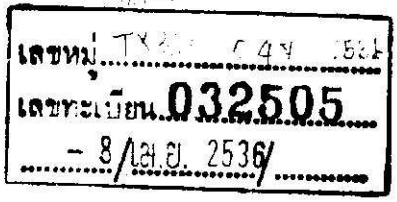
#

การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและเครื่องดื่ม จากโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

อาจารย์อรุณศรี ลีจีรจำเนียร
ผศ.ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร



โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุน
จาก คณะวิทยาศาสตร์
ประจำปี พ.ศ. 2532

บทคัดย่อ

ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารจำนวน 60 ตัวอย่างจากโรงอาหาร 3 แห่ง ภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ คือ โรงอาหารของนักศึกษา โรงอาหารโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ และโรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์ ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2532 - เดือนกันยายน 2532 พบว่า มีอาหารเพียง 29 ชนิด ที่มีคุณภาพได้มาตรฐานอาหารปรุงสำเร็จ ของกระทรวงสาธารณสุขและผลการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ในช่วง 6.5×10^{1} - 8.2×10^{5} CFU/g จำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย อยู่ในช่วง 0-มากกว่า 1,100 CFU/g, จำนวน Escherichia coli อยู่ในช่วง 0 - มากกว่า 1,100 CFU/g ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ในตัวอย่างอาหารคิดเป็น 26.67% ของตัวอย่างอาหารทั้งหมด โดยตรวจพบ Staphylococcus aureus ในอาหาร 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 18.33% ตรวจพบ Vibrio parahaemolyticus ในอาหาร 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 13.33% ตรวจไม่พบ Salmonella sp. และ Vibrio cholerae ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำผลไม้ จำนวน 90 ตัวอย่าง พบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วง 7.35×10^{2} - 2.10×10^{4} CFU/ml จำนวน MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรียอยู่ในช่วง 17- > 1,600 ต่อ 100 ml, MPN E. coli ในช่วง 2-4 ต่อ 100 ml และตรวจพบ S. aureus ในน้ำผลไม้ 6 ตัวอย่างคิดเป็น 6.67% ตรวจไม่พบ Salmonella sp., V. cholerae และ V. parahaemolyticus

ผลการตรวจคุณภาพอาหารแสดงว่า อาหารบางชนิดที่จำหน่ายในบริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน สำหรับน้ำผลไม้ทุกชนิดมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 86 ปี พ.ศ.2520 เรื่องกำหนดน้ำบริโภคและเครื่องดื่มเป็นอาหารควบคุม สมควรที่จะต้องได้รับการปรับปรุงดูแลกวดขันในเรื่องความสะอาด และการสุขาภิบาล

สารบัญ

	หน้า
สารบัญแผนภาพและตาราง	1
บทคัดย่อ	2
บทนำ	3
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์	14
วิธีการทดลอง	16
ผลการทดลอง	25
วิจารณ์และสรุป	42
ข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	49
ภาคผนวกที่ 1 แสดงตารางค่า MPN สำหรับวิเคราะห์อาหาร	51
ภาคผนวกที่ 2 แสดงตารางค่า MPN สำหรับวิเคราะห์น้ำผลไม้	53
ภาคผนวกที่ 3 แสดงการทดสอบชีวเคมีของ Staphylococcus aureus	54
ภาคผนวกที่ 4 แสดงการทดสอบชีวเคมีของ Vibrio parahaemolyticus	55
ภาคผนวกที่ 5 แสดงการทดสอบชีวเคมีของ Vibrio cholerae	56

สารบัญแผนภาพและตาราง

		หน้า
ภาพที่ 1	แสดงขั้นตอนการนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli โดยวิธี MPN ในอาหาร	19
ภาพที่ 2	แสดงขั้นตอนการนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli โดยวิธี MPN ในน้ำผลไม้	20
ภาพที่ 3	แสดงการตรวจ Staphylococcus aureus	21
ภาพที่ 4	แสดงการตรวจ Salmonella sp.	22
ภาพที่ 5	แสดงการตรวจ Vibrio parahaemolyticus	23
ภาพที่ 6	แสดงการตรวจ Vibrio cholerae	24
ตารางที่ 1	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร	26
ตารางที่ 2	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำผลไม้	27
ตารางที่ 3	แสดงจำนวน MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli ในอาหาร	30
ตารางที่ 4	แสดงจำนวน MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli ในน้ำผลไม้	31
ตารางที่ 5	แสดงการตรวจเชื้อ S. aureus และ Salmonella sp. ในอาหาร	34
ตารางที่ 6	แสดงการตรวจเชื้อ V. parahaemolyticus และ V. cholerae ในอาหาร	35
ตารางที่ 7	แสดงจำนวนการพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ตรวจพบในอาหาร จากแหล่งที่เก็บตัวอย่าง ในแต่ละเดือน	36
ตารางที่ 8	แสดงชนิดแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ที่พบในน้ำผลไม้	37
ตารางที่ 9	สรุปผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร	38
ตารางที่ 10	สรุปผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำผลไม้	39

บทนำ

อาหารและน้ำดื่มเป็นสิ่งจำเป็นในการดำรงชีพของมนุษย์ อาหารเป็นสิ่งที่เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วก่อให้เกิดพลังงาน และความเจริญเติบโต ซึ่งมักจะประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่และวิตามิน ส่วนน้ำดื่มที่นิยมกันมากตามร้านค้า คือ น้ำผลไม้ น้ำอัดลม สำหรับโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีน้ำผลไม้จำหน่ายเป็นจำนวนมาก ในน้ำผลไม้มีสารอาหารที่มีคุณค่า เช่น วิตามิน เกลือแร่ และเนื่องมาจากความอุดมสมบูรณ์ของอาหารและน้ำผลไม้นี้เอง จึงถูกปนเปื้อน (contaminated) ด้วยจุลินทรีย์ได้ง่าย จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารและน้ำผลไม้ จะสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว และสามารถทำให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภค โรคส่วนใหญ่ที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารมักจะเป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเดิน อ่อนเพลีย อุณหภูมิในร่างกายต่ำกว่าปกติ (พิไลพรรณ, 2531) และจุลินทรีย์บางชนิด อาจเป็นสาเหตุทำให้ผู้บริโภคตายได้ ความรุนแรงของโรคหรืออาการ จะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ และจำนวนสามารถในการต้านทานโรคของผู้บริโภค

โดยทั่วไปการรับประทานอาหารตามร้านค้า มักจะไม่สามารถหลีกเลี่ยงอาหารที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ได้ แต่ปริมาณของจุลินทรีย์นี้จะมากน้อยแตกต่างกันขึ้นกับวิธีการผลิต นับตั้งแต่วัตถุดิบที่ใช้ปรุงอาหาร ผู้ปรุง อุปกรณ์การผลิต การล้างทำความสะอาดภาชนะ และความสะอาดของร้านค้าที่จำหน่ายอาหารนั้น ๆ การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด การตรวจปริมาณจุลินทรีย์บางชนิด เช่น โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และการตรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ได้ว่าการปรุงและการเก็บอาหารของผู้ผลิตถูกสุขลักษณะและเพียงพอหรือไม่

ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหารและน้ำผลไม้ จากร้านค้าต่าง ๆ ในโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จะบ่งบอกถึงความสะอาดและสุขลักษณะของผู้ผลิต ความปลอดภัยของนักศึกษาส่วนใหญ่ และอาจารย์บางท่านที่ต้องรับประทานอาหารจากโรงอาหารต่าง ๆ รวมถึงบุคลากรผู้ใช้บริการ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงการผลิตของการผลิตอาหารจำหน่าย รวมถึงการป้องกัน และแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับโรคทางเดินอาหาร ซึ่งการตรวจวิเคราะห์ทำได้โดยการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total aerobic plate count ซึ่งสามารถบ่งชี้ถึงคุณภาพของวิธีการผลิต ความสดของอาหารเนื่องจากการเก็บ และสุขลักษณะของผู้ผลิต การตรวจนับจุลินทรีย์พวกโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ซึ่งสามารถบอกถึงสภาพการถูกปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์จากอุจจาระ เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้เป็นแบคทีเรียที่อาศัยในลำไส้ของคน และสัตว์เลือดอุ่น รวมทั้งตรวจเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร เช่น Staphylococcus aureus, Salmonella sp., Vibrio parahaemolyticus. และ Vibrio cholerae

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจคุณภาพของอาหารที่จำหน่ายในโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ว่ามีความสะอาดถูกสุขอนามัยหรือไม่

2. เพื่อใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงการผลิตอาหารสำหรับจำหน่าย ซึ่งเกี่ยวข้องกับปัญหาโรคทางเดินอาหาร

3. เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันปัญหาโรคทางเดินอาหาร

การตรวจเอกสาร

สมพร (2520) ได้ศึกษาถึงเชื้อ โคลิฟอร์มแบคทีเรียและเชื้อโรคอื่น ๆ จากอาหารจำหน่ายในเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา พบว่า จากตัวอย่างอาหาร 31 ชนิด 76 ตัวอย่าง พบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 73.68%, S. aureus 14.43%, E. coli 68.42% และพบ V. parahaemolyticus 25% ในอาหารทะเล

ณรงค์ และคณะ (2520) ได้ทำการศึกษาถึงคุณภาพของเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำดื่มและภาชนะของร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มภายในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ พบว่า ร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มภายในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ ทั้งร้านที่ได้รับการอบรมกับร้านซึ่งยังไม่เคยอบรมให้มีความรู้เรื่องการสุขาภิบาลอาหารด้านโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่มีความแตกต่างกันเลย และตัวอย่างน้ำดื่มที่เก็บมาตรวจทั้งหมด 100 ตัวอย่าง พบว่า มีเพียง 16 ตัวอย่างเท่านั้นที่ได้มาตรฐาน Standard Plate Count นอกนั้นต่ำกว่ามาตรฐานและพบว่าการวิเคราะห์หาค่า MPN. นั้นมีเพียงร้อยละ 8 เท่านั้นที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนการตรวจเพื่อหาจุลินทรีย์ปรากฏผลว่า ร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ พบ E. coli ถึง 39 ร้าน นอกนั้นพบ Klebsiella 35 ร้าน, Proteus 1 ร้าน, Aerobactor 17 ร้าน และจุลินทรีย์ชนิดอื่นอีก 10 ร้าน

พวงพร (2523) ได้ตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาของเครื่องดื่มซึ่งผสมผลไม้สดที่จำหน่ายในบริเวณมหาวิทยาลัยรามคำแหง โดยการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจำนวนยีสต์และรา จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มรวมทั้งตรวจสอบหา Staphylococcus aureus, Faecal streptococci, Salmonella sp. และ Shigella sp. ปรากฏว่าสามารถแบ่งเครื่องดื่มซึ่งผสมผลไม้สดทั้ง 10 ชนิดที่ทำการตรวจสอบออกได้เป็น 3 พวก พวกแรก มีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจสอบอยู่ในระดับต่ำสุด ได้แก่ เครื่องดื่มซึ่งผสมกล้วยหอม พวกที่สอง มีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจสอบอยู่ในระดับกลาง ได้แก่ เครื่องดื่มซึ่งผสมมะเขือเทศและองุ่น พวกที่สาม มีค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจสอบอยู่ในระดับสูง ได้แก่ เครื่องดื่มซึ่งผสมมะนาว สับปะรด มะพร้าว ส้ม ละมุด แตงโม และชมพู่ เครื่องดื่มซึ่งผสมผลไม้สดทุกตัวอย่างที่ทำการตรวจสอบมีแบคทีเรียพวก Faecal streptococci, Salmonella sp. และ Shigella sp. ส่วน Staphylococcus aureus จะตรวจพบเฉพาะในเครื่องดื่มซึ่งผสมมะพร้าว แตงโม และชมพู่

และจากการศึกษาของ สุมณฑาและคณะ (2523) ถึงการแพร่กระจายของเชื้อ Staphylococcus aureus ในอาหารพบว่า จากตัวอย่างอาหารปรุงสำเร็จ 286 ตัวอย่างตรวจพบ S. aureus คิดเป็น 23.4% โดยคิดเป็นอัตราการแพร่กระจายได้เป็น : ตรวจพบในปริมาณ 100-1,000 CFU/g 62.7%, 1,000-10,000 CFU/g 20.9% และมากกว่า 10,000 CFU/g 14.3%

ถาวีรัตน์ และคณะ (2525) ได้ตรวจสอบความสะอาดของอาหาร, เครื่องดื่ม, ภาชนะจากโรงอาหารคณะต่าง ๆ ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 7 คณะ โดยทำการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total aerobic plate count และตรวจนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ด้วยวิธี MPN (Most Probable Number Method) ซึ่งจากการทดลองพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่ตรวจพบในเครื่องดื่มอยู่ในช่วง 2.0×10^3 ถึง 1.8×10^6 เซลล์ต่อเครื่องดื่ม 1 มิลลิลิตร ซึ่งไม่มีตัวอย่างใดเลยที่ได้มาตรฐานตามประกาศของ กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 36 ปี พ.ศ. 2520 เรื่อง กำหนดน้ำบริโภคและเครื่องดื่มเป็นอาหารควบคุม จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในอาหาร อยู่ในช่วง 1.1×10^7 - 1.1×10^8 CFU/g และจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียอยู่ในช่วง 0-มากกว่า 240 CFU/g ส่วนจุลินทรีย์บนภาชนะจากร้านค้าเหล่านี้อยู่ในช่วง 6.0×10^2 ถึง 2.2×10^6 และตรวจพบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 32 ร้านค้า จากที่ตรวจทั้งหมด 41 ร้านค้า ภาชนะจากทุกร้านไม่มีร้านค้าใดสะอาดได้มาตรฐาน "Ordinance and Code Regulating Eating and Drinking Establishment" ที่กำหนดให้มีจุลินทรีย์ได้ไม่เกิน 100 ตัว บนภาชนะ

เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ

เชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ทำการตรวจมีดังนี้

Staphylococcus

Staphylococcus เป็นแบคทีเรียใน family Micrococaceae มีรูปร่างกลม ย้อมติดสีกรัมบวก เจริญได้ในทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) Staphylococcus มาจากภาษากรีกว่า staphyle แปลว่า พวงองุ่น กับ coccus ซึ่งแปลว่า เมล็ดธัญญพืช ชื่อของเชื้อได้จากการบรรยายลักษณะของเชื้อที่พบครั้งแรกในหนองที่เกิดจากการติดเชื้อจากการผ่าตัด และ - เนื่องจากในสายพันธุ์ส่วนใหญ่ที่แยกเชื้อได้จากหนองจะสร้างโคโลนีสีเหลืองทอง เชื้อนี้จึงได้ชื่อว่า Staphylococcus aureus แยกออกจากเชื้อ Staphylococcus ที่ไม่ทำให้เกิดโรค โดยเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรค จะสร้างโคโลนีสีขาว (albus) และสีเหลืองมะนาว (citreus) การสร้างสีจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและไม่เกี่ยวเนื่องกับการก่อให้เกิดโรค

Staphylococcus aureus มีรูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 - 1.0 μm. เรียงตัวเป็นรูปคล้ายพวงองุ่น เมื่อนำมาย้อมสีดูจะเห็นว่าอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่และอยู่กันเป็นกลุ่ม หรือต่อเป็นสายโซ่สั้นๆไม่เกิน 4 เซลล์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจะเห็นเป็นสายโซ่สั้นๆ และอยู่เป็นคู่เป็นจำนวนมาก มีน้อยชนิดที่สร้างแคปซูล ซึ่งจะไปเพิ่มความรุนแรงของการเกิดโรค ตามปกติ S. aureus ติดสีกรัมบวก แต่เซลล์ที่แก่ และเซลล์ที่ถูกเม็ดเลือดขาวกินจะติดสีกรัมลบ (พิไลพรรณ พงษ์พูล, 2531)

S. aureus เจริญได้ทั้งในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่ส่วนใหญ่แล้วจะเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30-37 ^{o}C pH ที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5 แต่จะเจริญได้ใน pH 4.2-9.3 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วๆไป เช่น nutrient agar เชื้อสร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20 ^{o}C ในบรรยากาศที่มี CO_2 สูงกว่าปกติ ไม่สร้างรงควัตถุในภาวะที่ไม่มี O_2 หรือในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

โดยทั่วไป Staphylococci ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆได้ดี เช่น สามารถทนความร้อนสูงถึง 60 ^{o}C นาน 30 นาที และมีชีวิตอยู่ในที่เย็น (4 ^{o}F) ได้นานหลายเดือน เชื้อมีชีวิตรอดอยู่ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้น 6.5% ได้ (เภสัชจุลชีววิทยา, 2531)

โรคทางเดินอาหารที่เกิดจาก S. aureus คือ โรคอาหารเป็นพิษ (Staphylococcal

food poisoning) เกิดเนื่องจาก S. aureus ที่สร้าง enterotoxin หากรับประทานอาหารที่มีสารพิษนี้ปนเปื้อนเข้าไป จะเกิดอาการอาหารเป็นพิษหลังจากนั้นประมาณ 1-6 ชั่วโมง โดยมีอาการท้องร่วงรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง แต่ไม่มีไข้ อาการจะหายใน 1 วัน

Salmonella

Salmonella มีลักษณะเป็นท่อนสั้น เคลื่อนที่ได้รวดเร็ว ไม่สร้างสปอร์ ติดสีกรัมลบ ก่อโรคในลำไส้สัตว์เลือดอุ่นได้หลายชนิดรวมทั้งมนุษย์ด้วย บางสายพันธุ์ที่แยกเชื้อได้ใหม่ๆจะมีแคปซูล ทำให้โคโลนีมีลักษณะเป็นมูก Salmonella เป็นเชื้อที่ไวต่อความร้อน disinfectant และรังสี ที่อุณหภูมิตู้เย็น เชื้อจะสงบนิ่งไม่แบ่งตัวแต่ยังคงมีชีวิตอยู่

เชื้อ Salmonella สร้างสารพิษชนิด endotoxin ซึ่งจะปล่อยสารพิษนี้ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือ host ได้ต่อเมื่อเซลล์ตาย หรือถูกทำลาย โดยปกติแล้วเชื้อจะเข้าสู่ร่างกาย host ได้ทางปากจากการกินอาหารหรือน้ำดื่ม ไปทำให้เกิดการติดเชื้อ เชื้อก่อโรคได้ 3 แบบ ส่วนใหญ่จะพบอาการใน 3 แบบนี้ผสมผสานกัน

1. Enteric fevers ได้แก่ ไข้ไทฟอยด์ (S. typhi) และไข้พาราไทฟอยด์ (S. paratyphi) เชื้อจะเข้าสู่ร่างกายทางปากโดยติดไปกับอาหารหรือน้ำดื่ม ผ่านกระเพาะอาหารเข้าไปถึงลำไส้เล็ก แล้วเข้าสู่ท่อน้ำเหลือง จากนั้นจะเข้าสู่ thoracicduct แล้วเข้าสู่กระแสเลือดไปสิ้นสุดที่อวัยวะต่างๆรวมทั้งลำไส้ด้วย เชื้อจะแบ่งตัวใน lymphoid-tissue และจะถูกขับออกทางอุจจาระ

2. Septicemia พบมากจากเชื้อ S. choleraesuis เชื้อจะเข้าสู่ร่างกายทางปากเช่นกัน แต่ไม่เกิดอาการทางลำไส้ เชื้อจะไปทางกระแสเลือด ทำให้เกิดการเป็นหนอง ฝี ตามอวัยวะภายใน เช่น ทำให้เยื่อหุ้มสมองอักเสบ กระดูกพรุนอักเสบ ปอดบวม เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน host ที่มีสุขภาพไม่แข็งแรง ความต้านทานต่ำ

3. Gastroenteritis ได้แก่กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ โดยมากจะเรียกว่าอาหารเป็นพิษ (food poisoning) เกิดเนื่องจากเชื้อ S. typhimurium, S. enteritidis หรือ S. derby เชื้อจะมีระยะฟักตัว 1-3 วัน อาการจะบ่งชี้ว่ามีการรบกวนที่เยื่อเมือกในลำไส้ อย่างไรก็ตามการก่อโรคแบบนี้ เชื้อจะไม่เข้าสู่กระแสเลือด และไม่เกิดการติดเชื้อที่อวัยวะภายใน (พิไลพรรณ, 2531)

Coliforms

เป็นเชื้อรูปท่อนอยู่ใน family Enterobacteriaceae จัดอยู่ในกลุ่มที่ย่อยสลายแลคโตส ได้แก่ E. coli, Enterobacter, Klebsiella และอื่นๆ โดยเฉพาะ E. coli จัดเป็นพวกก่อโรคที่แท้จริง หรือเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal microbiota) ก็ได้ (พิไลพรรณ, 2531 และภาควิชาจุลชีววิทยา, 2531)

Escherichia

แบคทีเรียในจีนัสนี้เป็นพวกติดสีกรัมลบ รูปท่อน เคลื่อนที่ได้รวดเร็วด้วย peritrichous-flagella ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์สร้าง slime layer หุ้มรอบตัวเป็นชั้นบางๆ ที่รู้จักกันดีคือ Escherichia coli

E. coli เป็น facultative anaerobe ขึ้นได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey จะให้โคโลนีสีชมพูหรือแดง เนื่องจากเชื้อใช้น้ำตาล - แลคโตส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB (Eosin methylene blue) จะให้โคโลนีลักษณะสะท้อนแสงแวววาวที่เรียกว่า metallic sheen

E. coli มีถิ่นอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น ปกติจะไม่ก่อโรค แต่มีบางสายพันธุ์สามารถก่อโรคในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะบางอย่างได้ โดยมากจะเป็นกับระบบทางเดินปัสสาวะ นอกจากนี้ยังก่อโรคท้องร่วงได้ (พิไลพรรณ, 2531) กลุ่มของ E. coli ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงแบ่งได้เป็น 3 พวกคือ

1. enterotoxigenic E. coli (ETEC)
2. enteropathogenic E. coli (EPEC)
3. enteroinvasive E. coli (EIEC)

ETEC เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิต enterotoxin ได้ดี โดยจะสร้าง enterotoxin ชนิด heat-labile enterotoxin (LT) หรือ heat-stable enterotoxin (ST) หรือสร้างได้ทั้งสองชนิด โดย LT ที่สร้างขึ้นมีความคล้ายคลึงกับสารพิษของ Vibrio cholerae ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของ enzyme adenyl cyclase ในลำไส้ เป็นผลให้ enzyme นี้มีปริมาณมากขึ้น ทำให้ adenosine triphosphate (ATP) เปลี่ยนเป็น cyclic adenosine monophosphate (cAMP) และเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ โดยมีการขับน้ำและเกลือแร่ต่างๆออกมาสู่ทางเดิน

อาหารเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดอาการท้องร่วงคล้ายอหิวาต์

EPEC เป็นพวกที่พบมานานแล้วว่ามักทำให้เกิดท้องเดินในทารกและเด็กเล็ก เนื่องจากจะเข้าไปทำให้เกิดการติดเชื้อที่ epithelial cell ในชั้น mucosa ของลำไส้ เมื่อเข้าไปแล้วจะเพิ่มจำนวนอย่างมากมายและปล่อยสารพิษออกมาทำให้เกิดการท้องร่วงขึ้น

EIEC ทำให้เกิดอาการท้องร่วงโดยตัวแบคทีเรียเองสามารถเข้าไปในเนื้อเยื่อผนังลำไส้ได้ ทำให้เกิดโรคลักษณะคล้ายโรคบิด มีมูกเลือด ปวดเบ่ง มีไข้ ความดันต่ำ มีอาการแบบเป็นพิษทั่วตัว

Vibrio

vibrio เป็นเชื้อที่อยู่ใน family Vibrionaceae เป็นพวก facultative anaerobe เป็นแบคทีเรียกรัมลบ แท่งอาจมีรูปร่างโค้ง มี polar flagella เคลื่อนที่ได้ พบได้ในน้ำทั้งน้ำจืดและน้ำทะเล ทำให้เป็นโรคได้ในคนและสัตว์เลือดเย็น ชนิดที่ทำให้เกิดโรคในลำไส้ ได้แก่ Vibrio cholerae ทำให้เกิดโรคอหิวาตกโรค และ Vibrio parahaemolyticus ทำให้เกิดโรค - ท้องร่วง นอกจากนี้ยังมี Vibrio ชนิดอื่นๆที่เรียกว่า non-agglutinable vibrio อาจทำให้เกิดโรคท้องร่วง และบางครั้งทำให้เกิดโรคระบาดในหมู่ชนกลุ่มเล็กๆได้

Vibrio cholerae

เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเล เป็นแบคทีเรียรูปท่อน-โค้งหรือท่อนตรง ติดสีกรัมลบ ขนาดยาว 1.5-2.0 μm. กว้าง 0.3-0.4 μm. ไม่สร้างสปอร์ เมื่อแยกเชื้อได้ใหม่ๆจะมีรูปร่างคล้ายเครื่องหมายจุลภาค (comma) จึงเรียกว่า Vibrio comma เคลื่อนที่ได้รวดเร็วเนื่องจากมี polar flagella 1 เส้น เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา แต่จะเจริญได้ดีใน selective media ที่มี bile salt, bismuth sulfite หรือ tellurite เช่น TCBS (thiosulfate citrate bile salt sucrose) agar ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อมี pH เป็นกรด Vibrio จะไม่ขึ้น ถ้า pH เป็นเบสจะขึ้นได้ดี pH 8.4-9.6 จะขึ้นได้ดีมาก

ลักษณะโคโลนีบน TCBS agar เก็บไว้ที่ 37 ^{o}C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงจะมีขนาดโตปานกลาง ขอบเรียบ สีเหลือง ตรงกลางทึบส่วนรอบนอกใส (พิไลพรรณ, 2531)

V. cholerae ทำให้เกิดโรคอหิวาต์ (cholera) ซึ่งเป็นโรคในระบบทางเดินอาหารที่

รุนแรงที่สุด การติดต่อจากคนหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่ง สามารถติดไปกับน้ำดื่มหรืออาหารโดยเฉพาะอาหารประเภทปลา

V. cholerae จะไวต่อน้ำย่อยในกระเพาะอาหารมาก และต้องได้รับเชื้อประมาณ 10^9 ถึงจะมีการติดเชื้อได้ ความเป็นกรดของน้ำย่อยจะทำลาย vibrio ไปได้บ้าง แต่จะถูกลบล้างด้วยไบคาร์โบเนต เชื้อที่เหลือรอดเพียง 10^6 ก็เพียงพอที่จะก่อโรคได้ เชื้อจะทวีจำนวนและสร้าง enterotoxin ทำให้เกิดอุจจาระร่วง อาจจะมีการสูญเสียน้ำถึง 2-3 ลิตร ในขณะที่มีการติดเชื้อผู้ป่วยจะอ่อนเพลียเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีการสูญเสีย electrolyte เช่น โปตัสเซียม และไบคาร์โบเนต และอาจจะถึงแก่ชีวิตได้ถ้าไม่ได้รับการทดแทนทันท่วงที อาการนำที่ทำให้ตายคือ ช็อค metabolic acidosis และภาวะไตวาย ไม่พบว่าเชื้ออหิวาต์ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อ และไม่ปรากฏว่าพิษอหิวาต์ไปทำอันตรายอวัยวะส่วนอื่น (ภาควิชาจุลชีววิทยา, 2531)

Vibrio parahaemolyticus

พบได้เฉพาะในน้ำทะเลและผลิตภัณฑ์จากทะเล เป็น halophillic bacteria มีรูปร่างเป็นท่อนตรงหรือโค้ง ติดสีกรัมลบ เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่มี pH เป็นเบส เช่นเดียวกับ V. cholerae pH ที่เหมาะสมในการเจริญคือ pH 7.6-9.0 ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยก V. parahaemolyticus จึงเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้แยก V. cholerae ข้อแตกต่างระหว่าง vibrio 2 species นี้คือ Vibrio parahaemolyticus เป็น halophilic ต้องการเกลือในการเจริญ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้จึงต้องเติม NaCl อย่างน้อย 2% เมื่อปรับสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสม ทั้งในด้านความเค็มและ pH เชื้อจะเจริญได้รวดเร็วมาก generation time จะสั้นระหว่าง 9-15 นาที ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญในการก่อโรค

