การประยุกต์การวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อควบคุม *Listeria* spp. ในเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภค

นางสาวสุมาลิน เล็กเริงสินธุ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

APPLICATION OF RISK ANALYSIS FOR CONTROLLING *Listeria* spp. IN READY-TO-EAT CHICKEN MEAT

Miss Sumalin Lekroengsin

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Food Technology

Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

490689

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประยุกต์การวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อควบคุม *Listeria* spp. ในเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภค
โดย	นางสาวสุมาลิน เล็กเริงสินธุ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาดุษฎีบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑิรา นพรัตน์)

.... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

.... กรรมการ

(นายสัตวแพทย์เกษม ตระกูลเลิศวิไล)

สุมาลิน เล็กเริงสินธุ์ : การประยุกต์การวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อควบคุม *Listeria* spp. ในเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภค. (APPLICATION OF RISK ANALYSIS FOR CONTROLLING *Listeria* spp. IN READY-TO-EAT CHICKEN MEAT) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สุวิมล กีรติพิบูล, 100 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงตามแนวทางของ Codex ในควบคุมการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคที่ผลิตจากโรงงานแห่งหนึ่ง ในการประเมินความเสี่ยงได้ตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการให้ความร้อน การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อมการผลิต และหาความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อมการผลิต ซึ่งแบ่งเป็น 3 โซนตามระยะห่างของพื้นผิวและผลิตภัณฑ์ ผลการวิจัยพบว่ากระบวนการให้ความร้อนของโรงงานมีประสิทธิภาพและเพียงพอต่อการทำลาย *Listeria* spp. แต่พบว่าผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีการปนเปื้อนโดยความชุกในการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่งเท่ากับ 3.23 และ 3.25% แต่ไม่พบการปนเปื้อน *Listeria* spp.ในผลิตภัณฑ์ประเภททอด เมื่อหาความสัมพันธ์ของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อมพบว่าการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เป็นผลมาจากการปนเปื้อน *Listeria* spp. จาก โซน 1 มากกว่าในโซนที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในโซนที่ 2 และ 3 ก็ส่งผลต่อการปนเปื้อนในโซนที่ 1 ด้วย จากนั้นหาปัจจัยที่มีผลต่อการล้างและฆ่าเชื้อพื้นผิวสัมผัสในโซนที่ 1 โดยการแปรอุณหภูมิน้ำล้างเป็น 40 50 และ 60°C สารทำความสะอาดความเข้มข้น 0.5, 1, และ 2%(v/v) ระยะเวลาสัมผัส 5 10 และ 15 นาที และความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 1.25, 0.5, และ 0.25%(v/v) ระยะเวลาสัมผัส 5 10 และ 20 นาที พบว่าการล้างน้ำ และสารทำความสะอาด ไม่ส่งผลต่อความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 แต่ปัจจัยที่ช่วยลดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากโซนที่ 1 สู่ผลิตภัณฑ์คือ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 1.25, 0.5, และ 0.25%(v/v) และระยะเวลาสัมผัส 20 10 และ 5 นาที จากนั้นสร้างแบบจำลองของ *Listeria* spp. ที่เหลือรอดหลังการล้างและฆ่าเชื้อ แต่โอกาสในปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ เป็นผลมาจากโอกาสการเหลือรอดของ *Listeria* spp. หลังการล้างและฆ่าเชื้อ คูณด้วย โอกาสที่ *Listeria* spp. จากโซนที่ 2 และ 3 จะปนเปื้อนมาสู่พื้นผิวโซนที่ 1 และคูณด้วยโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 ทั้งหมดจะเจริญเติบโต ซึ่งการหาโอกาสที่ *Listeria* spp. จากโซนที่ 2 และ 3 จะปนเปื้อนมาสู่พื้นผิวโซนที่ 1 และโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 ทั้งหมดจะเจริญเติบโตนั้น ได้จากการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 และเวลาที่ใช้ในการผลิต 0 10 และ 20 ชั่วโมง จากผลการประเมินความเสี่ยง พบว่าสภาวะที่ทำให้โอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์มีน้อยที่สุด คือ การใช้ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 1.25%(v/v) ระยะเวลาสัมผัส 20 นาที และใช้เวลาในการผลิตติดต่อกันน้อยที่สุดและเหมาะสมต่อธรรมชาติการผลิต (5 ชั่วโมง) แต่ผู้จัดการความเสี่ยงของโรงงานแห่งนี้เลือกใช้ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 0.25%(v/v) ระยะเวลาสัมผัส 20 นาที และใช้เวลาในการผลิต 20 ชั่วโมง เมื่อประเมินผลหลังการจัดการความเสี่ยงตามสภาวะที่โรงงานเลือกพบว่าการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่งลดลงเหลือ 1.04 และ 1.14% ตามลำดับ ความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 โซนที่ 2 และโซนที่ 3 ลดลงจาก 5.13 13.58 และ 30.74% เหลือ 2.00 2.34 และ 5.08% ตามลำดับ

ภาควิชา ....เทคโนโลยีทางอาหาร......... ลายมือชื่อนิสิต ......สุมาลิน เล็กเริงสินธุ์......
สาขาวิชา ....เทคโนโลยีทางอาหาร......... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ......สุวิมล กีรติพิบูล
ปีการศึกษา ....2549......................

4773873323 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD: *Listeria* spp./ READY-TO-EAT CHICKEN MEAT/ RISK ANALYSIS

SUMALIN LEKROENGSIN : APPLICATION OF RISK ANALYSIS FOR CONTROLLING *Listeria* spp. IN READY-TO-EAT CHICKEN MEAT. THESIS ADVISOR: ASSOC.PROF. SUWIMON KEERATIPIBUL, Ph.D., 100 pp.

This research aimed to apply risk analysis principles adhering to codex guidelines in controlling *Listeria* spp. contamination in RTE chicken meat products in a plant. In assessing the risk, efficacy of cooking processes was confirmed and the contamination of *Listeria* spp. in products and on environmental surfaces was determined. Relation between both contamination modes was also identified. Environmental surfaces were divided into 3 zones according to the distance from the products. The results confirmed that cooking process was effective and adequate for eliminating *Listeria* spp. Although, contamination of *Listeria* spp. on finished products was encountered after all at the prevalence of 3.23 and 3.25% on roasted and steamed products with the exception of fried product. Relation between products and environmental surfaces contaminations showed that prevalence of *Listeria* spp. on product was more affected by zone 1 than zone 2 and 3. Also, the contamination of *Listeria* spp. on zone 1 was affected by those on zone 2 and 3. Moreover, the factors affecting zone 1 surface cleaning and sanitizing were determined by varying water temperature at 40, 50, and 60°C; detergent concentration of 0.5, 1, and 2%v/v at contact time of 5, 10, and 15 min. and sanitizer concentration of 0.25, 0.5, and 1.25%v/v at contact time of 5, 10 and 20 min. The results revealed that prevalence of *Listeria* spp. on zone 1 surfaces was unchanged after cleaning using water and detergent. However, the only factor that reduced prevalence of *Listeria* spp. on zone 1 surface was the sanitizer, at concentration of 0.25, 0.5, and 1.25%v/v and contact time of 5, 10 and 20 min. At this point, modeling the survival of *Listeria* spp. following cleaning and sanitizing was performed. Nevertheless, the probability of *Listeria* spp. contamination on products was derived from the multiplication of probability of *Listeria* spp. survived following cleaning and sanitizing, probability of *Listeria* spp. contamination from zone 2 and 3 to zone 1 and probability of growth of *Listeria* spp. aggregated on zone 1. Probability of growth was obtained from the relation between prevalence of *Listeria* spp. on zone 1 surface and production time of 0, 10 and 20 hr. Sanitizing zone 1 surface by 1.25%v/v sanitizer for 20 min preceding to production run continuously at minimal acceptable time (5 hr.) was the condition that offered minimal *Listeria* spp. contamination on product resulting from risk assessment. Though, 0.25%v/v sanitizer at contact time of 20 min. and production time of 20 hr. was chosen by risk manager of the plant. The evaluation of risk management implication conformed to selected option indicated that prevalence of *Listeria* spp. on roasted and steamed product was reduced to 1.04 and 1.14%. Furthermore, prevalence of *Listeria* spp. on zone 1, 2, and 3 was reduced from 5.13, 13.58, and 30.74% to 2.00, 2.34, and 5.08%, respectively.

Department ......Food Technology...... Student's signature ....Sumalin L.............

Field of study ....Food Technology...... Advisor's signature ....

Academic year ....2006..............

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนจาก "ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย" กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ก็ด้วยความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินงานวิจัยมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รมณี สงวนดีกุล ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา ที่ร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งกรุณาชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑิรา นพรัตน์ ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่กรุณาสละเวลาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลและชี้แนะเกี่ยวกับการใช้สถิติ และการสร้างสมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ และนายสัตวแพทย์เกษม ตระกูลเลิศวิไล กรรมการสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่กรุณาสละเวลาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้ความอนุเคราะห์ ข้อมูลเกี่ยวกับอุตสาหกรรมการผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคของประเทศไทย พร้อมทั้งอนุเคราะห์ให้ผู้วิจัยได้ศึกษา และทำงานวิจัยตลอดระยะเวลาทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์นภัสระพี เหลืองสกุล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ที่สละเวลาให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการออกแบบการทดลอง และสถิติที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ณัฐ เทพหัตถี สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยมาโดยตลอด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ซ
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ฏ
บทที่	
1 บทนำ	1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 *Listeria* spp.	4
2.2 โรค listeriosis	6
2.3 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์อาหาร	11
2.4 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ไก่ดิบและสุก	16
2.5 การควบคุมและการทำลาย *Listeria* spp.	19
2.6 มาตรฐานด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกส่งออก	23
2.7 การวิเคราะห์ความเสี่ยง (risk analysis)	25
3 วิธีดำเนินงานวิจัย	41
3.1 วัตถุดิบ	41
3.2 วัสดุและอุปกรณ์	41
3.3 สารเคมี	41
3.4 วิธีทดลอง	42
3.4.1 ตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการให้ความร้อนในการทำลาย *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภท อบ นึ่ง และทอด	42
3.4.2 หาความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภท อบ นึ่ง และทอด	42

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า

3.4.3 หาความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. บริเวณพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในส่วนหลังการปรุงสุก 43

3.4.4 หาความสัมพันธ์ของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายและบริเวณพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในการผลิต 44

3.4.5 ประเมินความเสี่ยง 44

3.4.6 การเสนอวิธีการสำหรับจัดการความเสี่ยงและทำการสื่อสารความเสี่ยง 48

4 ผลการดำเนินงานวิจัยและการวิจารณ์ผล 49

4.1 การตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการให้ความร้อนในการทำลาย *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภท อบ นึ่ง และทอด 49

4.2 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย 50

4.3 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตในส่วนหลังการปรุงสุก 51

4.4 ความสัมพันธ์ของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย และบริเวณพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในการผลิต 61

4.5 ประเมินความเสี่ยง 62

4.6 การจัดการความเสี่ยงและทำการสื่อสารความเสี่ยง 77

5 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย 82

รายการอ้างอิง 84

ภาคผนวก 93

ภาคผนวก ก 94

ภาคผนวก ข 99

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 100

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 คุณลักษณะทางชีวเคมีและการเติบโตของจุลินทรีย์ใน genus *Listeria* 4

2.2 ปัจจัยที่จำกัดการการเติบโตของ *Listeria* spp. 5

2.3 ความแตกต่างระหว่าง *L. monocytogenes* และ *Listeria* spp. ชนิดอื่น 5

2.4 จำนวนผู้ที่เป็นโรค listeriosis ขณะที่อยู่ในภาวะของการป่วยต่างๆ 9

2.5 ตัวอย่างการระบาดของ *L. monocytogenes* ในช่วงเวลาที่ผ่านมา 10

2.6 การพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อหมูและวัวดิบ 11

2.7 การพบ *L. monocytogenes* ในน้ำนมดิบ 12

2.8 การพบ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและวัว 12

2.9 การพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อสัตว์ปีก 16

2.10 การพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก 18

2.11 ค่า D-value ของ *L. monocytogenes* 20

2.12 ผลของสารฆ่าเชื้อในกลุ่มคลอรีน ที่มีต่อ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่า pH เท่ากับ 7 22

2.13 ผลของสารฆ่าเชื้อในกลุ่มที่ไม่ใช่คลอรีนที่มีต่อ *L. monocytogenes* 23

2.14 มาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกเพื่อการส่งออก 24

2.15 อัตราการเป็น Hemolytic Uremic Syndrome และอัตราการเสียชีวิต จากการป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อจาก *E. coli* O157:H7 29

2.16 แบบจำลองในส่วนของการแปรรูปและการบด 32

2.17 แบบจำลองในส่วนของการเก็บรักษาและปรุงสุก 33

2.18 แบบจำลองในส่วนของการบริโภค 33

2.19 การอธิบายเป้าหมายด้านความปลอดภัยอาหารและเกณฑ์จุลินทรีย์ 38

2.20 โอกาส ในการพบ *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักดิบ ณ จุดบริโภค 39

4.1 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกหลังผ่านๆ กระบวนการให้ความร้อนทันที 49

4.2 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายของเนื้อไก่ปรุงสุก พร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง 50

ตารางที่ หน้า

4.3 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และบนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 1 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง 52
4.4 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 2 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง 53
4.5 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 3 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง 54
4.6 ปริมาณ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด หลังการล้างด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ 68
4.7 ปริมาณ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด หลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด Foamyclean™ ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสต่างๆ 69
4.8 ปริมาณ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด หลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ Topex 91-66™ ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสต่างๆ 70
4.9 รายละเอียดของแบบจำลอง 75
4.10 ภาวะในการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และเวลาในการผลิตที่ใช้เป็นทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงในการปนเปื้อน *Listeria* spp. สู่ผลิตภัณฑ์ 78
4.11 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง 80
4.12 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง 80

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กระบวนการทางพยาธิวิทยา ของการเกิดโรค listerosis	7
2.2	ขั้นตอนการบุกรุกเข้าสู่เซลล์ของ *L. monocytogenes*	8
2.3	ตัวอย่างการแบ่งพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตออกเป็นโซนต่างๆ	15
2.4	องค์ประกอบของการวิเคราะห์ความเสี่ยง	25
2.5	Beta-binomial dose-response model	28
2.6	แผนผังของการประเมินการสัมผัส *E. coli* O157:H7 ในแฮมเบอเกอร์	31
2.7	Spearman rank correlation ระหว่างค่าประมาณของโอกาสการป่วย และปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ15 ปัจจัย	34
2.8	ปัจจัยเสี่ยงของการพบ *Enterobacter aerogenes* บนมือพนักงาน	35
2.9	Prevalence-dose equivalence curve	37
3.1	แผนผังการแบ่งโซนของสิ่งแวดล้อมการผลิต	43
4.1	ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง และในสิ่งแวดล้อมการผลิตที่เวลาการผลิตต่างๆ	56
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และในสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนต่างๆ	57
4.3	ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง และในสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนต่างๆ	57
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 และความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 2 และโซนที่ 3	59
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ที่เวลาการผลิตต่างๆ	60
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง และความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ที่เวลาการผลิตต่างๆ	60
4.7	ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1	63

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่		หน้า
4.8	การทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอด และโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1	65
4.9	การทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง และโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1	66
4.10	ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 หลังจากล้างด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	67
4.11	ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือดรอดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 หลังจากล้างด้วยสารทำความสะอาด Foamyclean™	68
4.12	ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือดรอดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 หลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ Topex 91-66™	70
4.13	ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 จะเพิ่มขึ้นและเวลาในการผลิต	72
4.14	โอกาสที่ผลิตภัณฑ์จะได้รับสัมผัส *Listeria* spp. จากพื้นผิวในโซนที่ 1 ที่ได้จากการคำนวณ และที่ได้จากการสังเกต	73
4.15	ปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอด	76
4.16	ปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง	77
4.17	ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง ก่อนและหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง	80
4.18	ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 1, 2 และ 3 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง ก่อนและหลังการประยุกต์ใช้หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยง	81

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

วิกฤตการณ์ การระบาดของไข้หวัดนก (Avian Influenza; AI) ส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของกลุ่มประเทศผู้ส่งออกเนื้อสัตว์ปีกเป็นอย่างมาก และก่อให้เกิดการขาดแคลนแหล่งอาหารที่ให้โปรตีนในกลุ่มประเทศผู้นำเข้า เมื่อวันที่ 23 มกราคม 2546 รัฐบาลไทยได้ประกาศสภาวะการเกิดโรคระบาดของไข้หวัดนกในประเทศ เป็นผลให้การส่งออกเนื้อไก่สดไปยังต่างประเทศถูกระงับ ทำให้รายได้จากการส่งออกเนื้อไก่สดแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง ลดลงจาก 24,774.51 ล้านบาท (ปี 2546) เหลือเพียง 1,744.19 ล้านบาท ในปี 2547 และ 243.17 ล้านบาท ในปี 2548 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2549) ซึ่งกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นอย่างมาก ผู้ผลิตจึงปรับตัวโดยการผลิตเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภค (ready-to-eat) แช่เยือกแข็งแทนการส่งออกเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็ง เพื่อให้สามารถส่งออกเนื้อไก่ไปยังประเทศคู่ค้าได้

ผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภค เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงต่อปัญหาด้านความปลอดภัยค่อนข้างสูง เนื่องจากไม่มีการปรุงให้สุกอีกก่อนการบริโภค หรือผู้บริโภคอาจจะมีการอุ่นก่อนการบริโภค แต่ความร้อนที่ใช้ในการอุ่นมักจะไม่เพียงพอต่อการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค

ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภค มีมากมาย ทั้งจากกระบวนการผลิตที่ไม่เหมาะสม และจากสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตที่ไม่สะอาด ดังนั้นโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ Codex จึงได้แนะนำให้ประเทศสมาชิกนำหลักการทั่วไปว่าด้วยสุขลักษณะอาหาร (general principles of food hygiene) ไปใช้ในการควบคุมสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต และหลักการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point; HACCP) ไปใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิต เพื่อให้สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการนำหลักการดังกล่าว มาใช้ในการควบคุมการผลิตแล้วก็ตาม ก็ยังพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ เช่น *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. เป็นต้น ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภคอยู่บ่อยครั้ง

L. monocytogenes เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่ส่งผลกระทบอย่างมากต่ออุตสาหกรรมอาหารพร้อมบริโภคแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง เนื่องจากสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิต่ำจึงมักเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตและปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อน *L. monocytogenes* ทำให้เกิดโรค listeriosis ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตสูงถึงประมาณร้อยละ 30 (Yucel et al., 2004) ดังนั้นผู้ผลิตในอุตสาหกรรมอาหาร และ

นักวิจัยทั่วโลกจึงให้ความสำคัญกับปัญหาการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมบริโภคประเภทแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง โดยมีการศึกษาถึงแหล่งของการปนเปื้อน และได้มีการเสนอแนวทางควบคุม *L. monocytogenes* ไว้มากมาย แต่ผลการวิจัยพบเพียงประเภทของผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อน และบริเวณที่มักจะพบเชื้อ *L. monocytogenes* การแก้ปัญหาเท่าที่ผ่านมาจึงเป็นการแก้ไขปัญหาจากปลายเหตุ กล่าวคือเมื่อพบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ก็จะให้ความร้อนใหม่เพื่อฆ่าเชื้อ หรือทำลายผลิตภัณฑ์ และเมื่อพบในสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตก็จะล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อบริเวณนั้นๆ ทำให้แนวทางควบคุมที่มีอยู่เป็นแนวทางควบคุมเชิงแก้ไข ไม่ใช่เชิงป้องกันจึงไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ประเมินความเสี่ยง (risk assessment) ของการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง จากสภาพแวดล้อมการผลิต โดย
   1.1 หาแหล่งของการปนเปื้อน *Listeria* spp.
   1.2 สร้างแบบจำลองการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์
2. ดำเนินการสื่อสารความเสี่ยง (risk communication) และจัดการความเสี่ยง (risk management)
3. ประเมินผลของการสื่อสารและการจัดการความเสี่ยงในการควบคุม *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ประยุกต์การวิเคราะห์ความเสี่ยง ในการควบคุมการปนเปื้อน *Listeia* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็งประเภท นึ่ง อบ และย่าง ในโรงงานผลิตเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง ซึ่งได้รับการรับรองระบบการใช้หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practices; GMP) และระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (Hazard Analysis and Critical Control Point; HACCP) เป็นที่เรียบร้อยแล้ว การวิเคราะห์ความเสี่ยง ประกอบด้วยการประเมินความเสี่ยงเพื่อหาโอกาสของการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ โดยศึกษาปัจจัยที่มีต่อการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ และหาน้ำหนักของปัจจัยต่างๆ พร้อมทั้งสื่อสารและจัดการความเสี่ยง เพื่อป้องกัน และกำจัดปัจจัยที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนนั้น รวมถึงประเมินผลของการใช้หลักการดังกล่าวในการลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถใช้เป็นแนวทางในการควบคุมการปนเปื้อน *Listeria* spp. และจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นๆ ในโรงงานอุตสาหกรรมที่ผลิตผลิตภัณฑ์พร้อมบริโภคแช่เย็นและแช่เยือกแข็งประเภทต่างๆ ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 *Listeria* spp.

Listeria spp. เป็นจุลินทรีย์แกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง ขนาดสั้น ไม่สร้างสปอร์ เติบโตได้ทั้งที่อุณหภูมิต่ำและในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน หรือมีออกซิเจนในปริมาณที่ต่ำมาก เคลื่อนที่ได้เมื่ออยู่ในที่ที่มีอุณหภูมิ 20 ถึง 25 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Dons et al., 1992; Farber, 1991; Van Renterghem, 1991; MacGowan, 1994) โดยคุณลักษณะทางชีวเคมีและการเติบโตของจุลินทรีย์ใน genus *Listeria* แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณลักษณะทางชีวเคมีและการเติบโตของจุลินทรีย์ใน genus *Listeria* (ICMSF, 1996)

คุณลักษณะ	ผลของปฏิกิริยา
activity ของเอนไซม์ catalase	+
ความต้องการออกซิเจน	facultative
การเติบโต ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	+
การเคลื่อนที่ ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส	+
การเคลื่อนที่ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	-
ปฏิกิริยากับ methyl red	+
ปฏิกิริยา Voges-Proskauer	+
การสร้างก๊าซ hydrogen sulfide	-
การผลิตกรดจากน้ำตาลกลูโคส	-
การผลิต indol	-
การใช้ citrate	-
activity ของเอนไซม์ urease	-
manitol	-
nitrate	-
gelatin	-

ภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *Listeria* spp. มากที่สุด คือ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ pH เท่ากับ 7.0 โดยเมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสมจะมีระยะเวลาการแบ่งตัว (generation time) ประมาณ 45 นาที ตารางที่ 2.2 แสดงปัจจัยที่จำกัดการเติบโตของ *Listeria* spp.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2 ปัจจัยที่จำกัดการการเติบโตของ *Listeria* spp. (ICMSF, 1996)

a_w	% เกลือ	pH		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
ต่ำสุด	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**สูงสุด**	**ต่ำสุด**	**สูงสุด**
0.92	10	4.4	9.4	-0.4	45

Listeria spp. ประกอบด้วย 6 ชนิด (species) คือ *L. monocytogenes, L. seeligeri L. welshimeri, L. innocua, L. ivanovii* และ *L. grayi* โดยการแบ่งแยก *Listeria* spp. แต่ละชนิดจะแยกโดยใช้ hemolytic phenotype และการหมักน้ำตาลที่จำเพาะ (Rocourt, 1988; Farber and Peterkin, 1991) สำหรับความแตกต่างระหว่าง *L. monocytogenes* และ *Listeria* spp. ชนิดอื่นๆ ที่แบ่งโดยใช้ความสามารถในการหมักและสร้างกรดจากน้ำตาล mannitol, rhamnose และ xylose รวมทั้งการทดสอบ CAMP test (Christie Atkins Munch-Petersen phenomenon) และดูปฏิกิริยา β-haemolysis แสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ความแตกต่างระหว่าง *L. monocytogenes* และ *Listeria* spp. ชนิดอื่น (ICMSF, 1996)

ชนิดของ	**การหมักน้ำตาล**			CAMP test		β-haemolysis
Listeria spp.	M	R	X	SA	RE	
L. monocytogenes	-	+	-	+	-	+
L. innocua	-	+/-	-	-	-	-
L. welshimeri	-	+/-	+	-	-	-
L. seeligeri	-	-	+	+	-	+
L. ivanovii	-	-	+	-	+	+
L. grayi	+	+/-	-	-	-	-

M = mannitol, R = rhamnose, X = xylose

SA = *Staphylococcus aureus*, RE = *Rhodococcus equi*

+, -, +/- คือ ปฏิกิริยาให้ผลเป็นบวก, ลบ และเป็นได้ทั้งบวกและลบ (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก)

Listeria spp. ชนิดที่ก่อให้เกิดโรค คือ *L. monocytogenes* โดยทำให้เกิดการติดเชื้อได้ทั้งในคนและสัตว์ (Gellin and Broome, 1989; Lorber, 1997) แต่ *L. monocytogenes* ไม่ได้เป็นสายพันธุ์ก่อโรคทั้งหมด (Tompkin, 2002) ซึ่ง Faber และ Peterkin (2002) พบว่า serotypes ที่ก่อโรค คือ 4b 1/2a และ 1/2 b โดยก่อให้เกิดโรค listeriosis ได้มากถึงร้อยละ 89 ถึง 96

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

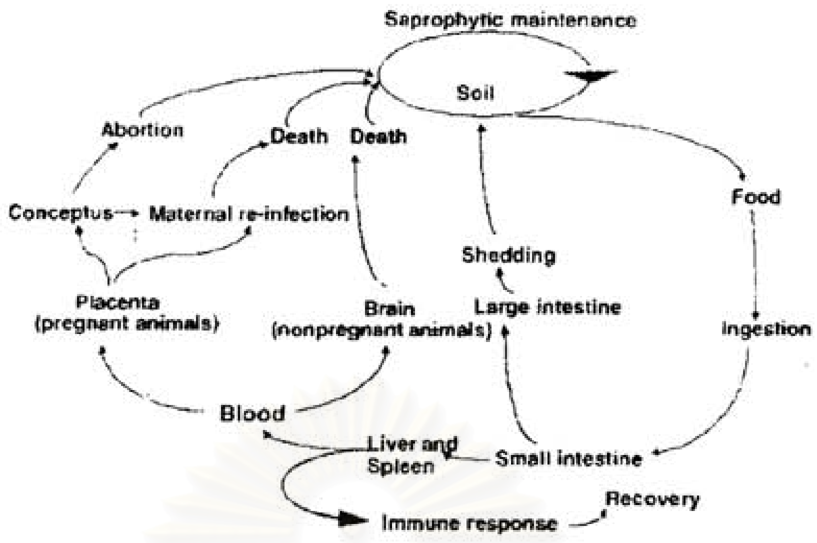
2.2 โรค listeriosis

คนเริ่มรู้จักโรค listeriosis ในช่วงทศวรรษที่ 1980 เนื่องจากเกิดการระบาดของโรค listeriosis อย่างรุนแรงในอเมริกาเหนือ และยุโรป เมื่อมีการค้นหาสาเหตุ พบว่าสาเหตุของการระบาดมาจากอาหาร (Bille, 1990; Broome et al., 1990) โรค listeriosis เป็นโรคที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน *L. monocytogenes* โรคนี้มีโอกาสพบค่อนข้างยาก แต่เมื่อเป็นแล้วจะมีความรุนแรงและมีอัตราการเสียชีวิตที่สูงเมื่อเทียบกับโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นที่พบในอาหาร ซึ่งจะส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อประชากรในกลุ่มจำเพาะบางกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อโรคมากกว่าประชากรทั่วไป เช่น หญิงมีครรภ์ เด็กที่อยู่ในครรภ์มารดา เด็กทารกแรกคลอด หรือผู้สูงอายุ ถึงแม้ว่าจะมีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในอาหารเป็นจำนวนมาก แต่ในการระบาดขนาดใหญ่ หรือการป่วยเป็นรายๆ ไปนั้นส่วนใหญ่จะเกิดจากอาหารประเภทพร้อมบริโภคและมักเป็นอาหารที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรมเสียเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสังคม และเศรษฐกิจสูงที่สุดในบรรดาโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นที่พบในอาหาร (Roberts, 1989; Roberts and Pinner, 1990)

โรค listeriosis แบ่งตามลักษณะทางคลินิคได้เป็น 2 ประเภท คือ invasive และ non-invasive โดยทั่วไป invasive listeriosis จะเกิดการติดเชื้อที่เนื้อเยื่อของลำไส้ และลุกลามไปยังส่วนอื่นๆ ของร่างกาย เช่น รกของเด็กในครรภ์ ระบบประสาทส่วนกลาง เลือด หรือหลายส่วนร่วมกัน ผู้ป่วยจะมีอัตราการเสียชีวิตสูง (Mead et al., 1999)

พบการระบาดของโรค listeriosis ประเภท non-invasive หลายครั้ง ผู้ป่วยจะมีอาการของ gastroenteritis เช่น ท้องร่วง ปวดหัว และ ปวดกล้ามเนื้อ (Reido et al., 1994; Salamina et al., 1996; Dalton et al., 1997; Aureli et al., 2000)

สำหรับกระบวนการทางพยาธิวิทยา โรค listeriosis เกิดขึ้นโดยเมื่อร่างกายได้รับ *L. monocytogenes* ปนเปื้อนมากับอาหารที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย *L. monocytogenes* จะก่อตัวอยู่ในลำไส้ และผ่านเยื่อบุลำไส้เข้าไป หลังจากนั้น *L. monocytogenes* จะเริ่มแบ่งตัวในตับและม้ามแล้วเกิดการกระจาย (ขึ้นกับ T cell-mediated immunity ของผู้ที่ได้รับเชื้อ) หรือกระจายไปตามกระแสเลือดสู่อวัยวะต่างๆ ในระหว่างที่ *L. monocytogenes* เข้าสู่ลำไส้นั้น ผู้ที่ได้รับเชื้อมักมีอาการลำไส้อักเสบ และการที่ *L. monocytogenes* แบ่งตัวในตับและม้าม ผู้ที่ได้รับเชื้อจะมีอาการคล้ายเป็นไข้หวัด เช่น มีไข้ และ หนาวสั่น ซึ่งผู้ที่ติดเชื้อต้องได้รับการรักษาโดยทันที (Orndorff et al., 2006) สำหรับวงจรของการติดเชื้อ *L. monocytogenes* และการเกิดโรค listeriosis แสดงในรูปที่ 2.1

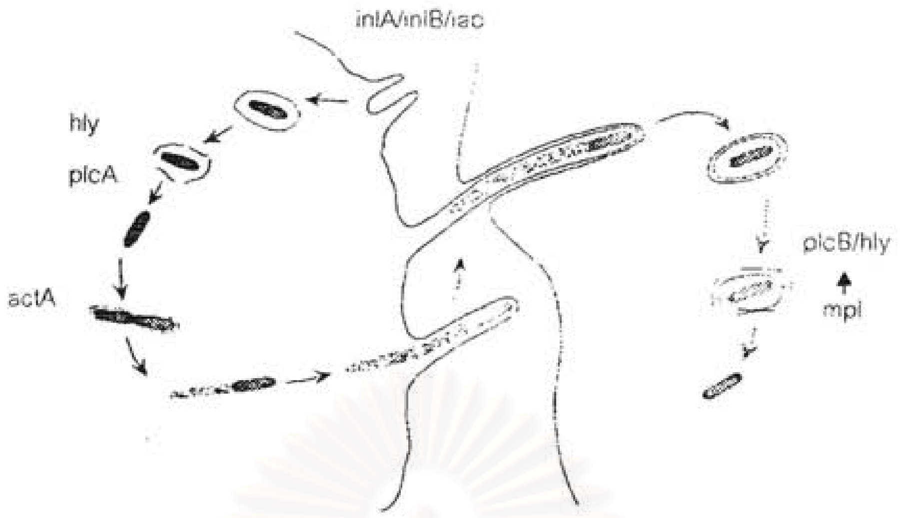


รูปที่ 2.1 กระบวนการทางพยาธิวิทยา ของการเกิดโรค listerosis (Orndorff et al., 2006)

กลไกการบุกรุกของ *L. monocytogenes* เมื่อเข้าสู่ร่างกายนั้นประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ

1. *L. monocytogenes* จากลำไส้จะเข้าสู่เซลล์
2. *L. monocytogenes* จะปล่อยเอนไซม์ ออกมาย่อยผนังของ vacuole ทำให้ *L. monocytogenes* ออกมาอยู่ใน mitochondria
3. *L. monocytogenes* เพิ่มจำนวน
4. *L. monocytogenes* ออกจากเซลล์ หนึ่งไปอีกเซลล์หนึ่ง

