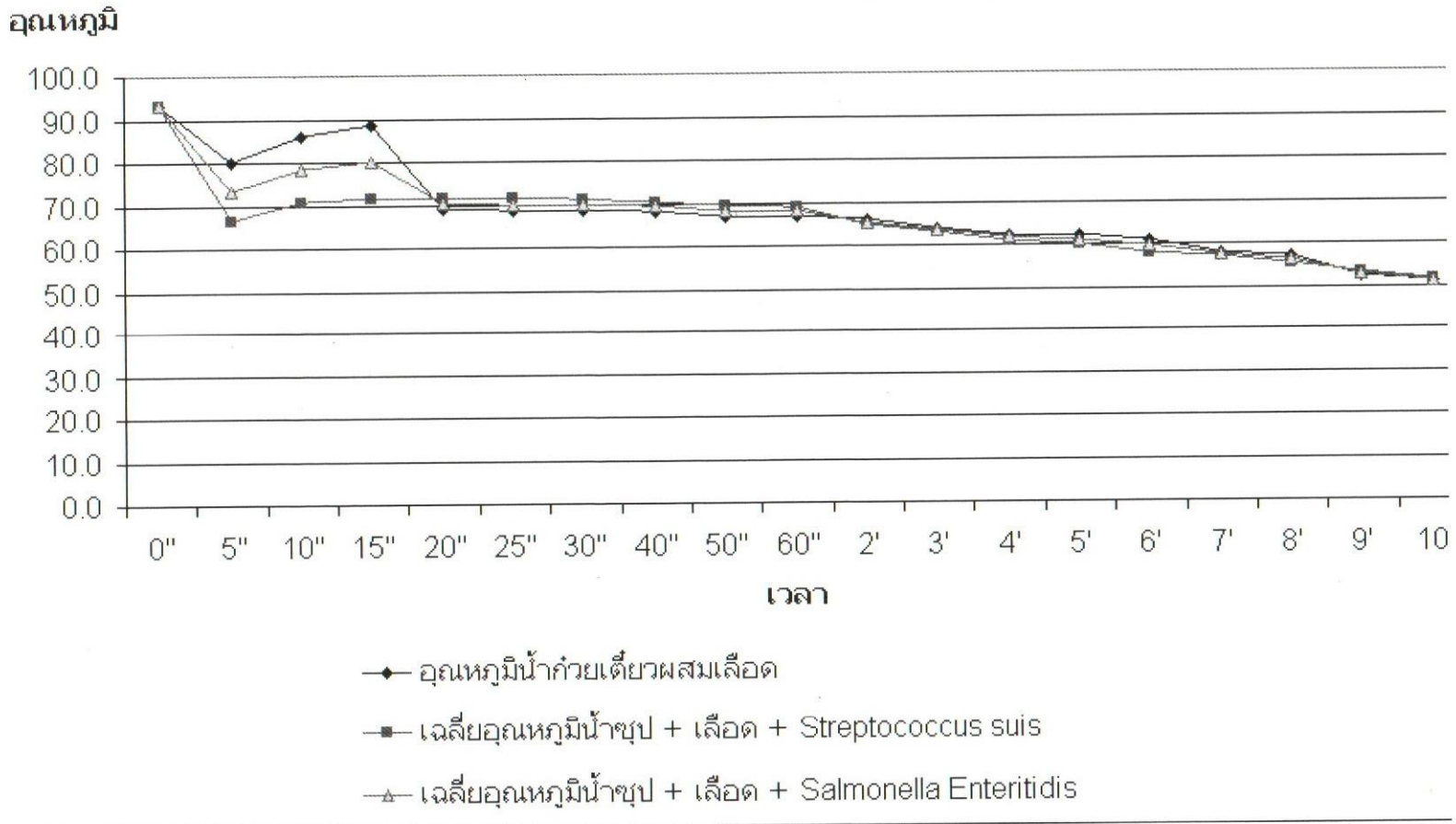
ผลการเพาะแยกเชื้อพบว่า ทั้ง *S. suis* และ เชื้อ *S.* Enteritidis ไม่ขึ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ที่ 5 วินาที จนถึง 10 นาที คือตายหมดทั้ง 4 การทดลอง ในขณะที่เชื้อควบคุมมีการขึ้นได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ

รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของก๋วยเตี๋ยวน้ำตกเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิของน้ำซุปผสมเลือดที่มีเชื้อ *S. suis* และค่าเฉลี่ยของน้ำซุปผสมเลือดที่มีเชื้อ *S.* Enteritidis ในช่วงเวลาตั้งแต่วินาทีที่น้ำเดือด จนถึง 10 นาที จะเห็นได้ว่าในวินาทีที่ 5 อุณหภูมิของก๋วยเตี๋ยวน้ำตกสูงกว่าค่าเฉลี่ยของการทดลองที่ 2 - 3 และการทดลองที่ 4- 5 เป็น 13.5 และ 8.0 องศาเซลเซียส และในวินาทีที่ 10 อุณหภูมิของก๋วยเตี๋ยวน้ำตก สูงกว่าค่าเฉลี่ยของการทดลองที่ 2-3 และการทดลองที่ 4-5 เป็น 15.5 และ 12.0 องศาเซลเซียส และในวินาทีที่ 15 อุณหภูมิของก๋วยเตี๋ยวน้ำตก สูงกว่าค่าเฉลี่ยของการ ทดลองที่ 2 -3 และ การทดลองที่ 4-5 เป็น 17.0 และ 14.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ หลังจากวินาทีที่ 20 แล้วความแตกต่างของอุณหภูมิน้อยลง เหลือ 5.3-2.5 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและอุณหภูมิของก๋วยเตี๋ยว ความคงทนของเชื้อ *S. suis* และ เชื้อ *S.* Enteritidis ในน้ำเดือด

เวลา / การทดลอง	0" [1]	5"	10"	15"	20"	25"	30"	40"	50"	60"	2' [2]	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'
1. การทดลองที่ 1 อุณหภูมิน้ำก๋วยเตี๋ยวผสมเลือด	93.0	80.0	86.0	88.5	69.0	68.5	68.5	68.0	67.0	67.0	66.0	64.0	62.0	62.0	61.0	58.0	57.0	52.5	51.0
2. การทดลองที่ 2 น้ำซุปเดือด + เลือด + *S.suis* (10^6 CFU/มิลลิลิตร)	93.0	65.0	70.0	71.0	71.0	71.0	71.0	70.0	69.0	68.5	64.0	62.5	60.5	59.0	57.0	56.5	55.0	53.0	51.0
3. การทดลองที่ 3 น้ำซุปเดือด + เลือด + *S.suis* (10^5 CFU/มิลลิลิตร)	93.0	68.0	71.0	72.0	72.0	71.5	71.0	70.5	70.0	69.0	65.0	63.0	61.5	60.5	58.8	57.5	55.5	53.5	51.5
4. เฉลี่ย อุณหภูมิ 3. และ 4.	93.0	66.5	70.5	71.5	71.5	71.3	71.0	70.3	69.5	68.8	64.5	62.8	61.0	59.8	57.9	57.0	55.3	53.3	51.3
5. ค่าแตกต่างของ 1. และ 4.	0.0	13.5	15.5	17.0	-2.5	-2.8	-2.5	-2.3	-2.5	-1.8	1.5	1.3	1.0	2.3	3.1	1.0	1.8	-0.8	-0.3
ผลการเพาะเชื้อ		-*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. การทดลองที่ 4 น้ำซุป + เลือด + *S.* Enteritidis (10^6 CFU/มิลลิลิตร)	93.0	71.0	73.0	73.0	72.5	72.0	71.0	70.0	69.0	65.0	63.0	61.5	59.0	56.5	56.5	56.5	54.5	53.0	51.0
7. การทดลองที่ 5 น้ำซุป+เลือด+ *S.* Enteritidis (10^5 CFU/มิลลิลิตร)	93.0	73.0	75.0	76.0	76.0	76.0	75.5	75.0	74.5	71.0	68.0	66.0	64.0	62.0	60.5	59.0	58.0	56.5	53.0
8. เฉลี่ย อุณหภูมิ 6. และ 7.	93.0	72.0	74.0	74.5	74.3	74.0	73.3	72.5	71.8	68.0	65.5	63.8	61.5	59.3	58.5	57.8	56.3	54.8	52.0
9. ค่าแตกต่างของ 1. และ 8.	0.0	8.0	12.0	14.0	-5.3	-5.5	-4.8	-4.5	-4.8	-1.0	0.5	0.3	0.5	2.8	2.5	0.3	0.8	-2.3	-1.0
ผลการเพาะเชื้อ		-*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* -ไม่พบเชื้อขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ, [1]หน่วยเป็นวินาที, [2]หน่วยเป็นนาที