บน TCBS agar โคโลนีของ V. parahaemolyticus จะมีสีเขียวเพราะเชื้อไม่ใช้น้ำตาลซูโครส ขอบโคโลนีเรียบ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง โคโลนีจะใหญ่ ตรงกลางนูนสีเข้ม

V. parahaemolyticus ทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหาร และลำไส้อักเสบ ซึ่งเป็นอาการที่รุนแรงกว่าท้องร่วงธรรมดา แต่ไม่รุนแรงเท่ากับอหิวาตกโรค อุจจาระจะเป็นน้ำ ไม่มีมูกเลือดปนออกมา อาการท้องร่วงจะคงอยู่ได้นานถึง 10 วัน แต่โดยเฉลี่ยแล้วประมาณ 72 ชั่วโมง และมีน้อยรายที่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล อาการจะหายไปได้เอง ไม่จำเป็นต้องให้ยาปฏิชีวนะ

มาตรฐานทางด้านจุลชีววิทยา

อาหารปรุงสำเร็จ

เนื่องจากกระทรวงสาธารณสุขยังไม่มีพระราชบัญญัติเกี่ยวกับ อาหารปรุงสำเร็จ ในการวิเคราะห์คุณภาพอาหารครั้งนี้ จึงใช้มาตรฐานทางด้านจุลชีววิทยา ตามมาตรฐานของกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งมีข้อกำหนดทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสำเร็จ ดังนี้

1. จำนวนจุลินทรีย์ /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ	$1x10^7$
2. จำนวนยีสต์และรา /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ	$1x10^3$
3. MPN E. coli /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ	20
4. MPN feacal coliforms /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ	500
5. เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	ตรวจไม่พบ	

เครื่องดื่ม

ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ต้องตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยา มีดังนี้

1. เครื่องดื่มที่ควบคุมคุณภาพตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ เครื่องดื่มที่บรรจุในภาชนะปิดสนิท รวมทั้งเครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ ไม่ว่าจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตาม

2. เครื่องดื่มทั่วไป ซึ่งวิเคราะห์เป็นงานสำรวจวิจัยเป็นครั้งคราว หรือตามความต้องการหรือทำเป็นงานวิจัยระยะยาวร่วมกับหน่วยงานอื่น ได้แก่ เครื่องดื่มหาบเร่ เครื่องดื่มตามร้านอาหาร เครื่องดื่มจำหน่ายในโรงเรียน เครื่องดื่มจากด่านควบคุมโรคติดต่อระหว่างประเทศ เป็นต้น โดยวิเคราะห์ตามความเหมาะสม

เนื่องจากน้ำผลไม้ที่วางขายตามโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จัดอยู่ในประเภทเครื่องดื่มทั่วไป ซึ่งประกาศกระทรวงสาธารณสุขไม่ได้มีการกำหนดมาตรฐานไว้ ดังนั้น ในการวิจัยครั้งนี้ จึงได้ใช้มาตรฐานของน้ำผลไม้ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 36 พ.ศ. 2520 เรื่อง กำหนดน้ำบริโภคและเครื่องดื่มเป็นอาหารควบคุม ได้กำหนดมาตรฐานหรือคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำสะอาดไว้ดังนี้

1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (standard plate count) ที่ 35-37°C 24 ชม. ไม่เกิน 500 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

2. Most probable number of coliform organism ต่อ 100 มิลลิลิตร (MPN) ต้องน้อยกว่า 2.2

3. ต้องไม่มี E. coli

4. ไม่มี yeast และรา

อุปกรณ์

อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเหลว

-Tryptic soy broth (TSB) ใช้เจือจางตัวอย่างอาหาร

-Phosphate buffer 0.05 M ใช้เจือจางตัวอย่างเครื่องดื่ม

-Lauryl sulfate tryptose broth (LST) ใช้นับจำนวน MPN โคลิฟอร์ม ในอาหาร

-Tryptone broth ใช้นับจำนวน MPN E. coli ในอาหาร

-2% Brillient Green Lactose broth (2% BGLB) ใช้นับจำนวน MPN E. coli ในอาหารและเครื่องดื่ม

-Lactose broth (LB) ช่วยในการเติบโตของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในเครื่องดื่ม

-EC broth ใช้นับจำนวน MPN E. coli ในเครื่องดื่ม

-Selenite cystine broth (SCB) ใช้ enrich เชื้อ Salmonella sp.

-3% Sodium Chloride-Peptone water (3% NaCl-PW) ใช้ enrich เชื้อ Vibrio parahaemolyticus

-0.5% Sodium Chloride-Peptone water (0.5% NaCl-PW) ใช้ enrich เชื้อ Vibrio cholerae

-Nutrient broth ใช้เลี้ยงเชื้อเพื่อให้ active

-MR-VP medium ใช้ทดสอบชีวเคมี

-Motility medium ใช้ทดสอบการเคลื่อนที่

-Phenol red mannitol broth ใช้ทดสอบชีวเคมี

-Phenol red saccharose broth ใช้ทดสอบชีวเคมี

-Phenal red lactose broth ใช้ทดสอบชีวเคมี

2. อาหารแข็ง

-Plate Count agar (PCA) ใช้นับจำนวนเชื้อทั้งหมด

-Eosin methylene blue agar (EMB) ใช้ทดสอบเชื้อ E. coli

-Simmon citrate agar slant ใช้ทดสอบเชื้อ E. coli

-Mannitol salt agar (MSA) ใช้เลี้ยงเชื้อ Staphylococcus aureus

-Salmonella - Shigella agar (SS agar) ใช้เลี้ยงเชื้อ Salmonella sp.

-Triple sugar iron agar (TSI) ใช้ทดสอบชีวเคมี

-Thiosulfate-citrate-bile salt sucrose agar (TCBS) ใช้เลี้ยงเชื้อ Vibrio parahaemolyticus และ Vibrio cholerae

-Nutrient agar ใช้เก็บ stock เชื้อ

3. สารเคมี

-Kovac's reagent ใช้ทดสอบการสร้าง indole ของแบคทีเรีย

-Plasma ใช้ทดสอบเชื้อ Staphylococcus aureus

-40% Potassium hydroxide ใช้ในการทดสอบ Voges-Proskauer (VP)

ตัวอย่างอาหารและน้ำผลไม้

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารจากร้านอาหารต่างๆภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จำนวน 3 โรงอาหารคือโรงอาหารของนักศึกษา โรงอาหารโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ และโรงอาหารหลังตึกฟิสิกส์ มาร้านละ 1 ตัวอย่าง / เดือน สำหรับน้ำผลไม้เก็บร้านละ 5 ตัวอย่าง/เดือน ทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 3 เดือน ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2532 - เดือนกันยายน 2532 โดยมีจำนวนตัวอย่างอาหารทั้งหมด 60 ตัวอย่าง ตัวอย่างน้ำผลไม้ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง

วิธีการทดลอง

1. วิธีการเก็บตัวอย่างอาหารและน้ำผลไม้

สุ่มตัวอย่างอาหารและน้ำผลไม้จากร้านอาหารในแต่ละโรงอาหารร้านอาหารละ 1 ตัวอย่าง โดยซื้อใส่ในถุงพลาสติกจากร้านค้า แล้วนำมาเทใส่ในบีกเกอร์ที่ลบฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเก็บตัวอย่างมาแล้ว รีบนำมาตรวจวิเคราะห์ทันที

2. การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Aerobic Plate Count) ทำตามวิธีของกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (กองวิเคราะห์อาหาร, 2529)

จากตัวอย่างอาหารนำมาหั่น สับ บดให้เป็นชิ้นเล็กที่สุด ในสภาพที่ปลอดเชื้อ จากนั้นนำตัวอย่างอาหาร 25 g ใส่ลงในฟลาสก์ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 225 ml เขย่าแรงๆ หลายๆ ครั้ง จะได้ตัวอย่างเจือจางเป็น 10^{-1} เท่า ทำการเจือจางแบบ serial dilution ให้ตัวอย่างเจือจางเป็น 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างน้ำผลไม้เจือจางด้วย 0.05 M phosphate buffer, pH = 7.2 วิธีการเจือจางทำเช่นเดียวกับอาหาร จากนั้นใช้ sterile pipette ดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 ml. ใส่ในจานเพาะเชื้อ (petridish) ความเข้มข้นละ 2 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิ ไม่เกิน 50 °C 15-20 ml.ลงในจานเลี้ยงเชื้อ หมุนตามเข็มและทวนเข็มนาฬิกากลับไปมาจนเข้ากันดี ทิ้งไว้ให้แข็งตัว นำไปอบในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 35-37 °C 48 ชั่วโมงโดยคว่ำจานเพาะเชื้อ เมื่ออบจานเพาะเชื้อครบตามเวลาที่กำหนดแล้วนำมานับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น คำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร 1 g.

3. การนับจำนวน โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ <u>E. coli</u> โดยวิธี MPN ทำตามวิธีของกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (กองวิเคราะห์อาหาร, 2529)

3.1 <u>ตัวอย่างอาหาร</u>

จากสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} ในข้อ 2 ใช้ sterile pipette ดูดสารละลาย 1 ml. ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LST 9 ml. ซึ่งใส่หลอดดักแก๊ส (Durham tube) ความเข้มข้นละ 3 หลอด นำไปอบที่อุณหภูมิ 35°C 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด อ่านผลที่ให้ผล positive โดยดูจากหลอดที่เกิดแก๊ส ถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผล positive 1 loop ใส่ลงในอาหาร

เลี้ยงเชื้อ 2% BGLB 10 ml. ซึ่งใส่หลอดดักแก๊สและอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone broth 3 ml. นำไปอบที่ 44.5°C 48 ชั่วโมง อ่านผล positive จาก 2% BGLB เป็นค่า MPN โคลิฟอร์ม (ภาคผนวกที่ 1) นำหลอด Tryptone broth คู่ที่ 2% BGLB ให้ผล positive มาหาค่า MPN E. coli โดยทดสอบ indole ด้วย Kovac's reagent ได้ผล positive (ให้สีแดงเลือดนกบนชั้น alcohol) และทดสอบการใช้ simmon citrate agar slant ได้ผล negative (ให้สีเขียวเหมือนเดิม) อ่านผลเป็นค่า MPN E. coli

ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ 2% BGLB ที่ positive นำมา streak ลงบน Eosin methylene blue agar (EMB) 1 จาน นำไปอบที่ 35-37 °C 24 ชั่วโมง อ่านผล positive confirmed test ดังนี้ : มีโคโลนีสีดำหรือสีแดงเข้มแวววาวเหมือนโลหะ (metallic sheen) เกิดขึ้น แสดงว่ามีพวก โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ขั้นตอนแสดงการนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ E. coli โดยวิธี MPN แสดงดังภาพที่ 1

3.2 ตัวอย่างน้ำผลไม้

ขั้น presumptive test ปิเปตตัวอย่างน้ำผลไม้ที่เตรียมไว้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีความเข้มข้น 2 เท่า จำนวน 5 หลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร และปิเปตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้น 1 เท่า จำนวน 10 หลอด โดย 5 หลอดแรกใส่หลอดละ 1 มิลลิลิตร และ 5 หลอดสุดท้ายใส่หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำหลอด LB ทั้งหมดไปอบเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 48 ชั่วโมง อ่านผลบวกของ coliforms โดยสังเกตจากการเกิดก๊าซในหลอด Durham tube

ขั้น confirm test นำหลอด LB ที่ให้ผลบวกไปถ่ายลงใน 2%BGLB จนเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 48 ชั่วโมง ขณะเดียวกันก็นำหลอด LB ที่ให้ผลบวกไปถ่ายลงใน EC อบเพาะเชื้อที่ 45.5°C นาน 48 ชั่วโมง บันทึกผลการเกิดก๊าซใน Durham tube ทั้งของ BGLB และ EC แล้ว นำไปเทียบกับตาราง MPN ในภาคผนวกที่ 2 จะได้ค่าMPN โคลิฟอร์มต่อ 100 มิลลิลิตร

ขั้น complete test นำหลอด BGLB และ EC ที่ให้ผลบวกไป streak บน EMB อบเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 24 ชั่วโมง สังเกตดู typical colony ของ E. coli ซึ่งมีลักษณะเป็น Metallic sheen แล้วนำ colony ที่สงสัยไป confirm ด้วย IMVIC test บันทึกผลหลอดที่พบ E. coli ซึ่งจะให้ผลปฏิกิริยาการทดสอบด้วย IMViC เป็น ++-- ตามลำดับ แล้วนำไปเทียบกับตาราง MPN ในภาคผนวกที่ 2 วิธีนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli โดยวิธี MPN แสดงดังภาพที่ 2

