



สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

รายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร

ฉบับสมบูรณ์

รหัสโครงการ POP6305021150

การวิเคราะห์และจัดการความเสี่ยงจุลินทรีย์อาหารริมบาทวิถี

ปลา ซาซิมิ และผลิตภัณฑ์สุกร

(Microbial risk analysis and management of street food,

fish, sashimi, and pork products)

โดย

รศ.น.สพ.ดร.ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ และคณะ

พฤศจิกายน 2564

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

คณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่เล็งเห็นความสำคัญในการยกระดับความปลอดภัยอาหารในหลายด้าน เช่น ผลผลิตสัตว์ปศุสัตว์ ผลผลิตประมง และอาหารริมบาทวิถี ผ่านการสนับสนุนงบประมาณดำเนินการโครงการวิเคราะห์และจัดการความเสี่ยงจุลินทรีย์อาหารริมบาทวิถี ปลาซาซิมิ และผลิตภัณฑ์สุกร

บทสรุปผู้บริหาร (Executive Summary)

การวิเคราะห์ความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยงจุลินทรีย์อาหารริมบาทวิถี ปลา ซาซิมิ และผลิตภัณฑ์สุกร ดำเนินการด้วย 3 โครงการย่อย คือ

โครงการย่อยที่ 1 : การพัฒนาเทคนิค MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยและประเมินความเสี่ยงโรคใช้หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อน *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรค

ดำเนินการการพัฒนา Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ในการวินิจฉัยแยก *Streptococcus suis* (*S.suis*) ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค จำนวน 33 serotypes (1-20, 22-32, 34 และ ½) ซึ่งสามารถใช้ในการตรวจระบุซีโรไทป์ของ *S.suis* ได้ อย่างถูกต้อง ทำให้สามารถแก้ปัญหาการซ้ำซ้อนของ *S. suis* ซีโรไทป์ 1, 2, 14 และ ½ จากการใช้วิธีการดั้งเดิมที่ยังใช้กันอยู่ในปัจจุบัน คือ วิธี serotyping และ วิธี multiplex PCR ได้ ผ่านการสกัดโปรตีนผิวเซลล์ *S. suis* (protein extraction) ด้วยสารละลายอินทรีย์ผสม acetonitrile และ Trifluoroacetic acid ด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะให้ mass spectrum ที่ดีที่สุดเมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS ดำเนินการเข้าจนกระทั่งได้ Database ของ peptide mass fingerprints (PMFs) ของ *S. suis* ทุกซีโรไทป์ เพื่อใช้ในการแยกซีโรไทป์ของ *S. suis* (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ซีโรไทป์ที่ก่อโรคได้) ในการประเมินความเสี่ยงลำดับต่อไป

การประเมินความเสี่ยง *S. suis* 4 ขั้นตอน ประกอบด้วย

1. การระบุอันตราย (hazard identification) โรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สายพันธุ์ก่อโรคในมนุษย์ คือ serotype 2 เป็นโรคสัตว์สู่คน (zoonotic disease) ที่เกิดจากการสัมผัสกับสุกรที่มีแบคทีเรียนี้อยู่โดยผ่านบาดแผลที่ผิวหนัง ดังนั้น ผู้ที่ต้องทำงานคลุกคลีหรือสัมผัสกับตัวสุกรโดยตรงในระดับฟาร์มและโรงเชือด เช่น สัตวแพทย์ สัตวบาล ผู้เลี้ยงสุกร ผู้ที่ทำงานในโรงเชือด จึงมีความเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายได้ นอกจากนี้อุบัติการณ์ส่วนมากของโรคติดเชื้อนี้เกิดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร เช่น เนื้อหรือเลือดสุกรไม่สุกด้วย (foodborne disease) โดยผู้ป่วยจะมีกลุ่มอาการเฉพาะ คือ มีไข้ ร่วมกับ ปวดเมื่อยปวดตึงกล้ามเนื้อ (myalgia) ปวดศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลว การรู้สึกตัวเปลี่ยนไป สมองอักเสบ คอแข็ง หูหนวก เลือดออกใต้ผิวหนัง (ecchymosis) ชักและปวดข้อ

2. การอธิบายอันตราย (hazard characterization) พิจารณาจาก 3 ปัจจัยหลัก คือ จุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) ร่างกาย (Host) และ สื่อบริโภค (Food matrix) ได้ dose-response model สำหรับ *S. suis* ซีโรไทป์ก่อโรค ชนิด Log-logistic ซึ่งมีพารามิเตอร์ q_1 และ q_2 เท่ากับ 21.99 และ 2.87 ตามลำดับ ใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness: P_I) จากการบริโภคเนื้อสุกรเย็น เนื้อสุกรอุ่น อวัยวะภายใน ทั้ง 3 ฤดูกาล เท่ากับ 8.6×10^{-47} , 8.6×10^{-47} และ 1.3×10^{-51} ตามลำดับ

3. การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) แม้ไม่พบการปนเปื้อน *S. suis* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล (ยกเว้น 2 ตัวอย่างเลือด) อย่างไรก็ตาม คำนวณความชุกเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic prevalence) ของ *S. suis* ได้ร้อยละ 8.3 ความเข้มข้น (concentration) 0.004 g^{-1} ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food consumption data of Thailand) โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 รายงานค่าเฉลี่ยการบริโภคเนื้อสุกร และตับสุกร (อวัยวะภายใน) ของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไปเท่ากับ 14.12 กรัม/คน/วัน และ 1.09 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ นำมาคำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure : P_E) *S. suis* จากการบริโภคเนื้อสุกรเย็น เนื้อสุกรอุ่น อวัยวะภายใน ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล เท่ากับ 4.6×10^{-3} , 4.6×10^{-3} และ 3.6×10^{-4} ตามลำดับ

4. การอธิบายความเสี่ยง (risk characterization) ได้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (annual risk estimate) จาก *S. suis* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคเนื้อสุกรเย็น เนื้อสุกรอุ่น อวัยวะภายใน อยู่ในระดับละเลยได้ (negligible) เท่ากับ 1.4×10^{-46} , 1.4×10^{-46} และ 1.8×10^{-52} ตามลำดับ นำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 ได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค พิสัยของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก *S. suis* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคเนื้อสุกร และ อวัยวะภายใน อยู่ในช่วง $1.4 \times 10^{-46} - 8.0 \times 10^{-46}$ และ $1.9 \times 10^{-53} - 1.1 \times 10^{-51}$ ตามลำดับ

โครงการย่อยที่ 2 : การกำหนดค่า Microbiological limit ของ *Salmonella* spp. ที่ดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและชาซิมิโดยการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ

การประเมินความเสี่ยง susceptible *Salmonella* (ไม่ดื้อยาต้านจุลชีพ) และ antimicrobial resistant (AMR) *Salmonella* (ดื้อยาต้านจุลชีพ) ในปลาและชาซิมิ 4 ขั้นตอน ประกอบด้วย

1. การระบุอันตราย (hazard identification) แซลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) เป็น genus หนึ่งของแบคทีเรียใน family *Enterobacteriaceae* มีรูปร่างลักษณะเป็นแท่ง (rod shape) ขนาดประมาณ 0.7-1.5 ไมครอน (um) × 2-5 ไมครอน ติดสีแกรมลบ (gram negative) ส่วนมากเคลื่อนไหวได้ (motile) เจริญเติบโตได้

ในที่มีหรือไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) แซลโมเนลลาจะเริ่มถูกทำลายที่อุณหภูมิ 70°C แต่สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 8-45 องศาเซลเซียส pH 6.5-7.5 water activity ไม่ต่ำกว่า 0.93 โรคที่เกิดจาก *Salmonella* แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ Enteric fever ซึ่งเป็นโรคที่เกิดขึ้นเฉพาะในคน และ Intestinal salmonellosis เป็นโรคอาหารเป็นพิษทำให้เกิดอาการทางระบบทางเดินอาหาร คนและสัตว์สามารถเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย (habitat) ของ *Salmonella* ได้

2. การอธิบายอันตราย (hazard characterization) ความน่าจะเป็นการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษาคำนวณจาก 3 เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและเป็นอิสระต่อกัน (independent) กล่าวคือ อัตราการเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล (Hospitalization) เท่ากับ 0.0262 อัตราการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษา (Prescription) เท่ากับ 0.3375 และ ค่าเฉลี่ยอัตราการเสียชีวิต (mean mortality) จาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* คือ 0.0013 และ 0.0175 ตามลำดับ ได้ผลคูณสำหรับ susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* คือ 1.15×10^{-5} และ 1.55×10^{-4} ตามลำดับ ควบคู่กับ dose-response model สำหรับความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness: P_I) ของ *Salmonella* ชนิด Beta-Poisson ซึ่งมีพารามิเตอร์ alpha และ beta เท่ากับ 0.1324 และ 51.45 ตามลำดับ พบว่า พิสัยของความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาและซาซิมิ เท่ากับ 8.6×10^{-10} - 3.4×10^{-9} และ 2.1×10^{-10} - 5.6×10^{-6} ตามลำดับ ในขณะที่พิสัยของความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (P_{IM}) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาและซาซิมิ เท่ากับ 1.2×10^{-8} - 7.5×10^{-5} และ 2.8×10^{-9} - 7.5×10^{-5} ตามลำดับ

3. การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) พบการปนเปื้อน AMR *Salmonella* เฉพาะในฤดูกาล 3 จังหวัดขอนแก่น 1 ตัวอย่างปลาบริโภคสุก (1/19) และ 2 ตัวอย่างซาซิมิ (2/8) จังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่างซาซิมิ (1/8) คำนวณความชุกเชิงความน่าจะเป็นของ AMR *Salmonella* ในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ อยู่ในช่วง ร้อยละ 4.8-9.5 และ ร้อยละ 10-30 ตามลำดับ ความเข้มข้น (concentration) ช่วง 0.001-0.005 g^{-1} และ 0.003-3,750 g^{-1} ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทยโดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 รายงานค่าเฉลี่ยและ ค่า 97.5 percentile ของสัตว์น้ำจืดและผลิตภัณฑ์อยู่หลายชนิด ในการศึกษาครั้งนี้คัดเลือกปลาน้ำจืดที่มีการบริโภคแบบสุกปริมาณมากที่สุด คือ ปลาน้ำจืดลำตัวแบนมีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาทับทิม ของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 11.35 กรัม/คน/วัน และ 57.14 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยปริมาณการบริโภคซาซิมิประมาณร้อยละ 10 ของปริมาณการบริโภคปลาบริโภคสุก เท่ากับ 1.135 กรัม/คน/วัน นำมาคำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure : P_E) AMR

Salmonella จากการบริโภคลาบรีโกลคัสและซาลโมเนลลา ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วง $1.4 \times 10^{-3} - 1.0 \times 10^{-2}$ และ $6.9 \times 10^{-4} - 3.0 \times 10^{-1}$ ตามลำดับ

4. การอธิบายความเสี่ยง (risk characterization) ได้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคลาบรีโกลคัสและซาลโมเนลลา อยู่ในช่วง $4.3 \times 10^{-10} - 1.3 \times 10^{-8}$ (Negligible) และ $5.2 \times 10^{-11} - 2.0 \times 10^{-4}$ (Negligible to Extremely low risk) ตามลำดับ ในขณะที่ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคลาบรีโกลคัสและซาลโมเนลลา อยู่ในช่วง $5.8 \times 10^{-9} - 1.7 \times 10^{-7}$ (Negligible) และ $7.0 \times 10^{-10} - 2.7 \times 10^{-3}$ (Negligible to Low) ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 ได้การแจกแจงค่าน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค พิสัยของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก susceptible *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคลาบรีโกลคัสและซาลโมเนลลา อยู่ในช่วง $1.8 \times 10^{-10} - 1.0 \times 10^{-8}$ และ $2.2 \times 10^{-11} - 1.3 \times 10^{-9}$ ตามลำดับ ในขณะที่พิสัยของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก AMR *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคลาบรีโกลคัสและซาลโมเนลลา อยู่ในช่วง $2.9 \times 10^{-9} - 1.6 \times 10^{-7}$ และ $2.7 \times 10^{-10} - 1.5 \times 10^{-8}$ ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) ของปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ต่อ Annual non-AMR risk estimate ของ susceptible *Salmonella* และ Annual AMR risk estimate ของ AMR *Salmonella* บลาบรีโกลคัสและซาลโมเนลลา พบว่า ค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์มากกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ โดยเรียงค่าความชันถดถอยจากสูงไปต่ำ คือ ความชุก ความเข้มข้น และการบริโภค ดังนั้นการจัดการความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella* ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ การลดความชุกหรือสัดส่วนตัวอย่าง AMR *Salmonella*

ผลการวิเคราะห์สถานการณ์ (scenario analysis) ในการหาความเข้มข้น *Salmonella* ที่เหมาะสม ที่ทำให้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* อยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk) $< 10^{-6}$ อนึ่งจากผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) โดยวิธี regression ในหัวข้อที่ผ่านมา พบว่า ความเข้มข้นทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* เป็นปัจจัยเสี่ยง (risk factor) หรือมีอิทธิพลสูงต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปีทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* โดยที่ *Salmonella* spp เป็นอันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard) กลุ่มอันตรายรุนแรง (serious hazard) และ อันตรายถึงชีวิต (severe hazard) แผนการชกตัวอย่างที่

เหมาะสมหรือสอดคล้อง คือ แผนการชักตัวอย่างแบบ 2 ชั้น (two-class sampling plan) กำหนด microbiological limit (m) ให้สอดคล้องกับปริมาณที่กำหนดสำหรับ *Salmonella* spp. ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 คือ ตรวจไม่พบใน 25 กรัม (not detected in 25 g.)

ค่า microbiological limit และแผนการชักตัวอย่าง (sampling plan) ปลาและซาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk) $< 10^{-6}$ คือ ชัก 7 ตัวอย่างปลาบริโภคสุก หรือ ชัก 3 ตัวอย่างซาซิมิ โดยทุกตัวอย่างต้องตรวจไม่พบ susceptible *Salmonella* ใน 25 กรัม ($n = 7, c = 0$ หรือ $n = 3, c = 0$) และ ชัก 14 ตัวอย่างปลาบริโภคสุก หรือ ชัก 5 ตัวอย่างซาซิมิ โดยทุกตัวอย่างต้องตรวจไม่พบ AMR *Salmonella* ใน 25 กรัม ($n = 14, c = 0$ หรือ $n = 5, c = 0$) อย่างไรก็ตามหากอนุโลมให้มี 1 ตัวอย่างที่ไม่ผ่านค่า microbiological limit (m) หรือ $c = 1$ ต้องชดเชยกับจำนวนชักตัวอย่าง (n) ที่เพิ่มมากขึ้น เกือบ 2 เท่าตัว เช่น กรณีปลาบริโภคสุก $n = 7, c = 0$ เป็น $n = 13, c = 1$ เป็นต้น

โครงการย่อยที่ 3 : การประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยงอาหารริมบาทวิถีที่จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

การประเมินความเสี่ยง *E.coli* (EC), *Salmonella* (SE), *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) ในอาหารริมบาทวิถี 4 ขั้นตอน ประกอบด้วย

1. การระบุอันตราย (hazard identification)

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ family *Enterobacteriaceae* พบได้ในลำไส้เด็ก ผู้ใหญ่ สัตว์เลื้อยคืบเกือบทุกชนิด *E.coli* เฉพาะบางกลุ่มเท่านั้นที่ก่อโรคได้ (pathogenic) หรือ *E.coli* ชนิดที่ไม่คุ้นเคย หรือ *E.coli* ที่สร้างสารพิษได้ จนก่อให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษทั่วโลก จึงได้มีการแบ่งกลุ่ม *E.coli* ที่ก่อโรค (diarrhoeagenic strains) ออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่ม Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) และ กลุ่ม Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea) กลุ่ม Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) และกลุ่ม Vero-cytotoxigenic *E.coli* (VTEC) ซึ่งรวมเอา Enterohemolytic *E.coli* (EHEC) ด้วย ทำให้เกิดอาการที่รุนแรงกว่า คือ อาการถ่ายเหลวปนเลือด (bloody diarrhoea) และก่อโรคในระบบปัสสาวะ (hemolytic uremic syndrome : HUS) และระบบประสาทด้วย นอกจากนี้ยังมี *E.coli* อุบัติใหม่ (newly emerging) อีก 2 กลุ่ม ซึ่งพบว่่าก่อโรคได้ แต่ยังไม่สามารถระบุสารพิษที่ก่อให้เกิดโรคหรืออาหารที่เกี่ยวข้องได้อย่างชัดเจน คือ กลุ่ม Diffuse-adhering *E.coli* (DAEC) และ กลุ่ม Enteroaggregative *E.coli* (EAEC)

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม โดยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น พบได้ทั่วไปในอากาศและบนผิวหนัง เช่น บริเวณใบหน้า ใบหู มือ ดังนั้น อาหารที่ใช้มือในการเตรียมจะมีโอกาสที่จะพบเชื้อนี้ได้ *S.aureus* เพิ่มจำนวนได้ในอาหารที่มี a_w ต่ำ ประมาณ 0.85 เช่น อาหารเค็ม เป็นต้น ในระหว่างกระบวนการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน *S.aureus* จะหลั่งน้ำย่อย(enzyme) เพื่อใช้ย่อยโมเลกุลอาหารให้เล็กลง และน้ำย่อยนี้เองที่เป็นสารพิษ หรือ enterotoxin ทำให้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษชนิด การรับพิษผ่านอาหาร (foodborne intoxication) ข้อเหมือนและข้อแตกต่างของ *S.aureus* กับจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ คือ กลุ่มแบคทีเรียลำไส้ (enteric family) และแบคทีเรียสร้างสปอร์ (spore-forming bacteria) โดยที่ลักษณะร่วมกับกลุ่มแบคทีเรียลำไส้ คือ มีความสัมพันธ์โดยตรงกับร่างกายคนและสัตว์ แต่พบ *S.aureus* ที่ผิวหนังไม่ใช่ในลำไส้ ลักษณะร่วมกับแบคทีเรียสร้างสปอร์ คือ สร้าง extracellular enzyme(protein) ซึ่งเป็นพิษต่อมนุษย์ แต่ *S. aureus* ไม่สร้างสปอร์ ดังนั้น จึงไม่อยู่รอดจากการปรุงอาหาร นอกจากโรคอาหารเป็นพิษแล้ว *S. aureus* ยังเป็น เป็นสาเหตุของการติดเชื้อหนองของแผลที่ผิวหนังและ กลุ่มอาการ toxic shock syndrome ด้วย

Vibrio cholerae ชนิดที่มีรายงานการระบาด เช่น serogroup O1 classical Biotype และ El Tor Biotype พบได้ในน้ำทะเลชายฝั่ง(coastal water) serotype ส่วนใหญ่ก่อโรคได้ (virulent) โดยบาง serotype อาจจะก่อโรครุนแรงกว่า เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการรายงาน El Tor *V.cholerae* O1 ที่มี *ctxB^C* trait เรียกว่า El Tor variant และ hybrid *V.cholerae* O1 (mix biotypes) ในประเทศไทยด้วย อย่างไรก็ตาม ยังไม่ชัดเจนว่าทำไมการที่พบจุลินทรีย์นี้อยู่ได้บ่อยแต่กลับพบการระบาด (epidemic) น้อยครั้งมาก อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด เช่น ปลาดิบ หอยดิบ ปู กุ้ง ผักดิบ น้ำ โรคที่เกิดจาก *Vibrio cholerae* คือ อหิวาตกโรค เป็นรูปแบบอาการที่รุนแรงที่สุดของ gastroenteritis แบคทีเรียผ่านเข้าไปเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในลำไส้ตามด้วยการสร้าง enterotoxin ซึ่งจะผ่านเข้าไปในเซลล์ลำไส้ (enterocyte) enterotoxin จะไปรบกวนลำดับขั้นตอนปฏิกิริยาการควบคุมสมดุลประจุ(ion) และน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ลำไส้ที่ได้รับ enterotoxin เข้าไปจะมีการสร้าง cyclic AMP มากเกินไป โดยที่ cyclic AMP ทำหน้าที่กระตุ้นการขับ(release) เกลือแร่(electrolyte) ออกจากเซลล์ ตามหลักความดันออสโมติก(osmotic pressure) แล้ว เมื่อมีการเสียเกลือแร่ออกจากเซลล์ก็จะมีการขับน้ำตามออกมาจากเซลล์ด้วย ทำให้มีอาการถ่ายเหลว (diarrhea)

2. การอธิบายอันตราย (hazard characterization) พิจารณา 3 ปัจจัยหลัก คือ จุลินทรีย์ก่อโรค ร่างกาย และ สื่อบริโภคน ได้ dose-response model ของ *E.coli* (EC), *Salmonella* (SE) ชนิด beta-Poisson ค่าพารามิเตอร์ alpha คู่กับ beta เท่ากับ 0.16 คู่กับ 24,400 และ 0.1324 คู่กับ 51.45 ตามลำดับ dose-response model ของ *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) ชนิด exponential มี

พารามิเตอร์ r เท่ากับ 7.64×10^{-12} และ 1.76×10^{-9} ตามลำดับ ใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness: P_i) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ทั้ง 3 ฤดูกาล ที่ปนเปื้อน EC, SE, SA, และ VC อยู่ในช่วง $9.7 \times 10^{-7} - 1.5 \times 10^{-5}$, $3.8 \times 10^{-4} - 5.9 \times 10^{-3}$, $1.1 \times 10^{-12} - 2.0 \times 10^{-11}$ และ 5.2×10^{-10} ตามลำดับ

3. การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) ไม่พบการปนเปื้อน VC ในตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค (อย่างน้อย 1 ชนิด) ใน 6 ตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี (6/210) 1 ตัวอย่างพื้นผิวสัมผัสหรือ swab (1/70) ในฤดูกาล 1 พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคใน 13 ตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี (13/210) 2 ตัวอย่างพื้นผิวสัมผัส (2/70) ในฤดูกาล 2 และ พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค 6 ตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี (6/210) 1 ตัวอย่างพื้นผิวสัมผัส (1/70) ในฤดูกาล 3 ค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีและพื้นผิวสัมผัส (swab) ร้อยละ 9.0 (38/420) และ 2.4 (5/210) ตามลำดับ คำนวณความชุกเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic prevalence) EC, SE, SA, และ VC 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วงร้อยละ 2.4-18.2, ร้อยละ 2.4-36.4, ร้อยละ 2.4-40.9, และ ร้อยละ 2.4-4.5 ตามลำดับ ความเข้มข้น (concentration) ของ EC, SE, SA, และ VC 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วง $0.001-0.004 \text{ g}^{-1}$, $0.001-0.016 \text{ g}^{-1}$, $0.001-0.018 \text{ g}^{-1}$, และ $0.001-0.002 \text{ g}^{-1}$ ตามลำดับ ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food consumption data of Thailand) โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 ไม่มีรายงานการบริโภคอาหารริมบาทวิถี อย่างไรก็ตาม ได้เลือกใช้อัตราจากค่าเฉลี่ยฟาสต์ฟู้ดส์แบบตะวันตกของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 123.78 กรัม/คน/วัน และ 97.5 percentile 194 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ คำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure : P_e) EC, SE, SA, และ VC จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วง $3.3 \times 10^{-3} - 3.3 \times 10^{-1}$, $3.3 \times 10^{-3} - 3.3 \times 10^{-1}$, $3.3 \times 10^{-3} - 3.8 \times 10^{-1}$, และ $3.3 \times 10^{-3} - 1.2 \times 10^{-2}$ ตามลำดับ

4. การอธิบายความเสี่ยง (risk characterization) ได้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (annual risk estimate) จาก EC, SE, SA, และ VC ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี อยู่ในช่วง $1.1 \times 10^{-6} - 1.9 \times 10^{-3}$ (Extremely low to Very low), $4.5 \times 10^{-4} - 4.1 \times 10^{-1}$ (Extremely low to Low), $1.3 \times 10^{-12} - 2.8 \times 10^{-9}$ (Negligible), และ $3.1 \times 10^{-10} - 2.2 \times 10^{-9}$ (Negligible) ตามลำดับ นำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 ได้การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค พิสัยของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก EC, SE, SA, และ VC จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี จังหวัดกรุงเทพฯ อยู่ในช่วง $1.7 \times 10^{-7} - 9.7 \times 10^{-6}$, $7.1 \times 10^{-5} - 4.0 \times 10^{-3}$, $2.1 \times 10^{-13} - 1.2 \times 10^{-11}$, และ $4.5 \times 10^{-11} - 2.5 \times 10^{-9}$ ในขณะที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อยู่ในช่วง $9.6 \times 10^{-7} - 5.5 \times 10^{-5}$, $3.5 \times 10^{-4} - 2.0 \times 10^{-2}$, $9.5 \times 10^{-13} - 5.7 \times 10^{-11}$, และ $3.4 \times 10^{-10} - 1.9 \times 10^{-8}$ ตามลำดับ

ผลศึกษาความสัมพันธ์สุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab) มีพิสัยที่กว้างมาก ระหว่าง ร้อยละ -7.1 ถึง ร้อยละ +29.2 หมายความว่า การปนเปื้อนอาหารและพื้นผิวสัมผัสมีความสอดคล้องไปในทางเดียวกันสูงสุด (Food ปนเปื้อน พร้อมกับ Swab ปนเปื้อน หรือ Food ไม่ปนเปื้อน พร้อมกับ Swab ไม่ปนเปื้อน) ร้อยละ 29.2 และในทางตรงกันข้าม การปนเปื้อนอาหารและพื้นผิวสัมผัสสวนทางกันสูงสุด (Food ปนเปื้อน แต่ Swab ไม่ปนเปื้อน หรือ Food ไม่ปนเปื้อน แต่ Swab ปนเปื้อน) เพียงร้อยละ 7.1 เท่านั้น

ผลการศึกษการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) เพื่อหาปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ของการปนเปื้อน EC, SE, SA, และ VC ในอาหารริมบาทวิถี พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ที่สูงที่สุด (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual risk estimate โดยวิธี correlation คือ ความชุก (prevalence) ดังนั้น ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่กำหนดการปนเปื้อนตามมาด้วยความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) คือ ความชุก (prevalence) ซึ่งมีความสอดคล้องหรือสัมพันธ์กับ สุขลักษณะผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี, สุขลักษณะสถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถี, สุขลักษณะของพื้นที่บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี, สุขลักษณะการเตรียม/การเก็บรักษาอาหารริมบาทวิถี

ผลการดำเนินการระบบสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถีสู่ผู้บริโภคโดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ ได้ศึกษา platform การนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital ที่เหมาะสม การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital การจัดการข้อมูลวิจัยสารสนเทศ (Research information management) และ การจัดการระบบระบุพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Identification system) นำเสนอในรูปแบบของ Mobile Applications ทั้งระบบ Android และ iOS ที่สามารถ scan QR codes ประจำพื้นที่เก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวหลักใน 6 ภาคทั่วประเทศ คือ กรุงเทพฯ ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี ขอนแก่น ภูเก็ต และ เชียงใหม่ โดยข้อมูลสารสนเทศอาหารริมบาทวิถีและผู้ประกอบการเก็บรักษาที่ server ของ



web page <https://www.ardastreetfood.org/>

=====

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยงจุลินทรีย์อาหารริมบาทวิถี ปลา ซาซิมิ และผลิตภัณฑ์สุกร ดำเนินการด้วย 3 โครงการย่อย คือ

โครงการย่อยที่ 1 : การพัฒนาเทคนิค MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยและประเมินความเสี่ยงโรคใช้หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อน *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรค ได้พัฒนาเทคนิค Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ในการวินิจฉัยแยก *Streptococcus suis* (*S.suis*) ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค จำนวน 33 serotypes แก้ปัญหาซ้ำซ้อน *S. suis* โดย serotyping และ multiplex PCR ผ่านการสกัดโปรตีนผิวเซลล์ด้วยสารละลายอินทรีย์ผสมได้ Database ของ peptide mass fingerprints (PMFs) ของ *S. suis* ทุกซีโรไทป์ เพื่อใช้ในการแยกซีโรไทป์ของ *S. suis* (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ซีโรไทป์ที่ก่อโรคได้) การประเมินความเสี่ยง *S. suis* ใช้ dose-response model สำหรับ *S. suis* ซีโรไทป์ก่อโรค ชนิด Log-logistic (q_1 และ $q_2 = 21.99$ และ 2.87) ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness: P) จากการบริโภคเนื้อสุกรเย็น เนื้อสุกรอุ่น อวัยวะภายใน ทั้ง 3 ฤดูกาล เท่ากับ 8.6×10^{-47} , 8.6×10^{-47} และ 1.3×10^{-51} ตามลำดับ ไม่พบการปนเปื้อน *S. suis* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล (ยกเว้น 2 ตัวอย่างเลือด) ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic prevalence) ของ *S. suis* ร้อยละ 8.3 ความเข้มข้น (concentration) 0.004 g^{-1} ค่าเฉลี่ยการบริโภคเนื้อสุกร และตับสุกร (อวัยวะภายใน) $14.12 \text{ กรัม/คน/วัน}$ และ 1.09 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ ได้ความน่าจะเป็นในการสัมผัส (probability of exposure : P_E) *S. suis* จากการบริโภคเนื้อสุกรเย็น เนื้อสุกรอุ่น อวัยวะภายใน ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล เท่ากับ 4.6×10^{-3} , 4.6×10^{-3} และ 3.6×10^{-4} ตามลำดับ ต่อมาคำนวณได้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (annual risk estimate) จาก *S. suis* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคเนื้อสุกรเย็น เนื้อสุกรอุ่น อวัยวะภายใน อยู่ในระดับละเลยได้ (negligible) เท่ากับ 1.4×10^{-46} , 1.4×10^{-46} และ 1.8×10^{-52} ตามลำดับ หลังการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ได้การแจกแจงค่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงในเนื้อสุกรและอวัยวะภายในในช่วง 1.4×10^{-46} - 8.0×10^{-46} และ 1.9×10^{-53} - 1.1×10^{-51} ตามลำดับ

โครงการย่อยที่ 2 : การกำหนดค่า Microbiological limit ของ *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและซาซิมิโดยการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ ความน่าจะเป็นการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษาคำนวณจาก อัตราการเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล (Hospitalization) เท่ากับ 0.0262 อัตราการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษา (Prescription) เท่ากับ 0.3375 และ ค่าเฉลี่ยอัตราการเสียชีวิต (mean mortality) จาก susceptible

Salmonella และ AMR *Salmonella* คือ 0.0013 และ 0.0175 ตามลำดับ ได้ผลคูณสำหรับ susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* คือ 1.15×10^{-5} และ 1.55×10^{-4} ตามลำดับ ควบคู่กับ dose-response model สำหรับความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness: P_I) ของ *Salmonella* ชนิด Beta-Poisson ซึ่งมีพารามิเตอร์ alpha และ beta เท่ากับ 0.1324 และ 51.45 ตามลำดับ พบว่า พิสัยของความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาและซาซิมิ เท่ากับ 8.6×10^{-10} - 3.4×10^{-9} และ 2.1×10^{-10} - 5.6×10^{-6} ตามลำดับ ในขณะที่พิสัยของความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (P_{IM}) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาและซาซิมิ เท่ากับ 1.2×10^{-8} - 7.5×10^{-5} และ 2.8×10^{-9} - 7.5×10^{-5} ตามลำดับ พบการปนเปื้อน AMR *Salmonella* เฉพาะในฤดูกาล 3 จังหวัดขอนแก่น 1 ตัวอย่างปลาบริโภคสุก (1/19) และ 2 ตัวอย่างซาซิมิ (2/8) จังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่างซาซิมิ (1/8) ความชุกเชิงความน่าจะเป็นของ AMR *Salmonella* ในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ได้ระหว่างร้อยละ 4.8-9.5 และ ร้อยละ 10-30 ตามลำดับ ความเข้มข้น ช่วง 0.001-0.005 g^{-1} และ 0.003-3,750 g^{-1} ค่าเฉลี่ยการบริโภคแบบสุก 11.35 กรัม/คน/วัน ค่าเฉลี่ยปริมาณการบริโภคซาซิมิประมาณร้อยละ 10 ของปริมาณการบริโภคปลาบริโภคสุก เท่ากับ 1.135 กรัม/คน/วัน นำมาคำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure : P_E) AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วง 1.4×10^{-3} - 1.0×10^{-2} และ 6.9×10^{-4} - 3.0×10^{-1} ตามลำดับ ต่อมาคำนวณ ได้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ อยู่ในช่วง 4.3×10^{-10} - 1.3×10^{-8} (Negligible) และ 5.2×10^{-11} - 2.0×10^{-4} (Negligible to Extremely low risk) ตามลำดับ ในขณะที่ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ อยู่ในช่วง 5.8×10^{-9} - 1.7×10^{-7} (Negligible) และ 7.0×10^{-10} - 2.7×10^{-3} (Negligible to Low) หลังการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยง พิสัยของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก susceptible *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ อยู่ในช่วง 1.8×10^{-10} - 1.0×10^{-8} และ 2.2×10^{-11} - 1.3×10^{-9} ตามลำดับ ในขณะที่พิสัยของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก AMR *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ อยู่ในช่วง 2.9×10^{-9} - 1.6×10^{-7} และ 2.7×10^{-10} - 1.5×10^{-8} ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) ของปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ต่อ Annual non-AMR

risk estimate ของ susceptible *Salmonella* และ Annual AMR risk estimate ของ AMR *Salmonella* ปลา บริโภคสุกและซาซิมิ พบว่าเรียงค่าความชันลดถอยจากสูงไปต่ำ คือ ความเข้มข้น ความชุก และ การบริโภค

ผลการวิเคราะห์สถานการณ์ (scenario analysis) ค่า microbiological limit และแผนการซึ่กตัวอย่าง (sampling plan) ปลาและซาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ในระดับที่ ยอมรับได้ (acceptable risk) $< 10^{-6}$ คือ ซึ่ก 7 ตัวอย่างปลา บริโภคสุก หรือ ซึ่ก 3 ตัวอย่างซาซิมิ โดยทุกตัวอย่างต้องตรวจไม่พบ susceptible *Salmonella* ใน 25 กรัม ($n = 7, c = 0$ หรือ $n = 3, c = 0$) และ ซึ่ก 14 ตัวอย่างปลาบริโภคสุก หรือ ซึ่ก 5 ตัวอย่างซาซิมิ โดยทุกตัวอย่างต้อง ตรวจไม่พบ AMR *Salmonella* ใน 25 กรัม ($n = 14, c = 0$ หรือ $n = 5, c = 0$)

โครงการย่อยที่ 3 : การประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยงอาหารริมบาทวิถีที่จำหน่ายในจังหวัด ท้องเที่ยวหลักของประเทศไทย dose-response model ของ *E.coli* (EC), *Salmonella* (SE) ชนิด beta-Poisson ค่าพารามิเตอร์ alpha คู่กับ beta เท่ากับ 0.16 คู่กับ 24,400 และ 0.1324 คู่กับ 51.45 ตามลำดับ dose-response model ของ *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) ชนิด exponential มีพารามิเตอร์ r เท่ากับ 7.64×10^{-12} และ 1.76×10^{-9} ตามลำดับ ใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness: P_i) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ทั้ง 3 ฤดูกาล ที่ปนเปื้อน EC, SE, SA, และ VC อยู่ ในช่วง $9.7 \times 10^{-7} - 1.5 \times 10^{-5}$, $3.8 \times 10^{-4} - 5.9 \times 10^{-3}$, $1.1 \times 10^{-12} - 2.0 \times 10^{-11}$ และ 5.2×10^{-10} ตามลำดับ ไม่พบการปนเปื้อน VC ในตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค 6, 13, และ 6 ตัวอย่าง อาหาร 1, 2, และ 1 ตัวอย่างพื้นผิวสัมผัส ในฤดูกาล 1-3 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีและ พื้นผิวสัมผัส ร้อยละ 9.0 (38/420) และ 2.4 (5/210) ตามลำดับ คำนวณความชุกเชิงความน่าจะเป็น EC, SE, SA, และ VC 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วงร้อยละ 2.4-18.2, ร้อยละ 2.4-36.4, ร้อยละ 2.4-40.9, และ ร้อยละ 2.4-4.5 ตามลำดับ ความเข้มข้น ของ EC, SE, SA, และ VC 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วง $0.001-0.004 \text{ g}^{-1}$, $0.001-0.016 \text{ g}^{-1}$, $0.001-0.018 \text{ g}^{-1}$, และ $0.001-0.002 \text{ g}^{-1}$ ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยบริโภคอาหารริมบาทวิถี 123.78 กรัม/คน/วัน คำนวณ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure : P_e) EC, SE, SA, และ VC จากการบริโภคอาหารริม บาทวิถี ใน 6 จังหวัด ทั้ง 3 ฤดูกาล อยู่ในช่วง $3.3 \times 10^{-3} - 3.3 \times 10^{-1}$, $3.3 \times 10^{-3} - 3.3 \times 10^{-1}$, $3.3 \times 10^{-3} - 3.8 \times 10^{-1}$, และ $3.3 \times 10^{-3} - 1.2 \times 10^{-2}$ ตามลำดับ คำนวณได้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (annual risk estimate) จาก EC, SE, SA, และ VC ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี อยู่ในช่วง $1.1 \times 10^{-6} - 1.9 \times 10^{-3}$ (Extremely low to Very low), $4.5 \times 10^{-4} - 4.1 \times 10^{-1}$ (Extremely low to Low), $1.3 \times 10^{-12} - 2.8 \times 10^{-9}$ (Negligible), และ $3.1 \times 10^{-10} - 2.2 \times 10^{-9}$ (Negligible) ตามลำดับ หลังการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo

Simulation) ได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจาก EC, SE, SA, และ VC จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี จังหวัดกรุงเทพฯ อยู่ในช่วง $1.7 \times 10^{-7} - 9.7 \times 10^{-6}$, $7.1 \times 10^{-5} - 4.0 \times 10^{-3}$, $2.1 \times 10^{-13} - 1.2 \times 10^{-11}$, และ $4.5 \times 10^{-11} - 2.5 \times 10^{-9}$ ในขณะที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อยู่ในช่วง $9.6 \times 10^{-7} - 5.5 \times 10^{-5}$, $3.5 \times 10^{-4} - 2.0 \times 10^{-2}$, $9.5 \times 10^{-13} - 5.7 \times 10^{-11}$, และ $3.4 \times 10^{-10} - 1.9 \times 10^{-8}$ ตามลำดับ

ผลศึกษาความสัมพันธ์สุลลักษณะและอาหารริมบาทวิถี พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab) มีพิสัยที่กว้างมาก ระหว่าง ร้อยละ -7.1 ถึง ร้อยละ +29.2 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) เพื่อหาปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ของการปนเปื้อน EC, SE, SA, และ VC ในอาหารริมบาทวิถี พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ที่สูงที่สุด (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual risk estimate โดยวิธี correlation คือ ความชุก (prevalence) ผลการดำเนินการระบบสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถีสู่ผู้บริโภคโดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ นำเสนอในรูปแบบของ Mobile Applications ทั้งระบบ Android และ iOS ที่สามารถ scan QR codes ประจำพื้นที่เก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวหลักใน 6 ภาคทั่วประเทศ คือ กรุงเทพฯ ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี ขอนแก่น ภูเก็ต และ เชียงใหม่ โดยข้อมูลสารสนเทศอาหารริมบาทวิถีและผู้ประกอบการเก็บรักษาที่ server ของ web page <https://www.ardastreetfood.org/>

=====

Abstract

Microbial risk analysis and management of street food, fish, sashimi, and pork products was implemented by 3 subprojects as the following.

Subproject 1 : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) was developed to differentiate pathogenic and non-pathogenic *Streptococcus suis* (*S.suis*) for 33 serotypes. This technique resolved the ambiguous serotypes by conventional identification e.g. serotyping and multiplex PCR. Extracting the cell membrane protein was done by a mixture of organic solutions and then database of peptide mass fingerprints (PMFs) of all *S. suis* serotypes was generated. This technique was then used to identify pathogenic *S. suis* in the following quantitative risk assessment. Dose-response model of pathogenic *S. suis* was Log-logistic (q_1 and q_2 : 21.99 and 2.87). Probabilities of illness from consumption of modern-trade pork, fresh-market pork, and visceral organ across 3 seasons were 8.6×10^{-47} , 8.6×10^{-47} , and 1.3×10^{-51} , respectively. No contamination was found in the pork from 6 provinces across 3 seasons (except 2 blood samples). Probabilistic prevalence of *S. suis* was 8.3%. Concentrations was 0.004 g^{-1} . The mean consumption of pork and visceral organ were 14.12 and 1.09 g/person/day, respectively. Probabilities of exposure of *S. suis* from modern-trade pork, fresh-market pork, and visceral organ in 6 provinces across 3 seasons were 4.6×10^{-3} , 4.6×10^{-3} , and 3.6×10^{-4} , respectively. Annual risk estimates of *S. suis* contaminating modern-trade pork, fresh-market pork, and visceral organ were negligible and equal to 1.4×10^{-46} , 1.4×10^{-46} , and 1.8×10^{-52} , respectively. Upon running Monte Carlo Simulation, the probability distributions of annual risk estimate of pork and visceral organ were in the range of 1.4×10^{-46} - 8.0×10^{-46} and 1.9×10^{-53} - 1.1×10^{-51} , respectively.

Subproject 2 : The probability of mortality from treatment failure was calculated from the hospitalization rate at 0.0262, the prescription rate at 0.3375, and mean mortality rate from susceptible and AMR *Salmonella* at 0.0013 and 0.0175, respectively. The products of those rates for susceptible *Salmonella* and AMR *Salmonella* were 1.15×10^{-5} and 1.55×10^{-4} , respectively. This probability of mortality was coupled with dose-response model of probability of illness of

Salmonella which was Beta-Poisson with alpha and beta at 0.1324 and 51.45, respectively. The ranges of probability of illness to mortality (P_{IM}) attributable to susceptible *Salmonella* from fish and sashimi consumption were 8.6×10^{-10} - 3.4×10^{-9} and 2.1×10^{-10} - 5.6×10^{-6} , respectively. While The ranges of probability of illness to mortality (P_{IM}) attributable to AMR *Salmonella* from fish and sashimi consumption were 1.2×10^{-8} - 7.5×10^{-5} and 2.8×10^{-9} - 7.5×10^{-5} , respectively. Contaminations of AMR *Salmonella* were found only in season 3 in Konkaen in 1 fish (1/19) and 2 sashimi samples (2/8) in Chiangmai 1 sashimi sample (1/8). The probabilistic prevalences of AMR *Salmonella* in fish and sashimi were in the range of 4.8-9.5% and 10-30%, respectively. The concentrations were in the range of 0.001-0.005 g^{-1} and 0.003-3,750 g^{-1} . The mean consumptions of fish and sashimi were 11.35 and 1.135 g/person/day. Probabilities of exposure of AMR *Salmonella* from fish and sashimi consumption in 6 provinces across 3 seasons were in the range of 1.4×10^{-3} - 1.0×10^{-2} and 6.9×10^{-4} - 3.0×10^{-1} , respectively. Annual risk estimates from susceptible *Salmonella* contaminating fish and sashimi were in the range of 4.3×10^{-10} - 1.3×10^{-8} (Negligible) and 5.2×10^{-11} - 2.0×10^{-4} (Negligible to Extremely low risk), respectively. While annual risk estimate from AMR *Salmonella* contaminating fish and sashimi were in the range of 5.8×10^{-9} - 1.7×10^{-7} (Negligible) and 7.0×10^{-10} - 2.7×10^{-3} (Negligible to Low). Upon running Monte Carlo Simulation, the probability distributions of annual risk estimate of susceptible *Salmonella* contaminating fish and sashimi were in the range of 1.8×10^{-10} - 1.0×10^{-8} and 2.2×10^{-11} - 1.3×10^{-9} , respectively. While those of annual risk estimate of AMR *Salmonella* contaminating fish and sashimi were in the range of 2.9×10^{-9} - 1.6×10^{-7} and 2.7×10^{-10} - 1.5×10^{-8} , respectively. Sensitivity analysis to determine risk factor of annual non-AMR risk estimate of susceptible and AMR *Salmonella* from fish and sashimi indicated that the regression slopes from high to low were prevalence, concentration, and consumption. Scenario analysis suggested that the microbiological limit and sampling plan of fish and sashimi corresponding to acceptable risk from susceptible and AMR *Salmonella* were $n = 7$, $c = 0$ or $n = 3$, $c = 0$, $n = 14$, $c = 0$, and $n = 5$, $c = 0$, respectively.

Subproject 3 : Dose-response models of *E.coli* (EC), *Salmonella* (SE) were beta-Poisson with alpha and beta at 0.16 vs. 24,400 and 0.1324 vs. 51.45, respectively. Dose-response model of *Staphylococcus aureus* (SA) and *Vibrio cholerae* (VC) were exponential with r equal to 7.64×10^{-12} and 1.76×10^{-9} , respectively. Probabilities of illness from street food consumption across 3 seasons from EC, SE, SA, and VC were in the range of 9.7×10^{-7} - 1.5×10^{-5} , 3.8×10^{-4} - 5.9×10^{-3} , 1.1×10^{-12} - 2.0×10^{-11} , and 5.2×10^{-10} , respectively. Contaminations were found in 6, 13, and 6 street food and 1, 2, and 1 surface swab samples across seasons 1-3, respectively. Mean contamination rates of street food and surface swab were 9.0% (38/420) and 2.4% (5/210), respectively. Probabilistic prevalences of EC, SE, SA, and VC across 3 seasons in the range of 2.4-18.2%, 2.4-36.4%, 2.4-40.9%, and 2.4-4.5%, respectively. Concentrations of EC, SE, SA, and VC across 3 seasons were in the range of 0.001-0.004 g^{-1} , 0.001-0.016 g^{-1} , 0.001-0.018 g^{-1} , and 0.001-0.002 g^{-1} , respectively. Mean consumption of street food was 123.78 g/person/day. Probabilities of exposure of EC, SE, SA, and VC from street food consumption in 6 provinces across 3 seasons were in the range of 3.3×10^{-3} - 3.3×10^{-1} , 3.3×10^{-3} - 3.3×10^{-1} , 3.3×10^{-3} - 3.8×10^{-1} , and 3.3×10^{-3} - 1.2×10^{-2} , respectively. Annual risk estimates from EC, SE, SA, and VC contaminating street food were in the range of 1.1×10^{-6} - 1.9×10^{-3} (Extremely low to Very low), 4.5×10^{-4} - 4.1×10^{-1} (Extremely low to Low), 1.3×10^{-12} - 2.8×10^{-9} (Negligible), and 3.1×10^{-10} - 2.2×10^{-9} (Negligible), respectively. Upon running Monte Carlo Simulation, the probability distributions of annual risk estimates of EC, SE, SA, and VC from street food consumption in Bangkok were in the range of 1.7×10^{-7} - 9.7×10^{-6} , 7.1×10^{-5} - 4.0×10^{-3} , 2.1×10^{-13} - 1.2×10^{-11} , and 4.5×10^{-11} - 2.5×10^{-9} while those in Prachuabkhiran were in the range of 9.6×10^{-7} - 5.5×10^{-5} , 3.5×10^{-4} - 2.0×10^{-2} , 9.5×10^{-13} - 5.7×10^{-11} , and 3.4×10^{-10} - 1.9×10^{-8} , respectively. The correlation coefficients between contaminations in the food and swab were in the range of -7.1% and 29.2%. Sensitivity analysis determining risk factor of contamination of EC, SE, SA, and VC in street food indicated that high correlation coefficient was prevalence. The communication system promoting street food safety was mobile applications in Android and iOS platform. QR codes were assigned to street food sampling sites in 6 provinces; Bangkok, Prachuabkhiran, Chonburi, Konkaen, Phuket, and Chiangmai. The information of street foods and vendors was kept in web page <https://www.ardastreetfood.org/>

สารบัญเรื่อง

(Table of Contents)

กิตติกรรมประกาศ	2
บทสรุปผู้บริหาร	3
บทคัดย่อ	11
Abstract	15
สารบัญเรื่อง	18
สารบัญตาราง	28
สารบัญภาพ	33
คณะผู้วิจัย.....	39
วัตถุประสงค์.....	42
โครงการย่อยที่ 1 : การพัฒนาเทคนิค MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยและประเมินความเสี่ยงโรคไขหูดับจาก การบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อน <i>Streptococcus suis</i> ซีโรไทป์ก่อโรค	43
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	43
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	46
ทบทวนวรรณกรรม	47
จุลชีววิทยาของ <i>Streptococcus suis</i>	47
การคงตัวของ <i>Streptococcus suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกรและสิ่งแวดล้อม.....	47
<i>Streptococcus suis</i> ในสุกร	48
<i>Streptococcus suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกร.....	49
<i>Streptococcus suis</i> ในมนุษย์	51
รายงานการสอบสวนโรคติดเชื้อ <i>Streptococcus suis</i>	53
การตรวจระบุจีโนสและสปีชีส์ของ <i>Streptococcus suis</i>	54

การจำแนกซีโรไทป์ของ <i>Streptococcus suis</i>	55
หลักการของ MALDI-TOF MS	56
การใช้เครื่อง MALDI-TOF MS ในการตรวจระบุชนิดแบคทีเรีย	56
ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะวะและอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันต่อ PMFs	57
การดื้อยาต้านจุลชีพของ <i>Streptococcus suis</i>	58
วิธีการดำเนินการวิจัย.....	61
การพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก <i>Streptococcus suis</i> ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค	61
การประเมินความเสี่ยงโรคไขุ่หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อนด้วย <i>Streptococcus suis</i>	62
ผลการศึกษา.....	67
การพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก <i>Streptococcus suis</i> ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค	67
ผลการประเมินความเสี่ยงโรคไขุ่หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อนด้วย <i>Streptococcus suis</i>	82
1. การระบุอันตราย (Hazard Identification).....	82
1.1 จุลชีววิทยาของ <i>Streptococcus suis</i>	82
1.2 การคงตัวของ <i>Streptococcus suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกรและสิ่งแวดล้อม.....	83
1.3 <i>Streptococcus suis</i> ในสุกร.....	83
1.4 <i>Streptococcus suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกร	84
1.5 <i>Streptococcus suis</i> ในมนุษย์	86
1.6 รายงานการสอบสวนโรคติดเชื้อ <i>Streptococcus suis</i>	88
1.7 การตรวจระบุจีโนสและสปีชีส์ของ <i>Streptococcus suis</i>	89
1.8 การจำแนกซีโรไทป์ของ <i>Streptococcus suis</i>	90
2. การอธิบายอันตราย (Hazard Characterization).....	92
2.1 คัดเลือก dose-response model <i>Streptococcus suis</i>	92
2.2 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก <i>Streptococcus suis</i>	98

เกณฑ์ประเมิน (Evaluation criteria)	99
2.3 การแปลผล (Interpretation).....	99
3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)	100
3.1 การเก็บตัวอย่าง	100
3.2 พื้นที่การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรทั่วประเทศ.....	101
3.3 ระดับการปนเปื้อน <i>Streptococcus suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกร ฤดู 1-3	104
3.4 ความชุก (Prevalence)	104
3.5 ความเข้มข้น (Concentration)	108
3.6 ปริมาณการบริโภคเนื้อสุกรของประชากรไทย	110
3.7 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส <i>Streptococcus suis</i>	111
4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk Characterization).....	112
4.1 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก <i>Streptococcus suis</i> ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร	112
4.2 การแปลผล (Interpretation)	115
4.3 การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation).....	115
การอภิปราย (Discussion).....	117
แนวทางการบริหารจัดการความเสี่ยงเพื่อป้องกันโรคหูดับ (best practice)	117
Information graphic : โรคไขหูดับจาก <i>Streptococcus suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกร.....	120
เอกสารอ้างอิง.....	122
โครงการย่อยที่ 2. การกำหนดค่า Microbiological limit ของ <i>Salmonella</i> spp. ที่ดี้อย่างด้านจุลชีพในปลา และซาซิมิโดยการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ.....	129
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	129
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	135

การทบทวนวรรณกรรม.....	136
การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์.....	136
การวิเคราะห์ความเสี่ยงที่่อยาจากอาหาร.....	138
การประเมินความเสี่ยงที่่อยาจากอาหาร.....	139
ประเมินความเสี่ยงการที่่อยาต้านจุลชีพ.....	143
วิธีการดำเนินการวิจัย.....	147
1. การประเมินความเสี่ยงการที่่อยาต้านจุลชีพเชิงปริมาณ.....	147
2. การวิเคราะห์ความไว.....	161
3. การวิเคราะห์สถานการณ์.....	164
ผลการศึกษา.....	167
1.การประเมินความเสี่ยงการที่่อยาต้านจุลชีพเชิงปริมาณ.....	167
1. การระบุอันตราย (Hazard identification).....	167
การจัดแบ่งและการเรียกชื่อแซลโมเนลลา.....	167
การเรียกชื่อ.....	172
ระบาดวิทยา.....	172
อาการ.....	175
ประชากรกลุ่มเสี่ยง.....	176
หลักการควบคุมและป้องกัน.....	176
2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization).....	177
2.1 คัดเลือก dose-response model.....	177
2.2 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible <i>Salmonella</i>	182
เกณฑ์ประเมิน (Evaluation criteria).....	184
2.3 การแปลผล (Interpretation).....	184

2.4 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก AMR <i>Salmonella</i>	185
2.5 การแปลผล (Interpretation).....	186
3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)	187
3.1 เก็บตัวอย่าง	187
3.2 พื้นที่การเก็บตัวอย่าง	187
3.3 ระดับการปนเปื้อน <i>Salmonella</i> ในผลิตภัณฑ์ปลาและชาซิมิ ฤดู 1-3.....	189
3.4 ความชุก (Prevalence).....	189
3.5 สรุปผลการปนเปื้อน <i>Salmonella</i> ในปลาบริโภคสุกและชาซิมิที่ให้ผลบวก	191
3.6 ความเข้มข้น (Concentration)	193
3.7 ปริมาณการบริโภคปลาและชาซิมิของประชากรไทย	195
3.8 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Exposure assessment).....	196
4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization)	198
4.1 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก susceptible <i>Salmonella</i> ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุก และชาซิมิ(Annual non-AMR risk estimate).....	198
4.2 การแปลผล (Interpreation)	201
4.3 การจำลองเหตุการณ์จริงสำหรับ Annual non-AMR risk estimate (Monte Carlo Simulation)	201
4.4 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก AMR <i>Salmonella</i> ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและชาซิมิ มิ (Annual ARM risk estimate).....	205
4.5 การแปลผล (Interpreation)	207
4.6 การจำลองเหตุการณ์จริงสำหรับ Annual AMR risk estimate (Monte Carlo Simulation) 207	
2. การวิเคราะห์ความไว.....	211
ผลการวิเคราะห์ความไวของปัจจัยเสี่ยงต่อ Annual non-AMR risk estimate.....	212

การอภิปราย (Discussion).....	212
การแปลความหมาย (Interpretation).....	215
ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ปลาบริโภคสุกและซาซิมิ	216
ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ความชุก (Prevalence) ปลาบริโภค สุก	217
ผลการวิเคราะห์ความไวของปัจจัยเสี่ยงต่อ Annual AMR risk estimate.....	218
การอภิปราย (Discussion).....	218
การแปลความหมาย (Interpretation).....	221
ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ปลาบริโภคสุกและซาซิมิ	222
ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ความชุก (Prevalence) ปลาบริโภค สุก	223
3. การวิเคราะห์สถานการณ์.....	224
3.1 แนวทางมาตรฐานการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคในปลาและซาซิมิที่มีความเสี่ยงยอมรับได้.....	225
3.1.1 แผนการซักรับตัวอย่าง	225
3.1.2 การเลือกแผนการซักรับตัวอย่างตามอันตรายจุลินทรีย์.....	230
3.1.3 กรณีต่างๆ ของแผนการซักรับตัวอย่าง.....	235
3.1.4 การเลือกกรณีของแผนการซักรับตัวอย่าง ตามอันตรายจุลินทรีย์.....	238
3.1.5 การเลือกกรณีของแผนการซักรับตัวอย่าง ตามสถานภาพอาหารหลังซักรับตัวอย่าง.....	239
3.1.6 ประสิทธิภาพของแผนการซักรับตัวอย่างในกรณีต่างๆ	242
3.1.7 แผนการซักรับตัวอย่างตามฐานความเสี่ยง.....	253
3.2 Microbiological limit ที่สอดคล้องกับ Sampling plan ของ susceptible <i>Salmonella</i> และ AMR <i>Salmonella</i> ในปลาและซาซิมิ.....	261
Information graphic : การต่อต้านจุลชีพ <i>Salmonella</i> ในปลาและซาซิมิ	267

เอกสารอ้างอิง.....	269
โครงการย่อยที่ 3. การประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยงอาหารริมบาทวิถีที่จำหน่ายในจังหวัด	
ท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย	275
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	275
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	277
การทบทวนวรรณกรรม.....	278
อาหารริมบาทวิถี.....	278
การเลือกสถานที่ท่องเที่ยวที่มีอาหารริมบาทวิถี.....	278
การขาดสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี	280
สุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี.....	280
หลักเกณฑ์การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะสำหรับอาหารริมบาทวิถีในภูมิภาคเอเชีย.....	284
การวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหาร.....	289
แนวทางการสื่อสารความเสี่ยง.....	291
แบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษ.....	294
การปนเปื้อนจุลินทรีย์(ก่อโรค)ของอาหารริมบาทวิถี	295
การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ	296
วิธีการดำเนินการวิจัย.....	300
ผลการศึกษา	314
1.การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ	314
1. การระบุอันตราย (Hazard identification)	314
1.1 <i>Escherichia coli</i>	314
1.2 <i>Salmonella</i> spp.	331
1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	331

1.4 <i>Vibrio cholerae</i>	335
2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)	337
2.1 แบบจำลอง Dose-response models ในการอธิบายอันตราย	337
2.2 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจากจุลินทรีย์ก่อโรค 4 ชนิด	337
เกณฑ์ประเมิน (Evaluation criteria)	339
2.3 การแปลผล (Interpretation).....	339
3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment).....	340
3.1 การเก็บตัวอย่าง	340
3.2 พื้นที่การเก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศ	341
3.3 ระดับการปนเปื้อน 4 จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี	343
3.4 ความชุก (Prevalence).....	343
3.5 ความเข้มข้น (Concentration)	347
3.6 ปริมาณการบริโภคอาหารริมบาทวิถีของประชากรไทย	349
3.7 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส 4 จุลินทรีย์ก่อโรค	350
4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk Characterization).....	352
4.1 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก 4 จุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี.	352
4.2 การแปลผล (Interpretation)	357
4.3 การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation).....	357
2. ศึกษาความสัมพันธ์สุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี.....	362
2.1 การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี (hygiene)	362
2.1.1 สุขลักษณะ “สถานที่จำหน่ายอาหาร”	363
2.1.2 สุขลักษณะ “การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร”	369

2.2 หลักเกณฑ์การประเมิน (evaluation criteria).....	372
2.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี.....	373
2.4 การวิเคราะห์ความไว (Sensitivity analysis).....	375
ผลการวิเคราะห์ความไวของปัจจัยเสี่ยงต่อ Annual risk estimate	375
การอภิปราย (Discussion).....	378
2.5 แนวทางการจัดการความเสี่ยงความสัมพันธ์สุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี	378
3. ระบบสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถีสู่ผู้บริโภคโดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ	379
3.1 ศึกษา platform การนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital ที่เหมาะสม.....	379
3.1.1 ศึกษา domain และ server เช่น เช่าจากผู้ให้บริการเอกชน, ฝาก subdomain/server กับ สถาบัน	379
3.1.2 ศึกษาการสร้าง web page เช่น เช่า web สำเร็จรูปเอกชน, ใช้โปรแกรมฟรี, ใช้ระบบ Facebook	383
3.1.3 ศึกษากระบวนการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition) เช่น Google analytic, Facebook analytic.....	384
3.2 การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital	386
3.3 การจัดการข้อมูลวิจัยสารสนเทศ (Research information management).....	387
3.3.1 การ organize ข้อมูลสารสนเทศการวิจัย.....	387
3.3.2 การ publish ข้อมูลสารสนเทศการวิจัย.....	387
3.3.3 การเผยแพร่หรือสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี	388
3.4 การจัดการระบบระบุพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Identification system).....	389
3.4.1 QR Codes สำหรับพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศ	389
3.4.2 การจับคู่ข้อมูลสารสนเทศวิจัย กับ QR Code ประจำพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Information vs. QR synchronization).....	391

3.4.3 การจัดการระบบระบุพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีนำเสนอใน Application ชนิด Android และ iOS	391
Information graphic : อาหารริมบาทวิถี.....	393
เอกสารอ้างอิง.....	394

สารบัญตาราง

(List of Tables)

ตาราง 1 Serotypes ของ <i>Streptococcus suis</i> ที่แยกโดยวิธี Serology ได้ไม่ชัดเจน	45
ตาราง 2 Serotypes ของ <i>Streptococcus suis</i> ที่แยกโดยวิธี multiplex PCR ได้ไม่ชัดเจน	45
ตาราง 3 อุบัติการณ์ (ร้อยละ) การพบ <i>Streptococcus suis</i> และ SS สายพันธุ์ก่อโรค serotype 2	50
ตาราง 4 ปัจจัยเสี่ยงเชิงแหล่งที่มาในการระบาดหรือการติดเชื้อ <i>Streptococcus suis</i>	54
ตาราง 5 การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรรายภาคในการประเมินความเสี่ยง	63
ตาราง 6 ผลการพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก <i>Streptococcus suis</i> ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค	
จำนวน 33 serotypes	68
ตาราง 7 โปรตีน 28 ชนิดที่ระบุได้จาก peptide ที่เป็น secretome ของ <i>S. suis</i> ซีโรไทป์ ก่อโรคและไม่ก่อโรค	80
ตาราง 8 โปรตีน 24 ชนิดที่ระบุได้จาก peptide ที่เป็น peptidome ของ <i>S. suis</i> ซีโรไทป์ ก่อโรคและไม่ก่อโรค	81
ตาราง 9 อุบัติการณ์ (ร้อยละ) การพบ <i>Streptococcus suis</i> และ SS สายพันธุ์ก่อโรค serotype 2	85
ตาราง 10 ปัจจัยเสี่ยงเชิงแหล่งที่มาในการระบาดหรือการติดเชื้อ <i>Streptococcus suis</i>	89
ตาราง 11 Dose-response model สำหรับ <i>Streptococcus suis</i>	97
ตาราง 12 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (Prob. of illness: P) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร	98
ตาราง 13 เกณฑ์ประเมินระดับความน่าจะเป็น โอกาส หรือ ความเสี่ยง	99
ตาราง 14 การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรรายภาคในการประเมินความเสี่ยง	100
ตาราง 15 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร	103
ตาราง 16 ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) ของ <i>S. suis</i> ในผลิตภัณฑ์สุกรใน 6 จังหวัด	106
ตาราง 17 ความเข้มข้น (Concentration) ของ <i>S. suis</i> (g^{-1}) ในผลิตภัณฑ์สุกรใน 6 จังหวัด	109
ตาราง 18 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Prob. of exposure) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร	111
ตาราง 19 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร	113

ตาราง 20 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร	114
ตาราง 21 การประเมินความเสี่ยงต่อยาจากอาหารเชิงคุณภาพ (Qualitative AMR risk assessment)	140
ตาราง 22 การประเมินความเสี่ยงต่อยาจากอาหารเชิงปริมาณ (Quantitative AMR risk assessment)	141
ตาราง 23 Dose-response (DR) model สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้	148
ตาราง 24 การดูแลโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันในผู้ใหญ่โดยการใช้ยาต้านจุลชีพ	151
ตาราง 25 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก <i>Salmonella</i>	154
ตาราง 26 การแจกแจงการเก็บตัวอย่างระดับค้ำปัสเป็นรายภาค	154
ตาราง 27 ค่า MIC breakpoint (mg/L) เพื่อเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ epidemiological cutoff (ECOFF) โดย EUCAST 2015 (susceptible \leq MIC breakpoint)	156
ตาราง 28 แนวทางการจัดแบ่ง <i>Salmonella</i> spp.	169
ตาราง 29 การจัดแบ่ง species ของแซลโมเนลลา	170
ตาราง 30 ลักษณะทางชีวเคมีที่เป็นแบบฉบับของแซลโมเนลลา	171
ตาราง 31 จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับ <i>Salmonella</i> spp. ต่อประชากรแสนคนในบางประเทศ เมื่อปี พ.ศ. 2540	173
ตาราง 32 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาและซาซิมิ	183
ตาราง 33 เกณฑ์ประเมินระดับความน่าจะเป็น โอกาส หรือ ความเสี่ยง	184
ตาราง 34 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาและซาซิมิ	185
ตาราง 35 การแจกแจงการเก็บตัวอย่างระดับค้ำปัสเป็นรายภาค	187
ตาราง 36 ข้อมูลและรายละเอียดของตัวอย่างปลาบริโภคสุกและซาซิมิที่ปนเปื้อนด้วย <i>Salmonella</i> ฤดู 3	191
ตาราง 37 ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) ของ <i>Salmonella</i> ในปลาบริโภคสุกและซาซิมิใน 6 จังหวัด	192
ตาราง 38 ความเข้มข้น (Concentration) ของ <i>Salmonella</i> (g^{-1}) ในปลาบริโภคสุกและซาซิมิใน 6 จังหวัด	194
ตาราง 39 ความน่าจะเป็นในการสัมผัส (Prob. of exposure : P_E) <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ	196

ตาราง 40 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการ บริโภคลาบรีโคมสูกและซาซิมิ	199
ตาราง 41 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคลาบรีโคมสูกและซาซิมิ	200
ตาราง 42 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคลา บรีโคมสูกและซาซิมิ	205
ตาราง 43 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการ บริโภคลาบรีโคมสูกและซาซิมิ	206
ตาราง 44 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) และค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคลาบรีโคมสูกและซาซิมิ	212
ตาราง 45 การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรไทยที่เจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจากการเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ 1 หน่วย	215
ตาราง 46 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) และค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จาก การบริโภคลาบรีโคมสูกและซาซิมิ	218
ตาราง 47 การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรไทยที่เจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจากการเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ 1 หน่วย	221
ตาราง 48 การเลือกค่า k ตามความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ สัดส่วนความบกพร่องของอาหาร และ จำนวนตัวอย่าง ที่ตรวจ (ICMSF 2001)	228
ตาราง 49 กลุ่มจุลินทรีย์บ่งชี้และกรณีบ่งชี้ในโรงงานแปรรูปอาหาร	232
ตาราง 50 การจำแนกกลุ่มของอันตรายจุลินทรีย์ตามระดับความเสี่ยงและตัวอย่างจุลินทรีย์ก่อโรค	234
ตาราง 51 การจำแนกกรณีต่างๆ (case) ของการชักตัวอย่างตามปัจจัยอันตรายและการเปลี่ยนแปลงระดับความ เสี่ยงหลังการชักตัวอย่าง	237
ตาราง 52 แผนการชักตัวอย่างที่แนะนำสำหรับกรณีต่างๆ ตามชนิดอันตรายและสถานภาพอาหารหลังการชัก ตัวอย่าง (ICMSF, 2001)	246

ตาราง 53 ความเข้มข้นเฉลี่ยของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน (mean concentration) ใน lot ตามประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างที่แนะนำสำหรับกรณีต่างๆ ตามชนิดอันตรายและสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (ICMSF, 2001)	249
ตาราง 54 ระดับความเสี่ยงจำแนกตามชนิดอันตรายจุลินทรีย์และสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง	259
ตาราง 55 ค่า Microbiological limit (m) แผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) และความเข้มข้นเฉลี่ยของ susceptible <i>Salmonella</i> ของปลาและซาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible <i>Salmonella</i> ในระดับที่ยอมรับได้ $< 10^{-6}$ ต่อปี	266
ตาราง 56 ค่า Microbiological limit (m) แผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) และความเข้มข้นเฉลี่ยของ AMR <i>Salmonella</i> ของปลาและซาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก AMR <i>Salmonella</i> ในระดับที่ยอมรับได้ $< 10^{-6}$ ต่อปี	266
ตาราง 57 สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงของประเทศไทย	280
ตาราง 58 พฤติกรรมสุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงของประเทศไทย	281
ตาราง 59 สุขลักษณะของสถานที่/แผงค้าสำหรับอาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงประเทศไทย	282
ตาราง 60 สุขลักษณะของศูนย์/บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงประเทศไทย	283
ตาราง 61 แนวทางการเก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีและ swab	301
ตาราง 62 แบบจำลองการอธิบายอันตรายโดยการตอบสนองต่อจุลินทรีย์ก่อโรค (Dose-response model)	302
ตาราง 63 Dose-response model สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้	303
ตาราง 64 somatic antigen ของ <i>E.coli</i> กลุ่มต่างๆ	315
ตาราง 65 Toxin และ virulence factors ของ <i>E.coli</i> กลุ่มต่างๆ	320
ตาราง 66 Dose-response model สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้	337
ตาราง 67 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (Prob. of illness: P_i) จาก 4 จุลินทรีย์ก่อโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี	338
ตาราง 68 เกณฑ์ประเมินระดับความน่าจะเป็น โอกาส หรือ ความเสี่ยง	339
ตาราง 69 จำนวนตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab) 3 ฤดูกาล 6 ภาค ($n = 630$)	340
ตาราง 70 จำนวนตัวอย่างอาหารและพื้นผิวสัมผัสที่มีการปนเปื้อนอย่างน้อย 1 ชนิดจุลินทรีย์ก่อโรค	342

ตาราง 71 ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) ของ 4 จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถีใน 6 จังหวัด 3 ฤดูกาล	346
ตาราง 72 ความเข้มข้น (Concentration) ของ 4 จุลินทรีย์ก่อโรค (g^{-1}) ในอาหารริมบาทวิถีใน 6 จังหวัด 3 ฤดูกาล	348
ตาราง 73 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Prob. of exposure) จาก <i>E.coli</i> (EC) <i>Salmonella</i> spp. (SE) <i>Staphylococcus aureus</i> (SA) และ <i>Vibrio cholerae</i> (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี	351
ตาราง 74 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก 4 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี	353
ตาราง 75 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จจาก 4 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี	356
ตาราง 76 สัดส่วนตัวอย่างอาหารและพื้นผิวสัมผัสที่มีการปนเปื้อนอย่างน้อย 1 ชนิดจุลินทรีย์ก่อโรค	373
ตาราง 77 ความสัมพันธ์ของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab)	374
ตาราง 78 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>E.coli</i> จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีปลาบริโภคสุกและซาซิมิ	375
ตาราง 79 Domain name ระดับบนสุด ตามหมวด	380
ตาราง 80 Domain name ระดับบนสุด ตามหมวด/ประเทศ	380
ตาราง 81 เปรียบเทียบการเช่าจากผู้ให้บริการเอกชน และการฝาก subdomain/server กับสถาบัน	382
ตาราง 82 เปรียบเทียบทางเลือกในการสร้าง web page	383
ตาราง 83 เปรียบเทียบระบบการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition)	384
ตาราง 84 ทางเลือกระบบการแบ่งปันข้อมูล (data sharing)	385
ตาราง 85 การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital	386

สารบัญภาพ

(List of illustrations)

