

ตรวจเอกสาร

1. เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำ

สุพรรณิ (2547) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้สุขภาพลักษณะของน้ำหรือบ่งชี้สุขภาพิบาลอาหาร (Indicator Microorganisms) ได้แก่

1.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count / Standard Plate Count)

เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในอาหารและน้ำ ซึ่งจะปรากฏเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่าโคโลนี (Colony) บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมวุ้น (Agar Media) ที่ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์ โดยหน่วยของจุลินทรีย์เรียกว่า Colony Forming Unit (CFU) การตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดนี้สามารถใช้บอกได้ถึงคุณภาพทางจุลชีววิทยาของแหล่งน้ำ การจัดการ รวมถึงสุขภาพลักษณะของขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการผลิต

1.2 โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliforms Bacteria)

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่จัดอยู่ในวงศ์เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี (Enterobacteriaceae) ลักษณะรูปร่างเป็นท่อน ดิสเกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน มีคุณสมบัติเฉพาะที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสแล้วให้กรดและก๊าซภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสโคลิฟอร์มแบ่งตามแหล่งที่มาได้เป็น 2 กลุ่มคือ

1.2.1 ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal Coliform)

เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม ที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสแล้วให้กรดและก๊าซ ที่อุณหภูมิประมาณ 44.5-45.5 องศาเซลเซียสได้ พวกนี้อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ขั้บถ่ายออกมากับอุจจาระเมื่อเกิดการระบาดของโรคระบบทางเดินอาหาร ตัวอย่างของฟีคัลโคลิฟอร์ม ได้แก่ *E. coli*

1.2.2 นอนฟีคัลโคลิฟอร์ม (Non-Fecal Coliform)

พวกนี้อาศัยอยู่ในดิน และพืช มีอันตรายน้อยกว่าพวกแรก ใช้บ่งบอกถึงความไม่สะอาดของน้ำได้ ตัวอย่างของนอนฟีคัลโคลิฟอร์ม ได้แก่ เอนเทอโรโรเบคเตอร์ แอโรจีเนส (*Enterobacter aerogenes*)

แบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มมักถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้สุขภาพลักษณะในแหล่งน้ำ อาหารรวมถึงกระบวนการผลิตเนื่องจากพบได้ในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต และสามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมภายนอก เช่น ดิน และแหล่งน้ำได้ดี ซึ่งถ้าพบในอาหารหรือน้ำก็แสดงถึงโอกาสของการปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่ายของสิ่งมีชีวิต ส่วนฟีคัลโคลิฟอร์มมักถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้โอกาสของ

การปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์เนื่องจากพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบทั่วไป โดยแบคทีเรียที่สำคัญและถูกกำหนดให้เป็นตัวบ่งชี้อยู่เสมอๆ ได้แก่ *E. coli* ซึ่งถ้าพบในอาหารหรือน้ำก็แสดงให้เห็นถึงโอกาสการปนเปื้อนจากอุจจาระของมนุษย์ โดยเกิดจากการขาดการควบคุมระบบสุขลักษณะที่ดีหรือกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกต้อง โดยการบ่งชี้ดังกล่าว นอกจากจะบอกถึงความสะอาดแล้วยังบอกถึงอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่พบในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella* spp., *Shigella* spp. และ *Vibrio* spp. เป็นต้น นอกจากนี้ *E. coli* บางสายพันธุ์ยังถูกจัดไว้ในกลุ่มที่ให้ความรุนแรงในการก่อโรค (*Enterovirulence E. coli*) ซึ่งก่อให้เกิดโรกระบบทางเดินอาหารที่สำคัญอีกด้วย

2. เชื้อ *Salmonella* spp.

เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อและการระบาดที่สำคัญ โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้จัดได้ว่าเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่สามารถพบได้ทั่วโลก โดยเชื้อ *Salmonella* spp. เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการท้องเสียทั่วไปทั้งในคนและสัตว์สามารถตรวจพบเชื้อได้ในอุจจาระของผู้ป่วยโดยการติดเชื้อจะเป็นในลักษณะของการกินอาหารที่ไม่ผ่านการปรุงให้สุกหรืออาหารและน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ดังนั้นการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อไปสู่อาหารและสิ่งแวดล้อมจึงถือได้ว่ามีมีความสำคัญอย่างมาก (จิราพร, 2549)

