

3-1-2001

## A COMPARISON OF RESAZURIN TEST SCORES ON MILK, AFTER 1 AND 3 HOURS AND COMPARING IT WITH TOTAL BACTERIA, COLIFORM AND SOMATIC CELL COUNTS

Sophat Chawalkul

Witaya Suriyasathaporn

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### Recommended Citation

Chawalkul, Sophat and Suriyasathaporn, Witaya (2001) "A COMPARISON OF RESAZURIN TEST SCORES ON MILK, AFTER 1 AND 3 HOURS AND COMPARING IT WITH TOTAL BACTERIA, COLIFORM AND SOMATIC CELL COUNTS," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 31: Iss. 1, Article 3.

DOI: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.1841>

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol31/iss1/3>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

# การเปรียบเทียบผลของริซาซูรินที่ 1 และ 3 ชั่วโมง กับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์ม และเซลล์โซมาติก

โสภชัย ชวาลกุล\* วิทยา สุริยาสถาปน\*\*

## Abstract

Sophat Chawalkul\* Witaya Suriyasathaporn\*\*

### A COMPARISON OF RESAZURIN TEST SCORES ON MILK, AFTER 1 AND 3 HOURS AND COMPARING IT WITH TOTAL BACTERIA, COLIFORM AND SOMATIC CELL COUNTS

The present study was conducted to compare results of a resazurin test on milk, scoring it after 1 hour and 3 hours and relating it to total bacterial count, coliform count and somatic cell counts. Milk samples from the bulk tanks of 337 dairy farms in Amphur Muang and Kumpangsans, Nakhon Pathom Province, were collected during October to December, 1998. Results from multiple regression analyses showed that the resazurin test scored 1 hour later was associated only with the total bacterial count ( $p < 0.05$ ), but after 3 hours associations with total bacteria, coliform and somatic cell counts were seen ( $p < 0.05$ ). We conclude that a resazurin test scored after 3 hours gave a better result than the test scored after 1 hour when judging total bacteria, coliform and somatic cell counts

---

**Keywords :** milk hygiene, resazurin test, somatic cell count, total bacterial count

---

\* Nakhon-Pathom Livestock Office, Nakhon-Pathom Province 72000

\*\* Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon-Kaen University 40002

---

\* สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดนครปฐม อ.เมือง จ.นครปฐม 72000

\*\* ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

## บทคัดย่อ

โสภัชชัช ฆวาลกุล\* วิทยา สุริยาสถาพร\*\*

### การเปรียบเทียบผลของริซาซูรินที่ 1 และ 3 ชั่วโมงกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์ม และเซลล์โซมาติก

ตัวอย่างน้ำนมถูกเก็บในช่วงเดือนตุลาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2541 จากถังนมของฟาร์มที่ส่งนมให้ สหกรณ์ โคนมอำเภอเมืองและอำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จำนวน 337 ตัวอย่าง และส่งตรวจในห้องปฏิบัติการของกองสัตวแพทย์สาธารณสุข กรมปศุสัตว์ ทำการทดสอบริซาซูริน จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และเซลล์โซมาติก ผลการวิเคราะห์โดยสมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรงพบว่า ผลทดสอบริซาซูรินที่ 1 ชั่วโมงมีความสัมพันธ์กับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเพียงอย่างเดียว ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ ผลทดสอบริซาซูรินที่ 3 ชั่วโมงมีความสัมพันธ์กับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และค่าเซลล์โซมาติก ( $p < 0.05$ ) ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการทดสอบริซาซูรินที่ 3 ชั่วโมงสามารถเป็นตัวบ่งชี้ของสุขศาสตร์น้ำนมได้ดีกว่าการทดสอบที่ 1 ชั่วโมง