4. การตรวจวิเคราะห์เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ

ทำดังนี้

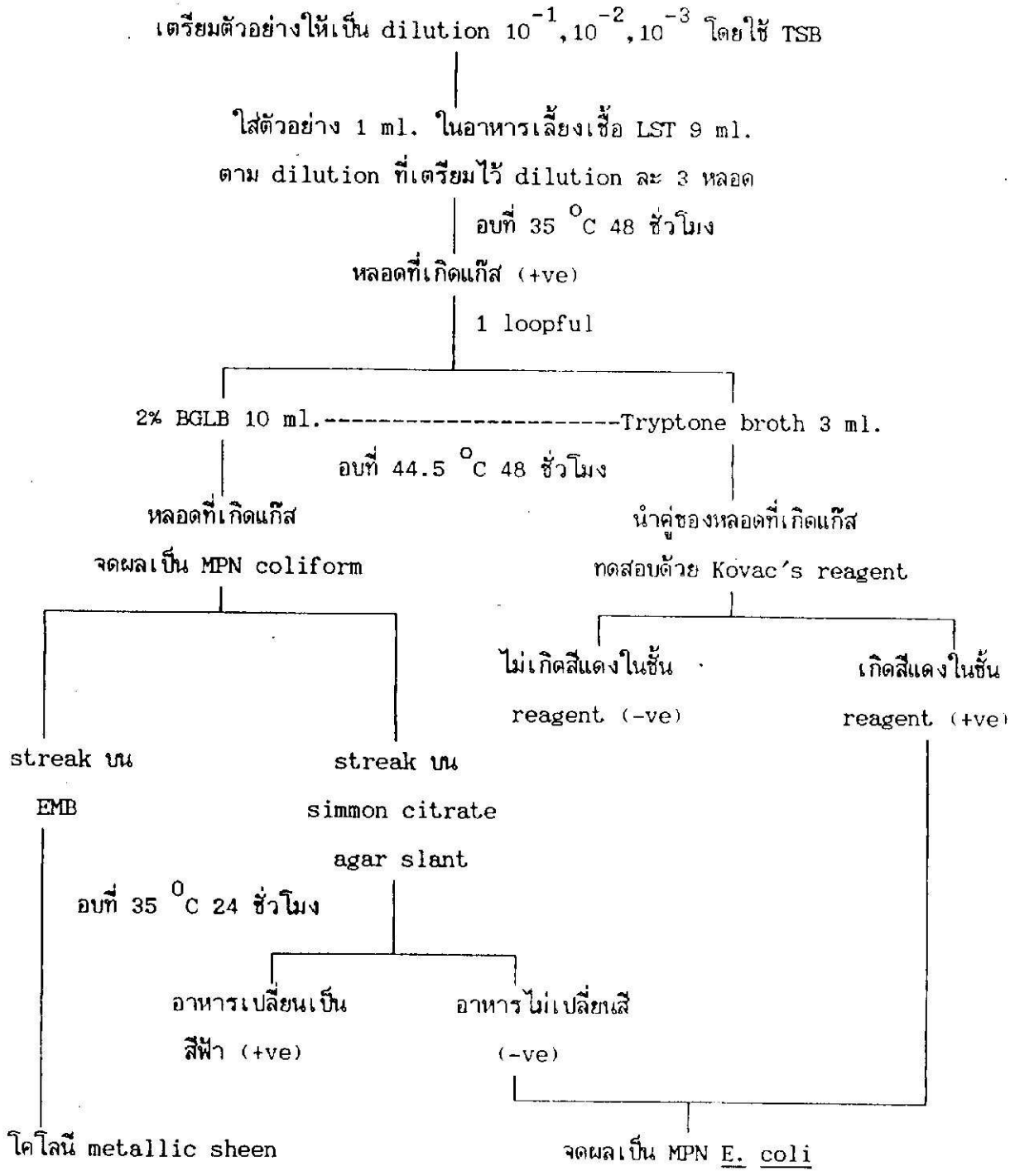
4.1 การตรวจวิเคราะห์ Staphylococcus aureus : ใช้ sterile pipette ดูด สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1} และ 10^{-2} ปริมาตร 0.1 ml.ใส่ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA แล้วเกลี่ยให้แห้งด้วย spreader นำไปอบที่ 35 °C 24-48 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีลักษณะ S. aureus คือสีขาว, ครีม, เหลืองอ่อน และให้ opaque zone รอบโคโลนี และทดสอบชีวเคมีดังภาคผนวกที่ 3 ขั้นตอนการตรวจ S. aureus แสดงดังภาพที่ 3 หน้า 21

4.2 การตรวจวิเคราะห์ Salmonella sp. : นำตัวอย่างอาหารมา enrich ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ SCB จากนั้นใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก SCB medium นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SS agar plate อบที่ 35 °C 24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีลักษณะ Salmonella sp. คือโคโลนี ไม่มีสี, ใส, หรือทึบแสง อาจมีหรือไม่มีจุดดำตรงกลาง และทดสอบชีวเคมีดังภาคผนวกที่ 4 ขั้นตอน แสดงการตรวจ Salmonella sp. แสดงดังภาพที่ 4 หน้า 22

4.3 การตรวจวิเคราะห์ Vibrio parahaemolyticus : นำตัวอย่างอาหารมา enrich ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3% NaCl-PW pH 9 จากนั้นใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก 3% NaCl-PW medium นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar plate อบที่ 35 °C 18-24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนี ลักษณะสีเขียว และค่อนข้างเหนียว และทดสอบชีวเคมีดังภาคผนวกที่ 4 ขั้นตอนแสดงการตรวจ V. parahaemolyticus แสดงดังภาพที่ 5 หน้า 23

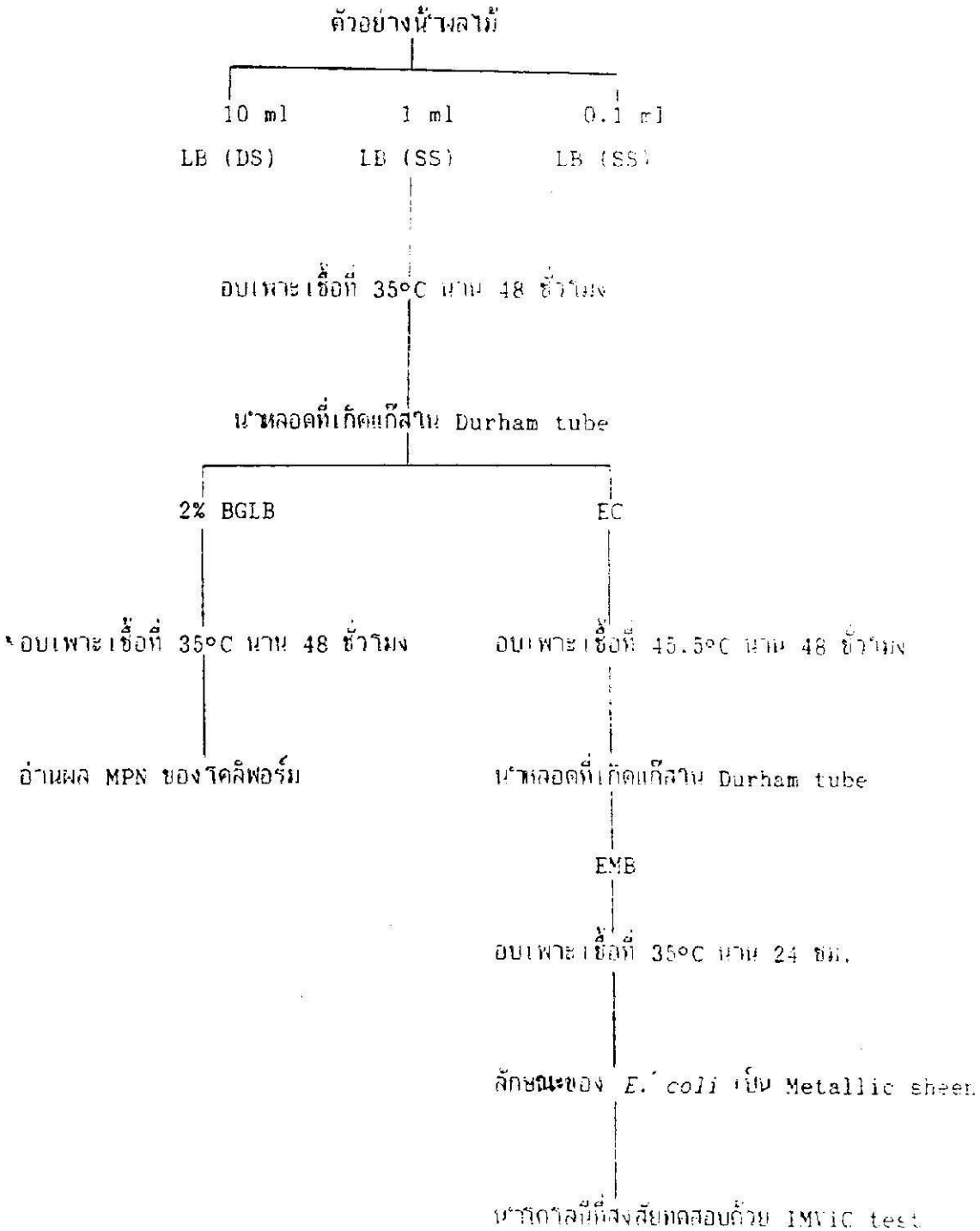
4.4 การตรวจวิเคราะห์ Vibrio cholerae : นำตัวอย่างอาหารมา enrich ใน อาหารเลี้ยงเชื้อ 0.5% NaCl-PW pH 9 จากนั้นใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก 0.5% NaCl-PW medium นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar plate อบที่ 35 °C 18-24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนี ลักษณะสีเหลือง ผิวเรียบ ค่อนข้างแบน ขอบใส และทดสอบชีวเคมีดังภาคผนวกที่ 5 ขั้นตอนแสดงการ ตรวจ V. cholerae แสดงดังภาพที่ 6 หน้า 24

ภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการนับจำนวน โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ E. coli โดยวิธี MPN ในอาหาร



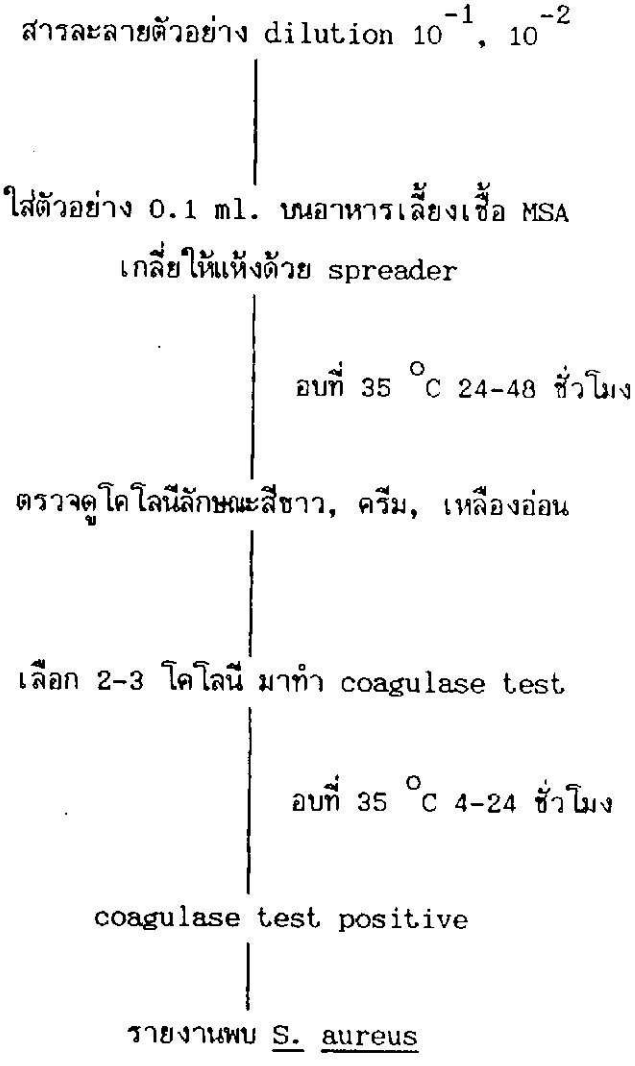
CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

ภาพที่ 2 แสดงวิธีการนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli โดยวิธี MPN (Most Probable Number Method) ในน้ำผลไม้

