สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การตรวจหา *Staphylococcus aureus* ในขนมไทย

T039888

นางสาวพรรณชรินทร์ ศรัทธา

นางสาวสุพรรณี เสนาอาด

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2543

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 39888
วัน, เดือน, ปี 11 ก.ค. 2544

.b.....
.i.....

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Detection of *Staphylococcus aureus* in Thai desserts

Miss Phencharin Satta

Miss Supannee Senaard

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงงานพิเศษ	การตรวจหา *Staphylococcus aureus* ในขนมไทย	
นักศึกษา	นางสาวพรรณชรินทร์	ศรัทธา
	นางสาวสุพรรณี	เสนาอาด
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ลินจง	สุขลำภู

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

_____

(ผศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง) หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

_____

(ผศ. วันชัย สุทธินุ่น) ประธานกรรมการ

_____

(อาจารย์ลินจง สุขลำภู) กรรมการ

_____

(อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การตรวจหา *Staphylococcus aureus* ในขนมไทย

นักศึกษา นางสาวพรรณชรินทร์ ศรัทธา
นางสาวสุพรรณี :สนาอาด

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ลินจง สุขลำภู
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา 2543

บทคัดย่อ

Staphylococcus aureus จัดเป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิดหนึ่ง การตรวจพบเชื้อ *S. aureus* หรือเอนเทอโรทอกซินในอาหารผ่านกรรมวิธีการผลิตเป็นดัชนีแสดงถึงสุขลักษณะการผลิตที่ไม่ดีของผู้ผลิตอาหาร วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในขนมไทย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างขนมจากห้างสรรพสินค้า และตามตลาดในเขตต่าง ๆ ของกรุงเทพมหานครและปริมลฑล ในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2543 ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2543 จากตัวอย่างขนมไทยจำนวน 100 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ขนมที่มีมะพร้าวคลุกหรือโรยหน้าและขนมที่ไม่มีมะพร้าวคลุก ผลการศึกษาพบว่า ตรวจพบ *S. aureus* ในตัวอย่างทั้งหมด โดยส่วนใหญ่ตรวจพบเชื้ออยู่ในช่วงระหว่าง $1.0X10^2$-$1.0X10^3$ โคโลนีต่อกรัม คิดเป็นร้อยละ 34 ของตัวอย่างทั้งหมด และพบว่า ปริมาณ *S. aureus* ในขนมไทยแต่ละชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และจากการศึกษา พบว่าขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุกหรือโรยหน้าจะตรวจพบเชื้อมากกว่า ขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุก โดยคิดเป็นร้อยละ 88.2 และ 63.64 ตามลำดับ ส่วนขนมที่สุ่มเก็บจากตลาดและห้างสรรพสินค้า ตรวจพบ *S. aureus* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ขนมที่เก็บจากตลาดมีโอกาสตรวจพบมากกว่าห้างสรรพสินค้า คิดเป็นร้อยละ 74 และ 70 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบสุขลักษณะของขนมที่เก็บจากสถานที่ต่างๆ กัน พบว่าปริมาณ *S. aureus* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเขตสวนหลวงตรวจพบมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 100 ของจำนวนตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Detection of *Staphylococcus aureus* in Thai desserts
Name	Miss Phencharin Satta
	Miss Supannee Senaard
Special Project Advisor	Miss Linchong Suklumpoo
Department	Applied Biology
Academic Year	2000

Abstract

Coagulase positive *S. aureus* is food poinsoning bacteria. The presence of this bacterium or its enterotoxins in processed foods is generally an indication of poor sanitation. This study was to investigate the contamination of *S. aureus* in Thai desserts. One hundred samples were collected from the retail markets and department stores around Bangkok and perimeter during August to December 2000. The samples were classified into 2 types such as with coconut fresh (coated or dressing) and without coconut fresh. The result showed *S. aureus* was detected in 100 samples and the most common contamination was found between 1.0×10^2 – 1.0×10^3 CFU/g (34%) of total sample. Microbiological data were analysed comparing of 100 samples of Thai desserts and found that there were no significant difference for *S. aureus* ($P > 0.05$) . The Thai desserts which coated or dressing with coconut fresh showed that *S. aureus* were detected more than without coconut fresh, 88.2% and 63.64% respectively . Thai desserts which collected from the retail markets and department stores shouwed no significant difference ($P>0.05$). However, the percentage of positive samples from the retail markets (74%) was more than department stores (70%). When we comparing the sources that Thai desserts were collected, there were significant difference ($P<0.05$) and most contaminated products were collected from Suanloung (100%).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเรื่อง การตรวจหา *S. aureus* ในขนมไทย สำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือ จากบุคคลหลายฝ่ายดังนี้

อาจารย์ลินจง สุขลำภู อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ซึ่งได้ให้ความรู้ทางวิชาการ คำแนะนำในการทดลอง คำปรึกษา และตรวจทานแก้ไขรายงาน ผศ. วันชัย สุทธินุ่น เป็นประธานกรรมการ และอาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ เป็นกรรมการ ให้ความรู้และความคิดเห็นเพิ่มเติม ในการทำโครงงานพิเศษ ครั้งนี้ คุณประสิทธ์ แผ้วบาง และคุณวิทยา เขียวเขิน ให้ความสะดวกเกี่ยวกับอุปกรณ์ในการทดลอง รวมถึงผู้ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้ความสะดวกอื่นๆ ที่มิได้กล่าวนาม ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณอย่างสูง
พรรณชรินทร์ ศรัทธา
สุพรรณี เสนาอาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	
1. วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	1
2. ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	
1.จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร	3
2.Foodborne pathogen : *Staphylococcus aureus*	9
3. โรคที่เกิดจาก *S. aureus*	13
4. การตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร	15
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	
1.อุปกรณ์และสารเคมี	17
2.วิธีการทดลอง	18
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
1.การศึกษาอัตราการแพร่กระจายของ S. aureus ในขนมไทยชนิดต่างๆ	20
2.การศึกษาการปนเปื้อนของ S. aureus (ร้อยละ) ที่จำแนกตามประเภทของขนมไทย	24
3.การเปรียบเทียบสุขลักษณะของขนมไทยจากตลาดและห้างสรรพสินค้า	26
4.การศึกษาการปนเปื้อนของ S. aureus ที่จำแนกตามสถานที่เก็บตัวอย่าง	28
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
1. สรุปผลการทดลอง	30
2. ข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 รายงานจำนวนผู้ป่วยและตายด้วยโรคที่มีอาหารเป็นตัวนำ ในระยะ 5 ปี (พ.ศ. 2526-2530) 6

ตารางที่ 2 แสดงผู้ป่วยด้วยโรคต่างๆที่มีอาหารเป็นตัวนำในเขตพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทยประจำปี พ.ศ.2530 7

ตารางที่ 3 อัตราการแพร่กระจายของ *S. aureus* ในตัวอย่างขนมไทยชนิดต่างๆ (ร้อยละ) 21

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างขนมไทยที่ตรวจพบ *S. aureus* (ร้อยละ) ที่จำแนกตาม ประเภทขนมที่มีมะพร้าวคลุกและไม่มีมะพร้าวคลุก 25

ตารางที่ 5 จำนวนตัวอย่างขนมไทย (ร้อยละ) ที่พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่เก็บจากตลาดและห้างสรรพสินค้า 27

ตารางที่ 6 อัตราการแพร่กระจายของ *S. aureus* ในตัวอย่างขนมไทย ที่เก็บจากสถานที่ ต่างๆกัน (ร้อยละ) 28

ตารางที่ 7 ร้อยละของ *S. aureus* ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล 41

ตารางที่ 8 แสดงจำนวน *S. aureus* ที่พบในตัวอย่างส้มตำ 42

ตารางที่ 9 คุณสมบัติบางประการของเอนเทอโรทอกซิน ที่ผลิตโดย *S. aureus* 43

ตารางที่ 10 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนเทอโรทอกซินของ *S.aureus* 44

ตารางที่ 11 ปริมาณ Staphylococcal enterotoxin ที่ตรวจพบในอาหารบางชนิด ซึ่งตรวจโดยเทคนิค LISA และ RIA 44

ตารางที่ 12 กรดอะมิโน (g/100g protein) ที่เป็นส่วนประกอบของ Staphylococcal enterotoxin 45

ตารางที่ 13 แสดงการแพร่ระบาดของโรคกระเพาะลำไส้อักเสบ ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์กลุ่ม Staphylococcal ในประเทศสหรัฐอเมริกา ปี ค.ศ. 1973-1987 47

ตารางที่ 14 รายงานแหล่งอาหารที่ทำให้เกิดโรคกระเพาะลำไส้อักเสบซึ่งเกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococcal ในประเทศสหรัฐอเมริกา ปี ค.ศ. 1973-1987 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงตัวประกอบในการเกิดโรคที่มีอาหารเป็นตัวนำ	5
ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจาก scanning electron micrograph ของ *S. aureus*	10
ภาพที่ 3 (a),(b) อาการหลุดลอกของหนังกำพร้า (scalded skin syndrom) ในเด็ก	14
ภาพที่ 4 จำนวนตัวอย่างทั้งหมดของขนมไทยที่พบการปนเปื้อน *S. aureus* (ร้อยละ)	22
ภาพที่ 5 ร้อยละของตัวอย่างขนมที่พบการปนเปื้อน *S. aureus* ที่จำแนกตามประเภท	26
ภาพที่ 6 ฟอสเฟต บัฟเฟอร์	34
ภาพที่ 7 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	35
ภาพที่ 8 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*	36
ภาพที่ 9 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*	36
ภาพที่ 10 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*	37
ภาพที่ 11 แสดง ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*	37
ภาพที่ 12 แสดงการแข็งตัวของพลาสมา	38
ภาพที่ 13 แสดงการแข็งตัวของพลาสมา	38
ภาพที่ 14 ตัวอย่างขนมไทยจากห้างสรรพสินค้า	39
ภาพที่ 15 ตัวอย่างขนมไทยจากตลาด	39
ภาพที่ 16 ตัวอย่างขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุก	40
ภาพที่ 17 ตัวอย่างขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุก	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

การปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ เป็นการบ่งชี้ให้เห็นถึงความไม่เอาใจใส่ในเรื่องสุขลักษณะในการเตรียม อุณหภูมิที่ใช้ในการปรุง และการเก็บอาหารซึ่งจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญและมักใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการขาดความเอาใจใส่ในเรื่องสุขลักษณะของผู้ประกอบการ ได้แก่ *S. aureus* สามารถพบตามผิวหนังในปาก จมูก แผล ฝี หนอง และมือของผู้สัมผัสอาหาร เชื้อนี้ ผลิตเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทนความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food intoxication) ซึ่งอาการที่พบเสมอได้แก่ อาเจียน ท้องร่วง ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย เป็นต้น (Varnam และ Evans,1991)

สำหรับขนมไทยบางชนิด เช่น ขนมตาล ขนมต้ม ขนมกล้วย ในกระบวนการเตรียมส่วนใหญ่มักใช้มือสัมผัส นอกจากนั้นแล้วยังมีการแต่งกลิ่นรสด้วยมะพร้าวขูดและน้ำตาล และในระหว่างการซื้อขาย ผู้ขายมักใช้มือตนเองในการหยิบขนมในการให้บริการลูกค้า จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งเมื่อรับประทานเอาทอกซินที่เชื้อนี้ผลิตขึ้นจะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาสุขลักษณะของขนมไทยชนิดต่าง ๆ โดยตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในขนมไทยจากห้างสรรพสินค้าและตลาดในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 100 ตัวอย่าง เพื่อเปรียบเทียบสุขลักษณะของขนมไทยจากสถานที่ดังกล่าว และข้อมูลที่ได้อาจนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความปลอดภัยในการบริโภคขนมไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. วัตถุประสงค์

1) เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในขนมไทยชนิดต่างๆ ซึ่งจะบ่งชี้ถึงสุขลักษณะในการผลิตของผู้ประกอบการ

2) เปรียบเทียบสุขลักษณะของขนมไทยแต่ละประเภทที่ขายในห้างสรรพสินค้าและตลาดในเขตต่างๆ ของกรุงเทพฯ และปริมณฑล โดยศึกษาการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพและความปลอดภัยในการบริโภค

2. ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ขนมไทยจำนวน 100 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากตลาดและห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ขนมไทยเหล่านี้ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทที่ 1 ขนมที่ไม่มีการคลุกด้วยมะพร้าวขูด เช่น สังขยา หม้อแกง ทองหยิบ ทองหยอด เป็นต้น และประเภทที่ 2 เป็นขนมที่มีการคลุกด้วยมะพร้าวขูด เช่น ขนมตาล ขนมกล้วย ขนมต้ม เป็นต้น และ ดำเนินการตรวจหา *S. aureus* ตามวิธีของ AOAC (1990)

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) เพื่อให้ผู้บริโภคได้มีความระมัดระวังในการบริโภคขนมไทยให้มากขึ้น

2) ทำให้ทราบถึงคุณภาพของขนมไทยในสถานที่ต่างๆ ว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากน้อยแค่ไหน

3) เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาถึงสุขลักษณะของขนมไทยชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

1.จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร (Foodborne pathogen)

บทบาทของจุลินทรีย์ในการทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย ตลอดจนเป็นสาเหตุของอาการอาหารเป็นพิษเป็นที่ทราบกันอยู่โดยทั่วไป อันตรายจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษเป็นสิ่งที่ต้องให้ความสำคัญมาก เนื่องจากอันตรายประเภทอื่นๆในการผลิตอาหาร เช่น อันตรายจากสารเคมี (สารพิษตกค้าง,ยาฆ่าแมลง) อันตรายทางกายภาพ (สิ่งปลอมปนต่างๆ,เศษกรวด,ดิน,แก้ว) มีขอบเขตจำกัดในการก่อให้เกิดปัญหาต่อผู้บริโภคและบางครั้งผู้บริโภคสามารถตรวจสอบได้ด้วยตัวเอง แต่การบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนโดยเชื้อจุลินทรีย์อาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคอย่างแพร่หลายและพิษที่เกิดขึ้นอาจรุนแรงจนถึงเสียชีวิตได้

