

บทที่ 4 ผลการวิจัย

จากการศึกษาการปนเปื้อน *S. aureus* ในเนื้อปูม้าต้มสุก โดยเก็บตัวอย่างเนื้อปูส่วนนี้วุ้นบรรจุในถุงพลาสติกแช่น้ำแข็งในตลาดชลบุรี หนองมน อ่างศิลาและศรีราชา รวมทั้งสิ้น 50 ตัวอย่าง เมื่อสังเกตลักษณะสัมผัส พบว่า ตัวอย่างส่วนใหญ่มีลักษณะสัมผัสใกล้เคียงกัน คือ กลิ่นหอมเนื้อปูต้มสุก เนื้อปูเหนียว ยึดหยุ่นได้ดี ยังคงรูปร่างของลักษณะนี้วุ้น มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่เนื้อปูมีกลิ่นไม่ดี (เริ่มเหม็น) เนื้อยุ่ย และ ไม่คงรูป ซึ่งส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจากตลาดชลบุรี (ภาคผนวก ข)

การนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหาร Plate Count Agar พบว่ามีแบคทีเรียระหว่าง 2.1×10^4 - 3.58×10^7 เซลล์ต่อกรัม โดยตัวอย่างจากแต่ละแหล่งมีแบคทีเรียเฉลี่ยจำนวนเฉลี่ย 6.80×10^6 , 1.82×10^7 , 7.30×10^6 และ 1.89×10^7 ตามลำดับ ซึ่งจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ยในตัวอย่างไม่จากชลบุรีและอ่างศิลามากกว่าตัวอย่างจากหนองมนและศรีราชาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรายละเอียดในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 จำนวนและการกระจายของแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างไม่จากต้มสุกจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่ง	จำนวน ตัวอย่าง	ค่าต่ำสุด (cfu/ g)	ค่าสูงสุด (cfu/ g)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (cfu/ g)
ชลบุรี	20	2.3×10^4	3.43×10^7	$6.80^a \pm 1.01 \times 10^6$
หนองมน	10	1.69×10^6	3.38×10^7	$1.82^b \pm 1.25 \times 10^7$
อ่างศิลา	10	2.1×10^4	3.55×10^7	$7.30^a \pm 1.17 \times 10^6$
ศรีราชา	10	2.18×10^5	3.58×10^7	$1.89^b \pm 1.53 \times 10^7$

อักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อักษรที่ไม่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อแบ่งการกระจายระดับขั้นของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด พบว่า ตัวอย่างร้อยละ 82 มีแบคทีเรียทั้งหมดในช่วง $>10^6$ - 10^7 เซลล์ต่อกรัม โดยส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างจากตลาดชลบุรี ดังรายละเอียดในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การกระจายระดับขึ้นของแบคทีเรียทั้งหมด (cfu/ g) ในตัวอย่างเนื้อปูต้มสุก

แหล่ง	ร้อยละตัวอย่างในแต่ละช่วง*		
	$>10^4$ - 10^5	$>10^5$ - 10^6	$>10^6$ - 10^7
ชลบุรี	2	4	34
หนองมน	0	0	20
อ่างศิลา	2	8	10
ศรีราชา	0	2	18
รวม	4	14	82

* ร้อยละที่เทียบจากตัวอย่างทั้งหมด (50 ตัวอย่าง)

ส่วนการตรวจนับจำนวน *S. aureus* จากตัวอย่างทั้งหมด โดยวิธีเกลี่ยตัวอย่างบนจานอาหาร Baird Parker Agar ได้ผลดังตาราง 9

ตารางที่ 9 จำนวนและการกระจายของ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อปูม้าต้มสุกจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่ง	จำนวน ตัวอย่าง	ค่าต่ำสุด (cfu/g)	ค่าสูงสุด (cfu/g)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (cfu/g)
ชลบุรี	20	2.0×10^3	9.0×10^4	$2.91^a \pm 2.41 \times 10^4$
หนองมน	10	5.2×10^4	9.8×10^4	$8.16^a \pm 2.57 \times 10^4$
อ่างศิลา	10	8.5×10^3	6.8×10^4	$3.82^a \pm 2.54 \times 10^4$
ศรีราชา	10	3.7×10^4	3.5×10^5	$2.46^b \pm 1.62 \times 10^5$

อักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อักษรที่ไม่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 9 พบว่ามี *S. aureus* ระหว่าง 2.0×10^3 - 3.5×10^5 เซลล์ต่อกรัม โดยตัวอย่างจากแต่ละแหล่งมีแบคทีเรียเฉลี่ยจำนวนเฉลี่ย 2.91×10^4 , 8.16×10^4 , 3.82×10^4 และ 2.46×10^5

ตามลำดับ ซึ่งจำนวน *S. aureus* เฉลี่ยจากตลาดศรีราชามากกว่าตลาดหนองมน ชลบุรี และอ่างศิลา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อแบ่งค่าการกระจายระดับชั้นของปริมาณ *S. aureus* พบ ตัวอย่างร้อยละ 52 มี *S. aureus* ปนเปื้อน < 10 เซลล์ต่อกรัม และร้อยละ 36 พบ *S. aureus* อยู่ใน ช่วง $10^4 - 10^5$ เซลล์ต่อกรัม จำนวน *S. aureus* สูงสุดที่พบได้ คือ $> 10^5$ เซลล์ต่อกรัม ซึ่งพบได้ใน ตัวอย่างจากศรีราชา ดังตารางที่ 10

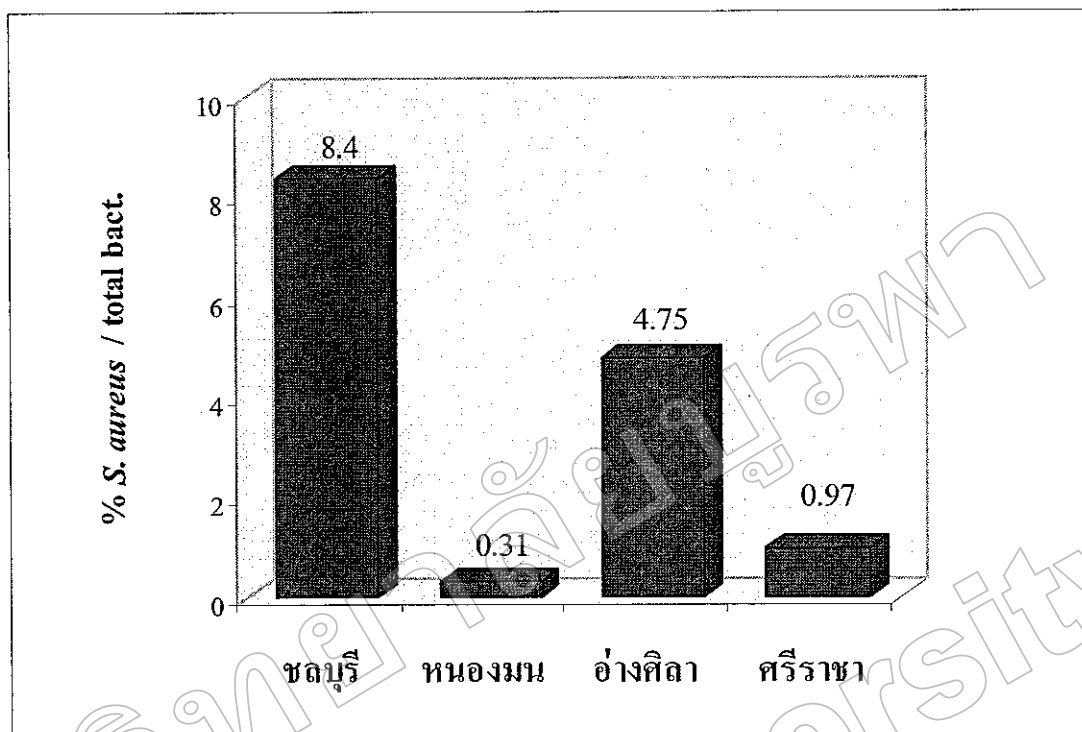
ตารางที่ 10 การกระจายระดับชั้นของ *S. aureus* (cfu/ g) ในตัวอย่างเนื้อปูต้มสุก