รูปที่ 1 อุณหภูมิ หน่วยเป็น องศาเซลเซียส
เวลา " หน่วยเป็นวินาที , ' หน่วยเป็นนาที

วิจารณ์

การทำลายเชื้อโดยความร้อนเป็นที่ทราบกันมาช้านานแล้ว ปัจจัยที่จะทำให้เชื้อถูกฆ่าเร็วหรือช้าขึ้นอยู่อุณหภูมิ เวลา จำนวนจุลชีพและชนิดของจุลชีพ ซึ่งมีความคงทนต่อความร้อนแตกต่างกัน โดยเฉพาะเชื้อที่สร้างสปอร์เป็นสิ่งมีชีวิตที่ทนทานที่สุด (พจนีย์, 2536) เชื้อ *S. suis* มีความคงทนในสิ่งแวดล้อมที่อุณหภูมิต่างๆ แตกต่างกันไม่เท่ากัน จากรายงานของ Clifton-Hadley and Enright (1984) เชื้อนี้มีความคงทนในสภาพแวดล้อมที่อากาศเย็นได้ดีมาก เช่นที่ 0 องศาเซลเซียส ในฝุ่นสามารถอยู่ได้นาน 1 เดือน แต่ถ้าอยู่ในอุจจาระสามารถอยู่ได้มากกว่า 3 เดือน แต่ที่ 25 องศาเซลเซียส สามารถอยู่ในฝุ่นได้นาน 24 ชั่วโมง และอยู่ในอุจจาระได้นาน 8 วัน นอกจากนี้ Clifton-Hadley *et al.* (1986) ยังพบว่าเชื้อสามารถอยู่ในซากที่ 4 องศาเซลเซียสได้นานถึง 6 สัปดาห์ และอยู่ในน้ำที่ 60 องศาเซลเซียสได้นาน 10 นาที แต่ที่ 50 องศาเซลเซียสอยู่ได้ถึง 2 ชั่วโมง จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นข้อกังวลว่าก๋วยเตี๋ยวน้ำตกในขบวนการปรุงมีอุณหภูมิสูงสุดที่เท่าไร และเมื่อเสิร์ฟถึงผู้บริโภคมีอุณหภูมิเท่าไร จึงเป็นที่มาของการออกแบบการทดลองทั้ง 5 การทดลองที่ 1 เป็นการทดลองหาอุณหภูมิเสมือนจริงโดยใช้อุปกรณ์คือ หม้อ กระบวยตักน้ำเดือดเป็นอลูมิเนียม ส่วนการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 จำเป็นต้องออกแบบการทดลองให้ปลอดเชื้อเพื่อหาเชื้อ *S. suis* และ *S.* Enteritidis ที่ยังคงมีชีวิตอยู่จริงหลังการใส่น้ำซุปเดือดลงไป และจำเป็นต้องทำการทดลองในห้องปฏิบัติการและใช้ภาชนะที่เป็นแก้วที่ปราศจากเชื้อ จึงทำให้อุณหภูมิของการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ต่ำกว่าการทดลองที่ 1 ถึง 8.0 - 17.0 องศาเซลเซียส ในช่วง 5 ถึง 15 วินาทีหลังจากที่นำเลือดผสมกับน้ำซุปเดือด เนื่องจากเลือดเก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นเมื่อใส่ในน้ำเดือดจึงฉุดอุณหภูมิของน้ำให้ต่ำลง เป็น 80 องศาเซลเซียส แล้วแกว่งตัวเป็น 86-88.5 องศาเซลเซียส ในช่วง 10-15 วินาที จากนั้นเมื่อใส่ลงในเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ลวกไว้แล้วอุณหภูมิก็ปรับตัวลงอีกครั้ง เป็น 69 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ ลดลงทีละน้อยจนถึง 51 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 10 ถึงกระนั้นในการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ทั้งเชื้อ *S. suis* และ *S.* Enteritidis ก็ตายหมด ซึ่งอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ที่ 70.5 และ 74.5 องศาเซลเซียส ในการทดลองที่ 2, 3 และ 4, 5 ตามลำดับ แสดงว่าเชื้อทั้งสองนี้ตายอย่างรวดเร็วที่ความร้อนในช่วงดังกล่าว ในวินาทีที่ 20 อุณหภูมิของการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ลดลงช้ากว่า การทดลองที่ 1 เล็กน้อยเพราะเป็นขวดแก้ว เมื่อเทียบกับชามก๋วยเตี๋ยวปากกว้าง แสดงค่าเป็นลบในตารางที่ 1 (ข้อ 5 และ 9) จึงทำให้ในนาทีที่ 10 เมื่อสิ้นสุดการทดลองอุณหภูมิของทั้ง 5 การทดลองก็ใกล้เคียงกันซึ่งอยู่ในช่วง 51-53 องศาเซลเซียส

เชื้อ *S.* Enteritidis มักพบในไข่ไก่ซึ่งเป็นปัญหาการระบาดใหญ่ในอเมริกา (Patrick, *et al.* 2004) ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ห่อหุ้มเชื้อก็มีผลต่อการที่เชื้อถูกทำลายด้วยคลื่น Ultrasonic เช่นกัน Pagan *et al.* (2000) รายงานการทดลองใช้คลื่น Ultrasonic ทำลายเชื้อ *S.* Enteritidis ซึ่งอยู่ใน buffer pH 7 กับ ในไข่สภาพของเหลว (liquid whole egg) ซึ่งให้ผลแตกต่างกันเกือบเท่าตัว (0.068 และ 0.12 นาทีตามลำดับ) และการทดลองของอรุณ และคณะ (2537) ก็พบว่าเชื้อที่อยู่ในอาหารประเภทแกงจืดจะถูกทำลายด้วยเตาไมโครเวฟ ได้ดีกว่าอาหารประเภทแกงเผ็ดและผัดผักในเวลาที่เท่ากัน

เชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในเรื่องโรคที่มาจากอาหารมีหลายชนิด เนื่องจากชนิดของเชื้อและปริมาณการปนเปื้อนเชื้อก็เป็นปัจจัยในเรื่องเวลาที่สามารถฆ่าเชื้อได้เช่นกัน ตัวอย่างเช่น เชื้อ *Staphylococcus aureus* ถูกทำลายโดยเตาไมโครเวฟความถี่ 2,450 เมกะเฮิร์ท ที่ระดับไฟ 750 วัตต์ นาน 4 นาที 30 วินาที ในขณะที่เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ 90 วินาที (อรุณ และคณะ, 2537) ดังนั้นการที่จะทราบว่าอาหารชนิดใด จะปลอดภัยหรือไม่เมื่อปรุงโดยผ่านความร้อน หรือเตาไมโครเวฟ จึงจำเป็นต้องมีการทดลองเป็นรายชนิดของอาหารไป

การทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าก๋วยเตี๋ยวน้ำตกที่ปรุงด้วยน้ำเดือดจนเลือดเปลี่ยนเป็นสีคล้ำสามารถฆ่าเชื้อ *Streptococcus suis* และเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณนัยนา หัสสรังสี และ คุณวันวิสาข์ สัตย์สมนึกที่ได้ช่วยเหลือในห้องเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ธีรศักดิ์ ชักนำ. 2550. สถานการณ์โรคติดเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในเอเชียและประเทศไทยปี พ.ศ. 2550. การสัมมนาระบาดวิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 10 วันที่ 11-13 กุมภาพันธ์ 2551 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพฯ. หน้า 137 - 140.

พจนีย์ โกมลพิศ. 2536. การทำให้ปลอดเชื้อและการทำลายเชื้อ. ใน: แบคทีเรียพื้นฐาน. พิมพ์ครั้งที่ 1 บรรณาธิการ สุวณี สุภเวชย์ และมาลัย วรจิตร. โรงพิมพ์ศิริยอด (ประเทศไทย) จำกัด. หน้า 184 - 198.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ สุมาลี บุญมา วินิตา บริราช และเกรียงศักดิ์ สายธนู. 2536. อุบัติการณ์ของ *Salmonella Enteritidis* ในประเทศไทย ระหว่างปี 2536 - 2537. วารสารศรีนครินทรวิโรฒวิจัยและพัฒนา 6(3): 309 - 314.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ วินิตา บริราช อัญชลี กิจจะการะ สุมาลี บุญมา เกรียงศักดิ์ สายธนู. 2537. ประสิทธิภาพของไมโครเวฟในการทำลายเชื้อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดในอาหาร. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ครั้งที่ 6 วันที่ 10 - 11 สิงหาคม 2537.

