19734

การสำรวจทางจุลชีววิทยาในอาหารปรุงสำเร็จที่มีขายอยู่ในสถาบันและบริเวณรอบๆสถาบัน

(Survey of microbiological quality of ready-to-eat foods in KMIT'L canteens and food shops around KMIT'L)

T096524

นางสาวเกศสุดา ลีเลิศสุมานนท์ รหัสนักศึกษา 43040641
นางสาวนิสา ไพศาลศักดิ์วณิช รหัสนักศึกษา 43040646
นางสาว ศลิษา บัณฑรเศรษฐ์ รหัสนักศึกษา 43040660
นาย อธิชนัน พลสูงเนิน รหัสนักศึกษา 43040667

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2546

ปพ.
ก773ก
2546

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96524
วัน เดือน ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การสำรวจทางจุลชีววิทยาในอาหารปรุงสำเร็จที่มีขายอยู่ในสถาบันและบริเวณรอบๆ สถาบัน (Survey of Microbiological Quality of Ready – to – eat Foods in KMIT'L canteens and Food shops Around KMIT'L)

นางสาว เกศสุดา ลีเลิศสุมานนท์ รหัสประจำตัว 43040641
นางสาว นิสา ไพศาลศักดิ์วณิช รหัสประจำตัว 43040646
นางสาว ศลิษา บัณฑรเศรษฐ์ รหัสประจำตัว 43040660
นายอธิชนัน พลสูงเนิน รหัสประจำตัว 43040667

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

.....(อดิศร)..... 5/ม.ค./47 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เกศสุดา ลีเลิศสุมานนท์ นิสา ไพศาลศักดิ์วณิช ศลิษา บัณฑรเศรษฐ์ และอธิชนัน พลสูงเนิน. 2546. : การสำรวจทางจุลชีววิทยาในอาหารปรุงสำเร็จที่มีขายอยู่ในสถาบันและบริเวณรอบๆสถาบัน (Survey of microbiological quality of ready-to-eat foods in KMIT'L canteens and food shops around KMIT'L). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์, 64 หน้า

ในชีวิตประจำวันของคนในปัจจุบันนั้นมีแต่ความรีบเร่ง ดังนั้นอาหารสำเร็จรูปพร้อมบริโภคจึงเป็นทางเลือกที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคกันมาก เนื่องมาจากไม่ต้องเสียเวลากับการประกอบอาหารทำให้ประหยัดเวลาไปได้มาก แต่อาหารสำเร็จรูปที่วางขายโดยทั่วไปนั้น หากมีการปรุงขึ้นจากวัตถุดิบที่ไม่มีคุณภาพ หรือมีการปนเปื้อนจากผู้ประกอบอาหาร ที่ไม่มีความรู้ด้านสุขลักษณะที่ดี ทำให้อาจเกิดการปนเปื้อนไปสู่ผู้บริโภคได้ ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงนำเสนอ การศึกษาเพื่อประเมินว่าผู้ประกอบอาหารได้ผลิตอาหารตามสุขลักษณะที่ถูกต้องมากน้อยแค่ไหน และได้ทำการศึกษา แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 คือ ให้ผู้ประกอบอาหารกรอกแบบสอบถามเพื่อประเมินความรู้ทางด้านสุขลักษณะของผู้ประกอบอาหาร

ส่วนที่ 2 คือ การสุ่มตัวอย่างอาหาร 7 ชนิด ได้แก่ ไก่ผัดขิง ไข่พะโล้ ลาบหมู แกงจืดผักกาดดอง แกงเขียวหวาน และเส้นขนมจีน โดยนำมาศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกลุ่ม sanitation และในกลุ่มของ pathogens เปรียบเทียบจาก 3 แหล่ง คือ ที่โรงอาหารสถาบัน ร้านค้าและซุปเปอร์มาร์เก็ตในบริเวณใกล้สถาบัน ได้แก่ Total Plate Count , MPN *E. coli* MPN , coliforms faecal coliforms , *B.cereus* , *Cl.perfringens* ,*Salmonellae* และ *S.aureus*

โดยทำการเปรียบเทียบผลที่ได้กับค่ากำหนดการควบคุมคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของอาหารและการสุขาภิบาลอาหารปรุงสำเร็จพร้อมบริโภค ตามประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์พบว่ามีอาหารไม่ได้เกณฑ์มาตรฐาน 5 ชนิด (ร้อยละ 71.43)

กลุ่มจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะพบว่าตัวอย่างจากร้านค้าภายในสถาบัน ตรวจพบเชื้อในกลุ่ม MPN *E. coli* MPN coliforms และ faecal coliforms ในตัวอย่าง ไข่พะโล้ ร้านค้าบริเวณรอบสถาบันตรวจพบเชื้อ MPN coliforms จากตัวอย่าง ลาบหมู และผัดตับ MPN faecal coliforms ตรวจพบในลาบหมูและ MPN *E. coli* ตรวจพบในไก่ผัดขิง ไข่พะโล้และลาบหมู ส่วน food lion พบ MPN coliforms จากตัวอย่าง ลาบหมู และไก่ผัดขิง MPN faecal coliforms ตรวจพบในไข่พะโล้ และ MPN *E. coli* ตรวจพบในลาบหมู ซึ่งมีค่ามากกว่ามาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ระบุว่า MPN

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

coliforms และ faecal coliforms น้อยกว่า 500 MPN coliforms / faecal coliforms ต่อกรัม MPN *E.coli* น้อยกว่า 3 MPN *E.coli* ต่อกรัม ส่วนปริมาณ Total Plate Count ที่ตรวจพบในตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง $4.5x10^{1}$ ถึง $2.81x10^{5}$ CFU/g ซึ่งมีค่าไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดไว้ว่ามีค่าไม่เกิน 10^{6} CFU/g

กลุ่มจุลินทรีย์เชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ตรวจพบมี *S.aureus* และ *Salmonellae* ซึ่งพบ *S.aureus* ใน ลาบ ไก่ผัดขิง และแกงจืด จำนวน 64.5×10^{3}, 70.5×10^{3} และ 58×10^{3} CFU/g ตามลำดับ ซึ่งเกินมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดไว้ คือ มีค่าเกิน 100 CFU/g คิดเป็นส่วน *Salmonellae* ตรวจพบใน แกงจืด ไข่พะโล้ ซึ่งเกินมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดไว้ต้องไม่พบเจอ *Salmonellae* เลยในตัวอย่าง 25 g

การที่ตรวจพบจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะแสดงให้เห็นว่าอาหารที่ผลิตขึ้นผลิตมาจากผู้ประกอบอาหารที่ไม่ได้ปฏิบัติตามหลักสุขาภิบาลอาหารที่ดีมีการปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรงเพราเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ประจำลำไส้ใหญ่ในลักษณะเป็นกลุ่ม และปกติจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดโรคเมื่อเชื้อชนิดนี้อยู่นอกลำไส้ใหญ่ โดยเฉพาะ *E.coli* ส่วน กลุ่มจุลินทรีย์เชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิด *S.aureus* นั้นเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถบ่งชี้ถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีของผู้ประกอบการได้คือระหว่างการประกอบอาหารผู้ประกอบการได้มีการสัมผัสที่ใบหน้าและโพรงจมูก มีการไอหรือจาม แล้วจับอาหารทันทีโดยไม่ได้ล้างมือ หรือ *Salmonella* เป็นจุลินทรีย์ที่มาจากลำไส้ เมื่อตรวจพบเจอจะมาจากผู้ประกอบการที่ไม่ได้ล้างมือหลังจากออกจากห้องน้ำ จากการทดลองสรุปได้ว่าอาหารที่มีโอกาสต้องสัมผัสด้วยมือแล้วไม่ได้ผ่านความร้อนอีกมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากกว่า อาหารพวกที่สัมผัสด้วยมือน้อยและมีการอุ่นตลอดเวลา

เกศสุดา ลิ่วศิริมานนท์ .....

.....

ศิลชา ชีวะทรงศรีสกุล .....

.....	.....	5 ม.ค. 47
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของข้าพเจ้าในความกรุณาที่สละเวลามาคอยแนะนำให้คำปรึกษาต่าง ๆ เกี่ยวกับปัญหาพิเศษนี้ทั้งการดำเนินการทดลอง การวางแผนการทดลอง การนำเสนอและการแก้ไขตรวจทานจนรายงานฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากที่สุดคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง รวมทั้งขอขอบพระคุณ ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์และรศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่งที่กรุณาให้เกียรติเป็นกรรมการสอบปัญหาพิเศษ เพื่อความสมบูรณ์ของปัญหาพิเศษ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ที่คอยแนะนำให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ กำลังทรัพย์สนับสนุนให้ทำปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี

คณะผู้จัดทำ
เกศสุดา ลีเลิศสุมานนท์
นิสา ไพศาลศักดิ์วณิช
ศลิษา บัณฑรเศรษฐ์
อธิชนัน พลสูงเนิน
31 ธันวาคม 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ก

กิตติกรรมประกาศ ค

สารบัญ ง

สารบัญตาราง ฉ

สารบัญรูป ช

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2ขอบเขตของงานวิจัย 1

1.3วัตถุประสงค์ 1

บทที่ 2 ทฤษฎี 3

2.1แบคทีเรียโคลิฟอร์ม 3

2.2 Fecal coliform และ *E.coli* 3

2.3 ลักษณะของเชื้อ *E.coli* 4

2.4 *Bacillus cereus* 15

2.5 *Clostridium perfringens* 16

2.6 *Salmonellae* 17

2.7 *Staphylococcus aureus* 18

2.8 วิธีการแพร่กระจายเชื้อโรคไปสู่คน 20

2.9 วิธีการป้องกันเพื่อมิให้จุลินทรีย์ต่างๆ ปนเปื้อนในอาหาร 22

2.10 การปฏิบัติตนระหว่างทำการเสิร์ฟและปรุงอาหาร 22

2.11 การรักษาความสะอาดของอาหารที่ประกอบแล้ว 23

2.12ผลของการมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญ 24
ต่อการสุขาภิบาลร้านอาหาร

2.13 ค่ากำหนดการควบคุมคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของอาหาร 25
และการสุขาภิบาลอาหารสุกทั่วไปตามประกาศของ
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 26

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 สารอาหาร 26
3.3 ตัวอย่างอาหารที่ทำการสุ่มตรวจ 27
3.4 สถานที่ทำการสุ่มตัวอย่าง 27
3.5 วิธีดำเนินการทดลอง 28
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 37
4.1 ผลการทดลองหาปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่ม Sanitary index 37
4.2 ผลการทดลองหาปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่ม Pathogen 41
4.3 ผลการตอบแบบสอบถามของผู้ประกอบอาหาร 43
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 44
5.1การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภค 44
ประเภทอาหารปรุงสำเร็จในส่วนของการศึกษาเชื้อโรค
ที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะทางอาหาร (Food index microorganism)
5.2การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภค 45
ประเภทอาหารปรุงสำเร็จในส่วนของการศึกษาเชื้อโรค
อาหารเป็นพิษ (Food Poisoning Bacteria)
5.3ข้อเสนอแนะ 46
บรรณานุกรม 48
ภาคผนวก ก. 49
ภาคผนวก ข. 57
ภาคผนวก ค. 61
ประวัติผู้เขียน 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ปฏิกิริยาที่แตกต่างกันของ *Escherichia* กับ *Shigella* 4
ตารางที่ 2.2 ชนิดของแอนติเจนที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงที่พบโดยทั่งไปในเชื้อ *E.coli* 6
ตารางที่ 2.3 ปัจจัยที่ทำให้เชื้อ *E.coli* มีความรุนแรง 13
ตารางที่ 2.4 โรคท้องร่วงที่เกิดจาก *E.coli* 14
ตารางที่ 3.1 ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด 29
ตารางที่ 4.1 ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมอาหาร 37
ตารางที่ 4.2 ปริมาณ most probable coliform 38
ตารางที่ 4.3 ปริมาณ most probable ของ faecal coliform 39
ตารางที่ 4.4 ปริมาณ most probable ของ *E.coli* 40
ตารางที่ 4.5 จำนวนจุลินทรีย์ที่ชี้ถึงสุขลักษณะทางอาหาร 40
ตารางที่ 4.6 จำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ 42
ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์ทางอาหารของตัวอย่างอาหารทั้ง 7 ชนิด 42
ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่าง กลุ่มจุลินทรีย์ในกลุ่ม sanitary และ pathogen 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงวงจรการติดต่อของโรคเนื่องจากอาหารไม่สะอาด 21
รูปที่ 2.2 การแพร่เชื้อโรคจากผู้ประกอบการค้าอาหารไปสู่ผู้บริโภค 21
รูปที่ 4.1 แสดงจำนวนเปอร์เซนต์ตัวอย่างที่ไม่ถูกสุขลักษณะเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน 41
ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์แบ่งตามแหล่งของตัวอย่าง
รูปที่ 1 ค. สภาพการขายจากร้านค้าบริเวณรอบๆสถาบันฯ (ซอยจินดา) 61
รูปที่ 2 ค. บริเวณประกอบอาหารและล้างภาชนะจากร้านค้าบริเวณรอบๆสถาบันฯ (ซอยจินดา) 61
รูปที่ 3 ค. สภาพการขายจากร้านค้าภายในสถาบัน ฯ 62
รูปที่ 4 ค. บริเวณประกอบอาหารและล้างภาชนะจากร้านค้าภายในสถาบัน ฯ 62
รูปที่ 5 ค. สภาพการขายจากบริเวณรอบๆสถาบันฯ (Food lion) 63
รูปที่ 6 ค. บริเวณประกอบอาหารและล้างภาชนะจากบริเวณรอบๆสถาบันฯ (Food lion) 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในชีวิตประจำวันของคนในปัจจุบันนั้นมีแต่ความรีบเร่ง ดังนั้นอาหารสำเร็จรูปพร้อมบริโภคจึงเป็นทางเลือกที่ผู้บริโภคนิยมบริโภคกันมาก เนื่องมาจากไม่ต้องเสียเวลากับการประกอบอาหารทำให้ประหยัดเวลาไปได้มาก แต่อาหารสำเร็จรูปที่วางขายโดยทั่วไปนั้น หากมีการปรุงขึ้นจากวัตถุดิบที่ไม่มีคุณภาพ หรือมีการปนเปื้อนจากผู้ประกอบอาหาร ที่ไม่มีความรู้ด้านสุขลักษณะที่ดี ทำให้อาจเกิดการปนเปื้อนไปสู่ผู้บริโภคได้ ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงนำเสนอ การศึกษาเพื่อประเมินว่าผู้ประกอบอาหารได้ผลิตอาหารตามสุขลักษณะที่ถูกต้องมากน้อยแค่ไหน

1.2ขอบเขตของงานวิจัย

ส่วนที่ 1 คือ ให้ผู้ประกอบอาหารกรอกแบบสอบถามเพื่อประเมินความรู้ทางด้านสุขลักษณะของผู้ประกอบอาหาร

ส่วนที่ 2 คือ การสุ่มตัวอย่างอาหาร 7 ชนิด ได้แก่ ไก่ผัดขิง ไข่พะโล้ ลาบหมู แกงจืดผักกาดดอง แกงเขียวหวาน และเส้นขนมจีน โดยนำมาศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกลุ่ม sanitation เปรียบเทียบจาก 3 แหล่ง คือ ที่โรงอาหารสถาบัน ร้านค้าและซุปเปอร์มาร์เก็ตในบริเวณรอบสถาบัน ได้แก่ Total Plate Count ,MPN *E. coli* , MPN coliforms, MPN faecal coliforms , *B.cereus* , *Cl.perfringens* ,*Salmonellae* และ *S.aureus*

และทำการเปรียบเทียบกับค่ากำหนดการควบคุมคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของอาหารและการสุขาภิบาลอาหารปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคทั่วไป ตามประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

1.3วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจคุณภาพของอาหารปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคที่ผลิตและจำหน่ายในสถาบัน และรอบๆ สถาบันมีสุขลักษณะเป็นอย่างไร
2. เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมอาหารที่ผลิตแล้วให้มีคุณภาพปลอดภัยต่อการบริโภค
3. เพื่อเป็นแนวทางควบคุมและป้องกันการเป็นพาหะของโรคและการปนเปื้อนของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เพื่อวัดความรู้ ความเข้าใจ ต่อการนำหลักสุขาภิบาลอาหาร ไปใช้ในชีวิตประจำวันของผู้ประกอบอาหารและผู้สัมผัสกับอาหารว่าสามารถปฏิบัติได้ถูกสุขลักษณะที่ดีหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎี

2.1 แบคทีเรียโคลิฟอร์ม

หมายถึงกลุ่มแบคทีเรีย มีรูปร่างท่อนสั้น ติดสีแกรมลบไม่สร้างสปอร์ เป็นaerobe หรือ facultative anaerobe สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตสให้กรดและก๊าซภายในเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยมี *Escherichai coli* เป็นแบคทีเรียตัวหนึ่งที่มีสมบัติดังกล่าว จะอาศัยประจำในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น หรือในอาหารที่มีอุจจาระปนเปื้อน และแบคทีเรียจีนัส *Enterobacter*.นอกจากนี้ยังพบได้ในดินและปนเปื้อนกับพืชผักต่างๆ ดังนั้นจึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ให้ทราบถึงการสุขาภิบาลของอาหารนั้นเป็นอย่างไร

2.2 Fecal coliform และ *E.coli*

จีนัส *Escherichia* มีอยู่ 5 สปีชีส์ โดยมี *Escherichia coli* เป็น type species หนึ่งของจีนัส จากการศึกษาทางพันธุศาสตร์ โดยดูจากความสัมพันธ์ของ DNA-DNA recombination พบว่า *E. coli* และ *Shigella* เป็นสปีชีส์เดียวกัน อย่างไรก็ตาม ปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเชื้อทั้งสองมีความแตกต่างกันดังตารางที่ 2.1 *E. coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ *E.coli* เป็นแบคทีเรียที่มีแหล่งอาศัยปกติในท่อทางเดินอาหารของคนและสัตวเลือดอุ่น ปกติจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดโรคถ้าเชื้ออยู่นอกลำไส้ใหญ่ เช่น ท่อปัสสาวะ ท่อน้ำดี ปอด เยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มสมอง และไขสันหลังในเด็กแรกเกิด เชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในfamily เดียวกับ *Samonella* , *Shigella* และ *Yersinia* meningitis) ยังมีการพบว่า *E. coli* บางสายพันธุ์จะมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารในเด็กทารก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ , 2544) ดังนั้นการตรวจพบ *E.coli* จึงแสดงว่ามีการปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรงจึงเรียกว่า Fecal coliform ส่วนแบคทีเรียโคลิฟอร์มอื่นๆ เช่น *Enterobacter aerogenus* ซึ่งไม่อาจใช้เป็นดัชนีแสดงการปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรงจึงเรียกกลุ่มนี้ว่า non-fecal coliform เนื่องจากว่ามีคุณสมบัติต่างจาก *Enterobacter* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ปฏิกิริยาที่แตกต่างกันของ *Escherichia* กับ *Shigella*

การทดสอบ	*Escherichia*	*Shigella*
Gas form glucose	+	-
Lactose fermentation	+	-
Motillity	+	-
Lysine decarboxylase	+	-
Mucate utilization	+	-

หมายเหตุ: + most straina positive - most straina negative

ที่มา : นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ (2544)

2.3 ลักษณะของเชื้อ *E.coli*

E. coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้นอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media) เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโตส หรือเลี้ยงในอาหารEosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แล็กโตส ได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิสเชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ , 2544)

