บทที่ 2

การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อาหาร ตามคำจำกัดความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 หมายถึงของกินหรือเครื่องค้ำจุนชีวิต ได้แก่

1. วัตถุทุกชนิดที่คนกิน ดื่ม อม หรือนำเข้าสู่ร่างกายไม่ว่าด้วยวิธีใด ๆ หรือในรูปลักษณะใด ๆ แต่ไม่รวมถึงยา วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท หรือยาเสพติดให้โทษ

2. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้หรือใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหาร รวมถึงวัตถุเจือปนในอาหาร สี และเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส

อาหารพร้อมบริโภค (ready-to-eat foods) ในที่นี้เป็นอาหารคาวทุกชนิดที่มีจำหน่ายอยู่ทั่วไปตามสถานจำหน่ายอาหาร ไม่ว่าจะเป็นอาหารที่สั่งทำหรืออาหารที่ผู้จำหน่ายได้ปรุงสำเร็จแล้วรอการจำหน่ายเพื่อบริโภคได้ทันที

2.1 จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหาร

โดยทั่วไปจุลินทรีย์มีโอกาสปนเปื้อนในอาหาร และมีอิทธิพลทำให้อาหารไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารขึ้นอยู่กับสาเหตุต่าง ๆ คือ

1. มีการใช้วัตถุดิบที่มีการปนเปื้อนมาก่อน เช่น ระหว่างการฆ่าและชำแหละเนื้อสัตว์ ถ้าบริเวณผิวหนังภายนอกและมีดที่ใช้ไม่สะอาด เลือดสัตว์ที่มีการไหลเวียนอยู่ จะนำจุลินทรีย์จากแหล่งเหล่านี้ไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย การปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนวัตถุดิบ อาจมาจากมือคนชำแหละ อากาศ น้ำที่ใช้ล้างซากสัตว์ ผุ่นละออง ลำไส้ เสื้อผ้าผู้ชำแหละ พื้นห้องที่สัตว์วางอยู่และพื้นโต๊ะที่ทำการชำแหละ ในระหว่างการขนส่ง การขาย จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนลงบนเนื้อสัตว์ ในระยะนี้จะมาจากรถขนส่งภาชนะบรรจุ อากาศ ผู้ซื้อ ผู้ขาย เครื่องชั่ง เครื่องบดและมีด เป็นต้น

2. กรรมวิธีในการแปรรูปอาหารไม่ถูกต้อง เช่น การใช้อุณหภูมิในการแปรรูปอาหารไม่ถูกต้อง มีการทำอาหารแบบสุก ๆ ดิบ ๆ อาหารสุกไม่ทั่วถึง เพราะมีขนาดใหญ่ หรือนำอาหารที่แช่แข็งออกไปเข้าเตาอบทันที โดยไม่ปล่อยให้น้ำแข็งละลายหมดเสียก่อน บ่อยครั้งพบว่าภายนอกอาหารสุกดี แต่ภายในความร้อนยังไม่สูงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ได้ อาหารบางประเภทไม่ได้นำไปผ่านความร้อนเลย เช่น แหนม ส้มตำ อาหารต่าง ๆ เหล่านี้มีโอกาสเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้

3. เกิดการปนเปื้อนหลังการแปรรูปอาหาร อาหารหลายชนิดที่ปรุงสำเร็จแล้วถูกนำไปเก็บที่อุณหภูมิซึ่งเหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้มีโอกาสเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารพร้อมบริโภคได้มาก นอกจากนี้การเก็บอาหารดิบและอาหารสุกไว้ด้วยกัน หรือการใช้ภาชนะต่าง ๆ เช่น มีด ช้อน จาน เขียง หรือแม้กระทั่งมือที่สัมผัสอาหารดิบแล้วมาสัมผัสอาหารสุก ต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้มีโอกาสเพิ่มทั้งชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ ในอาหารที่ผ่านการแปรรูปแล้วโดยวิธี cross contamination

4. เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการขายและการขนส่ง เช่นการใช้มือในการหยิบอาหารประเภทของหวานที่ใช้มะพร้าวและน้ำตาลที่ขายตามทางเท้า แม้แต่อาหารคาวหลายประเภท เช่น ข้าวมันไก่ ข้าวขาหมู ก็มีการใช้มือสัมผัส การหยิบเงินแล้วมาสัมผัสอาหารอีกโดยไม่ได้ล้างมือให้สะอาดก่อน ต่าง ๆ เหล่านี้เป็นโอกาสในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารได้ทั้งสิ้น

การตรวจสอบจุลินทรีย์ที่เป็นพิษในอาหารโดยตรง เป็นวิธีการที่ต้องเสียเวลาและค่าใช้จ่ายสูงมาก วิธีการที่นิยมกันคือ การตรวจสอบเฉพาะจุลินทรีย์บางกลุ่มที่เป็นดัชนีคุณภาพอาหารเท่านั้น จำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร จะเป็นตัวชี้ให้เห็นคุณภาพอาหารทางด้านสุขาภิบาล และสภาวะที่ช่วยให้จุลินทรีย์ที่เป็นพิษมีโอกาสขยายพันธุ์ กลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีชี้คุณภาพอาหารที่สำคัญได้แก่

2.1.1 แบคทีเรียโคลิฟอร์ม โคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในแฟมิลี่ Enterobacteriaceae แฟมิลี่นี้มีแบคทีเรียชนิดอื่นที่เป็นพิษ เช่น Salmonella, Shigella and Yersiniaรวมอยู่ด้วย โคลิฟอร์มมีคุณสมบัติแตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในแฟมิลี่เดียวกันคือ สามารถหมักน้ำตาลนม หรือแล็กโทส ให้กลายเป็นกรดและก๊าซได้ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง โคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียที่นิยมใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะอาหารและน้ำมานานแล้ว

โคลิฟอร์มชนิดที่สำคัญได้แก่ Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Aeromonas hydrophila และ Klebsiella pneumoniae โคลิฟอร์มสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด และในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันมาก เช่น สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ -2 ถึง 50 เซลเซียสในสภาพ pH 4.4 -9.0 สภาวะที่มีแหล่งไนโตรเจน แหล่งคาร์บอนจากสารอินทรีย์จะเจริญได้ดีใน Nutrient Agar ที่อุณหภูมิ 37 เซลเซียส ภายในเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในอาหารที่มี bile saltซึ่งเกลือนี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบอื่น ๆ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลแล็กโทสbile salt และสารที่เป็นตัวชี้บ่งความเป็นกรดและด่างลงไปด้วยจะช่วยแยกแบคทีเรียโคลิฟอร์มและแบคทีเรียชนิดอื่นออกจากกันได้ดี

Enterobacter เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปตามพืชพันธุ์ธรรมชาติ บางครั้งอาจพบในลำไส้ของคนส่วน Escherichia coli มีแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติในคนและสัตว์เลือดอุ่น และพบอยู่ทั่วไปทุกแห่งตามสิ่งปฏิกูลของคนและสัตว์ ได้มีการใช้ E. coli เป็นตัวชี้ถึงการปนเปื้อนของสิ่งปฏิกูลในน้ำมานานแล้ว เนื่องจาก E. coli พบอยู่เฉพาะในลำไส้ของคนและ สัตว์เลือดอุ่นจึงจัดอยู่ในกลุ่มฟิคอลโคลิฟอร์ม (faecal coliforms) มีคุณสมบัติพิเศษ แตกต่างจากแบคทีเรียที่พบจากแหล่งอื่น คือ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง 44.5-45.5 เซลเซียส E. coli สามารถดำรงชีพได้ดีในลำไส้ของคนและสัตว์เท่านั้น ส่วนในบรรยากาศทั่วไป E. coli ไม่สามารถเจริญได้และจะตายไปในที่สุด ดังนั้นการตรวจพบ E.coli ในอาหารพร้อมบริโภคชี้ให้เห็นว่า มีการปนเปื้อนจากอุจจาระโดยตรง การที่กรรมวิธีในการปรุงอาหารนั้นมีขั้นตอนต่าง ๆ ไม่ถูกต้อง เช่น มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนในวัตถุดิบเป็นจำนวนมาก อาหารผ่านความร้อนไม่เพียงพอในการทำลายเชื้อ มีการปนเปื้อนของเชื้อจากผู้ปรุงหรือผู้บริการอาหาร ข้อบกพร่องต่าง ๆ เหล่านี้ อาจทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารเข้าไปปนเปื้อนในอาหารได้ ในการตรวจสอบโคลิฟอร์มในอาหารสิ่งที่สำคัญ คือ การตรวจสอบจำนวนและชนิดของโคลิฟอร์มด้วยว่า เป็นแหล่งที่มาจากอุจจาระหรือจากแหล่งอื่น เป็นต้น