คำสำคัญ : สุขศาสตร์น้ำนม การทดสอบริซาซูริน จำนวนแบคทีเรีย ค่าเซลล์โซมาติก

#### บทนำ

ในอุตสาหกรรมโคนมนั้น คุณสมบัติของน้ำนมดิบที่ดีต้องสะอาดและปราศจากเชื้อโรค ตัวบ่งชี้ของสุขศาสตร์น้ำนมที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อน ได้แก่ จำนวนเซลล์โซมาติก แบคทีเรียทั้งหมด และโคไลฟอร์มแบคทีเรีย เป็นต้น ถูกใช้เป็นอย่างดีประกอบสำคัญในการกำหนดมาตรฐานของการรับซื้อและการกำหนดราคาน้ำนมดิบของศูนย์รับน้ำนมดิบต่าง ๆ ทั่วประเทศ (สุเมธ, 2540)

การทดสอบริซาซูริน (resazurin test) เป็นการทดสอบชนิด dye reduction test (Harding, 1995) โดยอาศัยขบวนการของ oxidation-reduction จาก metabolic action ของแบคทีเรียในน้ำนม ใช้ทดสอบปริมาณแบคทีเรียในน้ำนมทางอ้อม โดยไม่คำนึงถึงชนิดของเชื้อโรค การทดสอบริซาซูรินเป็นการตรวจ

การเปลี่ยนสีของน้ำนมโดยการสร้างเอ็นไซม์ reductase เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีม่วง สี lavender สีชมพู และสีขาวในที่สุด (Edmondson et al., 1985) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้น การรับซื้อน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมตามโครงการแปรรูปศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย มีการกำหนดมาตรฐานของการทดสอบริซาซูริน ที่ 1 ชม. โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อตรวจดูการปนเปื้อนเท่านั้น อย่างไรก็ตาม Fang et al. (1997) พบว่าผลการทดสอบริซาซูรินมีความสัมพันธ์กับการ chemiluminescence ของนิวโทรฟิลได้ ซึ่งเป็นตัววัดประสิทธิภาพการทำลายเชื้อโรคของนิวโทรฟิลในน้ำนม (Suriyasathaporn et al., 2000<sup>3</sup>) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า ผลทดสอบริซาซูรินอาจมีความสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์โซมาติกที่สูงขึ้น จำนวนเซลล์โซมาติกที่สูงขึ้นนี้เกิดจาก

การเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลเข้ามาในเด้านมที่เกิดการติดเชื้อ (Suriyasathaporn et al., 2000<sup>a</sup>) ในปัจจุบัน การสูงขึ้นของเซลล์โซมาติกถูกใช้เป็นตัวแสดงการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Suriyasathaporn et al., 2000<sup>b</sup>) วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อหาความสัมพันธ์ของผลทดสอบริซาซูรินต่อจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และเซลล์โซมาติก โดยเพิ่มการทดสอบที่ 3 ชั่วโมงเพื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบมาตรฐานที่ 1 ชั่วโมง

### วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างน้ำนมจากถังนมของฟาร์มที่ส่งนมให้สหกรณ์โคนมอำเภอมืองและอำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ในช่วงเดือนตุลาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2541 ถูกสุ่มเก็บตัวอย่างละ 300 มล. ในขวดปราศจากเชื้อ ห่อพลาสติก 2 ชั้น รัศยงตั้งขวดเก็บไว้ในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4°C. ก่อนนำส่งตรวจคุณภาพน้ำนมในห้องปฏิบัติการของกองสัตวแพทย์สาธารณสุข กรมปศุสัตว์

**การตรวจหาจำนวนเซลล์โซมาติก** วัดโดยใช้เครื่อง Fossomatic 5000 (Foss Electric A/S, Hillerd, Denmark)

**การตรวจจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด** ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Standard Plate Count Method) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard Plate Count Agar (Oxoid®) ตามวิธีการที่กำหนดไว้ใน Standard Methods for the Examination of Dairy Products (Houghtby, 1992) มีวิธีการตรวจดังนี้ ดูดตัวอย่างน้ำนมใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ 0.1% peptone water ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว vortex น้ำนมและ diluent ให้เข้ากัน อันใหม่ดูสารละลายน้ำนม 1 มล. ใส่ใน 0.1% peptone water หลอดถัดไปจนได้ dilution ความเข้มข้นที่  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  และ  $10^{-7}$  เปลี่ยน pipette ทุกครั้งที่ทำการเจือจาง ดูดสารละลายน้ำนม 1 มล. ใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อตามลำดับ

เตาอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานแก้วจานอาหาร ทิ้งให้อุ่นอาหารแข็งตัว กลับงานให้คว่ำลง ใส่ในตู้บ่ม 32°C. เป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้นนำมานับจำนวนจุลินทรีย์ โดยนับที่ตำแหน่งเป็น 1 โคลนีนี คูณด้วย dilution factor ในที่นี้คือ  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  และ  $10^{-7}$  คือ คูณด้วย 10,000, 100,000, 1,000,000, และ 10,000,000 ตามลำดับ รายงานเป็นจำนวนโคโลนีนี ต่อน้ำนม 1 มล. (cfu/ml)

**การตรวจจำนวนโคไลฟอร์มแบคทีเรีย** ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid®) ตามวิธีการที่กำหนดไว้ใน Standard Methods for the Examination of Dairy Products (Christen, 1992) ซึ่งมีวิธีการตรวจดังนี้ ดูดตัวอย่างน้ำนมใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุ 0.1% peptone water ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว vortex น้ำนมและ diluent ให้เข้ากัน ดูดสารละลายน้ำนม 1 มล. ใส่ใน 0.1% peptone water หลอดถัดไปจนได้ dilution ที่ต้องการ เลือกทำที่ความเข้มข้น  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  เปลี่ยน pipette ทุกครั้งที่ทำการเจือจาง ดูดสารละลายน้ำนม 1 มล. ใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อตามลำดับเตาอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานแก้วจานอาหาร ทิ้งให้อุ่นอาหารแข็งตัว กลับงานให้คว่ำลง ใส่ในตู้บ่ม 37°C. เป็นเวลา 24 ชม. หลังจากนั้นนำมานับจำนวนจุลินทรีย์ โดยนับที่ตำแหน่งเป็น 1 โคลนีนี คูณด้วย dilution factor ในที่นี้คือ  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  คือคูณด้วย 100 และ 1,000 ตามลำดับ รายงานเป็นจำนวนโคโลนีนี ต่อน้ำนม 1 มล.

**การตรวจวิธีทดสอบริซาซูริน** ตามวิธีการที่กำหนดไว้ใน Standard Methods for the Examination of Dairy Products (Edmondson, 1985) ทำได้โดยเตรียมน้ำยาริซาซูริน ซึ่งใช้เม็ดสีริซาซูริน (resazurin tablets, BDH) ละลายในน้ำกลั่นซึ่งนิ่งฆ่าเชื้อ 50 มล. นำสารละลายริซาซูริน 1 มล. ใส่หลอดทดลองที่มีน้ำนมอยู่ ปิดฝาให้แน่นแล้วเขย่า ใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37°C.

นำขึ้นจากอ่างน้ำที่เวลา 1 และ 3 ชม. บันทึกสีที่สารละลาย โดยแบ่งเป็นสีน้ำเงิน สีแดง สีชมพู และสีขาว โดยที่สีน้ำเงินหมายถึงมีจำนวน reduction น้อยที่สุด และสีขาวมี reduction สูงที่สุด ให้ผลการทดสอบริซาซูริน เป็น 0 1 2 และ 3 ตามลำดับ

**การวิเคราะห์ทางสถิติ** จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และเซลล์โซมาติก เป็นข้อมูลจำนวนนับ ซึ่งมีการกระจายตัวของข้อมูลแบบไม่ปกติ (non-normal distribution หรือ Poisson distribution) ข้อมูลเหล่านี้จึงถูกแปลงให้มีการกระจายแบบปกติโดยการใส่ค่าล็อกกาลิธึม ความสัมพันธ์ระหว่างเกรดของผลทดสอบริซาซูรินกับข้อมูลทั้งสามอย่างถูกวิเคราะห์โดยใช้สมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรง (multiple regression analysis) โดยค่าตัวแปรตาม คือ เกรดของผลทดสอบริซาซูริน และตัวแปรอิสระ คือ ค่าล็อกกาลิธึมของข้อมูลทั้งสาม เนื่องจากข้อมูลมาจาก 2 สหกรณ์ โดยข้อมูลจากแต่ละสหกรณ์อาจมีความสัมพันธ์ภายในซึ่งเป็นข้อจำกัดของการวิเคราะห์ใช้สมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรงแบบธรรมดา ดังนั้นจึงใช้การวิเคราะห์ของสมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรง แบบวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำซ้อน (repeated measurement analysis) (Littell et al., 1996) ค่า  $p < 0.05$  ถูกใช้ในการกำหนดว่าปัจจัยต่างๆ มีความสัมพันธ์กับผลการทดสอบริซาซูริน

### ผล

น้ำนมดิบ 337 แบ่งเป็น 198 ตัวอย่างเก็บจากเขตอำเภอเมือง และ 139 ตัวอย่างจากเขตอำเภอกำแพงแสน ค่าเฉลี่ยทางเรขาคณิต (95% ช่วงความเชื่อมั่น) ของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และเซลล์โซมาติก คือ 337, 350 (285, 224-399,002) cfu/ml, 348.4 (232.7-521.8) cfu/ml และ 141.1 (121.2-164.3) x 1000 cells/ml ตามลำดับ จำนวนตัวอย่างผลการทดสอบริซาซูรินที่ 1 ชม. ที่ถูก

จัดระดับเป็นเกรด 0, 1, 2 และ 3 เท่ากับ 191, 118, 19 และ 5 ตัวอย่างตามลำดับ และที่ 3 ชม. เท่ากับ 132, 86, 69, และ 46 ตัวอย่างตามลำดับ

แผนภูมิความสัมพันธ์ระหว่างผลทดสอบริซาซูรินที่ 1 และ 3 ชม. ถูกแสดงไว้ในรูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงเกรดของผลทดสอบริซาซูรินที่ 1 ชม. เมื่ออ่านผลที่ 3 ชม. มี 2 ลักษณะ คือ คงที่หรือมีเกรดเพิ่มขึ้นเท่านั้น โดยที่เปอร์เซ็นต์ผลทดสอบริซาซูรินที่ 1 ชม. คือ เกรด 0, 1, 2 และ 3 ซึ่งยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกรดเมื่อทดสอบที่ 3 ชม. คือ 24, 37, 16 และ 100% ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์ของผลทดสอบริซาซูรินที่ 1 ชม. คือ เกรด 0, 1, 2 และ 3 ที่มีการเปลี่ยนแปลงเกรดที่เพิ่มขึ้นคือ 76, 63, 84 และ 0% ตามลำดับ

เมื่อทดสอบความสัมพันธ์แยกกันโดย Pearson's correlation (ตารางที่ 1) พบว่าผลริซาซูรินที่ 1 ชม. มีความสัมพันธ์กับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ( $p = 0.45$ ) และโคไลฟอร์มแบคทีเรีย ( $p = 0.15$ ) ในขณะที่ผลที่ 3 ชม. มีความสัมพันธ์กับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ( $p = 0.55$ ) โคไลฟอร์มแบคทีเรีย ( $p = 0.43$ ) และเซลล์โซมาติก ( $p = 0.16$ ) จากค่า (หรือค่า Pearson's correlation coefficient ซึ่งเป็นค่าบวก แสดงถึงความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน คือ เมื่อเกรดริซาซูรินเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย หรือเซลล์โซมาติกมีจำนวนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่าแบคทีเรียทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับโคไลฟอร์มแบคทีเรีย และโคไลฟอร์มแบคทีเรียมีความสัมพันธ์กับเซลล์โซมาติก