ภาพ 1 หลักการของ MALDI-TOF MS ในการแยกชนิดแบคทีเรีย	56
ภาพ 2 Research article การพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก <i>S.suis</i> ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค	67
ภาพ 3 ค่าเฉลี่ยการบริโภคเนื้อสุกรของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 14.12 กรัม/คน/วัน	110
ภาพ 4 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคเนื้อสุกร ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	115
ภาพ 5 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคอวัยวะสุกร ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	116
ภาพ 6 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>S. suis</i> จากการบริโภคอวัยวะสุกร ภาคเหนือ ฤดูกาล 2	116
ภาพ 7 แนวคิด “สุขภาพหนึ่งเดียว” ในบริบทการดื้อยาต้านจุลชีพภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	130
ภาพ 8 แนวคิด สุขภาพหนึ่งเดียว (One Health)	131
ภาพ 9 องค์ประกอบและการเชื่อมโยงในกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหาร (Food Risk Analysis)	132
ภาพ 10 การประเมินความเสี่ยง ใช้ระดับการปนเปื้อนสำคัญ	132
ภาพ 11 การใช้เทคนิคการประเมินความเสี่ยง	133
ภาพ 12 การกำหนด Microbiological limit ที่สอดคล้องกับ	134
ภาพ 13 ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ (QMRA)	137
ภาพ 14 การประเมินความเสี่ยง ประกอบด้วยความเชื่อมโยงของขั้นตอนที่ 2, 3 และ 4 ต่อเนื่องกัน	137
ภาพ 15 การประเมินการสัมผัสแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาในระดับค้าส่งและระดับการบริโภคอาหาร	144
ภาพ 16 การประเมินผลกระทบสุขภาพจากแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยา	145
ภาพ 17 ตัวอย่างอาหารปนเปื้อน 1 ตัวอย่างจาก 100 ตัวอย่างอาหาร จะมีค่าเฉลี่ยความชุกร้อยละ 1.96	158
ภาพ 18 แบบการแจกแจงความน่าจะเป็นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร	159

ภาพ 19 ตัวอย่างอาหารปนเปื้อน 1 ตัวอย่างจาก 100 ตัวอย่างอาหาร จะมีค่าเฉลี่ยความชุกร้อยละ 1.96	162
ภาพ 20 ตัวแปรอิสระ ตัวแปรตาม และ ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis)	163
ภาพ 21 ตัวแปรอิสระ (Xi) เป็นปัจจัยที่กำหนดหรือมีอิทธิพลต่อตัวแปรตาม (Y)	164
ภาพ 22 การพิจารณาย้อนกลับโดยหาค่าตัวแปรอิสระ (X_i) ในสถานการณ์หนึ่งของตัวแปรตาม (Y)	165
ภาพ 23 ปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำจืดของประชากรไทย อายุ 3 ปีขึ้นไป	195
ภาพ 24 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุก ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	202
ภาพ 25 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคซาซิมิ ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	202
ภาพ 26 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3	203
ภาพ 27 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคซาซิมิในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3	203
ภาพ 28 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคซาซิมิในภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) ฤดูกาลที่ 3	204
ภาพ 29 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุก ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	208
ภาพ 30 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคซาซิมิ ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	208
ภาพ 31 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3	209

ภาพ 32 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคน้ำดื่มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3	209
ภาพ 33 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคน้ำดื่มในภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) ฤดูกาลที่ 3	210
ภาพ 34 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุก	213
ภาพ 35 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคน้ำดื่ม	213
ภาพ 36 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุก	214
ภาพ 37 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible <i>Salmonella</i> จากการบริโภคน้ำดื่ม	214
ภาพ 38 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุก	219
ภาพ 39 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคน้ำดื่ม	219
ภาพ 40 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคปลาบริโภคสุก	220
ภาพ 41 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR <i>Salmonella</i> จากการบริโภคน้ำดื่ม	220
ภาพ 42 ภาพที่ 1 แผนคุณสมบัติ 2 ชั้น (two-class attributes plan)	226
ภาพ 43 ภาพที่ 2 แผนคุณสมบัติ 3 ชั้น (three-class attributes plan)	227
ภาพ 44 เส้นโค้งลักษณะเฉพาะปฏิบัติการ หรือ ประสิทธิภาพแผนการชักตัวอย่าง $n = 5$ $c = 2$	243
ภาพ 45 การกระจายตัวของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใน lot ที่ผ่าน	244

ภาพ 46 ประสิทธิภาพของแผนการซักร้อย่าง	245
ภาพ 47 ความสำคัญของประสิทธิภาพของแผนการซักร้อย่างในการใช้ประเมินความเสี่ยง	245
ภาพ 48 ขั้นตอนสำคัญในการกำหนดแผนการซักร้อย่างตามฐานความเสี่ยง	253
ภาพ 49 การคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ (dose) จากการประเมินความเสี่ยง	254
ภาพ 50 ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ทำหน้าที่กำหนด dose และ ความเข้มข้นเป้าหมาย	258
ภาพ 51 การกระจายตัวของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใน lot ที่ผ่าน	260
ภาพ 52 เส้นโค้งลักษณะเฉพาะปฏิบัติการ หรือ ประสิทธิภาพแผนการซักร้อย่าง $n = 5$ $c = 2$	262
ภาพ 53 การกระจายตัวของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใน lot ที่ผ่านแผนการซักร้อย่าง $n = 5$, $c = 2$, $m = 3$ $\log(10^3)$ cfu/g และ $M = 4 \log(10^4)$ cfu/g	263
ภาพ 54 องค์ประกอบของการวิเคราะห์ความเสี่ยงความปลอดภัยอาหาร	290
ภาพ 55 องค์ประกอบการประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)	291
ภาพ 56 คำนวณจำนวนผู้ป่วย (Cases) โดยอาศัย Dose-response model	297
ภาพ 57 การแจกแจงความน่าจะเป็นการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค (ขั้นตอน Exposure assessment)	298
ภาพ 58 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability density) ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรค	299
ภาพ 59 ตัวอย่างอาหารมีการปนเปื้อน 1 จาก 100 ตัวอย่างอาหาร จะมีค่าเฉลี่ยความชุกร้อยละ 1.96	304
ภาพ 60 แบบการแจกแจงความน่าจะเป็นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำ	305
ภาพ 61 ความสัมพันธ์แบบ 2 ทางของ “ระดับการปนเปื้อน/ค่าประมาณความเสี่ยง” และ “การปฏิบัติเกี่ยวกับ สุขลักษณะ”	308
ภาพ 62 ความสัมพันธ์แบบ regression ของ “ระดับการปนเปื้อน” และ “การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ”	309
ภาพ 63 ความสัมพันธ์แบบ regression ของ “ค่าประมาณความเสี่ยง” และ “การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ”	309
ภาพ 64 ค่าเฉลี่ยการบริโภคอาหารริมบาทวิถี อนุมานจากข้อมูลฟาสต์ฟู้ดส์แบบตะวันตกของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 123.78 กรัม/คน/วัน	349
ภาพ 65 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>E.coli</i> (EC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3	354

- ภาพ 66 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* spp. (SE) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3 354
- ภาพ 67 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Staphylococcus aureus* (SA) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3 355
- ภาพ 68 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3 355
- ภาพ 69 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* (EC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดกรุงเทพฯ 358
- ภาพ 70 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* spp. (SE) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดกรุงเทพฯ 358
- ภาพ 71 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Staphylococcus aureus* (SA) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดกรุงเทพฯ 359
- ภาพ 72 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Vibrio cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดกรุงเทพฯ 359
- ภาพ 73 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* (EC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 360
- ภาพ 74 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* spp. (SE) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 360
- ภาพ 75 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Staphylococcus aureus* (SA) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 361

ภาพ 76 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>Vibrio cholerae</i> (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	361
ภาพ 77 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>E.coli</i> จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ	376
ภาพ 78 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>Salmonella</i> จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ	376
ภาพ 79 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>S.aureus</i> จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ	377
ภาพ 80 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก <i>V.cholerae</i> จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ	377
ภาพ 81 QR Code สำหรับพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศจำนวน 6 ภาค	390
ภาพ 82 QR code สำหรับการ download และ install Application สารสนเทศอาหารริมบาทวิถี	391
ภาพ 83 ดำเนินการจัดทำ Mobile Application ชนิด Android	392
ภาพ 84 ดำเนินการจัดทำ Mobile Application ชนิด iOS	392
ภาพ 85 Web page : https://www.ardastreetfood.org/	392

คณะผู้วิจัย (Researchers)

1. ชื่อ	น.สพ.ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ
ตำแหน่ง	รองศาสตราจารย์
คุณวุฒิ	DVM, MPVM, PhD
ความชำนาญ	การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ (Quantitative microbial risk assessment)
สถานที่ติดต่อ	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์/โทรสาร	02-218-9577 มือถือ 089-204-5447
E-mail	suphachai.n@chula.ac.th
2. ชื่อ	สพ.ญ.ชฎาพร ชัยเด่น
ตำแหน่ง	ผู้ช่วยวิจัย
คุณวุฒิ	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต
ความชำนาญ	Proteomic, MALDI-TOF
สถานที่ติดต่อ	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทรศัพท์/โทรสาร	02-218-9577
e-mail	tiny_my_mild@outlook.com

3. ชื่อ นายสิทธิรักษ์ รอยตระกูล
ตำแหน่ง นักวิจัย
คุณวุฒิ ปริญญาเอก
ความชำนาญ Proteomic, MALDI-TOF
สถานที่ติดต่อ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
 113 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน
 ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120
โทรศัพท์ 02-5646700
โทรสาร 02-5646707
โทรศัพท์ 097-1854666
e-mail sittiruk@biotec.or.th

4. ชื่อ นายอนุศักดิ์ เกิดสิน
ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์
คุณวุฒิ ปริญญาเอก
ความชำนาญ/ความสนใจพิเศษ
 1. แบคทีเรียทางการแพทย์
 2. อนุชีววิทยาทางจุลชีววิทยา
 3. ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล
สถานที่ติดต่อ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
 เลขที่ 59/7 หมู่ 1 ต.เชียงเครือ อ. เมือง จ. สกลนคร 47000
โทรศัพท์ 042-725-043
โทรสาร 042-725-155
โทรศัพท์ 089-996-3714
e-mail anusak.ke@ku.th

วัตถุประสงค์ (Objectives)

1. การพัฒนาเทคนิค MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยและประเมินความเสี่ยงโรคไขุ่หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อน *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรค
2. การประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยงอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวเชิงอาหาร
3. การกำหนดค่า Microbiological limit ของ *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* ที่ดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและซาซิมิโดยการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ

โครงการย่อยที่ 1 : การพัฒนาเทคนิค MALDI-TOF MS ในการ วินิจฉัยและประเมินความเสี่ยงโรคไข้หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ ปนเปื้อน *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรค

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* (SS) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สายพันธุ์ก่อโรคในมนุษย์ คือ serotype 2 (SS2) เป็นโรคสัตว์สู่คน (zoonotic disease) ที่เกิดจากการสัมผัสกับสุกรที่มีแบคทีเรียนี้อยู่โดยผ่านบาดแผลที่ผิวหนัง ดังนั้น ผู้ที่ทำงานคลุกคลีหรือสัมผัสกับตัวสุกรโดยตรงในระดับฟาร์มและโรงเชือด เช่น สัตวแพทย์ สัตวบาล ผู้เลี้ยงสุกร ผู้ที่ทำงานในโรงเชือด จึงมีความเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายได้ นอกจากนี้อุบัติการณ์ส่วนมากของโรคติดเชื้อ SS เกิดจากการบริโภคเนื้อหรือเลือดสุกรไม่สุกด้วย (foodborne disease) โดยผู้ป่วยจะมีกลุ่มอาการเฉพาะ คือ มีไข้ ร่วมกับ ปวดเมื่อยปวดตึงกล้ามเนื้อ (myalgia) ปวดศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลว การรู้สึกตัวเปลี่ยนไป สมองอักเสบ คอแข็ง หูหนวก เลือดออกใต้ผิวหนัง (ecchymosis) ชักและปวดข้อ (Khadthasrima et al., 2008)

การระบาดของโรคติดเชื้อ SS ในสุกรที่ประเทศจีน พ.ศ. 2548 มีการระบาดของ SS พบผู้ป่วย 215 ราย เสียชีวิต 39 ราย (ร้อยละ 56) นอกจากนี้ยังมีการระบาดในอีกหลายประเทศในเอเชีย คือ ฮองกง ไต้หวัน และเวียดนาม ในระหว่าง พ.ศ. 2527-2550 ประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อ SS พ.ศ. 2550 ส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือ พบผู้ป่วย 150 ราย เสียชีวิต 23 ราย (ร้อยละ 15) ซึ่งจำนวนตามรายงานอาจจะเป็นเพียงส่วนน้อยเท่านั้น เนื่องจาก ข้อจำกัดด้านการวินิจฉัยโรคโดยบุคลากรทางแพทย์และห้องปฏิบัติ รวมถึงโรคนี้ยังไม่เข้าสู่ระบบการรายงานโรคของกระทรวงสาธารณสุข (Chuxnum, 2009) โรคติดเชื้อ SS ในสุกรและคน จึงจัดว่าเป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ (emerging disease) อันเนื่องจากสถานการณ์การระบาดที่มีการปรากฏเมื่อไม่นานมานี้และความถี่ของการรายงานการสอบสวนโรคของกระทรวงสาธารณสุขที่เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ

สถานการณ์ของการแพร่กระจายของ SS เมื่อไม่นานมานี้ พบว่า สามารถแยก SS ได้จากสุกรทุกช่วงอายุ และต่อเนื่องไปถึงโรงเชือดสุกร กล่าวคือ ความชุกในระดับฟาร์มสุกรจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ในลูกสุกร สุกรขุน แม่สุกร ร้อยละ 46, 30 และ 8 ตามลำดับ (Wongchanthong et al., 2013) ในขณะที่ความชุกในระดับโรงเชือดสุกรในจังหวัดพะเยาของ SS และ SS2 (สายพันธุ์ก่อโรค) เฉลี่ยร้อยละ 73 และ 7 ตามลำดับ (Nuangmeg and Pathanasophon, 2011) อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตอย่างยิ่งว่า ยังไม่มีรายงานความชุกของ SS ในผลิตภัณฑ์สุกร เช่น เนื้อสุกร เครื่องในสุกร ในระดับค้าปลีก ซึ่งมีความเป็นไปได้สูงมากที่จะส่งผ่าน SS ไปยังผู้บริโภค

Streptococcus suis สามารถจำแนกตามลักษณะโครงสร้างเปลือกหุ้ม (capsular polysaccharide; CPS) ที่แตกต่างกันได้ถึง 35 ซีโรไทป์ อย่างไรก็ตามในประเทศไทยและหลายประเทศ SS serotype 2 (SS2) และ 14 (SS14) เท่านั้นที่มีความรุนแรงและมักเป็นสาเหตุของการเกิดโรค โดยกว่าร้อยละ 74.7 ของผู้ป่วยในคนเกิดจาก SS2 และ ร้อยละ 2 มีสาเหตุจาก SS14 (Goyette-Desjardins et al., 2014) การวินิจฉัยเพื่อตรวจระบุ SS รวมถึงการจำแนกซีโรไทป์ของ SS ทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญอย่างมากต่อการหาสาเหตุของการเกิดโรคและการรักษาของแพทย์ ในปัจจุบันนี้เทคนิคอ้างอิงกลาง (gold standard) ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจจำแนกในระดับ serotype ของ SS ได้แก่ วิธีการทางซีรั่มวิทยา (serology) โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน (antigen) บนผิวแคปซูลกับแอนติซีรั่ม (antiserum) ที่จำเพาะกับแต่ละซีโรไทป์ โดยอาจใช้ปฏิกิริยาการตกตะกอน (capillary precipitation) หรือ การเกาะกลุ่ม (co-agglutination test) (Gottschalk et al., 1989; Perch et al., 1983; Meekhanon., 2019) อย่างไรก็ตามวิธี serology มีโอกาสเกิดการตรวจผิดพลาดระหว่างซีโรไทป์ข้าม (cross reaction) ที่มีความใกล้เคียงกัน (ambiguity) ได้ถึง 4 คู่ ทำให้เกิดปัญหาในการจำแนกซีโรไทป์ของ SS ที่ก่อโรคได้ (pathogenic serotype) และไม่ก่อโรค (non-pathogenic serotype) ดัง (ตาราง 1)

ตาราง 1 Serotypes ของ *Streptococcus suis* ที่แยกโดยวิธี Serology ได้ไม่ชัดเจน

คู่ที่	<i>Streptococcus suis</i> ที่แยกโดยเทคนิค Serology ได้ไม่ชัดเจน	
	ซีโรไทป์ที่ก่อโรคได้	ซีโรไทป์ไม่ก่อโรค
1.	Serotype 2	Serotypes ½ & 1
2.	Serotype 2	Serotype 22
3.	Serotype 6	Serotype 16
4.	Serotype 14	Serotype 1

นอกจากความไม่ชัดเจนในการระบุ serotype แล้ว ยังมีปัญหาของ serology คือ การผลิตแอนติซีรัมมีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากต้องฉีด SS แต่ละ serotype เข้าสู่สัตว์ทดลองเพื่อกระตุ้นให้ร่างกายสัตว์ทดลองสร้างแอนติซีรัมต่อต้านเชื้อ โดยทำการฉีด SS 2-3 ครั้ง/สัปดาห์ นาน 7-8 สัปดาห์ จากนั้นจึงสกัดแยกแอนติซีรัมจากตัวสัตว์ทดลองมาใช้ในการจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* ซึ่งกระบวนการทั้งหมดใช้เวลาและมีความซับซ้อน จึงทำให้แอนติซีรัมมีราคาค่อนข้างสูง

ภายหลังจึงมีการพัฒนาเทคนิคที่อาศัยสารพันธุกรรม ได้แก่ มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ (multiplex PCR) ขึ้นเพื่อใช้จำแนก serotype ของ SS แทนวิธีเดิม ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายจากห้องปฏิบัติการเนื่องจากสามารถจำแนกซีโรไทป์ของ SS ได้รวดเร็วกว่า อย่างไรก็ตาม multiplex PCR กลับมีข้อจำกัดเช่นเดียวกับวิธี serology คือ ความใกล้เคียงของสารพันธุกรรมของ SS บาง serotype สูง ดัง ตาราง 2 ในบางห้องปฏิบัติการจึงมีการใช้ serology ร่วมกับ multiplex PCR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนกซีโรไทป์ของ SS

ตาราง 2 Serotypes ของ *Streptococcus suis* ที่แยกโดยวิธี multiplex PCR ได้ไม่ชัดเจน

คู่ที่	<i>Streptococcus suis</i> ที่แยกโดยเทคนิค multiplex PCR ได้ไม่ชัดเจน	
	ซีโรไทป์ที่ก่อโรคได้	ซีโรไทป์ไม่ก่อโรค
1.	Serotype 2	Serotypes ½
4.	Serotype 14	Serotype 1

จากข้อจำกัดดังกล่าวข้างต้น การตรวจจำแนกซีโรไทป์ก่อโรคของ *Streptococcus suis* จากตัวอย่างผู้ป่วยและสัตว์ป่วยจึงยังคงมีความยุ่งยากและเป็นปัญหาทั้งในวงการแพทย์และสัตวแพทย์

การสกัดโปรตีนจากผิวเซลล์ของ SS เพื่อจำแนก serotype ด้วยเทคนิค MALDI-TOF MS สามารถจำแนก serotype ของ SS ได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ โดยเฉพาะคู่ serotypes ที่ไม่สามารถจำแนกออกจากกันได้ด้วยวิธี serology และ multiplex PCR ได้แก่ SS1 กับ SS14 และ SS ½ กับ SS2 (ตาราง 1-2) ซึ่งมีความสำคัญ เนื่องจากการจำแนกระหว่าง serotype ที่ก่อโรค (pathogenic) และไม่ก่อโรค (non pathogenic) วิธีการนี้จึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำไปใช้เพื่อวินิจฉัย SS ที่ก่อโรคจากตัวอย่างทางคลินิกและตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรในห้องปฏิบัติการทั้งทางการแพทย์และการสัตวแพทย์ด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. สร้างฐานข้อมูล peptide mass fingerprints (PMFs) ของ *Streptococcus suis* ทุก serotypes ทั่วโลก สำหรับ MALDI-TOF (Database of worldwide 32 serotypes)
2. ประเมินความถูกต้องของ MALDI-TOF ในการวินิจฉัย *Streptococcus suis* serotypes โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ½ and 2, and serotypes 1 and 14 (Accuracy of technique)
3. การทวนสอบการใช้ MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัย *Streptococcus suis* serotypes ที่แยกได้จากตัวอย่างทางคลินิกและผลิตภัณฑ์สุกรในประเทศไทย (Validation of technique)
4. การเฝ้าระวังการปนเปื้อน *Streptococcus suis* ในผลิตภัณฑ์สุกรระดับค้าปลีกใน 6 จังหวัดตัวแทน 6 ภาคทั่วประเทศ (monitoring)
5. การวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัสและการเจ็บป่วย *Streptococcus suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร (Probabilities of exposure and illness)
6. การประเมินความเจ็บป่วยหรือความเสี่ยงของ *Streptococcus suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร (risk estimate)

ทบทวนวรรณกรรม

จุลชีววิทยาของ *Streptococcus suis*

Streptococcus suis (SS) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ (facultative anaerobe) รูปร่างกลมหรือไข่ (cocci หรือ ovoid) เจริญเติบโตเป็นเซลล์เดี่ยว (singly) เป็นคู่ (pair) หรือเป็นสายสั้น (short chain) โคลินี (colony) มีขนาดค่อนข้างเล็กประมาณ 0.5-1.0 มม. สีเทาใส เงาม่อให้เกิด alpha-hemolysis บนอาหารเลี้ยงเชื้อเลือดแกะ (sheep blood agar) จึงจัดอยู่ในกลุ่ม alpha-*Streptococci* เชื้อ SS ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเกลือ (NaCl) ร้อยละ 9.5 ให้ผลลบ (negative) ต่อการทดสอบ oxidase, catalase, PYR, VP และ optochin แต่ให้ผลบวก (positive) ต่อ bile esculin และ เกือบทุก serotype (โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ก่อโรค SS serotype 2) ไวต่อยาต้านจุลชีพ Penicillin (Wangkaew et al., 2006; Marie et al., 2002) ซึ่งเป็นคุณสมบัติพื้นฐานทางชีวเคมีสำคัญที่ใช้ในการแยก SS ออกจากเชื้ออื่นๆ ในกลุ่ม alpha-*Streptococci* ด้วยกัน และตามมาด้วยการใช้เทคนิคทางอณูจุลชีววิทยา เช่น ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction) ในตรวจหา 16S ribosomal RNA ของ SS เพื่อเป็นการทดสอบยืนยันหรือระบุ SS (Lun et al., 2007)

SS สามารถจำแนกโดยอาศัย capsular polysaccharides ได้ถึง 35 serotypes โดยพบว่า *Streptococcus suis* serotype 2 (SS2) มีความสำคัญมาก เนื่องจาก มีความสัมพันธ์กับการก่อโรคทั้งในสุกรและมนุษย์ และสามารถแยกได้จากมนุษย์มากที่สุดจากการรายงานทั่วโลกรวมถึงประเทศไทยด้วย นอกจากนี้ มีการรายงานการติดเชื้อ SS ในมนุษย์ที่เกิดจาก 3 serotypes คือ serotypes 1, 2 และ 14 อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยจะพบ SS2 เป็นส่วนใหญ่ (Nutravong et al., 2014; Tharavichitkul et al., 2014; Takeushi et al., 2012; Takamatsu et al., 2008) มีการใช้เทคนิคทางอณูจุลชีววิทยาใน 2 ลักษณะ คือ การระบุแยก serotype ต่างๆ ของ SS ในเวลาเดียวกันโดยการใช้เทคนิค multiplex PCR (Lun et al., 2007) และการตรวจหาปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงของโรค (virulence factors) เช่น capsule (*cps*), muramidase-release protein (*mnp*), extra-cellular protein factor (*epf*) และ suilysin (*sly*) ด้วย (Wongsawan et al., 2015)

การคงตัวของ *Streptococcus suis* ในผลิตภัณฑ์สุกรและสิ่งแวดล้อม

SS2 จัดว่ามีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมนอกตัวสัตว์หรือมนุษย์ กล่าวคือ SS2 สามารถคงตัวที่อุณหภูมิ 60°C นาน 10 นาที อุณหภูมิ 50°C นาน 120 นาที (2 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 10°C ในซากสัตว์นาน 1.5 เดือน ใน

สภาวะอุณหภูมิ 0°C คงตัวในฝุ่นและในอุจจาระนาน 1 และ 3 เดือน ตามลำดับ ซึ่งจัดว่ามีความคงตัวนานกว่าในสภาวะอุณหภูมิ 25°C ซึ่งคงตัวในฝุ่นและในอุจจาระนาน 1 และ 8 วัน ตามลำดับ (Clifton-Hardley and Enright, 1984) *Streptococcus suis* ในสุกร

สุกรที่ติดเชื้อ SS มักจะไม่แสดงอาการในลักษณะที่เป็นพาหะนำโรค (carrier) ดังนั้น สุกรเหล่านี้จึงเป็นแหล่งกักและแพร่โรคที่สำคัญของ SS ซึ่งโดยมาก SS จะเพิ่มจำนวนในต่อมทอนซิล (tonsil) ในช่องคอ เยื่อบุระบบทางเดินหายใจ เมื่อสุกรมีภูมิคุ้มกันที่ลดลงจากสภาวะเครียดจากเหตุของระบบการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรมอย่างแออัด หรือ อากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงฉับพลัน ทำให้ SS สามารถรุกรานเข้าสู่กระแสเลือด (septicemia หรือ bacteremia) ก่อให้เกิดอาการจากสภาวะของ ข้ออักเสบ (arthritis) ปอดอักเสบ (pneumonia) เยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarditis) สมออักเสบ (encephalitis) หรือการแท้งลูก โดยระยะฟักตัวของโรค (incubation period) ค่อนข้างหลากหลายตั้งแต่ประมาณ 3 ชั่วโมง ไปจนถึง 2 สัปดาห์ ทั้งนี้ทั้งนั้นระยะฟักตัวของโรคจะขึ้นอยู่กับ การรับเชื้อเข้าสู่ร่างกายของสุกร เช่น การรับเชื้อผ่านทางบาดแผลที่ผิวหนังและต่อเนืองผ่านเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง ก็จะมีระยะฟักตัวที่สั้นกว่า (Thapaliya et al., 2015)

รายงานความชุกของ SS ในฟาร์มสุกร 11 จังหวัดภาคตะวันออกและภาคตะวันตกของประเทศไทย พ.ศ. 2552 พบ SS ในลูกสุกร สุกรขุนและแม่สุกร ร้อยละ 33.4, 35.6 และ 10.1 ตามลำดับ และเป็น SS2 ร้อยละ 0.3, 0.5 และ 0 ตามลำดับ (Pathanasophon et al., 2009) ตามมาด้วยรายงานล่าสุด พ.ศ. 2556 การสำรวจ SS ในฟาร์มสุกรจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย พบ SS จาก nasal swab ของลูกสุกร สุกรขุนแม่สุกร ร้อยละ 46 (46/100), 30.56 (114/373) และ 8.53 (11/129) ตามลำดับ โดยพบ serotypes 2, 7, และ 9 ร้อยละ 2.43 (5/206), 3.88 (8/206) และ 0.97 (2/206) ตามลำดับ (Wongchanthong et al., 2013) ดังนั้น จะสังเกตเห็นว่า SS มีการแพร่กระจายในระดับสูงในฟาร์มสุกรทั่วประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มลูกสุกรและสุกรขุน ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจาก ระดับภูมิคุ้มกันต่ำในลูกสุกรรวมถึงความเครียดของการเลี้ยงสุกรขุนอย่างแออัด ในขณะที่ความชุกของ SS ไม่มากนักในแม่สุกร แต่แม่สุกรกลับจะเป็นแหล่งกักเก็บโรคที่สำคัญในฟาร์มในลักษณะของการทะยอยแพร่กระจายไปสู่ลูกสุกรในระหว่างการคลอดและการเลี้ยงลูก (vertical transmission) ทำให้เกิดการครบวงจรของการคงอยู่ของ SS ในฟาร์มสุกรได้

Streptococcus suis ในผลิตภัณฑ์สุกร

รายงานการตรวจวิเคราะห์ SS ในผลิตภัณฑ์สุกร จะเป็นรายงานจากตัวอย่างที่เก็บจากระบบต่อมน้ำเหลืองโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ต่อมน้ำเหลือง และ ต่อม tonsil รวมถึงต่อมน้ำลายที่ศีรษะจากซากสุกร (carcass) ในโรงฆ่า (slaughterhouse) ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นส่วนมาก (ตาราง 3) กล่าวคือ

ปี พ.ศ. 2552 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากโรงฆ่าจำนวน 10 แห่งจาก 11 จังหวัดในภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยพบ SS ในต่อม tonsil ของซากสุกร ร้อยละ 14.3 (34/237) แต่ไม่พบ SS2 เลย (Pathanosophon et al., 2009)

ต่อมาอีก 1 ปี คือ พ.ศ. 2553 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากฟาร์มที่เลี้ยงแบบอุตสาหกรรม (industrial) จำนวน 90 ซาก และจากฟาร์มที่เลี้ยงแบบหลังบ้าน (backyard) จำนวน 122 ซาก ในจังหวัดเชียงใหม่ พบ SS ในต่อม tonsil, ต่อมน้ำเหลือง submaxillary หรือ ต่อมน้ำลาย (salivary gland) เฉลี่ยเพียงร้อยละ 9 (19/212) จากฟาร์มสุกรที่เลี้ยงทั้ง 2 ลักษณะ ($p = 0.64$) แต่กลับพบ SS2 ในซากจากสุกรสุขภาพดีและสุกรป่วยสูงถึง ร้อยละ 43 (12/28) และ 10 (1/10) ตามลำดับ (Padungtod et al., 2010) ดังนั้นการติดเชื้อ SS ในสุกรจึงมักจะเป็นลักษณะของพาหะ (carrier) ที่ไม่แสดงอาการของโรค แต่เมื่อมีสภาวะเครียดก็อาจจะทำให้ SS ในร่างกายแพร่ไปตามอวัยวะสำคัญในร่างกายทำให้เกิดอาการของโรคตามมา นอกจากนี้ยังมีโอกาสสูงที่จะแพร่เชื้อไปยังสุกรกลุ่มอายุต่างๆ ในฟาร์มได้ในที่สุด

ต่อมาอีก 1 ปี เช่นเดียวกัน คือ ปี พ.ศ. 2554 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากโรงฆ่าจำนวน 6 แห่งจาก 5 จังหวัดในภาคเหนือของประเทศไทย พบ SS ในต่อม tonsil และ/หรือ ต่อมน้ำลายของซากสุกรสูงขึ้นเป็น ร้อยละ 20 (38/190) และ 7.3 (14/193) ตามลำดับ (Lakkitjaroen et al., 2011) และในปีเดียวกัน ยังมีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากโรงฆ่าจำนวน 18 แห่งจากจังหวัดพะเยา 5 จังหวัด พบ SS ใน tonsil จากซากสุกรในสัดส่วนที่สูงมากถึง ร้อยละ 73.33 (264/360) และ 7.78 (28/40) ตามลำดับ โดยพบปัจจัยเสี่ยงของการพบ SS2 ในฟาร์มสุกรขุน รวมถึงฟาร์มที่มีขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ (adjusted odds ratio > 3.90) (Nuangmeg and Pathanasophon, 2011) เป็นที่น่าสังเกตว่า อุบัติการณ์ของ SS มีการเพิ่มสูงขึ้น แต่สัดส่วนของ SS2 มีระดับที่ค่อนข้างคงที่

ต่อมาอีก 2 ปี คือ พ.ศ. 2556 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS โดยตรวจ 16S rRNA และแยก serotypes โดยวิธี multiplex PCR ในซากสุกรจากโรงฆ่า 5 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบ SS, SS2, SS7 และ SS9 ในต่อม tonsil จากซากสุกร ร้อยละ 23.33 (35/150), 5.71 (2/35) 8.57 (3/35) และ 2.86

(1/35) ตามลำดับ (Wongchanthong et al., 2013) ซึ่งอุบัติการณ์ของ SS และ SS2 ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีระดับที่ใกล้เคียงกับอุบัติการณ์ในภาคตะวันตกและภาคตะวันออกในช่วง 4 ปีที่ผ่านมา

ในปีเดียวกัน พ.ศ. 2556 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS โดยตรวจ 16S rRNA และแยก serotype โดยวิธี multiplex PCR ในซากสุกรจากโรงฆ่าใน 2 จังหวัดภาคเหนือ พบ SS, SS2 และ SS14 ในต่อม tonsil ของซากสุกรที่ไม่ป่วยในจังหวัดลำปาง ร้อยละ 64.8 (153/236), 5.88 (9/153) และ 7.65 (5/153) ตามลำดับ และในจังหวัดพะเยา ร้อยละ 61.4 (343/559), 9.62 (33/343) และ 2.04 (7/343) (Pathanasophon et al., 2013) เมื่อเปรียบเทียบกับอุบัติการณ์ของ SS ในภาคเหนือเช่นเดียวกันในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา พบว่า อุบัติการณ์ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยมีอุบัติการณ์ที่คงตัวในระดับที่สูงมาก

ตาราง 3 อุบัติการณ์ (ร้อยละ) การพบ *Streptococcus suis* และ SS สายพันธุ์ก่อโรค serotype 2

ภาค	พ.ศ.	<i>Streptococcus suis</i>	SS serotype 2
ตะวันออกเฉียงเหนือ + ตะวันตก	2552	14	0
ตะวันออกเฉียงเหนือ	2556	23	6
เหนือ	2553	9	34
	2554	20	7
		73	7
	2556	63	8
	2558	N/A	13

ล่าสุดปี พ.ศ. 2558 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ แยก serotype โดยวิธี multiplex PCR ในซากสุกรจาก 6 เชียงตลาดสดในจังหวัดเชียงใหม่ พบ SS2, SS3, SS4 และ SS5 ในต่อมน้ำเหลือง sub maxillary ของซากสุกร ร้อยละ 12.5 (5/40), 17.5 (7/40), 10.0 (4/40) และ 5.0 (2/40) ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ไม่มีการรายงานสัดส่วนของ SS ในตัวอย่างที่ตรวจ และไม่ปรากฏการพบ serotype 14 ใน SS ที่แยกได้ ประเด็นที่น่าสนใจคือ อุบัติการณ์ของ SS2 จากประมาณร้อยละ 7-8 ในช่วง 2-4 ปีที่แล้ว เพิ่มมากขึ้นเป็นร้อยละ 12.5 (Wongsawan et al., 2015)

สถานการณ์ของการพบ SS ในผลิตภัณฑ์สุกร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนที่เป็นต่อม tonsil, ต่อมน้ำเหลือง และต่อมน้ำลายในส่วนหัวของสุกรในระดับโรงฆ่า มีรายงานมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน ปี พ.ศ. 2558 พบว่า แนวโน้มของ SS มีอุบัติการณ์ที่เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจังหวัดภาคเหนือของไทย

จากช่วงร้อยละ 10-20 เพิ่มขึ้นมากเป็นช่วงร้อยละ 60-70 ซึ่งมีความสอดคล้องกับอุบัติการณ์ของ SS2 ที่เพิ่มสูงขึ้น จากร้อยละ 7-8 เป็นร้อยละ 13 ด้วย ดังนั้นจากข้อมูลแนวโน้มของอุบัติการณ์ของ SS ในโรงฆ่าที่ผ่านมาเพียงไม่กี่ปีล่าสุดนี้ เป็นสัญญาณล่วงหน้าของโรคอุบัติใหม่ที่หน่วยงานของรัฐที่เกี่ยวข้องพึงเฝ้าระวังการเกิดโรค SS ในมนุษย์โดยรีบด่วนต่อไป

Streptococcus suis ในมนุษย์

โรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* (SS) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สายพันธุ์ก่อโรคในมนุษย์ คือ serotype 2 (SS2) เป็นโรคสัตว์สู่คน (zoonotic disease) ที่เกิดจากการสัมผัสกับสุกรที่มีแบคทีเรียนี้อยู่โดยผ่านบาดแผลที่ผิวหนัง ดังนั้น ผู้ที่ต้องทำงานคลุกคลีหรือสัมผัสกับตัวสุกรโดยตรงในระดับฟาร์มและโรงเชือด เช่น สัตวแพทย์ สัตวบาล ผู้เลี้ยงสุกร ผู้ที่ทำงานในโรงเชือด จึงมีความเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายได้ นอกจากนี้อุบัติการณ์ส่วนมากของโรคติดเชื้อ SS เกิดจากการบริโภคเนื้อหรือเลือดสุกรไม่สุกด้วย (foodborne disease) โดยผู้ป่วยจะมีกลุ่มอาการเฉพาะ คือ มีไข้ ร่วมกับ ปวดเมื่อยปวดตึงกล้ามเนื้อ (myalgia) ปวดศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลว การรู้สึกตัวเปลี่ยนแปลง สมองอักเสบ คอแข็ง หูหนวก เลือดออกใต้ผิวหนัง (ecchymosis) ชักและปวดข้อ (Khadthasrima et al., 2008)

การระบาดของโรคติดเชื้อ SS ในสุกรที่ประเทศจีน พ.ศ. 2548 มีการระบาดของ SS พบผู้ป่วย 215 ราย เสียชีวิต 39 ราย (ร้อยละ 56) นอกจากนี้ยังมีการระบาดในอีกหลายประเทศในเอเชีย คือ ฮองกง ไต้หวัน และเวียดนาม ในระหว่าง พ.ศ. 2527-2550 ประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อ SS พ.ศ. 2550 ส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือ พบผู้ป่วย 150 ราย เสียชีวิต 23 ราย (ร้อยละ 15) ซึ่งจำนวนตามรายงานอาจจะเพียงส่วนน้อยเท่านั้น เนื่องจาก ข้อจำกัดด้านการวินิจฉัยโรคโดยบุคลากรทางแพทย์และห้องปฏิบัติ รวมถึงโรคนี้ยังไม่เข้าสู่ระบบการรายงานโรคของกระทรวงสาธารณสุข (Chuxnum, 2009)

สำหรับการติดเชื้อ SS ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2530 เริ่มต้นมีการรายงานโรคติดเชื้อ SS จำนวน 2 ราย (Phuapradit et al., 1987) และมีการรายงานโรคติดเชื้อ SS ในช่วง 6 ปีต่อมา (Pootong et al., 1993) ตามมาด้วยรายงานโรคติดเชื้อ SS อย่างต่อเนื่องเกือบทุกปีระหว่าง ปี พ.ศ. 2540 ถึง พ.ศ. 2547 รวมผู้ป่วยจำนวน 40 ราย (Leelarassamee et al., 1997; Pumprueng and Pongvarin, 1997; Paiboonpol, 1998; Chotmongkol et al., 1999; Valaichone et al., 2002; Donsaki; et al., 2003; Suankratay et al., 2004) อีกเพียง 2 ปีต่อมา พ.ศ. 2549 มีรายงานการระบาดของโรคติดเชื้อ SS (outbreak) จำนวน 41 ราย จากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Wangkaew et al., 2006)

ปี พ.ศ. 2551 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 จำนวน 19 ราย (Kerdsin et al., 2008) ปี พ.ศ. 2554 มีรายงานจากทีมการศึกษาเดียวกันสามารถแยกเชื้อ SS2 เพิ่มสูงมากขึ้นเป็นจำนวน 165 ราย เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ ภาคเหนือ 136 ราย, ภาคกลาง 19 ราย, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 7 ราย และ ภาคตะวันออก 3 ราย โดยไม่มีรายงานการแยก SS2 ได้จากภาคใต้เลย (Kerdsin et al., 2011) แม้ว่าจะมีรายงานการตรวจพบ SS และ SS2 ในสุกรและผลิตภัณฑ์สุกรจากจังหวัดภาคเหนือหรือภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นส่วนใหญ่ (โปรดศึกษาเพิ่มเติมในหัวข้อ *Streptococcus suis* ในสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร) แต่กลับพบว่า จำนวน SS2 ที่แยกได้จากผู้ป่วยในภาคกลางกลับมีจำนวนมากกว่าจำนวน SS2 ที่แยกได้จากผู้ป่วยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือถึงเกือบ 3 เท่า ดังนั้น จึงคาดหมายได้ว่า อาจจะมีปัจจัยในการก่อโรคอื่นๆ ที่มีส่วนสำคัญนอกเหนือจากการพบ SS2 ในฟาร์มสุกรหรือผลิตภัณฑ์สุกร

ปี พ.ศ. 2555 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 และ SS14 จากผู้ป่วยในจังหวัดพะเยา ร้อยละ 74.2 (23/31) และ 25.8 (8/31) ตามลำดับ โดยปัจจัยเสี่ยงตามรายงาน คือ มีประวัติการสัมผัสกับสุกรและ/หรือการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกรดิบ ร้อยละ 70.9 (22/31) (Takeuchi et al., 2012)

ปี พ.ศ. 2557 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 จากผู้ป่วยที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่และโรคพยาบาลจังหวัดลำปาง จำนวน 43 และ 19 รายตามลำดับ (Tharavichikul et al., 2014) และในเดียวกัน พ.ศ. 2554 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 จากผู้ป่วยที่โรงพยาบาลในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 33 ราย (Nutravong et al., 2014) เป็นที่น่าสังเกตว่า แม้ว่าจะมีการตรวจพบ SS หลาย serotypes เช่น SS2, SS3, SS4, SS5, SS7, SS9 และ SS14 เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เฉพาะ SS2 เท่านั้นที่เป็นสาเหตุหลักและปัญหาในการก่อโรคในประชากรไทย

ล่าสุด ปี พ.ศ. 2558 มีรายงานปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ SS2 ผู้ป่วยในจำนวน 38 รายในจังหวัดนครพนม ระหว่าง พ.ศ. 2549-2555 ได้ลำดับปัจจัยเสี่ยงจากมากไปน้อย คือ การสัมผัสกับสุกรและ/หรือบริโภคเนื้อสุกรไม่สุกสูงถึง ร้อยละ 92.1 (35/38) อาชีพเกษตรกร ร้อยละ 86.8 (33/38) และ เพศชาย ร้อยละ 73.7 (28/38) (Praphasiri et al., 2015) และในปีเดียวกัน พ.ศ. 2558 มีรายงานการประเมินระบบเฝ้าระวังโรคไข้หูดับของโรงพยาบาล 5 แห่งใน 5 จังหวัดภาคเหนือ ปี พ.ศ. 2556 เมื่อจำแนกผู้ป่วยโรคติดเชื้อ SS เป็นรายเดือน พบว่าระหว่างเดือนกรกฎาคมและสิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน มีจำนวนรายงานสูงที่สุด ในขณะที่รายงานในประเทศฮ่องกงกลับมีรายงานผู้ป่วย SS สูงสุดในช่วงฤดูร้อน (Ma et al., 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการพบ SS ในสุกรจากโรคฆ่าในภาคเหนือของประเทศไทยในช่วงฤดูร้อน (Lakkitjaroen et al., 2011)

โดยสรุปจากอุบัติการณ์ของ SS และ SS2 ในสุกรตั้งแต่ระดับฟาร์ม ถึงโรงเชือด และโรคติดเชื้อ SS ในคน จึงจัดได้ว่าโรคติดเชื้อ SS เป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ (emerging disease) ที่ควรเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์อย่างต่อเนื่องและใกล้ชิด เนื่องจากสถานการณ์การปรากฏตัวที่มากขึ้นในประเทศแถบเอเชีย (จีน ฮองกงและเวียดนาม) รวมถึงการแพร่ระบาดมากขึ้นอย่างชัดเจนในเกือบทุกภาคของประเทศไทยเมื่อไม่นานมานี้ กอปรกับกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดให้มีการรายงานโรคติดเชื้อ SS นี้ในระบบเฝ้าระวังโรค (รง. 506)

รายงานการสอบสวนโรคติดเชื้อ *Streptococcus suis*

รายงานการสอบสวนโรคที่จัดทำโดยสำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ในกรณีที่เกิดการระบาดหรือการติดเชื้อ *Streptococcus suis* ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 ถึง 2558 พบว่า การติดเชื้อ *Streptococcus suis* นั้น มีประวัติการสัมผัสสุกร เลือด เนื้อสุกรดิบ (เช่น การชำแหละสุกร) หรือการบริโภคเนื้อสุกรดิบ เลือด ในลักษณะ ลาบสุกรดิบ ลาบเลือดสุกรดิบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการติดเชื้อจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกรสุกด้วย เช่น หัวสุกร เป็นต้น

แหล่งที่มาของ *Streptococcus suis* ในการระบาดหรือการติดเชื้อจัดว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ (risk factor) เพื่อการควบคุมและป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ อาจจะแบ่งเป็น 3 ระดับ (ตาราง 4) คือ

1. ระดับการผลิต (production)
 - 1.1 แบบฟาร์ม เป็นการเลี้ยงสุกรในรูปฟาร์มทั้งที่ได้และไม่ผ่านมาตรฐานฟาร์มสุกร
 - 1.2 แบบชาวบ้าน เป็นการเลี้ยงจำนวนไม่มาก อาจจะเลี้ยงแบบไม่ได้มาตรฐานที่เหมาะสม
2. ระดับการฆ่าและชำแหละ (processing)
 - 2.1 แบบการพาณิชย์ เช่น โรงฆ่าเทศบาล
 - 2.2 แบบชาวบ้าน เช่น การฆ่าเฉพาะกิจในงานประเพณีต่างๆ
3. ระดับการกระจายผลิตภัณฑ์ (distribution)
 - 3.1 แบบตลาดสด
 - 3.2 แบบชาวบ้าน เช่น การเร่ขาย ร้านค้าข้างถนนหรือในหมู่บ้าน

ตาราง 4 ปัจจัยเสี่ยงเชิงแหล่งที่มาในการระบาดหรือการติดเชื้อ *Streptococcus suis*

จังหวัด	พ.ศ.	การผลิต		การฆ่าและชำแหละ		การกระจาย	
		(production)		(processing)		(distribution)	
		ฟาร์ม	ชาวบ้าน	พาณิชย์	ชาวบ้าน	ตลาดสด	ชาวบ้าน
กำแพงเพชร	2549	✓	✓	✓			✓
พะเยา	2550	✓	✓	✓	✓	✓	
เชียงใหม่	2551	✓		✓		✓	
สงขลา	2551	✓			✓		✓
นครราชสีมา	2554	✓	✓		✓	✓	✓
อุตรดิตถ์	2555	✓		✓		✓	
นครราชสีมา	2558	✓		✓			✓

เมื่อประมวลข้อมูลรายงานการสอบสวนโรค มีข้อเท็จจริงปัจจัยเสี่ยงการเกิดโรค SS เบื้องต้น ดังนี้

1. สุกรที่เลี้ยงในระบบฟาร์มมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมากกว่าสุกรจากการเลี้ยงแบบชาวบ้าน
2. การฆ่าและชำแหละเชิงพาณิชย์ในระดับท้องถิ่นมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมากกว่าการฆ่าและชำแหละแบบชาวบ้าน
3. การกระจายผลิตภัณฑ์สุกรทั้งการซื้อจากตลาดสดทั่วไปและการเร่ขายในหมู่บ้านมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค SS

ดังนั้น การเฝ้าระวัง SS สามารถช่วยระบุแหล่งที่มาของ SS ได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

การตรวจระบุจีโนสและสปีชีส์ของ *Streptococcus suis*

(Genus and Species Identification of *Streptococcus suis*)

ปัจจุบันนี้หลังจากการแยกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *Streptococcus suis* จากตัวอย่างของผู้ป่วยหรือสุกรป่วยแล้ว การตรวจระบุจีโนสของเชื้อสามารถทำได้โดยตรวจคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical test) และตรวจยืนยันในระดับสปีชีส์ด้วยการตรวจสอบสารพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยตรวจ housekeeping gene ที่มีความจำเพาะกับเชื้อ ได้แก่ glutamate dehydrogenase (*gdh*) (Nutravong et al., 2014) ซึ่งบ่อยครั้งความผิดพลาดอาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากข้อจำกัด

ของวิธีการ โดยการตรวจคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้ออาจให้ผลทับซ้อนกับ *Streptococcus* spp. อื่น ๆ (Kerdsin et al., 2009; Huong et al., 2014) และเทคนิค PCR อาจให้ผลลัพธ์ซึ่งเป็นผลบวกปลอม (false positive) กับ โคลีนีของ *S. gallolyticus* ได้ (Tien le et al., 2012)

การจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* (Serotype Identification of *Streptococcus suis*)

การจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* จะดำเนินการหลังจากตรวจคุณสมบัติทางชีวเคมีและตรวจยืนยันสปีชีส์ของเชื้อด้วยเทคนิค PCR เรียบร้อยแล้ว ข้อดีของการจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* คือ ทำให้ทราบความสามารถในก่อโรคของเชื้อ เนื่องจาก *Streptococcus suis* แต่ละซีโรไทป์มีความสามารถในการก่อโรคที่แตกต่างกัน (pathogenicity) ซีโรไทป์ที่มีความรุนแรง (virulent) และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคในคน ได้แก่ ซีโรไทป์ 2 ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคสเตรปโตค็อกคัสในผู้ป่วยมากถึง 74.4% (Goyette-Desjardins et al., 2014) ในขณะที่บางซีโรไทป์ เช่น 10, 25 และ 32 ไม่พบรายงานการก่อโรคทั้งในคนและสุกร ดังนั้นการจำแนกซีโรไทป์จึงมีความสำคัญอย่างมาก

ห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคพึงจำแนกซีโรไทป์ทุกครั้งเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลในการยืนยันว่า *Streptococcus suis* เป็นสาเหตุที่แท้จริงของการเกิดโรค นอกจากนี้ข้อมูลดังกล่าวยังเป็นประโยชน์ในการติดตามสถานการณ์การแพร่กระจายของโรคและการกำหนดมาตรการการควบคุมการระบาดของ *Streptococcus suis* อีกด้วย

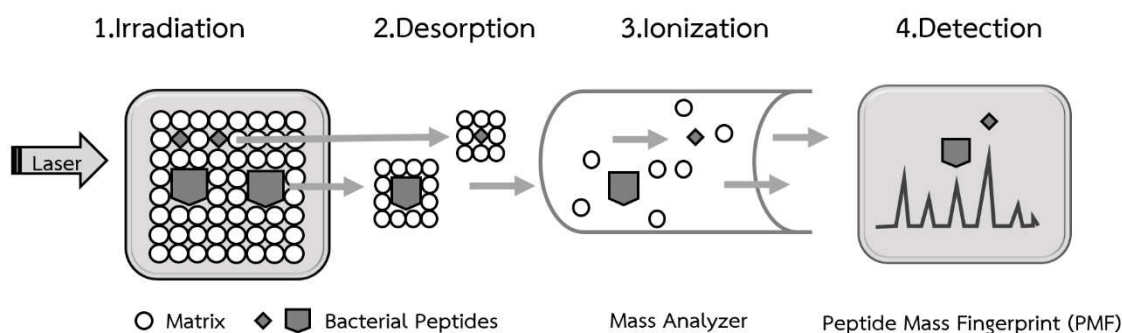
เทคนิคทางซีรัมวิทยา (Serology) ได้แก่ ปฏิกริยาการตกตะกอน (capillary precipitation) หรือ การเกาะกลุ่ม (co-agglutination test) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมในการจำแนกซีโรไทป์ของเชื้อ โดยจำแนกตามความแตกต่างกันของแอนติเจนบริเวณแคปซูลของเชื้อแต่ละซีโรไทป์ (Meekhanon et al., 2016) อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีโอกาสเกิดการตรวจผิดพลาดระหว่างซีโรไทป์ (cross reaction) ที่มีความใกล้เคียงกันได้ เช่น ระหว่าง SS $\frac{1}{2}$, 1 และ 2, SS6 และ 16, SS2 และ 22, SS1 และ 14 ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในการจำแนกซีโรไทป์ที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคออกจากกัน นอกจากนี้การผลิตแอนติซีรัมมีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยากและมีราคาสูง ภายหลังจึงมีการพัฒนาเทคนิคที่อาศัยสารพันธุกรรม ได้แก่ มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ (multiplex PCR) ขึ้น เพื่อใช้จำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* แทนวิธีเดิม ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายจากห้องปฏิบัติการเนื่องจากสามารถจำแนกซีโรไทป์ของเชื้อได้และใช้เวลาน้อยกว่า อย่างไรก็ตาม multiplex PCR ยังคงมีข้อเสียสำคัญ คือ ไม่สามารถจำแนก SS1 กับ SS14 และ SS $\frac{1}{2}$ กับ SS2 ได้ เนื่องจากเชื้อมีความใกล้เคียงกันสูง ทำให้ไม่สามารถแยกซีโรไทป์ที่เป็นปัญหาสำคัญออกจากกันได้ จากข้อจำกัดดังกล่าวมาข้างต้นภาพรวมของการตรวจจำแนกซีโรไทป์ก่อโรคของ

Streptococcus suis จากตัวอย่างผู้ป่วยและสุกรป่วยจึงยังคงมีความยุ่งยากและเป็นปัญหาทั้งในวงการแพทย์และสัตวแพทย์

หลักการของ MALDI-TOF MS

(Principle of MALDI-TOF MS)

หลักการของ MALDI-TOF MS ใช้การวิเคราะห์ mass spectrum ที่แตกต่างกันของโปรตีน (protein) ที่สกัดได้จากจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยอาศัย matrix ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ช่วยทำหน้าที่เป็นตัวถ่ายทอดพลังงานจากเลเซอร์ไปสู่อิออนโปรตีน ทำให้โปรตีนที่สกัดได้จากแบคทีเรียเกิดการเปลี่ยนสถานะเป็นไอออน โปรตีนที่กลายเป็นไอออนจำนวนหนึ่งที่มีขนาดหรือมวลที่ต่างกันนี้ เมื่อถูกบังคับให้เดินทางผ่านท่อสุญญากาศ ไอออนจำนวนหนึ่งที่มีมวลแตกต่างกันย่อมเดินทางในท่อสุญญากาศนี้ด้วยความเร็วที่ไม่เท่ากันตามสัดส่วนของมวลของไอออน รูปแบบการเดินทางที่ต่างกันของไอออนจำนวนหนึ่งเหล่านี้จึงมีความจำเพาะ เรียกว่า peptide mass fingerprint (PMF) ภาพ 1



ภาพ 1 หลักการของ MALDI-TOF MS ในการแยกชนิดแบคทีเรีย

การใช้เครื่อง MALDI-TOF MS ในการตรวจระบุชนิดแบคทีเรีย

(MALDI-TOF MS for Bacterial identification)

ปัจจุบันการใช้เครื่อง MALDI-TOF MS มาช่วยในการตรวจระบุชนิดแบคทีเรียนั้น ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงและสามารถจำแนกชนิดแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ โดยได้มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ศึกษาและจำแนกแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* และ *Campylobacter spp.* (Muroi et al., 2011; Dieckmann and Malorny, 2011 and Kiehntopf et al., 2011)

MALDI-TOF MS วิเคราะห์รูปแบบการเดินทางที่แตกต่างกันของไอออนจำนวนหนึ่งที่เรียกว่า peptide mass fingerprint (PMF) ของโปรตีนที่สกัดได้จากเชื้อแต่ละชนิด โดยรูปแบบการเดินทางที่แตกต่างกันของไอออนเหล่านี้มีความจำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ และสามารถนำมาใช้เพื่อการวิเคราะห์จำแนกชนิดของแบคทีเรียได้ โดยจะแสดงผลอยู่ในรูปของสเปกโตรแกรมที่เรียกว่า peptide mass fingerprint (PMF) การระบุชนิดแบคทีเรียจากตัวอย่างว่าเป็นชนิดใดนั้น อาศัยการเปรียบเทียบ PMF ของแบคทีเรียตัวอย่างกับ PMFs ของแบคทีเรียในฐานข้อมูล (database) ซึ่งความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของการตรวจระบุชนิดแบคทีเรียขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของข้อมูล PMFs ในฐานข้อมูลด้วย (Singhal et al., 2015)

ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกันต่อ PMFs

(Effect of bacterial culture condition and medium upon PMFs)

Streptococcus suis เป็นแบคทีเรียที่สามารถปรับตัวให้เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไร้ออกซิเจน (Unden et al., 1994) ซึ่งการปรับระบบเมตาบอลิซึมเพื่อให้เข้ากับสภาพแวดล้อมนี้อาจส่งผลให้การแสดงออกของโปรตีนมีความเปลี่ยนแปลงไป และอาจส่งผลให้ PMFs ที่ได้จากการวิเคราะห์โดย MALDI-TOF MS ของโปรตีนจากเชื้อทั้งสองสภาวะมีความแตกต่างกันตามไปด้วย การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ผลของสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน คือสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ต่อการแสดงออกของ PMFs ของเชื้อเมื่อทดสอบด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงให้แก่ห้องปฏิบัติการในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus suis* สำหรับนำมาทดสอบด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS และเพื่อเป็นข้อมูลในการสร้างฐานข้อมูลที่ครอบคลุม PMFs ของเชื้อที่ได้จากการเจริญเติบโตจากทั้งสองสภาวะ

ในทำนองเดียวกัน อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความแตกต่างกัน อาจส่งผลให้การแสดงออกของโปรตีนมีความแตกต่างกันได้ อันจะนำมาซึ่ง PMFs ที่ไม่เหมือนกัน ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้มีการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างชนิดกันต่อการแสดงออกของ PMFs ของเชื้อเมื่อนำมาทดสอบด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS ด้วยเช่นกัน โดยทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยง *Streptococcus suis* ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแห้งที่มีส่วนผสมของเลือดแกะ 5% (Columbia blood agar; CBA) และอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Todd Hewitt Broth) เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงให้แก่ห้องปฏิบัติการและเพื่อเป็นข้อมูลในการสร้างฐานข้อมูล PMFs ของ *Streptococcus suis* ต่อไป

การดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis*

ยาต้านจุลชีพที่แพทย์เลือกใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Streptococcus suis* คือ penicillin กอปรกับการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ที่แยกได้จากผู้ป่วยยังไวต่อ penicillin อยู่ในขณะที่ค่าเฉลี่ยอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ที่แยกได้จากสุกรต่อ penicillin สูงถึงร้อยละ 40 นั้น กลับเป็นตัวเลขที่สวนทางกับความไวต่อ penicillin ในผู้ป่วย ดังนั้น การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพยังคงมีความสำคัญ เพื่อเป็นการเฝ้าระวังแนวโน้มการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ทั้งในผู้ป่วยและสุกรอย่างต่อเนื่อง

สถานการณ์ในผู้ป่วย มีรายงานการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* จำนวน 32 isolates ปี พ.ศ. 2547 พบว่า ไวต่อ penicillin และ cefotaxime ซึ่งยังไม่มีรายงาน *Streptococcus suis* ที่ดื้อต่อ penicillin เลย (Suankratay et al., 2004) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานต่อมาอีก 2 ปี (พ.ศ. 2549) มีรายงานการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* จำนวน 41 isolates พบว่า ไวต่อ penicillin ทั้งหมด (Wangkaew et al., 2006)

ในขณะที่ ต่อมาอีกประมาณ 10 ปี มีรายงานการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* จำนวน 26 isolates ปี พ.ศ. 2557 พบว่า สายพันธุ์ Sequence Type (ST) 337 serotype 2 ทั้งหมดไวต่อ ampicillin, chloramphenicol, cefepime, ceftriaxone, clindamycin, erythromycin, penicillin และ vancomycin ในขณะที่ สายพันธุ์ ST1, ST104 และ ST233 serotype 2 และ สายพันธุ์ ST105 serotype 14 กลับพบการดื้อต่อ clindamycin อัตราร้อยละ 80, 100, 100 และ 87.5 ตามลำดับ และ ดื้อต่อ erythromycin อัตราร้อยละ 73.3, 100, 100 และ 100 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า สายพันธุ์ ST1 serotype 2 มีการดื้อต่อ cefepime อัตราร้อยละ 7 (Khamisara et. al., 2014) จะสังเกตได้ว่า serotype 2 มีอัตราการดื้อยาที่แตกต่างกันตามสายพันธุ์ย่อย (sequence type : ST) ที่แตกต่างกัน และเมื่อ *Streptococcus suis* serotype 2 มีการดื้อยาแล้ว ก็จะมีอัตราการดื้อยาที่สูงด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าแนวโน้มของ *Streptococcus suis* serotype 2 สายพันธุ์ที่ดื้อยานั้น เริ่มพบการดื้อยาในกลุ่ม cephalosporin generation ใหม่ๆ แต่ในทางตรงกันข้ามยังไม่พบการดื้อต่อ penicillin เลย

ล่าสุดในปี พ.ศ. 2558 มีผลการศึกษาที่สอดคล้องกันในเชิงการดื้อยา กล่าวคือ *Streptococcus suis* serotype 2 จำนวน 37 isolates ไวต่อ penicillin ในขณะที่ จำนวนเพียง 11 isolates เท่านั้นที่ไวต่อ

ceftriaxone ซึ่งเป็นยาชนิดแรกที่ทำให้ผู้ป่วยสำหรับกรณีติดเชื้อทางกระแสโลหิต (sepsis) หรือ สมองอักเสบ (meningitis) (Praphasiri et al., 2015)

จากการรายงานการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ในผู้ป่วย พบว่า penicillin ยังคงเป็น drug of choice ในการรักษาที่เหมาะสมอยู่ ในขณะที่ต้องมีการเฝ้าระวังแนวโน้มการดื้อยาต่อ cephalosporin ใน generation ใหม่ ๆ ด้วย

สถานการณ์ในสุกร มีรายงานการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* เมื่อไม่นานมานี้ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 จำนวน 349 isolates พบการดื้อยาโดยเรียงจากมากไปหาน้อย ดังนี้

- erythromycin (95.8%)
- enrofloxacin (92.3%)
- ciprofloxacin (87.1%)
- ampicillin (33.5%)
- cephalothin (10.9%)
- amoxicillin (10.3%)
- amoxicillin-clavulanic acid (3.2%) (Pathanasophon et al., 2009)

ต่อมาอีก 2 ปี มีรายงานการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ที่แยกได้จากสุกร จำนวน 52 isolates มีอัตราการดื้อยาเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้

- lincomycin (100%)
- tetracycline (96%)
- trimethoprim-sulfamethoxazole (54%)
- enrofloxacin (40%)
- penicillin (38%)
- amoxicillin (31%)
- ampicillin (27%)
- ceftiofur (4%) (Lakkitjaroen et al., 2011)

ต่อมาอีก 2 ปี มีรายงานการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ที่แยกได้จากสุกรจำนวน 206 isolates มีอัตราการดื้อยาเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้

▫ oxytetracycline	(98%)
▫ erythromycin	(93%)
▫ norfloxacin	(85%)
▫ kanamycin	(84%)
▫ trimethoprim/sulfamethoxazole	(50%)
▫ penicillin G	(35%)
▫ enrofloxacin	(31%)
▫ ciprofloxacin	(26%)
▫ gentamicin	(18%)
▫ ampicillin	(15%)
▫ cloxacillin	(10%)
▫ amoxicillin	(5%)
▫ amoxicillin/clavulanic acid	(1%)
▫ cephalothin	(1%) (Wongchanthong, et al., 2013)

ในปีต่อมา มีรายงานการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* type 2 ที่แยกได้จากสุกรจำนวน 31 isolates มีอัตราการดื้อยาเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ tetracycline (83.7%) penicillin G (48.4%) cephalixin (32.3%) amoxicillin (9.7%) gentamycin (6.4%) (Noppon et al., 2014)

ข้อสังเกต คือ การดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* ที่แยกได้จากสุกรและผู้ป่วยมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อัตราการดื้อต่อ penicillin ใน *Streptococcus suis* ที่แยกได้จากสุกรอยู่ในช่วง ร้อยละ 35-48 ดังนั้นจึงยังมีความจำเป็นในการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Streptococcus suis* เพื่อเป็นการแจ้งเตือนล่วงหน้าสำหรับแพทย์

แม้ว่าการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพในสุกรจะเพิ่งเริ่มต้นมาเพียงไม่เกิน 10 ปีเท่านั้น อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในเชิงการแจ้งเตือนการดื้อยาต้านจุลชีพในผู้ป่วยล่วงหน้า (pre-warning) และเตรียมความพร้อมในการเลือกใช้ยาในการรักษาการติดเชื้อ *Streptococcus suis* ซึ่งเมื่อผู้ป่วยมีอาการจากการติดเชื้อในกระแสเลือดหรือสมองอักเสบ การเลือกใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมจะทำให้แพทย์สามารถรักษาชีวิตของผู้ป่วยได้ทันท่วงที

วิธีการดำเนินการวิจัย

การพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค

1. รวบรวม *S. suis* serotypes
 - จำนวน 33 Serotypes ตั้งแต่ 1-34 และ ½ (ยกเว้น ซีโรไทป์ 15 และ 21)
 - เชื้อที่แยกได้จากคลินิกและตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร
2. ตรวจระบุเชื้อและตรวจจำแนกซีโรไทป์
 - ตรวจระบุ ด้วย multiplex PCR (mPCR)
 - ตรวจยืนยัน ด้วยการตรวจลำดับเบสของดีเอ็นเอ (DNA sequencing)
3. ศึกษาผลจากสภาวะการเพาะเลี้ยงเชื้อ ต่อการแสดงออกของ peptide mass fingerprint ของเชื้อ เมื่อทดสอบด้วย MALDI-TOF MS
 - บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดเป็นส่วนผสม (Columbia blood agar; CBA) สภาวะมีออกซิเจน
 - บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดเป็นส่วนผสม (Columbia blood agar; CBA) สภาวะไม่มีออกซิเจน
4. สกัดโปรตีนจากผิวเซลล์ของ *S.suis*
 - วัดและปรับปริมาณโปรตีนที่ได้จากการสกัดจากเชื้อแต่ละตัวอย่างให้อยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสมกับเมทริกซ์ที่ใช้
 - ผสมโปรตีนจากตัวอย่างกับเมทริกซ์ในอัตราส่วนที่เหมาะสม
 - สปอต (spot) ตัวอย่างจาก ข้อ 7 ลงบน MALDI-TOF MS's target plate
5. วิเคราะห์ peptide mass fingerprint
 - วิเคราะห์ผลของสภาวะการเลี้ยงที่ต่างกันต่อการแสดงออกของ peptide mass fingerprint ของเชื้อ เมื่อทดสอบด้วย MALDI-TOF MS
6. สร้างฐานข้อมูลของเชื้อแต่ละซีโรไทป์
7. ทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจระบุเชื้อและฐานข้อมูล
 - Repeatability ตรวจสอบความแม่นยำด้วยวิธีการสกัดเดิมซ้ำๆ
 - Validation ตรวจสอบวิธีการสกัดกับเชื้อใหม่
 - Reproducibility ตรวจสอบวิธีการสกัดด้วยการเพาะเชื้อใหม่
 - Test Agreement (Kappa's cohen) ตรวจสอบผล MALDI-TOF กับ mPCR
8. ศึกษาโปรตีนที่ต่างกันของเชื้อแต่ละซีโรไทป์ในระดับลำดับกรดอะมิโน (amino acid sequence) ด้วยเครื่อง LC MS/MS โดยใช้โปรตีนที่สกัดและวัดปริมาณแล้วจากข้อ 4

การประเมินความเสี่ยงโรคใช้หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อนด้วย *Streptococcus suis*

การเก็บตัวอย่าง

- ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร
 - เนื้อสุกร : ตลาดทันสมัยและตลาดสด อย่างละ 10 ตัวอย่าง/จังหวัด/ฤดู
 - ต่อมทอนซิล 2 ตัวอย่าง/จังหวัด/ฤดู
 - เลือด 2 ตัวอย่าง/จังหวัด/ฤดู
 - อวัยวะในช่องอก เช่น ปอด หัวใจ 3 ตัวอย่าง/จังหวัด/ฤดู
 - อวัยวะในช่องท้อง เช่น ตับ ไต 3 ตัวอย่าง/จังหวัด/ฤดู
- พื้นที่การเก็บตัวอย่าง แบ่งเป็น 6 จังหวัดใน 6 ภาคทั่วประเทศ
 1. ภาคกลาง เช่น กรุงเทพมหานคร หรือ นครสวรรค์
 2. ภาคตะวันตก เช่น ประจวบคีรีขันธ์
 3. ภาคตะวันออก เช่น ชลบุรี
 4. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น ขอนแก่น
 5. ภาคใต้ เช่น ภูเก็ต
 6. ภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่
- ระยะเวลา : เดือนที่ 1, 5 และ 9 ให้ครอบคลุม 3 ฤดูกาล
- ประสานงานการเก็บตัวอย่างกับหน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้อง
- จำนวนตัวอย่าง 180 ตัวอย่าง/ฤดูกาล x 3 ฤดู รวมทั้งสิ้น 540 ตัวอย่าง (ตาราง 5)

ตาราง 5 การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรรายภาคในการประเมินความเสี่ยง

จังหวัด	ผลิตภัณฑ์สุกร			รวม/ฤดู	ฤดู	รวม
	เนื้อเย็น	เนื้ออุ่น	อวัยวะภายใน*			
1.กลาง	10	10	10	30	3	90
2.ตะวันตก	10	10	10	30	3	90
3.ตะวันออก	10	10	10	30	3	90
4.ตะวันออกเฉียงเหนือ	10	10	10	30	3	90
5.ใต้	10	10	10	30	3	90
6.เหนือ	10	10	10	30	3	90
					รวม	540

* อวัยวะภายใน เช่น ต่อมทอนซิล เลือด อวัยวะช่องอก อวัยวะช่องท้อง

การนับจำนวน *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์สุกร

- การวิเคราะห์การปนเปื้อน SS เชิงปริมาณ โดย Standard plate count (SPC)
 - Columbia blood agar (CBA)
 - เพาะเลี้ยงที่ 37 °ซ 18-24 ชั่วโมง
 - สังเกต colony ขนาดเล็กสีเทา และ alpha (partial) hemolysis
- คุณสมบัติทางชีวเคมี (Biochemical properties) แนะนำโดย Center for Disease Control and Prevention (Murray et al., 2003)
 - 6.5% NaCl agar : Negative (no growth)
 - Catalase test : Negative
 - Starch hydrolysis : Positive
- ยืนยัน *Streptococcus suis* ด้วย PCR โดยการตรวจยีน *gdh* และ/หรือ 16S rRNA (Wongsawan et al., 2015, Pathanasophon et al., 2013)
- ระบุ *Streptococcus suis* serotype ด้วย MALDI-TOF MS

การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ (quantitative microbial risk assessment)

1. การระบุอันตราย (Hazard identification) เป็นการทบทวนและยืนยันการเจ็บป่วยจริงที่เกิดจากอันตรายที่สนใจ ซึ่งในที่นี้ ก็คือ จุลินทรีย์ก่อโรคที่ติดต่อทางการบริโภคอาหารและน้ำ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และ โปรโตซัวชนิดต่างๆ ที่สามารถก่อโรคในคนได้ ดังนั้น โดยทั่วไปแล้ว ขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา

2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization) เป็นการประเมินความน่าจะเป็นหรือจำนวนการเจ็บป่วยต่อเนื่องจากการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค โดยอาศัยข้อมูลจากขั้นตอน การประเมินการสัมผัส

การตอบสนองของประชากรมนุษย์เมื่อได้รับจุลินทรีย์เข้าในร่างกายนั้น เป็นกระบวนการที่ซับซ้อนอย่างยิ่ง เนื่องจาก ประกอบด้วยปัจจัยมากมายที่เข้ามาเกี่ยวข้อง แต่อาจจะสามารถแจกแจงได้เป็น 3 องค์ประกอบหลักที่สำคัญ คือ

- องค์ประกอบทางจุลชีววิทยา (Microbiological factor)
- องค์ประกอบทางร่างกาย (Host factor)
- องค์ประกอบทางอาหารบริโภค (Food matrix factor)

เนื่องจาก ยังไม่มี dose-response model ที่จำเพาะสำหรับ SS2 ดังนั้น จะเลือกใช้ dose-response model ของจุลินทรีย์อื่นแทน (surrogate) ที่ให้การตอบสนองต่อการเจ็บป่วยใกล้เคียงกับ SS2 ในกลุ่ม Gram positive เช่น *Listeria monocytogenes* (Golnazarian et al., 1989) หรือ *Staphylococcus aureus* (Rose and Haas, 1999; Lee et al., 2015) เป็นต้น

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) เป็นการประเมินโอกาสในการรับสัมผัส (exposure) กับอันตราย ซึ่งในที่นี้ ก็คือ การได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจจะปนเปื้อนมากับอาหารและน้ำที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้น ข้อมูลสำคัญในการประเมินการสัมผัส ก็คือ

3.1 ข้อมูลการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารและน้ำ (Prevalence & Concentration)

- ความชุก (Prevalence) การแจกแจงความน่าจะเป็นของความชุกจะใช้ Beta distribution เป็นการอาศัยหลักการกระบวนการทวินาม (Binomial process) กล่าวคือ ความชุกหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่สนใจนั้นมีความเป็นไปได้เพียง 2 กรณีเท่านั้น คือ มีการปนเปื้อนและไม่มีการปนเปื้อน ดังนั้น จึงได้นำเอาหลักการนี้มาวิเคราะห์หาระดับความชุกหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างหรือตัวแปรสุ่มที่สนใจ

- ความเข้มข้น (Concentration) การเลือกแบบการแจกแจงความน่าจะเป็นสำหรับความเข้มข้น (Poisson Distribution) ระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในตัวอย่างนั้น จะสอดคล้องกับแบบการแจกแจงแบบ

Poisson ซึ่งมีการกำหนดค่าพารามิเตอร์ λ (อ่านว่า แลมดา) เพื่อสร้างการแจกแจงความน่าจะเป็น ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ก็คือ ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในตัวอย่างที่ศึกษา

3.2 ปริมาณการบริโภคเนื้อสุกร (pork consumption)

ข้อมูลปริมาณการบริโภคมีการรายงานโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติในรูปแบบของเอกสาร และแบบ search online (<http://consumption.acfs.go.th/index.php>)

3.3 แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินการสัมผัส

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_E) เป็นการอธิบายโอกาสหรือความเป็นไปได้ที่ร่างกายจะได้รับสัมผัสจุลินทรีย์ก่อโรคอย่างน้อย 1 หน่วยก่อโรค (เซลล์แบคทีเรีย หรือ อนุภาคไวรัส) ซึ่ง P_E เป็นค่าที่เป็นตัวแทนอธิบายโอกาสการเกิดเหตุการณ์การสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคอาหารและน้ำ โดยใช้แบบจำลอง

$$P_E = P(1 - e^{-N}) \quad (1)$$

โดยที่

P คือ ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อสุกร

N คือ จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคที่ได้รับเข้าไปในร่างกาย

โดยที่

$$N = \text{Concentration} \times \text{Consumption} \quad (2)$$

โดยที่

Concentration คือ ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อสุกร

Consumption คือ ปริมาณการบริโภคเนื้อสุกรครั้ง (serving) หรือ ต่อมื้อ (meal)

4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) เป็นการประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้น ขั้นตอนนี้จึงเป็นการบูรณาการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 3 ตามด้วย ขั้นตอนที่ 2 กล่าวคือ เป็นการพิจารณาความน่าจะเป็นต่อเนื่องของ 2 เหตุการณ์หลัก คือ ¹เหตุการณ์ในการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคปริมาณหนึ่ง (dose) ตามมาด้วย ²เหตุการณ์การเกิดโรค (response) อันเกิดจากปริมาณจุลินทรีย์ที่ได้รับ ดังนั้น แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยง รวมทั้ง 2 เหตุการณ์ต่อเนื่องกัน คือ

$$P_S = P_E \times P_I(d) \quad (3)$$

โดยที่

- P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับเนื้อสุกรเพียง 1 ครั้ง
 P_E คือ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัสกับจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 หน่วยก่อโรค
 $P_I(d)$ คือ ค่าน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย หรือ สัตว์ส่วนผู้ป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคจำนวน d

ในสมการ (3) เป็นค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหารหรือน้ำเพียง 1 ครั้ง (single exposure) อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้สูงที่อาจจะมีการสัมผัสกับอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคมมากกว่า 1 ครั้ง (multiple exposure)

$$P_M = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_S) \quad (4)$$

โดยที่

- P_M คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับเนื้อสุกร n ครั้งในระยะเวลาที่สนใจ เช่น 1 ปี
 P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับเนื้อสุกรเพียง 1 ครั้ง

จากนั้น จึงนำข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 10,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม @Risk 4.5.3 Professional edition (Risk analysis Add-in for Microsoft Excel : Palisade Corporation) ก็จะได้การแจกแจงค่าน่าจะเป็นของความเสี่ยงของประชากรไทย ต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

ผลการศึกษา

การพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค

ผลการพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค จำนวน 33 serotypes ซึ่งสามารถใช้ในการตรวจระบุซีโรไทป์ของ *S. suis* ได้อย่างถูกต้อง ทำให้สามารถแก้ปัญหาการซ้ำซ้อนของ *S. suis* ซีโรไทป์ 1, 2, 14 และ ½ โดยวิธีการ serotyping และ multiplex PCR ในอดีตได้ โดยผลการศึกษาได้นำเสนอในรูปแบบของ research article (ภาพ 2) แจกแจงตามหัวข้อของการดำเนินการ ดังแสดงใน

PLOS ONE

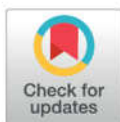
RESEARCH ARTICLE

Streptococcus suis serotyping by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

Chadaporn Chaiden¹, Janthima Jaresitthikunchai², Anusak Kerdsin³, Nattakan Mee Khanon⁴, Sittiruk Roytrakul², Suphachai Nuanualsuwan^{1,5*}

1 Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, **2** Functional Proteomics Technology Laboratory, Functional Ingredients and Food Innovation Research Group, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology for Development Agency, Pathum Thani, Thailand, **3** Faculty of Public Health, Kasetsart University Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon, Thailand, **4** Department of Veterinary Technology, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, **5** Food Risk Hub, Research Unit of Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

* suphachai.n@chula.ac.th



ภาพ 2 Research article การพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก *S.suis* ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค

ตาราง 6 ผลการพัฒนา MALDI-TOF MS ในการวินิจฉัยแยก *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค จำนวน 33 serotypes

หัวข้อ ดำเนินการโครงการ	Research article	
	หัวข้อ	หน้า
1. รวบรวม <i>S.suis</i> serotypes	Materials and Methods	
	▫ Bacterial strains	2/14
	▫ Table 1	3/14
2. ตรวจระบุเชื้อและตรวจจำแนกซีโรไทป์	Materials and Methods	
	▫ Bacterial strains	2/14
	▫ Table 1	3/14
	▫ Serotype analysis by mPCR	4/14
	Results	
▫ Table 2	5/14	
3. ผลจากสภาวะการเพาะเลี้ยงเชื้อ ต่อการแสดงออก peptide mass fingerprint (PMF) ของเชื้อ ด้วย MALDI-TOF MS	Materials and Methods	
	▫ Reproducibility or culture-condition repeatability	5/14
	Results	
▫ Reproducibility	9/14	
4. สกัดโปรตีนจากผิวเซลล์ของ <i>S.suis</i>	Materials and Methods	
	▫ Peptide extraction	3/14
5. วิเคราะห์ peptide mass fingerprint	Materials and Methods	
	▫ Peptide analysis by MALDI-TOF-MS	4/14
6. สร้างฐานข้อมูลของเชื้อแต่ละซีโรไทป์	Results	
	▫ Figure 1	6/14

 7. ทดสอบประสิทธิภาพวิธีการตรวจระบุเชื้อและ

ฐานข้อมูล

Materials and Methods

▫ Repeatability ตรวจสอบความแม่นยำ 4/14
ด้วยวิธีการสกัดเดิมซ้ำๆ

▫ Validation ตรวจสอบวิธีการสกัดกับ 4/14
เชื้อใหม่

▫ Reproducibility ตรวจสอบวิธีการ 5/14
สกัดด้วยการเพาะเชื้อใหม่

▫ Test Agreement : MALDI-TOF กับ 5/14
mPCR

Result

▫ Repeatability 7/14

▫ Validation 8/14

▫ Reproducibility 9/14

▫ Test Agreement 9/14

RESEARCH ARTICLE

Streptococcus suis serotyping by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

Chadapom Chaiden¹, Janthima Jaresitthikunchai², Anusak Kerdsin³, Nattakan Meekhanon⁴, Sittiruk Roytrakul², Suphachai Nuanualsuwan^{1,5*}

1 Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, **2** Functional Proteomics Technology Laboratory, Functional Ingredients and Food Innovation Research Group, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology for Development Agency, Pathum Thani, Thailand, **3** Faculty of Public Health, Kasetsart University Chalermpokklai Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon, Thailand, **4** Department of Veterinary Technology, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, **5** Food Risk Hub, Research Unit of Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

* suphachai.n@chula.ac.th

OPEN ACCESS

Citation: Chaiden C, Jaresitthikunchai J, Kerdsin A, Meekhanon N, Roytrakul S, Nuanualsuwan S (2021) *Streptococcus suis* serotyping by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. PLoS ONE 16(5): e0249682. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682>

Editor: Joseph Banoub, Fisheries and Oceans Canada, CANADA

Received: January 24, 2021

Accepted: March 22, 2021

Published: May 4, 2021

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682>

Copyright: © 2021 Chaiden et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its [Supporting Information files](#).