ยีน prfA ในเซลล์ของ *L. monocytogenes* จะผลิต internalin A (inlA) และ internalin B (inlB) ซึ่งเฉพาะเจาะจงกับ InlA receptor ที่ผนังเซลล์ของ host เกิดเป็น vacuole ล้อมรอบ *L. monocytogenes* หลังจากนั้นยีน hly และ plcA จะผลิตสาร Listeriosin O และ phospholiapse C (PLC) 2 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย phosphatidyl inositol (PI-PLC) และ phosphatidylcholine ((PC)-PLC) ตามลำดับ ซึ่ง Listeriosin O ทำให้ *L. monocytogenes* รอดพ้นจากการถูกจับกินจาก phagocytic vacuole (Portnoy et al., 1988; Gedde et al., 2000) สำหรับเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด จะทำงานร่วมกับ Listerosin O ในการย่อย vacuole แล้ว *L. monocytogenes* จะเพิ่มจำนวน และมีการปรับตัวมีผนังหุ้ม 2 ชั้น หลังจากนั้น *L. monocytogenes* จะเคลื่อนที่ไปที่ปลายของ actin polymerization tail เข้าไปยังเซลล์ข้างเคียง แล้ว *L. monocytogenes* จะออกจาก double membrane vacuole ตามด้วยเข้าสู่ การเพิ่มจำนวน แล้วออกจากเซลล์หนึ่ง ไปยังเซลล์ค้างเคียงอีกครั้ง การบุรุกของ *L. monocytogenes* เข้าสู่เซลล์แสดงดังในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการบุกรุกเข้าสู่เซลล์ของ *L. monocytogenes* (Farber and Peterkin, 2000)

เนื่องจากการกระจายของ *L. monocytogenes* ในร่างกายขึ้นกับระบบภูมิคุ้มกันของผู้ที่ได้รับเชื้อ ดังนั้นโรคนี้จึงส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อประชากรในกลุ่มจำเพาะบางกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อโรคมากกว่าประชากรทั่วไป ซึ่งประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อการเป็นโรค listeriosis ได้แก่ เด็ก คนชรา และหญิงมีครรภ์ โดย Shinomiya และคณะฯ (1986) Gellin และคณะฯ (1991) และ Low และ Donachie (1997) กล่าวว่าความเสี่ยงของการเกิดโรค listeriosis จะเพิ่มขึ้น ถ้าผู้ที่ติดเชื้ออยู่ในภาวะตั้งครรภ์ Armstrong (1995) รายงานว่า จากเอกสารทางการแพทย์ มีผู้ที่ป่วยด้วยโรค listeriosis เป็นผู้ที่ตั้งครรภ์ถึงประมาณร้อยละ 33 นอกจากนี้ผู้ที่มีความบกพร่องทางด้านภูมิต้านทาน ก็มีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นโรค listeriosis ได้เช่นกัน Farber และ Peterkin (2000) สรุปสถิติของผู้ที่เป็น listeriosis จำนวน 222 คนซึ่งอยู่ในภาวะของการป่วยด้วยโรคต่างๆ ดังตารางที่ 2.4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.4 จำนวนผู้ที่เป็นโรค listeriosis ขณะที่อยู่ในภาวะของการป่วยต่างๆ (Farber and Peterkin, 2000)

สภาวะของการป่วย	**จำนวนผู้ป่วยที่พบ (ต่อจำนวนผู้ป่วย 222 คน)**
มะเร็ง	135 (61%)
ปลูกถ่ายอวัยวะ	33 (15%)
เบาหวาน	24 (11%)
ตับอักเสบเรื้อรัง	11 (5%)
AIDS	11 (5%)
โรคกล้ามเนื้อและ collagen	8 (3%)

จากตารางที่ 2.11 พบว่า ในจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรค listeriosis จำนวน 200 คนนั้น อยู่ในภาวะที่เป็นโรคมะเร็งสูงที่สุด สูงกว่าผู้ที่ปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ที่เป็นเบาหวาน ผู้ที่เป็นตับอักเสบเรื้อรัง ผู้ป่วย AIDS และ ผู้ที่เป็นโรคกล้ามเนื้อและ collagen จะเห็นว่าผู้ที่มีสภาพร่างกายอ่อนแอมีโอกาสเป็น listeriosis ได้มาก

Tompkin (2002) ได้รายงานการระบาดของโรค listeriosis และอาหารที่เป็นแหล่งปนเปื้อน แสดงดังตารางที่ 2.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างการระบาดของ *L. monocytogenes* ในช่วงเวลาที่ผ่านมา (Tompkin, 2002)

ปี	ประเทศ	สาเหตุ	ผู้ป่วย (คน)	เอกสารอ้างอิง
1975-1987	ฝรั่งเศส	ไม่ทราบสาเหตุ	≤167	Carbonelle et al. (1978)
1983-1987	สวิตเซอร์แลนด์	เนยเหลว	122	Bille (1990); O'Donoghue (1995)
1985	สหรัฐฯ	เนยเหลว	142	Linnan et al. (1988)
1985-1987	เดนมาก	ไม่ทราบสาเหตุ	35	Frederiksen et al. (1991)
1987-1988	อังกฤษ	Pate	>300	McLauchlin et al. (1990)
1992	ฝรั่งเศส	Pork tongue in aspic	279	Salvat et al. (1995)
1993	ฝรั่งเศส	Pork rillettes	39	Rocourt et al. (1993)
1994	สหรัฐฯ	นม	53	Dalton et al. (1997)
1994-1995	สวีเดน	Trout	6-8	Ericsson et al. (1997)
1995	ฝรั่งเศส	เนยเหลว	36	Goulet (1995); Rocourt and Bille (1997)
1998-1999	สหรัฐฯ	Franks	~100	Centers for Disease Control and Prevention (1999)
1998-1999	ฟินแลนด์	เนยแข็ง	18	Lyytikainen et al. (2000); Lyytikainen et al. (1999)
1999-2000	ฝรั่งเศส	Pork tongue in aspic	26	de Valk (2000); Dorozynski (2000)
2000	สหรัฐฯ	Pate	11	Carter (2000)
2000	สหรัฐฯ	สัตว์ปีกปรุงสุก	29	Centers for Disease Control and Prevention (2000)

จากตารางที่ 2.5 พบว่าเกิดการระบาดของโรค listeriosis ในหลายประเทศ การระบาดครั้งใหญ่เกิดขึ้นที่อังกฤษในช่วงปี 1987 และ 1988 ซึ่งพบว่าสาเหตุมาจากการปนเปื้อนใน Pate

2.3 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Listeria spp. เป็นจุลินทรีย์ที่กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปมักพบ *Listeria* spp. ในน้ำ สิ่งสกปรก น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ น้ำนมของทั้งแม่วัวปกติและที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ อุจจาระของคนและสัตว์ (Farber, 1991; Van Renterghem, 1991; MacGowan, 1994) พื้นผิวที่เปียกชื้นในโรงงานผลิตอาหารก็มีภาวะที่เหมาะสมต่อการกักเก็บและเติบโตของ *Listeria* spp. ซึ่งสามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง ดังนั้นโรงงานผลิตอาหารพร้อมบริโภคจึงมักพบปัญหาการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในส่วนแช่เย็นหรือแช่เยือกแข็งหลังกระบวนการให้ความ-ร้อนของโรงงาน (ICMSF, 1996)

Gibbons และคณะฯ (2005) สรุปว่าในผลิตภัณฑ์เนื้อปรุงสุกพร้อมบริโภคมีการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ร้อยละ 1.8 ถึง 48 ในขณะที่ Jay (1996) รายงานว่าในเนื้อที่ผ่านกระบวนการผลิตแล้ว พบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ประมาณ ร้อยละ 16 รวมทั้งยังได้สรุปการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในเนื้อดิบ โดยรวบรวมจากรายงานต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 การพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อหมูและวัวดิบ (Jay, 1996)

ปี	ผลิตภัณฑ์	จำนวน positive/ จำนวนที่ตรวจสอบ	ประเทศ	เอกสารอ้างอิง
1987	เนื้อหมู	4/31 (13%)	สวิตเซอร์แลนด์	Breer and Schopfer (1988)
1988	เนื้อหมู	23/58 (40%)	เยอรมัน	Karches and Teufel (1988)
1988	คอและหนังวัว	8/17 (47%)	เดนมาร์ก	Skovgaard and Morgan (1988)
1989	ขากวัว	21/90 (23%)	สหรัฐฯ	Bailey et al. (1989)
1990	เนื้อหมู	7/25 (28%)	จีน	Varabioff (1992)
1990	เนื้อวัวแช่เยือกแข็ง	15/90 (16%)	ออสเตรเลีย	Varabioff et al. (1992)
1993	ชิ้นส่วนวัว	42/67 (63%)	มาเลเซีย	Arumugaswamy et al. (1994)

นอกจากนี้ Farber และ Peterkin (2000) ได้สรุปการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในน้ำนมดิบ โดยรวบรวมจากรายงานต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 การพบ *L. monocytogenes* ในน้ำนมดิบ (Farber and Peterkin, 2000)

ปี	จำนวน possitive/ จำนวนที่ตรวจสอบ	ประเทศ	อ้างอิง
1985	43/95 (45.3%)	สเปน	Dominguez-Rodriguez et al. (1985)
1987	27/650 (4.2%)	สหรัฐฯ	Lovertt et al. (1987)
1988	6/455 (1.3%)	แคนนาดา	Farber et al. (1988)
1991	13/361 (3.6%)	อังกฤษ	Greenwood et al. (1992)

จากตารางที่ 2.7 จะพบว่ามีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในน้ำนมดิบอยู่ทั่วไปในประเทศต่างๆ โดยในปี 1985 พบการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในน้ำนมดิบที่สเปนสูงที่สุดซึ่งสูงถึงร้อยละ 45.3

นอกจากรายงานการพบ *L. monocytogenes* ในอาหารดิบดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีรายงานการพบ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ที่สุกแล้วเช่นกัน โดย Jay (1996) ได้สรุปการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและวัว โดยรวบรวมจากรายงานต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 การพบ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและวัว (Jay, 1996)

ปี	ผลิตภัณฑ์	จำนวน positive/ จำนวนที่ตรวจสอบ	ประเทศ	อ้างอิง
1976	เนื้อวัวอบ	10/68 (15%)	อังกฤษ	Gitter (1976)
1990	เนื้อหมูอบ	3/50 (6%)	สหรัฐฯ	Johnson (1990)
1992	แฮม	12/80 (15%)	ออสเตรเลีย	Wang et al. (1992)

จากตารางที่ 2.8 จะเห็นว่ามีการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อที่ปรุงสุกแล้ว คือ ในเนื้อวัวอบ, หมูอบ และแฮมร้อยละ 15, 6 และ 16 ตามลำดับ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่า *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อวัวอบจะเท่ากับที่พบในเนื้อวัวสดแช่แข็งซึ่งเป็นเนื้อดิบ ที่ระดับร้อยละ 15

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์สุกก็มีโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนโดย *Listeria* spp. ได้ในระดับที่สูงใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ดิบ ถึงแม้ว่าจะผ่านขั้นตอนการให้ความร้อนมาแล้วก็ตาม ดังนั้นจึงมีงานวิจัยจำนวนมากที่ได้ศึกษาหาที่มาของการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุกดังกล่าว โดยในปี 1999 Tompkin และคณะฯ ได้ศึกษาการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์อาหาร

และสรุปว่าการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เกิดจากสิ่งแวดล้อมการผลิต โดยเกิดจากการที่ผลิตภัณฑ์สัมผัสพื้นผิวที่มีการปนเปื้อน นอกจากนี้มีนักวิจัยจำนวนมากศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ซึ่งพบว่า *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ มาจากสิ่งแวดล้อมการผลิตในห้องแช่เย็น และห้องตัดแต่ง (Pociecha, 1991; Ven der Elen, 1993) มือ (Kerr et al.,1993) และอุปกรณ์การผลิต (Lawrence and Gilmour, 1995)

ในปี 2002 Tompkin สรุปเกี่ยวกับการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* จากสิ่งแวดล้อมการผลิตว่าสาเหตุหนึ่งของการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารปรุงสุก คือการปนเปื้อนจากอุปกรณ์ในส่วนที่เป็นร่องหรือตัวหมุน (roller) ของสายพาน สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีการชุบเกล็ดขนมปัง พบว่าการปนเปื้อนเกิดจากอุปกรณ์ในส่วนของล้อรับสายพาน (wheel bearing) สายพานที่ออกจาก spiral freezer สำหรับไส้กรอกปรุงสุก พบว่าการปนเปื้อนเกิดจากรอยแตกของเครื่องบรรจุ

Hoffman และคณะฯ (2003) ได้ทำการทดลองหาแหล่งของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในโรงงานผลิตปลารมควัน ซึ่งได้ทำการวิจัยหาแหล่งของการปนเปื้อนในโรงงานปลารมควัน 2 โรงงาน เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดย swab พื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต คือพื้นผิวที่สัมผัสอาหารและพื้นผิวอื่นๆ ซึ่งประกอบด้วยพื้นผิวของที่จับประตู สายของ condensate กล่องพลาสติกอุปกรณ์การผลิต และพื้นผิวของรางระบายน้ำ ผลการทดลองพบว่า ความชุกของ *Listeria* spp. ที่พื้นผิวที่สัมผัสอาหาร พื้นผิวอื่นๆ และพื้นผิวของรางระบายน้ำ เท่ากับ ร้อยละ 3.1, 32.3 และ 62.5 ตามลำดับ และพบว่าภายในโรงงานผลิตปลารมควันมีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในสิ่งแวดล้อมการผลิตทั้งโรงงาน

Victoria และคณะฯ (2004) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์กุ้งปรุงสุกพร้อมบริโภคจากสิ่งแวดล้อมการผลิตในโรงงาน โดยทำการทดลองในโรงงานกุ้งปรุงสุกพร้อมบริโภค จำนวน 2 โรงงานเป็นระยะเวลา 2 ปี และแบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ซึ่งประกอบด้วยการวิเคราะห์หาการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย และการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในสิ่งแวดล้อมการผลิต ซึ่งแบ่งพื้นที่เป็นพื้นผิวที่สัมผัสอาหาร ประกอบด้วย โต๊ะ ตะแกรง ถาด ถุงมือ และ/ หรือ ผ้ากันเปื้อน พื้นผิวที่ไม่สัมผัสอาหารซึ่งประกอบด้วย ประตู และพัดลมดูดอากาศ และสุดท้ายคือพื้นผิวของรางระบายน้ำ ผลการทดลองพบว่า มีการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายของกุ้งปรุงสุกพร้อมบริโภคร้อยละ 0 ถึง 1 ส่วน พื้นผิวที่สัมผัสอาหารไม่พบ *L. monocytogenes* แต่พบ *L. monocytogenes* ในพื้นผิวที่ไม่สัมผัสอาหาร ซึ่งมีความชุกเท่ากับร้อยละ 4.2 ถึง 9.2 และพบ *L. monocytogenes* ในรางระบายน้ำเท่ากับร้อยละ 12 ถึง 40 ซึ่งการที่ผลิตภัณฑ์ และพื้นผิวที่ไม่สัมผัสอาหาร ไม่พบ *L. monocytogenes* หรือ

พบน้อยมาก แสดงว่าระบบสุขอนามัยมีประสิทธิภาพ และได้มีการป้องกันการเกิด การปนเปื้อนข้าม แต่อย่างไรก็ตามยังคงพบ *L. monocytogenes* ที่รางระบายน้ำ

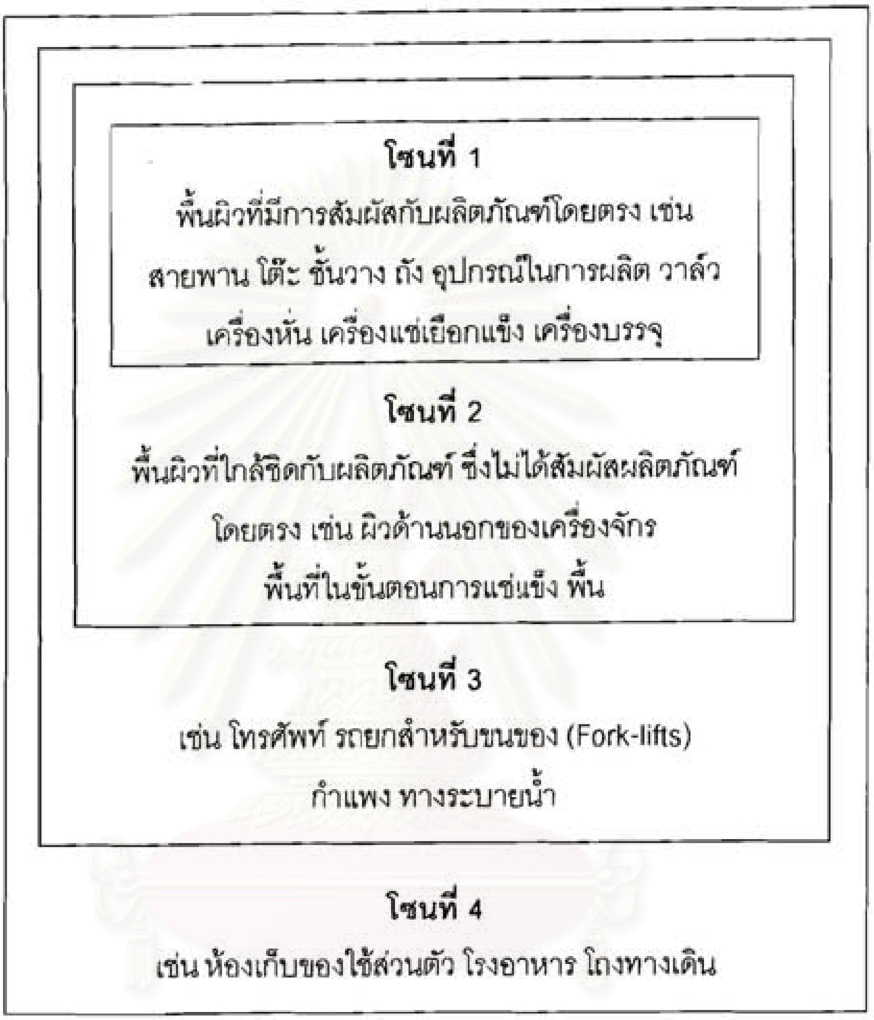
ในปี 2002 Tompkin แนะนำว่าในการควบคุม *L. monocytogenes* ให้ใช้การควบคุม *Listeria* spp. แทน และสรุปว่าในตัวอย่างที่พบ *Listeria* spp. จะพบ *L. monocytogenes* เป็นจำนวนร้อยละ 40 รวมทั้งแนะนำว่าในการควบคุม *L. monocytogenes* ในอุตสาหกรรมผลิตอาหาร ควรตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. แทน *L. monocytogenes* เนื่องจากการวิเคราะห์ *Listeria* spp. นั้นให้ผลที่เร็วกว่า ทำให้ดำเนินการแก้ไขปัญหาได้อย่างรวดเร็ว และเป็นการสร้างความตระหนักให้มีการแก้ไขปัญหาการปนเปื้อน ทุกครั้งที่มีการพบ *Listeria* ไม่ว่า species ใดก็ตาม ให้ถือปฏิบัติว่า มีความสำคัญเทียบเท่ากับการพบ *L. monocytogenes*

นอกจากนี้การแบ่งพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ตามความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สู่ผลิตภัณฑ์ จะทำให้สามารถควบคุมและกำจัดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยใช้การแบ่งพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตออกเป็นโซน หรือเรียกว่า zone concept ในการวางแผนการสุ่มเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมการผลิต ซึ่งการสุ่มเก็บตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบระบบ Good Hygiene Practice (GHP) ว่าสามารถควบคุมความเสี่ยงในการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ ในการแบ่งโซนของสิ่งแวดล้อมการผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว บริเวณที่ต้องควบคุมการปนเปื้อนอย่างเข้มงวดคือพื้นที่การผลิตหลังขั้นตอนการให้ความร้อนแล้ว และบริเวณที่ผลิตภัณฑ์เปิดสู่สภาพแวดล้อม โดยพื้นที่การผลิต ในระหว่างขั้นตอนการให้ความร้อนจนถึงขั้นตอนการบรรจุ เป็นบริเวณที่ต้องมีการควบคุมการปนเปื้อนอย่างเข้มงวดที่สุด

การแบ่งโซนมีหลักการ คือ ให้แบ่งพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตออกเป็นกลุ่ม ตามความเสี่ยงที่พื้นผิวนั้นจะก่อให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สู่ผลิตภัณฑ์ ดังตัวอย่างในรูปที่ 2.3 โดยโซนที่มีความเสี่ยงสูงสุด คือ โซนที่ 1 ซึ่งเป็นพื้นผิวที่มีการสัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรง โซนที่มีความเสี่ยงน้อยลงมา คือ โซนที่ 2 ซึ่งเป็นพื้นผิวที่ไม่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรงแต่อยู่ใกล้ชิดกับผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนโดยอ้อมได้ สำหรับโซนที่ 3 เป็นโซนที่มีความเสี่ยงน้อยโดยเป็นพื้นผิวที่อยู่ห่างออกมาจากผลิตภัณฑ์ แต่ต้องมีการดูแล และควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนข้ามไปยังโซนที่ 1 และโซนที่ 2 ได้ และสุดท้าย คือ โซนที่ 4 ซึ่งเป็นพื้นผิวที่อยู่นอกพื้นที่การผลิต แต่ก็ต้องมีการดูแลรักษาความสะอาดเพื่อให้ไม่เป็นการเพิ่มความเสี่ยงในการปนเปื้อนไปสู่โซนที่ 1 โซนที่ 2 และโซนที่ 3

การแบ่งโซนในแต่ละโรงงานจะขึ้นกับระดับความเสี่ยงของพื้นที่ที่จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจมีกี่โซนก็ได้ ในการแบ่งโซนต้องอาศัยความรู้ และประสบการณ์ที่ได้จากการทำงานจริงในโรงงาน การแบ่งโซนที่เหมาะสม จะทำให้แผนการสุ่มตัวอย่างให้มี

ประสิทธิภาพมากขึ้น โดยไม่ต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ และทำให้การจัดการในเรื่อง การล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อสิ่งแวดล้อมการผลิตเป็นไปอย่างเหมาะสม ซึ่งส่งผลให้การควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในโรงงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น (ICMSF, 2002)



รูปที่ 2.3 ตัวอย่างการแบ่งพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตออกเป็นโซนต่างๆ (ICMSF, 2002)

สิ่งแวดล้อมการผลิตในโรงงานผลิตอาหาร มักจะมีเศษอาหารติดอยู่ทำให้เกิดภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตและแพร่ขยายของจุลินทรีย์ ไปยังส่วนต่างๆ ของโรงงานรวมทั้งผลิตภัณฑ์สุดท้ายด้วย ดังนั้นจึงต้องล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์สู่ผลิตภัณฑ์ สุวิมล กีรติพิบูล (2545) สรุปว่าวัตถุประสงค์ของการล้างประกอบด้วย การลดปริมาณสัมบูรณ์ของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน การกำจัดแหล่งอาหารที่จำเป็นต่อการแพร่พันธุ์ของจุลินทรีย์ การเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ การเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเครื่องจักรอุปกรณ์ และเป็นการยกระดับความปลอดภัย และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ในการ

ล้างทำความสะอาด สารชะล้างเป็นสิ่งที่ช่วยกำจัดเศษอาหารและสิ่งสกปรกที่ติดอยู่บนพื้นผิวหน้าของเครื่องจักรอุปกรณ์ให้หลุดออกได้ง่ายขึ้น ก่อนที่จะฆ่าเชื้อด้วยสารฆ่าเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมหรือใช้ความร้อนอย่างเพียงพอในการกำจัดจุลินทรีย์ที่ตกค้างอยู่ การฆ่าเชื้อด้วยสารเคมีที่ใช้กันมากในการฆ่าเชื้อสิ่งแวดล้อมการผลิตของโรงงานผลิตอาหาร

2.4 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ไก่ดิบและสุก

2.4.1 การปนเปื้อนในไก่ดิบ

สำหรับเนื้อสัตว์ปีกก็พบการปนเปื้อน *L. monocytogenes* เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์อาหารดิบประเภทอื่นๆ ซึ่ง Jay (1996) ได้รวบรวมจากรายงานต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 การพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อสัตว์ปีก (Jay, 1996)

ปี	ผลิตภัณฑ์	จำนวน possitive/ จำนวนที่ตรวจสอบ	ประเทศ	เอกสารอ้างอิง
1976	แช่เยือกแข็ง	39/149 (26%)	ฝรั่งเศส	Nicolas and Vidaud (1987)
1988	บด	19/67 (28%)	เดนมาร์ก	Skovgaard and Morgan (1988)
1990	สด	41/658 (6%)	อเมริกา	Carosella (1990)

จากตารางที่ 2.9 จะเห็นว่าในปี 1990 มีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในเนื้อสดในสหรัฐอเมริกาเพียงร้อยละ 6 แต่ที่ฝรั่งเศสและเดนมาร์กจะพบการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในสัดส่วนที่สูงกว่า โดยพบการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ปีกบดและเนื้อสัตว์ปีกแช่เยือกแข็งเท่ากับร้อยละ 28 และ 26 ตามลำดับ

สำหรับการผลิตเนื้อไก่สดเพื่อนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคนั้น กระบวนการผลิตในแต่ละขั้นตอนอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ได้ ในปี 1995 Franco และคณะฯ ศึกษาแหล่งของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในเนื้อไก่สด โดยตรวจวิเคราะห์หา *Listeria* spp. ในโรงงานผลิตเนื้อไก่สดแต่ละขั้นตอน ซึ่งขั้นตอนการผลิตเนื้อไก่ประกอบด้วยการเคลื่อนย้ายไก่มีชีวิตจากฟาร์มมายังโรงเชือด การเชือด การเอาเลือดออก (exsanguination) การลวกถอนขน การตัดหัวและขา การเปิดซากเอาเครื่องในออก การล้างซาก การลดอุณหภูมิซาก การตัดแต่งและบรรจุ การแช่แข็ง และการจัดเก็บและขนส่ง (Gracey, 1986)

ไก่มีชีวิตจะต้องงดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนนำเข้ามาเชือดเพื่อไม่ให้มีอาหารตกค้างในกระเพาะ เป็นการลดการปนเปื้อนเมื่อเปิดซาก แต่การขนย้ายไก่มีชีวิตมายังโรงเชือดก็เกิดการปนเปื้อนข้ามได้จากมูลไก่ โดยในการเคลื่อนย้ายจะวางกล่องบรรจุไก่เรียงเป็นแถวใน

แนวตั้งแล้วใช้รถบรรทุกเป็นพาหนะในการขนส่ง ไก่มีชีวิตที่อยู่ในกล่องด้านล่างจะได้รับการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากมูลไก่จากไก่ที่อยู่ในกล่องด้านบนตลอดระยะเวลาที่เคลื่อนย้าย นอกจากนี้ระยะทางของการขนส่ง อุณหภูมิ และสภาพท้องถนน ยังเป็นปัจจัยเสริมต่อการปนเปื้อนได้ด้วย (WHO/FAO, 2002) หลังจากขนส่งไก่มีชีวิตมายังโรงเชือด ไก่จะต้องพักในโรงพักสัตว์ก่อนทำการเชือด

ก่อนการเชือดต้องทำให้ไก่สลบตามหลักสวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare) เพื่อให้ได้รับความเจ็บปวดน้อยสุดระหว่างที่ถูกเชือด (Fletcher, 1999) ในการทำให้ไก่สลบอาจใช้สารเคมี (gas stunning) หรือใช้กระแสไฟฟ้าผ่านน้ำที่เป็นตัวกลาง (electrical stunning) ก็ได้ แต่โดยทั่วไปนิยมการใช้กระแสไฟฟ้า ซึ่งโรงเชือดในสหรัฐอเมริกากว่าร้อยละ 97 เลือกที่จะใช้วิธีการใช้กระแสไฟฟ้า (Heath et al., 1994) แต่ไม่มีรายงานว่าการใช้กระแสไฟฟ้าเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนข้าม (WHO/FAO, 2002) หลังจากการทำให้ไก่สลบจะเป็นขั้นตอนการเชือดต้องทิ้งให้เลือดไหลออกจากตัวไก่เป็นระยะเวลา (bleeding time) 1 ถึง 3 นาที

หลังจากนั้นไก่จะถูกลำเลียงไปสู่ถังลวกเพื่อให้ถอนขนได้ง่าย ขั้นตอนการลวกจะมีการควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ลวก และระยะเวลาที่ไก่อยู่ในถังลวกให้เหมาะสม การใช้อุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้เนื้อไก่สุก แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำเกินไปก็จะถอนขนยากขึ้น โดยทั่วไปจะควบคุมอุณหภูมิน้ำไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที หรือถ้าไม่ต้องการให้สีของหนังเปลี่ยนแปลงมากให้ควบคุมอุณหภูมิของน้ำไว้ที่ 52 องศาเซลเซียส นาน 2 นาทีแทน ซึ่งภาวะที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของไก่ ในระหว่างการลวกน้ำที่ใช้ลวกอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนข้ามได้จึงมักจะใช้ให้ทิศทางการไหลของน้ำเป็นแบบสวนทางกับทิศทางที่ไก่ถูกลำเลียงมาสู่ภาชนะที่ใช้ลวก สำหรับขั้นตอนการถอนขนส่วนใหญ่จะใช้เครื่องจักรที่ใช้หลักการหมุนของนิ้วยางเกี่ยวพันถอนขน ทั้งขนหยาบและขนละเอียด หลังจากนั้นไก่จะถูกเปิดซากนำเครื่องในออกมาและผ่านการตรวจซากด้วยเจ้าหน้าที่จากกรมปศุสัตว์ เพื่อคัดแยกซากที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภคออกไป ก่อนที่ซากไก่จะถูกลำเลียงไปล้าง (Potter and Hotchkiss, 1998)

หลังจากการล้างซาก ไก่จะมีอุณหภูมิประมาณ 32 องศาเซลเซียส ดังนั้นต้องรีบลดอุณหภูมิของซากลงให้เหลือ 0 ถึง 4 องศาเซลเซียส เพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ โดยทั่วไประบบการลดอุณหภูมิแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ การแช่ในน้ำเย็น และการใช้อากาศเย็น สำหรับการใช้อากาศเย็นในการลดอุณหภูมิอาจรวมถึงการพ่นฝอยน้ำเย็น (evaporative air chilling) หรือไม่ก็ได้ เพื่อเพิ่มผลผลิต (yield) และคุณลักษณะของเนื้อสัมผัส (Veerkamp, 1981) ในปี 1971 Knoop และคณะฯ พบว่าการลดอุณหภูมิซากโดยใช้อากาศเย็น สามารถลดการปนเปื้อนข้ามระหว่างซากได้ และยังพบว่าจุลินทรีย์ที่ชอบอากาศเย็นมีปริมาณลดลง อย่างไรก็ตามการลดอุณหภูมิซากโดยใช้อากาศเย็นเป็นสาเหตุของการสูญเสียน้ำหนักได้ (Veerkamp, 1981)

ซากไก่ที่มีอุณหภูมิ 0 ถึง 4 องศาเซลเซียส จะถูกลำเลียงไปห้องแยกชิ้นส่วน ที่ห้องแยกชิ้นส่วนนี้เริ่มจาก การตัดชิ้นส่วน สะโพก ปีก อก และสันในจากซากไก่ที่แขวนอยู่บนราวที่มีโซ่ลำเลียง แล้วเคลื่อนย้ายชิ้นส่วนต่างๆ ไปยังสายพานลำเลียง ซึ่งที่สายพานลำเลียงนี้ จะมีพนักงานทำการตัดแต่ง ชิ้นส่วนต่างๆ ให้ได้ขนาด และรูปร่างตามที่ลูกค้าต้องการ ชิ้นส่วนที่ถูกตัดแต่งเรียบร้อยแล้ว จะถูกลำเลียงต่อไปยังพนักงานที่ทำการคัดคุณภาพ ที่บริเวณนี้ พนักงานจะพลิกชิ้นตรวจสอบชิ้นส่วนเนื้อด้วยสายตา หลังจากนั้นชิ้นส่วนที่ผ่านการคัดคุณภาพแล้วจะถูกนำไปชั่งน้ำหนักและบรรจุถุง ถือว่าเป็นการสิ้นสุดของขั้นตอนภายในห้องแยกชิ้นส่วน ซึ่ง Franco และคณะฯ (1995) ได้ทำการทดลองหาความชุกของ *Listeria* spp. ที่หนังของชิ้นส่วนน่องไก่ โดยการ swab หนังของชิ้นส่วนน่องไก่ที่อยู่ในห้องแยกชิ้นส่วน และที่บริเวณจุดสิ้นสุดของขั้นตอนภายในห้องแยกชิ้นส่วน และ swab พื้นผิวของสิ่งแวดล้อมภายในห้องแยกชิ้นส่วน โดย swab พื้นผิวของสายพานลำเลียง และโต๊ะ การ swab ใช้ sterile cotton swab ลงบนพื้นที่ 400 ตารางเซนติเมตร ผลการทดลอง พบว่าส่วนหนังของน่องที่อยู่ในห้องแยกชิ้นส่วน ไม่พบ *Listeria* spp. ในขณะที่ส่วนหนังของน่องที่บริเวณจุดสิ้นสุดของขั้นตอนภายในห้องแยกชิ้นส่วน พบ *Listeria* spp. ร้อยละ 30 ส่วนพื้นผิวของสายพานลำเลียง และโต๊ะพบ *Listeria* spp. เท่ากับ ร้อยละ 77 และ 61 ตามลำดับ ซึ่ง Franco และคณะฯ สรุปว่า พื้นผิวที่สัมผัสอาหารในโรงงานแปรรูปเนื้อไก่มีบทบาทสำคัญต่อการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์

2.4.2 การปนเปื้อนในไก่สุก

ในเนื้อสัตว์ปีกที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อทำให้สุกแล้ว ก็ยังคงพบการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* อยู่เช่นเดียวกันกับผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำให้สุกแล้วประเภทอื่นๆ ซึ่ง Jay (1996) ได้รวบรวมจากรายงานต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 การพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก (Jay, 1996)

ปี	ผลิตภัณฑ์	จำนวน possitive/ จำนวนที่ตรวจสอบ	ประเทศ	เอกสารอ้างอิง
1990	steak	6/25 (24%)	ไต้หวัน	Wong et al. (1990)
1992	อบ	2/5 (40%)	ออสเตรเลีย	Varabioff et al. (1992)

จากตารางที่ 2.10 จะเห็นว่ามีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปีกมีค่าค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ปีก เช่น ในปี 1992 พบการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ปีกอบที่ออสเตรเลียสูงถึงร้อยละ 40 ในขณะที่ในปี 1990 พบการปนเปื้อนของในเนื้อสดในสหรัฐอเมริกาเพียงร้อยละ 6 เท่านั้น

สำหรับสาเหตุของปัญหาการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ไก่สุก แม้ว่ากระบวนการให้ความร้อนของโรงงานผลิตจะมีประสิทธิภาพในการกำจัด *Listeria* spp. ได้หมดก็ตาม มีหลายงานวิจัยได้สรุปเอาไว้ว่า ในอาหารปรุงสุกพร้อมบริโภคที่กระบวนการปรุงสุกมีการให้ความร้อนอย่างพอเพียงแล้ว ปัญหาการปนเปื้อน *Listeria* spp. จะมาจากการปนเปื้อนภายหลังขั้นตอนการปรุงสุก และได้สรุปว่าการควบคุมการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์อาหารปรุงสุกพร้อมบริโภคนั้นประกอบด้วย การให้ความร้อนที่เหมาะสม โดยต้องมีการควบคุม และทดสอบสภาพความใช้ได้ (validate) ของกระบวนการให้ความร้อนว่าสามารถทำลาย *Listeria* spp. ได้ และต้องมีการป้องกันการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากสิ่งแวดล้อมการผลิตไม่ให้ปนเปื้อนสู่ผลิตภัณฑ์หลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว (FAO/WHO, 1988; Glass, 1989; Johnson, 1990; Tompkin, 1999)

2.5 การควบคุมและการทำลาย *Listeria* spp.