ในการจัดจำแนกชนิดส่วนใหญ่ใช้ปฏิกิริยา IMViC คือ

I = Indole production เป็นปฏิกิริยาของกรดอะมิโนTryptophan

M = Methy red reaction เป็นความสามารถของเชื้อที่จะรักษาระดับความเป็นกรดไว้ได้คงที่ ที่ pH4.2 หรือต่ำกว่า

Vi = Voges Proskauer reactionเป็นความสามารถของเชื้อที่จะทำให้เกิดการเมตาบอลิซึมจนเกิด สาร acetyl methyl carbinol (acetone)

C = Citate utilizationเป็นความสามารถของเชื้อในการใช้ citate เพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาของ *E. coli* จะให้ผลเป็น + + - -คือสามารถใช้ทริปโตเฟนให้อินโดล และให้ผลบวกกับเมลิเรดแต่ไม่สร้างอะซิติลเมทิลคาร์บินัล (acetyl methyl carbinol)และไม่ใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน(วุฒิ ทิณพงษ์,2540)

ลักษณะทางแอนติเจน ประกอบด้วย (สุวดี ทิมคำ , 2543)

O antigen เป็นแอนติเจนชนิดทนความร้อน (heat-stable somatic antigen) อยู่ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย พบว่ามี 173 ชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคท้องร่วงได้

K antigen เป็นแอนติเจนชนิดไม่ทนความร้อน(heat-labile somatic antigen) อยู่ที่ส่วนนอกสุดที่หุ้มเซลล์อยู่ มีลักษณะเหมือนแคปซูลบางๆ Kauffman เป็นผู้ใช้ K แทนคำว่า Kapsel ซึ่งหมายถึง แคปซูล และได้จำแนก K antigen ออกเป็น 3 ชนิด คือ L , A และ B ชนิด L ไม่ทนความร้อน โดยจะสูญเสียความเป็นแอนติเจนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง ส่วนชนิด A จะสูญเสียความเป็นแอนติเจนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 2 ชั่วโมง แต่ก็ยังสามารถที่จะจับกับแอนติบอดีได้ พบ 80 ชนิดที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงได้

H antigen เป็นแอนติเจนที่แฟลกเจลลาไม่ทนความร้อน (heat-labile flagella antigen) พบว่า 53 ชนิดของแอนติเจนประเภทนี้พบใน *E. coli* ส่วนใหญ่จะเป็นชนิดเจาะจง ส่วนน้อยเท่านั้นที่จะเกิดปฏิกิริยาข้ามรุ่น (cross - reactivity) นอกจากนี้ยังพบว่า H antigen ส่วนสัมพันธ์กับ O antigen ซึ่งเป็น markers ของ *E.coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง

ลักษณะทางแอนติเจนดังกล่าวใช้จำแนกสายพันธุ์ของ *E.coli* โดยแบ่งเป็นซีโรไทป์ได้ประมาณ 50,000 – 100,000 ซีโรไทป์หรืออาจมากกว่านี้ แต่ที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารมีจำนวนที่แน่นอน ดังแสดงในตารางที่ 2.2 (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ , 2544)

เป็นที่ทราบกันว่า จุลินทรีย์เป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดในการทำให้เกิดโรคภัยไข้เจ็บกับมนุษย์ และการได้รับจุลินทรีย์นั้น อาจเป็นได้หลายทาง เช่น ทางการหายใจ ทางบาดแผล หรือทางอาหาร เป็นต้น สำหรับทางอาหารนั้น จัดว่าเป็นทางที่สำคัญที่สุดและมีการเกิดขึ้นบ่อยที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งมักเกิดกับผู้ที่บริโภคอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะ

อาหารส่วนใหญ่จะเป็นอาหารที่มีการเน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เช่นกัน เพื่อช่วยลดการเน่าเสียของอาหาร และจำกัดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ จึงควรมีการควบคุมทั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งถ้าหากไม่มีการควบคุมให้กรรมวิธีการแปรรูปอาหารต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นช่วงของการเตรียมวัตถุดิบ การแปรรูปและการเก็บระหว่างรอจำหน่ายให้ถูกสุขลักษณะแล้ว โอกาสที่อาหารจะมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จะมีมากขึ้น

ตารางที่ 2.2 ชนิดของแอนติเจนที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงที่พบโดยทั่วไปในเชื้อ *E.coli*

Diarrheal disease	Associate O antigen	Associate K antigen	Associate H antigen
ETEC	O6,O8,O15,O25,O27, O63,O78,O115,O128 ,O148,O149,O159	-	H4, H7, H9, H11, H12,H19, H20, H21,H28,H40
EPEC	O18, O20, O26, O28, O44, O55, O86, O111, O119, O124, O125, O126, O128, O142, O158,O159	-	H2,H6,H7,H11,H12,H14, H18, H21, H27, H34
EIEC	O28, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167	-	-
STEC	O26, O55, O111, O125, O128, O157	-	H6, H7, H8, H11

ที่มา: Michael และ Sharon (1998) อ้างอิงโดย สุวดี ทิมคำ(2543)

ปัจจัยที่สำคัญที่สุดปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนทำการประกอบอาหารไม่ถูกสุขลักษณะ คือ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์เป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียและเป็นสาเหตุให้อาหารเกิดเป็นพิษ หรือเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ ลักษณะการเน่าเสียของอาหารอาจสังเกตได้จากกลิ่นรสและสีที่เปลี่ยนไปของอาหาร เมื่อมนุษย์บริโภคอาหารที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนเข้าไป จะทำให้เกิดอาการผิดปรกติขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

การที่ *E.coli* ทำให้เกิดโรคได้เนื่องจากมีไวรูเลนซ์แฟกเตอร์ (virulence factors) หลายชนิดที่ไม่พบใน *E.coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่น อย่างน้อยที่สุดจะต้องมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่งคือ

1. มีความสามารถที่จะเกาะติดกับเซลล์บางชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
2. ความสามารถที่จะบุกรุกและเข้าไปเจริญในเซลล์ของเยื่อบุผิวลำไส้
3. ความสามารถที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทำให้ร่างกายสูญเสียน้ำและของเหลว จึงเกิดอาการท้องร่วง การสร้างไซโททอกซิน(cytotoxin)ที่ไม่ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน จึงทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้(hemorrhagic colitis)
4. การมีแคปซูลที่ป้องกันไม่ให้ถูกเม็ดเลือดขาวจับกิน

ไวรูเลนซ์แฟกเตอร์ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงนี้เกิดจากยีนในพลาสมิด จึงสามารถถ่ายทอดยีนนี้ไปยัง *E.coli* สายพันธุ์อื่นโดยวิธีทรานดักชัน(tranduction) หรือวิธีรีคอมบิเนชั่น (recombination)

การแบ่งประเภทของเชื้อ*E.coli* ตามอาการการการเกิดโรค และการทำให้เกิดโรค
(นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2544)

E.coli สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดโรคดังนี้คือ ท้องร่วง (gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinary tract infections) โลหิตเป็นพิษ(septicemia) และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (neonatal meningitis)

1. ท้องร่วง (gastroenteritis)

เชื้อ *E.coli* ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์คือ

1.1 Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC)

ทำให้เกิดโรคท้องร่วงกับเด็กและผู้ใหญ่ เชื้อจะสร้างเอนเทอโรทอกซินซึ่งเป็นเอกโซทอกซินอย่างหนึ่ง ทอกซินที่สร้างมี 2 ชนิดคือ

ก.ทอกซินชนิดที่ไม่ทนความร้อน (heat-labile enterotoxin, LT) ทอกซินนี้จะถูกทำลายด้วยความร้อน 65 องศาเซลเซียสในเวลา 30 นาทีการสร้างทอกซินมีพลาสมิด (Ent plasmid) ควบคุมและถ่ายทอดไปยังเซลล์อื่นได้ เอนเทอโรทอกซินนี้มีกลไกการทำงานคล้ายกับcholera toxin(CT)ของเชื้อ *Vibrio cholerae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

LT มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 86,000 ดาลตัน ประกอบด้วยเพปไทด์ที่ต่อกัน มี 2 ส่วนย่อย (subunit) คือส่วนย่อย A และส่วนย่อย B ส่วนย่อย BจะเกาะกับGM1 แกงกิโอไซด์ที่บรัชบอร์เดอร์ (brush border) ของเยื่อบุผิวลำไส้เล็ก เป็นส่วนย่อย A เคลื่อนเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายขึ้นส่วนย่อย A ประกอบด้วย A_1(น้ำหนักโมเลกุล 24,000 ดาลตัน)และ A_2 (น้ำหนักโมเลกุล 5,000) เชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ส่วนย่อย A_1หน่วย จะจับกับส่วนย่อย B5 หน่วย ส่วนย่อย A จะกระตุ้นเอนไซด์อะดีนิลไซเคลส(adenyl cyclase) หรืออะดีนิเลตไซเคลสที่เยื่อบุลำไส้เล็ก ทำให้เปลี่ยน ATP เป็น cylcic adenosine-5'-monophosphate (cAMP) ดังนี้

$$ATP \longrightarrow cAMP+Ppi$$

cyclic AMP ที่เพิ่มขึ้น จะมีผลกระตุ้นให้หลั่งน้ำและคลอไรด์ไอออน(Cl^-)ออกมามากและนานและยับยั้งการดูดโซเดียมคลอไรด์กลับ ในช่องลำไส้จึงยืดมากและเต็มไปด้วยของเหลวและเคลื่อนไหวมากทำให้สูญเสียน้ำและอิเล็กโทรไลต์จากลำไส้ เกิดอาการท้องเดินอยู่หลายวัน LT มีสมบัติเป็นแอนติเจน จึงกระตุ้นการสร้างนิวทรัลไลซิงแอนติบอดี(neutralizing antibody)ในซีรัมในคนที่ติดเชื้อ ETEC

ข.ทอกซินชนิดทนความร้อน(heat-stable enterotoxin, STa และSTb)

STa มีน้ำหนักโมเลกุลประมาร1,500-2,000 ดาลตัน ทนความร้อน 100 องศาเซลเซียส 30 นาที และทนเอนไซม์โปรติเอส (protease) ไม่มีสมบัติเป็นแอนติเจน Sta จะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์กัวนีเลตไซเคลส(guanylate cyclase)ที่เยื่อบุผิวลำไส้ ทำให้เพิ่มการสะสม cyclic guanosine-5'-monophosphat (cGMP) ภายในเซลล์ cGMP เป็นตัวยับยั้งการดูดโซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออนกลับที่บรัสบอร์เดอร์ จึงกระตุ้นการหลั่งของเหลวออกจากลำไส้

ส่วน STb เป็นทอกซินที่ทนความร้อนอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดท้องร่วงในลูกหมู (weaned piglet) แต่ไม่ให้ผลเมื่อทดลองกับลูกหนู(suckling mice)ยังไม่ทราบกลไกการทำงานของ STb แต่จะไม่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการสะสมเอนไซม์อะดีนิลไซเคลสหรือ กัวนิเลตไซเคลสในมิวโคซาเซลล์ (mucosa cell) ของลำไส้ แต่อาจกระตุ้นการสร้าง โพรสตาแกลนดิน(prosupertaglandinE2)ทำให้เพิ่มการหลั่งไบคาร์บอเนตไอออน (HCO^-_3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้าง ST อยู่ในความควบคุมของพลาสมิด

ในการทำให้เกิดโรคลำพังเอนเทอโรทอกซินอย่างเดียวไม่เพียงพอ ที่จะทำให้เกิดท้องร่วงได้ แต่เชื้อจะต้องก่อติดกับผิว มิวโคซา ของเยื่อบุผิวลำไส้เล็ก ดังนั้น ETEC จะต้องสร้างพิไล หรือฟิมเบรียไปยึดกับเยื่อบุผิวลำไส้เล็ก สารที่จับกับเซลล์ของ โฮสต์ เรียกว่า fimbrial adhesins หรือ colonization factor

ระยะฟักตัวของเชื้อ ETEC กินเวลา 1-2 วัน แต่โดยเฉลี่ยกินเวลา 3-4 วัน มีอาการปวดท้อง (abdominal cramp) คลื่นไส้อาเจียน และถ่ายเหลวเป็นน้ำ โดยทั่วไปมีอาการไม่รุนแรง

ปัจจุบัน ETEC เป็นตัวการทำให้เกิดโรคตั้งแต่อาการคล้ายอหิวาต์และท้องร่วงรุนแรงในเด็กทารก จนถึงท้องร่วงอ่อนๆในผู้เดินทาง (traveller's diarrhea)โดยเกิดจากการกินน้ำและอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน และจะต้องมีเชื้อ 10^5 จึงทำให้เกิดโรคได้

1.2 Enteropathogenic *E.coli*(EPEC)

ทำให้เกิดท้องร่วงรุนแรงในเด็กแรกเกิดและเด็กทารกจนถึง 2 ขวบไม่ทำให้เกิดโรคในผู้ใหญ่*E.coli* สายพันธุ์นี้ทำให้เกิดท้องร่วงแบบเป็นน้ำ ไม่มีเลือดปน (watery diarrhea) และมีอาการไข้ คลื่นไส้อาเจียน

EPEC ไม่สร้างทอกซินทั้ง LT และST และไม่มีcolonization factor เหมือนETEC แต่พบว่ามีไซโททอกซิน คล้ายกับทอกซินที่สังเคราะห์โดย *Shigella* บางตัว จึงเรียกว่า Shiga-like toxingเชื้อ EPEC จะจับแน่นกับผิวเยื่อบุลำไส้เล็กและทำลายไมโครวิลไล (microvilli) เฉพาะที่จึงอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า *enteroadherent E.coli* แต่เชื้อนี้จะไม่บุกรุกเข้าสู่เซลล์ ความสามารถของ EPEC ที่จะจับแน่นกับผิวลำไส้เล็กเกี่ยวข้องกับพลาสมิดที่มีขนาด 55-665 ล้านดาลตัน พลาสมิดนี้จะบงการสร้างสารแอดฮีซิน (adhesin)ที่เรียกว่า EPEC adhesin (adherence) factor (EAF)

การป้องกันโรคที่เกิดจาก EPEC พบว่าไม่มีวัคซีนป้องกัน การรักษาโรคนี้โดยให้ นีโอไมซิน (neomycin) หรือเจนตาไมซิน (gentamycin) ร่วมกับการให้น้ำเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 Enteroinvasive *E.coli* (EIEC)

ทำให้เกิดโรคท้องร่วงคล้ายโรคบิดที่เกิดจาก *shigella* ถึงแม้ว่า *Shigella*จะมีความรุนแรงมากกว่า เพราะใช้เชื้อน้อยกว่าในการทำให้เกิดอาการ โรคนี้เกิดได้กับทุกวัยทั้งเด็กโตและผู้ใหญ่

เชื้อ EIEC คล้ายกับ *Shigella* ทั้งกลไกการเกิดโรคและอาการของโรค นอกจากนี้เชื้อยังไม่เคลื่อนที่เหมือน *Shigella* และ ให้ผลกับแล็กโทสเป็นลบ ทำปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับ O แอนติเจนของ *Shigella*

ปัจจัยที่ทำให้เชื้อเกิดความรุนแรงอยู่ที่ความสามารถในการบุกรุกเข้าเยื่อบุผิวลำไส้ นอกจากนี้ยังสร้าง Shiga-like toxin-I (SLT-I) และ Shiga-like toxin-II (SLT-II)อย่างไรก็ตามปริมาณทอกซินที่สร้างน้อยกว่าที่สร้างโดย *Shigella* หรือ EHEC

EIEC มีพลาสมิดขนาดใหญ่ (140 ล้านดาลตัน) อาจทำหน้าที่เกี่ยวกับการจับของเชื้อกับเซลล์ของโฮสต์ ทำให้มันบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อบุผิวลำไส้คน เมื่อบุกรุกแล้วจะเพิ่มจำนวนในเซลล์เยื่อบุผิวของไอเลียม(ลำไส้เล็ก) และโคลอน (ลำไส้ใหญ่)และเข้าทำลายเซลล์ทำให้เกิดเป็นแผล จึงทำให้ทีอาการปวดท้องมีหนองและเลือดออกในอุจจาระ

สมบัติในการบุกรุกเข้าเนื้อเยื่ออาจทดสอบโดยวิธี Sereny test โดยหยดเชื้อEIEC เข้าไปในลูกตาของหนูตะเภา เพื่อดูว่าเกิดกระจกตาและเยื่อตาขาวอักเสบ(keratoconlunctivitis) หรือไม่

การรักษาและป้องกันเช่นเดียวกับโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella*

1.4 Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC)

พบครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา *E.coli* ที่พบคือ *E.coli* O157 ที่พบมากคือ *E.coli* O157 :H7 ที่ทำให้เกิดอาการ 1.ท้องร่วงที่แตกต่างจากโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella* และ EIEC คือ ทำให้เกิดอาการตกเลือดที่ลำไส้ (Hemorrhagic colitis) มีอาการท้องเสียและปวดท้องรุนแรง อุจจาระมีน้ำมาก ต่อมามีเลือดปนมากจนถ่ายเป็นเลือด (bloody diarrhea) อาเจียน ไม่มีไข้ หรือมีไข้เล็กน้อย ระยะฟักตัว 3-9 วัน โดยทั่วไปมีอาการใน 4 วัน โดยมีอาการน้ำสะสม บวมน้ำ (submucosal edema) ลำไส้ขดงอเหมือนหัวแม่มือ มีเลือดดั่งที่มิวโคซ่า (hyperemic mucosa) โรคนี้สามารถเกิดได้กับคนทุกวัย แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนใหญ่พบในเด็กและหายเองได้นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรค 2.โรค hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งพบได้ในคนทุกวัยแต่พบมากในเด็กและทารก และเป็นสาเหตุของไตวายในเด็ก โดยผู้ป่วยจะถ่ายอุจจาระเป็นเลือดด้วยมีอาการอาเจียน เนื่องจาก ทอกซินทำลายอินโดทีเลียเซลล์ (endothelial cell) ในหลอดเลือดแดงในไต (renal arteriole) ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (hemolytic anemia) ต่อมาเกล็ดเลือดลดลง (thrombocytopenia) และไตทำงานผิดปกติ (acute renal failure)

เชื้อนี้ไม่มี LT, ST และไม่บุกรุก(invesive) เข้าเซลล์เยื่อบุผิว แต่มีทอกซินที่สามารถทำลายเวอโรเซลล์(Vero cell)ซึ่งเป็นเซลล์ไลน์ (cell line)จากเซลล์ไตลิงชนิดหนึ่ง (ลิง Afican green monkey) จึงเรียก เวอโรไซโททอกซิน (Verocytotoxin)หรือ เวอโรทอกซิน (Verotoxin) ดังนั้นอาจเรียกชื่อ *E.coli* ชนิดนี้ว่า เวอโรไซโททอกซิเจนิก *E.coli* (Verocytotoxigenic *E.coli* หรือVTEC)ทอกซินชนิดนี้ยังทีสมบัติทางแอนติเจนคล้ายกับทอกซินจาก *Shigella dysenteriae* type 1 และทำให้เป็นกลาง(neutralize) ด้วยแอนติซีรัมที่ต้าน Shigella toxin จึงเรียกทอกซินของเชื้อชนิด นี้ว่า "Shiga-like toxin" (SLT)

