จากการเปิดเสรีทางการค้าโลก ทำให้ประเทศที่พัฒนาแล้วไม่สามารถใช้มาตรการทางภาษีกีดกันทางการค้าต่อไปได้ ประเทศพัฒนาจึงหันมาใช้มาตรการทางสุขภาพแทน โดยกำหนดให้ผู้ส่งออกอาหารแช่แข็งของทุกประเทศต้องจัดการทำการวิเคราะห์และควบคุมจุดวิกฤตที่เป็นอันตราย (Hazard Analysis and Critical Control Point-HACCP) ในโรงงาน เพื่อกำจัดสารปนเปื้อนในอาหารแช่แข็ง เช่น บักเตรี พยาธิโปรโตซัว เพื่อส่งสินค้าออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา ยุโรป

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษา เพื่อหาแนวทางให้อาหารแช่แข็งส่งออกของไทยปลอดการปนเปื้อนทางชีวภาพ โดยขั้นแรกได้ศึกษาว่ามีการปนเปื้อนทางชีวภาพหรือไม่ใน ๖ จังหวัดภาคกลางของไทย ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรปราการ สมุทรสงคราม นนทบรี นครปฐม ราชบุรี และหากมีการปนเปื้อน เชื้อเหล่านั้นสามารถก่อโรคได้หรือไม่ และจะกำจัดอย่างไร

โดยผู้วิจัยทำการเก็บทั้งน้ำดิบและน้ำที่บำบัดแล้วก่อนเข้าในโรงงาน โดยเก็บตัวอย่างน้ำจำนวนมาก (Large Volume Technique) ผ่านไส้กรองขนาด ๑ ไมโครเมตร (μm) ร่วมกับวิธี การแยกทางอิมมูโนด้วยแม่เหล็ก (Immunomagnetic Separation-IMS) และ วิธีทางอิมมูโนด้วยสารเรืองแสง (Immunofluorescent technique) ผลปรากฏว่าในน้ำที่บำบัดแล้วก่อนส่งเข้าโรงงานผลิตปราศจากการปนเปื้อนเชื้อ *Giardia* และเชื้อ *Cryptosporidium* ส่วนน้ำที่ยังไม่ได้บำบัด พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Giardia* ร้อยละ ๖๖.๗ และการปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Cryptosporidium* ร้อยละ ๓๐.๑

ในวัตถุดิบและอาหารส่งออกใช้ตรวจหาการปนเปื้อนด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) พบการปนเปื้อนเชื้อ *Giardia* และเชื้อ *Cryptosporidium* ในวัตถุดิบเท่ากัน คือ ร้อยละ ๒๓.๘ ส่วนในอาหารแช่แข็งส่งออกพบการปนเปื้อนเชื้อ *Giardia* ร้อยละ ๑๒.๕ ส่วนเชื้อ *Cryptosporidium* ร้อยละ ๒๙.๒

การทดสอบความสามารถในการก่อโรค โดยวิธี Reverse Transcriptase-PC (RRT-PCR) พบว่าเชื้อชีวภาพที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำ วัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหารแช่แข็ง มีชีวิตอยู่เฉลี่ยร้อยละ ๔.๔ อย่างไรก็ตาม เชื้อที่พบเป็นชนิดพันธุกรรมที่มาจากคน (human genotype)

จากการทดลองวิธีกำจัดเชื้อ พบว่าแสงเหนือม่วง (ultra violet) ที่ความเข้มข้น ๑๐ mWs/cm^2 นาน ๒ นาที สามารถทำให้เชื้อชีวภาพตายได้ แต่เชื้อที่ถูกแสงแดดนานถึง ๑๒ ชั่วโมง ก็ยังมีชีวิตและสามารถก่อโรคได้

กลุ่มผู้วิจัยได้ประยุกต์ใช้เทคนิค SPR (Surface Plasmon Resonance) เพื่อใช้ในการตรวจวัดการจับกันแบบจำเพาะของเชื้อ *Cryptosporidium* และแอนติบอดี (anti-*Cryptosporidium*) ซึ่งเป็นเทคนิค

ที่สามารถตรวจสอบปฏิกิริยาแบบไม่ต้องการสีเป็นตัววัดปฏิกิริยา (labeling free) พบว่าวิธี SPR มีความเฉพาะเจาะจงมาก และยืนยันความเป็นไปได้ของการประยุกต์ใช้เทคนิค labeling free มาทดสอบ antigen-antibody binding ในลักษณะที่เป็น real time monitoring ได้ โดยประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับแบ่งออกเป็นสองส่วนหลัก คือ ส่วนที่หนึ่ง การใช้ประโยชน์ SPR มาช่วยศึกษาและพัฒนาการเตรียมเชื้อ *Cryptosporidium* และแอนติบอดี (anti-*Cryptosporidium*) และส่วนที่สอง จะเป็นการประยุกต์ SPR ไปใช้ในการตรวจสอบจริงในภาคสนาม