2.5.1 การใช้ความร้อน

อย่างไรก็ตามการที่มีการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในหลายขั้นตอนของการผลิตเนื้อไก่สดแต่เมื่อนำเนื้อไก่สดมาแปรรูปเป็นเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคนั้น กระบวนการให้ความร้อนมักจะทำลาย *Listeria* spp. ได้หมด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *L. monocytogenes* นั้นถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนที่ไม่สูงนัก โดยตารางที่ 2.11 จะแสดงค่า D-value (decimal reduction time) ของ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่หาด้วยการใช้ water bath

ตารางที่ 2.11 ค่า D-value ของ *L. monocytogenes* (ICMSF, 1996)

อาหาร	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	D-value (นาที)	ค่า pH	จำนวนสายพันธุ์-แหล่งที่มา	เอกสารอ้างอิง
เนื้อขาไก่	55	14	5.7-5.8	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้ออกไก่	55	13	6.4-6.7	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้อไก่ผ่านการ homogenized	60	5.02-5.29	ไม่ระบุ	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Gaze et al. (1989)
เนื้อขาไก่	60	5.6	5.7-5.8	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้ออกไก่	60	8.7	6.4-6.7	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้อไก่ผ่านการ homogenized	62	2.21-2.51	ไม่ระบุ	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Gaze et al. (1989)
เนื้อไก่ผ่านการ homogenized	64	1.56-1.84	ไม่ระบุ	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Gaze et al. (1989)
เนื้อขาไก่	65	0.53	5.7-5.8	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้ออกไก่	65	0.52	6.4-6.7	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้อไก่ผ่านการ homogenized	68	0.38-0.41	ไม่ระบุ	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Gaze et al. (1989)
เนื้อไก่ผ่านการ homogenized	70	0.23-0.27	ไม่ระบุ	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Gaze et al. (1989)
เนื้อขาไก่	70	0.11	5.7-5.8	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)
เนื้ออกไก่	70	0.13	6.4-6.7	1 - อาหาร	Mackey et al. (1990)

จากตารางที่ 2.11 จะเห็นว่าค่า D-value ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสของเนื้อไก่อยู่ในช่วง 0.11 ถึง 0.20 นาที ซึ่งกระบวนการให้ความร้อนในการปรุงสุกของโรงงานผลิตโดยทั่วไป ซึ่งมักจะให้ความร้อนจนอุณหภูมิกึ่งกลางผลิตภัณฑ์สูงกว่า 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 นาที จึงมีประสิทธิภาพในการทำลาย *Listeria* spp. ได้

2.5.2 การใช้สารฆ่าเชื้อ

การใช้สารฆ่าเชื้อเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการควบคุมและทำลาย *Listeria* spp. ได้ โดยชนิดของสารฆ่าเชื้อที่สำคัญประกอบด้วย

1. แอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์มีส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ คือ ethanol โดยสามารถต้านการเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แต่ไม่มีผลต่อสปอร์ของจุลินทรีย์ กลไกในการฆ่าเชื้อ คือ ทำให้โปรตีนเสียสภาพ (denatured) เซลล์แตกทำให้สารละลายภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ละลายออกมา รวมทั้งขัดขวางกลไกของเมแทบอลิซึมในเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว สำหรับความเข้มข้นเหมาะสมที่สุด คือ ร้อยละ 75 ถึง 80

2. ไฮโปคลอไรต์ หรือสารประกอบคลอรีน

สารเหล่านี้มีส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ คือ sodium hypochlorite มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสูงมี spectrum ต้านเชื้อกว้างที่สุดเมื่อเทียบกับสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในสิ่งแวดล้อมการผลิตชนิดอื่น กลไกการทำงาน คือ จะเข้าไป oxidized SH-group ของโปรตีนในเอนไซม์ โปรตีนของกรดนิวคลีอิก และทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับฆ่าเชื้อสิ่งแวดล้อมการผลิตคือ 120 ถึง 200 ppm แต่มีข้อเสีย คือ มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ และทำให้พื้นผิวโลหะเกิดการสึกกร่อนได้

3. ไอโอโดฟอร์

ไอโอโดฟอร์มีส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ คือ iodophors เป็นสารผสมของไอโอดีนและโพลีไวนิลไพโรลิดอน มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสูง แต่ความสามารถในการฆ่าเชื้อน้อยกว่า sodium hypochlorite ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับฆ่าเชื้อสิ่งแวดล้อมการผลิต คือ 58 ถึง 87 ppm แต่มีข้อเสีย คือ ทำให้โลหะสึกกร่อน และหากสัมผัสกับผิวหนังจะทำให้เกิดการระคายผิว

4. สารประกอบควอเตอร์นารีแอมโมเนีย

สารประกอบกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก ความสามารถในการลดแรงตึงผิวขึ้นกับปริมาณการทดแทนประจุไฮโดรเจนในกลุ่มแอมโมเนีย สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อประเภทแกรมบวกและแกรมลบได้ดีในภาวะที่เป็นด่าง สามารถแทรกซึมผ่านพื้นผิวที่มีรูพรุนได้ นอกจากนี้เมื่อใช้สารประเภทนี้แล้วจะเกิดเป็นฟิล์มขึ้นบนพื้นผิว ทำให้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์บนพื้นผิวได้นาน (สุวิมล กีรติพิบูล, 2545)

ICMSF (1996) ได้สรุปประสิทธิภาพของการใช้สารฆ่าเชื้อประเภทในกลุ่มคลอรีน และในกลุ่มที่ไม่ใช่คลอรีน (non-chlorine) ที่ภาวะต่างๆ ที่มีต่อ *L. monocytogenes* เอาไว้ในรูปของค่า D-value โดยรวบรวมจากรายงานต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.12 และ 2.13

ตารางที่ 2.12 ผลของสารฆ่าเชื้อในกลุ่มคลอรีน ที่มีต่อ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่า pH เท่ากับ 7 (ICMSF, 1996)

สารตัวกลาง	ชนิดของสารฆ่าเชื้อ	ความเข้มข้น (ppm)	การอยู่รอด/การตาย (D-value)	จำนวนสายพันธุ์-แหล่งที่มา	เอกสารอ้างอิง
Deionized water	Sodium hypochlorite	0.5	61.7 วินาที	1 - ผู้ป่วย	El-Kest and Marth (1988)
Deionized water	Sodium hypochlorite	1	11.3 วินาที	1 - ผู้ป่วย	El-Kest and Marth (1988)
Deionized water	Sodium hypochlorite	2	6.7 วินาที	1 - ผู้ป่วย	El-Kest and Marth (1988)
Deionized water	Sodium hypochlorite	5	4.9 วินาที	1 - ผู้ป่วย	El-Kest and Marth (1988)
Deionized water	Sodium hypochlorite	10	4.7 วินาที	1 - ผู้ป่วย	El-Kest and Marth (1988)
Deionized water	Sodium hypochlorite	100-200	เชื้อลดลง >99.999%	1	Lopez (1986)
Deionized water	Sodium dichloro-s-triazine trione	100-200	เชื้อลดลง >99.999%	1	Lopez (1986)
Phosphate buffer	Sodium hypochlorite	100-200	ไม่พบเชื้อเหลือรอด	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Brackett (1987)
Phosphate buffer	Household chlorine bleach	100-200	ไม่พบเชื้อเหลือรอด	2 - ผู้ป่วย/อาหาร	Brackett (1987)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.13 ผลของสารฆ่าเชื้อในกลุ่มที่ไม่ใช่คลอรีนที่มีต่อ *L. monocytogenes* (ICMSF, 1996)

สารตัวกลาง	ชนิดของสารฆ่าเชื้อ	ความเข้มข้น (ppm)	การอยู่รอด/การตาย	จำนวนสายพันธุ์	เอกสารอ้างอิง
Deionized water	Iodine	12.5-25	เชื้อลดลง >99.999%	1	Lopez (1986)
Deionized water	*n*-alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride	100-200	เชื้อลดลง >99.999%	1	Lopez (1986)
Deionized water	Sulphonated oleic acid	200	เชื้อลดลง >99.999%	1	Lopez (1986)
Deionized Water	Linear alkyl benzene benzyl sulphon. acid	200	เชื้อลดลง >99.999%	1	Lopez (1986)

2.6 มาตรฐานด้านเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกส่งออก

การส่งผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคไปขายยังต่างประเทศนั้น ผู้ผลิตจำเป็นที่จะต้องปฏิบัติตามมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ที่กำหนดโดยกรมปศุสัตว์ และที่เป็นข้อตกลงระหว่างผู้ผลิตและกลุ่มลูกค้าในประเทศที่นำเข้าผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ที่อาจปนเปื้อนไปกับผลิตภัณฑ์ได้ โดยมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกเพื่อการส่งออกของกรมปศุสัตว์ ประเทศญี่ปุ่น และสหภาพยุโรปมีรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2.14

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.14 มาตรฐานด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกเพื่อการส่งออก

ชนิดของจุลินทรีย์	ข้อกำหนด		
	กรมปศุสัตว์	ประเทศญี่ปุ่น	สหภาพยุโรป
Total plate count	< 1.0×10^5 CFU/g	< 3.0×10^6 CFU/g	< 4.0 CFU/cm^2
Enterobacteriacae	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	< 2.0 CFU/cm^2
Coliform	< 500 MPN/g	ต้องไม่พบ	ไม่ระบุ
Faecal *Streptococcus*	< 100 CFU/g	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ
E. coli	ต้องไม่พบ	< 100 CFU/g	n = 5 c = 2 m = 50 M = 500
S. aureus	ต้องไม่พบ	< 1000 CFU/g	n = 5 c = 2 m = 100 M = 5000
Salmonella spp.	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ	ไม่พบในตัวอย่าง 10 g จำนวน 5 ตัวอย่าง
Clostridium spp.	ไม่ระบุ	< 1000 CFU/g	ไม่ระบุ
C. perfringens	ต้องไม่พบ	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ
Listeria spp.	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	ต้องไม่พบ
L. monocytogenes	ต้องไม่พบ	ต้องไม่พบ	ไม่ระบุ

n = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด, c = จำนวนตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่างค่า m และ M
หากตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณเชื้อไม่เกิน m หรือตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อในช่วง m ถึง M มีจำนวนไม่เกิน c ตัวอย่าง ถือว่าผ่านมาตรฐาน หากมีตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งมีปริมาณเชื้อเกิน M ถือว่าไม่ผ่านมาตรฐาน

สำหรับมาตรฐานเกี่ยวกับการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภค กรมปศุสัตว์กำหนดว่าจะต้องไม่พบ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ปริมาณ 25 กรัม ซึ่งจะตรงกับมาตรฐานของกลุ่มลูกค้าในประเทศญี่ปุ่น แต่ในผลิตภัณฑ์ที่จะส่งไปยังประเทศในกลุ่มยุโรปจะระบุให้ต้องไม่พบ *Listeria* spp. ไม่ว่าจะเป็นชนิดใดก็ตาม

จะเห็นว่ามาตรฐานด้านจุลินทรีย์โดยเฉพาะมาตรฐานที่เกี่ยวกับ *Listeria* spp. จะมีความเข้มงวดมาก เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น ดังนั้นโรงงานผลิตจำเป็นจะต้องมีวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไม่ให้ผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ประกอบด้วยการให้ความร้อนกับผลิตภัณฑ์อย่างเหมาะสม และการป้องกันการปนเปื้อนภายหลังการให้ความร้อนโดยดูแลให้การล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

2.7 การวิเคราะห์ความเสี่ยง (risk analysis)

FAO/WHO (1998) ได้แนะนำให้นำหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยง มาจัดการความเสี่ยงจากอันตรายในอาหาร ที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของคน ซึ่งการวิเคราะห์ความเสี่ยง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การประเมินความเสี่ยง (risk assessment) การจัดการความเสี่ยง (risk management) และการสื่อสารความเสี่ยง (risk communication) (Buchanan and Whiting, 1996) ดังรูปที่ 2.4

โครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex) ได้ให้นิยามของคำที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ความเสี่ยง ดังนี้ ความเสี่ยง (risk) หมายถึง โอกาสในการเกิดผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพและความรุนแรงของผลกระทบนั้น ซึ่งสืบเนื่องมาจากอันตรายในอาหาร (CAC,1999) นอกจากนี้ Codex ได้แนะนำให้ใช้หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยง ในการจัดการกับอันตรายในอาหารที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ

รูปที่ 2.4 องค์ประกอบของการวิเคราะห์ความเสี่ยง (FAO/WHO, 2004)

การประเมินความเสี่ยง หมายถึงกระบวนการประเมินโอกาสที่จะเกิดผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพของมนุษย์

การจัดการความเสี่ยง หมายถึง กระบวนการพิจารณา ทางเลือกของการควบคุมที่เหมาะสม จากผลของการประเมินความเสี่ยง รวมถึงการเลือก และการนำไปปฏิบัติ

การสื่อสารความเสี่ยง หมายถึง ปฏิกิริยาสัมพันธ์ ของการแลกเปลี่ยนข้อมูล และทางเลือก ในเรื่องของความเสี่ยง และการจัดการความเสี่ยง ระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยง ผู้จัดการความเสี่ยง และผู้บริโภค หรือหน่วยงานที่สนใจ

2.7.1 การประเมินความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยงประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้ (1) การระบุอันตราย (hazard identification) (2) การอธิบายอันตราย (hazard characterization) (3) การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) (4) การอธิบายความเสี่ยง (risk characterization) ซึ่งแต่ละขั้นตอนต้องใช้พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนการจัดทำ การประเมินความเสี่ยงแบ่งได้เป็น 2 แนวทาง คือ การประเมินเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (FAO/WHO, 1995; CAC, 1999)ในปัจจุบันแนวทางการประเมินเชิงปริมาณได้รับความนิยมสูงกว่าเนื่องจากให้ผลที่ชัดเจนในรูปของค่าตัวเลข แต่การประเมินมักจะมีอุปสรรคจากการที่หาข้อมูลเป็นตัวเลขได้ยาก และจะต้องใช้เวลาในการทำนานกว่า

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ การประเมินแบบจุด และแบบช่วง (CAC, 1999) ความแตกต่างอยู่ที่การอธิบายค่าของข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณค่าประมาณความเสี่ยง การประเมินแบบจุด ค่าของข้อมูลจะมีลักษณะเป็นค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด ทำให้ค่าประมาณความเสี่ยงที่คำนวณได้มีลักษณะเป็นค่าเฉลี่ยด้วยเช่นกัน แต่การประเมินแบบช่วงข้อมูลทั้งหมดจะนำมาแสดงรวมกันเป็นช่วงในรูปของการแจกแจงโอกาส ดังนั้นค่าประมาณความเสี่ยงก็จะมีลักษณะเป็นช่วงด้วย (Lammerding and Fazil, 2000) เช่น ข้อมูลที่ใช้ในการประเมินมีอยู่ทั้งหมด 20 ค่า มีค่ากระจายอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 50 และมีการแจกแจงเป็นแบบปกติ หากเป็นการประเมินแบบจุดก็จะนำเฉพาะค่าเฉลี่ยมาใช้เท่านั้น แต่หากเป็นการประเมินแบบช่วงก็จะนำค่าทั้งหมดที่มี พร้อมทั้งรูปแบบของการแจกแจงมาใช้ในการประเมิน

การประเมินแบบช่วงถึงแม้ว่าการคำนวณจะซับซ้อนและยุ่งยากกว่า (เนื่องจากต้องนำรูปแบบการแจกแจงของข้อมูลมาใช้ในการคำนวณด้วย) แต่ก็เป็นที่นิยมกันมากกว่า เนื่องจากข้อมูลที่ใช้มีการรวมเอาความแปรผัน (variability) และความไม่แน่นอน (uncertainty) ซึ่งแสดงอยู่ในการแจกแจงของข้อมูลเข้าไปด้วย จึงทำให้ค่าประมาณความเสี่ยงที่ได้มีความถูกต้องและครอบคลุมมากกว่า (Thompson and Graham, 1996) ทั้งนี้เนื่องจากความแปรผันของข้อมูลเป็นสิ่งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิตและแปรรูปอาหารทุกชนิด การตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์ก็มีความแปรผันเช่นกัน อีกประการหนึ่งความไม่แน่นอนของข้อมูลเกิดจากการขาดความเข้าใจในปรากฏการณ์หรือปัจจัยต่างๆ รวมทั้งการอธิบายปรากฏการณ์ หรือปัจจัยเหล่านั้นอย่างถูกต้อง ความแปรผันและความไม่แน่นอนยังส่งผลสำคัญต่อการตัดสินใจในการจัดการความเสี่ยง เช่น ถ้าความแปรผันของค่าของปัจจัยเสี่ยง เป็นสาเหตุหลักที่นำไปสู่ค่าประมาณความเสี่ยงที่สูง การควบคุมปัจจัยนั้น หรือกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยนั้นอย่างเหมาะสม ก็อาจลดค่าความเสี่ยงลงได้ หรือหากค่าประมาณความเสี่ยงที่สูง เกิดจากความไม่แน่นอนของค่าของปัจจัยเสี่ยงตัวใดตัวหนึ่ง การวิจัยและเก็บข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยตัว

นั้นมากขึ้น ก็จะทำให้เข้าใจและสามารถจัดการกับสาเหตุของความเสี่ยงได้ดีขึ้น จึงน่าจะช่วยลดค่าความเสี่ยงลงได้ (Lammerding and Fazil, 2000)

การระบุอันตราย

เป็นการระบุสิ่งที่เป็นเคมี ชีวภาพ และกายภาพ ที่อาจปรากฎอยู่ในอาหารที่เฉพาะเจาะจง หรือในกลุ่มของอาหาร ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพ และ (CAC, 1999) โดยอธิบายลักษณะของจุลินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วย ลักษณะทางอนุกรมวิธาน การเรียกชื่อ และการแบ่งกลุ่ม รวมทั้งการแพร่กระจายในสัตว์และมนุษย์ ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และการอยู่รอด รวมถึงการรวบรวมสถิติการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละกลุ่มหรือชนิด เพื่อศึกษาการกระจายของจุลินทรีย์ในอาหารต่างๆ

ยกตัวอย่างเช่น ในปี 1998 Cassin และคณะฯ ได้ประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ ของ *E. coli* O157:H7 ในแฮมเบอเกอร์เนื้อวัวบด (ground beef hamburger) เพื่อประมาณโอกาสของการติดเชื้อ จาก *E. coli* O157:H7 เมื่อบริโภคแฮมเบอเกอร์เนื้อวัวบด ซึ่งอันตรายของงานวิจัยนี้คือ *E. coli* O157:H7 โดย Cassin และคณะฯ (1998) ได้ระบุอันตรายว่า *E. coli* O157:H7 เป็น facultative anaerobe แกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น *E. coli* O157:H7 เป็น serotype เฉพาะของกลุ่ม Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) ซึ่งเป็นกลุ่มย่อยของ Verocytotoxigenic *E. coli* (VTEC) ที่ผลิต verotoxin (Tarr, 1995) ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากซากสัตว์ในระหว่างการเชือด และการแปรรูป

การอธิบายอันตราย

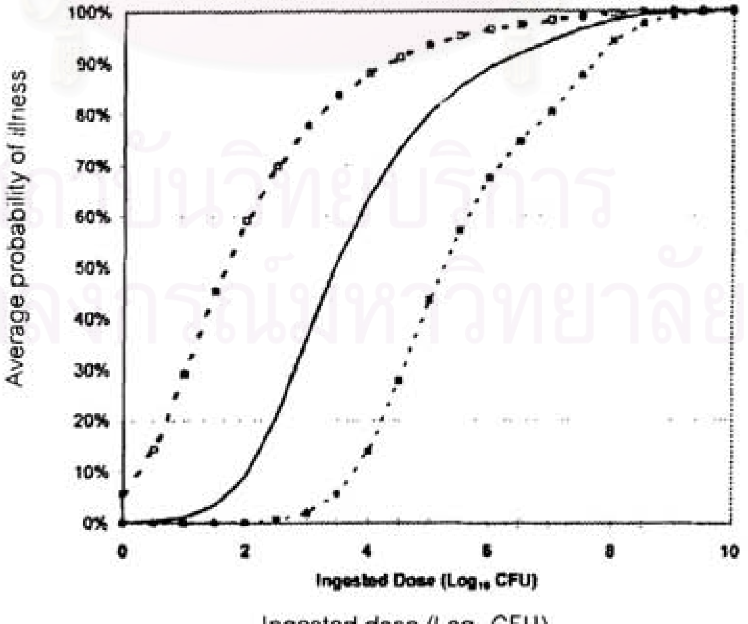
เป็นการหาระดับและ/หรือปริมาณ ของผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพ ที่มีความสัมพันธ์กับอันตรายที่ได้รับสัมผัส โดยใช้การประเมินการตอบสนองต่อปริมาณอันตราย (dose-response assessment) ซึ่งเป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดการสัมผัสของสิ่งที่เป็นเคมี ชีวภาพ หรือกายภาพ กับความรุนแรงและ/หรือความถี่ที่ก่อให้เกิดผลกระทบที่มีผลด้านลบต่อสุขภาพ (CAC, 1999) สำหรับการประเมินความเสี่ยงของจุลินทรีย์จะเป็นการหาความสัมพันธ์โดยใช้ปริมาณจุลินทรีย์หรือสารพิษของจุลินทรีย์ก็ได้

มีงานวิจัยหลายงานวิจัยได้อธิบายอันตรายในการประเมินความเสี่ยงของจุลินทรีย์ โดยการอธิบายการติดเชื้อของจุลินทรีย์ประกอบด้วย กลไกการก่อให้เกิดโรค ปัจจัยเกี่ยวกับมนุษย์ที่มีผลต่อการติดเชื้อ ปัจจัยเกี่ยวกับภาวะในการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย และอาการหรือความเจ็บป่วยที่เกิดจากจุลินทรีย์ และรวบรวมสถิติของประชากรที่เจ็บป่วยและข้อมูลลักษณะการเจ็บป่วย รวมทั้งการหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของการสัมผัส

กับจุลินทรีย์ กับความรุนแรงและ/หรือความถี่ที่ก่อให้เกิดการเจ็บป่วย เพื่อสร้างแบบจำลองสำหรับประเมินการตอบสนองหรือโอกาสในการเจ็บป่วยต่อขนาดการสัมผัสกับจุลินทรีย์

ในการสร้างแบบจำลองโอกาสในการเจ็บป่วยจากการสัมผัสกับจุลินทรีย์ที่ปริมาณต่างๆ โดยทั่วไปนักวิจัยส่วนใหญ่จะขาดข้อมูลส่วนนี้ เนื่องจากเป็นการผิดศีลธรรมที่จะทดลองให้มนุษย์บริโภคจุลินทรีย์เข้าไป แล้วหาโอกาสในการเจ็บป่วย นอกจากนี้ผู้บริโภคยังมีความแตกต่างกันในด้าน เพศ อายุ ความอ่อนแอของร่างกาย จึงทำให้การเจ็บป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันมากขึ้น ดังนั้นนักวิจัยส่วนใหญ่จึงนิยมใช้แบบจำลอง beta-poisson ซึ่งคาดว่าจะเป็นแบบจำลองที่เหมาะสมที่สุด สำหรับประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการสัมผัสกับจุลินทรีย์ที่ปริมาณต่างๆ แทนการทดลองจริงในมนุษย์ โดยในแต่ละงานวิจัยที่ผ่านมาจะเลือกใช้แบบจำลอง beta-poisson ก่อน แล้วจึงทดลองเพื่อหาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่จำเพาะกับจุลินทรีย์ที่ศึกษา เพื่อแทนค่าลงในแบบจำลองต่อไป

ยกตัวอย่างเช่น Cassin และคณะฯ (1998) ได้อธิบายอันตรายของการติดเชื้อจาก *E. coli* O157:H7 ว่า *E. coli* O157:H7 ทำให้เกิดอาการของโรค ตั้งแต่ปานกลางจนถึงขั้นรุนแรง โดยทำให้ลำไส้ใหญ่บวม และมีเลือดออก โดยเริ่มจากการท้องร่วง และมักจะมีเลือดไหล ตามด้วยอาการปวดท้องรุนแรงในช่วง 3 ถึง 7 วัน หลังติดเชื้อ สำหรับการประเมินการติดเชื้อจาก *E. coli* O157:H7 Cassin และคณะฯ (1998) ใช้แบบจำลอง beta-poisson ในการประมาณความเจ็บป่วยที่เป็นผลมาจากการได้รับสัมผัส *E. coli* O157:H7 ที่ระดับต่างๆ และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสของการเจ็บป่วย และปริมาณ *E. coli* O157:H7 ดังรูปที่ 2.5



Ingested dose (Log_{10}CFU)

รูปที่ 2.5 Beta-binomial dose-response model (Cassin et al., 1998)

จากรูปที่ 2.5 เป็นการแสดงความไวต่อการสัมผัส *E. coli* O157:H7 ของประชากรในวัยเจริญพันธุ์ ซึ่งในเด็กที่อายุต่ำกว่าวัยนี้ หรือใน ผู้ที่มีอายุมากกว่านี้ จะมีโอกาสของการป่วยด้วยโรค Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) และโอกาสของการเสียชีวิตแตกต่างกัน Cassin และคณะฯ (1998) ได้อ้างถึงงานวิจัยของ Griffin และ Tauxe (1991) ซึ่งสรุปว่าโอกาสของการป่วยด้วยโรค Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) และโอกาสของการเสียชีวิตในเด็ก หรือในผู้ที่มีอายุมากกว่าในวัยเจริญพันธุ์จะมีค่าสูงมากกว่าในวัยเจริญพันธุ์ ซึ่ง Cassin และคณะฯ (1998) ได้สรุปโอกาสของการป่วยและเสียชีวิตของประชากรวัยต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.15

ตารางที่ 2.15 อัตราการเป็น Hemolytic Uremic Syndrome และอัตราการเสียชีวิต จากการป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อจาก *E. coli* O157:H7 (Cassin et al., 1998)

อายุ	อัตราส่วนจำนวนผู้ที่เป็น HUS ต่อจำนวนผู้ป่วย	อัตราส่วนจำนวนผู้ที่เสียชีวิต ต่อจำนวนผู้ที่เป็น HUS
เด็ก	10% (37/371) (Bell et al., 1994)	5% (USDA, 1994)
หนุ่มสาว	10% (AGA, 1995)	8% (3/37) (Bell et al., 1994)
คนชรา		12% (4/34) (Pavia et al., 1990)
ทุกช่วงอายุ	9% (45/501) (Bell et al., 1994)	7% (3/45) (Bell et al., 1994)
	9% (56/611) (Vogt, 1994)	7% (4/56) (Vogt, 1994)
	5% (Ries et al., 1993)	8% (4/51) (Ryan et al., 1986)

ในปี 1997 Walls และ Scott ได้อธิบายอันตรายของ *Salmonella* spp. ในแฮมเบอเกอร์แบบไม่สุก โดยหาโอกาสของการติดเชื้อจาก *Salmonella* spp. ในการบริโภคแฮมเบอเกอร์แบบไม่สุก โดยมีสมมติฐานว่าผู้บริโภคทุกคนที่ได้รับสารพิษจะต้องป่วย และอ้างอิงงานวิจัยของ Haas (1983) ซึ่งพิสูจน์ว่า โอกาสของการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค อธิบายได้ด้วยแบบจำลอง beta-distribution ดังสมการที่ 2.1

$$P_i = 1 - (1 + N/\beta)^{-\alpha} \qquad 2.1$$

เมื่อ P_i คือ โอกาสของการติดเชื้อจากจุลินทรีย์

N คือ จำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่

β และ α คือ พารามิเตอร์ที่ได้จากกราฟการตอบสนองต่อปริมาณจุลินทรีย์

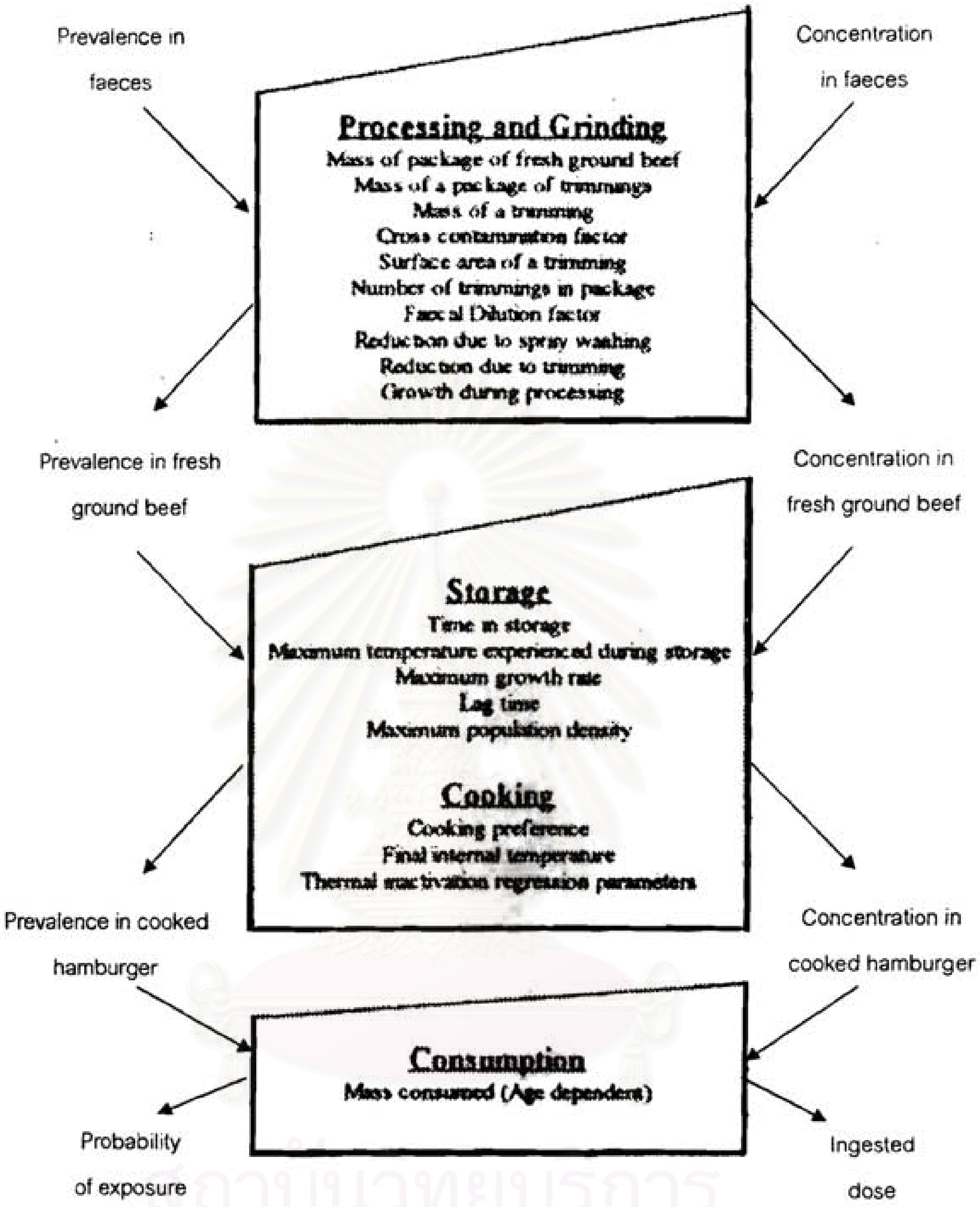
จากงานวิจัยของ Rose และ Gerba (1991) ซึ่งรายงานว่า ค่า β และ α ของ *Salmonella* spp. เท่ากับ 139.9 และ 0.33 ตามลำดับ และ Goodfellow และ Brawn (1978) รายงานว่า หลังจากทำให้สุก ที่อุณหภูมิ 58°C นาน 1 นาที จะมี *Salmonella* spp. หลงเหลืออยู่ (N) 30 โคโลนี ดังนั้น Walls และ Scott จึงอธิบายว่าโอกาสของการติดเชื้อ จาก *Salmonella* spp. (P_i) เท่ากับ 0.06