กลไกที่สารพิษมีผลต่อการทำงานของลำไส้นั้นเนื่องจาก "Shiga-like toxin" ประกอบด้วยหน่วยย่อย A1 ส่วนและหน่วยย่อย B5 ส่วน ส่วนย่อย B จะจับกับไกลโคลิปิด(glycolipid)ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของไมโครวิลไล แล้วปล่อยส่วนย่อยA ออกไปเพื่อยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน โดยยับยั้งที่ 60Sไรโบโซม การยับยั้งเกิดจากการที่ทอกซินไปย่อยโมเลกุลอะดีนีนออกจาก 28 S ribosomal RNAทำให้โครงสร้าง 60S ไรโบโซมเปลี่ยนแปลงไป ความสามารถในการจับกับ EF-1(Elongation factor 1) ลดลง จึงยับยั้งการจับของ aminoacyl-tRNa กับไรโบโซม นั่นคือผลของทอกซินจะไปหยุดการสังเคราะห์โปรตีนนั่นเอง จึงทำให้เซลล์ตายและหลุดลอกออกและเกิดการถ่ายเป็นเลือด

การที่EHECทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ ก็เนื่องจากมีความสามารถในการเกาะติดกับมิวโคซ่าของลำไส้ได้แล้วปล่อยสารพาออกมาทำลายเยื่อบุผิว การเกาะติดเยื่อบุผิวลำไส้ได้เนื่องจากเชื้อมีพลาสมิด (ขนาด 60 ดาลตัน)ที่บงการการสร้างฟิมเบรียแอนติเจนให้ไปเกาะติดเยื่อบุผิวลำไส้นั้น

1.5Enteroadherent *E.coli* (EAEC) หรือ Enteraggregative *E.coli* (EaggEc) หรือ Diffuse adhering *E.coli* (DAEC) (สุวดี ทิมคำ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *E.coli* กลุ่มนี้สามารถยึดเกาะบน epithelial cell line เช่น HeLa cell หรือ Hep-2ในการทำtissue culture assay เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคท้องร่วงในเด็กทารก อาการที่เกิดขึ้นคือท้องร่วง มีไข้ ครั่นเนื้อครั่นตัว อาเจียนและปวดท้อง

สรุปปัจจัยที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรงไว้ที่ตารางที่ 2.3 และสรุปโรคท้องร่วงที่เกิดจาก *E.coli* ไว้ในตารางที่ 2.4

2. ทางเดินปัสสาวะอักเสบเนื่องจาก *E.coli* (*E.coli* Urinary Tracy Infactioon)

E.coli เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดทางเดินปัสสาวะอักเสบได้บ่อยที่สุด (มากว่า 80%) ในหญิงสาว กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคได้แก่ ซีโรทัยป์ 1, 2, 4, 6, 7, 9, 15, 16, 18 และ75การที่เชื้อก่อโรคได้รุนแรงเนื่องจากการสร้างฮีโมไลซีน และเกาะติดกับเยื่อบุทางเดินปัสสาวะได้ การเกาะติดนี้เกี่ยวข้องกับพีพิไล (P pili) และแอดฮีซีน (adhesin)

ผู้หญิงมีโอกาสเป็นโรคนี้ได้มากกว่าผู้ชาย เพราะหลอดปัสสาวะ (urethra) ของผู้หญิงสั้นกว่า โดยเชื้อจะอยู่ในอุจจาระและอาจรวมกลุ่มอยู่ใกล้ช่องคลอดและรอบๆหลอดปัสสาวะทำให้เชื้อมีโอกาสเข้าไปยังกระเพาะปัสสาวะได้ ผู้ป่วยที่ได้รับการสวนหลอดปัสสาวะมีโอกาสติดเชื้อประมาณ 1% ของคนไข้ ทำให้มีแบคทีเรียจำนวนมากอยู่ในน้ำปัสสาวะ (bacteriuria) อาการจะเกิดขึ้นเมื่อเชื้อบุกรุกเข้าสู่มิวโคซา ทำให้เซลล์ตายและเกิดการอักเสบทำให้เกิดโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ (cystitis)เชื้อที่บุกรุกอาจเข้าสู่ท่อไต (ureter) เพิ่มจำนวนขึ้นในกรวยไต (renal pelvis) ทำให้เกิดโรคภาวะไตและกรวยไตอักเสบ (pyelonephritis)

3. เยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กทารก (neontal Meningitis)

E.coli และ streptococci group B เป็นสาเหตุของโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กทารกอายุ 1เดือนมากที่สุด เยื่อหุ้มสมองอักเสบที่เกิดจาก *E.coli* นี้จะเกิดจากสายพันธุ์ K1 มากที่สุด(เกือบ 90%) k1 Capsular antigen เป็นพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ที่ผิวเซลล์ การเกิดโรคเข้าใจว่าทารกได้เชื้อจากมารดาโดยผ่านทางนาโซฟาริงซ์หรือลำไส้ หลังจากเชื้อเข้าสู่กระแสเลือดจะถูกนำไปเยื่อหุ้มสมอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ปัจจัยที่ทำให้เชื้อ *E.coli* มีความรุนแรง

E.coli ที่ทำให้ท้องร่วง	ปัจจัยที่ทำให้เชื้อ *E.coli* มีความรุนแรง
Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC)	Heat-labile toxin (LT)
	Heat-stable toxin (ST)
	Colonization factors (fimbriae)
Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC)	Shiga-like toxin I(SLT-I)
	Shiga-like toxin II(SLT-II)
	Colonization factors (fimbriae)
Enteroinvasive *E..coli* (EIEC)	Shiga-like toxin I(SLT-I)
	Shiga-like toxin II(SLT-II)
	ความสามารถในการบุกรุกเซลล์เยื่อบุผิว
Enteropathogenic *E.coli* (EPEC)	สารแอดฮีซีนที่จับแน่นกับเซลล์เยื่อบุผิว
การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ	P-fimbriae
เยื่อหุ้มสมองอักเสบ	K-I capsule
Enteraggregative *E.coli* (EaggEc)	ยึดเกาะบน epithelial cell line

ที่มา: นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ (2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 โรคท้องร่วงที่เกิดจาก *E.coli*

เชื้อ	การเกิดโรค	การทำให้เกิดโรค	ตำแหน่งที่เชื้อเข้าทำลาย
Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC)	ท้องร่วงในเด็กทารกและผู้เดินทาง มีอาการถ่ายเป็นน้ำ ปวดท้อง คลื่นไส้ มีไข้ต่ำ	-มีทอกซิน LTและ/ หรือST กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ อะดีนิลไซเคลส หรือกัวนีเลตไซเคลส ทำให้ร่างกายเสียน้ำและอิเล็กโตไลต์ -มี Colonization factors	ลำไส้เล็ก
Enteropathogenic *E.coli* (EPEC)	ท้องร่วงในเด็กมีไข้ คลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลวไม่มีเลือดปน	-ไม่มีทอกซิน -ไม่บุกรุกเข้าเซลล์ -มีพลาสมิดบงการการสร้างแอดฮีซีน	ลำไส้เล็ก
Enteroinvasive *E..coli* (EIEC)	ท้องร่วงในเด็กและผู้ใหญ่คล้ายโรคบิดทำให้เยื่อบุผิวตาย มีไข้ปวดท้องมาก ถ่ายเหลวตามมาด้วยอาการโรคบิดมีมูกเลือดปน	-มีพลาสมิดบงการการบุกรุกและทำลายเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ -มีShiga-like toxin (SLT-I และ SLT-II)	ลำไส้ใหญ่
Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC)	พบในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้เกิดอาการตกเลือดที่ลำไส้ มีอาการท้องเสีย ปวดท้องรุนแรงต่อมาถ่ายเป็นเลือด ไม่มีหรือมีไข้เล็กน้อย	มีShiga-like toxiเรียกว่า Verotoxin	ลำไส้เล็ก
Enteraggregative *E.coli* (EaggEc)	ท้องร่วงในเด็กทารก อาเจียน ครั่นเนื้อครั่นตัวมีไข้ ปวดท้อง	ยึดเกาะบน epithelial cell line เช่น HeLa cell หรือ Hep-2ในการทำtissue culture assay	

ที่มา: นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ (2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของจุลินทรีย์เชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ตรวจหาที่ตรวจหา

- *Bacillus cereus*
- *Clostridium perfringens*
- *Salmonellae*
- *Staphylococcus aureus*

2.4 *Bacillus cereus*

B.cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่งมีสปอร์ เจริญได้ดีในสภาวะที่มีอากาศ ซึ่งเชื้อนี้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ 2 แบบ คือ คลื่นเหียน วิงเวียน โดยเกิดจากเอนเทอโรทอกซินที่เชื้อผลิตขึ้นระหว่างเจริญในอาหาร และเอนเทอโรทอกซินดังกล่าวสามารถทนความร้อนได้ดี ส่วนอาการอีกรูปแบบหนึ่งคือ ทำให้เกิดอาการท้องเสียซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนอยู่มากกว่า 10 เซลล์/กรัม (สุมณฑา วัฒนสินธุ์)

ความเป็นพิษ แม้ว่าเราจะพบ *Bacillus cereus* ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมานานแล้ว แต่เพิ่งจะค้นพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้ให้สารพิษ 2 ชนิดที่ออกฤทธิ์ต่างกันคือ ชนิดที่ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ (emetic type) และชนิดที่ทำให้เกิดอาการท้องเดิน (diarrhoeal type) สารพิษชนิดที่ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้เกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเข้าไป จะมีอาการของโรคอาหารเป็นพิษคล้ายๆกับสารพิษที่ได้รับจาก *S.aureus* สารพิษประเภทนี้ได้ชื่อว่าเป็นโรคภัตตาคารอาหารจีน คือ เกิดจากการนำอาหารกล่องโดยเฉพาะข้าวผัดที่เหลือจากการบริโภคกลับบ้าน เก็บไว้ในตู้เย็น จากนั้นนำมาบริโภค โดยอุ่นให้ความร้อนแต่เพียงเล็กน้อย สปอร์ของแบคทีเรียทนความร้อนจึงไม่ถูกทำลายแต่กลับจะเป็นการกระตุ้นให้สปอร์งอก การงอกของมันนำไปสู่การสร้างสารพิษขึ้น

อาการของผู้ได้รับสารพิษชนิดที่ทำให้คลื่นไส้คล้ายกับอาการที่ได้รับสารพิษของเชื้อแสตปมาก คือ เกิดอาการคลื่นไส้หลังบริโภคอาหารได้ไม่นาน จากนั้นจะอาเจียนและไม่สบาย ตามปกติอาการมักเกิดขึ้นภายในเวลา 1-6 ชั่วโมง หลังบริโภคอาหาร และมักจะหายไปหลัง 24 ชั่วโมง

อาหารที่เป็นสื่อ แหล่งการปนเปื้อนของเชื้อมักปนเปื้อนมากับวัตถุดิบพวกธัญพืช เช่น ข้าว ถั่ว แป้งที่มาจากเมล็ดธัญพืชต่างๆ ซึ่งการปนเปื้อนมักอยู่ในรูปของสปอร์ที่ติดมากับดินนอกจากนี้วัตถุดิบประเภทเครื่องเทศที่ใช้ในการปรุงรสอาหาร จะมีสปอร์ของเชื้อดังกล่าวปนอยู่ในปริมาณสูง

การควบคุม เนื่องจากแบคทีเรียจำพวกบาซิลลัสมีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม จึงมักจะปนเปื้อนในอาหารแทบทุกชนิด และก่ออันตรายขึ้นโดยที่เชื้อแบคทีเรียมีจำนวนมากหรือสร้างสารพิษขึ้นมา เพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลีกเลี่ยงปัญหานี้เราต้องหาทางควบคุมการงอกของสปอร์และป้องกันไม่ให้เกิดการงอกเป็นเซลล์มีชีวิตขึ้น (vegetative cell) ในอาหารที่ปรุงสุกแล้ว จากประวัติการระบาดปรากฏว่าปัญหาสูงสุดเกิดจากพฤติกรรมการเก็บอาหารประเภทข้าวไม่เหมาะสม การหุงข้าวครั้งละมากๆ ข้าวที่เหลือนำไปลดอุณหภูมิไม่ถูกต้องหรือใช้อุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่ต่ำพอเป็นผลให้สปอร์งอก ดังนั้น ถ้าเป็นไปได้ ในกรณีที่หุงข้าวเป็นจำนวนมาก ไม่ควรเก็บข้าวที่เหลือไว้มากๆบริโภคอีก นอกจากจะกระทำอย่างถูกต้อง คือการลดอุณหภูมิของข้าวสุกแบบรวดเร็ว แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำมากพอที่จะป้องกันการงอกของสปอร์

2.5 *Clostridium perfringens*

Cl.perfringens เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง สร้างสปอร์ เจริญได้ดีในสภาวะไร้อากาศเช่นเดียวกับสปีชีไบทูลินัม ได้ชื่อว่าเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดก๊าซในระบบทางเดินอาหาร (gas gangrene) เช่นเดียวกับเชื้อบาซิลลัส เซลล์มีชีวิตสามารถงอกได้ดี หากได้รับการกระตุ้นด้วยความร้อนในระดับปานกลาง (สุมณฑา วัฒนสินธุ์)

อาการเป็นพิษ เมื่ออาหาร(โดยเฉพาะเนื้อสัตว์)ที่มีการปนเปื้อนถูกนำมาทำให้สุก ความร้อนจะไล่ออกซิเจนที่ละลายอยู่ออกไปและชักนำให้เกิดการงอกของเซลล์ขึ้นในระหว่างที่ทิ้งอาหารไว้ให้เย็นลง นอกจากจะใช้วิธีการลดอุณหภูมิแบบรวดเร็วและเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจนกว่าจะนำอาหารไปอุ่นก่อนบริโภค แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง (15-50 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 43-47 องศาเซลเซียสโดยใช้เวลา 12 นาทีก็สามารถเพิ่มจำนวนได้เป็น 2 เท่า ถ้าผลิตภัณฑ์มีจำนวนแบคทีเรียมากกว่า 10^6 โคโลนี/กรัมของอาหาร และถูกบริโภคเข้าไปในทางเดินอาหาร แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนขึ้นและจะสร้างสปอร์ในลำไส้เล็กพร้อมๆกับปล่อยสารพิษออกมา

การเป็นพิษ สารพิษของแบคทีเรียนี้ถูกสร้างขึ้นในขณะที่แบคทีเรียสร้างสปอร์และเมื่ออับสปอร์แตกก็จะปลดปล่อยสารพิษออกมา สารพิษนี้จะทำลายเซลล์เยื่อบุผิวตรงปลายขนอ่อน (villi) ของลำไส้เล็กและยับยั้งการดูดซึมกลูโคส เป็นผลให้เสียสมดุลของอิออนสำคัญ เกิดของเหลวสะสมอยู่ในช่องท้อง และถ่ายออกมาในรูปของอุจจาระเหลว นอกจากนี้ผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้อง ตามปกติอาการจะเกิดขึ้นประมาณ 8-24 ชั่วโมงหลังบริโภคอาหาร อาการป่วยจะทรงอยู่ราว 12-24 ชั่วโมง อาจจำเป็นต้องให้การบำบัดรักษาในกรณีที่ผู้ป่วยเสียน้ำมาก

อาหารที่เป็นสื่อ อาหารประเภทเนื้อสัตว์และน้ำเกรวี่ที่ทำเพื่อบริการแก่คนเป็นจำนวนมาก เช่น ในโรงเรียน โรงพยาบาล สถานจัดบริการอาหาร โครงครัว โดยผู้ประกอบอาหารต้มเนื้อ น้ำซุปหรือน้ำเกรวี่เป็นจำนวนมาก แล้วทิ้งไว้ให้เย็นตัวลงเอง หรือเชื้อปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เช่นเนื้อหมู เนื้อไก่ เครื่องเทศเป็นต้น โดยสปอร์จะฟุ้งกระจายมากับดินหรือฝุ่นละออง และเมื่อเชื้อปนเปื้อนลงสู่วัตถุดิบสปอร์จะเจริญเป็น vegetative cell และสปอร์ ดังนั้นถ้าความร้อนที่ใช้ในการผลิตหรือปรุงอาหารไม่เพียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พอต่อการทำลายสปอร์ถึงแม้ vegetative cells จะถูกทำลายหมดไป แต่สปอร์ยังคงสามารถงอกเป็น vegetative cell ได้อีก

การควบคุม การระบาดครั้งสำคัญๆส่วนมากมาจากปัจจัยที่เกิดจากความล้มเหลวในการแช่เย็นอาหารปรุงสุกให้ถูกต้อง โดยเฉพาะการเตรียมอาหารเป็นจำนวนมาก การควบคุมจำเป็นต้องให้ความรู้แก่ผู้เตรียมอาหารให้เข้าใจและตระหนักถึงภัยที่จะเกิดขึ้นหากปฏิบัติไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะการต้มเนื้อและผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อเป็นส่วนประกอบนั้นต้องแน่ใจว่าทำให้สุกดีแล้วมีการพัฒนาเทคนิคในการทำให้อาหารเย็นลงอย่างรวดเร็ว และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม ไม่ใช่ช่วงอุณหภูมิที่เชื้อเติบโตได้ดี

2.6 *Salmonellae*

Salmonellae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เป็นเชื้อในกลุ่มเดียวกันกับเชื้ออี.โคไลอาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์และปนเปื้อนมากับเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร โดยที่เชื้อมักปนเปื้อนมากับวัตถุดิบประเภทเนื้อสัตว์ที่มาจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีสุขลักษณะที่ไม่ดี เมื่อเนื้อถูกนำไปแปรรูปต้องผ่านการปรุงสุกเพียงพอที่จะทำลายเชื้อซัลโมเนลลาให้ตายซึ่งเชื้อนี้จะไม่ทนความร้อน เชื้อจะถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 5-10 นาที (สุมณฑา วัฒนสินธุ์)

เชื้อซัลโมเนลลามีมากกว่า 2000 สปีชี่ แต่มีประมาณกว่า 100 สปีชี่ที่มีรายงานว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ เชื้อซัลโมเนลลาเมื่อถูกบริโภคเข้าไปจะผ่านกระเพาะอาหารไปยังลำไส้เล็ก แบคทีเรียจะเกาะที่เยื่อบุผนังลำไส้เล็กบริเวณส่วนกลาง ส่วนปลายและส่วนต้นของลำไส้ใหญ่ เพิ่มจำนวนมากขึ้น จากนั้นจะไชเจาะเนื้อเยื่อ เป็นผลให้เนื้อเยื่อถูกทำลายแบคทีเรียอาจเคลื่อนตัวเข้าไปอยู่ในต่อมน้ำเหลือง เกิดกลไกการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวเพื่อกำจัดแบคทีเรียทำให้เกิดการอักเสบ และการกระตุ้นสาร cAMP ออกมา เป็นผลให้มีการหลั่งของเหลวออกมามากจนเกิดอาการท้องเดินขึ้น

การเกิดโรคสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

1. กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเฉพาะกับคน ได้แก่ ***S.*Typhi** และ ***S.*Paratyphi** ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรค

ไทฟอด์และพาราไทฟอยด์

2. กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเฉพาะกับสัตว์ เช่น โรคแท้งติดต่อในสัตว์

3. กลุ่มที่ไม่มีความเฉพาะกับโฮสต์ กล่าวคือ สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งกับคนและสัตว์ ซึ่งเป็นสาเหตุ

ของการเกิดโรคที่เรียกว่า salmonellosis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96524

อาการเป็นพิษ ตามปกติแบคทีเรียใช้เวลาฟักตัว(หลังบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา จนเกิดอาการป่วยขึ้น) ประมาณ 12-36 ชั่วโมง ผู้ป่วยอาจมีไข้ และอาการจะเป็นอยู่ราว 7 วัน ระหว่างนี้จะต้องระมัดระวังในการบริโภคอาหารที่เพิ่งทำสุกใหม่ๆ เป็นอาหารอ่อนที่ย่อยง่าย จนกว่าอาการป่วยจะทุเลา บางครั้งอาการป่วยหายไปแล้วแต่เมื่อนำอุจจาระของผู้ป่วยไปตรวจอาจพบเชื้อซัลโมเนลลาอยู่อีกเป็นปีก็เป็นได้นั่นหมายถึงผู้นั้นเป็นพาหะของเชื้อซัลโมเนลลาไปแล้ว และจะเป็นอันตรายอย่างมากถ้าปล่อยให้ผู้ที่เป็นพาหะทำงานที่ต้องสัมผัสกับอาหาร เนื่องจากมีโอกาสสูงที่จะแพร่เชื้อซัลโมเนลลามาสู่อาหารละผู้บริโภค