แหล่ง	ร้อยละตัวอย่างในแต่ละช่วง*			
	< 10	$10 - 10^3$	$> 10^3 - 10^5$	$> 10^5$
ชลบุรี	8	0	32	0
หนองมน	14	0	6	0
อ่างศิลา	16	0	4	0
ศรีราชา	14	0	2	4
รวม	52	0	44	4

* ร้อยละที่เทียบจากตัวอย่างทั้งหมด (50 ตัวอย่าง)

< 10 หมายถึง ช่วงที่ไม่พบ *S. aureus* ในตัวอย่าง

เมื่อนำค่าที่ได้ มาคิดสัดส่วนของ จำนวน *S. aureus* ต่อจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด พบว่า ในตัวอย่างเนื้อปูต้มสุกจากตลาดชลบุรี พบ *S. aureus* เฉลี่ยร้อยละ 8.40 ของแบคทีเรียทั้งหมด สำหรับในตลาดหนองมน อ่างศิลา และศรีราชา พบเฉลี่ยร้อยละ 0.31, 4.75 และ 0.97 ของ แบคทีเรียทั้งหมด ตามลำดับ ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 อัตราที่พบ *S. aureus* ต่อแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างแหล่งต่าง ๆ

จากภาพที่ 8 ตัวอย่างจากตลาดชลบุรีพบอัตราส่วนเฉลี่ยของ *S. aureus* สูงที่สุด แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ตัวอย่างประมาณร้อยละ 90 มีอัตราส่วนดังกล่าวไม่เกินร้อยละ 4 และพบเพียง 2 ตัวอย่างเท่านั้นที่มีอัตราส่วน ร้อยละ 95.65 และ 22.54 ตัวอย่างที่พบ *S. aureus* ในอัตราส่วนรองลงมา คือ อ่างศิลา พบอัตราส่วนอยู่ในช่วงร้อยละ 3.76-5.74 และพบอัตราส่วนจากตลาดศรีราชา ในช่วงร้อยละ 0.97-1.76 สำหรับตัวอย่างจากหนองมน มีอัตราส่วนเฉลี่ยน้อยที่สุด โดยพบว่าแต่ละตัวอย่างมีอัตราส่วนอยู่ในช่วงร้อยละ 0.21-0.41 ซึ่งรายละเอียดทั้งหมดแสดงในภาคผนวก ง

การนับจำนวน *S. aureus* จากตัวอย่างทั้งหมด (ภาคผนวก ง) นั้น พบว่า สามารถแยก *S. aureus* ได้จากบางตัวอย่างเท่านั้น ซึ่งพบได้ร้อยละ 48 ของตัวอย่างทั้งหมด ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 อัตราการพบ *S. aureus* และ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน

แหล่ง	จำนวนตัวอย่าง	ตัวอย่างที่พบ <i>S. aureus</i> (%)*	<i>S. aureus</i> ที่ผลิต เอนเทอโรทอกซิน (%)**
ชลบุรี	20	16 (32)	4 (16.67)
หนองมน	10	3 (6)	2 (8.33)
อ่างศิลา	10	2 (4)	0 (0)
ศรีราชา	10	3 (6)	2 (8.33)
รวม	50	24 (48)	8 (33.33)

* ร้อยละที่เทียบจากตัวอย่างทั้งหมด (50 ตัวอย่าง)

** ร้อยละที่เทียบจากตัวอย่างที่พบ *S. aureus*

จากตารางที่ 11 ในตัวอย่างทั้งหมด 50 ตัวอย่าง พบ *S. aureus* ใน 24 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละ 48 ของตัวอย่างทั้งหมด โดยพบตัวอย่างจากตลาดชลบุรีสูงที่สุด ร้อยละ 32 ของตัวอย่างทั้งหมด รองลงมา คือ ตลาดศรีราชา หนองมน และพบน้อยที่สุดในตลาดอ่างศิลา พบเพียงร้อยละ 4 ของตัวอย่างทั้งหมดเท่านั้น

เมื่อนำ *S. aureus* ที่แยกได้จาก 24 ตัวอย่างมาทดสอบการผลิตเอนเทอโรทอกซินในอาหารเหลว Trypticase Soy Broth โดยตรวจหาเอนเทอโรทอกซินด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป VIDAS SET2 พบ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมด 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33.33 ของตัวอย่างที่พบ *S. aureus* ทั้งหมด ซึ่งพบสูงที่สุดในตัวอย่างจากตลาดชลบุรี รองลงมา ตลาดหนองมน และศรีราชา แต่ไม่พบสายพันธุ์ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินในตัวอย่างจากตลาดอ่างศิลา

สำหรับการแยกชนิดของเอนเทอโรทอกซินที่ผลิตโดย *S. aureus* ที่พบในตัวอย่างเนื่อปูต้มสุกโดยวิธี Reverse Passive Latex Agglutination (RPLA) พบทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ SEA, SEB และ SEC ชนิดที่พบมากที่สุด คือ SEA พบร้อยละ 62.5 รองลงมาคือ SEB และ SEC ซึ่งพบร้อยละ 25 และ 12.5 ของตัวอย่างที่พบ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมด ตามลำดับดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 จำนวนของเอนเทอโรทอกซินแต่ละชนิด

แหล่ง	SEA (%) ^{***}	SEB (%) ^{***}	SEC (%) ^{***}
ชลบุรี	2 (25)	2 (25)	0 (0)
หนองมน	2 (25)	0 (0)	0 (0)
อ่างศิลา	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ศรีราชา	1 (12.5)	0 (0)	1 (12.5)
รวม	5 (62.5)	2 (25)	1 (12.5)

^{***} ร้อยละที่เทียบจากตัวอย่างที่พบ *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทั้งหมด

เมื่อทำการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ที่แยกได้ในเนื้อปูต้มสุก โดยการเติม *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินชนิด A B และ C แต่ละสายพันธุ์ลงในเนื้อปูที่นำเชื้อและระดับเซลล์เริ่มต้น 10^3 และ 10^5 เซลล์ต่อกรัม จากนั้นเก็บเนื้อปูที่อุณหภูมิ 7, 30 และ 40 องศาเซลเซียส ตรวจวัดการเจริญโดยวิธีนับจำนวนโคโลนีบน Trypticase Soy Agar และตรวจวัดเอนเทอโรทอกซินโดยวิธี SET-RPLA ได้ผลดังมีรายละเอียดดังนี้ ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 เซลล์ต่อกรัม เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง พบว่าจำนวน *S. aureus* ทุกสายพันธุ์มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย อาจกล่าวได้ว่าไม่มีการเจริญของ *S. aureus* ทุกสายพันธุ์ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส และไม่พบการผลิตเอนเทอโรทอกซินทุกสายพันธุ์ตลอดการเก็บรักษา ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส และปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 cfu/g

เวลา (ชม.)	SEA		SEB		SEC	
	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)
0	3.8×10^3	NS	2.9×10^3	NS	8.2×10^3	NS
12	2.9×10^3	NS	4.3×10^3	NS	9.6×10^3	NS
24	2.5×10^3	NS	3.3×10^3	NS	8.6×10^3	NS
36	1.2×10^3	<0.5	2.3×10^3	<0.5	4.8×10^3	<0.5
48	3.6×10^3	<0.5	1.7×10^3	<0.5	3.5×10^3	<0.5

NS หมายถึง ไม่ได้ศึกษา

<0.5 หมายถึง ตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธี SET-RPLA

ตารางที่ 14 การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส และปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^5 cfu/g

เวลา (ชม.)	SEA		SEB		SEC	
	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)
0	5.9×10^5	NS	3.6×10^5	NS	1.14×10^5	NS
12	5.1×10^5	NS	2.15×10^5	NS	3.7×10^4	NS
24	1.8×10^5	NS	9.5×10^4	NS	3.3×10^4	NS
36	1.59×10^5	<0.5	5.3×10^3	<0.5	1.97×10^4	<0.5
48	1.13×10^5	<0.5	2.48×10^4	<0.5	1.32×10^4	<0.5

NS หมายถึง ไม่ได้ศึกษา

<0.5 หมายถึง ตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธี SET-RPLA

ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อกรัม พบว่าจำนวน *S. aureus* สายพันธุ์ที่ผลิต SEA ไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 48 ชั่วโมง แต่จำนวน *S. aureus* สายพันธุ์ที่ผลิต SEB และ SEC ลดลงประมาณ 1 Log เซลล์ต่อกรัม เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง และไม่พบการผลิตเอนเทอโรทอกซินในทุกสายพันธุ์ตลอดระยะเวลาการศึกษา (ตารางที่ 14)

การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูสุกที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 15-16 โดยพบว่า เมื่อเติมเชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 เซลล์ต่อกรัม พบว่า *S. aureus* เจริญอย่างรวดเร็ว ภายใน 12 ชั่วโมงแรก ซึ่งเพิ่มขึ้นประมาณ 6 Log เซลล์ต่อกรัม ทั้งสายพันธุ์ที่ผลิต SEA, SEB และ SEC หลังจากผ่านชั่วโมงที่ 12 แล้ว พบว่า จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจนมีค่าใกล้เคียงกันทั้ง 3 ชนิด จนถึงชั่วโมงที่ 30 ที่พบเซลล์ประมาณ 10 Log เซลล์ต่อกรัม ส่วนการผลิตเอนเทอโรทอกซินของทั้ง 3 ชนิดนั้น พบการผลิต SEA ในชั่วโมงที่ 12 (มากกว่า 2 นาโนกรัมต่อกรัม) และเพิ่มขึ้นเป็น 64 นาโนกรัมต่อกรัม ในชั่วโมงที่ 18 และผลิตเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาที่ศึกษา (30 ชั่วโมง) ในขณะที่ SEB เริ่มผลิตชั่วโมงที่ 18 (2 นาโนกรัมต่อกรัม) และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 30 (มากกว่า 64 นาโนกรัมต่อกรัม) แต่ไม่พบการผลิต SEC ตลอดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ดังศึกษารายละเอียดในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 cfu/ g

เวลา (ชม.)	SEA		SEB		SEC	
	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)
0	8.8×10^3	NS	6.1×10^3	NS	6.2×10^3	NS
6	5.1×10^5	NS	5.5×10^5	NS	9.2×10^6	NS
12	3.2×10^9	>2	2.9×10^9	<0.5	1.43×10^9	<0.5
18	1.33×10^{10}	64	1.01×10^{10}	2	3.1×10^9	<0.5
24	8.0×10^{10}	64	1.2×10^{10}	8	5.1×10^{10}	<0.5
30	2.8×10^{11}	>64	7.5×10^{10}	>64	1.25×10^{10}	<0.5

NS หมายถึง ไม่ได้ศึกษา

<0.5 หมายถึง ตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธี SET-RPLA

>2 หมายถึง มากกว่า 2 ng/ g แต่ไม่เกิน 4 ng/ g

ตารางที่ 16 การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^5 cfu/ g

เวลา (ชม.)	SEA		SEB		SEC	
	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)
0	1.12×10^5	NS	2.01×10^5	NS	5.0×10^5	NS
6	5.4×10^6	NS	5.2×10^6	NS	1.38×10^7	NS
12	4.5×10^9	32	2.21×10^9	<0.5	3.6×10^9	<0.5
18	1.25×10^{10}	64	9.8×10^9	2	4.7×10^9	<0.5
24	5.0×10^{10}	>64	1.2×10^{10}	8	2.35×10^{10}	<0.5
30	1.86×10^{11}	>64	1.85×10^{11}	>64	4.9×10^9	<0.5

NS หมายถึง ไม่ได้ศึกษา

<0.5 หมายถึง ตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธี SET-RPLA

จากตารางที่ 16 สำหรับตัวอย่างที่มีเชื้อเริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อกรัม และเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของ *S. aureus* เพิ่มขึ้นถึงชั่วโมงที่ 12 ประมาณ 4 Log เซลล์ต่อกรัม คือ พบ *S. aureus* ประมาณ $2.21-4.5 \times 10^9$ เซลล์ต่อกรัม จากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึงชั่วโมงที่ 30 โดยพบเซลล์ประมาณ $10-11$ Log เซลล์ต่อกรัม และเมื่อวิเคราะห์การผลิตเอนเทอโรทอกซิน พบการผลิต SEA ในชั่วโมงที่ 12 สูงถึง 32 นาโนกรัมต่อกรัม และเพิ่มขึ้นจนถึง 64 นาโนกรัมต่อกรัม ในชั่วโมงที่ 18 แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้วิเคราะห์การผลิตเอนเทอโรทอกซิน ก่อนชั่วโมงที่ 12 การที่พบ SEA ปริมาณสูงในกรณีนี้อาจเป็นไปได้ที่มีการผลิตก่อนการวิเคราะห์ ส่วน SEB นั้นพบการผลิตเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 18 (2 นาโนกรัมต่อกรัม) และเพิ่มขึ้นสูงในชั่วโมงที่ 30 อย่างไรก็ดีตาม ไม่พบการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ SEC แม้เก็บรักษานาน 30 ชั่วโมง

ตารางที่ 17 การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 cfu/ g

เวลา (ชม.)	SEA		SEB		SEC	
	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)
0	7.5×10^3	NS	8.2×10^3	NS	6.7×10^3	NS
6	4.5×10^5	NS	3.5×10^5	NS	4.6×10^7	NS
12	3.8×10^9	<0.5	3.1×10^9	<0.5	8.2×10^8	<0.5
18	2.08×10^{10}	16	1.49×10^{10}	32	3.2×10^9	<0.5
24	1.9×10^{10}	32	1.38×10^{10}	>64	4.4×10^9	<0.5
30	5.5×10^{10}	>64	6.1×10^{10}	>64	1.28×10^{10}	<0.5

NS หมายถึง ไม่ได้ศึกษา

<0.5 หมายถึง ตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธี SET-RPLA

จากตารางที่ 17 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 เซลล์ต่อกรัม พบว่า *S. aureus* เจริญอย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรก ซึ่งเพิ่มขึ้นประมาณ 5-6 Log เซลล์ต่อกรัม ทั้ง SEA, SEB และ SEC คือ พบ 3.8×10^9 , 3.1×10^9 และ 8.2×10^8 เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ จากนั้นพบว่าจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย จนถึงชั่วโมงที่ 30 พบเซลล์ประมาณ 10^{10} cfu/ g และเมื่อทดสอบการผลิตเอนเทอโรทอกซิน พบว่า ทั้ง SEA และ SEB ถูกผลิตเมื่อเก็บรักษานาน 18 ชั่วโมง ปริมาณ 16 และ 32 นาโนกรัมต่อกรัม ตามลำดับ โดยพบว่า SEB ผลิตได้ดีกว่า เพราะเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ก็พบปริมาณการผลิตที่สูงคือ มากกว่า 64 นาโนกรัมต่อกรัม แต่ SEA พบการผลิตที่สูงเมื่อชั่วโมงที่ 30 สำหรับ SEC นั้นไม่พบการผลิตตลอดการเก็บที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานถึง 30 ชั่วโมง

สำหรับการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อมีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อกรัม นั้น พบว่า *S. aureus* เจริญอย่างรวดเร็วใน 12 ชั่วโมงแรก ของการเก็บรักษา เพิ่มขึ้นประมาณ 4-5 Log เซลล์ต่อกรัม และเมื่อเก็บรักษานาน 30 ชั่วโมง พบ *S. aureus* อยู่ในช่วง 10^{10} - 10^{11} เซลล์ต่อกรัม สำหรับการผลิตเอนเทอโรทอกซินเริ่มมีการผลิตของ SEA และ SEB เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 12 ประมาณ 16 นาโนกรัมต่อกรัม ทั้งสองชนิด และพบการผลิตที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษานาน 18 ชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ 30 ที่พบปริมาณเอนเทอโรทอกซิน

สูงต่อเนื่อง (มากกว่า 64 นาโนกรัมต่อกรัม) สำหรับการผลิต SEC นั้นไม่พบการผลิตเช่นเดียวกับที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 เซลล์ต่อกรัม ดังรายละเอียดในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 การเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ในเนื้อปูต้มสุกที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^5 cfu/ g