จากข้อมูลที่พบ จึงสรุปได้ว่า เชื้อพยาธิโปรโตซัว เป็นเชื้อชีวภาพที่สำคัญที่ปนเปื้อนในน้ำ วัตถุดิบและอาหารแช่แข็ง ในโรงงานอาหารใน ๖ จังหวัดภาคกลาง เป็นเชื้อที่ยังมีชีวิต สามารถก่อโรคได้ และเป็นชนิดที่มาจากคน ดังนั้น หากจะกำหนดจุดวิกฤต เพื่อป้องกันการปนเปื้อนและให้อาหารแช่แข็งส่งออกของไทยปลอดภัย ต้องควบคุมทั้งระบบน้ำ ระบบที่เกี่ยวข้องกับวัตถุดิบ และ กระบวนการการผลิตอาหารแช่แข็ง โดยเฉพาะบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิต สำหรับระบบน้ำสามารถใช้แสงเหนือม่วงส่องระยะสั้นๆ ก็สามารถฆ่าเชื้อได้ แต่สำหรับระบบวัตถุดิบและอาหารแช่แข็งนั้น น่าจะเกิดจากการปนเปื้อนจากคนที่เกี่ยวข้อง ดังนั้น หากมีการตรวจเช็ด ให้การรักษาอย่างสม่ำเสมอ พร้อมๆ กับการให้ความรู้ทางสุขอนามัย จนบุคลากรทุกคนที่เกี่ยวข้องตระหนัก มีทัศนคติที่ดี และ ปฏิบัติตนให้ปราศจากเชื้อโปรโตซัว เพื่อป้องกันไม่ให้เป็นแหล่งแพร่เชื้อไปสู่อาหารส่งออกของไทย

จากผลการวิจัยข้างต้นกลุ่มผู้วิจัยเชื่อว่าเทคนิค SPR เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง เป็นวิธีที่สามารถตรวจสอบปฏิกิริยาแบบ labeling free และเมื่อพัฒนาต่อจะสามารถตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อพยาธิโปรโตซัวชนิดต่างๆ ในน้ำได้แบบ real time monitoring ได้ จึงสมควรได้รับการสนับสนุนเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องมือที่ตรวจหาการปนเปื้อนได้สะดวก ง่าย ราคาไม่แพง และสามารถตรวจได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

The globalization of Free Trade Agreement (FTA) on food products increases the possibility of more extensive transmission of biological contamination. Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system was introduced as a tool to prevent protectionistic trade. As a major seafood exporter to various regions of the world, Thailand is considering to include the HACCP system for the frozen food industries.

Hazard identification of protozoa was performed in raw materials, food products and water used in the industry in 6 Provinces in the central part of Thailand, namely Samut Sakon, Samut Prakhan, Samut Songkham, Nonthaburee, Nakhonpratom and Rachaburee. Raw and treated water samples were collected by large volume technique through a filter with 1 μm nominal porosity. Immunomagnetic separation (IMS) for *Giardia* and *Cryptosporidium* was then applied to eluted and concentrated water. Identifications were individually performed by immunofluorescent. There is no contamination in any treated water sample. In raw water, *Giardia* was found in 66.7% whilst *Cryptosporidium* was found in 30.1%.

Raw materials and final food products were also collected for contamination detection by PCR technique. *Giardia* and *Cryptosporidium* was also identified in raw materials as equal as 23.8%, while in final food products were found *Giardia* and *Cryptosporidium* as12.5% and 29.2%, respectively. The viability of recovered protozoa was analyzed by the reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). The giardin beta-subunit mRNA gene was selected as the target. Positive RT-PCR for *Giardia* recovered from raw materials and food products indicates viability. The effect of ultra violet light with the concentration of 10 mWs/cm^2 for 2 minutes inactivated viable recovered protozoa, but the sun light exposure was unable to control those viable biohazards.

Recovered protozoa were genotypede and found to be a human genotype indicated that human were source of contamination in frozen food production.

Surface Plasmon Resonance (SPR) was applied as a labeling free technique to test the specificity reaction between *Cryptosporidium* and anti-*Cryptosporidium*. It was found that SPR technique was a real time monitoring and very specific to antigen-antibody binding. The use of SPR