จุลินทรีย์ในอาหาร (Microorganisms in foods) สามารถแบ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ (อดิศร , 2538)

1.จุลินทรีย์ที่ต้องการให้มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ (desirable organisms) จุลินทรีย์ดังกล่าวมักเติมลงในผลิตภัณฑ์เพื่อให้เกิดกลิ่นรสที่ต้องการ เช่น การเติมยีสต์ เพื่อผลิตแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ในเครื่องดื่มหรือขนมปัง การใช้เชื้อราในการบ่มเนยแข็งหรือไส้กรอกบางชนิด การเติมเชื้อแบคทีเรียแลกติกในการหมักเนื้อสัตว์ต่างๆ และผลิตภัณฑ์นมหมัก เป็นต้น

2.จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะ (indicator organisms) จุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่จัดว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค แต่มักใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคลำไส้ในผลิตภัณฑ์ โดยที่จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีแหล่งที่มาจากลำไส้ของคนและสัตว์ซึ่งได้แก่ coliforms, faecal coliforms, Enterobacteria และ *E. coli*

3.จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic organisms) เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคกับผู้บริโภค ซึ่งเมื่อผู้บริโภคได้รับประทานอาหารที่มีเชื้อเหล่านี้ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากพอที่จะก่อให้เกิดโรคแล้วผู้บริโภคจะเกิดอาการผิดปกติในร่างกาย เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ฯลฯ เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มนี้มีทั้ง แบคทีเรีย ยีสต์ รา ไวรัส พาราสิต เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี ค.ศ. 1986 The International Commission on Microbiological Specifications of Foods (ICMSF) ได้แบ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารตามความรุนแรงออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆดังนี้ (สิริพร , 2541)

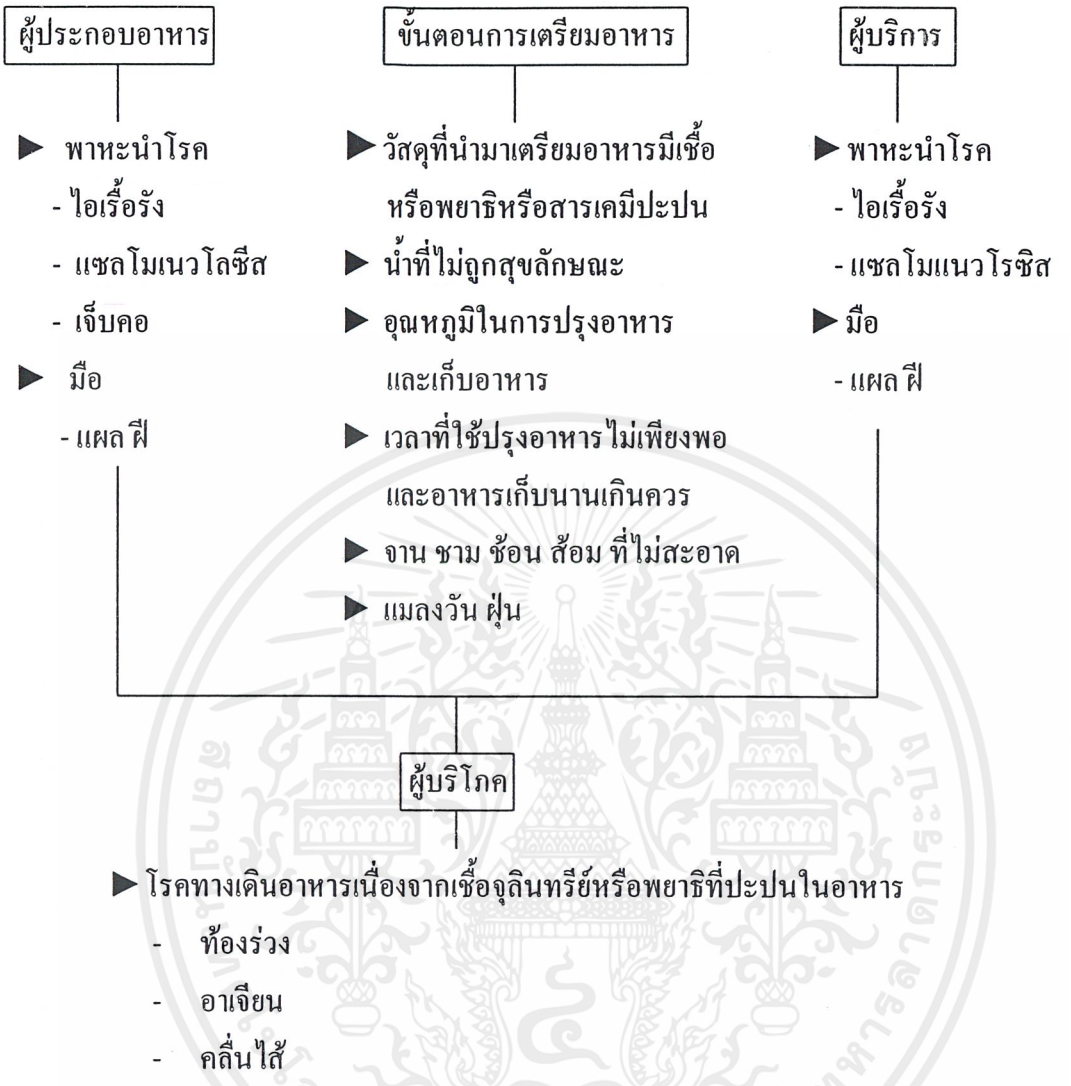
1.อันตรายขั้นรุนแรง มีผลกระทบโดยตรงกับสุขภาพ เช่น *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* 0157:H7, *Clostridium botolinum, Salmonella typhi* และ *S. paratyphi* AและB

2.อันตรายปานกลางแต่อาจแพร่กระจายได้ เช่น *Salmonella spp.,* pathogenic *Escherichia coli* (เช่น enterotoxigenic) , *Streptococcus pyogenes* และ *Shigella spp.*

3.อันตรายปานกลาง สามารถควบคุมได้ เช่น *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Vibrio parahaemolyticus, Campylobacter jejuni , Yersinia enterocolitica*

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่มีเวลาในการสนใจคุณภาพของอาหารที่นำมารับประทานน้อยลง ส่วนใหญ่นิยมบริโภคอาหารสำเร็จรูปตามท้องตลาดหรือร้านอาหารทั่วไป ดังจะเห็นได้จากธุรกิจร้านอาหารในกรุงเทพฯ หนาแน่นในทุกย่านชุมชน ไม่ว่าในรูปแบบของรถเข็น หรือหาบเร่ ร้านค้า จนถึงภัตตาคาร การเจริญของอุตสาหกรรมอาหารแบบไทยๆ เป็นไปอย่างรวดเร็วจนกำลังเจ้าหน้าที่รัฐบาลไม่เพียงพอที่จะดูแลสุขลักษณะในการเตรียมอาหารให้แก่ผู้ประกอบอาหารและ ผู้บริการ โอกาสที่เกิดการปนเปื้อนอาจเกิดจากผู้ประกอบอาหารและผู้นำส่งอาหารเป็นพาหะ เช่น โรคไอเรื้อรัง โรคเจ็บคอ หรือโรคแซลโมเนลโลซิส ในขณะเตรียมอาหารไอหรือจามลงจาน หรือมือที่จับภาชนะ โดยที่มือล้างไม่สะอาด การเตรียมอาหารจากวัสดุที่มีเชื้อโรคหรือพยาธิปะปน เช่น นำเนื้อหมูที่มีเม็ดสาคูมาเตรียมอาหาร ถ้าขาดการทำให้สุก ผู้บริโภคก็จะได้รับเชื้อก่อให้เกิดโรคได้โดยตรง ขั้นตอนต่างๆในกระบวนการทำอาหาร เช่น การเก็บอาหารหลังปรุงในอุณหภูมิไม่เหมาะสม เก็บอาหารนานจนอาหารบูด ภาชนะที่ใส่ไม่สะอาด ตลอดจนแมลงวันที่บินมาเกาะอาหารเป็นพาหะนำเชื้ออหิวาตกโรค ความเสี่ยงและความสัมพันธ์ของตัวประกอบต่างๆ สามารถสรุปได้ดังภาพที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงตัวประกอบในการเกิดโรคที่มีอาหารเป็นตัวนำ
ที่มา : สิริพรและคณะ (2534)

จากสถิติที่รวบรวมในหนังสือ สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค โดยกองระบาดวิทยา สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2530 จากการจัดลำดับของโรคที่มีจำนวนผู้ป่วยมากที่สุดต่อปีเป็นระยะ 5 ปี (พ.ศ. 2526-2530) ดังตารางที่ 1 และตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 รายงานจำนวนผู้ป่วยและตายด้วยโรคที่มีอาหารเป็นตัวนำในระยะ 5 ปี (พ.ศ.2526-2530)

อันดับ	โรค	2526		2528		2529		2530	
		ป	ต	ป	ต	ป	ต	ป	ต
1	โรคท้องร่วง (Acute diarrhea)	421,726	275	414,340	424	443,516	456	670,238	658
2	อหิวาตกโรค (Cholera)	1,492	41	645	19	899	14	5,311	35
3	โรคอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning)	34,988	13	36,961	30	39,782	40	52,060	34
4	โรคบิด (Dysentery)	64,860	20	57,076	39	65,198	61	132,279	113
5	ไข้เอนเทอริด (Enteric fever)	14,901	22	16,650	25	18,843	26	26,856	22

หมายเหตุ ป : ป่วย , ต : ตาย

ที่มา : สิริพรและคณะ (2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงผู้ป่วยด้วยโรคต่างๆที่มีอาหารเป็นตัวนำในเขตพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย ประจำปี พ.ศ. 2530

ลำดับ	โรค	จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด	เขตพื้นที่			
			ภาคกลาง	ภาคเหนือ	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคใต้
1	โรคท้องร่วง (Acute diarrhea)	670,238	234,997	149,479	192,608	93,154
2	อหิวาตกโรค (Cholera)	5,311	2,901	253	1,640	517
3	โรคอาหารเป็นพิษ (Food poisonig)	52,060	16,730	9.961	22,430	2,939
4	โรคบิด (Dysentery)	132,279	26,304	29,567	68,221	8,887
5	ไข้เอนเทอริค (Enteric fever)	26,856	5,093	7,105	6,558	8,100
6	ตับอักเสบชนิด เอ (Hepatitis A)	458	149	50	204	55
7	ทริคิแนลโลซีส (Trichinellosis)	356	0	356	0	0
8	พิษจากเห็ด (Mushroom poisoning)	314	*	*	*	*
9	พิษจากมันสำปะหลัง (Cassava poisoning)	11	*	*	*	*
10	พิษจากสารอื่นๆในอาหาร (Poisoning by other Noxious food stuffs)	8	*	*	*	*

หมายเหตุ : * หมายถึง ไม่มีรายงาน

ที่มา : สิริพรและคณะ (2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 1 และตารางที่ 2 พบว่า โรคอุจจาระร่วง เป็นโรคที่ประชากรไทยเป็นมากที่สุด เป็นอันดับที่ 1 และตรวจพบเชื้อ *Rota virus, Salmonalla, Shigella,* enteropathogenic *E. coli* และ *Vibrio* ส่วนโรคอื่นๆที่มีอาหารเป็นตัวนำโรคได้แก่ อหิวาตกโรค อาหารเป็นพิษ โรคบิด และโรคไข้เอนเทอริค จำนวนผู้ป่วยในแต่ละปีจะพบมากและติดอันดับต้นเสมอ ส่วนใหญ่อาหารเป็นพิษจะตรวจพบในกลุ่มคนที่มีการมาชุมนุมรับประทานอาหารกัน และเกิดจากการเตรียมอาหารครั้งละมากๆ สาเหตุที่เกิดได้แก่ การรับประทานเห็ดที่มีพิษ อาหารที่มีสารพิษที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Salmonalla* และ *Vibrio*

เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ สามารถจำแนกตามลักษณะสาเหตุการเกิดโรคเป็น 5 ประเภท กล่าวคือ

1. Infection หมายถึง สภาวะของโรคที่เกิดเนื่องจากมีตัวจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารหลังจากรับประทานเชื้อสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน และก่อให้เกิดพยาธิสภาพด้วยตัวมันเองหรือผลผลิตที่มันสร้าง ได้แก่ พวกแบคทีเรีย เช่น *Salmonella* สาเหตุของโรค Enteric fever หรือ *Shigella* สาเหตุโรคบิด, พวกไวรัส เช่น Hepatitis A virus สาเหตุของโรค Hepatitis A, พวก โปรโตซัว เช่น *Entamaeba* สาเหตุของโรคบิดมี, พวกปรสิต เช่น *Trichinella spiralis* สาเหตุของโรค Trichinellosis

2. Intoxication หมายถึง สภาวะของโรคที่เกิดเนื่องจากรับประทานอาหารที่มีสารพิษเจือปน และผลของอาการมิได้เกิดจากความผิดปกติทางกลไกภูมิคุ้มกันของร่างกาย หรือ พันธุกรรม สามารถจัดหมวดหมู่ได้เป็น 4 ประเภท