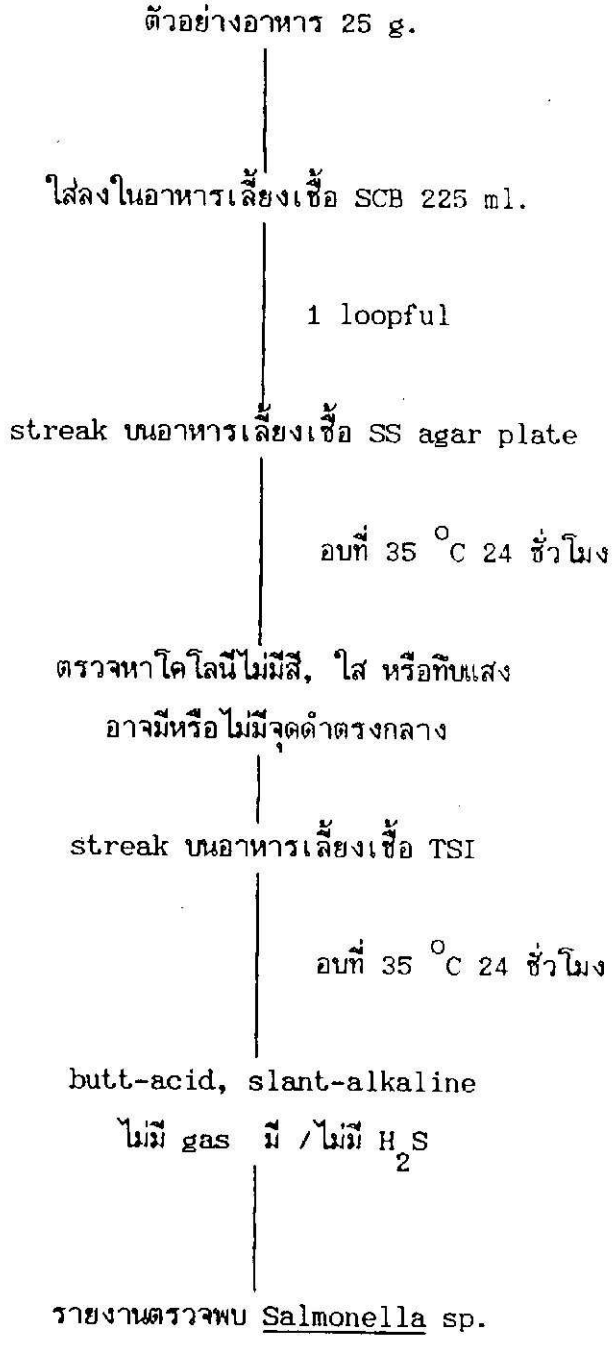


032505

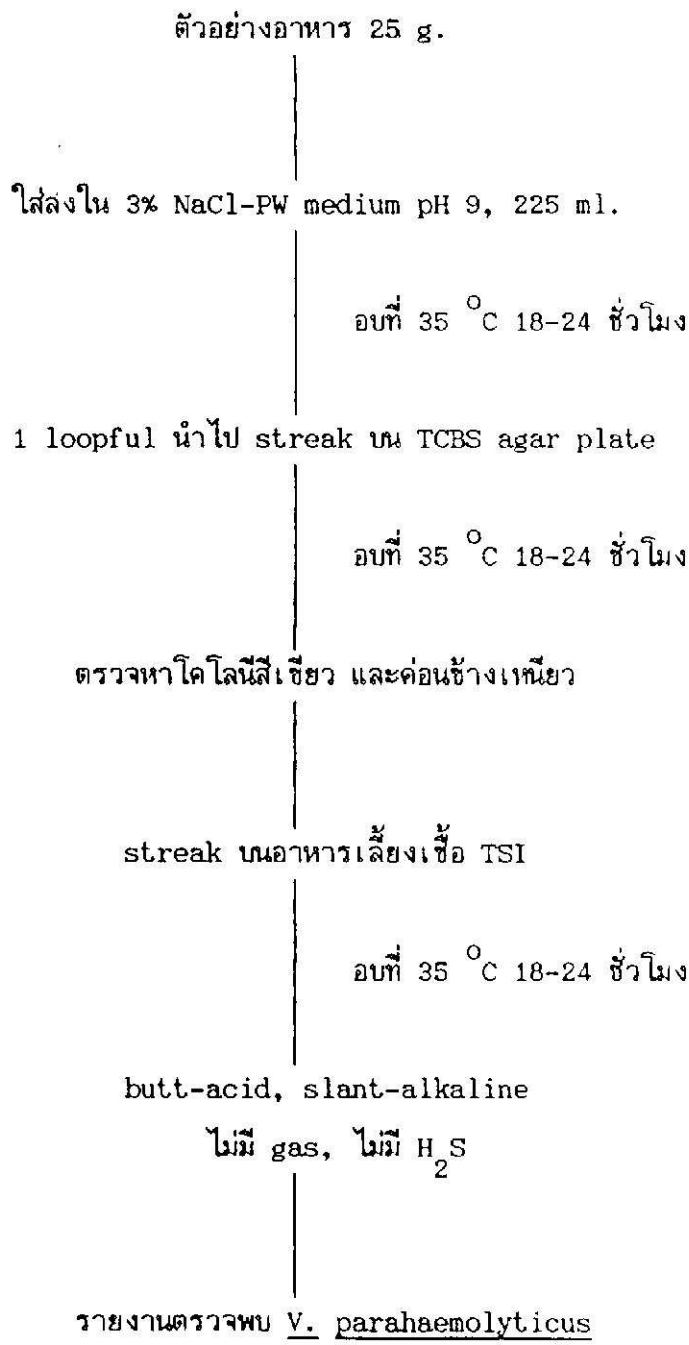
ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการตรวจ Staphylococcus aureus



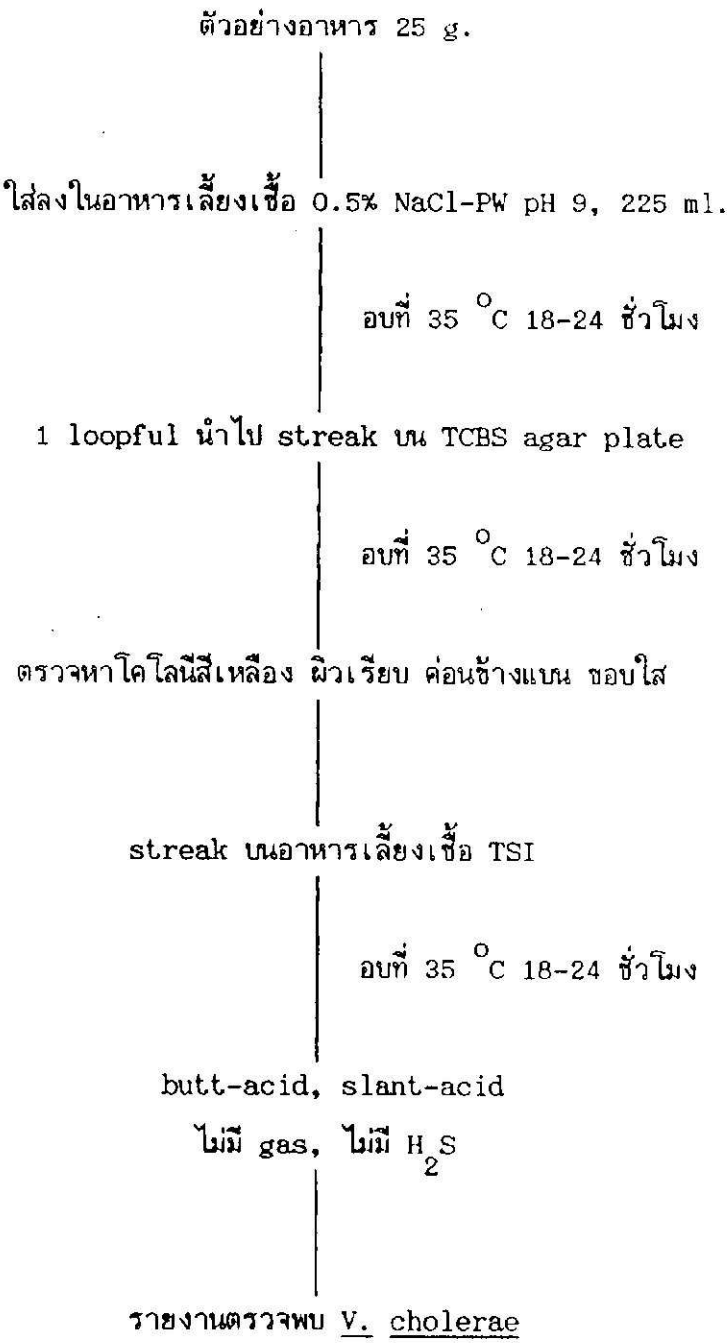
ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนการตรวจ Salmonella sp.



ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการตรวจ Vibrio parahaemolyticus



ภาพที่ 6 แสดงขั้นตอนการตรวจ Vibrio cholerae



ผลการทดลอง

1. การนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Aerobic Plate Count)

ผลการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่างอาหาร จากโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2532 แสดงในตารางที่ 1 พบว่า จากตัวอย่างอาหาร 60 ตัวอย่าง มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วง 6.5×10^{1}-8.2×10^{5} CFU/g โดยจำนวนที่มากที่สุดได้จากอาหารชนิด ผัดผักกาดขาว+แฮนงคะน้า+หมู ซึ่งจำหน่ายในโรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์ของนักศึกษา ในเดือนกรกฎาคม และจำนวนที่น้อยที่สุดได้จากอาหารชนิด เส้นเล็กน้ำใส่ทุกอย่าง ซึ่งจำหน่ายในโรงอาหารของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในเดือนสิงหาคม

สำหรับผลการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำผลไม้ พบว่ามี จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วง 7.35×10^{2} - 2.10×10^{4} CFU/ml โดยจำนวนที่มากที่สุด คือ ชมพู่น้ำมะพร้าว ซึ่งจำหน่ายที่โรงอาหารโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในเดือนสิงหาคม และกันยายน และจำนวนน้อยที่สุดได้แก่ น้ำระกำ ซึ่งจำหน่ายในโรงอาหารของนักศึกษา ในเดือนสิงหาคม ดังรายละเอียดในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร

ตัวอย่างอาหาร	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด CFU/g		
	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน
<u>โรงอาหารของนักศึกษา</u>			
-ผัดถั่วฝักยาว+ไข่+หมู	$1.5x10^3$	$8.3x10^2$	$2.2x10^3$
-ข้าวมันไก่	$8.5x10^4$	$2.4x10^5$	$3.0x10^5$
-ข้าวหน้าไก่	$1.0x10^5$	$1.6x10^4$	$1.1x10^5$
-เส้นเล็กน้ำลูกชิ้นเนื้อสด	$2.2x10^2$	$7.9x10^5$	$2.7x10^5$
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+กุ้ง	$6.6x10^4$	$1.7x10^5$	$6.1x10^5$
-ผัดพริกไก่+หอมหัวใหญ่	$4.6x10^4$	$2.8x10^4$	$4.0x10^4$
<u>โรงอาหารรพ.สงขลานครินทร์</u>			
-ไข่เจียว+มะเขือเทศ+หอมหัวใหญ่	$3.6x10^4$	$1.4x10^5$	$7.8x10^2$
-ผัดเปรี้ยวหวานสับปรด+หมู	$3.1x10^5$	$5.8x10^5$	$1.6x10^3$
-โจ๊กหมู	$3.7x10^5$	$6.5x10^5$	$5.2x10^4$
-เส้นเล็กหมูน้ำ	$4.6x10^3$	$5.3x10^4$	$1.3x10^4$
-ผัดผักรวมมิตร+กุ้ง	$6.1x10^4$	$4.8x10^4$	$4.2x10^4$
-ข้าวหน้าไก่	$3.7x10^3$	$7.0x10^5$	$1.9x10^3$
-เส้นเล็กน้ำใส่ทุกอย่าง	$5.3x10^4$	$6.5x10^1$	$1.6x10^3$
<u>โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์</u>			
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+เนื้อ	$5.0x10^2$	$4.7x10^2$	$3.4x10^2$
-ผัดผักกาดขาว+แชนงคะน้า+หมู	$8.2x10^5$	$4.2x10^5$	$3.3x10^5$
-ก๋วยเตี๋ยวผัดซีอิ๊ว	$1.1x10^4$	$3.0x10^5$	$3.1x10^4$
-ข้าวหมูอบ	$1.6x10^3$	$1.7x10^3$	$1.9x10^3$
-แกงเขียวหวานหมู	$4.7x10^3$	$1.1x10^3$	$9.6x10^3$
-ข้าวหมูแดง	$1.0x10^4$	$2.3x10^3$	$4.2x10^3$
-เส้นเล็กหมูน้ำ	$2.3x10^4$	$2.0x10^4$	$2.4x10^4$

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำผลไม้

ตัวอย่างน้ำผลไม้		จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)		
		กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน
โรงอาหารของนักศึกษา				
ร้านที่ 1	น้ำมะนาว	1.89×10^3	2.08×10^3	2.37×10^3
	น้ำส้ม	1.43×10^4	1.66×10^4	1.97×10^4
	น้ำมะพร้าว	1.88×10^4	1.90×10^4	1.53×10^4
	น้ำลิ้นจี่	1.79×10^3	1.95×10^4	1.80×10^4
	น้ำกระเจี๊ยบ	1.65×10^3	1.45×10^4	-
	น้ำฝรั่ง	-	-	1.63×10^3
ร้านที่ 2	น้ำมะนาว	1.71×10^3	2.60×10^3	1.52×10^4
	น้ำมะพร้าว	1.85×10^4	1.77×10^4	1.59×10^4
	น้ำส้ม	1.23×10^4	1.91×10^4	1.87×10^4
	น้ำลิ้นจี่	1.82×10^4	1.67×10^4	1.69×10^3
	น้ำชะกำ	3.20×10^3	7.35×10^2	-
	น้ำฝรั่ง	-	-	2.53×10^3
โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์				
ร้านที่ 1	น้ำลิ้นจี่	1.87×10^3	1.53×10^3	1.98×10^3
	น้ำลูกเกด	2.28×10^3	1.32×10^3	1.31×10^3
	น้ำสับปะรด	1.56×10^4	2.31×10^3	-
	น้ำมะขาม	2.06×10^4	-	-
	น้ำส้ม	1.24×10^4	2.38×10^3	1.93×10^4
	น้ำมะนาว	-	-	2.58×10^3
	น้ำฝรั่ง	-	1.91×10^3	2.30×10^3

ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้

ตัวอย่างน้ำผลไม้		จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)		
		กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน
ร้านที่ 2	น้ำลิ้นจี่	2.25×10^3	1.87×10^3	1.83×10^3
	น้ำมะขาม	1.87×10^4	1.29×10^3	-
	น้ำสับปะรด	1.97×10^3	2.39×10^3	1.88×10^3
	น้ำส้ม	1.94×10^4	2.10×10^3	2.25×10^3
	น้ำลูกเกด	1.94×10^3	1.52×10^3	-
	น้ำมะนาว	-	-	2.73×10^3
	น้ำสับปะรด	-	-	1.95×10^3
โรงอาหารโรงพยาบาลสงขลานครินทร์				
ร้านที่ 1	น้ำลิ้นจี่	2.00×10^3	-	-
	น้ำมะพร้าว	1.92×10^4	2.28×10^3	1.97×10^3
	น้ำมะนาว	1.87×10^3	1.95×10^3	2.55×10^3
	น้ำส้ม	1.52×10^4	2.53×10^3	2.83×10^3
	น้ำสับปะรด	2.78×10^3	1.97×10^3	-
	น้ำสตรอเบอรี่	-	1.30×10^3	1.31×10^3
	น้ำลำไย	-	-	1.40×10^3
ร้านที่ 2	น้ำมะพร้าว	1.73×10^4	2.10×10^4	2.10×10^4
	น้ำกระเจี๊ยบ	2.07×10^3	1.39×10^3	-
	น้ำส้ม	2.47×10^3	2.87×10^3	2.08×10^4
	น้ำลิ้นจี่	2.49×10^3	-	-
	น้ำมะนาว	1.75×10^3	2.25×10^3	2.32×10^3
	น้ำลำไย	-	1.58×10^3	2.40×10^3
	น้ำสับปะรด	-	-	1.93×10^3

หมายเหตุ เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์

2. การนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ E. coli โดยวิธี MPN

ผลการนับจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ E. coli โดยวิธี MPN ของตัวอย่างอาหารจากโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนกรกฎาคม - กันยายน 2532 แสดงในตารางที่ 8 พบว่า จากตัวอย่างอาหาร 60 ตัวอย่าง มีค่า MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย อยู่ในช่วง 0-มากกว่า 1100 CFU/g และค่า MPN E. coli อยู่ในช่วง 0-มากกว่า 1100 CFU/g

สำหรับน้ำผลไม้ จำนวน 90 ตัวอย่าง พบว่า โคลิฟอร์มแบคทีเรีย อยู่ในช่วง [illegible] และจำนวน MPN E. coli อยู่ในช่วง 2-4 และจากตัวอย่างน้ำผลไม้ทั้งหมด พบว่า ค่า MPN โคลิฟอร์มไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 38 ปี พ.ศ. 2520 ทั้ง 90 ตัวอย่าง และตรวจพบ E. coli ใน 14 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 15.56

ตารางที่ 3 แสดงจำนวน MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ E. coli ในอาหาร

