บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันประเทศต่างๆทั่วโลกได้ให้ความสำคัญในเรื่องความปลอดภัยของอาหารอย่างยิ่ง เนื่องจากพบว่าโรคเนื่องจากอาหารเป็นสื่อนำ (Foodborne disease) ได้กลายเป็นสาเหตุสำคัญของปัญหาซึ่งเกิดขึ้นต่อสุขภาพของมนุษย์ สร้างความสูญเสียทั้งในด้านเศรษฐกิจและสังคมไปทั่วโลก หน่วยงานซึ่งมีหน้าที่รับผิดชอบ ได้แก่ องค์การอนามัยโลกและประเทศสมาชิกได้ตระหนักถึงปัญหาที่เกิดขึ้นจึงมีความพยายามกำหนดแผนยุทธศาสตร์เพื่อลดอันตรายซึ่งเกิดจากโรคเนื่องจากอาหารเป็นสื่อนำโดยเฉพาะอย่างยิ่งอันตรายที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ ในหลายๆประเทศมีรายงานอุบัติการณ์การเกิดโรคซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งปนเปื้อนอยู่ในอาหาร เช่น *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp. เป็นต้น (World Health Organization [WHO], 2002 : online)

Salmonella spp. เป็นหนึ่งในแบคทีเรียสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากอาหารเป็นสื่อนำ โดยเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *Salmonella* spp. ว่า Salmonellosis จากรายงานการเฝ้าระวังโรคซึ่งเกิดจาก *Salmonella* พบว่าในปี 2008 *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากอาหารเป็นสื่อนำมากเป็นลำดับที่สองในกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป โดยมีผู้ป่วยด้วยโรค Salmonellosis คิดเป็นอัตรา 26.4 รายต่อประชากร 100,000 ราย (European Food Safety Authority [EFSA], 2010) สำหรับประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่ามีผู้ติดเชื้อ *Salmonella* spp. เป็นจำนวนถึง 7,444 ราย คิดเป็นอัตรา 16.20 รายต่อประชากร 100,000 ราย (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2009) นอกจากนี้มีการประมาณจำนวนผู้เสียชีวิตว่ามากกว่า 500 รายในแต่ละปี(Mead et al., 1999) ในประเทศญี่ปุ่น Infectious Disease Surveillance Center มีรายงานว่าในระหว่างปี 2005 - 2009 มีผู้ป่วยด้วยโรค Salmonellosis เป็นจำนวนถึง 5,286 ราย (Infectious Disease Surveillance Center [IDSC], 2009) ในประเทศไทยนั้นได้มีรายงานของสำนักงานระบาดวิทยาพบว่าในปี 2009 มีจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษซึ่งเกิดจากเชื้อ *Salmonella* spp. เป็นจำนวน 192 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.2 ของจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมด (อมรรัตน์ ชอบกตัญญู, 2552) สาเหตุหลักของการติดเชื้อ *Salmonella* spp. เกิดจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารที่ผลิตจากเนื้อหรือไข่ของสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์นมซึ่งเป็นแหล่งที่พบการปนเปื้อน *Salmonella* มาก(Yan et al., 2003)

ประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศผู้ผลิตอาหารลำดับต้นๆของโลกจึงควรติดตามอุบัติการณ์ที่เกิดขึ้นจากเชื้อ *Salmonella* spp. โดยการเฝ้าระวังโรคและการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งถือเป็นพื้นฐานในการกำหนดแผนกลยุทธ์เพื่อลดความเสี่ยงเนื่องมาจากอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. โดยเฉพาะ *Salmonella* Typhimurium และ *Salmonella* Enteritidis ที่พบว่าสร้างปัญหาอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสัตว์ปีก เช่น เนื้อไก่สด เนื้อไก่แช่แข็งและไก่แปรรูป ในการศึกษาทางระบาดวิทยาของ *Salmonella* ในประเทศไทยนิยมใช้เทคนิค serotyping ในการวิเคราะห์สายพันธุ์ของ *Salmonella* ในระดับซีโรวาร์ซึ่งไม่เพียงพอต่อการหาต้นกำเนิดของการระบาดของโรค ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคการจำแนกความแตกต่างของเชื้อ *Salmonella* ในระดับซับซีโรวาร์ (subserovar) เพื่อเพิ่มขีดความสามารถของการจำแนกความแตกต่างระหว่างไอโซเลทให้มากขึ้น โดยจำแนกความแตกต่างจากลักษณะที่แสดงออกเช่น เทคนิค phage typing หรือจำแนกความแตกต่างจากลักษณะทางพันธุกรรม เช่น เทคนิค Pulse-field gel electrophoresis เป็นต้น อย่างไรก็ตามเทคนิคเหล่านั้นยังมีข้อจำกัดบางประการ ได้แก่ ขีดความสามารถในการจำแนกความแตกต่างระหว่างไอโซเลทที่ยังไม่ดีนักและบางเทคนิคไม่สามารถปฏิบัติได้ภายในประเทศจึงต้องส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่หน่วยงานในต่างประเทศ (ปฐมาพร เอมะวิศิษฎ์ และคณะ, 2546)

ดังนั้นเทคนิคการจำแนกความแตกต่างของเชื้อ *Salmonella* ในระดับซับซีโรวาร์ (subserovar) ที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกสูงจะช่วยให้การศึกษาระบาดวิทยาหรือการจัดการด้านความปลอดภัยของอาหารทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ในปัจจุบันนิยมใช้การจำแนกเชื้อ *Salmonella* ในระดับซับซีโรวาร์ด้วยเทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลโดยการวิเคราะห์ variable number of tandem repeatเพื่อดูความแตกต่างของจำนวน repeat units ในบริเวณโลคัส (locus) ซึ่งนิยมทำมากกว่า 1 โลคัส เรียกเทคนิคนี้ว่า multi-locus variable number of tandem repeats (MLVA) (Belkum, 2008) เทคนิคนี้มีข้อจำกัดคือจะต้องวัดขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ถูกเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค capillary electrophoresis (CE) ทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูงและใช้เวลานาน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิค High Resolution Melting Analysis (HRM) สำหรับจำแนกความแตกต่างของขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากความแตกต่างของ melting profile ที่จำเพาะต่อขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอนั้นๆเพื่อทดแทนการใช้เทคนิค CE ซึ่งถ้าสามารถพัฒนาได้จะทำให้ได้เทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงในการจำแนกสายพันธุ์ของ *S.* Typhimurium และ Enteritidis ในระดับซับซีโรวาร์ที่สามารถนำประยุกต์ใช้ในทางระบาดวิทยาและการจัดการความปลอดภัยของอาหารได้ในอนาคต