ภาคผนวก ก

แบบสำรวจร้านอาหารตามข้อกำหนดด้านสุขาภิบาลอาหาร (กรมอนามัย)

ชื่อร้าน..... ชื่อเจ้าของร้าน.....ที่อยู่.....

ข้อกำหนดด้านสุขาภิบาลอาหารสำหรับร้านอาหาร	ข้อกำหนดในการสำรวจ		หมายเหตุ
	ผ่าน	ไม่ผ่าน	
1. สถานที่รับประทาน สถานที่เตรียมปรุง ประกอบอาหาร ต้องสะอาดเป็นระเบียบและจัดเป็นสัดส่วน			
2. ไม่เตรียมปรุงอาหารบนพื้น และบริเวณหน้า หรือในห้องน้ำ ห้องส้วม และต้องเตรียมปรุงอาหารบนโต๊ะที่สูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
3. ใช้สารปรุงแต่งอาหารที่มีความปลอดภัย มีเครื่องหมายรับรองของทางราชการ เช่น เลขทะเบียนตำรับอาหาร (อย.) เครื่องหมายรับรองมาตรฐานของกระทรวงอุตสาหกรรม (มอก.)			
4. อาหารต้องล้างให้สะอาดก่อนนำมาปรุง หรือเก็บ การเก็บอาหารประเภทต่าง ๆ ต้องแยกเก็บเป็นสัดส่วน อาหารประเภทเนื้อสัตว์ดิบเก็บในอุณหภูมิที่ไม่สูงกว่า 7.2 องศาเซลเซียส			
5. อาหารที่ปรุงสำเร็จแล้ว เก็บในภาชนะที่สะอาดมีการปกปิด ใช้ภาชนะอุปกรณ์ที่มีด้ามสำหรับคีบ หรือตักโดยเฉพาะ วางสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
6. น้ำแข็งที่ใช้บริโภคต้องสะอาด เก็บในภาชนะที่สะอาดมีฝาปิด ใช้อุปกรณ์ที่มีด้ามสำหรับคีบ หรือตักโดยเฉพาะ วางสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
7. ล้างภาชนะด้วยน้ำยาล้างภาชนะ แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง หรือล้างด้วยน้ำไหล และที่ล้างภาชนะต้องวางสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
8. เขียงและมีด ต้องมีสภาพดี แยกใช้ระหว่างเนื้อสัตว์สุก เนื้อสัตว์ดิบ และผัก ผลไม้			
9. ช้อน ส้อม ตะเกียบ วางตั้งเอาด้ามขึ้นในภาชนะโปร่งสะอาด หรือวางเป็นระเบียบในภาชนะโปร่งสะอาดและมีการปกปิด เก็บสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
10. มูลฝอย และน้ำเสียทุกชนิด ได้รับการกำจัดด้วยวิธีที่ถูกหลักสุขาภิบาล			
11. ห้องส้วมสำหรับผู้บริโภคและผู้สัมผัสอาหารต้องสะอาด มีอ่างล้างมือที่ใช้การได้ดี และมีสบู่ใช้ตลอดเวลา			
12. ผู้สัมผัสอาหารแต่งกายสะอาด สวมเสื้อมีแขน ผู้ปรุงต้องผูกผ้ากันเปื้อนที่สะอาด สวมหมวกหรือเน็ทคลุมผม			
13. ผู้สัมผัสอาหารต้องล้างมือให้สะอาดก่อนเตรียมปรุง ประกอบ จำหน่ายอาหารทุกครั้ง ใช้อุปกรณ์ในการหยิบจับอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วทุกชนิด			
14. ผู้สัมผัสอาหารที่มีบาดแผลที่มือต้องปิดแผลให้มิดชิด หลีกเลี่ยงการปฏิบัติงานที่มีโอกาสสัมผัสอาหาร			
15. ผู้สัมผัสอาหารที่เจ็บป่วยด้วยโรคที่สามารถติดต่อไปยังผู้บริโภค โดยมีน้ำและอาหารเป็นสื่อ ให้หยุดปฏิบัติงานจนกว่าจะรักษาให้หายขาด			

ภาคผนวก ข

แบบสำรวจร้านอาหารตามข้อกำหนดด้านสุขาภิบาลอาหาร (หลังปรับปรุง)

ชื่อร้าน..... ชื่อเจ้าของร้าน.....ที่อยู่.....

ข้อกำหนดด้านสุขาภิบาลอาหารสำหรับร้านอาหาร	ข้อกำหนดในการสำรวจ		หมายเหตุ
	ผ่าน	ไม่ผ่าน	
1. สถานที่รับประทาน สถานที่เตรียมปรุง ประกอบอาหาร ต้องสะอาดเป็นระเบียบและจัดเป็นสัดส่วน			
2. ไม่เตรียมปรุงอาหารบนพื้น และบริเวณหน้า หรือในห้องน้ำ ห้องส้วม และต้องเตรียมปรุงอาหารบนโต๊ะที่สูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
3. ใช้สารปรุงแต่งอาหารที่มีความปลอดภัย มีเครื่องหมายรับรองของทางราชการ เช่น เลขทะเบียนตำรับอาหาร (อย.) เครื่องหมายรับรองมาตรฐานของกระทรวงอุตสาหกรรม (มอก.)			
4. อาหารต้องล้างให้สะอาดก่อนนำมาปรุง หรือเก็บ การเก็บอาหารประเภทต่าง ๆ ต้องแยกเก็บเป็นสัดส่วน อาหารประเภทเนื้อสัตว์ดิบเก็บในอุณหภูมิที่ไม่สูงกว่า 7.2 องศาเซลเซียส			
5. อาหารที่ปรุงสำเร็จแล้ว เก็บในภาชนะที่สะอาดมีการปกปิด ใช้ภาชนะอุปกรณ์ที่มีด้ามสำหรับคีบ หรือตักโดยเฉพาะ วางสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
6. น้ำแข็งที่ใช้บริโภคต้องสะอาด เก็บในภาชนะที่สะอาดมีฝาปิด ใช้อุปกรณ์ที่มีด้ามสำหรับคีบ หรือตักโดยเฉพาะ วางสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
7. ล้างภาชนะด้วยน้ำยาล้างภาชนะ แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง หรือล้างด้วยน้ำไหล และที่ล้างภาชนะต้องวางสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
8. เขียงและมีด ต้องมีสภาพดี แยกใช้ระหว่างเนื้อสัตว์สุก เนื้อสัตว์ดิบ และผัก ผลไม้			
9. ช้อน ส้อม ตะเกียบ วางตั้งเอาด้ามขึ้นในภาชนะโปร่งสะอาด หรือวางเป็นระเบียบในภาชนะโปร่งสะอาดและมีการปกปิด เก็บสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 ซม.			
10. มูลฝอย และน้ำเสียทุกชนิด ได้รับการกำจัดด้วยวิธีที่ถูกหลักสุขาภิบาล			
11. ห้องส้วมสำหรับผู้บริโภคและผู้สัมผัสอาหารต้องสะอาด มีอ่างล้างมือที่ใช้การได้ดี และมีสบู่ใช้ตลอดเวลา			
12. ผู้สัมผัสอาหารแต่งกายสะอาด สวมเสื้อมีแขน ผู้ปรุงต้องผูกผ้ากันเปื้อนที่สะอาด สวมหมวกหรือเน็ทคลุมผม			
13. ผู้สัมผัสอาหารต้องล้างมือให้สะอาดก่อนเตรียมปรุง ประกอบ จำหน่ายอาหารทุกครั้ง ใช้อุปกรณ์ในการหยิบจับอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วทุกชนิด			
14. ผู้สัมผัสอาหารที่มีบาดแผลที่มือต้องปิดแผลให้มิดชิด หลีกเลี่ยงการปฏิบัติงานที่มีโอกาสสัมผัสอาหาร			

หมายเหตุ ผู้วิจัยยกเลิกข้อ 15 เพราะในการสำรวจโอกาสของข้อมูลที่ได้โดยการสังเกต มีความแม่นยำน้อยมาก นอกจากจะใช้ผลการตรวจร่างกายยืนยัน

ภาคผนวก ค

การตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

การสุ่มตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539)

การสุ่มตัวอย่างอาหารมีความสำคัญในการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาอย่างมาก ในการที่จะให้ผลถูกต้องแน่นอน ในการสุ่มตัวอย่างทำด้วยวิธีปราศจากเชื้อ โดยใช้ภาชนะบรรจุ เครื่องมือ เครื่องใช้ที่ปราศจากเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก นอกจากนี้ตัวอย่างอาหารจะต้องเก็บไว้ในสภาพที่ไม่ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารเพิ่มจำนวนขึ้นหรือตายลงจนกว่าจะได้วิเคราะห์ ซึ่งไม่ควรเกิน 36 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่างอาหาร

การเก็บตัวอย่างอาหาร

1. ภาชนะบรรจุตัวอย่าง

ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างอาหารต้องแห้ง สะอาด ปราศจากเชื้อ ภาชนะที่นิยมใช้ เช่น ขวดแก้ว หรือขวดพลาสติกปากกว้าง กระป๋องโลหะปลอดสนิม ถุงพลาสติก ขนาดความจุไม่น้อยกว่า 200 กรัม

2. ปริมาณตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์

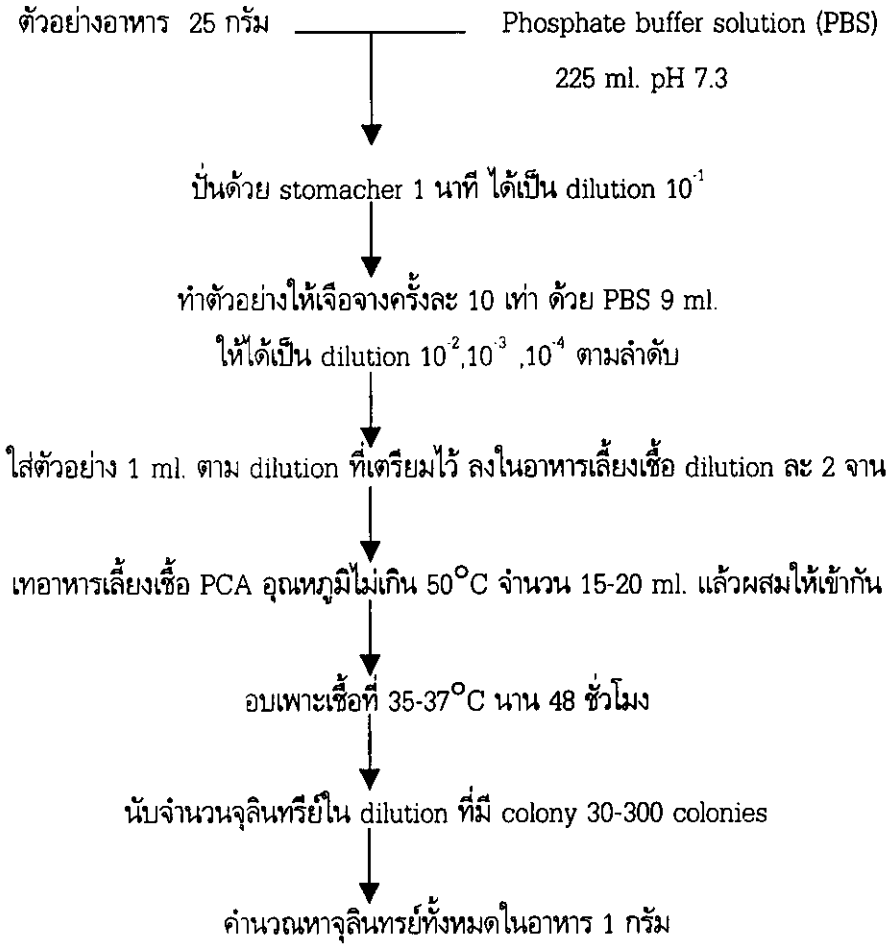
ตัวอย่างที่เก็บแต่ละตัวอย่างต้องมีขนาดประมาณ 200 กรัม ส่วนปริมาณตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (sample unit หรือ analytical unit) ใช้ 25 กรัม (หรือ 50 กรัม)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์

1. สุ่มตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อเติม phosphate buffer solution 225 ml. นำไปตีปั่นโดยใช้ stomacher นาน 1 นาที จะได้ความเข้มข้นเป็น 10^{-1}

2. ทำการเจือจางโดยวิธี Ten-fold dilution เริ่มจากความเข้มข้น 10^{-1} ปิเปตสารละลาย 1 ml. จากตัวอย่างในข้อ 1 ใส่ใน phosphate buffer solution 9 ml. เขย่าให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ความเข้มข้นเป็น 10^{-2} ทำเช่นนี้ไปจนกว่าจะถึงความเข้มข้นที่ต้องการ

ไดอะแกรม 1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacterial Count) ด้วยวิธี standard plate count เทคนิคการ pour plate (US.FDA, 1992)



Media

1. **PlateCount Agar (PCA)**

Composition

Tryptone	5 g.
Glucose	1 g.
Yeast Extract	2.5 g.
Agar	15 g.

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายใน distilled water 1000 ml. ต้มให้เดือด 1 นาที ให้อาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส เก็บใน water bath 50 องศาเซลเซียส

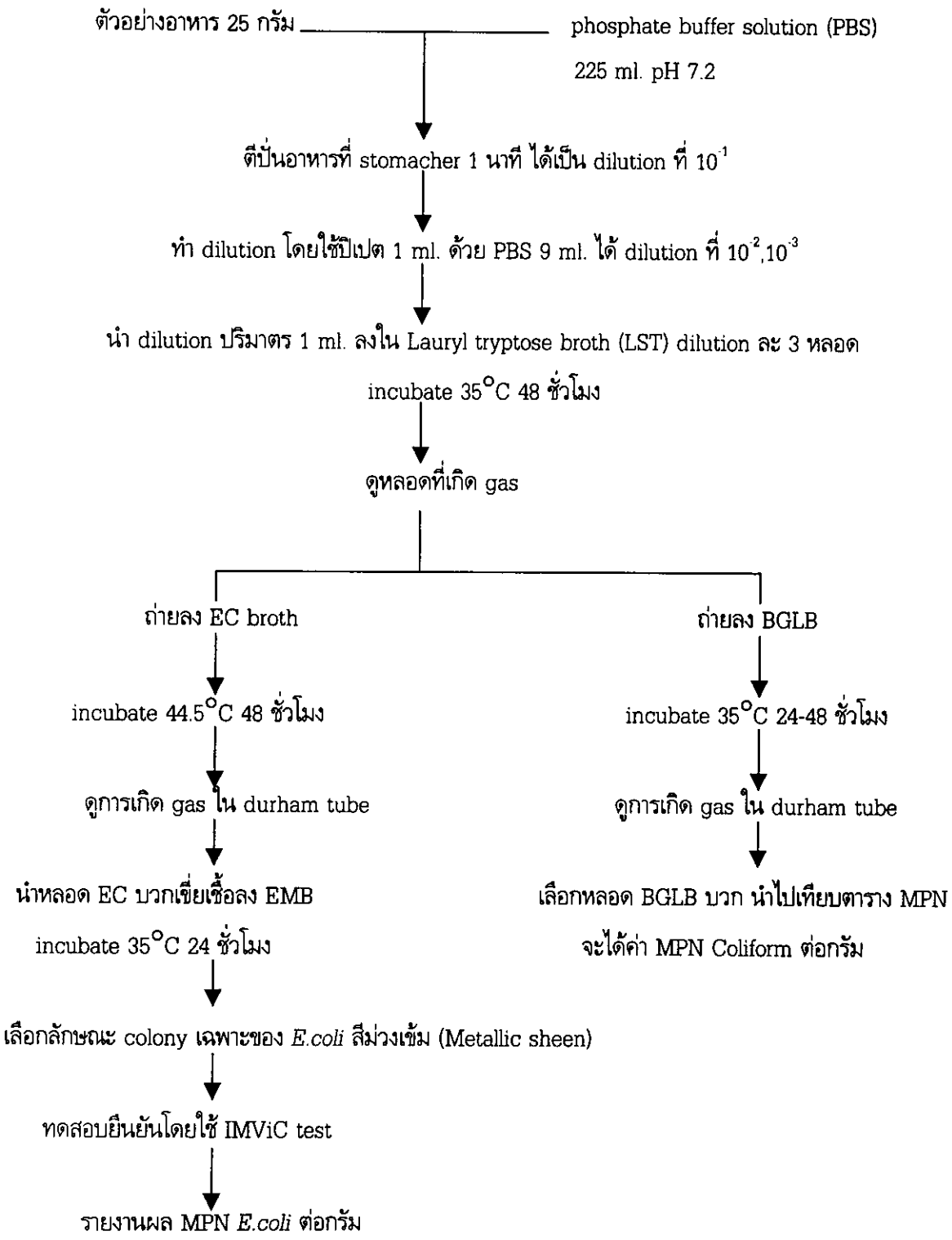
2. **Phosphate buffer solution pH 7.2**

Preparation

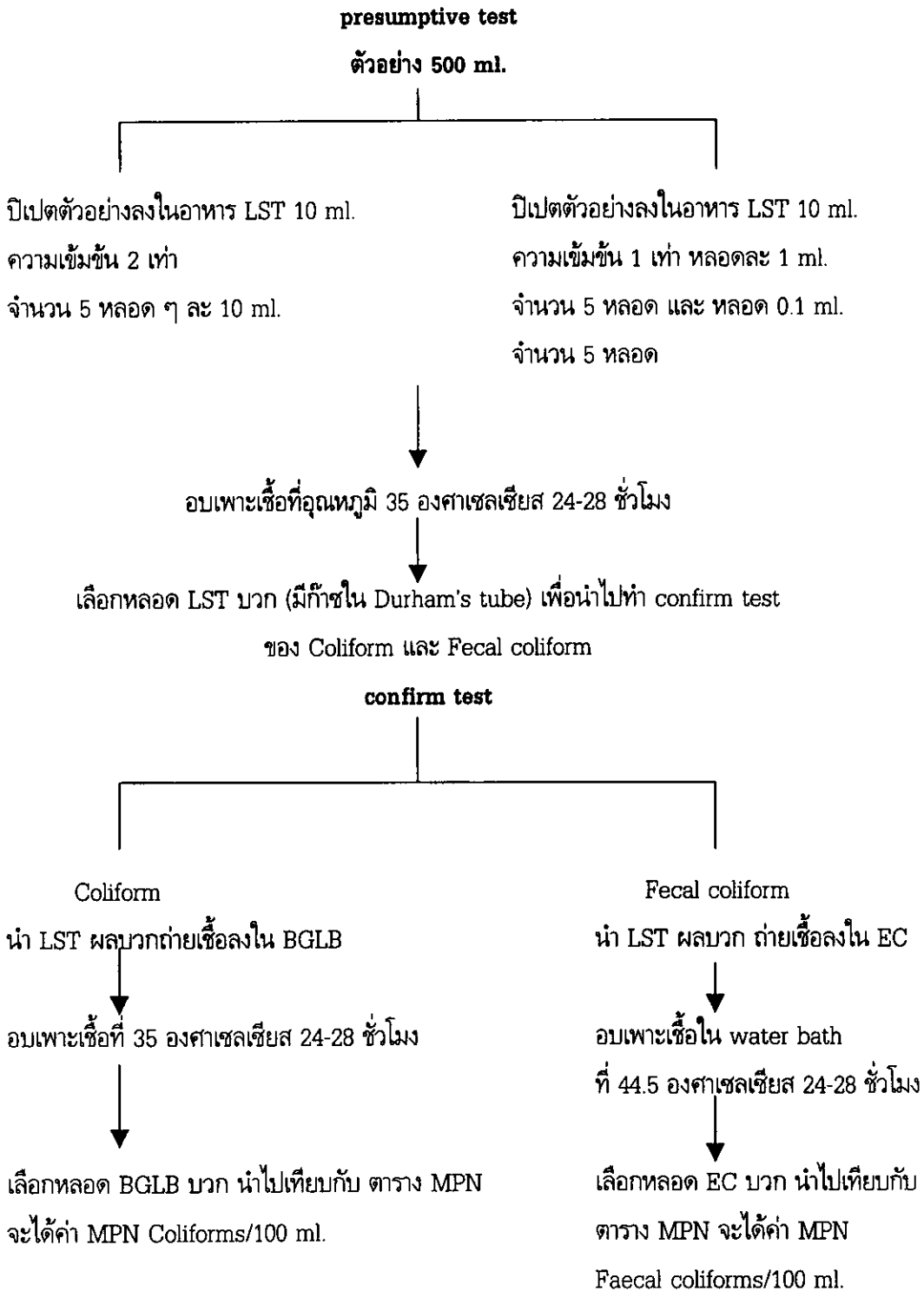
เตรียม stock Phosphate buffer solution โดยละลาย Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 34 g. ใน distilled water 500 ml. ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วย 1N. NaOH แล้วเติม distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วนำมาเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส (หลังออกจาก autoclave วัด pH ให้อยู่ในช่วง 7.0±0.1)