แหล่งที่อยู่อาศัย เชื้อซัลโมเนลลาอาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์เกือบทุกชนิด โดยเฉพาะสัตว์ปีกและออกมากับอุจจาระ ปนเปื้อนในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ในดิน และในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งในน้ำเสีย และสามารถกลับเข้าสู่ทางเดินอาหารของมนุษย์ได้อีกโดยการปนเปื้อนไปกับอาหารที่มนุษย์และสัตว์บริโภค

การควบคุม เริ่มจากการควบคุมแหล่งกำเนิดของอาหาร หรือวัตถุดิบที่นำมาใช้ปรุงอาหารในสัตว์ปีก นอกจากจะควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลานับตั้งแต่ในโรงฟักแล้วยังต้องควบคุมวิธีการเลี้ยง หารและน้ำที่ใช้เลี้ยงสัตว์ปีกต้องมีคุณภาพที่เหมาะสม เพราะจะทำให้สัตว์แข็งแรงโตเร็ว เมื่อถึงเวลาฆ่าต้องมีการขนส่งไก่มายังโรงฆ่า ในขั้นตอนนี้ต้องมิให้ไก่เกิดความเครียดขึ้น เพราะจะทำให้เชื้อซัลโมเนลลาแพร่กระจายและยากแก่การควบคุม ก่อนฆ่าต้องผ่านการตรวจสุขภาพโดยสัตว์แพทย์ วิธีการฆ่าต้องถูกสุขลักษณะและสอดคล้องตามกรรมวิธีผลิตที่ดี ผ่านการปฏิบัติในการแปรรูปอย่างถูกหลักการสุขาภิบาลบรรจุ เก็บรักษาถูกต้องและเมื่อนำไปปรุงสุกต้องใช้อุณหภูมิและเวลาที่เพียงพอ จนแน่ใจว่าเชื้อซัลโมเนลลาได้ถูกทำลายจนหมดแล้ว ผู้สัมผัสอาหารต้องผ่านการตรวจสุขภาพและไม่เป็นพาหะของเชื้อ ต้องผ่านการฝึกอบรมจนสามารถทำหน้าที่ได้อย่างถูกต้องไม่เป็นตัวการแพร่เชื้อ และต้องมีการป้องกันการปนเปื้อนข้ามด้วย (cross-contermination)

2.7 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus จัดอยู่ในตระกูล*ไมโครค็อกคาซี* (Micrococcaceae) เชื้อมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม แกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.5 ไมโครเมตร เมื่อแบ่งเซลล์จะติดกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์)

อาการที่เป็นพิษ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข เนื่องจากเป็นเชื้อสาเหตุสำคัญที่พบบ่อยที่สุดของการติดเชื้อในคน และสามารถทำให้เกิดโรคได้เกือบทุกระบบของร่างกาย การกำจัดแหล่งแพร่เชื้อกระทำได้ค่อนข้างยากเนื่องจากมีแหล่งสะสมเชื้อที่สำคัญ คือ มนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้จะก่อให้เกิดโรคต่างๆ คือ โรคในระบบทางเดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร และโรคอาหารเป็นพิษ โดยสารพิษจากเชื้อนี้จะมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และระบบกล้ามเนื้อที่อยู่นอกอำนาจการควบคุมของจิตใจ อาการของโรคจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารพิษเข้าไปแล้วประมาณ 4-6 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการน้ำลายออกมามากผิดปกติมีอาการคลื่นไส้ ท้องร่วง ปวดท้อง เป็นตะคริวที่ท้อง ชักกระตุกในบางครั้ง และถ้าเป็นมากอาจถึงเป็นลม บางรายมีมูกเลือดในอุจจาระ ปวดศีรษะ เหงื่อออก หนาวสั่น อ่อนเพลีย มีไข้ต่ำ ๆ อาการจะเป็นอยู่ประมาณ 1-2 วัน ก็หายโดยไม่ต้องรักษาอัตราการตายต่ำมาก ในรายที่มีอาการมากอาจต้องให้น้ำเกลือ ปริมาณเอ็นเทอโรทอกซินต่ำสุดที่มีผลทำให้ร่างกายเกิดอาการต่าง ๆ คือ ประมาณ 1 ไมโครกรัมต่ออาหาร 100 กรัม

แหล่งที่อยู่อาศัย แสตปเป็นแบคทีเรียที่มีแหล่งกำเนิดอยู่ตามฝีหนอง สิว บาดแผลที่อักเสบ ปนเปื้อนมากับอาหารที่มีการสุขาภิบาลที่ไม่ดี หรือซ่อนอยู่ตามผิวหนัง ผม ขน ของมนุษย์และสัตว์ ผู้เตรียมอาหาร สัมผัสและ/หรือจัดบริการ เคลื่อนย้ายอาหารจึงมีโอกาสแพร่เชื้อสแตปมาสู่อาหารได้มาก แม้เพียงพฤติกรรมของมนุษย์ที่ชอบล้วง แคะ แกะ เกาส่วนต่างๆ ก็เสี่ยงต่อการแพร่เชื้อได้เหมือนกัน เชื่อกันว่าการให้ความรู้ในเรื่องสุขวิทยาส่วนบุคคล มาตรการออกข้อบังคับที่เข้มงวด และการตรวจสอบเอาใจใส่เพื่อให้พนักงานมีพฤติกรรมที่พึงประสงค์เป็นพิเศษ จะช่วยลดความเสี่ยงจากเชื้อนี้ได้

การปนเปื้อน การปนเปื้อนของ *S. aureus* ในโรงงานผลิตอาหารมักเกิดจากการจัดการเกี่ยวกับสุขาภิบาลโรงงานที่ไม่ดี คนงานหรือบุคคลที่เกี่ยวข้องกับการผลิตมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดี ทำให้โอกาสที่เชื้อนี้จะปนเปื้อนลงไปยังอาหารที่ผลิตเป็นไปได้สูง ได้แก่ ปนเปื้อนในน้ำที่ทำการผลิต วัตถุดิบ เครื่องจักร อุปกรณ์ ภาชนะบรรจุ และในผลิตภัณฑ์หลังฆ่าเชื้อก่อนจำหน่าย และหากพบการปนเปื้อนในปริมาณที่สูงจะทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคเนื่องจาก enterotoxin ที่สร้างขึ้นมาจะสามารถทนความร้อนได้สูง โดยชนิดของอาหารที่ผลิตเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสร้างสารพิษ ซึ่งจะพบมากในผลิตภัณฑ์เนื้อได้มีการทดลองพบว่าการต้มที่เวลา 20-60 นาที หรือเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อจะไม่สามารถทำลายประสิทธิภาพของสารพิษนี้ได้เพียงแต่จะลดลงเท่านั้น อาหารที่พบเชื้อนี้สูงจะเป็นอาหารที่มีโปรตีนและ pH สูงและค่า Aw สูงกว่า 0.85 เช่น อาหารประเภทนม ผลิตภัณฑ์นม ไข่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ปลาและผลิตภัณฑ์ปลา และอาหารที่ต้องใช้มือสัมผัสมากๆ เช่น การปั้นหรือหั่น เนื้อสัตว์ เนื้อปลาและสัตว์ทะเลอื่นๆ จะเกิดการเน่าเสีย เนื่องจากเอนไซม์ภายในตัวเอง (autolysis) และเกิดจากแบคทีเรียซึ่งปนเปื้อนจากอวัยวะภายในสัตว์เอง และจากสภาพแวดล้อมภายนอก หรือเกิดจากทั้งสองสาเหตุ แต่การล้างทำความสะอาดจะช่วยลดแบคทีเรียต่าง ๆ ประกอบกับการควบคุมอุณหภูมิจะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ มีการพบว่า *Staphylococcus aureus* ที่แยกได้จากเนื้อดิบจะสร้างสารพิษชนิด A , B , C , E น้อย แต่จะสร้างสารพิษชนิด D มากกว่า *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อและอาหารทะเลต้มสุก ซึ่งสารพิษจาก *S. aureus* ที่ได้จากคนจะเป็นชนิดเดียวกับที่พบในเนื้อและอาหารทะเลต้มสุก อาหารที่ต้มสุกแล้วและต้องมีการผ่านกระบวนการให้ความร้อนอีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

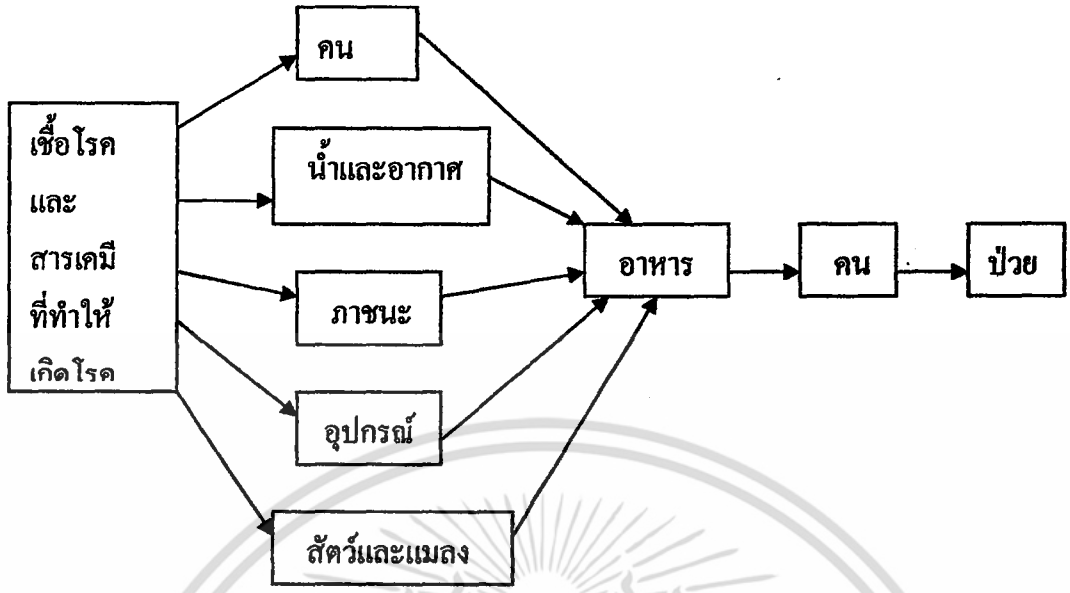
ก่อนการบริโภค เช่น ลูกชิ้น มีโอกาสที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้เหมือนกับอาหารอื่น ๆ ที่ไม่ได้เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหลายชั่วโมง และเมื่อเกิด enterotoxin ในอาหารแล้วความร้อนจะไม่สามารถทำลายสารพิษเหล่านี้ได้

การควบคุม นอกจากการเอาใจใส่ดูแลเกี่ยวกับสุขวิทยาส่วนบุคคลแล้ว การตรวจสุขภาพสัตว์โดยเฉพาะโค ก่อนรีดนมจะช่วยลดความเสี่ยงจากเชื้อแสตปได้ สำหรับผู้ขายอาหารปรุงสำเร็จแบบแผงลอยหรือแบบล้อเลื่อนต้องระมัดระวังมิให้ฝุ่นละอองและจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหาร ห้ามไอหรือจามลงในอาหาร กรณีเป็นแผล ต้องรักษาแผลและปิดพลาสเตอร์ให้มิดชิด ในขณะเป็นหวัดถ้าจำเป็นต้องขายอาหาร ให้มีผ้าปิดปาก อาบน้ำทุกวัน สวมหมวกคลุมผม และตัดเล็บให้สั้น หลีกเลี่ยงการใช้มือหยิบอาหารโดยตรง ล้างมือทุกครั้งหลังเข้าห้องน้ำหรือหยิบจับต้องสิ่งของอื่นก่อนใช้มือสัมผัสอาหาร พึงระวังการปนเปื้อนข้ามจากอาหารดิบไปยังอาหารสุก เก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิถูกต้อง การอุ่นอาหารให้ร้อนจะต้องอุ่นที่อุณหภูมิที่สูงกว่าที่ใช้บ่มเพาะเชื้อแบคทีเรีย(สูงกว่า 60 องศาเซลเซียส) รักษาความสะอาดสถานที่ผลิตและจำหน่ายอาหาร ห้ามเลี้ยงสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัขและแมว

2.8 วิธีการแพร่กระจายเชื้อโรคไปสู่คน

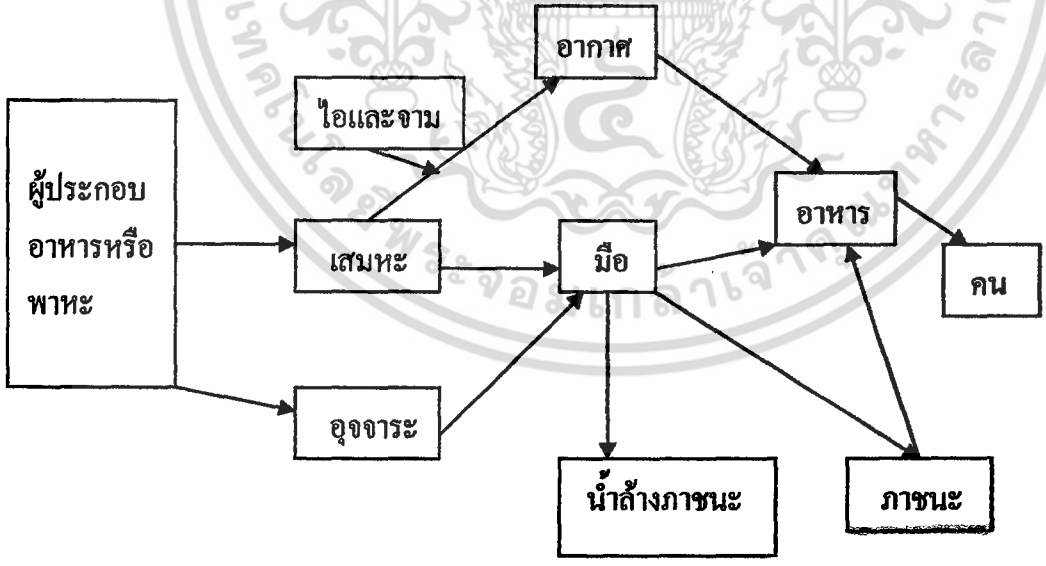
การติดต่อของเชื้อโรคในกลุ่มที่เป็น sanitary และ pathogen จะติดไปกับอาหารได้หลายทางเช่น ติดไปทางคน ,น้ำ,อากาศ, อุปกรณ์,ภาชนะ,สัตว์และแมลงต่างๆ จากนั้นก็ลงสู่อาหาร ดังแสดงในรูปที่ 2.1 และ 2.2 ทางที่มีการแพร่มากที่สุดคือจากผู้ประกอบอาหารไปสู่ผู้บริโภค โดยผู้ประกอบอาหารมีสุขลักษณะที่ไม่ดี ไอจาม ใส่อาหารหรือใช้มือปิดปากเวลาไอแล้วไม่ล้างมือก่อนที่จะจับอาหาร เชื้อโรคก็จะติดจากมือลงสู่อาหาร หรือจากผู้ประกอบอาหารที่เป็นพาหะ นำโรค หลังจากเข้าห้องน้ำแล้วไม่ล้างมือหรือล้างไม่สะอาดแล้วไปจับภาชนะ หรืออาหารก็จะทำให้เชื้อโรคติดไปกับอาหารได้เมื่อผู้บริโภคอาหารที่มีเชื้อโรคเข้าไปก็จะทำให้เจ็บป่วย ซึ่งความรุนแรงของอาการจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโรคที่ติดไปกับอาหารว่าเป็นกลุ่มใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงวงจรการติดต่อของโรคเนื่องจากอาหารไม่สะอาด

ที่มา: ศรีธวัช จาติเกตุ. 2534.



รูปที่ 2.2 การแพร่เชื้อโรคจากผู้ประกอบการค้าอาหารไปสู่ผู้บริโภค

ที่มา: ศรีธวัช จาติเกตุ. 2534.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

2.9 วิธีการป้องกันเพื่อมิให้จุลินทรีย์ต่างๆ ปนเปื้อนในอาหาร อาจทำได้โดย(ศิวาพร ศิวเวชช,2536)

1. ควรมีการทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือเครื่องใช้ด้วยกรรมวิธีที่ถูกต้อง ซึ่งรวมถึงการเลือกใช้ชนิดของ detergent ให้เหมาะสมด้วย
2. วัตถุดิบที่จะนำมาประกอบอาหาร ควรจะสะอาดปราศจากการปนเปื้อน เช่น เนื้อสัตว์ที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ ควรจะผ่านการตรวจสอบจากเจ้าหน้าที่สัตวแพทย์เสียก่อน หรือวัตถุดิบอื่นก็ต้องมีการทำความสะอาดอย่างถูกวิธีก่อนนำไปแปรรูป
3. ควรจะมีการแยกส่วนประกอบของอาหารที่ทำการประกอบอาหารและอาหารที่ปรุงสุกเพื่อป้องกันการปนเปื้อนที่อาจจะเกิดขึ้นได้
4. อุณหภูมิที่จะใช้ในการแปรรูปอาหาร ควรจะมีการใช้ให้ถูกต้องและอย่างระมัดระวัง ส่วนประกอบของอาหารบางชนิดที่จำเป็นจะต้องใส่ห้องเย็นในระหว่างรอการแปรรูปก็ควรจะต้องเก็บในห้องเย็น
5. พนักงานควรจะต้องมีสุขวิทยาส่วนบุคคลที่ถูกต้อง มีการล้างมือให้สะอาด หลังกลับจากห้องน้ำ เมื่อทำงานอย่างหนึ่งเสร็จควรจะมีการล้างมือให้สะอาด ก่อนจะเริ่มงานใหม่และไม่ควรให้คนที่เป็นพาหะของโรคมาทำการประอาหาร เป็นต้น
6. ควรมีระบบการกำจัดของเสียและขยะที่ดีและถูกต้อง
7. มีการควบคุมสัตว์พวกสัตว์เลี้ยง สัตว์แทะ แมลง นก ไม่ให้เข้ามาเพ่นพ่านในละแวกที่ทำการประกอบอาหารและขายอาหาร

   ซึ่งถ้าหากสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วมาให้ถูกต้องได้ การปนเปื้อนต่างๆ ที่เกิดขึ้นก็จะลดลง

2.10 การปฏิบัติตนระหว่างทำการเสิร์ฟและปรุงอาหาร (ศรีธวัช จาติเกตุ. 2534.)