ตัวอย่างอาหาร	MPN เดือนกรกฎาคม		MPN เดือนสิงหาคม		MPN เดือนกันยายน	
	coliform	E. coli	coliform	E. coli	coliform	E. coli
โรงอาหารของนักศึกษา						
-ผัดถั่วฝักยาว+ไข่+หมู	0	0	240	0	95	0
-ข้าวมันไก่	>1100	>1100	0	0	>1100	0
-ข้าวหน้าไก่	>1100	>1100	95	0	0	0
-เส้นเล็กน้ำลูกชิ้นเนื้อสด	0	0	0	0	0	0
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+กุ้ง	44	0	24	0	460	0
-ผัดพริกไก่+หอมหัวใหญ่	>1100	24	>1100	24	1100	0
โรงอาหารรพ.สงขลานครินทร์						
-ไข่เจียว+มะเขือเทศ+หอมหัวใหญ่	0	0	>1100	0	0	0
-ผัดเปรี้ยวหวานสับปรด+หมู	24	0	53	0	0	0
-โจ๊กหมู	0	0	0	0	0	0
-เส้นเล็กหมูน้ำ	0	0	0	0	0	0
-ผัดผักรวมมิตร+กุ้ง	0	0	0	0	0	0
-ข้าวหน้าไก่	>1100	0	>1100	0	>1100	0
-เส้นเล็กน้ำใส่ทุกอย่าง	0	0	0	0	0	0
โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์						
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+เนื้อ	0	0	0	0	0	0
-ผัดผักกาดขาว+แขนงคะน้า+หมู	0	0	0	0	0	0
-ก๋วยเตี๋ยวผัดซีอิ๊ว	>1100	0	0	0	0	0
-ข้าวหมูอบ	>1100	0	>1100	0	1100	0
-แกงเขียวหวานหมู	0	0	0	0	0	0
-ข้าวหมูแดง	>1100	150	290	150	>1100	24
-เส้นเล็กหมูน้ำ	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 4 แสดงจำนวน MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ E. coli ในน้ำผลไม้

ตัวอย่างน้ำผลไม้	จำนวน MPN/100 ml					
	กรกฎาคม		สิงหาคม		กันยายน	
	Coliform	*E.coli*	Coliform	*E.coli*	Coliform	*E.coli*
โรงอาหารของนักศึกษา						
ร้านที่ 1 น้ำมะนาว	240	2	350	0	900	1
น้ำส้ม	900	2	1,600	2	1,600	4
น้ำมะพร้าว	500	0	350	0	900	4
น้ำลิ้นจี่	130	0	110	0	80	0
น้ำกระเจี๊ยบ	500	0	500	0	-	-
น้ำสาหร่าย	-	-	-	-	350	0
ร้านที่ 2 น้ำมะนาว	240	0	350	0	500	0
น้ำมะพร้าว	500	0	1,600	2	900	0
น้ำส้ม	500	0	350	2	900	2
น้ำลิ้นจี่	350	0	240	0	170	0
น้ำกระถ่า	17	0	23	0	-	-
น้ำสาหร่าย	-	-	-	-	34	0
โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์						
ร้านที่ 1 น้ำลิ้นจี่	350	0	350	0	280	0
น้ำลูกเกด	350	0	130	0	220	0
น้ำสับปะรด	500	0	240	0	-	-
น้ำมะขาม	23	0	-	-	-	-
น้ำส้ม	900	2	500	0	240	0
น้ำมะนาว	-	-	-	-	350	0
น้ำสาหร่าย	-	-	350	0	220	0

ตารางที่ 4 (ต่อ) แสดงจำนวน MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ E. coli ในน้ำผลไม้

ตัวอย่างน้ำผลไม้		จำนวน MPN/100 ml					
		กรกฎาคม		สิงหาคม		กันยายน	
		Coliform	*E.coli*	Coliform	*E.coli*	Coliform	*E.coli*
ร้านที่ 2	น้ำลิ้นจี่	350	0	130	0	140	0
	น้ำมะขาม	80	0	50	0	-	-
	น้ำสับปะรด	23	0	130	0	23	0
	น้ำส้ม	140	0	900	2	500	0
	น้ำลูกเกด	34	0	23	0	-	-
	น้ำมะนาว	-	-	-	-	900	2
	น้ำสับปะรด	-	-	-	-	130	0
โรงอาหารโรงพยาบาลสงขลานครินทร์							
ร้านที่ 1	น้ำลิ้นจี่	220	0	-	-	-	-
	น้ำมะพร้าว	500	0	900	-	350	-
	น้ำมะนาว	1,600	0	>1,600	2	900	0
	น้ำส้ม	1,600	0	1,600	0	240	0
	น้ำสับปะรด	900	0	350	0	-	-
	น้ำสตรอเบอรี่	-	-	350	0	170	0
	น้ำสับปะรด	-	-	-	-	80	0
ร้านที่ 2	น้ำมะพร้าว	1,600	0	900	0	900	0
	น้ำกระเจี๊ยบ	23	0	23	0	-	-
	น้ำส้ม	1,600	2	500	0	900	0
	น้ำลิ้นจี่	350	0	-	-	-	-
	น้ำมะนาว	900	0	500	0	500	0
	น้ำสับปะรด	-	-	1,600	0	350	0
	น้ำสับปะรด	-	-	-	-	80	0

หมายเหตุ เครื่องหมาย - หมายถึงไม่ได้ตรวจวิเคราะห์

3. การตรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ

ผลการตรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ของตัวอย่างอาหาร จากโรงอาหารภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2532 แสดงในตารางที่ 5, 6 และ 7 พบว่าจากตัวอย่างอาหาร 60 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ S. aureus 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 18.33% ของตัวอย่างอาหารทั้งหมด V. parahaemolyticus 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 13.33% ของตัวอย่างอาหารทั้งหมด ตรวจไม่พบเชื้อ Salmonella sp. และ V. cholerae

ในน้ำผลไม้มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษอยู่ด้วย แต่จะพบเฉพาะ S. aureus เท่านั้น จากตัวอย่างน้ำผลไม้ทั้งหมดทั้งหมด 90 ตัวอย่าง ตรวจพบ S. aureus 6 ตัวอย่าง คิดเป็น 6.67% ดังรายละเอียดในตารางที่ 8

ตารางที่ 5 แสดงการตรวจเชื้อ S. aureus และ Salmonella sp. ในอาหาร

ตัวอย่างอาหาร	การตรวจเชื้อ S.aureus			การตรวจเชื้อ Salmonella sp.		
	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน
โรงอาหารของนักศึกษา						
-ผัดถั่วฝักยาว+ไข่+หมู	+	+	-	-	-	-
-ข้าวมันไก่	-	-	+	-	-	-
-ข้าวหน้าไก่	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กน้ำลูกชิ้นเนื้อสด	-	-	-	-	-	-
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+กุ้ง	-	-	-	-	-	-
-ผัดพริกไก่+หอมหัวใหญ่	-	-	-	-	-	-
โรงอาหารรพ.สงขลานครินทร์						
-ไข่เจียว+มะเขือเทศ+หอมหัวใหญ่	-	-	-	-	-	-
-ผัดเปรี้ยวหวานสับปรด+หมู	-	+	-	-	-	-
-โจ๊กหมู	-	+	-	-	-	-
-เส้นเล็กหมูน้ำ	-	-	-	-	-	-
-ผัดผักรวมมิตร+กุ้ง	-	-	-	-	-	-
-ข้าวหน้าไก่	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กน้ำใส่ทุกอย่าง	-	-	-	-	-	-
โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์						
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+เนื้อ	-	-	-	-	-	-
-ผัดผักกาดขาว+แขนงคะน้า+หมู	+	-	-	-	-	-
-ก๋วยเตี๋ยวผัดซีอิ๊ว	-	-	+	-	-	-
-ข้าวหมูอบ	-	-	-	-	-	-
-แกงเขียวหวานหมู	+	+	+	-	-	-
-ข้าวหมูแดง	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กหมูน้ำ	+	-	-	-	-	-

หมายเหตุ - = ตรวจไม่พบ + = ตรวจพบ

ตารางที่ 6 แสดงการตรวจเชื้อ V. parahaemolyticus และ V. cholerae ในอาหาร

ตัวอย่างอาหาร	การตรวจเชื้อV.parahaemolyticus			การตรวจเชื้อ V.cholerae		
	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน
โรงอาหารของนักศึกษา						
-ผัดถั่วฝักยาว+ไข่+หมู	-	-	-	-	-	-
-ข้าวมันไก่	-	+	+	-	-	-
-ข้าวหน้าไก่	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กน้ำลูกชิ้นเนื้อสด	-	-	-	-	-	-
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+กุ้ง	-	+	-	-	-	-
-ผัดพริกไก่+หอมหัวใหญ่	-	-	-	-	-	-
โรงอาหารรพ.สงขลานครินทร์						
-ไข่เจียว+มะเขือเทศ+หอมหัวใหญ่	-	-	-	-	-	-
-ผัดเปรี้ยวหวานสับปะรด+หมู	-	-	-	-	-	-
-โจ๊กหมู	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กหมูน้ำ	-	-	-	-	-	-
-ผัดผักรวมมิตร+กุ้ง	-	+	+	-	-	-
-ข้าวหน้าไก่	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กน้ำใส่ทุกอย่าง	-	-	-	-	-	-
โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์						
-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+เนื้อ	-	-	-	-	-	-
-ผัดผักกาดขาว+แขนงคะน้า+หมู	-	-	+	-	-	-
-ก๋วยเตี๋ยวผัดซีอิ๊ว	-	-	-	-	-	-
-ข้าวหมูอบ	-	-	-	-	-	-
-แกงเขียวหวานหมู	-	+	+	-	-	-
-ข้าวหมูแดง	-	-	-	-	-	-
-เส้นเล็กหมูน้ำ	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ - = ตรวจไม่พบ + = ตรวจพบ

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนการตรวจพบเชื้อโรคในอาหารเป็นพิษที่ตรวจพบในอาหารจากแหล่งที่เก็บตัวอย่างในแต่ละเดือน

เดือน	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนการพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	%
กรกฎาคม	โรงอาหารของนักศึกษา	6	1	16.67
	โรงอาหาร รพ.-สงขลานครินทร์	7	0	0.00
	โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์	7	3	42.85
สิงหาคม	โรงอาหารของนักศึกษา	6	3	50.00
	โรงอาหาร รพ.-สงขลานครินทร์	7	3	42.85
	โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์	7	1	14.28
กันยายน	โรงอาหารของนักศึกษา	6	1	16.67
	โรงอาหาร รพ.-สงขลานครินทร์	7	1	14.28
	โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์	7	3	42.85

ตารางที่ 8 แสดงชนิดแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่พบในน้ำผลไม้

เดือน	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	ชนิดของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ				% ตัวอย่างที่พบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ
				A	B	C	D	
กรกฎาคม	(1)	10	2	+	-	-	-	20
	(2)	10	1	+	-	-	-	10
	(3)	10	-	-	-	-	-	0
สิงหาคม	(1)	10	1	+	-	-	-	10
	(2)	10	-	-	-	-	-	0
	(3)	10	1	+	-	-	-	10
กันยายน	(1)	10	1	+	-	-	-	10
	(2)	10	-	-	-	-	-	0
	(3)	10	-	-	-	-	-	0

หมายเหตุ (1) = โรงอาหารของนักศึกษา

(2) = โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์

(3) = โรงอาหารของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์

A = *S. aureus*

B = *Salmonella*

C = *V. parahaemolyticus*

D = *V. cholerae*

\+ = ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ

\- = ตรวจไม่พบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ

ตารางที่ 9 สรุปผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร

เดือน	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนที่ไม่เข้ามาตรฐาน	ลักษณะตัวอย่างที่ไม่เข้ามาตรฐาน	สาเหตุที่ไม่เข้ามาตรฐาน
กรกฎาคม	1	6	3	-ผัดถั่วฝักยาว+ไข่+หมู	-S. aureus
				-ข้าวมันไก่	-MPN coliform
					-MPN E. coli
				-ข้าวหน้าไก่	-MPN coliform
					-MPN E. coli
	2	7	1	-ข้าวหน้าไก่	-MPN E. coli
	3	7	6	-ผัดผักกาดขาว+แขนงคะน้า+หมู	-S. aureus
				-ก๋วยเตี๋ยวผัดซีอิ๊ว	-MPN coliform
				-ข้าวหมูอบ	-MPN coliform
				-แกงเขียวหวานหมู	-S. aureus
				-ข้าวหมูแดง	-MPN coliform
					-MPN E. coli
				-เส้นเล็กหมูน้ำ	-S. aureus
สิงหาคม	1	6	4	-ผัดถั่วฝักยาว+ไข่+หมู	-S. aureus
				-ข้าวมันไก่	-V. parahaemolyticus
				-ผัดเผ็ดถั่วฝักยาว+กุ้ง	-V. parahaemolyticus
				-ผัดพริกไก่+หอมหัวใหญ่	-MPN coliform
	2	7	5	-ไข่เจียว+มะเขือเทศ+หอมหัวใหญ่	-MPN coliform
				-ผัดเปรี้ยวหวานสับปรด+หมู	-S. aureus
				-โจ๊กหมู	-S. aureus
				-ผัดผักรวมมิตร+กุ้ง	-V. parahaemolyticus
				-ข้าวหน้าไก่	-MPN coliform

ตารางที่ 9 (ต่อ) สรุปผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร

เดือน	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนที่ไม่เข้ามาตรฐาน	ลักษณะตัวอย่างที่ไม่เข้ามาตรฐาน	สาเหตุที่ไม่เข้ามาตรฐาน
	3	7	3	-ข้าวหมูอบ	-MPN coliform
				-แกงเขียวหวานหมู	-S. aureus
					-V. parahaemolyticus
				-ข้าวหมูแดง	-MPN E. coli
กันยายน	1	6	2	-ข้าวมันไก่	-MPN coliform
					-S. aureus
					-V. parahaemolyticus
				-ผัดพริกไก่+หอมหัวใหญ่	-MPN coliform
	2	7	2	-ข้าวหน้าไก่	-MPN coliform
				-ผัดผักรวมมิตร+กุ้ง	-V. parahaemolyticus
	3	7	5	-ผัดผักกาดขาว+แชนงคะน้า+หมู	-V. parahaemolyticus
				-ก๋วยเตี๋ยวผัดซีอิ๊ว	-S. aureus
				-แกงเขียวหวานหมู	-V. parahaemolyticus
				-ข้าวหมูอบ	-MPN coliform
				-ข้าวหมูแดง	-MPN coliform