การประเมินการสัมผัส

เป็นการหาระดับ และ/หรือ ปริมาณ ของสิ่งที่เป็น เคมี ชีวภาพ และ กายภาพ ที่น่าจะมีในอาหาร รวมถึงการได้รับสัมผัส (CAC, 1999)

โดยในปี 1998 Cassin และคณะฯ ได้ประเมินการสัมผัส *E. coli* O157:H7 จากแฮมเบอเกอร์เนื้อวัวบด โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลอง ตามกระบวนการผลิตซึ่งประกอบด้วย (1) การแปรรูปและการบด (2) การเก็บรักษาและปรุงสุก และ (3) การบริโภค โดยมีแผนผังเพื่อประเมินการสัมผัส ดังรูปที่ 2.6 และสร้างแบบจำลองของแต่ละกระบวนการ ประกอบด้วย แบบจำลองในส่วนของการแปรรูปและการบด, แบบจำลองในส่วนของการเก็บรักษาและปรุงสุก และแบบจำลองในส่วนของการบริโภค ดังแสดงในตารางที่ 2.16, 2.17 และ 2.18 ตามลำดับ เพื่อหาโอกาสและปริมาณที่ผู้บริโภคจะได้รับ *E. coli* O157:H7 จากการบริโภคแฮมเบอเกอร์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.6 แผนผังของการประเมินการสัมผัส *E. coli* O157:H7 ในแฮมเบอเกอร์

(Cassin et al., 1998)

ตารางที่ 2.16 แบบจำลองในส่วนของการแปรรูปและการบด (Cassin et al., 1998)

Variable	Description	Units	Distribution/Model
F_{CC}	Factor for cross-contamination of carcasses	-	Uniform (2, 3)[a]
F_{DIL}	Log dilution factor between fecal and carcass surface concentration	$\log_{10}$ g/cm^2	Normal (-5.1, 0.9)[b]
R_{DEC}	Log reduction in counts due to decontamination treatments	$\log_{10}$ CFU/cm^2	Uniform (1, 2.5)
G_{PRC}	Microbial growth during processing	generations	Triangular (-2, 0.5)[c]
m_{TRM}	Mass of a trimming destined for ground beef	g	Normal (300, 100), truncated to disallow mass below 50 g
A_{APG}	Surface area per gram of trimming	cm^2/g	Uniform (0.25, 1)
A_{TRM}	Average surface area of trimming	cm^2	$m_{TRM} \times A_{APG}$
m_{PKG}	Mass of a vacuum packs of trimmings	g	5000
N_{TRM}	Number of trimmings in a package	-	Custom distribution simulated using m_{PKG} and m_{TRM}
P_{CTRM}	Prevalence of contaminated trimmings	-	$F_{CC} \times P_F/(1 - P_F + F_{CC} \times P_F)$
N_{CTRM}	Number of H7[d] contaminated trimmings in a package	-	Binomial (N_{TRM}, P_{CTRM})[e]
C_{CTRM}	Concentration of H7 on contaminated trimmings	$\log_{10}$ CFU/cm^2	$C_F + F_{DIL} - R_{DEC} + \log_{10}2^{G_{PRC}}$
C_{PCT}	Concentration of H7 in a package of trimmings	$\log_{10}$ CFU/g	$\log_{10}(N_{CTRM} \times 10^{C_{CTRM}} \times A_{TRM}m_{PKG})$
P_{PCT}	Probability of H7 in packages of trimmings	-	$Pr(N_{CTRM} > 0 = 1 - (1 - P_{CTRM})^{N_{TRM}}$
m_{FGB}	Mass of a retail package of fresh ground beef (FGB)	g	Triangular (300, 500, 1000)
C_{FGB}	Concentration of H7 in contaminated FGB	$\log_{10}$ CFU/g	$\log 10(N/m_{FGB})$ where N~ Poisson($m_{FGB} \times 10^{C_{PCT}}$)[e]
P_{FGB}	Probability of H7 in FGB	-	$P_{PCT} \times (1 - e^{-m_{FGB} \times 10^{C_{PCT}}})$[f]

[a] Uniform (min, max)

[b] Normal (μ, σ)

[c] Triangular (min, mode, max)

[d] H7 : *E. coli* O157:H7

[e] Only non-zero values simulated in each iteration

[f] Accounts for truncation of zero-valued iterations

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.17 แบบจำลองในส่วนของการเก็บรักษาและปรุงสุก (Cassin et al., 1998)

Variable	Description	Units	Distribution/Model
t_S	Time on retail display	h	Triangular (4, 48, 96)
T_S	Maximum retail storage temperature	°C	Triangular (4, 10, 15)
μ_g	Maximum exponential growth rate	h^{-1}	$C_0 + C_1 \times T_S$
t_1	Lag time	h	$C_2 + C_3/\mu_g$
C_0, C_1, C_2, C_3	Regression parameters, fitted to predictions of Food Micromodel™	-	-
C	Gompertz equation: maximum population density	-	Triangular (7, 8.4, 9) - C_{FGB}
M	Gompertz equation: time to maximum growth	h	$t_1 + 1/B$
B	Gompertz equation: exponential growth rate	h^{-1}	$(\mu_g \times C)/e$
G_{RTL}	Growth during retail storage	-	$C \times e^{-e}$ [illegible]
K_0	Thermal inactivation model: regression coefficient	$\log_{10}$ CFU/g	-10.165
K_1	Thermal inactivation model: regression coefficient	$\log_{10}$ CFU/g°C	0.211
T_{CKG}	Internal temperature of cooked Hamburger	°C	Custom distribution
I_{CKG}	Thermal inactivation from Cooking	$\log_{10}$ CFU/g	$K_0 + K_1 T_{CKG}$
C_{CKGB}	Concentration in cooked ground beef	$\log_{10}$ CFU/g	$C_{FGB} + G_{RTL} - I_{CKG}$

ตารางที่ 2.18 แบบจำลองในส่วนของการบริโภค (Cassin et al., 1998)

Variable	Description	Units	Distribution/Model
D	Ingested dose of *E. coli* O157:H7	CFU	~Poisson($10^{C_{CKGB}} \times m_1$)[a]
m_1	Mass of hamburger ingested	G	Adult: Lognormal (84, 48)[b] Child: Lognormal (42, 27)[b]
P_E	Probability of exposure to *E. coli* O157:H7	-	P(D > [illegible]) P_{FGB} × (1 - e^{-10} [illegible])[c]

[a] Only non-zero values simulated in each iteration

[b] Lognormal (μ, σ)

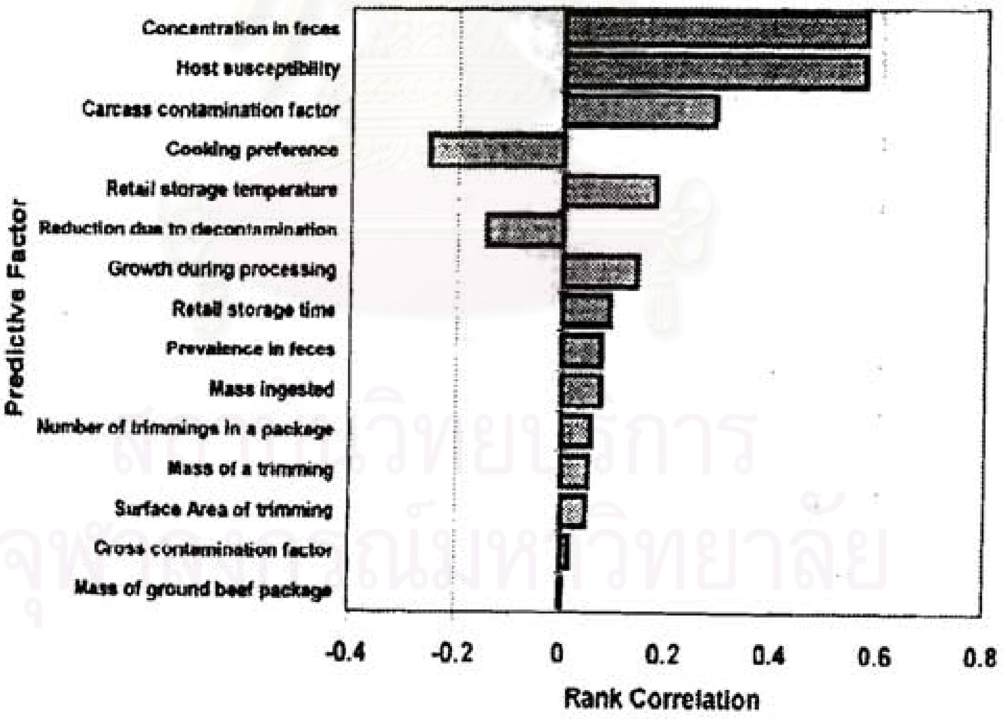
[c] Accounts for truncation of zero-valued iterations

ในปี 1997 Walls และ Scott ได้ประเมินการสัมผัส *Salmonella* spp. จากแฮมเบอเกอร์แบบไม่สุก โดยอาศัยการรวบรวมข้อมูลที่มีอยู่ในอดีต ซึ่งพบว่าในปี 1995 USDA ได้ทำการสำรวจการปนเปื้อนแบคทีเรียในตัวอย่างเนื้อสัตว์รวมถึงเนื้อวัวบดไว้แล้ว โดยในตัวอย่างเนื้อวัวบด มีการการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. เท่ากับร้อยละ 7.5 จึงสรุปว่าโอกาสของการได้รับสัมผัส *Salmonella* spp. เมื่อบริโภคแฮมเบอเกอร์ที่ไม่สุก เท่ากับ 0.075

การอธิบายความเสี่ยง

เป็นการคาดคะเนโอกาสเกิดและความรุนแรงของผลกระทบที่จะเกิดต่อสุขภาพในประชากรกลุ่มใดๆ ทั้งในเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณรวมทั้งความไม่แน่นอนอื่นๆ ที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งได้จากการระบุอันตราย การอธิบายอันตราย และการประเมินการสัมผัส (CAC, 1999)

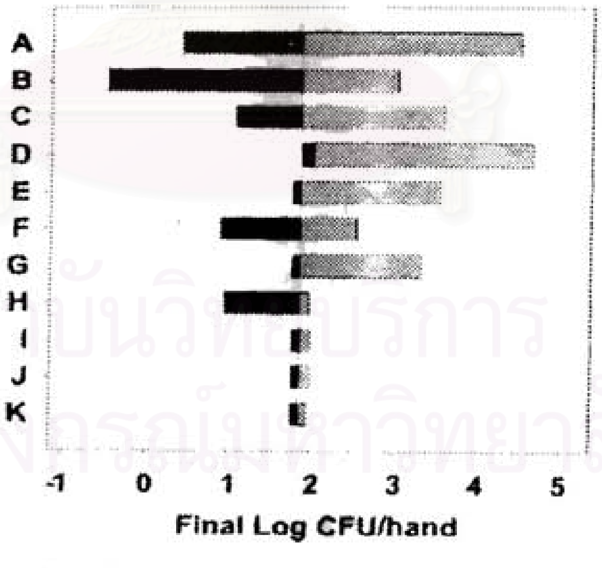
ในการอธิบายความเสี่ยง Cassin และคณะฯ (1998) ได้หาความสำคัญของปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการทำให้เกิดความเสี่ยง โดยใช้ spearman rank correlation coefficient (Morgan and Henrion, 1990) ดังรูปที่ 2.7 ใช้ทำนายปัจจัยเสี่ยง 15 ปัจจัย ที่สำคัญต่อความเสี่ยงมากที่สุด ซึ่ง Cassin และคณะฯ พบว่าจำนวน *E. coli* O157:H7 ที่คอกสัตว์มีผลมากที่สุดต่อการติดเชื้อของผู้บริโภค ดังนั้นจึงให้สร้างมาตรการควบคุม เพื่อป้องกันการปนเปื้อน



รูปที่ 2.7 Spearman rank correlation ระหว่างค่าประมาณของโอกาสการป่วยและปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ15 ปัจจัย (Cassin et al., 1998)

Walls และ Scott (1997) ได้อธิบายความเสี่ยง โดยประมาณโอกาสของการติดเชื้อ จาก *Salmonella* spp. เมื่อบริโภคแฮมเบอเกอร์แบบไม่สุก จากโอกาสของการติดเชื้อ จาก *Salmonella* spp. ซึ่งคำนวณจาก beta-distribution model ในขั้นตอนการอธิบายอันตราย โดยมีค่าเท่ากับ 0.06 และโอกาสของการได้รับสัมผัส *Salmonella* spp. เมื่อบริโภคแฮมเบอเกอร์ที่ไม่สุก ในขั้นตอนการประเมินการสัมผัส ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.0075 ดังนั้นโอกาสของการติดเชื้อจาก *Salmonella* spp. เมื่อบริโภคแฮมเบอเกอร์แบบไม่สุก ที่คำนวณจากผลคูณของโอกาสการติดเชื้อ และโอกาสการได้รับสัมผัส จึงมีค่าเท่ากับ 0.0045 ซึ่งถ้ามีผู้บริโภคแฮมเบอเกอร์ เท่ากับร้อยละ 9 ต่อวัน และในจำนวนนี้มีผู้ที่บริโภคแฮมเบอเกอร์ชนิดไม่สุก เท่ากับร้อยละ 3 (McIntosh et al., 1994) ถ้าประมาณจำนวนประชากร เท่ากับ 262,569,000 คน Walls และ Scott (1997) ประมาณว่าจะมีประชากรจำนวน 708,936 คนต่อวัน ที่บริโภคแฮมเบอเกอร์ที่ไม่สุก และผู้บริโภคในกลุ่มนี้จะมีคนที่ติดเชื้อจาก *Salmonella* spp. เท่ากับ 3,190 คนต่อวัน ซึ่งคิดเป็น 1.2 ล้านคนต่อปี

นอกจากนี้ Montville และคณะฯ (2002) ได้นำหลักการของการประเมินความเสี่ยงมาใช้ในการประเมินการล้างมือของพนักงานในศูนย์บริการอาหารแห่งหนึ่ง โดยอันตรายที่ประเมิน คือ *Enterobacter aerogenes* และใช้ปัจจัยเสี่ยง และค่าของปัจจัยเสี่ยงจากการรวบรวมข้อมูลที่เคยมีผู้วิจัยไว้แล้ว พบว่าวิธีการล้างทำความสะอาดมือ ส่งผลต่อการลดการพบ *Enterobacter aerogenes* บนมือ ดังรูปที่ 2.8



(A) sanitizer effect, (B) soap effect, (C) drying effect, (D) sanitizer choice, (E) faucet effect, (F) initial count, (G) drying choice, (H) soap choice, (I) ring effect, (J) faucet choice, and (K) ring choice, Solid and hatched bars represent low 5% and high 95% fractile inputs of the variables, respectively

รูปที่ 2.8 ปัจจัยเสี่ยงของการพบ *Enterobacter aerogenes* บนมือพนักงาน

(Montville et al., 2002)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากรูปที่ 2.8 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการลด *Enterobacter aerogenes* บนมือ คือ การใช้สารฆ่าเชื้อ การใช้สบู่ และการทำให้มือแห้ง นอกจากนี้เมื่อหาลำดับความสำคัญของปัจจัยยังพบว่าการใช้สารฆ่าเชื้อมีผลต่อการพบ *Enterobacter aerogenes* บนมือพนักงาน มากกว่าการใช้สบู่ และมากกว่าวิธีการทำให้มือแห้ง ซึ่งจากข้อมูลที่ได้ทำให้สามารถสร้างมาตรการควบคุมเพื่อจัดการกับความเสี่ยงของการพบ *Enterobacter aerogenes* บนมือพนักงาน โดยพิจารณาถึงการใช้สารฆ่าเชื้อหลังการล้างมือ การใช้สบู่ล้างมือที่ผสมสารฆ่าเชื้อ และการใช้กระดาษเช็ดมือแทนการใช้ลมร้อนเป่า

2.3.2 การจัดการความเสี่ยง

การจัดการความเสี่ยง หมายถึง กระบวนการพิจารณา ทางเลือกของการควบคุมที่เหมาะสม ซึ่งผู้ประเมินความเสี่ยงเป็นผู้ให้ทางเลือก จากผลของการประเมินความเสี่ยง รวมถึงการเลือก และ การนำไปปฏิบัติ (CAC, 1999) การจัดการด้านความปลอดภัยอาหารต้องควบคุมตลอดทั้งห่วงโซ่อาหาร เพื่อพัฒนาสาธารณสุข (Stringer, 2005) ซึ่งเป็นความรับผิดชอบของรัฐบาลที่ต้องตั้ง ระดับการยอมรับได้ในการคุ้มครองผู้บริโภค (appropriate level of protection; ALOP) (WTO, 1995) หลังจากนั้นต้องมีการตั้ง เป้าหมายด้านความปลอดภัยอาหาร (food safety objective, FSO) ซึ่งเป็นการกำหนดความถี่ และ/หรือความเข้มข้นสูงสุด ของอันตรายทางชีวภาพในอาหาร ณ จุดบริโภค ที่ทำให้ได้ตามระดับการยอมรับได้ในการคุ้มครองผู้บริโภคที่ตั้งไว้ (ICMSF, 2002) โดย ICMSF ได้สร้างสมการอธิบายไว้ดังสมการที่ 2.2

$$H_0 - \sum R + \sum I \leqslant \mathrm{FSO} \tag{2.2}$$

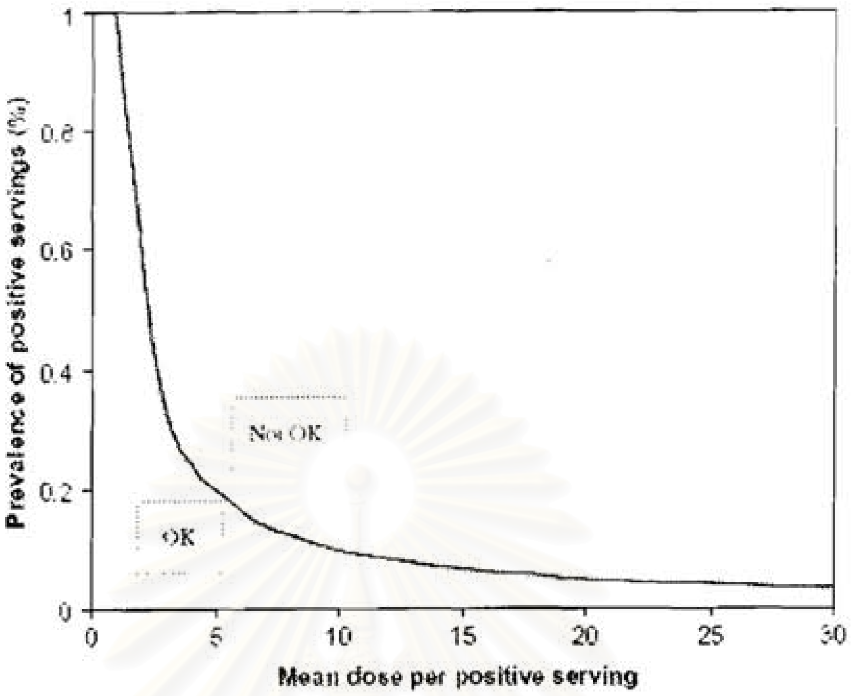
เมื่อ H_o คือ ระดับของอันตรายเริ่มต้น

$\sum R$ คือ ผลรวมของอันตรายที่ลดลง

$\sum I$ คือ ผลรวมของอันตรายที่เพิ่มขึ้น (การเจริญเติบโต หรือ การปนเปื้อนซ้ำ)

โดยที่ H_o, R และ I แสดงอยู่ในรูป log ฐานสิบ

เมื่อมีการตั้งเป้าหมายด้านความปลอดภัยอาหารขึ้นแล้ว จะมีการสร้าง prevalence-dose equivalence curve ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ต่อตัวอย่างอาหารที่ตรวจพบจุลินทรีย์ กับความชุกของตัวอย่างอาหารที่ตรวจพบจุลินทรีย์ เพื่อแบ่งขอบเขตของระดับที่ยอมรับได้ และยอมรับไม่ได้ ดังรูปที่ 2.9 เช่น เมื่อความชุกของตัวอย่างอาหารที่ตรวจพบจุลินทรีย์มีค่าเท่ากับร้อยละ 2 หากปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหารนั้นมีค่าไม่เกิน 5 CFU ต่อกรัม ก็ยังจัดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่หากปริมาณจุลินทรีย์เกินกว่านั้น ก็จะถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับไม่ได้



รูปที่ 2.9 Prevalence-dose equivalence curve (Havelaar et al., 2004)

ผู้ผลิตอาหารต้องนำเป้าหมายด้านความปลอดภัยอาหาร ที่รัฐบาลตั้งมาประกอบการพิจารณา เพื่อตั้งเกณฑ์จุลินทรีย์ (microbiological criteria) ของโรงงานผลิต ซึ่งเกณฑ์จุลินทรีย์จะแสดงระดับการยอมรับได้ ของผลิตภัณฑ์ที่จะออกจากโรงงาน ในมุมมองของการไม่พบหรือกำหนดเป็นจำนวนของจุลินทรีย์ รวมถึงปรสิต และปริมาณสารพิษ/metabolites ต่อหน่วยน้ำหนัก ปริมาณ พื้นที่ หรือ lot (CAC, 1997)

โครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ อธิบายวิธีการตั้งเกณฑ์จุลินทรีย์ ดังนี้

1. ให้ระบุเชื้อจุลินทรีย์ และ/หรือ สารพิษ หรือ metabolites และเหตุผลที่ต้องให้ความสำคัญ
2. ระบุวิธีการวิเคราะห์เพื่อตรวจหา
3. ระบุแผนในการเก็บจำนวนตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์
4. ให้พิจารณาปริมาณจำกัดทางด้านจุลินทรีย์ (microbiological limit) ให้เหมาะสมกับชนิดของอาหาร ในห่วงโซ่อาหาร
5. จำนวนของหน่วยวิเคราะห์ที่สอดคล้องกับข้อจำกัดข้างต้น

ตัวอย่างเป้าหมายด้านความปลอดภัยอาหารและเกณฑ์จุลินทรีย์แสดงในตารางที่ 2.19

ตารางที่ 2.19 การอธิบายเป้าหมายด้านความปลอดภัยอาหารและเกณฑ์จุลินทรีย์ (CAC, 1997)

Food safety objective	Microbiological criteria
A goal on which food chains can be designed so that the resulting food will be expected to be safe	A statement that defines the acceptability of a food product or lot of food
Aim at consumer protection	Confirmation that effective GHP and HACCP plans are applied
Applies to food at the moment of consumption	Applies to individual lots or consignments of food
Component: • Maximum frequency and/or concentration of a microbiological hazard • Product to which it applies	Component: • Microorganism of concern and/or their toxin/metabolites • Sampling plan • Analytical unit • Analytical method • Microbiological limits • Number of analytical units that must conform to the limits
Used only for food safety	Used for food safety or quality characteristics

การจัดการความเสี่ยงของโรงงานผลิตจำเป็นจะต้องพิจารณาเป้าหมายความปลอดภัยอาหารของประเทศ และพิจารณา ทางเลือกของการควบคุมที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ตามเกณฑ์จุลินทรีย์ของโรงงาน

Sarah และคณะฯ (2004) ได้สรุปพื้นฐานการตัดสินใจในการดำเนินการจัดการความเสี่ยงและการนำการประเมินความเสี่ยงจากอันตรายทางชีวภาพ มาใช้ในการจัดการความเสี่ยงของประเทศกำลังพัฒนา พบว่า ประเทศไทยดำเนินการจัดการความเสี่ยงภายใต้พื้นฐานของหลักฐานทางด้านการระบาด หลักการทางวิทยาศาสตร์ มาตรฐานสากล และ มาตรฐานของประเทศนำเข้า แต่ยังไม่มีการนำการประเมินความเสี่ยงของอันตรายทางชีวภาพมาใช้ ยกเว้นในเรื่องโรคสัตว์ และโรคพืช ประเทศมาเลเซียมีการจัดการความเสี่ยงซึ่งอยู่บนพื้นฐานของมาตรฐานสากล และมาตรฐานของประเทศต่างๆ สำหรับประเทศจีน ได้มีการนำหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยง ของโครงการมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex) มาใช้แล้ว

Hoornstra และคณะฯ (2001) ได้หาโอกาสในการพบ *E. coli* O157:H7 ในไส้กรอกหมัก ณ จุดบริโภค เพื่อพิสูจน์ว่าการใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 ถึง 5D มีความจำเป็นหรือไม่ โดยสรุปจากรายงาน Center for Disease Control and Prevention (1995) เกี่ยวกับการระบาดของ *Escherichia coli* O157:H7 จากการบริโภคไส้กรอกหมักประเภท dry-cured salami ซึ่งพบว่าโอกาสที่จะพบ *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์มีน้อยมาก โดยมีค่าน้อยกว่า 1 ใน 10^9 ในขณะที่โอกาสของการไม่พบการปนเปื้อนสูงถึงร้อยละ 99.7 ดังแสดงในตารางที่ 2.20

ตารางที่ 2.20 โอกาส ในการพบ *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักดิบ ณ จุดบริโภค (Hoonstra et al., 2001)

ปริมาณ *E. coli* O157:H7 ในไส้กรอก	**โอกาส**
0	99.7%
$\geq$1	0.3%
$\geq$10	0.002% (1 ใน 50,000)
$\geq$100	<1 ใน 10^9

Hoornstra และคณะฯ (2001) สรุปทางเลือกในการจัดการความเสี่ยง คือ ไม่มีความจำเป็นต้องใช้ความร้อนถึง 5D ในการฆ่าเชื้อ และนำข้อมูลที่ได้จากการทำ scenario analysis มาใช้พิจารณาปัจจัยเสี่ยง ร่วมกับพิจารณาปัจจัยด้านการลงทุน เพื่อทำการพัฒนาตามความเหมาะสม

ในปี 2001 ILSI Europe ได้สรุปการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ ของผู้บริโภคที่ป่วยเป็นโรค Listeriosis จากการบริโภคเนยแข็งประเภท soft cheese ที่ทำมาจากน้ำนมดิบ ซึ่งพบว่าในผู้บริโภค 50 ล้านคน ที่บริโภค เนยแข็งประเภท soft cheese จะมีโอกาสเป็นโรค Listeriosis 57 ราย และมีโอกาสเสียชีวิต 12 ราย จึงได้มีทางเลือกสำหรับการจัดความเสี่ยง คือให้กำจัดน้ำนมที่มาจากแม่วัวที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ ให้เพิ่มสุขลักษณะในการผลิตเพื่อลดการปนเปื้อนข้ามในสิ่งแวดล้อม

นอกจากนี้ Hoornstra และคณะ (2001) ได้สรุปโอกาสของการเสื่อมคุณภาพอันเนื่องจาก *Bacillus subtilis* ในผลิตภัณฑ์เนื้อที่ผ่านการเก็บที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ที่ pH 6.3 5.7 และ 5.3 โดยที่มี และไม่มีการใส่เครื่องเทศ และสมุนไพร ซึ่งจากเดิมคือเก็บไว้ที่ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้ pH 5.3 และมีการใส่เครื่องเทศ และสมุนไพร โอกาสในการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อ น้อยกว่า 1 ใน 10^7 และพบว่าเมื่อผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อที่ pH น้อยกว่า 5.3 มีความเสี่ยงต่อการเสื่อมคุณภาพในระดับที่ยอมรับได้ แต่อาจส่งผล

กระทบต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ ซึ่งผู้จัดการความเสี่ยงของบริษัทผลิตอาหาร เป็นผู้ตัดสินใจบนพื้นฐานของความเสี่ยงกับค่าใช้จ่ายจากการใช้เครื่องเทศหรือ สมุนไพร และค่าความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์

2.3.3 การสื่อสารความเสี่ยง

การสื่อสารความเสี่ยง หมายถึง ปฏิกิริยาสัมพันธ์ ของการแลกเปลี่ยนข้อมูล และทางเลือก ในเรื่องของความเสี่ยง และ การจัดการความเสี่ยง ระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยง ผู้จัดการความเสี่ยง และ ผู้บริโภค หรือหน่วยงานที่สนใจ ซึ่งในการสื่อสารความเสี่ยงอาจใช้การประชุมร่วมกัน หรือการฝึกอบรม (CAC, 1999)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภค

เนื้อไก่ปรุงสุก ประเภท นึ่ง อบ ย่าง และทอด ผลิตจากโรงงานผลิตเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออก ซึ่งได้รับการรับรองระบบสุขลักษณะที่ดีในการผลิต หรือ GMP (Good Manufacturing Practice) และระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม หรือ HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) จากกรมปศุสัตว์

3.2 วัสดุและอุปกรณ์

3.2.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์และระบุชนิดของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกและเนื้อไก่ปรุงสุกแช่เยือกแข็ง

1. Incubator 30 ถึง 32 และ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส (บริษัท Memmert จำกัด)
2. Water bath (บริษัท Memmert จำกัด)
3. Loop และ Needle
4. หลอดทดลอง หรือขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
5. ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
6. Petri dish
7. Glass slide
8. Stomacher (บริษัท Seward Medical จำกัด)
9. ตะเกียงแก๊ส

3.2.2 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการการวิเคราะห์หา *Listeria* spp. จากการ Swab พื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิต

1. แผ่นทดสอบ *Listeria* spp. 3M Petrifilm™ (บริษัท 3M จำกัด)
2. Incubator 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส (บริษัท Memmert จำกัด)
3. ปิเปตขนาด 1 และ 3 มิลลิลิตร
4. ตะเกียงแก๊ส

3.3 สารเคมี

1. Peptone (บริษัท Merck จำกัด)
2. Half Fraser Broth (บริษัท Merck จำกัด)
3. Oxford agar (บริษัท Merck จำกัด)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. PALCAM agar (บริษัท Merck จำกัด)
5. Detergent : Foamyclean™ ซึ่งมีสารออกฤทธิ์คือ Sodium lauryl ether sulphate, Linear alkyl bezene sulfonate, Sodium salt และ Cocamidopropyl betaine (บริษัท Golden Line Business จำกัด)
6. Sanitizer : Topex 91-66™ ซึ่งมีสารออกฤทธิ์คือ Sodium hydroxide lauryl dimethylamine oxide และ Sodium hypochlorite as available chlorine (บริษัท Ecolab จำกัด)

3.4 วิธีทดลอง

3.4.1 ตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการให้ความร้อนในการทำลาย *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภท อบ นึ่ง และทอด

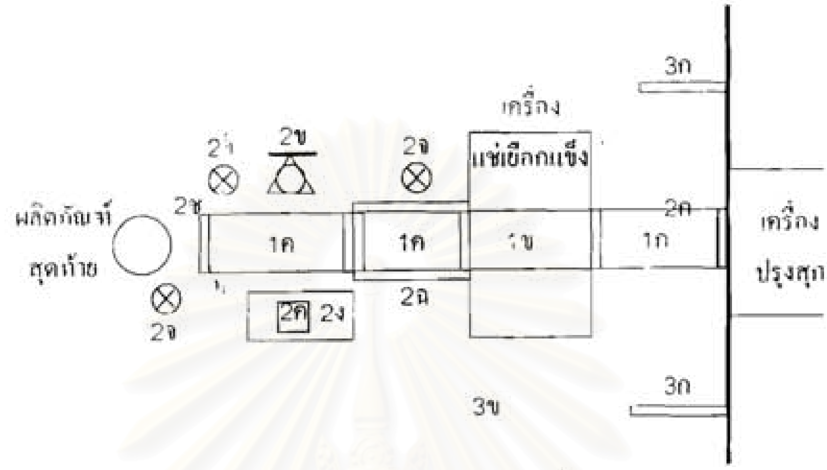
เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทุกประเภทหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนทันที ณ จุดที่ออกจากเครื่องปรุงสุก โดยใช้ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว รองรับผลิตภัณฑ์จากสายพานของเครื่องปรุงสุก โดยไม่ให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสถูกมือ หรือพื้นผิวของถุงด้านนอก เพื่อนำไปวิเคราะห์หาการมีอยู่ของ *Listeria* spp. โดยใช้วิธีตามมาตรฐานสากล ISO 11290-1:1996 (รายละเอียดในภาคผนวก ก.1) นำข้อมูลการพบมาหาความชุกของ *Listeria* spp. โดยเท่ากับอัตราส่วนระหว่างจำนวนตัวอย่างที่พบ *Listeria* spp. และจำนวนตัวอย่างทั้งหมด การเก็บตัวอย่างจะเก็บทุกครั้งที่มีการผลิตโดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ประเภทละ 1 ครั้ง ภายในช่วงเวลาการผลิต ซึ่งมีระยะเวลานาน 20 ชั่วโมงต่อวัน ครั้งละประมาณ 100 ถึง 300 กรัม (ขึ้นกับขนาดของผลิตภัณฑ์) เป็นระยะเวลา 6 วันใน 1 สัปดาห์ (1 ซ้ำ) ทำทั้งสิ้น 10 สัปดาห์ (10 ซ้ำ)

3.4.2 หาความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภท อบ นึ่ง และทอด