1. เวลาไอหรือจาม ควรใช้ผ้าปิดปากและเบนห่างหรือยืนห่างจากอาหารที่ปรุงสุกแล้ววางอยู่ จากการทดลองน้ำลายจะฟุ้งกระจายไปได้ไกลอย่างน้อยระหว่าง 9 ถึง 15 ฟุต และมีฝอยละอองประมาณ 20,000 หยด
2. ห้ามสูบบุหรี่และคุย ในขณะที่กำลังเตรียมอาหาร เพราะการคุยกันนี้ละอองน้ำลายและเสมหะจะกระเด็นไปได้ไกล อย่างน้อย 3 ฟุต เมื่อต้องการสูบบุหรี่ต้องออกไปสูบบุหรี่ตามสถานที่กำหนดให้ เมื่อกลับเข้ามาจะต้องล้างมือให้สะอาดก่อนลงมือปฏิบัติงาน
3. ห้ามมิให้ใช้นิ้วแตะหรือจิ้มอาหารเพื่อชิม ควรใช้ช้อนส้อมสำหรับชิมต่างหาก
4. การจับต้องอาหาร ขนมหวาน ควรใช้ภาชนะช้อนส้อม หยิบแทนมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ระหว่างปรุงอาหารหรือเสิร์ฟอาหาร ห้ามมิให้ใช้มือสั่งน้ำมูก เกาศีรษะจับเส้นผมหวีแต่งผม เกาหรือแกะแผล ไม่จับต้องใบหน้าหรือบริเวณอื่นใดของร่างกาย
6. ผู้ปฏิบัติงานควรรับทำหน้าที่ของตนโดยเฉพาะ เช่น ผู้มีหน้าที่รับเงินไม่ควรมาจับต้องอาหาร ผู้เสิร์ฟอาหารและปรุงอาหารไม่สมควรที่จะต้องไปล้างชาม เป็นต้น
7. การจับต้องภาชนะหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการปรุงอาหาร เช่น จาน ชาม ช้อนแล้ว จะต้องจับให้ถูกหลัก มิให้ใช้นิ้วมือสัมผัสหรือจับปากแก้ว การจับจานจะต้องจับที่ขอบจาน เป็นต้น
8. อุปกรณ์ที่ใช้ปรุงอาหารและเตรียมปรุงอาหาร เช่น เขียง มีด ควรใช้แยกกัน คือ ชุดหนึ่งใช้สำหรับอาหารดิบ และอีกชุดหนึ่งใช้สำหรับอาหารที่ปรุงสุกแล้ว

2.11 การรักษาความสะอาดของอาหารที่ประกอบแล้ว(ศรีธวัช จาติเกตุ. 2534.)

1. อาหารที่จะนำมาประกอบ จะต้องสะอาดและสดหรือแช่แข็งไม่มีกลิ่นหรือใกล้จะเสีย
2. ไม่มีแมลงวันตอมหรือมดขึ้น
3. อาหารที่ประกอบเสร็จแล้ว
   - ถ้าจะนำไปจำหน่าย ควรจะมีการปกปิดด้วยพลาสติก แผ่นอลูมิเนียมหรือมีฝาปิดมิดชิด
   - การเก็บไว้ในถาด เพื่อเก็บเป็นอาหารสำรอง จะต้องปกปิดด้วย
   - ถ้าเป็นอาหารเป็นจานๆ เช่น สลัด ควรปกปิดด้วยแผ่นพลาสติก
   - การทำอาหาร ต้องล้างมือให้สะอาดก่อนจะทำงาน เขียงและมีดต้องล้างให้สะอาด อาหารปรุงสุกแล้วยังไม่ได้ส่งไปขาย จะต้องเก็บไว้ในห้องเย็น ขณะขายจะต้องอุ่นให้ร้อนอยู่เสมอโดยให้มีอุณหภูมิต่ำสุดที่ 60 องศาเซลเซียส
4. ไม่เก็บอาหารสดและสุกแล้วในถาดเดียวกัน
5. การเก็บอาหารที่ประกอบแล้วไว้ในห้องเย็น จะต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้
   - ห้องเย็นต้องมีความเย็นระหว่าง 0-7 องศาเซลเซียส
   - ประตูต้องปิดให้สนิทตลอดเวลา มือจับที่ประตูต้องสะอาด
   - ถ้าใช้ถังแช่น้ำแข็งต้องสะอาด และมีภาชนะใส่วัตถุดิบที่ปิดมิดชิดและสะอาด แยกเป็นสัดส่วน
6. ถ้าติดตั้งเครื่องทำความเย็นชนิดแขวนเพดาน ต้องระวังเรื่องน้ำหยด
7. อย่าเก็บอาหารไว้ใต้เครื่องทำความเย็น น้ำจะหยดลงอาหาร
8. อย่าวางอาหารบนพื้นห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. อาหารทุกชนิดที่ผลิตแล้ว นำไปเก็บที่ห้องเย็นจะต้องเขียนวันที่ไว้ที่ภาชนะหากเกินกว่า 3 วันต้องเททิ้งทั้งหมด

2.12 ผลของการมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการสุขาภิบาลร้านอาหาร(ศิวาพร ศิวเวชช,2536)

การมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในอาหาร มีผลต่อผลิตภัณฑ์อาหารและผู้บริโภค ดังนี้คือ

1. เป็นสาเหตุทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

การมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหาร เป็นสาเหตุให้อาหารเกิดการเน่าเสียได้ ซึ่งลักษณะของการเน่าเสียนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอาหารที่เกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมานั้น จะพบบ่อยกว่าการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่พบ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร เป็นต้น ซึ่งการจะมีลักษณะเปลี่ยนแปลงเช่นไรนั้นจะขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเป็นสำคัญ

1.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี เนื่องมาจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีเอนไซม์ชนิดต่างๆ แตกต่างกันออกไป บางชนิดอาจมีอะไมเลส บางชนิดอาจมีโปรตีนหรือไลเปส เป็นต้น ฉะนั้นถ้าหากผลิตภัณฑ์อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต มีจุลินทรีย์ประเภทที่มีอะไมเลสปนเปื้อนมา จุลินทรีย์ที่กล่าวจะปล่อยอะไมเลสมาย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตให้เป็นโมเลกุลเล็กลง หรือถ้าเป็นจุลินทรีย์ที่มีไลเปสก็จะย่อยสลายอาหารประเภทไขมันให้เป็นกรดไขมัน ซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลง เป็นต้น การย่อยสลายโดยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ต่างๆ ที่กล่าวมาแล้ว พบว่าจะแตกต่างกันในระหว่างสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนด้วย เช่น การย่อยสลายของโปรตีนในสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่ด้วยนั้น โปรตีนจะถูกย่อยไปเป็นสารประกอบที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารสารประกอบที่มีกลิ่นไม่ดี เป็นต้น

2. เป็นสาเหตุให้อาหารเป็นพิษ

ดังที่ทราบกันแล้วว่า การมีอาการผิดปรกติหรือมีโรคระบาดต่างๆ เกิดขึ้นนั้น มักจะมีสาเหตุเนื่องจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ การบริโภคอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะหรืออาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์หรือสารพิษของจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ก็เช่นกัน ที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผิดปรกติขึ้นในผู้บริโภคได้ อาการผิดปรกติต่างๆ ที่พบเนื่องจากมีการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนตามที่กล่าวมาแล้ว ได้แก่ โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งรวมถึงอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเดิน บางจุลินทรีย์อาจทำให้มีอาการเวียนศรีษะ มึนงง และมีไข้ด้วย หรืออาการอัมพาต เห็นภาพไม่ชัดหรือภาพซ้อน และขากรรไกรแข็ง เป็นต้น และถ้ามีจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเป็นไวรัส ก็อาจทำให้เกิดโรคไวรัสตับอักเสบได้ เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์หรือสารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะทำให้เกิดอาการผิดปรกติไม่เหมือนกัน จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อการสุขาภิบาลของร้านอาหาร

2.13 ค่ากำหนดการควบคุมคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของอาหารและการสุขาภิบาลอาหารสุกทั่วไป ตามประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ลงวันที่ 24 สิงหาคม 2536 กำหนดไว้ว่า (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ลงวันที่ 24 สิงหาคม 2536)

อาหารสุกทั่วไปได้แก่ อาหารปรุงสำเร็จ (ประเภทข้าวแกง)

กลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะอาหาร

- มีจำนวนจุลินทรีย์รวมต่อกรัม น้อยกว่า 1×10^6 CFU/g
- มี MPN Coliforms และ MPN faecalcolifrom ต่อกรัม น้อยกว่า 500
- มี MPN *E. coli* ต่อกรัม น้อยกว่า 3

กลุ่มจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

- *S.aureus* cfu/g น้อยกว่า 100 cfu/g
- *B.cereus* cfu/g น้อยกว่า 100 cfu/g
- *Cl.perfringens* / 0.01g ไม่พบ
- *Salmonella spp.* / 25g ไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. Autoclave	HVE-25	Hirayama
2. ตู้อบลมร้อน	D-63456 Hanau	Kendro
3. ตู้บ่มเชื้อ	GTR0214	Memmert
4. Water bath		Memmert

5. Auto pipette ขนาด 1000 µl
6. Auto pipette ขนาด 100 µl
7. Pipette ขนาด 5 ml.
8. จานเพาะเชื้อ sterile
9. หลอดทดลองขนาด 13x100 mm
10. หลอดทดลองขนาด 16x150 mm
11. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
12. แท่งแก้วรูปตัว L
13. Loop
14. Needle

3.2 สารอาหาร

1. Lauryl sulphate trytose broth (LSTB)
2. EC-broth
3. 2% Brilliant green lactose bile broth (2 %BGLB)
3. Eosin methylene blue (EMB) agar
4. Tryptone broth
5. MR-VP medium
6. Simmon citrate broth
7. Peptone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. Rabbit plasma

10. Brain heart infusion (BHI) broth

11. Cooked Meat (CM)

12. Tryptose-sulfite0cycloserine(TSC) agar + egg yolk emulsion

13. Cl.perfringens diagnostic antitoxin A

14. Mannitol-egg yolk-polymyxin (MYP) agar

15. Trypticase soy-sheep blood agar

16. Trypticase soy broth (TSB)

17. Tetrathionate broth (TTB) + Iodine solution

18. Selenite cystine broth (SCB)

19. Salmonella-Shigella (SS) agar

20. Xyolse-Lysine-Desoxycholate (XLD)

21. Triple Sugar Iron (TSI) agar slant

22. Lysine-Indole-Motility (LIM) medium

23. Trypticase soy agar (TSA)

24. Agglutinating anriserum (pllyvalent) A-67

3.3 ตัวอย่างอาหารที่ทำการสุ่มตรวจ

1.ไข่พะโล้

2. แกงเขียวหวานไก่

3. ผัดเครื่องใน

4.ไก่ผัดขิง

5. แกงจืดผักกาดดอง

6. ขนมจีน

7. ลาบหมู

3.4 สถานที่ทำการสุ่มตัวอย่าง

1.โรงอาหารภายในสถาบันฯ

2. บริเวณรอบๆสถาบัน

- ซอยจินดา
- Food lion ซุปเปอร์มาร์เก็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5วิธีดำเนินการทดลอง (อดิศร เสวตวิวัฒน์ , 2545)

1.วิธีการทดลองหา Total plate count

นำตัวอย่างอาหารที่เตรียมไว้มาชั่งใส่ถุง stomacherโดยวิธี aceptic techique ปริมาณ 25 กรัม นำ diluentปริมาณ 225 ml ที่เตรียมไว้แล้วมาเทลงในถุง stomacherจากนั้นเอาไปตีปั่นด้วย stomacher จะได้เป็น Dilution ที่ 10^{-1}ถ่าย Dilution ที่ 10^{-1} ลงใน หลอดทดลองที่มี diluent จำนวน 9 ml.จะได้ตัวอย่างอาหารdilutionที่ 10^{-2} และ 10^{-3}นำตัวอย่างอาหารที่ dilution 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ปิเปตมาอย่างละ 1 mlใส่ลงใน plate ที่ปลอดเชื้อ แล้วนำ PCA agar ที่ caveแล้วเทลงใน plate แล้วทำการ pour plateจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัวแล้วนำเข้าตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยรายงานในหน่วยของ CFU/g

2.วิธีการทดลองหาเชื้อ Coliform

นำตัวอย่างอาหารที่เตรียมไว้มาชั่งใส่ถุง stomacherโดยวิธี aceptic techique ปริมาณ 25 กรัม นำ diluentปริมาณ 225 ml ที่เตรียมไว้แล้วมาเทลงในถุง stomacherจากนั้นเอาไปตีปั่นด้วย stomacher จะได้เป็น Dilution ที่ 10^{-1}ถ่าย Dilution ที่ 10^{-1} ลงใน หลอดทดลองที่มี diluent จำนวน 9 ml.จะได้ตัวอย่างอาหารdilutionที่ 10^{-2} และ 10^{-3}ถ่ายตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางลงใน LSTBระดับความเจือจางละ 3 หลอดๆ 1 ml. บ่มที่ T 33-35 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชม.เขี่ยเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซของ LSTBลง EC-broth ระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มใน waterbath ที่ T 44.5 $^{\circ}$Cเป็นเวลา 48 ชม. และ 2 %BGLBระดับความเจือจางละ 3 หลอดบ่ม ที่ T 35-37 $^{\circ}$Cเป็นเวลา 48 ชม. นับจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ ไปอ่านค่า MPN ในตารางที่ 1จะได้ค่าMPN ของ faecal coliform และ ค่า MPN ของ coliform

3 วิธีการทดสอบหาเชื้อ *E.coli* ตามวิธีของ AOAC

ใช้ loop แตะเชื้อที่ให้ผลบวก (เกิดก๊าซ)จากหลอดของ EC-broth หรือ BGLB นำมาเขี่ยบน EMB ager บ่มเชื้อที่ 35-37 $^{\circ}$C 18-24 ชม.เลือก โคโลนีที่มีลักษณะ สีเข้มคล้ำ อาจมีเงาหรือไม่มีก็ได้นำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี IMViC test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

Positive Tubes				Positive Tubes				Positive Tubes				Positive Tubes			
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	<3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	15	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	125
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	15	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

ที่มา: BAM (1990) โดย อดิศร เสวตวิวัฒน์ (2538)

4. การทดสอบ IMViC test

1 ทดสอบ Indole

จากโคโลนีที่สงสัยถ่าย 1 loop ลง Trytophan brothบ่มที่ T 35-37°C นาน 24 ชม.เติม Kovac 0.2-0.3 ml.ประเมินผล ให้ผล + จะเกิดสีแดงบนส่วนบนของ Trytophan broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 ทดสอบ Methyl red และ acetoin (MR-VP)

จากโคโลนีที่สงสัยถ่าย 1 loop ลง MR-VP โดยแบ่งเชื้อจากอาหาร MR-VPมา3 ml.เพื่อทำการทดสอบMRโดยเติม Methyl red 2-3 หยดอ่านผลทันทีถ้าเป็น ml. ผล +จะให้ผลสีแดง และแบ่งเชื้อจากอาหาร MR-VPมา 0.7 ml. เติม 0.1% creatine KOH 0.1 ml เติม 5 % α-napthol ในalcohol 0.1 ml. ทิ้งไว้ 2 ชม.ผล+ ให้ผลสีชมพู

3 ทดสอบ citrate

จากโคโลนีที่สงสัยถ่าย 1 loop ลง simmon citrate agarบ่มที่ T 35-37 °C นาน 48 ชม. ผล + จะให้ผลสีน้ำเงิน

5. วิธีการทดลองหาเชื้อ*Bacillus cereus*

1 การตรวจนับเชื้อโดยวิธี spread plate technic

เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อเทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacherทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตรดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในจานเพาะเชื้อ MYP agar ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจาน คว่ำจานเพาะเชื้อแล้วนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะดังนี้ คือ โคโลนีสีชมพู เนื่องจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถ หมักย่อยน้ำตาล mannitol ให้เป็นกรดได้ โคโลนีที่เจริญบนอาหารนี้จึงยังคงมีสีชมพู เหมือนกับสีของอาหารเพาะเลี้ยง เชื้อดั้งเดิมมี opaque zone รอบโคโลนี เนื่องจากเชื้อดังกล่าวมีเอนไซม์ lecithinase เช่นเดียวกับ ***S.aureus*** และ ***Cl.perfringens*** ดังนั้น เมื่อเชื้อเจริญบนอาหารเพาะเชื้อ MYP agar ซึ่งมีส่วนผสมของ egg yolk อยู่ เอนไซม์ lecithinase จะไปทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดง ทำให้เกิดตะกอนขุ่น (opaque zone) รอบๆโคโลนีของเชื้อ คล้าย ***S.aureus*** และ ***Cl.perfringens*** แต่สีของ opaque zone จะยังคงเป็นสีชมพู เหมือนเดิมเหมือนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกันนำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการตรวจยืนยันโดยดูปฏิกิริยา hemolytic activity test เพื่อดูการสลายเม็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือดแดงของแกะบนอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของเลือดแกะ (blood agar)นับจำนวนโคโลนีที่ให้ผลการทดสอบ hemolytic positive ไปคำนวณหาปริมาณของเชื้อ ***B.cereus*** ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

3. การทดสอบการทำปฏิกิริยา hemolytic activity test

แบ่งจานเพาะเชื้อออกเป็น 6 หรือ 8 ส่วน เท่าๆกัน ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีของเชื้อที่สงสัยว่าเป็น B.cereus บน MYP agar ให้เชื้อติดที่ปลายเข็มเพียงเล็กน้อยนำเชื้อที่ติดอยู่ปลายเข็มไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy sheep blood agar โดยแตะเชื้อลงบนผิวของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าว (1ช่องต่อเชื้อ 1โคโลนี)คว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งหมดแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24ชั่วโมง ดูผลปฏิกิริยา hemolytic positive ซึ่ง ***B.cereus*** จะให้ผลดังนี้ คือรอบๆโคโลนีของเชื้อจะมี ลักษณะที่เรียกว่า clear zone ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างที่เชื้อเจริญบนอาหารเพาะเลี้ยง ดังกล่าว เชื้อจะสร้างเอนไซม์ hemolycin ซึ่งเอนไซม์ที่ ***B.cereus*** ผลิตขึ้นนี้จัดว่าเป็น strongly hemolysin จะมีผลในการสลายเม็ดเลือดแดงของแกะซึ่งเป็นส่วนผสมอยู่ในอาหาร เพาะเลี้ยงเชื้อ จึงมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงที่อยู่ใต้และรอบๆโคโลนีสลาย ดังนั้นรอบโคโลนีของเชื้อจะใส (clear zone) เป็นวงกว้าง 2-4 มิลลิเมตร นับจากขอบโคโลนีซึ่งลักษณะรอบโคโลนีที่ใสนี้อาจเรียกว่า beta-hemolytic แต่ถ้าเป็นเชื้อในกลุ่มอื่นที่ให้ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกับ ***B.cereus*** บน MYP agar เช่น ***B.thuringensis*** และ ***B.anthracis*** การเกิด hemolysis จะให้ผลแตกต่างจาก ***B.cereus*** กล่าวคือ ***B.thuringensis*** จะให้ผล beta-hemolytic เช่นเดียวกับ ***B.cereus*** แต่clear zone รอบโคโลนีของเชื้อจะน้อยกว่า ***B.cereus*** (ประมาณ 1-2 มิลลิเมตร) ทั้งนี้เนื่องจาก ***B.thuringensis*** จะผลิตเอนไซม์ hemolysin ได้เพียงเล็กน้อย (weakly hemolysin) ส่วน ***B.anthracis*** จะไม่มี clear zone รอบๆโคโลนี เนื่องจากว่าเชื้อดังกล่าวไม่สามารถผลิตเอนไซม์hemolysin ได้

6 วิธีการทดลองหาเชื้อ*Clostridium perfringens*

1. การหาปริมาณโดยวิธี direct plate count

เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อเทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacherทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตรดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในจานเพาะเชื้อ TSC+egg yolk agar ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตรใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจาน ควำ่จานเพาะเชื้อนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน Anaerobic jar เพื่อขจัดออกซิเจนออก จาก Anaerobic jarนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37° c เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำและมีโซนขาวขุ่นรอบๆโคโลนี (opaque zone) เนื่องจาก lecithinase positive เหมือนกับ ***S.aureus*** นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการทดสอบยืนยัน โดยการทำปฏิกิริยาที่เรียกว่า Nagler reaction test