หมายเหตุ 1 = โรงอาหารของนักศึกษา

2 = โรงอาหารโรงพยาบาลสงขลานครินทร์

3 = โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 10 สรุปผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำผลไม้

เดือน	แหล่งที่เก็บ	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน	สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐาน
กรกฎาคม	(1)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
	(2)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
	(3)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
สิงหาคม	(1)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
	(2)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*

ตารางที่ 10 (ต่อ) สรุปผลการตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำผลไม้

เดือน	แหล่งที่เก็บ	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน	สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐาน
	(3)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
กันยายน	(1)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
	(2)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน พบ *E. coli*
	(3)	10	10	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน MPN โคลิฟอร์มเกิน

หมายเหตุ (1) = โรงอาหารของนักศึกษา

(2) = โรงอาหารคณะวิทยาศาสตร์

(3) = โรงอาหารของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์

วิจารณ์และสรุป

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total aerobic plate count, การวิเคราะห์หาปริมาณของ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ด้วยวิธี MPN (Most Probable Number-Method) และการวิเคราะห์หาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ของอาหารจากโรงอาหารภายในบริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนกรกฎาคม-เดือนกันยายน 2532 จากผลการวิเคราะห์พบว่า จำนวนของอาหารตัวอย่างที่สุ่มทั้งหมดคือ 60 ตัวอย่าง มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดตั้งแต่ 6.5×10^{1}-8.2×10^{6} CFU/g จำนวน โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ตั้งแต่ 0->1,100 CFU/g จำนวน E. coli ตั้งแต่ 0->1,100 CFU/g โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และจำนวน E. coli มีปริมาณต่างกันมาก ไม่ขึ้นกับชนิดอาหาร แต่จะขึ้นอยู่กับความระมัดระวังของผู้ผลิตอาหารจำหน่าย

โดยปกติมาตรฐานของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร ยังไม่ได้กำหนดลงไปแน่นอน เนื่องจากอาหารของแต่ละท้องถิ่นจะแตกต่างไปตามสภาพเศรษฐกิจ รสนิยม ประเพณีและวัฒนธรรม ในการศึกษานี้จะใช้มาตรฐานของกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ว่าด้วย ข้อกำหนดทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสำเร็จ

- จำนวนจุลินทรีย์ /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1×10^{6}
- จำนวนยีสต์และรา /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1×10^{3}
- MPN E. coli /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20
- MPN faecal coliforms /g	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 500
- เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ	ตรวจไม่พบ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบกับมาตรฐานข้างต้น พบว่าอาหารตัวอย่างทั้งหมดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total aerobic plate count) ต่ำกว่ามาตรฐาน แต่จำนวน MPN E. coli และ MPN โคลิฟอร์มแบคทีเรีย มีค่ามากกว่ามาตรฐานข้างต้น ซึ่งแสดงว่ามีการปนเปื้อนจากอุจจาระของคนหรือสัตว์บางชนิด แต่ไม่ได้หมายความว่าอาหารต่างๆเหล่านั้นสะอาดปลอดภัย เพราะจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารที่นับได้มีจำนวนสูง ค่า MPN coliforms และ MPN E. coli มากกว่ามาตรฐาน และตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในตัวอย่างบางชนิด แม้ว่าจะมีปริมาณไม่มากแต่หากอาหารเหล่านี้จะถูกรับประทานเข้าไปโดยตรง มิได้มีการผ่านความร้อนเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ลงอีก ก็นับว่าไม่ปลอดภัย

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด สามารถบ่งบอกถึงความสะอาดของอาหารว่ามีการผลิตและการเก็บหลังการผลิตถูกต้องหรือไม่ ถ้าจำนวนจุลินทรีย์สูงก็นับได้ว่าอาหารนั้นถูกผลิต และถูกเก็บอย่างไม่มีสุขอนามัย แต่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหารไม่สามารถบ่งบอกถึงความปลอดภัยได้ ต้องทำการตรวจหาจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค หรือก่อให้เกิดความผิดปกติของร่างกาย จึงจำเป็นต้องมีการตรวจหาจุลินทรีย์บางอย่าง เช่น โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ซึ่งสามารถใช้เป็นดัชนีบอกการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ว่ามาจากอุจจาระของคนหรือสัตว์บางชนิด ที่อาจมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคร้ายแรงได้

จากผลการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จำนวน E. coli และตรวจหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ในอาหารจากโรงอาหารต่าง ๆ ภายในบริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่า โดยส่วนใหญ่แล้วยังมีการผลิตอาหารที่ไม่สะอาด ไม่ถูกต้องตามสุขลักษณะ ความไม่สะอาดของอาหารจากการปะปนของจุลินทรีย์มาจากสาเหตุสำคัญ 2 ประการ (ธารีรัตน์, 2525) คือ

1. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์เนื่องจากวัตถุดิบ และกรรมวิธีการปรุงอาหาร ซึ่งมาจาก
   - ผู้ผลิต ผู้ปรุง หรือผู้เกี่ยวข้อง (food handler)
   - เครื่องมือ เครื่องใช้ (equipment and utensil) เช่น มีด และภาชนะต่าง ๆ
   - สิ่งแวดล้อมสกปรก (dirty environment)
2. การเก็บรักษาอาหารภายหลังจากการปรุงไม่ดีพอ

นอกจากนี้ ควรทำการตรวจวิเคราะห์ถึงเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องปรุงอาหาร ภาชนะบรรจุอาหาร และวัตถุดิบที่ใช้ในการปรุงอาหารด้วย ทั้งนี้จากการศึกษาเกี่ยวกับเครื่องปรุงอาหารของ Geeta และ Kulkarni (1987) พบว่าในพริกไทยมีจำนวนจุลินทรีย์ชนิด aerobes ทั้งหมด 1.2×10^{5} - 8.2×10^{9} CFU/g และมี โคลิฟอร์มแบคทีเรีย 10^{3} - 10^{8} CFU/g และจากการศึกษาของ Bhat และคณะ (1987) พบว่าในพริกป่นมีจำนวนจุลินทรีย์ชนิด aerobes ทั้งหมด 2.0×10^{7}-2.0×10^{9} CFU/g และตรวจพบ S. aureus ด้วย ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในเครื่องปรุงนี้อาจเป็นเปื้อนลงในอาหารได้ ดังนั้นร้านค้าที่จำหน่ายอาหารควรตระหนักถึงความสะอาดและความปลอดภัยของเครื่องปรุงด้วย โดยเฉพาะร้านค้าที่จำหน่ายอาหารที่ต้องมีเครื่องปรุง

จากการศึกษาเกี่ยวกับภาชนะบรรจุอาหารของ ธารีรัตน์ และคณะ (2525) พบว่าบางภาชนะของร้านค้าที่จำหน่ายอาหารจากโรงอาหารคณะต่าง ๆ ภายในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยมีจำนวนจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 6.0×10^{2} - 2.2×10^{8} CFU/g พบ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย 32 ร้าน จากทั้งหมด 41 ร้าน ซึ่งจะเห็นได้ว่าภาชนะของร้านค้านั้นยังสะอาดไม่เพียงพอ การให้จุลินทรีย์อาจปนเปื้อน

ลงไปในอาหารได้

เกี่ยวกับวัตถุดิบที่ใช้ในการปรุงอาหาร วัตถุดิบบางชนิดอาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนจากดิน เช่น ผักสดต่างๆ ควรมีการล้างด้วยน้ำสะอาด และแช่ในด่างทับทิม ส่วนวัตถุดิบบางชนิดที่สามารถรับประทานได้ทันที เช่น ลูกชิ้น ไส้กรอก ก็อาจมีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอยู่ได้ ทั้งนี้จากการศึกษาของ Farber และคณะ (1988) พบว่า ในไส้กรอกสด และไส้กรอกแช่แข็งที่จำหน่ายในตลาด มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 10^4 - 10^7 CFU/g และตรวจพบ E. coli, S. aureus 35% ของตัวอย่างทั้งหมด และตรวจพบ Salmonella sp. 65% ของไส้กรอกแช่แข็ง ดังนั้นในอาหารที่ใช้ลูกชิ้นหรือไส้กรอกเป็นส่วนประกอบ เช่น ก๋วยเตี๋ยว สลัด ฯลฯ ควรมีการลวกหรือให้ความร้อนในระดับที่จะทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่หมดไป

สำหรับคุณภาพของน้ำผลไม้นั้นพบว่า มีจุลินทรีย์ทั้งหมดตั้งแต่ 7.33×10^5 - 2.10×10^6 CFU/ml ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 36 พ.ศ.2520 ได้กำหนดมาตรฐานทางจุลินทรีย์ของน้ำสะอาด คือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ 35-37 °C 24 ชม. ไม่เกิน 500 CFU/ml จากตัวอย่างน้ำผลไม้ที่สุ่มมา ไม่มีตัวอย่างใดที่ได้มาตรฐาน แสดงว่าขั้นตอนในการผลิตและการขายน้ำผลไม้ของแต่ละร้านภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ไม่ถูกสุขลักษณะ เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ในน้ำผลไม้

ผลการวิเคราะห์จำนวนโคลิฟอร์ม แบคทีเรีย และ E. coli ในน้ำผลไม้ พบว่าตัวอย่างน้ำผลไม้ทั้งหมดที่สุ่มมามีค่า MPN ของโคลิฟอร์มต่อ 100 มิลลิลิตร ตั้งแต่ 17->1,600 และค่า MPN ของ E. coli ต่อ100มิลลิลิตร ตั้งแต่ 2-4 ซึ่งตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 36 พ.ศ.2520 ได้กำหนดมาตรฐานทางจุลินทรีย์ของน้ำที่สะอาดไว้ คือ ต้องมีค่า MPN ของโคลิฟอร์มต่อ 100 มิลลิลิตร น้อยกว่า 2.2 และต้องไม่มี E. coli จากตัวอย่างที่สุ่มมา ไม่มีตัวอย่างน้ำผลไม้ใดที่เข้ามาตรฐานโดยเฉพาะในน้ำผลไม้ประเภท น้ำส้ม, น้ำมะพร้าว และน้ำมะนาว จะมีค่า MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร สูง ทั้งยังพบ E. coli ในน้ำผลไม้ประเภทนี้อีกด้วย ซึ่งก็เป็นตัวบ่งบอกถึงความไม่สะอาดของน้ำผลไม้ ว่ามีการปนเปื้อนจากอุจจาระของคนหรือสัตว์เลือดอุ่น ซึ่ง E. coli นี้อาจติดมากับน้ำแข็งที่ผสมอยู่ในน้ำผลไม้หรือจากตัวผู้ผลิตเอง ซึ่งไม่รักษาความสะอาดทั้งจากมือและภาชนะที่ใช้บรรจุ และจากการตรวจหาแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ 4 ชนิด คือ S. aureus, S. salmonella, V. cholerae และ V. parahaemolyticus ในน้ำผลไม้ พบแต่เชื้อ S. aureus เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ซึ่งพบในน้ำลิ้นจี่, น้ำมะนาว, น้ำส้ม และน้ำมะพร้าว โดยที่ลิ้นจี่

ไปนิยมดื่มกันมาก ดังนั้นอาจเป็นสาเหตุของอาการปวดท้อง คลื่นไส้ โดยที่โอกาสการปนเปื้อน ของ S. aureus ในน้ำผลไม้จะเป็นไปได้มากกว่าแบคทีเรีย ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารพิษชนิดอื่น ทั้งนี้เพราะว่า S. aureus มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ รวมทั้งบริเวณผิวหนังของคนและสัตว์ และมักจะพบในบริเวณที่มีฝุ่น และบริเวณที่ชื้นหรือฝาผนังที่สกปรก ซึ่งก็แสดงให้เห็นว่าโอกาสที่น้ำผลไม้จะปนเปื้อน S. aureus เป็นไปได้มาก ถ้าผู้ผลิตไม่รักษาความสะอาด ส่วน Salmonella มีรายงานว่าพบมากในพวกเนื้อสัตว์และพวกเป็ด ไก่ (Kvenberg and Archer, 1987) ส่วน V. Cholerae พบมากในน้ำและอาหาร และ V. parahaemolyticus พบมากในอาหารทะเล (Joseph, 1988) ดังนั้นจึงตรวจไม่พบเชื้อทั้ง 3 ชนิดในน้ำผลไม้ที่นำมาตรวจอย่างไรก็ดีถ้าระบบการทำน้ำผลไม้ไม่ถูกสุขลักษณะ โอกาสที่จะถูกเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษเหล่านี้ปนเปื้อนได้สูง

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำผลไม้ อาจมาจากหลายแหล่งด้วยกัน เช่น จากดิน หรือน้ำที่ใช้ นอกจากนี้จุลินทรีย์อาจติดจากผลไม้เน่าเสียหรือโอกาสปนเปื้อนมาจากภาชนะบรรจุ (ธารีรัตน์ และคณะ, 2525) เครื่องมือที่ใช้ ผู้ปรุงหรือผู้จำหน่ายที่มีสุขนิสัยไม่ถูกต้อง เช่น มีการสัมผัสของมือกับน้ำผลไม้ขณะจำหน่าย และการเก็บภายหลังการผลิตที่ไม่ดีพอ ก็เป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วได้ในภายหลังการผลิต และแหล่งของจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้อีกแหล่งคือ น้ำแข็ง เนื่องจากในน้ำผลไม้ทุกชนิด มักใส่น้ำแข็ง ถ้าน้ำแข็งไม่สะอาด ก็จะแพร่จุลินทรีย์ลงในน้ำผลไม้ ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการเพิ่มของจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้จึงควรปฏิบัติ ดังนี้

1. ล้างผลไม้ให้สะอาดก่อนนำมาทำน้ำผลไม้
2. คัดเลือกเอาแต่ผลไม้ที่ใหม่สดไม่เป็นแผลเน่า มาทำน้ำผลไม้
3. ภาชนะที่บรรจุน้ำผลไม้ ต้องล้างให้สะอาด ต่างให้แห้ง ไม่มีคราบไขมัน เกาะหรือควรทำลายจุลินทรีย์ที่ติดอยู่โดยการลวกด้วยน้ำร้อน
4. น้ำแข็งที่ใส่ในน้ำผลไม้จะต้องถูกสุขลักษณะ
5. ขั้นตอนและวิธีการผลิตจะต้องสะอาดและถูกสุขลักษณะ
6. ผู้ผลิตจะต้องรักษาความสะอาดอยู่เสมอ
7. น้ำผลไม้ที่ทำเสร็จแล้วควรมีฝาปิด