การแยกเชื้อและการตรวจนับเชื้อโคลิฟอร์ม อาจใช้วิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารวุ้นโดยตรง หรือเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่เรียกกันว่าวิธี Most Propable Number (MPN) หรือใช้วิธีการกรองผ่านเยื่อบาง ๆ ที่เรียกว่า Membrane Filter (MF) การเลี้ยงเชื้อในอาหารวุ้นโดยตรง ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถแยกเชื้อโคลิฟอร์มได้เช่น Violet Red Bile Ager (VRBA) โคลิฟอร์มที่เจริญเติบโตใน VRBA มีโคโลนีสีแดง ในบางครั้งชิ้นส่วนอาหารจะดูดสีไว้ด้วย ซึ่งอาจทำให้การสรุปผลการตรวจสอบอาหารผิดพลาดได้ และวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารโดยตรงนี้ ไม่เหมาะสมในการนำมาใช้ตรวจสอบอาหารที่มีเชื้ออยู่เป็นจำนวนน้อย วิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบอาหารที่มีจำนวนโคลิฟอร์มอยู่เพียงเล็กน้อยคือวิธี MPN วิธีนี้เป็นการประมาณจำนวนเซลล์จากตัวอย่างอาหาร ทดสอบโดยนำตัวอย่างอาหารใส่ในอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth 3 หลอด หรือ 5 หลอด บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการทดลองขั้นแรกหรือ presumptive test ให้ผลเป็นบวกเมื่อมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดทดลอง นำหลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้น มาทดสอบขั้นที่สองหรือ confirmed test เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง โดยถ่ายเชื้อลงใน Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) หลังจากบ่มเพาะเชื้อแล้ว นำมาตรวจสอบจำนวนหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้น หลอดที่ปรากฏว่ามีก๊าซเกิดขึ้น คือหลอดที่มีเชื้อที่ต้องการตรวจสอบอยู่ หลังจากนั้นนำไปตรวจสอบต่อไปในขั้นสุดท้าย หรือ complete test เพื่อให้แน่ใจว่าแบคทีเรียนั้นคือโคลิฟอร์ม โดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจดูรูปร่างลักษณะและตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อต่อไป ส่วนวิธีการแยกเชื้อและการตรวจนับเชื้อโคลิฟอร์มแบบวิธีการกรอง หรือ Membrane Filter (MF) นั้นเหมาะในการใช้ตรวจสอบคุณภาพน้ำ หรือเครื่องดื่มชนิดใส ซึ่งสามารถกรองตัวอย่างที่มีปริมาณมาก ๆ ได้

การจำแนก Enterobacter aerogenes ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่มาจากแหล่งอื่น ๆ กับฟิคอลโคลิฟอร์ม ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่มีแหล่งมาจากอุจจาระ ได้แก่ E. coli นั้น จำแนกออกจากกันได้โดยอาศัยคุณสมบัติตามแบบ IMViC ดังนี้คือ

	I	M	Vi	C
E. coli	+	+	-	-
E. aerogenes	-	-	+	+

เมื่อ I = การสร้างสารอินโดล
M = ปฏิกริยาเมทธิลเรด
Vi = ปฏิกริยา Voges - Proslauer (การสร้าง acetoin)
C = คุณสมบัติในการใช้ซิเตรท

นอกจากนี้ยังมีการใช้ 4-methylumbelliferyl-β-D-glueuronide (MUG) ช่วยในการทดสอบ E.coli โดยอาศัยหลักการที่ว่าร้อยละ 97 ของ E. coli สามารถสร้างเอนไซม์ β-glucoronidase ได้ (Kilian and Bülow,1976) เอนไซม์นี้สามารถสลาย MUG ให้ 4-methylumbelliferone ซึ่งสามารถเรืองแสงได้ภายใต้แสง UV วิธีการนี้เป็นวิธีการที่รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายถูก และใช้เวลาน้อยกว่าวิธี MPN (Robinson, 1984)

2.1.2 แฟมิลี่ Enterobacteriaceae นอกจากจะนิยมใช้โคลิฟอร์มเป็นตัวชี้คุณภาพอาหารทางด้านจุลินทรีย์แล้ว แบคทีเรียทุกชนิดในแฟมิลี่Entero bacteriaceae ก็ถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนจากสิ่งปฏิกูลด้วย ในกรณีที่โคลิฟอร์มอาจถูกทำลายไป ในขณะที่แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในแฟมิลี่เดียวกันยังมีเหลืออยู่ การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียในแฟมิลี่ Enterobacteriaceae อาจใช้วิธี MPN และเมื่อจำเป็นต้องทดสอบ เพื่อให้แน่ใจว่าเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในแฟมิลี่นี้ ก็ทำการทดสอบขั้นต่อไปคือ เลี้ยงเชื้อใน Violet Red Bile Glucose Agar

ในการใช้แฟมิลี่ Enterobacteriaceae เป็นตัวชี้คุณภาพอาหารทางด้านจุลินทรีย์ มีประโยชน์ในกรณีที่วิเคราะห์ไม่พบโคลิฟอร์มในอาหาร หรือพบในปริมาณที่ต่ำแต่มี Enterobacteriaceae อยู่สูง ซึ่งโดยทั่วไปผู้วิเคราะห์อาหารอาจยอมรับอาหารที่มีจำนวนโคลิฟอร์มอยู่ในระดับต่ำ แต่ไม่อาจยอมรับอาหารนั้นเมื่อมี Enterobacteriaceae อยู่เป็นจำนวนมาก

2.1.3 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total counts) หมายถึงจำนวนจุลินทรีย์ทุกชนิดที่มีอยู่ทั้งหมดในอาหาร โดยไม่เฉพาะเจาะจงว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากกล้องจุลทรรศน์โดยตรง (Direct Microscopic Count,DMC) คือจำนวนจุลินทรีย์ที่รวมทั้งชนิดที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต ส่วนจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น หมายถึงจำนวนเชื้อที่มีชีวิตทั้งหมด สามารถใช้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นดัชนีชี้ คุณภาพอาหารทางด้านสุขาภิบาลได้ดี

วิธีการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เจริญเติบโตในอาหารวุ้น(plate counts) วิธีนี้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นับได้จากอาหารวุ้นนั้น ไม่สามารถบอกได้ว่าอาหารนั้นปลอดภัยจากจุลินทรีย์ชนิดที่เป็นพิษและก่อให้เกิดโรค หรือจากสารพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ การตรวจพบจุลินทรีย์เพียงจำนวนเล็กน้อยในอาหาร มิได้หมายความว่าอาหารนั้นไม่มีแบคทีเรียชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคระบบทางเดินอาหาร การสรุปว่าอาหารที่มีจุลินทรีย์อยู่เพียงจำนวนน้อยปลอดภัยสำหรับบริโภคแล้ว อาจเป็นอันตรายอย่างยิ่งได้ เพราะจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่เพียงเล็กน้อยมิได้หมายความว่าปลอดภัยเสมอไป ถ้าจุลินทรีย์ที่มีอยู่นั้นเป็นแบคทีเรียชนิดที่สร้างสารพิษ เช่น Salmonela หรือ Staphylococcus