เชื้อ *Salmonella* spp. จัดได้ว่าเป็นเชื้อโรคที่พบได้ทุกหนทุกแห่งและทั่วโลกโดยเข้ามามีบทบาทไม่เฉพาะแต่ในคนและสัตว์เลี้ยงของคนเท่านั้นหากยังพบได้ในสัตว์ต่างๆ ไปเช่น สัตว์เลื้อยคลานนกและแมลงต่างๆ เป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่กลุ่มหนึ่งในสกุล *Enterobacteriaceae* ซึ่งมีชื่อเรียกเดิมว่า *Paratyphoid bacteria* ส่วนชื่อสกุลตั้งให้เป็นเกียรติ D.E. Salmon นักแบคทีเรียชาวอเมริกันซึ่งได้ร่วมกับ Theobald Smith แยกเชื้อนี้จากสุกรที่ป่วยเป็นโรคอหิวาต์เชื้อที่แยกได้คือ *Salmonella Choleraesuis* ในค.ศ. 1885 และในปีค.ศ. 1888 Gartner แยกเชื้อ *Salmonella Enteritidis* ได้จากม้ามของผู้ป่วยที่ตายด้วยโรคอาหารเป็นพิษระบาดในประเทศเยอรมัน ปีค.ศ. 1892 Löffler แยกเชื้อ *Salmonella Typhimurium* ได้จากโรคคล้ายไทฟอยด์ในหนูขาวต่อมาการพัฒนาคำว่ารู้เกี่ยวกับเชื้อนี้มีมากจนกระทั่ง Schottmüller สามารถแยกถึงความแตกต่างระหว่าง *Salmonella* spp. *Paratyphi A* และ *Salmonella Paratyphi B* ได้ในปี 1990 การค้นพบ *Salmonella* spp. สายพันธุ์ใหม่ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยและสัตว์ด้วยโรคต่างๆ มีมากขึ้นทำให้เกิดความยุ่งยากในการตั้งชื่อสายพันธุ์ใหม่ๆ เหล่านี้ซึ่งในปีค.ศ. 1926 Kauffmann, Edwards และ Ewing ได้ร่วมกันจัดทำหนังสือ Kauffmann – White Schema ขึ้นเพื่อใช้แยกลักษณะทางแอนติเจนของ *Salmonella* spp. การตั้งชื่อ *Salmonella* spp. ได้

กำหนดเป็นมาตรฐานตามข้อตกลงระหว่างชาติ โดยเห็นพ้องต้องกันใช้ชื่อนี้และเริ่มชื่อนี้ทั่วไปตั้งแต่ปี ค.ศ. 1955 เป็นต้นมา(จิราพร, 2549)

2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Salmonella* spp.

เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนไม่สร้างสปอร์มีความกว้าง 0.7-1.5 ไมโครเมตรยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตรเจริญได้ดีในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างแคปซูลเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) ดังแสดงในแผนภาพยกเว้น *S. enterica* serovar Pullorum, *S. enterica* serovar Gallinarum และบางสายพันธุ์ที่ไม่มีแฟลกเจลลาเช่น *S. enterica* serovar Paratyphi A, *S. enterica* serovar Choleraesuis) สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์สร้างกรดและก๊าซจากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสอุณหภูมิที่เจริญได้คือ 37-45 องศาเซลเซียสเจริญได้ดีที่สุดที่ 42 องศาเซลเซียสสามารถทนต่อความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำได้ดีแม้ในสถานะแช่แข็งซึ่งเชื้อจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตไว้เท่านั้นและสามารถเพิ่มจำนวนได้ใหม่เมื่อนำมาไว้ในอุณหภูมิห้องแต่เชื้อจะไม่ทนความร้อนโดยพบว่าถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมงที่ 60 องศาเซลเซียสนาน 15-20 นาทีหรือ 62 องศาเซลเซียสนาน 4 นาที ยกเว้น *S. enterica* serovar Senftenberg ที่ทนความร้อนได้ดีกว่าซีโรวาร์อื่นๆ 10-20 เท่าโดยต้องให้ความร้อนถึง 62 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมงจึงสามารถทำลายเชื้อได้(จิราพร, 2549)



ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างเชื้อ *S. enterica* serovar Enteritidis เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

ที่มา:จิราพร(2549)

2.2 จุลชีววิทยาของ *Salmonella* spp.

*Salmonella*spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งสั้น ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างแคปซูล มีขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร อยู่ในสกุล Enterobacteriaceae เช่นเดียวกับ เชื้อ *E.coli* สมาชิกในสกุลนี้เจริญเติบโตในสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ เคลื่อนที่ได้โดยอาศัย flagella รอบตัวยกเว้น *Salmonella Pullorum*และ *Salmonella Gallinarum*สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์และสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้เป็นจำนวนมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 มิลลิเมตร ขอบเรียบ ผิวมัน ไม่มีสี และสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ ไปโคโลนีจะมีลักษณะกว้าง หนา สีเทาปนขาว ขึ้นค่อนข้างกลม และเป็นเมือก ส่วนความโปร่งแสงและขนาดจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์(อรุณ, 2546)

ตารางที่ 1 สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญของเชื้อ*Salmonella*spp.