Abstract

Streptococcus suis, particularly *S. suis* serotype 2 (SS2), is an important zoonotic pathogen causing meningitis in humans worldwide. Although the proper classification of the causative and pathogenic serotype is salutary for the clinical diagnosis, cross-reactions leading to the indistinguishability of serotypes by the current serotyping methods are significant limitations. In the present study, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) analysis of extracted peptides was developed to improve the classification of serotype of *S. suis*. The peptide mass fingerprint (PMF) database of *S. suis* was generated from the whole-cell peptides of 32 reference strains of *S. suis* isolates obtained from pigs. Thirty-two human *S. suis* isolates from clinical cases in Thailand were used to validate this alternative serotyping method in direct comparison to the multiplex (m) PCR approach. All reference strains, representing 32 serotypes of *S. suis*, exhibited their individual PMFs patterns, thus allowing differentiation from one another. Highly pathogenic SS2 and SS14 were clearly differentiated from the otherwise serologically closely related SS1/2 and SS1, respectively. The developed MALDI-TOF-MS serotyping method correctly classified the serotype in 68.8% (22/32) of the same serotype isolates generated from the PMFs database; while the validity for the clinical human isolates was 62.5% (20/32). The agreement between the MALDI-TOF-MS and mPCR serotyping was moderate with a Kappa score of 0.522, considering that mPCR could correctly serotype up to 75%. The present study demonstrated that PMFs from the developed MALDI-TOF-MS-based method could successfully discriminate the previously indistinguishable highly pathogenic SS2 and SS14 from SS1/2 and SS1, respectively. Moreover, this serotyping method distinguished pathogenic SS6, and so is an alternative approach of choice to rapidly and reliably serotype clinically pathogenic *S. suis* isolates.

Funding: This study was supported by The 100th Anniversary Chulalongkorn University Fund for Doctoral Scholarship; The 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund); The Scholarship from the Graduate School, Chulalongkorn University to commemorate the 72nd anniversary of His Majesty King Bhumibol Adulyadej; The Agricultural Research Development Agency (Public Organization).

Competing interests: No authors have competing interests.

Abbreviations: MALDI-TOF-MS, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; PCA, principal component analysis; mPCR, multiplex polymerase chain reaction; PMFs, peptide mass fingerprints; SS, *Streptococcus suis* serotype.

Introduction

Streptococcus (S.) suis is a zoonotic foodborne pathogen [1] that inhabits the nasal cavity and particularly the tonsils of pigs. People who work closely with live pigs can potentially become infected with this pathogen via open skin lesions leading to the clinical symptoms of septicemia, endocarditis, peritonitis, pneumonia, and meningitis [1, 2]. In the past, this bacterium has been classified by its capsular polysaccharide into up to 35 serotypes [1, 2], of which currently 29 serotypes are recognized [3, 4]. Of these, *S. suis* serotype (SS2) is the most significant serotype as it is predominantly associated with both diseased pigs and human clinical cases, and it has been reported as the causative agent in more than 70% of human clinical cases. Whereas SS14 and some other pathogenic serotypes are far less significant and account for only up to 3% of human clinical cases worldwide [5].

Although the prompt confirmation of the causative serotype as part of the clinical diagnosis is pivotal to the successful treatment rate of *S. suis* infection, more than 20% of human cases have gone undiagnosed due to inherent drawbacks in the current serotyping methods [5]. Initially, microbial identification of *S. suis* is presumed following biochemical tests. Subsequently, polymerase chain reaction (PCR) assay targeting the presence of the recombinant/repair protein gene *recN* [6] is then used to confirm *S. suis*. Serological methods have been considered as the standard procedures for serotyping *S. suis*. However, cross-reaction among pairs or groups of serotypes, such as SS1 and SS14; SS2 and SS1/2; SS2 and SS22; SS6 and SS16; and SS1, SS2, and SS1/2; can lead to the inconclusive or erroneous serotyping of *S. suis*. These indistinguishable serotypes are problematic since pathogenic serotypes in both pigs and humans, such as SS2, SS6, SS14, and SS16, are found among all the inconclusive pairs (or groups) of cross-reactions [5]. In addition, serotyping with all the typing antisera is laborious, time-consuming, and expensive, and preparing the antisera is difficult due to the high cost and labor associated with its production.

Even though multiplex (m)PCR has recently been developed and gained popularity as an alternative technique to serotype *S. suis* isolates, mPCR does not differentiate SS2 from SS1/2, or SS14 from SS1 due to the high capsular gene cluster similarity. So, additional or alternative methods are required to solve this issue. Lately, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) has been increasingly endorsed and adopted as an alternative approach to microbial identification [7], including *S. suis* identification [8, 9]. In this method, cellular proteins (and peptides) of *S. suis* are extracted and then used for species identification via peptide mass fingerprints (PMFs) formed using MALDI-TOF-MS.

Nevertheless, one previous study successfully examined few serotypes of SS using MALDI-TOF-MS still most of the serotypes were not classified especially undistinguishable serotypes by current serotyping methods [8], and so is tackled in this study. The peptide extraction method was modified from Bruker's recommendation [10], and the extracted peptides of *S. suis* were then analyzed by MALDI-TOF-MS. The aim of this study was to demonstrate *S. suis* serotyping by means of the modified peptide extraction method coupled with MALDI-TOF-MS, and in particular to differentiate those inconclusive pathogenic and non-pathogenic serotypes.

Materials and methods

Bacterial strains

In this study, 32 reference strains (SS1-14, SS16-20, SS22-32, SS34, and SS1/2) representing 32 different serotypes of *S. suis* (Table 1) along with local *S. suis* SS2 ($n = 23$) and SS14 ($n = 9$)

Table 1. Repeatability of MALDI-TOF-MS serotyping of the reference *S. suis* serotypes after anaerobic culture.

Serotype	Strain	Source	MALDI-TOF-MS		GenBank acc.no. of 16S rRNA gene
			Serotype (best match)	ISV	
1	NCTC10237	Diseased pig	1	2.187	LR594043.1
2	NCTC10234	Diseased pig	2	2.453	LS483418.1
3	4961	Diseased pig	3	2.341	AF009478.1
4	6407	Diseased pig	-	-	AF009479.1
5	11538	Diseased pig	-	-	AF009480.1
6	2524	Diseased pig	6	2.207	AF009481.1
7	8074	Diseased pig	7	2.369	AF009482.1
8	14636	Diseased pig	8	2.302	AF009483.1
9	22083	Diseased pig	9	2.178	AF009484.1
10	4417	Diseased pig	-	-	AF009485.1
11	12814	Diseased pig	-	-	AF009486.1
12	8830	Diseased pig	-	-	AF009487.1
13	10581	Diseased pig	13	2.354	AF009488.1
14	13730	Diseased pig	14	2.492	AF009489.1
16	2726	Diseased pig	16	2.504	AF009491.1
17	93A	Healthy pig	-	-	AF009492.1
18	NT77	Healthy pig	18	2.539	AF009493.1
19	42A	Healthy pig	19	2.36	AF009494.1
20	86-5192	Diseased calf	20	2.566	AF009495.1
22	88-1861	Diseased pig	-	-	AF009497.1
23	89-2479	Diseased pig	-	-	AF009498.1
24	88-5299A	Diseased pig	24	2.207	AF009499.1
25	89-3576-3	Diseased pig	25	2.419	AF009500.1
26	89-4109-1	Diseased pig	-	-	AF009501.1
27	89-5259	Diseased pig	27	2.304	AF009502.1
28	89-590	Diseased pig	-	-	AF009503.1
29	92-1191	Diseased pig	29	2.3	AF009504.1
30	92-1400	Diseased pig	30	2.256	AF009505.1
31	92-4172	Diseased calf	31	2.124	AF009506.1
32	EA1172.91	Diseased pig	32	2.336	AF009507.1
34	92-2742	Diseased pig	34	2.393	AF009508.1
1/2	2651	Diseased pig	1/2	2.255	AF009476.1
Total	32	32	22 (68.8%)	2.34*	

* Average ISV of correct MALDI-TOF-MS classifications.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682.t001>

isolates from humans were used, the strains were originally collected from hospital, distributed in 5 regions (north, northeast, central, east, and south) of Thailand. Sequencing of the 16S rRNA gene was used to confirm these 32 reference strains [11]. Bacteria were cultured on Columbia blood agar (Difco Laboratories, Detroit, Mich.) with 5% (v/v) sheep blood at 37°C in an anaerobic condition for 24 h. Reference strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *E. coli* DH5 alpha were included to study cross-reaction.

Peptide extraction

Pure colonies of *S. suis* for peptide extraction were prepared on Columbia blood agar as above. Then ethanol was added to 70% (v/v) to precipitate out the bacterial peptides from the whole

bacterial cell. The bacterial suspension was centrifuged at 11,000 g for 5 min, and then the pellet was collected. Next, 5% (v/v) trifluoroacetic acid (TFA) in absolute acetonitrile (ACN) was added to the pellet and the suspension was dissolved by gentle vortex. The bacterial peptides dissolved in the supernatant were collected after clarification by centrifugation at 11,000 g for 5 min and then kept at -20°C prior to MALDI-TOF-MS analysis. Lowry assay was used to quantify the concentrations of extracted peptides [12].

Peptide analysis by MALDI-TOF-MS

The extracted peptides from the 32 reference strains of *S. suis* were mixed with the sinapinic matrix solution [sinapinic acid in 5% (v/v) TFA in absolute ACN] and then spotted onto the MALDI target plate and allowed to crystallize at room temperature before inserting the MALDI target plate into the MALDI-TOF-MS instrument. The mass spectrometry (MS) spectra were collected using an Ultraflex III TOF/TOF (Bruker Daltonik, GmbH) instrument in a linear positive mode with a mass range between 2–20 kDa. Five hundred shots were reiterated and accumulated with a 50 Hz laser per SS. Likewise, this MALDI-TOF-MS procedure was repeated for all 32 serotypes of *S. suis*. All MS spectra were analyzed for fingerprint spectra and subjected to PCA using the FlexAnalysis version 3.4 and ClinProTool version 3.0 software (Bruker Daltonik, GmbH). The ACTH fragment 18–39 (human), insulin oxidized B chain (bovine), insulin (bovine), cytochrome C (equine), and apomyoglobin (equine) were used as the external protein calibrations. Analysis of variance (ANOVA), Student's t-test and statistics in the software, were used to assess the statistically significant differences in the PMFs across bacterial strains.

Generating of *S. suis*'s PMFs database. The *S. suis* PMFs database was generated by inserting 20 qualified MS spectra from each of the 32 individual reference serotypes into the MALDI Biotyper database system according to Bruker's recommendation. The PMFs of 32 serotypes in the database will be used as the references PMFs for the serotype characterization and to evaluate the repeatability, reproducibility and validation.

Serotype analysis by mPCR

All reference strains of *S. suis* were serotyped by mPCR [13]. The results from the MALDI-TOF-MS analysis were compared to those from the mPCR of the same samples in terms of the repeatability validation and agreement of tests. Four sets of primers targeting the capsule (*cps*) loci across 28 serotypes of *S. suis* were used. The first primer sets targeted SS1/2, SS1-3, SS7, SS9, SS11, SS14, and SS16; the second primer set targeted SS4, SS5, SS8, SS12, SS18, SS19, SS24, and SS25; the third primer set targeted SS6, SS10, SS13, SS17, SS23, and SS31; and the fourth primer set targeted SS21 and SS27-30. The mPCR serotyping of *S. suis* were followed as previously described [13].

Repeatability

The same isolate of each serotype was repeatedly cultured and extracted in exactly the same manner. Eight spots from each serotype were applied to determine the precision of this developed serotyping method Bruker Biotyper. Log score values (LSVs) were used to evaluate the serotype classifications, where LSVs between 0–1.69 were merely reliable, between 1.70–1.99 were probable, and more than 2.00 were highly probable. Among 8 spots, the matched serotypes with highest LSVs will be considered as a correct classification.

Validation

To assess the validity of this serotyping method against known clinical isolates of *S. suis*, 32 isolates of *S. suis* from human cases in Thailand, comprised of SS2 ($n = 23$) and SS14 ($n = 9$), were

cultured in the conventional anaerobic growth condition, extracted, and characterized by MALDI-TOF-MS as described earlier. Each individual isolate was spotted for eight entries. The serotype classification of the clinical isolates was evaluated by the same Bruker Biotyper LSVs and criteria.

Reproducibility or culture-condition repeatability

To evaluate the repeatability of this serotyping method with serotypes cultured under a different condition, then the 32 serotypes of *S. suis* were cultured as before except in an aerobic growth condition, and then peptide extracted and serotype classified by MALDI-TOF-MS using exactly the same MALDI-TOF-MS protocol as described earlier. The serotype classification of was evaluated by the same Bruker Biotyper LSVs and criteria.

Degree of test agreement

The 32 reference strains of *S. suis* were grown anaerobically or aerobically and subjected to both mPCR and developed MALDI-TOF-MS serotyping methods as described. The serotyping results are presented in a 2×2 contingency table of frequencies with the rows and columns representing the serotype results for both serotyping methods. The degree of agreement between these two methods was assessed using Cohen's kappa statistic (κ) [14], as shown in Eq (1):

$$\kappa = \frac{P_O - P_E}{1 - P_E}, \quad (1)$$

where n is the total observed frequency, O_D is the sum of observed frequencies along the diagonal (Table 2), E_D is the sum of expected frequencies along the diagonal, P_O is the O_D/n , and P_E is the E_D/n .

Results

Peptide mass spectra of *S. suis*

After extraction, peptide masses between 2–20 kDa were collected and analyzed using the Flex-Analysis version 3.4 and ClinProTool version 3.0 software (Bruker Daltonik, GmbH). All of the extracted peptides delivered an adequate number and intensity (more than 10^4 a.u.) of peptide mass. Extracted peptides from each individual serotype generated particular PMFs that contained their individual unique mass(es) and so differentiated each serotype from one another (Fig 1A–1D). Overall, 4420, 5337, 5965, 6634, 6748, 6834, and 8260 Da peptide masses were commonly found in most of the SSs. Interestingly, SS1/2, SS11, and, SS13, had some other unique masses (2990 and 3005 Da) in common.

The former SS32 and SS34 (*S. orisratti*) had a unique PMF pattern with the 4447, 6610, and 6775 Da peptide masses being common to these two serotypes and so Biotyper software classified SS32 and SS34 in another group, as shown in the dendrogram (Fig 2).

Table 2. Contingency table of identification frequencies to evaluate *S. suis* serotypes using the MALDI-TOF-MS analysis of this study compared to mPCR test.

Observed		Multiplex PCR		
		True serotype	False serotype	Sum
MALDI-TOF	True serotype	59	3	62
	False serotype	19	22	41
	Sum	78	25	103

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682.t002>



Fig 1. Representative MALDI-TOF peptide mass spectra of reference *S. suis* serotypes (A) SS1-7, (B) SS8-14 and SS16, (C) SS17-20 and SS22-25, and (D) SS26-32 and SS34. The X-axis represents the mass to charge ratio (m/z) and the Y-axis represents the intensity of the spectra.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249882.g001>

The ambiguous serotypes by mPCR, which were the highly pathogenic SS2 and SS1 that are serologically associated with SS1/2 and SS14, respectively, were clearly distinguished from one another (Fig 1A and 1B). The 6956 Da peptide mass discriminated between SS2 and SS1/2 ($p < 0.01$), while the 6919 Da peptide mass discriminated between SS1 and SS14 ($p < 0.01$), as shown in Table 3. Likewise, principal component analysis (PCA) revealed that the PMFs of SS2, SS1/2, SS1, and SS14 distinctly clustered around their individual serotypes (Fig 3). Therefore, the PCA results did support that the ambiguity of serotype pairs SS2 and SS1/2; and SS1

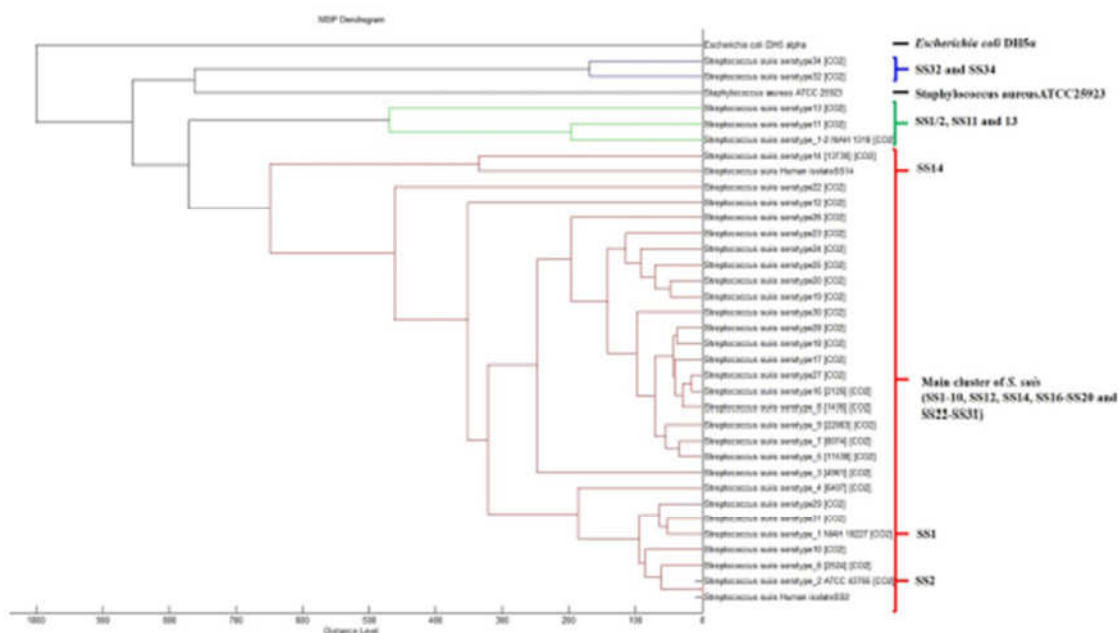


Fig 2. Dendrogram based on the PMFs of reference SS1/2, SS1-14, SS16-20, SS22-32, SS34, and SS1/2 grown anaerobically. SS32 and SS34 clustered in a group, while SS1/2, SS11, and SS13 clustered in another group and closer to the main SS PMFs. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *E. coli* DH5 alpha were included as the out group.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682.g002>

and SS14 could be clearly resolved by PMFs mapping using MALDI-TOF-MS. Additionally, cross-reacting serotypes based on serological methods were also classified, where the 6319, 6914, and 5056 Da peptides were index masses that differentiated between SS1 and SS2, between SS6 and SS16; and between SS2 and SS22, respectively, (Table 3).

Repeatability

The same isolate of each serotype was repeatedly cultured, extracted, and classified in exactly the same manner to determine the precision of the developed serotyping method. Eight spots from each serotype were applied to classify comparing with the *S. suis* PMFs database

Table 3. Differentiating between serologically ambiguous serotypes using the index mass obtained from MALDI-TOF-MS analysis of PMFs from anaerobically cultured *S. suis* serotypes.

Serotyping method	Ambiguous serotype	Differentiating index mass (Da) by MALDI-TOF-MS
Multiplex PCR	SS2 vs. SS1/2	6956
	SS1 vs. SS14	6919
Serological	SS1 vs. SS2	6319
	SS2 vs. SS1/2	6956
	SS6 vs. SS16	6914
	SS2 vs. SS22	5056
	SS1 vs. SS14	6919

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682.t003>

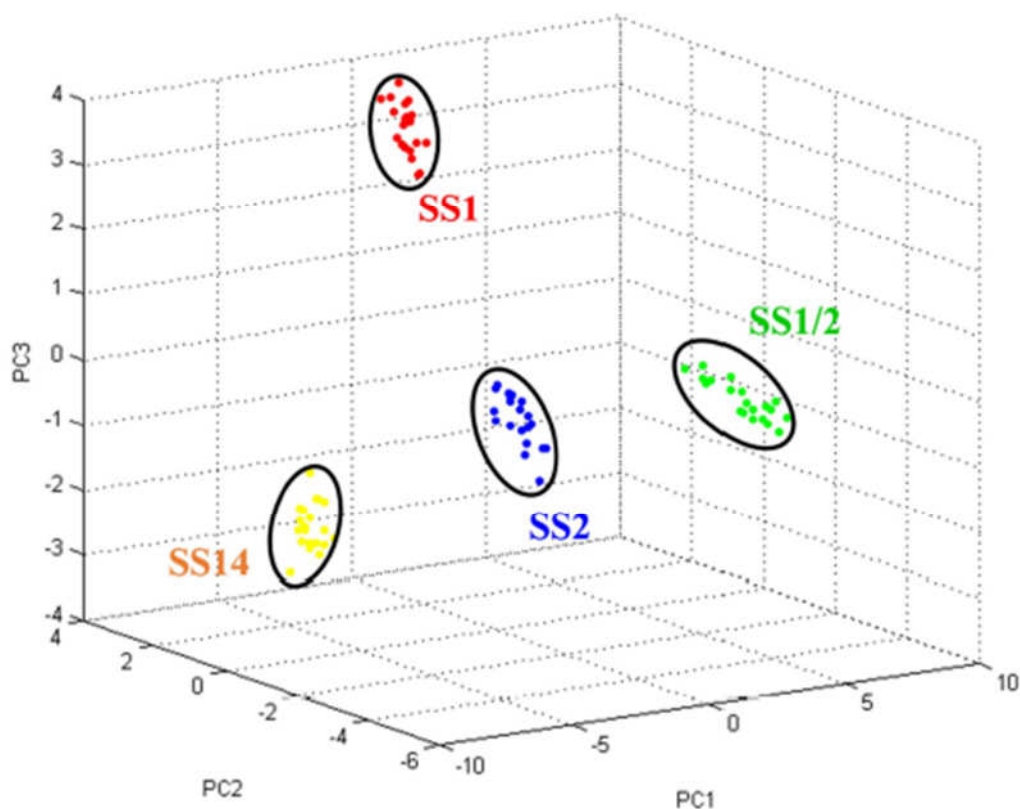


Fig 3. The PCA, based on the PMFs, of the ambiguous serotypes of *S. suis* SS2, SS1/2, SS1, and SS14. SS1, SS2, SS1/2, SS1, and SS14 represent the clusters of *S. suis* SS2, SS1/2, SS1, and SS14.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249882.g003>

generated as described earlier. The results showed that 22 out of 32 serotypes (68.8%; average LSV of 2.34) were correctly serotype classified. The ambiguous serotypes by mPCR (SS2 with SS1/2, and SS1 with SS14) were also correctly serotyped with LSVs of 2.453, 2.255, 2.187, and 2.492, respectively. The serological cross-reacting serotypes SS1 with SS2, and SS6 with SS16, were correctly classified with LSVs of 2.187, 2.453, 2.207, and 2.504, respectively (Table 1). However, SS22 (cross-reactive with SS2) was unable to be serotyped (distinguished) by this MALDI-TOF-MS approach method.

Validation

Thirty-two human isolates of *S. suis* from patients in Thailand, comprised of SS2 ($n = 23$) and SS14 ($n = 9$), were serotyped using the developed MALDI-TOF-MS method. The method correctly serotyped 20 out of 32 serotypes (62.5%) of human isolates, with an average LSV of 2.20 (Table 4). Serotype 2 was correctly classified in 13 out of 23 strains (56.5%, average LSV of 2.19) and SS14 was correctly classified in 7 out of 9 strains (77.8%, average LSV of 2.20).

Table 4. Validation of MALDI-TOF-MS for serotyping *S. suis* human strains isolated in Thailand compared to the mPCR approach.

Serotype	Source	MALDI-TOF-MS	
		Serotype (best match)	LSV
2	Human	2 (13/23)	2.19
14	Human	14 (7/9)	2.30
Total	32	20 (62.5%)	2.20*

* Average LSV of correct MALDI-TOF-MS classifications.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249682.t004>

Reproducibility

Instead of using an anaerobic growth condition, 32 the serotypes of *S. suis* (SS1-14, SS16-20, SS22-32, SS34, and SS1/2) were cultured as before except under an aerobic growth condition. The strains were then peptide extracted and serotype classified by exactly the same MALDI-TOF-MS protocol. The MALDI-TOF-MS approach was found to correctly serotype 18 out of 32 strains of *S. suis* (56.3%) with average LSV of 2.34.

Degree of test agreement

Cohen's unweighted Kappa statistic was used to elucidate the agreement between the mPCR and this developed MALDI-TOF-MS serotyping method, and gave a Kappa score of approximately 0.522. While the true serotype classifications of the MALDI-TOF-MS and mPCR were not statistically significant ($p > 0.05$) approximately 60% (95% CI: 51%-70%) and 76% (95% CI: 67%-84%), respectively.

Discussion

As a rapid high throughput technique, MALDI-TOF-MS has been increasingly used in microbiological studies. It provides improved accuracy and power of resolution to identify or even classify microbial isolates [7, 15]. In this study, we modified the peptide extraction method coupled with MALDI-TOF-MS to identify *S. suis* and further classify the SSs. Mass spectra yielded from this peptide extraction technique exhibited good qualities, a high intensity, and an adequate number of peptide masses that overall indicated that this method could be applicable for SS classification.

The PMFs presented 4420, 5337, 5965, 6634, 6748, 6834, and 8260 Da peptide masses that were commonly found across all the tested SSs. Two of these masses were close to the 4420 and 8266 Da peptide masses that have recently been reported in previous studies using whole cell extraction of *S. suis*, which mass 4133 and 8367 were reported as the indicative species-specific peaks [8, 9]. This congruent finding may reach a general assumption that the 4420 and 8260 Da peptide masses could act as species-specific markers for *S. suis*. As these two masses were absent in others closely related *Streptococcus* spp. e.g. *S. pluxetorum*, *S. porci* and *S. porcorum* where their species-specific markers corresponded to 6164, 6133 and 4190/8381, respectively [9]. However, some other peptide masses were found to be different from those in previous studies, which can be explained by the different preparation protocols, such as the acid concentration, spotting method, and type of matrices [16–18]. In the present study, the principal difference in the preparation protocol was the modified peptides extraction method, that formic acid was not included, gentle dissolve pellet by vortex and vigorously mix peptides with sinapinic matrix, which likely accounted for some of the dissimilar PMFs. Moreover, dissimilar PMFs could be inherent in the intraspecies discrepancy as well [19].

8. ศึกษาโปรตีนที่แตกต่างกันของเชื้อแต่ละซีโรไทป์ในระดับลำดับกรดอะมิโน (amino acid sequence) ด้วยเครื่อง LC MS/MS โดยใช้โปรตีนที่สกัดและวัดปริมาณแล้วจากข้อ 4

หลังจากสกัดโปรตีนที่ผิวเซลล์ของ *S. suis* และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง MALDI-TOF ตามมาด้วยเครื่อง LC MS/MS ในการวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนขนาดเล็กที่เรียกว่า เปปไทด์ (peptide) โดยโปรตีนที่ผลิตภายในเซลล์ เรียกว่า Proteome โดยในศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษา Proteome ของ *S. suis* ซีโรไทป์ที่ก่อโรค (virulent) คือ 2 และ 14 *S. suis* ซีโรไทป์ที่ไม่ก่อโรค (non-virulent) คือ 7, 9, 25 และ 27 โดย Proteome ได้แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามตำแหน่งหลังจากการผลิตสร้าง (expressed) คือ

1. โปรตีนที่ผลิตสร้างและปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ *Streptococcus suis* เรียกว่า Secretome
2. โปรตีนที่ผลิตเป็นโครงสร้างของเซลล์ *Streptococcus suis* เรียกว่า Peptidome

ผลการวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนและจับคู่โปรตีนขนาดใหญ่เริ่มต้นก่อนการย่อยเป็น peptide ของ Secretome และ Peptidome ของ *S. suis* ซีโรไทป์ก่อโรคและไม่ก่อโรค ดังแสดงใน ตาราง 7 และ ตาราง 8

ตาราง 7 โปรตีน 28 ชนิดที่ระบุได้จาก peptide ที่เป็น secretome ของ *S. suis* ซีโรไทป์ ก่อโรคและไม่ก่อโรค

Annotated protein function (Amino acid length)	<i>S. suis</i> serotype					
	virulent		non-virulent			
	2	14	7	9	25	27
Cps2J (332)		+			+	
Cps2A (483)	+			+	+	
Cps2C (231)	+	+				
Mid-cell-anchored protein Z (484)	+	+			+	+
UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase	+	+	+			
multidrug ABC transporter ATPase/permease (518)	+					+
sugar ABC transporter permease (338)	+	+				+
amino acid ABC transporter permease (219)	+					
Tn916 hypothetical protein (310)	+				+	
ribosomal protein S10 (176)	+				+	+
subtilisin-like serine protease (299)					+	
5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (101)	+					
low temperature requirement A protein (371)	+				+	
sugar kinase (308)	+			+		
Cro/C1 family transcriptional regulator (73)			+	+	+	+
rod shape-determining protein MreC (278)	+					+
predicted transcriptional regulator (79)	+		+			+
K01223 6-phospho-beta-glucosidase [EC-3.2.1.86] (474)	+	+				+
putative aminoglycoside 6-adenylyltransferase (287)			+			
putative primosome component and related protein					+	
DNA repair protein (55)						+
hypothetical protein (438)	+		+	+	+	
hypothetical protein (431)		+				
hypothetical protein (62)	+				+	
hypothetical protein (45)		+			+	
hypothetical protein (66)	+	+			+	+
hypothetical protein (372)	+	+	+		+	+
hypothetical protein (150)				+		
Sum	18	10	6	5	14	11

ตาราง 8 โปรตีน 24 ชนิดที่ระบุได้จาก peptide ที่เป็น peptidome ของ *S. suis* ซีโรคไทป์ ก่อโรคและไม่ก่อโรค

Identified protein	<i>S. suis</i> serotype					
	virulent		non-virulent			
	2	14	7	9	25	27
ABC-type phosphate transport system	+	+				
30S ribosomal protein S2	+	+				
4- α -glucanotransferase		+				
chromosomal replication initiation	+		+		+	
superfamily II helicase	+	+		+		
5'-nucleotidase/2',3'-cyclic phosphodiesterase and related esterases	+	+		+		
K01223 6-phospho-beta-glucosidase	+	+		+		
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	+	+	+			+
ABC transporter permease		+	+			
guanylate kinase	+	+		+	+	+
TetM		+			+	+
SSU05_1991 hypothetical protein	+		+		+	+
transcriptional regulator			+		+	
α -1,4 glucan phosphorylase				+	+	
PTS system ascorbate-specific transporter subunit IIC			+	+		
branched-chain amino acid permease			+			
10 kDa chaperonin			+			
low temperature requirement A			+			
Cps2J					+	
truncated muramidase-released protein			+			
SSU05_1457 hypothetical protein					+	
SSU05_0461 hypothetical protein						+
SSU05_1869 hypothetical protein					+	+
SSU05_0141 hypothetical protein					+	
Sum	9	10	10	6	10	6

ผลการประเมินความเสี่ยงโรคใช้หูดับจากการบริโภคเนื้อสุกรที่ปนเปื้อนด้วย *Streptococcus suis*

1. การระบุอันตราย (Hazard Identification)

เป็นการทบทวนและยืนยันการเจ็บป่วยจริงที่เกิดจาก *Streptococcus suis* ที่ติดต่อทางการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร

1.1 จุลชีววิทยาของ *Streptococcus suis*

Streptococcus suis (SS) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ (facultative anaerobe) รูปร่างกลมหรือไข่ (cocci หรือ ovoid) เจริญเติบโตเป็นเซลล์เดี่ยว (singly) เป็นคู่ (pair) หรือเป็นสายสั้น (short chain) โคลนีย์ (colony) มีขนาดค่อนข้างเล็กประมาณ 0.5-1.0 มม. สีเทาใส เงาม่อให้เกิด alpha-hemolysis บนอาหารเลี้ยงเชื้อเลือดแกะ (sheep blood agar) จึงจัดอยู่ในกลุ่ม alpha-*Streptococci* เชื้อ SS ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเกลือ (NaCl) ร้อยละ 9.5 ให้ผลลบ (negative) ต่อการทดสอบ oxidase, catalase, PYR, VP และ optochin แต่ให้ผลบวก (positive) ต่อ bile esculin และเกือบทุก serotype (โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ก่อโรค SS serotype 2) ไวต่อยาต้านจุลชีพ Penicillin (Wangkaew et al., 2006; Marie et al., 2002) ซึ่งเป็นคุณสมบัติพื้นฐานทางชีวเคมีสำคัญที่ใช้ในการแยก SS ออกจากเชื้ออื่นๆ ในกลุ่ม alpha-*Streptococci* ด้วยกัน และตามมาด้วยการใช้เทคนิคทางอณูจุลชีววิทยา เช่น ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction) ในตรวจหา 16S ribosomal RNA ของ SS เพื่อเป็นการทดสอบยืนยันหรือระบุ SS (Lun et al., 2007)

SS สามารถจำแนกโดยอาศัย capsular polysaccharides ได้ถึง 35 serotypes โดยพบว่า *Streptococcus suis* serotype 2 (SS2) มีความสำคัญมาก เนื่องจาก มีความสัมพันธ์กับการก่อโรคทั้งในสุกรและมนุษย์ และสามารถแยกได้จากมนุษย์มากที่สุดจากการรายงานทั่วโลกรวมถึงประเทศไทยด้วย นอกจากนี้ มีการรายงานการติดเชื้อ SS ในมนุษย์ที่เกิดจาก 3 serotypes คือ serotypes 1, 2 และ 14 อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยจะพบ SS2 เป็นส่วนใหญ่ (Nutravong et al., 2014; Tharavichitkul et al., 2014; Takeushi et al., 2012; Takamatsu et al., 2008) มีการใช้เทคนิคทางอณูจุลชีววิทยาใน 2 ลักษณะ คือ การระบุแยก serotype ต่างๆ ของ SS ในเวลาเดียวกันโดยการใช้เทคนิค multiplex PCR (Lun et al., 2007) และการตรวจหาปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงของโรค (virulence factors) เช่น capsule (*cps*), muramidase-release protein (*mrp*), extra-cellular protein factor (*epf*) และ suilysin (*sly*) ด้วย (Wongsawan et al., 2015)

1.2 การคงตัวของ *Streptococcus suis* ในผลิตภัณฑ์สุกรและสิ่งแวดล้อม

SS2 จัดว่ามีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมนอกตัวสัตว์หรือมนุษย์ กล่าวคือ SS2 สามารถคงตัวที่อุณหภูมิ 60°C นาน 10 นาที อุณหภูมิ 50°C นาน 120 นาที (2 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 10°C ในซากสัตว์นาน 1.5 เดือน ในสภาวะอุณหภูมิ 0°C คงตัวในฝุ่นและในอุจจาระนาน 1 และ 3 เดือน ตามลำดับ ซึ่งจัดว่ามีความคงตัวนานกว่าในสภาวะอุณหภูมิ 25°C ซึ่งคงตัวในฝุ่นและในอุจจาระนาน 1 และ 8 วัน ตามลำดับ (Clifton-Hardley and Enright, 1984)

1.3 *Streptococcus suis* ในสุกร

สุกรที่ติดเชื้อ SS มักจะไม่แสดงอาการในลักษณะที่เป็นพาหะนำโรค (carrier) ดังนั้น สุกรเหล่านี้จึงเป็นแหล่งกักและแพร่โรคที่สำคัญของ SS ซึ่งโดยมาก SS จะเพิ่มจำนวนในต่อมทอนซิล (tonsil) ในช่องคอ เยื่อระบบทางเดินหายใจ เมื่อสุกรมีภูมิคุ้มกันที่ลดลงจากสาเหตุของระบบการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรมอย่างแออัด หรือ อากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงฉับพลัน ทำให้ SS สามารถรุกรานเข้าสู่กระแสเลือด (septicemia หรือ bacteremia) ก่อให้เกิดอาการจากสภาวะของ ข้ออักเสบ (arthritis) ปอดอักเสบ (pneumonia) เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) สมองอักเสบ (encephalitis) หรือการแท้งลูก โดยระยะฟักตัวของโรค (incubation period) ค่อนข้างหลากหลายตั้งแต่ประมาณ 3 ชั่วโมง ไปจนถึง 2 สัปดาห์ ทั้งนี้ทั้งนั้นระยะฟักตัวของโรคจะขึ้นอยู่กับ การรับเชื้อเข้าสู่ร่างกายของสุกร เช่น การรับเชื้อผ่านทางบาดแผลที่ผิวหนังและต่อเนืองผ่านเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง ก็จะมีระยะฟักตัวที่สั้นกว่า (Thapaliya et al., 2015)

รายงานความชุกของ SS ในฟาร์มสุกร 11 จังหวัดภาคตะวันออกและภาคตะวันตกของประเทศไทย พ.ศ. 2552 พบ SS ในลูกสุกร สุกรขุนและแม่สุกร ร้อยละ 33.4, 35.6 และ 10.1 ตามลำดับ และเป็น SS2 ร้อยละ 0.3, 0.5 และ 0 ตามลำดับ (Pathanasophon et al., 2009) ตามมาด้วยรายงานล่าสุด พ.ศ. 2556 การสำรวจ SS ในฟาร์มสุกรจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย พบ SS จาก nasal swab ของลูกสุกร สุกรขุน แม่สุกร ร้อยละ 46 (46/100), 30.56 (114/373) และ 8.53 (11/129) ตามลำดับ โดยพบ serotypes 2, 7, และ 9 ร้อยละ 2.43 (5/206), 3.88 (8/206) และ 0.97 (2/206) ตามลำดับ (Wongchanthong et al., 2013) ดังนั้น จะสังเกตเห็นว่า SS มีการแพร่กระจายในระดับสูงในฟาร์มสุกรทั่วประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มลูกสุกรและสุกรขุน ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจาก ระดับภูมิคุ้มกันต่ำในลูกสุกรรวมถึงความเครียดของการเลี้ยงสุกรขุนอย่างแออัด ในขณะที่ความชุกของ SS ไม่มากนักในแม่สุกร แต่แม่สุกรกลับจะเป็นแหล่งกักเก็บโรคที่สำคัญในฟาร์มในลักษณะของการทยอยแพร่กระจายไปสู่ลูกสุกรในระหว่างการคลอดและการเลี้ยงลูก (vertical transmission) ทำให้เกิดการครบวงจรของการคงอยู่ของ SS ในฟาร์มสุกรได้

1.4 *Streptococcus suis* ในผลิตภัณฑ์สุกร

รายงานการตรวจวิเคราะห์ SS ในผลิตภัณฑ์สุกร จะเป็นรายงานจากตัวอย่างที่เก็บจากระบบต่อมน้ำเหลืองโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ต่อมน้ำเหลือง และ ต่อม tonsil รวมถึงต่อมน้ำลายที่ศีรษะจากซากสุกร (carcass) ในโรงฆ่า (slaughterhouse) ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นส่วนมาก (ตาราง 9) กล่าวคือ

ปี พ.ศ. 2552 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากโรงฆ่าจำนวน 10 แห่งจาก 11 จังหวัดในภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยพบ SS ในต่อม tonsil ของซากสุกร ร้อยละ 14.3 (34/237) แต่ไม่พบ SS2 เลย (Pathanosophon et al., 2009)

ต่อมาอีก 1 ปี คือ พ.ศ. 2553 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากฟาร์มที่เลี้ยงแบบอุตสาหกรรม (industrial) จำนวน 90 ซาก และจากฟาร์มที่เลี้ยงแบบหลังบ้าน (backyard) จำนวน 122 ซาก ในจังหวัดเชียงใหม่ พบ SS ในต่อม tonsil, ต่อมน้ำเหลือง submaxillary หรือ ต่อมน้ำลาย (salivary gland) เฉลี่ยเพียงร้อยละ 9 (19/212) จากฟาร์มสุกรที่เลี้ยงทั้ง 2 ลักษณะ ($p = 0.64$) แต่กลับพบ SS2 ในซากจากสุกรสุขภาพดีและสุกรป่วยสูงถึง ร้อยละ 43 (12/28) และ 10 (1/10) ตามลำดับ (Padungtod et al., 2010) ดังนั้นการติดเชื้อ SS ในสุกรจึงมักจะเป็นลักษณะของพาหะ (carrier) ที่ไม่แสดงอาการของโรค แต่เมื่อมีสภาวะเครียดก็อาจจะทำให้ SS ในร่างกายแพร่ไปตามอวัยวะสำคัญในร่างกายทำให้เกิดอาการของโรคตามมา นอกจากนี้ยังมีโอกาสสูงที่จะแพร่เชื้อไปยังสุกรกลุ่มอายุต่างๆ ในฟาร์มได้ในที่สุด

ต่อมาอีก 1 ปี เช่นเดียวกัน คือ ปี พ.ศ. 2554 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากโรงฆ่าจำนวน 6 แห่งจาก 5 จังหวัดในภาคเหนือของประเทศไทย พบ SS ในต่อม tonsil และ/หรือ ต่อมน้ำลายของซากสุกรสูงขึ้นเป็น ร้อยละ 20 (38/190) และ 7.3 (14/193) ตามลำดับ (Lakkitjaroen et al., 2011) และในปีเดียวกัน ยังมีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS และ SS2 ในซากสุกรจากโรงฆ่าจำนวน 18 แห่งจากจังหวัดพะเยา 5 จังหวัด พบ SS ใน tonsil จากซากสุกรในสัดส่วนที่สูงมากถึง ร้อยละ 73.33 (264/360) และ 7.78 (28/40) ตามลำดับ โดยพบปัจจัยเสี่ยงของการพบ SS2 ในฟาร์มสุกรขุน รวมถึงฟาร์มที่มีขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ (adjusted odds ratio > 3.90) (Nuangmeg and Pathanasophon, 2011) เป็นที่น่าสังเกตว่า อุบัติการณ์ของ SS มีการเพิ่มสูงขึ้น แต่สัดส่วนของ SS2 มีระดับที่ค่อนข้างคงที่

ต่อมาอีก 2 ปี คือ พ.ศ. 2556 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS โดยตรวจ 16S rRNA และแยก serotypes โดยวิธี multiplex PCR ในซากสุกรจากโรงฆ่า 5 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบ SS, SS2, SS7 และ SS9 ในต่อม tonsil จากซากสุกร ร้อยละ 23.33 (35/150), 5.71 (2/35) 8.57 (3/35) และ 2.86

(1/35) ตามลำดับ (Wongchanthong et al., 2013) ซึ่งอุบัติการณ์ของ SS และ SS2 ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีระดับที่ใกล้เคียงกับอุบัติการณ์ในภาคตะวันตกและภาคตะวันออกในช่วง 4 ปีที่ผ่านมา

ในปีเดียวกัน พ.ศ. 2556 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ SS โดยตรวจ 16S rRNA และแยก serotype โดยวิธี multiplex PCR ในซากสุกรจากโรงฆ่าใน 2 จังหวัดภาคเหนือ พบ SS, SS2 และ SS14 ในต่อม tonsil ของซากสุกรที่ไม่ป่วยในจังหวัดลำปาง ร้อยละ 64.8 (153/236), 5.88 (9/153) และ 7.65 (5/153) ตามลำดับ และในจังหวัดพะเยา ร้อยละ 61.4 (343/559), 9.62 (33/343) และ 2.04 (7/343) (Pathanasophon et al., 2013) เมื่อเปรียบเทียบกับอุบัติการณ์ของ SS ในภาคเหนือเช่นเดียวกันในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา พบว่า อุบัติการณ์ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยมีอุบัติการณ์ที่คงตัวในระดับที่สูงมาก

ตาราง 9 อุบัติการณ์ (ร้อยละ) การพบ *Streptococcus suis* และ SS สายพันธุ์ก่อโรค serotype 2

ภาค	พ.ศ.	<i>Streptococcus suis</i>	SS serotype 2
ตะวันออกเฉียงเหนือ + ตะวันออก	2552	14	0
ตะวันออกเฉียงเหนือ	2556	23	6
	2553	9	34
	2554	20	7
		73	7
	2556	63	8
	2558	N/A	13

ล่าสุดปี พ.ศ. 2558 มีรายงานการตรวจวิเคราะห์ แยก serotype โดยวิธี multiplex PCR ในซากสุกรจาก 6 เชียงตลาดสดในจังหวัดเชียงใหม่ พบ SS2, SS3, SS4 และ SS5 ในต่อมน้ำเหลือง sub maxillary ของซากสุกร ร้อยละ 12.5 (5/40), 17.5 (7/40), 10.0 (4/40) และ 5.0 (2/40) ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ไม่มีการรายงานสัดส่วนของ SS ในตัวอย่างที่ตรวจ และไม่ปรากฏการพบ serotype 14 ใน SS ที่แยกได้ ประเด็นที่น่าสนใจคือ อุบัติการณ์ของ SS2 จากประมาณร้อยละ 7-8 ในช่วง 2-4 ปีที่แล้ว เพิ่มมากขึ้นเป็นร้อยละ 12.5 (Wongsawan et al., 2015)

สถานการณ์ของการพบ SS ในผลิตภัณฑ์สุกร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนที่เป็นต่อม tonsil, ต่อมน้ำเหลือง และต่อมน้ำลายในส่วนหัวของสุกรในระดับโรงฆ่า มีรายงานมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน ปี พ.ศ. 2558 พบว่า แนวโน้มของ SS มีอุบัติการณ์ที่เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจังหวัดภาคเหนือของไทย

จากช่วงร้อยละ 10-20 เพิ่มขึ้นมากเป็นช่วงร้อยละ 60-70 ซึ่งมีความสอดคล้องกับอุบัติการณ์ของ SS2 ที่เพิ่มสูงขึ้น จากร้อยละ 7-8 เป็นร้อยละ 13 ด้วย ดังนั้นจากข้อมูลแนวโน้มของอุบัติการณ์ของ SS ในโรงฆ่าที่ผ่านมาเพียงไม่กี่ปีล่าสุดนี้ เป็นสัญญาณล่วงหน้าของโรคอุบัติใหม่ที่หน่วยงานของรัฐที่เกี่ยวข้องพึงเฝ้าระวังการเกิดโรค SS ในมนุษย์โดยรีบด่วนต่อไป

1.5 *Streptococcus suis* ในมนุษย์

โรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* (SS) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สายพันธุ์ก่อโรคในมนุษย์ คือ serotype 2 (SS2) เป็นโรคสัตว์สู่คน (zoonotic disease) ที่เกิดจากการสัมผัสกับสุกรที่มีแบคทีเรียนี้อยู่โดยผ่านบาดแผลที่ผิวหนัง ดังนั้น ผู้ที่ทำงานคลุกคลีหรือสัมผัสกับตัวสุกรโดยตรงในระดับฟาร์มและโรงเชือด เช่น สัตวแพทย์ สัตวบาล ผู้เลี้ยงสุกร ผู้ที่ทำงานในโรงเชือด จึงมีความเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายได้ นอกจากนี้อุบัติการณ์ส่วนมากของโรคติดเชื้อ SS เกิดจากการบริโภคเนื้อหรือเลือดสุกรไม่สุกด้วย (foodborne disease) โดยผู้ป่วยจะมีกลุ่มอาการเฉพาะ คือ มีไข้ ร่วมกับ ปวดเมื่อยปวดตึงกล้ามเนื้อ (myalgia) ปวดศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลว การรู้สึกตัวเปลี่ยนไป สมองอักเสบ คอแข็ง หูหนวก เลือดออกใต้ผิวหนัง (ecchymosis) ชักและปวดข้อ (Khadthasrima et al., 2008)

การระบาดของโรคติดเชื้อ SS ในสุกรที่ประเทศจีน พ.ศ. 2548 มีการระบาดของ SS พบผู้ป่วย 215 ราย เสียชีวิต 39 ราย (ร้อยละ 56) นอกจากนี้ยังมีการระบาดในอีกหลายประเทศในเอเชีย คือ ฮองกง ใต้หวัน และเวียดนาม ในระหว่าง พ.ศ. 2527-2550 ประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อ SS พ.ศ. 2550 ส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือ พบผู้ป่วย 150 ราย เสียชีวิต 23 ราย (ร้อยละ 15) ซึ่งจำนวนตามรายงานอาจจะเพียงส่วนน้อยเท่านั้น เนื่องจาก ข้อจำกัดด้านการวินิจฉัยโรคโดยบุคคลากรทางแพทย์และห้องปฏิบัติ รวมถึงโรคนี้ยังไม่เข้าสู่ระบบการรายงานโรคของกระทรวงสาธารณสุข (Chuxnum, 2009)

สำหรับการติดเชื้อ SS ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2530 เริ่มต้นมีการรายงานโรคติดเชื้อ SS จำนวน 2 ราย (Phuapradit et al., 1987) และมีการรายงานโรคติดเชื้อ SS ในช่วง 6 ปีต่อมา (Pootong et al., 1993) ตามมาด้วยรายงานโรคติดเชื้อ SS อย่างต่อเนื่องเกือบทุกปีระหว่าง ปี พ.ศ. 2540 ถึง พ.ศ. 2547 รวมผู้ป่วยจำนวน 40 ราย (Leelarassamee et al., 1997; Pumprueng and Pongvarin, 1997; Paiboonpol, 1998; Chotmongkol et al., 1999; Valaichone et al., 2002; Donsaki; et al., 2003; Suankratay et al., 2004) อีกเพียง 2 ปีต่อมา พ.ศ. 2549 มีรายงานการระบาดของโรคติดเชื้อ SS (outbreak) จำนวน 41 ราย จากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (Wangkaew et al., 2006)

ปี พ.ศ. 2551 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 จำนวน 19 ราย (Kerdsin et al., 2008) ปี พ.ศ. 2554 มีรายงานจากทีมการศึกษาเดียวกันสามารถแยกเชื้อ SS2 เพิ่มสูงมากขึ้นเป็นจำนวน 165 ราย เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ ภาคเหนือ 136 ราย, ภาคกลาง 19 ราย, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 7 ราย และ ภาคตะวันออก 3 ราย โดยไม่มีรายงานการแยก SS2 ได้จากภาคใต้เลย (Kerdsin et al., 2011) แม้ว่าจะมีรายงานการตรวจพบ SS และ SS2 ในสุกรและผลิตภัณฑ์สุกรจากจังหวัดภาคเหนือหรือภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นส่วนใหญ่ (โปรดศึกษาเพิ่มเติมในหัวข้อ *Streptococcus suis* ในสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร) แต่กลับพบว่า จำนวน SS2 ที่แยกได้จากผู้ป่วยในภาคกลางกลับมีจำนวนมากกว่าจำนวน SS2 ที่แยกได้จากผู้ป่วยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือถึงเกือบ 3 เท่า ดังนั้น จึงคาดหมายได้ว่า อาจจะมีปัจจัยในการก่อโรคอื่นๆ ที่มีส่วนสำคัญนอกเหนือจากการพบ SS2 ในฟาร์มสุกรหรือผลิตภัณฑ์สุกร

ปี พ.ศ. 2555 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 และ SS14 จากผู้ป่วยในจังหวัดพะเยา ร้อยละ 74.2 (23/31) และ 25.8 (8/31) ตามลำดับ โดยปัจจัยเสี่ยงตามรายงาน คือ มีประวัติการสัมผัสกับสุกรและ/หรือการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกรดิบ ร้อยละ 70.9 (22/31) (Takeuchi et al., 2012)

ปี พ.ศ. 2557 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 จากผู้ป่วยที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่และโรคพยาบาลจังหวัดลำปาง จำนวน 43 และ 19 รายตามลำดับ (Tharavichikul et al., 2014) และในเดียวกัน พ.ศ. 2554 มีรายงานการแยกเชื้อ SS2 จากผู้ป่วยที่โรงพยาบาลในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 33 ราย (Nutravong et al., 2014) เป็นที่น่าสังเกตว่า แม้ว่าจะมีการตรวจพบ SS หลาย serotypes เช่น SS2, SS3, SS4, SS5, SS7, SS9 และ SS14 เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เฉพาะ SS2 เท่านั้นที่เป็นสาเหตุหลักและปัญหาในการก่อโรคในประชากรไทย

ล่าสุด ปี พ.ศ. 2558 มีรายงานปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ SS2 ผู้ป่วยในจำนวน 38 รายในจังหวัดนครพนม ระหว่าง พ.ศ. 2549-2555 ได้ลำดับปัจจัยเสี่ยงจากมากไปน้อย คือ การสัมผัสกับสุกรและ/หรือบริโภคเนื้อสุกรไม่สุกสูงถึง ร้อยละ 92.1 (35/38) อาชีพเกษตรกร ร้อยละ 86.8 (33/38) และ เพศชาย ร้อยละ 73.7 (28/38) (Praphasiri et al., 2015) และในปีเดียวกัน พ.ศ. 2558 มีรายงานการประเมินระบบเฝ้าระวังโรคไข้หูดับของโรงพยาบาล 5 แห่งใน 5 จังหวัดภาคเหนือ ปี พ.ศ. 2556 เมื่อจำแนกผู้ป่วยโรคติดเชื้อ SS เป็นรายเดือน พบว่าระหว่างเดือนกรกฎาคมและสิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน มีจำนวนรายงานสูงที่สุด ในขณะที่รายงานในประเทศฮ่องกงกลับมีรายงานผู้ป่วย SS สูงสุดในช่วงฤดูร้อน (Ma et al., 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการพบ SS ในสุกรจากโรคฆ่าในภาคเหนือของประเทศไทยในช่วงฤดูร้อน (Lakkitjaroen et al., 2011)

โดยสรุปจากอุบัติการณ์ของ SS และ SS2 ในสุกรตั้งแต่ระดับฟาร์ม ถึงโรงเชือด และโรคติดเชื้อ SS ในคน จึงจัดได้ว่าโรคติดเชื้อ SS เป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ (emerging disease) ที่ควรเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์อย่างต่อเนื่องและใกล้ชิด เนื่องจากสถานการณ์การปรากฏตัวที่มากขึ้นในประเทศแถบเอเชีย (จีน ฮองกงและเวียดนาม) รวมถึงการแพร่ระบาดมากขึ้นอย่างชัดเจนในเกือบทุกภาคของประเทศไทยเมื่อไม่นานมานี้ กอปรกับกระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดให้มีการรายงานโรคติดเชื้อ SS นี้ในระบบเฝ้าระวังโรค (รง. 506)

1.6 รายงานการสอบสวนโรคติดเชื้อ *Streptococcus suis*

รายงานการสอบสวนโรคที่จัดทำโดยสำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ในกรณีที่เกิดการระบาดหรือการติดเชื้อ *Streptococcus suis* ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 ถึง 2558 พบว่า การติดเชื้อ *Streptococcus suis* นั้น มีประวัติการสัมผัสสุกร เลือด เนื้อสุกรดิบ (เช่น การชำแหละสุกร) หรือการบริโภคเนื้อสุกรดิบ เลือด ในลักษณะ ลาบสุกรดิบ ลาบเลือดสุกรดิบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการติดเชื้อจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกรสุกด้วย เช่น หัวสุกร เป็นต้น

แหล่งที่มาของ *Streptococcus suis* ในการระบาดหรือการติดเชื้อจัดว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ (risk factor) เพื่อการควบคุมและป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ อาจจะแบ่งเป็น 3 ระดับ (ตาราง 10) คือ

1. ระดับการผลิต (production)
 - 1.1 แบบฟาร์ม เป็นการเลี้ยงสุกรในรูปฟาร์มทั้งที่ได้และไม่ผ่านมาตรฐานฟาร์มสุกร
 - 1.2 แบบชาวบ้าน เป็นการเลี้ยงจำนวนไม่มาก อาจจะเลี้ยงแบบไม่ได้มาตรฐานที่เหมาะสม
2. ระดับการฆ่าและชำแหละ (processing)
 - 2.1 แบบการพาณิชย์ เช่น โรงฆ่าเทศบาล
 - 2.2 แบบชาวบ้าน เช่น การฆ่าเฉพาะกิจในงานประเพณีต่างๆ
3. ระดับการกระจายผลิตภัณฑ์ (distribution)
 - 3.1 แบบตลาดสด
 - 3.2 แบบชาวบ้าน เช่น การเร่ขาย ร้านค้าข้างถนนหรือในหมู่บ้าน

ตาราง 10 ปัจจัยเสี่ยงเชิงแหล่งที่มาในการระบาดหรือการติดเชื้อ *Streptococcus suis*

จังหวัด	พ.ศ.	การผลิต		การฆ่าและชำแหละ		การกระจาย	
		(production)		(processing)		(distribution)	
		ฟาร์ม	ชาวบ้าน	พาณิชย์	ชาวบ้าน	ตลาดสด	ชาวบ้าน
กำแพงเพชร	2549	✓	✓	✓			✓
พะเยา	2550	✓	✓	✓	✓	✓	
เชียงใหม่	2551	✓		✓		✓	
สงขลา	2551	✓			✓		✓
นครราชสีมา	2554	✓	✓		✓	✓	✓
อุตรดิตถ์	2555	✓		✓		✓	
นครราชสีมา	2558	✓		✓			✓

เมื่อประมวลข้อมูลรายงานการสอบสวนโรค มีข้อเท็จจริงปัจจัยเสี่ยงการเกิดโรค SS เบื้องต้น ดังนี้

1. สุกรที่เลี้ยงในระบบฟาร์มมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมกกว่าสุกรจากการเลี้ยงแบบชาวบ้าน
2. การฆ่าและชำแหละเชิงพาณิชย์ในระดับท้องถิ่นมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมกกว่าการฆ่าและชำแหละแบบชาวบ้าน
3. การกระจายผลิตภัณฑ์สุกรทั้งการซื้อจากตลาดสดทั่วไปและการเร่ขายในหมู่บ้านมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค SS

ดังนั้น การเฝ้าระวัง SS สามารถช่วยระบุแหล่งที่มาของ SS ได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

1.7 การตรวจระบุจีโนสและสปีชีส์ของ *Streptococcus suis*

(Genus and Species Identification of *Streptococcus suis*)

ปัจจุบันนี้หลังจากการแยกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *Streptococcus suis* จากตัวอย่างของผู้ป่วยหรือสุกรป่วยแล้ว การตรวจระบุจีโนสของเชื้อสามารถทำได้โดยตรวจคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical test) และตรวจยืนยันในระดับสปีชีส์ด้วยการตรวจสอบสารพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยตรวจ housekeeping gene ที่มีความจำเพาะกับเชื้อ ได้แก่ glutamate dehydrogenase (*gdh*) (Nutravong et al., 2014) ซึ่งบ่อยครั้งความผิดพลาดอาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากข้อจำกัด

ของวิธีการ โดยการตรวจคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้ออาจให้ผลทับซ้อนกับ *Streptococcus* spp. อื่น ๆ (Kerdsin et al., 2009; Huong et al., 2014) และเทคนิค PCR อาจให้ผลลัพธ์ซึ่งเป็นผลบวกปลอม (false positive) กับ โคลีนีของ *S. gallolyticus* ได้ (Tien le et al., 2012)

1.8 การจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis*

(Serotype Identification of *Streptococcus suis*)

การจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* จะดำเนินการหลังจากตรวจคุณสมบัติทางชีวเคมีและตรวจยืนยันสปีชีส์ของเชื้อด้วยเทคนิค PCR เรียบร้อยแล้ว ข้อดีของการจำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* คือ ทำให้ทราบความสามารถในก่อโรคของเชื้อ เนื่องจาก *Streptococcus suis* แต่ละซีโรไทป์มีความสามารถในการก่อโรคที่แตกต่างกัน (pathogenicity) ซีโรไทป์ที่มีความรุนแรง (virulent) และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคในคน ได้แก่ ซีโรไทป์ 2 ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคสเตรปโตค็อกโคซิสในผู้ป่วยมากถึง 74.4% (Goyette-Desjardins et al., 2014) ในขณะที่บางซีโรไทป์ เช่น 10, 25 และ 32 ไม่พบรายงานการก่อโรคทั้งในคนและสุกร ดังนั้นการจำแนกซีโรไทป์จึงมีความสำคัญอย่างมาก

ห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคพึงจำแนกซีโรไทป์ทุกครั้งเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลในการยืนยันว่า *Streptococcus suis* เป็นสาเหตุที่แท้จริงของการเกิดโรค นอกจากนี้ข้อมูลดังกล่าวยังเป็นประโยชน์ในการติดตามสถานการณ์การแพร่กระจายของโรคและการกำหนดมาตรการการควบคุมการระบาดของ *Streptococcus suis* อีกด้วย

เทคนิคทางซีรัมวิทยา (Serology) ได้แก่ ปฏิกริยาการตกตะกอน (capillary precipitation) หรือ การเกาะกลุ่ม (co-agglutination test) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมในการจำแนกซีโรไทป์ของเชื้อ โดยจำแนกตามความแตกต่างกันของแอนติเจนบริเวณแคปซูลของเชื้อแต่ละซีโรไทป์ (Meekhanon et al., 2016) อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีโอกาสเกิดการตรวจผิดพลาดระหว่างซีโรไทป์ (cross reaction) ที่มีความใกล้เคียงกันได้ เช่น ระหว่าง SS $\frac{1}{2}$, 1 และ 2, SS6 และ 16, SS2 และ 22, SS1 และ 14 ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในการจำแนกซีโรไทป์ที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคออกจากกัน นอกจากนี้การผลิตแอนติซีรัมมีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยากและมีราคาสูง ภายหลังจึงมีการพัฒนาเทคนิคที่อาศัยสารพันธุกรรม ได้แก่ มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ (multiplex PCR) ขึ้น เพื่อใช้จำแนกซีโรไทป์ของ *Streptococcus suis* แทนวิธีเดิม ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายจากห้องปฏิบัติการเนื่องจากสามารถจำแนกซีโรไทป์ของเชื้อได้และใช้เวลาน้อยกว่า อย่างไรก็ตาม multiplex PCR ยังคงมีข้อเสียสำคัญ คือ ไม่สามารถจำแนก SS1 กับ SS14 และ SS $\frac{1}{2}$ กับ SS2 ได้ เนื่องจากเชื้อมีความใกล้เคียงกันสูง ทำให้ไม่สามารถแยกซีโรไทป์ที่เป็นปัญหาสำคัญออกจากกันได้ จากข้อจำกัดดังกล่าวมาข้างต้นภาพรวมของการตรวจจำแนกซีโรไทป์ก่อโรคของ