ความสัมพันธ์ระหว่างผลการทดสอบริซาซูรินที่ 1 และ 3 ชม. กับปัจจัยทั้งหมดโดยใช้สมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรงแสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า ผลการทดสอบริซาซูรินที่ 1 ชม. มีความสัมพันธ์กับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเท่านั้น ในขณะที่ผลการทดสอบริซาซูรินที่ 3 ชม. มีความสัมพันธ์กับปัจจัยทั้ง 3 อย่าง มีนัยสำคัญ

**ตารางที่ 1** Pearson's correlation<sup>1</sup> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย (ข้อมูลจากถ้ำน้ำนมรวมในเขตจังหวัด นครปฐม ตั้งแต่เดือนตุลาคม ถึงธันวาคม พ.ศ. 2541)

ปัจจัย	ผลรีชาชุน <sup>2</sup>		แบคทีเรียทั้งหมด <sup>3</sup>	โคไลฟอร์มแบคทีเรีย <sup>3</sup>	เชลล์โซมาติก <sup>3</sup>
	ที่ 1 ชั่วโมง	ที่ 3 ชั่วโมง			
ผลรีชาชุน					
ที่ 1 ชั่วโมง	1.0				
ที่ 3 ชั่วโมง	0.55*	1.0			
แบคทีเรียทั้งหมด	0.45*	0.55*	1.0		
โคไลฟอร์มแบคทีเรีย	0.15*	0.43*	0.45*	1.0	
เชลล์โซมาติก	0.10	0.16*	0.04	0.15*	1.0

<sup>1</sup> Pearson's correlation เป็นการวิเคราะห์โดยที่ไม่มีการเพิ่มปัจจัยการซ้ำซ้อนของข้อมูล

<sup>2</sup> ผลรีชาชุนตามลักษณะสี คือ น้ำเงิน ม่วง ชมพู และใส ถูกเกรดเป็น 0 ถึง 3 ตามลำดับ

<sup>3</sup> ข้อมูลของ แบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และเชลล์โซมาติกถูกใส่ค่า logarithm ให้มีลักษณะการกระจายข้อมูลเป็น normal distribution

\* p < 0.05

**ตารางที่ 2** ผลการวิเคราะห์ข้อมูลแบบสมการถดถอยพหุคูณ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลทดสอบรีชาชุนต่อปัจจัยต่าง ๆ

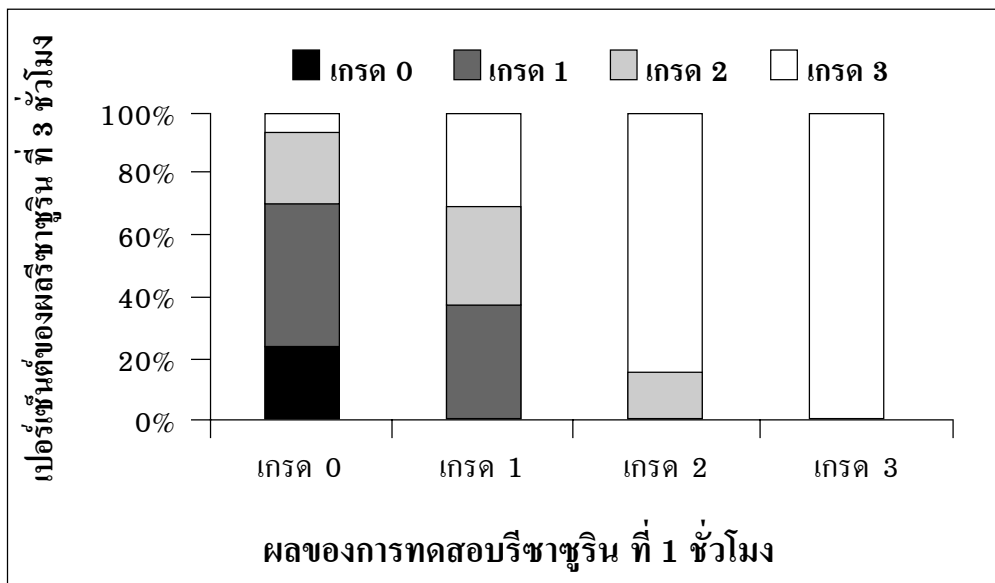
ปัจจัย	B	S.E.M.	Student's T-test	Pr <  T
<b>ผลการทดสอบรีชาชุนที่ 1 ชั่วโมง</b>				
แบคทีเรียทั้งหมด	0.20	0.02	8.46	<0.001
โคไลฟอร์มแบคทีเรีย	0.02	0.01	-1.50	0.134
เชลล์โซมาติก	0.05	0.02	1.87	0.062
<b>ผลการทดสอบรีชาชุนที่ 3 ชั่วโมง</b>				
แบคทีเรียทั้งหมด	0.29	0.03	9.07	<0.001
โคไลฟอร์มแบคทีเรีย	0.05	0.01	4.14	<0.001
เชลล์โซมาติก	0.07	0.03	2.34	0.020

### วิจารณ์

ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างผลรีชาชูลินต่อ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และจำนวนเซลล์โซมาติก ในครั้งนี้ได้รายงานความสัมพันธ์เป็น 2 ลักษณะคือ ความสัมพันธ์อย่างง่ายโดยใช้ Pearson's correlation และความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนโดยใช้สมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรงพร้อมกับการวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำซ้อน การทดสอบปัจจัยทั้งสามพร้อมกันในการวิเคราะห์ข้อมูลในแบบที่สองทำให้ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์โดยอ้อม หรือปัจจัยที่เป็น confounder ถูกกำจัดออกไป ดังผลการทดสอบรีชาชูลินที่ 1 ชม. ซึ่งความสัมพันธ์โดยตรงต่อจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (ตารางที่ 2) แต่มีความสัมพันธ์โดยอ้อมกับโคไลฟอร์มแบคทีเรีย (ตารางที่ 1) ซึ่งความสัมพันธ์โดย

อ้อมนั้นเกิดขึ้นมาจากความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียทั้งหมดและโคไลฟอร์มแบคทีเรีย (ตารางที่ 1)

ผลการทดสอบรีชาชูลินที่ 3 ชม. นั้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับทั้งจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และเซลล์โซมาติก ทั้งนี้อาจเนื่องจากเวลาบ่มนานขึ้นทำให้แบคทีเรียและเซลล์ในน้ำนมเกิดปฏิกิริยารeduction มากขึ้น โดยที่การเปลี่ยนสีของรีชาชูลินมีมากขึ้น (Edmondson et al., 1985) นอกจากนี้เขายังพบอีกว่าการบ่มนานขึ้นทำให้สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงเกรดของการทดสอบรีชาชูลินจากน้ำนมที่มีเซลล์โซมาติกสูงได้ เป็นไปได้ว่าการเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนสีอาจเกี่ยวข้องกับกำกับการเพิ่มขบวนการ chemiluminescence ของนิวโทรฟิลซึ่งมีจำนวนมากขึ้น (Fang et al., 1997)



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ของผลการทดสอบรีชาชูลินที่ 1 และ 3 ชม. แสดงโดยเปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างที่มีการเปลี่ยนแปลงเกรด จากผลที่อ่านที่ 1 ชม. เมื่ออ่านผลที่ 3 ชม. โดยที่ผลทดสอบรีชาชูลินถูกแบ่งเป็น เกรด 0 ถึง 3 ตามสีที่อ่านคือ สีน้ำเงิน สีแดง สีชมพู และสีใส ตามลำดับ ผลการทดสอบรีชาชูลินที่ 1 ชม. ที่ถูกเกรด 0 ถึง 3 มีจำนวน 132, 86, 69 และ 46 ตัวอย่างตามลำดับ