แนวทางของการแก้ปัญหาความสกปรกของอาหาร เนื่องจากการปะปนของจุลินทรีย์ ได้แก่ การจัดสุขาภิบาลอาหาร (food sanitation) ที่ดี ซึ่งควรเป็นการร่วมมือระหว่างร้านค้าผู้ประกอบอาหาร และเจ้าหน้าที่ของมหาวิทยาลัยที่จะดูแลรับผิดชอบ และควรมีการประกอบอาหารอย่างถูกต้องและถูกสุขอนามัย

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการจัดสุขาภิบาลที่ดี

1. ผู้ประกอบอาหาร ได้แก่ ผู้ปรุง ผู้เตรียม ต้องมีร่างกายสมบูรณ์ ไม่เป็นโรคติดต่อ
   - ไม่ใช้มือจับต้องอาหารโดยไม่จำเป็น
   - รู้จักรักษามือให้สะอาด และตัดเล็บให้สั้นอยู่เสมอ
   - รักษาความสะอาดเสื้อผ้า และร่างกายอยู่เสมอ สวมหมวกเวลาทำอาหาร เพื่อไม่ให้ผมตกลงไปในอาหาร
   - เก็บอาหารมิให้บูดเน่าในที่มีความเย็นมิดชิดจนถึงเวลาใช้
   - ปิดปากและจมูกขณะไอ หรือจาม และล้างมือให้สะอาดทุกครั้ง ถ้าเป็นไข้ ปวดหัว ตัวร้อนให้หยุดขาย และพบแพทย์ทันที
   - อย่าเลียนิ้วมือ หรือใช้มือแคะจมูก หรือแคะเล็บมีขณะปรุงอาหาร หรือในเวลาทำงาน
   - ห้ามสูบบุหรี่ในขณะปรุงอาหาร
   - อย่าชิมอาหารจากช้อน หรือส้อมที่ใช้ในการปรุงอาหาร
   - การจับถ้วย ช้อน ส้อม และมีด ควรจับทางด้ามเสมอ
   - ผ้าที่ใช้เช็ดถ้วย ช้อน ส้อม ไม่ควรนำไปใช้เช็ดโต๊ะ เก้าอี้ หรือถูพื้นเด็ดขาด
2. เครื่องมือ เครื่องใช้ต้องทำความสะอาดให้ถูกต้อง
3. สถานที่ประกอบอาหาร ควรมีลักษณะดังนี้
   - ขนาดไม่เล็กและคับแคบเกินไป
   - พื้นฝาผนังและเพดาน ต้องไม่มีฝุ่นหรือคราบเขม่าเลอะเทอะ
   - มีแสงสว่างผ่านมากพอควร
   - มีระบบระบายอากาศที่ดี
   - มีระบบน้ำประปาเพียงพอ เป็นต้น
4. สถานที่เก็บอาหารควรมีลักษณะดังนี้
   - มิดชิดปลอดภัยจากแมลง และสัตว์ต่างๆ
   - มีอุณหภูมิต่ำพอที่จะยับยั้งไม่ให้มีการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย
   - เมื่อนำออกจากสถานที่เก็บต้องรีบปรุงอาหารทันที ด้วยความร้อนที่เพียงพอ

การตรวจแนะนำร้านอาหาร

ควรมีคณะกรรมการของมหาวิทยาลัยตรวจแนะนำร้านอาหารในเรื่องเกี่ยวกับสิ่งต่อไปนี้ :-

1. สิ่งแวดล้อม ได้แก่ ตรวจตราดูความสะอาดทั่วๆไป การระบายน้ำล้างในครัว และสิ่งที่จะเป็นที่เกิดของแมลงวันต่างๆได้

2. ตัวร้านจำหน่ายอาหาร ตรวจดูว่าอาหารมีการป้องกันฝุ่นละอองและแมลงต่างๆได้ดีหรือไม่ มีลวดตาข่ายกรุป้องกันแมลงต่างๆได้ดีหรือไม่ ความสะอาดของพื้นห้องและฝาผนัง ตลอดจนความสะอาดของห้องน้ำ ห้องส้วมดีเพียงใด ต้องจัดการทำให้เรียบร้อย

3. การกำจัดของเสียและเศษอาหารต่างๆ ดูว่าการเก็บเศษอาหารเป็นอย่างไร สะอาดดีเพียงใด มีฝาปิดเรียบร้อยหรือมีกลิ่นหรือไม่ และต้องหาทางไม่ให้แมลงวันตอมเศษอาหารได้

4. เครื่องอุปกรณ์การครัวและการประกอบอาหาร สิ่งนี้เป็นการบ่งถึงคุณภาพของร้านอาหารว่าดีเลวเพียงใด ตลอดจนการเก็บเครื่องอุปกรณ์ว่าเรียบร้อยหรือไม่

5. อาหารที่ซื้อหรือนำมาจากภายนอก การตรวจสุขาภิบาลของร้านจำหน่ายอาหาร ต้องตรวจอาหารที่นำมาจากภายนอกร้าน และการเก็บรักษาอาหารหลังจากนำเข้ามาในร้านอาหารแล้วว่าอาหารสดดีหรือไม่ อาหารที่ควรเอาใจใส่ให้มากได้แก่ พวกเนื้อสดและผักต่างๆ

6. เครื่องอุปกรณ์ใส่อาหาร และใช้รับประทานอาหาร ตรวจดูการล้างเครื่องมือเครื่องใช้ตลอดทำการเก็บว่า ถูกต้องตามหลักสุขาภิบาลที่กล่าวมาแล้วหรือไม่ นอกจากนั้น เวลาใส่อาหารและจัดอาหารอาหารสะอาดเพียงพอหรือไม่

7. วิธีจัดทำอาหาร ต้องตรวจดูว่าการจัดการปรับปรุงอาหารถูกหลักการรักษาความสะอาดดีหรือไม่ และเมื่อปรุงแล้วคนเสริฟนำไปให้คนซื้อถูกต้องตามหลักสุขาภิบาลหรือไม่ ตลอดจนการเตรียมผักสดต่างๆสำหรับรับประทานด้วย

8. วิธีเสริฟอาหาร ต้องตรวจสอบดูว่าการเสริฟอาหารถูกวิธีหรือไม่ และมีข้อบกพร่องอย่างไรที่อาจทำให้เกิดโรคแก่ผู้รับประทานบ้าง เช่น ใช้นิ้วแหย่ลงไปในอาหารเวลายกจาน หรือพูดหรือไอลงไปในอาหารเวลานำไปให้ผู้รับประทานอาหาร เป็นต้น ถ้าตรวจพบข้อบกพร่องให้แนะนำแก้ไข

9. ผู้เสริฟอาหาร ต้องตรวจดูว่า คนเสริฟอาหารสะอาดดีเพียงใด รู้วิธีป้องกันดีเพียงใดและต้องดูว่าคนเสริฟอาหารสบายดีหรือเจ็บป่วย

10. การแก้ไขข้อบกพร่อง ผู้ตรวจการสุขาภิบาลต้องแนะนำวิธีการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆแก่เจ้าของร้านเพื่อแก้ไขให้ถูกต้อง และต้องตรวจสอบรว่าได้แก้ไขและปฏิบัติตามคำแนะนำหรือไม่

เอกสารอ้างอิง

1. กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2529. การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคนิคการวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ถนนบำรุงเมือง กรุงเทพฯ.
2. กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. _____. มัลฑาพนตทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสำเร็จ. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรุงเทพมหานคร
3. ผรงค์ ณ เชียงใหม่, อัจฉรา จันไกรผล และคัมภีร์ จิตรใจ. 2529. การศึกษาถึงคุณภาพของเชื้อโคลิฟอร์มในน้ำดื่ม และภาชนะของร้านจำหน่ายอาหารและเครื่องดื่มภายในเขตเทศบาลเมืองหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
4. สาธิรัตน์ กะลัมพะเหติ, กวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล, กาญจนา จันทลองจีน และสุสาหา จาติจวนิช. 2525. การตรวจสอบความสะอาดของอาหาร, เครื่องดื่ม, ภาชนะ จากโรงอาหารคณะต่าง ๆ ของจุฬาฯโดยใช้โคลิฟอร์มแบคทีเรียเป็นตัวบ่งชี้. อาหาร ปีที่ 4 (1) : 40-55
5. พิไลพรรณ พงษ์พูล. 2531. Pathogenic Bacteriology. ภาควิชาสัตวแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน : 26-30, 123, 137-138, 148-150
6. พวงผกา โชติกไกร. 2523. การสำรวจหาจุลินทรีย์ในเครื่องดื่ม ซึ่งผสมผลไม้สดบางชนิด อาหาร 12(3), 219-229
7. ภาควิชาจุลชีววิทยา. 2531. เภสัชจุลชีววิทยา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล : 164-168, 213, 222-229
8. สมพร ศรียศชาติ. 2520. รายงานการวิจัยเรื่องเชื้อโคลิฟอร์มและเชื้อโรคตัวอื่นๆจากอาหารจำหน่ายในเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
9. สุมนทา วัฒนสินธุ์, จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และสัญลักษณ์ ฉิมมณี. 2523. การแพร่กระจายของเชื้อ Staphylococcus aureus ในอาหาร. วารสารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 22(4) : 198-204

10. American Public Health Association. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. American Public Health Association p. 881

11. Bhat, R. Geeta,H. and Kulkarni, P.R.. 1987. Microbial Profile of Cumin Seeds and Chilli Powder sold in Retail Shops in the City of Bombay. Journal of Food Protection 50 (5) : 418-419

12. Cowan, S.T. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Great Britain : 49, 101

13. Farber, J.M., Malcom, S.A., Weiss, K.F., and Johnston, M.A.. 1988. Microbiological quality of fresh and frozen breakfast-type sausages sold in Canada. Journal of Food Protection 51 (5) : 397-401

14. Geeta, H. and Kulkarni, P.R.. 1987. Survey of the Microbiological Quality of Whole, Black Peper and Turmeric Powder sold in Retail Shops in Bombay. Journal of Food Protection 50 (5) : 401-403

15. Joseph M.M. 1988. Vibrio. Food Technology 42:131-132

16. Kvenberg, J.E. and D.L. Archer. 1987. Economic impact of colonization control on foodborne disease. Food Technology 41 : 86-93

ภาคผนวกที่ 1 แสดงตารางค่า MPN สำหรับวิเคราะห์อาหาร

			MPN				MPN
0.1	0.01	0.001		0.1	0.01	0.001	
0	0	0	<3	2	0	0	9.1
0	0	1	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6.1	2	1	1	20
0	1	2	9.2	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6.2	2	2	0	21
0	2	1	9.3	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9.4	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
1	0	0	3.6	3	0	0	23
1	0	1	7.2	3	0	1	39
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	7.3	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120

			MPN				MPN
0.1	0.01	0.001		0.1	0.01	0.001	
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	>1100

ภาคผนวกที่ 2 แสดงตารางค่า MPN สำหรับวิเคราะห์น้ำผลไม้

Combination of Positives	MPN Index / 100 mL	95% Confidence Limits		Combination of Positives	MPN Index / 100 mL	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper			Lower	Upper
0-0-0	< 2	—	—	4-2-0	22	9.0	56
0-0-1	2	1.0	10	4-2-1	26	12	65
0-1-0	2	1.0	10	4-3-0	27	12	67
0-2-0	4	1.0	13	4-3-1	33	15	77
				4-4-0	34	16	80
1-0-0	2	1.0	11	5-0-0	23	9.0	86
1-0-1	4	1.0	15	5-0-1	30	10	110
1-1-0	4	1.0	15	5-0-2	40	20	140
1-1-1	6	2.0	18	5-1-0	30	10	120
1-2-0	6	2.0	18	5-1-1	50	20	150
				5-1-2	60	30	180
2-0-0	4	1.0	17	5-2-0	50	20	170
2-0-1	7	2.0	20	5-2-1	70	30	210
2-1-0	7	2.0	21	5-2-2	90	40	250
2-1-1	9	3.0	24	5-3-0	80	30	250
2-2-0	9	3.0	25	5-3-1	110	40	300
2-3-0	12	5.0	29	5-3-2	140	60	360
3-0-0	8	3.0	24	5-3-3	170	80	410
3-0-1	11	4.0	29	5-4-0	130	50	390
3-1-0	11	4.0	29	5-4-1	170	70	480
3-1-1	14	6.0	35	5-4-2	220	100	580
3-2-0	14	6.0	35	5-4-3	280	120	690
3-2-1	17	7.0	40	5-4-4	350	160	820
4-0-0	13	5.0	38	5-5-0	240	100	940
4-0-1	17	7.0	45	5-5-1	300	100	1300
4-1-0	17	7.0	46	5-5-2	500	200	2000
4-1-1	21	9.0	55	5-5-3	900	300	2900
4-1-2	26	12	63	5-5-4	1600	600	5300
				5-5-5	≥ 1600	—	—

ที่มา: American Public Health Association (1985).

ภาคผนวกที่ 3 แสดงการทดสอบชีวเคมีของ Staphylococcus aureus

(Cowan,S.T., 1974)

Carbohydrates acid from :	
glucose	+
lactose	+
mannitol	+
sucrose	+
VP	+
Coagulase	+

ภาคผนวกที่ 4 แสดงการทดสอบชีวเคมีของ Vibrio parahaemolyticus

(Cowan,S.T., 1974)

Carbohydrates acid from :	
glucose	+
lactose	-
sucrose	-
Indole	+
VP	-
Motility	+
Growth without NaCl	-
Growth in 6% NaCl	+

ภาคผนวกที่ 5 แสดงการทดสอบชีวเคมีของ Vibrio cholerae

(Cowan,S.T., 1974)

Carbohydrates acid from :	
giucose	+
lactose	+
sucrose	+
Indole	+
VP	-
Motility	+
Growth without NaCl	-
Growth in 6% NaCl	-