Streptococcus suis จากตัวอย่างผู้ป่วยและสุกรป่วยจึงยังคงมีความยุ่งยากและเป็นปัญหาทั้งในวงการแพทย์และสัตวแพทย์

2. การอธิบายอันตราย (Hazard Characterization)

2.1 คัดเลือก dose-response model *Streptococcus suis*

การศึกษาการอธิบายอันตรายโดยมากแล้ว จะเน้นการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความสัมพันธ์การตอบสนองต่อปริมาณอันตราย ซึ่งประกอบด้วย จุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) ร่างกาย (Host) และ สื่อบริโภคน (Food matrix)

ปัจจัยอันตรายจุลินทรีย์ (Pathogen) เช่น ความสามารถในการติดเชื้อ (infectivity) ความรุนแรงของจุลินทรีย์ (Virulence) การดื้อยา (Antimicrobial resistance) ปัจจัยร่างกาย (Host factor) เช่น ความไวในการติดเชื้อ สถานภาพภูมิคุ้มกัน ประวัติการสัมผัสอันตราย การเจ็บป่วยปัจจุบัน ล้วนมีผลต่อการอธิบายอันตรายและมีความสัมพันธ์กับความหลากหลายด้วย ข้อมูลระบาดวิทยามีความสำคัญในการประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ โดยที่ข้อมูลระบาดวิทยาที่จำเพาะต่ออันตรายนั้นหาได้ยากมาก ข้อมูลจากมนุษย์ในการสร้างแบบจำลองเส้นโค้งการตอบสนองต่อปริมาณอันตราย (Dose-response curve) ของประชากรกลุ่มเสี่ยง จึงต้องมีการใช้สมมติฐานในการสร้างแบบจำลองนี้ เช่น ข้อมูลการตอบสนองต่อปริมาณอันตรายของจุลินทรีย์(ก่อโรค)ชนิดอื่นแทน (Surrogate)

อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากการสืบสวนการระบาดสามารถเป็นประโยชน์ในการสร้างความสัมพันธ์การตอบสนองต่อปริมาณอันตราย ความสัมพันธ์การตอบสนองต่อปริมาณอันตรายสามารถสร้างขึ้นได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของการตอบสนองที่สนใจ เช่น อัตราการติดเชื้อ การเจ็บป่วย การรักษาตัวในสถานพยาบาลและการเสียชีวิตที่สัมพันธ์กับปริมาณอันตรายในระดับต่างๆ

แม้ว่าการอธิบายอันตรายเป็นขั้นตอนหนึ่งของการประเมินความเสี่ยง แต่ก็สามารถดำเนินกระบวนการแยกเป็นอิสระได้ อย่างไรก็ตาม การอธิบายอันตรายจุลินทรีย์ก่อโรคหนึ่งสามารถนำมาใช้เป็นองค์ประกอบหนึ่งของการประเมินความเสี่ยงเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ กัน และเพื่อใช้กับสินค้า (Commodity) ชนิดต่างๆ ก็ได้ การอธิบายอันตรายที่พัฒนาโดยประเทศหนึ่งอาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับอีกประเทศหนึ่งโดยผู้ประเมินความเสี่ยงหรือผู้จัดการความเสี่ยงผนวกการประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) ที่จำเพาะของประเทศเข้าไปด้วย นอกจากนี้แล้ว การอธิบายอันตรายที่พัฒนาขึ้นมาสำหรับการรับสัมผัสน้ำ (Water exposure) สามารถประยุกต์ใช้กับการรับสัมผัสอาหาร (Food exposure) ได้โดยมีการพิจารณาในประเด็นเรื่องผลของสื่อบริโภคน (Food matrix) โดยทั่วไปแล้วการอธิบายอันตรายสามารถจะประยุกต์ระหว่างการประเมินความเสี่ยงต่างๆ ของ

จุลินทรีย์ก่อโรคชนิดเดียวกันได้ ในทางตรงกันข้ามการประเมินการสัมผัสกลับจะมีความจำเพาะกับการผลิต การแปรรูปและรูปแบบการบริโภคของแต่ละประเทศหรือแต่ละภูมิภาค

การประเมินความเสี่ยงและการอธิบายอันตรายสำหรับอันตรายจุลินทรีย์ควรจะได้ค่าประมาณความเสี่ยงที่ดีที่สุด (Best estimate) และ ความสัมพันธ์การตอบสนองต่อปริมาณอันตราย โดยปราศจากอคติให้ได้มากที่สุด ค่าประมาณความเสี่ยงที่ได้จากสถานการณ์ที่เลวร้ายที่สุดหรือได้จากการแนวคิดขี้ด้า (Conservative) โดยตั้งใจมักจะนำไปใช้สำหรับการศึกษาประโยชน์ต่อค่าใช้จ่าย (Cost-benefit) หรือ ประสิทธิภาพต่อค่าใช้จ่าย (Cost-effectiveness) ได้น้อยลง หรือ การอธิบายความไม่รู้ของค่าประมาณความเสี่ยงได้น้อยลง แบบจำลองการอธิบายอันตรายควรจะสามารถติดตามย้อนกลับเพื่อทราบความไม่รู้และความหลากหลายของค่าประมาณของตัวแปรที่สนใจ แม้ว่าความเป็นอิสระและการแยกการอธิบายอันตรายออกจากบทบาทของผู้จัดการความเสี่ยงเป็นสิ่งที่สำคัญมาก แต่การประสานงานกันระหว่างผู้จัดการความเสี่ยงและผู้ประเมินความเสี่ยงยังคงจำเป็นที่จะต้องมียู่เพื่อให้ผู้จัดการความเสี่ยงยังคงเข้าใจหลักการและสมมุติฐานของการอธิบายอันตราย และสามารถนำผลลัพธ์การอธิบายอันตรายไปใช้ได้จริงในการประเมินความเสี่ยง ความโปร่งใสในการอธิบายอันตรายด้วยการบันทึกเอกสารต้องมีอยู่ตลอดกระบวนการ ต้องมีการบันทึกแหล่งที่มาของข้อมูล ผลการประเมินและสมมุติฐานที่ใช้ด้วย

แม้ว่าจะมีการกำหนดวัตถุประสงค์และขอบเขตของการประเมินความเสี่ยง แต่ก็ยังควรจะต้องมีการทบทวนวัตถุประสงค์และขอบเขตของการอธิบายอันตรายที่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์และขอบเขตของการประเมินความเสี่ยงตั้งแต่เริ่มต้น ความรู้พื้นฐานเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษาที่ผ่านมาจะช่วยขัดเกลาวัตถุประสงค์และขอบเขตของการอธิบายอันตรายให้มีความละเอียดลออมากขึ้น ซึ่งการขัดเกลาตัวเองจะต้องอาศัยการประสานงานระหว่างผู้จัดการความเสี่ยงทั้งหลายเพื่อให้มั่นใจได้ว่าการเปลี่ยนแปลงจากการขัดเกลาตัวเองจะยังคงนำไปใช้ได้ตรงตามความต้องการที่ได้รับมอบหมายในการประเมินความเสี่ยงจากผู้จัดการความเสี่ยง กระบวนการเริ่มต้นจำเป็นต้องการวางแผนอย่างเป็นระบบในการบ่งชี้บริบท วัตถุประสงค์ ขอบเขต และจุดเน้นของการศึกษาการอธิบายอันตราย ผู้ประเมินความเสี่ยงจำเป็นต้องพิจารณา ตัวอย่างคำถามที่ช่วยประกอบการวางแผนและขัดเกลาการอธิบายอันตรายให้มีประสิทธิภาพและตรงตามเป้าหมายการจัดการความเสี่ยง เช่น

กลุ่มคำถามเกี่ยวกับองค์ประกอบ “จุลินทรีย์ก่อโรค” (Pathogen)

- ลักษณะของจุลินทรีย์ก่อโรคที่ก่อโรคในร่างกาย เช่น ความสามารถในการติดเชื้อ (Infectivity) การเกิดพยาธิสภาพ (Pathogenicity) ความรุนแรง (Virulence) เป็นต้น

- ผลเสียสุขภาพที่เกิดจากการรับสัมผัสจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น อาการไม่รุนแรง (mild) และหายเองได้ (self-limiting) อาการถึงชีวิต (life-threatening)

กลุ่มคำถามเกี่ยวกับองค์ประกอบ “ร่างกาย” (Host)

- ความไวในการติดเชื้อของประชากร เช่น ปัจเจกบุคคล กลุ่มประชากรย่อย หรือประชากรรวม

- ลักษณะที่อาจจะเปลี่ยนแปลงความไวในการติดเชื้อของประชากรที่รับสัมผัสจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น อายุ ระดับภูมิคุ้มกัน การเจ็บป่วยซ้ำซ้อน การรักษา พันธุกรรมพื้นฐาน การตั้งครมภ์ ภาวะโภชนาการ สถานภาพสังคม และบุคลิกภาพทางพฤติกรรม เป็นต้น

- อัตราการป่วย (Morbidity rate) หรือ ความถี่ในการเกิดการเจ็บป่วยจากการติดเชื้อ

- ผลเสียสุขภาพในระยะสั้นและระยะยาว เช่น การป่วย (Morbidity) การเสียชีวิต (Mortality) การป่วยสืบเนื่อง (Sequelae) อายุบั้นทอนลงจากการเจ็บป่วย (years of life lost) การบั้นทอนคุณภาพชีวิต (impairment of quality of life) เป็นต้น

- เส้นทางการแพร่จุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญที่สุด

กลุ่มคำถามเกี่ยวกับองค์ประกอบ “สื่อบริโภาค” (Food-water matrix)

- การตอบสนองของจุลินทรีย์ก่อโรคต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ (ความร้อนและความเย็น) ความแห้ง ความเป็นกรดต่าง ปริมาณออกซิเจน เป็นต้น ที่มีผลต่อการติดเชื้อและการก่อโรค

- สื่อบริโภาคที่มีผลต่อการติดเชื้อและการก่อโรคของจุลินทรีย์ก่อโรค

- การรับสัมผัสสพหุ (Multiple exposure) มีความเป็นอิสระระหว่างกันหรือไม่ หรือ มีการสร้างภูมิคุ้มกัน ในระหว่างการรับสัมผัสสพหุ

นอกจากตัวแปรดังกล่าวแล้ว อาจจะต้องมีการพิจารณาถึงกลยุทธ์การป้องกันหรือการคุ้มครองหรือกระทั่ง ร่วมกันของร่างกาย เช่น การสร้างภูมิคุ้มกันของประชากรต่อโรคไวรัสตับอักเสบบีหรือโรคไข้ไทฟอยด์

คำถามเชิงโครงสร้างจำเป็นจะต้องได้รับการพิจารณาก่อนการเริ่มต้นการอธิบายอันตราย และดำเนินการประมวลคำถามเหล่านี้หลังจากการสื่อสารระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยงและผู้จัดการความเสี่ยงในฐานะผู้ใช้การอธิบายอันตราย คำถามเหล่านี้มีประโยชน์มากในการกำหนดทิศทางของการเก็บข้อมูล การเรียบเรียงข้อมูลและการประเมินข้อมูล คำถามเหล่านี้ช่วยในการบ่งชี้สัญญาณภาคข้อมูลและความไม่รู้ ทำให้ผู้จัดการความเสี่ยงได้ทราบผลลัพธ์หรือลักษณะของการอธิบายอันตรายที่จะได้รับล่วงหน้าได้ คำตอบที่ได้จากคำถามเหล่านี้จะช่วยให้ผู้ประเมินความเสี่ยงได้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับจุลินทรีย์ก่อโรค การเกิดโรคและบ่งชี้การวิจัยที่ต้องการ

แหล่งที่มาข้อมูลมีความสำคัญมากในการอธิบายอันตราย เนื่องจาก แบบจำลองการอธิบายอันตรายที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงพัฒนาขึ้นมาจากข้อมูลจากแหล่งต่างๆ โดยพิจารณาเน้น 3 องค์ประกอบ คือ จุลินทรีย์ก่อโรค ร่างกายและสื่อบริโรค โดยผนวกประเด็นเรื่องของความไม่รู้ด้วย

การเก็บข้อมูลในเชิงรุกมีความจำเป็นในบางกรณี เนื่องจาก การรวบรวมข้อมูลที่ส่งหรือข้อมูลที่ตีพิมพ์แต่เพียงถ่ายเดียวอาจจะได้ข้อมูลไม่เพียงพอในการสร้างแบบจำลองการตอบสนองต่อปริมาณอันตราย ข้อมูลที่เกี่ยวข้องบางครั้งก็อาจจะได้จากวารสารวิทยาศาสตร์ชนิดที่มีการตรวจสอบโดยผู้เชี่ยวชาญ แม้ว่าข้อมูลอาจจะไม่มีการตีพิมพ์และมีข้อสงสัยเรื่องคุณภาพของข้อมูลก็อาจจะต้องนำมาใช้แต่ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง

แหล่งข้อมูลในการอธิบายอันตรายอาจจะแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มหลัก ดังนี้

1. การศึกษาในสัตว์ทดลอง (animal studies)

การศึกษาในสัตว์ทดลองได้นำมาใช้ในกรณีมีปัญหาทางด้านจริยธรรมทำให้ไม่สามารถศึกษาได้โดยตรงในมนุษย์ แบบจำลองสัตว์ทดลองจำนวนมากนำมาใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ของ จุลินทรีย์ก่อโรค ร่างกายและสื่อบริโรคที่มีผลต่อลักษณะการเกิดโรคจากอาหารหรือน้ำเป็นสื่อรวมถึงความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อปริมาณอันตราย

2. การศึกษาในหลอดทดลอง (in vitro studies)

การศึกษาในหลอดทดลองครอบคลุมการศึกษาที่ใช้เซลล์ เนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่เพาะเลี้ยงขึ้นมาเพื่อศึกษาผลของจุลินทรีย์ที่มีต่อร่างกาย ส่วนมากแล้วผลการศึกษาในหลอดทดลองจะใช้ในการหาความรุนแรง (virulence) ของจุลินทรีย์ก่อโรคในเชิงคุณภาพ บางครั้งยังรวมถึงการศึกษา 3 องค์ประกอบ คือ จุลินทรีย์ก่อโรค ร่างกายและสื่อบริโรคที่มีผลต่อกระบวนการเกิดโรค

3. การศึกษาในมนุษย์ (human studies)

3.1 การสืบสวนการระบาดโรค (Outbreak investigation)

เมื่อมีการระบาดของโรคที่มีอาหารหรือน้ำเป็นสื่อ ก็จะต้องมีหน่วยงานรับผิดชอบดำเนินการเพื่อระบุสาเหตุของการระบาด อย่างน้อยก็เพื่อเป็นการจำกัดการแพร่ระบาดต่อเนื่องต่อไป และยังช่วยในการป้องกันมิให้เกิดการระบาดซ้ำในอนาคต การสืบสวนโรคระบาดที่สามารถยืนยันสาเหตุของโรคระบาดได้ จะมีประโยชน์อย่างยิ่ง เนื่องจาก จะเป็นข้อมูลที่มีความครบถ้วนสมบูรณ์ เช่น พิสัยของความเจ็บป่วยที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรค ลักษณะของร่างกายและพฤติกรรมที่อาจจะเพิ่มหรือลดความเสี่ยง นอกจากนี้ หากว่ามีการติดตามผลต่อเนื่อง ก็จะสามารถระบุการป่วยต่อเนื่อง (sequelae) ได้ด้วย เมื่อการระบาดมีการสืบสวนหาสาเหตุได้ คือ อาหารหรือน้ำที่

สามารถประมาณปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ก็จะสามารถสร้างความสัมพันธ์การตอบสนองต่อปริมาณอันตรายได้ (dose-response) แม้ว่าอาจจะไม่สามารถได้ข้อมูลปริมาณอันตราย ก็ยังสามารถสร้างความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อปริมาณอันตรายได้จากการสังเกตความแตกต่างของการเกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอันตรายสัมพันธ์ ซึ่งจัดว่าเป็นแนวทางที่เป็นธรรมเนียมปฏิบัติในการสืบสวนการระบาด ซึ่งทำได้ด้วยการศึกษาอัตราการเจ็บป่วยที่สูงกว่าในกลุ่มผู้ที่บริโภคอาหารมากกว่า แต่อาจจะมีผลจากความหลากหลายของความชุกของการเกิดอาการและภาวะแทรกซ้อน นอกจากนี้ ในระหว่างการสืบสวนการระบาดควรจะได้มีการเก็บข้อมูลการบริโภคน้ำหรืออาหารด้วย การระบาดที่มีอัตราการป่วยต่ำในประชากรขนาดใหญ่มักจะเป็นโอกาสที่ดีในการศึกษาการตอบสนองต่ออันตรายที่ได้รับ ณ ปริมาณอันตรายระดับต่ำหากมีการตรวจระดับการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร ข้อมูลจากการระบาดจัดว่าเป็นข้อมูลที่เป็นจุดมคติสูงสุด (ultimate anchor) สำหรับแบบจำลองการตอบสนองต่อปริมาณอันตรายและเป็นวิธีการในการทวนสอบการประเมินความเสี่ยงด้วย เนื่องจาก เป็นสถานการณ์ที่เกิดขึ้นจริงที่เกิดขึ้นกับประชากรโดยไม่มีอคติแต่อย่างใด

3.2 การเฝ้าระวังและสถิติสุขภาพประจำปี (Surveillance and annual health statistics)

แม้ว่าแหล่งข้อมูลของการเฝ้าระวังและสถิติสุขภาพประจำปีจะมีความน่าเชื่อถือ อย่างไรก็ตาม การหาความสัมพันธ์ของอัตราการเจ็บป่วยที่ได้จากแหล่งข้อมูลดังกล่าวกับการสำรวจปริมาณหรือความเข้มข้นจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารอาจจะทำให้ความสัมพันธ์การตอบสนองต่อปริมาณอันตรายมีความไม่รู้อ่าง เนื่องจาก การสร้างความสัมพันธ์นี้ต้องอยู่บนพื้นฐานของข้อมูลสถิติฐานจำนวนมาก

3.3 การศึกษาการป้อนอันตรายแก่อาสาสมัคร (Volunteer feeding studies)

การศึกษาการป้อนอันตรายที่ทราบปริมาณจุลินทรีย์ที่แน่นอนให้แก่อาสาสมัครในสิ่งแวดล้อมที่มีการควบคุมอย่างดี การศึกษานี้ส่วนมากมักจะดำเนินการไปพร้อมกับการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีนในการป้องกันการเกิดโรค การศึกษาการป้อนอันตรายแก่อาสาสมัครนี้จัดว่าเป็นการศึกษาในมนุษย์ที่ตรงที่สุดอันหนึ่ง อย่างไรก็ตาม การศึกษาในลักษณะนี้ปัจจุบันมีความเสี่ยงต่อประเด็นจรรยาบรรณและความเหมาะสมทางศีลธรรมด้วย

3.4 การศึกษาสิ่งชี้บ่งชีวภาพ (Biomarkers)

สิ่งชี้บ่งชีวภาพเป็นการวัดลักษณะบางอย่างของร่างกายที่อาจจะบอกถึงการรับสัมผัสอันตรายหรือระดับของผลเสียสุขภาพที่เกิดจากอันตรายในประชากรที่สนใจ สิ่งชี้บ่งชีวภาพจะเป็นวิธีการในการประเมินสถานภาพหรือลักษณะบางอย่างของร่างกายโดยรบกวนหรือขัดขวางการทำงานของร่างกายน้อยที่สุด (minimally invasive) การศึกษาสิ่งชี้บ่งทางชีวภาพมีพื้นฐานแนวคิดจากการประเมินความเสี่ยงทางเคมีหรือสารพิษซึ่งอาจจะมี

ประโยชน์ในการศึกษาการตอบสนองต่อปริมาณอันตรายในทางจุลินทรีย์ได้ด้วย โดยสถาบันวิทยาศาสตร์แห่งชาติ ประเทศสหรัฐอเมริกา หรือ United States National Academy of Science ได้จัดแบ่งสิ่งชี้บ่งชีวภาพไว้เป็น 3 กลุ่ม คือ

- สิ่งชี้บ่งชีวภาพของการรับสัมผัส (Biomarker of exposure)
- สิ่งชี้บ่งชีวภาพของการเกิดผลเสียสุขภาพ (Biomarker of effect)
- สิ่งชี้บ่งชีวภาพของความจำนโรค (Biomarker of susceptibility)

3.5 การศึกษาการแทรกแซง (Intervention studies)

การศึกษาการแทรกแซงเป็นการทดลองโดยตรงในมนุษย์โดยการเปรียบเทียบอัตราการเกิดโรคของสองกลุ่มประชากรที่มีระดับการรับสัมผัสที่แตกต่างกัน

4. การขอความเห็นผู้เชี่ยวชาญ (expert elicitation)

การขอความเห็นจากผู้เชี่ยวชาญมักจะใช้ในกรณีที่เกิดสุญญากาศของข้อมูลหรือต้องการให้ข้อมูลมีน้ำหนักมากขึ้น แหล่งข้อมูลนี้จัดว่าเป็นแหล่งข้อมูลที่เป็นทางการหนึ่ง

เนื่องจาก ยังไม่มี dose-response model ที่จำเพาะสำหรับ SS2 ดังนั้น จะเลือกใช้ dose-response model ที่พัฒนาจากการตอบสนองการก่อโรคในสัตว์ทดลอง ตาราง 11

ตาราง 11 Dose-response model สำหรับ *Streptococcus suis*

จุลินทรีย์ก่อโรค	Dose-response model	Parameter	Reference
<i>Streptococcus suis</i>	Log-logistic	$q_1 = 21.99$ $q_2 = 2.87$	Wongnak 2020 ¹

¹ Wongnak, P., Wiratsudakul, A. and Nuanualsuwan, S., 2020. A risk assessment of pathogenic *Streptococcus suis* in pork supply chains and markets in Thailand. *Food Control*, 118, p.107432.

2.2 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *Streptococcus suis*

(Probability of illness: P_i)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *S. suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกรใน 6 ภาค (จังหวัด) 3 ฤดูกาล ดังแสดงใน ตาราง 12 โดยคำนวณจาก dose-response model (ตาราง 11) ระดับความเข้มข้น *S. suis* ในผลิตภัณฑ์สุกร (ตาราง 17) ปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร (ภาพ 3)

ตาราง 12 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (Prob. of illness: P_i) จาก *S. suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	เนื้อเย็น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	เนื้ออุ่น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	อวัยวะภายใน	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	เนื้อเย็น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	เนื้ออุ่น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	อวัยวะภายใน	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}
ตะวันออก (ชลบุรี)	เนื้อเย็น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	เนื้ออุ่น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	อวัยวะภายใน	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	เนื้อเย็น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	เนื้ออุ่น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	อวัยวะภายใน	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	เนื้อเย็น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	เนื้ออุ่น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	อวัยวะภายใน	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}	3.4×10^{-46}
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2S3)	เนื้อเย็น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	เนื้ออุ่น	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}	3.2×10^{-45}
	อวัยวะภายใน	3.4×10^{-46}	6.8×10^{-45}	3.4×10^{-46}

เกณฑ์ประเมิน (Evaluation criteria)

ความน่าจะเป็น (probability) หรือ โอกาส (likelihood) ในรูปของค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) สามารถจำแนกตามระดับความมากน้อยตามเกณฑ์ที่แนะนำโดยหน่วยงานความปลอดภัยชีวภาพของประเทศออสเตรเลีย (Biosecurity Australia, 2006) ตาราง 13

ตาราง 13 เกณฑ์ประเมินระดับความน่าจะเป็น โอกาส หรือ ความเสี่ยง

ความน่าจะเป็น โอกาส หรือความเสี่ยง (percent)	ระดับประเมิน (Evaluation level)
> 0.7 (70%)	สูง (High)
> 0.3 - 0.7 (30%-70%)	ปานกลาง (Moderate)
> 0.05 – 0.3 (5%-30%)	ต่ำ (Low)
> 0.001 – 0.05	ต่ำมาก (Very low)
> 10^{-6} – 0.001	ต่ำอย่างมาก (Extremely low)
< 10^{-6}	ละเลยได้ (Negligible)

2.3 การแปลผล (Interpretation)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness) หมายถึง โอกาสในการเจ็บป่วยจากการได้รับจำนวนเซลล์ (dose) ของแบคทีเรียก่อโรค *S.suis* ที่เข้าสู่ร่างกาย

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย *S.suis* ที่ปนเปื้อนในเนื้อสุกร เท่ากับ 4.6×10^{-47} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 13 แล้วจัดอยู่ในระดับ ละเลยได้ (Negligible)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *S.suis* 4.6×10^{-47} หมายความว่า
ปัจเจกบุคคลบริโภคเนื้อสุกร 14.12 กรัม/วัน ที่มี *S.suis* เฉลี่ย 0.06 เซลล์ (0.004 cfu/g \times 14.12 g)

- จำนวน 10^{47} วัน จะมีโอกาสเจ็บป่วยจาก *S.suis* เพียง 4.6 วัน (ครั้ง)

หรือ

- จำนวน 10^{44} ปี จะมีโอกาสเจ็บป่วยจาก *S.suis* เพียง 4.6 วัน (ครั้ง)

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)

3.1 การเก็บตัวอย่าง

- ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร
 - เนื้อสุกรตลาดทันสมัย
 - เนื้อสุกรตลาดสด
 - อวัยวะภายใน เช่น ต่อมทอนซิล เลือด อวัยวะช่องอก อวัยวะช่องท้อง
- พื้นที่การเก็บตัวอย่าง แบ่งเป็น 6 จังหวัดใน 6 ภาคทั่วประเทศ (ตาราง 14)
 1. ภาคกลาง : กรุงเทพมหานคร หรือ นครสวรรค์
 2. ภาคตะวันตก : ประจวบคีรีขันธ์
 3. ภาคตะวันออก : ชลบุรี
 4. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ : ขอนแก่น
 5. ภาคใต้ : ภูเก็ต หรือ สุราษฎร์ธานี
 6. ภาคเหนือ : เชียงใหม่

ตาราง 14 การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรรายภาคในการประเมินความเสี่ยง

ภาค	จังหวัด	ผลิตภัณฑ์สุกร			รวม/ฤดู	ฤดู	รวม
		เนื้อเย็น	เนื้ออุ่น	อวัยวะภายใน*			
กลาง	กรุงเทพ	10	10	10	30	3	90
ตะวันตก	ประจวบคีรีขันธ์	10	10	10	30	3	90
ตะวันออก	ชลบุรี	10	10	10	30	3	90
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	10	10	10	30	3	90
ใต้	ภูเก็ต, สุราษฎร์ธานี	10	10	10	30	3	90
เหนือ	เชียงใหม่, นครสวรรค์	10	10	10	30	3	90
						รวม	540

3.2 พื้นที่การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกรทั่วประเทศ(ตาราง 15)

1. กรุงเทพฯ

▣ ตลาดสด

1. ตลาดสามย่าน : ตลาดของสดและอาหารพร้อมบริโภค
2. ตลาดเก่าเยาวราช : ตลาดของสดระดับค้าปลีกและค้าส่ง และ อาหารพร้อมบริโภค

▣ ตลาดทันสมัย

1. Central Plaza Chiangmai Airport (Central food hall)
2. Tesco Lotus เชียงใหม่-คำเที่ยง
3. กาดสวนแก้ว (Tops)

2. ประจวบคีรีขันธ์

▣ ตลาดสด

1. ตลาดฉัตรไชย : เปิด 5.00-16.00
2. ตลาดฉัตรไชยบน (ตลาดชมสินธุ์) : เปิด 4.00-13.00 *เป็นตลาดเช้า ขนาดเล็ก

▣ ตลาดทันสมัย

1. Big C Market หัวหิน
2. Market village หัวหิน (Tesco lotus)
3. Makro หัวหิน

3. ชลบุรี

▣ ตลาดสด

1. ตลาดสดเทศบาลศรีราชา : เปิด 03.00-18.00 น. *ของสดมีแค่ช่วงเช้า
2. ตลาดโรงโม่ บางละมุง : ปิด 18.00
3. ตลาดวรกิจพลาซ่า ถนนเก้ากิโล : เปิดทั้งวัน *ของสดลงเฉพาะช่วงเช้า

▣ ตลาดทันสมัย

1. Harbor Mall แหลมฉบัง (Lotus)
2. Makro แหลมฉบัง
3. Lotus Market บางพระ

4. ขอนแก่น

▣ ตลาดสด

1. ตลาดสดเทศบาล1 : เปิด 5.00-17.00 * ของสดมีเฉพาะช่วงเช้า
2. ตลาดสดโบบี (เทศบาล3) : ไม่ระบุเวลาเปิดปิดแน่นอน แต่คาดว่าจะเป็นตลาดเช้า

3. ตลาดศรีเมืองทอง

▫ ตลาดทันสมัย

1. Big C ขอนแก่น
2. Makro ขอนแก่น
3. Robinson ขอนแก่น (Tops)

5. ภูเก็ต

▫ ตลาดสด

1. ตลาดสดสาธารณะ 1 เทศบาลภูเก็ต อ.เมืองภูเก็ต (Phuket Town Central Market) : เปิด 4.00 - 20.00 ตลาดสดช่วงเช้า
2. ตลาดสดกะทู้ (ใหม่) : เปิด 5.00 – 14.00

▫ ตลาดทันสมัย

1. Big C Phuket
2. Tesco Lotus extra Phuket
3. Central plaza Phuket festival (central food hall)

6. เชียงใหม่

▫ ตลาดสด

1. ตลาดประตูเชียงใหม่ : ตลาดเช้า เปิด 3.00 - 11.00 ตลาดเย็นขายอาหารปิ้งย่าง อาหารพื้นเมือง
2. ตลาดประตูก้อม (กาดก้อม) : ตลาดเช้าเป็นของสด เปิด 6.00 ตลาดเย็นขายอาหารปิ้งย่าง อาหารพื้นเมือง ตลาดเล็กกว่าตลาดประตูเมืองเชียงใหม่

▫ ตลาดทันสมัย

1. Central Plaza Chiangmai Airport (Central food hall)
2. Tesco Lotus เชียงใหม่-คำเที่ยง
3. กาดสวนแก้ว (Tops)

ตาราง 15 พื้นที่ในการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุกร

ภาค	จังหวัด	ตลาด	
		สด	ทันสมัย
1. กลาง	กรุงเทพ	1. ตลาดสามย่าน 2. ตลาดเก่าเยาวราช	1. Big C 2. Lotus 3. Makro
2. ตะวันตก	ประจวบคีรีขันธ์	1. ตลาดฉัตรไชย 2. ตลาดฉัตรไชยบน (ตลาดชมสินธุ์)	1. Big C Market หัวหิน 2. Lotus : Market village หัวหิน 3. Makro หัวหิน
3. ตะวันออก	ชลบุรี	1. ตลาดสดเทศบาลศรีราชา 2. ตลาดโรงโม่ บางละมุง 3. ตลาดวรภิจพลาซ่า ถ.เก้ากิโล	1. Lotus แหลมฉบัง 2. Makro แหลมฉบัง 3. Lotus Market บางพระ
4. ตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	1. ตลาดสดเทศบาล1 2. ตลาดสดโป้แป๊ะ (เทศบาล3) 3. ตลาดศรีเมืองทอง	1. Big C ขอนแก่น 2. Makro ขอนแก่น 3. Robinson ขอนแก่น (Tops)
5. ใต้	ภูเก็ต	1. ตลาดสด Phuket town central market 2. ตลาดสดกะทู้ (ใหม่)	1. Big C Phuket 2. Tesco Lotus extra Phuket 3. Central plaza Phuket festival (central food hall)
6. เหนือ	เชียงใหม่	1. ตลาดประตูเชียงใหม่ 2. ตลาดประตูก้อม (กาดก้อม)	1. Central Plaza Chiangmai Airport 2. Tesco Lotus เชียงใหม่-คำเที่ยง 3. กาดสวนแก้ว

3.3 ระดับการปนเปื้อน *Streptococcus suis* ในผลิตภัณฑ์สุกร ฤดู 1-3

(Prevalence and Concentration of *S. suis* in 3 seasons)

รายงานระดับการปนเปื้อน *S. suis* ในผลิตภัณฑ์สุกร เป็น 3 รูปแบบ คือ สัดส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวก (No. of positive samples) ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) และ ความเข้มข้น (Concentration)

3.4 ความชุก (Prevalence)

ความชุกของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ สามารถรายงานได้ 2 ลักษณะ คือ

1. ความชุกแน่นอน (deterministic prevalence) คำนวณความชุกโดยอนุมานว่า ความชุกมีค่าเดียวที่ดีที่สุดแน่นอนเพียงค่าเดียว (point estimate) โดยไม่ได้คำนึงถึง uncertainty และ variability ของตัวแปรสุ่ม (random variable) ไม่ใช่ในการศึกษาครั้งนี้

2. ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic prevalence) คำนวณความชุกโดยผนวกความไม่แน่นอนของตัวแปรสุ่ม (random variable) ในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยทั่วไปแล้วนิยมใช้ร้อยละของการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคต่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ เรียกว่า ความชุกแน่นอน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการประเมินความเสี่ยงมีความเกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอน ดังนั้นจึงนิยมใช้การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ในการอธิบายความไม่แน่นอนของความชุก โดยทั่วไปแล้วการอธิบายความไม่แน่นอนของความชุกจะใช้ Beta distribution $Beta(\alpha_1, \alpha_2)$ (Vose, 1998)

โดยที่ α_1 คือ $s + 1$

α_2 คือ $n - s + 1$

n คือ จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ (trial)

s คือ จำนวนตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* spp. ($s = \text{success}$)

นอกจากนี้ ค่าคาดหวัง (expected value) หรือ ค่าเฉลี่ยของ Beta distribution จะใช้สูตร

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2} \quad (3)$$

ตัวอย่างที่ 1 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 30 ตัวอย่าง ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคเลย ความชุกเฉลี่ยของจุลินทรีย์ก่อโรค

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 30 ตัวอย่าง หรือ $n = 30$

จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก 0 ตัวอย่าง หรือ $s = 0$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{0+1}{30+2}$$

Mean Prevalence = $1/32 = 0.03125$ หรือ ประมาณร้อยละ 3

ดังนั้น แม้ว่าจะตรวจไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างที่ตรวจ ($s = 0$) แต่ mean prevalence ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจาก Beta distribution ก็ให้ค่าเฉลี่ยความชุกที่ไม่เป็นศูนย์

ในทางตรงกันข้าม การคำนวณความชุกทางระบาดวิทยา จะเป็นสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด คือ $s = 0$ และ $n = 30$ ดังนั้น ความชุกที่ได้จึงเป็น ร้อยละ 0

ตัวอย่างที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 3,000 ตัวอย่าง ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคเลย ความชุกเฉลี่ยของจุลินทรีย์ก่อโรค

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 3,000 ตัวอย่าง หรือ $n = 3,000$

จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก 0 ตัวอย่าง หรือ $s = 0$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{0+1}{3,000+2}$$

Mean Prevalence = $1/3,002 = 0.000333$ หรือ ประมาณร้อยละ 0.03

ในตัวอย่างที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจมีจำนวนมากกว่าตัวอย่างที่ 1 ถึง 100 เท่า กล่าวคือ $n = 3,000$ ในขณะที่ ตรวจไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างที่ตรวจ ($s = 0$) เช่นเดียวกัน โดย mean prevalence ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจาก Beta distribution ก็ให้ค่าเฉลี่ยความชุกที่ไม่เป็นศูนย์เช่นเดียวกัน เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจมีจำนวนมากขึ้น และ $s = 0$ เหมือนเดิม ความชุกเฉลี่ยจะมีค่าที่เข้าใกล้ศูนย์ ซึ่งเป็นความชุกที่ได้จากการคำนวณความชุกทางระบาดวิทยา

โดยที่ความชุกทางระบาดวิทยา คือ สัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด คือ $s = 0$ และในตัวอย่างที่ 2 มี $n = 3,000$ ดังนั้น ความชุกที่ได้จึงเป็น ร้อยละ 0 ไม่แตกต่างจากความชุกเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจเพียง 30 ตัวอย่าง

ตาราง 16 ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) ของ *S. suis* ในผลิตภัณฑ์สุกรใน 6 จังหวัด

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1			Season 2			Season 3		
		<i>s</i>	<i>n</i>	P_{PROB}	<i>s</i>	<i>n</i>	P_{PROB}	<i>s</i>	<i>n</i>	P_{PROB}
กลาง (กรุงเทพ)	เนื้อเย็น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	เนื้ออุ่น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	อวัยวะภายใน	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	เนื้อเย็น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	เนื้ออุ่น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	อวัยวะภายใน	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
ตะวันออก (ชลบุรี)	เนื้อเย็น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	เนื้ออุ่น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	อวัยวะภายใน	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	เนื้อเย็น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	เนื้ออุ่น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	อวัยวะภายใน	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	เนื้อเย็น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	เนื้ออุ่น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	อวัยวะภายใน	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2S3)	เนื้อเย็น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	เนื้ออุ่น	0	10	8.3%	0	10	8.3%	0	10	8.3%
	อวัยวะภายใน	0	10	8.3%	2*	10	25.0%	0	10	8.3%

* ตัวอย่างเลือด อ.บรรพตพิสัย จ.นครสวรรค์

การนับจำนวน *Streptococcus suis* ซีโรไทป์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์สุกร

- การวิเคราะห์การปนเปื้อน SS เชิงปริมาณ โดย Standard plate count (SPC)
 - Columbia blood agar (CBA)
 - เพาะเลี้ยงที่ 37 °C 18-24 ชั่วโมง
 - สังเกต colony ขนาดเล็กสีเทา และ alpha (partial) hemolysis
- คุณสมบัติทางชีวเคมี (Biochemical properties) แนะนำโดย Center for Disease Control and Prevention (Murray et al., 2003)
 - 6.5% NaCl agar : Negative (no growth)
 - Catalase test : Negative
 - Starch hydrolysis : Positive
- ยืนยัน *Streptococcus suis* ด้วย PCR โดยการตรวจยีน *gdh* และ/หรือ 16S rRNA (Wongsawan et al., 2015, Pathanasophon et al., 2013)
- ระบุ *Streptococcus suis* serotype ด้วย MALDI-TOF MS

3.5 ความเข้มข้น (Concentration)

ระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ คำนวณจากค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนจากจำนวนตัวอย่างในผลิตภัณฑ์ โดยการวิเคราะห์ความเข้มข้นเพื่อใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (ตาราง 17) แบ่งได้เป็น 2 กรณี คือ

1. กรณีการปนเปื้อนทั่วไป

ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นจุลินทรีย์ในตัวอย่าง จะรายงานเป็นจำนวนจุลินทรีย์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งอาจจะรายงานในระบบตัวเลขปกติ เช่น 1,000 cfu/g หรือ รายงานในระบบเลขยกกำลัง เช่น 10^3 cfu/g ซึ่งเท่ากับ $3 \log$ cfu/g

2. กรณีที่ไม่มีการปนเปื้อน

ในกรณีที่ไม่มี การปนเปื้อนของเชื้อในตัวอย่าง ไม่ได้หมายความว่า ประชากรที่ต้องการอนุมานจะไม่มี การปนเปื้อน เนื่องจากการสุ่มตัวอย่าง อาจจะไม่พบได้

อย่างไรก็ตาม การคำนวณความเข้มข้นจะใช้วิธี maximum likelihood estimator (MLE) (Alali, Mann, & Beuchat, 2012; Haas et al., 1999)

$$C = \frac{\sum_{i=1}^k N_i}{\sum_{i=1}^k V_i}$$

โดย C = ความเข้มข้นของ *S. suis* ในผลิตภัณฑ์ (g^{-1})

N_i = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก ตัวอย่างที่ i ถึง k

V_i = analytical unit ของผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์ในตัวอย่างที่ i ถึง k

k = จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์ต่อฤดูกาล

ยกตัวอย่างเช่น การตรวจวิเคราะห์ที่ไม่พบเชื้อในตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม จะรายงานความเข้มข้นเป็น น้อยกว่า $1/25$ cfu/g หรือ < 0.04 cfu/g โดยในการคำนวณจะใช้ค่า 0.04 cfu/g ในการคำนวณ

ตาราง 17 ความเข้มข้น (Concentration) ของ *S. suis* (g^{-1}) ในผลิตภัณฑ์สุกรใน 6 จังหวัด

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1			Season 2			Season 3		
		s	n	C	s	n	C	s	n	C
กลาง (กรุงเทพฯ)	เนื้อเย็น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	เนื้ออุ่น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	อวัยวะภายใน	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	เนื้อเย็น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	เนื้ออุ่น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	อวัยวะภายใน	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
ตะวันออก (ชลบุรี)	เนื้อเย็น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	เนื้ออุ่น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	อวัยวะภายใน	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	เนื้อเย็น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	เนื้ออุ่น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	อวัยวะภายใน	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	เนื้อเย็น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	เนื้ออุ่น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	อวัยวะภายใน	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2S3)	เนื้อเย็น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	เนื้ออุ่น	0	10	0.004	0	10	0.004	0	10	0.004
	อวัยวะภายใน	0	10	0.004	2	10	0.008	0	10	0.004

* ตัวอย่างเลือด อ.บรรพตพิสัย จ.นครสวรรค์

3.6 ปริมาณการบริโภคเนื้อสุกรของประชากรไทย

(Pork consumption)

ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food consumption data of Thailand) โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 รายงานค่าเฉลี่ยการบริโภคเนื้อสุกร และตับสุกร เฉพาะผู้ที่บริโภค (eater only) อายุ 3 ปีขึ้นไป 32.50 และ 19.41 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ ดัง ภาพ 3



ตารางที่ 4.11 ค่าเฉลี่ยและค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคเฉพาะผู้ที่บริโภค (eater only) อายุ 3 ปีขึ้นไป

ลำดับ	อาหาร	ลักษณะอาหาร	ค่าเฉลี่ย			ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5		
			ชาย	หญิง	รวมเพศ	ชาย	หญิง	รวมเพศ
7.2	เนื้อหมู และผลิตภัณฑ์ (กรัม/คนที่บริโภค/วัน)							
1	เนื้อหมู	สุก	34.62	30.64	32.50	70.00	70.00	70.00
2	เลือดหมู	สุก	33.18	32.01	32.59	56.00	56.00	56.00
3	ตับหมู	สุก	20.08	18.79	19.41	44.00	44.00	44.00

ภาพ 3 ค่าเฉลี่ยการบริโภคเนื้อสุกรเฉพาะผู้ที่บริโภค (eater only) อายุ 3 ปีขึ้นไป

3.7 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Streptococcus suis*

(Probability of exposure)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *S. suis* คำนวณจาก ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (ตาราง 16) ความเข้มข้น (ตาราง 17) และ ปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร/คน/วัน ดังแสดงใน ตาราง 18

ตาราง 18 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Prob. of exposure) จาก *S. suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	เนื้อเย็น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	เนื้ออุ่น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	อวัยวะภายใน	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	เนื้อเย็น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	เนื้ออุ่น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	อวัยวะภายใน	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}
ตะวันออก (ชลบุรี)	เนื้อเย็น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	เนื้ออุ่น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	อวัยวะภายใน	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	เนื้อเย็น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	เนื้ออุ่น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	อวัยวะภายใน	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	เนื้อเย็น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	เนื้ออุ่น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	อวัยวะภายใน	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}	6.2×10^{-3}
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2S3)	เนื้อเย็น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	เนื้ออุ่น	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}	1.0×10^{-2}
	อวัยวะภายใน	6.2×10^{-3}	1.9×10^{-2}	6.2×10^{-3}

การแปลผล (Interpretation)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure) หมายถึง โอกาสในการได้รับสัมผัสหรือรับเอาอันตรายในที่นี้ คือ *S. suis* เข้าสู่ร่างกายอย่างน้อย 1 เซลล์ ต่อวัน

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *S. suis* ที่ปนเปื้อนในเนื้อสุกร เท่ากับ 1.2×10^{-2} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 13 จัดอยู่ในระดับต่ำมาก (Very low)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *S.suis* $1.2 \times 10^{-2} = 0.012$ หมายความว่า
ปัจเจกบุคคลบริโภคเนื้อสุกร 32.50 กรัม/วัน

- จำนวน 1,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *S.suis* ปนเปื้อนเนื้อสุกร 12 วัน
เทียบเท่ากับ
- จำนวน 100 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *S.suis* ปนเปื้อนเนื้อสุกร 1.2 วัน

4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk Characterization)

การอธิบายความเสี่ยงเป็นการบูรณาการผลที่ได้จาก 2 ขั้นตอน คือ การอธิบายอันตราย (dose-response assessment หรือ hazard characterization) และ การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) คือ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (Probability of illness: P_i) ตาราง 12 และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Probability of exposure: P_e) ตาราง 18 เข้าด้วยกัน โดยพิจารณาเป็นการเกิด 2 เหตุการณ์ต่อเนื่องกันและเป็นอิสระต่อกัน (independent events) จึงนำความน่าจะเป็นทั้ง 2 ค่า มาคูณกัน ก็จะได้ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate)

4.1 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก *Streptococcus suis* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร

(Annual risk estimate)

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S. suis* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร คำนวณจาก ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (P_i) และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_e) ดังแสดงใน ตาราง 19 และ รายงานเป็นอัตราการเจ็บป่วยรายปี (Annual risk rate) ในหน่วย สัดส่วนผู้ป่วยต่อแสนคนต่อปี เพื่อให้สอดคล้องกับการรายงานของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ดังแสดงใน ตาราง 20

ตาราง 19 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S. suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ตะวันออก (ชลบุรี)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2, S3)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}	1.2×10^{-44}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	2.3×10^{-45}	7.8×10^{-46}

ตาราง 20 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก *S. suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ตะวันออก (ชลบุรี)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}	7.8×10^{-46}
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2S3)	เนื้อเย็น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	เนื้ออุ่น	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}	1.2×10^{-39}
	อวัยวะภายใน	7.8×10^{-46}	9.0×10^{-39}	7.8×10^{-46}

4.2 การแปลผล (Interpretation)

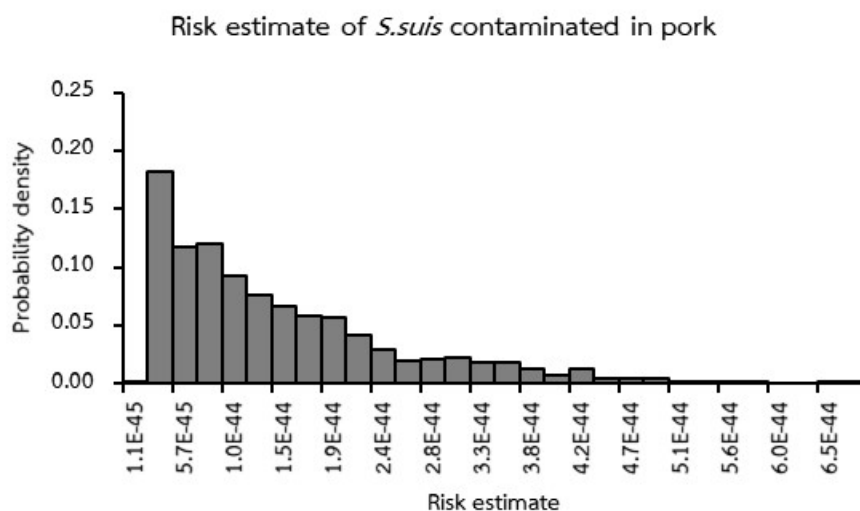
ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) หรือ ระดับความเสี่ยง (risk) หมายถึง โอกาสในการเจ็บป่วยจากการได้รับจำนวนเซลล์ (dose) ของ *S.suis* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุกรที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S. suis* จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร เท่ากับ 1.2×10^{-44} หมายความว่า ปัจเจกบุคคลบริโภคเนื้อสุกร 32.50 กรัม/วัน ทุกวัน นาน 10^{44} ปี จะมีโอกาสได้รับ (exposed) *S.suis* และตามมาด้วยการเจ็บป่วย (illness) จาก *S.suis* จำนวน 1.2 วัน (ครั้ง)

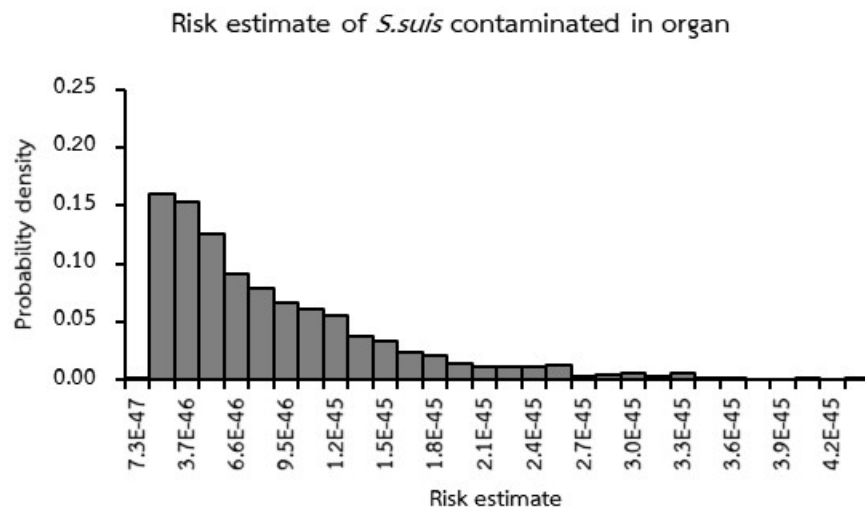
4.3 การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation)

นำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 โดย José Ricardo Varela ก็จะได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

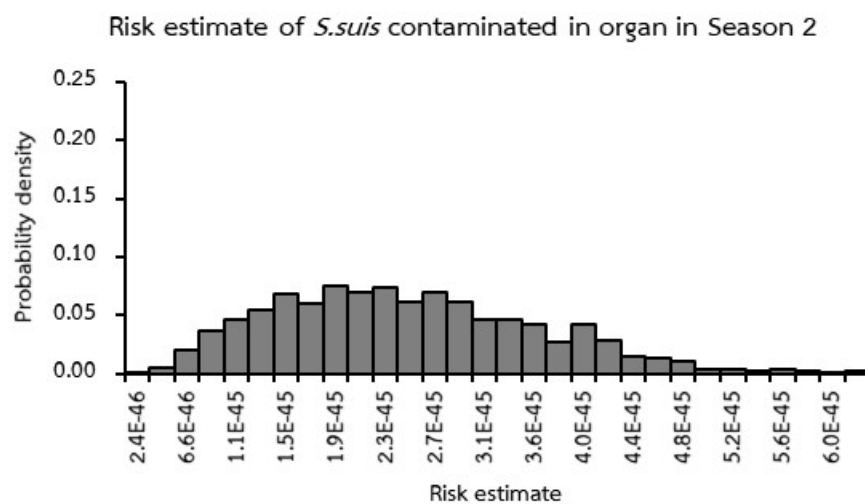
ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ของ จุลินทรีย์ก่อโรค *S.suis* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์สุกร รวมถึงกรณีการปนเปื้อนเพิ่มเติมใน ภาคเหนือ ภาคกลาง 2 ดังแสดงใน ภาพ 4 ถึง ภาพ 6



ภาพ 4 การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S. suis* จากการบริโภคเนื้อสุกร ใน 6 ภาค ภาคเหนือ ภาคกลางที่ 1-3



ภาพ 5 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S. suis* จากการบริโภคอวัยวะสุกร ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3



ภาพ 6 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S. suis* จากการบริโภคอวัยวะสุกร ภาคเหนือ ฤดูกาล 2

การอภิปราย (Discussion)

ระดับความเสี่ยงรายปี (Annual risk) จาก *S. suis* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร ทั้ง 6 ภาค ทั่วประเทศ ในฤดูกาลที่ 1-3 พบว่า

1. ระดับความเสี่ยงรายปีอยู่ในระดับละเลยได้ (negligible) ดังนั้น จึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องจัดการความเสี่ยง (risk management measure)
2. ระดับความเสี่ยงรายปีของเนื้อสุกร (pork) สูงกว่าระดับความเสี่ยงรายปีของอวัยวะสุกร (organ) สาเหตุหลักมาจากตัวแปร ปริมาณการบริโภคของเนื้อสุกร (pork) 14.12 กรัม/คน/วัน สูงกว่า ปริมาณการบริโภคของอวัยวะสุกร (organ) 1.09 กรัม/คน/วัน
3. การเพาะเลี้ยง *S. suis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Columbia blood agar ผสมเลือดแกะร้อยละ 5 (v/v) ที่ 37°C ในสภาวะไร้อากาศ (anaerobic condition) นาน 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม หากมีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวสำหรับ *S. suis* ชนิดอื่นที่นิยมกัน เช่น Todd Hewitt Broth (THB) อาจจะมีผลการทำซ้ำ (reproducibility) ของ PMF ได้
4. การปนเปื้อน *S. suis* พบในตัวอย่างเลือดมากกว่าเนื้อสุกร ดังนั้น การหยิบจับด้วยมือที่มีบาดแผล การบริโภคเลือดสุกรแบบไม่สุก จะเกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไข้หัด

แนวทางการบริหารจัดการความเสี่ยงเพื่อป้องกันโรคหัด (best practice)

แนวทางการบริหารจัดการความเสี่ยงเพื่อป้องกันโรคหัด จัดว่าเป็นมาตรการในการจัดการความเสี่ยง (risk management) โดยเป็นการประสานความร่วมมือกันของหน่วยงานที่รับผิดชอบในกระทรวงสาธารณสุขและกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

1. การประเมินความเสี่ยง (risk assessment)

เพื่อให้ทราบสถานการณ์ของโรคในฐานความเสี่ยง ในรูปของ อัตราการเจ็บป่วยต่อแสนคนต่อปี ซึ่งจะมีความสอดคล้องกับการรายงานอัตราการเจ็บป่วยของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

2. การเฝ้าระวังสุขภาพหนึ่งเดียว (One health Surveillance)

การเฝ้าระวังโรคในด้านสาธารณสุข (Public health) ทำให้ทราบแนวโน้มของการเกิดโรคในคน ซึ่งทำให้สามารถแจ้งข่าว (alert) หรือ สะท้อน (reflect) กลับไปสู่ภาคการผลิตในระดับฟาร์ม ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้อย่างทันทั่วทั้งที่ ประกอบด้วย 2 ลักษณะ คือ การเฝ้าระวังเชิงรับ (Passive surveillance) และการเฝ้าระวังเชิงรุก (Active surveillance)

ในทางกลับกัน การเฝ้าระวังโรคในด้านปศุสัตว์ (Animal health) สามารถสะท้อนข้อมูลที่เป็นปัจจุบันในเชิงการเตือนภัยก่อน ให้มีการเตรียมตัวในด้านสาธารณสุข

3. เครือข่ายความร่วมมือ (Collaboration)

เนื่องจาก การที่มีผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (stakeholders) หลายส่วนตลอดห่วงโซ่การผลิตจนถึงผู้บริโภค ดังนั้นการทำงานประสานร่วมมือกัน จึงเป็นแนวทางที่ช่วยขับเคลื่อนการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง แนวทางในการสร้างเครือข่ายความร่วมมือ สามารถพิจารณาตามโครงการการปกครองหรือการทำงาน เช่น ระหว่างหน่วยงานในส่วนกลาง ระหว่างหน่วยงานในจังหวัด ระหว่างหน่วยงานในท้องถิ่น รวมถึง ภาคเอกชนและภาคประชาสังคม และภาควิชาการในมหาวิทยาลัย

4. การสอบสวนโรค (disease investigation)

เป็นการสืบเพื่อหาต้นเหตุของการระบาด เพื่อช่วยในการควบคุมการแพร่กระจายของโรค

5. การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผลข้อมูล (Data analyses and interpretation)

โดยเมื่อได้ข้อมูลจากการเฝ้าระวัง ควรจะต้องดำเนินการต่อในการวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผลข้อมูล ให้สามารถเปรียบเทียบได้ในเชิงเวลา (Trend analysis) และ สถานที่ (spatial surveillance)

6. การควบคุมและการกำจัดสาเหตุโรค (disease control and eradication)

เป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นต่อเนื่องจากการสอบสวนโรค

7. การยกระดับความปลอดภัยอาหาร (Food safety enhancement)

ดำเนินการในลักษณะที่ต่อเนื่องทั้งห่วงโซ่การผลิตผลิตภัณฑ์สุกร ตั้งแต่ระดับฟาร์ม โรงเชือดสุกร โรงงานแปรรูป การเก็บรักษา การกระจายผลิตภัณฑ์ ช่องทางการจัดจำหน่ายทั้งระดับค้าส่ง ระดับค้าปลีกในตลาดทันสมัย ตลาดสด รถจำหน่ายกับข้าว

8. การสื่อสารความเสี่ยง (risk communication)

การให้ข้อมูลการปนเปื้อนและความเสี่ยงให้กับผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (stakeholders) เช่น ผู้ประกอบการ ผู้บริโภค หน่วยงานกำกับดูแล (regulator) เช่น กระทรวงสาธารณสุข และ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

9. การกำหนดระดับการปนเปื้อนในขั้นตอนต่างๆ ของห่วงโซ่การผลิตผลิตภัณฑ์สุกร

แนวทางของการกำหนดระดับการปนเปื้อนในขั้นตอนต่างๆ ของห่วงโซ่การผลิตผลิตภัณฑ์สุกร อาศัยแนวคิดเรื่อง Food safety objective (FSO) กล่าวคือ จะต้องมีการกำหนดระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk) และประยุกต์เรื่องการประเมินความเสี่ยงในการแปลงความเสี่ยงที่ยอมรับได้ให้เป็นระดับการปนเปื้อนในอาหาร ณ จุดบริโภค (point of consumption) ในขณะที่การปนเปื้อนในแต่ละขั้นตอนจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลการจัดเก็บรักษาอาหาร (storage) การแปรรูป (processing)

10. การวิจัย (research)

การวิจัยเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการค้นหาความรู้ใหม่ หรือ เป็นการทดสอบสมมุติฐาน หรือ การแก้ปัญหา อุปสรรคที่เกิดขึ้นในระหว่างการจัดการความเสี่ยง ในการทำวิจัย โดยมากจะเป็นการประสานงานความร่วมมือกับภาค วิชาการในมหาวิทยาลัย โดยอาศัยการสนับสนุนเงินทุนโดยหน่วยงานที่ให้ทุนวิจัย เช่น สำนักงานพัฒนาการวิจัย การเกษตร (องค์การมหาชน) หรือ สวก. เป็นต้น

Information graphic : โรคไข้หูดับจาก *Streptococcus suis* ในผลิตภัณฑ์สุกร

ข้อมูลหรือเนื้อหาที่ใช้ในการส่งเสริมความปลอดภัยโรคไข้หูดับ สาเหตุจาก *Streptococcus suis* ดังแสดงใน Information Graphic 1 ถึง Information Graphic 3

กินหมูดิบ...เสี่ยงไข้หูดับ

สาเหตุ

- แบคทีเรีย สเตร็ปโตค็อกคัส ซูอิส (*Streptococcus suis*)
- อัตราการตาย 0.02-0.05 ต่อประชากรแสนคน
- อัตราการป่วยตายร้อยละ 4.7-8

การติดเชื้อ

- ทานการบริโภคเนื้อหมูดิบ หรือกึ่งสุกกึ่งดิบ รวมถึงผลิตภัณฑ์จากหมูที่ไม่สุก
- ทานบาดแผล และเยื่อเมือก
- เป็นโรคจากสัตว์สุคน ไม่มีการติดต่อจากคนสู่คน
- มีระยะฟักตัว 3-5 วัน

อาการระบบประสาท

- เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ชีบ ชัก
- สูญเสียการได้ยิน

อาการระบบอื่นๆ

- ฟันแดง
- ไข้ ปวดศีรษะ
- จุดเลือดออกใต้ผิวหนัง
- คลื่นไส้ อาเจียน
- กายเหลือง
- ปวดกล้ามเนื้อ

Information Graphic 1 การส่งเสริมและป้องกันโรคไข้หูดับ สาเหตุจาก *Streptococcus suis* 1

การป้องกันการติดเชื้อโรคไข้หูดับ

1. หลีกเลี่ยงการจับซากสุกรที่ตายด้วยมือเปล่า ถ้าจับควรล้างมือให้สะอาด

2. ไม่ควรเคลื่อนย้ายซากสุกรที่ตายออกนอกฟาร์มเพื่อจำหน่ายหรือบริโภค

3. ขุดหลุมฝังซากสุกรลึกอย่างน้อย 2 เมตร โยนปูนขาวที่ก้นหลุมและที่ตัวซากก่อนกลบดิน



ผู้เลี้ยงสัตว์



1. ไม่รับซื้อสุกรป่วยหรือตายด้วยโรคระบาดมาฆ่าและ คอมาจากแหล่งที่เชื่อถือได้

2. พนักงานต้องมีสุขภาพแข็งแรง ไม่เป็นโรคติดต่อ

3. พนักงานสวมชุดรัดกุม สวมรองเท้าบู๊ท ที่คลุมพมและหมวกกอบาเบียง

4. ล้างมือให้สะอาดก่อนและหลังจับบริเวณปฏิบัตินาน

ผู้ทำงานในโรงฆ่าสัตว์

1. เนื้อหมูที่นำมาจำหน่ายควรมาจากโรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐาน

2. ล้างมือหลังการสัมผัสเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ทุกครั้ง

3. ควรทำความสะอาดบริเวณพื้น กำจัดขยะอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง

4. การเก็บเนื้อหมูสดระหว่างวันที่จะนำมาจำหน่าย สามารถค้างคืนได้ไม่เกิน 5 วัน และต้องเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส หากเก็บนานหลายเดือน ต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าลบ 18 องศาเซลเซียส



ผู้จำหน่ายเนื้อสุกร



1. เลือกซื้อเนื้อหมูจากแหล่งที่ได้มาตรฐานหรือแหล่งที่เชื่อถือได้

2. เนื้อหมูต้องมีสีแดงธรรมชาติ ไม่ซีดขาว ไม่มีกลิ่นบูดและกลิ่นคาว ไม่มีเม็ดสีขาว

3. ล้างมือก่อนปรุง ประกอบและจำหน่ายอาหาร ถ้ามีมือบาดแผลควรปิดพลาสเตอร์และใส่ถุงมือก่อนสัมผัสเนื้อหมู

4. ปรุงอาหารให้สุกด้วยความร้อนอย่างน้อย 70 องศาเซลเซียสในเวลาไม่น้อยกว่า 2 นาที

5. เก็บเนื้อหมูในอุณหภูมิต่ำกว่าลบ 18 องศาเซลเซียส

ผู้ประกอบอาหารจำหน่าย

1. เลือกซื้อเนื้อหมูจากแหล่งที่ได้มาตรฐานหรือเชื่อถือได้

2. เนื้อหมูควรมีสีแดงธรรมชาติ ไม่ซีดขาว ไม่มีกลิ่นบูดและกลิ่นคาว ไม่มีเม็ดสีขาว

3. ถ้ามีมือบาดแผลควรปิดพลาสเตอร์และใส่ถุงมือก่อนสัมผัสเนื้อหมู

4. ไม่รับประทานเนื้อหมูดิบหรือกึ่งสุกกึ่งดิบ เช่น ลาบ หลู้ จิ้มจุ่มที่ต้มไม่สุกพอ

5. ปรุงอาหารให้สุกด้วยความร้อนอย่างน้อย 70 องศาเซลเซียสในเวลาไม่น้อยกว่า 2 นาที

6. ระมัดระวังการปนเปื้อนข้ามจากภาชนะ อุปกรณ์ เช่น เขียง มีด ระหว่างอาหารดิบกับอาหารสุก



ผู้บริโภคทั่วไป

Information Graphic 2 การส่งเสริมและป้องกันโรคไข้หูดับ สาเหตุจาก *Streptococcus suis* 2



Information Graphic 3 การส่งเสริมและป้องกันโรคไข้หูดับ สาเหตุจาก *Streptococcus suis* 2

เอกสารอ้างอิง

ทีมสอบสวนเคลื่อนที่เร็ว อําเภอเทพารักษ์ จังหวัดนครราชสีมา 2558 รายงานการสอบสวนเฉพาะรายผู้ป่วยติดเชื้อ *Streptococcus suis* ตำบล

- ทีมสอบสวนโรคสถานีนอนามัยตำบลวังกะพี้และสำนักงานสาธารณสุขอำเภอเมืองอุดรดิตถ์ 2555 รายงานการสอบสวนโรค *Streptococcus suis* ตำบลวังกะพี้ อำเภอเมือง จังหวัดอุดรดิตถ์
- นเรศฤทธิ์ ชัดระสีมา และคณะ 2550 การระบาดของโรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* จังหวัดพะเยา ประเทศไทย พ.ศ. 2550 สมชาย ภูมิรัชธรรม 2554 การสอบสวนโรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* ตำบลบ้านวัง อำเภอโนนไทย จังหวัดนครราชสีมา อภิชาติ บำรุงศรี และคณะ 2549 การสอบสวนโรคจากการติดเชื้อ *Streptococcus suis* หมู่ 7 ตำบลแสนตอ อำเภอขามเฒ่าบุรี จังหวัด กำแพงเพชร วันที่ 11 เมษายน 2549
- อุบลวรรณ จตุรพาหุ และ คณะ 2551 การระบาดของโรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* serotype 2 จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัด ลำพูน มิถุนายน- กรกฎาคม 2551 รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 40(38): 633-640.
- เอมอร ชัยมงคล และ คณะ 2551 การสอบสวนผู้เสียชีวิตเข้าข่ายโรคติดเชื้อ *Streptococcus suis* อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัด สงขลา วันที่ 21,25 พฤศจิกายน 2551
- Anhalt, J. P., & Fenselau, C. (1975). Identification of bacteria using mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 47(2), 219-225.
- Arai, S., Tohya, M., Yamada, R., Osawa, R., Nomoto, R., Kawamura, Y., Sekizaki, T. 2015. Development of loop-mediated isothermal amplification to detect *Streptococcus suis* and its application to retail pork meat in Japan. *International Journal of Food Microbiology* 208 (2015) 35–42.
- Beier, R.C., S.L. Foley, M.K. Davidson, D.G. White, P.F. McDermott, S. Bodeis-Jones, S. Zhao, K. Andrews, T.L. Crippen, C.L. Sheffield, T.L. Poole, R.C. Anderson and D.J. Nisbet. 2015. Characterization of antibiotic and disinfectant susceptibility profiles among *Pseudomonas aeruginosa* veterinary isolates recovered during 1994–2003. *Journal of Applied Microbiology* 118, 326-342.
- Cherkaoui, A., Emonet, S., Fernandez, J., Schorderet, D., & Schrenzel, J. (2011). Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid identification of Beta-hemolytic streptococci. *J Clin Microbiol*, 49(8), 3004-3005.
- Chotmongkol V., Janma J., Kawamatawong T. 1999. *Streptococcus suis* meningitis: report of a case. *Journal of the Medical Association of Thailand* 82(9):922-924
- Chuxnum, T. 2009. *Streptococcus suis* infection. Bureau of Epidemiology, Department of Disease Control, Ministry of Public Health
- Clifton-Hadley FA and Enright MR, 1984. Factors affecting the survival of *Streptococcus suis* type 2. *The Veterinary Record* 114(24):584-586
- CLSI 2004. *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard – Sixth Edition M11-A6*. Vol. 24. No. 2. ISBN 1-56238-517-8
- Dieckmann, R., & Malorny, B. (2011). Rapid screening of epidemiologically important *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol*, 77(12), 4136-4146.

- Donsakul K, Dejthevaporn C, Witoonpanich R. 2003. *Streptococcus suis* infection: clinical features and diagnostic pitfalls. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 34(1): 154-8
- EFSA Journal (2007), 96, 1-46, Report including a proposal for a harmonized monitoring scheme of antimicrobial resistance in *Salmonella* in fowl, turkeys, and pigs and *C. jejuni*, *C. coli* in broilers
- EFSA Journal (2008) 141: 1-44 Report from the Task Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals.
- Emmanuel Barillot, L. C., Philippe Hupé, Jean-Philippe Vert, Andrei Zinovyev. (2012). Computational Systems Biology.
- Espinal, P., Seifert, H., Dijkshoorn, L., Vila, J., & Roca, I. (2012). Rapid and accurate identification of genomic species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group by MALDI-TOF MS. Clin Microbiol Infect, 18(11), 1097-1103.
- Golnazarian, C. A., C. W. Donnelly, et al. (1989). "Comparison of infectious dose of *Listeria monocytogenes* F5817 as determined for normal versus compromised C57B1/6J mice." Journal of food protection 52(10): 696-701.
- Gomez-Torres, J., Nimir, A., Cluett, J., Aggarwal, A., Elsayed, S., Soares, D., Teatero, S., Chen, Y., Gottschalk, M., & Fittipaldi, N. (2017). Human Case of *Streptococcus suis* Disease, Ontario, Canada. Emerg Infect Dis, 23(12), 2107-2109.
- Gottschalk, M., Higgins, R., Jacques, M., Mittal, K. R., & Henrichsen, J. (1989). Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*. J Clin Microbiol, 27(12), 2633-2636.
- Higgins, R. and Gottschalk, M. 1990. An update on *Streptococcus suis* identification. J Vet Diagn Invest 2:249-252.
- Hijazin, M., Alber, J., Lammler, C., Weitzel, T., Hassan, A. A., Timke, M., Kostrzewa, M., Prenger-Berninghoff, E., & Zschock, M. (2012). Identification of *Trueperella* (*Arcanobacterium*) *bernardiae* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis and by species-specific PCR. J Med Microbiol, 61(Pt 3), 457-459.
- Huong, V. T., Ha, N., Huy, N. T., Horby, P., Nghia, H. D., Thiem, V. D., Zhu, X., Hoa, N. T., Hien, T. T., Zamora, J., Schultz, C., Wertheim, H. F., & Hirayama, K. (2014). Epidemiology, clinical manifestations, and outcomes of *Streptococcus suis* infection in humans. Emerg Infect Dis, 20(7), 1105-1114.
- Karas, M., & Hillenkamp, F. (1988). Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. Anal Chem, 60(20), 2299-2301.
- Kataoka, Y., Sugimoto, C., Nakazawa, M. and Kashiwazaki, M. 1991. Detection of *Streptococcus suis* type 2 in tonsils of slaughtered pigs using improved selective and differential media. Veterinary Microbiology, 28 (1991) 335-342 335

- Kerdsin A, Dejsirilert S, Akeda Y, et al. Fifteen *Streptococcus suis* serotypes identified by multiplex PCR. J Med Microbiol 61(12) : 1669-72.
- Kerdsin A, Dejsirilert S, Puangpatra P, Sripakdee S, Chumla K, Boonkerd N, Polwichai P, Tanimura S, Takeuchi D, Nakayama T, Nakamura S, Akeda S, Gottschalk M, Sawanpanyalert P, and Oishi K 2011. Genotypic profile of *Streptococcus suis* serotype 2 and clinical features of infection in humans, Thailand. Emerging Infectious Diseases 17(5) 835-842
- Kerdsin, A., Dejsirilert, S., Akeda, Y., Sekizaki, T., Hamada, S., Gottschalk, M., & Oishi, K. (2012). Fifteen *Streptococcus suis* serotypes identified by multiplex PCR. Journal of medical microbiology, 61(12), 1669-1672.
- Kerdsin, A., Oishi, K., Sripakdee, S., Boonkerd, N., Polwichai, P., Nakamura, S., Uchida, R., Sawanpanyalert, P., & Dejsirilert, S. (2009). Clonal dissemination of human isolates of *Streptococcus suis* serotype 14 in Thailand. J Med Microbiol, 58(Pt 11), 1508-1513.
- Khadthasrima N., Hannwong T., Thammawijaya P., Pingsusean D., Akkanij B., Jaikhar A. 2008. Human *Streptococcus suis* outbreak in Phayao province, Thailand, 2007. OSIR. 2008 Aug;1 (1) : 4-7.
- Khadthasrima N., Hannwong T., Thammawijaya P., Pingsusean D., Akkanij B., Jaikhar A. 2008. Human *Streptococcus suis* outbreak in Phayao province, Thailand, 2007. OSIR. 2008 Aug;1 (1) : 4-7.
- Khamissara, K. 2014. Serotypes, Sequence Types and Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus suis* Isolates from Septicemia and Meningitis Patients Collected in Chiangkham Hospital During 2010-2012. J Med Tech Assoc Thailand, 42(2) : 4918-4929.
- Kiehntopf, M., Melcher, F., Hanel, I., Eladawy, H., & Tomaso, H. (2011). Differentiation of Campylobacter species by surface-enhanced laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry. Foodborne Pathog Dis, 8(8), 875-885.
- Lakkitjaroen N, Kaewmongkol S, Methenukul P, Karnchanabanthoeng A, Satchasataporn K, Abking Nand Rerkamnuaychoke W. 2011 Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from slaughter pigs in northern Thailand. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 45 : 78 – 83.
- Lamy, B., Kodjo, A., Laurent, F., & Col, B. V. H. S. G. (2011). Identification of Aeromonas isolates by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Diagn Microbiol Infect Dis, 71(1), 1-5.
- Lee, H., Kim, K., Choi, K and Yoon, Y. 2015. Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* in natural and processed cheese in Korea. J. Dairy Sci. 98 :5931–5945.
- Leelarasamee A, Tien-grim S, Nilakul C, Srifuengfung S, SUSAENGRAT W. 1997. *Streptococcus suis* toxic shock syndrome and meningitis. J Med Assoc Thai 80: 63-8.
- Lista, F., Reubsæet, F. A., De Santis, R., Parchen, R. R., de Jong, A. L., Kieboom, J., van der Laaken, A. L., Voskamp-Visser, I. A., Fillo, S., Jansen, H. J., Van der Plas, J., & Paauw, A. (2011). Reliable identification at the species level of Brucella isolates with MALDI-TOF-MS. BMC Microbiol, 11, 267.