ส่วนการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจากกล้องจุลทรรศน์โดยตรง วิธีนี้ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบก่อนนำไปผ่านกระบวนการแปรรูป โดยย้อมสีตัวอย่างอาหารด้วยสีย้อม เช่น เมทิลีนบลู (methylene blue) แล้วนำแผ่นสไลด์ที่ย้อมสีไปตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์จากกล้องจุลทรรศน์โดยตรง วิธี DMC นี้เป็นตัวชี้คุณภาพของวัตถุดิบและการสุขาภิบาล มีประโยชน์ในการเป็นตัวชี้ประวัติ และคุณภาพทางด้านสุขาภิบาลของอาหาร แต่วิธีนี้ก็มีข้อจำกัด เพราะจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้เป็นจุลินทรีย์ทั้งชนิดที่มีชีวิตและชนิดที่ตายแล้ว และในบางครั้งอาจมองเห็นจุลินทรีย์ไม่ชัดเจน ส่วนข้อได้เปรียบของวิธีนี้คือ เสียค่าใช้จ่ายถูกและเสียเวลาในการตรวจสอบเพียงเล็กน้อย

2.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

อาหารเป็นพิษ (food poisoning) และการเกิดโรคจากอาหาร (foodborne infection) เป็นการเจ็บป่วยอันเกิดจากการบริโภคอาหารที่ไม่บริสุทธิ์ก่อให้เกิดอาการผิดปกติเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร(gastroenteritis) โดยทั่วไปมีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียร ท้องร่วง อาจมีไข้และมีอาการทางประสาท หรือมีอาการผิดปกติเกี่ยวกับระบบอื่น ๆ ของร่างกายร่วมด้วย การเกิดอาหารเป็นพิษ และการเกิดโรคจากอาหาร เกิดขึ้นได้จากสาเหตุต่างๆ ได้แก่ การใช้พืช หรือสัตว์ที่มีพิษตามธรรมชาติเป็นอาหาร การที่มีสารเคมีปนเปื้อนลงในอาหารโดยเจตนาหรือไม่เจตนา และเกิดจากจุลินทรีย์

การเกิดพิษเนื่องจากจุลินทรีย์ มีทั้งเกิดจากอาหารเป็นสื่อนำเชื้อโรคไปยังผู้บริโภค และเกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารเจริญเติบโตทวีจำนวนของมันเอง หรือสร้างสารพิษขึ้นมาในปริมาณมากพอที่จะทำให้เกิดพิษต่อผู้บริโภคจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีทั้งแบคทีเรีย รา ไวรัส และโปรโตซัว ซึ่งจะกล่าวถึงรายละเอียดเฉพาะแบคทีเรียเท่านั้น แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษแบ่งตามวิธีการเข้าทำลายมี 2 พวกคือ

2.2.1 พวกที่เข้าทำลายโดยวิธี (food infection) เกิดจากแบคเรียที่ติดมากับอาหาร แล้วแบ่งตัวทวีจำนวนขึ้น เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารเข้าไป จะเกิดอาการปวดท้อง ท้องเดิน แบคทีเรียพวกนี้ ได้แก่ Vibrio parahaemolyticus, Escherichia coli และ Salmonella

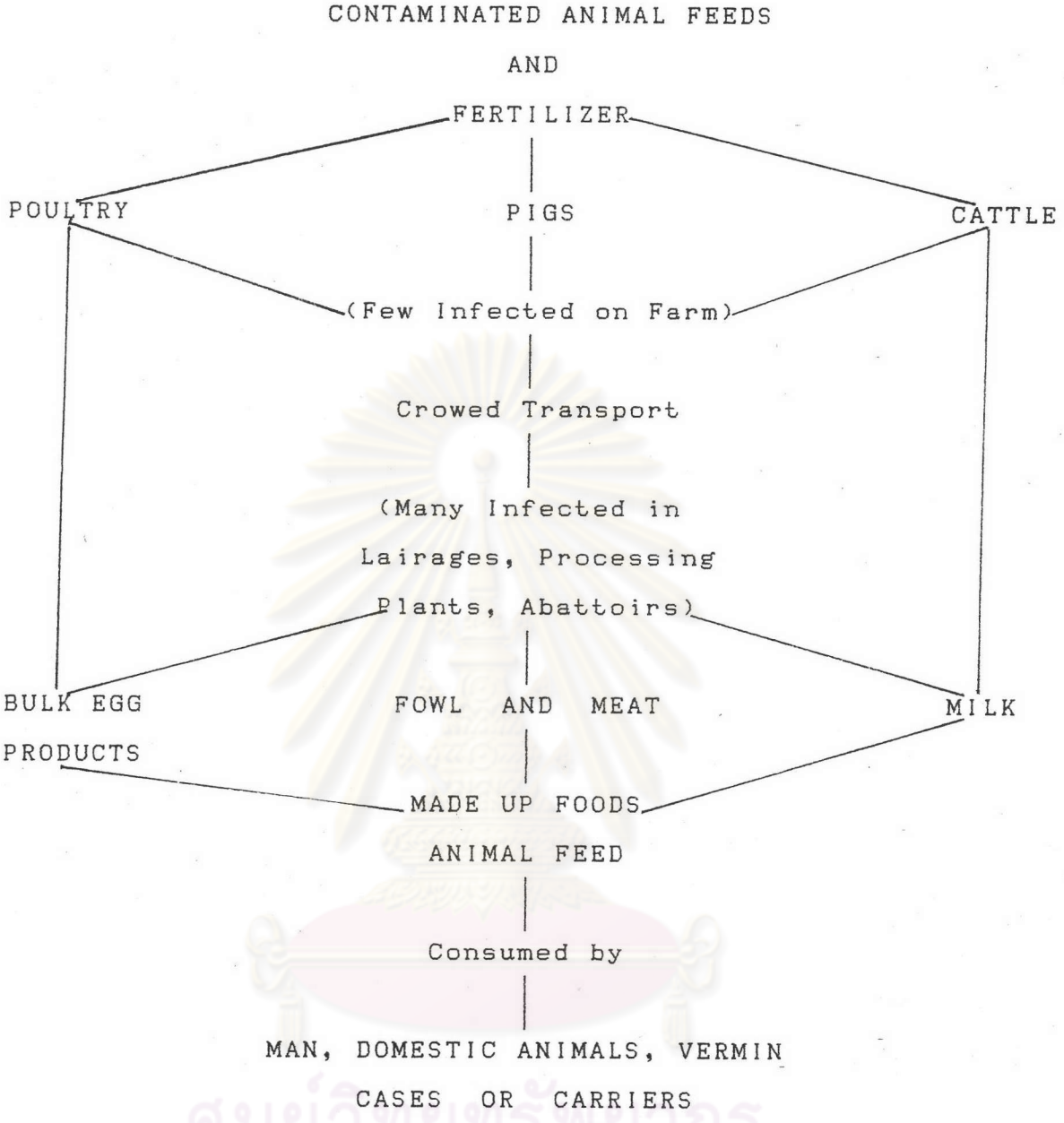
2.2.1.1 Vibrio parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียในแฟมิลี่ Vibrionaceae ย้อมติดสีแกรมลบ รูปท่อนหรือโค้ง ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ ชอบความเค็ม พบมากในประเทศญี่ปุ่น และชายฝั่งทะเลของประเทศในเขตร้อน V. parahaemolyticus เจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 - 44 เซลเซียส อุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุด คือ 30°-35°เซลเซียส และ เชื้อนี้จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ากว่า 15 เซลเซียส จึงไม่พบการระบาดของเชื้อนี้ในฤดูหนาวนอกจากฤดูร้อนเท่านั้น เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้ไม่ทนความร้อนและสามารถถูกทำลายได้โดยการหุงต้มธรรมดา ดังนั้นการแช่เย็นอาหารทะเลและการให้ความร้อนที่เหมาะสมในการทำอาหารให้สุก จะสามารถป้องกันการเกิดโรคได้ การเกิดโรคเนื่องจากเชื้อ V. parahaemolyticus นี้ จะเกิดขึ้นเมื่อบริโภคอาหารทะเล

