

บทที่ 2

จุลินทรีย์ก่อโรคที่มากับอาหาร

(Food-borne illness : Microorganisms)

วัตถุประสงค์

หลังจากที่อ่านบทนี้แล้ว นักศึกษาควรทราบและเข้าใจในสิ่งต่อไปนี้

- จุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคที่มากับอาหาร
- ลักษณะและอุปนิสัยของจุลินทรีย์
- ลักษณะอาการของโรค
- แหล่งอาหารที่มักพบจุลินทรีย์ก่อโรคที่มากับอาหาร
- แนวทางในการป้องกันหรือแก้ไข

2.1 บทนำ

การบริโภคอาหารอาจทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยจากสาเหตุต่าง ๆ เช่น การบริโภคมากเกินไป การแพ้อาหาร อาหารปนเปื้อนสารเคมีที่เป็นพิษ พิษหรือสัตว์ที่เป็นพิษ อาหารปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค รวมทั้งสารพิษที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในอาหาร ในปัจจุบันโรคอาหารเป็นพิษที่มีจุลินทรีย์เป็นสาเหตุนับวันจะทวีจำนวนมากขึ้น สำหรับประเทศไทยในปี พ.ศ. 2551 จากรายงานของสำนักกระบาดวิทยา พบว่า ผู้ป่วยจากโรคอาหารเป็นพิษมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น โดยมีผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน 1,256,711 ราย อัตราป่วย 1,988.03 ต่อประชากร 100,000 คน เสียชีวิต 49 ราย (สุทธิดล ไชยชนิ และ ประพันธ์ศักดิ์ จวีรราช, 2552)

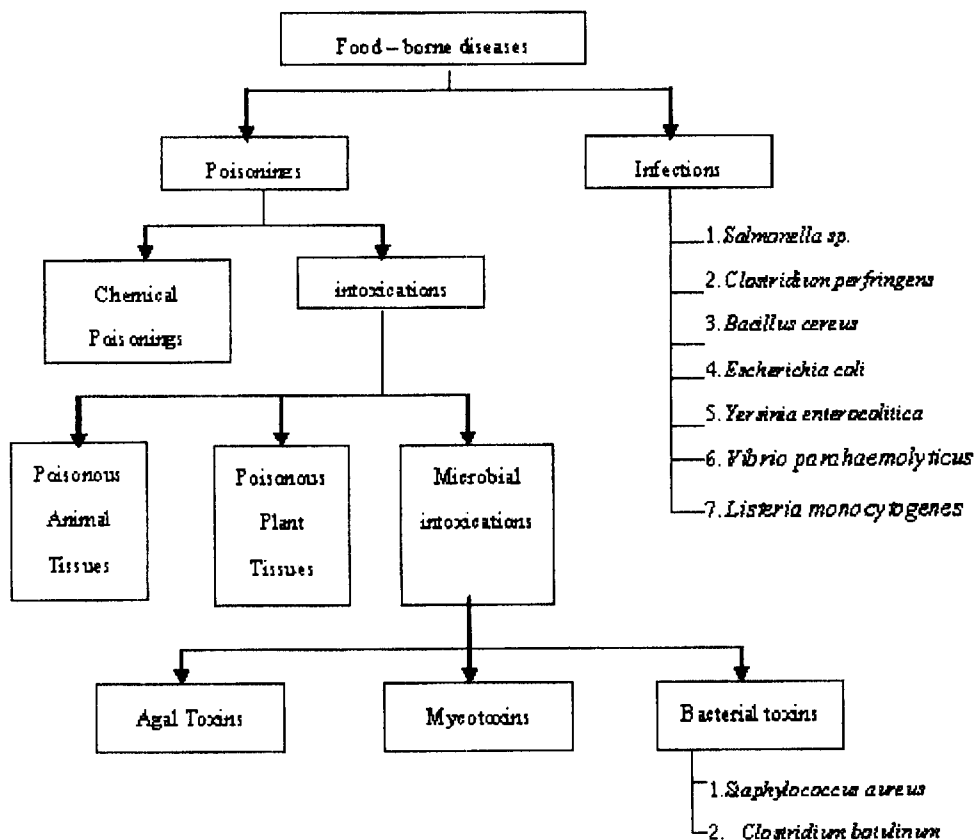
ดังนั้น ผู้ผลิตอาหารและผู้บริโภคควรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเพื่อที่จะได้ป้องกันหรือบรรเทาปัญหาให้เบาบางลง

2.2 ความแตกต่างระหว่าง Food intoxications และ Food infections

โรคอาหารเป็นพิษเกิดจากการรับประทานอาหารแล้วเกิดการเจ็บป่วย มี 2 ชนิด คือ

1) Food infection เป็นโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคปนเปื้อน จุลินทรีย์เข้าสู่ร่างกาย เจริญเติบโต เพิ่มจำนวนและสารพิษในร่างกาย ทำให้ผู้บริโภคเกิดการเจ็บป่วย

2) Food intoxication หรือ Food poisoning เป็นโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนสารเคมีที่เป็นพิษ เช่น โลหะหนัก ยาฆ่าแมลง พืชและสัตว์ที่เป็นพิษ เช่น เห็ด ปลาปักเป้า หอยต่างๆ รวมทั้งมีจุลินทรีย์ก่อโรค ในกรณีของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์จะเจริญเติบโต เพิ่มจำนวน และผลิตสารพิษขึ้นและปล่อยออกมาในอาหารก่อนบริโภค ผู้บริโภคจะเกิดการเจ็บป่วยจากสารพิษที่บริโภคเข้าไป ไม่ว่าจะอาหารนั้นจะยังคงมีจุลินทรีย์ที่ผลิตสารพิษอยู่หรือไม่ก็ตาม (ดังภาพ 2.1)



ภาพที่ 2.1 แผนภาพเชื้อโรคที่มากับอาหาร

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Frazier & Westhoff (1988)

2.3 แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษชนิด Food intoxication และ Food infection

2.3.1 แบคทีเรียในกลุ่ม Food intoxication

จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ก่อโรคโดยผลิตสารพิษ (toxin) ขึ้นในอาหารก่อนการบริโภค โดยสารพิษอาจทำลายเซลล์ของร่างกายโฮสต์ หรือทำลายเนื้อเยื่อ เช่น เนื้อเยื่อประสาท ผู้บริโภคจะเกิดการเจ็บป่วยจากสารพิษที่บริโภคเข้าไป จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มี 2 ชนิด คือ *Clostridium botulinum* และ *Staphylococcus aureus*

Clostridium botulinum

เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก อาศัยอยู่ในดิน มีรูปร่างเป็นท่อน ดังภาพที่ 2.2 เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน สร้างสปอร์ที่ทนความร้อน และผลิตสารพิษที่มีอันตรายร้ายแรง คือ โบทูลิซึม (botulism) พบครั้งแรกในประเทศเยอรมัน จากการรับประทานไส้กรอก (sausage) โบทูลิซึมมาจาก คำว่า botulus ซึ่งในภาษาเยอรมัน แปลว่า ไส้กรอก จึงตั้งชื่อจุลินทรีย์ชนิดนี้ว่า *Clostridium botulinum*



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของเชื้อ *Clostridium botulinum*

ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

Clostridium botulinum มีทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ ชนิด เอ บี ซี ดี อี เอฟ และจี หลายชนิดเป็นเชื้อโรคอาหาร มีลักษณะและคุณสมบัติแตกต่างกัน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นพวกโปรติโอไลติก ได้แก่ ชนิด เอ และบางสายพันธุ์ของบีและเอฟที่เป็นพวกโปรติโอไลติก เมื่อเจริญจะเป็นสาเหตุให้อาหารเกิดการเน่าเหม็น

กลุ่มที่ 2 เป็นพวกที่ไม่ใช่โปรติโอไลติก ได้แก่ ชนิดอี และบางสายพันธุ์ของบีและเอฟที่ไม่ใช่พวกโปรติโอไลติก