Biochemical test	Reaction
Glucose	+
Lactose	-
Sucrose	-
Catalase reaction	+
Oxidase reaction	-
Nitrite reduction	+
Lysine decarboxylase	+
Arginine dehydrolase	+ w / 0 H ₂ S
Ornithine dehydrolase	+ w / 0 H ₂ S
Indole	-
Citrate	+/-
MR	+
VP	-
Phenylalanine	-
Urease	-
Gelatin	-
G+C (mole% of DNA)	50-53

ที่มา :อรุณ (2546)

จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Salmonella* spp. สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิดที่เลือกเฉพาะแกรมลบ ซึ่งใช้เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนมากไม่ใช้น้ำตาลโมเลกุลคู่โดยผ่านกระบวนการหมัก เช่น แลคโตส ซูโครส รวมทั้งซาลิซิน แต่สามารถหมักน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคส และให้ก๊าซ แม้ว่า *Salmonella* spp. ส่วนมากต้องการกรดอะมิโนเป็นแหล่งธาตุไนโตรเจน(สุมณฑา, 2545)

2.3 การจำแนกชนิดของเชื้อ

เชื้อ *Salmonella* spp. ทั้งหมดถูกจำแนกออกเป็น 2 species คือ *Salmonella enteric* และ *Salmonella bongori* แต่ละ species จำแนกออกเป็นอีกหลาย Subspecies เชื้อ *Salmonella* spp. กว่า 2,000 ซีโรวาร์ถูกจัดอยู่ใน species *Salmonella enteric* ซึ่งจำแนกออกเป็น 5 กลุ่ม หรือ subspecies ดังนี้

Group I	: <i>S. enteric</i> subspecies <i>enteric</i>
Group II	: <i>S. enteric</i> subspecies <i>salamae</i>
Group III a	: <i>S. enteric</i> subspecies <i>arizonae</i>
Group III b	: <i>S. enteric</i> subspecies <i>diarizonae</i>
Group IV	: <i>S. enteric</i> subspecies <i>houtenae</i>
Group VI	: <i>S. enteric</i> subspecies <i>indica</i>

ส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม V เดิมถูกยกฐานะให้อยู่ใน species คือ *Salmonella bongori* (สุมณฑา, 2545)

2.4 แหล่งที่พบเชื้อ *Salmonella* spp.

เชื้อ *Salmonella* spp. จัดเป็นเชื้อที่พบได้ทั่วโลกสามารถแยกเชื้อได้จากทางเดินอาหารของคนและสัตว์อีกหลายชนิดทั้งสัตว์เลี้ยงลูกและสัตว์เลื้อยคลาน โดยมักจะไม่ได้แสดงอาการป่วยแต่สามารถแยกเชื้อได้และบางครั้งอาจพบได้หลายซีโรวาร์ในสัตว์ตัวเดียวกันนอกจากนั้นเชื้อยังสามารถมีชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานถึง 9 เดือนหรือมากกว่านั้นเมื่อปนเปื้อนอยู่ในดินที่ชื้นและน้ำมูลสัตว์หรืออาหารสัตว์โดยเฉพาะส่วนประกอบที่ทำมาจากเลือดปนกระดูกปนหรือปลาปน(จิราพร, 2549)แหล่งกำเนิดของเชื้อคือลำไส้ของสัตว์ แต่บ่อยครั้งที่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายของสัตว์ด้วย เนื่องจากสัตว์จะปล่อยเชื้อ *Salmonella* spp. ผ่านทางอุจจาระ ซึ่งจะแพร่ผ่านแมลงและสัตว์อื่นๆ ขยายวงกว้างออกไป ด้วยเหตุนี้เชื้อ *Salmonella* spp. อาจพบในน้ำ โดยเฉพาะน้ำที่สกปรก (อรุณ, 2546)

เชื้อ *Salmonella* spp. แม้ว่าจะพบในสัตว์แทบทุกชนิด แต่บริเวณที่พบเชื่อนั้นอาจมีน้อยต่างกัน พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในอาหารสัตว์ร้อยละ 49 Garber (1991) ได้สำรวจผู้บริจและผู้ส่งมอบอาหารสัตว์ พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 20-25 แต่ในอาหารสัตว์อัดเม็ดพบอัตราการปนเปื้อนเพียงร้อยละ 6 ส่วน โจนส์และคณะสำรวจอัตราการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในโรงฟักลูกไก่ ปรากฏว่าในอาหารที่ทำมาจากสัตว์ และกระดูกสัตว์ มีการปนเปื้อนจากเชื้อ *Salmonella* spp. ถึงร้อยละ 60 (Jones et al., 1991) นักวิจัยสรุปได้ว่า อาหารสัตว์เป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. กับลูกไก่ในโรงฟัก สปีชีส์ที่พบบ่อยคือ *S. senftenberg* และ *S. montevideo*

2.5 การเจริญและการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* spp.