ที่ปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ หรืออาหารที่มีการปนเปื้อนจากภาชนะที่ใช้กับอาหารทะเลมาก่อนอาหารที่มีเชื้อ V. parahaemolyticus ระหว่าง 10^5-10^8 โคโลนีต่อกรัม (Twedt and Brown, 1973) จะทำให้เกิดอาการผิดปกติขึ้นหลังจากบริโภคเข้าไปแล้วประมาณ 12 ชั่วโมงซึ่งจะแตกต่างกันในช่วง 2-24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับสุขภาพ อายุ เพศ และ ปริมาณที่บริโภค อาการที่เกิดขึ้นคือปวดท้อง ท้องเดิน คลื่นไส้อาเจียร มีไข้หนาวสั่น ปวดศีรษะ อาการปวดท้องจะปวดที่กระเพาะอาหารมากกว่าที่ช่องท้อง รายที่เป็นมากจะมีอาการคล้ายเป็นบิดผู้ป่วยมีไข้สูงถึง 39 °เซลเซียส เวลาถ่ายอุจจาระจะมีมูกและเลือดออกมาด้วย ผู้ป่วยจะหายภายใน 2-5 วัน อัตราการตายจะต่ำ ส่วนใหญ่พบในคนแก่ เด็ก หรือผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอ

2.2.1.2 Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อน สามารถหมักน้ำตาลแล็กโทสได้ โดยทั่วไปอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น รวมทั้งในอุจจาระในปริมาณหลายล้านเซลล์ต่อกรัม E. coli จึงเป็น แบคทีเรียที่ถูกใช้เป็นดัชนีชี้ถึงการปนเปื้อนของอุจจาระในอาหารและน้ำ ก่อนปี ค.ศ. 1968 ไม่มีผู้ใดทราบว่า E. coli เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร ทราบเพียงแต่ว่าเป็นแบคทีเรียในระบบลำไส้ของมนุษย์ การตรวจพบ E. coli ในอาหารหลายชนิดมักพิจารณาว่าไม่เป็นอันตราย จนกระทั่งปี ค.ศ.1970 ในสหรัฐอเมริกามีการตรวจพบการเกิดโรคทางเดินอาหารเนื่องจากเชื้อ E. coli ในผู้ป่วยที่รับประทานเนยแข็ง ความเชื่อนั้นก็เปลี่ยนไป (Mehlman and Romero, 1982)

E. coli เฉพาะชนิด (types) สามารถทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารในมนุษย์ E. coli ชนิดที่หนึ่งทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในเด็กทารกซึ่งมีอัตราการตายสูง ชนิดที่สองทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงกับคนที่เดินทาง (travelers' diarrhea) ชนิดที่สามทำให้เกิดอาการโรคบิดอย่างรุนแรงคล้ายโรค shigellosis และ E. coli ชนิดที่สี่ทำให้เกิดโรค hemorrhagic colitis หรือ bloody diarrhea ซึ่งมีอาการปวดท้องอาเจียร อาจมีไข้ อุจจาระเป็นน้ำและมีเลือด จะเป็นอยู่ 2-9 วัน บางครั้งอาจมีโรค hemolytic uremic syndrome (HUS) ตามมา ซึ่งมีความผิดปกติในทางเดินปัสสาวะเป็นเลือด และเป็นสาเหตุนำไปสู่โรคไตล้มเหลวอย่างเฉียบพลันในเด็กด้วย (Foster, 1986)

2.2.1.3 Salmonella เป็นแบคทีเรียในแฟมิลี่ Entero bacteriaceae ลักษณะเป็นท่อน เจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ ไม่สร้างสปอร์ และย้อมติดสีแกรมลบ โดยทั่วไปพบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์ ทั้งสัตว์ป่า สัตว์เลือดเย็น และสัตว์เลือดอุ่น การเกิดโรคจากเชื้อ Salmonella ในคนเป็นผลมาจากความใกล้ชิดระหว่างคนกับสัตว์ สิ่งที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ คืออุจจาระของคนหรือสัตว์ซึ่งอาจกำลังเป็นโรค เพิ่งหายจากโรค เป็นโรคเรื้อรัง หรือไม่มีอาการของโรคก็ได้ โดยเฉพาะคนที่เพิ่งหายจากโรคจะขับเชื้อSalmonellaออกมากับอุจจาระ ซึ่งมักเกิดขึ้นทั่วไปกับสัตว์เลี้ยงที่ใช้เป็นอาหาร เนื่องจากวิธีการเลี้ยงสัตว์เป็นจำนวนมาก ส่วนทางอ้อมจะมีสื่อนำ เช่น อาหารและน้ำ ซึ่งปนเปื้อนด้วยอุจจาระที่มีเชื้อ สื่อนำเชื้อที่สำคัญคือ อาหารคน หรืออาหารสัตว์ (รูปที่ 2.1) อาหารที่ปนเปื้อนด้วย Salmonella มากที่สุดมักเป็นอาหารประเภทเนื้อวัว เนื้อหมู เป็ด ไก่ ไข่ ปลา และ นม อาหารจะเป็นสื่อนำเชื้อนี้ได้เนื่องจากอาหารนั้นทำมาจากสัตว์ซึ่งติดเชื้อ หรืออาหารได้รับเชื้อจากคน หรือวัตถุอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งคนซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับอาหาร มักเป็นสาเหตุทำให้เกิดการปนเปื้อนของ Salmonella ในอาหาร รวมทั้งการใช้ความร้อนต่ำทำให้ไม่สามารถทำลายเชื้อ Salmonella ในอาหารให้หมดสิ้นได้ Salmonellaส่วนใหญ่สามารถถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60°-65° เซลเซียส ภายในเวลา 2-3 นาที และการจะทำลายเชื้อ Salmonella ในอาหารให้หมดสิ้นจะต้องให้ความร้อนจนกระทั่งถึงจุดกึ่งกลางของอาหารที่อุณหภูมิ 74°-77° เซลเซียส (Miller and Ramsden,1955) อาหารที่หุงต้มโดยถูกวิธีจึงไม่ควรมีเชื้อนี้หลงเหลืออยู่ การให้ความร้อนอาหารเพียงเล็กน้อยหรืออาหารถูกปนเปื้อนหลังทำให้สุกแล้ว Salmonella จะเพิ่มจำนวนขึ้น จำนวนเชื้อ Salmonella ในอาหารขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้เก็บอาหาร เชื้อนี้สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 7°-46° เซลเซียส ซึ่งจะแตกต่างกันบ้างขึ้นอยู่กับ serotype อุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 37° เซลเซียส (Thorner and Manning,1983) จำนวนและชนิดของ Salmonella ในอาหารเป็นสิ่งสำคัญในการที่จะทำให้เกิดโรคเช่น ถ้าเป็น S. meleagridis จะต้องมีปริมาณ 7.0 x 10^6 -10^7 โคโลนีต่อกรัม S.newport ต้องมีปริมาณ 1.5 x 10^5 โคโลนีต่อกรัม S.bareilly 1.3x10^5



รูปที่ 2.1 การปนเปื้อนของ Salmonella ในอาหาร (Bowmer, 1965)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016191

โคโลนีต่อกรัม S. analtum 4.4 x 10^7 - 6.7 x 10^7 โคโลนีต่อกรัม และ S.derby ต้องมีปริมาณ 1.5 x 10^6 โคโลนีต่อกรัม เป็นต้น (ศิวาพร ศิวเวชช และคนอื่น ๆ, 2523)

ลักษณะอาการของโรคติดเชื้อ Salmonella แบ่งเป็น 3 ชนิด ดังนี้

1. enteric fever (typhoid fever หรือ paratyphoid fever) เกิดจาก S. typhi หรือ S. paratyphi A, B หรือ C ระยะฟักตัวของโรค 7-20 วัน มีอาการตับและม้ามโตขึ้น มีไข้ พบเชื้อที่ปอด ตับ ม้าม ถุงน้ำดี และไขกระดูก ซึ่งเชื้อจากถุงน้ำดีจะเข้าสู่ลำไส้เล็ก และทำให้เกิดแผลอักเสบหรือลำไส้ทะลุ

2. septicemia เชื้อเข้าสู่กระแสโลหิต ทำให้เกิดอาการอักเสบที่อวัยวะต่าง ๆ เช่น เยื่อหุ้มสมอง ข้อและกระดูก ส่วนระยะฟักตัวของโรคนั้นไม่แน่นอน เชื้อ Salmonella ที่พบว่าทำให้เกิด septicemia บ่อยครั้งได้แก่ S. choleraesuis, S. paratyphi

3. gastroenteritis หรือ Salmonella food poisoning หลังจากได้รับเชื้อ Salmonella ซึ่งปนเปื้อนอยู่ในอาหารประมาณ 8 - 48 ชั่วโมง จะมีอาการอักเสบของลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ คลื่นไส้ อาเจียร อาการจะหายได้เองภายใน 2-5 วัน สาเหตุสำคัญ ได้แก่ S. typhimurium และ S. heidelberg

2.2.2 พวกที่เข้าทำลายโดยวิธี food intoxication เกิดจากแบคทีเรียที่ติดหรือปนเปื้อนมากับอาหาร เมื่อเจริญเติบโตในอาหารจะสร้างสารพิษขึ้นมาในปริมาณมากพอที่จะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการโรคอาหารเป็นพิษขึ้นได้ แบคทีเรียพวกนี้ ได้แก่ Staphylococcus aureus

2.2.2.1 Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียในแฟมิลี่ Micrococcaceae รูปร่างกลม ย้อมติดสีแกรมบวก ส่วนใหญ่จะพบเชื้อ S. aureus ตามผิวหนัง เสื้อผ้า ปาก จมูก ตา หู และคอ คนที่มีสุขภาพสมบูรณ์จะมี S.aureus อาศัยอยู่ร้อยละ 30-50 ส่วนพวกที่ทำงานในโรงพยาบาลจะมีอยู่ร้อยละ 60-80 นอกจากนั้นจะพบเชื้อนี้ในคนที่เป็นโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ เช่น หวัด ไอ จาม หรือจากบาดแผลที่เป็นหนอง การแพร่กระจายของเชื้อ S. aureus ในอาหารพบได้ในอาหารทุกชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารที่ผ่านการสัมผัสก่อนนำมาบริโภค S. aureusในอาหาร เมื่อแบ่งตัวได้จำนวน 10^6 โคโลนีต่อกรัม จะเพียงพอที่จะทำให้ผู้บริโภคมีอาการของโรคอาหารเป็นพิษได้ S. aureus สามารถสร้างสารพิษขึ้นได้เอง คือ enterotoxin เป็นสารพิษพวกexotoxin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำได้และทนความร้อน enterotoxinที่ S. aureus สร้างขึ้นมี 5 ชนิดคือ enterotoxin A,B,C,D และ E enterotoxin A เป็นสารพิษที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมากที่สุด สารพิษที่ S. aureus สร้างขึ้นนั้นสามารถแพร่กระจายอยู่ในอาหารและทนความร้อนได้ดี สามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษภายในเวลาอันสั้น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และคนอื่น ๆ, 2523) enterotoxin A เมื่อได้รับความร้อน 80° เซลเซียส นาน 3 นาที หรือ 100° เซลเซียส นาน 1 นาที จะสูญเสียปฏิกิริยากับ antibody แต่ถ้าถูกความร้อน 60° เซลเซียส นาน 20 นาที ที่ pH 6.85 จะเสียปฏิกิริยากับ antibody ไปเพียงร้อยละ 50 เท่านั้น แต่พิษจะถูกทำลายเมื่อให้ความร้อนที่ 80° เซลเซียส และ 100° เซลเซียส นาน 3 และ 1 นาที ตามลำดับ (Chu, Thadhanim, Schantz and Bergdoll, 1966) ส่วน vegetative cell ของ S. aureus นั้นไม่ทนความร้อน S. aureus สามารถเจริญได้ดีที่ 37° เซลเซียส แต่อาจเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6.7° เซลเซียส หรือสูงถึง 45° เซลเซียส โดยปกติแล้วอุณหภูมิที่พอเหมาะกับการเจริญและสร้างสารพิษของ S. aureus อยู่ที่ประมาณ 39° เซลเซียส (Troller, 1986) การสร้างสารพิษในอาหารของเชื้อนี้สามารถสร้างได้ในช่วง pH ที่กว้างมากตั้งแต่ 4.00-9.83 (Genigeorgis, Foda, Mantis and Sadler, 1971) นอกจากนี้สารพิษที่ S. aureus สร้างขึ้นมานั้นเป็นชนิด coagulase positive

เมื่อผู้บริโภคอาหารซึ่งมีสารพิษของ S. aureus เข้าไป จะทำให้เกิดอาการผิดปกติในระบบทางเดินอาหารอย่างเฉียบพลัน ความรุนแรงของอาการจะขึ้นกับความต้านทานของผู้บริโภคแต่ละคน และปริมาณของสารพิษที่บริโภคเข้าไป อาการจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 3 ชั่วโมง แต่อาจแตกต่างกันอยู่ในช่วง 1/2-6 ชั่วโมง จะมีอาการมึนงง คลื่นไส้อาเจียร เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย อาจพบอาการปวดศีรษะ การเกร็งของกล้ามเนื้อ บางครั้งอุณหภูมิร่างกายจะลดลง ทำให้มีอาการหนาวสั่นอาการที่เกิดขึ้นอย่างเฉียบพลันนี้จะหายเองภายใน 24-72 ชั่วโมง อัตราการตายพบน้อยมาก สำหรับการสร้างสารพิษของ S. aureus จะเริ่มขึ้นหลังจากที่มีการเจริญ 4-6 ชั่วโมงแล้ว โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 21-37 เซลเซียส สารพิษที่สร้างเป็นประเภททนความร้อน จึงควรระมัดระวังไม่ให้เชื้อนี้ปนเปื้อนในอาหาร เพราะถ้ามีสารพิษจะยากที่จะกำจัด เนื่องจากสารพิษของ S. aureus เป็นสารพิษที่ทนความร้อนได้ดี

2.3 เซลล์บาดเจ็บ Staphylococcus aureus

ในการแปรรูปอาหาร ถ้ากระบวนการแปรรูปมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการทำลายจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่เหลืออยู่นั้นก็จะอยู่ในสภาพ stress หรือ injure หรือที่เรียกว่าเซลล์บาดเจ็บได้ กระบวนการแปรรูปที่ทำลายจุลินทรีย์ได้แก่ ความร้อน ความเย็น การเยือกแข็ง การอบแห้ง การฉายรังสี การใช้กรด เกลือ และสารกันเสีย Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่สามารถเกิดสภาพบาดเจ็บเนื่องจากความร้อน

เซลล์บาดเจ็บซึ่งเกิดจากกระบวนการแปรรูปอาหาร มีการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาเกิดขึ้นตลอดเวลา เริ่มตั้งแต่ในระยะแรกที่มีการบาดเจ็บเกิดขึ้น จนกระทั่งเซลล์ตายไปในที่สุด เซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิดที่บาดเจ็บไม่มาก อาจปรับตัวให้กลับกลายเป็นเซลล์ปกติหรือเซลล์ที่สมบูรณ์ดังเดิมได้ ภายในเซลล์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น คุณสมบัติของเซลล์ก็จะเปลี่ยนแปลงตามไปด้วยคือ เซลล์บาดเจ็บจะมีความไวต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ สี เกลือ และสารปฏิชีวนะ

กระบวนการแปรรูปอาหาร จะมีอิทธิพลต่อเซลล์อาจทำให้มีเซลล์บาดเจ็บเกิดขึ้นได้ คือ

1. เยื่อหุ้มเซลล์บางส่วนถูกทำลาย
2. กรดนิวคลีอิกและโปรตีนซึ่งอยู่ภายในจะไหลออกมาจากเซลล์เป็นสาเหตุทำให้เซลล์อ่อนแอ
3. เซลล์มีความไวต่อเกลือ S. aureusที่บาดเจ็บไม่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 7.5% NaCl
4. เซลล์มีความไวต่อสารปฏิชีวนะ

ในการวิเคราะห์เซลล์บาดเจ็บ S. aureusนั้น ทดสอบได้โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ Trypticase Soy Agar (TSA) และ Trypticase Soy Agar +7.5% NaCl (TSAS) หลังจากที่เลี้ยงเชื้อในอาหารทั้ง 2 ชนิดแล้วนับจำนวนจะพบว่า เซลล์ที่นับจาก TSA คือ จำนวนเซลล์ที่มีอยู่ในอาหารทั้งหมดทั้งชนิดที่ปกติและชนิดที่เกิดจากการแปรรูปอาหาร ส่วนจำนวนเซลล์ที่นับได้จาก TSAS นั้น หมายถึงเฉพาะเซลล์ที่ปกติเท่านั้นเนื่องจากเซลล์ที่บาดเจ็บมีความไวต่อเกลือ จึงไม่สามารถเจริญได้ใน TSAS จำนวนเซลล์ที่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 คือ จำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บ