เตรียม Phosphate buffer solution (PBS) จาก stock Phosphate buffer solution มา dilute ในอัตราส่วนดูด stock Phosphate buffer 1.25 ml. ต่อ distilled water 1,000 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

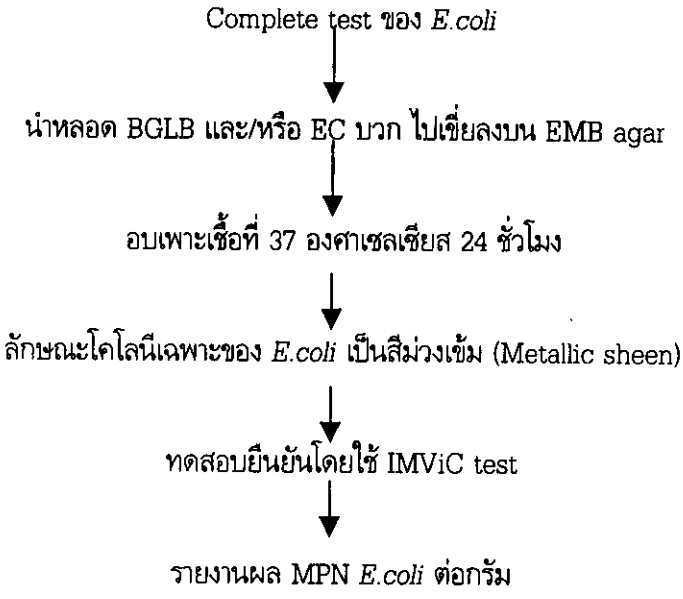
ไดอะแกรม 2 วิธีการตรวจวิเคราะห์หาจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและอีโคไล โดยวิธี MPN (US.FDA, 1992)



ไดอะแกรม 3 วิธีการตรวจวิเคราะห์จำนวโคลิฟอร์มแบคทีเรียและอีโคไล โดยวิธี MPN ในน้ำดื่ม (APHA,AWWA and WEF, 1998)



ไดอะแกรม 3 (ต่อ)



วิธีการตรวจสอบทางชีวเคมี (IMViC test) (US.FDA, 1992)

IMViC

I	=	Indole test
M	=	Methyl red test (MR test)
V	=	Voges-proskauer test (VP test)
C	=	Citrate test

Indole test

เป็นการทดสอบว่า แบคทีเรียสามารถเปลี่ยน tryptophan เป็น indole ได้หรือไม่ tryptophan เป็น amino acid ที่มีอยู่ใน peptone หรือ casein

วิธีการทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปใน 1% tryptone broth
2. incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. หยด Kovac's reagent ลงไป 0.2-0.3 ml.
4. เขย่าหลอดทดลองเบา ๆ 2-3 ครั้ง
5. สังเกตการเปลี่ยนสีที่ผิวของ medium

การแปลผล

ผลบวก	มีสีแดงที่ผิวของ medium (red ring)
ผลลบ	สีเหมือน Kovac's reagent คือสีเหลือง

Methyl red test

เป็นการทดสอบว่า แบคทีเรียสามารถสร้างกรดจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี glucose ได้มากหรือน้อย โดยดูผลจาก pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่า 4.2 จึงเปลี่ยนสี indicator ของ methyl red เป็นสีแดงได้

วิธีการทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงใน MR-VP broth
2. incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. หยด methyl red ลงไป 5 หยด/5 ml. broth
4. สังเกตการเปลี่ยนสีของ medium ทันทีหลังจากหยด indicator

การแปลผล

ผลบวก medium เปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ medium มีสีเหลือง

Voges-proskauer test

เป็นการทดสอบว่า แบคทีเรียสามารถสร้างสาร acethyl methyl carbinol จาก glucose ได้หรือไม่

วิธีการทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบลงใน MR-VP broth (2.5 ml.)
2. incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. หยด 5% naphthol ลงไป 5 หยด เขย่า (0.6 ml.)
4. หยด 40% KOH ลงไป 2 หยด (0.2 ml.)
5. เขย่าให้เข้ากันดีทิ้งไว้ 10-15 นาที
6. สังเกตการเปลี่ยนของ medium

การแปลผล

ผลบวก medium สีแดง ภายใน 5 นาที

ผลลบ medium สีเหลือง

Citrate test

เป็นการทดสอบดูว่า แบคทีเรียสามารถใช้ citrate เพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) ได้หรือไม่ ถ้าแบคทีเรียสามารถใช้เพียงอย่างเดียวได้จะเจริญและให้ alkaline product เกิดขึ้นซึ่งเป็นผลให้ indicator ใน medium ซึ่งได้แก่ bromthymol blue เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

วิธีทดสอบ

1. inoculate เชื้อที่ต้องการทดสอบโดยการ steak บนผิว Simmon's citrate agar
2. incubate ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง
3. สังเกตการเปลี่ยนสีของ medium และการเติบโตของแบคทีเรีย

การแปลผล

ผลบวก มีแบคทีเรียขึ้น และ medium เปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน

ผลลบ ไม่มีแบคทีเรียขึ้น และ medium ไม่เปลี่ยนสี (สีเขียว)

ปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่ทดสอบ *E.coli*

การทดสอบ	Indole	Methyl red	Voges-proskauer	Citrate
Biotype 1	+	+	-	-
Biotype 2	-	+	-	-

Media

1. Lauryl tryptose broth (LST)

Composition

Tryptose	20	g.
Lactose	5	g.
Sodium chloride	5	g.
Sodium lauryl sulfate	0.1	g.
Di-potassium hydrogen phosphate	2.75	g.
Distilled water	1	liter

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water นำไปใส่หลอดทดลองที่มี durham tube อยู่ภายในหลอดละ 10 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. Brilliant green lactose bile broth 2% (BGLB 2%)

Composition

Peptone	10	g.
Oxgall	20	g.
Lactose	10	g.
Brilliant green	0.0133	g.

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water นำไปใส่หลอดทดลองที่มี durham tube อยู่ภายในหลอดละ 10 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

3. EC Medium

Composition

Tryptose	20 g.
Lactose	5 g.
Bile Salts	1.5 g.
Dipotassium phosphate	4 g.
Monopotassium phosphate	1.5 g.
NaCl	5 g.
Distilled water	1 liter

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water นำไปใส่หลอดทดลองที่มี durham tube อยู่ภายในหลอดละ 10 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

4. EMB Agar (Eosin methylene blue agar)

Composition

Peptone	10 g.
Lactose	5 g.
Sucrose	5 g.
Dipotassium phosphate	2 g.
Agar	13.5 g.
Eosin Y	0.4 g.
Methylene blue	0.065 g.

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water ต้มให้เดือด 1 นาที ให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที รอให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ใน water bath 50 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีจึงเทลง plate จานละประมาณ 20 ml. รอให้อาหารแข็งตัวและเย็นลง

5. Tryptone

Composition

Tryptone	10 g.
Distilled water	1 liter

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water นำไปใส่หลอดทดลอง หลอดละประมาณ 3 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

6. Simmon Citrate Agar

Composition

Magnesium sulfate	0.2 g.
Ammonium Dihydrogen phosphate	1 g.
Dipotassium phosphate	1 g.
Sodium citrate	2 g.
Sodium Chloride	5 g.
Agar	15 g.
Brom Thymol Blue	0.08 g.

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water นำไปใส่หลอดทดลอง หลอดละประมาณ 3 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

7. MR-VP Broth

Composition

Peptone from meat	7 g.
Glucose	5 g.
Phosphate buffer	5 g.
Distilled water	1 liter

Preparation

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลายด้วย distilled water นำไปใส่หลอดทดลอง หลอดละประมาณ 3 ml. นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

Reagents

1. **5% -naphthol solution (in ethanol)**

Composition

α - naphthol	5 g.
Ethyl alcohol (absolute)	100 ml.

Preparation

ละลาย α - naphthol ด้วย Ethyl alcohol ให้ปริมาตรรวมเป็น 100 ml.

2. **40% KOH (Potassium hydroxide)**

Composition

KOH	40 g.
Distilled water	100 ml.

Preparation

ละลาย Potassium hydroxide ด้วย distilled water ให้ปริมาตรรวมเป็น 100 ml.

3. **Methyl red indicator solution**

Composition

Methyl red	0.1 g.
Alcohol (95%)	250 g.
Distilled water	250 ml.

Preparation

ละลาย Methyl red ด้วย alcohol ก่อน แล้วจึงค่อยเติม distilled water ลงไปผสมให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองก่อนนำไปใช้

4. Kovacs' reagent

Composition

P-Dimethylaminobenzaldehyde	5 g.
Amyl alcohol (normal only)	75 ml.
HCL (concentrated)	25 ml.