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามวิธีในข้อ 3.4.1 โดยเก็บผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ถูกบรรจุอยู่ในถุงพลาสติกแล้ว (หลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน ผลิตภัณฑ์ถูกลำเลียงผ่านสายพานเข้าสู่สายพานของเครื่องแช่เยือกแข็ง และถูกลำเลียงไปสู่สายพานลำเลียงมาสู่บริเวณบรรจุลงถุงพลาสติก) เพื่อตรวจหาการมีอยู่ของ *Listeria* spp. และสำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่พบ *Listeria* spp. จะนำไปวิเคราะห์ต่อเพื่อหาชนิดของ *Listeria* spp. ตามวิธีมาตรฐานสากล ISO 11290-1:1996 ในการเก็บตัวอย่างจะเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทุกครั้งที่มีการผลิต โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ประเภทละ 1 ครั้ง ภายในช่วงเวลาการผลิต ซึ่งมีระยะเวลานาน 20 ชั่วโมงต่อวัน ครั้งละประมาณ 100 ถึง 300 กรัม (ขึ้นกับขนาดของผลิตภัณฑ์) เป็นระยะเวลา 6 วันใน 1 สัปดาห์ (1 ซ้ำ) ทำทั้งสิ้น 10 สัปดาห์ (10 ซ้ำ)

3.4.3 หาความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. บริเวณพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในส่วนหลังการปรุงสุก (high care area)

แบ่งพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตหลังกระบวนการให้ความร้อน ตามระดับความเสี่ยงของการปนเปื้อน เป็น 3 โซน (zone) ดังแสดงในรูปที่ 3.1



1ก คือ สายพานลำเลียงจากเครื่องปรุงสุกไปสู่เครื่องแช่เยือกแข็ง

1ข คือ สายพานของเครื่องแช่เยือกแข็ง

1ค คือ สายพานลำเลียงจากเครื่องแช่เยือกแข็งไปสู่บริเวณบรรจุลงถุงพลาสติก

2ก คือ ขอบของสายพาน	2ข คือ เครื่องชั่ง	2ค คือ ขอบของถาด
2ง คือ ขอบของโต๊ะ	2จ คือ ถุงมือของพนักงาน	2ฉ คือ ถาดรองใต้สายพาน
2ช คือ ล้อหมุนสายพาน	3ก คือ รางระบายน้ำ	3ข คือ พื้น

(ตัวเลข หมายถึง โซน และตัวอักษร หมายถึง ชนิดของอุปกรณ์)

รูปที่ 3.1 แผนผังการแบ่งโซนของสิ่งแวดล้อมการผลิต

พื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต (รูปที่ 3.1) ประกอบด้วย 3 โซน คือ

<u>โซนที่ 1</u> คือ พื้นผิวที่สัมผัสผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย พื้นผิวของ สายพานลำเลียงจากเครื่องปรุงสุกไปสู่เครื่องแช่เยือกแข็ง สายพานของเครื่องแช่เยือกแข็ง และสายพานลำเลียงจากเครื่องแช่เยือกแข็งไปสู่บริเวณบรรจุลงถุงพลาสติก

<u>โซนที่ 2</u> คือ พื้นผิวที่ไม่สัมผัสผลิตภัณฑ์ แต่อยู่ใกล้ผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย ขอบของสายพาน เครื่องชั่ง ขอบของถาด ขอบของโต๊ะ และถุงมือของพนักงานซึ่งสัมผัสเฉพาะผิวด้านนอกของถุงพลาสติกบรรจุผลิตภัณฑ์ และพื้นผิวที่ล้างทำความสะอาดได้ยาก คือ ถาดรองใต้สายพาน และล้อหมุนสายพาน (roller)

<u>โซนที่ 3</u> คือ พื้นผิวที่ไม่สัมผัสผลิตภัณฑ์ และอยู่ไกลจากผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย รางระบายน้ำ และพื้น

จากนั้น Swab พื้นผิวที่กลุ่มบริเวณต่างๆ ที่เวลาการผลิต 0 ชั่วโมง (หลังล้างสายการผลิตก่อนเริ่มปฏิบัติงาน) เวลา 10 ชั่วโมง (ระหว่างการผลิต) และ 20 ชั่วโมง (หลังการผลิตก่อนล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ) เป็นระยะเวลา 6 วันใน 1 สัปดาห์ (1 ซ้ำ) ทำทั้งสิ้น 10 สัปดาห์ (10 ซ้ำ) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. โดย ใช้ 3M Petrifilm™ (รายละเอียดในภาคผนวก ก.2) สำหรับตัวอย่างที่พบ *Listeria* spp. จะนำไปวิเคราะห์หาชนิดของ *Listeria* spp. ตามวิธีมาตรฐานสากล ISO 11290-1:1996

3.4.4 หาความสัมพันธ์ของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย และบริเวณพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในการผลิต

นำผลการวิเคราะห์ ความชุกของ *Listeria* spp. ในข้อ 3.4.2 และ 3.4.3 ทั้ง 10 ซ้ำ มาวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (multiple regression analysis) ระหว่างตัวแปรอิสระ คือ ความชุกของ *Listeria* spp. ที่พบบนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตทั้ง 3 กลุ่มบริเวณ (โซนที่ 1 2 และ 3) และที่เวลาการผลิต ทั้ง 3 เวลา (0 10 และ 20 ชั่วโมง) และตัวแปรตาม คือ ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายทั้ง 3 ประเภท คือ อบ นึ่ง และทอด

จากข้อมูลผลการวิเคราะห์ที่ได้ หาสมการถดถอยพหุคูณเชิงเส้นตรง (multiple linear regression equation) เพื่อสร้างแบบจำลอง (model) ของสมการพยากรณ์

3.4.5 ประเมินความเสี่ยง

ตอนที่ 1

สร้างแบบจำลองโอกาสในการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมไปสู่ผลิตภัณฑ์ โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ที่ได้จากข้อ 3.4.3 กับโอกาสการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ ที่ได้จากข้อ 3.4.2

ตอนที่ 2

สร้างแบบจำลองโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ณ เวลาใดๆ โดยพิจารณาจาก 3 ปัจจัยเสี่ยง (risk factor) คือ 1) ความชุกของ *Listeria* spp. ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อพื้นผิว 2) โอกาสการเหลือรอดของ *Listeria* spp. หลังจากพื้นผิวผ่านการล้างทำความสะอาด และ 3) โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการผลิตนานขึ้น จากการปนเปื้อนจากโซนอื่น (โซนที่ 2 และโซนที่ 3) และการเจริญของ *Listeria* spp. บนพื้นผิว ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

ก. หาความชุกของ *Listeria* spp. ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อพื้นผิว

Swab พื้นผิวโซนที่ 1 ที่เวลาการผลิต 20 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 6 วันใน 1 สัปดาห์ (1 ซ้ำ) ทำทั้งสิ้น 10 สัปดาห์ (10 ซ้ำ) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. โดย ใช้ 3M Petrifilm™

ข. คำนวณหาโอกาสการเหลือรอดของ *Listeria* spp. หลังจากพื้นผิวผ่านการล้างทำความสะอาด

ข.1 พิจารณาปัจจัยเสี่ยง

แบบจำลองโอกาสการเหลือรอดของ *Listeria* spp. หลังจากที่พื้นผิวผ่านการล้างทำความสะอาด สร้างจากปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อความชุก ของ *Listeria* spp. ที่พบบนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในการผลิตหลังจากกระบวนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

- การล้างด้วยน้ำ (ปัจจัยเสี่ยง คือ อุณหภูมิของน้ำ)
- การล้างด้วยสารทำความสะอาดและล้างด้วยน้ำ (ปัจจัยเสี่ยง คือ ความเข้มข้นของสารทำความสะอาด และระยะเวลาในการสัมผัสกับสารทำความสะอาด)
- การล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ (ปัจจัยเสี่ยง คือ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และระยะเวลาในการสัมผัสกับสารฆ่าเชื้อ)

ข.2 หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าของปัจจัยเสี่ยงกับโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อในแต่ละขั้นตอน โดยทดลองภายในห้องปฏิบัติการ

- การเตรียม *Listeria* spp.

เตรียม *Listeria* spp. ปริมาณ 6 Log CFU/ml จาก *Listeria* spp. ที่ isolate จาก environmental swab sample ของโซนที่ 1 ในพื้นที่หลังกระบวนการปรุงสุกของโรงงานแห่งนี้ โดยถ่าย colony ของ *Listeria* spp. จากจานเลี้ยงเชื้อลงในสารละลายที่ได้จากการโฮโมจีไนซ์ (homogenization) เนื้อไก่ เพื่อให้สารละลายที่ได้มีโปรตีนและไขมันเช่นเดียวกับเนื้อไก่ ซึ่งจะทำให้ *Listeria* spp. เกาะติดกับสายพานได้ดี (เตรียมโดยนำเนื้อไก่ที่ปรุงสุก 25 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 225 มิลลิลิตร แล้ว stomacher 1 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ 10 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร)

หลังจากถ่ายเชื้อใส่สารละลายที่ได้จากการโฮโมจีไนซ์เนื้อไก่แล้ว เปรียบเทียบความขุ่นกับ Mcfarland เบอร์ 0.5 (Mcfarland เบอร์ 0.5 มีความเข้มข้นของ $BaSO_4$ เท่ากับ $2.4X10^{-5}$ โมลต่อลิตร เทียบเป็นปริมาณ *Listeria* spp. เท่ากับ 1.5×10^{8}) ด้วยสายตา แล้วปิเปตสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน peptone saline diluents 9 มิลลิลิตร เพื่อเจือจาง หลังจากนั้น

ถ่ายเชื้อ 3 มิลลิลิตร ลงบน 3M Petrifilm™ บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 28 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณ *Listeria* spp. ที่มีอยู่จริง

- การถ่ายเชื้อ *Listeria* spp. ลงบนสายพาน

สเปรย์ *Listeria* spp. ปริมาณ 6 Log CFU/ml ลงบนสายพานซึ่งเป็นสายพาน Polypropylene (บริษัท Intralox จำกัด) ชนิดเดียวกับที่ใช้ในกระบวนการผลิต จำนวน 4 ชุด สำหรับการตรวจสอบปริมาณ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสายพานหลังการสเปรย์ และสำหรับการทดลองการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ 3 ขั้นตอน

- การทดลองการล้างสายพานด้วยน้ำ

ล้างสายพานด้วยน้ำปริมาตร 1 ลิตร ระยะเวลา 10 วินาที แปรอุณหภูมิน้ำเป็น 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้น swab พื้นผิวสายพาน นำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด โดยใช้ 3M Petrifilm™ ทดลองจำนวน 10 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD

- การทดลองการล้างสายพานด้วยสารทำความสะอาดและล้างด้วยน้ำ

พ่นสารทำความสะอาด Foamyclean™ ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% (v/v) ลงไปบนสายพาน ทิ้งระยะเวลาสัมผัสของสารทำความสะอาดเอาไว้นาน 5, 10 และ 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำอุณหภูมิห้องปริมาตร 1 ลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้น swab พื้นผิวสายพาน นำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด โดยใช้ 3M Petrifilm™ ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Factorial 3x3

- การทดลองการล้างสายพานด้วยสารฆ่าเชื้อ

พ่นสารฆ่าเชื้อ Topax 91-66™ ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1.25% (v/v) ลงไปบนสายพาน ทิ้งระยะเวลาสัมผัสของสารฆ่าเชื้อเอาไว้นาน 5, 10 และ 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำอุณหภูมิห้องปริมาตร 1 ลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้น swab พื้นผิวสายพาน นำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด โดยใช้ 3M Petrifilm™ ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Factorial 3x3

ข.3 คำนวณโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดจากการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดจากการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ จะเท่ากับผลคูณของความชุก *Listeria* spp. บนพื้นผิวก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดในแต่ละขั้นตอนของการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ดังสมการที่ 3.1 ซึ่งโอกาสในการเหลือรอดในแต่ละขั้นตอนเท่ากับความชุกของ *Listeria* spp. หลังจากผ่านแต่ละขั้นตอนหารด้วยความชุกก่อนที่จะผ่านขั้นตอนนั้น (เช่น ขั้นตอนการล้างด้วยน้ำ

โอกาสการเหลือรอดเท่ากับความชุกหลังการล้างน้ำ หารด้วยก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อพื้นผิว เป็นต้น) โดยใช้สมการที่ 3.2 ถึง 3.4

$$P_{initial} = Y \times P_{water} \times P_{detergent} \times P_{sanitizer} \quad (3.1)$$

โดย $P_{initial}$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดจากการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

Y = ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

P_{water} = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างด้วยน้ำ

$P_{detergent}$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด

$P_{sanitizer}$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ

$$P_{water} = \frac{\text{ความชุกของ } Listeria \text{ spp. หลังล้างด้วยน้ำ}}{\text{ความชุกของ } Listeria \text{ spp. ก่อนล้างด้วยน้ำ}} \quad (3.2)$$

$$P_{detergent} = \frac{\text{ความชุกของ } Listeria \text{ spp. หลังล้างด้วยสารทำความสะอาด}}{\text{ความชุกของ } Listeria \text{ spp. ก่อนล้างด้วยสารทำความสะอาด}} \quad (3.3)$$

$$P_{sanitizer} = \frac{\text{ความชุกของ } Listeria \text{ spp. หลังล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ}}{\text{ความชุกของ } Listeria \text{ spp. ก่อนล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ}} \quad (3.4)$$

ค. คำนวณหาโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการผลิตนานขึ้น จากการปนเปื้อนจากโซนอื่น (โซนที่ 2 และ 3) และการเจริญของ *Listeria* spp. บนพื้นผิว

แบบจำลองโอกาสการเพิ่มขึ้นของ *Listeria* spp. จากการปนเปื้อนจากโซนอื่นๆ และที่เพิ่มขึ้นจากการเจริญ สร้างโดยทำการ swab พื้นผิวที่เวลาการผลิตต่างๆ คือ 0, 10 และ 20 ชั่วโมง ต่อเนื่องกัน 10 สัปดาห์ (10 ซ้ำ) นำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. โดยใช้ 3M Petrifilm™ (ความชุกของ *Listeria* spp. ที่เวลา 0 ชั่วโมง จะเท่ากับความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวหลังการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ) จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเพิ่มขึ้นของความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวกับเวลาการผลิต ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Sigma Plot โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของความชุกของ *Listeria* spp. หาได้จากสัดส่วนของความชุกของ *Listeria* spp. ที่เวลาการผลิต 10 และ 20 ชั่วโมง ต่อความชุกที่เวลา 0 ชั่วโมง

ง. สร้างแบบจำลองโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต

โดยสร้างได้จากผลคูณของแบบจำลองโอกาสการเหลือรอดของ *Listeria* spp. หลังจากพื้นผิวผ่านการล้างทำความสะอาด และโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเพิ่มขึ้นจากการปนเปื้อนจากโซนอื่น และการเจริญ โดยใช้สมการที่ 3.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$$P_s = P_{initial} \times P_{z2z3} \times P_{growth} \quad (3.5)$$

โดย P_s = โอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต

$P_{initial}$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดจากการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

P_{z2z3} = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเพิ่มขึ้นจากการปนเปื้อนจากโซนที่ 2 และ 3

P_{growth} = โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเพิ่มขึ้นจากการเจริญ

ตอนที่ 3

ทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองที่ได้ โดยนำผลการพยากรณ์โอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต เปรียบเทียบกับความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิว ที่หาโดยการ swab พื้นผิวในกระบวนการผลิตจริง ณ เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาความชุกของ *Listeria* spp. โดยใช้ 3M Petrifilm™ ทดลอง 30 ซ้ำ

ตอนที่ 4

คำนวณโอกาสการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ ที่ปนเปื้อนมาจากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต (ค่าประมาณความเสี่ยง) โดยการแทนโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต (ที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 3) ลงในแบบจำลองโอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมไปสู่ผลิตภัณฑ์ (ที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 1) จากนั้นทำการเรียงลำดับปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อโอกาสในการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ โดยวิธี sensitivity analysis ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ @RISK

3.4.6 การเสนอวิธีการสำหรับจัดการความเสี่ยงและทำการสื่อสารความเสี่ยง

พิจารณาจากปัจจัยเสี่ยงที่มีผลมากสุดและรองลงมาตามลำดับ ที่ได้จากการทำ sensitivity analysis เลือกค่าของปัจจัยเสี่ยงที่เหมาะสมของทุกปัจจัยเสี่ยง ที่ทำให้โอกาสในการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ต่ำสุด จากนั้นผู้ประเมินความเสี่ยงจะออกแบบวิธีการสำหรับจัดการความเสี่ยงโดยใช้ปัจจัยเสี่ยงและค่าของปัจจัยเสี่ยง

เสนอวิธีการจัดการความเสี่ยงให้กับโรงงานผลิต โดยผู้จัดการความเสี่ยงของโรงงานผลิตจะเป็นผู้เลือกวิธีจัดการความเสี่ยง และมีการอบรมเพื่อสร้างความเข้าใจให้กับผู้ปฏิบัติงานในโรงงานผลิตโดยผู้ประเมินความเสี่ยง จากนั้นประเมินผลการนำการวิเคราะห์ความเสี่ยงมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์โดยเปรียบเทียบความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ก่อน และหลังการนำการวิเคราะห์ความเสี่ยงมาประยุกต์ใช้

บทที่ 4
ผลการดำเนินการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการให้ความร้อนในการทำลาย *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภท อบ นึ่ง และทอด

ในการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคมีสาเหตุหลักมาจากกระบวนการให้ความร้อนไม่มีประสิทธิภาพและเกิดการปนเปื้อนภายหลัง (post contamination) การให้ความร้อน ดังนั้นในการศึกษาหาแหล่งปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์สุดท้ายจำเป็นต้องตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการให้ความร้อน ซึ่งโรงงานแห่งนี้กำหนดมาตรฐานการให้ความร้อนสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกทั้งประเภท อบ นึ่ง และทอด ไว้ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จากการตรวจสอบอุณหภูมิใจกลางผลิตภัณฑ์ดังกล่าวทันทีหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนพบว่าผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ประเภท อบ นึ่ง และทอด มีอุณหภูมิใจกลางโดยเฉลี่ยเท่ากับ 87.2, 87.6 และ 92.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งเพียงพอต่อการทำลาย *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน โดยมีค่า D value (ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่และขาไก่) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส อยู่ในช่วง 0.11 -0.20 นาที (ICMSF, 1996) และเมื่อนำมาวิเคราะห์หา *Listeria* spp. (ตารางที่ 4.1) พบว่าไม่พบ *Listeria* spp. เหลือรอดหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนด้วยวิธี อบ นึ่ง และทอด ซึ่งแสดงว่ากระบวนการให้ความร้อนของโรงงานมีประสิทธิภาพเพียงพอในการทำลาย *Listeria* spp.

ตารางที่ 4.1 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนทันที

ประเภทของผลิตภัณฑ์	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
อบ	108	0	0.00
นึ่ง	111	0	0.00
ทอด	115	0	0.00

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 แสดงความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ นึ่ง และทอด ซึ่งมีจำนวนผลิตภัณฑ์ที่ตรวจวิเคราะห์ทั้งวันเท่ากับ 108, 111 และ 115 ตัวอย่าง ตามลำดับ หลังการตรวจวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทั้งหมดไม่พบ *Listeria* spp. และร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ซึ่งคำนวณจากร้อยละของอัตราส่วนระหว่างจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria*

spp. และจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ผลิตทั้งวัน ผลการคำนวณพบว่าร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ นึ่งและทอดหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนทันทีมีค่าเท่ากับ 0.00

4.2 การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว จะถูกนำไปแช่เยือกแข็ง และบรรจุลงถุง เมื่อเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ประเภท จากขั้นตอนบรรจุลงถุงนำมาตรวจวิเคราะห์ *Listeria* spp. ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายของเนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคแช่-เยือกแข็ง

ประเภทของผลิตภัณฑ์	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
อบ	898	29*	3.23
นึ่ง	856	27*	3.15
ทอด	882	0	0.00

* *L. innocua* และ *L. welshimeri*

จากตารางที่ 4.2 จะเห็นว่า พบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่ง แต่ไม่พบการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอด เมื่อคำนวณความชุกของ *Listeria* spp. ทั้งวัน พบว่า ร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบเท่ากับ 3.23 และในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งเท่ากับ 3.15 เมื่อนำ *Listeria* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาแยกเพื่อพิสูจน์สายพันธุ์ (ISO 11290-1:1996) พบว่า *Listeria* spp. ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ประเภทเป็น *L. innocua* และ *L. welshimeri* โดยในผลิตภัณฑ์ประเภทอบพบ *L. innocua* และ *L. welshimeri* ร้อยละ 75 และ 25 ตามลำดับ ส่วนในโดยในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งพบ *L. innocua* และ *L. welshimeri* ร้อยละ 56 และ 44 ตามลำดับ

ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่งไม่พบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ภายหลังกระบวนการให้ความร้อนทันที (ตารางที่ 4.1) แต่เมื่อผลิตภัณฑ์ผ่านกระบวนการผลิตต่อไป จนผ่านการแช่เยือกแข็ง และบรรจุถุง พบการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย (ตารางที่ 4.2) แสดงให้เห็นว่าเกิดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. หลังจากกระบวนการให้ความร้อนแล้ว ซึ่งการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายนี้ น่าจะเกิดจากการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากสิ่งแวดล้อมในการผลิตซึ่งตรงกับงานวิจัยหลายงานที่ระบุว่าการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes*

ในผลิตภัณฑ์อาหารเกิดจากการปนเปื้อนหลังจากที่อาหารนั้นผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้ว ถ้ากระบวนการให้ความร้อนนั้นเป็นการให้ความร้อนที่เพียงพอ (FAO/WHO, 1988; Glass and Doyle, 1989; Johnson et al., 1990; Tompkin et al., 1999)

การที่ไม่พบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอด อาจเนื่องมาจากลักษณะของพื้นผิวของผลิตภัณฑ์ที่แห้งกว่า ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง เมื่อทำการวัดความชื้นของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC (1995) (รายละเอียดในภาคผนวก ข) พบว่า ผลิตภัณฑ์ปรุงสุกแช่เยือกแข็งประเภททอด อบ และนึ่ง มีความชื้นเท่ากับ ร้อยละ 59.8, 67.3 และ 69.4 ตามลำดับ ทำให้เศษเนื้อของผลิตภัณฑ์ประเภททอดสะสมอยู่ตามพื้นผิวที่สัมผัสอาหารได้น้อยกว่า และพื้นผิวที่ก็มีลักษณะที่แห้งกว่า นอกจากนี้อุณหภูมิใจกลางผลิตภัณฑ์ก่อนการแช่เยือกแข็งของผลิตภัณฑ์ประเภททอดยังสูงกว่าผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง กล่าวคืออุณหภูมิใจกลางผลิตภัณฑ์ประเภททอดจะเท่ากับ 88.5 องศาเซลเซียส ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง เท่ากับ 77.1 และ 76.3 องศาเซลเซียสตามลำดับ ซึ่งการที่อุณหภูมิใจกลางผลิตภัณฑ์ของประเภททอดสูงกว่าประเภทอบ และนึ่ง อาจมีผลในการทำลาย *Listeria* spp. เมื่อเกิดการปนเปื้อนภายหลัง

4.3 การปนเปื้อน *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตในส่วนหลังการปรุงสุก หรือ high care area

ในการหาแหล่งของการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในสิ่งแวดล้อมการผลิตในส่วนหลังการปรุงสุก หรือ high care area ได้แบ่งพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมตามระดับความเสี่ยงในการปนเปื้อนสู่ผลิตภัณฑ์ออกเป็น 3 โซน ตามที่ระบุใน 3.4.3 (บทที่ 3)

จากผลของการทำ swab test ในพื้นผิวทั้ง 3 โซน พบว่ามีการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 2 และ 3 ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ถึงตารางที่ 4.5 ตามลำดับ โดย *Listeria* spp. ที่พบนั้นเมื่อนำไปวิเคราะห์ชนิด พบว่าเป็น *L. innocua* ร้อยละ 55 และเป็น *L. welshimeri* ร้อยละ 45

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.3 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และบนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 1 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง

ประเภทของผลิตภัณฑ์/พื้นผิว	เวลาการผลิต (ชั่วโมง)								
	0			10			20		
	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
อบ	54	0	0.00	37	1*	2.70	47	2*	4.26
นึ่ง	18	0	0.00	36	1*	2.78	18	1*	5.56
ทอด	3	0	0.00	4	0	0.00	3	0	0.00
สายพานลำเลียง (ระหว่างเครื่องปรุงสุก และเครื่องแช่เยือกแข็ง)	141	1*	0.71	140	5*	3.57	154	15*	9.74
สายพานเครื่องแช่เยือกแข็ง	128	0	0.00	111	0	0.00	122	5*	4.10
สายพานลำเลียง (ระหว่างเครื่องแช่เยือกแข็งและบริเวณบรรจุถุง)	141	0	0.00	132	6*	4.55	178	32*	17.98
รวม	410	1	0.24	383	11	2.87	454	52	11.45

* *L. innocua* และ *L. welshimeri*

ตารางที่ 4.4 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 2 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง

พื้นผิว	เวลาการผลิต (ชั่วโมง)								
	0			10			20		
	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
ถุงมือของพนักงาน	3	0	0.00	3	0	0.00	1	1*	100
ขอบของโต๊ะ	8	0	0.00	1	0	0.00	6	3*	50.00
ขอบของถาด	2	0	0.00	11	3*	27.27	5	1*	20.00
เครื่องชั่ง	13	2*	15.38	-	-	-	10	1*	10.00
ล้อหมุนสายพาน	9	0	0.00	-	-	-	-	-	-
ถาดรองใต้สายพาน	6	0	0.00	-	-	-	-	-	-
ขอบของสายพาน	3	0	0.00	-	-	-	-	-	-
รวม	44	2	4.55	15	3	20.00	22	6	27.27

* *L. innocua* และ *L. welshimeri*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.5 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 3 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง

พื้นผิว	เวลาการผลิต (ชั่วโมง) 0			10			20		
	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
รางระบายน้ำ	95	19*	20.00	74	23*	31.08	96	41*	42.71
พื้น	5	0	0.00	-	-	-	-	-	-
รวม	100	19	19.00	74	23	31.08	96	41	42.71

* *L. innocua* และ *L. welshimeri*

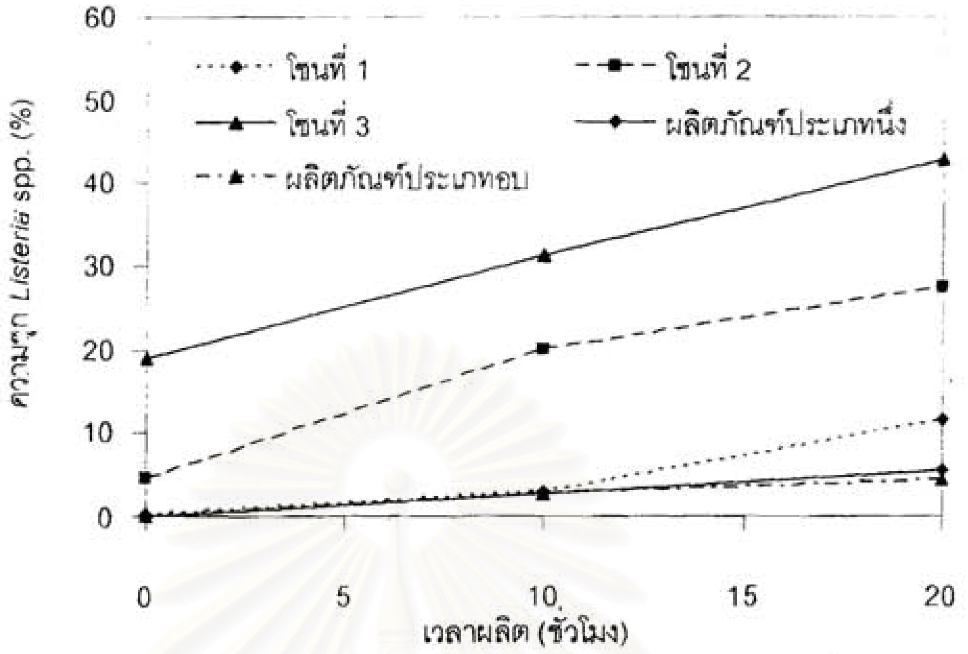
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

54

เมื่อพิจารณาการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสายพานต่างๆ ในโซนที่ 1 (ตารางที่ 4.3) พบว่าที่เวลาการผลิตทั้ง 3 เวลาคือ 0, 10 และ 20 ชั่วโมง ร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ที่พบบนสายพานของเครื่องแช่เยือกแข็ง น้อยกว่าที่พบบนสายพานลำเลียงก่อนเข้าห้องแช่เยือกแข็ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิในห้องแช่เยือกแข็งทำให้ *Listeria* spp. บางส่วนตายไปจึงทำให้พบ *Listeria* spp. บนสายพานเครื่องแช่เยือกแข็งน้อยกว่า สำหรับการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสายพานลำเลียงระหว่างเครื่องแช่เยือกแข็งกับบริเวณบรรจุถุง มากกว่าที่พบบนสายพานลำเลียงก่อนเข้าเครื่องแช่เยือกแข็ง และสายพานของเครื่องแช่เยือกแข็งที่เวลาการผลิต 10 และ 20 ชั่วโมงนั้น อาจเนื่องมาจากในห้องที่อยู่ระหว่างเครื่องแช่เยือกแข็งกับบริเวณบรรจุถุงมีอุณหภูมิสูงกว่าในห้องแช่เยือกแข็ง ซึ่งอุณหภูมิในห้องดังกล่าวนี้มีค่าประมาณ 12 องศาเซลเซียส ทำให้เกล็ดน้ำแข็งจากผิวของผลิตภัณฑ์ที่หล่นอยู่บนผิวของสายพานลำเลียงเกิดการละลาย ส่งผลให้พื้นผิวของสายพานที่ลำเลียงผลิตภัณฑ์ไปยังบริเวณบรรจุถุงมีลักษณะที่เปียกชื้น จนเกิดภาวะที่เหมาะสมกับการเติบโตของ *Listeria* spp. ได้ โดยค่าวอเทอร์แอกทิวิตี (a_w) ที่ต่ำที่สุด ที่ *Listeria* spp. จะเจริญได้ คือ 0.92 (ICMSF, 1996) รวมทั้งยังสอดคล้องกับที่สุวิมล กีรติพิบูล (2550) สรุปไว้ว่าที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งจุลินทรีย์บางส่วนจะตาย และบางส่วนที่เหลือรอด และสามารถเติบโตได้อีกเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและเกิดการละลายของน้ำแข็ง นอกจากนี้การที่พื้นผิวสายพานลำเลียงระหว่างเครื่องแช่เยือกแข็งกับบริเวณบรรจุถุง พบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. มากที่สุด อาจเนื่องมาจากพื้นผิวของสายพานได้รับการปนเปื้อนข้ามมาจากผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการปนเปื้อน *Listeria* spp. มาก่อนด้วย

จากตารางที่ 4.4 จะเห็นว่าที่เวลาการผลิต 0 ชั่วโมง พบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวเครื่องชั่งจำนวน 2 ตัวอย่างจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ในขณะที่พื้นผิวอื่นในโซนที่ 2 ไม่พบ *Listeria* spp. แสดงให้เห็นว่าการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อเครื่องชั่งก่อนเริ่มผลิต มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ โดยจากการสังเกตพบว่าพนักงานทำความสะอาดเครื่องชั่ง และพนักงานที่ล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อพื้นผิวอื่นๆ อยู่ต่างหน่วยงานกัน ทำให้มีความเข้าใจในเรื่องของการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อได้ไม่ดีพอ ดังนั้นจึงน่าจะต้องมีการอบรมเรื่องการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อให้กับพนักงานที่ทำความสะอาดเครื่องชั่งให้เกิดความเข้าใจ และสามารถล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อเครื่องชั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

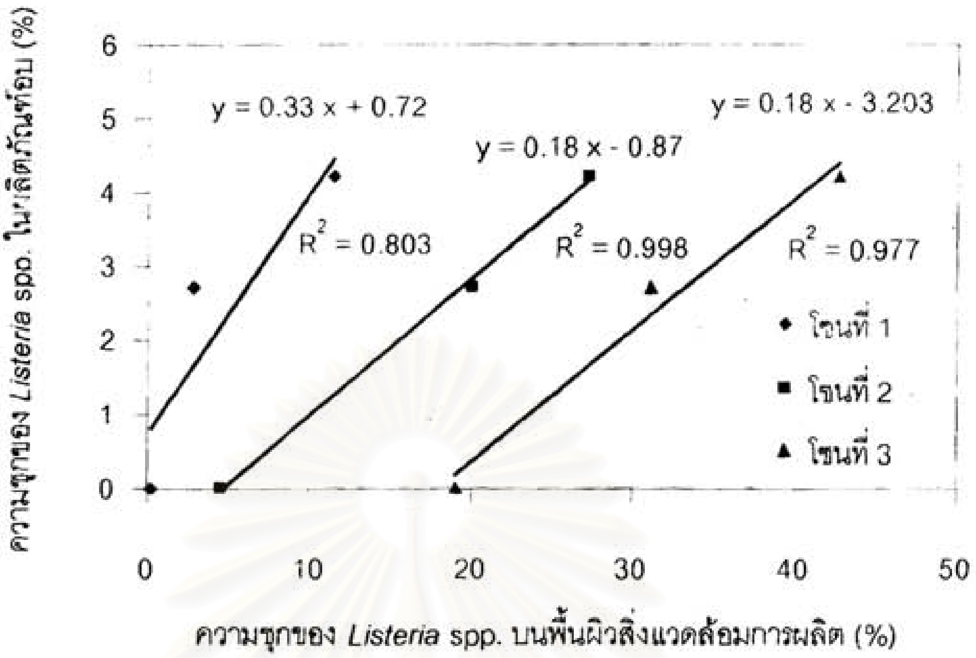
เมื่อนำร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง และในแต่ละโซน (จากตารางที่ 4.3 ถึง 4.5) มาสร้างกราฟเพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. กับเวลาการผลิต โดยความชุกของ *Listeria* spp. ในแต่ละผลิตภัณฑ์และในแต่ละโซนที่นำมาสร้างเป็นกราฟนั้น เป็นตัวอย่างซึ่งเก็บที่เวลาเดียวกันคือ ที่เวลา 0, 10 และ 20 ชั่วโมง พบว่ามีความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.1