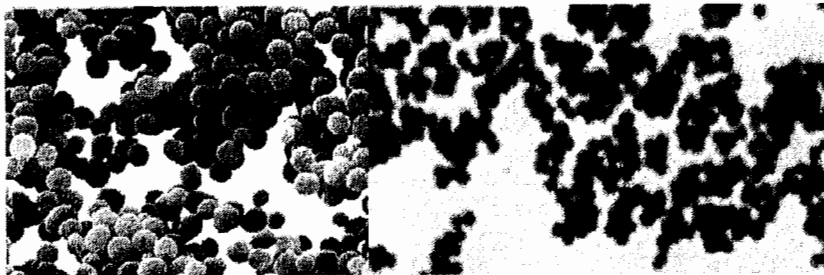
จุลินทรีย์ชนิดนี้เจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูงกว่า 4.5 เช่น เนื้อสัตว์ ปลา และผัก ผลิตภัณฑ์ขึ้นในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เช่น ในอาหารกระป๋องที่ผ่านความร้อน ในการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ สำหรับอาหารที่เป็นกรด (pH ต่ำกว่า 4.5) จะค่อนข้างปลอดภัยจากจุลินทรีย์ชนิดนี้

การบริโภคอาหารที่มีสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ผลิตขึ้น แม้เพียงจำนวนเล็กน้อยก็จะทำให้เกิดอาการผิดปกติทางสมอง ตาพร่ามัว เป็นอัมพาต หัวใจล้มเหลว และอาจตายได้ภายใน 3 – 6 วัน หลังจากได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าไป อัตราการตายสูงกว่า 70 % แต่ยั้งนับว่าเป็นโชคดีที่สารพิษชนิดนี้ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายได้โดยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลาประมาณ 10 นาที

Staphylococcus aureus

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะกลม ขนาด 0.5 – 1.0 ไมครอน จับกันเป็นกลุ่มคล้ายรวงงู ลักษณะโคโลนิกรวม ขอบเรียบ นูน มีสีครีม เหลือง ส้ม

Staphylococcus aureus สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6 – 46 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 30 – 37 องศาเซลเซียส pH ที่สามารถเจริญได้ในช่วง 4.0 – 10.0 แต่ pH ที่เหมาะสม คือ 7.0 – 7.5 สามารถเจริญได้ในอาหารที่มี A_w อยู่ในช่วง 0.85 – 0.99 แต่ถ้า A_w น้อยกว่า 0.94 จะเจริญได้อย่างช้าๆ นอกจากนี้ยังทนต่อสภาวะที่มีเกลือที่ความเข้มข้นสูงถึง 18 – 20 %



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : Sakunee Bovonsombut (2552)

S. aureus จัดอยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี ออกซิเจน แต่ในสภาพที่มีออกซิเจนเจริญได้ดีกว่า เป็นพวกไม่สร้างสปอร์ แต่สร้างสารพิษได้ที่ อุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส สารพิษที่สร้างขึ้นมีทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ A, B, C1, C2, C3, D, E และ H ชนิดที่พบบ่อยและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ คือชนิด A และ D (ศูนย์ข้อมูลโรคติดต่อและพาหะนำโรค, 2553) เซลล์ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แต่สารพิษทนความร้อนมาก แม้จะให้ความร้อนโดยการต้ม เดือดนานกว่าครึ่งชั่วโมงก็ยังไม่สามารถทำลายได้ การจะทำลายสารพิษต้องใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 121 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที ดังนั้นถ้าอาหารมีจุลินทรีย์ชนิดนี้เจริญและผลิตสารพิษ ขึ้นในอาหาร ผู้บริโภคก็จะเกิดอาการเจ็บป่วยอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

จุลินทรีย์ชนิดนี้พบทั่วไปในอากาศ ดิน ฟันละออง ร่างกายสัตว์โดยเฉพาะผิวหนัง โพรง จมูก เยื่อหูทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร มือ บาดแผล เป็นแบคทีเรียตัวเดียวกับที่ทำให้ เกิดฝีหนองรวมถึงสิว ดังนั้นอาหารส่วนใหญ่มีโอกาสปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ชนิดนี้จากนิ้วมือที่ เป็นแผลหรือมือที่สกปรกจากการสัมผัสกับบริเวณที่มีเชื้อ เช่น ดาอ่างเสบ ฝัหนอง หรือสิวก อักเสบ สิ่งคัดหลั่งจากจมูก และผิวหนัง เป็นต้น ดังนั้นจึงเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหาร เป็นพิษ (Food Poisoning) ที่พบบ่อยที่สุดโดยเฉพาะในฤดูร้อน

อาหารที่มักพบจุลินทรีย์ชนิดนี้ปนเปื้อนและผลิตสารพิษได้ดีจะเป็นอาหารประเภทแป้ง และโปรตีน ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ปลา ไข่ และผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ เบเกอรี่ เช่น พาสตีร์ เอแคร์ เค้ก คัสตาร์ด และแซนด์วิช เป็นต้น ส่วนใหญ่เป็นอาหารที่ปรุง และสัมผัสกับมือของผู้ปรุงอาหาร และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องหลายชั่วโมงก่อนนำไปบริโภค โดย ไม่ได้แช่เย็น เช่น ขนมจีน ขนมเอแคร์ สลัด เนื้อ และซूप ทำให้เชื้อเจริญและสารพิษที่ทนความ ร้อนขึ้นในอาหาร

ผู้บริโภคที่รับประทานอาหารที่มีสารพิษจากจุลินทรีย์ชนิดนี้เข้าไปจะเกิดโรคที่เรียกว่า staphyloenterotoxigenosis, staphyloenterotoxemia อาการจะเกิดขึ้นภายใน 2 – 6 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษปนเปื้อนซึ่งเกิดขึ้นเร็วกว่าอาหารเป็นพิษหรือโรคติดต่อชนิด อื่นๆ สำหรับอาการนั้นขึ้นอยู่กับภูมิคุ้มกันของร่างกายและปริมาณสารพิษที่ได้รับ ขั้นต่ำ เพียง 1.0 ไมโครกรัม ก็จะทำให้เกิดอาการได้ โดยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เป็น ตะคริว ท้องร่วงอย่างรุนแรง อ่อนเพลียมาก ส่วนมากไม่มีไข้ ถ้าเป็นมากจะปวดศีรษะ ปวดตาม กล้ามเนื้อ และความดันโลหิตและอัตราการเต้นของชีพจรเปลี่ยนแปลงชั่วคราว อย่างไรก็ตาม เป็นโรคอาหารพิษชนิดธรรมดาที่สุดโดยอาการของโรคไม่รุนแรง อาการจะหายได้ภายใน 2 – 3 วัน ภายหลังจากขับถ่ายเชื้อจุลินทรีย์และสารพิษออกไป

แม้ว่าอาหารจะมีโอกาสปนเปื้อนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สูงก็ตาม แต่สามารถยับยั้งการผลิตสารพิษได้ โดยการรักษาสุขลักษณะในการประกอบอาหาร ไม่ควรให้ผู้ที่มีแผลติดเชื้อบริเวณมือ หรือแขน จับต้องสัมผัสอาหารโดยตรง นอกจากนี้อาหารที่ผลิตเสร็จแล้วต้องลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว และเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถผลิตสารพิษ

2.3.2 จุลินทรีย์ในกลุ่ม Food infection

จุลินทรีย์กลุ่มนี้ทำให้เกิดโรคกับสิ่งมีชีวิตโดยเมื่อเข้าไปสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิต(โฮสต์) จะมีกลไกเอาชนะระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ แต่ถ้าโฮสต์มีความต้านทานสูงกว่า จะสามารถทำลายจุลินทรีย์เหล่านี้ได้และไม่เกิดโรครื่น ปัจจัยที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถก่อโรคได้ ขึ้นอยู่กับสารพิษ (toxin) ที่สร้างขึ้น