Preparation

ละลาย P-Dimethylaminobenzaldehyde ใน normal amyl alcohol แล้วเติม conc.HCL เก็บใน ตู้เย็น ใช้ 0.2-0.3 ml. หยดใน tryotone broth

การตรวจภาชนะอาหารแบบ Swab test

การทำ Swab test เป็นการตรวจภาชนะใส่อาหารทางแบคทีเรีย เพื่อดูว่าภาชนะนั้นสะอาดเพียงใด เพราะถ้าภาชนะสกปรกจะทำให้อาหารที่จะบรรจุในภาชนะนั้นสกปรกไปด้วย และถ้าในภาชนะนั้นมีพวกแบคทีเรียมาก ๆ ก็อาจจะมีพวกที่มีโทษหรือเชื้อโรคปะปนอยู่ด้วยก็ได้ เราจึงจำเป็นต้องตรวจความสะอาดของภาชนะ เพื่อจะได้ทราบว่าภาชนะนั้นมีมาตรฐานทางแบคทีเรียอยู่ในเกณฑ์ใช้ได้หรือไม่ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2540)

การเก็บตัวอย่าง

1. ในสถานที่หนึ่ง ๆ ควรเก็บตัวอย่างหลาย ๆ ชนิด เช่น จาน ช้อน แก้ว ฯลฯ
2. เลือกภาชนะสำหรับตรวจ 5 ชิ้นต่อภาชนะ 1 อย่าง เช่น จาน 5 ใบ หรือแก้ว 5 ใบ เป็นต้น
3. ระมัดระวังอย่าให้เกิดการสกปรกโดยการจับต้อง

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer)

1. Stock buffer solution ละลาย Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 34.0 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ml. แล้วปรับ pH ให้ได้ 7.2 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร
2. Working buffer solution ใช้ Stock buffer solution 1.25 ml. เจือจางให้เป็น 1 ลิตร ด้วย น้ำกลั่น
3. ใส่ working buffer solution จำนวน 5 ml. ลงใน test tube แล้วปิดด้วยจุกหรือสำลีนำไป sterile ใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทำนองเดียวกันให้เตรียมไม้ swab และ sterile ด้วย

การ swab ภาชนะที่ต้องการตรวจ

1. ใช้ไม้ swab 1 อันต่อภาชนะที่ตรวจ 1 ชนิด (5 ชิ้น)
2. เปิดจุกน้ำยา buffer แล้วเผาปลายหลอดด้วยไฟอัลกอฮอล์ เสร็จแล้วใช้ไม้ swab จุ่มลงไปบิดให้น้ำยาแห้งพอหมาด ๆ กับข้าง tube
3. เอาไม้ swab ทำการกวาดผิวหน้าของภาชนะ พื้นที่ในการกวาดนั้นเท่ากับ 4 ตารางนิ้ว ให้กวาดช้า ๆ ไปมา 3 ครั้ง
4. เมื่อกวาดภาชนะอันหนึ่งเสร็จแล้ว ให้เอาไม้ swab จุ่มลงไปในน้ำยา buffer เดิมแล้วบีบเอาสิ่งสกปรกออก โดยวิธีกดไม้ swab กับผิวแก้วด้านในของ test tube
5. ทำการกวาดภาชนะชิ้นต่อไปตามวิธีในข้อ 3 ข้อ 4 จนครบทั้ง 5 ชิ้น แล้วจุ่มไม้ swab ลงไปในน้ำยา buffer และหักไม้ swab ส่วนที่มือจับทิ้งด้วย ปิดจุกให้แน่นและเรียบร้อย
6. ถ้าจะ swab ภาชนะชนิดใหม่ก็ให้ใช้น้ำยา buffer หลอดใหม่และไม้ swab อันใหม่
7. ถ้าต้องส่ง sample ไปไกล ๆ ให้แช่น้ำแข็งเอาไว้และควรส่งตรวจภายใน 4 ชั่วโมง

การตรวจในห้องปฏิบัติการ

1. เขย่าน้ำยา buffer แรง ๆ นาน 2 นาที หรือประมาณ 25 ครั้ง หรือจะใช้ เครื่องเขย่าอัตโนมัติก็ได้ (stomacher)
2. บิดไม้ swab ให้แห้งกับข้าง tube ให้แห้งมากที่สุดเท่าที่จะทำได้ แล้วเอาน้ำยา buffer นั้น 1 ml. เทลงไปใน sterile petri dish (buffer อาจนำไปทำการเจือจางก่อนก็ได้)
3. เท plate ด้วย Plate Count Agar (PCA) หรือ Tryptone glucose extract agar ที่เหลว ๆ (อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส) ประมาณ 10 ml. แล้วหมุน plate ไปช้า ๆ ประมาณ 10 รอบ
4. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง ใน incubator โดยคว่ำ plate ลงด้วยเพื่อป้องกันไอน้ำเกาะฝาปิดจะได้สะดวกเมื่อเวลาอ่านผล

หลังจาก incubate แล้วให้นับจำนวนโคโลนีของ แบคทีเรียทั้งหมด ซึ่งค่าที่อ่านได้จะเป็นจำนวนแบคทีเรียต่อภาชนะนั้น เช่น ถ้าจากจานที่เรา swab มานับโคโลนีได้ 70 โคโลนี แสดงว่า จานนั้นมีแบคทีเรีย = 70 ตัว (โคโลนี)

หมายเหตุ บริเวณที่ควรทำการ swab ภาชนะคือ บริเวณที่สัมผัสอาหาร เช่น จานหรือชาม ก็ควร swab ด้านในของจานหรือชามนั้น พวกแก้วน้ำควร swab พื้นผิวประมาณครึ่งนิ้วจากขอบแก้วด้านบนทั้งข้างในและข้างนอกแก้ว เป็นต้น

ภาคผนวก ง

Table 1. MPN index and 95% confidence limits when 5 tubes are used

(APHA, AWWA and WEF, 1998)

Combination of positive	MPN	Combination of positive	MPN
0-0-0	< 2	4-3-0	27
0-0-1	2	4-3-1	33
0-1-0	2	4-4-0	34
0-2-0	4	5-0-0	23
1-0-0	2	5-0-1	30
1-0-1	4	5-0-2	40
1-1-0	4	5-1-0	30
1-1-1	6	5-1-1	50
1-2-0	6	5-1-2	60
2-0-0	4	5-2-0	50
2-0-1	7	5-2-1	70
2-1-0	7	5-2-2	90
2-1-1	9	5-3-0	80
2-2-0	9	5-3-1	80
2-3-0	12	5-3-2	140
3-0-0	8	5-3-3	170
3-0-1	11	5-4-0	130
3-1-0	11	5-4-1	170
3-1-1	14	5-4-2	220
3-2-0	14	5-4-3	280
3-2-1	17	5-4-4	350
4-0-0	13	5-5-0	240
4-0-1	17	5-5-1	300
4-1-0	17	5-5-2	500
4-1-1	21	5-5-3	900
4-1-2	26	5-5-4	1,600
4-2-0	22	5-5-5	> 1,600
4-2-1	26		

Table 2. For 3 tubes each at 0.1, 0.01 and 0.001 g inocula, the MPN per gram and 95% confidence intervals. (USFDA, 1992)

Combination of positive	MPN	Combination of positive	MPN
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
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	1,000
1-3-3	29	3-3-3	> 1,100

ภาคผนวก จ

การตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาภาคสนามด้วยชุดทดสอบ SI-2 (นพพรรณ นันทพงษ์, 2537)

1. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างภาคสนาม

1.1 ขวดแก้วขนาดประมาณ 15 ml. บรรจุสารละลาย Sl-2 ปริมาณ 5 ml. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

1.2 ไม้พันสำลี ห่อกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

1.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์

1.4 ปากคีบ

1.5 กรรไกร

1.6 ช้อนชา

1.7 แอลกอฮอล์ 70%

2. เทคนิคการเก็บตัวอย่างอาหารและสวอปภาชนะอุปกรณ์ภาคสนาม

ในการตรวจสอบแบคทีเรียในอาหาร และภาชนะอุปกรณ์ วิธีการเก็บตัวอย่าง นับเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่สัมพันธ์กับความถูกต้องของผลการตรวจวิเคราะห์ ถ้าการเก็บตัวอย่างอาหารกระทำอย่างไม่ถูกวิธี อาจมีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียภายนอก ก็จะทำให้การอ่านและแปรผลผิดพลาดได้ ดังนั้น ในการเก็บตัวอย่างอาหาร หรือการสวอปภาชนะอุปกรณ์ จึงควรระมัดระวังการปนเปื้อนจากแบคทีเรียภายนอก ซึ่งเกิดได้จากสาเหตุ เช่น จากมือผู้ปฏิบัติงานซึ่งควรล้างมือให้สะอาดก่อนปฏิบัติงาน จากอุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างซึ่งควรทำให้ปราศจากเชื้อก่อนนำมาใช้งานโดยการผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 1.5 ชั่วโมง หรือจากวิธีการปฏิบัติของผู้ตรวจวิเคราะห์ เช่น การวางอุปกรณ์ต่าง ๆ โดยไม่ระมัดระวัง เป็นต้น สำหรับเทคนิคการเก็บตัวอย่างในภาคสนามนี้ เป็นวิธีการที่ดัดแปลงให้สะดวก เหมาะสมกับการทำงานในท้องที่ ซึ่งอาจแตกต่างจากการเก็บตัวอย่าง เพื่อนำส่งตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการบ้างเล็กน้อย ในเรื่องของปริมาณตัวอย่างที่เก็บและการเก็บรักษาเชื้อจาก การสวอป โดยมีวิธีการเก็บตัวอย่างและอุปกรณ์ที่ใช้ ดังนี้

2.1 การสวอปภาชนะอุปกรณ์

2.1.1 ใช้ไม้พันสำลี 1 อัน ต่อชุดทดสอบ 1 ชุด และต่อภาชนะอุปกรณ์ 5 ชิ้น ต่อ 1 ประเภท

2.1.2 ฉีกห่อกระดาษไม้พันสำลีทางด้านที่เป็นไม้ แล้วนำไม้พันสำลีจุ่มลงในขวดแก้วที่มีสารละลาย Sl-2 ปิดไม้เพื่อให้สำลีแห้งพอหมาด ๆ กับข้างขวดแก้ว

2.1.3 นำไม้พันสำลีมาป้ายผิวภาชนะอุปกรณ์ที่จะตรวจ โดยป้ายพร้อมหมุนไม้ไปช้า ๆ 4 ตารางนิ้ว (2 x 2 นิ้ว) ป้ายซ้ำจุดเดิม 3 ครั้ง

2.1.4 เมื่อป้ายผิวภาชนะครบ 3 ครั้งแล้ว นำไม้พันสำลีมาจุ่มในขวดน้ำยาแล้วหมุนไม้หลาย ๆ ครั้ง แล้วปิดให้แห้งพอหมาด ๆ กับข้างหลอด จึงนำไปป้ายอุปกรณ์ชิ้นต่อไป

2.1.5 ทำเช่นนี้จนครบ 5 ชิ้น แล้วหักไม้สวอป โดยดึงไม้ให้โผล่ขึ้นมาจากปากหลอดประมาณครึ่งหนึ่งแล้วหักไม้กับปากขวดแก้ว ปล่อยให้ส่วนที่มีสำลีอยู่ในขวดน้ำยาแล้วปิดฝาหลอดทันที