เนื่องจาก *Salmonella* spp. มีความสามารถในการปรับตัวได้ดี จึงทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวยได้ ดังนั้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำความเข้าใจ ถึงปัจจัยต่างๆ ที่จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและความอยู่รอดของ *Salmonella* spp. ในสิ่งแวดล้อม เพื่อให้สามารถควบคุมหรือใช้ปัจจัยเหล่านี้ในการควบคุมการแพร่กระจาย *Salmonella* spp. ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะกล่าวแยกเป็นหัวข้อย่อยๆ ต่อไป

2.5.1 อุณหภูมิ

Salmonella spp. เป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิร่างกายคน หรือสัตว์ หรือเรียกว่า Mesophilic bacteria โดยในช่วงอุณหภูมิที่เจริญเติบโตได้อย่างเหมาะสม (Optimal temperature) อยู่ระหว่าง 30-45 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม *Salmonella* spp. มีคุณสมบัติที่ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี พบว่าอุณหภูมิที่ต่ำสุด ที่สามารถเจริญเติบโตได้ คือ 2-3 องศาเซลเซียส ในเนื้อไก่หรือเนื้อวัวโดยสามารถอยู่ได้นาน 1-2 วัน ในขณะที่อุณหภูมิสูงสุดที่เคยรายงานพบว่าสามารถเจริญเติบโตได้คือ 54 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* spp. มีการปรับตัวให้เข้ากับอุณหภูมิที่สูงขึ้นเป็น 48 องศาเซลเซียส อย่างหนึ่งรุ่นก่อนจะมีการกลายพันธุ์จนสามารถเจริญเติบโตได้ที่ 54 องศาเซลเซียส เนื่องจาก *Salmonella* spp. มีระบบตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิแบบเฉียบพลัน

เมื่ออุณหภูมิของอาหารซึ่งเป็นสิ่งแวดล้อมของ *Salmonella* spp. เพิ่มขึ้น *Salmonella* spp. จะเริ่มตายเนื่องจากความเสียหายของโครงสร้างของเซลล์ที่เกิดขึ้นในส่วนที่เป็นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ และโปรตีนของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์รั่ว และการสังเคราะห์โปรตีนต้องหยุดชะงักลง ผลสุดท้ายคือเซลล์ไม่สามารถรักษาสภาวะสมดุลที่เป็นสภาวะปกติไว้ได้และต้องตายไปในที่สุด ระยะเวลาที่ทำลายแบคทีเรียให้ลดลงได้ร้อยละ 90 เรียกว่า Decimal reduction time หรือ D-value เป็นค่าที่จำเพาะต่อเชื้อแต่ละชนิด ณ อุณหภูมิต่างๆ สำหรับ *Salmonella Typhimurium*

$D_{57.2c}$ ซึ่งมีน้ำใช้ได้เท่ากับ 0.9 ในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคส และ กลีเซอรอล เท่ากับ 40.55 นาที และ 1.8-8.3 นาทีตามลำดับ (ศุภชัย, 2548)

Salmonellaspp. เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง แม้ว่าจะมีรายงานว่า เชื้อ *Salmonellaspp.* ในบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5°C สำหรับอุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อนี้เจริญได้คือ 49.5°C และที่อุณหภูมิ 55°C จะสามารถทำลายเชื้อนี้ได้ (อรุณ, 2546)

2.5.2 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

Salmonellaspp. เจริญเติบโตได้อยู่ในช่วง 4.5-9.5 แต่ในช่วงที่เจริญเติบโตได้ดี คือ 6.5-7.5 ปัญหาการเกิดโรคอาหารเป็นพิษในอาหารที่เป็นกรดนั้นน่าจะมาจากความสามารถของ *Salmonellaspp.* ในการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมที่ค่อยๆ เป็นกรดทีละน้อย เช่น กรดไขมันที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวเกิดจากกรดแลคติก (Lactic acid) *SalmonellaTyphimurium* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะที่เป็นกรดได้ในเนยแข็ง *Salmonellaspp.* สามารถมีชีวิตที่อยู่ได้อย่างน้อย 2 เดือนที่ 5 องศาเซลเซียส การปรับตัวของ *Salmonellaspp.* ต่อสภาวะ pH ภายนอกที่ไม่เหมาะสมจะคล้ายกับการปรับตัวต่ออุณหภูมิ คือ การตอบสนองต่อการทนต่อกรดซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นเมื่อ pH ภายนอกเซลล์อยู่ต่ำกว่าช่วง pH ปกติที่ *Salmonellaspp.* จะสามารถเจริญเติบโตได้ (ศุภชัย, 2548)

2.5.3 น้ำใช้ได้ (Water activity, a_w)

ความหมายของน้ำใช้ได้ คือ ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหาร และสามารถใช้ในการเจริญเติบโตได้ ดังนั้น น้ำที่ใช้ได้จึงมีค่าต่ำกว่าค่าความชื้นในอาหารเสมอ เนื่องจากน้ำในอาหารบางส่วนจุลินทรีย์ไม่สามารถนำไปใช้ได้ เนื่องจากน้ำดังกล่าวรวมตัวอยู่กับสารอื่น ยกตัวอย่าง น้ำเกลือหรือน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นสูงๆ อาจมีค่าความชื้นหรือน้ำอยู่สูง แต่จะมีน้ำที่ใช้ได้ต่ำ เนื่องจากน้ำส่วนใหญ่จะไปรวมตัวกับโมเลกุลของเกลือหรือน้ำตาลทำให้แบคทีเรียไม่สามารถนำไปใช้ได้ (ศุภชัย, 2548) วอเตอร์แอคทิวิตี (a_w) มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonellaspp.* กล่าวคือ เชื้อ *Salmonellaspp.* เจริญได้ดีในช่วงที่มี a_w แคบมาก คือมีค่า a_w ต่ำสุดอยู่ที่ 0.94 ส่วนค่า a_w สูงสุดอยู่ในช่วง 0.99-1.00 (อรุณ, 2546)

3. ผลกระทบของเชื้อต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เนื้อ

ในด้านอุตสาหกรรมสัตว์ปีกการใช้น้ำทางกายภาพ ทางเคมีและจุลชีววิทยาเป็นพื้นฐานสำคัญสัตว์ปีกจำนวนมากจะได้รับแหล่งน้ำในแหล่งเดียวกันปัญหาทางด้านคุณภาพจะส่งผลกระทบต่อสัตว์ น้ำมีบทบาทสำคัญทำให้เกิดโรคจำนวนมาก โรคที่สามารถส่งไปยังฝูงสัตว์โดยผ่านทางน้ำ การปนเปื้อนของน้ำอาจมาจากอุจจาระสารคัดหลั่งของสัตว์ที่ป่วยในฝูงเดียวกัน และจากการใช้ประโยชน์ของน้ำที่ปนเปื้อนอยู่แล้วหรือมาจากสัตว์ชนิดอื่นๆ และมนุษย์ (Jafari, 2006) เชื้อ

Salmonella spp. ยังสามารถเกิดการปนเปื้อนในซากของไก่เนื้อได้ โดยเกิดจากการอุปโภคและบริโภคน้ำหรืออาหารที่ไม่สะอาดทำให้สัตว์ที่เลี้ยงมีการปนเปื้อนของเชื้อเกิดขึ้นการปนเปื้อนในซากนั้นจะส่งผลเสียให้อุตสาหกรรมการผลิต และการบริโภคของมนุษย์และสัตว์เพราะ *Salmonella* spp. สามารถก่อโรคในมนุษย์และสัตว์ได้ซึ่งโรคที่เกิดจาก *Salmonella* spp. จะเป็นโรคที่ติดต่อโดยโรคที่พบประจำ เช่น โรคซัลโมเนลโลซิส (Avian salmonellosis) เป็นโรคที่พบได้ในสัตว์ปีก (Saad, 2007)