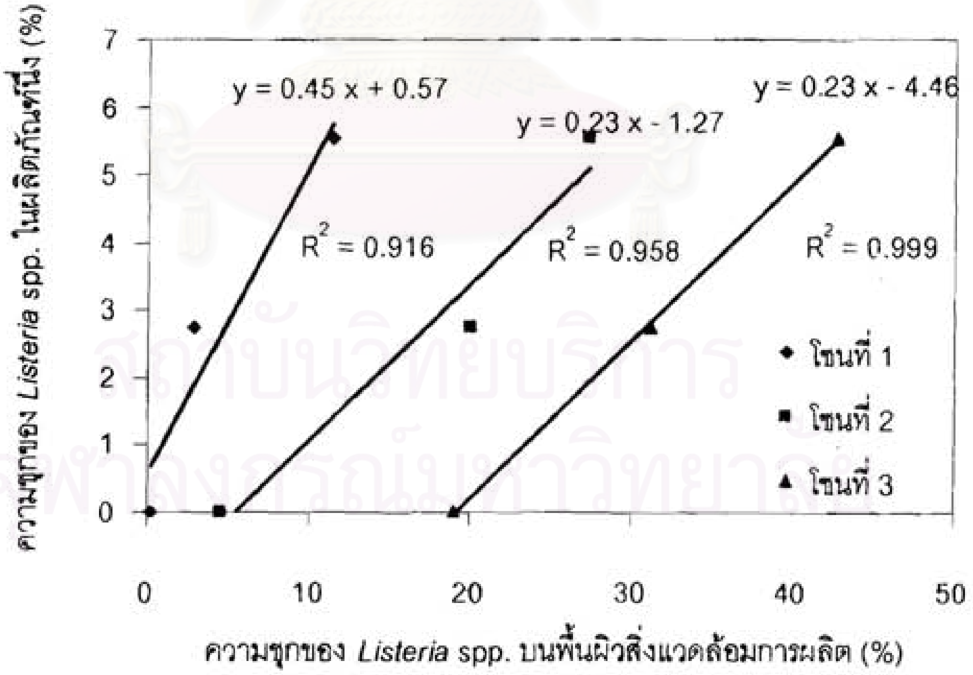
รูปที่ 4.1 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอบ และนึ่ง และในสิ่งแวดล้อมการผลิตที่เวลาการผลิตต่างๆ

จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าที่เวลาเริ่มต้นก่อนการผลิตพบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในสิ่งแวดล้อมการผลิตทั้ง 3 โซน แสดงว่าการล้างและฆ่าเชื้อไม่สามารถกำจัด *Listeria* spp. บนพื้นผิวได้หมด นอกจากนี้ยังพบว่าร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ทั้งในผลิตภัณฑ์และในสิ่งแวดล้อมการผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการผลิตเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการเจริญเติบโตของ *Listeria* spp.หรือมีการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นระหว่างโซน ในระหว่างการผลิต

เมื่อนำร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอบ และนึ่ง (ตารางที่ 4.3) มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์กับร้อยละความชุกของ *Listeria* spp. ในสิ่งแวดล้อมการผลิต (ตารางที่ 4.3) พบว่าการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และในสิ่งแวดล้อมการผลิต ทั้งของผลิตภัณฑ์ประเภททอบ และนึ่ง มีความสัมพันธ์ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ



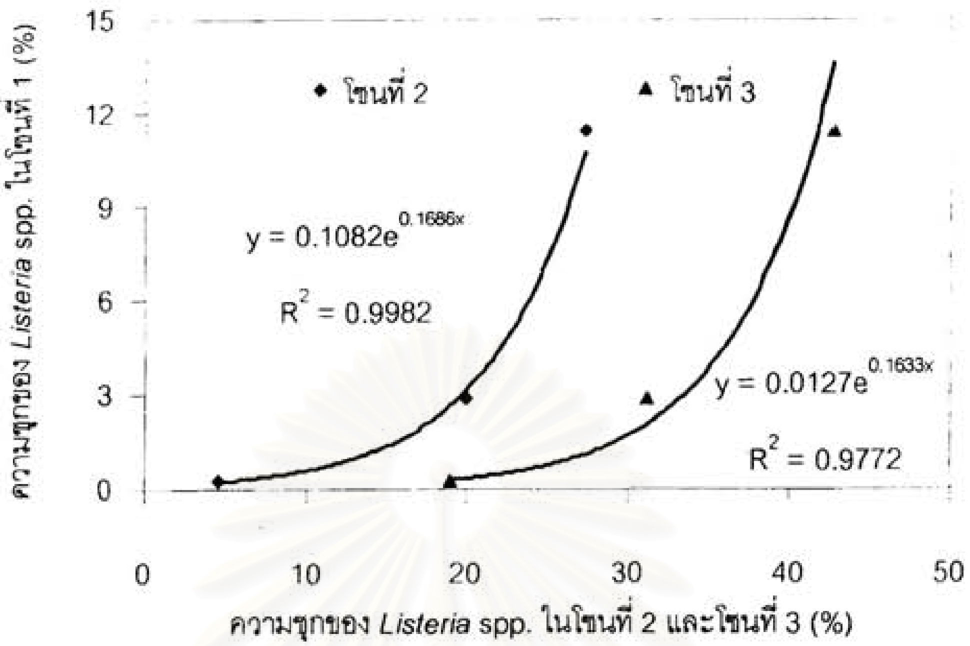
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และในสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนต่างๆ



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง และในสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนต่างๆ

ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และบนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่ง ได้ความสัมพันธ์เป็น 3 เส้น ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 เป็นการยืนยันว่า การแบ่งโซนของสิ่งแวดล้อมในการผลิตมีความเหมาะสมตามระดับความเสี่ยง อย่างไรก็ตามค่า R^2 ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 และความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ทั้งประเภทอบ และนึ่ง มีค่าต่ำ แสดงว่าข้อมูลมีความแปรปรวนทั้ง 3 เวลาการผลิต แต่ R^2 ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 2 และโซนที่ 3 และความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ มีค่าสูงกว่าแสดงว่าข้อมูลที่ใช้วิเคราะห์มีความแปรปรวนน้อยกว่า การที่ข้อมูลผลการ swab ของโซนที่ 1 มีความแปรปรวนสูง อาจเนื่องจากพนักงานทำความสะอาดตระหนักว่าเป็นพื้นผิวที่สัมผัสอาหารจึงพยายามให้ความสำคัญในการล้างทำความสะอาด แต่ความตระหนักของพนักงานแต่ละคนไม่เท่ากัน และกระบวนการล้างทำความสะอาด และฆ่าเชื้อในแต่ละวันไม่ได้ถูกควบคุมให้ถูกต้องตามขั้นตอนทุกวัน จึงทำให้ข้อมูลมีความแปรปรวนสูง แต่ข้อมูลผลการ swab ของโซนที่ 2 มีความแปรปรวนน้อยกว่าข้อมูลของโซนที่ 1 อาจเกิดจากพนักงานทำความสะอาดรู้ว่าพื้นผิวในโซนที่ 2 ส่งผลต่อการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์น้อยกว่าโซนที่ 1 จึงเริ่มละเลยและไม่ค่อยตั้งใจทำความสะอาด เป็นผลให้พื้นผิวในโซนที่ 2 เริ่มเกิดการปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ ในขณะที่โซนที่ 3 มีความแปรปรวนต่ำที่สุด พนักงานอาจคิดว่าการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในโซนที่ 3 ไม่ส่งผลต่อการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื่องจากเป็นพื้นผิวที่อยู่ไกลจากผลิตภัณฑ์จึงละเลย และไม่ตั้งใจทำความสะอาด ทำให้พื้นผิวดังกล่าวเกิดการปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ ส่งผลให้ข้อมูลผล swab ในโซนที่ 3 มีความแปรปรวนต่ำที่สุด

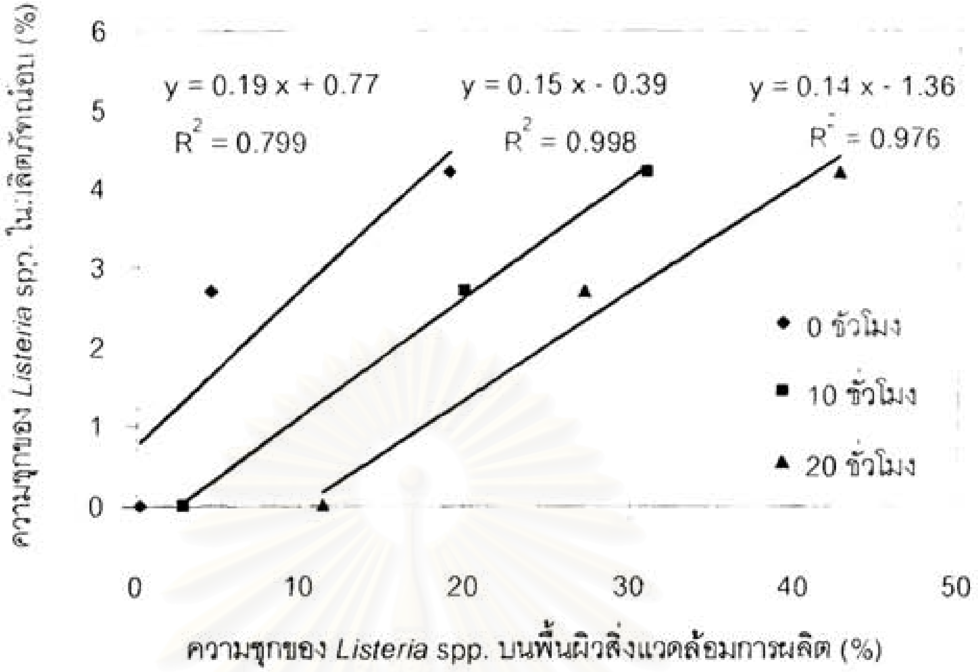
ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของโซนที่ 1 โซนที่ 2 และโซนที่ 3 สำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทอบ คือ 0.33 0.18 และ 0.18 ตามลำดับ ส่วนค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของโซนที่ 1 โซนที่ 2 และโซนที่ 3 สำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง คือ 0.45 0.23 และ 0.23 ตามลำดับ นั่นคือ ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 ส่งผลต่อการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทั้งสองประเภท มากกว่าในโซนที่ 2 และโซนที่ 3 เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. โซนที่ 2 และโซนที่ 3 กับ การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 พบว่ามีความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.4



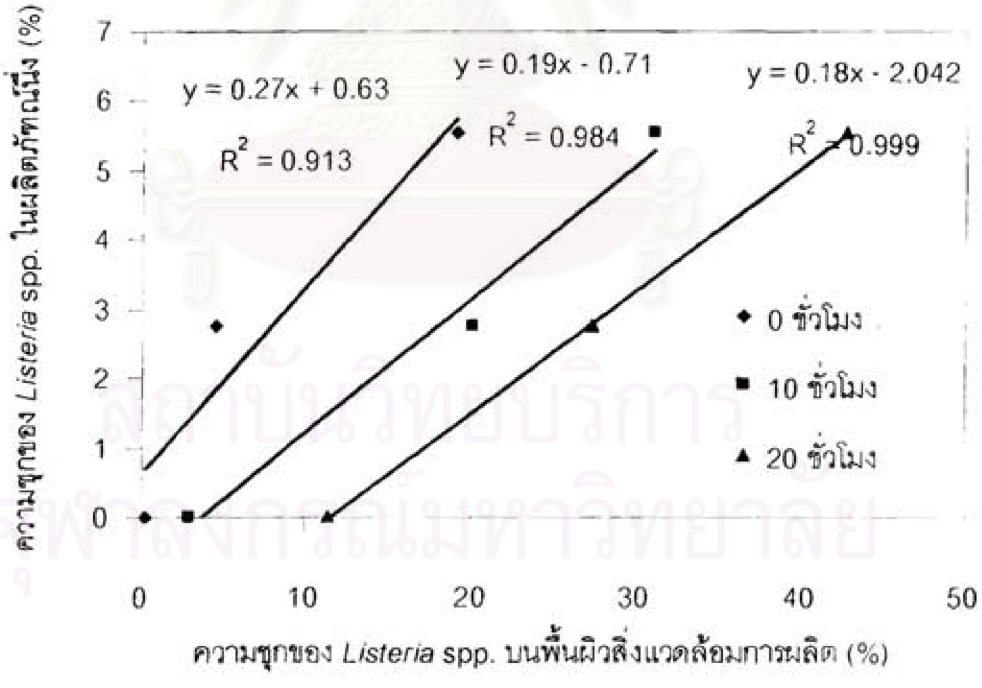
รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 และความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 2 และโซนที่ 3

จากรูปที่ 4.4 การปนเปื้อนบนพื้นผิวในโซนที่ 2 และโซนที่ 3 ส่งผลต่อการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 โดยความสัมพันธ์เป็นแบบพาลาโบลา และส่งผลต่อถึงผลิตภัณฑ์ (ดังรูปที่ 4.2 และ 4.3) นั่นคือการล้างทำความสะอาด และฆ่าเชื้อไม่ใช่เพียงในโซนที่ 1 เท่านั้นที่มีความสำคัญ แต่ในโซนที่ 2 และโซนที่ 3 ก็มีความสำคัญที่ไม่ควรละเลย ผลการทดลองนี้เป็นประโยชน์ต่อการสื่อสารถึงพนักงานทำความสะอาดในแต่ละโซนของโรงงาน

รูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของทุกโซน และผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง ที่เวลาการผลิตต่างๆ



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ที่เวลาการผลิตต่างๆ



รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง และความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ที่เวลาการผลิตต่างๆ

จากรูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต และผลิตภัณฑ์ประเภททอบและนึ่ง ที่เวลาการผลิต 0 ชั่วโมงมีค่า R^2 ต่ำ เมื่อเทียบกับค่า R^2 ที่เวลา 10 และ 20 ชั่วโมง แสดงว่าการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อหลังการปฏิบัติงานเมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิต มีประสิทธิภาพไม่สม่ำเสมอในทุกโซน อย่างไรก็ตามที่เวลา 10 และ 20 ชั่วโมง มีค่า R^2 สูงกว่า แสดงว่าการล้างระหว่างเวลาพัก และการล้างเมื่อสิ้นสุดการผลิตในแต่ละ batch ยังไม่สามารถควบคุม *Listeria* spp. ได้ ทำให้ *Listeria* spp. ที่เหลือรอดจากการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อหลังการปฏิบัติงานไม่ได้ลดลง หรืออาจเพิ่มขึ้นระหว่างที่มีกระบวนการผลิต เป็นผลให้ดูคล้ายกับมีการปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ เมื่อเวลาการผลิตผ่านไป 10 และ 20 ชั่วโมง

4.4 ความสัมพันธ์ของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และบริเวณพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในการผลิต

จากผลการทดลองในข้อ 4.3 สามารถสรุปได้ว่าการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ เป็นผลมาจากการปนเปื้อนของพื้นผิวในโซนที่ 1 มากที่สุด เมื่อพิจารณาเรื่องโซนของสิ่งแวดล้อมการผลิตที่มีผลต่อการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และเป็นผลมาจากการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ที่เวลาการผลิต 0 ชั่วโมงมากที่สุด เมื่อพิจารณาเรื่องเวลาการผลิต สำหรับในข้อ 4.4 เป็นการหาความสัมพันธ์ของปัจจัยร่วมระหว่างทั้งโซนและเวลาการผลิต ที่มีผลต่อการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตตลอดทั้งวัน โดยใช้หลักการทางสถิติ พบว่า ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ก่อนเริ่มต้นการผลิตมีผลต่อความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภททอบอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ซึ่งแสดงดังสมการ

ความชุกของ *Listeria* spp.ในผลิตภัณฑ์ประเภททอบ = 1.224 x ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตโซนที่ 1 ที่เวลาการผลิต 0 ชั่วโมง (4.1)

ค่า R^2 ของความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภททอบและปัจจัยร่วมระหว่างโซนที่ 1 และเวลาในการผลิต 0 ชั่วโมง คือ 0.996 ในขณะที่ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์มีค่าเท่ากับ 1.224

อย่างไรก็ตาม ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในแต่โซนที่เวลาการผลิตต่างๆ ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งเฉลี่ยตลอดทั้งวัน ($P \leq 0.05$)

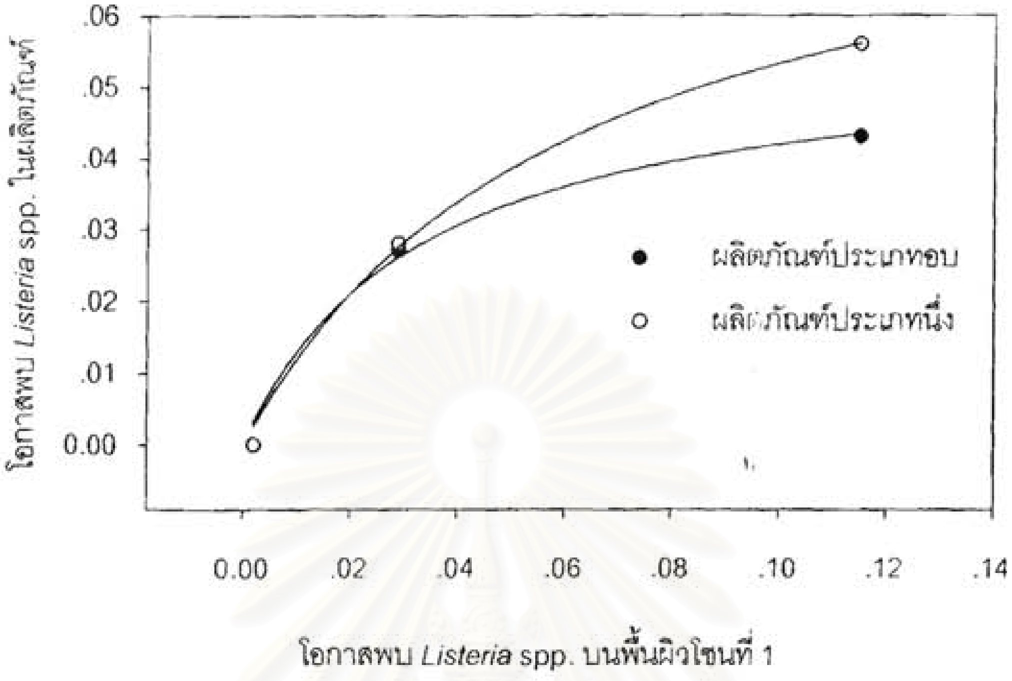
4.5 ประเมินความเสี่ยง

การประเมินความเสี่ยง ประกอบด้วย การระบุอันตราย การอธิบายอันตราย การประเมินการรับสัมผัส และการอธิบายความเสี่ยง (FAO/WHO, 1995) การระบุอันตราย เป็นการระบุสิ่งที่เป็นสาเหตุของผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพ และปรากฏอยู่ในอาหาร (CAC, 1999) แต่สำหรับงานวิจัยนี้การระบุอันตรายจะคำนึงถึงผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์ โดยพิจารณาการเกิดการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ แทนการพิจารณาการเจ็บป่วยของผู้บริโภค เนื่องจากเป้าหมายของงานวิจัยนี้ต้องการควบคุมการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ภายในโรงงานผลิต เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่จะออกจากโรงงานไปสู่ผู้บริโภค สำหรับการอธิบายอันตรายตามหลักการของ Codex จะเป็นการหาปริมาณของผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพ ที่มีความสัมพันธ์กับอันตรายที่ได้รับสัมผัส งานวิจัยนี้จึงประยุกต์เป็นการหาโอกาสของการเกิดการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ ที่มีความสัมพันธ์กับโอกาสที่ผลิตภัณฑ์จะได้รับสัมผัส *Listeria* spp. จากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต

ดังนั้นจึงประเมินความเสี่ยงเพื่อหาปัจจัยที่ส่งผลต่อการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากสิ่งแวดล้อมการผลิตสู่ผลิตภัณฑ์ โดยสร้างแบบจำลองของความสัมพันธ์ระหว่างการพบ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 และผลิตภัณฑ์ (การอธิบายอันตราย) และหาแบบจำลองของความสัมพันธ์ระหว่างแต่ละปัจจัยเสี่ยงซึ่งประกอบด้วย ภาวะในการล้างและฆ่าเชื้อสิ่งแวดล้อมการผลิตและระยะเวลาการผลิต กับการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 ซึ่งเป็นพื้นผิวที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีโอกาสรับสัมผัส *Listeria* spp. (การประเมินการรับสัมผัส) เมื่อทราบโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 แล้วนำไปแทนค่าในแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างการพบ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 และผลิตภัณฑ์ จะประมาณความเสี่ยงที่ผลิตภัณฑ์จะพบ *Listeria* spp. ได้ นอกจากนี้ได้จัดลำดับความสำคัญของแต่ละปัจจัยเสี่ยง (การอธิบายความเสี่ยง) เพื่อให้ผู้จัดการความเสี่ยงของโรงงานผลิตแห่งนี้เลือกจัดการความเสี่ยง

ในการอธิบายอันตรายได้หาความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมในโซนที่ 1 ไปสู่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และประเภทนึ่ง พบว่ามีความสัมพันธ์ดังรูปที่ 4.7

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1

จากกราฟในรูปที่ 4.7 ได้แบบจำลองในการอธิบายโอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมไปสู่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่ง แสดงดังสมการที่ 4.2 และ สมการที่ 4.3 ตามลำดับ

$$P_{roast} = \frac{1.6921\ P_s}{1+30.3722\ P_s} \qquad (4.2)$$

$$P_{steam} = \frac{1.3914\ P_s}{1+16.1006\ P_s} \qquad (4.3)$$

เมื่อ P_{roast} คือโอกาสของการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ

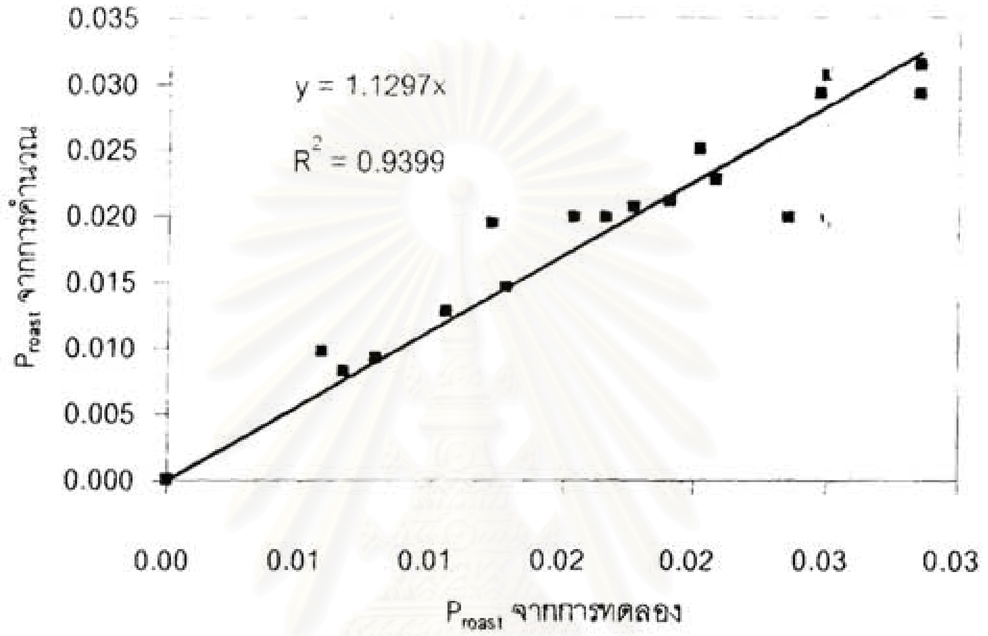
P_{steam} คือโอกาสของการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง

P_s คือโอกาสของการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1

การเปรียบเทียบโอกาสพบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ระหว่างประเภทอบ และประเภทนึ่ง โดยการกำหนดให้สมการที่ 4.2 เท่ากับสมการที่ 4.3 แล้วแก้สมการหาค่าของ P_s ซึ่งจากการคำนวณพบว่าเมื่อให้สมการที่ 4.2 มีค่าเท่ากับสมการที่ 4.3 หรือ P_{roast} เท่ากับ P_{steam} แล้ว ค่าของ P_s จะเท่ากับ 0 และ 0.02 นั่นคือ โอกาสที่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบจะเกิดการเปื้อน *Listeria* spp. เท่ากับในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งนั้นมีอยู่ 2 กรณี คือเมื่อพื้นผิวในโซนที่ 1 ซึ่งเป็นพื้นผิวที่สัมผัสโดยตรงกับผลิตภัณฑ์ไม่พบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. (P_s เท่ากับ 0) ซึ่งจะเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองประเภทไม่พบการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ด้วย และอีกกรณีคือ เมื่อพื้นผิวในโซนที่ 1 มีโอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. เท่ากับ 0.02 ซึ่งก็คือ พื้นผิวในโซนที่ 1 มีความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. เท่ากับร้อยละ 2 จะทำให้ผลิตภัณฑ์ทั้งสองประเภทเกิดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. เท่ากัน และเกิดการปนเปื้อนประมาณร้อยละ 2 แต่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และนึ่งจะได้รับการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากโซนที่ 1 ต่างกัน เมื่อพื้นผิวในโซนที่ 1 มีโอกาสของการปนเปื้อน *Listeria* spp. น้อยกว่า 0.02 และมากกว่า 0.02 โดยโซนที่ 1 มีโอกาสปนเปื้อน *Listeria* spp. น้อยกว่า 0.02 จะทำให้ผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งจะเกิดการปนเปื้อนน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ประเภทอบ แต่ผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งจะเกิดการปนเปื้อน *Listeria* spp. มากกว่าผลิตภัณฑ์ประเภทอบ เมื่อโซนที่ 1 มีโอกาสปนเปื้อน *Listeria* spp. มากกว่าร้อยละ 0.02 อาจเป็นเพราะลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน โดยผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งมีความชื้นสูงกว่าประเภทอบ และผิวของผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งมีเศษของผลิตภัณฑ์หลุดเป็นจำนวนมากและติดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 มากกว่าประเภทอบระหว่างที่ผลิตภัณฑ์ยังไม่ได้แช่เยือกแข็ง เมื่อผลิตภัณฑ์ผ่านการแช่เยือกแข็งแล้ว ผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งจะมีเกล็ดน้ำแข็งจำนวนมากติดอยู่ที่ผิวของผลิตภัณฑ์และเกล็ดน้ำแข็งที่หลุดจากผิวของผลิตภัณฑ์ทำให้สายพานลำเลียงเปียกชื้นมากกว่าผลิตภัณฑ์ประเภทอบ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งรับการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากโซนที่ 1 ได้น้อยกว่าประเภทอบเมื่อพื้นผิวในโซนที่ 1 มีการปนเปื้อนน้อย (ความชุกของ *Listeria* spp. น้อยกว่าร้อยละ 2) น่าจะเกิดจาก *Listeria* spp. ที่ปนเปื้อนจากโซนที่ 1 มายังผิวของผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งนั้นหลุดไปกับเศษของผลิตภัณฑ์ ในขณะที่ผิวผลิตภัณฑ์ประเภทอบมีเศษผลิตภัณฑ์หลุดน้อยมาก จึงรับการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากโซนที่ 1 ได้มากกว่า แต่เมื่อพื้นผิวในโซนที่ 1 มีการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. สูง (ความชุกของ *Listeria* spp. มากกว่าร้อยละ 2) ผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งจะรับการปนเปื้อนได้มากกว่าประเภทอบ ถึงแม้เศษของผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งจะหลุดเป็นจำนวนมาก แต่การที่โซนที่ 1 มีการปนเปื้อนสูงจึงทำให้ *Listeria* spp. ยังคงปนเปื้อนมาสู่ผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งได้สูง และสูงกว่าผลิตภัณฑ์ประเภทอบเนื่องจากผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งมีความชื้นสูงกว่าประเภทอบ เมื่อผลิตภัณฑ์ผ่านการแช่เยือกแข็งแล้วสายพานที่เปียกจากการ

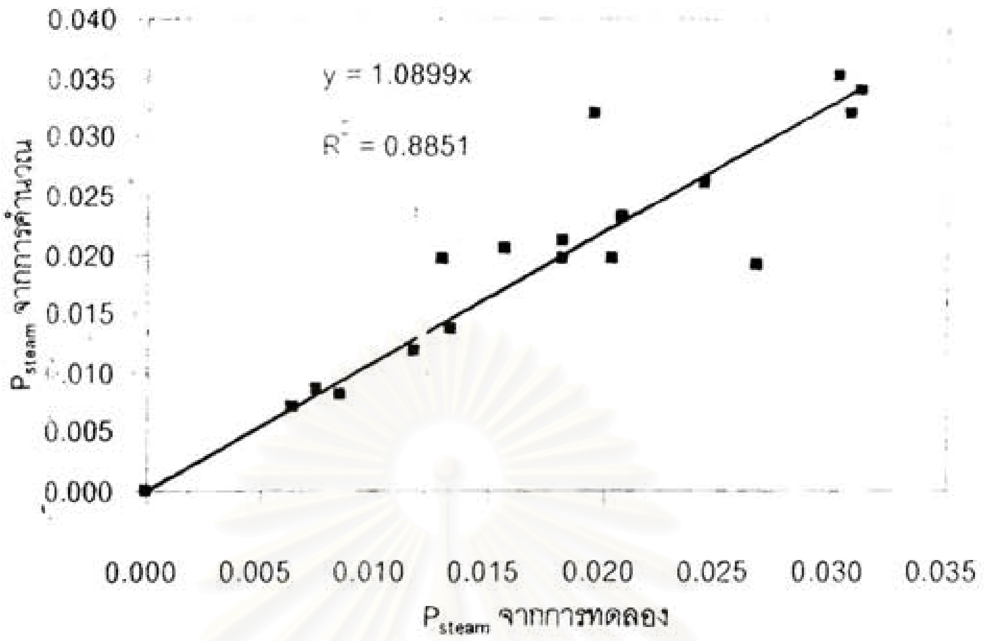
ละลายของน้ำแข็งจากผิวของผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งยิ่งทำให้ *Listeria* spp. จากโซนที่ 1 ปนเปื้อนมายังผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งได้มากยิ่งขึ้น

เพื่อให้สามารถใช้แบบจำลองในการทำนายการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ได้ใกล้เคียงกับความจริงมากที่สุด จึงได้ทดลอบความถูกต้องของแบบจำลองในสมการที่ 4.2 และ สมการที่ 4.3 ได้ผลดังรูปที่ 4.8 และรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.8 การทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.9 การทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง และโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1

จากรูปที่ 4.8 และ 4.9 จะพบว่าค่าความชันของสมการเส้นตรงมีค่ามีค่าใกล้เคียง 1 โดยมีค่าเท่ากับ 1.0569 สำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทอบ และเท่ากับ 1.0445 สำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่งตามลำดับ และมีค่า R^2 สูงทั้งสองสมการ แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการทดลองในการทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณได้ ดังนั้นจึงสามารถใช้แบบจำลองในสมการที่ 4.2 และ 4.3 เพื่อทำนายโอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวของโซนที่ 1 ไปสู่ผลิตภัณฑ์ได้

Lekroengsin และคณะฯ (2007) ได้สรุปว่าการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เป็นผลมาจากการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิต ดังนั้นสำหรับการหาโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 การทราบปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตจะสามารถควบคุมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนสู่ผลิตภัณฑ์ได้

ดังนั้นจึงได้มีการสร้างแบบจำลองโอกาสในการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตโซนที่ 1 ที่เวลาใดๆ (P_s) ซึ่งคำนวณได้จากผลคูณของโอกาสของการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวที่เวลาเริ่มต้นก่อนการผลิตหลังจากขั้นตอนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ($P_{initial}$) และโอกาสที่โซนที่ 1 จะได้รับ *Listeria* spp. จากโซนที่ 2 และโซนที่ 3 รวมถึงโอกาส

ที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 จะเหลือรอดหลังผ่านขั้นตอนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และที่ปนเปื้อนมาจากโซนที่ 2 และโซนที่ 3 จะเจริญเติบโตเมื่อเวลาผ่านไป (P_{Z2Z3})(P_{growth})

โอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 ที่เวลาเริ่มต้นการผลิตหลังจากผ่านขั้นตอนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ($P_{initial}$) คำนวณได้จากผลคูณของความชุก *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ (Y) และโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างด้วยน้ำร้อน (P_{water}) โอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด ($P_{detergent}$) และโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการฆ่าเชื้อด้วยสารฆ่าเชื้อ