เซลล์บาดเจ็บมีความสำคัญในด้านการควบคุมคุณภาพอาหาร และความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากเซลล์บาดเจ็บมีความไวต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ จึงไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการตรวจคุณภาพอาหารด้านจุลินทรีย์ ดังนั้น ในการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร จึงไม่สามารถบอกจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่แท้จริงได้ จำนวนจุลินทรีย์ที่วิเคราะห์ได้นั้นมีน้อยกว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่จริงในอาหาร ทำให้เกิดการตีความหมายผลการวิเคราะห์ หรือการตัดสินคุณภาพอาหารทางด้านจุลินทรีย์ผิดพลาดได้

2.4 มาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของอาหาร

เนื่องจากจุลินทรีย์ในอาหารเป็นตัวบ่งชี้ถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค และคุณภาพของอาหาร จึงมีการจัดมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของอาหารขึ้น เพื่อสะดวกในการควบคุมคุณภาพของอาหาร ซึ่งคณะกรรมการระหว่างประเทศได้ให้คำนิยามไว้ดังนี้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2528)

1. microbiological standards หมายถึงมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของอาหาร ซึ่งกำหนดไว้เป็นกฎหมายและใช้บังคับจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ทั้งหมดและจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอาหารแต่ละประเภท และต้องวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน มาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของอาหารนี้ จะใช้ควบคุมอาหารที่ผลิตขึ้นรวมทั้งการบรรจุการเก็บรักษาและการจำหน่ายอาหารด้วย

2. microbiological guideline หมายถึง ข้อกำหนดจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร ซึ่งเป็นข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการยอมรับจำนวนจุลินทรีย์สูงสุดของจุลินทรีย์ทั้งหมดหรือจำนวนจุลินทรีย์ชนิดที่มีความสำคัญในอาหารแต่ละประเภท ซึ่งจำนวนจุลินทรีย์และชนิดจุลินทรีย์ที่กำหนดนั้น ใกล้เคียงกับมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของอาหาร ในการกำหนดข้อเสนอทางด้านจุลินทรีย์นี้ เพื่อประโยชน์ใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติของผู้ที่เกี่ยวข้อง

3. microbiological specification หมายถึง จำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ทั้งหมด หรือจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ชนิดที่มีความสำคัญในอาหารแต่ละประเภท ซึ่งทางโรงงานแต่ละโรงงานและฝ่ายผู้ซื้อได้ร่วมกันกำหนดขึ้นและเป็นที่ยอมรับ ซึ่งในการวิเคราะห์ต้องใช้วิธีมาตรฐานวิเคราะห์อาหาร

จุดประสงค์ในการกำหนดมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของอาหารก็เพื่อป้องกันอันตรายจากโรคต่าง ๆ ซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่ถูกสุขลักษณะ และเพื่อให้แน่ใจว่าอาหารไม่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์รวมทั้งต้องการให้เก็บอาหารไว้ได้นาน

2.5 มาตรฐานของจุลินทรีย์ในอาหารพร้อมบริโภค

โดยปกติมาตรฐานของจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารนั้น ยังมิได้กำหนดลงไปแน่นอนเพราะอาหารในแต่ละท้องถิ่นจะแตกต่างกันไป ตามสภาพเศรษฐกิจ รสนิยม ประเพณี และวัฒนธรรม ในการสัมมนาที่โตเกียว ประเทศญี่ปุ่น ในเรื่อง Gastrointestinal Infection in Southeast Asia 1978 ในส่วน Administrative Aspects in Food Hygiene in Thailand (SEAMIC, 1978) ได้กำหนดแนวทาง ของการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา ไว้ดังนี้

1. total aerobic plate count ต่ออาหาร 1 กรัม = 1.0×10^6
2. MPN coliform ต่ออาหาร 1 กรัม = 500
3. MPN E. coli ต่ออาหาร 1 กรัม = 10

มาตรฐานอาหารทางจุลชีววิทยาของประเทศนิวซีแลนด์ ได้กำหนดตามแบบฟอร์มของคณะกรรมการระหว่างประเทศ คือ International Commission on Microbiological Specifications for Food (ICMSF) ได้กำหนดค่าต่าง ๆ สำหรับอาหารพร้อมบริโภค ซึ่งเป็นอาหารที่ไม่ต้องนำไปผ่านความร้อนอีก รวมทั้งอาหารซึ่งเสริฟบนเครื่องบิน มีการกำหนดค่าต่าง ๆ ดังนี้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2528)

"prepared" foods	m	
total viable count	500,000/g	
Staphylococcus aureus (coagulase producing)	100/g	
faecal coliform	20/g	
Salmonella	0/25g	
total viable count	n=5 c=2 $m=5 \times 10^5$	$M=5 \times 10^6$
Staphylococcus aureus	n=5 c=2 $m=10^2$	$M=10^3$
faecal coliform	n=5 c=2 m=20	$M=2 \times 10^2$
Salmonella	n=5 c=0 m=0	M=0

n = จำนวนตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

c = จำนวนตัวอย่างอาหารที่มีจุลินทรีย์เกินกำหนดได้

m = จำนวนจุลินทรีย์ที่กำหนดให้มีในตัวอย่างอาหารได้

M = จำนวนจุลินทรีย์ที่กำหนดให้มีในตัวอย่างอาหารไม่ได้

จากรายงานการสำรวจจำนวนการเกิดโรคเนื่องจากอาหาร ที่สหรัฐอเมริกา ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1916 ถึง ค.ศ. 1970 (Bryan, 1972) และปี ค.ศ. 1971 ถึง ค.ศ. 1980 (Synder and Matthews, 1984) จำนวนการเกิดโรคทางเดินอาหารมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำนวนผู้ป่วยโรคระบบทางเดินอาหารร้อยละ 54 เกิดเนื่องจากการรับประทานอาหาร ที่ซื้อมาจากสถานจำหน่ายอาหาร Bryan (1974) ได้รายงานถึงการเกิดโรคเนื่องจากอาหารในระหว่างปี ค.ศ. 1968 ถึง ค.ศ. 1972 จำนวน 1,615 ครั้ง เกิดเนื่องจากอาหารที่ซื้อมาจากสถานจำหน่ายอาหารถึง 589 ครั้ง ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1940 เป็นต้นมา จำนวนผู้ป่วยเนื่องจากการรับประทานอาหารจากสถานจำหน่ายอาหารในสหรัฐอเมริกามีจำนวนสูงมากขึ้น (Bryan, 1978) และอาหารจีนเป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งของการเกิดโรคทางเดินอาหารในประเทศแคนาดา และสหรัฐอเมริกาในแต่ละปี (Sly and Ross, 1982) MacDonal and Griffin (1986) ได้รายงานการเกิดโรคเนื่องจากอาหารในสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1982 เฉพาะที่ได้รับการยืนยันผลพบว่ามีผู้ป่วยเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียถึงร้อยละ 49.9 ในจำนวนนี้เป็นผู้ป่วยเนื่องจากเชื้อ Salmonella สูงสุด

ในปี พ.ศ. 2514 กองควบคุมโรคติดต่อ ฝ่ายสาธารณสุข เทศบาลนครหลวง ร่วมกับกองชันสูตรทางแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เก็บตัวอย่างอาหารประเภทดิบและสุกจากร้านอาหารทั่วเขตเทศบาลนครหลวง และตรวจหาเชื้อ Salmonella, Shigella, Vibrio cholerae และV. parahaemolyticus พบเชื้อโรคลำไส้ชนิดต่าง ๆ ในอาหารดิบร้อยละ 38.3 ของตัวอย่างที่ตรวจ ในอาหารสุกร้อยละ 8.5ของตัวอย่างที่ตรวจ รวมอาหารทั้งสองประเภทตรวจพบเชื้อโรคลำไส้ร้อยละ 20.4 ของตัวอย่างที่ตรวจพบ ซึ่งนับว่าเป็นอัตราที่ส่วนสูง (ปานจิตต์ เอกะจัมปกะ, อโศก สุนทรศารทูล, รัตนสุดา พันธ์อุไร, อาคม สมาหาร และ สนั่น สุภีรนันทน์, 2515)