2.1 จัดตามลักษณะทางเคมี เช่น เป็นสารอนินทรีย์ ได้แก่ Hg , Pb , As , nitrate, เป็นสารอินทรีย์ ได้แก่ PCBs , saxitoxin, เป็นโปรตีน ได้แก่ Staphylococcal enterotoxin, เป็นorgano chlorine ได้แก่ DDT , PCBs, เป็นอัลคาลอยด์ ได้แก่ Ergotamine solamine

2.2 จัดตามแหล่งที่มา เช่น มาจากแบคทีเรีย ได้แก่ Staphylococcal enterotoxin, มาจากพืช ได้แก่ Lima beans, มาจากรา ได้แก่ Mycotoxins (aflatoxin), มาจากเห็ด ได้แก่ เห็ดพิษ มาจากแมลง ได้แก่ O-methy-p-benzo quinone, มาจากสัตว์ ได้แก่ Tetradotoxin

2.3 จัดตามการใช้ เช่น สารที่ทำวัสดุในโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ PCBs , Vinylchloride สารผสมในอาหาร ได้แก่ BHT, สารละลาย ได้แก่ Methylene chloride, ยาฆ่าแมลง ได้แก่ DDT ยาฆ่าพืช ได้แก่ Paraquat

2.4 จัดตามผลของปฏิกิริยา เช่น Nerve function inhibitor ได้แก่ Acetylcholinesterase inhibitor, Solanine หรือ Carcinogen ได้แก่ Aflatoxin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Intolerance หมายถึง สภาวะที่ไม่สามารถรับประทานสารเคมีบางชนิดได้ มีผลเฉพาะบางคนที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ได้แก่

3.1 Lactose intolerance สภาวะที่ไม่สามารถกินน้ำตาลแลกโทสได้ เพราะขาดน้ำย่อยแลกเทสทำให้ผู้ดื่มน้ำนมเกิดอาการ Osmotic diarrhea มีอาการท้องอืด มีการสะสมแก๊สในท้อง ผายลม พบมากในผู้ใหญ่ชาวเอเชียและแอฟริกาประมาณร้อยละ 60-90 และประมาณร้อยละ 6- 21 ในพวกผิวขาว

3.2 Sucrose intolerance สภาวะที่ไม่สามารถกินน้ำตาลซูโคสได้ เพราะขาดน้ำย่อย มอลเทส

4. Allergy สภาวะโรคที่เกิดจากรับประทานสารบางชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารโปรตีนที่สามารถมีผลต่อคนบางคน และเกิดจากผิดปกติของการสนองตอบของกลไกภูมิคุ้มกันมากเกินไป ได้แก่ B-lactoglobulin, lactalbumin และ Casein ที่มีในน้ำนมวัว, Ovomucoid และ Ovalbumin จากไข่, Parvalbumin จาก Cod fish

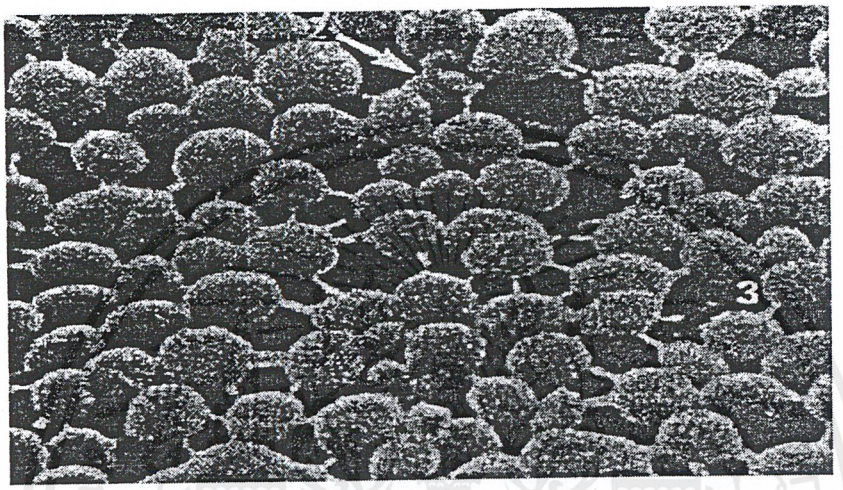
5. Idiopathic illness สภาวะโรคที่ไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอน และสาเหตุอาจเกิดจากอาหารที่รับประทานเป็นต้นเหตุ และไม่สามารถจัดกลุ่มสาเหตุลงใน 4 กลุ่มแรกได้ ได้แก่ Chinese restaurant syndrome มักมีอาการเกิดขึ้นหลังรับประทานอาหารจีน สันนิษฐานว่าเกิดจากอาการแพ้ MSG ในผงชูรส หรือ Celiac disease เป็นอาการที่เกิดขึ้นเพราะรับประทานกลูเทนที่มีในข้าวสาลี หรือ Hyper kinesis เป็นอาการที่พบในเด็ก สันนิษฐานว่าเกิดเพราะอาหารที่ใช้วัตถุเจือปนอาหาร เช่น สีต่างๆ ในขนม (สิริพรและคณะ, 2534)

2. Foodborne pathogen : *Staphylococcus aureus*

ลักษณะทั่วไปของ *Staphylococcus aureus* (Food and Drug Administration (FDA) , 1992)

S. aureus เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม แกรมบวก อยู่เป็นคู่ ต่อกันเป็นสายสั้น หรืออยู่รวมเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ดังจะเห็นได้จากภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายจาก Scanning electron micrograph ของ *S. aureus* แสดง

1. เซลล์ที่กำลังแบ่งตัว
2. เซลล์ที่กำลังสลายตัว
3. สะพานเชื่อมต่อระหว่างเซลล์

ที่มา : นันทนา (2537)

S. aureus บางสายพันธุ์จะสร้าง enterotoxins ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ อาการของโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus* มักจะเกิดขึ้นรวดเร็วและบางรายมีอาการรุนแรง ขึ้นอยู่กับความไวต่อสารพิษของแต่ละคน ปริมาณอาหารมีการปนเปื้อนที่รับประทาน ปริมาณสารพิษในอาหาร (ปริมาณสารพิษในอาหารอย่างน้อย 1.0 ไมโครกรัมจึงจะทำให้เกิดอาการของโรค และสารพิษจะมีจำนวนมากพอเมื่อมี *S. aureus* มากกว่า 100,000 โคโลนี ต่อ กรัม) และสุขภาพของผู้ป่วย อาการโดยส่วนใหญ่ คือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน เป็นตะคริวที่ท้อง หมดแรง บางครั้งบางอาการอาจไม่ แสดงออก หลายรายมีอาการปวดหัว ความดันสูงกว่าปกติ โดยปกติอาการจะปรากฏประมาณ 2 วันหลังได้รับเชื้อ แต่บางครั้งอาจถึง 3 วัน และบางครั้งก็ใช้เวลานาน การเสียชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus* มีน้อยมาก อาจทำให้เสียชีวิตได้ ถ้าเกิดกับคนชรา ทารก และคนที่อ่อนแอมากๆ

สถิติการป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus* ในปี 1989 จากการรายงานของ CDC Morbidity and Mortality Weekly วันที่ 23 มิถุนายน ปี 1989 พบว่า

13 กุมภาพันธ์ เมืองStarkville, Missisippi มีผู้ป่วย 22 ราย เนื่องจากรับประทานโอมเลต (omelets) และแฮมเบอร์เกอร์ ที่โรงอาหารของมหาวิทยาลัย ตรวจพบ Staphylococcal enterotoxin type A จากเห็ดที่ใส่ในโอมเลต

28 กุมภาพันธ์ ที่เมือง Queens, New York มีผู้ป่วย 48 ราย ป่วยเนื่องจาก Staphylococcal enterotoxin type A มีอาการหลังจากรับประทานสลัดในโรงพยาบาลได้ 3 ชั่วโมง

17 เมษายน ที่เมือง McKeesport, Pennsylvania พบผู้ป่วย 12 ราย ป่วยเนื่องจากพิษของ *S. aureus* มี 2 ราย อาการเกิดขึ้นภายหลังรับประทานพิซซ่าจากร้านแห่งหนึ่งได้ 2 ชั่วโมง

อาหารที่มักพบเป็นตัวนำโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus* ได้แก่ เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ไข่ ผลิตภัณฑ์จากไข่ สลัดที่มีไข่ ปลาทูน่า ไก่ มักกะโรนี เบเกอรี่ที่มีไส้ครีม เช่น พาย ครีม เอแคล ช็อคโคแลต แซนวิช นมและผลิตภัณฑ์จากนม อาหารเหล่านี้จะผ่านการผสมด้วยมือในระหว่างการเตรียม

S. aureus อาศัยอยู่ในอากาศ ฝุ่น น้ำ นม อาหารและอุปกรณ์ทำอาหาร ตามส่วนต่างของคน สัตว์ ในคนและสัตว์ *S. aureus* จะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ คอ ผม ผิว ประมาณร้อยละ 50 หรือมากกว่านั้นตามสุขภาพของแต่ละบุคคล ปริมาณจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีอาการป่วยหรือในสิ่งแวดล้อมของโรงพยาบาล อาหารที่ทำด้วยมือมักจะมีการปนเปื้อนของ *S. aureus* คนจะได้รับสารพิษของ *S. aureus* จากอาหารที่เก็บด้วยอุณหภูมิไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงไม่พอ (60 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า) หรือเย็นไม่พอ (7.2 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า)

ในปี 2523 มีการรายงานจากกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ตรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *Staphylococcus aureus* จากอาหารปรุงสำเร็จทั้งหมด 286 ตัวอย่าง ปรากฏว่า ตรวจพบเชื้อนี้ในอาหารทั้งหมด 67 สเตรน คิดเป็นร้อยละ 23.4 เป็น สเตรนที่ให้สารพิษชนิด เอ มากที่สุด สารพิษนี้แพร่หลายมากในอาหารที่สงสัยว่าอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ และอาหารจำพวกขนมและของหวานที่ซื้อมาจากตลาด และแหล่งที่มาของอาหารมีส่วนสัมพันธ์กับปริมาณของเชื้อ *S. aureus* และชนิดสารพิษอย่างมาก กล่าวคือ อาหารที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ และวางขายตามท้องตลาด มีแนวโน้มในการตรวจพบเชื้อนี้ค่อนข้างสูง และเป็นสารพิษชนิด เอ ซึ่งเป็นชนิดที่ ทำให้เกิดโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเป็นพิษ สำหรับอาหารจากแหล่งผลิตนั้น อาหารประเภทแซนด์วิช เป็นอาหารที่เสี่ยงต่ออันตรายจากโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากเชื้อนี้มาก

เป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อ *S. aureus* มักแพร่กระจายในอาหารที่มีการสัมผัสด้วยมือผู้เตรียมจำหน่ายหรือบริการอาหาร และใช้อาหารนั้นบริโภคโดยไม่มีการทำให้สุกอีก

นอกจากนั้นได้มีการตรวจพบเชื้อ *S. aureus* มากในอาหารประเภทแซนด์วิช และอาหารขนมและของหวาน เช่น ขนมถั่วแปบ, ขนมเหนียว, ต้มขาว, ต้มแดง, ขี้หนู, เล็บมือนาง, มันสำปะหลัง, ข้าวโพดคลุก อาหารประเภทที่กล่าวมานี้ มีการสัมผัสด้วยมือก่อนใช้บริโภค ในอาหารประเภทขนมและของหวาน มักแต่งกลิ่น รส ด้วยมะพร้าวขูดและน้ำตาล ในระหว่างการซื้อขาย ผู้ขายมักใช้มือตนเองหยิบขนมในการบริการลูกค้า จึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ ยิ่งกว่านั้นการวางขายหาบเร่ตามท้องถนน หน้าโรงเรียนและหน้าตลาดสดโดยไม่มีสิ่งปกปิด ก็เป็นช่องทางให้เชื้อนี้แพร่กระจายได้อีกทางหนึ่ง เพื่อยืนยันในเรื่องนี้ กองวิเคราะห์อาหารจึงได้ซื้อตัวอย่างขนมและของหวานเพิ่มอีก 60 ตัวอย่าง ขนมเหล่านี้วางขายหาบเร่ตามหน้าตลาดสด โรงเรียนและริมถนน ได้ตรวจพบเชื้อ *S. aureus* ในขนมเหล่านี้สูงถึงร้อยละ 60 จึงสรุปได้ว่า อาหารประเภทขนมและของหวานที่วางขายตามตลาดและหน้าโรงเรียน มีแนวโน้มที่จะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษได้มาก เช่นเดียวกับอาหารประเภทแซนด์วิชซึ่งใช้มือสัมผัสมาก และมักประกอบขึ้นด้วยเครื่องปรุงที่ทิ้งไว้จนเย็นแล้ว จากการศึกษานี้พอสรุปได้ว่า อาหารที่มีการสัมผัสด้วยมือมาก และวางขายทั่วไปตามท้องตลาด หน้าโรงเรียน ริมถนน และเป็นอาหารที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง ยิ่งถ้ามีคุณค่าทางอาหารครบถ้วน คือ ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เกลือแร่และวิตามินครบถ้วนด้วยแล้ว เป็นอาหารที่มีโอกาสได้รับอันตรายจากโรคอาหารเป็นพิษมากที่สุด (สุมณฑาและคณะ , 2523)