เวลา (ชม.)	SEA		SEB		SEC	
	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)	การเจริญ (cfu/ g)	Enterotoxin (ng/ g)
0	1.01×10^5	NS	1.05×10^5	NS	8.8×10^5	NS
6	3.9×10^6	NS	5.4×10^6	NS	7.3×10^7	NS
12	2.8×10^9	16	2.38×10^9	16	6.9×10^{10}	<0.5
18	1.62×10^{10}	>64	1.12×10^{10}	>64	6.7×10^9	<0.5
24	1.48×10^{11}	>64	9.0×10^9	>64	3.4×10^{10}	<0.5
30	1.21×10^{11}	>64	1.20×10^{10}	>64	1.18×10^{10}	<0.5

NS หมายถึง ไม่ได้ศึกษา

<0.5 หมายถึง ตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธี SET-RPLA

เมื่อวิเคราะห์อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดและระยะแล็ก (Lag Time) ของ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อปูสุกด้วยโปรแกรม Microfit Ver 1.0 (ภาคผนวก ก) เมื่อมีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^3 เซลล์ต่อกรัม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7, 30 และ 40 องศาเซลเซียส ได้ผลดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดและระยะแล็กของ *S. aureus* เซลล์เริ่มต้น 10^3 เซลล์ต่อกรัม ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ค่า	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (องศาเซลเซียส)								
	SEA			SEB			SEC		
	7	30	40	7	30	40	7	30	40
$\mu_{\max}$ (/h)	0.08	1.48 ^a	1.54 ^a	0	1.49 ^a	1.68 ^a	0.22	1.36 ^a	1.29 ^a
Lag Time (h)	15.02	3.26	3.36	25.95	2.99	3.78	36.75	2.32	2.74

อักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน หมายถึง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พบว่า *S. aureus* ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทุกชนิดมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยมีค่า 1.29-1.68 ต่อชั่วโมง และมีระยะแล็กอยู่ในช่วง 2.32-3.78 ชั่วโมง ส่วนที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียสนั้นพบระยะแล็กสูงกว่าคือช่วง 15.02-36.75 ชั่วโมง

สำหรับอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดและระยะแล็กของ *S. aureus* เมื่อมีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อกรัม ที่ทุกอุณหภูมิ พบว่าได้ผลคล้ายคลึงกับเมื่อมีจำนวนเซลล์ 10^3 เซลล์ต่อกรัม ดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดและระยะแล็กของ *S. aureus* เซลล์เริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อกรัม ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ค่า	อุณหภูมิที่เก็บรักษา (องศาเซลเซียส)								
	SEA			SEB			SEC		
	7	30	40	7	30	40	7	30	40
$\mu_{\max}$ (/h)	0	1.13 ^a	1.19 ^a	0.03	1.49 ^a	1.01 ^a	0.01	1.48 ^a	1.25 ^a
Lag Time (h)	13.31	2.58	2.95	184.70	2.75	2.74	28.24	3.78	2.50

อักษรที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน หมายถึง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

S. aureus ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซินทุกชนิดมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าในช่วง 1.01-1.49 ต่อชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียสนั้นพบระยะแล็กมากที่สุด เป็นเวลา 13.31-184.7 ชั่วโมง

นอกจากนี้ยังมีการสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัมผัสของเนื้อมูตัมสุกรร่วมด้วย พบว่า ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียสนั้น ลักษณะของเนื้อมูตัมไม่มีการเปลี่ยนแปลงแม้จะเก็บรักษานาน 48 ชั่วโมง สำหรับที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส นั้น ลักษณะของเนื้อมูตัมยังคงลักษณะเดิม จนถึงชั่วโมงที่ 12 แต่เริ่มมีกลิ่นเหม็น (ไม่รุนแรง) และเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 18 นั้น พบเนื้อมูตัมและเนื้อมูตัมไม่คงรูป สีเริ่มคล้ำ จนถึงชั่วโมงที่ 24 ที่พบลักษณะสัมผัสของเนื้อมูตัมที่เน่าเสีย เนื่อละ และเริ่มมีกลิ่นเหม็นรุนแรง