ในระหว่างปี พ.ศ. 2515 ถึง พ.ศ. 2517 เจ้าหน้าที่กระทรวงสาธารณสุขได้ตรวจศึกษาสุขลักษณะของอาหารที่เตรียมให้แก่สายการบินระหว่างประเทศ และภัตตาคารที่ท่าอากาศยานดอนเมือง จากตัวอย่างอาหารทั้งหมด 275 ตัวอย่าง พบเชื้อ Salmonella 25 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.1 ของตัวอย่างที่ตรวจ โดยตรวจพบในอาหารประเภทเนื้อ ไก่ อาหารทะเล ผักสด ผลไม้ อาหารว่าง และของหวาน นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อ V. parahaemolyticus ในอาหารทะเลดิบ เนื้อปูสุก ไก่สุก และพบว่าอาหารที่ตรวจ ร้อยละ 36 มีจำนวนจุลิน

ทรีย์ทั้งหมดมากกว่า 10^5 โคโลนีต่อกรัม (สุมณฑา วัฒนสินธ์, อัจฉรา พุ่มฉัตร, รัตนสุดา พันธ์อุไร, จินดา ฟูพานิชพฤกษ์ และปราโมทย์ ทัดศรี, 2518)

คิวาพร คิวเวชช, วิชัย หฤทัยธนาสันต์ และ นัยทัศน์ ภู่ศรันย์ (2523) ได้วิเคราะห์อาหารประเภทไก่ย่าง ลาบ เนื้อย่าง น้ำตก ยำหอยแครง ส้มตำ และซุปหน่อไม้ จากร้านค้าต่าง ๆ ในเขตบางเขน พบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ fecal Streptococcus ในปริมาณที่สูงมาก ในขณะที่ตรวจพบ Staphylococcus และ Salmonella ในอาหารทั้ง 6 ชนิดต่ำกว่าปริมาณที่จะทำให้เกิดโรคได้ และตรวจพบ V. parahaemolyticus ในยำหอยแครง ในปริมาณที่สูงพอที่จะทำให้เกิดโรคได้

Breakers (1985) ได้รายงานถึงจำนวนผู้ป่วยที่เกิดจากการรับประทานอาหารในประเทศเนเธอร์แลนด์ ปี ค.ศ. 1980 ในจำนวน 1,298 ราย เกิดเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ 337 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยเนื่องจากเชื้อ Vibrio 4 ราย Salmonella 55 ราย Escherichia coli 4 ราย และ Staphylococcus aureus 106 ราย

Saddik, El-Sherbeeny, Mousa, El-Akkad and Bryan (1985) ได้วิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารในอาหารทะเลดิบและสุกจากโรงแรม ภัตตาคาร ร้านอาหาร ตลาด และแผงลอยทั่วไป ผลการวิเคราะห์ไม่พบ Salmonella และ V. parahaemolyticus ในอาหารทะเลที่ผ่านการทำให้สุก แต่ 1 ใน 3 ของตัวอย่างทั้งหมดตรวจพบ S. aureus ในปลาที่ผ่านการทำให้สุก ในจำนวนนี้ร้อยละ 30 พบในปริมาณ 10^2 ถึงน้อยกว่า 10^3 โคโลนีต่อกรัม ร้อยละ 30 พบในปริมาณ 10^3 ถึงน้อยกว่า 10^4 โคโลนีต่อกรัม และร้อยละ 10 พบมากกว่า 10^4 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งคาดว่าการปนเปื้อนของ S. aureus เกิดขึ้นหลังจากการหุงต้มแล้ว และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหารที่ผ่านการทำให้สุกมีมากกว่า 10^6 โคโลนีต่อกรัม และได้สรุปว่าการที่มีจุลินทรีย์ปริมาณสูงในอาหารที่ผ่านการทำให้สุกเกิดจากการเก็บอาหารที่ผ่านการทำให้สุกแล้วไว้เป็นเวลานานเกินไป

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2530) ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ศึกษาวิจัยคุณภาพของอาหารพื้นบ้านที่ผลิตจากแป้งข้าวเจ้า เพื่อหาข้อมูลเป็นแนวทางในการกำหนดมาตรฐานการคุ้มครองผู้บริโภคด้านอาหารที่เหมาะสม ได้วิเคราะห์เส้นก๋วยเตี๋ยวสดและแห้ง เส้นหมี่ และเส้นขนมจีน รวมทั้งสิ้น 44 ตัวอย่าง ไม่ถูกสุขลักษณะร้อยละ 4.5 เนื่องจากจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัมเกินมาตรฐาน

Hobbs and Gilbert (1978) รายงานการเกิดโรคอุจจาระร่วงเนื่องจากเชื้อ Escherichia coli ว่าส่วนใหญ่เกิดขึ้นในประเทศแมกซิโกและประเทศแถบตะวันออกกลาง แต่ก็มีการระบาดของ E. coli ในประเทศอังกฤษและสหรัฐอเมริกา ที่ประเทศอังกฤษมีการระบาดของโรคนี้ครั้งใหญ่เมื่อปี ค.ศ. 1973 และ ค.ศ. 1975 มีจำนวนผู้ป่วย 147 ราย Jay (1978) รายงานจำนวนผู้ป่วยเนื่องจากเชื้อ E. coli ในสหรัฐอเมริกา ปี ค.ศ. 1971 มีจำนวนมากกว่า 387 รายในระหว่างปี ค.ศ. 1969 ถึง ค.ศ. 1972 มีรายงานการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อ E. coli 15 ครั้ง มีจำนวนผู้ป่วยทั้งสิ้น 2,127 ราย ศูนย์กลางควบคุมโรคในประเทศสหรัฐอเมริกา ได้รายงานการเกิดโรคทางเดินอาหารเนื่องจากเชื้อ E. coli ในปี ค.ศ. 1978 และ ค.ศ. 1980 ว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 535 ราย และในปี ค.ศ. 1982 มีรายงานถึงจำนวนผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงเนื่องจาก E. coli 452 ราย ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารจากภัตตาคารที่จำหน่ายทั้งอาหารแมกซิกันและอาหารอเมริกัน สาเหตุของการเกิดโรคมีการวิเคราะห์พบว่าผู้ให้บริการอาหารเป็นแหล่งทำให้เกิดการติดต่อของโรคไปยังอาหารโดยวิธี cross contamination (Makukutu and Guthrie, 1986)

Makukutu et al. (1986) ศึกษาถึงระดับอุณหภูมิของอาหารกับการอยู่รอดของ E. coli พบว่าอาหารโดยทั่วไปจะเสริฟร้อน ๆ ที่อุณหภูมิ 40-60° เซลเซียส และมักถูกปนเปื้อนด้วย E. coli ในระดับอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 5° เซลเซียส จำนวน E. coli จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา และระดับอุณหภูมิ 5° เซลเซียส หรือสูงกว่าจำนวน E. coli จะลดลงตามระยะเวลา

ในปี ค.ศ. 1972 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีการตรวจเชื้อ Salmonella จากแหนม 217 ตัวอย่าง พบ Salmonella 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.4 (Phan-Urai, 1978)

ในปี ค.ศ. 1974 ได้มีการสำรวจผู้ประกอบอาหารด้วยมือ ซึ่งจะเป็นพาหะได้ เครื่องมือที่ผู้ประกอบอาหารด้วยมือใช้ในภัตตาคาร ร้านขายอาหาร และโรงเรียน ในกรุงเทพมหานคร จาก 462 ตัวอย่าง พบเชื้อ Salmonella 35 อย่าง หรือร้อยละ 7.6 (Phan-Urai, 1978)

Bryan (1978) ได้ประเมินว่าประเทศแคนาด้าต้องเสียเงินหลายพันล้านดอลลาร์ เนื่องจากโรคที่เกิดจากเชื้อ Salmonella และการสูญเสียเนื่องจากเชื้อนี้ในสหรัฐอเมริกาจะสูงกว่าในประเทศแคนาดา แต่ก่อนนั้นการเกิดโรคเนื่องจากSalmonella มักเป็นโรคไทฟอยด์ ต่อมาการเกิดโรคไทฟอยด์ในสหรัฐอเมริกามีจำนวนลดลงจากจำนวน 3,268 ราย ในปี ค.ศ. 1946 เป็น 608 ราย ในปี ค.ศ. 1962 แต่จำนวนการเกิดโรค salmonellosis กลับเพิ่มมากขึ้น จาก 723 ราย ในปี ค.ศ. 1946 เป็น 9,680 ราย ในปี ค.ศ. 1962 (Bowmer, 1965)

ในประเทศไทย โสภณ สิริสาลี และ สุภาภรณ์ พัวเพิ่มพูนศิริ (2525)ได้สำรวจแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร จากผู้ประกอบอาหารและลูกจ้างในร้านขายอาหารภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น ในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2523 จำนวน 69 ราย พบว่า ร้อยละ 10.14 มีแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารซึ่งได้แก่ Salmonella และ Non-cholera vibrio สำหรับผู้ที่เคยป่วยด้วยโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อ Salmonella เมื่อหายเป็นปกติแล้วก็ยังอาจเป็นพาหะของโรคได้ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อนี้สามารถอยู่ที่อวัยวะอื่นได้ เช่น ถุงน้ำดี

Nelson (1985) พบว่าร้อยละ 75 ของโรคทางเดินอาหารที่เกิดขึ้นในสหรัฐอเมริกา มีสาเหตุจากการรับประทานอาหารที่มี Salmonellaปนเปื้อนอยู่ แบคทีเรียชนิดนี้มักพบเสมอว่ามีการปนเปื้อนในอาหารสัตว์ และทางเดินอาหารของสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ปีก (Woodburn, 1964; Bryan, Ayres and Kraft, 1968; Morris and Well, 1970) และเนื้อวัว (Wiseman and Carpenter, 1969; Morris and Dunn, 1970; Carpenter, Elliot and Reynods, 1973) Swaminathan, Link and Ayres (1978) ได้สำรวจเชื้อSalmonella ในเนื้อวัว เนื้อหมู และเนื้อของสัตว์ปีกที่วางขายในตลาด พบว่าเนื้อหมูมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้สูงสุดถึงร้อยละ 21.5

Wagner and McLaughlin (1986) รายงานจำนวนการเกิดโรค salmonellosis ในสหรัฐอเมริกาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960 ถึง ค.ศ. 1984 ว่ามีจำนวนเพิ่มขึ้นทุกปีและผลการตรวจวิเคราะห์ หาเชื้อ Salmonella จากตัวอย่างอาหารพบว่า 2 ใน 3 ของการตรวจพบSalmonella เป็นตัวอย่างที่นำเข้ามาจากต่างประเทศในระหว่างปี ค.ศ. 1974 ถึง ค.ศ. 1985 โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างอาหารทะเลที่นำเข้ามาจากประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และ ไทย เป็นตัวอย่างที่ตรวจพบ Salmonella บ่อยที่สุด

Fujino, Okuno, Nakada, Aoyama, Fukai, Mukai and Ueho (1953) รายงานการเกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากเชื้อ Vibrio parahaemolyticus เป็นครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น แบคทีเรียชนิดนี้สามารถวิเคราะห์พบได้จากตัวอย่างน้ำและสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ในทะเลในระหว่างช่วงฤดูร้อน แต่ไม่สามารถวิเคราะห์พบในฤดูหนาว (Baross and Liston, 1970) Sakazaki, Iwanami and Fukumi (1963) รายงานถึงสาเหตุของการเกิดโรคทางเดินอาหารที่พบบ่อยที่สุดในประเทศญี่ปุ่นว่าเกิดจากV. parahaemolyticus และมักเกิดขึ้นในฤดูร้อน

Munch - Peterson (1963) พบว่าจมูกของมนุษย์เป็นสื่ออันดับที่หนึ่งในการแพร่เชื้อ S. aureus ในอาหาร ถัดไปเป็นมือ แผล และผิวหนังส่วนอื่นๆ การตรวจพบเชื้อนี้ในอาหารแสดงให้เห็นว่า อาหารนั้นมีการปฏิบัติไม่ถูกสุขลักษณะ Adesiyun, Raji and Yobe (1986) วิเคราะห์พบ enterotoxin ของ S. aureus จากจมูกของพนักงานที่ทำงานในห้องอาหารของมหาวิทยาลัยไนจิเรีย ร้อยละ 25.3 ของพนักงานทั้งหมด Adesiyun (1984) ยังตรวจพบ enterotoxin ของ S. aureus ในอาหารพร้อมบริโภค 5 ชนิดพบว่า มีการปนเปื้อนในอาหารเพราะมีการปฏิบัติไม่ถูกสุขลักษณะ

สุมณฑา วัฒนสินธุ์, จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และ ธัญลักษณ์ นินบดี (2523) ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ Staphylococcus aureus ร้อยละ 23.4 จากอาหารปรุงสำเร็จ 286 ตัวอย่าง ซึ่งอัตราการแพร่กระจายของเชื้อ S. aureus ในอาหารประเภทต่าง ๆ คือ ตรวจพบเชื้อในปริมาณ 10^2 ถึง 10^3 โคโลนีต่อกรัม พบร้อยละ 62.7 ปริมาณ 10^3 ถึง 10^4 โคโลนีต่อกรัมพบ ร้อยละ 20.9 และตรวจพบในปริมาณมากกว่า 10^4 โคโลนีต่อกรัมพบ ร้อยละ 14.9 สำหรับตัวอย่างอาหารที่สงสัยว่าอาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

ตรวจพบเชื้อนี้ปริมาณ 4.0 X 10^5 ถึง 4.6 X 10^5 โคโลนีต่อกรัม

จากรายงานของกองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พบว่ามีผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากเชื้อ S. aureus จากการรับประทานขนมจีนระหว่างปี พ.ศ. 2525 ถึง เมษายน พ.ศ. 2526 จำนวน 243 ราย วรวุฒิ กายวิจิตร และ ลีลานุช สุเทพารักษ์ (2528) รายงานถึงขบวนการผลิตขนมจีนว่าต้องใช้เวลาไม่น้อยกว่า 2 วัน ในการหมักปลายข้าวจนได้เป็นเส้นขนมจีนทำให้เชื้อ S. aureus สามารถเพิ่มจำนวนเป็น 5.0 X 10^5 โคโลนีต่อกรัม ภายในเวลาเพียง 2 ชั่วโมง และสร้างสารพิษ enterotoxin ขึ้นภายในเวลาเพียง 4 ชั่วโมง ก็จะมีปริมาณมากพอที่จะทำให้ผู้ที่รับประทานเข้าไปเกิดอาการเจ็บป่วยได้ แม้ในขบวนการผลิตจะมีการนึ่งหรือต้มก็ตาม แต่ความร้อนที่ใช้อาจไม่ถึง 100° เซลเซียส เวลานานไม่ถึง 30 นาทีจึงทำให้ enterotoxin ไม่สลายตัว

landolo et al. (1966) ได้ศึกษาถึงการอยู่รอดและการปรับตัวของเซลล์ S. aureus MF31 โดยนำเซลล์ S. aureus ที่อยู่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์(phosphate buffer) ไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 55° เซลเซียส นาน 15 นาที พบว่ามากกว่าร้อยละ 99 ของ S. aureus ไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 7.5% NaCl ได้คือ เซลล์ S. aureus ทั้งชนิดที่ปกติและชนิดที่ผิดปกติเนื่องจากความร้อนสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TAS) แต่เซลล์ที่สามารถเจริญใน Trypticase Soy Agar ที่มี 7.5% NaCl(TSAS) เป็นเซลล์ชนิดที่ปกติเท่านั้น การบาดเจ็บของ S. aureus เนื่องจากความร้อน เกิดขึ้นโดยมีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์บางส่วนถูกทำลายไป ทำให้ของเหลวภายในเซลล์ไหลออกมาจากเซลล์จึงทำให้เกิดสภาพบาดเจ็บขึ้น landolo et al. (1966) ยังได้ทดลองนำเซลล์ที่บาดเจ็บไปเลี้ยงในอาหารสมบูรณ์คือ Trypticase Soy Broth (TSB) พบว่าเซลล์เหล่านั้นสามารถนำอาหารไปซ่อมแซมและปรับตัวให้คืนสู่สภาพปกติได้ภายใน 4 ชั่วโมง