ในปี 2539 งานจุลินทรีย์ ฝ่ายควบคุมคุณภาพสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และคณะ ร่วมกับกองสุขาภิบาลอาหาร กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ทำการสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคที่จำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ตของห้างสรรพสินค้าขนาดใหญ่บริเวณใกล้เคียงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2539 ถึง กันยายน 2540 โดยเลือกชนิดอาหาร 4 ชนิด คือ สลัดผักพร้อมน้ำแบบครีมข้น ยำปลาดุกฟู ยำรวมมิตร และข้าวผัดปู จำนวน 120 ตัวอย่าง แบ่งตามชนิดของอาหารชนิดละ 30 ตังอย่าง นำมาวิเคราะห์หากลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นตัวแสดงสุขลักษณะอาหาร คือ *E. coli* และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *S. aureus* , *Salmoella spp.* และ *Bacillus cereus* ตรวจเฉพาะตัวอย่างข้าวผัดปู สำหรับ *S. aureus* ตรวจพบในทุกตัวอย่างอาหาร แต่พบในปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้อย ชนิดอาหารที่พบการปนเปื้อนสูง คือ ยำรวมมิตรและข้าวผัดปู ตรวจพบ 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20 (มาลัยและคณะ , 2541)

3. โรคที่เกิดจาก *S. aureus* (นันทนา , 2537)

S. aureus มีความสำคัญทางการแพทย์มาก สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับทุกๆบริเวณของร่างกาย การติดเชื้อที่ผิวหนังสามารถทำให้ติดเชื้ออย่างอ่อนจนถึงขั้นรุนแรง รวมทั้งการเกิดหนองและการติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง เป็นต้น การติดเชื้อในกลุ่ม staphylococci จะเรียกว่า “ scalded skin syndrome” นอกจากนี้ *S. aureus* อาจพบจากการติดเชื้อไวรัส เช่นไวรัสไข้หวัดใหญ่ และสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในคนที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) จาก *S. aureus* มักพบอยู่เสมอ และอาจก่อให้เกิดอาการของโรคต่างๆมากมาย เช่น ลิ้นหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ และเป็นหนอง เป็นต้น *S. aureus* บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิด อาการอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างเอนเทอโรท็อกซิน นอกจาก *S. aureus* ที่ให้เอนไซม์ coagulase แล้ว ยังมี *S. intermedius* และ *S. hyicus* ที่สร้างเอนไซม์ coagulase ด้วยเหมือนกันแต่ยังไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคในคน โรคที่เกิดจาก *S. aureus* ได้แก่

1.Hemolysins (Staphylolysins) เป็นสารประกอบที่เชื้อปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ถูกทำลายด้วยความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน

-Alpha hemolysin เป็นโปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 3 x 10^4 มีคุณสมบัติทำลายเม็ดเลือดแดง กระต่ายและเกล็ดเลือด (platelets) เมื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวหนังกระต่าย ทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรงและทำให้เนื้อส่วนนั้นเน่า หากฉีดเข้ากระแสเลือดจะทำให้สัตว์ทดลองนั้นตาย

-Bata hemolysin สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงแกะแต่ไม่ทำลายเม็ดเลือดแดงของกระต่าย จะสังเกตคุณสมบัตินี้ได้จากการนำเชื้อไปเลี้ยงใน blood agar

-Gramma hemolysin มีฤทธิ์น้อยกว่าชนิดอื่น ไม่มีความสำคัญในการทำให้เกิดโรค

-Delta hemolysin เป็นพวก phospholipase มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว และต่อเนื้อเยื่ออื่นๆหลายชนิด

-Epsilon hemolysin พบใน *S. epidermis*

2. Leukocidin (Panton – Valentine leukocidin) ออกฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวของสัตว์หลายชนิด ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน ถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายกว่า exotoxin ส่วนบทบาทในการทำให้เกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.Penicillinase (Beta – lactamase) เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่มเพนนิซิลลินโดยที่เอนไซม์นี้จะไปทำลาย beta – lactam ring

นอกจากนี้เชื้อยังสามารถสร้างเอนไซม์พวกไลเปส โพรทีเอส ดีเอนเอส ทำให้การแพร่กระจายของโรคมากขึ้นได้อีกด้วย

4.การตรวจหาเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร (FDA , 1992)

การเจริญของ *S. aureus* ในอาหารอาจจะทำให้เกิดอาการเป็นพิษได้ เนื่องจาก *S. aureus* หลายสายพันธุ์สามารถสร้าง enterotoxin การตรวจหา *S. aureus* จึงมีความหมายเพื่อ

1. เป็นการยืนยันว่า อาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus*
2. ใช้ในการวิเคราะห์ว่า อาหาร และวัตถุดิบนี้มีศักยภาพที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอย่างไร
3. แสดงว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จากการสัมผัสของคนกับอาหารที่ได้ผ่านกระบวนการผลิตมาแล้ว หรือการที่อาหารได้สัมผัสกับพื้นที่ผิวที่ไม่สะอาด

ปกติแล้ว *S. aureus* จะถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน และ sanitizing agent ดังนั้นการมี *S. aureus* หรือพิษของมันในผลิตภัณฑ์อาหารหรืออุปกรณ์ซึ่งใช้ในการประกอบอาหารจะแสดงถึงความไม่ถูกสุขลักษณะในการประกอบอาหาร

วิธีการที่นำมาตรวจและประมาณจำนวน *S. aureus* ขึ้นอยู่กับอาหารที่นำมาตรวจ อาหารที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษเนื่องจาก enterotoxin ของ *S. aureus* ในตัวอย่างอาหารจะพบปริมาณของ *S. aureus* จำนวนมาก การตรวจไม่จำเป็นต้องใช้การตรวจที่มีความไว วิธีที่จะต้องมีความไวจะใช้กับตัวอย่างอาหารที่ต้องการตรวจเพื่อตรวจสอบสุขลักษณะของอาหาร หรือดูว่ามีการปนเปื้อนหลังกระบวนการผลิตหรือไม่ ตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณของ *S. aureus* น้อยและโดยปกติแล้ว *S. aureus* จะไม่ใช่จุลินทรีย์ที่เจริญอยู่เชื้อเดียวในอาหาร จะพบจุลินทรีย์อื่นด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย selective agent เพื่อให้ *S. aureus* สามารถเจริญได้และยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นจึงต้องนำมาใช้

S. aureus ทนความเค็มได้ดี สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือถึงร้อยละ 10 การเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการจึงนิยมเติมเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และ *S. aureus* สามารถสร้างเอนไซม์เล็คติเนส มาย่อยไข่แดงได้ จึงมีการเติมไข่แดงลงในอาหารที่ใช้เลี้ยง เพื่อความสะดวกในการแยกเชื้อนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบการสร้าง coagulase เป็นลักษณะสำคัญที่จะแยกเชื้อ *S. aureus* ออกจาก *Staphylococcus spp.* อื่นๆ เพราะ *S. aureus* ส่วนมากจะสร้างเอนไซม์ coagulase ที่ทำให้พลาสมาของคนหรือกระต่ายแข็งตัวได้

Coagulase มีคุณสมบัติคือ (นันทนา , 2537)

1. ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส ได้นาน 30 นาที และสามารถกรองได้
2. เป็นสารตั้งต้น ของทรอมบิน มีคุณสมบัติเป็น thermolabile คือ ถูกทำลายโดยความร้อน
3. พลาสมาจะไม่แข็งตัว ถ้าขาด activator และในการแข็งตัวไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของ Ca^{++}
4. coagulase มี 2 รูปแบบ คือ อยู่รวมกับผนังเซลล์ (bound coagulase) ทดสอบโดยใช้แผ่นแก้วจะเกิดการ clump กับ fibrin และอีกรูปแบบอยู่เป็นอิสระ (free coagulase) จะรวมกับ prothrombin ได้ thrombin ทำให้เกิดการ แข็งตัวดังสมการ

Coagulase + coagulase reacting factor (CRF) ⟶ Coagulase - thrombin (CT)

Coagulase – thrombin (CT) + fibrinogen ⟶ fibrin (clot)

ถึงแม้ว่าการผลิตเอนไซม์โคแอ็กกลูเลสจะเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษก็ตาม แต่ไม่ได้หมายความว่า *S. aureus* ที่ให้เอนไซม์โคแอ็กกลูเลสทุกสายพันธุ์จะให้สารพิษที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีบางสายพันธุ์ไม่ให้สารพิษ สำหรับสายพันธุ์ที่ให้สารพิษ เรียกว่า "enteroxigenic *Staphylococcus aureus*"

การศึกษาสารพิษเราอาจใช้วิธีทางเคมีโดยใช้เทคนิคของ Gel diffusion บนแผ่นสไลด์ โดยการทดสอบสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นกับสารพิษมาตรฐานที่ทราบชนิดแล้ว ทำให้สามารถแยกชนิดและปริมาณของสารพิษที่อาจเกิดขึ้นในอาหารออกมาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, A2003)
2. เครื่องแก้วต่างๆ
3. ตู้อบไอร้อน (Hot air oven) (SHEL.Lab ,1350FD)
4. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) (HIRAYAMA , HA-300MIV)
5. ตู้บ่ม (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Memmert, 600)
6. เครื่องตีป่น(Blender) ความเร็ว 16000-18000 รอบต่อนาที (Seward, BA7021)
7. Vortex (VORTEX-2 GENIE, G-560E)
8. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) (ISSCO, BVT123)
9. เครื่องปรับพีเอช (pH Meter) (Denver, 215)
10. อุปกรณ์อื่นๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Phosphate buffer (K_2HPO_4) (Difco)
2. Bacto Baird – Parker Agar (Difco)
3. Brain Heart Infusion (Difco)
4. Rabbit plasma (Difco)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

39888

2. วิธีการทดลอง

2.1 การสุ่มตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างขนมไทยจำนวน 100 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุกหรือมะพร้าวโรยหน้า ได้แก่ ขนมต้ม ขนมตาล เปียกปูน ขนมกล้วย ถั่วแปบ ข้าวต้มคลุก และขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุกและมะพร้าวโรยหน้า ได้แก่ ทองหยิบ ทองหยอด ฝอยทอง เม็ดขนุน ข้าวเหนียวสังขยา ขนมชั้น ลูกชุบ โดยเลือกซื้อจากห้างสรรพสินค้า (ในซุปเปอร์มาเก็ตและร้านต่างๆ ในห้างสรรพสินค้า) จำนวน 50 ตัวอย่าง และจากตลาดที่มีผู้ซื้อจำนวนมากในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑลจำนวน 50 ตัวอย่าง โดยผู้ขายจะเป็น ผู้หยิบใส่ถุง/กล่อง (ขนมแต่ละชนิดจะต้องแยกถุง/กล่อง) เช่นเดียวกับผู้ซื้อทั่วไป

2.2 การเตรียมตัวอย่างอาหาร

กรณีตัวอย่างขนมเป็นชิ้นเล็กๆ ใช้ช้อนสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้วตักหรือใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบใส่ถุงพลาสติกสะอาดชั่งให้ได้ 25.0 กรัม ด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ

กรณีตัวอย่างขนมมีขนาดใหญ่ ใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วจับชิ้นขนมไว้แล้วตัดด้วยกรรไกรที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยจะตัดขนมจากหลายๆบริเวณของชิ้นขนมตัวอย่าง และตัดจากอาหารหลายๆชิ้น ใส่ถุงพลาสติกสะอาดชั่งให้ได้ 25.0 กรัม ด้วยวิธีการปราศจากเชื้อ

2.3 การเจือจางตัวอย่างอาหาร

เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 225.0 มิลลิลิตร ลงในถุงใส่ตัวอย่างขนมในข้อ 2.2 ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ จากนั้นเขย่าแรงๆ ประมาณ 1 นาที เป็นสารละลายตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 : 10 (10^{-1}) ทำการเจือจางตัวอย่างลงเป็น 10^{-2} และ 10^{-3} ตามลำดับ

2.4 วิธีการตรวจนับเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ดูดสารละลายตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางในข้อ 2.3 มา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนผิวหน้าอาหาร BP-EY จากนั้นทำการเกลี่ยสารละลายจนแห้ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ทำความเจือจางละ 3 ซ้ำ) แล้วนำออกมาตรวจนับจำนวนโคโลนีของ *S. aureus* ซึ่งมีลักษณะกลม สีเทาดำ มันวาว ผิวโคโลนีเรียบ มีขอบสีขาวแคบรอบโคโลนี ถัดออกไปเป็นโซนสีครีม (creamy zone) ถ้าใช้เข็มเขี่ยจะมีลักษณะหนืด รายงานจำนวน *S. aureus* ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ในลักษณะของ coagulase positive โดยคำนวณหาจำนวน *S. aureus* ต่อกรัม จากนั้นนำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* ไปทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ต่อไป

2.5 ทดสอบยืนยันผลการทดลอง (coagulase test)

ใช้เข็มเขี่ย (needle) เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี BHI broth 0.3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำออกมาเติม Rabbit plasma with EDTA 0.3 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส แล้วนำออกมาดูการแข็งตัวของพลาสมา เนื่องจากเอนไซม์โคเอ็กกลูเลสที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้น ภายในเวลา 6 ชั่วโมง จึงจะถือว่า positive

2.6 การวิเคราะห์

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test และ t-test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาอัตราการแพร่กระจาย ของ *S. aureus* ในขนมไทยชนิดต่างๆ

การตรวจหา *S. aureus* ในขนมไทยชนิดต่างๆ ที่วางขายในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 100 ตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนสิงหาคม 2543 ถึง เดือนธันวาคม 2543 ผลการศึกษาอัตราการแพร่กระจายของ *S. aureus* ในตัวอย่างขนมไทยทั้ง 100 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 4

จากตัวอย่างขนมไทยทั้งหมด 100 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* ทุกตัวอย่างของขนมไทย

และส่วนใหญ่ตรวจพบการปนเปื้อนในช่วงระหว่าง $1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^3$ โคโลนีต่อกรัม มากที่สุดโดยคิดเป็นร้อยละ 34 ของตัวอย่างที่ตรวจ และพบว่าตัวอย่างขนมไทยส่วนน้อยพบการปนเปื้อน *S. aureus* มากกว่า 10^5 โคโลนีต่อกรัม โดยคิดเป็นร้อยละ 5 ของตัวอย่างที่ตรวจ

เมื่อพิจารณาขนมไทยแต่ละชนิด พบว่า เม็ดขนุน ทองหยิบ ทองหยอด ขนมตะโก้ และวุ้นกะทิ พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่มากกว่า 10^5 โคโลนีต่อกรัม คิดเป็นร้อยละ 10, 17, 11, 25 และ 33.3 ตามลำดับ ในขณะที่ขนมใส่ไส้ ขนมชั้น มันคลุก เม็ดขนุน ทองหยิบ ทองหยอด และหม้อแกง ส่วนใหญ่จะพบ *S. aureus* น้อยกว่า 10^2 โคโลนีต่อกรัม โดยคิดเป็นร้อยละ 100, 55, 50, 50, 50, 44 และ 33.3 ตามลำดับ ส่วนขนมกล้วย ฝอยทอง ข้าวเหนียวสังขยา ขนมตาล ถั่วแปบ และข้าวต้มคลุก พบ *S. aureus* ในช่วงระหว่าง $1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^3$ โคโลนีต่อกรัม โดยคิดเป็นร้อยละ 62.5, 50, 50, 40, 40 และ 40 ตามลำดับ

จากการตรวจพบ *S. aureus* ในช่วงระหว่าง $1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^3$ โคโลนีต่อกรัม มากที่สุดนั้น อาจเนื่องจาก ช่วงระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างอยู่ระหว่างเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม สภาพแวดล้อม อากาศ อุณหภูมิ และปัจจัยต่างๆ เหมาะสมกับการเจริญ ทำให้เชื้อ *S. aureus* มีการแบ่งเซลล์ และเจริญในช่วงดังกล่าวได้ดี ซึ่งเชื้อนี้เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. aureus* คือ 35 –40 องศาเซลเซียส และ 7.0-7.5 ตามลำดับ (นันทนา, 2437)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

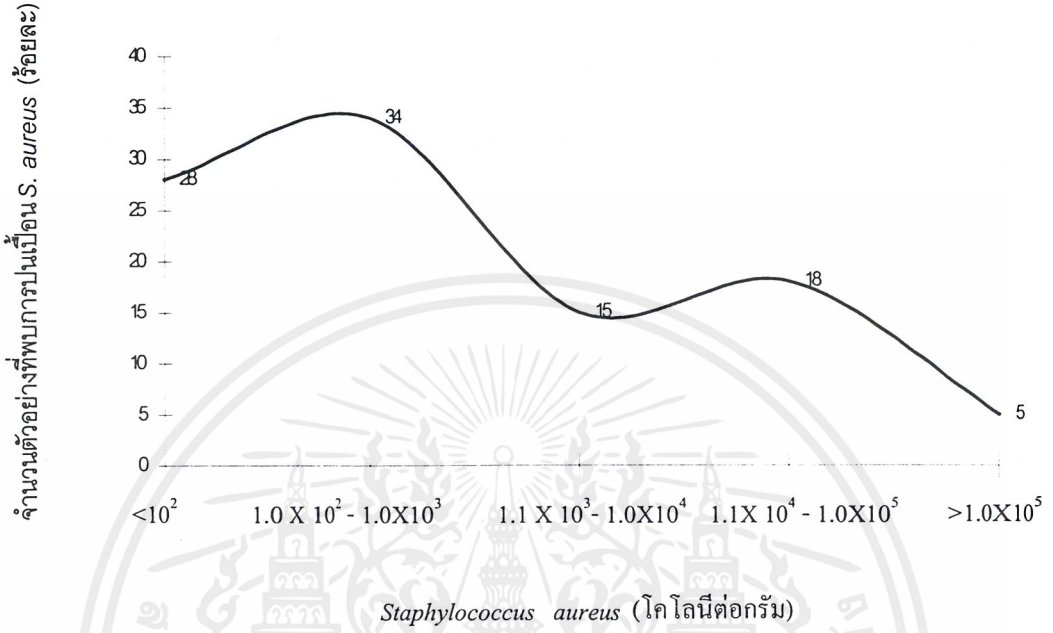
ตารางที่ 3 อัตราการแพร่กระจายของ *S .aureus* ในตัวอย่างขนมไทยชนิดต่างๆ (ร้อยละ)

ชนิดของขนมไทย	จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์	จำนวน *S .aureus* (โคโลนีต่อกรัม)					ค่าเฉลี่ย (log)
		<100	$1.0X10^2$-$1.0X10^3$	$1.1X10^3$-$1.0X10^4$	$1.1X10^4$-$1.0X10^5$	>$1.0X10^5$	
ขนมตาล	5	1 (20)	2 (40)	-	2 (40)	-	2.82[a]
ถั่วแปบ	5	-	2 (40)	1 (20)	2 (40)	-	3.46[a]
เปียกปูน	5	1 (20)	1 (20)	1 (20)	2 (40)	-	3.01[a]
ข้าวต้มคลุก	5	1 (20)	2 (40)	2 (40)	-	-	2.49[ab]
ขนมต้ม	4	-	1 (25)	1 (25)	2 (50)	-	3.44[a]
มันคลุก	2	1 (50)	-	1 (50)	-	-	1.72[ab]
ฟักทองคลุก	1	-	1 (100)		-	-	2.94[a]
ขนมกล้วย	8	-	5 (62.5)	3 (37.5)	-	-	3.12[a]
เม็ดขนุน	10	5 (50)	3 (30)	-	1 (10)	1 (10)	1.69[ab]
ลูกชุบ	5	1 (20)	-	2 (40)	2 (40)	-	3.14[a]
ฝอยทอง	10	2 (20)	5 (50)	1 (10)	2 (20)	-	2.59[ab]
ทองหยิบ	6	3 (50)	2 (33)	-	-	1 (17)	1.61[ab]
ทองหยอด	9	4 (44)	3 (33)	1 (11)	-	1 (11)	1.71[ab]
ตะโก้	4	-	1 (25)	1 (25)	1 (25)	1 (25)	4.14[a]
ใส่ไส้	2	2(100)	-	-	-	-	0.00[b]
ขนมชั้น	9	5 (55)	3 (33)	-	1 (11)	-	1.29[ab]
วุ้นกะทิ	3	1(33.3)	1(33.3)	-	-	1(33.3)	2.53[ab]
หม้อแกง	3	1 (33.3)	-	1 (33.3)	1 (33.3)	-	2.70[ab]
ข้าวเหนียวสังขยา	4	-	2 (50)	-	2 (50)	-	3.30[a]
รวม	100(100)	28(28)	34(34)	15(15)	18(18)	5(5)	

หมายเหตุ : - หมายถึงตรวจไม่พบ

[a, b] หมายถึงค่าเฉลี่ย (log) ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันของตัวอักษรจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 จำนวนตัวอย่างทั้งหมดของขนมไทยที่พบการปนเปื้อน *S. aureus* (ร้อยละ)

ส่วนตัวอย่างขนมไทยบางตัวอย่างที่ตรวจพบการปนเปื้อนของ *S. aureus* มากกว่า 10^5 โคโลนีต่อกรัม อาจเนื่องมาจากผู้ขายเก็บขนมไว้นาน ซึ่งช่วงระยะเวลาที่เก็บขนมอาจทำให้มีจำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่ง ขนมที่สามารถเก็บไว้ได้นานนั้น ส่วนใหญ่จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง เช่นเม็ดขนุน ทองหยิบ ทองหยอด เป็นต้น ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้แต่ *S. aureus* ซึ่งทนน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงถึงร้อยละ 50 ถึง 60 (Varnam และ Evans, 1991) จึงสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนจนมีปริมาณสูง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ One Way ANOVA พบว่าจำนวน *S. aureus* ในขนมไทยชนิดต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่ขนมดังกล่าวมีการตรวจพบ *S .aureus* เป็นจำนวนมากนั้น แสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีของกระบวนการผลิตของผู้ประกอบการ เพราะเชื้อ *S .aureus* เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้สุขลักษณะซึ่งเชื้อนี้อาจปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบหรือภายหลังกระบวนการผลิต และสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ เมื่ออุณหภูมิที่เก็บผลิตภัณฑ์ไม่เหมาะสม และเมื่อมีการปนเปื้อน *S. aureus* แล้วเชื้อจะผลิตเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเอนเทอโรทอกซินแล้วจะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค (อดิศร ,2538) เช่นทำให้เกิดอาการของโรคกระเพาะลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis syndrome) ซึ่งอาการที่พบเสมอได้แก่ คลื่นเหียน อาเจียน ท้องร่วง ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย เป็นต้น ซึ่งปริมาณเอนเทอโรทอกซินที่ทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการดังกล่าวนั้น ประมาณ 20 นาโนกรัม (Jay, 1996) ซึ่งปริมาณน้อยมากก็ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ความเสี่ยงในการได้รับเชื้อนี้จากการบริโภคขนมไทยก็มีมากเช่นกัน สุขลักษณะของผู้ประกอบการนั้นเป็นสาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนเชื้อนี้ ได้แก่ การปนเปื้อนมาจากมือ บาดแผลของผู้เตรียมอาหาร และอุปกรณ์ที่ใช้ประกอบการอาหาร เช่น เขียง เครื่องบด ภาชนะต่างๆ หรือจากกระบวนการปรุงอาหารที่สุกไม่เพียงพอ (มาลัยและคณะ, 2543) ตัวอย่างขนมไทยที่มีการปนเปื้อนของเชื้อนี้จากสาเหตุดังกล่าว เช่น ขนมต้ม ขนมถั่วแปบ ซึ่ง *S. aureus* อาจปนเปื้อนมาจากแป้งซึ่งผู้ประกอบการจะใช้มือในการนวดแป้ง และในขั้นตอนการให้ความร้อนกับขนมนั้นอาจไม่เพียงพอต่อการทำลายเอนเทอโรทอกซินของ *S. aureus* ได้ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนเทอโรทอกซินของเชื้อนี้อยู่ในช่วง 40 – 45 องศาเซลเซียส และเอนเทอโรทอกซินสามารถทนความร้อนได้ถึง 100 องศาเซลเซียส (Varnam และ Evans,1991)

เมื่อพิจารณาเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กำหนดให้อาหารปรุงสุกทั่วไป หรืออาหารพร้อมบริโภค ประเภทขนมมีปริมาณ *S. aureus* ไม่เกิน 100 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งจากผลการตรวจวิเคราะห์ พบว่า ตัวอย่างขนมไทยจำนวน 28 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* น้อยกว่า 10^2 โคโลนีต่อกรัม และ 72 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* ตั้งแต่ 100 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งมากกว่าเกณฑ์มาตรฐาน แต่มิได้หมายความว่า จะทำให้เกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งการที่จะเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้นั้น จะต้องได้รับปริมาณสารพิษมากพอ อย่างน้อย 1 นาโนกรัม ซึ่งมีปริมาณ *S. aureus* ประมาณ $1.0X10^5$–$1.0X10^6$ โคโลนีต่อ 100 กรัมของอาหาร (Doyle, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาการปนเปื้อนของ *S. aureus* (ร้อยละ) ที่จำแนกตามประเภทของขนมไทย

ขนมไทย 100 ตัวอย่างแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุก และขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุก ผลการศึกษาการปนเปื้อนของ *S. aureus* แสดงดังตารางที่ 4 และภาพที่ 5 โดยขนมไทยประเภทที่มีมะพร้าวคลุกจำนวน 34 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* จำนวน 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 88.2 ส่วนขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวโรยหน้าหรือคลุก ตรวจพบ *S. aureus* จำนวน 42 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด 66 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 63.64

ขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุกที่พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* มากที่สุดคือ ถั่วแปบ ขนมต้มและขนมกล้วย คิดเป็นร้อยละ 100 รองลงมาคือขนมตาล เปียกปูน ข้าวต้มคลุก และขนมมันคลุก โดยคิดเป็นร้อยละ 80, 80 และ 50 ตามลำดับ ส่วนขนมฟักทองคลุก พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ร้อยละ 100 ซึ่งจะไม่นำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นเนื่องจากตัวอย่างที่ตรวจมีเพียง 1 ตัวอย่างเท่านั้น ส่วนขนมไทยประเภทไม่มีมะพร้าวคลุก ขนมที่พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* มากที่สุดคือ ขนมตะโก้ และข้าวเหนียวสังขยา โดยคิดเป็นร้อยละ 100 รองลงมาคือ ลูกชุบ ฝอยทอง วุ้นกะทิ ทองหยอด เม็ดขนุน ทองหยิบ ขนมชั้น และขนมหม้อแกง โดยคิดเป็นร้อยละ 80, 80, 67, 55, 50, 50, 44 และ33 ตามลำดับ และขนมใส่ไส้ซึ่งไม่พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* คิดเป็นร้อยละ 0

จากผลการทดลองขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุก พบการปนเปื้อน *S. aureus* มากกว่าขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุกนั้น สาเหตุอาจเนื่องมาจาก มะพร้าว และน้ำตาลที่ใช้ปรุงแต่งขนม และผู้ขายมักใช้มือของตนเองในการหยิบจับมะพร้าว หรือชิ้นขนมในระหว่างการให้บริการลูกค้า ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะพบ *S. aureus* บริเวณ มือ ผิวหนัง บาดแผล (อดิศร,2538) เป็นสำคัญ