2. การทดสอบปฏิกิริยา Nagler reaction test

แบ่งครึ่งจานเพาะเชื้อ TSC+egg yolk agar ที่ผิวหน้าวุ้นไม่มีหยดน้ำ หยด ***CL.perfringens*** diagnostic antitoxin A ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSC+egg yolk agarใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ย antitoxin A ให้ทั่วครึ่งจานเพาะเชื้อจนแห้ง แบ่งเส้นผ่านครึ่งของจานเพาะเชื้อ 5-6 เส้นใช้ลูบหรือเข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น ***CL.perfringens*** มาทำการทดสอบ Nagler reaction test โดยลากเชื้อให้เป็นเส้นตรงบนจานเพาะเชื้อ TSC+egg yolk agar ที่มี antitoxin A จากด้านที่ไม่มี antitoxin A ไปยังด้านที่มี antitoxin A เส้นละ 1 โคโลนีนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดใส่ใน anaerbic jar แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37° c เป็น เวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลของปฏิกิริยา nagler reaction โดยดูการเกิด opaque zone ของเชื้อซึ่งในด้านที่ไม่มี antitoxin A จะมีเชื้อเจริญตามเส้นที่ลาก และมี opaque zone เกิดขึ้นตามแนวที่ลาก ส่วนด้านที่มี antitoxin A จะเห็นเชื้อเจริญตามแนวที่ลาก แต่ไม่มี opaque zone เกิดขึ้น ทั้งนี้ เนื่องจาก antitoxin A จะยับยั้งการสร้างเอนไซม์ lecithinase ของเชื้อ ***CL.perfringens*** type A รายงานผลโคโลนีที่ให้ลักษณะดังกล่าวว่าเป็น ***CL.perfringens*** type A แต่ถ้าด้านที่มี antitoxin A มีเชื้อเจริญและยังคงมี opaque zone เกิดขึ้น แสดงว่าโคโลนีดังกล่าวอาจเป็น ***CL.perfringens*** อื่นๆ หรือเชื้อ anaerobe อื่นที่สามารถเจริญบนอาหารชนิดนี้ได้ อาจทำการตรวจยืนยันโดยใช้ antitoxin ของ type อื่นมาทำปฏิกิริยา Nagler reaction test ต่อได้ โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้นรายงานจำนวนโคโลนีที่เป็น ***CL.perfringens*** type A

3. การตรวจหาว่าพบหรือไม่พบเชื้อในตัวอย่างอาหาร

เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacherทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตรดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในหลอด Cooked meat (CM) medium ซึ่งเพิ่งออกจาก autoclave ใหม่ๆ (ถ้าใช้ CM medium ที่เตรียมไว้นานแล้วอาจมีอากาศเข้าไปอยู่อาหารดังกล่าวเป็นปริมาณมาก ดังนั้นก่อนใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้นานนี้ ควรนำหลอด ดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปทำการต้มในน้ำเดือด เพื่อไล่อากาศประมาณ 15 นาทีก่อนนำมาใช้) โดยใส่ตัวอย่างอาหารหลอดละ 1 มล. ระดับความเจือจางละ 2 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°c เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงใช้ลูบขุ่มเชื้อจากหลอด CM medium โดยพยายามเขี่ยเชื้อจากก้นหลอด CM medium (เนื่องจาก ***CL.perfringens*** เป็นเชื้อในกลุ่ม facultative anaerobe ดังนั้นการเจริญของเชื้อมักจะอยู่ทางด้านก้นหลอด) นำมาถ่ายเพาะเชื้อบน TSC+egg yolk agarคว่ำจานเพาะเชื้อนำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน Anaerobic jar เพื่อขจัดออกซิเจนออกจาก Anaerobic jar นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37° c เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่ให้ลักษณะโคโลนีสีดำและมีโซนขาวขุ่นรอบๆโคโลนี (opaque zone) เนื่องจาก lecithinase positive เหมือนกับ ***S.aureus*** นำลักษณะโคโลนีดังกล่าวไปทำการทดสอบยืนยันโดยการทำปฏิกิริยาที่เรียกว่า Nagler reaction test โดยปฏิบัติตามวิธีที่ข้างต้น รายงานผลการตรวจพบเชื้อ ว่าพบหรือไม่พบจากตัวอย่าง 0.1,0.01,0.001 กรัม ตามระดับ ความเจือจางที่ได้ทำการปฏิบัติ

หมายเหตุ การตรวจหาในเชิงปริมาณ อาจใช้วิธีการทาง Most Probable Number (MPN) แบบ 3 tubes method ในการตรวจวิเคราห์ะ โดยถ่ายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางติดต่อกันลงในหลอด CM medium ระดับความเจือจางละ 3 หลอด บ่มเพาะเชื้อแล้วถ่ายเพาะเชื้อบน TSC+egg yolk agar ดูลักษณะเฉพาะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปตรวจยืนยันโดยทำ nagler reaction test นับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับความเจือจางไปคำนวณหาค่า MPN จากตาราง 3 tubes MPN รายงานผลการตรวจพบเชื้อเป็นปริมาณ MPN/กรัม ของอาหาร

7. วิธีการทดลองหาเชื้อ*Salmonellae*

1.Pre-enrichment

เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมใส่ลงในภาชนะปิดที่ปลอดเชื้อ เติม TSB 225 มิลลิลิตร เขย่าหรือปั่นให้ตัวอย่างอาหารกระจายในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. Selective enrichment

ใช้ปิเปตปลอดเชื้อถ่ายเพาะเชื้อจาก TSB ลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเพาะเชื้อ TTB(9 มิลลิลิตร) และ SCB (9 มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำหลอดทั้งหมดไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขี่ยเพาะเชื้อจากหลอด TTB และ SCB ลงบนอาหารแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเลี้ยงเชื้อ SS และ XLD agar คว่ำจานและบ่มจานเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24

ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ SS และXLD agar ซึ่งโคโลนีของซาลโมเนลลา บนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 จะมีลักษณะดังนี้

- SS agar ลักษณะโคโลนีของซาลโมเนลลาจะกลมใส มีหรือไม่มีจุดสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ ในโคโลนี
- XLD agar ลักษณะโคโลนีจะกลมมีสีชมพู มีหรือไม่มีจุดสีดำของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในโคโลนี

3.Biochemical screening test

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยโคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar slant และ LIM medium นำหลอดทดสอบทั้งหมดไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ดูผลโดย

	TSI			LIM		
Slant	butt	H_2S	gas	lysine	indole	motile
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของ TSI จะมีสีแดง (ชมพูบานเย็น)

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S+ = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนใหญ่จะให้ผล +

H_2S - = ไม่มีตะกอนสีดำในหลอด TSI ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์

gas+ = มีฟองอากาศดันวุ้นของ TSI เนื่องมาจากซาลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส แล้วได้กรดและแกสเพียงเล็กน้อย

gas - = ไม่มีฟองอากาศให้เห็นในหลอด TSI ซึ่งมีบางเซโรวาร์ให้ผล –

lysine+ = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อซาลโมเนลลาจะมีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น indicator ในอาหารดังกล่าวและมีสีม่วงที่พีเอชเป็นกลาง มีสีม่วงเข้มมาก ยิ่งขึ้น ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนมากจะมีเอนไซม์ดังกล่าวนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lysine - = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อที่ไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ทำให้พีเอชของอาหารต่ำลง มีผลทำให้สีม่วงของ brom cresol purple เปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง

indole+ = จะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

indole - = ไม่เกิดสีแดงหลังจากหยดน้ำยา KOVAC ซึ่งซาลโมเนลลาจะไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ KOVAC

motile+ = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนมากจะมี แฟลกเจลลา ใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้น เมื่อทำการstab เชื้อลงในหลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM แล้วบ่มเพาะเชื้อซาลโมลเนลลาจะเจริญเคลื่อนที่ออกจากรอย stap ไปทุกทิศทุกทางจึงทำ ให้หลอดขุ่น

motile - = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีเชื้อเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใสทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ จึงเจริญอยู่เฉพาะรอย stab ซาลโมเนลลาที่ไม่มีแฟลกเจลลา ได้แก่ ***S. Pullorum*** และ ***S.gallinarum***

4. Serological test

นำหลอด TSA หรือ NA slants ที่สงสัยว่าเป็นซาลโมเนลลาจากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีข้างต้นมาทำการทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางเซโรโลยี หยด Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67 ลงบนสไลด์ที่สะอาด ใช้ห่วงหรือเข็มเขี่ยเชื้อจาก TSA หรือ NA slants เกลี่ยเชื้อให้ทั่วหยดของ antiserum บนสไลด์ สังเกตุดูการเกิดตะกอนของเชื้อในหยด antiserum ถ้าหากเชื้อดังกล่าวเป็นซาลโมเนลลาจะ เกิดการตกตะกอนของเชื้อขึ้น ถ้าไม่ใช่เชื้อจะละลายอยู่ในหยดของ antiserum ขาวขุ่นเหมือนน้ำนมทั้งหมด ส่งตรวจวิเคราะห์ยืนยันเพื่อหาชนิดเซโรวาร์หรือเพื่อเก็บเป็นข้อมูลตามหน่วยงานที่รับตรวจ วิเคราะห์ เช่น กองพยาธิวิทยาคลีนิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นต้น

8. วิธีการทดลองหาเชื้อ*S.aureus*

1.การทดลองโดยวิธี direct plate count

เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อเทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 2 ระดับด้วยน้ำยาสำหรับเจือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จางปริมาตร 9 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางหยดลงบน BP medium ที่มีการเติมไข่แดงที่ปราศจาก เชื้อ ระดับความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานละ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วตามวิธี spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจาง บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S.aureus* ตามลักษณะที่เจริญในอาหารแต่ละชนิด (*S.aureua* โดยมากจะมีเอนไซม์ lecithinase ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยง เชื้อ ทำให้เกิดตะกอนขุ่น (oplaque/cream zone)รอบโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร) นำโคโลนีที่สงสัยไปทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase

2. การทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ *S.aureus*

เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth ลงในหลอดทดลองขนาดเล็กปราศจากเชื้อหลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อเขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S.aureas* เพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดที่มี BHI broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูด rabbit plasma ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดเพาะเชื้อ BHI broth บ่มเพาะเชื้อมาที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่งโมง อ่านผลโดยดูการแข็งตัวของplasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์ coagulase ที่เชื้อ *S.aureus* สร้างขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารในอาหารพร้อมบริโภคจำนวน 7 ชนิด21 ตัวอย่าง ได้ผลการวิเคราะห์โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยเก็บตัวอย่างจาก 3 แหล่ง ได้แก่ โรงอาหารในสถาบันฯ บริเวณรอบ ๆ สถาบันฯ ได้แก่ซอยจินดา และ food lion ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 ผลการทดลองหาปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่ม Sanitary index

1. ผลการทดลองหาปริมาณจุลินทรีย์รวมโดยวิธีTotal plate count

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (ตารางที่ 4.1) จากตัวอย่างทั้งหมดที่ทำการศึกษาพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์รวมไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด กล่าวคือ น้อยกว่า 10^6 cfu/g ค่าเฉลี่ยของจุลินทรีย์แยกตามชนิดของตัวอย่าง 7 ชนิด คือ แกงเขียวหวานไก่ ไก่ผัดขิง ผัดตับ ไข่พะโล้ แกงจืดผักกาดดอง ขนมจีน และลาบหมู มีค่า 6.18×10^4 2.60×10^4 1.41×10^4 3.38×10^4 1.49×10^5 5.26×10^4 และ 3.16×10^3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ต่อกรัมอาหาร

ชนิดของอาหาร	ปริมาณจุลินทรีย์รวมต่อกรัมอาหาร			
	KMITL	Food Lion	บริเวณรอบ ๆ สถาบันฯ	ค่าเฉลี่ย
แกงเขียวหวานไก่	4.8×10^4	3.85×10^2	1.27×10^5	6.18×10^4
ไก่ผัดขิง	2.5×10^3	5.8×10^4	1.75×10^4	2.6×10^4
ผัดตับ	1.05×10^3	8.5×10^2	2.32×10^3	1.41×10^4
ไข่พะโล้	3.3×10^4	1.43×10^4	5.4×10^4	3.38×10^4
แกงจืดผักกาดดอง	9.3×10^3	1.8×10^2	4.5×10	3.16×10^3
ขนมจีน	2.4×10^4	2.81×10^5	1.41×10^5	1.49×10^5
ลาบ	1.03×10^5	3.38×10^4	2.1×10^4	5.26×10^4
ค่าเฉลี่ย	3.15×10^4	5.55×10^4	5.33×10^4	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการทดลองหาปริมาณ MPN coliform

การทดลองหาปริมาณ MPN coliform ในบางตัวอย่างอาหาร (ตารางที่ 4.2) จะพบว่ามีค่าจุลินทรีย์มาตรฐานเกินกว่าเกณฑ์ที่กำหนด คือ เกินกว่า 500 MPN/ g อยู่จำนวน 4 ชนิดอาหาร 5 ตัวอย่าง โดยพบถึงจำนวนมากกว่า 1100 ในอาหารไก่ผัดขิง จาก food lion ผัดตับจากร้านค้ารอบๆสถาบันฯ ไข่พะโล้จาก KMIT'L ลาบหมูจาก Food lion และร้านค้ารอบๆสถาบันฯ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณ most probable number coliform

ชนิดอาหาร	ปริมาณ MPN coliform		
	KMITL	Food Lion	บริเวณรอบ ๆ สถาบันฯ
แกงเขียวหวานไก่	<3	<3	53
ไก่ผัดขิง	<3	>1100*	460
ผัดตับ	<3	<3	>1100*
ไข่พะโล้	>1100*	<3	460
แกงจืดผักกาดดอง	3	<3	3.6
ขนมจีน	<3	<3	93
ลาบ	150	>1100*	>1100*

หมายเหตุ :* คือค่าที่เกินเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

3.ผลการทดลองหาปริมาณ MPN faecal coliform

ปริมาณ MPN faecal coliform ในตัวอย่างอาหารพบว่ามีตัวอย่างอาหาร 2 ชนิดอาหาร 3 ตัวอย่างที่มีค่าเกินกว่าค่ามาตรฐานทางจุลินทรีย์ที่กำหนดไว้ (ตารางที่ 4.3) คือ มีค่าไม่เกินกว่า 500 MPN faecal coliform/g โดยตรวจพบมีค่ามากกว่า 1100 MPN faecal coliform/g ในไข่พะโล้ที่มาจาก KMIT'L ลาบหมูจาก Food lionและร้านค้ารอบๆสถาบันฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณ most probable number ของ MPN faecal coliform

ชนิดอาหาร	ปริมาณ MPN faecal coliform		
	KMITL	Food Lion	บริเวณรอบ ๆ สถาบันฯ
แกงเขียวหวานไก่	<3	<3	<3
ไก่ผัดขิง	<3	<3	460
ผัดตับ	<3	<3	<3
ไข่พะโล้	>1100*	9.1	460
แกงจืดผักกาดดอง	3	<3	<3
ขนมจีน	<3	<3	23
ลาบ	6.2	>1100*	>1100*

หมายเหตุ :* คือค่าที่เกินเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

4. ผลการทดลองหาปริมาณ MPN *E.coli*

ปริมาณ MPN *E.coli* ที่พบ ในตัวอย่างอาหาร พบว่า มีตัวอย่างอาหาร 4 ชนิด 6 ตัวอย่าง ที่มีค่าเกินกว่าค่ามาตรฐานทางจุลินทรีย์ที่กำหนดไว้จากตารางที่ 4.4 คือ มีค่าน้อยกว่า 3 MPN *E.coli* ต่อกรัม โดยตรวจพบในไก่ผัดขิงจากร้านรอบๆ มหาวิทยาลัย มีค่า 28 MPN *E.coli* ต่อกรัม ไข่พะโล้จาก KMIT'L พบ 3 MPN *E.coli* ต่อกรัม และจากร้านค้ารอบๆ สถาบันฯพบ 20 MPN *E.coli* ต่อกรัม และในลาบหมูจาก food lion มากกว่า 1100 MPN *E.coli* ต่อกรัม และจากร้านค้ารอบๆ มหาวิทยาลัย 9.1 MPN *E.coli* ต่อกรัม ผัดตับจากบริเวณรอบ ๆ สถาบันฯพบ 53 MPN *E.coli* ต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ปริมาณ most probable number ของ *E.coli*

ชนิดอาหาร	ปริมาณ MPN *E.coli*		
	KMITL	Food Lion	บริเวณรอบ ๆ สถาบันฯ
แกงเขียวหวานไก่	<3	<3	<3
ไก่ผัดขิง	<3	<3	28*
ผัดตับ	<3	<3	53*
ไข่พะโล้	3*	<3	20*
แกงจืดผักกาดดอง	<3	<3	<3
ขนมจีน	<3	<3	<3
ลาบ	<3	>1100*	9.1*

หมายเหตุ :* คือค่าที่เกินเกณฑ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

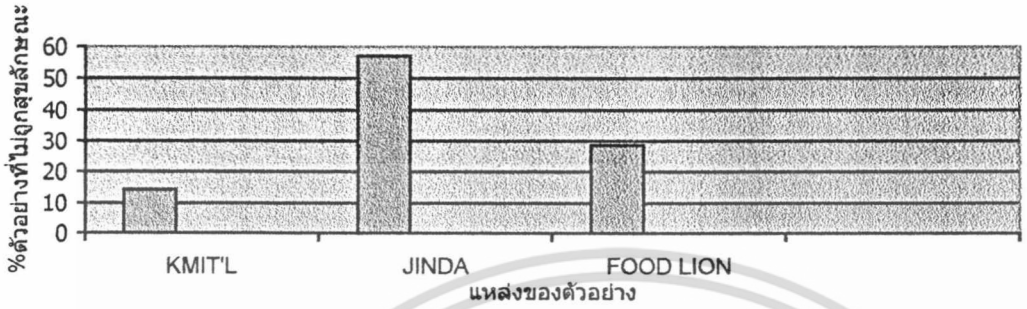
จากการทดลองสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคจากตัวอย่าง 21 ตัวอย่าง พบว่า มี 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ไก่ผัดขิงและลาบจาก food lion ผัดตับและลาบหมูจากซอยจินดา ไข่พะโล้จากโรงอาหารภายในสถาบันฯ มีจำนวน MPN coliform เกินกว่ามาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดคิดเป็น 23.81 % ปริมาณ MPN *E.coli* ตรวจพบได้ 5 ตัวอย่างเช่นกันได้แก่ ไก่ผัดขิง, ลาบหมูและไข่พะโล้จากซอยจินดา ลาบหมูจาก food lion และไข่พะโล้จากโรงอาหารภายในสถาบันฯ คิดเป็น 23.81 % และ MPN faecal coliform ตรวจพบใน 3 ตัวอย่างอาหารได้แก่ ไข่พะโล้จากโรงอาหารภายในสถาบันฯ ลาบหมูจาก food lionและจากซอยจินดาคิดเป็น 14.28 % ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 จำนวนจุลินทรีย์ที่ชี้ถึงสุขลักษณะทางอาหาร

กลุ่มจุลินทรีย์ที่ชี้ถึงสุขลักษณะของอาหาร	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	%จำนวนตัวอย่างที่ไม่ถูกสุขลักษณะ
จุลินทรีย์รวมต่อกรัม	21	0	0
MPN coliform	21	5	23.89
MPN faecal coliform	21	3	14.28
MPN *E.coli*	21	5	23.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งของตัวอย่างที่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะว่ามีการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้อง เรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ บริเวณรอบๆ สถาบัน(ซอยจินดา) food lion และ ร้านค้าภายในสถาบัน โดยมีค่า 57.14 % 28.57 % และ 14.28% ตามลำดับ (รูปที่ 4.1)