- Lun ZR, Wang QP, Chen XG, Li AX, Zhu XQ. 2007. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen. Lancet Infect Dis 2007; 7: 201-9.
- Ma, E., P.H. Chung, T. So, L. Wong, K.M. Choi, D.T. Cheung, K.M. Kam, S.K. Chuang and T. Tsang. 2008. *Streptococcus suis* infection in Hong Kong: An emerging infectious disease. Epidemiol. Infect. 136: 1691-1697.
- Marie, H. Morvan, F. Berthelot-Hérault, P. Sanders, I. Kempf, A. V. Gautier-Bouchardon, E. Jouy and M. Kobisch 2002. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from swine in France and from humans in different countries between 1996 and 2000. J. Antimicrob. Chemother. 50(2) : 201-209.
- Marvin, L. F., Roberts, M. A., & Fay, L. B. (2003). Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical chemistry. Clin Chim Acta, 337(1-2), 11-21.
- McDonnell, G. and Russell, A.D. 1999. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. Clin. Microbiol. Rev. 12 (1) : 147-179.
- Muroi, M., Shima, K., Nakagawa, Y., & Tanamoto, K. (2011). Application of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for discrimination of Escherichia strains possessing highly conserved ribosomal RNA gene sequences. Biol Pharm Bull, 34(3), 430-432.
- Murray, P.R., Baron, E. J., Jorgensen, J.J., Pfaller, M.A., and Tenover, R.H. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press: Washington, DC, 2003.
- Nagy, E., Maier, T., Urban, E., Terhes, G., Kostrzewa, M., & Bacteria, E. S. G. o. A. R. i. A. (2009). Species identification of clinical isolates of Bacteroides by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Microbiol Infect, 15(8), 796-802.
- Noppon, B., Khaeng – air, S. and Sopa, A. 2014. Recent Antimicrobial Profiles and Occurrences of *Streptococcus suis* serotype 2 in Raw Swine Meat, Liver, Blood and Offal Samples in Khon Kaen, Thailand. International Journal of Scientific & Engineering Research. 5(9) : 1130-1138.
- Nuangmek A and Pathanasophon P 2011. Prevalence and risk factors of *Streptococcus suis* in slaughter pigs from Phrayao province. Epidemiological surveillance report. 18(7) : 4-7
- Nutravong T, Angkittrakul S, Panomai N, Jiwakanon N, Wongchanthong W, Dejsirilert S and Nawa Y 2014. Identification of major *Streptococcus suis* serotypes 2, 7, 8 and 9 isolated from pigs and humans in upper northeastern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 45 (5) : 1173-1181.
- Padungtod P, Tharavichitkul P, Junya S 2010. Incidence and presence of virulence factors of *Streptococcus suis* infection in slaughtered pigs from Chiang Mai, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 41 (6) : 1454-61.
- Paiboonpol S. *Streptococcus suis* meningitis: report of 3 cases. Bull Dept Med Serv 1998; 23: 716-9.

- Pathanasophon P, Narongsak W, Worarach A, Yuwapanichsampan S, Sagarasaeranee P.2009. Prevalence of *Streptococcus suis* in pigs and pig farmers in 11 provinces in the East and the West of Thailand. J Thai Vet Med Assoc. 60(1-3):49-62.
- Pathanasophon P, Worarach A, Narongsak W, Yuwapanichsampan S, Nuangmek A, Sakdasirisathaporn A, Chuxnum T 2013 Prevalence of *Streptococcus suis* in tonsils of slaughtered pigs in Lampang and Phayao provinces, Thailand, 2009-2010. J Trop Med Parasitol. 36 (1) :8-14.
- Perch, B., Kjems, E., Slot, P., & Pedersen, K. B. (1981). Biochemical and serological properties of R, S, and RS streptococci. Acta Pathol Microbiol Scand B, 89(3), 167-171.
- Phuapradit P, Boongird P, Boonyakarnkul S 1987. Meningitis caused by *Streptococcus suis*. Intern Med 3: 120-2.
- Pootong P, Boongird P, Phuapradit P. 1993. *Streptococcus suis* meningitis at Ramathibodi Hospital. Ramathibodi Med J 16: 203-7.
- Praphasiri P, Owusu JT, Thammathitiwat S, Ditsungnoen D, Boonmongkon P, Sangwichian O, Prasert K, Srihpanya S, Sornwong K, Kerdsin A, Dejsirilert S, Baggett HC, and Olsen SJ 2015. *Streptococcus suis* Infection in Hospitalized Patients, Nakhon Phanom Province, Thailand Emerg Infect Dis. 2015 Feb; 21(2): 345–348.
- Pumprueng S, Pongvarin N. 1999. *Streptococcus suis* meningitis: a case report. Siriraj Hosp Gaz 51: 45-8.
- Rose J.B., Haas C.N. 1999. A risk assessment framework for the evaluation of skin infections and the potential impact of antibacterial soap washing. American Journal of Infection Control 27(6) : S26-S33.
- Silva LMG, Baums CG, Rehn T, Wisselink HJ, Goethe R, Valentin-Weigand P. Virulence associated gene profiling of *Streptococcus suis* isolates by PCR. Vet Microbiol 155: 117-27
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Virdi, J. S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. Frontiers in microbiology, 6.
- Suankratay C, Intalaporn P, Nunthapisud P, Arunyingmongkol K, Wilde H. 2004. *Streptococcus suis* meningitis in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 35: 868-76.
- Takamatsu D, Wongsawan K, Osaki M, Nishino H, Ishiji T, Tharavichitkul P, Khantawa B, Fongcom A, Takai S, and Sekizaki T 2008. *Streptococcus suis* in Humans, Thailand Emerg Infect Dis. 2008 Jan; 14(1): 181–183.
- Takeuchi, D., Kerdsin, A., Pienpringam, A., Loetthong, P., Samerchea, S., Luangsuk, P., Khamisara, K., Wongwan, N., Areeratana, P., Chiranairadul, P., Lertchayanti, S., Petcharat, S., Yowang, A., Chaiwongsaen, P., Nakayama, T., Akeda, Y., Hamada, S., Sawanpanyalert, P., Dejsirilert, S. and Oishi, K. 2012. Population-based study of *Streptococcus suis* infection in humans in Phayao Province in northern Thailand. PLoS ONE 7: e31265.
- Thapaliya D, Hanson BM, Kates A, Klostermann CA, Nair R, Wardyn SE, Smith TC 2015. Zoonotic Diseases of Swine: Food-borne and Occupational Aspects of Infection. Chapter 2 In : Zoonoses-Infections Affecting Humans and Animals. A. Sing (ed.) Springer Science 23-68.

- Tharavichitkul, P., Wongsawan, K., Takenami, N., Pruksakorn, S., Fongcom, A., Gottschalk, M., Khanthawa, B., Supajatura, V. and Takai, S. 2014. Correlation between PFGE Groups and mrp/epf/sly Genotypes of Human *Streptococcus suis* Serotype 2 in Northern Thailand. J. Pathogens 2014: 350416.
- Tien le, H. T., Sugiyama, N., Duangsonk, K., Tharavichitkul, P., & Osawa, R. (2012). Phenotypic and PCR-based identification of bacterial strains isolated from patients with suspected *Streptococcus suis* infection in northern Thailand. Jpn J Infect Dis, 65(2), 171-174.
- Tung, J., & Gilad, Y. (2013). Social environmental effects on gene regulation. Cell Mol Life Sci, 70(22), 4323-4339.
- Uden, G., Becker, S., Bongaerts, J., Schirawski, J., & Six, S. (1994). Oxygen regulated gene expression in facultatively anaerobic bacteria. Antonie van Leeuwenhoek, 66(1-3), 3-22.
- Vila, J., Juiz, P., Salas, C., Almela, M., de la Fuente, C. G., Zboromyrska, Y., Navas, J., Bosch, J., Agüero, J., de la Bellacasa, J. P., & Martínez-Martínez, L. (2012). Identification of clinically relevant *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium haemolyticum*, and *Rhodococcus equi* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol, 50(5), 1745-1747.
- Vilaichone R, Nunthapisud P, Vilaichone W, Wilde H. 2002. *Streptococcus suis* infection in Thailand. J Med Assoc Thai 85: 109-17.
- Wangkaew S, Chaiwarith R, Tharavichitkul P, Supparatpinyo K 2006. *Streptococcus suis* infection: a series of 41 cases from Chiang Mai University Hospital. Journal of Infection 52 (6) 455–460.
- Wolters, M., Rohde, H., Maier, T., Belmar-Campos, C., Franke, G., Scherpe, S., Aepfelbacher, M., & Christner, M. (2011). MALDI-TOF MS fingerprinting allows for discrimination of major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. International Journal of Medical Microbiology, 301(1), 64-68.
- Wongchanthong W, Chiwakanon N and Noymail W. 2013. Survey of *Streptococcus suis* and antimicrobial susceptibility in pig from upper northeastern Thailand. Thai-NIAH e Journal 8(1) 12-21.
- Wongsawan K, Gottschalk M, and Tharavichitkul P 2015. Serotype- and virulence-associated gene profile of *Streptococcus suis* isolates from pig carcasses in Chiang Mai Province, Northern Thailand. J. Vet. Med. Sci. 77(2): 233–236.
- Yates, J. R., 3rd. (2000). Mass spectrometry. From genomics to proteomics. Trends Genet, 16(1), 5-8.

=====

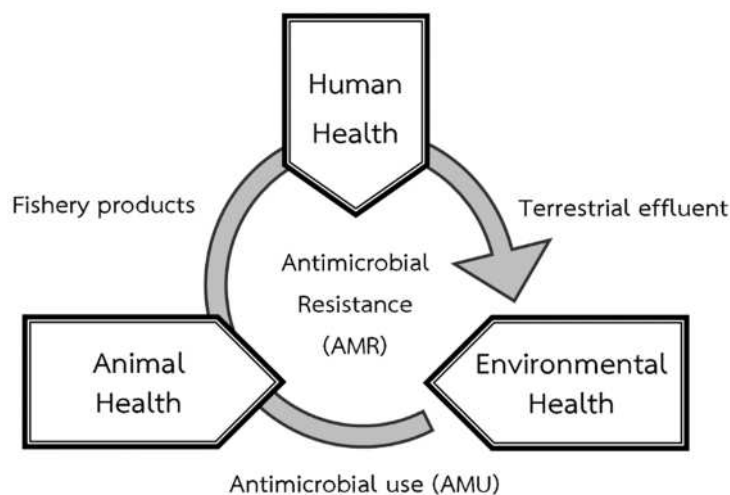
โครงการย่อยที่ 2. การกำหนดค่า Microbiological limit ของ *Salmonella* spp. ที่ดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและชาซิมิโดยการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (aquaculture) โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลา มีแนวโน้มขยายตัวอย่างต่อเนื่องจากตลาดความต้องการบริโภคปลาทั้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงภายในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้น การเพาะเลี้ยงปลาทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย จึงมีการพัฒนาในเชิงธุรกิจและเชิงอุตสาหกรรมมากขึ้น เช่น การเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่น (intensive) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงทั้งปริมาณสัตว์น้ำที่เพาะเลี้ยงได้และผลตอบแทนต่อเกษตรกร อย่างไรก็ตาม ผลกระทบที่ตามมา คือ ปลาที่เลี้ยงมีแนวโน้มอ่อนแอและติดเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย (bacterial infection) กอปรกับการใช้วัคซีน (vaccine) ไม่ได้ผลในการป้องกันโรคติดเชื้อในสัตว์น้ำ ดังนั้น เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงมีแนวโน้มในการใช้ยาต้านจุลชีพ (antimicrobial use) เพื่อการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียกันมากขึ้นตามลำดับ

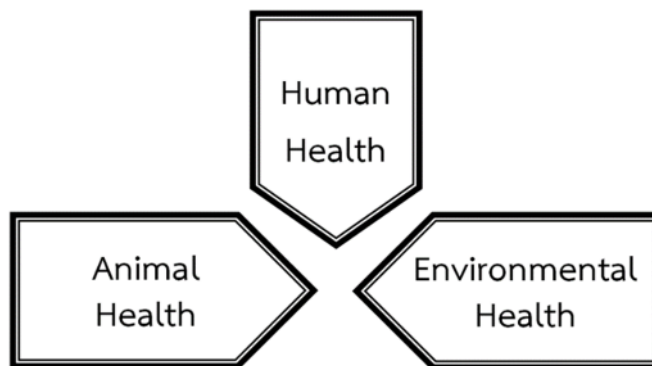
นอกจากนี้ แหล่งน้ำหรือสิ่งแวดล้อม (environment) ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ยังมีลักษณะการรองรับของเสียจากแผ่นดิน (terrestrial effluents) เช่น กากของเสียจากการเกษตรกรรม (agricultural waste) สิ่งปฏิกูล (sewage) สิ่งสกปรก (discharge) ที่ขับทิ้งมาจากชุมชน โรงพยาบาล อุตสาหกรรม โดยปราศจากการบำบัดที่เหมาะสม (treatment) ทำให้แบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพจากแผ่นดินมีการสะสม ตกค้าง และไหลเวียนไปในแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้น การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงเสมือนระบบหรือกระบวนการคัดเลือก (select) และแพร่กระจาย (disseminate) แบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพจากการผลิตสัตว์น้ำส่งต่อเนื่องไปสู่มนุษย์โดยผ่านทาง การบริโภคผลิตภัณฑ์ประมง จนมีแนวโน้มที่จะก่อให้เกิดความเสี่ยงด้านสาธารณสุข (public health risk) เช่น ความล้มเหลวในการรักษาโรคอาหารเป็นพิษด้วยยาต้านจุลชีพ (treatment failure) การหมดทางเลือกในการใช้ยาต้านจุลชีพรักษาโรคติดเชื้อ (loss of treatment options) ความถี่และความรุนแรงของการติดเชื้อ/การเจ็บป่วยสูงขึ้น ส่งผลให้มีระยะเวลาป่วย และการรักษายาวนานขึ้น หรือ อัตราการเสียชีวิตสูงขึ้น (CAC/GL 77-2011) สถานการณ์

ดังกล่าวมานี้เองซึ่งประเด็นให้เห็นได้อย่างชัดเจนถึง สุขภาพคน (human health) ที่เชื่อมโยงกับสุขภาพสัตว์ (animal health) และสุขภาพสิ่งแวดล้อม (environmental health) ผ่านห่วงโซ่การผลิตอาหาร (food production chain) อย่างแยกกันไม่ออก (ภาพ 7)



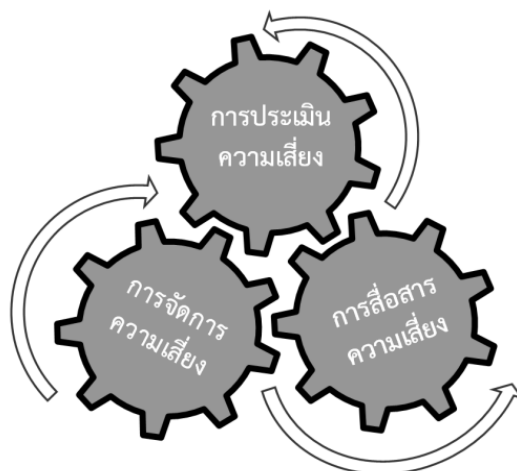
ภาพ 7 แนวคิด “สุขภาพหนึ่งเดียว” ในบริบทการต่อต้านจุลชีพภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เมื่อไม่นานมานี้ การต่อต้านจุลชีพ (antimicrobial resistance : AMR) ได้รับการยกระดับเป็นประเด็นโลก (global issue) สืบเนื่องจากการประชุมสมัชชาสุขภาพโลก (World Health Assembly) โดย “องค์การอนามัยโลก” หรือ world health organization (WHO) ร่วมกับองค์การระหว่างประเทศ เช่น “องค์การอาหารและเกษตร” (food and agriculture : FAO) และ “องค์การสุขภาพสัตว์โลก” (world organization for animal health : OIE) ได้ตระหนักถึงความจำเป็นเร่งด่วนในการรับมือกับการแก้ปัญหาการต่อต้านจุลชีพ (World Health Assembly, 2014) จึงได้ให้การรับรองแผนปฏิบัติการโลก (global action plan) ว่าด้วยการควบคุมและป้องกันการต่อต้านจุลชีพ เมื่อปี พ.ศ. 2557 ภายใต้บริบท “สุขภาพหนึ่งเดียว” (one health) ซึ่งผนวกความเชื่อมโยงของสุขภาพ (health) 3 มิติ คือ มนุษย์ (human) สัตว์ (animal) และ สิ่งแวดล้อม (environment หรือ ecosystem) เป็นหนึ่งเดียวกัน (ภาพ 8)



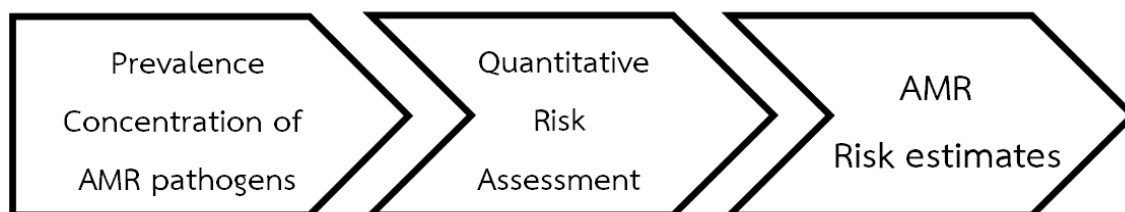
ภาพ 8 แนวคิด สุขภาพหนึ่งเดียว (One Health)

ดังนั้น เพื่อให้ทราบระดับความรุนแรงของผลกระทบด้านสุขภาพ (adverse health effect) และ ปัจจัยเสี่ยง (risk factors) ของการดื้อยาต้านจุลชีพอย่างสมบูรณ์โดยบูรณาการอย่างต่อเนื่อง (integration) ตลอดห่วงโซ่การผลิต (production chain) ผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์ต่อเนื่องถึงการบริโภคอาหาร คณะกรรมาธิการทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานอาหารเพื่อการค้าระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission : CAC) จึงแนะนำให้มีการประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR risk assessment) เพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและภาคเอกชนนำผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยง มาปรับ/เลือก/มาตรการจัดการความเสี่ยง (risk management measures) ในการแก้ปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพเป็นองค์รวม (Franklin et al., 2001) และนำองค์ความรู้ที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงและการตัดสินใจในการจัดการความเสี่ยงเพื่อการสื่อสารความเสี่ยง (risk communication) ให้กับผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (stakeholders) โดยองค์ประกอบของกระบวนการทั้งการประเมินความเสี่ยง การจัดการความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยงในบริบทของอาหาร รวมเรียกว่า การวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหาร (Food Risk Analysis) (ภาพ 9)



ภาพ 9 องค์ประกอบและการเชื่อมโยงในกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหาร (Food Risk Analysis)

การประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR risk assessment) เป็นเครื่องมือ (tool) ที่อาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์ในการประเมินความน่าจะเป็น (probability) หรือ โอกาส (likelihood) ของผลกระทบต่อสุขภาพจากการดื้อยาต้านจุลชีพในประชากรกลุ่มเสี่ยง (susceptible population) โดยเน้นข้อมูลระดับการปนเปื้อนแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพในรูปของความชุก (prevalence) และ/หรือ ความเข้มข้น (concentration) (ภาพ 10) โดยการพิจารณาปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ตลอดห่วงโซ่อาหารที่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ดื้อยาต้านจุลชีพตั้งแต่ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ (livestock farm) กระบวนการผลิต/แปรรูป (manufacture and process) การเก็บรักษา (storage) การขนส่ง (transportation) การกระจายสินค้า (distribution) จนกระทั่งได้เป็นอาหารพร้อมสำหรับการบริโภคในที่สุด (CAC/GL 77-2011)

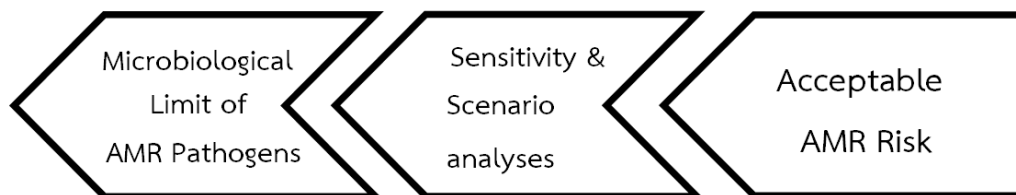


ภาพ 10 การประเมินความเสี่ยง ใช้ระดับการปนเปื้อนสำคัญ

คือ ¹ความชุก (prevalence) และ ²ความเข้มข้น (concentration) ของแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ

นอกจากการประเมินความเสี่ยงเพื่อทราบระดับความรุนแรงของปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพแล้ว อีกองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญของการวิเคราะห์ความเสี่ยง คือ การยกระดับความปลอดภัยอาหารผ่านการจัดการความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR risk management) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การกำหนดมาตรฐานอาหาร (food

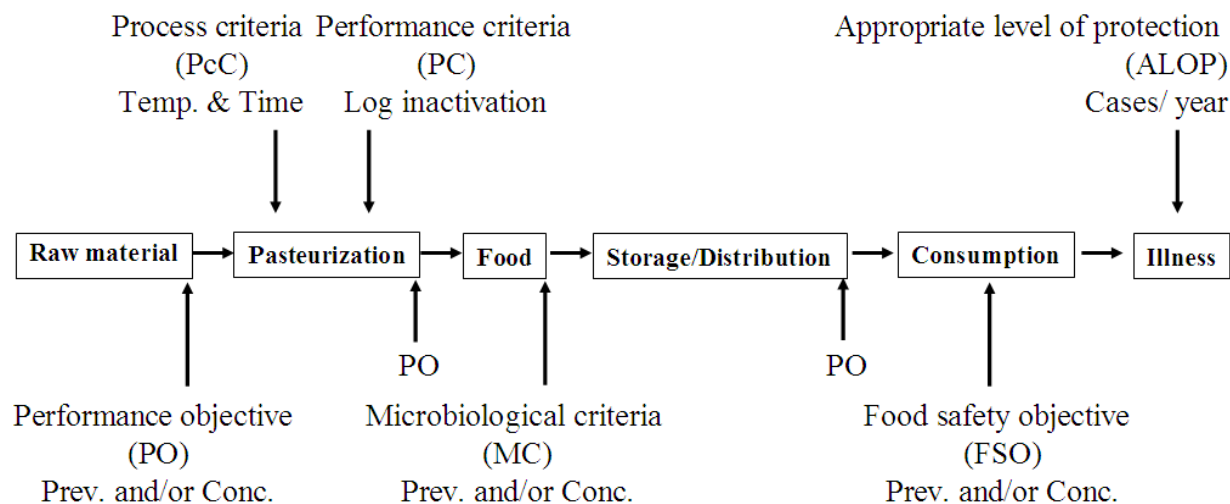
standard) โดยใช้ค่า Microbiological limit ของการปนเปื้อนแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ในรูปของทั้งความชุก (prevalence) และ/หรือ ความเข้มข้น (concentration) กล่าวคือ เมื่อภาคีรัฐบาลได้มีการกำหนด “ระดับคุ้มครองที่ยอมรับได้” (Appropriate Level of Protection : ALOP) หรือ ในบริบทของการดื้อยาต้านจุลชีพ คือ “ระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพที่ยอมรับได้” (acceptable AMR risk) ซึ่งจัดว่าเป็นค่าอ้างอิง (reference) ที่สำคัญ จากนั้นจึงใช้วิธีการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (quantitative risk assessment) ในการคำนวณโดยเริ่มต้นจากระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพที่ยอมรับได้นี้ (ภาพ 11) ย้อนกลับไปเป็นระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) เพื่อลำดับปัจจัยเสี่ยง (risk factors) ที่ส่งผลต่อระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ และ การวิเคราะห์สถานการณ์ (scenario analysis) เพื่อคำนวณค่า Microbiological limit ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงที่ยอมรับที่เป็นค่าอ้างอิงเริ่มต้น



ภาพ 11 การใช้เทคนิคการประเมินความเสี่ยง

กำหนด Microbiological limit ที่ตั้งต้นด้วยระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้

การกำหนดค่า Microbiological limit มีความสำคัญอย่างยิ่งในบริบทการจัดการความปลอดภัยอาหารเชิงบูรณาการ (food safety management) ที่แนะนำโดย คณะกรรมาธิการทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานอาหารเพื่อการค้าระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission) ในเอกสาร Principle for the establishment and application of microbiological criteria for foods: CAC/GL 21 กล่าวคือ เมื่อมีการกำหนดค่า Microbiological limit ของการปนเปื้อนแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพในอาหารโดยหน่วยงานภาครัฐแล้ว เทากับเป็นการกำหนด “เป้าความปลอดภัยอาหาร” หรือ food safety objective (FSO) ที่ผู้ประกอบการผลิตอาหารตลอดห่วงโซ่จะได้รับช่วงต่อในการกำหนดค่า Microbiological limit หรือ ระดับการปนเปื้อนแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพในทุกขั้นตอนตลอดห่วงโซ่อาหาร (ภาพ 12) ตั้งแต่ขั้นตอนการผลิต การแปรรูป การเก็บรักษา ไปจนถึงขั้นตอนการกระจายสินค้าสู่ผู้บริโภคในที่สุด



ภาพ 12 การกำหนด Microbiological limit ที่สอดคล้องกับ
แนวคิด “เป้าความปลอดภัยอาหาร” ของ Codex Alimentarius Commission (CAC)

อนึ่ง Microbiological limit (ML) หรือ ค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา เป็นระดับการปนเปื้อนแบคทีเรียที่
นิยมกำหนดในรูปของความชุกและความเข้มข้น ในขณะที่ Microbiological criteria (MC) หรือ เกณฑ์ทางจุล
ชีววิทยา นั้นมีความครอบคลุมมากกว่า ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

1. แผนการชักตัวอย่าง (sampling plan)
2. วิธีวิเคราะห์ตัวอย่างทางจุลชีววิทยา (microbiological analysis method)
3. ค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (Microbiological limit)

โดยที่ Microbiological limit เป็นค่าหรือระดับการปนเปื้อนที่ใช้ในการยอมรับ (accept) หรือ การปฏิเสธ
(reject) ตัวอย่างอาหารที่ผ่านและไม่ผ่านมาตรฐานออกจากกัน โดยอ้างอิงผลการวิเคราะห์จุลชีววิทยาทาง
ห้องปฏิบัติการของตัวอย่างอาหารที่ได้มาจากแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดไว้ ดังนั้น จะเห็นได้ว่า
Microbiological limit นั้นเป็นองค์ประกอบหนึ่งของ microbiological criteria

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ (AMR monitoring)
2. ประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ (AMR Risk)
3. การวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) เพื่อลำดับความสำคัญของปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ที่กำหนดระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ เช่น ความชุก (prevalence) และ/หรือความเข้มข้น (concentration) *Salmonella spp.* ดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและชาซิมิ (prioritizing AMR risk factor)
4. การวิเคราะห์สถานการณ์ (scenario analysis) เพื่อวิเคราะห์ค่า Microbiological limit ในรูปความชุก และ/หรือ ความเข้มข้น *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและชาซิมิ (AMR Microbiological limit)
5. การนำเสนอแนวทางการกำหนดค่า Microbiological limit ที่ยอมรับได้และเหมาะสมกับระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ (Setting AMR Microbiological limit)

การทบทวนวรรณกรรม

การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์

(Microbial risk assessment)

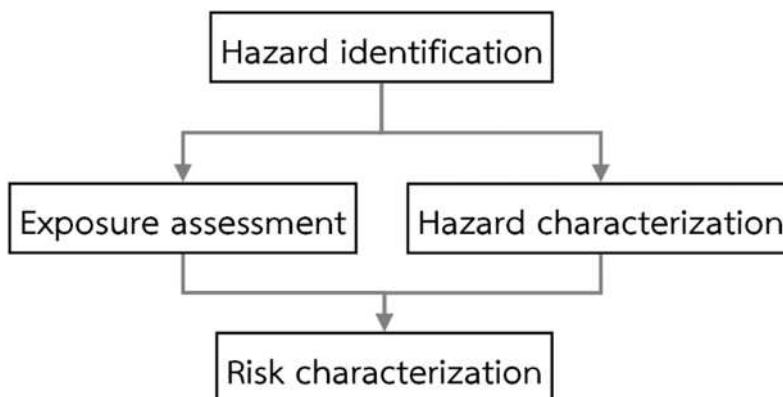
หลักการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (quantitative microbial risk assessment : QMRA) โดยการประเมินความเสี่ยงสาธารณสุขจะใช้แนวทางที่แนะนำโดยคณะกรรมการทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานอาหารเพื่อการค้าระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission : CAC) ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน (ภาพ 13) คือ

1. การระบุอันตราย (hazard identification) เป็นการทบทวนและยืนยันการเจ็บป่วยจริงที่เกิดจากอันตรายที่สนใจ คือ *Salmonella spp.*

2. การอธิบายอันตราย (hazard characterization) เป็นการประเมินความน่าจะเป็นหรือจำนวนผู้เจ็บป่วยที่ต่อเนื่องจากการสัมผัสกับ *Salmonella spp.* โดยอาศัยข้อมูลจากขั้นตอนการประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3) โดยทั่วไปแล้ว ขั้นตอนนี้จะอาศัยแบบจำลองในรูปของสมการคณิตศาสตร์ในการวิเคราะห์ เรียกว่า Dose-response model

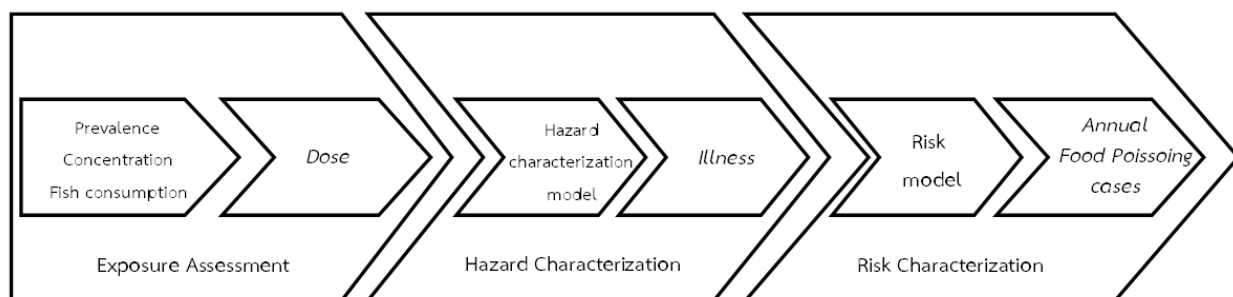
3. การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) เป็นการประเมินโอกาสในการรับสัมผัส (exposure) อันตราย ในที่นี้คือ การรับจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจจะปนเปื้อนมากับการบริโภคปลาหรือซาซิมิ คือ *Salmonella spp.* ดังนั้น ข้อมูลสำคัญในการประเมินการสัมผัส ก็คือ การปนเปื้อนของ *Salmonella spp.* ในปลาหรือซาซิมิ (Prevalence and/or Concentration) รวมถึง ปริมาณการบริโภคปลาหรือซาซิมิ (Consumption) ด้วย

ผลลัพธ์ที่ได้จากการประเมินการสัมผัส คือ ปริมาณ *Salmonella spp.* ที่รับเข้าสู่ร่างกาย (dose) ซึ่งจะรายงานในหน่วย ของ colony-forming unit (CFU) หรือ most probable number (MPN) ทั้งนี้ทั้งนั้น จะขึ้นอยู่กับวิธีการวิเคราะห์หา *Salmonella spp.* ที่ปนเปื้อนเป็นสำคัญ



ภาพ 13 ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ (QMRA)

4. การอธิบายความเสี่ยง (risk characterization) เป็นการประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการบริโภคปลาหรือซาลโมเนลลาที่มีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella spp.* ดังนั้น ขั้นตอนนี้จึงเป็นการบูรณาการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 3 ตามด้วย ขั้นตอนที่ 2 (ภาพ 14) กล่าวคือ เป็นการพิจารณาความน่าจะเป็นต่อเนื่องของ 2 เหตุการณ์ คือ 1.เหตุการณ์ในการสัมผัสกับ *Salmonella spp.* ปริมาณหนึ่ง (dose) ตามมาด้วย 2.เหตุการณ์การเกิดโรค (response) อันเกิดจากปริมาณ *Salmonella spp.* ที่ได้รับจากการบริโภคปลาหรือซาลโมเนลลา จากนั้น จึงนำข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) โดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูป



ภาพ 14 การประเมินความเสี่ยง ประกอบด้วยความเชื่อมโยงของขั้นตอนที่ 2, 3 และ 4 ต่อเนื่องกัน

ข้อมูลการปนเปื้อน *Salmonella spp.* นำมาคำนวณระดับการปนเปื้อนในรูปความชุก (prevalence) และความเข้มข้น (concentration) ตามลำดับ นำมาประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (quantitative microbial risk assessment) ตามแนวทางที่แนะนำโดยคณะกรรมการอาหารทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานอาหารเพื่อการค้าระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission (CAC, 1990) โดยสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematical models) จากนั้นจึงวิเคราะห์รวมข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo

Simulation) ซ้ำๆ ขึ้นต่ำ 50,000 รอบ (iterations) โดยอาศัยโปรแกรม @Risk Professional edition (Risk analysis Add-in for Microsoft Excel : Palisade Corporation)

การวิเคราะห์ความเสี่ยงต้อยาจากอาหาร

(AMR risk analysis in food)

ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2011 Codex Alimentarius Commission (CAC) ได้กำหนดแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงการดื้อยาของจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ (Guideline for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance : Joint FAO/WHO, 2011) โดยอาศัยหลักการพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ในการกำหนดกระบวนการและวิธีการวิเคราะห์ความเสี่ยงและได้นำแนวทางนี้ไปประยุกต์ใช้กับการดื้อยาจากอาหาร (foodborne AMR) ที่เชื่อมโยงกับการใช้ยาต้านจุลชีพในการในภาคเกษตรกรรม (non-human) เช่น การเลี้ยงสัตว์และการปลูกพืช เป็นต้น โดยทำงานสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงต้อยาจากอาหาร หรือ Framework for Foodborne AMR Risk analysis ประกอบด้วย

1. กิจกรรมการจัดการความเสี่ยงนำร่อง หรือ Preliminary foodborne AMR risk management activities เป็นการหาข้อข่าย “ประเด็นความปลอดภัยอาหาร” หรือ Food safety issue เป็นการพิจารณาหาหัวข้อจากการผนวกกันของ ¹อันตราย คือ จุลินทรีย์ดื้อยาด้านจุลชีพ (AMR microorganism) ²ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agent) และ ³อาหาร (Food commodity) เพื่อพิจารณาการประเมินความเสี่ยงการดื้อยา

2. การประเมินความเสี่ยงต้อยาจากอาหาร (Foodborne AMR risk assessment) เป็นการประเมินผลกระทบทางสุขภาพ เช่น ความล้มเหลวในการรักษาโรคอาหารเป็นพิษด้วยยาต้านจุลชีพ (treatment failure) การหมดทางเลือกในการใช้ยาต้านจุลชีพรักษาโรคติดเชื้อ (loss of treatment options) ความถี่และความรุนแรงของการติดเชื้อ/การเจ็บป่วยสูงขึ้น ส่งผลให้มีระยะเวลาป่วยและการรักษายาวนานขึ้น หรือ อัตราการเสียชีวิตสูงขึ้น อันเกิดเนื่องจากการได้รับจุลินทรีย์ดื้อยาที่ปนเปื้อนอาหาร

3. การจัดการความเสี่ยงต้อยาจากอาหาร (Foodborne AMR risk management) เป็นการพิจารณามาตรการต่างๆ ที่เป็นไปได้ในการควบคุมการดื้อยาจากอาหาร (risk management option) เพื่อลดความเสี่ยงให้สอดคล้องกับระดับคุ้มครองที่ยอมรับได้ (Appropriate level of protection : ALOP) และนำมาตรการจัดการความเสี่ยงไปปฏิบัติพร้อมด้วยการเฝ้าระวังการทบทวนมาตรการต่างๆ เหล่านี้ด้วย

4. การเฝ้าระวังการใช้ยาต้านจุลชีพและจุลินทรีย์ดื้อยาและส่วนดื้อยา (Surveillance of use of antimicrobial agents and AMR microorganisms) ทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นพื้นฐาน (baseline) ของประเทศ ได้

หลักฐานความสัมพันธ์ระหว่างการใช้สารต้านจุลชีพและความชุกของจุลินทรีย์ดื้อยา และโดยวิธีการเฝ้าระวังควรที่จะต้องเป็นวิธีที่ใช้และยอมรับกันเป็นมาตรฐานระหว่างประเทศ เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบข้อมูลกันได้ เช่น antimicrobial susceptibility testing method เป็นต้น

5. การสื่อสารความเสี่ยงดื้อยาจากอาหาร (Foodborne AMR risk communication) เป็นการระดมผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่ายร่วมกัน เช่น ผู้ประกอบการผลิตยา ผลิตอาหาร ผู้บริโภค หน่วยงานภาครัฐบาลที่ทำหน้าที่กำกับดูแลผู้ประกอบการดังกล่าวและดูแลด้านการสาธารณสุข เป็นต้น เข้ามาเพื่อพิจารณาปัญหา ให้ข้อมูลที่จำเป็นรับรู้ข้อมูลข่าวสาร เพื่อให้เกิดความเข้าใจและสร้างความร่วมมือในกิจกรรมที่กล่าวมาข้างต้นให้ดำเนินไปได้โดยสมบูรณ์

การประเมินความเสี่ยงดื้อยาจากอาหาร (AMR risk assessment in food)

การประเมินความเสี่ยงดื้อยาจากอาหาร (AMR risk assessment in food) เป็นการประมาณระดับความเสี่ยงจากการดื้อยาของจุลินทรีย์ดื้อยาที่ได้รับจากการบริโภคอาหาร ดังนั้นผลกระทบด้านสุขภาพที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยจากการดื้อยาของจุลินทรีย์ดื้อยา เช่น ความล้มเหลวในการรักษาโรคอาหารเป็นพิษด้วยยาต้านจุลชีพ (treatment failure) การหมดทางเลือกในการใช้ยาต้านจุลชีพรักษาโรคติดเชื้อ (loss of treatment options) ความถี่และความรุนแรงของการติดเชื้อ/การเจ็บป่วยสูงขึ้น ส่งผลให้มีระยะเวลาป่วยและการรักษายาวนานขึ้น หรือ อัตราการเสียชีวิตสูงขึ้น อันเกิดเนื่องจากการได้รับจุลินทรีย์ดื้อยาที่ปนเปื้อนอาหาร จึงเป็นผลที่สืบบย้อนกลับไปจากการใช้ยาต้านจุลชีพในการผลิตปลา และเพื่อให้สามารถนำผลการประเมินความเสี่ยงดื้อยาจากอาหารสามารถนำไปใช้เพื่อการจัดการความเสี่ยงดื้อยาจากอาหารได้ด้วย จึงจำเป็นจะต้องมีการเชื่อมโยงข้อมูลตลอดวิถีความเสี่ยง (risk pathway) ตั้งแต่ปัจจัยในการผลิตปลา การแปรรูปเป็นปลาและซาซิมิ การเจ็บป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษและการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ ที่อาจจะส่งผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อดื้อยาในจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ

การประเมินความเสี่ยงดื้อยาด้านจุลชีพอาจจะแบ่งได้เป็น 2 แนวทาง คือ การประเมินความเสี่ยงเชิงคุณภาพ (qualitative) เป็นการเป็นการประเมินความเสี่ยงโดยอาศัยข้อมูลในเชิงตัวอักษร (text) หรือการขอความคิดเห็นจากผู้เชี่ยวชาญ (expert opinion) หรือการกำหนดโอกาสของปัจจัยต่างๆ โดยเทียบกับค่าที่เป็นตัวเลขก็ได้ ทำให้สามารถดำเนินการได้โดยรวดเร็ว ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงเชิงคุณภาพ (ตาราง 21) จึงมักจะใช้ในเพื่อต้องการทราบความเสี่ยงนำร่องก่อนการตัดสินใจประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณต่อไป เช่น การประเมินความเสี่ยงผลกระทบสุขภาพจากการดื้อ fluoroquinolones ใน *Salmonella* Typhimurium จากการใช้

fluoroquinolones รักษาสัตว์ พบว่า โอกาสเกิดผลกระทบน้อย (low) แต่มีความไม่แน่นอนสูง และมีความหลากหลายในเชิงประเทศ เป็นต้น

ตาราง 21 การประเมินความเสี่ยงต้อยาจากอาหารเชิงคุณภาพ (Qualitative AMR risk assessment)

จุลินทรีย์	การดื้อยา	ปศุสัตว์	จุดเน้น / ผลการประเมินความเสี่ยง	อ้างอิง
<i>Salmonella</i>	quinolone	หลายชนิด	ผลการใช้ยาต่อสุขภาพ	Woolridge, 1999
<i>Campylobacter</i>	erythromycin	สุกร	ถ่ายทอด <i>Campylobacter</i> จากสุกรสู่คน	Burch, 2002
<i>Campylobacter</i> + <i>Enterococcus</i> + <i>E.coli</i>	หลายชนิด	สัตว์ปีก/ สุกร/วัว	การบริโภคเนื้อไก่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพจากการดื้อยามากกว่าเนื้อสุกรและมากกว่าเนื้อโค ตามลำดับ	Presi, 2009
หลายชนิด	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	ปศุสัตว์ส่งผลต่อการดื้อยาในคน	Bywater, 2000

ที่มา : Snary et al., 2004 และ Geenen et al., 2010

ในขณะที่การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (quantitative) (ตาราง 22) เป็นการประเมินความเสี่ยงที่อาศัยข้อมูลที่เป็นตัวเลข (numerical) ในการบรรยายตัวแปรหรือปัจจัยที่ใช้ในการสร้างแบบจำลองคณิตศาสตร์ และโดยทั่วไปมักจะต้องอาศัยโปรแกรมการคำนวณ (spreadsheet) และการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ร่วมด้วย แม้ว่าการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณจะต้องอาศัยการคำนวณแต่ผลการประเมินความเสี่ยงจะมีความเป็นรูปธรรม (objective) มากกว่าการประเมินความเสี่ยงเชิงคุณภาพที่มีลักษณะเป็นนามธรรม (subjective) มากกว่า นอกจากนี้แล้วผลการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณจะทำให้ผู้จัดการความเสี่ยงสามารถใช้การวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) ที่หาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเสี่ยงและผลกระทบสุขภาพ จึงมีประโยชน์อย่างยิ่งในการช่วยตัดสินใจเพื่อเลือกมาตรการจัดการความเสี่ยงได้ด้วย

ตาราง 22 การประเมินความเสี่ยงต่อยาจากอาหารเชิงปริมาณ (Quantitative AMR risk assessment)

จุลินทรีย์	การดื้อยา	ปศุสัตว์	จุดเน้น / ผลการประเมินความเสี่ยง	อ้างอิง	
<i>Salmonella</i>	หลายชนิด	สุกร	ความเสี่ยงเพื่อการค้า	Sommer, 2003	
		หลายชนิด	ความเสี่ยงจากปศุสัตว์และการเดินทาง	Hald, 2007	
<i>Campylobacter</i>	quinolone	สัตว์ปีก	ไม่ครอบคลุมจากสัตว์ถึงคน	FDA-CVM, 2001	
		สัตว์ปีก	ครอบคลุมจากสัตว์ถึงคน และเน้นทั้งความชุกและความเข้มข้น	Cox, 2002	
		โค	ความเสี่ยงจากการบริโภคเนื้อโค	Anderson, 2001	
		สัตว์ปีก	ความเสี่ยงจากการบริโภคเนื้อไก่	Vose 2001	
		สัตว์ปีก	แบบจำลองจัดการความเสี่ยง	Bartholomew 2005	
		สัตว์ปีก/สุกร	การเดินทางและการบริโภคเนื้อไก่ส่งผลต่อการดื้อยามากกว่าเนื้อสุกรและพีชผัก	VLA, 2004	
	Macrolide	สัตว์ปีก	การถอนยาสัตว์ทำให้คนป่วยมากขึ้น	Singer, 2007	
		สัตว์ปีก/สุกร/วัว	จุลินทรีย์ดื้อยาส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Hurd, 2008	
		+ quinolone	สัตว์ปีก	การถอนยาสัตว์ทำให้คนป่วยมากขึ้น	Reinthalder, 2010
<i>Enterococcus</i>	penicillin	ปศุสัตว์	การใช้ยาสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Cox, 2009	
		สัตว์ปีก	การใช้ยาสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Cox, 2004a	
	streptogramin	สัตว์ปีก	การใช้ยาสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Cox, 2004b	
			การใช้ยาในการเกษตรเร่งการดื้อยา	Smith, 2002	
			ผลของการถอนยาสัตว์	Kelly, 2004	
			การถอนยาสัตว์ทำให้คนป่วยมากขึ้น	Cox, 2005	
<i>Campylobacter</i>	Macrolide	สัตว์ปีก/สุกร/วัว	การใช้ยาสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Hurd, 2004	
<i>Enterococcus</i>	หลายชนิด	สุกร	การใช้ยาสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Berends, 2001	
<i>Salmonella</i> <i>E.coli</i>	หลายชนิด	สุกร	การใช้ยาสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพน้อย	Berends, 2001	

ที่มา : Snary et al., 2004 และ Geenen et al., 2010

จาก ตาราง 22 จะเห็นได้ว่า การประเมินความเสี่ยงมีคำถามความเสี่ยง (risk question) ที่แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ทั้งนั้นขึ้นอยู่กับโจทย์ที่ได้รับจากผู้จัดการความเสี่ยง (risk manager) ซึ่งจะทำหน้าที่สื่อสารกับผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessor) เพื่อกำหนดวัตถุประสงค์ของการประเมินความเสี่ยง ซึ่งประเด็นนี้เองที่ทำให้การประเมินความเสี่ยงต้อยาจากอาหารมีความแตกต่าง ขึ้นอยู่กับ

1. ระดับความครอบคลุมในวิถีความเสี่ยง

- จากการผลิตสัตว์ ถึง ผลกระทบในคน (farm to consequence)
- จากวัตถุดิบอาหารระดับค้าปลีก ถึง ผลกระทบในคน (retail to consequence)
- จากผลิตภัณฑ์อาหาร ถึง ผลกระทบในคน (consumption to consequence)

2. วิธีการประเมินความเสี่ยง

- เชิงคุณภาพ (qualitative)
- เชิงปริมาณ (quantitative)

3. ผลกระทบสุขภาพ

- ความล้มเหลวในการรักษาโรค (treatment failure)
- การหมดทางเลือกในการใช้ยารักษา (loss of option)
- อัตราการป่วย (morbidity)
- ระยะเวลาป่วย/รักษา (illness and treatment durations)
- อัตราการเสียชีวิต (mortality)

4. กลุ่มประชากรเป้าหมาย

- ประชากรทั่วไป (general population)
- ประชากรเฉพาะ เช่น เด็ก หญิงตั้งครรภ์ ปลูกถ่ายอวัยวะ (susceptible population)

5. ประเด็นความปลอดภัยอาหาร

- จุลินทรีย์ดื้อยา (AMR microorganism)
- ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agent)
- อาหาร (Food commodity)

ประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ

(Antimicrobial resistance risk assessment)

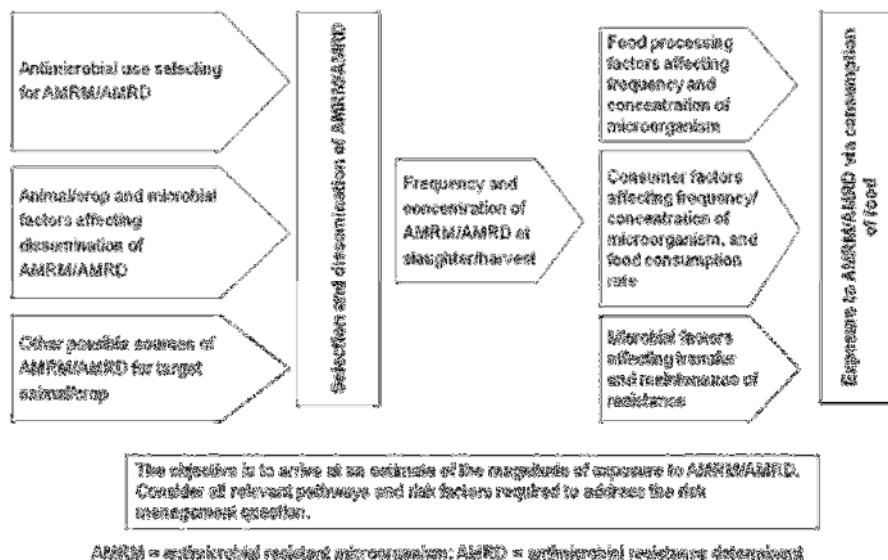
หลักการประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพที่แนะนำโดย Codex Alimentarius Commission (CAC : Joint FAO/WHO, 2011) ซึ่งเป็นคณะกรรมการทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานอาหารเพื่อการค้าระหว่างประเทศมุ่งเน้นที่การประเมินผลกระทบที่มีผลต่อสุขภาพมนุษย์ มี 4 ขั้นตอน คือ ¹การระบุอันตราย (Hazard identification) ²การอธิบายอันตราย (Hazard characterization) ³การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) และ ⁴อธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) ร่วมกับการสร้างแบบจำลอง (model) การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic approach) การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo simulation) เพื่อประกอบการนำเสนอ ทฤษฎีการกำหนดมาตรฐานการดื้อยาต้านจุลชีพในปลาและชาซิมิ ที่เหมาะสม เพื่อควบคุมผลกระทบด้านสุขภาพจากการดื้อยาต้านจุลชีพและเพื่อยกระดับความปลอดภัยของปลาและชาซิมิ (food safety) สำหรับส่งเสริมการค้าทั้งในประเทศและระหว่างประเทศด้วย

1. การระบุอันตราย (Hazard identification)

การทบทวนและยืนยันผลกระทบสุขภาพจากการดื้อยาต้านจุลชีพของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ โดยการสืบค้นข้อมูลด้านระบาดวิทยาของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ การศึกษาและเข้าใจถึงจุลชีววิทยาของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงระดับการปนเปื้อน *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ อัตราการดื้อยาต้านจุลชีพ ความล้มเหลวในการใช้ยาต้านจุลชีพรักษาโรคอาหารเป็นพิษจาก *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในขั้นตอนต่อไปของการประเมินความเสี่ยง

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)

เป็นการประเมินความน่าจะเป็น (probability) และวิเคราะห์ระดับ (dose) การรับสัมผัส *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาผ่านการบริโภคปลาและชาซิมิ ตลอดจนวิถีการสัมผัส (exposure pathway) แบ่งได้เป็น 2 ระดับ (ภาพ 15) คือ



ภาพ 15 การประเมินการสัมผัสแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ต้อยาในระดับค้าส่งและระดับการบริโภคอาหาร

(ที่มา : Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance CAC/GL 77- 2011)

- Wholesale distribution : การเฝ้าระวังความชุก (prevalence) และความเข้มข้น (concentration) *Salmonella spp.* ที่ต้อยา ณ ระดับค้าส่ง เป็นผลสุทธิต่อการต้อยาจาก ¹การใช้ยาต้านจุลชีพในการเลี้ยงปลา (resistance selection pressure) ²การต้อยาด้านจุลชีพของ *Salmonella spp.* ในปลาและซาซิมิ (target animal and microbial) และ ³สัตว์อื่นที่เกี่ยวข้องและสิ่งแวดล้อม (non-target animals and environment)

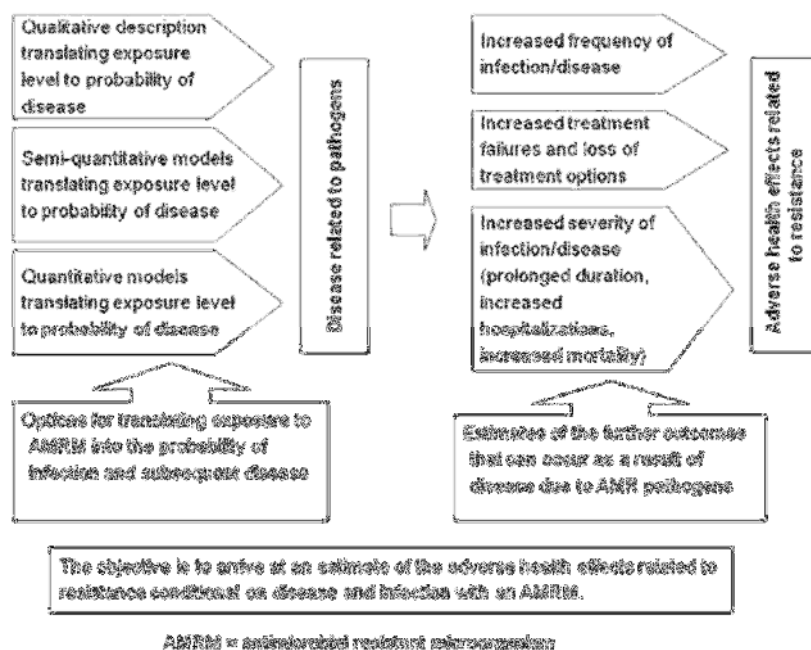
- Retail distribution to Consumption : โอกาส (probability) และระดับ (dose) *Salmonella spp.* ที่ต้อต่อยาที่เข้าสู่ร่างกายผ่านการบริโภคปลาและซาซิมิ เป็นผลสุทธิต่อการต้อยาจาก ¹การแปรรูปปลาและซาซิมิ ในระดับครัวเรือนเพื่อการบริโภค (processing factors) ²ปริมาณการบริโภคปลาและซาซิมิ (consumer factors) และ ³การอยู่รอดและการเพิ่มจำนวน *Salmonella spp.* ในขั้นตอนสุดท้ายของห่วงโซ่ปลาและซาซิมิ (microbial factors)

2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)

เดิมเรียกว่า การประเมินการตอบสนองต่อขนาดอันตราย (Dose-response assessment) เป็นการประเมินความน่าจะเป็น (probability) ของผลกระทบด้านสุขภาพจากการได้รับ *Salmonella spp.* ที่ต้อผ่านการบริโภคปลาและซาซิมิ (dose) จากขั้นตอนการประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3) ในรูปแบบของความล้มเหลวในการรักษาโรคด้วยยาต้านจุลชีพ (treatment failure) แบ่งได้เป็น 2 ระดับ (ภาพ 16) คือ

- การเจ็บป่วยโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) การเจ็บป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์เข้าในร่างกายเป็นกระบวนการที่ซับซ้อน ประกอบด้วยปัจจัยมากมายที่เข้ามาเกี่ยวข้องในแต่ละขั้นตอนตั้งแต่รับจุลินทรีย์เข้าร่างกายทางปากและก่อให้เกิดอาการในระบบต่างๆ ของร่างกาย สามารถแจกแจงได้ 3 ปัจจัยหลัก คือ ปัจจัยจุลชีววิทยา (Microbiology) ปัจจัยร่างกาย (Host) และปัจจัยอาหาร (Food matrix) ข้อมูลที่จำเป็น คือ ปริมาณ *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาผ่านการบริโภคปลาและซาซิมิ โดยอาศัยแบบจำลองที่เป็นสมการคณิตศาสตร์ (Dose-response model)

- ความล้มเหลวในการรักษาโรคอาหารเป็นพิษด้วยยาต้านจุลชีพ (treatment failure) ซึ่งเป็นผลกระทบสุขภาพที่เกิดขึ้นจากการที่ไม่สามารถบำบัดโรคอาหารเป็นพิษจาก *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาผ่านการบริโภคปลาและซาซิมิด้วยยาต้านจุลชีพได้ผล



ภาพ 16 การประเมินผลกระทบสุขภาพจากแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาผ่านการบริโภคปลาและซาซิมิ

(ที่มา : Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance; Joint FAO/WHO, 2011)

4. การอธิบายความเสี่ยง (risk characterization) เป็นการประมาณความเสี่ยงโดยบูรณาการผลลัพธ์ที่ได้จากขั้นตอนการระบุอันตราย การประเมินการสัมผัส และ การอธิบายอันตรายโดยตลอดวิถีความเสี่ยง (risk pathway) ในรูปของจำนวนประชากรผู้ป่วยที่ไม่สามารถบำบัดโรคอาหารเป็นพิษจาก *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาผ่านการบริโภคปลาและซาซิมิ ด้วยยาต้านจุลชีพได้ต่อประชากรไทยแสนคนต่อปี

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณจะต้องมีการพิจารณา “ความไม่รู้” (uncertainty) ซึ่งเกิดจากการสุ่มและขนาดตัวอย่าง (sampling and sample size) และ “ความหลากหลาย” (variability) ซึ่งเป็นลักษณะทางชีววิทยาของปัจจัยเสี่ยง ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้โดยการใช้การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ในการอธิบายปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้ในแบบจำลองคณิตศาสตร์โดยอาศัยการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo simulation) ผลการประเมินความเสี่ยงที่ได้จะครอบคลุมค่าที่เป็นไปได้ทั้งหมดและความน่าจะเป็นที่จะเกิดการเกิดค่าที่เป็นไปได้เหล่านี้ด้วย แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้นตลอดวิถีการสัมผัส (exposure pathway) ในการประเมินการสัมผัสไปจนกระทั่งถึงความล้มเหลวในการบำบัดรักษาจากการดื้อยาในการอธิบายอันตราย ทำให้สามารถวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อด้านสุขภาพจากการดื้อยาด้านจุลชีพของ *Salmonella spp.* ที่ปนเปื้อนในปลาและซาซิมิ ที่เรียกว่า การวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) ดังนั้นผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณจะช่วยให้ผู้จัดการความเสี่ยงตัดสินใจเลือกหรือกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยง เช่น ระดับการต้านยาของ *Salmonella spp.* ในปลาและซาซิมิ เพื่อควบคุมความเสี่ยงจากการดื้อยาในผู้ป่วยจากการบริโภคปลาและซาซิมิ ได้อย่างเหมาะสมและทรงประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพเชิงปริมาณ (AMR quantitative risk assessment)

การประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพเชิงปริมาณของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ มี 4 ขั้นตอน (Joint FAO/WHO, 1999) คือ

1.1 การระบุอันตราย (Hazard identification)

การทบทวนและยืนยันผลกระทบต่อสุขภาพของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิที่ดื้อยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการผลิต (Holstrom et al., 2003) หรือยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจาก *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ (CLSI M45-P, 2006; Manasatit, et al., 2003; WHO AGISAR, 2009)

โดยการสืบค้นข้อมูลด้านระบาดวิทยาของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ การศึกษาและเข้าใจถึง จุลชีววิทยาของ *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงระดับการปนเปื้อน *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ อัตราการดื้อยาต้านจุลชีพ ความล้มเหลวในการใช้ยาต้านจุลชีพรักษาโรคติดเชื้อจาก *Salmonella spp.* ในปลาและชาซิมิ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในขั้นตอนต่อไปของการประเมินความเสี่ยง

1.2 การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)

การประเมินความน่าจะเป็น (probability) ของผลกระทบต่อสุขภาพจากการได้รับ *Salmonella spp.* ที่ดื้อยาผ่านการบริโภคปลาและชาซิมิ (dose) จากขั้นตอนการประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3)

แบบจำลองในการอธิบายอันตราย

(Models for Hazard characterization)

แบบจำลองในการอธิบายอันตราย susceptible และ antimicrobial resistant (AMR) *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาและชาซิมิ ประกอบด้วย 2 ส่วนต่อเนื่องกัน คือ

1. แบบจำลองการตอบสนองต่อปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค (Dose-response model)
2. แบบจำลองการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษา (Mortality model)

โดยเมื่อคำนวณต่อเนื่องรวมกัน จะได้ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก *Salmonella* โดยในการศึกษาครั้งนี้ วิเคราะห์และรายงาน ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจากทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella*

โดยจะได้กล่าวขยายความเพิ่มเติมของ 2 แบบจำลอง ดังต่อไปนี้

1. แบบจำลองการตอบสนองต่อปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค (Dose-response model)

ในการศึกษาโครงการย่อยนี้ แบบจำลองการตอบสนองต่อปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย (dose) และการเจ็บป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษจาก *Salmonella* ที่ได้รับ เรียกว่า ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness) (ตาราง 23)

ตาราง 23 Dose-response (DR) model สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้

จุลินทรีย์ก่อโรค	Dose-response Model	Parameter
<i>Salmonella</i> spp.	Beta-Poisson	$\alpha = 0.1324$ $\beta = 51.45$

2. แบบจำลองการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษา (mortality model)

เป็นการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษาการติดเชื้อและดื้อยาต้านจุลชีพ ซึ่งเป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นต่อเนื่องจาก ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *Salmonella* ตามแนวทางการประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์โดยทั่วไป

ความน่าจะเป็นการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษาคำนวณจาก 3 เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องกันและเป็นอิสระต่อกัน (independent) กล่าวคือ

1. การเข้ารับรักษาในโรงพยาบาล (Hospitalization : H)
2. การให้ยาต้านจุลชีพในการรักษา (Prescription : P)
3. การเสียชีวิตจากจุลชีพ (Mortality : M)

โดยจะได้กล่าวขยายความเพิ่มเติมของ 3 เหตุการณ์ ดังต่อไปนี้

1. การเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล (Hospitalization : H)

การเข้ารับรักษาในโรงพยาบาลเมื่อมีการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR infection) จนก่อให้เกิดการเจ็บป่วย (illness or disease) แบ่งได้ 2 กลุ่มผู้ป่วยตามระดับความรุนแรงของอาการ คือ

- กลุ่มผู้ป่วยที่มีการเจ็บป่วยไม่รุนแรง (mild case) ไม่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล
- กลุ่มผู้ป่วยที่มีการเจ็บป่วยรุนแรง (severe case) ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล

ข้อมูลที่บ่งชี้ถึงการเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล คือ อัตราการเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาล (hospitalization rate) อันเนื่องมาจากการติดเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพ หมายถึง สัดส่วนของจำนวนผู้ป่วยจากการติดเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ต่อ จำนวนผู้ป่วยจากการติดเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพทั้งหมด (ประกอบด้วย จำนวนผู้ป่วยที่หายป่วยได้เอง รวมกัน จำนวนผู้ป่วยที่เข้ารับรักษาในโรงพยาบาล) ดังสมการ

$$\text{Hospitalization rate} = \frac{\text{Admitted cases by AMR Salmonella}}{\text{Total cases by AMR Salmonella}}$$

รายงานอัตราการเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาล (hospitalization rate) อันเนื่องมาจากการติดเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพ เฉพาะกรณีของ non-typhoidal *Salmonella* spp. ตามลำดับเวลา ดังนี้

1. hospitalization rate ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Salmonella* ที่ดื้อยา (resistant) อยู่ที่ร้อยละ 35 ซึ่งสูงกว่า hospitalization rate ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Salmonella* ที่ไม่ดื้อยา (susceptible) อยู่ที่ร้อยละ 27 เนื่องจากผู้ป่วยมีภาวะการเจ็บป่วยที่ต้องได้รับยาต้านจุลชีพเป็นพื้นฐานอยู่ก่อนแล้วก่อนจะติดเชื้อด้วย *Salmonella* spp. โดยจะเป็นกลุ่มผู้ป่วยมีโอกาสสูงกว่าในการที่จะเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล โดยไม่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาหรือไม่ดื้อยาต้านจุลชีพของ *Salmonella* spp.

ดังนั้น การดื้อยาต้านจุลชีพ ของ *Salmonella* spp. ไม่มีความสัมพันธ์กับ hospitalization rate ที่สูงขึ้น หรือกล่าวได้อีกอย่างหนึ่งว่า การดื้อยาต้านจุลชีพ ของ *Salmonella* spp. ไม่เพิ่มโอกาสในการเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลมากขึ้น (Lee et al., 1994)²

² Lee, L.A., Puhr, N.D., Maloney, E.K., Bean, N.H. and Tauxe, R.V., 1994. Increase in antimicrobial-resistant *Salmonella* infections in the United States, 1989–1990. *Journal of Infectious Diseases*, 170(1), pp.128-134.

2. hospitalization rate ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Salmonella* ที่ดื้อยา (resistant) อยู่ที่ร้อยละ 3.5 (46/1,323) ซึ่งสูงกว่า hospitalization rate ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Salmonella* ที่ไม่ดื้อยา (susceptible) อยู่ที่ร้อยละ 1.1 (Helm et al., 2004)³

3. สัดส่วนกลาง (median proportion) ของการเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาลของผู้ที่ติดเชื้อด้วย *Salmonella* ที่ดื้อยา (resistant) ร้อยละ 26.2 ซึ่งสูงกว่าสัดส่วนกลาง (median proportion) การเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาลของผู้ที่ติดเชื้อด้วย *Salmonella* ที่ไม่ดื้อยา (pansusceptible) ร้อยละ 9.7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value <0.05) (Varma et al., 2005)⁴

ข้อมูลเหล่านี้เป็นข้อมูลของ non-typhoidal *Salmonella* spp. เท่านั้น และ รายงานระดับความรุนแรงของ *Salmonella* ที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยในต่างประเทศ นอกจากนี้ พิสัยหรือช่วงความกว้างของ hospitalization rate ของ 2 การศึกษาอยู่ใกล้เคียงกันที่ประมาณ ร้อยละ 30 ในขณะที่อีกหนึ่งการศึกษา มี hospitalization rate ที่ต่ำกว่าอยู่ที่ประมาณร้อยละ 3.5 เท่านั้น อย่างไรก็ตาม hospitalization rate ในการคำนวณการประเมินความเสี่ยงครั้งนี้ จะได้ใช้ค่าเฉลี่ย (average) ชนิด median อยู่ที่ร้อยละ 26.2

ในขณะที่ พฤติกรรมการเข้าโรงพยาบาลของประชากรไทยอาจจะไม่สูงเท่ากับพฤติกรรมของชาวต่างชาติ ดังนั้น จึงคำนวณ hospitalization rate เพียงร้อยละ 10 ของ hospitalization rate ของต่างชาติ คือ ร้อยละ 2.62 โดยใช้กับ *Salmonella* ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพในการศึกษาครั้งนี้

³ Helms, M., Simonsen, J. and Mølbak, K., 2004. Quinolone resistance is associated with increased risk of invasive illness or death during infection with *Salmonella* serotype Typhimurium. *Journal of Infectious Diseases*, 190(9), pp.1652-1654.

⁴ Varma, J.K., Mølbak, K., Barrett, T.J., Beebe, J.L., Jones, T.F., Rabatsky-Ehr, T., Smith, K.E., Vugia, D.J., Chang, H.G.H. and Angulo, F.J., 2005. Antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* is associated with excess bloodstream infections and hospitalizations. *The Journal of infectious diseases*, 191(4), pp.554-561.

2. การใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษา (Prescription : P)

เมื่อผู้ป่วยรุนแรงเข้าการรักษาตัวในโรงพยาบาล หากมีอาการที่บ่งชี้ถึงการติดเชื้อเข้าสู่กระแสโลหิต (bacteriamia) จากจุลินทรีย์โรคอาหารเป็นพิษ ก็จะได้รับ การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ

รายงานการศึกษา ระบาดวิทยาของแบคทีเรียก่อโรคในผู้ป่วยอุจจาระร่วงที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล พบว่า จำนวนผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงที่เข้าร่วมโครงการ 1,778 คน แพทย์ให้การ ใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาผู้ป่วย โรคอุจจาระร่วงสูงถึง 1,322 ราย (ร้อยละ 74.4) ในจำนวนนี้ได้รับ Norfloxacin 806 ราย (ร้อยละ 45.36) รองลงมาได้แก่ Ampicillin 69 ราย (ร้อยละ 3.8)⁵

อัตราการ ใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาเป็นการพิจารณา 2 เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นต่อเนื่องกัน คือ

1. การพิจารณาใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษา (antimicrobial use : event A)
2. การพิจารณาเลือกชนิดยาต้านจุลชีพ (antimicrobial of choice : event B)

นอกจากนี้ แนวทางการดูแลโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันในผู้ใหญ่จะพิจารณาเลือกใช้ยา⁶ ดัง ตาราง 24 ตาราง 24 การดูแลโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันในผู้ใหญ่โดยการใช้ยาต้านจุลชีพ

จุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen)	ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial)
Non-typhoidal <i>Salmonella</i> spp.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Norfloxacin 2. Ofloxacin 3. Ciprofloxacin 4. Ceftriaxone 5. Cefotaxime
Pathogenic <i>E.coli</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Clotrimoxazole 2. Norfloxacin 3. Ofloxacin 4. Ciprofloxacin 5. Ceftriaxone

5 สุวรรณ เทพสุนทร; เสาวพัทธ์ อึ้งจ้อย; อรุณ บำตรระกุลนนท์; ธีรศักดิ์ ชักนำ และยงเจือ เหล่าศิริถาวร. ระบาดวิทยาของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในผู้ป่วยอุจจาระร่วงที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล Epidemiology of Bacteria in Acute Diarrhea among hospital-base population

6 สถาพร มานัสสถิตย์ สุกัญญา จงถาวรสถิตย์ รัชณี ธีระวิทย์เลิศ ปิ่นนภ ธุวานนท์ 2526 แนวทางการดูแลโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันในผู้ใหญ่จะพิจารณาเลือกใช้ยา พิมพ์ครั้งที่ 2 ISBN : 974-297-101-3

เนื่องจาก Norfloxacin เป็นยาต้านจุลชีพที่ใช้บ่อยที่สุด ดังนั้น จึงเลือกการประเมินความเสี่ยงต่อยาต้านจุลชีพ Norfloxacin ดังนั้น ความน่าจะเป็นของการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ Norfloxacin เพื่อการรักษาทั้ง non-typhoidal *Salmonella* spp. คิดเป็นร้อยละ 45.36

ดังนั้นอัตราการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ Norfloxacin จึงคำนวณจากผลคูณของ การพิจารณาใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษา ร้อยละ 74.4 และ การพิจารณาเลือกชนิดยาต้านจุลชีพ Norfloxacin ร้อยละ 45.36 ($74.4 \% \times 45.36\%$) เท่ากับ ร้อยละ 33.75 (หรือ 0.3375)

3. การเสียชีวิตจากจุลชีพ (Mortality : M)

ผลกระทบต่อสุขภาพที่เกิดจากการดื้อสารต้านจุลชีพของจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ประกอบด้วย ความล้มเหลวในการรักษาโรค (treatment failure) การหมดทางเลือกในการใช้ยารักษา (loss of option) อัตราการป่วย (morbidity) ระยะเวลาป่วย/รักษาที่ยาวนานขึ้น (illness and treatment durations) อัตราการเสียชีวิตที่สูงขึ้น (mortality)

ในกรณีที่ผู้ป่วยรุนแรงเกิดการเจ็บป่วยจนต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ได้รับการรักษาการติดเชื้อในกระแสโลหิตที่ได้รับยาต้านจุลชีพ ทำให้การรักษาการติดเชื้อในกระแสโลหิตล้มเหลว (treatment failure) จนผู้ป่วยบางรายอาจจะเสียชีวิตในที่สุด (mortality)

รายงานตามลำดับเวลาของอัตราเสียชีวิต (mortality rate) จากจุลชีพโรคอาหารเป็นพิษ เฉพาะกรณีของ non-typhoidal *Salmonella* spp. ดังนี้

1. อัตราการเสียชีวิตจาก multidrug-resistant *Salmonella* ร้อยละ 3.4 ในขณะที่ อัตราการเสียชีวิตจาก drug-susceptible *Salmonella* ร้อยละ 0.2% (Holmberg et al., 1987)⁷
2. อัตราการเสียชีวิตจาก resistant *Salmonella* ร้อยละ 0.1 ในขณะที่ อัตราการเสียชีวิตจาก pan susceptible *Salmonella* ร้อยละ 0.06 (Varma et al., 2005)⁸

ค่าเฉลี่ยอัตราการเสียชีวิต (mean mortality) จาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* คือ ร้อยละ 0.13 (0.0013) และ ร้อยละ 1.75 (0.0175) ตามลำดับ

7 Holmberg, S.D., Solomon, S.L. and Blake, P.A., 1987. Health and economic impacts of antimicrobial resistance. *Reviews of infectious diseases*, 9(6), pp.1065-1078.

8 Varma, J.K., Greene, K.D., Ovitt, J., Barrett, T.J., Medalla, F. and Angulo, F.J., 2005. Hospitalization and antimicrobial resistance in *Salmonella* outbreaks, 1984–2002. *Emerging infectious diseases*, 11(6), p.943.

แบบจำลองทั่วไปที่ใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษาการติดเชื้อ (infection) หรือ ความเจ็บป่วย (illness) ดังสมการ

$$P_M = H \cdot P \cdot M$$

โดย	P_M	คือ ความน่าจะเป็นในการเสียชีวิตจากจุลชีพ
	H	คือ อัตราการเข้ารับรักษาในโรงพยาบาล (Hospitalization rate) : 0.0262
	P	คือ อัตราการจ่ายยาต้านจุลชีพในการรักษา (Prescription rate) : 0.3375
	M	คือ อัตราการเสียชีวิตจากจุลชีพ (Mortality rate)

อย่างไรก็ตาม เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบผลกระทบที่เกิดจาก AMR *Salmonella* ชัดเจน จึงใช้แบบจำลองความน่าจะเป็นในการเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Samonella* ดังสมการ

$$P_{MS} = H \cdot P \cdot M_S = 1.15 \times 10^{-5}$$

โดย	P_{MS}	คือ ความน่าจะเป็นในการเสียชีวิตจาก susceptible <i>Salmonella</i>
	H	คือ อัตราการเข้ารับรักษาในโรงพยาบาล (H)
	P	คือ อัตราการจ่ายยาต้านจุลชีพในการรักษา (P)
	M_S	คือ อัตราการเสียชีวิตจาก susceptible <i>Salmonella</i> (susceptible <u>M</u> ortality) : 0.0013

$$P_{MR} = H \cdot P \cdot M_R = 1.55 \times 10^{-4}$$

โดย	P_{MR}	คือ ความน่าจะเป็นในการเสียชีวิตจาก AMR <i>Samonella</i>
	H	คือ อัตราการเข้ารับรักษาในโรงพยาบาล (H)
	P	คือ อัตราการจ่ายยาต้านจุลชีพในการรักษา (P)
	M_R	คือ อัตราการเสียชีวิตจาก AMR <i>Salmonella</i> (AMR <u>M</u> ortality) : 0.0175

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก *Salmonella* (ตาราง 25)

(Probability of illness to mortality: P_i)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก *Salmonella* ดังได้อธิบายในหัวข้อที่ผ่านมา ได้จากการผลคูณจาก 2 แบบจำลอง คือ

1. แบบจำลองการตอบสนองต่อปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค (Dose response model)
2. แบบจำลองการเสียชีวิตจากความล้มเหลวในการรักษา (Mortality model)

ตาราง 25 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก *Salmonella*

<i>Salmonella</i>	ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Probability of illness to mortality : P_{IM})	
	¹ Dose-response model (P _I)	² Mortality model (P _M)
Susceptible	Beta-Poisson	$P_{MS} = 1.15 \times 10^{-5}$
AMR		$P_{MR} = 1.55 \times 10^{-4}$

1.3 การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)

การประเมินความน่าจะเป็น (probability) และระดับ (dose) การรับ *Salmonella spp.* ที่ดี้อย่างผ่านการบริโภคปลาและชาซิมิ ตลอดวิถีการสัมผัส (exposure pathway) เก็บตัวอย่างปลาที่บริโภคสุก (ปลาทับทิม) และปลาที่บริโภคดิบ (ชาซิมิ) แบ่งเป็นรายภาคทั่วประเทศ ประกอบด้วย ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคใต้ จังหวัดละ 2 อำเภอ เก็บจากระดับค้าปลีกที่เป็นตลาดสดและตลาดทันสมัย โดยคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size) ที่ระดับความแม่นยำค่าประมาณ (Desired precision of estimate) 0.02 ระดับความมั่นใจ (Confidence level) ร้อยละ 95 ระดับความชุก (Prevalence) ร้อยละ 5 รวมทั้งสิ้น 457 ตัวอย่าง บวกการสูญหาย (missingness) ของตัวอย่างหรือข้อมูล (missing data) ร้อยละ 5 ได้จำนวน 480 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างปลาและชาซิมิในภาชนะที่เก็บรักษาความเย็นที่ $< 10^{\circ}\text{C}$ (ตาราง 26)

ตาราง 26 การแจกแจงการเก็บตัวอย่างระดับค้าปลีกเป็นรายภาค

ภาค	ตลาดสด	ตลาดทันสมัย	จำนวน/ภาค
1. เหนือ	56	24	80
2. ตะวันออก	56	24	80
3. กลาง	56	24	80
4. ตะวันออกเฉียงเหนือ	56	24	80
5. ใต้	56	24	80
6. ตะวันตก	56	24	80
	336	144	480

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ (Analytical method)

= Microbiological analysis

i. Bacteriological Analytical Method (BAM) ของ US.FDA. 2004 (Kaysner and DePaola, 2004)

1. Detection
2. Enumeration (MPN or Direct plating)

= Antimicrobial susceptibility testing ของ *Salmonella spp.* จำนวน 1,440 isolates

i. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard – 7th edition : M7-A7 (CLSI, 2006)

ii. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Proposed guideline : M45-P (CLSI 2006)

iii. เลือกยาต้านจุลชีพประมาณ 10 ชนิด ต่อไปนี้

1. กลุ่ม Penicillins and β lactam/ β lactamase inhibitor เช่น Ampicillin, Amoxicillin-clavulanic acid, Ampicillin-sulbactam, Piperacillin หรือ Piperacillin-tazobactam เป็นต้น
2. กลุ่ม Cephems เช่น Cefazolin, Cefepime, Cefotaxime, Cefoxitin, Ceftazidime, Cefuroxime sodium หรือ Cephalothin เป็นต้น
3. กลุ่ม Carbapenems เช่น Imipenem หรือ Meropenem เป็นต้น
4. กลุ่ม Aminoglycosides เช่น Amikacin หรือ Gentamicin เป็นต้น
5. กลุ่ม Tetracyclines เช่น Tetracycline, Oxytetracycline, Chlortetracycline หรือ Doxycycline เป็นต้น
6. กลุ่ม Quinolones เช่น Ciprofloxacin, Levofloxacin, Ofloxacin, Norfloxacin, Enrofloxacin, Perfloxacin หรือ Oxolinic acid เป็นต้น
7. Chloramphenicol

= เกณฑ์การแปลผลค่า MIC (MIC interpretive criteria) ค่า MIC breakpoint ที่เหมาะสมสำหรับกรณีการทำนายโอกาสในการรักษาการติดเชื้อทางคลินิก (clinical breakpoint) จะแตกต่างจากกรณีการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา (epidemiological cutoff : ECOFF) แม้ว่าจุลินทรีย์ก่อโรคนั้นสามารถเกิดการดื้อยาด้วย

กลไกต่างๆ อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ก่อโรคที่แยกได้ทางคลินิก ก็อาจจะมีค่า MIC ที่ต่ำเพียงพอที่เพื่อการรักษาที่ได้ผล ดังนั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการแยกระหว่าง clinical breakpoint และ ECOFF⁹ ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการหาค่า MIC ของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างในปลาและซาซิมิเท่ากับเป็นการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา (

ตาราง 27) ดังนั้น จึงเลือกใช้ ECOFF เป็น MIC breakpoint โดย MIC ที่เท่ากับหรือน้อยกว่าค่า ECOFF จะถูกจัดว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ไว (susceptible)

ตาราง 27 ค่า MIC breakpoint (mg/L) เพื่อเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ epidemiological cutoff (ECOFF) โดย EUCAST 2015 (susceptible \leq MIC breakpoint)

ยาต้านจุลชีพ	<i>Salmonella spp.</i>
Ampicillin	8
Cefepime	0.125**
Cefotaxime	0.5
Cefoxitin	8
Chloramphenicol	16
Ciprofloxacin	0.064
Colistin	2
Gentamicin	2
Imipenem	1
Meropenem	0.125
Nalidixic acid	16
Streptomycin	16
Sulphamethoxazole	256
Tetracycline	8
Trimethoprim	2

* assumed to be equivalent to MIC breakpoint of either *E.coli* or *Salmonella spp.*

⁹ ** "EFSA Journal (2011) 9(8) : 2322 Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum beta-lactamases and/or AmpC beta-lactamases in food and food-producing animals : EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)"

** "EFSA Journal (2011) 9(8) : 2322 Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals : EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)"

ข้อมูลการบริโภคผลิตภัณฑ์ปลาและชาซิมิ

= สืบค้นจากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food Consumption Data of Thailand) สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.)

= สืบค้น Online ที่ <http://consumption.acfs.go.th/index.php>

= กลุ่มประชากรอายุมากกว่า 3 ปี ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคเฉพาะผู้ที่บริโภค (Eater only)

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative) และเชิงความไม่แน่นอน (Uncertainty)

1. ความชุก (Prevalence) การแจกแจงความน่าจะเป็นของความชุกจะใช้ Beta distribution เป็นการอาศัยหลักการกระบวนการทวินาม (Binomial process) กล่าวคือ ความชุกหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่สนใจนั้นมีความเป็นไปได้เพียง 2 กรณีเท่านั้น คือ มีการปนเปื้อนและไม่มีการปนเปื้อน ดังนั้น จึงได้นำเอาหลักการนี้มาวิเคราะห์หาระดับความชุกหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างหรือตัวแปรสุ่มที่สนใจ

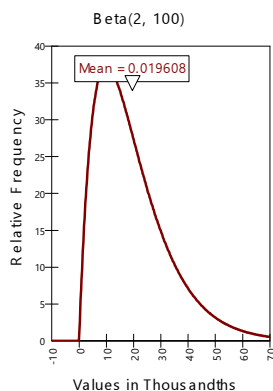
ความชุกของจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร เป็นการคำนวณความชุกของจุลินทรีย์ภายในตัวอย่างอาหาร โดยข้อมูลที่ต้องการทราบก่อน คือ จำนวนตัวอย่างอาหารที่ทดสอบแล้วให้ผลบวกต่อจุลินทรีย์ (contaminated) แต่เนื่องจาก ไม่ทราบความชุกของจุลินทรีย์ในอาหารมาก่อนล่วงหน้า ดังนั้น ความชุกภายในฟาร์มปลานี้ก่อนการทดสอบจึงเป็นการแจกแจงแบบสมมติความชุกในช่วงระหว่างร้อยละ 0 และ 100 หรือเขียนเป็นแบบการแจกแจงความน่าจะเป็นว่า Uniform (0,1) หลังจากทำการทดสอบแล้วจะได้การแจกแจงความน่าจะเป็นความชุกภายในฝูงเป็น Beta (α_1 , α_2)

โดยที่ α_1 คือ $s + 1$

α_2 คือ $n - s + 1$

n คือ จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ (trial)

s คือ จำนวนตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ (success) (ภาพ 17)

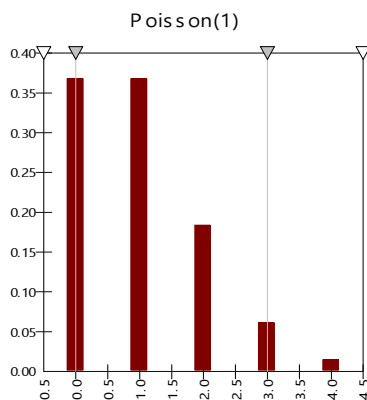


ภาพ 17 ตัวอย่างอาหารปนเปื้อน 1 ตัวอย่างจาก 100 ตัวอย่างอาหาร จะมีค่าเฉลี่ยความชุกร้อยละ 1.96

ตัวอย่างการคำนวณความชุก ถ้าจำนวนตัวอย่างอาหาร 100 ตัวอย่าง พบว่ามีอยู่ 1 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับการทดสอบหาจุลินทรีย์ ดังนั้น การแทนค่าในการแจกแจงความน่าจะเป็นจะเป็น $Beta(1+1, 100-1+1)$ หรือ $Beta(2,100)$ (ภาพ 17) ได้ค่าเฉลี่ยของความชุก เป็น ร้อยละ 1.96 และมีค่าความชุกที่มีโอกาสเป็นไปได้สูงสุด ร้อยละ 1 แต่มีความเป็นไปได้ที่จะมีค่าความชุกเป็นค่าอื่นๆ ได้ด้วย เช่น ร้อยละ 0 ถึง ร้อยละ 100 แต่โอกาสการเกิดความชุกในค่าอื่นๆ นั้น มีระดับความเป็นไปได้ที่น้อยกว่าความชุก ร้อยละ 1 ดังภาพที่ 9 จะสังเกตได้ว่า ความชุกที่เป็นค่าเฉลี่ยจากการแจกแจงความน่าจะเป็น Beta มีค่าใกล้เคียงกับการคำนวณตามปกติ คือ $1/100$ หรือ ร้อยละ 1

2. ความเข้มข้น (Concentration) การเลือกแบบการแจกแจงความน่าจะเป็นสำหรับความเข้มข้น (Poisson Distribution) ระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในตัวอย่างนั้น จะสอดคล้องกับแบบ การแจกแจงแบบ Poisson ซึ่งมีการกำหนดค่าพารามิเตอร์ λ (อ่านว่า แลมดา) เพื่อสร้างการแจกแจงความน่าจะเป็น ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ก็คือ ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ ก่อโรคในตัวอย่างที่ศึกษา

ตัวอย่างอาหารที่เก็บได้จำนวน 50 ตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการแล้วพบว่า มีความเฉลี่ยความเข้มข้น 1 เซลล์/กรัมอาหาร ดังนั้น การแจกแจงความน่าจะเป็นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ ก่อโรคในอาหาร เป็น Poisson(1) ซึ่งสามารถแสดงได้ (ภาพ 18)



ภาพ 18 แบบการแจกแจงความน่าจะเป็นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

ในกรณีที่วิธีการตรวจวิเคราะห์จุลชีววิทยาเป็นการตรวจเชิงคุณภาพ (qualitative data) จะใช้แบบจำลองในการแปลงค่าความชุก (prevalence) เป็นความเข้มข้น (quantitative data) ได้โดยอาศัยข้อมูลจำนวนตัวอย่าง (sample size) ที่ตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดร่วมกับ ค่าความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคในตัวอย่างที่วิเคราะห์

แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินการสัมผัส

(Models for exposure assessment)

1. แบบจำลองการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (thermal inactivation model)

ในการศึกษาเมื่อผู้บริโภคได้ปลาและซาซิมิ จากระดับการค้าปลีกทั้งชนิดตลาดสดและตลาดทันสมัย เมื่อนำมาถึงระดับครัวเรือน จึงมีการปรุงอาหารด้วยความร้อน ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการลดระดับการปนเปื้อนลงหรือกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคได้ ตามสัดส่วนของระยะเวลาในการปรุงอาหาร จากข้อมูลตามรายงานของ FAO/WHO (2012) พบว่าความร้อนของการปรุงอาหารอยู่ที่อุณหภูมิ 64°C ใช้ระยะเวลาประมาณ 1 นาที ดังสมการ

$$LR = \frac{t}{D_{64}} \quad (3)$$

โดยที่ LR คือ ระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคที่ลดลง (log reduction)

D_{64} คือ อัตราการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยความร้อนที่ อุณหภูมิ 64 °ซ

t คือ ระยะเวลาในการปรุงอาหาร (Inactivation time) เท่ากับ 1 นาที

2. ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_E) เป็นการอธิบายโอกาสหรือความเป็นไปได้ที่ร่างกายจะได้รับสัมผัส จุลินทรีย์ก่อโรคน้อย 1 หน่วยก่อโรค ซึ่ง P_E เป็นค่าที่เป็นตัวแทนอธิบายโอกาสการเกิดเหตุการณ์การรับ สัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคปลาและซาซิมิ โดยใช้แบบจำลอง

$$P_E = P(1 - e^{-N}) \quad (4)$$

โดยที่

P คือ ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคในปลาและซาซิมิ

N คือ จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคที่ได้รับเข้าไปในร่างกาย (dose)

โดยที่

$$N = \text{Concentration} \times \text{Consumption} \quad (5)$$

โดยที่

Concentration คือ ระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในปลาและซาซิมิ

Consumption คือ ปริมาณการบริโภคปลาและซาซิมิ ต่อครั้ง (serving) หรือ ต่อมื้อ (meal)

1.4 การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization)

เป็นการประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการบริโภคปลาและซาซิมิ ที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ ดังนั้น ขั้นตอนนี้จึงเป็นการบูรณาการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 3 ตามด้วย ขั้นตอนที่ 2 กล่าวคือ เป็นการ พิจารณาความน่าจะเป็นต่อเนื่องของ 2 เหตุการณ์หลัก คือ 1.เหตุการณ์ในการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคปริมาณ หนึ่ง (dose) ตามมาด้วย 2.เหตุการณ์การเกิดโรค (response) อันเกิดจากปริมาณจุลินทรีย์ที่ได้รับ ดังนั้น แบบจำลองที่ใช้ในการอธิบายความเสี่ยง

$$P_S = P_E \times P_I \times P_M \quad (6)$$

โดยที่

P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสหรือบริโภคอาหารเพียง 1 ครั้ง

P_E คือ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัสกับจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 หน่วยก่อโรค

P_I คือ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย หรือ สัตว์ส่วนผู้ป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์จำนวน N

P_M คือ ความน่าจะเป็นในการเสียชีวิตจากการติดเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ

P_S เป็นค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหารเพียง 1 ครั้ง (single exposure) อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้สูงที่อาจจะมีการสัมผัสกับอาหารที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคมมากกว่า 1 ครั้ง (multiple exposure)

$$P_M = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_S) \quad (7)$$

โดยที่

P_M คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหาร n ครั้งในระยะเวลาที่สนใจ เช่น 1 ปี

P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสหรือบริโภคอาหารเพียง 1 ครั้ง

จากนั้น จึงนำข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 10,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม @Risk Professional edition (Risk analysis Add-in for Microsoft Excel : Palisade Corporation)

2. การวิเคราะห์ความไว (Sensitivity analysis)

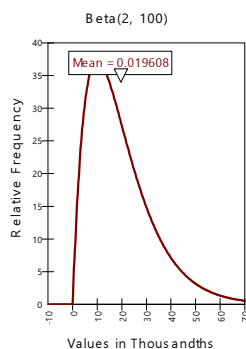
การวิเคราะห์ความไว เป็นเทคนิคในการลำดับความสำคัญของปัจจัยเสี่ยง (risk factor) (ตัวแปรอิสระ) ที่มีต่อระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (ตัวแปรตาม) โดยใช้วิธี correlation หรือ regression ที่ได้จากการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ความไว ประกอบด้วย

2.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง (model validation)

การเลือกแบบจำลองที่มีปัจจัยเสี่ยงที่เหมาะสมที่สุด หรือ สามารถอธิบายระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพได้ถูกต้องมากที่สุด จากนั้นจึงทดสอบความถูกต้องโดยการเก็บตัวอย่างปลาและซาซิมิเพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกับขั้นตอนการประเมินการสัมผัสของการประเมินความเสี่ยง

2.2 การกำหนดการแจกแจงความน่าจะเป็นให้กับปัจจัยเสี่ยง (probability distribution) เป็นการปรับเพิ่มข้อมูลความไม่แน่นอน (uncertainty) ให้กับตัวแปรอิสระ โดยอาศัยค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

(standard deviation) ในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) เช่น การแจกแจงความน่าจะเป็นชนิด Beta ใช้อธิบายความไม่แน่นอนของตัวแปรที่เป็นความชุก (prevalence) (ภาพ 19) เป็นต้น



ภาพ 19 ตัวอย่างอาหารปนเปื้อน 1 ตัวอย่างจาก 100 ตัวอย่างอาหาร จะมีค่าเฉลี่ยความชุกร้อยละ 1.96

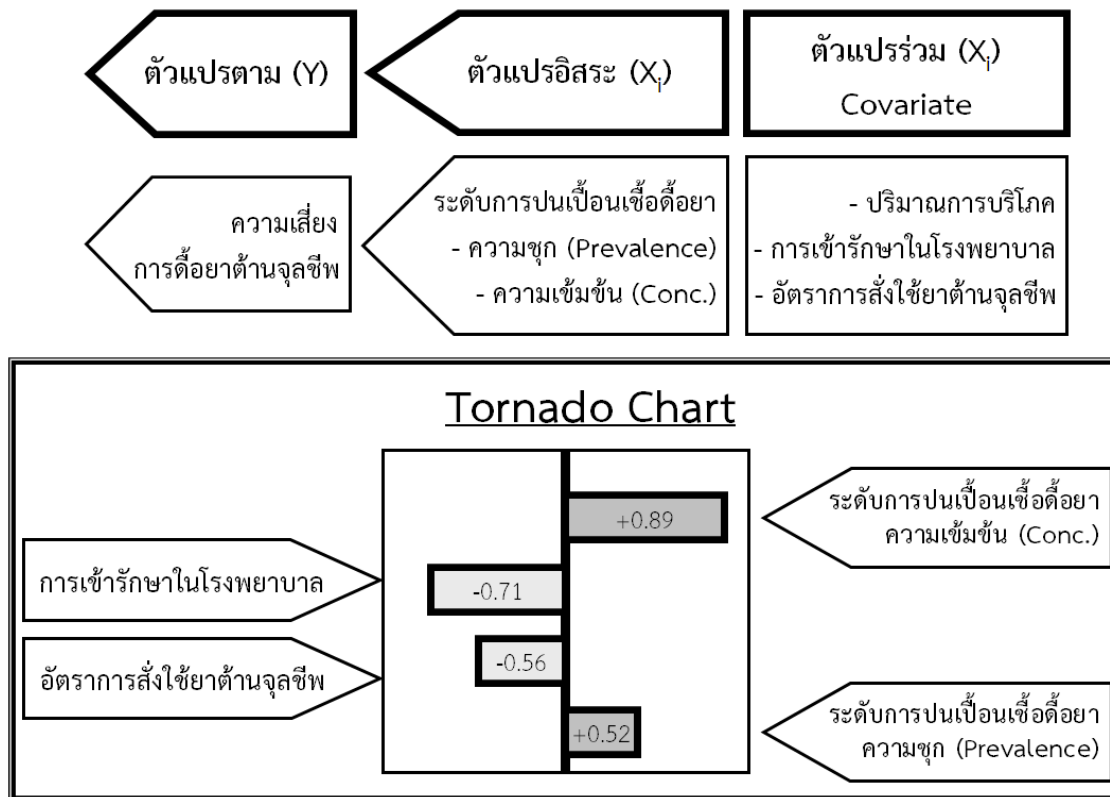
2.3 การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) เป็นการสุ่มเลือกค่าที่เป็นไปได้ทั้งหมดของตัวแปรอิสระในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น แล้วคำนวณได้เป็นการแจกแจงความน่าจะเป็นของปัจจัยเสี่ยง (probability distribution of prevalence or concentration)

2.4 การวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis)

เป็นการคำนวณความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระ เช่น อนุกรมเวลาความเสี่ยงในอดีต อนุกรมเวลาภูมิอากาศในอดีต กับ ตัวแปรตาม คือ อนุกรมเวลาความเสี่ยงในปัจจุบัน มี 2 วิธี คือ

- วิธีสหสัมพันธ์ (correlation) เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบสองทาง (two-way relationship) มีค่าระหว่าง -1 ถึง +1 (ภาพ 20) กล่าวคือ ¹ค่าสหสัมพันธ์เป็นบวก (positive correlation) โดยมีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะเพิ่มขึ้น เช่น ความชุกหรือความเข้มข้นของการปนเปื้อนแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาต้านจุลชีพ หรือ ²ความสัมพันธ์ตรงข้ามกัน มีค่าสหสัมพันธ์เป็นลบ (negative correlation) เรียกว่า ความสัมพันธ์เชิงลบ กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะลดลง เช่น อัตราการสั่งจ่ายต้านจุลชีพโดยแพทย์ (prescription rate) เป็นต้น
- วิธีการถดถอย (regression) เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบทางเดียว ในลักษณะตัวแปรอิสระเป็นเหตุ ก่อให้เกิดผล คือ ตัวแปรตาม (causal relationship) ถ้าค่า

สัมประสิทธิ์เป็นบวก หมายความว่า ตัวแปรมีความสัมพันธ์ในทางเดียวกัน ถ้าค่าสัมประสิทธิ์เป็นลบ หมายความว่า ตัวแปรมีความสัมพันธ์ตรงข้ามกัน



ภาพ 20 ตัวแปรอิสระ ตัวแปรตาม และ ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis)

2.5 การแปลผล (interpretation)

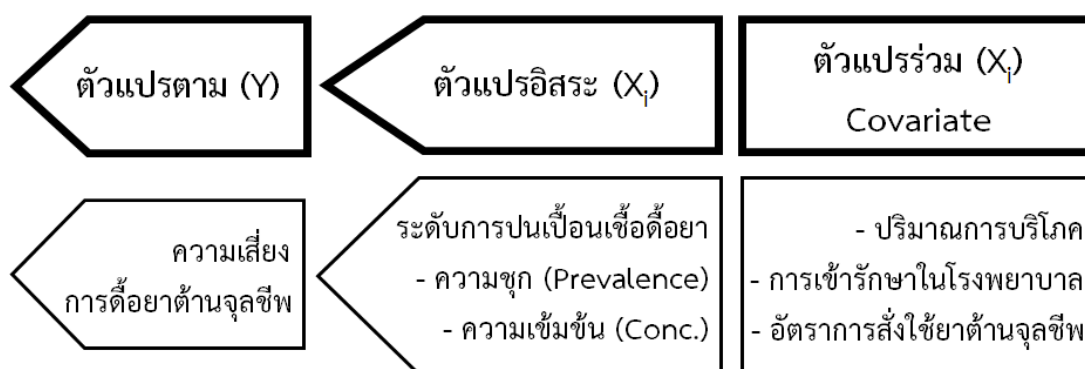
ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความไว มักนำเสนอในรูปแบบของ Tornado chart (ภาพ 20) ซึ่งเป็นแผนภูมิที่เรียงลำดับอิทธิพลของตัวแปรอิสระจากมากไปหาน้อย กล่าวคือ ตัวแปรอิสระที่มีค่าความสัมพันธ์เป็นบวก (positive correlation) จะชี้ไปทางด้านขวา และ ตัวแปรอิสระที่มีค่าความสัมพันธ์เป็นลบ (negative correlation) จะชี้ไปทางด้านซ้าย นอกจากนี้ ตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามมาก ก็จะมีความยาวของ bar มาก และ ตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามน้อย ก็จะมีความยาวของ bar น้อยตามสัดส่วน ในกรณีที่มีตัวแปรอิสระจำนวนมากและมีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามสลับไปมาก จะทำให้เห็น bar ชี้ไปมาสองด้านสลับกันไปกลายเป็นพายุทอร์นาโด จึงนิยมเรียกว่า Tornado chart

3. การวิเคราะห์สถานการณ์ (Scenario analysis)

หลังจากวิเคราะห์ความไวแล้ว ทำให้ทราบลำดับความสำคัญของปัจจัยเสี่ยง (ตัวแปรอิสระ) ที่มีระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (ตัวแปรตาม) แล้ว

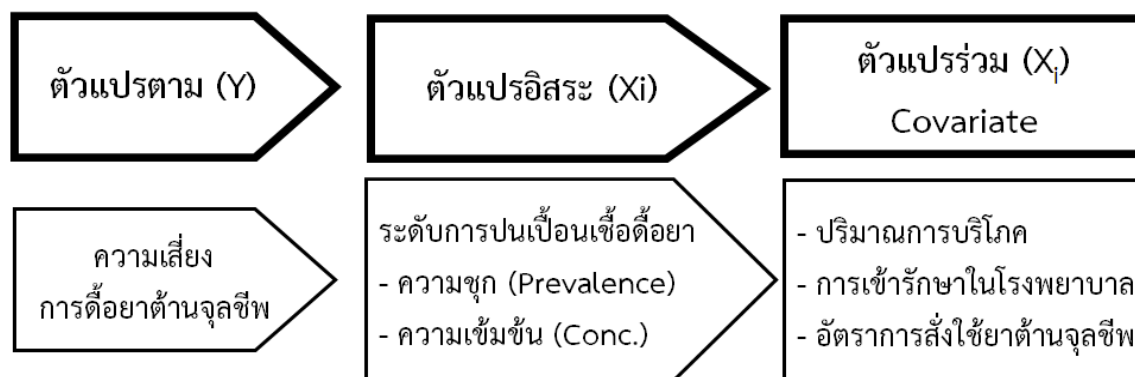
ในกรณีนี้ที่ปัจจัยเสี่ยงที่สนใจ คือ ความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (ตัวแปรตาม) เกิดจาก 2 กลุ่มปัจจัยหลัก (ตัวแปรอิสระ) (ภาพ 21) คือ

1. ระดับการปนเปื้อนเชื้อดื้อยา ทั้งความชุก (Prevalence) และ ความเข้มข้น (Concentration)
2. ปัจจัยร่วม เช่น ปริมาณการบริโภค การเข้ารับรักษาในโรงพยาบาลของผู้ป่วย (hospitalization) หรือ อัตราการสั่งจ่ายยาต้านจุลชีพในโรงพยาบาลเพื่อรักษาโรคอาหารเป็นพิษ (prescription rate)



ภาพ 21 ตัวแปรอิสระ (X_i) เป็นปัจจัยที่กำหนดหรือมีอิทธิพลต่อตัวแปรตาม (Y)

การวิเคราะห์สถานการณ์เป็นการพิจารณาย้อนกลับ (ภาพ 22) กล่าวคือ ในกรณีหรือสถานการณ์ที่ผู้บริหารมีการกำหนดระดับความเสี่ยงหรือจำนวนผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษที่ดื้อยาจากการบริโภคปลาเป็นเป้าหมายความปลอดภัยของผู้บริโภคนั้นๆ (ตัวแปรตาม) เพื่อคำนวณค่าที่ยอมรับได้ (acceptable level) ของความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพ (ตัวแปรอิสระ) ให้สอดคล้องกับเป้าหมายที่กำหนดไว้



ภาพ 22 การพิจารณาย้อนกลับโดยหาค่าตัวแปรอิสระ (X_i) ในสถานการณ์หนึ่งของตัวแปรตาม (Y)

ตัวอย่างแบบจำลอง covariate model เพื่อประกอบความเข้าใจ

ขั้นตอนการวิเคราะห์สถานการณ์ ประกอบด้วย

3.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง (model validation)

การเลือกแบบจำลองที่มีปัจจัยเสี่ยงที่เหมาะสมที่สุด หรือ สามารถอธิบายระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพได้ถูกต้องมากที่สุด จากนั้นจึงทดสอบความถูกต้องโดยการเก็บตัวอย่างปลาและชาซิมิเพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกับขั้นตอนการประเมินการสัมผัสของการประเมินความเสี่ยง

3.2 การกำหนดการแจกแจงความน่าจะเป็นให้กับปัจจัยเสี่ยง (probability distribution) เป็นการปรับเพิ่มข้อมูลความไม่แน่นอน (uncertainty) ให้กับตัวแปรอิสระ โดยอาศัยค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) เช่น การแจกแจงความน่าจะเป็นชนิด Beta ใช้อธิบายความไม่แน่นอนของตัวแปรที่เป็นความชุก (prevalence) (ภาพ 17) เป็นต้น

3.3 การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) เป็นการสุ่มเลือกค่าที่เป็นไปได้ทั้งหมดของตัวแปรอิสระในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น แล้วคำนวณได้เป็นการแจกแจงความน่าจะเป็นของปัจจัยเสี่ยง (probability distribution of prevalence or concentration)

3.4 การกำหนดสถานการณ์ (scenario setting) คือ การกำหนดตัวแปรตาม หรือ การกำหนดสถานการณ์ที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น ระดับความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษ ที่กำหนดเป็นเป้าหมายเชิงนโยบาย โดยทั่วไป มักจะกำหนดประมาณไม่เกิน 10^{-6} หรือ 10^{-7} เป็นต้น

3.5 การคำนวณค่าของปัจจัย (scenario calculation) คือ การคำนวณค่าของปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อตัวแปรตามในสถานการณ์ที่กำหนด ซึ่งอาจจะเป็นตัวแปรอิสระเพียงตัวเดียว หรือ เป็นกลุ่มตัวแปรอิสระก็ได้

3.6 การแปลผล (interpretation)

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์สถานการณ์ คือ ลำดับหรือค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ (percentile) ของตัวแปรอิสระที่ใช้ในการวิเคราะห์สถานการณ์ ความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพระดับ 10^{-6} หรือ 10^{-7} สอดคล้องกับ

- 98th percentile ของตัวแปร คือ ปัจจัยเสี่ยงการปนเปื้อน “ความซุก” < 10 %

- 90th percentile ของตัวแปร คือ ปัจจัยเสี่ยงการปนเปื้อน “ความเข้มข้น” < 120 cfu/กรัม

(mpn/กรัม)

ซึ่งค่าที่ได้เหล่านี้ ก็คือ Microbiological limit ของแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษชนิดนั้นๆ ที่ปนเปื้อนในปลาและชาชิมินั่นเอง

ผลการศึกษา

1. การประเมินความเสี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพเชิงปริมาณ (AMR quantitative risk assessment)

1. การระบุอันตราย (Hazard identification)

แซลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) เป็น genus หนึ่งของแบคทีเรียใน family *Enterobacteriaceae* มีรูปร่างลักษณะเป็นแท่ง (rod shape) ขนาดประมาณ 0.7-1.5 ไมครอน (um) × 2-5 ไมครอน ติดสีแกรมลบ (gram negative) ส่วนมากเคลื่อนไหวได้ (motile) สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ (Facultative anaerobe) แซลโมเนลลาจะเริ่มถูกทำลายที่อุณหภูมิ 70°C แต่สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 8-45 องศาเซลเซียส (°C) ความเป็นกรดต่างที่ pH 6.5-7.5 ปริมาณน้ำใช้ได้ (water activity) ไม่ต่ำกว่า 0.93 แม้ว่าแซลโมเนลลาจะไม่ใช่จุลินทรีย์ถิ่น (normal flora) อย่างไรก็ตาม สัตว์ ทุกชนิดรวมถึงนกและสัตว์เลี้ยงคานจะมี (carry) จุลินทรีย์นี้อยู่ในลำไส้ อันตรายที่เกิดจาก *Salmonella* มาจากความสามารถในการรุกรานเซลล์ (invasive) ของร่างกาย หลังจากการเพิ่มจำนวนในลำไส้แล้ว *Salmonella* จะรุกรานในระบบน้ำเหลืองและอาจจะเข้าสู่บางอวัยวะได้ โรคที่เกิดจาก *Salmonella* แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ Enteric fever ซึ่งเป็นโรคที่เกิดขึ้นเฉพาะในคน Intestinal salmonellosis เป็นโรคอาหารเป็นพิษทำให้เกิดอาการทางระบบทางเดินอาหาร คนและสัตว์สามารถเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย (habitat) ของ *Salmonella* ได้

การจัดแบ่งและการเรียกชื่อแซลโมเนลลา

(Classification and Nomenclature)

ในช่วงระหว่างต้นศตวรรษที่ 20 ได้มีความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ในการจัดแบ่งแซลโมเนลลาโดยอาศัยลักษณะโครงสร้างโปรตีนหลักชั้นนอกของเซลล์และส่วนที่ทำหน้าที่เคลื่อนไหวของแซลโมเนลลา คือ somatic antigen และ flagella antigen ตามลำดับในการแยกชนิดของแซลโมเนลลา ต่อมาได้มีการเสนอวิธีการจัดแบ่งแซลโมเนลลาโดยอาศัย antigen โดยนาย White ในปี 1926 และได้ดัดแปลงวิธีการจัดแบ่งแซลโมเนลลาเป็นวิธีที่เรียกว่า Kauffmann-White scheme เนื่องจาก ได้รวมเอาข้อเสนอวิธีการจัดแบ่งแซลโมเนลลาโดยนาย Kauffmann ในปี 1941 เข้าไว้ด้วยกัน

แซลโมเนลลามีจำนวนมากมายหลายชนิด ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการจัดแบ่งและการเรียกชื่อแซลโมเนลลาที่เหมาะสมเพื่อลดความสับสนการสื่อสารข้อมูล ความรู้ แซลโมเนลลามีลักษณะพิเศษที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ ความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งมีชีวิตที่แซลโมเนลลาอาศัยอยู่และแม้กระทั่งในสิ่งแวดล้อมภายนอกตัวของสิ่งมีชีวิต ดังนั้น จึงทำให้พบว่ามีแซลโมเนลลามากมายหลายชนิดและยังสามารถพบแซลโมเนลลาได้ในเกือบทุกแห่งทั่วโลกด้วย ในอดีตที่ผ่านมาจนจนถึงได้มีนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่มพยายามจัดแบ่งและการเรียกชื่อแซลโมเนลลา แต่เท่าที่ผ่านมาก็จะก่อให้เกิดความสับสน ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยวิธีการทางวิทยาศาสตร์และวัตถุประสงค์ในการจัดแบ่ง อย่างไรก็ตามคงต้องยอมรับกันว่าการจัดแบ่งและการเรียกชื่อโดยอาศัยลักษณะของแซลโมเนลลานั้นย่อมต้องอาศัยวิธีการทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นที่ทราบกันว่า ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์นั้นทำให้เราเข้าใจความสัมพันธ์ของแซลโมเนลลาเหล่านี้ได้อย่างลึกซึ้งขึ้น (ตาราง 28)

ตาราง 28 แนวทางการจัดแบ่ง *Salmonella* spp.

แนวทางการจัดแบ่ง	วิธีการเรียกชื่อ	ตัวอย่างการเรียกชื่อ Serovar
1. ซีวเคมี	5 subgenera โดย serovar เทียบเท่า species	<i>S. Typhimurium</i>
2. ซีวเคมี	3 species - <i>S.typhi</i> - <i>S.choleraesuis</i> - <i>S.enteritidis</i>	<i>S.enterica</i> serovar Typhimurium
3. Phenotypic/DNA homology	1 species <i>S.choleraesuis</i> 7 subspecies - <i>choleraesuis</i> - <i>salamae</i> - <i>arizonae</i> - <i>diarizonae</i> - <i>houtaenae</i> - <i>bongori</i> - <i>indica</i>	<i>S.choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> serovar Typhimurium
4. Phenotypic/DNA homology	1 species <i>S.enterica</i>	<i>S.enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium
5. Multilocus enzyme electrophoresis	2 species - <i>S.enterica</i> - <i>S.bongori</i>	

ที่มา : Ewing, W.H. (1972), Kauffmann, F. (1966), Le Minor, L., Popoff, M.Y., Laurent, B. and Hermant, D. (1986), และ Reeves, M.W., Evins, G.M., Heiba, A.A., Plikaytis, B.D. and Farmer, J.J., 3rd. (1989)

เมื่อมีเทคโนโลยีและวิทยาการใหม่ ๆ ในการตรวจวิเคราะห์ก็ทำให้เกิดมีการเสนอวิธีการจัดแบ่งใหม่ ๆ อยู่เสมอ เหตุเหล่านี้เองที่ทำให้วิธีการจัดแบ่งและการเรียกชื่อโดยอาศัยวิธีการทางวิทยาศาสตร์เท่าที่ผ่านมาเข้าใจยากและมักก่อให้เกิดความสับสน อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่ยอมรับและนิยมใช้วิธีการจัดแบ่งและเรียกชื่อแซลโมเนลลาตามองค์การอนามัยโลก หรือ World Health Organization (WHO) Collaborating Center of Reference and Research on *Salmonella* (Institute Pasteur, Paris) (39) ให้มี

แซลโมเนลลา 2 สปีชี (species) คือ ¹ *Salmonella enterica* มี 6 ซับสปีชี (subspecies) ประกอบด้วย 2,443 ซีโรวาร (serovars) และ ² *Salmonella bongori* มีจำนวน 20 serovars (9, 38) (ตาราง 29) ดังนั้น ระบบในการเรียกชื่อแซลโมเนลลาจึงอ้างอิงการจัดแบ่งตามวิธีดังกล่าว เช่น *Salmonella typhimurium* จัดอยู่ใน *Salmonella enterica enterica* หมายความว่า *Salmonella typhimurium* เป็นสมาชิกใน enterica species และ enterica subspecies โดยตัวเองดั้งเดิมคือ typhimurium ก็จะมีชื่อเรียกใหม่ *Salmonella enterica* subspecies(or subsp.) enterica serovar (or ser.) typhimurium เนื่องจาก ความยาวของชื่อ จึงได้มีการเรียกชื่อย่อ โดยเป็นที่รู้กันว่า คือ *Salmonella Typhimurium* ข้อสังเกตของระบบการเรียกชื่อย่อใหม่นี้ คือ ชื่อ genus จะเป็นตัวเอนและชื่อ serovar จะไม่เอนและตัวอักษรแรกเป็นตัวใหญ่ (ตาราง 29)

ตาราง 29 การจัดแบ่ง species ของแซลโมเนลลา

Species และ Subspecies ของแซลโมเนลลา	จำนวน serovars
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	1,454
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	489
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	94
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	324
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)	70
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>indica</i> (VI)	12
<i>Salmonella bongori</i> (V)	20

ที่มา : Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R. and Swaminathan, B. (2000) Popoff, M.Y., Bockemuhl, J. and Brenner, F.W. (2000).

แม้ว่าวิธีการทางชีวเคมีจะใช้เป็นพื้นฐานในการระบุ (identification) แซลโมเนลลา (ตาราง 30) ได้ กระนั้นก็ตาม ในปัจจุบันนี้มักจะระบุซีโรวารที่เฉพาะเจาะจง โดยอาศัยเทคนิคทาง serology เป็นสำคัญ โดยอาศัยหลักการตกตะกอน (agglutination) ของโปรตีนจากแอนติเจน (antigens) บนเซลล์ของแบคทีเรียด้วยแอนติบอดี (antibodies) ที่มีความสัมพันธ์กัน แอนติเจนบนเซลล์ของ *Salmonella* spp. สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

(ก) แอนติเจนที่ผิวเซลล์ของแซลโมเนลลา เรียกว่า Somatic antigen หรือ O antigen มีสารประกอบชนิด lipopolysaccharide (LPS) อยู่ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ O antigen เป็นโปรตีนที่ทนความร้อน (heat stable)

(ข) แอนติเจนที่เส้นหรือหนวดของแซลโมเนลลา เรียกว่า Flagella antigen หรือ H antigen ประกอบด้วยโปรตีนที่ไม่ทนความร้อน (heat labile)

(ค) แอนติเจนที่เปลือกหุ้มเซลล์หรือแคปซูล เรียกว่า capsular antigen หรือ Vi antigen ซึ่งมีอยู่ในแซลโมเนลลาบาง serovar เท่านั้น ได้แก่ *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi C* และ *Salmonella Dublin* ทำให้แซลโมเนลลาเหล่านี้ก่อโรคที่รุนแรงได้

ตาราง 30 ลักษณะทางชีวเคมีที่เป็นแบบฉบับของแซลโมเนลลา

การทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ
Lactose and Sucrose	Negative
Oxidase	Negative
Catalase	Negative
Lactose and Sucrose	Negative
Citrate as sole carbon source	Grow
Hydrogen sulfide generation	Positive
Decarboxylate lysine and ornithine	Positive

ที่มา : Andrew, W.H., Bruce, V.R., June, G.A., Sherrod, P., Hammack, T.S. and Amaguana, R.M. (1995)

นอกจากวิธีจัดแบ่งโดยอาศัยลักษณะของแซลโมเนลลาแล้ว นักวิทยาศาสตร์ยังจัดแบ่งแซลโมเนลลา ตามหลักระบาดวิทยา (Epidemiology) และการเกิดโรค เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรค enteric fever เป็นกลุ่มที่ก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้น ประกอบด้วย *Salmonella Typhi* ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ (Typhoid fever) *Salmonella Paratyphi A* และ *Salmonella Paratyphi C* ทำให้เกิดโรคไข้รากสาดน้อย (Paratyphoid fever) อาการของโรคไทฟอยด์จะรุนแรงและยาวนานกว่าอาการของโรคไข้รากสาดน้อย บางครั้งสามารถแยก *Salmonella Typhi* ได้จากเลือดหรือปัสสาวะได้ด้วย

2. กลุ่มที่มีได้จำเพาะต่อชนิดของโฮสต์ หรือ Unadapted serovars เป็นกลุ่มของ *Salmonella spp.* ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารอักเสบ หรือ intestinal salmonellosis หรือ gastroenteritis-causing *Salmonella spp.* ซึ่งเป็น *Salmonella spp.* ที่อยู่นอกเหนือจาก 2 กลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากความสามารถในการมีชีวิต

อยู่ในสถานะที่ไม่เหมาะสมได้ เป็นผลให้ *Salmonella* spp. กลุ่มนี้สามารถแพร่กระจายไปในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อุปกรณ์ เครื่องมือ หรือแม้กระทั่งคนหรือตัวสัตว์ได้ จึงพบว่า *Salmonella* spp. สามารถแพร่กระจายในห่วงโซ่อาหารได้อย่างกว้างขวาง ก่อให้เกิดปัญหาใหญ่ในการควบคุมอุบัติการณ์ของโรคที่เกิดจาก *Salmonella* spp. ในอาหาร

3. กลุ่มที่ปรับตัวเข้ากับชนิดของโฮสต์(Host) หรือ Host-adapted serovars เป็นกลุ่มของ *Salmonella* spp. ที่โดยปกติแล้วจะพบจำเพาะในสัตว์แต่ละชนิด เช่น *Salmonella* Abortus-ovine พบในแกะ *Salmonella* Pullorum และ *Salmonella* Gallinarum พบในไก่ *S. Dublin* พบในวัว *Salmonella* Abortus-equi พบในม้า *Salmonella* Choleraesuis พบในสุกร

การเรียกชื่อ

(nomenclature)

การเรียกชื่อ (nomenclature) ของสมาชิกใน genus *Salmonella* ค่อนข้างจะซับซ้อน ความเชื่อดั้งเดิมมีว่า intestinal salmonellosis เกิดจาก species ต่าง ๆ ของ *Salmonella* แต่ในปัจจุบันเชื่อว่า intestinal salmonellosis เกิดจาก *Salmonella* ซึ่งมีความใกล้เคียงกันมาก จึงรวมมาอยู่ใน species และ subspecies เดียวกัน คือ *Salmonella enterica* subsp. *enterica* อย่างไรก็ตาม เนื่องจากประวัติการเรียกชื่อที่ผ่านมา เช่น *Salmonella typhimurium* หรือ *Salmonella enteritidis* ที่ ก่อให้เกิดการระบาดของ salmonellosis บ่อยครั้ง เป็นที่คุ้นเคยมากกว่า ดังนั้น ปัจจุบันจึงนิยมใช้ระบบการเรียกชื่อโดยกำหนดให้ใช้ species เดิมต่อท้าย serovar เช่น *Salmonella typhimurium* เปลี่ยนเป็น *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar. *typhimurium* หรือย่อเป็น *Salmonella* Typhimurium โดยชื่อ *Salmonella* เท่านั้นที่จะเป็นตัวเอน (italic) สำหรับ *Salmonella enteritidis* เปลี่ยนเป็น *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar. *enteritidis* หรือย่อเป็น *Salmonella* Enteritidis ความจำเป็นที่จะต้องแยก serotype ของ *Salmonella* ก็เพื่อประโยชน์ในการวิเคราะห์ทางระบาดวิทยา (epidemiology) ในการระบุถึงต้นตอหรือสาเหตุการระบาดของโรคในแต่ละครั้ง

ระบาดวิทยา

(epidemiology)

แซลโมเนลลาสามารถพบได้ทั่วโลก (worldwide) โดยแซลโมเนลลาที่พบมากที่สุด คือ *Salmonella* Enteritidis ตามมาด้วย *Salmonella* Typhimurium การเปลี่ยนแปลงของความถี่ของแต่ละซีโรวารสามารถเกิดขึ้นได้ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ เช่น ภายในเวลาไม่เกิน 1-2 ปี ส่วนมากแล้วในภูมิภาคหนึ่งจะมีจำนวน serovar

ไม่มากนักที่แพร่ระบาดอยู่ เช่น ในเขตภูมิภาคเอเชียโดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศไทย พบอุบัติการณ์ของ *Salmonella* Weltevreden เป็นอันดับต้น ๆ อุบัติการณ์ของการติด *Salmonella* spp. ตามที่มีรายงานไว้เมื่อปี พ.ศ. 2540 พบว่า *Salmonella* spp. ยังคงเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว (ตาราง 31)

ตาราง 31 จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับ *Salmonella* spp. ต่อประชากรแสนคนในบางประเทศ เมื่อปี พ.ศ. 2540

ประเทศ	จำนวนผู้ป่วย
เยอรมัน	120
ญี่ปุ่น	73
ออสเตรเลีย	38
เนเธอร์แลนด์	16
สหรัฐอเมริกา	14

ที่มา : Thorns, C. J. 2000. Bacterial food-borne zoonoses. Rev Sci Tech 19:226-39

สำหรับในประเทศสหรัฐอเมริกาเองก็ได้มีการรายงานจำนวนผู้ที่ได้รับ *Salmonella* spp. ระหว่างปี 2536-2540 มีจำนวน 32,610 ราย หรือ คิดเป็นร้อยละ 37.9 ของจำนวนผู้ที่ได้รับแบคทีเรียที่ติดต่อทางอาหาร ในจำนวนนี้มีผู้ที่เสียชีวิต 13 ราย หรือ คิดเป็นร้อยละ 44.8 ของจำนวนผู้ที่เสียชีวิตจากการได้รับแบคทีเรียที่ติดต่อทางอาหาร นับว่า *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียสาเหตุอันดับหนึ่งที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยและเสียชีวิตจากการบริโภคอาหาร

ในประเทศไทย พบว่า *Salmonella* spp. เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ การควบคุมอุบัติการณ์ของ *Salmonella* spp. ในคนวิธีหนึ่งก็คือ การลดการแพร่กระจายแซลโมเนลลาจากอาหารที่ได้จากสัตว์ (foods from animal origins) มีการรายงานพบ *Salmonella* spp. ในเด็กที่มีอาการท้องเสียสูงถึงร้อยละ 13 เกือบเท่ากับผู้ใหญ่ซึ่งมีอุบัติการณ์ประมาณร้อยละ 15 เนื่องจาก *Salmonella* spp. ที่ก่อให้เกิดอาการอักเสบของทางเดินอาหาร (gastroenteritis) หรืออาการท้องเสีย (diarrhoea) นั้น สามารถจะพบได้ในสัตว์หรือในสิ่งแวดล้อมที่เลี้ยงสัตว์ มีรายงานพบ *Salmonella* spp. สูงถึงร้อยละ 10 จากไก่ที่ออกจากฟาร์มเพื่อส่งไปที่โรงเชือด และพบว่า *Salmonella* spp. จะพบได้มากในสิ่งแวดล้อมที่ระดับฟาร์มในระดับร้อยละ 28, 36, และ 42 ในอาหาร น้ำ ที่เลี้ยงไก่และในสิ่งรองรับอุจจาระ (litter) ตามลำดับ จากนั้นอุบัติการณ์การพบ *Salmonella* spp. จากตัวอย่างเนื้อไก่อยิ่งเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึงระดับค้ำปลีก โดยพบอุบัติการณ์สูงถึงร้อยละ 80 และ 64 จากตัวอย่าง

ไก่ที่จำหน่ายในตลาดสดและตลาดสดในห้างสรรพสินค้าตามลำดับ ส่วน serovar ที่พบมากที่สุด คือ *Salmonella* Enteritidis นอกจากเนื้อไก่แล้ว ไช้ไก่ก็ยังเป็นแหล่งของ *Salmonella* spp. ด้วย ดัชนีอุบัติการณ์ของการพบ *Salmonella* spp. ในไข่ไก่ที่เก็บตัวอย่างถึง 830 ตัวอย่าง พบร้อยละ 13.2 ที่เปลือกไข่ และ 3.9 ในเนื้อไข่ ซึ่งลักษณะการเพิ่มของอุบัติการณ์จะคล้ายกับกรณีเนื้อไก่ คือ อุบัติการณ์ของ *Salmonella* spp. ใน ไข่ไก่เก็บที่โรงเรือนจะต่ำเพียงร้อยละ 3.5 ที่เปลือกไข่ และ ร้อยละ 1.2 ในเนื้อไข่ แต่จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อไข่ผ่านไปสู่มือผู้บริโภคจากการซื้อไข่ไก่แบบปลีก

แหล่งที่อยู่อาศัยลำดับแรกของแซลโมเนลลา คือ ลำไส้ของสัตว์ เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงคาน สัตว์เลี้ยงมนุษย์ รวมทั้งแมลง แต่บางทีอาจพบแซลโมเนลลาอยู่ตามร่างกายของมนุษย์และสัตว์ก็เป็นได้ แซลโมเนลลาจากลำไส้ออกมาทางอุจจาระ จากนั้นจะอาศัยสัตว์ แมลง และน้ำแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ ปุ๋ย ชาก สัตว์ที่เนาเปื้อย เข้าสู่วงจรของห่วงโซ่อาหาร สู่ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ วนเวียนเป็นวัฏจักร แซลโมเนลลาสามารถแพร่กระจายไปทั่วโลกด้วยการขนส่งสัตว์และอาหารระหว่างประเทศ

แม้ว่าแซลโมเนลลาจะพบในสัตว์แทบทุกชนิด แต่บริเวณที่พบแซลโมเนลลานั้นอาจจะมีมากหรือน้อยต่างกัน เช่น บางครั้งอาจพบแซลโมเนลลาในต่อมน้ำเหลืองมากกว่าในอุจจาระก็เป็นได้ จากการศึกษาซากสุกรในโรงฆ่า พบแซลโมเนลลาในม้าม ตับ ถุงน้ำดี ต่อมน้ำเหลือง และในกระบังลม พอ ๆ กับที่พบในอุจจาระ การแพร่แซลโมเนลลาจากสัตว์ที่มีแซลโมเนลลาไปยังสัตว์ที่ปลอดแซลโมเนลลามักเกิดขึ้นบ่อย ๆ เพราะมนุษย์และสัตว์อาจเป็นพาหะ (carriers) คือ มีแซลโมเนลลาอยู่ในร่างกายหรือในอุจจาระแต่ไม่แสดงอาการของโรคออกมา อรุณ บ่าง ตระกูลนนท์และคณะได้สำรวจผู้เป็นพาหะ โดยทำการตรวจแซลโมเนลลาและวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ในอุจจาระของพนักงานในโรงงานผลิตอาหารแช่แข็งรวมเป็นจำนวน 9,465 ตัวอย่าง เมื่อปี 2544 พบผู้เป็นพาหะ (carrier) ของแซลโมเนลลาเฉลี่ยร้อยละ 8.88 โรงงานที่มีพนักงานเป็นพาหะสูงสุด คือ ร้อยละ 15.38 และต่ำสุดร้อยละ 3.78 นอกจากนี้ได้มีการตรวจติดตามผู้เป็นพาหะทุกเดือนหรือทุกสองเดือนในโรงงานผลิตอาหารแช่แข็ง 3 แห่ง จำนวน 16,624 ตัวอย่างในปี 2544 ปรากฏว่าอัตราของผู้เป็นพาหะแซลโมเนลลาสูงสุดในฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-พฤษภาคม) และต่ำสุดในฤดูฝน (สิงหาคม-กันยายน)

อาการ

(clinical symptoms)

1. Intestinal salmonellosis

ปริมาณแซลโมเนลลาที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) ค่อนข้างต่ำ คือ ประมาณ 15-20 เซลล์ (ซึ่งถือว่าน้อยมาก) หรือ 10^5 - 10^7 เซลล์ ขึ้นอยู่กับ host และ serotype ของ *Salmonella* ระยะฟักตัวของโรค 6-72 ชั่วโมง (มักอยู่ในช่วง 18-36 ชั่วโมง) ระยะป่วย 2-3 วัน หรือนานถึงหนึ่งสัปดาห์ อาการของ Salmonellosis เป็นอาการแบบฉบับของ gastroenteritis เช่น อาการท้องเสียไม่มีเลือดปน ปวดท้อง ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน หนาวสั่นและมีไข้ (24) ซึ่งอาการเหล่านี้จะคล้ายคลึงกับโรคที่เกิดจาก ETEC แต่ intestinal salmonellosis มักจะมีอาการ gastroenteritis ที่รุนแรงกว่า gastroenteritis จาก ETEC เนื่องจาก แซลโมเนลลามีลักษณะการรุกเข้าเซลล์ ทำให้ *Salmonella* Dublin และ *Salmonella* Choleraesuis มีแนวโน้มที่จะผ่านเข้าสู่กระแสเลือดในร่างกายได้ (systemic infection) ไปยังอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายของคนหรือสัตว์ที่ด้อยภูมิคุ้มกัน (immunocompromised host) เช่น สมอง กระดูก ทางเดินหายใจและทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด (implicated food) เนื้อไก่ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ นำนม (ดิบ) และผลิตภัณฑ์ ไข่ และผลิตภัณฑ์ อาหารอื่น ๆ ที่เคยพบ มีการปนเปื้อนด้วยแซลโมเนลลา เช่น พืชประเภทถั่วงอก (sprout) ซีเรียล (cereal) ธัญพืช (cereal)

2. Enteric fever (typhoid และ paratyphoid fever)

ปริมาณแซลโมเนลลาที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) ประมาณ 500 เซลล์ ระยะฟักตัวของโรค 1-4 สัปดาห์ แต่ส่วนมากแล้วใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ ที่ต้องใช้เวลาชานก่อนจะก่อโรค เนื่องจากจุลินทรีย์ ใช้เวลานานกว่าจะไปเพิ่มจำนวนที่ตับได้ ระยะป่วยค่อนข้างนานหลายสัปดาห์ อาการของ enteric fever ไม่มีอาการแสดงออกหรือไม่ชัดเจน แต่ที่สังเกตได้ คือ มีไข้สูงและนานต่อเนื่อง ถ่ายเหลวอาจจะมีเลือดปนมาก็ได้ บางรายกลับท้องผูก ปวดท้อง ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร เป็นต้น *S.Typhi* มีความสามารถบุกรุกผ่านเนื้อเยื่อลำไส้ไปทำอันตรายตับ อัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 10-30 ถ้าไม่มีการใช้ยาต้านจุลชีพ ปัญหาสำคัญของจุลินทรีย์นี้ไม่เพียงแต่ความเจ็บป่วย การขาดงานเท่านั้น แต่คนที่เคยป่วยด้วยโรคนี้อาจจะเป็นพาหะของจุลินทรีย์ ในระยะยาว (long-term carrier)

โรคหรืออาการเรื้อรังที่ตามมาซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จาก *Salmonella* spp. คือ อาการปวดข้อ (aseptic reactive arthritis, Reiter's syndrome, ankylosing spondylitis) ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับความสามารถของ

Salmonella spp. ในการรุกเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (host cells) ทำให้อาจจะติดเชื้อทั้งระบบ (systemic) หรือทั่วร่างกาย (generalized) หรือในกระดุกของคนหรือสัตว์ที่ด้อยภูมิคุ้มกัน

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด (implicated food) อาหารเกือบทุกชนิดที่ปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์นี้ ที่พบบ่อย เช่น หอย นํ้านมดิบ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ เนยแข็ง ผักประเภทกระเฉด (watercress) และนํ้า

ประชากรกลุ่มเสี่ยง

(susceptible population)

ข้อมูลที่มีอยู่ในประเทศไทยและรายงานอย่างเป็นระบบ โดยมากจะได้จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งรายงานโดยศูนย์แชลโมเนลลาและชิเจลลา หรือ National *Salmonella* and *Shigella* Center (NSSC) เป็นประจำทุกปี จากรายงานเมื่อปี 2545 พบว่า มีอยู่ 2 กลุ่มอายุที่พบอุบัติการณ์ของ แชลโมเนลลาเป็นส่วนมาก คือ กลุ่มเด็กอายุไม่เกิน 5 ปี โดยพบในตัวอย่าง rectal swab และ ตัวอย่างอุจจาระ กลุ่มผู้ใหญ่อายุประมาณ 35 ปี พบในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ นอกจากนี้ serovar ของแชลโมเนลลาที่พบมากในคนไทยจากตัวอย่างดังกล่าวข้างต้น คือ *Salmonella* Enteritidis ร้อยละ 12.31 ตามมาด้วย *Salmonella* Weltevreden ร้อยละ 7.79 และ *Salmonella* Typhimurium ร้อยละ 3.17 จะเห็นได้ว่า โดยมากแล้วคนไทยจะป่วยจากกลุ่มแชลโมเนลลาที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารอักเสบ ส่วนแชลโมเนลลาซีโรวารอื่นที่พบในความถี่สูงเช่นกัน ได้แก่ *Salmonella* Anatum และ *Salmonella* Stanley เป็นต้น

หลักการควบคุมและป้องกัน

(control and prevention)

1. Intestinal salmonellosis

แชลโมเนลลามีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์และคน ดังนั้น การจะควบคุมหรือลดอุบัติการณ์ของโรคอาหารเป็นพิษจากแชลโมเนลลาจำเป็นต้องทำอย่างเป็นระบบและครบวงจร แหล่งของ *Salmonella* ที่เป็นแบบฉบับ (typical) คือ เนื้อสัตว์ทุกชนิด นํ้านมดิบ และไข่ดิบ อย่างไรก็ตาม อาหารเกือบทุกชนิดสามารถมี *Salmonella* ได้ หากมีการปนเปื้อนด้วยอุจจาระของผู้ป่วยที่ป่วยด้วย Intestinal salmonellosis หรืออาหารที่มีการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) ของ *Salmonella* ดังนั้น การปรุงอาหารให้สุกอย่างทั่วถึงและเพียงพอเป็นกลยุทธ์ควบคุมหลัก สำหรับการบริโภคตามครัวเรือน ควรปรุงอาหารให้ได้อุณหภูมิประมาณ 74°C หรือ 165°F สำหรับผู้ประกอบการร้านอาหารควรปรุงอาหารให้ได้ อุณหภูมิประมาณ 69°C หรือ 155°F โดยหลักการทางวิทยาศาสตร์แล้วอุณหภูมิประมาณ 63.4°C หรือ 145°F ก็

สามารถทำลาย *Salmonella* ได้แล้ว แต่เพื่อเป็นการประกันความปลอดภัยให้มากขึ้นในกรณีเนื้อส่วนที่หนาที่สุด หรือเย็นที่สุดให้ได้รับความร้อนเพียงพอตามระดับที่กำหนด นอกจากนี้ยังควรระวังการปนเปื้อนข้ามจากอาหารดิบ ไปสู่อาหารสุกด้วย

2. Enteric (typhoid) fever

Salmonella Typhi และ *Salmonella Paratyphi* ก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้น การแพร่กระจาย จุลินทรีย์จึงเกี่ยวข้องกับการสุขาภิบาลที่ไม่ดี (poor sanitation) ดังนั้น การจัดการสุขาภิบาลที่ดีจะช่วยกำจัดหรือ ลดแหล่งเก็บจุลินทรีย์ การระบาดส่วนมากเกิดจากผู้ที่เป็นพาหะ (long-term carrier)

2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)

2.1 คัดเลือก dose-response model

การอธิบายอันตรายเป็นขั้นตอนหนึ่งของการประเมินความเสี่ยง ซึ่งชื่อเดิมของการอธิบายอันตราย คือ การประเมินการตอบสนองต่อปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค หรือ Dose response assessment ปัจจุบันนี้ได้มีการปรับเปลี่ยนให้เป็นชื่อเดียวกันกับที่ใช้โดยองค์การระหว่างประเทศ เช่น WHO, FAO, และ Codex Alimentarius Commission (CAC) เป็นต้น

การตอบสนองของประชากรมนุษย์เมื่อได้รับจุลินทรีย์เข้าในร่างกายนั้น เป็นกระบวนการที่ซับซ้อน อย่ง ยิ่ง เนื่องจากประกอบด้วยปัจจัยมากมายที่เข้ามาเกี่ยวข้อง แต่อาจจะสามารถแจกแจงได้เป็น 3 องค์ประกอบหลัก ที่สำคัญ คือ

1. องค์ประกอบทางจุลชีววิทยา (Microbiological factor)
2. องค์ประกอบทางร่างกาย (Host factor)
3. องค์ประกอบทางอาหารบริโภคร (Food matrix factor)

ในการศึกษาถึงผลการตอบสนอง (Response) ต่อจุลินทรีย์ก่อโรค จำเป็นต้องพิจารณาร่วมกันทั้ง 3 องค์ประกอบไปพร้อม ๆ กัน ต่อจากนั้นเพื่อที่จะพัฒนาให้เป็นการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (Quantitative microbial risk assessment : QMRA) จำเป็นจะต้องมีการประเมินออกมาเป็นตัวเลขที่ชัดเจน จึงได้มีการนำเอา ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค (Dose) ที่ก่อเกิดความเจ็บป่วย (Response) ในระดับต่าง ๆ มาหาความสัมพันธ์กัน ในจำนวนที่มากพอ ก็สามารถจะเชื่อมต่อเป็นเส้นโค้ง (Curve) และสร้างเป็นแบบจำลองการตอบสนองต่อเชื้อ (Dose response model) ขึ้นจากข้อมูลที่ได้จากการระบาดเท่าที่มีทั้งหมด

องค์ประกอบทางร่างกาย (Host factor)

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการสรุปปัจจัยเด่นหลากหลายข้อ อันเป็นสิ่งชี้วัดการตอบสนองต่อการติดเชื้อ อย่างไรก็ตาม โดยธรรมชาติของการศึกษาเหล่านี้ มีอาจจะพิจารณาครอบคลุมทุกปัจจัยได้ครบถ้วนและอาจจะทำให้เกิดอคติ (bias) ในการสรุปปัจจัยสำคัญต่าง ๆ

ในที่นี้ จะขอรวบรวมเอาปัจจัยเท่าที่ได้มีการกล่าวถึงในวารสารวิทยาศาสตร์ ซึ่งจะครอบคลุมทั้งที่สำคัญและที่เชื่อว่ามีมีความเกี่ยวข้องเข้าไว้ด้วยกันเป็นกลุ่ม ๆ โดยที่คณะผู้วิจัยจะขอแจกแจงรายละเอียดเฉพาะหัวข้อที่สำคัญที่มีผลโดยตรงต่อการประเมินความเสี่ยงในการศึกษาครั้งนี้ ปัจจัยที่สำคัญของร่างกายในการทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลันจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค มี 3 กลุ่มใหญ่ ประกอบด้วย

1. ประชากรและเศรษฐกิจสังคม (Demographic and socioeconomic factors) ได้แก่ อายุ เพศ ชนชาติ เชื้อชาติ ภาวะโภชนาการ สังคม เศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม การเดินทางภายในและระหว่างประเทศ กลุ่มอายุที่มีอุบัติการณ์การติดเชื้อโดยทั่วไปมี 2 กลุ่ม คือ เด็กและคนชรา

2. พันธุกรรม (Genetic factors) ยีนที่มีความสัมพันธ์และเกี่ยวข้องกับโรค

3. สุขภาพ (Health factors) ประกอบด้วย สภาวะภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อร่วม โรคหรือความเจ็บป่วยที่เป็นอยู่ ยาที่ใช้อยู่ การตั้งท้อง เป็นต้น

นอกจาก 3 ปัจจัยที่กล่าวมาแล้วนั้น ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นตัวจักรสำคัญในการกำหนดการตอบสนองของร่างกายต่อจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งผลลัพธ์ของการตอบสนองอาจจะเป็นเพียงมีการติดเชื้อ (infection) หรือ รุนแรงขึ้นจนแสดงอาการหรือความเจ็บป่วย (clinical illness)

องค์ประกอบทางจุลินทรีย์ก่อโรค (Microorganism factor)