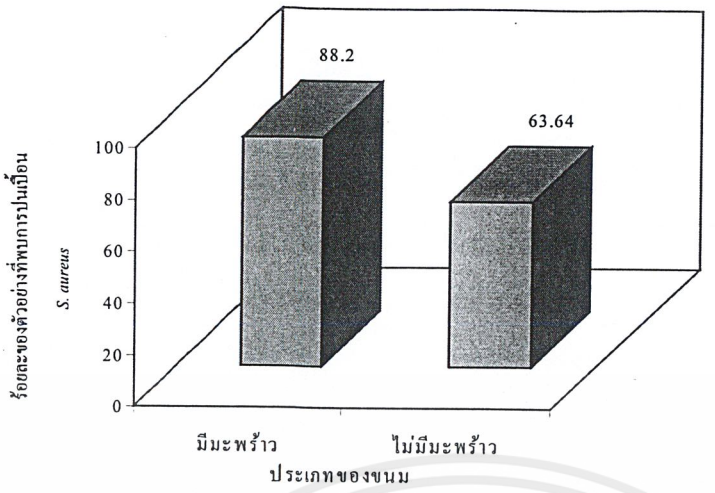
ส่วนขนมใส่ไส้ที่ตรวจพบ *S. aurues* น้อยที่สุด นั้นอาจเนื่องมาจากขนมใส่ไส้ มีการห่อด้วยใบตองแล้วนำไปผ่านการให้ความร้อนโดยการนึ่ง ซึ่งเนื้อขนมจะไม่มีการสัมผัสกับมือของผู้ประกอบการหรือสัมผัสกับภาชนะอีก และขั้นตอนการนึ่งขนมเปรียบได้กับการฆ่าเชื้อ *S. aureus* นั่นเอง ซึ่งอุณหภูมิที่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ เช่น การพาสเจอร์ไรส์โดยใช้อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที หรือ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (เพ็ญศรีและคณะ, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างขนมไทยที่ตรวจพบ *S. aureus* (ร้อยละ) ที่จำแนกตามประเภทขนมที่มีมะพร้าวคลุกและไม่มีมะพร้าวคลุก

ขนมไทย ที่มีมะพร้าว	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ/ วิเคราะห์	คิดเป็นร้อยละ	ขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าว	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ/วิเคราะห์	คิดเป็นร้อยละ
ขนมตาล	4/5	80	เม็ดขนุน	5/10	50
ถั่วแปบ	5/5	100	ลูกชุบ	4/5	80
เปียกปูน	4/5	80	ฝอยทอง	8/10	80
ข้าวต้มคลุก	4/5	80	ทองหยิบ	3/6	50
ขนมต้ม	4/4	100	ทองหยอด	5/9	55
มันคลุก	1/2	50	ตะโก้	4/4	100
ฟักทองคลุก	1/1	100	ใส่ไส้	0/2	0
ขนมกล้วย	8/8	100	ขนมชั้น	4/9	44
			วุ้นกะทิ	2/3	66.67
			หม้อแกง	2/3	66.67
			ข้าวเหนียวสังขยา	4/4	100
รวม	30/34	88.2		42/66	63.64
t-test	0.026[$]				

หมายเหตุ : [$] หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 5 ร้อยละของตัวอย่างขนมไทยที่พบการปนเปื้อน *S. aureus* ที่จำแนกตามประเภท

3. การเปรียบเทียบสุขลักษณะของขนมไทยจากตลาด และห้างสรรพสินค้า

ขนมไทยที่สุ่มจากตลาดจำนวน 50 ตัวอย่าง และห้างสรรพสินค้า จำนวน 50 ตัวอย่าง (ตารางที่ 5) พบว่า ร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบ *S. aureus* ไม่แตกต่างกันมาก ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 74 และ 70 ตามลำดับ และเมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ t-test พบว่าจำนวน *S. aureus* ที่ตรวจพบจากตลาดและห้างสรรพสินค้า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าจำนวนตัวอย่างขนมไทยที่ตรวจพบ *S. aureus* จากตลาดมีปริมาณมากกว่า ซึ่งอาจเนื่องมาจากบริเวณที่วางขนมในตลาด มักเป็นริมฟุตบาท เช่น ทำแผงขายในตลาดซึ่งมีการขายอาหารสดจำพวกเนื้อสด เนื้อไก่ ปลาสด รวมทั้งผักผลไม้ นอกจากนั้น ยังมีผู้ขาย หาบเร่ อีกทั้งภาชนะที่ใช้บรรจุส่วนใหญ่จะเป็นถุงพลาสติก โฟม และผู้ขายมักใช้มือของตนเองหยิบจับขนม รวมทั้งมะพร้าวสำหรับปรุงแต่งขนมในการให้บริการลูกค้า ซึ่งเป็นสาเหตุของการปนเปื้อน *S. aureus* ภายหลังกระบวนการผลิตได้ ส่วนขนมจากห้างสรรพสินค้านั้น การปนเปื้อนอาจมาจากการที่ผู้ประกอบการละเลยสุขอนามัยส่วนบุคคล เช่น ไม่ล้างมือให้สะอาดก่อนหยิบจับภาชนะสำหรับบรรจุขนม หรืออาหารต่าง ๆ ซึ่งสาเหตุการปนเปื้อนของ *S. aureus* อาจมาจากสาเหตุเดียวกัน ฉะนั้นผู้บริโภคควรให้ความระมัดระวังในการเลือกซื้อขนมหรืออาหารเพื่อลดอันตรายที่เกิดจาก *S. aureus* ให้น้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 จำนวนตัวอย่างขนมไทย (ร้อยละ) ที่พบการปนเปื้อนของ *S. aurues* ที่เก็บจากตลาดและห้างสรรพสินค้า

ชนิดของขนมไทย	ตลาด		ห้างสรรพสินค้า	
	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ/วิเคราะห์	คิดเป็นร้อยละ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ/วิเคราะห์	คิดเป็นร้อยละ
ขนมตาล	2/3	66.67	2/2	100
ถั่วแปบ	2/2	100	3/3	100
เปียกปูน	2/2	100	2/3	66.67
ข้าวต้มคลุก	2/2	100	2/3	66.67
ขนมต้ม	-	-	4/4	100
มันคลุก	-	-	1/2	50
ฟักทองคลุก	-	-	1/1	100
ขนมกล้วย	4/4	100	4/4	100
เม็ดขนุน	2/5	40	3/5	60
ลูกชุบ	2/2	100	2/3	66.67
ฝอยทอง	4/5	80	4/5	80
ทองหยิบ	2/3	66.67	1/3	33.33
ทองหยอด	4/5	80	1/4	25
ตะโก้	4/4	100	-	-
ใส่ไส้	0/2	0	-	-
ขนมชั้น	1/3	33.33	3/6	50
วุ้นกะทิ	2/3	66.67	-	-
หม้อแกง	2/3	66.67	-	-
ข้าวเหนียวสังขยา	2/2	100	2/2	100
รวม	37/50	74	35/50	70
t -test	0.331^{ns}			

หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การศึกษาการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่จำแนกตามสถานที่เก็บตัวอย่าง

เมื่อทำการศึกษาปริมาณ *S. aureus* ในตัวอย่างขนมไทย ที่สุ่มเก็บมาจากเขตต่างๆ ทั้งหมด 8 เขต ได้แก่ เขตสวนหลวง ลาดกระบัง ประเวศ บางนา บางเขน บางกะปิ รามอินทราและรังสิต (ตารางที่ 6) พบว่า เขตสวนหลวงจำนวนตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* เป็นจำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100 ซึ่งพบมากเป็นอันดับ 1 รองลงมาได้แก่ เขตบางกะปิ จากจำนวนตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ 24 ตัวอย่าง ตรวจพบ 22 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 91.7 และเขตรังสิต 5 ตัวอย่าง ตรวจพบ 4 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 80 ตามลำดับ ซึ่งทั้งสามเขตนี้มีร้อยละของการตรวจพบ *S. aureus* ในปริมาณค่อนข้างสูงกว่าเขตอื่น ส่วนเขตลาดกระบัง และเขตบางนา ตรวจพบ *S. areus* น้อยกว่าเขตอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ 40 และ 40 ของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ตามลำดับ

ตารางที่ 6 อัตราการแพร่กระจายของ *S. aurues* ในตัวอย่างขนมไทยที่เก็บจากสถานที่ต่างๆ กัน (ร้อยละ)

จำนวนโคโลนีต่อกรัม ของ *S. aureus*	สถานที่เก็บตัวอย่าง								
	สวนหลวง	ลาดกระบัง	ประเวศ	บางเขน	บางนา	บางกะปิ	ราม อินทรา	รังสิต	รวมทั้งหมด
<100	0 (0)	6 (60)	7(28)	3(50)	6(60)	2(8.3)	3(30)	1(20)	28
1.0×10^2 - 1.0×10^3	5 (50)	4 (40)	7(28)	1(16.7)	1(10)	13(54.2)	2(20)	-	34
1.1×10^3 - 1.0×10^4	3 (30)	-	3(12)	2(33)	1(10)	3(12.5)	1(10)	3(60)	15
1.1×10^4 - 1.0×10^5	1(10)	-	7(28)	-	1(10)	4(16.7)	4(40)	1(20)	18
$>1.0 \times 10^5$	1(10)	-	1(4)	-	1(10)	2(8.3)	-	-	5
จำนวนตัวอย่าง-ที่วิเคราะห์	10	10	25	6	10	24	10	5	100
จำนวนที่พบ(ร้อยละ)	10(100)	4(40)	18(72)	3(50)	4(40)	22(91.7)	7(70)	4(80)	72(72)
ค่าเฉลี่ย (log)	3.21^a	0.92^b	2.63^a	1.62^{ab}	1.65^{ab}	2.93^a	2.62^a	2.91^a	

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบ

$^{a, b}$ หมายถึงค่าเฉลี่ย (log)ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันของตัวอักษรจะมีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ 1-way ANOVA พบว่าร้อยละของการตรวจพบ *S. areus* ในเขตต่างๆ มีความแตกต่างกัน และจากการทำ Duncan's New Multiple Range Test พบว่า เขตสวนหลวง ประเวศ บางกะปิ รามอินทรา และรังสิต ตรวจพบจำนวน *S. areus* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับเขตบางเขน และบางนา แต่ตรวจพบจำนวน *S. areus* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเขตลาดกระบัง และเขตลาดกระบัง ตรวจพบจำนวน *S. aureus* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเขตบางเขน และบางนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการทดลอง

การตรวจหา *S. aureus* ในขนมไทยจำนวน 100 ตัวอย่าง ในเขตต่างๆ ของกรุงเทพมหานคร และปริมณฑลที่สุ่มเก็บจากห้างสรรพสินค้าและตลาด ตรวจพบการปนเปื้อนของ *S. aureus* คิดเป็นร้อยละ 72 ของตัวอย่างทั้งหมด และขนมที่มีมะพร้าวคลุกมีการปนเปื้อน *S. aureus* มากกว่าขนมที่ไม่มีมะพร้าวคลุก โดยคิดเป็นร้อยละ 88.2 และ 63.64 ตามลำดับ และจากการเปรียบเทียบสุขลักษณะของขนมไทยที่เก็บจากตลาดและห้างสรรพสินค้าพบว่า การตรวจพบ *S. aureus* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนั้นยังพบว่าสถานที่เก็บตัวอย่างมีผลต่อการปนเปื้อนของ *S. aureus* ด้วย ซึ่งเขตที่พบ *S. aureus* มากกว่าเขตอื่นๆ ได้แก่ เขตสวนหลวง บางกะปิ และรังสิต ส่วนเขตที่พบ *S. aureus* น้อย คือลาดกระบัง โดยตัวอย่างขนมไทยที่ตรวจพบ *S. aureus* นั้น มีจำนวนเกินเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาอาหารสำหรับอาหารพร้อมบริโภค เพราะฉะนั้นผู้บริโภคต้องระวังในการบริโภคขนมไทยและอาหารชนิดอื่นๆ ด้วยโดยเฉพาะอาหารพร้อมบริโภค เพื่อความปลอดภัย และลดอันตรายที่อาจเกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก *S. aureus* ได้

2. ข้อเสนอแนะ

การกำจัดเชื้อ *S. aureus* ออกจากอาหารกระทำได้ยากจึงจำเป็นต้องป้องกันไม่ให้เชื้อปนเปื้อนในอาหาร โดยผลิตภายใต้ข้อกำหนดทางสุขลักษณะที่ดีใช้วิธีที่ถูกต้องในทางปฏิบัติ และควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เพื่อลดการปนเปื้อนซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ ดังนี้

1. ผู้สัมผัสอาหาร ในการผลิตอาหาร คนเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่เชื้อ *S. aureus* การระบาดของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษซึ่งเกิดจากเชื้อนี้ สาเหตุส่วนใหญ่คือการปนเปื้อนจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกายผู้สัมผัสอาหารเช่น จากแผลที่มีการอักเสบโดยผ่านมาทางมือ ฉะนั้นสุขอนามัยส่วนบุคคลของผู้สัมผัสอาหารและการฝึกอบรมพนักงานเกี่ยวกับสุขลักษณะที่ดี ในการปฏิบัติงานเป็นสิ่งที่สำคัญมากและควรจัดให้มีอย่างสม่ำเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วัตถุดิบ ใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพสูงและเก็บรักษาไว้ในสภาวะที่ป้องกันไม่ให้เชื้อ *S. aureus* เจริญได้ โดยต้องเก็บในอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าช่วงที่เชื้อสามารถเจริญแพร่พันธุ์ได้ และอาหารที่ใส่สารเคมีเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเน่าเสียและควบคุมการเจริญของ *S. aureus* ได้จะต้องไม่ทำให้สภาพแวดล้อม เช่น พีเอชและปริมาณเกลืออยู่ในระดับที่เชื้อเจริญได้

3. อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการปรุงอาหารไม่เพียงพอ และส่วนประกอบของอาหารไม่ได้ผ่านความร้อน เช่น ผักซึ่งส่วนประกอบที่ไม่ได้ผ่านความร้อนของแฮมเบอร์เกอร์ มะพร้าวขูดของขนมไทยประเภทที่มีมะพร้าวโรยหน้า เป็นต้น ผู้ประกอบการจะต้องปรุงอาหารโดยใช้อุณหภูมิที่สามารถทำลายเอนเทอโรทอกซิน ที่ผลิตโดย *S. aureus* เนื่องจากสารพิษนี้ทนความร้อนทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคและไม่ควรเก็บอาหารไว้นานเกินควร เพราะอาจทำให้ปริมาณ S. *aureus* มากขึ้นด้วย

4. ภาชนะสำหรับบรรจุอาหารไม่สะอาด เช่น จาน ชาม ช้อน ส้อม เป็นต้น ต้องทำความสะอาดอยู่เสมอ และเก็บไว้ในตู้สำหรับเก็บภาชนะอย่างมิดชิด เพื่อป้องกันการปนเปื้อน *S. aureus* อาจเนื่องมาจากพาหะ เช่น แมลงวัน ซึ่งมันอาจจะไปจับบาดแผล หรือสิ่งสกปรกมาก่อน แล้วอาจมาจับภาชนะทำให้เกิดการปนเปื้อนของ *S. aureus* และเชื้อโรคอื่นๆ ได้

5. การดูแลอาหารที่สุกและอาหารที่ผ่านความร้อนไม่ให้ถูกปนเปื้อนอีก ไม่ควรนำภาชนะและเครื่องมือที่ใช้กับวัตถุดิบไปใช้กับอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว นอกจากนี้ยังไม่ควรเก็บวัตถุดิบในบริเวณเดียวกับอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว

6. ป้องกันการปนเปื้อนภายหลังในอาหารที่ปรุงสุกแล้ว โดยลดการใช้มือจับอาหาร ควรใช้อุปกรณ์ที่สะอาดหยิบจับแทนเนื่องจากเชื้อ *S. aureus* สามารถถ่ายทอดจากมือ ผิวหนัง บาดแผล ฝี หรือหนอง ของผู้ปฏิบัติการไปสู่อาหารได้

7. ระบบการผลิตอาหาร การควบคุมจุดวิกฤติในขั้นตอนการผลิตอาหาร (Hazard Analysis Critical Control Point) ควรใช้ในการวิเคราะห์และควบคุมปัจจัยที่จะป้องกันการปนเปื้อนและแพร่กระจายของเชื้อ *S. aureus*

8. หน่วยงานของรัฐ ควรมีการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานของอาหารปรุงสุกพร้อมรับประทาน (ready to eat) ให้แน่นอน และมีการสุ่มตรวจเช็คอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้มาตรฐานในการประกอบการอาหารชนิดนี้คงที่ในทุกบริษัทและทุกสาขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กานติมา สุขเพ็ง พรรณทิพา เจริญไทยกิจ วลัยพร รุ่งรัศมีเจริญและสายหยุด ตรีเดชโยธิน. 2541. การประเมินคุณภาพและความปลอดภัยของส้มตำแพงลอย.โครงงานพิเศษ.มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 64 น.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. ประกาศกรมวิทยาศษสตร์การแพทย์เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลวิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร

เพ็ญศรี รอดมา ทนงพันธ์ สัจจปาละ และภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา. 2534. การศึกษาปริมาณ *Staphylococccus aureus* ในอาหารแช่แข็ง.กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 21(3):197-203.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรป. ส.โอเอส พรินติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 411 น.

มาลัย บุญรัตนกรกิจ สิริพร สธนเสาวภาคย์ พรทิพย์ เจริญธรรมวัฒน์ และจันทิมา จาปะเกษตร์. 2543. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคที่จำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ต. อาหาร 35(1):36-42

สิริพร สธนเสาวภาคย์ สุพรรณี จิตพินิจยล และวรรณี สมพร. 2534. การศึกษาจุลินทรีย์ในอาหารพร้อมบริโภค.อาหาร 21(3):205-211.

สิริพร สธนเสาวภาคย์. 2541. HACCP กับวิธีการที่รวดเร็วในการวินิจฉัยจุลินทรีย์.อาหาร 28(2):79-88

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และธัญลักษณ์ นิพบดี. 2523. การแพร่กระจายของเชื้อสแตปฟิลโลคอคคัส อเรียสในอาหาร.กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 24(4):193-204.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2538. อาหารแช่แข็งพร้อมบริโภคกับความปลอดภัยในด้านจุลชีววิทยา. เกษตรพระจอมเกล้า 13(2):29-38.

Adams, M.R. and M.O.,Moss. 1995. Food microbiology. Royal Society of chemistry, Cambridge. 398 p.

AOAC. 1990. Official methods of analysis 15 th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia. 1298 p.

Cliver, O. 1990. Foodborne diseases. Academic press,Inc, New York. 398 p.

Doyle, P. 1989. Foodborne bacterial pathogens. Marcel dekker,Inc, New York. 231 p.

FDA. 1992. *Staphylococcus aureus*. http://vm.cfsan. fda.gov/~mow/chap3.html (26 June 2000)

James, M.J. 1992. Modern food microbiology. An avi Book, New York. 560 p.

Jay, J.M. 1996. Modern food microbiogy. Chaman and Hall, New York. 661p.

Kimura, B., T., Yoshiyama and T., Fujii. 1999. Carbon Dioxide Inhibition of *Escherichia coli* and *Staphyococcus aureus* on a pH-adjusted surface in a model system. J.Food Science 64:367-369.

Varnam, A.H.and M.G.,Evans. 1991. Foodborne pathogens an illustrated Text. Wofe Publishing Ltd, New York. 550p.

Tortora, J., R., Funke and L., Case. 1989. Microbiology and introduction.The Benjamin/Cummings Publishing Company. INC, New York. 508 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

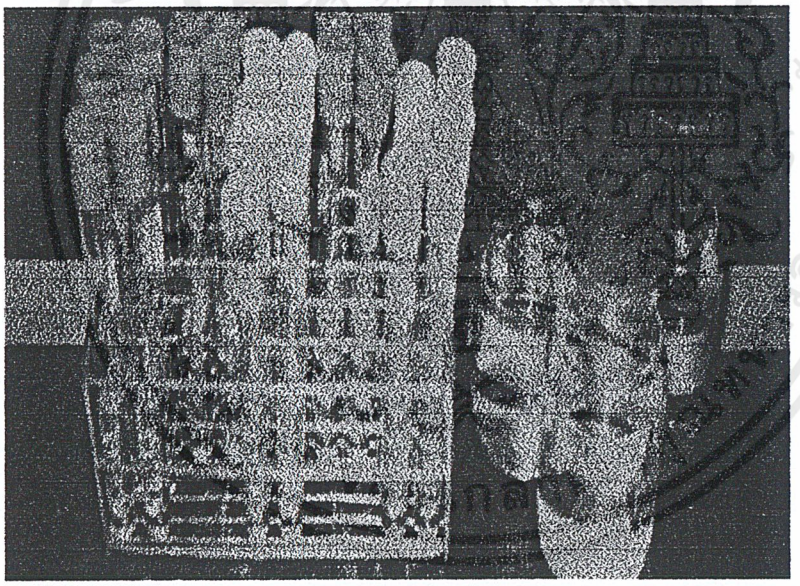
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

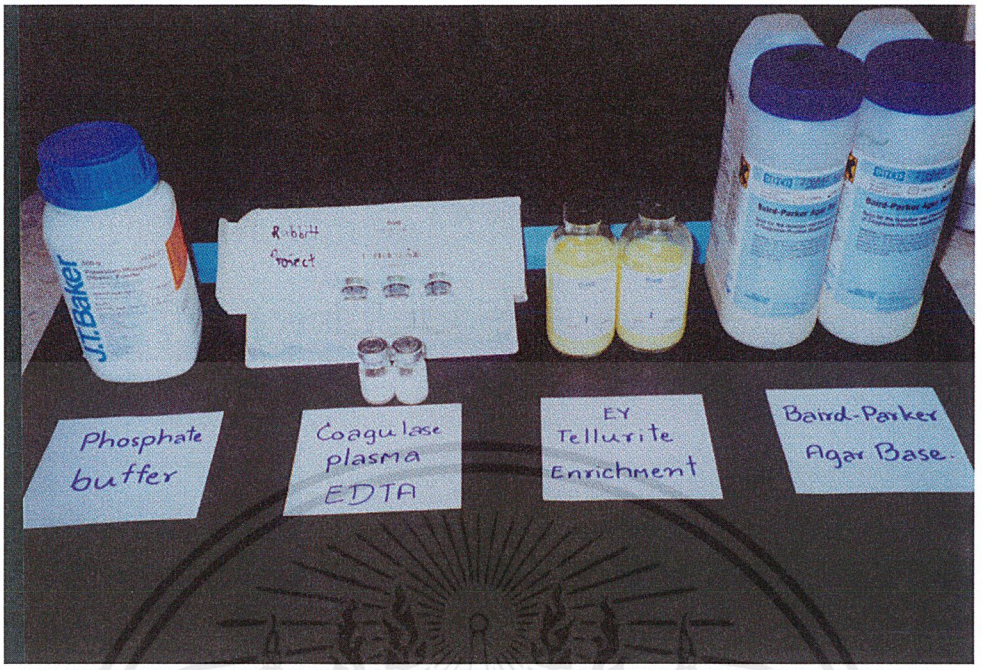
สารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์

ละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ปริมาณ 34 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 7.2 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร บรรจุใส่ขวดและหลอดทดลอง 225 มิลลิลิตร และ 9 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที



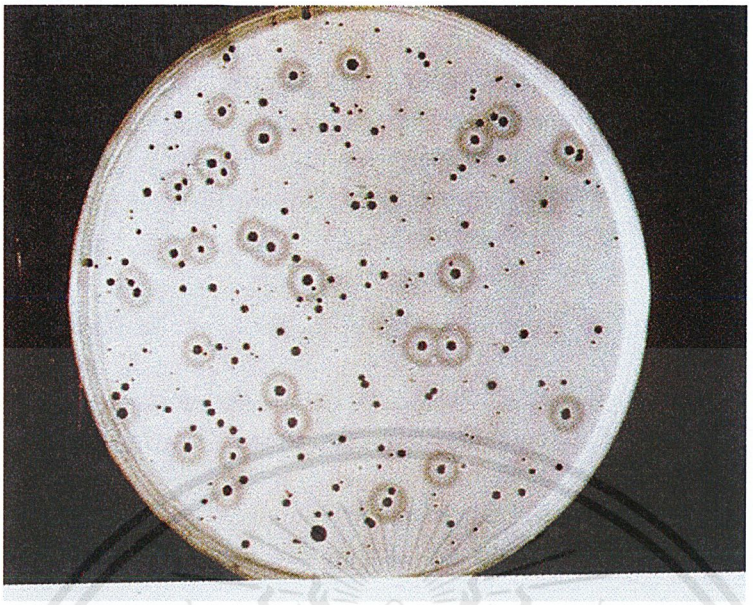
ภาพที่ 6 ฟอสเฟต บัฟเฟอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



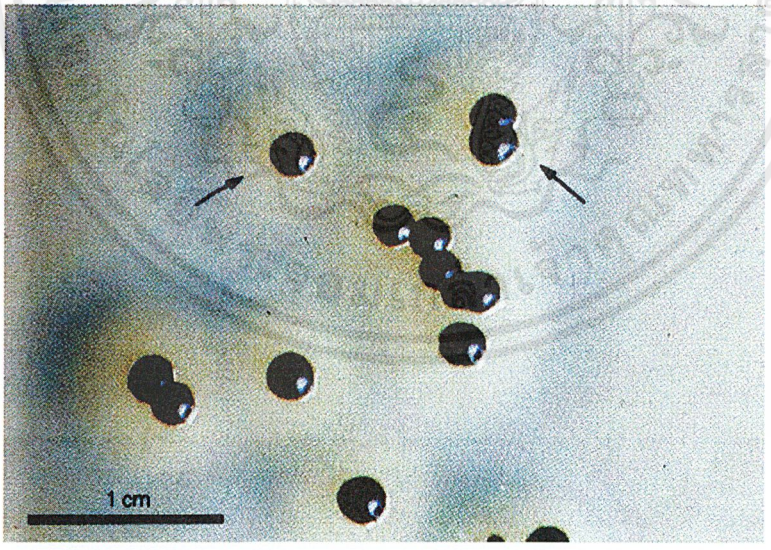
ภาพที่ 7 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*

ที่มา : Varnam (1991)



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*

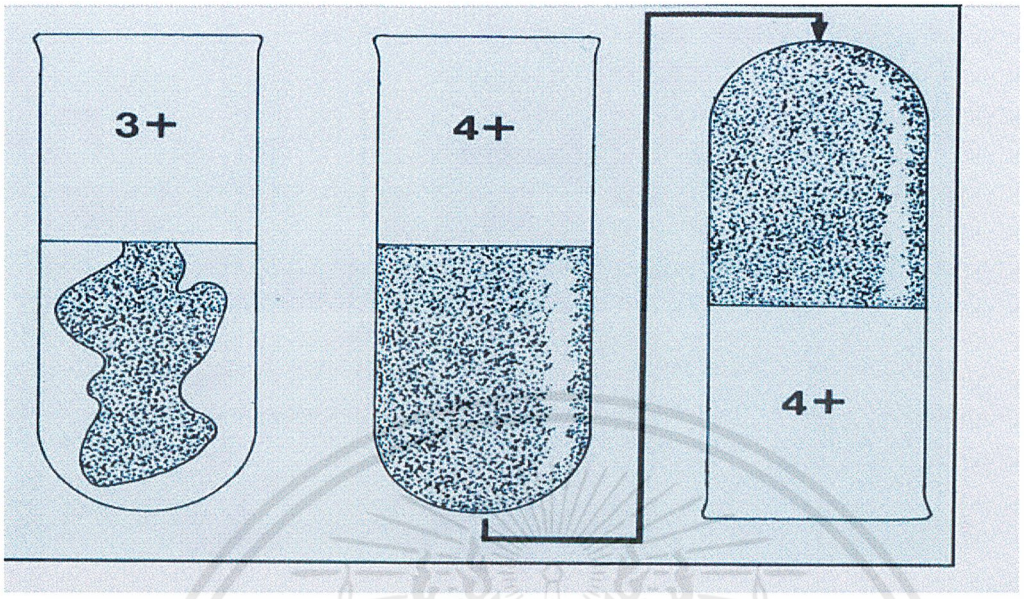
ที่มา : Varnam (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