หมายเหตุ

1) ทุกครั้งที่มีการเปิด-ปิด ฝาขวดน้ำยา ควรลนไฟที่ปากขวด เพื่อฆ่าเชื้อโรคทุกครั้ง

2) วิธีการสวอปมือและภาชนะอุปกรณ์ต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

มือ โดยสวอปนิ้วจากปลายนิ้วถึงข้อที่ 2 นอกจากหัวแม่มือให้สวอปถึง ข้อที่ 1

ภาชนะอุปกรณ์

แก้วน้ำ ถ้วย สวอปครึ่งนิ้วจากขอบบนทั้งภายนอกและภายใน

ก) จาน ชาม ถ้วยขนม สวอปพื้นผิวที่สัมผัสอาหารประมาณ 4 ตารางนิ้ว

ข) ช้อน ส้อม สวอปที่ตัวช้อน ส้อม ทั้งภายนอกและภายในที่สัมผัสอาหาร

ค) ตะเกียบ สวอปตะเกียบ 1 นิ้วครึ่ง รอบปลายซึ่งสัมผัสอาหาร

ง) เขียง สวอปด้านที่ใช้งาน

2.2 วิธีการเก็บตัวอย่างอาหาร

2.2.1 เปิดฝาขวดบรรจุสารละลาย SI-2 แล้วนำไปลนตะเกียงเพื่อฆ่าเชื้อโรค

2.2.2 เก็บตัวอย่าง

ก) กรณีที่เป็นอาหารเหลว ใช้ช้อนซาที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ชุบแอลกอฮอล์แล้วลนไฟตะเกียง) ตักอาหารประมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดน้ำยา

ข) กรณีที่เป็นอาหารแห้ง ใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบชิ้นอาหารใส่ลงขวดน้ำยาประมาณ 1 กรัม ถ้าอาหารชิ้นใหญ่ ให้ใช้กรรไกรที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดชิ้นอาหารให้มีขนาดตามต้องการ

ค) เอาขวดทดสอบลนไฟตะเกียงที่ปากขวดแล้วปิดฝา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องอ่านผลที่ 17 ชั่วโมง

3. การอ่านผลการทดสอบ

3.1 ถ้าสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ภายใน 17 ชั่วโมง แสดงว่า มีเชื้อโคลิฟอร์ม ให้รายงานผลเป็นบวก (+, positive)

3.2 ถ้าสารละลายยังคงมีสีม่วงแดง (หรือจางลงเล็กน้อย) แสดงว่า ตัวอย่างนั้นไม่มีเชื้อโคลิฟอร์ม ให้รายงานผลเป็นลบ (-, negative)

ภาคผนวก ฉ

ตารางผนวก 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และอีโคไล ในอาหาร และน้ำดื่ม เมื่อเปรียบเทียบเกณฑ์มาตรฐาน ของร้านอาหารที่สมัครเข้าร่วมโครงการ Clean Food Good Taste และได้รับป้ายสัญลักษณ์ เทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

ร้านที่	ผลการวิเคราะห์อาหาร			ผลการวิเคราะห์น้ำดื่ม		สรุปผลการวิเคราะห์อาหารและน้ำดื่ม
	TBC	MPN Coliform	MPN *E.coli*	MPN Coliform	MPN *E.coli*	
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
1	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
2	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
3	4/0	3/1	2/2	0/1	0/1	2/3
4	4/0	4/0	4/0	0/1	0/1	4/1
5	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
6	4/0	3/1	3/1	0/1	1/0	2/3
7	4/0	2/2	4/0	1/0	1/0	3/2
8	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
9	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
10	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
11	4/0	3/1	4/0	0/1	1/0	3/2
12	4/0	4/0	3/1	1/0	1/0	4/1
13*	2/0	2/0	2/0	0/1	1/0	2/1
14	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
15	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
16	4/0	4/0	4/0	0/1	0/1	4/1
17	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
18	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
19	4/0	4/0	4/0	0/1	0/1	4/1
20	4/0	2/2	3/1	1/0	1/0	3/2
21	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
22	4/0	3/1	4/0	0/1	1/0	3/2
23	4/0	4/0	3/1	1/0	1/0	4/1
24	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
25	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
26	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

ร้านที่	ผลการวิเคราะห์อาหาร			ผลการวิเคราะห์น้ำดื่ม		สรุปผลการวิเคราะห์อาหารและน้ำดื่ม
	TBC	MPN Coliform	MPN *E.coli*	MPN Coliform	MPN *E.coli*	
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
27	4/0	3/1	3/1	1/0	1/0	3/2
28	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
29	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
30	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
31	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
32	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
33*	3/0	3/0	2/1	0/1	1/0	2/2
34	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
35	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
36	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
37	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
38	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
39	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
40	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
41	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
42	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
43	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
44	4/0	1/3	1/3	1/0	1/0	2/3
45	4/0	4/0	3/1	0/1	0/1	3/2
46	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
47*	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	1/1
48	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
49	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
50	4/0	4/0	4/0	1/0	1/0	5/0
51	4/0	4/0	4/0	0/1	1/0	4/1
52	4/0	4/0	4/0	0/1	0/1	4/1
รวม	202/0	190/12	190/12	19/33	45/7	202/52
ร้อยละ	100.00	94.06/5.94	94.06/5.94	36.54/63.46	86.54/13.46	79.53/20.47

หมายเหตุ * เป็นร้านอาหารที่เก็บตัวอย่างไม่ครบทั้ง 10 ตัวอย่าง เนื่องจากมีอาหารจำหน่ายเพียง 1-3 ประเภท (จำนวน 3 ร้าน)

ตารางผนวก 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในภาชนะอุปกรณ์ และมือผู้สัมผัสอาหาร เมื่อเปรียบเทียบเกณฑ์มาตรฐาน ของร้านอาหารที่สมัครเข้าร่วมโครงการ Clean Food Good Taste และได้รับป้ายสัญลักษณ์ เทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

ร้านที่	ผลการวิเคราะห์ TBC			ผลการวิเคราะห์มือผู้สัมผัสอาหาร		สรุปผลการวิเคราะห์ภาชนะอุปกรณ์และมือผู้สัมผัสอาหาร
	จาน	ช้อน	แก้ว	มือผู้ปรุง	มือผู้เสริฟ์	
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
1	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
2	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
3	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	2/3
4	1/0	0/1	1/0	0/1	0/1	2/3
5	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
6	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4
7	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4
8	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	2/3
9	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
10	0/1	1/0	0/1	0/1	0/1	1/4
11	0/1	1/0	0/1	0/1	0/1	1/4
12	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
13	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4
14	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
15	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
16	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
17	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
18	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
19	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	2/3
20	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
21	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4
22	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
23	0/1	1/0	0/1	0/1	0/1	1/4
24	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
25	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
26	0/1	1/0	0/1	0/1	0/1	1/4
27	0/1	0/1	1/0	0/1	0/1	1/4

ตารางผนวก 2 (ต่อ)

ร้านที่	ผลการวิเคราะห์ TBC			ผลการวิเคราะห์มือผู้สัมผัสอาหาร		สรุปผลการวิเคราะห์ภาชนะอุปกรณ์และมือผู้สัมผัสอาหาร
	จาน	ช้อน	แก้ว	มือผู้ปรุง	มือผู้เสริฟ์	
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
28	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
29	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
30	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4
31	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	2/3
32	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/4
33	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	2/3
34	0/1	1/0	0/1	0/1	0/1	1/4
35	1/0	0/1	0/1	1/0	0/1	2/3
36	1/0	0/1	1/0	0/1	0/1	2/3
37	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
38	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	2/3
39	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
40	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
41	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
42	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
43	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
44	1/0	0/1	1/0	0/1	0/1	2/3
45	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	3/2
46	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
47	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/5
48	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
49	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
50	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	3/2
51	1/0	0/1	1/0	1/0	0/1	3/2
52	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	2/3
รวม	32/20	27/25	20/32	2/50	1/51	82/178
ร้อยละ	61.54/38.46	51.92/48.08	38.46/61.54	3.85/96.15	1.92/98.08	31.54/68.46

ตารางผนวก 3 จำนวนและร้อยละของผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในอาหารและน้ำดื่ม ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในภาชนะอุปกรณ์ และมือผู้สัมผัสอาหาร รวม 10 ตัวอย่าง/ร้าน ที่ผ่านและไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ของร้านอาหารที่สมัครเข้าร่วมโครงการ Clean Food Good Taste และได้รับป้ายสัญลักษณ์ เทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

ร้านที่	สรุปผลการวิเคราะห์ อาหารและน้ำดื่ม	สรุปผลการวิเคราะห์ ภาชนะอุปกรณ์และมือผู้สัมผัสอาหาร	รวม
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
1	4/1	3/2	7/3
2	4/1	3/2	7/3
3	2/3	2/3	4/6
4	4/1	2/3	6/4
5	5/0	0/5	5/5
6	2/3	1/4	3/7
7	3/2	1/4	4/6
8	5/0	2/3	7/3
9	5/0	3/2	8/2
10	4/1	1/4	5/5
11	3/2	1/4	4/6
12	4/1	3/2	7/3
13*	2/1	1/4	3/5
14	4/1	0/5	4/6
15	5/0	0/5	5/5
16	4/1	0/5	4/6
17	5/0	0/5	5/5
18	4/1	0/5	4/6
19	4/1	2/3	6/4
20	3/2	0/5	3/7
21	4/1	1/4	5/5
22	3/2	0/5	3/7
23	4/1	1/4	5/5
24	4/1	0/5	4/6
25	4/1	0/5	4/6
26	4/1	1/4	5/5
27	3/2	1/4	4/6

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ร้านที่	สรุปผลการวิเคราะห์อาหารและน้ำดื่ม	สรุปผลการวิเคราะห์ภาชนะอุปกรณ์และมือผู้สัมผัสอาหาร	รวม
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
28	4/1	3/2	7/3
29	5/0	3/2	8/2
30	5/0	1/4	6/4
31	4/1	2/3	6/4
32	4/1	1/4	5/5
33*	2/2	2/3	4/5
34	5/0	1/4	6/4
35	4/1	2/3	6/4
36	5/0	2/3	7/3
37	5/0	3/2	8/2
38	4/1	2/3	6/4
39	4/1	3/2	7/3
40	5/0	0/5	5/5
41	4/1	0/5	4/6
42	4/1	3/2	7/3
43	5/0	3/2	8/2
44	2/3	2/3	4/6
45	3/2	3/2	6/4
46	4/1	3/2	7/3
47*	1/1	0/5	1/6
48	4/1	3/2	7/3
49	4/1	3/2	7/3
50	5/0	3/2	8/2
51	4/1	3/2	7/3
52	4/1	2/3	6/4
รวม	202/52	82/178	284/230
ร้อยละ	79.53/20.47	31.54/68.46	55.25/44.75