การติดเชื้อในสัตว์ปีกที่มีน้ำเป็นพาหะ

น้ำเป็นสารละลายที่สำคัญในการเผาผลาญสารอาหาร ในสัตว์ปีกน้ำมีบทบาทสำคัญในการช่วยย่อยอาหารดูดซึมสารอาหาร การขนส่งสารอาหารในร่างกายและกำจัดของเสียทางปัสสาวะคุณภาพทางกายภาพเคมีและจุลชีววิทยาของน้ำดื่มที่มีความสำคัญเป็นพื้นฐานในการผลิตสัตว์ปีก (Jafari, 2006) อ้างใน (Ahmad, 2009) น้ำเป็นสิ่งที่สื่อถึงความอุดมสมบูรณ์และยังเป็นแหล่งแพร่กระจายของสารเคมีในโลก ในสภาพธรรมชาติน้ำเป็นหนึ่งในสารบริสุทธิ์ที่รู้จักกัน แต่ด้วยสัดส่วนในปัจจุบันจึงเป็นเรื่องยากที่จะหาแหล่งน้ำที่ยังไม่ถูกเปลี่ยนแปลงโดยมนุษย์ ความจริงนี้มีความสัมพันธ์กับลักษณะของประเทศในการพัฒนา น้ำเสียที่มาจากพื้นที่เกษตรกรรมและในเมืองซึ่งมีระดับปริมาณของจุลินทรีย์ที่สูงทำให้เกิดโรคทั้งบนดินหรือสถานะแวดล้อมในน้ำ จากนั้นสารตกค้างจะถูกชะล้างไปยังแหล่งน้ำตื้นๆ น้ำจึงมีความเกี่ยวข้องในการผลิตสัตว์ปีก ดังนั้นความสำคัญของมาตรการการควบคุมต้องได้รับการพิจารณาเป็นลำดับขั้นๆ เพื่อที่จะป้องกันการเกิดโรคที่มีการแพร่กระจายผ่านทางน้ำและจะทำให้เกิดความสูญเสียด้านเศรษฐกิจ เชื้อ *Salmonella* spp. เชื้อไวรัสแบคทีเรียและโปรโตซัว จัดเป็นโรคที่พบบ่อยที่สุดในอุตสาหกรรมสัตว์ปีกโดยมีบทบาทสำคัญอยู่ที่น้ำ (Amarsl, 2004)

4. การป้องกันและควบคุม

เนื่องจากทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยปฐมภูมิของเชื้อ *Salmonella* spp. จึงคาดได้ว่าอุจจาระของมนุษย์และสัตว์อาจมีเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วยแต่ในอุจจาระของสัตว์มีโอกาสดพบเชื้อ *Salmonella* spp. ได้มากกว่าอุจจาระของมนุษย์ เพราะสัตว์กินอาหารไม่เลือกอีกทั้งอาหารสัตว์ก็มีโอกาสปนเปื้อนได้มากกว่าอาหารของมนุษย์ ตามร่างกายและสิ่งปกปิดได้ขน ขนของสัตว์อาจมีเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วย แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่เชื้อ *Salmonella* spp. ไปยังเนื้อสัตว์แช่หะ คือ สัตว์ที่เป็นพาหะและอาหารสัตว์ (สุมนฑา, 2545)

เมื่อผู้บริโภครับเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งปนเปื้อนอยู่ในอาหาร แต่ละคนจะได้รับผลและแสดงอาการแตกต่างกัน คือ *Salmonella* spp. ที่ได้รับไม่ก่อให้เกิดผลต่อร่างกายเลย มีการเจริญของ

เชื้อในทางเดินอาหารแต่ไม่แสดงอาการลำไส้อักเสบ และท้องเสียไปจนถึงทำให้เกิดโรครุนแรง โดยเชื้อเข้าสู่กระแสเลือดและมีผลถึงเสียชีวิต ผู้ป่วยแบบเฉียบพลันจะมีการขับถ่ายเชื้อออกจากร่างกายตั้งแต่เชื้อเป็นเวลานานับวันหรือเป็นปีโดยมีค่าเฉลี่ยคือ 5 สัปดาห์ ผู้ป่วยบางราย (น้อยกว่า 1%) จะเป็นพาหะของเชื้อต่อไป (อรุณ, 2546)

5. แบคทีเรียโคลิฟอร์ม

วีรานูช (2552) แบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่ใช้เป็นดัชนีในการบอกถึงการปนเปื้อนจากสิ่งปฏิกูลหรือบอกให้ทราบถึงลักษณะการสุขาภิบาลในการผลิตอาหารที่ไม่เหมาะสม ถูกให้คำจำกัดความรวมกันว่า “แบคทีเรียโคลิฟอร์ม” ซึ่งหมายถึงแบคทีเรียที่มีรูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ ย้อมติดสีแกรมลบ มีการดำรงชีวิตเป็นแบบ facultative anaerobes เคลื่อนที่โดยมี flagella ชนิดรอบตัว (peritrichous) หรือบางชนิดอาจไม่เคลื่อนที่ สามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตส ได้กรดและแก๊สที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง มีเอนไซม์ oxidase สามารถรีดิวซ์ nitrate ให้เป็น nitrite น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภคหรือน้ำที่จะนำไปใช้ในกระบวนการใดก็ตามที่ต้องการให้มีความสะอาดมากก็ไม่ควรให้มีการปนเปื้อนจากดินหรือสิ่งสกปรกอื่น ดังนั้นมาตรฐานน้ำดื่มจึงกำหนดให้การตรวจหาค่า MPN ของแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีน้อยกว่า 2.2 ต่อ น้ำ 100 มิลลิลิตร จึงจะปลอดภัย