ผลการทดลองเพื่อหาโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดหลังการล้างด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงดังรูปที่ 4.10

รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือรอดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 หลังจากล้างด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ

จากรูปที่ 4.10 จะพบว่าโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 หลังการล้างด้วยน้ำร้อน (P_{water}) มีค่าเท่ากับ 1 แสดงให้เห็นว่าน้ำร้อนที่อุณหภูมิในช่วงที่ทำการทดลอง ไม่สามารถลดโอกาสของการพบ *Listeria* spp. ลงได้ เมื่อพิจารณาการพบ *Listeria* spp. ก่อน และหลังการล้างด้วยน้ำในรูปปริมาณ พบว่าที่ปริมาณ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนล้างด้วยน้ำเท่ากับ 6.30 Log CFU/ft^2 ปริมาณของ *Listeria* spp. หลังล้างด้วยน้ำจะลดลงดังแสดงในตารางที่ 4.6

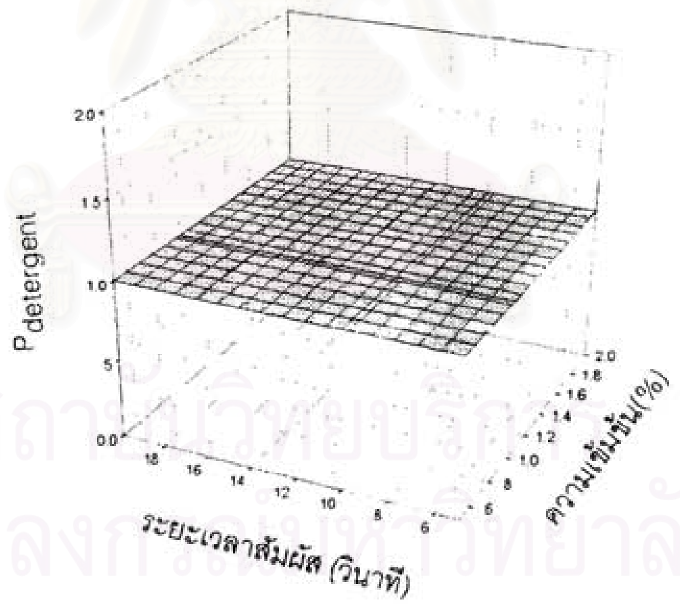
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.6 ปริมาณ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด หลังการล้างด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	Log CFU/ft^2 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) หลังการล้างด้วยน้ำ
40	4.69 (0.18)
50	4.41 (0.12)
60	4.04 (0.05)

จากตารางที่ 4.6 เมื่อปริมาณ *Listeria* spp. เริ่มต้นเท่ากับ 6.30 Log CFU/ft^2 การล้างด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส สามารถทำให้ปริมาณของ *Listeria* spp. ลดลงเหลืออยู่ในช่วง 4.04 ถึง 4.69 Log CFU/ft^2

เมื่อล้างทำความสะอาดพื้นผิวสายพานด้วยสารทำความสะอาด Foamyclean™ ซึ่งมีสารออกฤทธิ์คือ Sodium lauryl ether sulphate, Linear alkyl bezene sulfonate, Sodium salt และ Cocamidopropyl betaine ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% และระยะเวลาสัมผัส 5, 10 และ 20 นาที พบว่าโอกาสพบ *Listeria* spp. ($P_{detergent}$) มีค่าเท่ากับ 1 ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือดรอดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 หลังจากล้างด้วยสารทำความสะอาด Foamyclean™

จากรูปที่ 4.11 จะพบว่าการใช้สารทำความสะอาดที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสในช่วงที่ทำการทดลอง ไม่สามารถลดโอกาสของการพบ *Listeria* spp. ลงได้ จึงทำให้โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด ($P_{detergent}$) มีค่าเท่ากับ 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

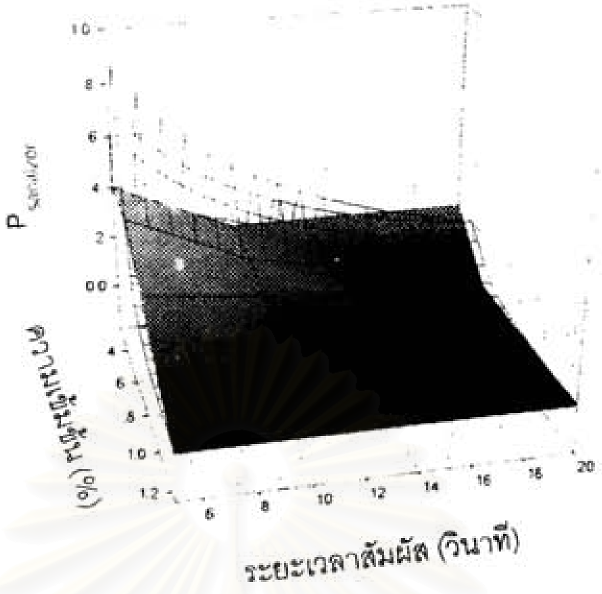
เมื่อพิจารณาการพบ *Listeria* spp. ก่อน และหลังการล้างด้วยสารทำความสะอาดในรูปปริมาณ พบว่าที่ปริมาณ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนล้างด้วยสารทำความสะอาดเท่ากับ 6.30 Log CFU/ft^2 ปริมาณของ *Listeria* spp. หลังล้างด้วยสารทำความสะอาดจะลดลงดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด หลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด Foamyclean™ ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสต่างๆ

ระยะเวลาสัมผัส (นาที)	Log CFU/ft^2 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) หลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด		
	0.50%	1.00%	2.00%
5	4.17 (0.02)	3.93 (0.08)	3.73 (0.03)
10	4.14 (0.09)	3.77 (0.06)	3.55 (0.08)
20	3.91 (0.04)	3.74 (0.06)	3.34 (0.17)

หลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด ปริมาณ *Listeria* spp. จะลดลงเหลือในช่วง 3.34 ถึง 4.17 Log CFU/ft^2 นอกจากนี้ยังพบว่า ที่ปริมาณ *Listeria* spp. เริ่มต้นเท่ากับ 6.30 Log CFU/ft^2 การล้างด้วยสารทำความสะอาดที่ความเข้มข้นสูงกว่า และระยะเวลาสัมผัสนานกว่า จะทำให้ลดปริมาณของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวได้มากกว่า และมากกว่าการล้างโดยใช้น้ำเพียงอย่างเดียว การใช้น้ำล้างที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส และการใช้สารทำความสะอาดล้างที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2% และระยะเวลาสัมผัส 5, 10 และ 20 นาที สามารถลดปริมาณ *Listeria* spp. บนพื้นผิวได้ แต่ไม่สามารถกำจัดได้หมด

เมื่อล้างพื้นผิวสายพานด้วยสารฆ่าเชื้อ Topex 91-66™ ซึ่งมีสารออกฤทธิ์ คือ Sodium hydroxide lauryl dimethylamine oxide และ Sodium hypochlorite ที่ระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1.25% ที่ระยะเวลาสัมผัส 5, 10 และ 20 นาที โอกาสพบ *Listeria* spp. เหลือรอดหลังการฆ่าเชื้อ ($P_{sanitizer}$) จะมีค่าดังแสดงในรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. จะเหลือดรอดอยู่บนพื้นผิวในโซนที่ 1 หลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ Topex 91-66™

จากรูปที่ 4.12 จะได้แบบจำลองของโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ ดังสมการที่ 4.4 นอกจากนี้ถ้าพิจารณาปริมาณของ *Listeria* spp. ก็จะพบว่าลดลงเช่นเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.8

$$P_{sanitizer} = 3.2068/(1+((C-0.3705)/\ 0.1074)^2)(1+((T+5.4119)/6.6004)^2) \quad (4.4)$$

โดย $P_{sanitizer}$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเหลือรอดหลังการฆ่าเชื้อด้วยสารฆ่าเชื้อ

C = ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ (%)

T = ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (นาที)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.8 ปริมาณ *Listeria* spp. ที่เหลือรอด หลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ Topex 91-66™ ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสต่างๆ

ระยะเวลาสัมผัส (นาที)	Log CFU/ft² (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) หลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ		
	0.25%	0.50%	1.25%
5	1.89 (0.03)	1.40 (0.10)	0.00
10	1.12 (0.14)	0.32 (0.10)	0.00
20	0.72 (0.10)	0.00	0.00

หลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ ปริมาณ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะลดลงเหลือในช่วงตั้งแต่ 0 ถึง 1.89 log CFU/ft^2 คือ ตั้งแต่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และระยะเวลาสัมผัส 20 นาที และความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ระยะเวลาสัมผัสตั้งแต่ 5 ถึง 20 นาที เป็นภาวะที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด *Listeria* spp. ที่ปริมาณ 6.30 log CFU/ft^2 ได้หมด

เมื่อรวมแบบจำลองโอกาสพบ *Listeria* spp. ในขั้นตอนย่อยต่างๆ ของการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ จะได้แบบจำลองโอกาสของการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวที่เวลาเริ่มต้นการผลิตหลังจากขั้นตอนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ($P_{initial}$) ดังสมการที่ 4.5

$$P_{initial} = Y\{3.2068/(1+((C-0.3705)/0.1074)^2)(1+((T+5.4119)/6.6004)^2)\} \qquad (4.5)$$

โดย $P_{initial}$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวที่เวลาเริ่มต้น

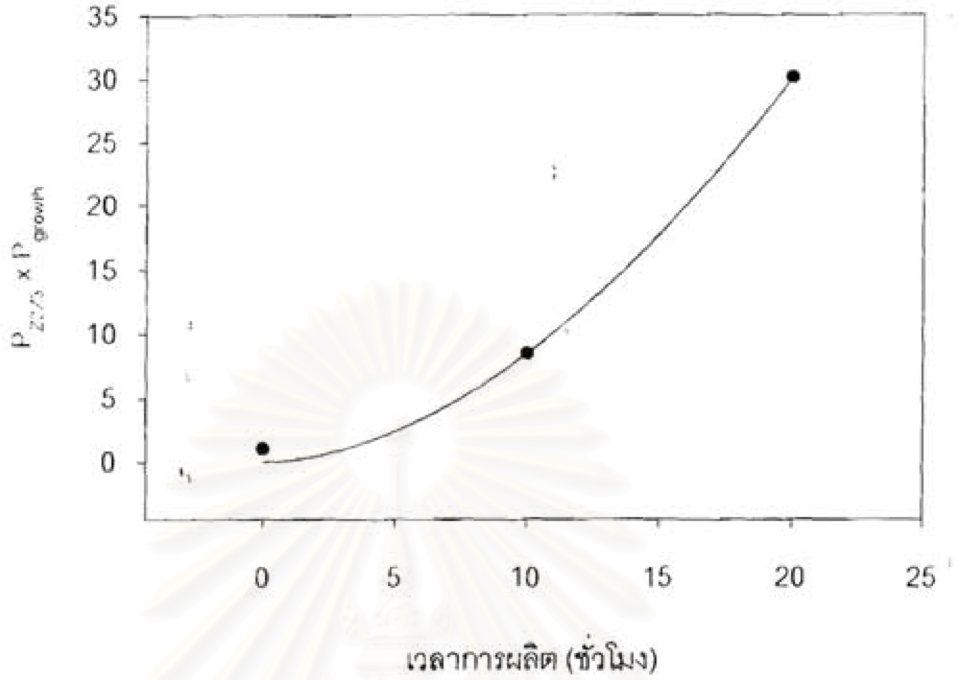
Y = ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ก่อนการล้าง

C = ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ (%)

T = ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (นาที)

โอกาสที่โซนที่ 1 จะได้รับ *Listeria* spp. จาก โซนที่ 2 และ โซนที่ 3 (P_{Z2Z3}) และโอกาสที่ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 ที่เหลือรอดจากขั้นตอนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อและที่ปนเปื้อนมาจาก โซนที่ 2 และ โซนที่ 3 จะเติบโตเมื่อเวลาผ่านไป (P_{growth}) จะคำนวณควบคู่กันไปในลักษณะของค่าผลคูณระหว่าง P_{Z2Z3} และ P_{growth} คือ (P_{Z2Z3})(P_{growth}) โดยจะสัมพันธ์กับเวลาในการผลิต (t) ดังนั้น (P_{Z2Z3})(P_{growth}) จึงหาได้จากการนำความชุก ซึ่งก็คือ โอกาสการพบของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ที่เวลาในการผลิตต่างๆ และเวลาในการผลิต มาหาความสัมพันธ์กันซึ่งได้ผลดังแสดงได้ดังรูปที่ 4.13

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 จะเพิ่มขึ้นและเวลาในการผลิต

จากรูปที่ 4.13 จะได้สมการโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการปนเปื้อนมาจากโซนที่ 2 และโซนที่ 3 และจากการเติบโต ดังสมการที่ 4.6 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาในการผลิตนานขึ้น อัตราในการเพิ่มขึ้นของ *Listeria* spp. จะยิ่งมีแนวโน้มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการเจริญของ *Listeria* spp. เกิดขึ้น

$$(P_{Z2Z3})(P_{growth}) = 0.1234\, e^{0.1635\, t} \qquad (4.6)$$

โดย $(P_{Z2Z3})(P_{growth})$ = โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเพิ่มขึ้นจากการปนเปื้อนจากโซนที่ 2 และโซนที่ 3 และจากการเจริญเติบโต

t = เวลาการผลิต (ชั่วโมง)

เมื่อนำแบบจำลองการพบ *Listeria* spp. หลังการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และแบบจำลองการเพิ่มขึ้นของ *Listeria* spp. จากการปนเปื้อนข้ามและการเติบโต มารวมกันจะได้แบบจำลองโอกาสของการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ที่เวลาใดๆ (P_s) ดังสมการที่ 4.7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความชุกของ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ

เวลาในการผลิต ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และระยะเวลาที่สารฆ่าเชื้อสัมผัสพื้นผิว ส่งผลต่อโอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตที่สัมผัสอาหาร

$$P_s = (0.3957\, Y e^{0.1836t})(e^{-((C-0.3705)/0.1074)^2})(1+((T+5.4119)/6.6004)^{-1}) \qquad (4.7)$$

โดย P_s = โอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1

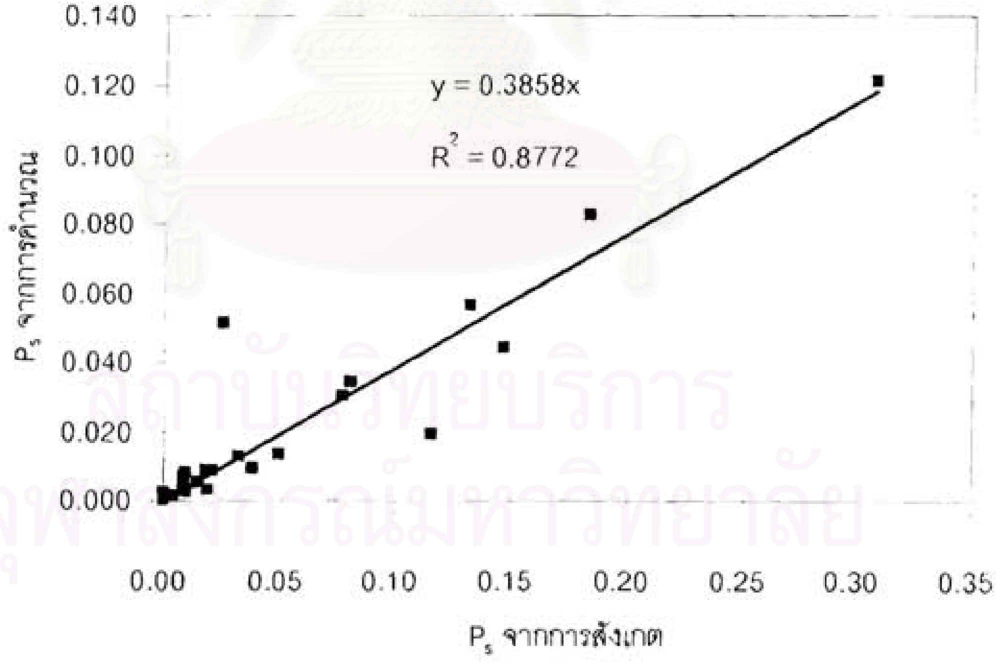
Y = ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ก่อนการล้าง

t = เวลาในการผลิต (ชั่วโมง)

C = ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ (%)

T = ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (นาที)

การทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ที่หาได้ อาศัยการเปรียบเทียบค่าที่คำนวณได้จากแบบจำลองกับค่าที่วัดได้จริง ซึ่งในที่นี้ คือ ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ที่ระยะเวลาในการผลิต ตั้งแต่ 0 ถึง 20 ชั่วโมง ในรูปแบบของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่คำนวณได้และค่าจากการสังเกต (ค่าที่วัดได้จริง) ดังแสดงในรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 โอกาสที่ผลิตภัณฑ์จะได้รับสัมผัส *Listeria* spp. จากพื้นผิวในโซนที่ 1 ที่ได้จากการคำนวณ และที่ได้จากการสังเกต

จากรูปที่ 4.14 จะพบว่าค่าที่คำนวณได้กับค่าที่วัดได้จริงมีแนวโน้มใกล้เคียงกันแต่ค่าความชันของสมการเส้นตรงมีค่าเท่ากับ 0.9207 แสดงว่าที่ภาวะการล้างและฆ่าเชื้อ และระยะเวลาในการผลิตเท่ากัน โอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 ที่ได้จากการทำนายจะน้อยกว่าค่าที่เกิดขึ้นจริงเล็กน้อย

แบบจำลองที่หาได้ทั้งหมด ตัวแปรที่ใช้ในแบบจำลอง รวมทั้งคำอธิบายพร้อมทั้งหน่วยของตัวแปรดังกล่าว จะแสดงไว้ในตารางที่ 4.9 นอกจากนี้ยังรวมถึงรูปแบบการแจกแจงของตัวแปรเริ่มต้นที่จะใช้ในแบบจำลอง ซึ่งประกอบด้วยความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ระยะเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และเวลาในการผลิต ที่หาโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ @RISK เพื่อใช้สำหรับการหาลำดับความสำคัญของตัวแปรเริ่มต้นเหล่านี้ด้วยวิธี Sensitivity analysis ในขั้นต่อไปด้วย

เมื่อพิจารณาแบบจำลองโอกาสของการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 ณ เวลาใดๆ จะพบว่าความชุกของ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ เวลาในการผลิต ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และระยะเวลาที่สารฆ่าเชื้อสัมผัสพื้นผิว จะส่งผลต่อโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตที่สัมผัสอาหาร ดังนั้นถ้าความชุกของ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อมาก และระยะเวลาในการผลิตนาน จะทำให้โอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสูง

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อก่อนการผลิตนั้นจะต้องทำอย่างสมบูรณ์ การล้างย่อยระหว่างวันควรทำอย่างมีประสิทธิภาพ และระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตไม่ควรนานเกินไป เพื่อช่วยให้ความชุกของ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อในวันถัดไปลดลง ทำให้พื้นผิวสัมผัสในการผลิตในวันถัดไปมีโอกาสพบ *Listeria* spp. น้อยลงไปด้วย

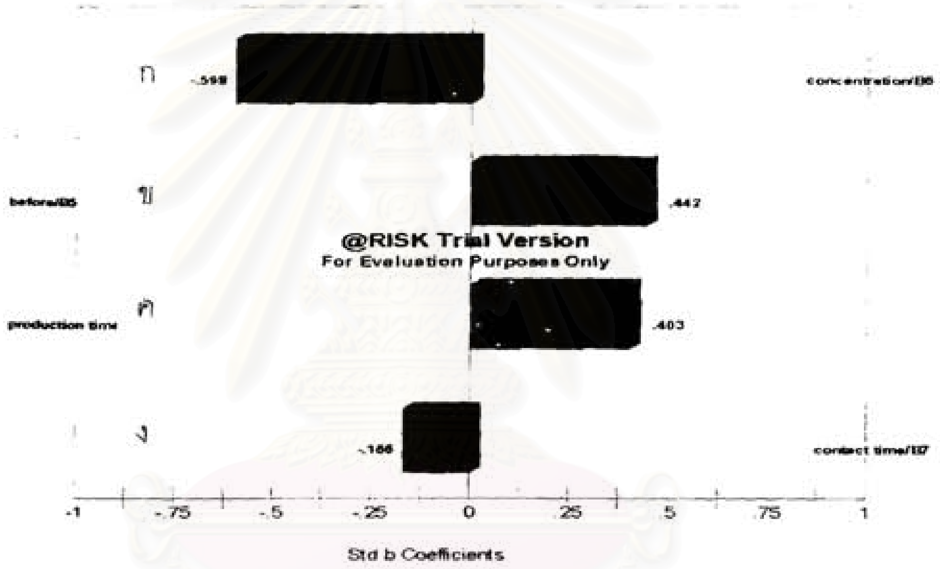
เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่สารฆ่าเชื้อสัมผัสกับพื้นผิว และความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อจากแบบจำลอง พบว่า โอกาสของการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 จะน้อยลงเมื่อระยะเวลาที่สารฆ่าเชื้อสัมผัสกับพื้นผิว และความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อมากขึ้น แต่จากแบบจำลองเมื่อความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อเท่ากับ 0.3705 จะทำให้โอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวมีมากที่สุด เมื่อควบคุมค่าอื่นๆ ให้เท่ากัน

ตารางที่ 4.9 รายละเอียดของแบบจำลอง

ตัวแปร	ความหมาย	หน่วย	การแจกแจงหรือแบบจำลอง
C	ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ	%	Triangular (0.25, 0.50, 1.25)
T	ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ	นาที	Triangular (5, 10, 20)
Y	ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ก่อนการล้าง	-	Inverse-Gauss (0.1054, 0.1096); shift = 0.0014
t	เวลาการผลิต	ชั่วโมง	Triangular (0, 10, 20)
P_{water}	โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเหลือรอดหลังการล้างด้วยน้ำ	-	1
$P_{detergent}$	โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารทำความสะอาด	-	1
$P_{sanitizer}$	โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเหลือรอดหลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ	-	$P_{sanitizer} = 3.2068/(1+((C-0.3705)/0.1074)^2)(1+((T+5.4119)/6.6004)^2)$
$P_{initial}$	โอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1 ที่เวลาเริ่มต้น		$P_{initial} = Y(P_{water})(P_{detergent})(P_{sanitizer})$
(P_{Z2Z3})x (P_{growth})	โอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวจะเพิ่มขึ้นจากการปนเปื้อนจากโซนที่ 2 และโซนที่ 3 และจากการเติบโต		$(P_{Z2Z3})(P_{growth}) = 0.1234\ e^{0.1835t}$
P_s	โอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของโซนที่ 1	-	$P_s = (P_{initial})(P_{Z2Z3})(P_{growth})$ $= (0.3957\ Y\ e^{0.1835t})/(1+((C-0.3705)/0.1074)^2)(1+((T+5.4119)/6.6004)^2)$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อรวมสมการแสดงโอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมไปสู่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่ง (สมการที่ 4.2 และ 4.3) และสมการโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 (สมการที่ 4.7) แล้วทำการวิเคราะห์หาปัจจัยที่ส่งผลต่อการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ประเภท ด้วยวิธี Sensitivity analysis จะพบว่าความชุกของ *Listeria* spp. เริ่มต้นก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ เวลาในการผลิต ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และระยะเวลาที่สารฆ่าเชื้อสัมผัสพื้นผิว ส่งผลต่อโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตที่สัมผัสอาหาร (พื้นผิวในโซนที่ 1) และส่งผลต่อโอกาสการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกพร้อมบริโภคประเภทอบและประเภทนึ่ง โดยลำดับความสำคัญของปัจจัยที่ส่งผลต่อโอกาสการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ แสดงในรูปที่ 4.15 และรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.15 ปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบ (ก: ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ข: ความชุกเริ่มต้นของ *Listeria* spp. ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ค: เวลาผลิต ง: ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ

รูปที่ 4.16 ปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อโอกาสพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทนึ่ง (ก: ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ข: ความชุกเริ่มต้นของ *Listeria* spp. ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ค: เวลาผลิต ง: ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ)

จากรูปที่ 4.15 และ 4.16 จะพบว่าลำดับความสำคัญของปัจจัยเสี่ยงเรียงได้ดังนี้ คือ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ความชุกเริ่มต้นของ *Listeria* spp. ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ เวลาผลิต และระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ โดยความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อและระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อส่งผลในด้านลบกับโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 นั่นคือ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นสูง และ/หรือ ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อมาก โอกาสพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 จะลดลง ในทางตรงกันข้ามความชุกเริ่มต้นของ *Listeria* spp. ก่อนการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตจะส่งผลด้านบวกกับโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1

ดังนั้นในการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ การใช้ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อมาก จะทำให้โอกาสการพบ *Listeria* spp. ลดลง และระยะเวลาในการผลิตไม่ควรยาวนานเกินไป ซึ่งในการพิจารณาเลือกภาวะที่เหมาะสม อาจต้องคำนึงถึงต้นทุนการผลิตด้วย

4.6 การจัดการความเสี่ยงและทำการสื่อสารความเสี่ยง

ได้กำหนดทางเลือกในการจัดการความเสี่ยง และสื่อสารความเสี่ยงให้กับทางโรงงานผลิตเป็นจำนวน 27 ทางเลือกในการจัดการกับการล้างทำความสะอาด และฆ่าเชื้อ ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ภาวะในการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ และเวลาในการผลิต ที่ใช้เป็นทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงในการปนเปื้อน *Listeria* spp. สู่ผลิตภัณฑ์

ลำดับ	ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ (%)	เวลาในการผลิต (ชั่วโมง)	ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (นาที)
1*	1.25	5**	20
2	1.25	5	10
3	1.25	5	5
4	1.25	10	20
5	1.25	10	10
6	1.25	10	5
7	1.25	20	20
8	1.25	20	10
9	1.25	20	5
10	0.50	5	20
11	0.50	5	10
12	0.50	5	5
13	0.50	10	20
14	0.50	10	10
15	0.50	10	5
16	0.50	20	20
17	0.50	20	10
18	0.50	20	5
19	0.25	5	20
20	0.25	5	10
21	0.25	5	5
22	0.25	10	20
23	0.25	10	10
24	0.25	10	5
25	0.25	20	20
26	0.25	20	10
27	0.25	20	5

* ภาวะการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อที่ดีที่สุด ที่ทำให้โอกาสการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์มีน้อยที่สุด

** เวลาในการผลิตที่น้อยที่สุดที่สะดวกต่อการทำงานของโรงงานผลิต คือ 5 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากตารางที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าเวลาในการผลิตที่น้อยกว่า 5 ชั่วโมง ไม่ได้มีการนำมาใช้ในการสร้างทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงแต่อย่างใด ถึงแม้ว่าเวลาในการผลิตที่น้อยที่สุด ที่ใช้ในการสร้างแบบจำลองโอกาสการพบ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตที่สัมผัสอาหาร จะเป็น 0 ชั่วโมงก็ตาม ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการผลิตจริง ระยะเวลาการผลิตจะสิ้นสุดและมีการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ต้องผลิตในแต่ละรายการ ซึ่งบางรายการอาจใช้เวลาการผลิตจบครบปริมาณที่ต้องการได้ภายใน 1 ชั่วโมง แต่จากการสื่อสารความเสี่ยง และประชุมร่วมกับผู้ที่เกี่ยวข้องของโรงงาน เห็นควรเลือก ระยะเวลาในการผลิตที่น้อยที่สุดที่สะดวกต่อการทำงาน คือ 5 ชั่วโมง ดังนั้นภาวะที่เป็นทางเลือกในตารางที่ 4.10 จึงใช้ระยะเวลาการผลิตที่น้อยที่สุด คือ 5 ชั่วโมง

ภาวะในการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อสิ่งแวดล้อมการผลิตที่ดีที่สุด ที่ทำให้โอกาสในการพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ทั้งประเภทอบ และประเภทนึ่งมีน้อยที่สุด คือ ภาวะตามลำดับที่ 1 จากตารางที่ 4.10 ซึ่งจะทำให้ค่าประมาณความเสี่ยงที่ผลิตภัณฑ์ประเภทอบ ปละประเภทนึ่งมีโอกาสพบ *Listeria* spp. เท่ากับ 2.00×10^{-4} และ 1.00×10^{-4}

ผู้จัดการความเสี่ยงของโรงงานผลิตได้เลือกภาวะ ลำดับที่ 25 จากตารางที่ 4.10 ในการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นได้มีการสื่อสารความเสี่ยงโดยการประชุมร่วมกันระหว่างผู้วิจัยและผู้ที่เกี่ยวข้องกับการล้างทำความสะอาด และฆ่าเชื้อของโรงงานผลิต และเมื่อทางโรงงานปฏิบัติตามภาวะลำดับที่ 25 จากตารางที่ 4.10 จะทำให้การพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตลดลง ซึ่งจะเห็นได้จากการเปรียบเทียบความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายและบนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิต (โซนที่ 1, 2 และ 3) ก่อนการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง (ตารางที่ 4.2 และ 4.3 ถึง 4.5) กับความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายและบนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิต (โซนที่ 1, 2 และ 3) หลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และ 4.12 โดยจะพบว่าการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่งลดลงเหลือร้อยละ 1.04 และ 1.14 ส่วนความชุกของ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1, 2 และ 3 ลดลงจากร้อยละ 5.13, 13.58 และ 30.74 เหลือร้อยละ 2.00 2.34 และ 5.08 ตามลำดับ

สำหรับการเปรียบเทียบความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของผลิตภัณฑ์ และสิ่งแวดล้อมการผลิตที่เวลาการผลิตต่างๆ ก่อนและหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง แสดงในรูปที่ 4.17 และ รูปที่ 4.18 ซึ่งจะเห็นได้ว่าความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ และบนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิต ลดลงภายหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง โดยความชุกของ *Listeria* spp. ในทุกโซน จะลดลงตั้งแต่ก่อนเริ่มการผลิต และลดลงอย่างมากเมื่อเวลาการผลิตผ่านไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.11 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุกหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง

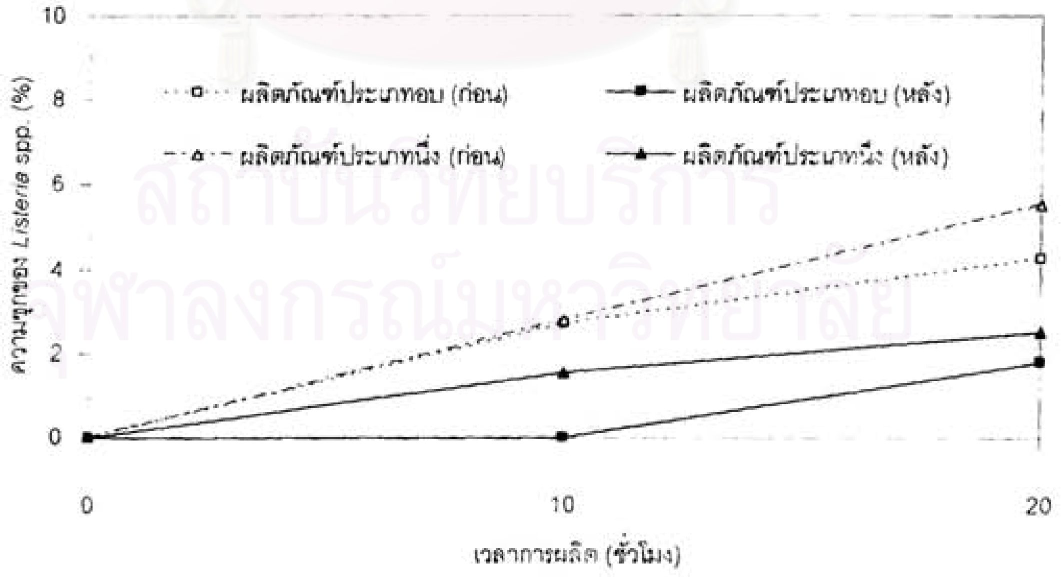
ประเภทของผลิตภัณฑ์	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
อบ	868	9*	1.04
นึ่ง	877	10*	1.14
ทอด	840	0	0.00

* *L. innocua* และ *L. welshimeri*

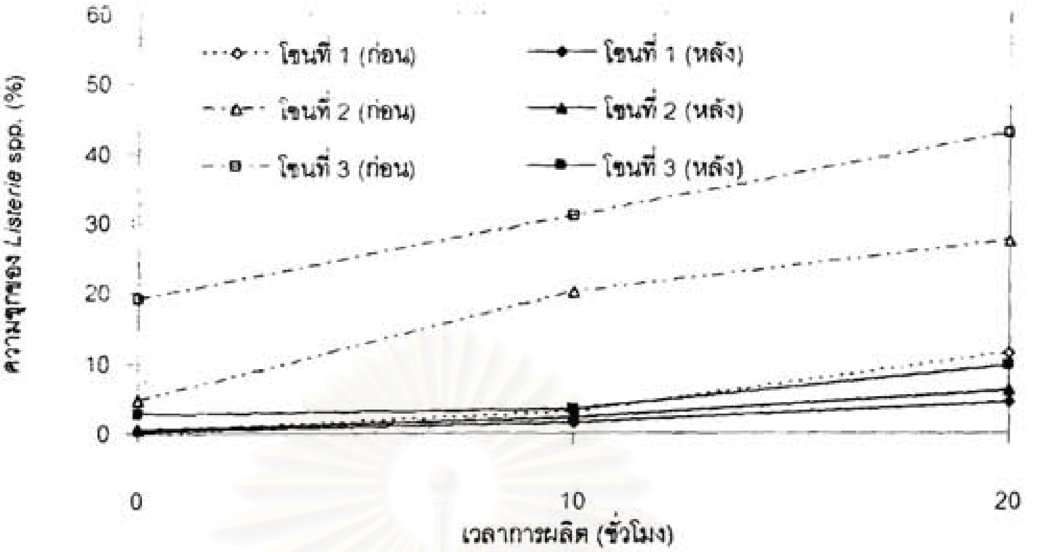
ตารางที่ 4.12 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมการผลิตหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง

โซนที่	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Listeria* spp.	ความชุก (%)
1	1226	25*	2.00
2	470	11*	2.34
3	650	33*	5.08

* *L. innocua* และ *L. welshimeri*



รูปที่ 4.17 ความชุกของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง ก่อนและหลังการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยง



รูปที่ 4.18 ความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิตในโซนที่ 1, 2 และ 3 ที่เวลาการผลิต 0, 10 และ 20 ชั่วโมง ก่อนและหลังการประยุกต์ใช้หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยง

Codex ได้ออกแนวปฏิบัติสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยง เพื่อให้ประเทศต่างๆ นำไปใช้ในการจัดการกับความเสี่ยงของจุลินทรีย์ก่อโรค เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคในประเทศเหล่านั้น อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ความเสี่ยงจำเป็นต้องมีข้อมูลในปริมาณที่เพียงพอ มีการใช้หลักการทางสถิติที่เหมาะสม เพื่อให้ได้คำตอบของการประเมินความเสี่ยงที่มีความถูกต้องและแม่นยำ เพื่อให้การจัดการความเสี่ยงเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ แต่สำหรับประเทศไทยและประเทศกำลังพัฒนาอื่นๆ ข้อมูลด้านระบาดวิทยาของจุลินทรีย์ก่อโรคที่จะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงยังมีค่อนข้างจำกัด และการได้มาซึ่งข้อมูลก็มีวิธีที่แตกต่างกัน จึงไม่สามารถประเมินความเสี่ยงการเจ็บป่วยของผู้บริโภคจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

งานวิจัยนี้จึงได้มีการประยุกต์ใช้หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยง มาใช้ประเมินและจัดการความเสี่ยงในระดับโรงงาน เนื่องจากสามารถหาและควบคุมข้อมูลเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงสามารถนำผลการวิจัยไปใช้ในการจัดการความเสี่ยง (ในระดับโรงงาน) ได้จริงและมีประสิทธิภาพตามต้องการ นอกจากนี้ผลการวิจัยก็ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงของ Codex เป็นหลักการที่มีประโยชน์ และสามารถใช้เป็นแนวคิดในการประยุกต์ใช้ได้จริง กับการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารพร้อมบริโภคแช่เยือกแข็งประเภทต่างๆ

ดังนั้นหากมีการนำแนวความคิดจากงานวิจัยนี้ไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมประเภทเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน และมีการรวบรวมข้อมูลเพื่อประเมินประสิทธิภาพของการจัดการความเสี่ยง ก็จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงในระดับประเทศต่อไปได้

บทที่ 5
สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

5.1 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย

1. กระบวนการให้ความร้อนของโรงงาน (อุณหภูมิใจกลางผลิตภัณฑ์เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที) มีประสิทธิภาพและเพียงพอต่อการทำลาย *Listeria* spp.
2. ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีการปนเปื้อนโดยความชุกในการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่งเท่ากับ 3.23 และ 3.25% แต่ไม่พบการปนเปื้อน *Listeria* spp.ในผลิตภัณฑ์ประเภททอด
3. เมื่อหาความสัมพันธ์ของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อมการผลิต ซึ่งแบ่งเป็น 3 โซนตามระยะห่างของพื้นผิวและผลิตภัณฑ์ พบว่าการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เป็นผลมาจากการปนเปื้อน *Listeria* spp. จากโซน 1 มากกว่าในโซนที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในโซนที่ 2 และ 3 ก็ส่งผลต่อการปนเปื้อนในโซนที่ 1 ด้วย
4. การล้างพื้นผิวสัมผัสในโซนที่ 1 ด้วยน้ำอุณหภูมิ 40, 50 และ 60°C และการล้างด้วยสารทำความสะอาด Foamyclean™ ความเข้มข้น 0.5, 1, และ 2%(v/v) ที่ระยะเวลาสัมผัส 5, 10 และ 15 นาที ไม่ส่งผลต่อความชุกของ *Listeria* spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 แต่การล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ Topex 91-66™ ความเข้มข้น 1.25, 0.5, และ 0.25%(v/v) ที่ระยะเวลาสัมผัส 5, 10 และ 20 นาที ช่วยลดการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในโซนที่ 1 ได้
5. ในการประเมินความเสี่ยงของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ ได้มีการสร้างแบบจำลองโอกาสในการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. จากพื้นผิวในโซนที่ 1 ไปสู่ผลิตภัณฑ์ และแบบจำลองโอกาสการปนเปื้อนของ Listeria spp. บนพื้นผิวในโซนที่ 1 โดยแบบจำลองอันหลังได้จากโอกาสการเหลือรอดของ *Listeria* spp. หลังการล้างและฆ่าเชื้อ คูณด้วย โอกาสที่ *Listeria* spp. จากโซนที่ 2 และ 3 จะปนเปื้อนมาสู่พื้นผิวโซนที่ 1 และคูณด้วยโอกาสที่ *Listeria* spp. บนพื้นผิวโซนที่ 1 ทั้งหมดจะเติบโต เมื่อเวลาในการผลิตเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 10 และ 20 ชั่วโมง ตามลำดับ
6. ผลการประเมินความเสี่ยง พบว่าสภาวะที่ทำให้โอกาสการปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์มีน้อยที่สุด คือ การล้างพื้นผิวสัมผัสในโซนที่ 1 ด้วยสารฆ่าเชื้อ ความเข้มข้น 1.25%(v/v) ระยะเวลาสัมผัส 20 นาที และใช้เวลาในการผลิตติดต่อกันน้อยที่สุดและเหมาะสมต่อธรรมชาติการผลิตที่ 5 ชั่วโมง

7. ในการจัดการความเสี่ยง ผู้จัดการความเสี่ยงของโรงงานแห่งนี้เลือกใช้ภาวะในการจัดการความเสี่ยง ดังนี้ คือ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ 0.25%(v/v) ระยะเวลาสัมผัส 20 นาที และใช้เวลาในการผลิต 20 ชั่วโมง
8. การจัดการความเสี่ยงตามภาวะที่โรงงานเลือก ทำให้การปนเปื้อนของ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์ประเภทอบและนึ่งลดลงเหลือ 1.04 และ 1.14% ความชุกของการปนเปื้อน *Listeria* spp. ในโซนที่ 1, 2 และ 3 ลดลงจาก 5.13, 13.58 และ 30.74% เหลือ 2.00, 2.34 และ 5.08% ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การแบ่งโซนของพื้นผิวสิ่งแวดล้อมการผลิต แบ่งตามระดับความเสี่ยงของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคไปสู่ผลิตภัณฑ์ ดังนั้นโรงงานผลิตอาหารแต่ละประเภทอาจมีการแบ่งโซนที่แตกต่างกัน
2. แบบจำลองในงานวิจัยนี้เป็นแบบจำลองที่เฉพาะเจาะจงกับโรงงานที่ดำเนินงานวิจัยเท่านั้น แต่สามารถใช้เป็นต้นแบบสำหรับโรงงานผลิตอาหารพร้อมบริโภคประเภทต่างๆ เพื่อควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. เนื้อไก่ชนิดแกลลัสโดเมสติกัสแช่เย็นแช่แข็ง: ปริมาณและมูลค่าการส่งออกรายเดือน[ออนไลน์]. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/statistic/export/1301PS.xls[2549, 25 พฤษภาคม]

สุวิมล กีรติพิบูล. 2545. การควบคุมจุลินทรีย์ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

ภาษาอังกฤษ

AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists International.

Armstrong, D. 1995. *Listeria monocytogenes*. In Mandell, Bennett, G. L. and Dolin J. E. R. (eds.), Principles and practice of infectious diseases, p.1880. New York: Churchill Livingstone.

Arumugaswamy, R. K., Ali, G. R. R. and Hamid, S. N. N. 1994. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods in Malaysia. Int. J. Food Microbiol. 23: 117-12.

Aureli, P., Fiorucci, G. C., Caroli, D., Marchiaro, B., Novara, O., Leone, L., and Salmoso, S. 2000. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. N. Eng. J. Med. 342: 1236-1241.

Baily, J. S., Fletcher, D. L. and Cox, N. A. 1989. Recovery and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* from broiler chickens in the southeastern United States. J. Food Prot. 52: 148-50.

Bille, J. 1990. Epidemiology of Listeriosis in Europe, with special reference to the Swiss outbreak. In Miller, A. J., Smith, J. L. and Somkuti, G. A. (eds.), Topics in industrial microbiology: foodborne Listeriosis, pp. 25-29. New York: Elsevier Science Publishing.

Broome, C. V., Gellin, B. and Schwartz, B. 1990. Epidemiology of Listeriosis in the United States. In Miller, A. J., Smith, J. L. and Somkuti, G. A. (eds.), Topics in industrial microbiology: foodborne Listeriosis, pp. 61-65. New York: Elsevier Science Publishing.

Breer, C. and Schopfer, K. 1988. *Listeria* and food. Lancet ii: 1022.

Buchanan, R. L. and Whiting, R. C. 1996. Risk assessment and predictive microbiology. J. Food Prot. 59(Suppl.): 31-36.

CAC. 1997. Principles for the establishment and application of microbiological criteria for foods (CAC/GL 21-1997). Rome: Codex Alimentarius Commission, FAO.

CAC. 1999. Principles and guidelines for the conduct of a microbiological risk assessment (CAC/GL 30-1999). Rome: Codex Alimentarius Commission, FAO.

Carosella, J. M. 1990. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in meat and poultry. In Miller, A. J., Smith, J. L. and Somkuti, G. A. (eds.), Topics in industrial microbiology: foodborne Listeriosis, pp. 165-173. New York: Elsevier Science Publishing.

Carter, M. 2000. Final report: investigation of outbreak 99-372. (Unpublished manuscript)

Cassin, M. H., Lammerding, A. M., Todd, E. C. D., Ross, W., and McColl, R. S. 1998. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. Int. J. Food. Microbiol. 41: 21-44.

CDC. 1999. Update: multistate outbreak of Listeriosis-United States, 1998-1999. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 47:1117-1118.

CDC. 1999. Update: multistate outbreak of Listeriosis-United States, 1998-1999. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 49:1129-1130.

Dalton, C. B., Austin, C. C., Sobel, J., Hayes, P. B., Bibb, W. F., Graves, L. M. and Swaminathan, B. 1997. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. N. Eng. J. Med. 336: 100-105.

de Valk, H. 2000. Outbreak of Listeriosis linked to the consumption of pork tongue in jelly in France. Dairy Food Environ. Sanit. 20: 356.

Dominguez-Rodriguez, L. D., et al. 1985. Isolation de micro-organismes du genre Listeria a partir de lait cru destine a la consomation humaine. Can. J. Microbiol. 31: 938-941.

Dons, L., Rasmussen, O. F. and Olesen, J. E. 1992. Cloning and characterization of a gene encoding flagellin of *Listeria monocytogenes*. Mol. Microbiol. 6: 2919-2929.

Dorozynski, A. 2000. Seven die in French *Listeria* outbreak. Br. Med. J. 320: 601.

FAO/WHO. 1995. Application of risk analysis to food standards issues. In FAO/WHO, Report of a joint FAO/WHO expert consultation. Geneva: WHO.

FAO/WHO. 1988. Foodborne Listeriosis. Geneva: World Health Organization Informal Working Group on Foodborne Listeriosis, World Health Organization.

FAO/WHO. 2002. Microbiological risk assessment series No.1: risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens, interpretative summary. Rome: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.

FAO/WHO. 2004. Food safety risk analysis: an overview and framework manual. Geneva: WHO. (In press)

Farber, J. M. 1991. *Listeria monocytogenes* in fish products. J. Food Prot. 54: 922-924, 934.

Farber, J. M. and Peterkin, P. I. 1991. *Listeria monocytogenes*: a food-borne pathogen. Microbiol. Rev. 55: 476-511.

Farber, J. M. and Peterkin, P. I. 2000. *Listeria monocytogenes*. In Lund, B. M., Baird-Parker, A. C. and Gould, G. (eds.), The microbiology of food, pp. 1178-1232. London: Chapman and Hall.

Farber, J. M., Sanders, G. W. and Malcolm, S. A. 1988. The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario. Can. J. Microbiol. 34: 95-100.

Fletcher, D. L. 1999. Symposium: recent advances in poultry slaughter technology. Poultry Sci. 78: 277-281.

Franco, C. M., Quinto, E. J., Fente, C., Rodriguez-otero, J. L., Dominguez, L. and Cepeda, A. 1995. Determination of the principal sources of *Listeria* spp. contamination in poultry meat and a poultry processing plant. J. Food Prot. 58: 1320-1325.

Frederiksen, W. 1991. *Listeria* epidemiology in Denmark 1981-1990. In Proceedings of the international conference on *Listeria* and food safety. Laval, France: ASEPT Editeur, Rue des Docteurs Calmette et Guerin.

Gedde, M. M., Higgins, D. E., Tilney, L. G. and Portnoy, D. A. 2000. Role of listeriolysin-O in cell-to-cell spread of *Listeria monocytogenes*. Infect. Immun. 68: 999-1003.

Gellin, B. G. and Broome, C. V. 1989. Listeriosis. JAMA 261: 1313-1320.

Gellin, B. G., Broome, C. V., Bibb, W. F., Weaver, R. E., Gaventa, S. and Mascola, L. 1991. The epidemiology of Listeriosis in the United States - 1986: Listeriosis Study Group. Am. J. Epidemiol. 133, 392–401.

Gibbons, I., Adesiyun, A., Seepersadsingh, N., and Rahaman, S. 2005. Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria* spp. and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad. Food Microbiol. (In Press)

Gitter, M. 1976. *Listeria monocytogenes* in 'oven-ready' poultry. Vet. Rec. 99:336.

Glass, K. A. and Doyle, M. P. 1989. Fate of *Listeria monocytogenese* in processed meat products during refrigerated storage. Appl. Environ. Microbiol. 55:1565-1569.

Goodfellow, S. J. and Brown, W. I. 1978. Fate of *Salmonella* inoculated into beef for cooking. J. Food Prot. 41: 598-605.

Goulet, V., Jacquet, C., Vaillant, V., Rebiere, I., Mourt, E., Lorente, C., Maillot, E., Stainer, F., and Rocourt, J. 1995. Listeriosis from consumption of raw-milk cheese. Lancet 345: 1581-1582.

Gracey, J. F. 1986. Meat Hygiene. 8th ed. London: English Language Book Society.

Greenwood, M. H., Roberts, D. and Burden, P. 1991. The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. Int. J. Food Microbiol. 12: 197-206.

Griffin, P. M. and Tauxe, R. V. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol. 13: 60-98.

Havelaar, A. H., Nauta, M. J. and Jansen, J. T. 2004. Fine-tuning food safety objective and risk assessment. Int. J. Food Microbiol. 93: 11-29.

Heath, G. E., Thaler, A. M. and James, W. O. 1994. A survey of stunning methods currently used during slaughter of poultry in commercial poultry plants. J. Appl. Poult. Res. 3: 297-302.

Hoffman, A. D., Gall, K. L., Norton, D. M. and Wiedmann, M. 2003. *Listeria monocytogenes* contamination patterns for the smoked fish processing environment and for raw fish. J. Food Prot. 66: 52-60.

Hoornstra, E., Northolt, M. D., Notermans, S. and Barendsz, A. W. 2004. The use of quantitative risk assessment in HACCP. Food Control 12: 229-234.

ICMSF. 1996. Micro-organisms in foods 5: characteristics of microbial pathogens. New York: Blakie Academic and Professional.

ICMSF. 2002. Microorganisms in foods 7: microbiological testing in food safety management. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

ILSI Europe. 2001. Principles of risk assessment of food and drinking water related to human health. In ILSI Europe, ILSI Europe Concise Monograph Series. Washington DC: ILSI Press.

Jay, J. M. 1996. Prevalence of *Listeria* spp. in meat and poultry products. Food Control 7: 209-214.

Johnson, J. L., Doyle, M. P. and Cassens, R. G. 1990a. Incidience of *Listeria* spp. in retail meat roasts. J. Food Sci. 55: 572, 574.

Johnson, J. L., Doyle M. P. and Cassens, R. G. 1990b. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat product a review. J. Food Prot. 53:81-91.

Karches, H. and Teufel, P. 1988. *Listeria monocytogenes* Vorkommen in Hackfleisch and Verhalten in frischer Zwiebel mettwurst. Fleischwirtsch. 68: 1388-1392.

Kerr, K. G., Birkenhead, D. and Seale, K. 1993. Prevalence of Listeria spp. on the hand of food workers. J. Food Prot. 56: 525-527.

Knoop, G. N., Parmelee, C. E. and Stadelman, W. J. 1971. Microbiological characteristics of wet- and dry-chilled poultry. Poultry Sci. 50: 530-536.

Lammerding, A. M. and Fazil, A. 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. Int. J. Food Microbiol. 58: 147-157.

Lappi, V. R., et al. 2004. Impact of intervention strategies on *Listeria* contamination patterns in crawfish processing plants: a longitudinal study. J. Food Prot. 67: 1163-1169.

Lawrence, L. and Gilmour, A. 1995. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from poultry products and from the poultry-processing environment by random amplification of polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. Appl. Environ. Microbiol. 61: 2139-2144.

Lekroengsin, S., Keeratipibul, S. and Trakoonlerswilai, K. 2007. Contamination profile of *Listeria* spp. in three types of ready-to-eat chicken meat products. J. Food Prot. 70: 85-89.

Lorber, B. 1997. Listeriosis. Clin. Infect. Dis. 24: 1-11.

Lovett, J. D., Francis, W., and Hunt, J. M. 1987. *Listeria monocytogenes* in dairy products. Assoc. Off. Anal. Chem. J. 71: 658-660.

Low, J.C. and Donachie, W. 1997. A review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. Vet. J. 153: 9–29.

Lyytikainen, O., et al. 1999. An outbreak of Listeriosis due to *Listeria monocytogenes* Serotype 3a from butter in Finland. Euro surveillance weekly, Vol. 3 (11 March)[Online]. Available from: http://www.euroserv.org/[2006, March 3]

Lyytikainen, O., et al. 2000. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infection from butter in Finland. J. Infect. Dis. 181: 1838-1841.

Nicolas, J. A. and Vidaud, N. 1987. Contribution a l'etude des Listeria presentes dans les denrees d'origine animale destinees a la consummation humaine. Rec. Med. Vet. 163: 283-285.

MacGowan, A. P., et al. 1994. The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought foodstuffs, human faces, sewage and soil from urban sources. Int. J. Food Microbiol. 21: 325-334.

McInotosh, W. A., Christensen, L. B. and Acuff, G. R. 1994. Perceptions of risks of eating undercooked meat and willingness to change cooking practices. Appetite 22: 83-96.

Mead, P. S., et al. 1999. Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis. 5: 607-625.

Montville, R., Chen, Y. and Schaffner, D. W. 2002. Risk assessment of hand washing efficacy using literature and experimental data. Food Microbiol. 73: 305-313.

Morgan, M. G. and Henrion, M. 1990. Uncertainty: a guide to dealing with uncertainty in quantitative risk and policy analysis. New York: Cambridge University Press.

O' Donoghue, K., Bowker, K., McLauchlin, J., Reeves, D. S., Bennett, P. M., and MacGowan, A. P. 1995. Typing of *Listeria monocytogenes* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. Int. J. Food Microbiol. 27: 245-252.

Orndorff, P. E., Hamrick, T. S., Smoak, I. W. and Havell, E. A. 2006. Host and bacterial factors in Listeriosis pathogenesis. Vet. Microbiol. 114: 1–15.

Pociecha, J., Smith, Z. and Manderson, G. J. 1991. Incidence of *Listeria monocytogenes* in meat production environments of a South Island (New Zealand) mutton slaughterhouse. Int. J. Food Microbiol. 13: 321-327.

Portnoy, D. A., Jacks, P. S. and Hinrichs, D. J. 1988. Role of hemolysin for the intracellular growth of *Listeria monocytogenes*. J. Exp. Med. 167: 1459-1471.

Potter, N. N. and Hotchkiss, J. H. 1998. Food Science. 5th ed. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers.

Riedo, F. X., et al. 1994. A point-source foodborne outbreak: documented incubation period and possible mild illness. J. Infect. Dis. 170: 693-696.

Roberts, D. 1989. *Listeria monocytogenes* in foods – results of two PHLS (Public Health Laboratory Service) surveys. J. Appl. Bacterio. 67: xix.

Roberts, D. and Pinner, R. 1990. Economic impact of disease cause by *L. monocytogenes*. In Miller, A. J., Smith, J. L. and Somkuti, G. A. (eds.), Topics in industrial microbiology: foodborne Listeriosis, pp. 137-149. New York: Elsevier Science Publishing.

Rocourt, J. 1988. Taxonomy of genus *Listeria*. Infection 16: 89-91.

Rocourt, J. and Bille, J. 1997. Foodborne Listeriosis. World Health Stat. Q. 50: 67-73.

Rocourt, J., et al. 1993. Epidemic e listeriose a lysovar 2671-108-312 en France. Resultats prelininares de l'enquete epidemioloique coordonnee par le reseau national de sante publique. Bull. Epidemiol. Hebd. 34: 157-158.

Rose, J. B. and Gerba, C. P. 1991. Use of risk assessment for development of microbial standards. Water Sci. Technol. 24: 29-34.

Salamina, G., et al. 1996. A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. Epidemio. Infect. 117: 429-436.

Salvat, G., Toquin, M. T., Michel, Y. and Colin, P. 1995. Control of *Listeria monocytogenes* in the delicatessen industries: the lessons of a Listeriosis outbreak in France. Int. J. Food Microbiol. 25: 75-81.

Sarah, M. and Jouve, J. R. 2004. Microbiological risk assessment in developing countries. J. Food Prot. 67: 2016 -2023.

Shinomiya, N., et al. 1986. Immune protective mechanisms during pregnancy Part I: cell-mediated immunity against *Listeria monocytogenes* in pregnant mice. Immunology 59: 373–378.

Skovgaard, N. and Morgen, C. A. 1988. Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. Int. J. Food Microbiol. 6: 229-242.

Stringer, M. 2005. Summary report food safety objectives-role in microbiological food safety management. Food control 16: 775-794.

Tarr, P. I. 1995. *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. Clin. Infect. Dis. 20: 1-10.

Thompson, K. M. and Graham, J. D. 1996. Going beyond the single number: using probabilistic risk assessment to improve risk management. Hum. Ecol. Risk Assess. 2: 1008-1034.

Tompkin, R. B., Scott, V. N., Bernard, D. T., Sveum, W. H. and Gombas, K. S. 1999. Guidelines to prevent post-processing contamination from *Listeria monocytogenes*. Dairy Food Environ. Sanit. 19:551-562.

Tompkin, R. B. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. J. Food Prot. 65: 709-725.

USDA. 1995. Nationwide federal plant raw ground beef microbiological baseline survey: August 1993-March 1994. Washington DC: Science and Technology, Microbiology Division.

Van der Elen, A. M. G. and Snijders, J. M. A. 1993. Critical points in meat production lines regarding the introduction of *Listeria monocytogenes*. Vet. Quart. 15: 143-145.

Van Renterghem, B., Huysman, F., Rygole, R. and Verstraete, W. 1991. Detection and prevalence of *Listeria monocytogenes* in the agricultural ecosystem. J. Appl. Bacteriol. 71: 211-217.

Varabioff, Y. 1992. Incidence of *Listeria* in smallgoods. Lett. Appl. Microbiol. 14: 167-169.

Veerkamp, C. H. 1981. Evaporative air chilling of sub-scald poultry. Poultry Int. 20: 16-20.

Victoria, R. L., et al. 2004. Impact of intervention strategies on *Listeria* contamination patterns in crawfish processing plants: a longitudinal study. J. Food Prot. 67: 1163-1169.

Walls, I. and Scott, V. N. 1997. Use of predictive microbiology in microbial food safety risk assessment. Int. J. Food Microbiol. 36: 97-102.

Wang, G. H., Yan, K. T., Feng, S. M., Chen, S. M., Lui, A. P. and Kokubo, Y. 1992. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from retail meats in Beijing. J. Food Prot. 55: 56-58.

Wong, H. C., Chao, W. L. and Lee, S. J. 1990. Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan. Appl. Environ. Microbiol. 56: 3101-3104.

WTO. 1995. The WTO agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures: SPS agreement[Online]. Available from: http://www.wto.org/english/tratop_e/sps_e/spsagr_e.htm[2006, March 3]

Yucel, N., Citak, S. and Gundogan, N. 2004. The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw meat. Indian Vet. J. 81:1192-1194.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

ก.1 การวิเคราะห์หา *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์

ตามวิธีของ ISO 11290-1 (1996)

อุปกรณ์

Flask ขนาด 250 ml

Sterile pipette ขนาด 1 และ 10 ml

Petri dish

Glass slide

ก้าน swab

Loop

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

Stomacher

Incubator 30-32 องศาเซลเซียส

Incubator 35-37 องศาเซลเซียส

กล้องจุลทรรศน์

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

Half Fraser broth

Fraser broth

Oxford agar

PALCAM agar

TSYE (Tryptone soya yeast extract) agar

TSYE broth

Sheep blood agar

Carbohydrate utilization broth (rhamnose และ xylose)

Hydrogen peroxide

Gram stain reagent

เชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Rhodococcus equi ATCC 6939

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 25 g ด้วยวิธี aseptic technique ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Half Fraser broth ปริมาตร 225 ml ผสมให้เข้ากันด้วย stomacher หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง
2. pipette ตัวอย่างจากข้อ 1 ปริมาตร 0.1 ml ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Fraser broth ปริมาตร 10 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง
3. ใช้ก้าน swab จุ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Fraser broth ที่บ่มแล้วในข้อ 2 แล้วลากก้าน swab บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ Oxford agar และ PALCAM agar เป็นบริเวณครึ่งหนึ่งของ plate ให้ทั่ว จากนั้นใช้ loop มา streak ให้ทั่วทั้ง plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าหากตรวจไม่พบ colony ให้บ่มต่อไปอีก 18-24 ชั่วโมง
4. เลือก colony ที่มีลักษณะที่คาดว่าจะเป็น *Listeria* spp. ที่ตรวจพบบน Oxford และ PALCAM agar อย่างน้อย 3 colonies ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ชนิด (ถ้าพบน้อยกว่า 3 colonies ให้เลือกมาทั้งหมด)

อาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะ colony ที่สงสัยว่าเป็น *Listeria* spp.	
	ระยะเวลาบ่ม 24 ชั่วโมง	ระยะเวลาบ่ม 48 ชั่วโมง
Oxford agar	colony ขนาด 1 mm สีเทา มี clear zone สีดำรอบๆ	colony ขนาด 2 mm สีเขียวเข้ม มีรอยบุ๋มตรงกลาง
PALCAM agar	colony ขนาด 1.5-2 mm สีเขียวเทาหรือสีเขียวมะกอก ตรงกลางเป็นสีดำ	colony ขนาด 1.5-2 mm สีเขียว มีรอยบุ๋มตรงกลาง มี clear zone สีดำรอบๆ

5. ใช้ loop เขี่ย colony ที่คัดเลือกแล้วจากข้อ 4 มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSYE agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
6. confirmation of *Listeria* spp.

   6.1 catalase test

   หยด hydrogen peroxide 3% ลงบนแผ่นสไลด์ ใช้ loop เขี่ยเชื้อจากข้อ 5 มาผสมลงในสารละลาย สังเกตปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ถ้ามีฟองก๊าซเกิดขึ้นทันที ผลเป็น positive ถ้าไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น ผลเป็น negative

   6.2 gram staining

   ทำการย้อมสี gram stain เชื้อที่ได้จากข้อ 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6.3 การอ่านผล

การทดสอบ	*Listeria* spp.
catalase test	ผลเป็น positive
gram staining	ติดสี gram positive มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น

7. confirmation of *Listeria monocytogenes*

7.1 haemolysis test

ใช้ loop เขี่ยเชื้อจากข้อ 5 มา streak บน sheep blood agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง

ถ้าผลเป็น positive จะเกิด clear zone รอบๆ colony ถ้าผลเป็น negative จะไม่เกิด clear zone

7.2 carbohydrate utilization

ใช้ loop เขี่ยเชื้อจากข้อ 5 แล้วถ่ายลงใน TSYE broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-24 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นความขุ่นของ TYSE broth จากนั้นใช้ loop ถ่ายเชื้อลงใน carbohydrate utilization broth (rhamnose และ xylose) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน (โดยทั่วไปปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นภายใน 24-48 ชั่วโมง)

ถ้าผลเป็น positive อาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ถ้าผลเป็น negative อาหารเลี้ยงเชื้อจะยังคงมีสีแดงเหมือนเดิม

7.3 CAMP test

ใช้ loop เขี่ยเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *R. equi* ATCC 6939 จาก working reference culture แล้วลากเป็นเส้นตรงในแนวขนานกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ sheep blood agar หลังจากนั้นเขี่ยเชื้อจากข้อ 5 มา streak ให้อยู่ระหว่างเชื้อมาตรฐานทั้ง 2 ชนิด โดยมีระยะห่างประมาณ 1-2 mm นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

ถ้าผลเป็น positive การเกิด haemolysis ของเชื้อที่ทดสอบจะขยายเพิ่มขึ้นใกล้เชื้อ *S. aureus* และ *R. equi* โดยสำหรับ *R. equi* จะมีรูปร่างคล้ายหัวลูกศร ถ้าผลเป็น negative การเกิด haemolysis จะไม่ขยายเพิ่มขึ้นใกล้เชื้อ *S. aureus* หรือไม่เกิดเลย และการเกิด haemolysis จะขยายเพิ่มขึ้นใกล้เชื้อ R. equi แต่ไม่เป็นรูปหัวลูกศร หรือไม่เกิดเลย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7.4 การอ่านผล

species	ผลการทดสอบ				
	haemolysis	carbohydrate utilization		CAMP test	
		rhamnose	xylose	*S. aureus*	*R. equi*
L. monocytogenes	-	+	-	-	-
L. inocua	-	v*	-	-	-
L. ivanovii	+	-	+	-	+
L. seeligeri	+	-	+	-	-
L. welshimeri	-	v	+	-	-
L. grayi	-	-	-	-	-

* variable reaction

ก.2 การวิเคราะห์หา *Listeria* spp. ในสิ่งแวดล้อม

โดยใช้ 3M Petrifilm™

อุปกรณ์

Sterile pipette ขนาด 1 และ 2 ml

Spreader

Vortex mixer

Incubator 37 ± 1 องศาเซลเซียส

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

Dilution fluid (DF)

Buffered peptone water (BPW)

3M Petrifilm™ environmental Listeria plate

วิธีทดลอง

1. นำตัวอย่าง swab ที่มีสารละลาย DF อยู่แล้ว มาเติม BPW เพิ่มอีก 5 ml
2. ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นาน 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. วางแผน petrifilm บนโต๊ะพื้นราบ เปิดแผ่นฟิล์มแผ่นบนขึ้น
4. ใช้ pipette ดูดสารละลายตัวอย่าง 3 ml หยดลงตรงกลางแผ่นฟิล์มแผ่นล่าง โดยขณะปล่อยสารละลายตัวอย่างให้ pipette ตั้งอยู่ในแนวตั้งฉากกับแผ่น petrifilm
5. ค่อยๆ ปิดแผ่นฟิล์มแผ่นบนลงมาช้าๆ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. วาง spreader บนแผ่น petrifilm จนตัวอย่างกระจายเต็มวงกลมภายในขอบโฟม ห้ามกด บิด หรือเลื่อน spreader จากนั้นยก spreader ขึ้นในแนวตั้ง ปล่อยแผ่น petrifilm อยู่นิ่งทิ้งไว้นาน 10 นาที เพื่อให้เจลแข็งตัวก่อนเคลื่อนย้าย
7. นำ petrifilm ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 - 2 ชั่วโมง โดยวางแผ่นให้ด้านใสหันหน้าขึ้น ซ้อนแผ่นได้ไม่เกิน 10 แผ่น
8. นำ petrifilm ที่บ่มแล้ว มาตรวจว่ามี colony ที่มีสีแดงอมม่วงขึ้นบนแผ่น petrifilm หรือไม่ (ไม่รวม colony ที่ขึ้นอยู่บนขอบของ petrifilm) ถ้าไม่พบ colony รายงานผลเป็น negative ถ้าพบรายงานผลเป็น positive

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์

- ถ้วยชั่งอลูมิเนียม
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- hot air oven
- desiccator

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 2 g ใส่ถ้วยชั่งอลูมิเนียม และชั่งน้ำหนักเอาไว้
2. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105°C จนน้ำหนักคงที่
3. ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก
4. คำนวณปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักแห้ง)

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง} - \text{น้ำหนักหลังอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักหลังอบแห้ง}} \times 100$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุมาลิน เล็กเริงสินธุ์ เกิดเมื่อวันที่ 15 กรกฎาคม 2521 ที่จังหวัดสมุทรปราการ สำเร็จการศึกษา ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับ 2 สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2543 และสำเร็จการศึกษาปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมอาหาร หลักสูตรนานาชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เมื่อปีการศึกษา 2545 และเข้าศึกษาต่อ ในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2547

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย