บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูล

ประเทศไทยมีการรายงานโรคที่ต้องเฝ้าระวังอย่างเป็นทางการครั้งแรกในปี พ.ศ. 2456 โดยรายงานผู้ป่วยกาฬโรคเป็นโรคแรก ต่อมาได้เพิ่มการรายงานผู้ป่วยอหิวาตกโรค ไข้ทรพิษ ไข้กาฬหลังแอ่น ไข้เหลือง ไข้รากสาดใหญ่ Relapsing Fever และโรคอื่นๆ ที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน สังคม และเศรษฐกิจของประเทศในวงกว้าง โรคอาหารเป็นพิษได้กำหนดให้เป็นโรคที่ต้องรายงานเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2519 โดยปีแรกมีจำนวนผู้ป่วยที่รายงานเข้ามาในส่วนกลางเพียง 1,802 ราย หลังจากนั้นมีการรายงานจำนวนผู้ป่วยเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ กระจายอยู่ในจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศ ตั้งแต่ พ.ศ. 2547 เป็นต้นมา รัฐบาลไทยมีนโยบายที่จะผลักดันให้ประเทศไทยเป็นครัวของโลก โดยได้กำหนดเรื่องความปลอดภัยด้านอาหารเป็นนโยบายหลักในการก้าวไปสู่เมืองไทยแข็งแรง (Healthy Thailand) แต่ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาอุบัติการณ์ของโรคอาหารเป็นพิษยังคงสูงเป็นอันดับต้นๆ ของโรคที่มีการเฝ้าระวังในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2549 สำนักระบาดวิทยา ได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษจากเครือข่ายทั้งใน และนอกกระทรวงสาธารณสุข รวมทั้งสิ้น 135,563 ราย อัตราป่วย 216.47 ต่อประชากรแสนคน โดยมีอัตราป่วยเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้า ๆ จนถึงปี พ.ศ. 2547 ซึ่งมีอัตราป่วยต่อประชากรแสนคนเพิ่มสูงสุด (247.38) หลังจากนั้นค่อย ๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2 ปี ติดต่อกัน ผลการตรวจชนิดเชื้อก่อโรคจากการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาพบ ผู้ป่วยจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* 1,471 ราย เชื้อ *Salmonella* 302 ราย เชื้อ *Clostridium botulinum* 148 ราย เชื้อ *Staphylococcus* 76 ราย และไม่ได้ระบุชนิดของเชื้อก่อโรค 133,556 ราย (ร้อยละ 98.52) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามชนิดของเชื้อก่อโรค ของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2539 – 2549

ปี พ.ศ.	รวม (คน)	*V. parahaemo-lyticus*	*Salmonella spp.*	*Staphylo-coccus*	*C. botuli-num*	*C. perfringens*	Unknown Organism
2549	135,563	1,471	302	76	148	10	133,556
2548	140,949	533	219	61	0	13	140,123
2547	154,678	613	321	40	27	16	153,661
2546	131,561	424	350	28	30	11	130,718
2545	136,891	125	13	6	0	17	136,730
2544	138,795	624	323	73	17	15	137,743
2543	130,777	381	125	155	3	3	130,110
2542	110,291	187	48	87	1	1	109,967
2541	115,142	2,879	1,736	422	128	104	109,873
2540	102,454	2,741	1,532	572	46	113	97,450
2539	82,281	2,337	1,311	167	66	73	78,327

ที่มา : ระบบเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข (2549)

Cetinkaya et al. (2008) รายงานว่า ประเทศตุรกีมีการระบาดของ *Shigella* และ *Salmonella* จากการรับประทานอาหารและน้ำดื่มเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษเช่นเดียวกัน แม้ว่าปัจจุบันนี้วิทยาการทางด้านการแพทย์ และสาธารณสุขจะเจริญก้าวหน้าไปมาก แต่อาหารเป็นพิษจากสารเคมีประเภทโลหะหนักยังเป็นภาวะที่ประสบและสร้างปัญหาอย่างต่อเนื่อง โดยโลหะหนักที่เป็นอันตรายและมักพบการปนเปื้อนในอาหารอยู่เป็นประจำ ได้แก่ ตะกั่ว (Lead, Pb) การปนเปื้อนของตะกั่วลงสู่อาหารนั้นเกิดทั้งจากความจงใจของผู้ผลิตอาหารเอง และความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ของผู้ผลิต และจำหน่ายอาหาร รวมทั้งอาหารที่ได้จากธรรมชาติก็พบว่ามีการปนเปื้อนของสารตะกั่ว อาหารที่มักพบว่ามีสารตะกั่วปนเปื้อน ได้แก่ สัตว์น้ำ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำ ไข่เยี่ยวม้า อาหารที่มีสีสันฉูดฉาดเนื่องจากใส่สีผสมอาหาร เช่น น้ำหวานเข้มข้น ลูกกวาด ขนมหวาน อาหารที่บรรจุลงถุงกระดาษหนังสือพิมพ์ ถุงหูหิ้วหลากสีสัน และภาชนะบรรจุที่เป็นโลหะ เช่น อาหารกระป๋องที่มีกลิ่นโลหะ หรือภาชนะพวกหม้อ กระทะที่ทำด้วยเหล็กที่มี

ตะกั่วผสมอยู่ รวมถึงปรอท (Mercury, Hg) ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงาน หากอยู่ในรูปของเกลืออนินทรีย์จะถูกแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินหรือในตะกอนก้นทะเลเป็นตัวเปลี่ยนให้เป็นเกลืออินทรีย์ เช่น ปรอทเมธิล หรือปรอทไดเมธิล ซึ่งสะสมอยู่ในตัวแบคทีเรียนั่นเองต่อเมื่อมีแพลงค์ตอนมากินแบคทีเรียที่มีปรอทสะสมอยู่เป็นอาหาร สารปรอทดังกล่าวก็จะถูกส่งต่อไปสะสมในตัวแพลงค์ตอนและถ้าหาก ปลา หอย กุ้ง ปู และสัตว์น้ำอื่นๆ มากินแพลงค์ตอนเป็นอาหารปรอทก็จะถูกส่งไปเรื่อยๆ จนท้ายที่สุดก็จะไปสู่คนที่กินอาหารทะเลที่มีปรอทสะสมอยู่ได้ สำหรับอาหารส่วนใหญ่ที่พบว่ามีสารหนู (Arsenic, As) ปนเปื้อนนั้นได้แก่ สัตว์และพืชทะเล เนื่องจากตามธรรมชาติสามารถพบสารหนูได้ในทะเล และมหาสมุทร ซึ่งในท้องทะเลมีปริมาณสารหนูประมาณ 0.5-50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับในแหล่งน้ำจืดพบว่ามีปริมาณสารหนูในปลาน้ำจืดต่ำกว่าในปลาทะเลมาก คือต่ำกว่า 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม รวมถึง น้ำแร่ และน้ำบรรจุขวดต่างๆ บางครั้งพบปริมาณสารหนูสูงเกินกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องมาจากแหล่งน้ำใต้ดินมีการปนเปื้อนสารนี้ นอกจากนี้มนุษย์จะได้รับแคดเมียม (Cadmium, Cd) จากอาหาร อากาศ น้ำ และจากใบยาสูบ สำหรับผู้ไม่สูบบุหรี่ แหล่งที่มนุษย์รับสารแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายที่สำคัญ คือ จากการบริโภคอาหาร เนื่องจากส่วนประกอบของอาหาร เช่น พืช ผักจะสะสมแคดเมียมในปริมาณสูงถ้าปลูกในดินที่มีการปนเปื้อนของแคดเมียม ทั้งนี้เพราะพืชสามารถดูดซึมแคดเมียมไว้ได้ดีกว่าโลหะอื่นๆ (แผนกวิเคราะห์ข้อมูล ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร, ม.ป.ป.; Iyengar et al., 2000)

Lee et al. (2006) รายงานว่า ประชากรในเกาหลีได้รับการปนเปื้อนปริมาณโลหะหนักในอาหารเพิ่มมากขึ้น จากการบริโภคอาหารโดยทั่วไป ซึ่งพบว่า ได้รับการปนเปื้อนของ arsenic (38.5 μg/คน/วัน), cadmium (14.3 μg/คน/วัน), lead (24.4 μg/คน/วัน) และ mercury (1.61 μg /บุคคล/วัน)
ผู้บริโภคส่วนใหญ่ต้องการอาหารพร้อมบริโภคที่เป็นประโยชน์มีคุณภาพและความปลอดภัยที่มีผลกระทบตั้งแต่การควบคุมคุณภาพของอุปกรณ์เครื่องมือผลิต การสัมผัสอาหาร กระบวนการผลิต การขนส่งและการเก็บรักษา ตลอดจนถึงการบริโภค โดยการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของอาหารพร้อมบริโภค (Angelidis, 2006) เนื่องจากโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยและเสียชีวิตจำนวนมากมายในแต่ละปี โดยส่วนใหญ่แล้วเชื้อที่ทำให้เกิดโรคคือ *Salmonella, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Clostridium botulinum* รวมถึง *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni* และ *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งล้วนเกี่ยวข้องกับการเจ็บป่วยจากโรคอาหารเป็นพิษ มาเป็นระยะเวลานานกว่า 10 ปีแล้ว (Antunes et al., 2003; Aycicek, Cakiroglu & Stevenson, 2005; Aycicek, Sarimehmetoglu & Cakiroglu, 2004; Aymerich, Picouet & Monfort, 2008; Borch & Arinder, 2002; Gandhi & Chikindas, 2007; Gibbons et al., 2006; Novak & Juneja, 2002; Walls & Buchanan, 2005) การ

จำหน่ายอาหารที่ให้ความสะดวกแก่ผู้บริโภค เช่น การวางขายอาหารตามแผงลอยริมถนนไม่มีการควบคุมการผลิตหรือการปรุงที่ถูกสุขลักษณะ ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จากการเก็บตัวอย่างของอาหารปรุงสำเร็จ เพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (APC) Coliforms *E. coli, S. aureus, B. cereus, Salmonella* spp. และ *Listeria monocytogenes* (Bas, Ersun & Kivanc, 2006; Carrasco et al., 2007; Christison, Lindsay & Holy, 2008; Guerra, McLauchlin & Bernardo, 2001; Mankee et al., 2003; Rho & Schaffner, 2007; Rosset et al., 2004; Umoh & Odoba, 1999; Walls, 2006; Xu & Burfoot, 2003) มีรายงานวิจัยพบว่าประมาณ 10 % ของการเกิดโรค salmonellosis มีสาเหตุมาจากสัตว์ปีก และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอย่างกว้างขวางทั่วโลก (Beli, Duraku, & Telo, 2001; Capita et al., 2003; Oscar, 2004) จึงควรมีการจัดการที่ดีเกี่ยวกับสุขลักษณะส่วนบุคล (GHP) การผลิตและปรุงจำหน่าย (GMP) สถานที่วางจำหน่าย (Gadaga et al., 2008) รวมถึงการควบคุมระบบคุณภาพโดยใช้ระบบ HACCP เพื่อรับรองความปลอดภัยตลอดห่วงโซ่ของการผลิตอาหารซึ่งเป็นที่นิยมกันทั่วโลก (Sperber, 2005)

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ตอนที่ 1 วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างที่ใช้สำหรับทดสอบมาไม่น้อยกว่า 500 ml หรือ 500 กรัม จำนวน 2 ชุด โดยจัดเก็บตัวอย่าง 1 ชุด ไว้สำหรับทำการทดสอบซ้ำกรณีมีข้อสงสัยว่าผลการทดสอบไม่ถูกต้อง การเก็บตัวอย่างระหว่างส่งไปที่ห้องปฏิบัติการต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิในช่วง 5$\pm$3°C เมื่อตัวอย่างถึงห้องปฏิบัติการแล้ว ให้ทำการทดสอบภายใน 72 ชั่วโมง กรณีที่ไม่สามารถทำการทดสอบตัวอย่างได้ในทันที ให้ติดป้าย “รอการทดสอบ” และจัดเก็บในตู้เย็นในชั้นที่ติดป้ายระบุ “ตัวอย่างรอการทดสอบ” ในตู้เย็นที่มีการควบคุมอุณหภูมิในช่วง 5$\pm$3°C

นำตัวอย่างมาหาปริมาณ Total Bacteria Count (cfu/g) (FDA-BAM 1998), MPN Coliform (MPN/g), *Escherichia coli* (MPN/g) (FDA-BAM 2002), *Bacillus cereus* (FDA-BAM 2001), *Clostriduim botulinum* (FDA-BAM 2001), *Clostriduim perfringens* (FDA-BAM 2001), *Staphyolcocus aureus* (FDA-BAM 2001), *Samonella* spp. (FDA-BAM 2003), *Shigella* sp. (FDA-BAM 2001), *Vibrio Cholerae* (FDA-BAM 2004) และ *Vibrio parahaemolyticus* (FDA-BAM 2004) รายละเอียดวิธีทดสอบดังภาคผนวก

ตอนที่ 2 วิธีวิเคราะห์คุณภาพทางด้านโลหะหนัก

วิธีการวิเคราะห์โลหะหนักด้วยเครื่อง ICP-MS

วิเคราะห์ As ,Pb, Cd , Hg โดยใช้ standard mode ในการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่างใช้เครื่อง microwave

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม หรือ 0.5 ml (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง) จากนั้นเติม nitric acid ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยด้วยเครื่อง microwave โดยใช้ 300 W , 50% นาน 30 นาที เทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทั้งหมดของการวิจัยมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS วิเคราะห์ CRD แบบจำนวนซ้ำเท่ากัน