ซาลโมเนลลา (*Salmonella*)

เป็นแบคทีเรียรูปแท่ง แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ (ภาพที่ 2.4) จัดอยู่ใน Family Enterobacteriaceae มีอยู่ไม่น้อยกว่า 1,300 ชนิด (Catsberg & Kempen-Van Dommelen, 1990) พบในลำไส้ของคนและสัตว์ เจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในสภาวะแวดล้อมที่อุ่นๆ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่โดยทั่วไปเจริญได้ในช่วง 5 – 47 องศาเซลเซียส และหยุดการเจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่สูงกว่า 47 องศาเซลเซียส เชื้อซาลโมเนลลาส่วนใหญ่ไม่ทนความร้อน จะถูกทำลายเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที เจริญได้ในอาหารที่มี a_w สูง และ a_w ต่ำสุดที่ยังสามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 0.93 – 0.95 เจริญได้ที่ pH 4.1– 9.0 แต่ pH ที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 6.5 – 7.5



ภาพที่ 2.4 ลักษณะของเชื้อ *Salmonella*
ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

เชื้อซาลโมเนลลาทุกชนิดเป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (Food Infection) เมื่อเข้าสู่ร่างกายของมนุษย์และสัตว์ สามารถเจริญเพิ่มจำนวน และผลิตสารพิษเก็บไว้ภายในเซลล์ ก่อให้เกิดโรค โดยมีความรุนแรงแตกต่างกัน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. **โรคไข้ไทฟอยด์หรือไข้รากสาดน้อย และโรคไข้พาราไทฟอยด์หรือไข้รากสาดเทียม** เกิดจาก *S. typhi* และ *S. paratyphi* A, B และ C ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูงอยู่หลายวัน ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว เบื่ออาหาร ท้องอืด ม้ามโต ต่อมาจะมีอาการอุจจาระร่วง

2. **โรคโลหิตเป็นพิษ** จะพบเชื้อชนิดนี้ในกระแสโลหิต ผู้ป่วยจะไม่มีอาการเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร แต่จะทำให้เกิดฝีหนองที่อวัยวะต่างๆ และทำให้เยื่อหุ้มสมองและหัวใจอักเสบ

3. **โรคอุจจาระร่วง** หรือ มักเรียกโรคอาหารเป็นพิษ (Salmonellosis)

เมื่อบริโภคอาหารที่มีเชื้อซาลโมเนลลาปนเปื้อนเข้าไป มากถึง 1×10^6 เซลล์ จะปรากฏอาการภายใน 12 - 36 ชั่วโมง โดยผู้ป่วยจะมีอาการ เวียนศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วงอยู่นาน 2 - 5 วัน อ่อนเพลีย มีไข้ปานกลาง ร่วง ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับภูมิต้านทานของแต่ละคนและปริมาณเชื้อซาลโมเนลลาที่ได้รับ

เชื้อซาลโมเนลลา พบได้ใน น้ำ ดิน พื้นโรงงาน พื้นครัว แมลง อุจจาระสัตว์ และปนเปื้อนในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้แก่ เนื้อดิบ เป็ด ไก่ ปลาและอาหารทะเล ไข่ นมและผลิตภัณฑ์นม โดยส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการเตรียมอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะทำให้มีปนเปื้อนโดยเฉพาะการฆ่า การชำแหละสุกร วัว เป็ด และไก่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังอาจปนเปื้อนจากการใช้มือจับต้องและปรุงประกอบอาหารจากผู้ประกอบอาหารที่ป่วยหรือเป็นพาหะของโรค รวมทั้งมากับแมลง หนู หรือ ในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษาโดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานจะทำให้เชื้อซาลโมเนลลาเจริญได้ดี ดังนั้นเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคต้องให้ความสนใจกับสุขลักษณะของโรงงานและคนที่ประกอบอาหาร

S. enteritidis เป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยโรคเกิดอาการป่วยมากที่สุด จากการบริโภค นำนมดิบ ไข่คน (Scrambled eggs) ไข่สด หรือไข่ที่ปรุงไม่สุก

Clostridium perfringens

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์ (ภาพที่ 2.5) และทนความร้อนสูง เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 15 - 50 องศาเซลเซียส แต่

อุณหภูมิที่เจริญได้ดี คือ 43 – 47 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 5.0 หรือสูงกว่า 9.0 และถูกยับยั้งการเจริญในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5

จุลินทรีย์ชนิดนี้พบได้ทั่วไปในดิน ผุ่น ระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ มูลสัตว์ และปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ได้แก่ เนื้อโค สุกร แกะและไก่ ทั้งในเนื้อสดและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ถ้ามีจุลินทรีย์ชนิดนี้ปนเปื้อนในอาหาร เมื่อนำอาหารไปหุงต้มความร้อนจะทำลายเซลล์ ขณะเดียวกันความร้อนจะไล่ออกซิเจนในอาหารออก และช่วยกระตุ้นให้สปอร์ที่รอดชีวิตสามารถเจริญได้ระหว่างตั้งทิ้งไว้ให้เย็นอย่างช้าๆ จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วภายในเวลาสั้นๆ เพียง 12 นาที (Eley, 1996) ถ้ามีปริมาณมากกว่า 100 โคโลนีของ เซลล์ปกติต่อกรัมก็จะทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยได้



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อ *Clostridium perfringens*
ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

อาหารประเภทเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ทำให้สุกแล้วปล่อยให้เย็นลงอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิห้อง มักพบ *Clostridium perfringens* เมื่อบริโภคอาหารที่มีจุลินทรีย์ชนิดนี้เข้าไป จะเจริญและผลิตสารพิษในลำไส้ ซึ่งมี 2 ชนิด คือชนิดเอและแอลฟา จะทำให้เกิดอาการปวดท้องแบบปวดเกร็ง ท้องเดิน คลื่นไส้ แต่ไม่มีอาการอาเจียนและเป็นไข้ภายใน เวลา 8 – 22 ชั่วโมง (Catsberg & Kempen-Van Dommelen, 1990)

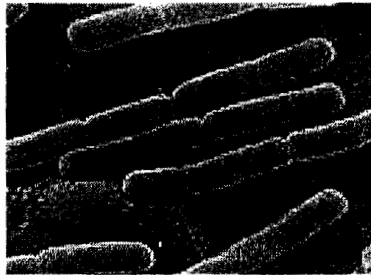
การระบาดส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการปรุงอาหารที่ร้อนไม่เพียงพอ หรือการอุ่นอีกครั้ง พบบ่อยในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น สตู พายเนื้อ หรือเกรวี่ ไก่วง หรือไก่

การป้องกันโรคทำได้โดยอาหารประเภทเนื้อสัตว์ หลังการหุงต้มควรบริโภคทันที หากยังไม่บริโภคหรือยังไม่นำเข้าสู่กระบวนการแปรรูปขั้นต่อไป ต้องลดอุณหภูมิอาหารลงอย่างรวดเร็ว และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อป้องกันการเจริญของสปอร์ อาหารจำพวกเนื้อ เป็ด ไก่ ไม่ควรปรุงถึงสุกกึ่งดิบในวันแรกแล้วนำมาอุ่นให้ร้อนในวันถัดไป ก่อนนำอาหารมาบริโภค

จะต้องอุ่นอาหารที่อุณหภูมิสูง ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสหรือต้มให้เดือดนานประมาณ 5 นาทีจะสามารถทำลายเชื้อและสารพิษของเชื้อนี้ได้

Bacillus cereus

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ (ภาพที่ 2.6) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 30 – 37 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส ก็ยังสามารถเจริญได้ เจริญได้ที่ pH 4.3 ถึง 9.3 และเจริญได้ที่ A_w ต่ำถึง 0.91



ภาพที่ 2.6 ลักษณะของ *Bacillus cereus*

ที่มา : Christchurch city council (2554)