รูปที่ 4.1 แสดงจำนวนเปอร์เซนต์ตัวอย่างที่ไม่ถูกสุขลักษณะเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์แบ่งตามแหล่งของตัวอย่าง

4.2 ผลการทดลองหาปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่ม Pathogen

ผลการวิเคราะห์อาหารพร้อมบริโภคซึ่งเก็บตัวอย่างมาจาก 3 แหล่ง คือ ภายในบริเวณสถาบัน รอบๆบริเวณสถาบัน และ Food Lion โดยทำการสุ่มตัวอย่างอาหาร 7 ชนิดของตัวอย่างอาหาร รวมทั้งหมด 21 ตัวอย่าง ได้ผลการวิเคราะห์โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีผลการทดลองดังนี้

จำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้แก่ ***S.aureus*** , ***Bacillus cereus*** ***Clostridium perfringens*** , ***Salmonellae*** spp. จากตารางที่ 4.6 และ 4.7 ซึ่งแสดงแสดงผลการวิเคราะห์ทางอาหารของตัวอย่างอาหารทั้ง 7 ชนิด ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ได้ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ ***S.aureus*** และ ***Salmonellae*** spp. ซึ่งเชื้อ ***S.aureus*** ที่ตรวจพบใน 3 ชนิดของอาหารคือ ลาบมีจำนวน $64.5x10^3$ CFU/gในแกงจืดผักการดองหมูสามชั้นมีจำนวน $58x10^3$CFU/g ใน ไก่ผัดขิง ตรวจเจอ $70.5x10^3$ CFU/g ซึ่งค่าที่ตรวจพบนั้นเกินเกณฑ์มาตรฐานทั้งหมด คือเกิน 100CFU/g คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ 14.28 %และพบเชื้อ ***Salmonellae*** spp. ที่ทำการสุ่มตัวอย่างมา 25 กรัม ในตัวอย่างอาหาร 2 ชนิดตัวอย่างอาหาร คือ แกงจืดผักการดอง หมูสามชั้น และไข่พะโล้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ 9.52 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 จำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ

กลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ไม่ถูกสุขลักษณะ	%จำนวนตัวอย่างไม่ถูกสุขลักษณะ
B.cereus	21	0	0
Cl.perfringens	21	0	0
Salmonella	21	2	9.52
S.aureus	21	3	14.28

ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์ทางอาหารของตัวอย่างอาหารทั้ง 7 ชนิด

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนจุลินทรีย์ที่พบ											
	B.cereus			*Cl.perfringens*			*S.aureus*			*Salmonella spp.*		
	FL	JD	KM	FL	JD	KM	FL	JD	KM	FL	JD	KM
ขนมจีน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ลาบหมู	-	-	-	-	-	-	64.5x10^3	-	-	-	-	-
แกงจืดผักกาดดอง	-	-	-	-	-	-	-	-	58x10^3	-	-	พบ
ไก่ผัดขิง	-	-	-	-	-	-	70.5x10^3	-	-	-	-	-
พะโล้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	พบ	-	-
แกงเขียวหวาน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ผัดตับ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

เมื่อทดลองแยกเอาตัวอย่างอาหารที่ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ มาเทียบกับจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็น sanitary โดยดูเกณฑ์สถานที่และชนิดตัวอย่างที่พบเจอเชื้อโรคอาหารเป็นพิษเป็นหลักดังแสดงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 พบว่าในตัวอย่างลาบที่ food lion เราตรวจพบเชื้อ *S.aureus* และพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม sanitary ทุกกลุ่มเป็นจำนวนเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดไว้ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ประเภทที่พบสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ได้ว่าสุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบอาหารที่ทำอาหารชนิดนี้ไม่ดี จึงทำให้ตรวจพบเจอเชื้อในกลุ่ม sanitary มากและยังพบเชื้อ *S.aureus* ส่วนในตัวอย่างไก่ผัดขิง,ไข่พะโล้และแกงจืด ถึงแม้ว่าจะตรวจพบเจอเชื้อในกลุ่ม sanitary ไม่มากคือไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่ทางกรมวิทย์าศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดไว้ แต่เมื่อตรวจพบแล้วก็สามารถที่จะตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม pathogens ได้เหมือนกัน

ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่าง กลุ่มจุลินทรีย์ในกลุ่ม sanitary และ pathogen

ชนิดตัวอย่าง	Sanitary			Pathogen
	MPN coliform	MPN faccal	MPN E.coli	ที่พบ
ลาบ (food lion)	>1100	>1100	>1100	*S.aureus*
ไก่ผัดขิง (food lion)	>1000	<3	<3	*S.aureus*
ไข่พะโล้ (food lion)	<3	9.1	<3	*Salmonella*
แกงจืด (KMIT'L)	3	3	<3	*S.aureus* *Salmonella*

4.3 ผลการตอบแบบสอบถามของผู้ประกอบอาหาร

จากการสอบถามผู้ประกอบอาหารโดยแบบสอบถาม (ภาคผนวก ข)จำนวน 10 คนจากร้านค้าในโรงอาหารสถาบัน 4 คน จากร้านค้าบริเวณรอบๆสถาบัน (ซอยจินดา) 4 คน และจาก Food lion 2 คน พบว่าทุกคนทราบถึงหลักสุขาภิบาลเบื้องต้นแต่โดยส่วนมากไม่สามารถปฏิบัติได้จริงจากการเฝ้าสังเกตพบว่าบางครั้งจะเอามือไปสัมผัสตามอวัยวะตามร่างกายแล้วมาตักอาหารทันทีโดยไม่ได้ล้าง ไม่สวมหมวกคลุมผม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคประเภทอาหารปรุงสำเร็จในส่วนของการศึกษาเชื้อโรคที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะทางอาหาร (Food index microorganism)

1.พบว่าปริมาณจุลินทรีย์รวมมีค่าอยู่ในช่วง 4.5×10^{1} ถึง 2.81×10^{5} CFU/g ซึ่งไม่เกินค่ามาตรฐาน 10^{6} CFU/g และพบว่าขนมจีนมีปริมาณจุลินทรีย์รวมมากที่สุด ซึ่งมีค่า 2.81×10^{5} CFU/g

2.พบว่า ใน ลาบ ไก่ผัดขิงไข่พะโล้และผัดตับ เป็นตัวอย่างที่มีค่า MPN coliform faecal coliform และ *E.coli* เป็นตัวอย่างที่มีค่ามาตรฐานเกินกว่าค่าที่กำหนดไว้ จากตัวอย่างอาหาร 21 ตัวอย่าง (7 ชนิดอาหารแต่มาจาก 3 สถานที่) ส่วนค่าMPN coliform และ MPN *E.coli* จำนวนอย่างละ 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 23.81 % และพบ MPN faecal coliform 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 14.28 % การที่ตรวจพบจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะแสดงให้เห็นว่าอาหารที่ผลิตขึ้นผลิตมาจากผู้ประกอบอาหารที่ไม่ได้ปฏิบัติตามหลักสุขาภิบาลอาหารที่ดีมีการปนเปื้อนจากอุจจาระ โดยตรงเพราะเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ประจำลำไส้ใหญ่ในลักษณะเป็นกลุ่ม และปกติจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดโรคเมื่อเชื้อชนิดนี้อยู่นอกลำไส้ใหญ่ โดยเฉพาะ *E.coli* เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 15-45 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์ทนความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 60 นาที (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ , 2544)

3.แหล่งของตัวอย่างที่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะว่ามีการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้อง พบว่าบริเวณรอบๆสถาบันฯ(ซอยจินดา)เป็นแหล่งที่มีการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้อง สังเกตได้จากสภาพการขายที่ไม่มีตู้กระจกปิด บริเวณประกอบอาหารก็ไม่ถูกสุขลักษณะรองลงมาคือ Food lion ถึงแม้ว่าจะมีสภาพการขายและบริเวณประกอบอาหารที่ถูกสุขลักษณะแต่การปฏิบัติจริงไม่สามารถทำได้ และตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะว่ามีการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้องที่โรงอาหารภายในสถาบันน้อยที่สุดอาจเนื่องมาจาก สภาพการขายที่มีตู้กระจกปิดคลุมและเวลาการขายก็อยู่ในช่วงเช้าถึงบ่ายต่างจากอีก 2 สถานที่ที่ขายตั้งแต่เช้าจดเย็น ดังรูปในภาคผนวก ค. ที่แสดงสภาพการขายและบริเวณประกอบอาหาร

4. ส่วนชนิดของอาหารที่มีการปนเปื้อนมากที่สุด คือ ลาบหมู เมื่อเทียบกับตัวอย่างทั้งหมด เป็นที่น่าสังเกตว่า ลาบหมูนั้นเป็นอาหารที่มีการสัมผัสด้วยมือ หลังจากปรุงสำเร็จ ในส่วนที่เอาผักสดโรย และใช้มือคลุกให้ส่วนผสมเข้ากัน แสดงว่าผู้ประกอบอาหารมีการปฏิบัติที่ผิดสุขลักษณะ จึงทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้อาหารได้รับการปนเปื้อน ส่วนขนมจีนก็เป็นอาหารที่ต้องใช้มือหยิบจับ หลังจากปรุงสำเร็จ แต่จากการสุ่มตัวอย่างกับไม่พบจุลินทรีย์ที่เป็น index microorganism อาจเป็นเพราะก่อนการหยิบจับขนมจีนผู้หยิบต้องสัมผัสน้ำก่อน จึงทำให้ลดปริมาณจุลินทรีย์ที่จะปนเปื้อน หรืออาจเป็นเพราะตัวขนมจีนเองที่ตัวแป้งเป็นแป้งที่ผ่านการหมักอาจทำให้ไม่มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ

5.จากสถานที่เก็บตัวอย่าง (ภาคผนวก ค.) พบว่าบริเวณรอบๆสถาบันฯ (ซอยจินดา) จะพบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์กลุ่ม index microorganism มากที่สุด อาจมาจากสภาพการขายที่ไม่มีกระจกกั้น บริเวณประกอบอาหารไม่ถูกสุขลักษณะ หรืออาหารที่ขายจะขายตั้งแต่เช้าจดเย็นโดยไม่มีการอุ่นให้ร้อน หรือใช้ความร้อนไม่ถึง (60 องศาเซลเซียส) ในการอุ่นทำให้แมลง สิ่งสกปรก รวมทั้งจุลินทรีย์อื่นๆ สามารถมาปนเปื้อนได้ ต่างจากที่ Food lion ถึงแม้จะมีสภาพการขายและบริเวณประกอบอาหารที่ดีแต่อาจมาจากสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดีของผู้ประกอบอาหารทำให้พบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนมีจำนวนรองลงมาจากที่บริเวณรอบๆสถาบันฯ ส่วนโรงอาหารภายในสถาบันจากสภาพการขายจะที่มีกระจกกั้น ช่วงเวลาการขายที่สั้นกว่าทั้ง 2 แหล่ง อาจเป็นผลทำให้พบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่น้อยกว่า

6. ในการทดลองศึกษานี้ได้ทำการสอบถามถึงสุขลักษณะของผู้ประกอบอาหาร พบว่าโดยมากแล้วจะได้รับการฝึกอบรมมาจากหน่วยงานของรัฐ เช่น เทศบาลประจำจังหวัด หรือ หน่วยงานของทางบริษัทเอง แต่ในทางปฏิบัติจริง บางครั้งจะพบว่า ไม่ได้ปฏิบัติตามหลักสุขาภิบาล เช่น ไม่สวมหมวก ไม่ใส่ผ้ากันเปื้อน ขณะประกอบอาหารและระหว่างรอจำหน่าย มีการใช้มือสัมผัสอาหารตามร่างกาย เป็นต้น สิ่งเหล่านี้ล้วนมีผลก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้

5.2 การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารพร้อมบริโภคประเภทอาหารปรุงสำเร็จในส่วนของการศึกษาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning Bacteria) ได้ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิด *S.aureus* ในลาบ แกงจืดและไก่ผัดขิง และตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในแกงจืดและไข่พะโล้ ซึ่งการตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถอธิบายได้ว่า

1. สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบการไม่ดี คือ ไม่ล้างมือให้สะอาดหลังจากเข้าห้องน้ำเสร็จซึ่งกาทำดังนี้ทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ได้เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มเดียวกันกับ *E.coli* อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เกือบทุกชนิด โดยจะปนออกมากับอุจจาระ ซึ่งหากล้างมือไม่สะอาดจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ เมื่อไปสัมผัสอาหารก็จะทำให้เชื้อติดไปกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารได้ หรือในระหว่างการปรุงอาหารมีการใช้มือไปสัมผัสใบหน้า มีการไอจาม เกาแผลที่เป็นหนอง ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *S.aureus* แพร่ลงสู่อาหารได้

2. ในลาบที่ Food lion จะพบเจอเชื้อในกลุ่ม sanitary ทั้ง 3 ชนิด คือพบ coliform ,facal coliform และ E.*coli* เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทย์าศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดไว้และในตัวอย่างนี้พบเจอเชื้อ *S.aureus* ด้วยซึ่งเชื้อในกลุ่มที่เป็น sanitary และ *S.aureus* จะเป็นเชื้อที่บ่งชี้ถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ผลิต หากผู้ผลิตมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดีก็จะทำให้อาหารที่ถูกปรุงมีคุณภาพที่ไม่ดีด้วย

3. ในไก่ผัดขิงที่ Food lion โดยจะพบ coliform เกินเกณฑ์มาตรฐาน แต่ facal coliform และ *E.coli* พบแต่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานและในไก่ผัดขิงนี้จะพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิด *S.aureus* ซึ่งอาจติดไปกับขิงในขั้นตอนการหั่นขิง แล้วมีการให้ความร้อนที่ไม่ทั่วถึงและไม่เพียงพอที่จำทำลายเชื้อ *S.aureus* ได้

4 .ในไข่พะโล้ที่ Fool lion จะมีเนื้อสัตว์คือน่องไก่อยู่ด้วยซึ่งในตัวอย่างนี้จะพบกลุ่มจุลินทรีย์เชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิด *Salmonella* โดย *Salmonella*ที่พบอาจมาจากผู้ผลิตเองหรืออาจมาจากวัตถุดิบคือไก่ก็ได้เนื่องจากว่าสัตว์ปีกเป็นแหล่งที่พบ *Salmonella* มากที่สุด

ในแกงจืดผักกาดดองที่ KMIT'L ตรวจพบเจอเชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิด *Salmonella*และ *S.aureus* และมีการตรวจพบเจอเชื้อในกลุ่ม sanitary ทุกตัวแต่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กรมวิทย์ฯได้กำหนดไว้ โดยในแกงจืดผักกาดดองเชื้อที่ปนเปื้อนอาจมาจากผักกาดดองที่มีการดองที่ไม่สะอาดและไม่ถูกสุขลักษณะ หรืออาจมาจากการหั่นผักกาดดอง และในการขายจะเป็นการปรุงอาหารตั้งแต่เช้าและขายในช่วงเที่ยงโดยไม่มีการอุ่นอยู่ตลอดระยะเวลาการขาย จึงทำให้เชื้อที่ปนเปื้อนในตอนแรกเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนขึ้น

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองครั้งชี้ให้เห็นว่าอาหารปรุงสำเร็จพร้อมบริโภคที่จัดจำหน่ายอยู่ภายในและรอบๆบริเวณสถาบันฯมีบางส่วนที่ไม่ได้เกณฑ์มาตรฐานอาหารทางจุลชีววิทยาซึ่งสามารถตรวจพบเชื้อโรคที่สามารถก่อให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคได้ ดังนั้นทางผู้จัดทำได้คิดข้อเสนอแนะเพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพการผลิตของอาหารที่จัดจำหน่ายในบริเวนสถาบันฯและบริเวณรอบๆสถาบันดังนี้

1. ให้ความรู้ทางด้านสุขลักษณะส่วนบุคคลแก่ผู้ประกอบการและจัดให้มีการตรวจติดตามผลการปฏิบัติของผู้ประกอบการโดยหน่วยงานของภาครัฐที่มีหน้าที่กำกับดูแล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ให้ความรู้เกี่ยวกับสุขลักษณะด้านความสะอาดของวัตถุดิบ ภาชนะ อุปกรณ์และสถานที่ที่ใช้ประกอบอาหาร
3. ให้ผู้ประกอบการทราบถึงผลดีในการผลิตอาหารที่ถูกสุขลักษณะและการจัดการสถานที่ประกอบอาหารและสถานที่จัดจำหน่าย เช่นหากจัดร้านสะอาดก็จะดึงดูดผู้บริโภคเข้าร้านมากขึ้น
4. แนะนำให้ผู้ประกอบการว่าควรมีการอุ่นอาหารตลอดการจำหน่ายอาหารและควรมีตู้กระจกหรือสิ่งที่จะป้องกันไม่ให้ฝุ่นละอองและแมลงต่างๆตกลงสู่อาหารที่ปรุงเสร็จ
5. แนะนำให้ผู้บริโภคให้มีการอุ่นอาหารก่อนการบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. การควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและการสุขาภิบาลอาหาร. กรุงเทพฯ

กัญจนา ธีระกุล และคณะ , จุลชีววิทยาปฏิบัติการ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , 330 หน้า

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, ผศ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่2. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ Noble print, 400น.

สุวดี ทิมคำ. 2543. "การควบคุมเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7ในตัวอย่างอาหารโดยวิธี Reverse Passive Latex Agglutination". วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. คู่มือความปลอดภัยของอาหาร(ฉบับกระเป๋า) .นนทบุรี:บริษัท เอส.บี.บิซิเนส จำกัด

วุฒิ ทินพงษ์. 2540. "การพัฒนาการตรวจเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7ในอาหาร". สัมมนา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศรีธวัช จาติเกตุ. 2534. ครัวมาตรฐาน. พิมพ์ครั้งที่1.กรุงเทพมหานคร,230น.