Boonmar, S., Bangtrakulnonth, A., Pornruangwong, S. 1998. Predominant serovars of Salmonella in human and foods from Thailand. *J. Vet. Med. Sci.* 60: 877 - 880.

Clifton-Hadley, F. A. and Enright, M. R. 1984. Factors affecting the survival of *Streptococcus suis* type 2. Vet. Rec. 117: 585 - 587.

Clifton-Hadley, F. A., Enright, M. R. and Alexander, T. J. L. 1986. Survival of *Streptococcus suis* type 2 in pig carcasses. Vet. Rec. 118: 275.

Gomez, T. M., Motarjemi, Y., Miyagawa, S., Kaferstein, F. K., Stohr, K. 1997. Foodborne salmonellosis. World Health Stat. Q. 50: 81-89.

Pagan, P. M. R., Raso, J., Sala, F. J. and Condon, S. 2000. Inactivation of *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, and *Salmonella* Senftenberg by ultrasonic waves under pressure. *J. Food Microbiol.* 63: 451-456.

Patrick, M. E., Adcock, P. M., Gomez, T. M., Altekruse, S. F., Holland, B. H., Tauxe, R. V. et al. 2004. *Salmonella* Enteritidis infection, United States, 1985 - 1999. Emerg. Infect. Dis. 10: 1 - 7.

Slack, M. P. and Wheldon, D. B. 1978. A simple and safe volumetric alternative to the method of Miles, Misra and Irwin for counting viable bacteria. *J. Med. Microbiol.* 11(4): 541-545.

Staats, J.J., Feder, I., Okwumabua, O., Chengappa, M. M. 1997. *Streptococcus suis*: past and present. Vet. Res. Commun. 21(6): 381-407.

Yu H, Jing H, Chen Z, Zheng H, Zhu X, Wang H, et al. 2006. Human *Streptococcus suis* outbreak, Sichuan, China. Emerg. Infect. Dis. 12(6): 914-20.

Survival of *Streptococcus suis* and *Salmonella* Enteritidis in Blood Soup Noodle

Pornpen Pathanasophon and Sommai Yuwapanichsampan

Bacteriology Section, National Institute of Animal Health, Kasetklang, Chatuchak, Bangkok 10900

* Corresponding person E-mail: pornpenp@dld.go.th, Tel. 0-2579-8908-14 ext. 404, Fax. 0-2579-8919

Abstract

Blood soup noodle or so called Kuaytew-num-tok usually contains animal blood in the soup that provides a risk of zoonotic pathogens contamination, especially the highly pathogenic bacteria such as *Streptococcus suis* (*S. suis*) and *Salmonella* spp. Both of them are highly sensitive to heat during cooking. However, what we want to know is whether the temperature of the blood soup noodle is appropriate to kill the bacteria before the dish is served. We measured the temperature of a blood soup noodle bowl over the whole process of cooking including boiling soup (0 second), the blood mixed with boiling soup, blood stain color turned to dark color and continue in a noodle bowl with vegetable until 10 minutes (experiment 1). Four other experiments were designed to determine the survival of the bacteria in boiling water. In experiment 2 and 3, 10 ml. of sheep blood containing $2.1x10^7$ and $2.1x10^6$ CFU/ml of *S. suis*, each was mixed 90 ml of boiling water that made final concentration of $2.1x10^6$ and $2.1x10^5$ CFU/ml of *S. suis*. Temperature measurements were done every 5 seconds until 1 minute followed by every minute until 10 minutes while samples were taken for culture in parallel. In experiments 4 and 5, *Salmonella* Enteritidis survival was determined similar to that of experiment 2 and 3. The inoculated culture media was observed for bacterial growth after incubation at 37 °C for 24 and 48 hours together with the control cultures without heat treatment.

The results revealed that noodle soup boiled at 93 °C. After adding blood, the blood color changed within 5-15 second and the temperature dropped to 80, 86 and 88 °C at 5, 10 and 15 second and to 67 °C at 1 min, finally 51 °C at 10 minutes. Result of bacterial culture revealed that no bacterial growth of both *Streptococcus suis* and *Salmonella* Enteritidis at 5 second until the end of the 4 experiments. While the control cultures normally grew on the agar medium. In conclusion Kuaytew-num-tok when cooked in boiling water until blood color changed to dark brown color can kill both *Streptococcus suis* and *Salmonella* Enteritidis.

Keywords: Kuaytew-num-tok, temperature, *Streptococcus suis*, *Salmonella* Enteritidis