นอกจากนี้ *B. cereus* มีอยู่มากมายหลากหลายชนิด ทั้งสายพันธุ์ที่เป็นมีโซไฟล์และไซโครไฟล์สามารถเจริญได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 1 องศาเซลเซียส และผลิตสารพิษที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียและเกิดโรคในอาหารชนิดต่างๆ สร้างสปอร์ที่ทนความร้อนมาก ไม่ถูกทำลายโดยกระบวนการหุงต้มอาหาร ในอาหารที่ผ่านความร้อนหรือพาสเจอร์ไรซ์ ถ้ามีการปนเปื้อนด้วย *B. cereus* จะเป็นสภาวะที่ส่งเสริมให้ *B. cereus* เจริญได้ดียิ่งขึ้น เพราะความร้อนจะกำจัดจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่จะมาเจริญแข่งขัน นอกจากนี้สปอร์ที่รอดชีวิตจากการให้ความร้อนจะเจริญและผลิตสารพิษขึ้นได้ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น โดยเฉพาะถ้าลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ ดังนั้นหลังการหุงต้มการลดอุณหภูมิของอาหารลงอย่างรวดเร็วสามารถป้องกันการเจริญของสปอร์ได้

การเกิดโรคจากการบริโภคอาหารปนเปื้อนด้วย *B. cereus* เกิดได้ทั้ง Food infections และ Food intoxications คือ 1) ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน (Emetic illness) และ 2) ทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องเดิน (Diarrhea illness)

แบบที่ 1 เป็น Food intoxications เกิดจากจุลินทรีย์ผลิตสารพิษขึ้นในอาหาร เช่น ข้าวสุก มักกะโรนี และข้าวผัด เป็นไปได้ว่ามีสปอร์อยู่ในข้าวทอดชีวิตจากกระบวนการหุงต้ม และเจริญขึ้นระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญในข้าวสุกอยู่ระหว่าง 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญระหว่างเก็บที่ 15 – 43 องศาเซลเซียส ถ้ามีจำนวน *B. cereus* $10^6 - 10^9$ เซลล์ และสารพิษชนิดนี้ทนความร้อนสูงมาก ความร้อนระดับน้ำเดือดไม่สามารถทำลายได้ต้องใช้อุณหภูมิที่สูงถึง 121 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที

โดยทั่วไปมักปรากฏอาการภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 30 นาที ถึง 6 ชั่วโมง พบในอังกฤษ อเมริกา และแคนาดา วิธีการป้องกันโดยเก็บข้าวที่หุงสุกแล้วที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 63 องศาเซลเซียส หรือทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วและเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็นภายในเวลา 2 ชั่วโมงหลังการหุงต้ม และควรหุงข้าวในปริมาณที่น้อยลงเพื่อลดระยะเวลาที่ต้องเก็บก่อนการผัดข้าว

แบบที่ 2 เป็น Food infections เกิดจากรับประทานอาหารที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย ใช้เวลาในการฟักตัว 6 – 16 ชั่วโมง ผลิตสารพิษขึ้นในร่างกาย ทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องเดิน โดยทั่วไปอาการจะทรงอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง แล้วก็ทุเลาลง สารพิษไม่ทนความร้อนและกรด สามารถยับยั้งโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 5 นาที พบการเกิดโรคในสหรัฐอเมริกา ยุโรป จากการบริโภคอาหารประเภทผักต่างๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ อาหารหวาน และน้ำปรุงรส ซอส ซุป และอาหารที่มีแป้งและครีมเป็นส่วนประกอบ (Tay, Goh & Tan ,1982)

B. cereus พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง อาหารที่พบ *B. cereus* ได้แก่ ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญชาติ แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เครื่องเทศ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ เช่น พายไส้ผัก น้ำมันพาสเจอร์ไรซ์ ปลาทอด ไส้กรอก เนื้อสัตว์ที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วนำไปแช่เย็น นอกจากนี้ยังพบในข้าวสุก ผักต้ม ซอส คัสตาร์ด เพสตรี้ พุดดิ้ง ซุป ไอศกรีม และเครื่องเทศ ที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานๆ นอกจากนี้มีการตรวจพบ *B. cereus* ในเครื่องดื่มพร้อมบริโภคทั้งชนิดเหลวและผงที่มีส่วนผสมของธัญชาติสูงกว่าเกณฑ์กำหนด ได้แก่ น้ำเต้าหู้ นมเย็นผสมแมงลัก และน้ำนมข้าวโพด ตรวจพบมากกว่า 1,100 ต่อมิลลิลิตร (สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2550)

B. cereus ก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับอุตสาหกรรมจัดการบริการอาหารที่ต้องมีการเตรียมอาหารจำนวนมาก หรือต้องจัดเตรียมอาหารขึ้นล่วงหน้าเป็นเวลานานๆ ก่อนนำไปบริโภค ใน

ระหว่างการปรุงและการเก็บรักษาหากมีการปฏิบัติที่ไม่ถูกสุขลักษณะจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อซึ่งกว่าที่จะนำอาหารไปบริโภคเชื้อก็อาจเพิ่มจำนวนในอาหารมากขึ้นเรื่อยๆ

การลดความเสี่ยงจาก *B. cereus* โดยให้ความร้อนอาหารอย่างทั่วถึงจนอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางถึง 63 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่าเป็นเวลาอย่างน้อย 15 วินาที เพื่อทำลายเซลล์ และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว เก็บอาหารที่ปรุงเสร็จที่ 5 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเจริญของสปอร์และการผลิตสารพิษ จนกว่าจะรับประทานหรือเก็บอาหารที่ร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส หลีกเลี่ยงการเตรียมอาหารล่วงหน้าเป็นเวลานาน The Food Standard Code (1999) กำหนดให้ธุรกิจอาหารลดอุณหภูมิของอาหารจาก 60 องศาเซลเซียส ถึง 21 องศาเซลเซียส ภายใน 2 ชั่วโมง และจาก 21 องศาเซลเซียส ถึง 5 องศาเซลเซียส ภายใน 4 ชั่วโมง และแนะนำผู้ประกอบการอาหารให้ล้างมือด้วยสบู่และน้ำอุ่นก่อนเตรียมอาหาร เก็บและทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องใช้ให้สะอาด

Listeria monocytogenes

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ รูปท่อน สั้น หัวท้ายมน มี แฟล็กเจลลา (flagella) ช่วยให้เคลื่อนที่ได้ (ภาพที่ 2.7) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนน้อยๆ และมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 – 10 เปอร์เซ็นต์

L. monocytogenes เป็นเชื้อก่อโรคในสัตว์ สามารถแยกได้จากดิน น้ำ น้ำเสีย อุจจาระของคนและสัตว์ที่เป็นพาหะของโรคโดยไม่แสดงอาการป่วย ทำให้มีการปนเปื้อนในอาหารชนิดต่างๆ โดยเฉพาะนํ้านมดิบ ผลิตภัณฑ์จากนํ้านม เช่น เนยแข็ง ไอศกรีม รวมถึงนํ้านมพาสเจอร์ไรส์ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ไม่เพียงพอ นอกจากนี้ยังพบในเนื้อดิบและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ไส้กรอก แพรงเฟอเดอร์ หอยแมลงภู่ม้วน ปลารมควัน สลัดผัก เป็นต้น



ภาพที่ 2.7 ลักษณะของเชื้อ *Listeria monocytogenes*

ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

Listeria monocytogenes จัดเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อวงการอุตสาหกรรมอาหารเป็นอย่างมาก เพราะนอกจากจะตรวจพบในอาหารชนิดต่างๆ ส่วนต่างๆ ภายในโรงงาน และแพร่กระจายออกไปในขั้นตอนการทำมาสะอาดแล้ว ยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีความทนทานต่อสภาวะที่รุนแรงมากกว่าเซลล์ของแบคทีเรียชนิดอื่น ดังนี้ คือ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิที่ต่ำถึง -0.4 องศาเซลเซียส และดำรงชีวิตอยู่ได้ที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง เจริญที่ pH 4.4 – 9.6 ทนต่อสภาวะที่เป็นด่างได้ดีกว่ากรด pH ต่ำสุดที่ยังเจริญได้ที่อุณหภูมิแช่เย็น คือ 5.23 – 5.6 a_w ต่ำสุดที่เจริญได้ 0.90 แต่มีความทนทานต่อสภาวะที่แห้งแล้งมี a_w ต่ำ เช่น ในนมผงขาดมันเนยที่มีความชื้น 3.6 – 6.4 % ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้นานกว่า 16 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทนเกลือได้ดีสามารถเจริญได้ในสารละลายที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นมากกว่า 10 % และมีชีวิตอยู่ได้เป็นปีๆ ในสารละลายที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 16 % (Adam & Moss, 1995) นอกจากนี้ยังทนต่อไนไตรต์ได้พอสมควร ความเข้มข้นของไนไตรต์ที่ใช้ในอาหารตามปกติไม่สามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ (ตารางที่ 2.1)

Listeria monocytogenes ไม่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มที่ทนความร้อน การพาสเจอร์ไรซ์ระดับ HTST (71 องศาเซลเซียส 15 วินาที) สามารถกำจัดจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ การพบ *Listeria monocytogenes* ในอาหารที่ผ่านความร้อน แสดงว่ามีการปนเปื้อนภายหลังกระบวนการ

การรับประทานอาหารที่ปนเปื้อน *Listeria monocytogenes* ทำให้เกิดโรคลิสเทอโรซิส (listeriosis) ผู้ป่วยจะมีอาการเกี่ยวกับระบบอื่นๆ ภายในร่างกายมากกว่าระบบทางเดินอาหาร ซึ่งแตกต่างจากเชื้อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ อาการของโรคจะแตกต่างกันไป ขึ้นกับ สภาวะร่างกายของผู้ป่วย เช่น สตรีมีครรภ์ จะมีอาการเป็นไข้ หนาวสั่น คล้ายไข้หวัดใหญ่ ปวดหลัง ปวดศีรษะ อาเจียน และอาจมีการแท้ง ในเด็กอ่อนจะมีระบบหายใจผิดปกติ หายใจติดขัด ชัก กระตุก และหัวใจล้มเหลว นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจมีอาการเยื่อหุ้มสมอง หัวใจ และไขสันหลังอักเสบ หลอดปัสสาวะอักเสบ เยื่อตาขาวอักเสบ ภาวะโลหิตเป็นพิษ กลุ่มผู้ที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคจากจุลินทรีย์ชนิดนี้ มักเป็นกลุ่มของผู้ที่มีสุขภาพอ่อนแอ เช่น สตรีมีครรภ์ เด็กอ่อน คนชรา และผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยโรคมะเร็ง เบาหวาน โรคไต ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันที่ทั้งนี้ก็อาจจะตายได้ภายใน 2 – 3 วัน (สิริพร สชนเสาวภาคย์, 2537) การตายจากสภาวะเยื่อหุ้มสมองเกิดขึ้นถึง 70 % โลหิตเป็นพิษ 50 % เด็กแรกเกิดตายมากกว่า 80 %

การป้องกันทำได้โดยไม่เก็บอาหารในช่วงที่อันตราย(5 – 60 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิอาหารก่อนรับประทานถึงอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส แยกอาหารดิบออกจากอาหารที่ปรุงสุกแล้ว และป้องกันการปนเปื้อนข้าม ทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ประกอบอาหาร

อาหารพร้อมบริโภคควรควบคุมอุณหภูมิให้แน่นอน ผักเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และเก็บไม่เกิน 7 วัน ในอังกฤษ UK Guidelines กำหนดให้อาหารที่หุงต้มแล้วและเก็บแช่เย็น เก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และเก็บไม่เกิน 3 วัน

ตารางที่ 2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของ *Listeria monocytogenes*

อุณหภูมิสำหรับการเจริญ	
ต่ำสุด	- 0.4 °ซ
เหมาะสม	30 – 37 °ซ
สูงสุด	45 °ซ
การให้ ความร้อน	
D _{71.7} (น้ำนม)	0.9 วินาที
D ₇₀ (เนื้อสัตว์ และผัก)	8.2 –16.4 วินาที
pH	
ต่ำสุด ที่ 30 °ซ	4.39
ที่ 4 °ซ	5.23
สูงสุด	9.6
โซเดียมคลอไรด์	
ทุกสายพันธุ์เจริญได้	10 %
รอดชีวิตได้นาน 1 ปี	15 %
โซเดียมไนไตรต์	
ปริมาณที่ยับยั้งที่ pH 7.4	25 ,000 ppm
โซเดียมเบนโซเอท	
4 °ซ pH 5.0 และ 5.6	0 และ 0.05 %
13 °ซ pH 5.0 และ 5.6	0.1 และ 0.25 %
กรดซอร์บิก	
4 °ซ pH 5.0 และ 5.6	0 และ 0.15 %
13 °ซ pH 5.0 และ 5.6	0.2 และ > 0.3 %

ที่มา : Walker & Stringer (1996)

Yersinia enterocolitica

แบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง (ภาพที่ 2.8) อยู่ใน Family *Enterobacteriaceae* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคเยอซินิโอซิส (yersiniosis) พบเมื่อ 50 ปี มาแล้ว แต่ไม่ได้รับความสนใจมากนัก จนกระทั่งปี พ.ศ. 2513 เกิดการระบาดครั้งใหญ่ในอาหารแช่เย็น และมีรายงานตรวจพบ *Yersinia enterocolitica* ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารแช่เย็นมากมาย ได้แก่ เนื้อสัตว์ทั้งดิบและต้มสุก สัตว์ปีก ปลา และอาหารทะเล น้ํานมดิบและน้ํานมพาสเจอร์ไรซ์ ผลิตภัณฑ์นม ผัก และเต้าหู้ เป็นต้น



ภาพที่ 2.8 ลักษณะของเชื้อ *Yersinia enterocolitica*
ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของ *Yersinia enterocolitica* คล้ายกับ *Listeria monocytogenes* (ดังตารางที่ 2.2) คือ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ แช่เย็น และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียสจนถึงอุณหภูมิต่ำถึง - 1.3 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้ไม่ทนความร้อน สามารถกำจัดออกจากอาหารได้อย่างง่าย ๆ โดยการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรซ์ ดังนั้นการพบแบคทีเรียชนิดนี้ในอาหารชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน แสดงว่ามีการปนเปื้อนหลังกระบวนการ แบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถเจริญแข่งขันกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ได้ แต่ถ้าแบคทีเรียชนิดอื่นถูกกำจัดด้วยความร้อน แล้วอาหารมีการปนเปื้อนด้วย *Yersinia enterocolitica* ก็จะสามารถเจริญในอาหารในระหว่างการแช่เย็นได้ โดยไม่มีสิ่งใดมาขัดขวาง ดังนั้นจึงควรต้องให้ความสนใจในการควบคุมสภาวะแวดล้อมในสถานที่ผลิตหรือปรุงประกอบอาหาร

นอกจาก *Yersinia enterocolitica* แล้ว *Yersinia pseudotuberculosis* ก็เป็นสาเหตุของโรค yersiniosis โดยหลังบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเยอซิเนีย ประมาณ 24-48 ชั่วโมง จะมีอาการบวมพองของผนังลำไส้และกระเพาะ เป็นไข้ ปวดท้อง ท้องร่วงและ/หรืออาเจียน

ตารางที่ 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของ *Yersinia enterocolitica*

อุณหภูมิสำหรับการเจริญ	
ต่ำสุด	- 1.3 °ซ
เหมาะสม	28 – 29 °ซ
สูงสุด	44 °ซ
การให้ ความร้อน	
D _{62.8} (น้ำนม)	0.7 - 17.8 วินาที และ 14 – 57 วินาที
pH	
ต่ำสุด	4.5
เหมาะสม	7.2 – 7.4
สูงสุด	9.0
โซเดียมคลอไรด์	
เจริญได้สูงสุด(3 และ 25 °ซ)	5%
โซเดียมไนไตรต์	
ปริมาณที่ยับยั้ง	200 ppm
ซอร์เบท	
ปริมาณที่ยับยั้ง	0.1 – 0.2 % ที่ pH 5.5

ที่มา : Walker & Stringer (1996)

ผลแตกต่างกันระหว่างนักวิจัยสองคณะ

Aeromonas hydrophila

Aeromonas sp. เป็นเชื้อโรคอาหารทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการเจ็บป่วยด้วยโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบในระหว่างปี พ.ศ. 2523 จุลินทรีย์ชนิดนี้มีอยู่ในหอยนางรมและกุ้งนาง และแยกได้จากอาหารแช่เย็นหลายๆ ชนิด มี 3 สายพันธุ์ที่จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค คือ *A. hydrophila* *A. sobria* และ *A. caviae*

Aeromonas hydrophila เป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบทั่วไปในน้ำจืด น้ำเค็ม น้ำที่ผ่านการบำบัด น้ำใช้ในครัวเรือน และโรงพยาบาล ทั้งนี้เป็นเพราะ *A. hydrophila* มีความสามารถในการปรับตัวได้ดี (Abulhamd,1994) จัดเป็นเชื้อก่อโรคที่อยู่ในน้ำ และมีคุณสมบัติต้านทาน

กรดได้ดี (Karem, Foster & Bej, 1994) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 28 องศาเซลเซียส แต่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิแช่เย็นและอุณหภูมิต่ำสุดที่ยังสามารถเจริญได้ คือ - 0.1 ถึง 1.2 องศาเซลเซียส เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความร้อน สามารถกำจัดด้วยการให้ความร้อน

การบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อน *A. hydrophila* จะทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างฉับพลัน เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เยื่อหูช่องท้อง ข้อต่อและกระดูก ภาวะพิษอาหารและลำไส้อักเสบ

Vibrio cholera

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง เคลื่อนที่โดยแฟลกเจลลา (ภาพที่ 2.9) อยู่ในสกุล *Vibrio* ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 2 - 3 % พบทั่วไปทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม และเขตน้ำกร่อยบริเวณปากแม่น้ำที่ติดทะเล และพบในอาหารทะเลจำพวก กุ้ง หอย ปู เป็นต้น สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในคน คือ *Vibrio cholerae* serogroup O (โอ) 1 และ O139

Vibrio cholerae สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ pH เป็นกลาง 7.5 มีชีวิตอยู่ได้ในสภาวะแช่เยือกแข็ง และเจริญได้ที่ pH 5 ถึง 9.6 เจริญได้ทั้งในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่ถ้ามีออกซิเจนเจริญได้ดีกว่า



ภาพที่ 2.9 ลักษณะของเชื้อ *Vibrio cholerae*

ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

เชื้อชนิดนี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเจริญที่ลำไส้เล็กและสร้างสารพิษเฉพาะในลำไส้ของคน สารพิษเรียกว่า Cholerae ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงอย่างแรง (อหิวาตกโรค) มีอาการถ่ายเป็นน้ำทันทีโดยไม่ปวดท้อง ลักษณะของอุจจาระมักจะมีสีขุ่นเหมือนน้ำขาวขาว นอกจากนี้ยังมีอาการอาเจียน ขาดน้ำและแร่ธาตุ พวกโซเดียม คลอไรด์ โพแทสเซียม อย่างรุนแรง ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันทั่วทั้งที่ จะทำให้หมดสติและอาจเสียชีวิตจากการขาดน้ำ และระบบไหลเวียนโลหิตล้มเหลว

โรคอหิวาต์หายไปจากโลกนานแล้ว แต่ได้อุบัติขึ้นใหม่ปี พ.ศ. 2535 – 2536 เกิดการระบาดครั้งใหญ่ในอินเดียและบังคลาเทศ ในปี พ.ศ. 2543 เกิดในเปรู ต่อมาในละตินอเมริกา โดยมีสาเหตุจากการบริโภคอาหารทะเลดิบหรือปรุงไม่สุก การปนเปื้อนของน้ำโสโครกลงในอาหารและในการเพาะปลูก และการระบาดในรัฐแมริแลนด์เกี่ยวข้องกับกรบริโภคน้ำมะพร้าว แซ่แข็งจากเอเชีย (KOCH et al, 1993)

Vibrio parahaemolyticus

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง (ภาพที่ 2.10) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน จัดอยู่ในกลุ่มฮาโลฟิลิกแบคทีเรีย ในการเจริญจะต้องมีเกลือโซเดียมคลอไรด์ เจริญและมีชีวิตอยู่ในน้ำเกลือที่มีโซเดียมคลอไรด์ 1 – 8 % ถ้ามากกว่า 10 % เชื้อจะตาย ความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 3 % (เท่ากับ A_w 0.980) pH ที่เจริญได้ 4.8 – 11 แต่ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 7.8 - 8 (Frazier & Westhoff, 1988) ไม่ทนกรด ถูกทำลายได้ด้วยกรดซิตริก pH 4.4 ในเวลาเพียง 30 นาที เจริญได้ที่อุณหภูมิในช่วง 5 – 43 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส จะเจริญได้อย่างรวดเร็ว แต่ที่อุณหภูมิต่ำ(0 – 5 องศาเซลเซียส) จำนวนเซลล์จะลดลงแต่ยังคงมีชีวิตอยู่ได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำ(0 – 5 องศาเซลเซียส) เช่น เนื้อปลา (1 – 15 องศาเซลเซียส) นาน 30 วัน กุ้งปอกเปลือก (3 – 18 องศาเซลเซียส) นาน 6 วัน หอยนางรมแช่แข็งนาน 40 – 130 วัน



ภาพที่ 2.10 ลักษณะของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

จุลินทรีย์ชนิดนี้ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 15 นาที โดยมี D - values น้อยกว่า 1 นาที ที่ 65 องศาเซลเซียส และ 2.5 นาที ที่ 55 องศาเซลเซียส ดังนั้นจุลินทรีย์ถูกทำลายได้อย่างสมบูรณ์โดยการหุงต้มให้อาหารสุก

จุลินทรีย์ชนิดนี้พบทั่วไปในน้ำทะเล สัตว์ทะเล ชายหาดริมทะเล แยกได้จากอาหารทะเล เช่น หอยนางรม กุ้ง ปลาหมึก ผลิตภัณฑ์ปลา และปูสีน้ำเงิน เป็นต้น

การระบาดเกิดจากการบริโภคอาหารทะเลดิบหรือให้ความร้อนไม่เพียงพอ หรือปนเปื้อนภายหลังการปรุงให้สุกแล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเก็บอาหารหลังปรุงไว้ที่อุณหภูมิสูง เชื้อจะเจริญและเพิ่มจำนวนได้เป็นเท่าตัวทุกๆ 10 ถึง 15 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเข้าสู่ร่างกายเชื้อจะทวีจำนวนขึ้นในลำไส้ ผลิตภัณฑ์ชนิดที่ให้ความร้อนเรียกว่า Thermostable direct hemolysin เมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปในปริมาณที่มากถึง $10^6 - 10^9$ เซลล์ต่อกรัม จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษภายในเวลา 10 ถึง 12 ชั่วโมง บางรายแสดงอาการภายใน 4 ถึง 96 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดหรือด่าง ภายในระบบทางเดินอาหาร โดยมีอาการปวดท้อง อาจปวดเกร็ง ท้องเดิน อุจจาระเป็นน้ำมีกลิ่นเหม็นเหมือนกุ้งเน่า บางรายกลายเป็นบิด อุจจาระมีมูกเลือด มีไข้ต่ำ ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน อาการที่เป็นอาจหายเองภายใน 2 ถึง 5 วัน อัตราตายต่ำ โรคนี้มักพบในฤดูร้อน ไม่ค่อยพบในฤดูหนาว (ศรียรรณา หัทยานานนท์, 2553)

โรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น (ค.ศ. 1950 หรือ พ.ศ. 2493) ในปัจจุบันจัดเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษพบในอเมริกา เอเชียรวมทั้งประเทศไทย มากกว่า 50 %

ยังไม่มีข้อกำหนดในด้านจำนวนของ *V. parahaemolyticus* ที่ปนเปื้อนในอาหาร แต่ถ้ามีในระดับ $10^2 - 10^3$ CFU/g เป็นปริมาณที่ยอมรับได้ แต่จาก US FDA guidelines จำนวนที่มากกว่า 10^4 CFU/gm. เป็นระดับที่ทำให้เกิดอาการได้

การป้องกันทำได้โดยรับประทานอาหารทะเลที่ทำให้สุกใหม่ๆ แยกอาหารสุกและดิบออกจากกัน ไม่วางปะปนกัน รวมทั้งแยกอุปกรณ์ในการประกอบอาหารหรือทำความสะอาด อุปกรณ์สำหรับอาหารทะเลก่อนนำไปใช้กับอาหารชนิดอื่น

Escherichia coli

Escherichia coli จัดอยู่ใน Family Enterobacteriaceae พบทั่วไปในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง (ภาพที่ 2.11) เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลา เจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ

E. coli มีอยู่มากมายหลายสายพันธุ์ ส่วนใหญ่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ เป็นดัชนีชี้สุขภาพในการประกอบอาหาร แต่ในปัจจุบันพบ *E. coli* หลายสายพันธุ์ที่สามารถ

ก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์และผลิตสารพิษ สามารถจำแนกตามความรุนแรงออกเป็น 5 กลุ่ม (สุเมธธา วัฒนสินธุ์, 2539) ดังนี้

1. Enteropathogenic *E. coli* เป็นชนิดที่ไม่สร้างเอนเทอโรทอกซิน ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในเด็ก
2. Enteroinvasive *E. coli* เป็นชนิดที่ไม่สร้างเอนเทอโรทอกซิน แต่จะทำลายเยื่อลำไส้ใหญ่ ทำให้มีอาการคล้ายเป็นบิด



ภาพที่ 2.11 ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : Sakunee Bovonsombut (2552)

3. Enterotoxigenic *E. coli* เป็นชนิดที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน สารพิษจะมีทั้งชนิดที่ทนความร้อนและไม่ทนความร้อน ทำให้เกิดอาการท้องร่วง

4. Enterohemorrhagic *E. coli* เป็นชนิดที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน คล้ายสารพิษของ *Shigellae* (เชื้อบิด) ได้แก่ *E. coli* O157:H7 (สายพันธุ์ที่มี O-antigen 157 และ H- antigen 7) ผลิตสารพิษที่เรียกว่า hemorrhagic colitis

5. *Facultatively enteropathogenic E. coli* พบในผู้ป่วยที่เป็นโรคท้องร่วงเรื้อรัง

ในทั้งห้ากลุ่มนี้ *E. coli* O157:H7 เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่รุนแรงและมีความสำคัญมากในปัจจุบัน *E. coli* O157:H7 พบทั่วไปในสัตว์ที่ให้น้ำนม เช่น โค กระบือ และผลิตภัณฑ์ เช่น นมและเนื้อ เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง 4 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงสามารถเจริญได้ในอาหารที่เก็บในตู้เย็น แต่จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และทนอุณหภูมิที่สูงถึง 55 องศาเซลเซียส แต่ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีค่าดี (D-value) ในเนื้อบดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เท่ากับ 45 วินาที นอกจากนี้ยังทนกรดและเกลือ พบจุลินทรีย์ชนิดนี้ในน้ำแอมเปิลที่เป็นกรด

อาหารที่มักปนเปื้อนจากแบคทีเรียตัวนี้ คือ ผลิตภัณฑ์นมและเนื้อ ซึ่งอาจปนเปื้อนในระหว่างการรีดนมหรือการฆ่าที่ไม่ถูกสุขลักษณะ อาหารที่ได้รับความร้อนไม่เพียงพอ เช่น เนื้อชิ้นใหญ่ทำให้สุกไม่ทั่วถึง รวมทั้งการปนเปื้อนภายหลังการปรุงอาหาร มักพบในแฮมเบอร์เกอร์ แชนด์วิช นมดิบ โยเกิร์ต น้ำแอปเปิล ผักและผลไม้สด

ถ้าได้รับเชื้อในปริมาณ $10^6 - 10^8$ เซลล์ จะเกิดอาการภายใน 6 - 36 ชั่วโมง อาการของโรค คือ ผู้ป่วยจะท้องเดิน ถ่ายอุจจาระมีเลือดปน ปวดท้อง และอาจตายได้ นอกจากนี้ยังอาจทำให้เกิดโรค hemolytic uremic syndrome คือ ถ่ายปัสสาวะมีเลือดปน เนื่องจากการทำงานของไตผิดปกติ ทำให้ไตวายเฉียบพลัน และยังสามารถทำลายระบบประสาทส่วนกลางด้วย (Mermelstein, 1993)

Campylobacter

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะเป็นแท่งโค้งเรียวยาว คล้ายเครื่องหมายจุลภาค (ภาพที่ 2.12) และเคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagella ซึ่งมีหลายเส้น เคลื่อนที่แบบเกลียวสว่าน เดิมอยู่ใน *Vibrio fetus* ปัจจุบันจัดอยู่ในสกุล *Campylobacter* family *Campylobacteraceae*



ภาพที่ 2.12 ลักษณะของเชื้อ *Campylobacter jejuni*

ที่มา : Sakunnee Bovonsombut (2552)

เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย ไม่ทนต่อสภาวะที่มีออกซิเจนสูง ต้องการสภาวะจำเพาะเจาะจงในการเจริญ คือ ออกซิเจน 3 ถึง 5% และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 ถึง 10 % เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 40 - 42 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดในการเจริญ 25 - 30 องศาเซลเซียส ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 45 - 50 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อที่อ่อนแอ ไม่ทนความร้อน ไม่ทนความเค็ม ความเป็นกรดสูง ($\text{pH} < 6.5$) (สุทธดิล ไซยชนิ และ ประพันธ์ศักดิ์)

ฉวีราช, 2553) การทำแห้งและสารที่ใช้ฆ่าเชื้อโรค นอกจากนี้ยังไม่สามารถจะใช้คาร์โบไฮเดรต และน้ำตาลได้ ทำให้ไม่สามารถเจริญแข่งกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

Campylobacter ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในมนุษย์มี 2 ชนิด คือ *Campylobacter jejuni* และ *Campylobacter coli* เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันที่พบบ่อย โดยเฉพาะในประเทศที่พัฒนาแล้ว พบมากกว่า *Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. (BBB - *Campylobacter jejuni*) เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบการติดเชื้อ *Campylobacter* สูงถึง 1,000 คน ต่อประชากร 100,000 คน ส่วนใหญ่เกิดจาก *C. jejuni*

C. jejuni/coli มักพบในลำไส้เล็กของสัตว์เลื้อยคู้ที่มีสุขภาพสมบูรณ์ทั้งหมู วัว แกะ และสัตว์ปีก เช่น ไก่ ไก่วง รวมทั้งลำไส้เล็กของคนที่มีสุขภาพแข็งแรง นอกจากนี้ยังพบในแมลง แหล่งน้ำ และบ่อน้ำธรรมชาติที่ไม่มีคลอรีน