เนื่องจากการทดลองนี้เป็นการทดลองทางด้านระบาดวิทยา มีการเก็บตัวอย่างในห้องที่จริง ๆ การทดลองประเภทนี้มีข้อดี คือ การสะท้อนให้เห็นความเป็นจริงในห้องที่ (Rothman, 1986) ผลของการเก็บตัวอย่างในห้องที่ทำให้เกิดผลเสียคือไม่สามารถควบคุมปัจจัยข้างเคียงต่างๆได้ ดังเช่นการทดลองในห้องปฏิบัติการที่สามารถจำกัดและควบคุมปัจจัยข้างเคียงต่างๆ จากสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี (Rothman 1986) การควบคุมปัจจัยข้างเคียงต่างๆ ในงานทางด้านระบาดวิทยาจำเป็นต้องอาศัยวิธีทางสถิติเป็นเครื่องมือช่วยเหลือ การวิเคราะห์โดยวิธีสมการ ถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรงพร้อมกับการวิเคราะห์ข้อมูลซ้ำซ้อนถือว่าเป็นวิธีใหม่ที่ช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร ซึ่งมีการเก็บข้อมูลซ้ำซ้อนในแต่ละกลุ่มประชากรได้เหมาะสมที่สุด (Littell et al., 1996)

ทดลองนี้สรุปได้ว่า เวลาที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบบรีชาซูรินสำหรับการตรวจคุณภาพน้ำนมควรอยู่ที่เวลา 3 ชม. ซึ่งแสดงผลของสุขศาสตร์น้ำนมได้ดีกว่าที่ 1 ชม. เนื่องจากการมีความสัมพันธ์กับ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคไลฟอร์มแบคทีเรีย และจำนวนเซลล์โซมาติก

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ. อรรธยา เกียรติสุนทร กองสัตวแพทย์สาธารณสุข กรมปศุสัตว์ ที่อนุเคราะห์ในการตรวจน้ำนม น.สพ. สมยศ อินทรพิน นายสัตวแพทย์ 8 สำนักงานปศุสัตว์เขต 7 ที่ ช่วยเก็บตัวอย่างน้ำนม และ อ.สพ.ญ.ดร.วรรณนา สุริยาสถาพร ในคำแนะนำด้านบทความ

### เอกสารอ้างอิง

สุเมธ ประทุมสุวรรณ. 1997 (2540). คุณภาพน้ำนมดิบสู่โรงงาน. วารสารโคนม 16(1): 55-60.

Christen, G.L., Davidson, P.M., McAllister, J.S. and Roth, L.A. 1992. Coliform and other indicator bacteria. In: Standard Methods for Examination of Dairy Products. 16<sup>th</sup> ed., R.T. Marsall (ed.) Washington D.C.:American Public Health Association. 251-259.

Edmondson, J.E., Golden, R. and Wedle, D.B. 1985. Reduction Methods. In: Standard Methods for Examination of Dairy Products. 15<sup>th</sup> ed., G.H. Richardson (ed.) Maryland: American Public Health Association. 259-264.

Fang, W., Myllys, V. and Sandholm, M. 1997. Resazurin reduction as a function of respiratory burst in bovine neutrophils. Am. J. Vet. Res. 58: 601-607.

Harding, F. 1995. Hygienic quality. In: Milk Quality. F. Harding (ed.) Glasgow: Blackie Academic and Professional. 40-59.

Houghtby, G.A., Maturin, L.J. and Koenig, E.K. 1992. Microbiological count methods. In: Standard Methods for Examination of Dairy Products. 16<sup>th</sup>ed., R.T.Marsall (ed.) Washington D.C.: American Public Health Association. 213-225.

Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W. and Wolfinger, R.D. 1996. SAS system for mixed models. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Rothman, K.J. 1986. Types of epidemiologic study. In: Modern Epidemiology. K.J. Rothman (ed.) Boston:Little, Brown and Company. 51-76.

SAS Institute, Inc. 1997. SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC.



Suriyasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E.N. and Schukken, Y.H. 2000<sup>a</sup>. Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. *Vet. Res.* 31:397-412.

Suriyasathaporn, W., Schukken, Y.H., Nielen, M. and Brand, A. 2000<sup>b</sup>. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J. Dairy Sci.* 83:1248-1255.