ผลกระทบต่อสุขภาพพื้นฐานของการได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ คือ อาการของอาหารเป็นพิษ เรียกว่า gastroenteritis ซึ่งลักษณะบางอย่างในเชิงโครงสร้าง (Structure) และรหัสพันธุกรรม (DNA) ที่ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคสามารถก่อโรคได้ อาจจะเรียกว่าเป็น องค์ประกอบก่อโรครุนแรง (Virulence factors) เช่น ความสามารถในการเกาะกับผนังเยื่อบุลำไส้ (Adherence) ความสามารถในการรุกรานผนังเยื่อบุลำไส้ (Invasion) สารพิษที่ผนังเซลล์เซลล์โมเนลลาส่วน lipopolysaccharide (LPS) หรือ Exotoxin ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคสามารถดำรงชีวิตได้ในสิ่งแวดล้อมและรอดชีวิตผ่าน (survive) ระบบภูมิคุ้มกันทางกายภาพและทางเคมีในตัวของประชากรได้ด้วย

โดยปกติแล้วร่างกายของประชากรกลุ่มเสี่ยง (Susceptible population) จะมีระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) โครงสร้างทางกายวิภาค (anatomical) และสรีระ (physiological) หลายอย่าง ที่ป้องกันการรุกรานของจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่าง ๆ

เมื่อจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าสู่ร่างกายต้องพบการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างเช่น อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสาร (osmolarity) ระดับออกซิเจน (oxidation reduction potential) ระดับธาตุเหล็ก ความเป็นกรดต่าง (pH) สารอาหารอินทรีย์และอนินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้ จุลินทรีย์ก่อโรคเมื่ออยู่ในทางเดินอาหารต้องพบกับการบีบตัวของทางเดินอาหาร (peristalsis) การโบกพัดของเส้นใยที่ผิวของเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial surface) ภายในทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เป็นต้น

จุลินทรีย์ก่อโรคมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับร่างกายได้อย่างดี โดยอาศัยการวิวัฒนาการ (evolution) และการคัดเลือกจากธรรมชาติ (natural selection) สร้างลักษณะปรับตัว (adaptive characteristics) เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตและเพิ่มจำนวนได้ในร่างกาย แรกเริ่มเมื่อจุลินทรีย์ก่อโรคผ่านเข้าสู่ทางเดินอาหาร ต้องทนกับระดับความเป็นกรดที่ค่อนข้างรุนแรงในกระเพาะ เมื่อผ่านสู่ลำไส้ที่มีการบีบตัวและระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้ คือ Payer's patches ต้องจะสามารถเกาะกับเยื่อบุผนังลำไส้ ลักษณะโดยรวมที่สามารถทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคยึดติด (adhesion) และผ่านเข้าสู่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เพื่อเพิ่มจำนวน (colonization) รวมเรียกว่า bacterial virulence factors เช่น specific fimbria, chromosome-coded bacterial surface adhesins, haemagglutinin เป็นต้น

จุลินทรีย์ก่อโรคยังมีลักษณะอื่นที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพ (pathology) ในร่างกายได้ คือ สารพิษภายใน (endotoxin) หรือ Lipopolysaccharide (LPS) และสารพิษภายนอก (exotoxin) เช่น cytotoxin และ enterotoxin ทำให้ร่างกายสูญเสียอาหารและทำลายได้ ไฮเดอโรฟอรัส (siderophores) ที่จุลินทรีย์ก่อโรคใช้ดึงธาตุเหล็กจากร่างกายเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโต พันธุกรรมก่อโรค (virulence plasmid) ช่วยให้จุลินทรีย์ก่อโรครุกเข้าสู่ระบบภายในร่างกายและเพิ่มจำนวนตัวเองในร่างกายของร่างกาย

องค์ประกอบสี่บริโภคน

(Food matrix factor)

ปัจจัยเรื่องอาหารเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับร่างกายและจุลินทรีย์ก่อโรค จุลินทรีย์ก่อโรคจะต้องผ่านระบบป้องกันตัวของร่างกายด่านแรก คือ ความเป็นกรดที่สูงในกระเพาะอาหาร ซึ่งอาจจะต่ำถึงระดับ pH 2 ดังนั้น ภาวะร่างกายของกลุ่มที่เสี่ยงต่อจุลินทรีย์ก่อโรคจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเป็นกรดในกระเพาะอาหารลดลง เช่น ยาลดกรดในกระเพาะอาหาร โรคมะเร็ง ภาวะเบาหวาน และอายุมากขึ้น นอกจากนี้ ปัจจัยที่ตัวอาหาร ได้แก่ ปริมาณอาหารที่บริโภค ระดับไขมัน ระบบป้องกันการเปลี่ยน pH (buffering capacity) ธรรมชาติของการมีเชื้อในอาหารมีอื่น ๆ

ปริมาณอาหารที่บริโภคอาจจะเป็นเพียงตัวกำหนดโอกาสการได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคแบบหายาก ๆ เท่านั้น เนื่องจากจุลินทรีย์ก่อโรคมิได้กระจายเท่ากันตลอดทั่วอาหาร (non-homogeneous) ดังนั้น อาจจะต้องข้อสังเกตได้ว่าปริมาณอาหารที่บริโภคจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับโอกาสการติดเชื้อ นอกจากนี้ แบคทีเรียมีแนวโน้มว่าจะรวมกลุ่มกันเป็นก้อน (bacterial agglomeration) ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคชั้นในได้รับการปกป้องจากกรด ในกระเพาะอาหารได้ สิ่งแวดล้อมขนาดเล็ก (microenvironment) ที่จุลินทรีย์ก่อโรคเกาะอยู่กับอาหารเป็นตัวกำหนดความอยู่รอดของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมัน บริเวณที่เป็นไขมันจะเอื้อต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ก่อโรคผ่านความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดีกว่า อย่างไรก็ตาม บางการศึกษาได้ข้อสรุปที่ค้านกับผลการศึกษาค้างนี้ เช่น ในอาหารนมและไข่ขาว เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ช่วยลดโอกาสการได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคในทางกลับกันแอลกอฮอล์อาจจะช่วยกระตุ้นการหลังกรดในกระเพาะได้ด้วย

พยาธิกำเนิด

(pathogenesis)

เมื่อพิจารณาลักษณะของจุลินทรีย์ก่อโรคกับมนุษย์โดยลำพังอาจจะไม่สามารถเข้าใจถึงการตอบสนองของมนุษย์ต่อการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค จนกว่าจะได้พิจารณาความสัมพันธ์เมื่อทั้ง 2 ปัจจัยเข้ามามีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กันโดยตรง ซึ่งผลการตอบสนองของมนุษย์ต่อการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคอาจจะพิจารณาได้เป็นลำดับขั้นตอนในกระบวนการก่อให้เกิดโรคนั้นเอง โดยมีลำดับขั้นตอน (แผนภูมิที่ 1) ดังนี้

1. การสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค (exposure) เป็นเงื่อนไขแรกสุดที่จะต้องเกิดขึ้นก่อนจะมีการตอบสนองของร่างกายต่อจุลินทรีย์ก่อโรคในรูปแบบใดรูปแบบหนึ่ง หากไม่มีจุลินทรีย์ก่อโรคในร่างกาย ก็ไม่เกิดมีปฏิสัมพันธ์ของร่างกายกับจุลินทรีย์ก่อโรคได้

2. การติดเชื้อ (infection) เป็นขั้นตอนต่อมาของกระบวนการก่อโรคของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยจุลินทรีย์ก่อโรคสามารถเพิ่มจำนวนในร่างกายได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสามารถรับมือกับจุลินทรีย์ก่อโรคที่กำลังเพิ่มจำนวนอยู่ จึงสามารถตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันในร่างกายได้ ในขั้นตอนนี้จุลินทรีย์ก่อโรคยังไม่ก่อให้เกิดอาการหรือความเจ็บป่วยใด ๆ เนื่องจากเนื้อเยื่อของร่างกายยังไม่มี ความเสียหายมาก เป็นขั้นตอนที่ร่างกายมีการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นแล้ว

3. การเกิดอาการเจ็บป่วย (illness) หลังจากที่จุลินทรีย์ก่อโรคสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ในร่างกายแล้ว ก็จะอาศัยอาหาร ซึ่งก็คือเนื้อเยื่อของร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในลำไส้เพื่อเพิ่มจำนวนตัวเอง เมื่อร่างกายไม่สามารถที่จะกำจัดหรือแม้จะจำกัดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคที่เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมากได้ อาการเจ็บป่วยก็จะปรากฏขึ้น เนื่องจาก เนื้อเยื่อของร่างกายเกิดการเสียหายจากการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ ก่อโรคในทางเดินอาหารนั่นเอง

4. การฟื้นตัว หรือ การป่วยเรื้อรังอื่น ๆ หรือ การเสียชีวิต (recovery, sequelae, death)

บางกรณีเมื่อร่างกายสามารถจำกัดและ/หรือกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคได้ในระหว่างขั้นตอนการติดเชื้อก่อโรค ร่างกายก็ไม่จำเป็นต้องเกิดอาการเจ็บป่วยก็ได้

แต่เมื่อเกิดอาการเจ็บป่วยแล้ว ผลที่ตามมาอาจจะเป็นไปได้หลายอย่าง ทั้งนี้ทั้งนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง เช่น เมื่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายปรับตัวได้ทันก็จะสามารถลดหรือกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคได้และถ้าร่างกายสามารถซ่อมแซมเนื้อเยื่อส่วนที่เสียหายได้ทัน ผลก็คือร่างกายสามารถฟื้นตัวได้เป็นปกติ ในขณะที่เดียวกันถ้าร่างกายไม่สามารถปรับได้ทันกับความเสียหายรุนแรงที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรค ผลก็คือ ร่างกายจะเกิดความเจ็บป่วยเรื้อรังอื่น ๆ ตามมา หรือ ขั้นที่รุนแรงมากขึ้น คือ เสียชีวิตได้

แนวคิดเกี่ยวกับเรื่องการสร้างแบบจำลอง

(Modeling concepts)

หัวใจสำคัญของการเริ่มสร้างแบบจำลองเพื่อนำไปสู่การคัดเลือกแบบจำลอง คือ แนวความคิดหลัก 2 ประการ ดังนี้

1. กลไกก่อโรคแบบมีระดับพื้นฐาน (Threshold and non-threshold mechanism)

ในอดีตที่ผ่านมามีความเชื่อเป็นพื้นฐานกันว่า การตอบสนองต่อจุลินทรีย์ก่อโรคจะเป็นแบบมีระดับพื้นฐาน (Threshold) หมายความว่า จะต้องได้รับเซลล์ของจุลินทรีย์เข้าไปในระดับหนึ่ง ก่อนที่ร่างกายจะตอบสนองโดยการเกิดการเจ็บป่วยขึ้น ซึ่งถ้าหากได้รับเซลล์ในจำนวนที่ต่ำกว่าระดับข้างต้นก็จะไม่เกิดความเจ็บป่วยขึ้น

ในทางตรงกันข้าม ก็จะมีทฤษฎีที่กล่าวว่า การตอบสนองต่อจุลินทรีย์เป็นแบบไม่มีระดับพื้นฐาน (non-threshold) ซึ่งมาจากแนวคิดที่ว่า จุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้จากเพียงแค่ 1 เซลล์ จนมีจำนวนมากพอที่จะก่อให้เกิดโรคหรือความเจ็บป่วยในคนได้ หรือ เรียกว่า แนวคิดการชนเดี่ยว หรือ Single-hit concept

จากการศึกษาด้วยการทดลอง ข้อมูลที่ได้มักจะชี้ไปในทางแบบมีระดับพื้นฐาน (Observational threshold) เนื่องจาก ไม่สามารถสังเกตพบความเจ็บป่วยเมื่อปริมาณเชื้อมีน้อย ดังนั้น จึงไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน ในทางปฏิบัติ มีการแนะนำให้เริ่มต้นด้วยแบบจำลองที่มีระดับพื้นฐานก่อน แล้วปรับช่วงระยะที่เชื่อน้อย ๆ ให้สามารถแสดงลักษณะที่มีระดับพื้นฐาน เรียกว่า แบบจำลองการตอบสนองต่อเชื้อคล้ายกับมีระดับพื้นฐาน หรือ threshold-like dose-response model

2. กลไกก่อโรคแบบอิสระและแบบเสริมฤทธิ์ (Independent and Synergistic action)

เมื่อโอกาส (Probability) การตอบสนองต่อจุลินทรีย์กับจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ได้รับเข้าไปเป็นแบบ สัดส่วนโดยตรง (linear level) แสดงว่า การตอบสนองต่อจุลินทรีย์เป็นกลไกแบบอิสระ แต่เมื่อจำนวนเซลล์ที่ มากขึ้นไปเพิ่มโอกาสการเจ็บป่วยมากขึ้นกว่าแบบสัดส่วนโดยตรง เช่น เป็นแบบพหุคูณ (exponential level) แสดงว่า เป็นการตอบสนองต่อจุลินทรีย์แบบเสริมฤทธิ์ ผลการศึกษาจากการทดลองส่วนใหญ่จะชี้แนะว่าเป็นแบบ กลไกอิสระ

แต่เมื่อไม่นานมานี้ ข้อมูลส่วนใหญ่จะสนับสนุนกลไกแบบเสริมฤทธิ์ เนื่องจาก การค้นพบ เรื่อง quorum sensing ซึ่งเชื่อจะมีพฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนและรวมกลุ่มกันหนาแน่น ซึ่ง พฤติกรรมที่เปลี่ยนไปอาจจะทำให้โอกาสและความรุนแรงของความเจ็บป่วยเพิ่มมากขึ้นได้

2.2 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella*

(Probability of illness to mortality from susceptible *Salmonella*: P_{IM})

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* โดยคำนวณจาก dose-response model (Beta-Poisson) และ ระดับความเข้มข้น *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์ปลา (ตาราง 38) ปริมาณการ บริโภคผลิตภัณฑ์ปลา (ภาพ 23) ดังแสดงใน ตาราง 32

ตาราง 32 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง	ปลาบริโภคสุก	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}
(กรุงเทพ)	ซาซิมิ	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}
ตะวันตก	ปลาบริโภคสุก	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}
(ประจวบคีรีขันธ์)	ซาซิมิ	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}
ตะวันออก	ปลาบริโภคสุก	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}
(ชลบุรี)	ซาซิมิ	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ปลาบริโภคสุก	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}	3.4×10^{-9}
(ขอนแก่น)	ซาซิมิ	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}	1.8×10^{-6}
ใต้	ปลาบริโภคสุก	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}
(ภูเก็ต S1-2, สุราษฎร์ธานี S3)	ซาซิมิ	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}
เหนือ	ปลาบริโภคสุก	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}	8.6×10^{-10}
(เชียงใหม่)	ซาซิมิ	2.1×10^{-10}	2.1×10^{-10}	5.6×10^{-6}

เกณฑ์ประเมิน (Evaluation criteria)

ความน่าจะเป็น (probability) หรือ โอกาส (likelihood) ในรูปของค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) สามารถจำแนกตามระดับความมากน้อยตามเกณฑ์ที่แนะนำโดยหน่วยงานความปลอดภัยชีวภาพของประเทศออสเตรเลีย (Biosecurity Australia, 2006) ตาราง 33

ตาราง 33 เกณฑ์ประเมินระดับความน่าจะเป็น โอกาส หรือ ความเสี่ยง

ความน่าจะเป็น โอกาส หรือความเสี่ยง (percent)	ระดับประเมิน (Evaluation level)
> 0.7 (70%)	สูง (High)
> 0.3 - 0.7 (30%-70%)	ปานกลาง (Moderate)
> 0.05 - 0.3 (5%-30%)	ต่ำ (Low)
> 0.001 - 0.05	ต่ำมาก (Very low)
> 10^{-6} - 0.001	ต่ำอย่างมาก (Extremely low)
< 10^{-6}	ละเลยได้ (Negligible)

2.3 การแปลผล (Interpretation)

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก เท่ากับ 8.6×10^{-10} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 33 แล้วจัดอยู่ในระดับ **ละเลยได้ (Negligible)**

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* 8.6×10^{-10} หมายความว่าปัจเจกบุคคลบริโภคปลาบริโภคสุก เฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน (97.5 percentile 51.14 กรัม/วัน) ที่มี susceptible *Salmonella* เฉลี่ย 0.01135 เซลล์ (0.001 cfu/g \times 11.35 g)

- จำนวน 10^{10} วัน จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 8.6 วัน (ครั้ง) หรือ
- จำนวน 2.74×10^7 ปี จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 8.6 วัน (ครั้ง)

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ เท่ากับ 2.1×10^{-10} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 33 แล้วจัดอยู่ในระดับ **ละเลยได้ (Negligible)**

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* 2.1×10^{-10} หมายความว่า ปัจจุบันบุคคลบริโภคซาซิมิ เฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน (97.5 percentile 51.14 กรัม/วัน) ที่มี susceptible *Salmonella* เฉลี่ย 0.01135 เซลล์ (0.001 cfu/g \times 11.35 g)

- จำนวน 10^{10} วัน จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 2.1 วัน (ครั้ง) หรือ
- จำนวน 2.74×10^7 ปี จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 2.1 วัน (ครั้ง)

2.4 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก AMR *Salmonella*

(Probability of illness to mortality from AMR *Salmonella*: P_{IM})

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก AMR *Salmonella* โดยคำนวณจาก dose-response model (Beta-Poisson) และ ระดับความเข้มข้น *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์ปลา (ตาราง 38) ปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์ปลา (ภาพ 23) ดังแสดงใน ตาราง 34

ตาราง 34 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพฯ)	ปลาบริโภคสุก	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}
	ซาซิมิ	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	ปลาบริโภคสุก	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}
	ซาซิมิ	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}
ตะวันออก (ชลบุรี)	ปลาบริโภคสุก	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}
	ซาซิมิ	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	ปลาบริโภคสุก	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}	4.5×10^{-8}
	ซาซิมิ	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}	2.5×10^{-5}
ใต้ (ภูเก็ต S1-2, สุราษฎร์ธานี S3)	ปลาบริโภคสุก	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}
	ซาซิมิ	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}
เหนือ (เชียงใหม่)	ปลาบริโภคสุก	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}	1.2×10^{-8}
	ซาซิมิ	2.8×10^{-9}	2.8×10^{-9}	7.5×10^{-5}

2.5 การแปลผล (Interpretation)

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก เท่ากับ 1.2×10^{-8} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 33 แล้วจัดอยู่ในระดับ **ละเลยได้ (Negligible)**

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* 1.2×10^{-8} หมายความว่าปัจเจกบุคคลบริโภคปลาบริโภคสุก เฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน (97.5 percentile 51.14 กรัม/วัน) ที่มี susceptible *Salmonella* เฉลี่ย 0.01135 เซลล์ (0.001 cfu/g \times 11.35 g)

- จำนวน 10^8 วัน จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 1.2 วัน (ครั้ง) หรือ
- จำนวน 2.74×10^5 ปี จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 1.2 วัน (ครั้ง)

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต (Prob. of illness to mortality : P_{IM}) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ เท่ากับ 2.8×10^{-9} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 33 แล้วจัดอยู่ในระดับ **ละเลยได้ (Negligible)**

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* 2.8×10^{-9} หมายความว่าปัจเจกบุคคลบริโภคซาซิมิ เฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน (97.5 percentile 51.14 กรัม/วัน) ที่มี susceptible *Salmonella* เฉลี่ย 0.01135 เซลล์ (0.001 cfu/g \times 11.35 g)

- จำนวน 10^9 วัน จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 2.8 วัน (ครั้ง) หรือ
- จำนวน 2.74×10^6 ปี จะมีโอกาสเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* เพียง 2.8 วัน (ครั้ง)

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)

3.1 เก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลาบริโภคสุก เช่น ปลาหีบหิม และ ปลาบริโภคดิบ (ซาซิมิ) 6 ภาคทั่วประเทศ (ตาราง 35)

ตาราง 35 การแจกแจงการเก็บตัวอย่างระดับค้าปลีกเป็นรายภาค

ภาค	จังหวัด	ตลาดสด	ตลาดทันสมัย	จำนวน/ฤดู	จำนวน/ภาค
1. กลาง	กรุงเทพ	19	8	27	80
2. ตะวันตก	ประจวบคีรีขันธ์	19	8	27	80
3. ตะวันออก	ชลบุรี	19	8	27	80
4. ตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	19	8	27	80
5. ไต้	ภูเก็ต และ สุราษฎร์ธานี	19	8	27	80
6. เหนือ	เชียงใหม่	19	8	27	80
					480

3.2 พื้นที่การเก็บตัวอย่าง

1. กรุงเทพ

▣ ตลาดสด

1. ตลาดกรมภูธรเรศ
2. ตลาดสามย่าน

▣ ตลาดทันสมัย

1. Gourmet : สยามพารากอน
2. Shinkanzen : สยามสแควร์
3. Yayoi : สยามสแควร์
4. Fuji : MRT จตุจักร

2. ประจวบคีรีขันธ์

▣ ตลาดสด

1. ตลาดฉัตรไชย อ.หัวหิน

2. ตลาดสดเทศบาล 2 อ.เมือง ประจวบคีรีขันธ์

▫ ตลาดทันสมัย

1. Big C Market หัวหิน
2. Market village หัวหิน (Tesco lotus)
3. Makro หัวหิน

3. ชลบุรี

▫ ตลาดสด

1. ตลาดศรีราชา
2. ตลาดหนองมน

▫ ตลาดทันสมัย

1. Tops : ตึกคอมศรีราชา
2. Tesco Lotus : ฮาร์เบอร์ มอลล์ แหลมฉิม

4. ขอนแก่น

▫ ตลาดสด

1. ตลาดเทศบาล1
2. ตลาดสดตำบลบ้านไผ่

▫ ตลาดทันสมัย

1. Tops : Central ขอนแก่น
2. Big C : ขอนแก่น

5. ภูเก็ต

▫ ตลาดสด

1. ตลาดสดสาธารณะ 1 เทศบาลภูเก็ต
2. ตลาดสดกะทู้ (ใหม่)

▫ ตลาดทันสมัย

1. Central food hall : Central “Floresta” ภูเก็ต
2. Central food hall : Central “Festival” ภูเก็ต

6. เชียงใหม่

▫ ตลาดสด

1. ตลาดประตู เชียงใหม่
2. ตลาดแม่กวง สันทราย

▫ ตลาดทันสมัย

1. Central Festival (Central food hall)
2. Tesco Lotus คำเที่ยง

3.3 ระดับการปนเปื้อน *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์ปลาและซาซิมิ ฤดู 1-3

(Prevalence and Concentration of *Salmonella* in 3 seasons)

รายงานระดับการปนเปื้อน *Salmonella* ในปลาบริโภคสุกร เป็น 3 รูปแบบ คือ สัดส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวก (No. of positive samples) ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) และ ความเข้มข้น (Concentration)

3.4 ความชุก (Prevalence)

ความชุกของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ สามารถรายงานได้ 2 ลักษณะ คือ

1. ความชุกแน่นอน (deterministic prevalence) คำนวณความชุกโดยอนุมานว่า ความชุกมีค่าเดียวที่ดีที่สุดแน่นอนเพียงค่าเดียว (point estimate) โดยไม่ได้คำนึงถึง uncertainty และ variability ของตัวแปรสุ่ม (random variable) ไม่ใช่ในการศึกษาครั้งนี้

2. ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic prevalence) คำนวณความชุกโดยผนวกความไม่แน่นอนของตัวแปรสุ่ม (random variable) ในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยทั่วไปแล้วนิยมใช้ร้อยละของการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคต่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ เรียกว่า ความชุกแน่นอน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการประเมินความเสี่ยงมีความเกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอน ดังนั้นจึงนิยมใช้การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ในการอธิบายความไม่แน่นอนของความชุก โดยทั่วไปแล้วการอธิบายความไม่แน่นอนของความชุกจะใช้ Beta distribution $Beta(\alpha_1, \alpha_2)$ (Vose, 1998)

โดยที่ α_1 คือ $s + 1$

α_2 คือ $n - s + 1$

n คือ จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ (trial)

s คือ จำนวนตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* spp. ($s = \text{success}$)

นอกจากนี้ ค่าคาดหวัง (expected value) หรือ ค่าเฉลี่ยของ Beta distribution จะใช้สูตร

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2} \quad (3)$$

ตัวอย่างที่ 1 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 30 ตัวอย่าง ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคเลย ความชุกเฉลี่ยของจุลินทรีย์ก่อโรค

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 30 ตัวอย่าง หรือ $n = 30$

จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก 0 ตัวอย่าง หรือ $s = 0$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{0+1}{30+2}$$

Mean Prevalence = $1/32 = 0.03125$ หรือ ประมาณร้อยละ 3

ดังนั้น แม้ว่า จะตรวจไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างที่ตรวจ ($s = 0$) แต่ mean prevalence ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจาก Beta distribution ก็ให้ค่าเฉลี่ยความชุกที่ไม่เป็นศูนย์

ในทางตรงกันข้าม การคำนวณความชุกทางระบาดวิทยา จะเป็นสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด คือ $s = 0$ และ $n = 30$ ดังนั้น ความชุกที่ได้จึงเป็น ร้อยละ 0

ตัวอย่างที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 3,000 ตัวอย่าง ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคเลย ความชุกเฉลี่ยของจุลินทรีย์ก่อโรค

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 3,000 ตัวอย่าง หรือ $n = 3,000$

จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก 0 ตัวอย่าง หรือ $s = 0$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{0+1}{3,000+2}$$

Mean Prevalence = $1/3,002 = 0.000333$ หรือ ประมาณร้อยละ 0.03

ในตัวอย่างที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจมีจำนวนมากกว่าตัวอย่างที่ 1 ถึง 100 เท่า กล่าวคือ $n = 3,000$ ในขณะที่ ตรวจไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างที่ตรวจ ($s = 0$) เช่นเดียวกัน โดย mean prevalence ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจาก Beta distribution ก็ให้ค่าเฉลี่ยความชุกที่ไม่เป็นศูนย์เช่นเดียวกัน เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อจำนวน

ตัวอย่างที่ตรวจมีจำนวนมากขึ้น และ $s = 0$ เหมือนเดิม ความชุกเฉลี่ยจะมีค่าที่เข้าใกล้ศูนย์ ซึ่งเป็นความชุกที่ได้จากการคำนวณความชุกทางระบาดวิทยา

โดยที่ความชุกทางระบาดวิทยา คือ สัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด คือ $s = 0$ และในตัวอย่างที่ 2 มี $n = 3,000$ ดังนั้น ความชุกที่ได้จึงเป็น ร้อยละ 0 ไม่แตกต่างจากความชุกเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจเพียง 30 ตัวอย่าง

3.5 สรุปผลการปนเปื้อน *Salmonella* ในปลาบรีโกลคสุกและซาซิมิที่ให้ผลบวก

ผลการปนเปื้อน *Salmonella* ในปลาบรีโกลคสุกและซาซิมิที่เฉพาะที่ให้ผลบวก มีจำนวน 2 ภาค (จังหวัด) คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) และ ภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) ข้อมูลและรายละเอียดของตัวอย่างปลาบรีโกลคสุกและซาซิมิที่ปนเปื้อนด้วย *Salmonella* ดังแสดงใน ตาราง 36

ตาราง 36 ข้อมูลและรายละเอียดของตัวอย่างปลาบรีโกลคสุกและซาซิมิที่ปนเปื้อนด้วย *Salmonella* ฤดู 3

ภาค (จังหวัด)	Season	ตัวอย่าง	ชนิด	ขั้นตอน ใน ห้วงโซ่	สัดส่วน ตัวอย่างปนเปื้อน	ความเข้มข้น (cfu/g)	
						ก่อนผ่าน ความร้อน	หลังผ่าน ความร้อน*
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	3	ปลาบรีโกลคสุก ¹	ปลานิล	ค้ำปลีก	1/19	2,000	0.005
เหนือ (เชียงใหม่)	3	ซาซิมิ ²	ทูน่า	ค้ำปลีก	2/8	68	N/A
เหนือ (เชียงใหม่)	3	ซาซิมิ ³	ทูน่า	ค้ำปลีก	1/8	3,750	N/A

*อุณหภูมิใจกลาง (core temperature) 65°C นาน 1 นาที (ใช้ D_{65} ของ *Salmonella* ในเนื้อไก่ = 0.35 นาที)¹⁰

1. Disc diffusion test : ติดต่อยาต้านจุลชีพ 2 ชนิด คือ Ampicillin, Cefoxitin, Ciprofloxacin
2. Disc diffusion test : ติดต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด คือ Ampicillin, Cefoxitin, Cefotaxime, Ciprofloxacin, Gentamicin, Sulphamethoxazole, Tetracycline และ Trimethoprim
3. Disc diffusion test : ติดต่อยาต้านจุลชีพ 2 ชนิด คือ Ampicillin และ Cefoxitin

¹⁰ FAO. and World Health Organization, 2002. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens (Vol. 2). Food & Agriculture Org..

ตาราง 37 ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) ของ *Salmonella* ในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ใน 6 จังหวัด

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1			Season 2			Season 3		
		<i>s</i>	<i>n</i>	P_{PROB}	<i>s</i>	<i>n</i>	P_{PROB}	<i>s</i>	<i>n</i>	P_{PROB}
กลาง (กรุงเทพ)	ปลาบริโภคสุก	0	19	4.8%	0	19	4.8%	0	19	4.8%
	ซาซิมิ	0	8	10.0%	0	8	10.0%	0	8	10.0%
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	ปลาบริโภคสุก	0	19	4.8%	0	19	4.8%	0	19	4.8%
	ซาซิมิ	0	8	10.0%	0	8	10.0%	0	8	10.0%
ตะวันออก (ชลบุรี)	ปลาบริโภคสุก	0	19	4.8%	0	19	4.8%	0	19	4.8%
	ซาซิมิ	0	8	10.0%	0	8	10.0%	0	8	10.0%
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	ปลาบริโภคสุก	0	19	4.8%	0	19	4.8%	1	19	9.5%
	ซาซิมิ	0	8	10.0%	0	8	10.0%	2	8	30.0%
ใต้ (ภูเก็ต S1-2 สุราษฎร์ฯS3)	ปลาบริโภคสุก	0	19	4.8%	0	19	4.8%	0	19	4.8%
	ซาซิมิ	0	8	10.0%	0	8	10.0%	0	8	10.0%
เหนือ (เชียงใหม่)	ปลาบริโภคสุก	0	19	4.8%	0	19	4.8%	0	19	4.8%
	ซาซิมิ	0	8	10.0%	0	8	10.0%	1	8	4.8%

3.6 ความเข้มข้น (Concentration)

ระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ คำนวณจากค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนจากจำนวนตัวอย่างในผลิตภัณฑ์ โดยการวิเคราะห์ความเข้มข้นเพื่อใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส แบ่งได้เป็น 2 กรณี คือ

1. กรณีการปนเปื้อนทั่วไป

ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นจุลินทรีย์ในตัวอย่าง จะรายงานเป็นจำนวนจุลินทรีย์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งอาจจะรายงานในระบบตัวเลขปกติ เช่น 1,000 cfu/g หรือ รายงานในระบบเลขยกกำลัง เช่น 10^3 cfu/g ซึ่งเท่ากับ 3 log cfu/g

2. กรณีที่ไม่มีการปนเปื้อน

ในกรณีที่ไม่มี การปนเปื้อนของเชื้อในตัวอย่าง ไม่ได้หมายความว่า ประชากรที่ต้องการอนุมานจะไม่มี การปนเปื้อน เนื่องจากการสุ่มตัวอย่าง อาจจะไม่พบได้

อย่างไรก็ตาม การคำนวณความเข้มข้นจะใช้วิธี maximum likelihood estimator (MLE) (Alali, Mann, & Beuchat, 2012; Haas et al., 1999)

$$C = \frac{\sum_{i=1}^k N_i}{\sum_{i=1}^k V_i}$$

โดย C = ความเข้มข้นของ Salmonella ในผลิตภัณฑ์ (g^{-1})

N_i = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก ตัวอย่างที่ i ถึง k

V_i = analytical unit ของผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์ในตัวอย่างที่ i ถึง k

k = จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์ต่อฤดูกาล

ยกตัวอย่างเช่น การตรวจวิเคราะห์ที่ไม่พบเชื้อในตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม จะรายงานความเข้มข้นเป็น น้อยกว่า $1/25$ cfu/g หรือ < 0.04 cfu/g โดยในการคำนวณจะใช้ค่า 0.04 cfu/g ในการคำนวณ

ตาราง 38 ความเข้มข้น (Concentration) ของ *Salmonella* (g^{-1}) ในปลาบรีโคมคสุกและซาซิมิใน 6 จังหวัด

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1			Season 2			Season 3		
		<i>s</i>	<i>n</i>	<i>C</i>	<i>s</i>	<i>n</i>	<i>C</i>	<i>s</i>	<i>n</i>	<i>C</i>
		กลาง (กรุงเทพ)	ปลาบรีโคมคสุก	0	19	0.001	0	19	0.001	0
	ซาซิมิ	0	8	0.003	0	8	0.003	0	8	0.003
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	ปลาบรีโคมคสุก	0	19	0.001	0	19	0.001	0	19	0.001
	ซาซิมิ	0	8	0.003	0	8	0.003	0	8	0.003
ตะวันออก (ชลบุรี)	ปลาบรีโคมคสุก	0	19	0.001	0	19	0.001	0	19	0.001
	ซาซิมิ	0	8	0.003	0	8	0.003	0	8	0.003
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	ปลาบรีโคมคสุก	0	19	0.001	0	19	0.001	1	19	0.005
	ซาซิมิ	0	8	0.003	0	8	0.003	2	8	68
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	ปลาบรีโคมคสุก	0	19	0.001	0	19	0.001	0	19	0.001
	ซาซิมิ	0	8	0.003	0	8	0.003	0	8	0.003
เหนือ (เชียงใหม่)	ปลาบรีโคมคสุก	0	19	0.001	0	19	0.001	0	19	0.001
	ซาซิมิ	0	8	0.003	0	8	0.003	1	8	3,750

3.7 ปริมาณการบริโภคปลาและซาซิมิของประชากรไทย

(Fish and Sashimi consumption)

ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food consumption data of Thailand) โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 รายงานค่าเฉลี่ย และ ค่า 97.5 percentile ของสัตว์น้ำจืดและผลิตภัณฑ์อยู่หลายชนิด ในการศึกษาครั้งนี้คัดเลือกปลาน้ำจืดที่มีการบริโภคแบบสุกปริมาณมากที่สุด คือ ปลาน้ำจืดลำตัวแบนมีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาทับทิม ของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 11.35 กรัม/คน/วัน และ 57.14 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ ดัง ภาพ 23



ตารางที่ 4. 10 ค่าเฉลี่ยและค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคสำหรับประชากรทั้งหมด (per capita) อายุ 3 ปีขึ้นไป

ลำดับ	อาหาร	ลักษณะอาหาร	ค่าเฉลี่ย			ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5		
			ชาย	หญิง	รวมเพศ	ชาย	หญิง	รวมเพศ
7.4	สัตว์น้ำจืด และผลิตภัณฑ์ (กรัม/คน/วัน)							
1	ปลาน้ำจืดลำตัวยาว มีเกล็ด เช่น ปลาช่อน ปลาระดัด	สุก	8.92	5.41	7.03	68.57	42.86	51.43
2	ปลาน้ำจืดลำตัวยาว ไม่มีเกล็ด เช่น ปลาดุก ปลาแขยง ปลากด	สุก	5.96	3.86	4.83	36.00	24.00	36.00
3	ปลาน้ำจืดลำตัวแบน มีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาทับทิม	สุก	12.47	10.40	11.35	57.14	57.14	57.14
4	ปลาน้ำจืดตากแห้ง แดงเดียว เช่น ปลาช่อน ปลาสลิด	สุก	2.27	1.55	1.88	20.00	15.00	17.50

ภาพ 23 ปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำจืดของประชากรไทย อายุ 3 ปีขึ้นไป

จากการสืบค้นข้อมูลและข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food consumption data of Thailand) โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 ไม่ปรากฏข้อมูลปริมาณการบริโภคซาซิมิ ผู้วิจัยจึงกำหนดค่าเฉลี่ย และ ค่า 97.5 percentile ปริมาณการบริโภคซาซิมิ ร้อยละ 10 ของปริมาณการบริโภคปลาน้ำจืดลำตัวแบนมีเกล็ด ของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 1.135 กรัม/คน/วัน และ 5.714 กรัม/คน/วัน ตามลำดับ

3.8 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Exposure assessment)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Salmonella* คำนวณจาก ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (ตาราง 37) ความเข้มข้น (ตาราง 38) และ ปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์สุกร/คน/วัน (ภาพ 23) ดังแสดงใน ตาราง 39

ตาราง 39 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Prob. of exposure : P_E) *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง	ปลาบริโภคสุก	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}
(กรุงเทพ)	ซาซิมิ	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}
ตะวันตก	ปลาบริโภคสุก	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}
(ประจวบคีรีขันธ์)	ซาซิมิ	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}
ตะวันออก	ปลาบริโภคสุก	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}
(ชลบุรี)	ซาซิมิ	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ปลาบริโภคสุก	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}	1.0×10^{-2}
(ขอนแก่น)	ซาซิมิ	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}	3.0×10^{-1}
ใต้	ปลาบริโภคสุก	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}
(ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	ซาซิมิ	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}
เหนือ	ปลาบริโภคสุก	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}	1.4×10^{-3}
(เชียงใหม่)	ซาซิมิ	6.9×10^{-4}	6.9×10^{-4}	4.8×10^{-2}

การแปลผล (Interpretation)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure) หมายถึง โอกาสในการได้รับสัมผัสหรือรับเอาอันตรายในที่นี้ คือ *Salmonella* เข้าสู่ร่างกายอย่างน้อย 1 เซลล์ ต่อวัน

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในปลาบริโภคสูง เท่ากับ 1.4×10^{-3} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ภาพ 63 จัดอยู่ในระดับ ต่ำมาก (Very low)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Salmonella* $1.4 \times 10^{-3} = 0.0014$ หมายความว่า

ปัจเจกบุคคลบริโภคปลาบริโภคสูงเฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน

- จำนวน 10,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *Salmonella* ปนเปื้อนปลาบริโภคสูง 14 วัน เทียบเท่ากับ
- จำนวน 1,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *Salmonella* ปนเปื้อนปลาบริโภคสูง 1.4 วัน

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในซาซิมิ เท่ากับ 6.9×10^{-4} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ภาพ 63 อยู่ในระดับ ต่ำอย่างมาก (Extremely low)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Salmonella* 6.9×10^{-4} หมายความว่า

ปัจเจกบุคคลบริโภคปลาบริโภคสูงเฉลี่ย 1.135 กรัม/วัน

- จำนวน 100,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *Salmonella* ปนเปื้อนซาซิมิ 69 วัน เทียบเท่ากับ
- จำนวน 10,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *Salmonella* ปนเปื้อนซาซิมิ 6.9 วัน

4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization)

การอธิบายความเสี่ยงเป็นการบูรณาการผลที่ได้จาก 2 ขั้นตอน คือ การอธิบายอันตราย (dose-response assessment หรือ hazard characterization) และ การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) คือ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก *Salmonella* (Probability of illness to mortality from *Salmonella* : P_{IM}) สำหรับ susceptible *Salmonella* ใน ตาราง 32 หรือ สำหรับ AMR *Salmonella* ใน ตาราง 34 และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Probability of exposure : P_E) เข้าด้วยกัน โดยพิจารณาเป็นการเกิด 2 เหตุการณ์ ต่อเนื่องกันและเป็นอิสระต่อกัน (independent events) จึงนำความน่าจะเป็นทั้ง 2 ค่า มาคูณกัน ก็จะได้ ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate)

4.1 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก susceptible *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ (Annual non-AMR risk estimate)

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ (ตาราง 40) คำนวณจาก ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิต จาก susceptible *Salmonella* (Probability of illness to mortality from susceptible *Salmonella* : P_{IM}) ใน ตาราง 32 และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_E) ใน ตาราง 39 และ รายงานเป็นอัตราการเจ็บป่วยรายปี (Annual non-AMR risk rate) ในหน่วย สัดส่วนผู้ป่วยต่อแสนคนต่อปี เพื่อให้สอดคล้องกับการรายงานของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ดังแสดงใน ตาราง 41

ตาราง 40 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}
(กรุงเทพ)	ซาซิมิ	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}
ตะวันตก	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}
(ประจวบคีรีขันธ์)	ซาซิมิ	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}
ตะวันออก	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}
(ชลบุรี)	ซาซิมิ	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}	1.3×10^{-8}
(ขอนแก่น)	ซาซิมิ	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}	2.0×10^{-4}
ใต้	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}
(ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	ซาซิมิ	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}
เหนือ	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}	4.3×10^{-10}
(เชียงใหม่)	ซาซิมิ	5.2×10^{-11}	5.2×10^{-11}	9.7×10^{-5}

ตาราง 41 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}
(กรุงเทพ)	ซาซิมิ	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}
ตะวันตก	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}
(ประจวบคีรีขันธ์)	ซาซิมิ	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}
ตะวันออก	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}
(ชลบุรี)	ซาซิมิ	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}	1.3×10^{-3}
(ขอนแก่น)	ซาซิมิ	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}	20
ใต้	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}
(ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	ซาซิมิ	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}
เหนือ	ปลาบริโภคสุก	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}	4.3×10^{-5}
(เชียงใหม่)	ซาซิมิ	5.2×10^{-6}	5.2×10^{-6}	10

4.2 การแปลผล (Interpretation)

ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) หรือ ระดับความเสี่ยง (risk) หมายถึง โอกาสในการเจ็บป่วยจากการได้รับจำนวนเซลล์ (dose) ของ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในปลาบริโภคสุกและซาซิมิที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย

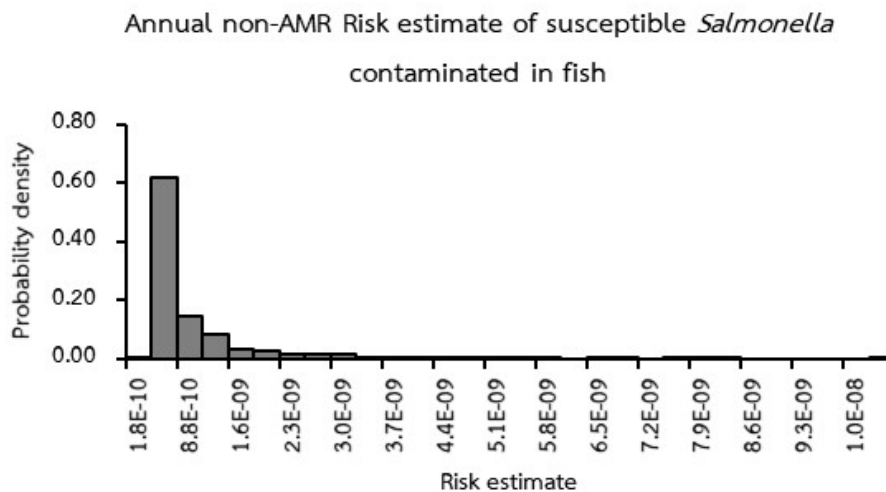
ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่ก่อโรคจากการบริโภคปลาบริโภคสุก เท่ากับ 4.3×10^{-10} หมายความว่า ปีจึ่งเจกบุคคลบริโภคปลาบริโภคสุกเฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน ทุกวัน นาน 10^{11} ปี จะมีโอกาสได้รับ (exposed) susceptible *Salmonella* และตามมาด้วยการเจ็บป่วย (illness) ถึงการเสียชีวิต (mortality) จาก susceptible *Salmonella* จำนวน 4.3 วัน (ครั้ง)

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-A risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่ก่อโรคจากการบริโภคซาซิมิ เท่ากับ 5.2×10^{-11} หมายความว่า ปีจึ่งเจกบุคคลบริโภคซาซิมิ เฉลี่ย 1.135 กรัม/วัน นาน 10^{11} ปี จะมีโอกาสได้รับ (exposed) susceptible *Salmonella* และตามมาด้วยการเจ็บป่วย (illness) ถึงการเสียชีวิต (mortality) จาก susceptible *Salmonella* จำนวน 5.2 วัน (ครั้ง)

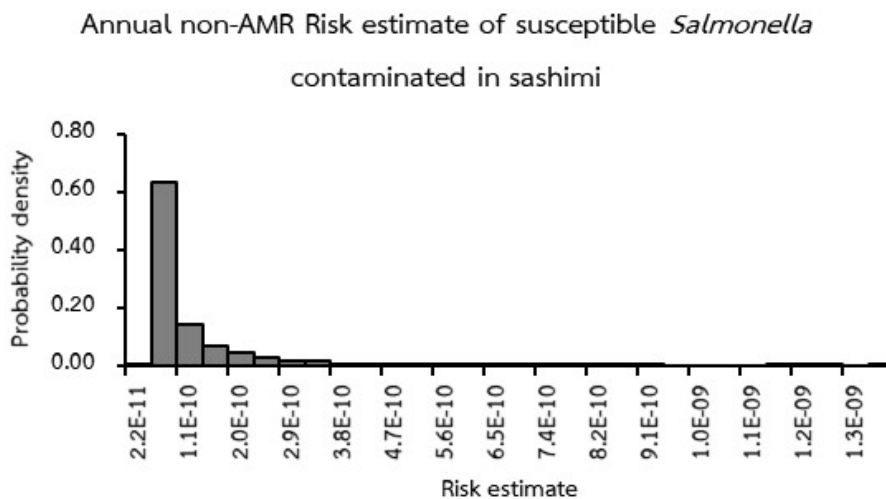
4.3 การจำลองเหตุการณ์จริงสำหรับ Annual non-AMR risk estimate (Monte Carlo Simulation)

นำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 โดย José Ricardo Varela ก็จะได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ของจุลินทรีย์ก่อโรค *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดังแสดงใน ภาพ 24 ถึง ภาพ 55



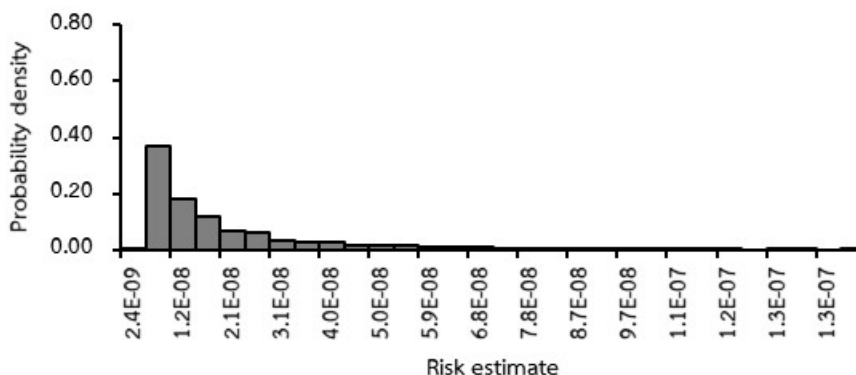
ภาพ 24 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก ใน 6 ภาค
ฤดูกาลที่ 1-3



ภาพ 25 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3

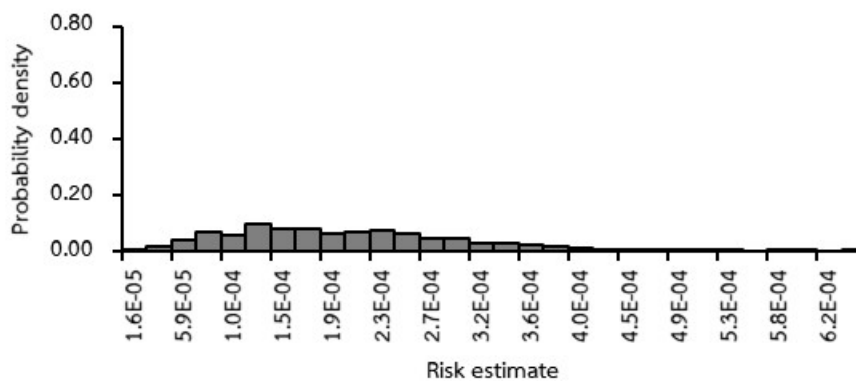
นอกจากนี้ยังได้นำเสนอ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ของจุลินทรีย์ก่อโรค *Salmonella* ที่ปนเปื้อนสูงกว่าปกติในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดังแสดงใน ภาพ 26 ถึง ภาพ 28

Annual non-AMR Risk estimate of susceptible *Salmonella* contaminated in fish in Konkhan Season 3

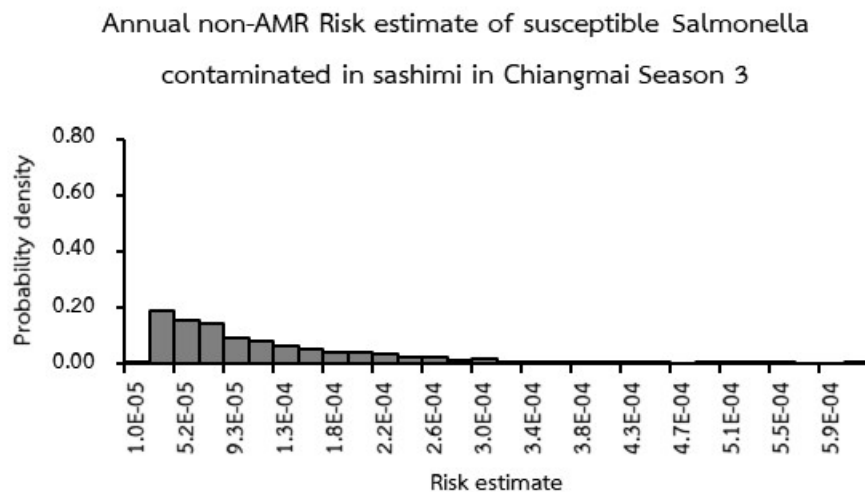


ภาพ 26 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3

Annual non-AMR Risk estimate of susceptible *Salmonella* contaminated in sashimi in Konkhan Season 3



ภาพ 27 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3



ภาพ 28 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิในภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) ฤดูกาลที่ 3

4.4 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก AMR Salmonella ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ (Annual ARM risk estimate)

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ (ตาราง 42) คำนวณจาก ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก AMR *Salmonella* (Probability of illness to mortality from AMR *Salmonella* : P_{IM}) ใน ตาราง 34 และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_E) ใน ตาราง 39 และ รายงานเป็นอัตราการเจ็บป่วยรายปี (Annual non-AMR risk rate) ในหน่วย สัดส่วนผู้ป่วยต่อแสนคนต่อปี เพื่อให้สอดคล้องกับการรายงานของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ดัง ตาราง 43 ตาราง 42 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}
	ซาซิมิ	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}
	ซาซิมิ	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}
ตะวันออก (ชลบุรี)	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}
	ซาซิมิ	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}	1.7×10^{-7}
	ซาซิมิ	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}	2.7×10^{-3}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}
	ซาซิมิ	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}
เหนือ (เชียงใหม่)	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}	5.8×10^{-9}
	ซาซิมิ	7.0×10^{-10}	7.0×10^{-10}	1.3×10^{-3}

ตาราง 43 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ภาค (จังหวัด)	ผลิตภัณฑ์	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}
(กรุงเทพ)	ซาซิมิ	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}
ตะวันตก	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}
(ประจวบคีรีขันธ์)	ซาซิมิ	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}
ตะวันออก	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}
(ชลบุรี)	ซาซิมิ	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}	1.7×10^{-2}
(ขอนแก่น)	ซาซิมิ	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}	273
ใต้	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}
(ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	ซาซิมิ	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}
เหนือ	ปลาบริโภคสุก	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}	5.8×10^{-4}
(เชียงใหม่)	ซาซิมิ	7.0×10^{-5}	7.0×10^{-5}	131

4.5 การแปลผล (Interpretation)

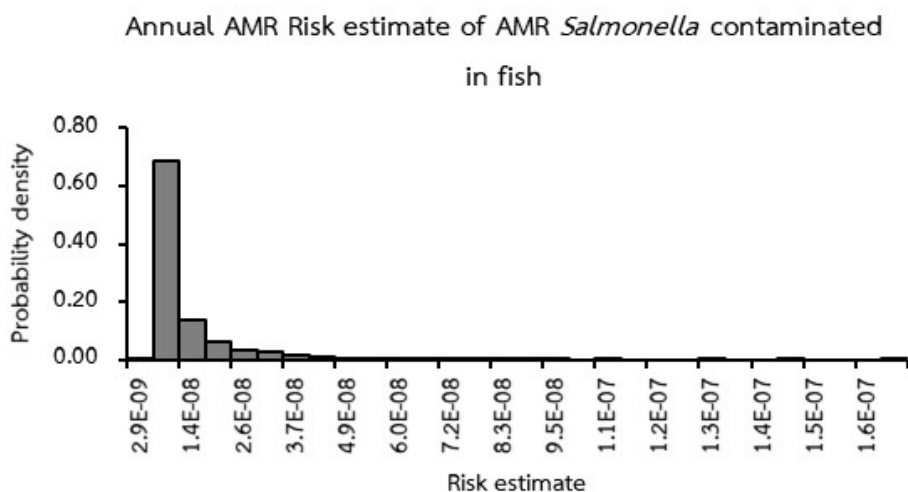
ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่ก่อโรคจากการบริโภคปลาบริโภคสุก เท่ากับ 5.8×10^{-9} หมายความว่า ปังเจกบุคคลบริโภคปลาบริโภคสุกเฉลี่ย 11.35 กรัม/วัน ทุกวัน นาน 10^9 ปี จะมีโอกาสได้รับ (exposed) AMR *Salmonella* และตามมาด้วยการเจ็บป่วย (illness) ถึงการเสียชีวิต (mortality) จาก AMR *Salmonella* จำนวน 5.8 วัน (ครั้ง)

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่ก่อโรคจากการบริโภคซาซิมิ เท่ากับ 7.0×10^{-5} หมายความว่า ปังเจกบุคคลบริโภคซาซิมิ เฉลี่ย 1.135 กรัม/วัน ทุกวัน นาน 10^5 ปี จะมีโอกาสได้รับ (exposed) AMR *Salmonella* และตามมาด้วยการเจ็บป่วย (illness) ถึงการเสียชีวิต (mortality) จาก AMR *Salmonella* จำนวน 7.0 วัน (ครั้ง)

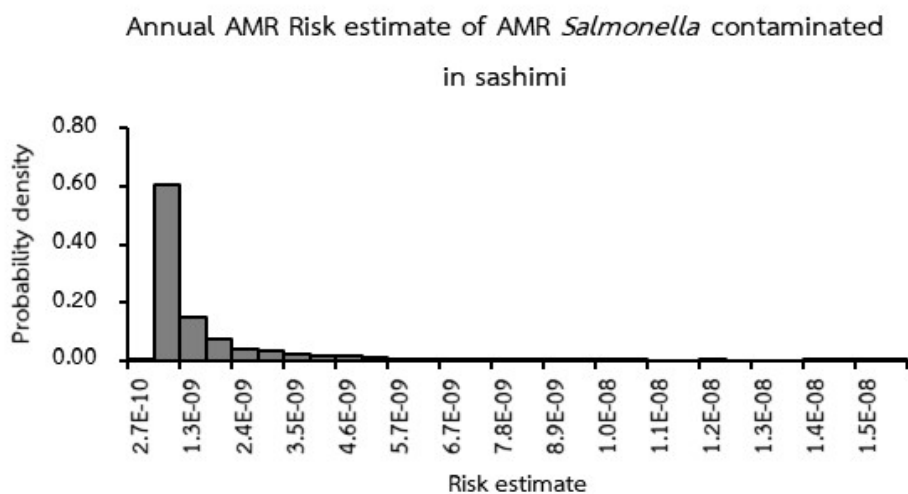
4.6 การจำลองเหตุการณ์จริงสำหรับ Annual AMR risk estimate (Monte Carlo Simulation)

นำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 โดย José Ricardo Varela ก็จะได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ของจุลินทรีย์ก่อโรค *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดังแสดงใน ภาพ 29 ถึง ภาพ 30

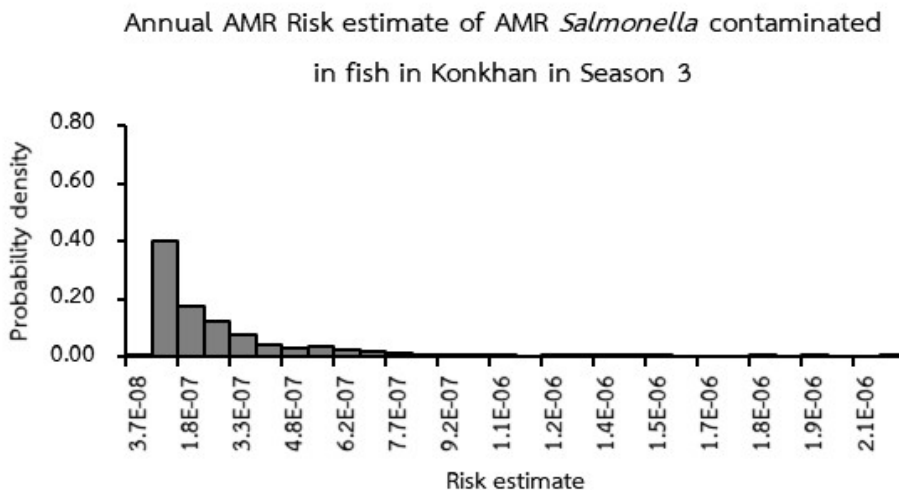


ภาพ 29 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3

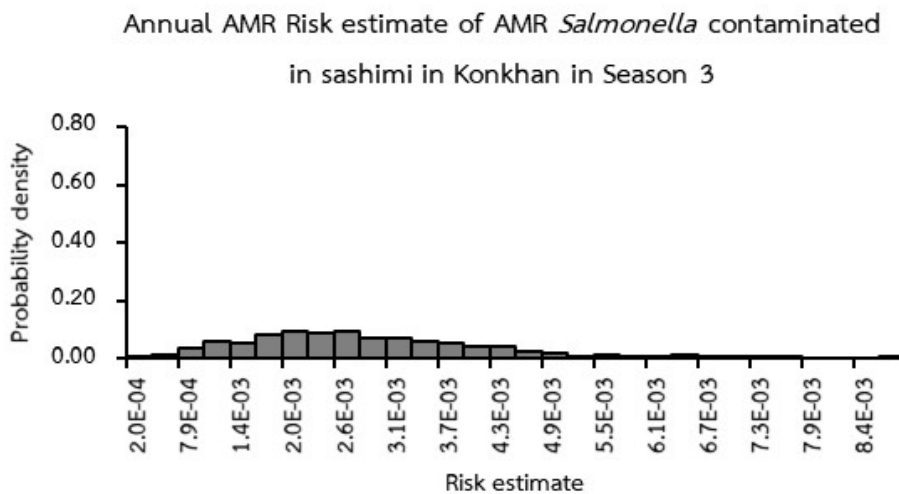


ภาพ 30 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3

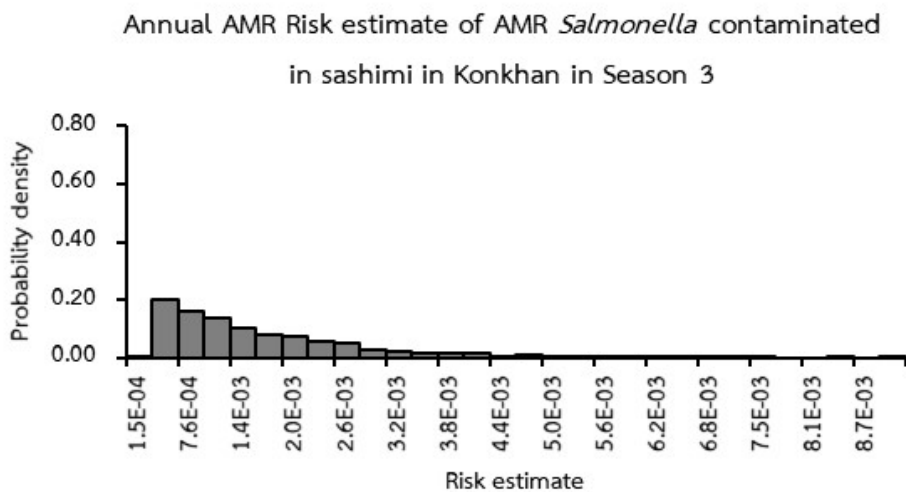
นอกจากนี้ยังได้นำเสนอ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ของจุลินทรีย์ก่อโรค *Salmonella* ที่ปนเปื้อนสูงกว่าปกติในปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดังแสดงใน ภาพ 31 ถึง ภาพ 33



ภาพ 31 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3



ภาพ 32 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) ฤดูกาลที่ 3



ภาพ 33 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิในภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) ฤดูกาลที่ 3

2. การวิเคราะห์ความไว (Sensitivity analysis)

หลังจากขั้นตอนการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซึ่งเป็นการสุ่มเลือกค่าที่เป็นไปได้ทั้งหมดของตัวแปรอิสระในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น จากนั้นจึงคำนวณความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระ (independent variable) หรือ ปัจจัยเสี่ยง (risk factors) เช่น ความเข้มข้น (concentration) ความชุก (prevalence) และ ปริมาณการบริโภค (consumption) และ ตัวแปรตาม (dependent variable) ในที่นี้ คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ โปรแกรม Simulacion 4.0 โดย José Ricardo Varela ที่ใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง ให้ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) 2 วิธี คือ

1. **วิธีสหสัมพันธ์ (correlation)** เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบสองทาง (two-way relationship) มีค่าระหว่าง -1 ถึง +1

1.1. ค่าสหสัมพันธ์เป็นบวก (positive correlation coefficient) มีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะเพิ่มขึ้น และ ในทางตรงกันข้ามด้วย

1.2. ค่าสหสัมพันธ์เป็นลบ (negative correlation coefficient) มีความสัมพันธ์สวนทางกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะลดลง และ ในทางตรงกันข้ามด้วย

2. **วิธีการถดถอย (regression)** เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบทางเดียว (one way relationship) ในลักษณะตัวแปรอิสระเป็นเหตุ ตัวแปรตามเป็นผล (causal relationship)

2.1. ค่าความชันถดถอยเป็นบวก (positive regression slope)

- ตัวแปรอิสระและตัวแปรตามมีความสัมพันธ์ในทางเดียวกัน
- ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรอิสระใดมีค่าบวกมากกว่า แสดงว่า ตัวแปรอิสระนั้นมีอิทธิพลในการเพิ่มค่าตัวแปรตามมากกว่าด้วย

2.2. ค่าความชันถดถอยเป็นลบ (negative regression slope)

- ตัวแปรอิสระและตัวแปรตามตัวแปรมีความสัมพันธ์ตรงข้ามกัน
- ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรอิสระใดมีค่าลบมากกว่า ก็แสดงว่า ตัวแปรอิสระนั้นมีอิทธิพลในการลดค่าตัวแปรตามมากกว่าด้วย

ผลการวิเคราะห์ความไวของปัจจัยเสี่ยงต่อ Annual non-AMR risk estimate

ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) และค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อตัวแปรตาม คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดัง ตาราง 40 และ ภาพ 34 ถึง ภาพ 37

ตาราง 44 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) และค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

Independent variable (unit)	Correlation coefficient		Regression slope	
	Annual Non-AMR risk estimate		Annual non-AMR risk estimate	
	Fish	Sashimi	Fish	Sashimi
Concentration (g ⁻¹)	0.267	0.301	5.3×10^{-7}	3.4×10^{-8}
Prevalence	0.427	0.483	9.7×10^{-9}	7.1×10^{-10}
Consumption (g/day)	0.501	0.464	4.7×10^{-11}	5.6×10^{-11}

การอภิปราย (Discussion)

1. ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual non-AMR โดยวิธี correlation มีความไม่สม่ำเสมอ (inconsistent)

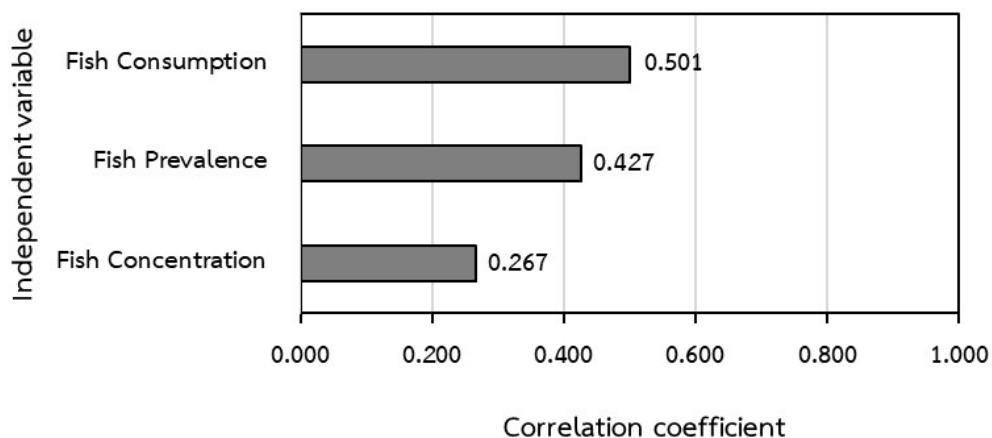
- 1.1. กรณี ปลาบริโภคสุก : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ การบริโภค (consumption)
- 1.2. กรณี ซาซิมิ : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ ความชุก (prevalence)

2. ค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual non-AMR โดยวิธีการถดถอย (regression) มีความสม่ำเสมอมากกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์

- 2.1. กรณี ปลาบริโภคสุก : ค่าความชันถดถอยจากสูงไปต่ำ คือ ความชุก ความเข้มข้น และการบริโภค
- 2.2. กรณี ซาซิมิ : ค่าความชันถดถอยจากสูงไปต่ำ คือ ความชุก ความเข้มข้น และการบริโภค

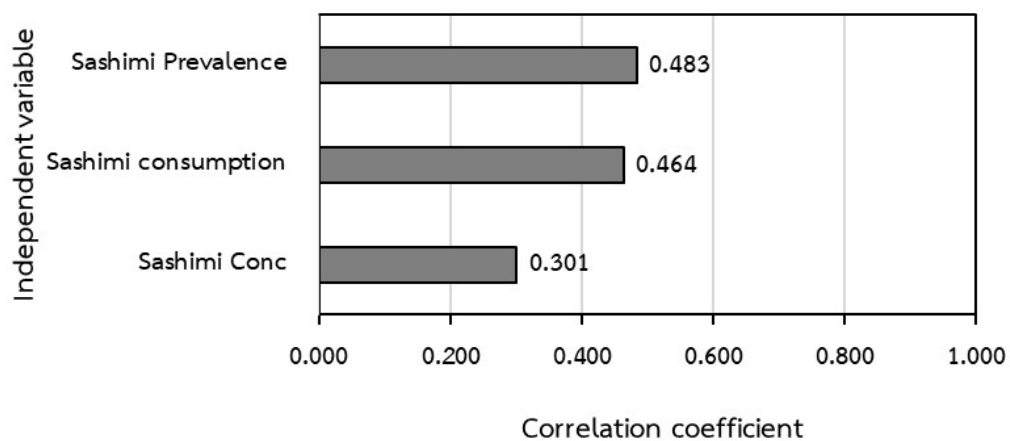
3. ผลการวิเคราะห์ความไว พบว่า วิธี correlation มีความจำกัดมากกว่า วิธี regression เนื่องจาก วิธี regression ให้ผลที่สม่ำเสมอมากกว่าวิธี correlation และวิธี regression ยังเป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบทางเดียว (one way relationship) ในลักษณะตัวแปรอิสระเป็นเหตุ ตัวแปรตามเป็นผล (causal relationship)

Annual non-AMR risk estimate of susceptible *Salmonella*
contaminated fish

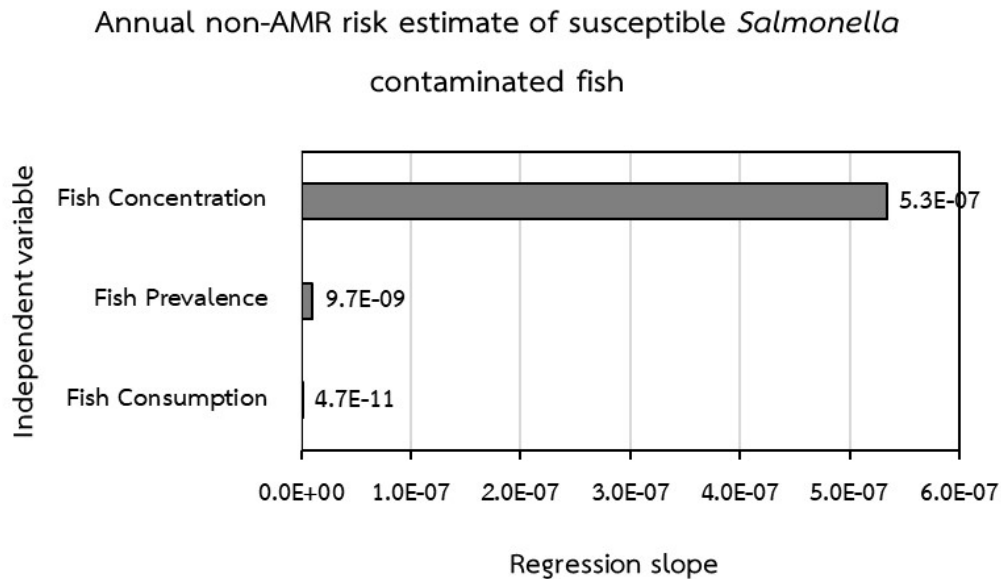


ภาพ 34 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก

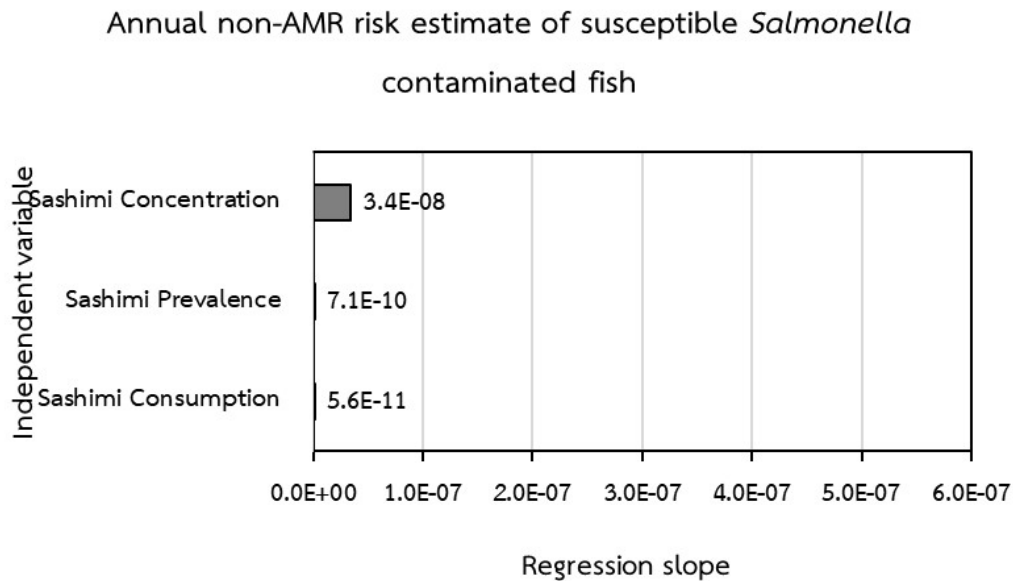
Annual non-AMR risk estimate of susceptible *Salmonella*
contaminated sashimi