อาหารที่พบ *C. jejuni/coli* ปนเปื้อนอยู่มาก คือ เนื้อสดประเภทเนื้อหมู เนื้อไก่ เครื่องในไก่ และเนื้อสัตว์ที่ทำให้สุกไม่ทั่วถึง แฮมเบอร์เกอร์ดิบ นำนมดิบและผลิตภัณฑ์นม ไอซิ่งเค้ก และน้ำ แต่เป็นที่ทราบกันแล้วว่าเชื้อนี้ต้องการสภาวะจำเพาะเจาะจงในการเจริญ ดังนั้นแม้จะพบยังคงรอดชีวิตในอาหารแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาหลายสัปดาห์และแช่เยือกแข็งหลายเดือน แต่ก็ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ เช่น พบเชื้อยังคงมีชีวิตอยู่ในนํานม และน้ำดื่มที่เก็บในตู้เย็นหลายสัปดาห์แต่ไม่เพิ่มจำนวน

อาหารที่เป็นพาหะให้มีการแพร่กระจายของ *Campylobacter* คือ ไก่ เนื่องจากไก่มีเชื้อ *C.jejuni* และ *C. coli* อยู่แล้วในอุจจาระ (Jacops-Reisma, et.al., 1995) ดังนั้นการปนเปื้อนจึงมีโอกาสเป็นไปได้สูงในระหว่างกระบวนการฆ่าและชำแหละ จากการสัมผัสกับสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ (พัชรา เผือกเทศ และพรเพ็ญ พัฒนโสภณ, 2553) ในน้ำหรือของเหลวจากสัตว์ปีกเพียง 1 หยด มีจำนวนเซลล์ 500 เซลล์ ก็สามารถทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้ แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าปริมาณที่ทำให้เกิดโรคจะน้อยและมีเชื้ออยู่อย่างชุกชุม การเกิดโรคที่รุนแรงมีการรายงานว่าเกิดจากการบริโภคนํานมที่มีการปนเปื้อนและการใช้น้ำที่ไม่ได้บำบัดด้วยคลอรีน (MMWR, 2009)

การบริโภคอาหารที่มีจุลินทรีย์ชนิดนี้ปนเปื้อน ทำให้เกิดโรค campylobacteriosis โดยมีอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน บางสายพันธุ์จะผลิตสารพิษที่ทนความร้อน ผู้ป่วยจะมีอาการท้องร่วงเฉียบพลัน มีอาการไข้ คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเป็นน้ำ และมีมูกเลือด อาการป่วยจะเกิดขึ้นภายใน 2 – 5 วัน หลังได้รับเชื้อ แต่บางครั้งอาจใช้เวลานาน 7 – 10 วัน และในบางกรณี *Campylobacter* เข้าสู่กระแสเลือดและทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ อาจพบภาวะอาการทางระบบประสาทของโรคในกลุ่มอาการ Guillain-Barré syndrome (GBS)

2.4 เชื้อรา (Mould) ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

เชื้อราบางชนิดเมื่อเจริญจะผลิตสารพิษ สารพิษจากเชื้อรา เรียก ไมโครทอกซิน (Mycotoxin) เชื้อราสายพันธุ์ที่สำคัญที่ผลิตสารพิษ คือ *Penicillium sp.* และ *Aspergillus sp.* สารพิษจากเชื้อราได้แก่ Aflatoxin Patulin Ochratoxin A Luteoskyrin Sterigmatocystin Penicillic acid และ Alimentary toxic aleukia (ATA)

แหล่งอาหารที่พบสารพิษเหล่านี้ปนเปื้อน ได้แก่ เมล็ดธัญชาติ ข้าวโพด ข้าวโอต ข้าวบาร์เลย์ ถั่วเมล็ดแห้ง ถั่วลิสง เมล็ดโกโก้ กาแฟ ผลไม้อบแห้ง พริกป่น รวมทั้งผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ น้ำผลไม้ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น แยม เบคอน เนื่องจากสัตว์กินธัญชาติที่มีเชื้อราเจริญและผลิตสารพิษเข้าไป จึงทำให้สารพิษเหล่านี้ไปสะสมอยู่ในอวัยวะต่างๆ ของสัตว์

สภาวะที่เหมาะสมที่เชื้อราจะเจริญ คือ อุณหภูมิ 25 – 40 องศาเซลเซียส และ a_w เท่ากับ 0.85 พิษของสารพิษเหล่านี้เป็นสาเหตุให้ได้อักเสบ เกิดการติดเชื้อของไต นำไปสู่การเกิดเนื้องอกในต่อมไต และตับในที่สุด

สารพิษที่รู้จักกันดี คือ แอลฟาทอกซินเกิดจาก *Aspergillus flavus* *A. parasiticus.* และ *Penicillium* บางสายพันธุ์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้กำหนดไว้ว่า อาหารจะมีแอลฟาทอกซินอยู่ได้ไม่เกิน 15 ppb (part per billion)

โอคราทอกซิน (Ochratoxin) เป็นสารพิษที่พบในเมล็ดธัญชาติแถบแอฟริกาใต้ เป็นสารพิษที่ผลิตขึ้นโดยเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Aspergillus ochraceus* และ *Penicillium viridicatum*

Codex ได้กำหนดปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ โอคราทอกซิน เอ ปนเปื้อนในธัญชาติ และผลิตภัณฑ์ธัญชาติได้ไม่เกิน 5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม

พาทุลิน (Patulin) เป็นสารพิษที่ผลิตขึ้นโดย *Penicillium expansum* พบในแอปเปิลที่เน่าเสีย พาทุลินเดิมเป็นสารปฏิชีวนะที่ความเข้มข้นเพียงร้อยละ 0.1 สามารถยับยั้งการเจริญของ *E.coli* และ *S.aureus* ได้ แต่ในขณะเดียวกันการได้รับพาทุลินก็ก่อให้เกิดอันตราย เช่น การให้พาทุลินกับหนูทดลองที่ความเข้มข้น 0.3 - 2.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักตัว ทำให้หนูตายโดยเกิดอาการสมองบวม ปอดมีเลือดออก เส้นเลือดฝอยในตับ ม้าม ไตแตก ถ้าใช้ความเข้มข้นต่ำกว่านี้จะเกิดโรคมะเร็งในหนู พาทุลินเป็นสารพิษที่ทนความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ได้โดยไม่สลายตัว

2.5 ไวรัส (Virus) ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก ประมาณ 10 – 450 นาโนเมตร จะเจริญและเพิ่มจำนวนได้ต่อเมื่อมีโฮสต์เท่านั้น ไวรัสก่อให้เกิดโรคได้โดยมีอาหารเป็นสื่อ เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นอาหารที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมจะเป็นตัวกลางที่ดีสำหรับไวรัสในการแพร่กระจายและก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์

ไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคปากและเท้าเปื่อยในโค กระบือ โรคนิวคลาสเซิลและโรคซาร์ ใช้หวัดนกจากสัตว์ปีกอาจติดต่อมาสู่มนุษย์ได้ นอกจากนี้ยังมีโรคติดต่อทางอาหารที่เกิดจากไวรัส ได้แก่ สมองอ๊กเสบ โรคตับอ๊กเสบ โรคโปลิโอ โรคหัด คางทูม และดีซ่าน เป็นต้น

สรุป เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ

ชนิดจุลินทรีย์	ปริมาณปลอดภัย
Total Plate Count	น้อยกว่า 1,000,000 ต่อ กรัม
MPN Coliforms	น้อยกว่า 500 ต่อ กรัม
MPN <i>E. coli</i>	น้อยกว่า 3 ต่อ กรัม
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบ ต่อ 0.1 กรัม
<i>Salmolnella</i>	ไม่พบ ต่อ 25 กรัม
<i>V. parahaemolyticus</i>	ไม่พบ ต่อ 25 กรัม
<i>V. cholera</i>	ไม่พบ ต่อ 25 กรัม
<i>Bacillus cereus</i>	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
<i>Clostridium perfringens</i>	ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม
<i>Listeria monocytogenes</i>	ไม่พบใน 25 กรัม
<i>Enterobacter sakazakii</i>	ไม่พบใน 10 กรัม