หมายเหตุ * เป็นร้านอาหารที่เก็บตัวอย่างไม่ครบทั้ง 10 ตัวอย่าง เนื่องจากมีอาหารจำหน่ายเพียง 1-3 ประเภท (จำนวน 3 ร้าน)

ตารางผนวก 4 ผลการวิเคราะห์ภาคสนาม ด้วยชุดทดสอบ SI-2 ในอาหารและน้ำดื่ม ภาชนะอุปกรณ์ และมือผู้สัมผัสอาหาร ของร้านอาหารที่สมัครเข้าร่วมโครงการ Clean Food Good Taste และได้รับป้ายสัญลักษณ์ เทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

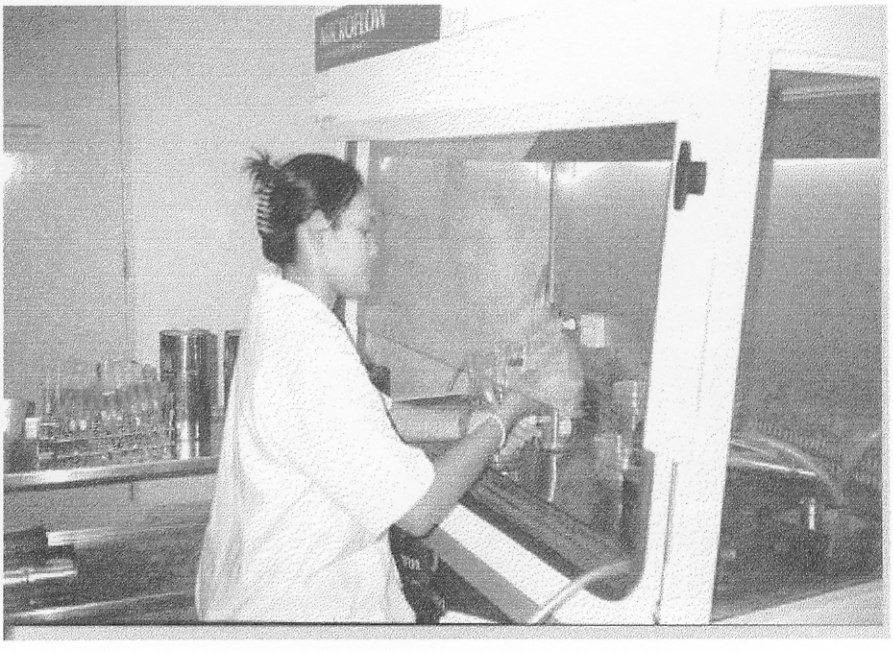
ร้านที่	อาหาร	น้ำดื่ม	จาน	ช้อน	แก้ว	มือผู้ปรุง	มือผู้เสริฟ์	รวม
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
1	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	8/2
2	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	7/3
3	3/1	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	4/6
4	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	8/2
5	4/0	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	5/5
6	3/1	0/1	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	6/4
7	2/2	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	0/1	5/5
8	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	9/1
9	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0
10	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	9/1
11	3/1	0/1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	8/2
12	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	9/1
13	2/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	6/2
14	4/0	1/0	1/0	0/1	1/0	1/0	1/0	9/1
15	4/0	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	1/0	6/4
16	4/0	1/0	0/1	0/1	1/0	0/1	0/1	6/4
17	4/0	1/0	0/1	1/0	0/1	0/1	0/1	6/4
18	4/0	1/0	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	5/5
19	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0
20	3/1	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	6/4
21	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	7/3
22	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	8/2
23	3/1	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	7/3
24	4/0	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	1/0	8/2
25	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	1/0	1/0	8/2
26	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	7/3
27	4/0	1/0	1/0	0/1	1/0	0/1	1/0	8/2
28	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	9/1
29	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0

ตารางผนวก 4 (ต่อ)

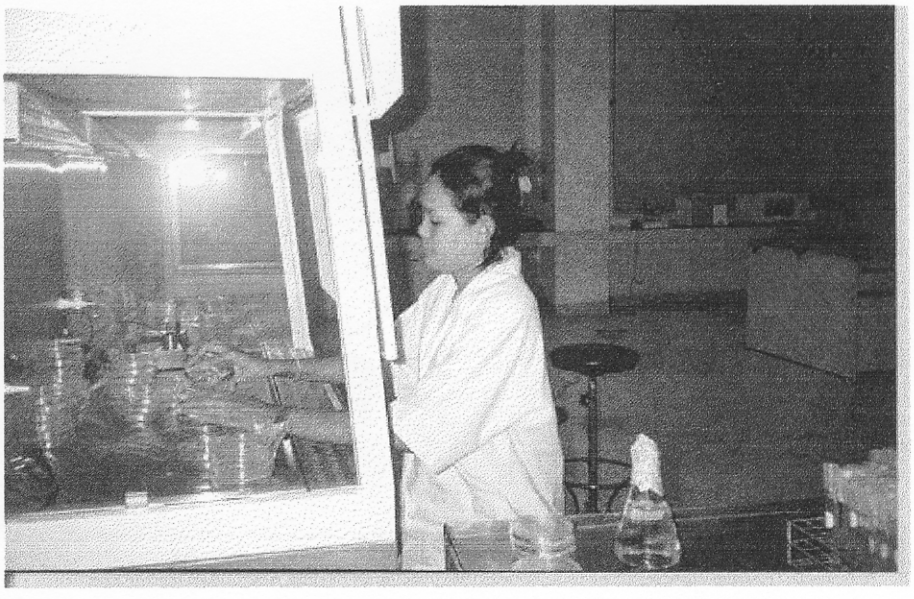
ร้านที่	อาหาร	น้ำดื่ม	จาน	ช้อน	แก้ว	มือผู้ปรุง	มือผู้เสริฟ์	รวม
	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน	ผ่าน/ไม่ผ่าน
30	4/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	1/0	9/1
31	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	7/3
32	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	0/1	6/4
33	2/1	0/1	1/0	1/0	0/1	1/0	0/1	5/4
34	4/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	0/1	8/2
35	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	1/0	1/0	8/2
36	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	9/1
37	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0
38	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	1/0	1/0	8/2
39	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	8/2
40	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	8/2
41	4/0	0/1	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	6/4
42	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	9/1
43	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	9/1
44	3/1	1/0	1/0	1/0	1/0	0/1	0/1	7/3
45	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	0/1	1/0	7/3
46	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	0/1	1/0	8/2
47	1/0	0/1	0/1	0/1	1/0	0/1	1/0	3/4
48	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0
49	4/0	0/1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	9/1
50	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0
51	4/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	10/0
52	4/0	0/1	1/0	1/0	0/1	1/0	1/0	8/2
รวม	193/9	30/22	45/7	43/9	33/19	22/30	33/19	399/115
ร้อยละ	95.54/4.46	57.70/42.30	86.54/13.46	82.70/17.30	63.46/36.54	42.31/57.69	63.46/36.54	77.63/22.37

ภาคผนวก ช

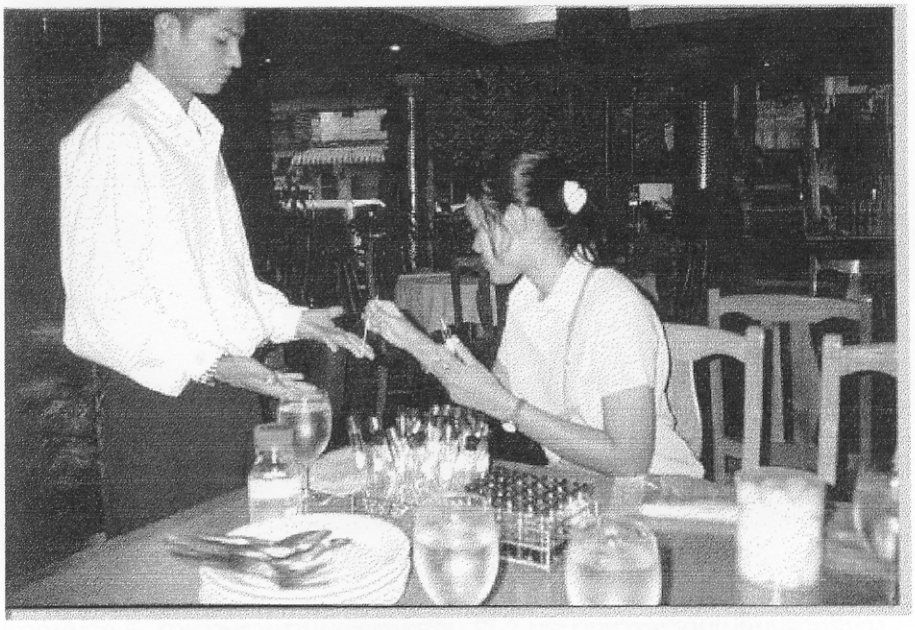
ภาพประกอบการวิจัย



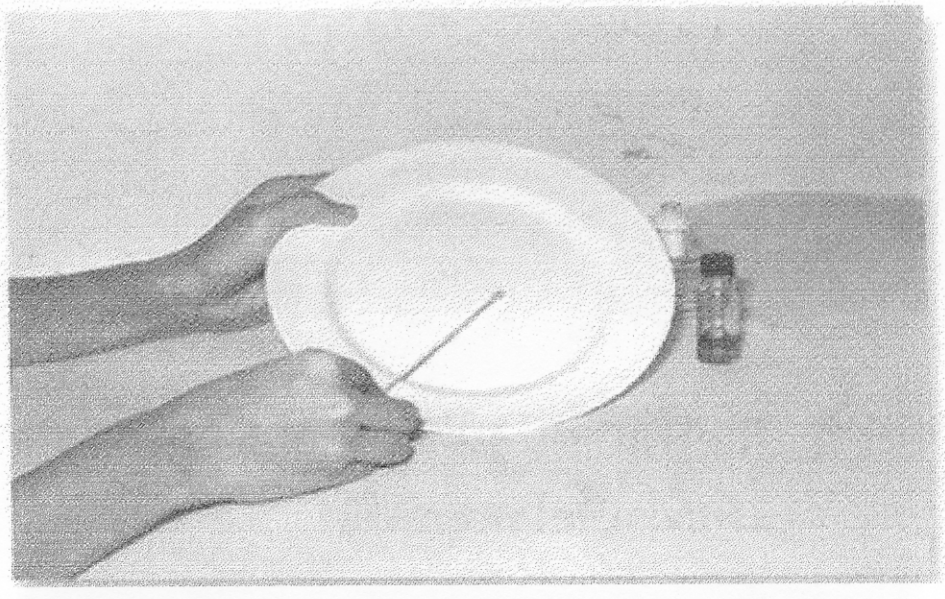
ภาพประกอบภาคผนวก 1 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์