ศิวาพร ศิวเวชช, รศ. 2536,การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร.ครั้งที่ 4,โรงพิมพ์ New touch media corporation, 367 หน้า

อดิศร เสวตวิวัฒน์, ผศ. 2538. เอกสารประกอบการสอนจุลชีววิทยาอาหารเล่ม 2. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร.คณะเทคโนโลยีการเกษตร.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อดิศร เสวตวิวัฒน์ .ผศ. 2545, ปฏิบัติการจุลชีววิทยา .โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร,สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 80 หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

Brilliant Green Lactose Bile Broth

Peptone	10 กรัม
Oxgall	20 กรัม
Lactose	10 กรัม
Brilliant Green	0.0133 กรัม
D.W.	1 ลิตร
Final pH	7.2 ± 0.1

แยกสารละลาย peptone และ D.W.500 ml. Oxgallละลายใน D.W.200 ml.ซึ่งน้ำละลาย Oxgall นี้ควรมี pH ประมาณ7.0-7.5 ผสมสารละลายทั้งสองรวมกันและปรับปริมาณให้เป็น 975 ml.ปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 7.4 จากนั้นเติมาสารละลาย 0.1% aqueous brilliant Green ที่ละลายใน D.W. ปริมาตร 13.3 ml. ปรับปริมาตรน้ำให้ครบ 1 ลิตร (1000 ml.) แบ่งใส่หลอดทดสอบหลอดละ 10 ml.พร้อมทั้งใส่หลอดดักแก๊ส (Durham tube) ปิดจุกหลอดแล้วนำไปเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave อุณหภูมิ 121 ° C เป็นเวลา 15 นาที

Ec broth

Trypticase soy tryptose	20 กรัม
Lactose	5 กรัม
Bile salta No.3	1.5 กรัม
K_2HPO_4	1.5 กรัม
KH_2PO_4	4 กรัม
Nacl	5 กรัม
D.W.	1 ลิตร
Final pH	6.9 ±0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมดใน D.W.ดูดสารละลายทดลองที่ได้ใส่ในหลอดทดลองขนาด 16 x 150 mm ปริมาตรหลอดละ 8 ml.พร้อมทั้งใส่หลอดดักแก๊ส(durham tube)ขนาด 10x75mmปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° Cเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MR-VP Broth

Buffered peptone	7 กรัม
Glucose	5 กรัม
K_2HPO_4	5 กรัม
D.W.	1 ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดใน D.W 800 มิลลิลิตร โดยการให้ความร้อนอ่อนๆปล่อยให้เย็นเติมน้ำให้ครบ 1 ลิตรปรับ pHให้ได้ประมาณ6.9 ±0.2 เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° Cเป็นเวลา 15 นาที

Plate Count Ager (standard Method)

Tryptone	5 กรัม
Yeast extract	2.5 กรัม
Dextrose	1 กรัม
Agar	15 กรัม
Final pH	7.0 ±0.2

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิดนำเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° Cเป็นเวลา 15 นาที

Simmon Citrate Agar

Sodium citrate.$2H_2O$	2 กรัม
NaCl	5 กรัม
K_2HPO_4	1 กรัม
$NH_4H_2PO_4$	1 กรัม
$MgSO_4$	0.2 กรัม
Bromthymol blue	0.08 กรัม
Agar	15 กรัม
D.W.	1 ลิตร
Final pH	6.9 ±0.2

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยกวนตลอดเวลา ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิลิตรประมาณ 1ใน 3ของความยาวของหลอดปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ยาวประมาณ 4-5 ซม.และมี buttยาว ประมาณ 2-3 ซม.

Lauryl Tryptose Broth

Tryptose or trypticase	20 กรัม
Lactose	5 กรัม
K_2HPO_4	2.75 กรัม
KH_2PO_4	4 กรัม
Sodium lauryl sulfate	0.1กรัม
NaCl	5 กรัม
Final pH	6.8 ±0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมด.ดูดสารละลายทดลองที่ได้ใส่ในหลอดทดลองขนาด 20 x 150 mm ปริมาตรหลอดละ 10 ml.พร้อมทั้งใส่หลอดดักแก๊ส(durham tube)ขนาด 10x75mmปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ° Cเป็นเวลา 15 นาที

Baird-Parker Basal Medium

Tryptone	10	กรัม
Beef extract	9.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Sodium pyruvate	10.0	กรัม
Glycine	12.0	กรัม
Lithium chloride. $6H_2O$	5.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม

ละลายส่วนผสมต่างๆ ในน้ำกลั่น 950 ml ต้มให้ส่วนผสมทั้งหมด ละลายเป็นเนื้อเดียวกันนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Egg-yolk tellurite enrichment

แช่ไข่ทั้งเปลือกในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ใช้คีมคีบซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนำไข่ไปวางบนจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้จนแห้งต่อเปลือกไข่ให้แตกโดยเทคนิคปราศจากเชื้อ แยกไข่แดงออกจากไข่ขาว ผสมไข่แดงกับ physiological ในอัตราส่วน 3 ต่อ 7 โดยปริมาตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันใช้ส่วนผสมนี้ปริมาตร 50 ml ผสมกับสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมเทลลูโรท์ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองปริมาตร 10 ml ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่ 2-8 องศาเซลเซียส

วิธีการเตรียม

นำ egg-yolk tellurite enrichment แช่ใน water bath จนอุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ปริมาตร 5 ml ผสมกับ Baird-Parker Basal Medium ที่หลอมละลายจำนวน 95 ml และมีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากัน พยายามหลีกเลี่ยงการเกิดฟอง เทในจานแก้วเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจานละ 15-20 ml ทิ้งให้แข็งตัว หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ไม่ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไว้นานเกินกว่า 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้อบผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อให้แห้งภายใต้แสง UV นาน 20 นาที หรือทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 6 ชั่วโมง จนหว่าผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง

Brain Heart Infusion (BHI) Broth

Calf brain infusion	200 g
Proteose peptone	10 g
$Na_2 HPO_4 .12H_2O$	2.5 g
D.W.	1 L
Beef heart infusion	250 g
NaCL	5 g
Dextrose	2 g
Final PH	7.4 + 0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ในหลอดหรือขวด ปิดจุกให้สนิท จากนั้นนำเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121^0 ซ เป็นเวลา 15 นาที

Cook Meat Medium

Beef heat	454 g
Dextrose	2 g
D.W.	1 L
Proteose peptone	20 g
NaCL	5g
Final pH	7.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บด beef heat ให้ละเอียดในน้ำ ต้มจนเดือดและเดี่ยวประมาณ 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นแล้วปรับพีเอช ให้ได้ประมาณ 7.2 ต้มอีก 10 นาที ใช้ผ้าขาวบางกรองแยกเอาเนื้อและน้ำออกจากกัน ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ ที่แยกเนื้อออกแล้ว ปรับปริมาตรน้ำให้ได้ 1 ลิตร เติมเนื้อที่แยกออกใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 18x150 หรือ 20x150 mm ให้มีเนื้อในหลอดสูงประมาณ 1.2-1.5 cm เติมน้ำที่ผสมสารละลายต่างๆ ลงในหลอดทดลองที่มีเนื้ออยู่ปริมาตรหลอดละ 10-12 ml ปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที

LIM Medium

Polypeptone	10 g
Dextrose	1 g
L-Tryptophan	0.5 g
Agar	3 g
Final Ph	6.7
Yeast extract	3 g
L-lysine	10 g
Bromcresol	0.02 g
D.W.	1 L

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ดูดสารละลายที่ได้ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm ให้ได้ปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ของหลอด ปิดจุกนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°ซ 15 นาที

Mannitol-Egg Yolk-polymyxin (MYP) Agar Base

Beef extract	1 g
Mannitol	10 g
Phenol red	0.025 g
D.W.	900 ml
Peptone	10 g
NaCL	10 g
Agar	15 g
Final pH	7.2+0.2

ผสมองค์ประกอบทั้งหมดแล้วต้มจนวุ้นละลาย ปรับพีเอช เทสารละลายที่ได้ลงในฟลาส์ก 500 ml ให้ได้ฟลาส์กละ 225 ml ปิดจุกแล้วเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Polymyxin B solution , 0.1 % ละลายผง Polymyxin B sulfate 500,000 units ที่ปลอดเชื้อลงในน้ำที่ปลอดเชื้อ 50 ml เก็บในขวดปลอดเชื้อที่ปิดสนิทในตู้เย็น 4^0ซ

Egg yolk emulsion , 50% ล้างไข่ไก่ให้สะอาด แช่ไว้ใน 0.1% $HgCL_2$ เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ใน 70% ethanol เป็นเวลา 30 นาที ตอกไข่ไก่และทำการแยกไข่ขาวโดยวิธี aseptic technic นำไข่แดงที่แยกได้ใส่ลงในขวดปราศจากเชื้อ ที่มีขีดบอกปริมาตร เติมน้ำเกลือ 0.85% normal saline ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ผสมในปริมาตรที่เท่ากันปิดฝาเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

แบ่งอาหาร MYP agar มา 225 มล. (อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส) เติม 0.1 % polymyxin B ปริมาณ 2.5 มล. จากนั้นเติม 50 % Egg yolk emulsion ปริมาณ 12.5 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วเทใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ

Selenite Cystine Broth

Polypeptone	5g
Sodium acid selenite($NaHSeO_3$)	4g
KH_2PO_4	4.5 g
D.W.	1L
Lactose	4g
Na_2HPO_4	5.5 g
L-Cyftine	0.01 g
Final Ph	7.0+0.2

ต้มส่วนผสมทั้งในน้ำกลั่นจนเดือด ถ่ายอาหารดังกล่าวลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อปิดสนิท ปริมาตรหลอดละ 10 มล. ไม่ต้องฆ่าเชื้อใน autocave และควรเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไว้ใช้วันต่อวัน

Tetrathionate Broth (Tetrathionate broth base)

Polypeptone	5 g
Calcium carbonate ($CaCO_3$)	10 g
Sodium thiosulfate.$5H_2O$	30 g
Bile saltf	1 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

D.W.	1L
Final pH	8.4+0.2

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมและต้มจนเดือด ทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5-8 องศาเซลเซียส (อาหารเลี้ยงเชื้อนี้จะมีตะกอนของ $CaCO_3$ สีขาวที่ไม่ละลายน้ำอยู่)

Triple Sugar Iron (TSI) agar

Beef extract	3 g
Peptone	15 g
Glucose	1 g
Sucrose	10 g
NaCl	5 g
Phenol red	0.024 g
D.W.	1L
Yeast extract	3 g
Proteose peptone	5 g
Lactose	10 g
$FeSO_4$	0.2 g
$Na_2S_2O_3$	0.3 g
Agar	12 g
Final pH	7.4+0.2

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยกวนตลอดเวลา ถ่ายใส่หลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm. ปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวหลอด ปิดจุกเข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นให้ทำการเอียงหลอดให้เกิดผิว slant ก่อนที่อาหารเลี้ยงเชื้อจะแข็งโดยที่ให้มีผิวหน้า slant ยาวประมาณ 4-5 ซม. และมี butt ยาวประมาณ 2-3 ซม,

Tryptise (Tryptic) Soy Broth

Tryptise peptone	17 g
NaCl	5 g
Glucose	2.5 g
Final pH	7.3+0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytone peptone	3 g
K_2HPO_4	2.5 g
D.W.	1L

อุ่นสารละลายส่วนผสมทั้งหมดถ่ายอาหารปริมาตร 225 มล. ลงในฟลาสก์หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด เข้าฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Xylose Lysine Desoxycholate (XLD Agar)

Yeast extract	3 g
L-Lysine	5 g
Xylose	3.75 g
Lactose	7.5 g
Sucrose	7.5 g
Sodium desoxycholate	2.5 g
Final pH	7.4+0.2
Ferric ammonium citrate	0.8 g
Sodium thiosulfate	6.8 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Phenol red	0.08 g
D.W.	1L

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ต้มพอเดือดปล่อยให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ (ไม่ควรเก็บอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อนี้เกิน 1 วัน หลังจากเทลงในจานเพาะเชื้อแล้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

แบบสอบถาม

แบบสอบถามผู้ประกอบอาหารเกี่ยวกับสุขลักษณะของการประกอบอาหารและสุขลักษณะของอาหารพร้อมบริโภคที่ดี

1.เพศ O ชาย O หญิง

2.อายุ O ต่ำกว่า 20 ปี O 20-25 O 26-30 O 31-35 O 36-40

O 41-45 O 46-50 O 51-55 O 56-60 Oมากกว่า60 ปี

3.การศึกษาสูงสุด O ต่ำกว่าประถมศึกษา O ประถมศึกษาปีที่4 O ประถมศึกษาปีที่ 6

O มัธยมศึกษาปีที่ 3 O มัธยมศึกษาปีที่ 6 O อนุปริญญา

O ปริญญาตรี

4.ประสบการณ์การประกอบอาชีพ O น้อยกว่า 1 ปี O 1-3 ปี O 3-5 ปี

O มากกว่า 5 ปี O มากกว่า 10 ปี

5.หน้าที่และความรับผิดชอบ (เลือกได้มากกว่า 1 ข้อ)

O เจ้าของร้าน O ลูกจ้าง O เลือกซื้อและจัดหาวัตถุดิบ O ผู้เตรียมอาหาร

O พนักงานเสริฟ O ผู้ประกอบอาหาร O พนักงานทำความสะอาดภาชนะ

O พนักงานทำความสะอาดพื้นที่ปรุงอาหารและบริเวณร้าน

6.ลักษณะของอาหารที่ขาย

O ขายอาหารเพียง 1 ชนิด หรือ อาหารที่มีความใกล้เคียงกัน เช่น ร้านขายข้าวมันไก่ ข้าวหมูแดง หอยทอด

O อาหารที่มีการปรุงสำเร็จ เน้นรับประทานที่ร้านเป็นหลัก (ร้านข้าวแกง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O อาหารที่มีการปรุงสำเร็จ ประเภท ใส่ถุง / กล่อง กลับบ้าน (อาหารถุง)

O อื่นๆ .....

7.ช่วงเวลาที่ซื้อวัตถุดิบ

O 3 ทุ่ม-เที่ยงคืน O เที่ยงคืน-ตี3 O ตี3- 6โมงเช้า O 6โมงเช้า-9 โมงเช้า

O 9โมงเช้า-เที่ยง O เที่ยง-บ่าย3 O บ่าย3-6โมงเย็น O 6โมงเย็น-3ทุ่ม

8.สถานที่ซื้อวัตถุดิบ

O ตลาด O ซุปเปอร์มาเก็ต

9. ระยะเวลาที่ซื้อวัตถุดิบจนถึงร้านมีการจัดการวัตถุดิบในช่วงการขนส่งกลับมาที่ร้าน

O ไว้ท้ายรถกระบะที่ไม่มีถังควบคุมความเย็น O ไว้ท้ายรถกระบะที่มีถังควบคุมความเย็น

10. วิธีการจัดการวัตถุดิบเมื่อมาถึงร้าน

ผักสด O ไม่ได้จัดเก็บในตู้เย็น ก่อนปรุงหรือผลิต ค่อยนำมาล้าง

O เก็บเข้าตู้เย็นทันที ก่อนปรุงหรือผลิต ค่อยนำมาล้าง

O ล้างน้ำ 1 ครั้ง ก่อนเก็บเข้าตู้เย็น

O อื่นๆ

เนื้อสด O ไม่ได้จัดเก็บในตู้เย็น ก่อนปรุงหรือผลิต ค่อยนำมาล้าง

O เก็บเข้าตู้เย็นทันที ก่อนปรุงหรือผลิต ค่อยนำมาล้าง

O ล้างน้ำ 1 ครั้ง ก่อนเก็บเข้าตู้เย็น

O อื่นๆ

11.) สถานที่จัดเก็บวัตถุดิบ

O ตู้เย็น O แยกตู้เก็บ ผักและเนื้อสด ไม่ปนกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O เก็บรวมกัน ใน 1 ตู้

O ถังน้ำแข็ง O วัตถุดิบมีการสัมผัสกับน้ำแข็งโดยตรง

O แยกเก็บเนื้อสด / ผักสด ในภาชนะปิดสนิท

O รวมน้ำแข็งที่ใช้บริโภคกับที่แช่ของสดไว้ในถังเดียวกัน

12.ภาชนะสัมผัสที่ใช้ในการผลิตอาหารมีอะไรบ้าง

O ทัพพี O ถาด O เขียง O มีด

13.การจัดการภาชนะสัมผัสขณะผลิต

O มีมีดและเขียงอย่างละ 2-3 อันใช้ร่วมกัน ระหว่างอาหารดิบกับอาหารที่ปรุงสุก

O มีมีดและเขียงอย่างละ 2-3 อันใช้แยกกัน ระหว่างอาหารดิบกับอาหารที่ปรุงสุก

O มีอย่างละอันใช้รวมกันหมด

O ถาดใช้ใส่ของดิบล้างแล้วใส่ของสุกเตรียมขาย

O ถาดแยกใส่ระหว่างของดิบและสุก

O อื่น ๆ

14.สภาพการขาย

O มีทัพพีแยกจากกันตามชนิดของอาหาร

O มีตู้กระจกปิดกันฝุ่นและแมลงในระหว่างการขาย

15. การฝึกอบรมทางสุขลักษณะ

O ไม่เคยได้รับการฝึกอบรม

O เคยได้รับการฝึกอบรมจาก.....

16.หลักสุขาภิบาลเบื้องต้น

O รู้จักหลักสุขาภิบาลเบื้องต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O รู้จัก/ปฏิบัติตามหลักสุขาภิบาลเบื้องต้น

O รู้จักหลักสุขาภิบาลเบื้องต้นแต่ไม่สามารถปฏิบัติตามได้

O ไม่รู้จักหลักสุขาภิบาลเบื้องต้น

17.หลักสุขาภิบาลเบื้องต้นที่ท่านสามารถปฏิบัติได้

O ล้างมือก่อนปรุงอาหารทุกครั้ง

O ล้างมือหลังจากออกจากห้องน้ำทุกครั้ง

O ใส่ผ้ากันเปื้อน ขณะปรุงอาหารทุกครั้งที่ปรุงอาหาร

O ใส่ผ้ากันเปื้อนขณะจำหน่ายอาหารทุกครั้งที่จำหน่ายอาหาร

O ใส่หมวกคลุมผมขณะปรุงอาหารทุกครั้งที่ปรุงอาหาร

O ใส่หมวกคลุมผมขณะจำหน่ายอาหารทุกครั้งที่จำหน่ายอาหาร

O ไม่ใช้มือสัมผัสอวัยวะบนใบหน้าในขณะปรุง / จำหน่าย อาหาร

18.เลือกข้อ ที่ท่านรู้จัก/เคยได้ยิน

O ไข้ไทฟอยด์

O เชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคอุจาระร่วง

O เชื้อโรคที่ทำให้เกิดสิว

O ไม่เคยรู้จัก หรือ ได้ยิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

รูปภาพแสดงสภาพการขายและบริเวณที่ประกอบอาหาร

รูปที่ 1ค. สภาพการขายจากร้านค้าบริเวณรอบๆสถาบันฯ (ซอยจินดา)

รูปที่ 2 ค. บริเวณประกอบอาหารและล้างภาชนะจากร้านค้าบริเวณรอบๆสถาบันฯ (ซอยจินดา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3ค. สภาพการขายจากร้านค้าภายในสถาบัน ฯ

รูปที่ 4 ค. บริเวณประกอบอาหารและล้างภาชนะจากร้านค้าภายในสถาบัน ฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5 ค. สภาพการขายจากบริเวณรอบๆสถาบันฯ (Food lion)

รูปที่ 6 ค. บริเวณประกอบอาหารและล้างภาชนะจากบริเวณรอบๆสถาบันฯ (Food lion)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเกศสุดา ลีเลิศสุมานนท์ เกิดเมื่อวันที่ 11 ตุลาคม 2525 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนราชวินิตบางเขน จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2542 และเข้าศึกษาระดับอุดมศึกษาที่ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเมื่อปีการศึกษาที่ 2543 ในโครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชา เทคโนโลยีการหมักและสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2546

นางสาวนิสา ไพศาลศักดิ์วณิช เกิดเมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2525 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียนบางปะกอกพิทยาคม จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2542 และเข้าศึกษาระดับอุดมศึกษาที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเมื่อปีการศึกษาที่ 2543 ในโครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักและสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2546

นางสาวศลิษา บัณฑรเศรษฐ์ เกิดเมื่อวันที่ 30 พฤษภาคม 2524 ที่จังหวัด ราชบุรี สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนนารีวิทยา จังหวัดราชบุรี ปีการศึกษา 2541 และเข้าศึกษาระดับอุดมศึกษาที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเมื่อปีการศึกษาที่ 2543 ในโครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชา เทคโนโลยีการหมักและสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2546

นาย อธิชนนัน พลสูงเนิน เกิดเมื่อวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2524 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีวิทยา 2 จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2541 และเข้าศึกษาระดับอุดมศึกษาที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเมื่อปีการศึกษาที่ 2543 ในโครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชา เทคโนโลยีการหมักและสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้