แบคทีเรียโคลิฟอร์ม ประกอบด้วยกลุ่มแบคทีเรียต่างๆ ดังนี้

1. *Escherichia coli*(faecal type)
2. *Enterobacter* sp.(non-faecal type)
3. *Klebsiella* sp.
4. *Citrobacter* sp.

6.แบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) และ *E. coli*

ถึงแม้ว่ากลุ่มแบคทีเรียโคลิฟอร์มจะสามารถใช้เป็นตัวดัชนีหลักในการประเมินสุขลักษณะของการผลิตอาหารและน้ำดื่ม จุลินทรีย์บางชนิดในกลุ่มนี้ก็ไม่ได้มีแหล่งที่มาจากอุจจาระเท่านั้น ดังนั้นจึงมีการตรวจวัดฟีคัลโคลิฟอร์ม (faecal coliform) ซึ่งจะจำเพาะต่อแบคทีเรียที่มาจากอุจจาระเท่านั้น จุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้แก่ *Escherichia* มีคุณสมบัติในการหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดและแก๊สที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม *E. coli* 0157:H7 เจริญได้ไม่ดีกว่าอุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส *E. coli* มีคุณสมบัติแตกต่างออกไปจากสมาชิกในกลุ่มฟี

คัลโคลิฟอรัมชนิดอื่นๆ เช่นไม่มีเอนไซม์ยูรีเอส (urease) แต่มีเอนไซม์เบต้า-กลูคูโรนิเดส (3-glucoronidase)(วีรานูช, 2552)

7. เชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*)

ภาวิน (2547) รายงานว่าเชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นเชื้อที่มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ ดิจสีกแกรมลบ และดำรงชีวิตแบบใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนก็ได้ (facultative anaerobic) สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 7-10 องศาเซลเซียสไปจนถึง 50 องศาเซลเซียส แต่ช่วงที่เหมาะสมที่สุดคือ 37 องศาเซลเซียส ส่วนความเป็นกรดค้างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ pH 4.4-8.5 ซึ่งค่า a_w ที่ต่ำที่สุดที่เจริญได้ คือ 0.95 เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ส่วนใหญ่มักไม่เป็นอันตราย และสามารถถูกยับยั้งได้ในทางเดินอาหารของคน แต่ก็ยังมีบางชนิดที่สามารถทำให้เกิดโรคได้

ลักษณะของเชื้อ *E. coli*

ธีรพร (2546) รายงานว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง โดยปกติมักไม่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ โดยเป็นไมโครฟลอราในลำไส้สัตว์เลื้อยคลานทั่วไป กลุ่มของ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคในอาหารเป็นพิษ ได้แก่

- Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
- Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ Verocytotoxic *E. coli* (VTEC)

ความแตกต่างของ *E. coli* แต่ละกลุ่มอยู่ที่ชนิดของสารพิษที่สร้างขึ้น กลไกการทำให้เกิดโรคและอาการของโรคที่แสดงออกมา กลุ่ม EPEC, EIEC และ ETEC มีความสำคัญและก่อให้เกิดโรคในทารกและเด็ก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา โดย ETEC มักปนเปื้อนมากับน้ำดื่มและอาหารที่ล้างด้วยน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว ส่วน Enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7 นั้นทำให้เกิดโรคโดยมีระยะฟักตัว 3-4 วัน อาการที่เกิดได้แก่ ลำไส้อักเสบ ท้องเสีย และปวดท้อง มีเลือดออกในกระเพาะอาหาร และอาจทำให้เลือดแข็งตัวในท่อไตและเลือดออกตามอวัยวะภายใน เนื่องจากขาดเกล็ดเลือดเป็นผลทำให้เกิดอาการอยู่ในระหว่าง 2-9 วัน และปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาการ อาจต่ำถึง 10-100 เซลล์ นอกจากนั้นเชือนี้ยังสามารถเจริญได้ดีกรณีที่มีเชื้ออื่นเจริญอยู่ด้วย *E. coli* O157:H7 มักพบในลำไส้ของโคและกระบือ หรือสัตว์ที่ให้น้ำนม



8. มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของน้ำบริโภค

กระทรวงอุตสาหกรรม (2521) ประกาศ ณ วันที่ 8 พฤษภาคม พ.ศ. 2521 เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค อาศัยอำนาจตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. 2511 ซึ่งคณะรัฐมนตรีว่าการกระทรวงอุตสาหกรรมออกประกาศกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค เล่ม 1 ข้อกำหนดเกณฑ์คุณภาพ มาตรฐานหมายเลขที่ มอก. 257 เล่ม 1-2521 โดยกำหนดมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของน้ำบริโภคไว้ดังนี้

ตารางที่ 2 แสดงมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของน้ำบริโภค

สแตนด์การ์ดเพดแคนต์	โคโลนี/ชม. ³	ต้องไม่เกิน 500
Coliform	เอ็มพีเอ็น/100 ชม. ³	ต้องน้อยกว่า 2.0
<i>E. coli</i>		ไม่มี

ที่มา : กระทรวงอุตสาหกรรม (2521)

9. มาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของน้ำบาดาล

กระทรวงอุตสาหกรรม (2537) ประกาศ ณ วันที่ 20 มกราคม เรื่อง กำหนดมาตรฐานน้ำแหล่งผิวดิน อาศัยอำนาจตามมาตรา 32(1) แห่งพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 โดยกำหนดมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของน้ำบาดาลไว้ดังนี้

ตารางที่ 3 แสดงมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของน้ำบาดาล

Coliform	เอ็มพีเอ็น/100 ชม. ³	ไม่เกิน 20,000
Fecal coliform	เอ็มพีเอ็น/100 ชม. ³	ไม่เกิน 4,000

ที่มา : กระทรวงอุตสาหกรรม (2537)

10. การเก็บน้ำตัวอย่าง

จำลอง (2549) รายงานว่าการเก็บตัวอย่างน้ำ หมายถึง การเก็บตัวอย่างน้ำที่ถูกวิธีในปริมาณที่พอเหมาะต่อการตรวจสอบวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ทั้งต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากวิธีการเก็บและการขนส่ง อีกทั้งสามารถใช้เป็นตัวแทนของแหล่งน้ำนั้นๆ ในการแสดงผลคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำต่างๆ ได้ดีและถูกต้อง การสุ่มเลือกจุดหรือสถานีเก็บตัวอย่างน้ำ การเลือกจุดสถานีเก็บตัวอย่างน้ำที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการศึกษาคูณภาพน้ำ การเลือกจุดหรือสถานีเก็บตัวอย่างน้ำที่ไม่ดีจะทำให้ได้ข้อมูลที่ไม่เหมาะสมหรือไม่เป็นตัวแทนของสิ่งที่ต้องการศึกษา



จุดหรือสถานีเก็บน้ำตัวอย่าง ควรให้จุดหรือสถานีเก็บน้ำตัวอย่างกระจายทั่วทั้งพื้นที่ศึกษาและเป็นตัวแทนของสิ่งที่ต้องการศึกษา

11.การหาค่า MPN

MPN ย่อมาจาก Most Probable Number เป็นจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์อาจมีได้ในตัวอย่าง คำนี้นี้ได้จากการประเมิน โดยใช้หลักการทางสถิติ สำหรับการหาค่า MPN โดยวิธี multiple-tube technique นั้นเป็นวิธีการประเมินจำนวนสูงสุดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างโดยเฉพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากตัวอย่างนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่ต้องการจะประเมินจำนวน ดังนั้นจำนวนจุลินทรีย์ที่ประเมินได้ จึงเป็นจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่และสามารถเจริญได้ในอาหารที่ใช้เลี้ยงเท่านั้น(วีรานูช, 2552)

ตารางที่4แบคทีเรียประจำถิ่นที่พบในอุจจาระสัตว์

กลุ่มของสัตว์	ค่าเฉลี่ยรวม		
	Fecal coliform	Fecal streptococci	Clostridium perfringens
สัตว์ในฟาร์ม			
วัว	230,000	1,300,000	200
หมู	3,300,000	84,000,000	3,980
แกะ	16,000,000	38,000,000	199,000
ม้า	12,600	6,300,000	<1
เป็ด	33,000,000	54,000,000	-
ไก่	1,300,000	3,400,000	250
ไก่ทรงวง	290,000	2,800,000	-
สัตว์เลี้ยง			
แมว	7,900,000	27,000,000	25,100,000
สุนัข	23,000,000	-	-
สัตว์ป่า			
หนู	330,000	7,700,000	<1
กระต่าย	20	47,000	<1
กระแต	148,000	6,000,000	-
มนุษย์	13,000,000	3,000,000	1,580

ที่มา : วีรานูช (2552)