ภาพประกอบภาคผนวก 2 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (pour plate) ในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์



ภาพประกอบภาคผนวก 3 การ swab มือผู้สัมผัสอาหาร (ผู้เสิร์ฟ)

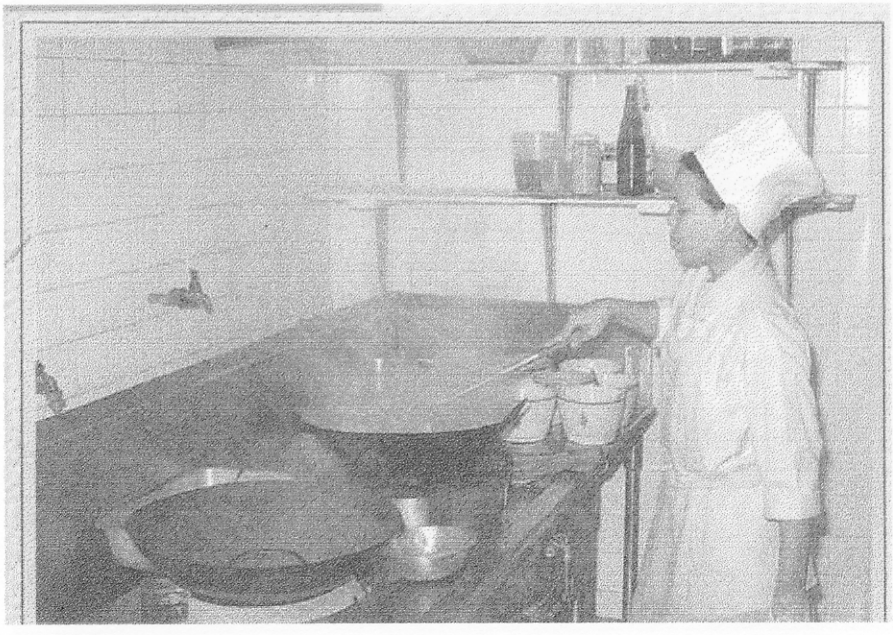


ภาพประกอบภาคผนวก 4 การ swab จาน

ภาพประกอบภาคผนวก 5 การอ่านรายงานผลชุดทดสอบ SI-2 ผลบวกสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

ภาพประกอบภาคผนวก 6 สถานที่รับประทานอาหารที่ถูกสุขลักษณะ

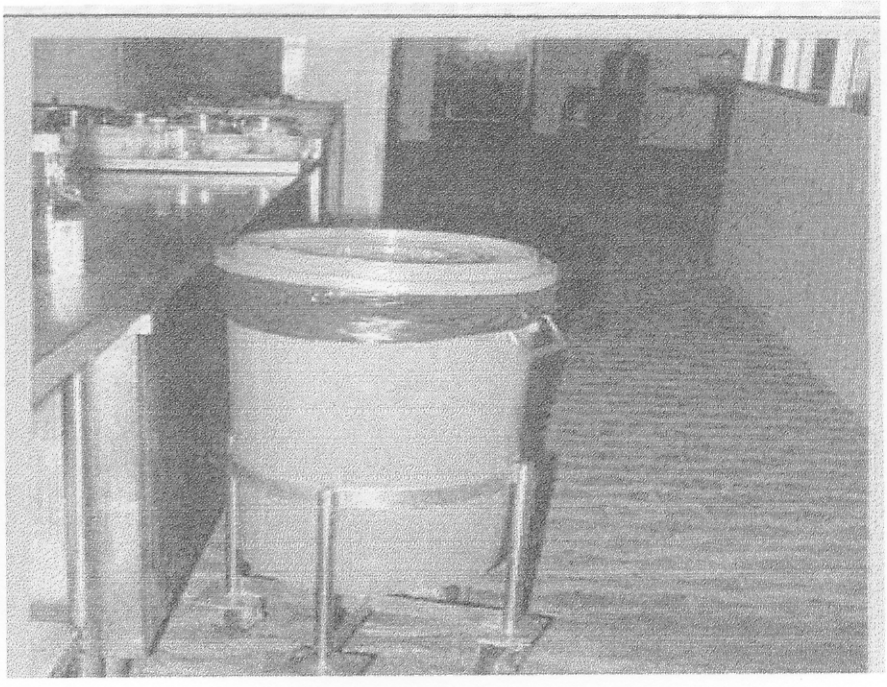
ภาพประกอบภาคผนวก 7 ร้านอาหารที่สะอาด เป็นระเบียบ



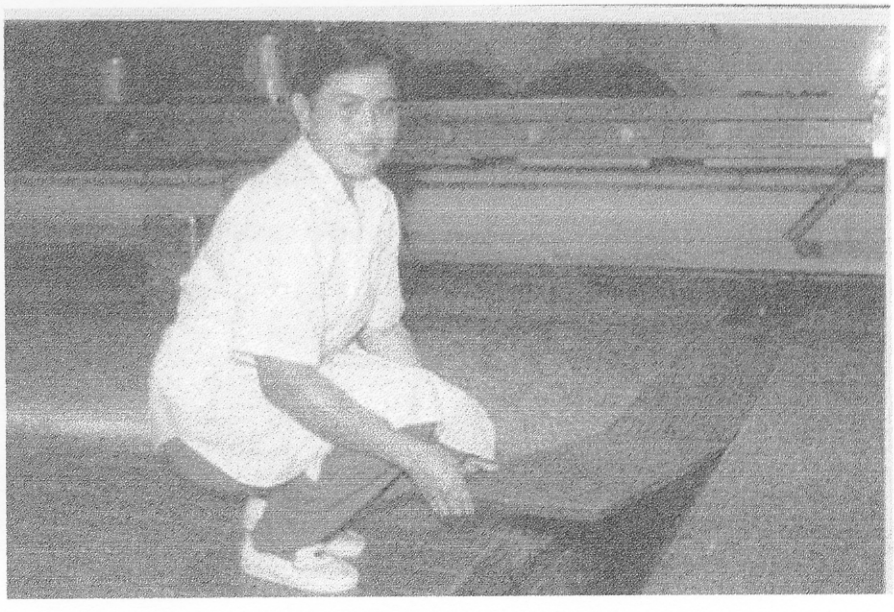
ภาพประกอบภาคผนวก 8 สถานที่ปรุงที่ถูกหลักสุขาภิบาลอาหาร

ภาพประกอบภาคผนวก 9 การเสริฟน้ำแข็งที่ถูกหลักสุขาภิบาลอาหาร

ภาพประกอบภาคผนวก 10 การล้างภาชนะที่ถูกหลักสุขาภิบาลอาหาร



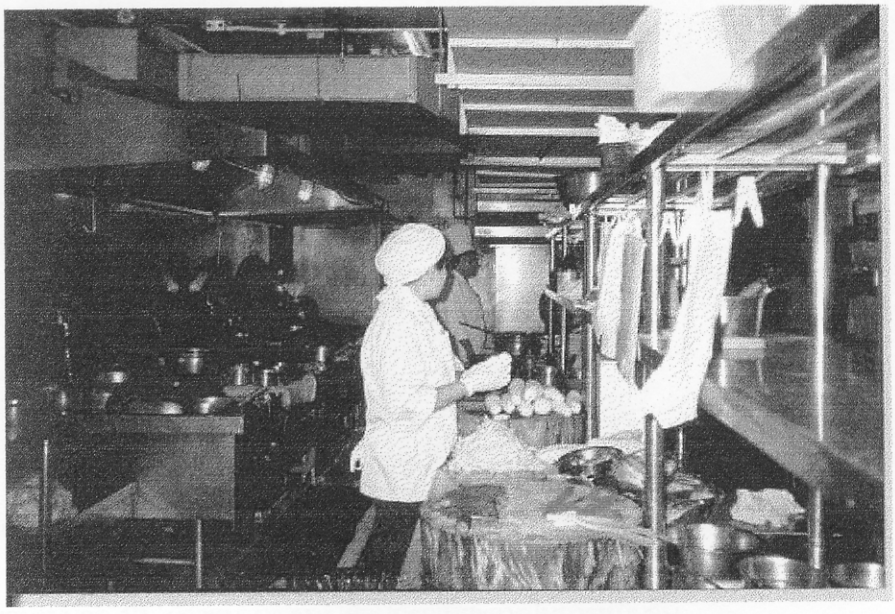
ภาพประกอบภาคผนวก 11 ถังขยะที่ไม่รั่วซึม และมีฝาปิด



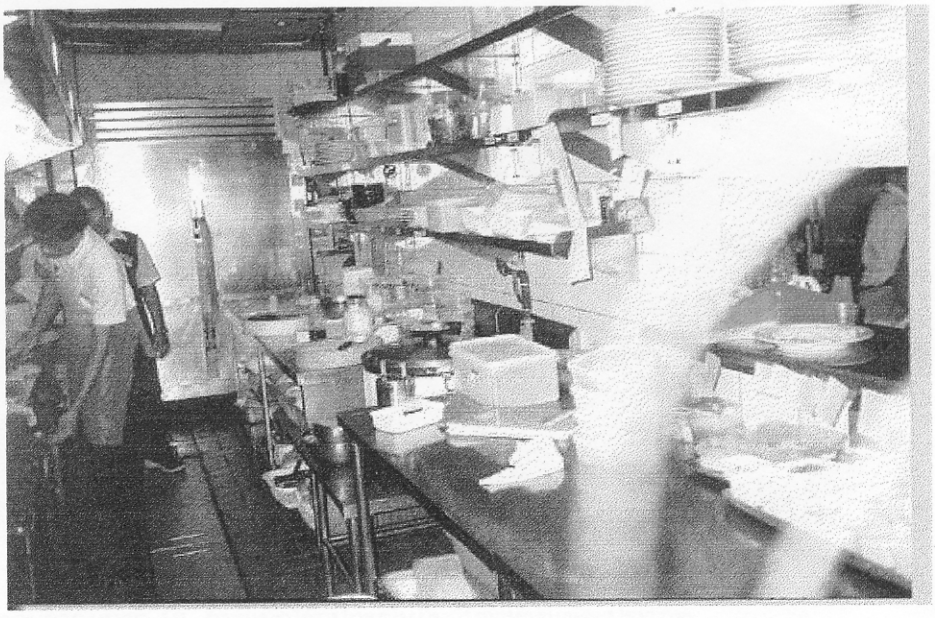
ภาพประกอบภาคผนวก 12 การระบายน้ำเสียจากห้องครัวที่ถูกหลักสุขาภิบาล