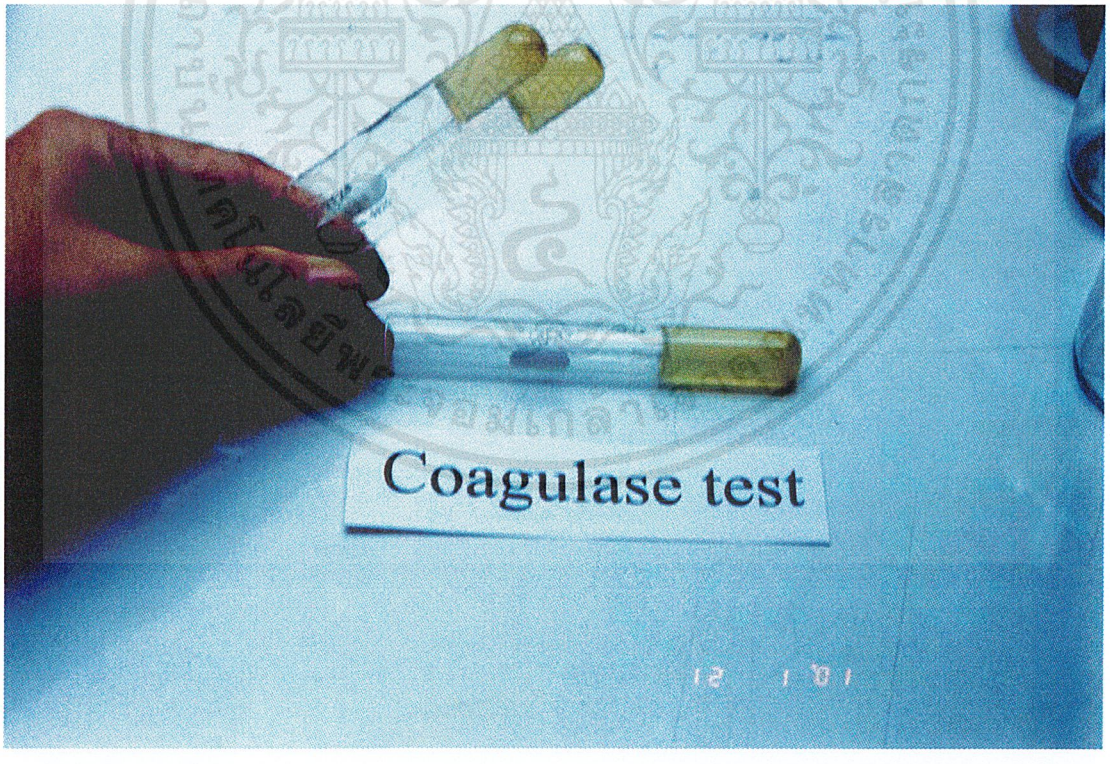
ภาพที่ 10 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*

ภาพที่ 11 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 แสดงการแข็งตัวของพลาสมา



ภาพที่ 13 แสดงลักษณะการแข็งตัวของพลาสมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพของขนมไทย

ภาพที่ 14 ตัวอย่างขนมไทยจากห้างสรรพสินค้า

ภาพที่ 15 ตัวอย่างขนมไทยจากตลาด

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 16 ตัวอย่างขนมไทยที่มีมะพร้าวคลุก

ภาพที่ 17 ตัวอย่างขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจพบ *S. aureus* ในอาหารประเภทต่างๆ

ตารางที่ 7 ร้อยละของ *Staphylococcus aureus* ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล

ผลิตภัณฑ์	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์	ปริมาณ *S. aureus*	ร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ
Frozen catfish fillet	41	MPN <3/g	100
Frozen salmon steaks	43	MPN <3/g	98
Fresh clams	53	MPN <3/g	91
Fresh oysters	59	MPN <3/g	90
Blue crabmeat(retail)	896	MPN110/g or less	94
Peeled shrimp(raw)	1468	MPN64/g or less	97
Peeled shrimp(cooked)	1464	MPN<3/g	99
Lobster tail (frozen,raw)	1315	MPN<3/g	76
Retail frozen, breaded, raw shrimp	27	Presence of *S. aureus*	59

ที่มา : James (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจวิเคราะห์พบ *S. aureus* ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากผิวหนัง มือ และเล็บของคน พบว่าใน ส้มตำไทย ส้มตำปูและส้มตำปลาร้ามีการปนเปื้อนของ *S. aureus* ระหว่าง 104-105 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งมีสาเหตุมาจาก มะละกอและปูเค็มมีการปนเปื้อนในปริมาณ 104 โคโลนีต่อกรัม เนื่องจากใช้มือในการหยิบเส้นมะละกอ และแกะปูเค็มแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงจำนวน *S. aureus* ที่พบในตัวอย่างส้มตำ (ค่าเฉลี่ย± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) จากตัวอย่าง 407 ตัวอย่าง

สิ่งที่วิเคราะห์	จำนวน *S. aureus*	
	ค่าเฉลี่ย	ค่ามาตรฐาน
ส้มตำปู	$0.80X10^3$	2.3×10^3
ส้มตำไทย	2.65×10^3	5.45×10^3
ส้มตำปลาร้า	1.9×10^5	7.82×10^4
ปูเค็ม	1.15×10^3	4.68×10^3
ปลาร้า	0	0
มือ	3.45×10^2	1.52×10^3
อุปกรณ์	1.56×10^3	6.70×10^3
น้ำปลา	0	0
กุ้งแห้ง	55.50	22.40
ถั่วลิสง	0	0
กระเทียม	4.50	14.68
น้ำตาลปี๊บ	10.50	47.00
น้ำมะขาม	0	0
น้ำมะนาว	0	0
ผักบุ้ง	0	0
กะหล่ำปลี	0	0
พริกขี้หนู	0	0
มะละกอ	5.00×10^2	2.2×10^2
ถั่วฝักยาว	0	0
มะเขือเทศ	0	0

ที่มา : กานติมาและคณะ (2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลเกี่ยวกับ Enterotoxin ที่ผลิตโดย *S. aureus*

ตารางที่ 9 คุณสมบัติบางประการของ enterotoxins ที่ผลิตโดย *Staphylococcus aureus*

	Enterotoxin							
	A	B	C_1	C_2	C_3	D	E	G
Emertic dose (ED_{50}) (monkey) (μg/animal)	5	5	5	5-10	<10a	20	10-20	<30
Nitrogen content(%)	16.5	16.10	16.2	16.0	-	-	-	
Reduced viscosity(mg/l)	4.07	3.92	3.4	3.7	-	-	-	
Molecular weight	27,800	28,366	34,100	34,000	26,900	27,300	29,600	28,500
Isoelectric point	6.8	8.60	8.6	7.0	8.15	7.4	7.0	5.7
Maximum Absorption(nm)	277	277	277	277	277	-	278	277
pH range	6.5-8.6	7.8-9.6	7.9-9.2	5.5-9.2	6.6-8.3	7.9-9.3	7.0-8.5	

ที่มา : Jay (1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิต enterotoxin ของ *S. aureus*

ปัจจัย	การเจริญ		การผลิต enterotoxin	
	ช่วงที่เหมาะสม	ช่วงกว้าง	ช่วงที่เหมาะสม	ช่วงกว้าง
อุณหภูมิ(°C)	35-37	7-48	35-40	10-45
pH	6.0-7.0	4.0-9.8	5.3-6.8(ent.A)	4.8-9.0
NaCl	0.5-4.0%	0-20%	0.5%	0-20%
Water activity	0.98->0.99	0.83->0.99	>0.99	0.86->0.99
Atmosphere	aerobic	aerobic-anaerobic	5-20%DO_2	aerobic-anaerobic

ที่มา : Adams และ Moss (1995)

ตารางที่ 11 ปริมาณ Staphylococcal Enterotoxin ที่ตรวจพบในอาหารบางชนิด ซึ่งตรวจโดยเทคนิค ELISA และ RIA

ชนิดของอาหาร	ชนิดของ Enterotoxin	ปริมาณ Enterotoxin ที่เติม	ปริมาณ enterotoxinที่ตรวจพบ	
			ELISA	RIA
นม	SEA	0.63	0.63	0.54
		1.25		0.95
แฮม	SEA	0.63	0.34	0.72
		1.25		1.14
ไส้กรอก	SEA	0.63	0.36	Nd[a]
		1.25		0.56
ชีส	SEA	0.63	0.59	
	SED	0.63	0.15	
สลัด มะเขือเทศ	SEB	0.63	0.18	

หมายเหตุ : [a] ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์

ที่มา : Doyel (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของ Enterotoxin ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Jay,1996)

Enterotoxin ประกอบด้วย กรดอะมิโน 18 ชนิด รวมกับ aspartic, glutamic, lysine และ tyrosine ลำดับกรดอะมิโนของ SEB ถูกกำหนดเป็นอันดับแรกปลาย N คือ glutamic acid ปลาย C คือ ไลซีน SEA, SEB และ SEE ประกอบด้วย 289-296 ของกรดอะมิโน ส่วน SEC3 ประกอบด้วย 236 ของกรดอะมิโนปลาย N คือ serine แต่ปลาย N ของ SEC1 คือ กรดกลูตามิค enterotoxin เหล่านี้มีความว่องไวแต่ต้านทานต่อเอนไซม์ proteolytic เช่น trypsin, chymotrypsin, rennin และ papain แต่ว่องไวต่อเอนไซม์ pepsin ที่พีเอชประมาณ 2 เอนเทอโรทอกซินแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันแต่มีสิ่งที่คล้ายกัน คือ potency

Enterotoxin ทนต่อความร้อนได้ดี เช่น กิจกรรมทางชีวภาพของ SEB ไม่สูญเสียไปเมื่อให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่พีเอช 7.3 และผลการให้ความร้อนต่อ SEC ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง serologic reaction และการให้ความร้อนกับ SEA ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หรือที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ผลคือทำให้ SEA สูญเสีย capacity ของ serologic reaction ซึ่งปฏิกิริยาเกิดใน phosphate-buffered saline จากการทดลองพบว่า SEC ทนต่อความร้อนได้สูงกว่า SEA และ SEB จึงสามารถเขียนความสัมพันธ์ระหว่างเอนเทอโรทอกซินทั้ง 3 ชนิดได้ดังนี้ SEC > SEB > SEA

ตารางที่ 12 กรดอะมิโน (g/100 g protein) ที่เป็นส่วนประกอบของ Staphylococcal Enterotoxin

กรดอะมิโน	ชนิดของ Enterotoxin				
	SEA	SEB	SECs	SED	SEE
Alanine	1.9	1.3	1.7	2	2.4
Arginine	4	2.7	1.7	3.4	4.5
Aspartic acid	15.5	18.1	18.2	16.7	15.1
Cysteine	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8
Glutamic acid	12.6	9.5	8.6	13.2	12.2
Glycine	1	1	3.1	2.7	4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 (ต่อ)

กรดอะมิโน	ชนิดของ Enterotoxin				
	SEA	SEB	SECs	SED	SEE
Histedine	3.2	2.3	2.9	2.7	3
Isoleucine	4.1	3.5	3.8	6	4.3
Leucine	9.8	6.9	6.4	9.3	10.1
Lysine	11.3	14.9	14	12.9	10.8
Methionine	1	3.5	3.5	1.1	0.5
Phenylalanine	4.3	6.2	5.4	4.8	4.5
Proline	1.4	2.1	2.2	1.4	1.9
Serine	3	4.1	5	5.1	4.7
Threonine	6	4.5	5.7	4.5	6.4
Tyrosine	10.6	11.5	10.1	7.2	9.8
Tryptophan	1.5	1	1	0.6	1.7
Valine	4.9	5.7	6	4.1	4.4
Amide NH_2	1.8	1.7	1.5	1.7	1.7

ที่มา : Cliver (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อมูลเกี่ยวกับการแพร่ระบาดของโรคกระเพาะลำไส้อักเสบซึ่งเกิดจากการได้รับ enterotoxin ที่ผลิตโดย จุลินทรีย์กลุ่ม Staphylococcal

ตารางที่ 13 แสดงการแพร่ระบาดของโรคกระเพาะลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) ซึ่งเกิดจากการได้รับ enterotoxin ที่ จุลินทรีย์กลุ่ม Staphylococcal ในประเทศสหรัฐอเมริกา ปี ค.ศ. 1973-1987

ปีค.ศ.	จำนวนการแพร่ระบาด	กรณีที่เกิด	เปอร์เซ็นต์กรณีทั้งหมด
1983	367	17,248	14.0
1984	11	1,257	15.9
1985	14	421	14.1
1986	7	250	4.3
1987	1	100	1.0

ที่มา : Jay (1996)

ตารางที่ 14 รายงานแหล่งของอาหารที่ทำให้เกิดโรคกระเพาะลำไส้อักเสบซึ่งเกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococcal ใน สหรัฐอเมริกา ปี ค.ศ. 1973-1987

แหล่งอาหาร	จำนวนการแพร่ระบาด
เนื้อหมู	96
ผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี	26
เนื้อวัว	22
Turkey	20
เนื้อไก่	14
ไข่	9

ที่มา : Jay (1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้