ภาพประกอบภาคผนวก 13 ผู้เสริฟ์ แต่งกายไม่สุภาพ สวมเสื้อไม่มีแขน

ภาพประกอบภาคผนวก 14 การแต่งกายที่ถูกสุขลักษณะของผู้ปรุง-ผู้เสริฟ์

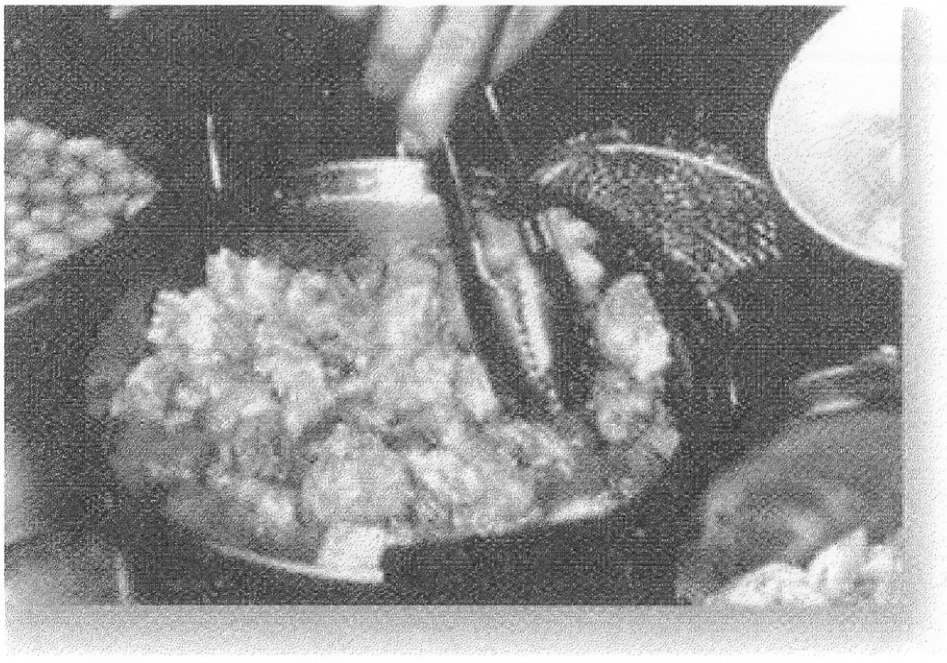


ภาพประกอบภาคผนวก 15 การวางของไม่เป็นระเบียบในสถานที่เตรียม

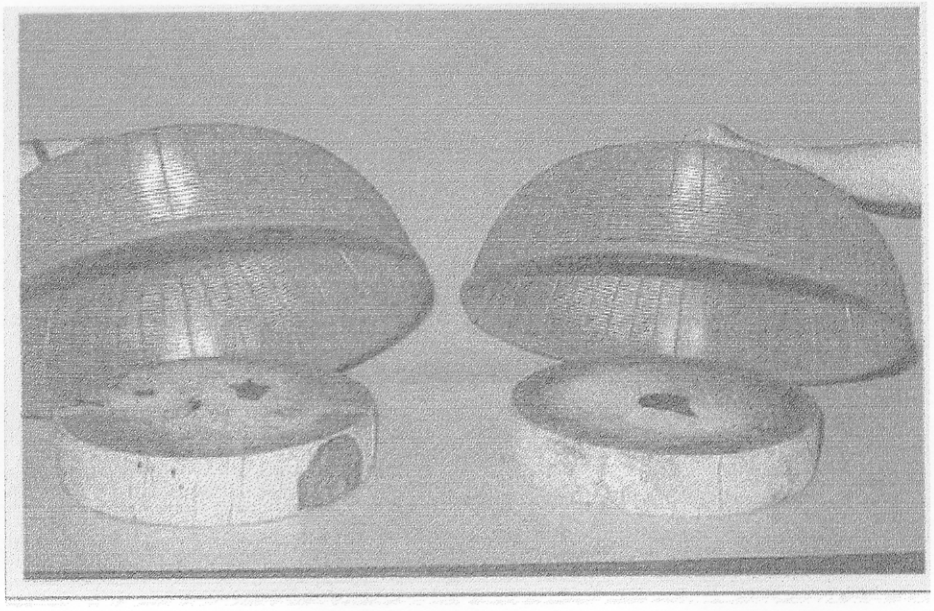


ภาพประกอบภาคผนวก 16 การวางภาชนะ อุปกรณ์ ไม่เป็นระเบียบ

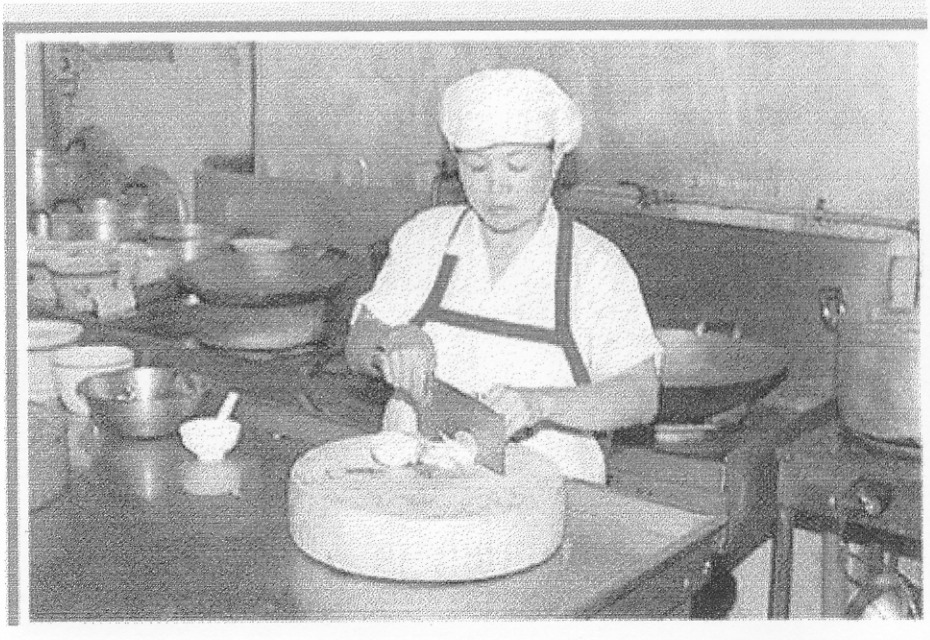
ภาพประกอบภาคผนวก 17 ผู้จำหน่ายอาหารใช้อุปกรณ์ที่สะอาดในการหยิบจับ



ภาพประกอบภาคผนวก 18 การแยกใช้อุปกรณ์หยิบจับอาหารแต่ละประเภท

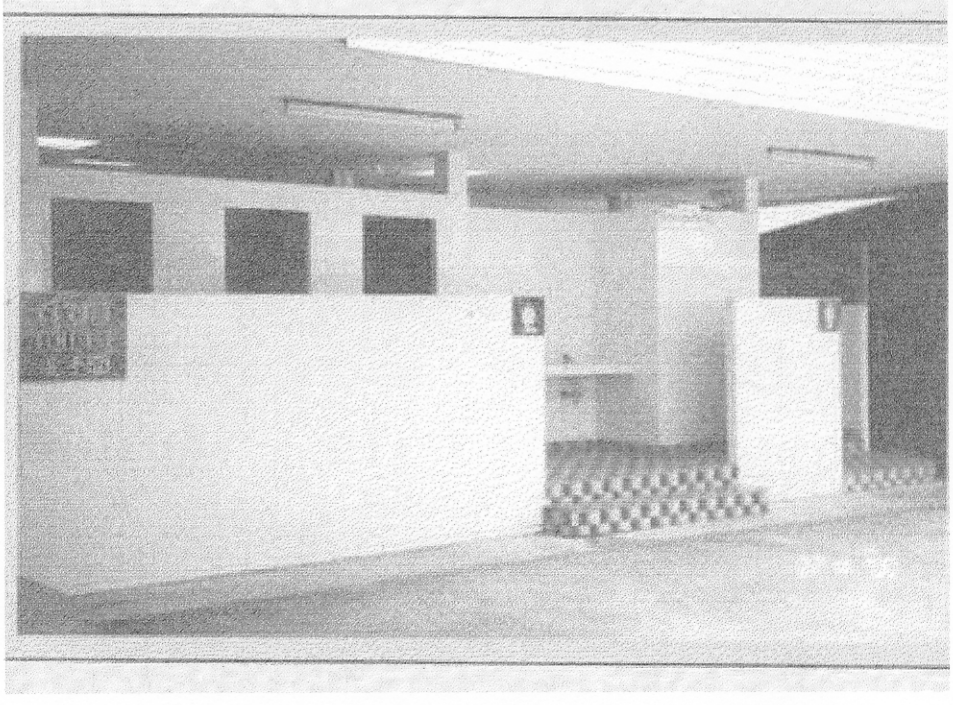


ภาพประกอบภาคผนวก 19 ลักษณะเขียง ที่สะอาด มีสภาพดี ไม่แตกร้าว



ภาพประกอบภาคผนวก 20 การใช้เขียง แยกใช้ระหว่างอาหารแต่ละประเภท

ภาพประกอบภาคผนวก 21 การเก็บภาชนะ อุปกรณ์ที่ถูกหลักสุขาภิบาลอาหาร



ภาพประกอบภาคผนวก 22 ห้องส้วมที่ถูกสุขลักษณะ