ภาพ 35 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ



ภาพ 36 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก



ภาพ 37 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ

การแปลความหมาย (Interpretation)

การแปลความหมายในเชิงการประยุกต์ใช้ คือ การมุ่งหาตัวแปรอิสระ (independent variable) ที่มีบทบาทสำคัญในการกำหนดค่าประมาณความเสี่ยงในที่นี้ คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

จากการอภิปรายผลการวิเคราะห์ความไว พบว่า วิธี regression ให้ผลการวิเคราะห์ตัวแปรอิสระที่สม่าเสมอมากกว่า และเป็นวิธีที่มีความสมเหตุสมผลเชิง causal relationship มากกว่าวิธี correlation ด้วย ดังนั้น ในที่นี้ จึงจะแปลความหมายเฉพาะวิธี regression จากจำนวนประชากรไทย 66 ล้านคน (ตาราง 45)

ตาราง 45 การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรไทยที่เจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจากการเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ 1 หน่วย

Independent variable (unit)	Fish		Sashimi	
	Regression slope	Population Risk change (person)	Regression slope	Population Risk change (person)
Concentration (g^{-1})	5.3×10^{-7}	35	3.4×10^{-8}	2
Prevalence	9.7×10^{-9}	0.006*	7.1×10^{-10}	0.0005*
Consumption (g/day)	4.7×10^{-11}	0.003	5.6×10^{-11}	0.0037

* Calculated by percent basis (multiplied by 0.01)

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ค่าความชันถดถอยของ ตัวแปรอิสระ คือ ความเข้มข้น (Concentration) ในหน่วย gram^{-1} ต่อตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ เท่ากับ 5.3×10^{-7} และ 3.4×10^{-8} ตามลำดับ

คณิตศาสตร์ (mathematics)

การเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ ความเข้มข้น = 1 หน่วย gram^{-1} เช่น 1 colony-forming unit/gram (cfu/g) จะมีผลเปลี่ยนแปลงตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี = 5.3×10^{-7} และ 3.4×10^{-8} จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ตามลำดับ

ปลาบริโภคสุก : ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี 5.3×10^{-7} สำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน คือ จำนวนป่วย(ถึงเสียชีวิต) = $5 \times 10^{-7} \times 66,000,000 = 35$ คน/ปี

ซาซิมิ : ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี 3.4×10^{-8} สำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน คือ จำนวนป่วย(ถึงเสียชีวิต) = $3 \times 10^{-8} \times 66,000,000 = 2$ คน/ปี

การจัดการความเสี่ยง (risk management)

ปลาบริโภคสุก

- การลดความเข้มข้น susceptible *Salmonella* 1 cfu/g ในปลาบริโภคสุก เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกได้ 35 คน/ปี
- การปนเปื้อน susceptible *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1 cfu/g ในปลาบริโภคสุก เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกอีก 35 คน/ปี

ซาซิมิ

- การลดความเข้มข้น susceptible *Salmonella* 1 cfu/g ในซาซิมิ เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกได้ 2 คน/ปี
- การปนเปื้อน susceptible *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1 cfu/g ในซาซิมิ เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกอีก 2 คน/ปี

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ความชุก (Prevalence) ปลายบริโศคสุก

ค่าความชันถดถอยของ ตัวแปรอิสระ คือ ความเข้มข้น (Concentration) ในหน่วย gram^{-1} และ ตัวแปรอิสระความชุก (prevalence) ต่อตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual non-AMR risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโศคปลายบริโศคสุก เท่ากับ 5.3×10^{-7} และ 9.7×10^{-9} ตามลำดับ
คณิตศาสตร์ (mathematics)

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น

การเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ ความเข้มข้น = 1 หน่วย gram^{-1} หรือ ยกตัวอย่างเช่น 1 colony-forming unit/gram (cfu/g) จะมีผลเปลี่ยนแปลงตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี = 5.3×10^{-7} เมื่อพิจารณาสำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน = 35 คน/ปี

ตัวแปรอิสระ : ความชุก

การเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ ความชุก = ร้อยละ 1 (0.01) จะมีผลเปลี่ยนแปลงตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี = 9.7×10^{-9} เมื่อพิจารณา สำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน = 0.006 คน/ปี

การจัดการความเสี่ยง (risk management)

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น

- การลดความเข้มข้น susceptible *Salmonella* 1 cfu/g ในปลายบริโศคสุก เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโศคปลายบริโศคสุกได้ 35 คน/ปี
- การปนเปื้อน susceptible *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1 cfu/g ในปลายบริโศคสุก เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโศคปลายบริโศคสุกอีก 35 คน/ปี

ตัวแปรอิสระ : ความชุก

- การลดความชุก susceptible *Salmonella* ลง 1% ในปลายบริโศคสุก เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโศคปลายบริโศคสุกได้ 0.006 คน/ปี
- การปนเปื้อน susceptible *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1% ในปลายบริโศคสุก เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก susceptible *Salmonella* จากการบริโศคปลายบริโศคสุกอีก 0.006 คน/ปี

ผลการวิเคราะห์ความไวของปัจจัยเสี่ยงต่อ Annual AMR risk estimate

ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) และค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อตัวแปรตาม คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดังแสดงใน ตาราง 46 และ ภาพ 38 ถึง ภาพ 41 ตาราง 46 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) และค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

Independent variable	Correlation coefficient		Regression slope	
	AMR risk estimate in		AMR risk estimate in	
	Fish	Sashimi	Fish	Sashimi
Concentration	0.279	0.303	8.6×10^{-6}	4.7×10^{-7}
Prevalence	0.468	0.532	1.6×10^{-7}	1.0×10^{-8}
Consumption	0.475	0.479	6.9×10^{-10}	8.0×10^{-10}

การอภิปราย (Discussion)

1. ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual AMR โดยวิธี correlation มีความไม่สม่ำเสมอ (inconsistent)

1.1. กรณี ปลาบริโภคสุก : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ การบริโภค (consumption)

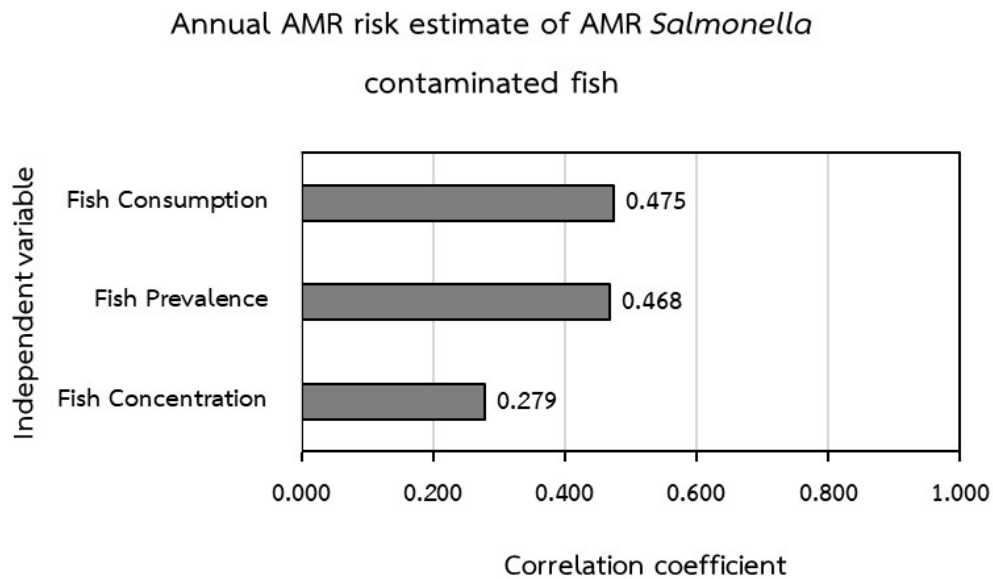
1.2. กรณี ซาซิมิ : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ ความชุก (prevalence)

2. ค่าความชันถดถอย (regression slope) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual AMR โดยวิธีการถดถอย (regression) มีความสม่ำเสมอมากกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์

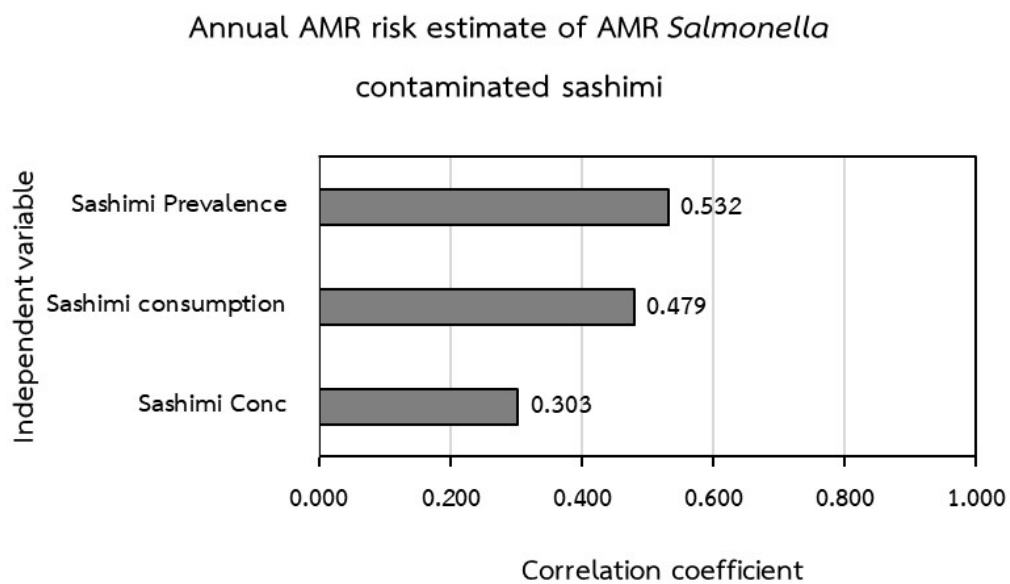
2.1. กรณี ปลาบริโภคสุก : ค่าความชันถดถอยจากสูงไปต่ำ คือ ความชุก ความเข้มข้น และการบริโภค

2.2. กรณี ซาซิมิ : ค่าความชันถดถอยจากสูงไปต่ำ คือ ความชุก ความเข้มข้น และการบริโภค

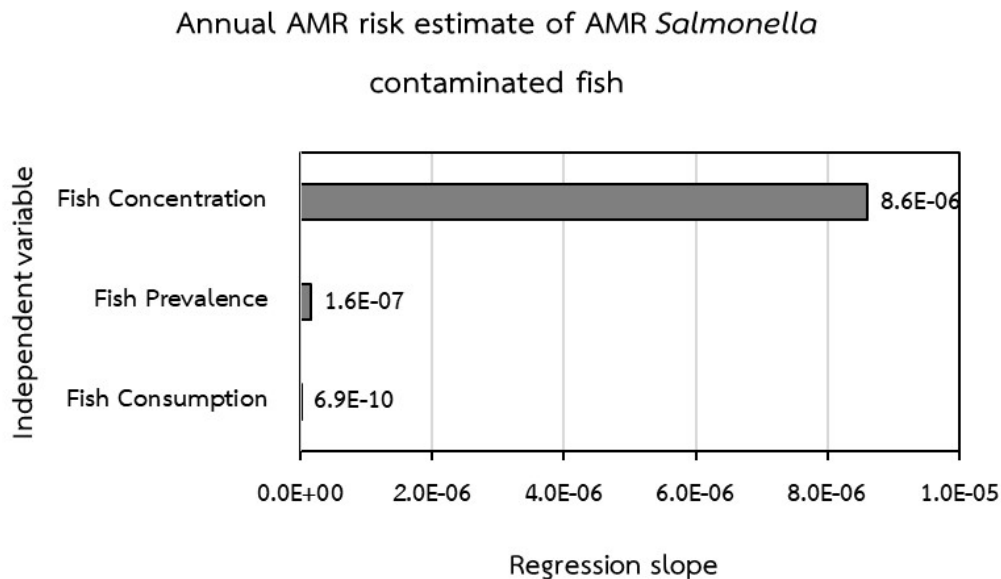
3. ผลการวิเคราะห์ความไว พบว่า วิธี correlation มีความจำกัดมากกว่า วิธี regression เนื่องจาก วิธี regression ให้ผลที่สม่ำเสมอมากกว่าวิธี correlation และวิธี regression ยังเป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบทางเดียว (one way relationship) ในลักษณะตัวแปรอิสระเป็นเหตุ ตัวแปรตามเป็นผล (causal relationship)



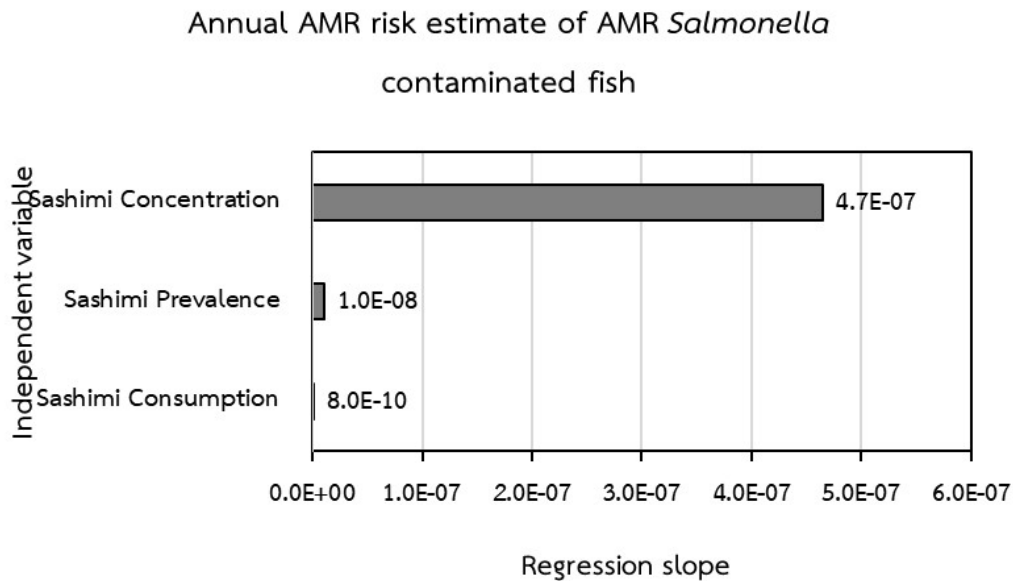
ภาพ 38 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก



ภาพ 39 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ



ภาพ 40 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุก



ภาพ 41 ค่าความชันถดถอย (regression slope) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคซาซิมิ

การแปลความหมาย (Interpretation)

การแปลความหมายในเชิงการประยุกต์ใช้ คือ การมุ่งหาตัวแปรอิสระ (independent variable) ที่มีบทบาทสำคัญในการกำหนดค่าประมาณความเสี่ยงในที่นี้ คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

จากการอภิปรายผลการวิเคราะห์ความไว พบว่า วิธี regression ให้ผลการวิเคราะห์ตัวแปรอิสระที่สม่าเสมอมากกว่า และเป็นวิธีที่มีความสมเหตุสมผลเชิง causal relationship มากกว่าวิธี correlation ด้วย ดังนั้น ในที่นี้ จึงจะแปลความหมายเฉพาะวิธี regression

ตาราง 47 การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรไทยที่เจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจากการเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ 1 หน่วย

Independent variable (unit)	Fish		Sashimi	
	Regression slope	Population Risk change (person)	Regression slope	Population Risk change (person)
Concentration (g^{-1})	8.6×10^{-6}	568	4.7×10^{-7}	31
Prevalence	1.6×10^{-7}	0.11*	1.0×10^{-8}	0.01*
Consumption (g/day)	6.9×10^{-10}	0.046	8.0×10^{-10}	0.053

* Calculated by percent basis (multiplied by 0.01)

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ปลาบริโภคสุกและซาซิมิ

ค่าความเข้มข้นถดถอยของ ตัวแปรอิสระ คือ ความเข้มข้น (Concentration) ในหน่วย gram⁻¹ ต่อตัวแปร ตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลา บริโภคสุกและซาซิมิ เท่ากับ 8.6×10^{-6} และ 4.7×10^{-7} ตามลำดับ

คณิตศาสตร์ (mathematics)

การเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ ความเข้มข้น = 1 หน่วย gram⁻¹ หรือ ยกตัวอย่างเช่น 1 colony-forming unit/gram (cfu/g) จะมีผลเปลี่ยนแปลงตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี = 8.6×10^{-6} และ 4.7×10^{-7} จากการบริโภคปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ตามลำดับ

ปลาบริโภคสุก : ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี 8.6×10^{-6} สำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน คือ จำนวนป่วย(ถึงเสียชีวิต) = $8.6 \times 10^{-6} \times 66,000,000 = 568$ คน/ปี

ซาซิมิ : ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี 5×10^{-7} สำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน คือ จำนวนป่วย(ถึงเสียชีวิต) = $4.7 \times 10^{-8} \times 66,000,000 = 31$ คน/ปี

การจัดการความเสี่ยง (risk management)

ปลาบริโภคสุก

- การลดความเข้มข้น AMR *Salmonella* 1 cfu/g ในปลาบริโภคสุก เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกได้ 568 คน/ปี
- การปนเปื้อน AMR *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1 cfu/g ในปลาบริโภคสุก เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกอีก 568 คน/ปี

ซาซิมิ

- การลดความเข้มข้น AMR *Salmonella* 1 cfu/g ในซาซิมิ เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกได้ 31 คน/ปี
- การปนเปื้อน AMR *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1 cfu/g ในซาซิมิ เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคปลาบริโภคสุกอีก 31 คน/ปี

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น (Concentration) เปรียบเทียบ ความชุก (Prevalence) ปลาบริโคมคสุก

ค่าความชันถดถอยของ ตัวแปรอิสระ คือ ความเข้มข้น (Concentration) ในหน่วย gram^{-1} และ ตัวแปรอิสระความชุก (prevalence) ต่อตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual AMR risk estimate) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคลาบริโคมคสุก เท่ากับ 8.6×10^{-6} และ 1.6×10^{-7} ตามลำดับ

คณิตศาสตร์ (mathematics)

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น

การเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ ความเข้มข้น = 1 หน่วย gram^{-1} หรือ ยกตัวอย่างเช่น 1 colony-forming unit/gram (cfu/g) จะมีผลเปลี่ยนแปลงตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี = 8.6×10^{-6} เมื่อพิจารณาสำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน = 568 คน/ปี

ตัวแปรอิสระ : ความชุก

การเปลี่ยนแปลงตัวแปรอิสระ ความชุก = ร้อยละ 1 (0.01) จะมีผลเปลี่ยนแปลงตัวแปรตาม ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี = 1.6×10^{-7} เมื่อพิจารณา สำหรับประชากรไทย 66 ล้านคน = 0.11 คน/ปี

การจัดการความเสี่ยง (risk management)

ตัวแปรอิสระ : ความเข้มข้น

- การลดความเข้มข้น AMRAMR *Salmonella* 1 cfu/g ในปลาบริโคมคสุก เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคลาบริโคมคสุกได้ 568 คน/ปี
- การปนเปื้อน AMR *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1 cfu/g ในปลาบริโคมคสุก เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคลาบริโคมคสุกอีก 568 คน/ปี

ตัวแปรอิสระ : ความชุก

- การลดความชุก AMR *Salmonella* ลง 1% ในปลาบริโคมคสุก เท่ากับ การลดจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคลาบริโคมคสุกได้ 0.11 คน/ปี
- การปนเปื้อน AMR *Salmonella* เพิ่มขึ้น 1% ในปลาบริโคมคสุก เท่ากับ การเพิ่มจำนวนผู้ป่วย (ถึงเสียชีวิต) จาก AMR *Salmonella* จากการบริโภคลาบริโคมคสุกอีก 0.11 คน/ปี

3. การวิเคราะห์สถานการณ์ (Scenario analysis)

การวิเคราะห์สถานการณ์ (scenario analysis) ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการประยุกต์การหาค่าที่เหมาะสมของตัวแปรอิสระ (independent variable) ที่ทำให้ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* อยู่ในระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk) ที่ $< 10^{-6}$ โดยผลจากการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) โดยวิธี regression ในหัวข้อที่ผ่านมา พบว่า ความเข้มข้น (concentration) ของทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* เป็นปัจจัยเสี่ยงสูง (risk factor) หรือมีอิทธิพลสูงต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปีจากทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella*

ดังนั้น การวิเคราะห์สถานการณ์ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยความเข้มข้น (mean concentration) ของทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ซึ่งสอดคล้องกับ ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk) ที่ $< 10^{-6}$

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้น (mean concentration) จะคำนวณได้มาจาก Microbiological limit ร่วมกับแผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว สำหรับ *Salmonella* จะเป็นการชักตัวอย่างลักษณะ 2 ชั้น (two-class attribute plan) เนื่องจาก *Salmonella* เป็นอันตรายรุนแรง (serious hazard) ถึงอันตรายถึงชีวิต (severe hazard) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องทราบพื้นฐานของทั้งแผนการชักตัวอย่าง (sampling plan) ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (probability of acceptance: Pa) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เป็น parameter ในการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในประชากรอาหาร (ปลาบริโภคสุกและซาซิมิ) ซึ่งเมื่อประเมินความเสี่ยงแล้ว ก็จะได้ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk) ที่ $< 10^{-6}$ ดังนั้น จึงขอบรรยายเนื้อหาเพื่อใช้ประกอบการทำความเข้าใจในการกำหนดค่า Microbiological limit (m) และ แผนการชักตัวอย่าง เพื่อให้ได้ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ใน ตาราง 55 และ

ตาราง 56 ในท้ายบทนี้ต่อไป

3.1 แนวทางมาตรฐานการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคในปลาและชาซิมิที่มีความเสี่ยงยอมรับได้

แนวทางมาตรฐานการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคในปลาและชาซิมิที่มีความเสี่ยงยอมรับได้ ปรับจากเนื้อหาจาก เอกสาร Microorganisms in Foods 7 : Microbiological Testing in Food Safety Management. 2001. Kluwer academic and Plenum publisher. ISBN 978-0-306-47262-6 โดยผู้แต่ง คือ International Commission for the Microbiological Specifications of Foods (ICMSF)

3.1.1 แผนการชักตัวอย่าง

(Sampling plan)

การชักตัวอย่างในแต่ละครั้ง จะมีการกำหนดจำนวนตัวอย่างที่เก็บ (n) และเมื่อส่งตรวจได้ผลวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการแล้ว ในที่นี้จะเรียกว่า ค่าทางห้องปฏิบัติการ (เช่น log count/g) ก็จะนำค่าทางห้องปฏิบัติการมาเปรียบเทียบกับเกณฑ์ (criteria) ในการตัดสินใจ (decision) ยอมรับ (accept) หรือ ปฏิเสธ (reject) อาหารที่ผลิตนั้น เรียกว่า แผนการชักตัวอย่าง (sampling plan) ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 แผน (ICMSF, 2001) คือ

1. แผนคุณสมบัติ (attributes plan)

แผนคุณสมบัติเป็นแผนการชักตัวอย่างที่แบ่งกลุ่มตัวอย่างตามค่าทางห้องปฏิบัติการเป็น 2 กลุ่มหลัก (ภาพที่ 1-2) คือ กลุ่มตัวอย่างที่ยอมรับ (acceptable) และกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ยอมรับ (unacceptable) หรือ ปฏิเสธ (rejected) โดยอาศัยค่าอ้างอิง เช่น ค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (microbiological limit) ที่กำหนดไว้ เรียกว่า ค่า m และเกณฑ์การตัดสินใจรับ (accept) หรือ ปฏิเสธ (reject) ให้พิจารณาจาก “จำนวนตัวอย่างที่ไม่ยอมรับ” หรือ ค่า c จาก “จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ” หรือ ค่า n

แผนคุณสมบัติเป็นแผนการชักตัวอย่างที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากคุณสมบัติของแผนการชักตัวอย่างนี้มีความสอดคล้องกับข้อจำกัดของอาหารที่ต้องการทดสอบ กล่าวคือ การไม่รู้หรือการไม่มีข้อมูลการแจกแจงความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารที่ต้องการทดสอบ (unknown distribution) นอกจากนี้ “จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ” (n) ยังไม่ขึ้นกับขนาดของ lot อาหารอีกด้วย ดังนั้น “จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ” (n) และเกณฑ์ในการตัดสินใจตามแผนการชักตัวอย่างนี้จะสามารถใช้ได้กับทั้ง lot อาหารที่มีขนาดใหญ่หรือ lot อาหารที่มีขนาดเล็กได้ไม่แตกต่างกัน (ICMSF, 2001)

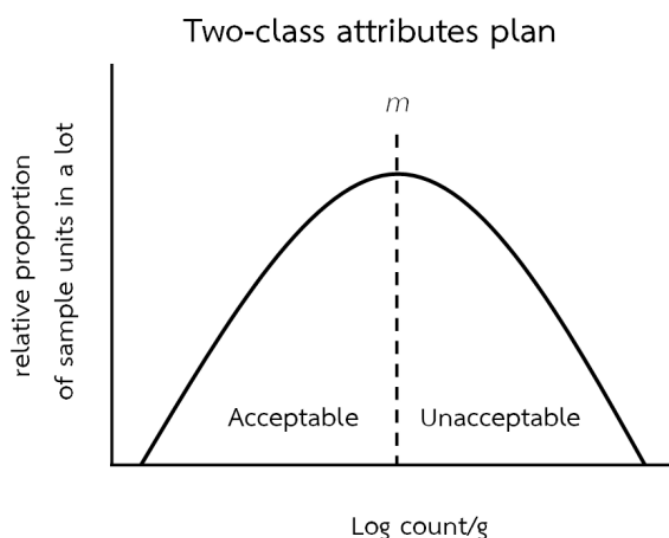
การชักตัวอย่างปริมาณหนึ่งเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ เรียกว่า หน่วยตัวอย่าง (sample unit) และเมื่อนำส่งไปที่ห้องปฏิบัติการก็จะตรวจวิเคราะห์ปริมาณอาหารจริงในปริมาณหนึ่งทีน้อยลง

เรียกว่า หน่วยวิเคราะห์ (analytical unit) เช่น หน่วยตัวอย่าง 100 กรัม อาจจะมีหน่วยวิเคราะห์เพียง 25 กรัม เป็นต้น โดยผลการตรวจวิเคราะห์จะรายงานเป็นการพบ (presence) หรือ ไม่พบ (absence) จุลินทรีย์เป้าหมาย แผนคุณสมบัติ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

ก. **แผนคุณสมบัติ 2 ชั้น** (two-class attributes plans) เป็นแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (m) ในการแบ่งจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ (n) เป็น 2 กลุ่ม หรือ 2 ชั้น (two attributes classes) ขึ้นอยู่กับค่าทางห้องปฏิบัติการที่ได้ ดังนี้

ชั้นที่ 1 คือ กลุ่มที่ยอมรับ (acceptable) ภาพที่ 1 เป็นกลุ่มที่อยู่ฝั่งซ้ายของค่า m

ชั้นที่ 2 คือ กลุ่มที่ไม่ยอมรับ (unacceptable) ภาพที่ 1 เป็นกลุ่มที่อยู่ฝั่งขวาของค่า m



ภาพ 42 ภาพที่ 1 แผนคุณสมบัติ 2 ชั้น (two-class attributes plan)

เงื่อนไขในการตัดสินใจ (decision)

- * ยอมรับ : จำนวนตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่า $m \leq$ ค่า c
- * ปฏิเสธ : จำนวนตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่า $m >$ ค่า c

ตัวอย่างเช่น $n = 10$ และ $c = 2$ หมายความว่า ชักตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง จะยอมรับอาหาร lot (accept lot) นี้ เมื่อค่าทางห้องปฏิบัติการระบุว่า จำนวนตัวอย่างที่ไม่ยอมรับ คือ มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (m) ไม่เกิน 2 ตัวอย่าง เป็นต้น

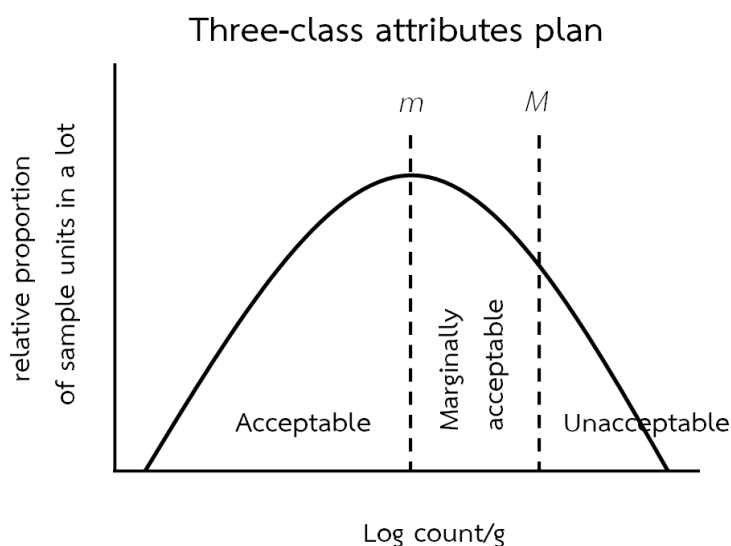
ข. **แผนคุณสมบัติ 3 ชั้น** (three-class attributes plans) เป็นแผนการชักตัวอย่างที่คล้ายกับแผนคุณสมบัติ 2 ชั้น คือ มีการกำหนดค่า n , c และ m โดยมีการกำหนดค่าเพิ่มเติม คือ ค่า M ซึ่งมีค่า

ทางห้องปฏิบัติการที่สูงกว่าค่า m ทำให้สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่มหรือ 3 ชั้น (three attributes classes) ขึ้นอยู่กับค่าทางห้องปฏิบัติการที่ได้ ดังนี้

ชั้นที่ 1 คือ กลุ่มที่ยอมรับ (acceptable) : ตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการต่ำกว่าค่า m จากภาพที่ 2 เป็นกลุ่มที่อยู่ฝั่งซ้ายของค่า m

ชั้นที่ 2 คือ กลุ่มที่ยอมรับได้แบบเฉียดใกล้ (marginally acceptable) : ตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการระหว่างค่า m และ ค่า M จากภาพที่ 2 เป็นกลุ่มที่อยู่ตรงกลางระหว่างค่า m และ ค่า M

ชั้นที่ 3 คือ กลุ่มที่ไม่ยอมรับ (unacceptable) : ตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่า M จากภาพที่ 2 เป็นกลุ่มที่อยู่ฝั่งขวาของค่า M



ภาพ 43 ภาพที่ 2 แผนคุณสมบัติ 3 ชั้น (three-class attributes plan)

เงื่อนไขในการตัดสินใจ (decision)

- * ยอมรับ : จำนวนตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่า $m \leq$ ค่า c
- * ปฏิเสธ : ในกรณีหนึ่งกรณีใดต่อไปนี้
 - จำนวนตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่า $m >$ ค่า c
 - จำนวนตัวอย่างที่มีค่าทางห้องปฏิบัติการสูงกว่าค่า $M \geq 1$ ตัวอย่าง (ICMSF, 2001)

2. แผนตัวแปร (variable plan)

แผนตัวแปรเป็นแผนการชักตัวอย่างที่ใช้ค่าทางห้องปฏิบัติการโดยตรงในการคำนวณ ค่าเฉลี่ย (sample mean : \bar{x}) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation : s) เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิง เช่น ค่ากำหนดคุณภาพหรือความปลอดภัย (safety/quality limit) ที่กำหนดไว้ เรียกว่า ค่า V และเกณฑ์การตัดสินใจรับ (accept) หรือ ปฏิเสธ (reject) ให้พิจารณาจากค่าเฉลี่ยผนวกกับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คูณกับ ค่า k โดยเงื่อนไขในการตัดสินใจ คือ

$$* \text{ ยอมรับ (accept) : } \bar{x} + ks \leq V$$

$$* \text{ ปฏิเสธ (reject) : } \bar{x} + ks > V$$

การพิจารณาเลือกค่า k มีความสำคัญมาก เนื่องจาก ค่า k มีผลโดยตรงต่อโอกาสในการยอมรับ/ปฏิเสธ lot ซึ่งค่า k โดยทั่วไปแล้วจะขึ้นอยู่กับ 3 ปัจจัย (ตาราง 48) คือ

1. ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ (p : Probability of rejection)
2. สัดส่วนความบกพร่องของอาหาร (p_d : proportion of defective sample units in the lot exceeding V)
3. จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ (sample size)

ตาราง 48 การเลือกค่า k ตามความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ สัดส่วนความบกพร่องของอาหาร และ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ (ICMSF 2001)

Prob.of rejection (p)	p_d^*	No. of sample unit							
		3	4	5	6	7	8	9	10
0.95	0.05	7.7	5.1	4.2	3.7	3.4	3.2	3.0	2.9
	0.10	6.2	4.2	3.4	3.0	2.8	2.6	2.4	2.4
	0.30	3.3	2.3	1.9	1.6	1.5	1.4	1.3	1.3
0.90	0.10	4.3	3.2	2.7	2.5	2.3	2.2	2.1	2.1
	0.25	2.6	2.0	1.7	1.5	1.4	1.4	1.3	1.3

* สัดส่วนความบกพร่องของอาหาร (p_d : proportion of defective sample units in the lot exceeding V)

จาก ตาราง 48 จะเห็นได้ว่า

- โอกาสในการยอมรับ lot จะมากขึ้น เมื่อ ค่า k ลดลง ในกรณีต่อไปนี้
 - = ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ ลดลง
 - = สัดส่วนความบกพร่องของอาหาร ลดลง
 - = จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ เพิ่มขึ้น
- โอกาสในการยอมรับ lot จะน้อยลง เมื่อ ค่า k เพิ่มขึ้น ในกรณีต่อไปนี้
 - = ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ เพิ่มขึ้น
 - = สัดส่วนความบกพร่องของอาหาร เพิ่มขึ้น
 - = จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ ลดลง

แผนตัวแปรเป็นแผนการชักตัวอย่างที่อาจจะไม่นิยมใช้มากเท่าแผนคุณสมบัติ เนื่องจากการใช้แผนตัวแปรนั้น ผู้ใช้พึงทราบหรือมีข้อมูลการแจกแจงความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารที่ต้องการทดสอบ (known distribution) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว มักจะตั้งสมมุติฐานเป็นการทั่วไปว่า ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารมีการแจกแจงชนิด Log normal¹¹

ตัวอย่างการใช้แผนผันแปร เช่น ค่า aerobic plate counts (APC) ของ 5 ตัวอย่างที่ตรวจ (n) คำนวณค่าทางห้องปฏิบัติการได้ ค่า $\bar{x} = 5.039 \log \text{cfu/g}$ และ ค่า $s = 0.378 \log \text{cfu/g}$ โดยกำหนด safety/quality limit ในรูปของค่า $V = 7.0 \log \text{cfu/g}$ กำหนดแผนการชักตัวอย่างชนิดผันแปร โดยมีค่า p และ ค่า $p_d = 0.95$ และ 0.25 ตามลำดับ ซึ่งจะได้ค่า $k = 1.7$ (ตารางที่ 3)

ดังนั้นผลการตัดสินอาหาร lot คือ ยอมรับ (accepted) เนื่องจาก $5.039 + (1.7 \times 0.378) = 5.682 \log \text{cfu/g}$ หรือ $\bar{x} + ks \leq V$ โดยที่ค่า $V = 7 \log \text{cfu/g}$ (ICMSF, 2001)

¹¹ เมื่อแปลงค่าความเข้มข้นเป็นเลขยกกำลังฐาน 10 (\log_{10}) แล้ว ความเข้มข้นในรูปของเลขยกกำลังจะมีการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution)

3.1.2 การเลือกแผนการชักตัวอย่างตามอันตรายจุลินทรีย์ (Selecting sampling plan by microbial hazard)

อันตรายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ตามฐานความเสี่ยง

(Microbial hazards based on risk)

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารสามารถแบ่งแยกได้เป็น 3 กลุ่ม ตามวัตถุประสงค์หรือเกณฑ์ในการทดสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร (microbial criteria) คือ

1.1 การทดสอบการใช้ประโยชน์ (Utility test)

วัตถุประสงค์ในการทดสอบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารนี้ คือ ต้องการทราบข้อมูลการปนเปื้อนจุลินทรีย์โดยทั่วไป (general contamination) จุลินทรีย์เสื่อมอาหาร (spoilage) ที่อาจจะมีผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (shelf life) เช่น การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร (total aerobic count) เพื่อให้ทราบคุณภาพอาหารในเชิงจุลินทรีย์เพื่อการทำนายหรือพยากรณ์อายุการเก็บรักษาอาหารนั้นๆ โดยทั่วไปแล้ว การทดสอบการใช้ประโยชน์มุ่งเน้นให้ทราบสดใหม่และการบริหารจัดการสินค้าคงคลังของผลิตภัณฑ์ในระหว่างรอการจำหน่ายให้กับผู้บริโภคโดยไม่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของผู้บริโภค ความเข้มงวดของการทดสอบจึงอยู่ในระดับต่ำ แผนการชักตัวอย่างจึงไม่เข้มงวด (lenient sampling plan) ตัวอย่างของการทดสอบการใช้ประโยชน์

1.1.1 การทดสอบทั่วไป

- การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียจากกล้องจุลทรรศน์ (direct microscopic count)
- การวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (yeast and mould count)
- การวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร (total aerobic count)

1.1.2 การวิเคราะห์จำนวนพิเศษ

- จุลินทรีย์ที่ทนความเย็น (cold tolerant microorganisms)
- จุลินทรีย์เฉพาะที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ (spoilage microorganism)
 - = lactobacilli ในมายองเนส
 - = thermophillic spore-former ในน้ำตาล (ICMSF, 2001)

1.2 การทดสอบบ่งชี้จุลินทรีย์ก่อโรค (Indicator test)

แม้ว่าจุลินทรีย์บางกลุ่มหรือบางชนิดอาจจะไม่ก่อโรค จัดเป็นกลุ่ม อันตรายน้อย (low hazard) แต่การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์เหล่านี้มีประโยชน์ในการบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนหรือการมีอยู่ของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (pathogen) โดยประเด็นสำคัญของการทดสอบจุลินทรีย์บ่งชี้จุลินทรีย์ก่อโรค (indicator microorganisms) เนื่องจากการชักตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีระดับต่ำมากโดยตรง อาจจะต้องชักตัวอย่างจำนวนมากหรืออาจจะทำไม่ได้ในทางปฏิบัติจริง ดังนั้นจึงเสี่ยงไปชักตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนของจุลินทรีย์บ่งชี้แทน เช่น แบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่บ่งชี้การปนเปื้อน *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ไข่ เป็นต้น ข้อควรระวัง คือ ระดับของความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์บ่งชี้กับจุลินทรีย์ก่อโรค กล่าวคือ การตรวจพบจุลินทรีย์บ่งชี้ไม่ได้หมายความว่า จะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในทุกกรณี ทั้งนี้ยังต้องพิจารณาชนิดผลิตภัณฑ์ (product) และวิธีการแปรรูป (process) ร่วมด้วย

ในอดีตที่ผ่านมา กลุ่ม coliform เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ระดับของสุขอนามัย อย่างไรก็ตาม ในผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่มีระดับสุขอนามัยที่เหมาะสม ก็ยังพบ psychrotrophic *Enterobacteriaceae* ได้ จึงส่งผลทำให้จำนวน coliform มีระดับที่สูงตามไปด้วยโดยที่ psychrotrophic *Enterobacteriaceae* มิได้ส่งผลต่อความเสี่ยงต่อผู้บริโภค หรือในกรณีของอาหารทะเล aeromonad เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้บ่อยเป็นส่วนหนึ่งของกลุ่ม coliform ซึ่ง aeromonad เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่พบเป็นปกติในอาหารทะเลโดยมิได้มีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้นในบางกรณีการนับจำนวนจุลินทรีย์บ่งชี้ก็อาจจะไม่มีประโยชน์ในการบ่งชี้การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคได้เสมอไป

ประโยชน์อื่นของการทดสอบหาจุลินทรีย์บ่งชี้ คือ กรณีที่ห้องปฏิบัติการในโรงงานแปรรูปอาหารใช้วิธีการตรวจจุลินทรีย์ที่มีลักษณะคล้ายหรือใกล้เคียงกับจุลินทรีย์ก่อโรคเป้าหมายแทน เนื่องจาก การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ก่อโรคโดยตรง จะต้องมีการเพาะเลี้ยงหรือเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคในห้องปฏิบัติการของโรงงานนั้น อาจจะทำให้เกิดโอกาสหรือความเสี่ยงสูงในการควบคุมหรือป้องกันมิให้มีการรั่วไหลปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าสู่กระบวนการแปรรูปอาหารจริง ยกตัวอย่างเช่น กรณีการตรวจจุลินทรีย์คล้าย *Listeria* (*Listeria*-like) ทำหน้าที่เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ของ *Listeria monocytogenes* เนื่องจาก คุณสมบัติการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์คล้าย *Listeria* ที่ชอบความเย็น ชื้นและปริมาณออกซิเจนต่ำใกล้เคียงกับ *Listeria monocytogenes* สำหรับกลุ่มจุลินทรีย์บ่งชี้และวัตถุประสงค์ของโรงงานแปรรูปอาหารในการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์บ่งชี้เหล่านี้ สรุปได้ดังตาราง 49 (ICMSF, 2001)

ตาราง 49 กลุ่มจุลินทรีย์บ่งชี้และกรณีบ่งชี้ในโรงงานแปรรูปอาหาร

กลุ่ม/ชนิด/จุลินทรีย์บ่งชี้ชนิด	ชนิดอาหาร	กรณีบ่งชี้ในการตรวจวิเคราะห์
Mesophilic spore-former	Low-acid shelf stable canned foods	Under processing of non-leaking canned food
- <i>Enterobacteriaceae</i>	Pasteurized foods	Recontamination after heating
- Coliform		
<i>E.coli</i>	Water	Fecal contamination
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cooked foods	Human skin contamination

1.3 การทดสอบจุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen test)

การทดสอบจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นการทดสอบเพื่อประเมินการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารที่ผลิตเพื่อเป็นการประกันความปลอดภัยของอาหารนั้นๆ โดยมากใช้ในสถานการณ์ต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. การชักตัวอย่างประจำ (routine sampling) ใช้ในกรณีที่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ระบุอย่างชัดเจนว่าใช้เป็นเครื่องมือในการควบคุมความปลอดภัยอาหารได้

2. การทวนสอบ (verification) ระบบ Good Hygienic Practice (GHP) และ HACCP

3. การชักตัวอย่างสืบสวน (investigational sampling) ในกรณีที่ต้องการสืบสวนหรือหาต้นเหตุของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่มาจากผลิตภัณฑ์อาหารนั้น

การจำแนกชนิดของอันตรายจุลินทรีย์ตามระดับความเสี่ยง (categorizing microbial hazards) อันตรายในบริบทนี้ คือ อันตรายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จุลินทรีย์ก่อโรคที่จัดเป็นอันตรายในอาหารจะก่อให้เกิดโรคหรือความรุนแรงในระดับที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาแบ่งได้เป็น 3 ระดับตามความรุนแรงและระดับความเสี่ยง (risk level) (ตาราง 50) คือ

1. อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)

จุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มนี้จะก่อให้เกิดลักษณะของผลกระทบ คือ

- ไม่ก่อให้เกิดอันตรายจนถึงแก่ชีวิต (non life threatening)
- ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพเรื้อรัง (no sequelae)
- อาการโรคอาหารเป็นพิษระยะสั้นๆ (short duration)

- อาการโรคอาหารเป็นพิษทำให้เกิดความไม่สบาย (severe discomfort)
- โรคอาหารเป็นพิษไม่รุนแรง (self limiting)
- จุลินทรีย์ก่อโรคอาจทำให้เกิดอันตรายมากในประชากรบางกลุ่ม

เช่น *Listeria monocytogenes* เป็นอันตรายปานกลาง โดยก่อให้เกิดอาการโรคอาหารเป็นพิษในทางเดินอาหารเพียงระยะสั้นๆ ในกลุ่มประชากรทั่วไป แต่ *Listeria monocytogenes* กลับเป็นอันตรายมาก โดยก่อให้เกิดอาการแพ้ในกลุ่มของหญิงตั้งครรภ์ หรือ รุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตในกลุ่มประชากรที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunocompromised population)

2. อันตรายมาก (Serious hazard)

จุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มนี้จะก่อให้เกิดลักษณะของผลกระทบ คือ

- ไม่ก่อให้เกิดอันตรายจนถึงแก่ชีวิต (non life threatening)
- บางครั้งมีผลกระทบสุขภาพเรื้อรัง (sequelae)
- อาการโรคอาหารเป็นพิษระยะปานกลาง (moderate duration)
- ส่วนมากก่อโรคอาหารเป็นพิษไม่รุนแรง (self limiting)
- ส่วนน้อยก่อโรครุนแรง

เช่น *Campylobacter jejuni* บางสายพันธุ์ ทำให้เกิด Guillain-Barre syndrome ซึ่งมีอาการรุนแรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มประชากรไว (susceptible population)

3. อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)

จุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มนี้จะก่อให้เกิดลักษณะของผลกระทบ คือ

- ก่อให้เกิดอันตรายจนถึงแก่ชีวิต (life threatening)
- มีผลกระทบสุขภาพเรื้อรัง (sequelae)
- อาการโรคอาหารเป็นพิษระยะยาว (long duration) (ICMSF, 2001)

ตาราง 50 การจำแนกกลุ่มของอันตรายจุลินทรีย์ตามระดับความเสี่ยงและตัวอย่างจุลินทรีย์ก่อโรค

อันตรายจุลินทรีย์	ตัวอย่างจุลินทรีย์	Risk	
		Per day	Per year
อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)	<i>Bacillus cereus</i> (emetic toxin)	10^{-4}	3.65×10^{-2}
	<i>Clostridium perfringens</i> type A		
	<i>Enteropathogenic E.coli</i> (EPEC)		
	<i>Enterotoxigenic E.coli</i> (ETEC)		
	Norovirus		
	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	<i>Vibrio cholera</i> non-O1 และ non-O139		
อันตรายมาก (Serious hazard)	Hepatitis A virus	10^{-5}	3.65×10^{-3}
	<i>Listeria monocytogenes</i>		
	<i>Shigella flexneri</i>		
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		
อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)	<i>Campylobacter jejuni</i>	10^{-6}	3.65×10^{-4}
	<i>Clostridium botulinum</i>		
	<i>Enterobacter sakazakii</i>		
	<i>Enterohaemorrhagic E.coli</i>		
	Non-typhoidal <i>Salmonella</i> e.g. <i>S.Typhimurium</i> , <i>S.Enteritidis</i>		
	<i>Shigella dysenteriae</i>		
	<i>Vibrio cholera</i> O1 และ O139		

3.1.3 กรณีต่างๆ ของแผนการชักตัวอย่าง

(Cases of sampling plan)

กรณีต่างๆ ของแผนการชักตัวอย่างนั้น พิจารณาจาก 2 ปัจจัยสำคัญต่อไปนี้ (ICMSF, 2001) คือ

1. อันตรายจุลินทรีย์

(Microbial hazards)

จากในหัวข้อที่ผ่านมา อันตรายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ตามฐานความเสี่ยง ทำให้สามารถแยกจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ออกได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

- 1.1 จุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ (Utility)
- 1.2 จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator) หรือ จุลินทรีย์อันตรายต่ำ (Low hazard)
- 1.3 จุลินทรีย์อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)
- 1.4 จุลินทรีย์อันตรายรุนแรง (Serious hazard)
- 1.5 จุลินทรีย์อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)

2. สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง

(Conditions where food is expected to be handled & consumed after sampling)

สำหรับอาหารที่ผ่านการชักตัวอย่างไปแล้ว อาจจะมีระดับความเสี่ยงที่แตกต่างกันขึ้นกับปัจจัย เช่น อุณหภูมิในการเก็บรักษา (storage temperatures) ระยะเวลาการเก็บรักษา (storage time) การปรุงอาหารด้วยความร้อน (cooking) อาจจะทำให้จำนวนจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลง และตามมาด้วยความเสี่ยงที่อาจจะมี การเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกัน ดังนั้น จึงแบ่งกลุ่มอาหารตามเกณฑ์นี้เป็น 3 ระดับ คือ

2.1 ความเสี่ยงลดลง (Decrease risk)

กรณีที่ก่อนบริโภคนั้น อาหารเพียงจะมีการผ่านความร้อนในการปรุงอาหาร ซึ่งอุณหภูมิที่สูงโดยทั่วไป สามารถทำลายหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้ ระดับความเสี่ยงจึงลดลง ตัวอย่างอาหารกลุ่มนี้เช่น -

เนื้อสัตว์ดิบชนิดต่างๆ เส้นพาสต้าแห้ง ผงปรุงซุปลำเร็จรูป

- เนื้อสัตว์ชนิดแห้งในน้ำเกลือร้อยละ 16 ขึ้นไป
- เนื้อสัตว์ที่บริโภคสุก

2.2 ความเสี่ยงคงเดิม (Constant risk)

กรณีทีหลังจากซั้กตัวอย่างแล้ว จุลินทรีย์พื้งมีจำนวนที่ไม่เปลี่ยนแปลง ดั้งนั้น ระดับความเสื้ยงจื้งคงที่ ตัวอย่างอาหารกลุ่มนี้่ เช่น

- เนื้อสัตว์ดิบชนิดต่างๆ ที่เก็บรักษาในลักษณะแช่แข็ง (frozen storage)
- ครีม
- เนื้อสัตว์ชนิดแห้ง (dried meat)
- แสมแช่เย็นที่ 6°C ซึ่ง *Staphylococcus aureus* ไม่สามารถสร้างสารพิษได้

2.3 ความเสื้ยงเพิ่มขึ้้น (Increase risk)

กรณีทีหลังจากซั้กตัวอย่างแล้ว อาหารหรือสภาวะการเก็บรักษาพื้งทำให้จำนวนจุลินทรีย์ในอาหารเพิ่มมากขึ้น ระดับความเสื้ยงจื้งเพิ่มขึ้้น ตัวอย่างอาหารกลุ่มนี้่ เช่น

- นมผง (สำหรับเด็ก) ที่ต้องมีการละลายน้ำก่อนบริโภค
- เนื้อสัตว์ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิที่จุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนได้
- เนื้อปลาที่บริโภคดิบ
- ไข่ผง หรือ น้้านมผง ที่ผ่านความร้อน (pasteurization) ก่อนการกระจายสินค้า (distribution)

แต่ไม่ผ่านความร้อนซ้ำก่อนการบริโภค

- อาหารมุ่งสำหรับประชากรที่มีความไวต่อโรคอาหารเป็นพิษ (susceptible population) หรือ ประชากรที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunocompromised population)
- อาหารที่ต้องแช่แข็งต่อเนื่องก่อนการบริโภคหรือก่อนการปรุงอาหาร

ดั้งนั้น เมื่อผนวกทั้ง 2 ปัจจัย คือ ตามอันตรายและสถานภาพอาหารหลังการซั้กตัวอย่าง เข้าด้้วยกัน ทำ ให้สามารถแบ่งการซั้กตัวอย่างออกเป็น 15 กรณี (ตาราง 51)

ตาราง 51 การจำแนกกรณีต่างๆ (case) ของการชักตัวอย่างตามปัจจัยอันตรายและการเปลี่ยนแปลงระดับความเสี่ยงหลังการชักตัวอย่าง

อันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard)	สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (Conditions where food is expected to be handled and consumed after sampling)		
	ความเสี่ยงลดลง (reduce risk)	ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk)	ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk)
	จุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ (Utility)	กรณีที่ 1	กรณีที่ 2
จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator)	กรณีที่ 4	กรณีที่ 5	กรณีที่ 6
อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)	กรณีที่ 7	กรณีที่ 8	กรณีที่ 9
อันตรายรุนแรง (Serious hazard)	กรณีที่ 10	กรณีที่ 11	กรณีที่ 12
อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)	กรณีที่ 13	กรณีที่ 14	กรณีที่ 15

3.1.4 การเลือกกรณีของแผนการชักตัวอย่าง ตามอันตรายจุลินทรีย์ (cases of sampling plan by microbial hazard)

1. อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)

1.1 *Staphylococcus aureus*

- อาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว เช่น อาหารทะเลสุก เนื้อสัตว์สุก เป็นต้น และอาหารนั้นมีการผ่านกระบวนการแปรรูปเพิ่มเติม เช่น การปกปิดเปลือกสัตว์ทะเล แยกกระดูกจากตัวสัตว์ เป็นต้น อาจจะมีโอกาสปนเปื้อน *Staphylococcus aureus* จากมือของผู้สัมผัสอาหาร ระดับความเสี่ยงอาจจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงเลือกกรณี 9

- อาหารที่เค็มจากเกลือ โดย *Staphylococcus aureus* ทนความเค็มได้ดีกว่าจุลินทรีย์อื่น ระดับความเสี่ยงอาจจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงเลือกกรณี 9

- การใช้เชื้อเริ่มต้น (starter) เติบโตในการผลิตเนยแข็ง หรือ แป้งสำหรับซูปไส้กรอกทอด (sausage batter) สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ปกติและ *Staphylococcus aureus* ได้ ระดับความเสี่ยงไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 8

- การเพิ่มเกลือในการผลิตเนยแข็ง หรือ แป้งสำหรับซูปไส้กรอกทอด (sausage batter) อาจชะลอการเจริญเติบโตของ starter ได้ ในขณะที่ *Staphylococcus aureus* มีการเพิ่มจำนวนขึ้นมา ระดับความเสี่ยงอาจจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงเลือกกรณี 9

1.2 *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens*

แม้ว่าทั้ง *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* จะมีคุณลักษณะร่วมกันกับ *Staphylococcus aureus* แต่ *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* สามารถสร้าง spore ที่ทนความร้อนได้ ทำให้อาหารที่ผ่านขั้นตอนการแปรรูปด้วยความร้อนทั่วไป ไม่สามารถลดระดับความเสี่ยงลงได้ ดังนั้น จึงเลือกกรณี 8 หรือ 9

2. อันตรายรุนแรง ถึง อันตรายถึงชีวิต (Serious to Severe hazard)

non-typhoidal *Salmonella* เป็นแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญ พบปนเปื้อนและเป็นปัญหาในอาหารโปรตีนดิบ เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ความร้อนในการปรุงอาหารสามารถทำลาย *Salmonella* ได้ แต่การปนเปื้อน *Salmonella* ยังสามารถเกิดขึ้นได้หลังจากอาหารผ่านความร้อนแล้ว โดยที่ความแห้งหรือความเย็นไม่สามารถทำลาย *Salmonella* ได้ สามารถพิจารณาอันตรายจาก *Salmonella* เป็นอันตรายรุนแรง

สำหรับประชากรทั่วไป (general population) หรือ เป็นอันตรายถึงชีวิตสำหรับประชากรไว (susceptible population) แผนการซักรตัวอย่างสำหรับอาหารต่อไปนี้ คือ

- บริโภคอาหารแห้งหลังเติมน้ำเข้าไป โดยมีการผ่านความร้อนซ้ำ ระดับความเสี่ยงอาจจะลดลง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 10 หรือ กรณี 13

- บริโภคอาหารแห้งในลักษณะแห้ง ระดับความเสี่ยงไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 11 หรือ กรณี 14

- บริโภคอาหารแห้งล่าช้าหลังเติมน้ำเข้าไป โดยไม่มีการผ่านความร้อนซ้ำ ระดับความเสี่ยงอาจจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงเลือกกรณี 12 หรือ กรณี 15

3.1.5 การเลือกกรณีของแผนการซักรตัวอย่าง ตามสถานภาพอาหารหลังซักรตัวอย่าง (cases of sampling plan by condition after sampling)

การเลือกกรณีของแผนซักรตัวอย่างตามสถานภาพอาหารจะเป็นการพิจารณาผลิตภัณฑ์อาหารตามปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ตั้งแต่วัตถุดิบ การแปรรูป การเก็บรักษาและวิธีการบริโภคอาหารนั้นๆ

1. วิธีการถนอมอาหาร (Preservation condition)

วิธีการถนอมอาหารเป็นการกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น ความเป็นกรดต่าง (pH) ปริมาณน้ำอิสระ (water activity) อุณหภูมิ (temperature) และปริมาณออกซิเจน (oxygen) เป็นต้น เช่น

- เนื้อสดที่มีความเข้มข้นเกลือตั้งแต่ร้อยละ 16 ขึ้นไป เก็บรักษาที่อุณหภูมิที่จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ ระดับความเสี่ยงอาจจะเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงเลือกกรณี 6, 9, 12 หรือ 15

- เนื้อสัตว์ชนิดแห้ง (dried meat) ระดับความเสี่ยงไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 5, 8, 11 หรือ 14

- อาหารในน้ำเกลือ (brine) ร้อยละ 10 พบว่า *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้น จึงเลือกกรณี 6

- อาหารในน้ำเกลือ (brine) ร้อยละ 10 พบว่า *Salmonella* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นจึงเลือกกรณี 11

2. อุณหภูมิในการเก็บรักษา (Storage temperature)

อุณหภูมิจัดว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการกำหนดโอกาสในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร

- แคมแช่เย็นที่ 6°C เนื่องจาก *Staphylococcus aureus* ไม่สามารถสร้างสารพิษได้ จึงเลือกกรณี 8

- แคมแช่เย็นที่ 6°C เนื่องจาก *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* และ non-proteolytic *Clostridium botulinum* มีโอกาสเจริญเติบโตได้ ดังนั้น จึงเลือกกรณี 9

3. จุลินทรีย์แข่งขัน (Competitive flora)

การมีจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าที่มีผลชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นได้ในลักษณะแข่งขัน การเพิ่มจำนวนในอาหาร เช่น *Staphylococcus aureus* มักจะถูกจำกัดการเจริญเติบโตเนื่องจากแข่งขันกับ จุลินทรีย์เสีย (spoilage microorganism) จำนวนมากในอาหารไม่ได้ ดังนั้น สารพิษที่สร้างโดย *Staphylococcus aureus* จึงมักพบในอาหารที่การแปรรูปจนจำนวนจุลินทรีย์เสื่อมลดลง เช่น แคมปนเปื้อนด้วย *Staphylococcus aureus* หลังผ่านความร้อนแล้ว เป็นต้น

4. พฤติกรรมการบริโภค (Eating behavior)

Vibrio parahaemolyticus เจริญเติบโตได้ดีในปลา (ยกเว้นกรณีมีการแช่เย็นปลา)

- ทำให้ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นปัญหาในประเทศญี่ปุ่นที่บริโภคปลาดิบ จึงเลือกกรณี 8 หรือ 9

- ประเทศที่บริโภคปลาที่ผ่านความร้อน ทำให้ *Vibrio parahaemolyticus* ถูกทำลาย จึงเลือกกรณี 7

5. การคืนรูปอาหารแห้ง (Reconstituting dried food)

อาหารที่ผ่านความร้อนก่อนการกระจายสินค้า เช่น ไข่ผงหรือนมผงสำหรับเด็ก อาจจะไม่ผ่านความร้อนซ้ำ ก่อนการบริโภค และหากเป็นอาหารสำหรับกลุ่มประชากรที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ก็จะเป็นการเพิ่มระดับความเสี่ยง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 6, 9, 12 หรือ 15

6. ภูมิคุ้มกันของกลุ่มประชากร (Population immunity)

หากเป็นอาหารสำหรับกลุ่มประชากรที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ก็จะเป็นการเพิ่มระดับความเสี่ยง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 6, 9, 12 หรือ 15

7. การเก็บรักษาและการเตรียมอาหารเพื่อการบริโภค (Storage and Preparation)

8. การแปรรูปด้วยความร้อน อาหารที่พึ่งผ่านความร้อนก่อนการบริโภค เนื่องจากความร้อนสามารถทำลายจุลินทรีย์ในอาหารได้ ระดับความเสี่ยงจึงลดลง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 4, 7, 10 หรือ 13

9. อาหารที่จำนวนจุลินทรีย์ไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้ความเสี่ยงคงที่ เช่น อาหารแช่แข็ง ดังนั้น จึงเลือกกรณี 5, 8, 11 หรือ 14

10. อาหารที่จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ทำให้ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น เช่น นมผงที่คืนรูปแต่มีการปนเปื้อนด้วย จุลินทรีย์ก่อโรค เป็นต้น ดังนั้น จึงเลือกกรณี 6, 9, 12 หรือ 15

3.1.6 ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างในกรณีต่างๆ

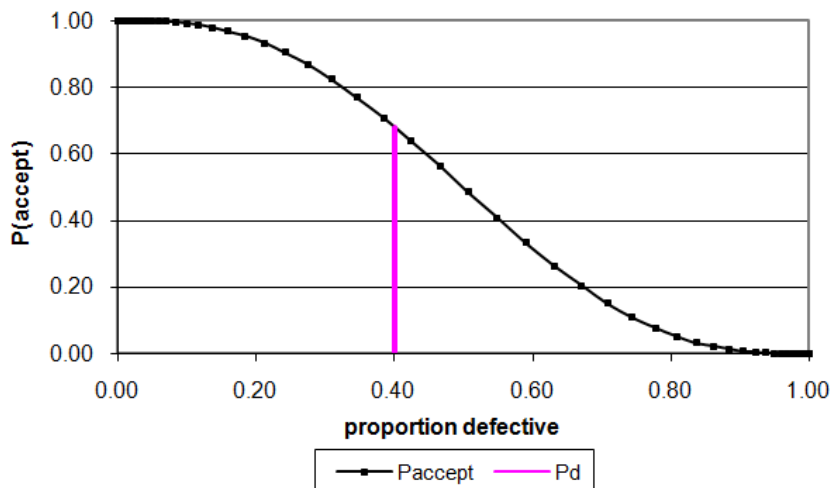
(Sampling plan performance by cases)

แผนการชักตัวอย่างในกรณีต่างๆ (case) ถูกกำหนดขึ้นตามระดับความเข้มงวด (stringency) ซึ่งมีความเหมาะสมหรือสอดคล้องกับ ¹ ชนิดของอันตรายจุลินทรีย์ (Microbial hazard) และ ² ระดับความเสี่ยงอันเกิดจากสถานภาพอาหารที่อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงหลังการชักตัวอย่าง (Conditions where food is expected to be handled & consumed after sampling)

ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่าง (sampling plan performance) คือ ความสามารถของแผนการชักตัวอย่างในการแบ่งแยกระหว่าง lot ที่มีคุณภาพเหมาะสมตามเกณฑ์และ lot ที่ไม่มีคุณภาพเหมาะสมตามเกณฑ์ออกจากกันได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากจุลินทรีย์มีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอทั่วทั้ง lot การชักตัวอย่างเป็นเพียงตัวแทนของผลิตภัณฑ์อาหารทั้ง lot ดังนั้น โดยทั่วไป การกำหนดประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่าง จะมีการกำหนดค่าอ้างอิง 2 ค่า คือ

1. ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (probability of acceptance : Pa) คือ สัดส่วน lot ที่ได้รับการตัดสินให้ผ่านเกณฑ์คุณภาพ จากทุก lot ที่มีคุณภาพเดียวกันทั้งหมดที่ผ่านการชักตัวอย่างเพื่อพิจารณาเกณฑ์คุณภาพ (expected proportion of occasions that the results will indicate that the lot is acceptable out of the number of times a lot of this given quality is sampled to find a decision)

ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างอาจจะอธิบายหรือนำเสนอในรูปของเส้นโค้งลักษณะเฉพาะปฏิบัติการ (operating characteristic curve หรือ OC curve) โดยแกนตั้ง คือ ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (Pa) และ แกนนอน คือ สัดส่วนบกพร่อง (Proportion defective : Pd) ของผลิตภัณฑ์ในแต่ละ lot ดัง ภาพ 44 จะเห็นได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงหรือสัดส่วนบกพร่องของผลิตภัณฑ์ (Pd) ต่ำ ความน่าจะเป็นในการยอมรับจะสูงกว่า และในทางตรงกันข้าม ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพต่ำหรืออัตราความบกพร่องของผลิตภัณฑ์สูง ความน่าจะเป็นในการยอมรับจะต่ำกว่า



ภาพ 44 เส้นโค้งลักษณะเฉพาะปฏิบัติการ หรือ ประสิทธิภาพแผนการชักตัวอย่าง $n = 5$ $c = 2$

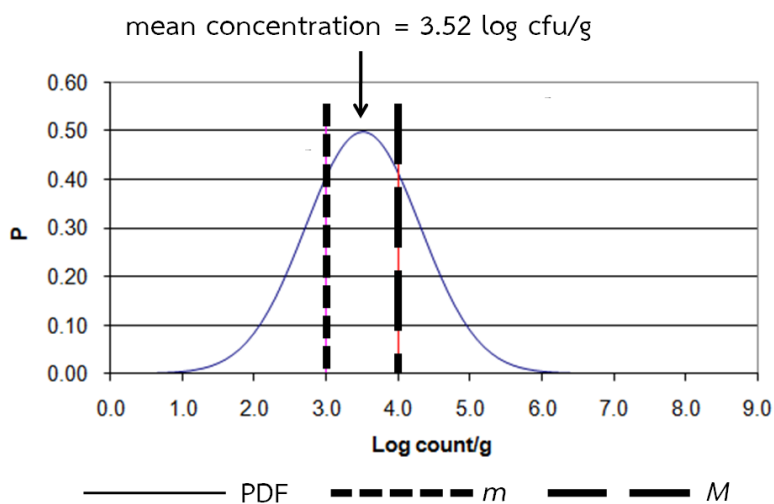
ยกตัวอย่างดัง ภาพ 44 ผลิตภัณฑ์อาหาร lot หนึ่งที่มีสัดส่วนบกพร่อง (Pd) ร้อยละ 40 เมื่อใช้แผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$ หรือ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ คือ 5 ตัวอย่าง โดยจะยอมรับ (accept) lot นี้เมื่อจำนวนตัวอย่างต่ำกว่า ค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (microbiological limit) m ไม่เกิน 2 ตัวอย่างนั้น จะมีประสิทธิภาพในการยอมรับ lot จำนวน 68 ครั้ง จากการชักตัวอย่างตรวจจำนวน 100 ครั้ง หรือ มีความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) ร้อยละ 68 หรือในทางตรงกันข้าม ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ (Probability of rejection : P_r) ร้อยละ 32 หมายความว่า แผนการชักตัวอย่างนี้ จะปฏิเสธ lot ที่มีสัดส่วนบกพร่อง (Pd) ร้อยละ 40 จำนวน 32 ครั้ง จากการชักตัวอย่างตรวจจำนวน 100 ครั้ง

ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) เรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า ความเสี่ยงผู้บริโภค (consumer's risk) คือ ความน่าจะเป็นในการยอมรับ lot ที่พึงจะตกเกณฑ์คุณภาพ หมายความว่า โอกาสที่ผู้บริโภคจะได้รับผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ และในทางตรงกันข้าม ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ (Probability of rejection : P_r) เรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า ความเสี่ยงผู้ผลิต (producer's risk) คือ ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ lot ที่พึงจะผ่านเกณฑ์คุณภาพ หมายความว่า โอกาสที่ผู้ผลิตจะถูกระงับการจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ

โดยทั่วไปแล้วจะกำหนดความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) ที่ร้อยละ 5 หรือ 0.05 หมายความว่า ผลิตภัณฑ์อาหารคุณภาพเดียวกันทั้งหมด 100 lot ที่ผ่านการชักตัวอย่าง เพื่อพิจารณาเกณฑ์คุณภาพ จะมีเพียง 5 lot ที่ได้รับการตัดสินให้ผ่านเกณฑ์คุณภาพ (ICMSF, 2001)

2. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) การกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จากข้อมูลที่รวบรวมจากแผนการเฝ้าระวัง *Salmonella*, *E.coli* O157:H7 และจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์ดิบ พบว่า ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์มีค่า 0.8 (Legan et al., 2001 และ van Schothorst et al, 2009)

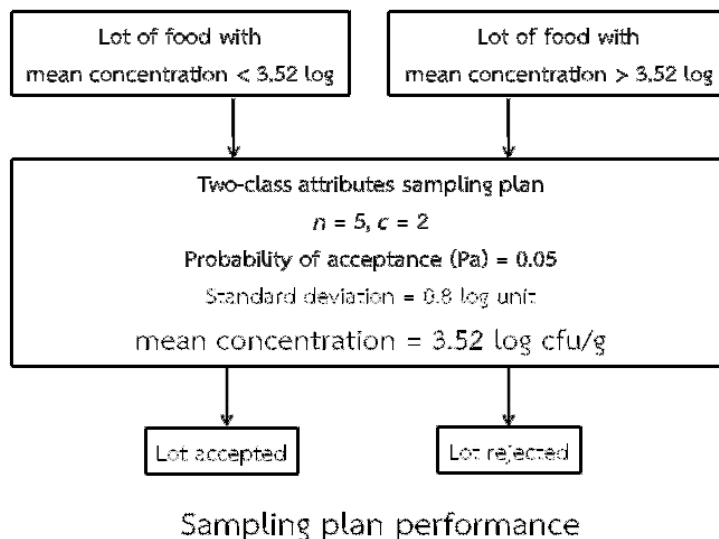
**Probability density function (PDF) for log counts.
Distribution mean = 3.52 and sigma = 0.80**



ภาพ 45 การกระจายตัวของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใน lot ที่ผ่าน

แผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$, $m = 3 \log (10^3) \text{ cfu/g}$ และ $M = 4 \log (10^4) \text{ cfu/g}$

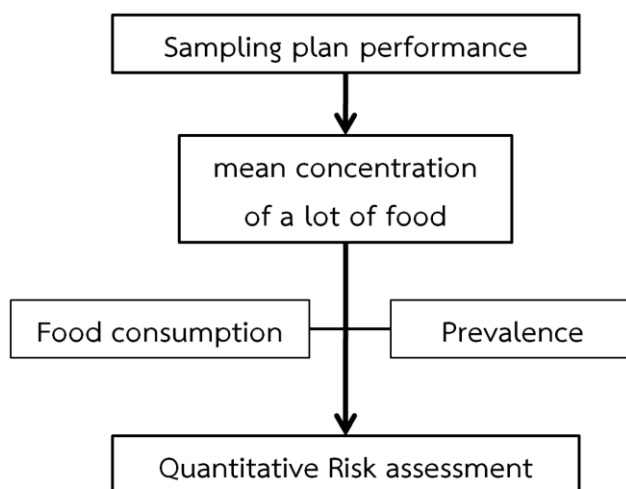
ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานการกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ (SD) จะกำหนดให้เป็น 0.05 และ 0.8 ตามลำดับ เพื่อใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่าง โดยพบว่า แผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$ หรือ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ คือ 5 ตัวอย่าง โดยจะยอมรับ (accept) lot นี้ เมื่อจำนวนตัวอย่างต่ำกว่าค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (microbiological limit) m ไม่เกิน 2 ตัวอย่าง โดย $m = 3 \log \text{ cfu/g}$ และ $M = 4 \log \text{ cfu/g}$ จะมีประสิทธิภาพในการอนุมานความเข้มข้นเฉลี่ย (mean concentration) การปนเปื้อนจุลินทรีย์ใน lot นั้น = 3,311 cfu/g หรือ 3.52 log cfu/g (Error! Reference source not found. ภาพ 46)



ภาพ 46 ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่าง

$n = 5, c = 2, m = 3 \log(10^3) \text{ cfu/g}$ และ $M = 4 \log(10^4) \text{ cfu/g}$

ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างในการอนุมานหรือกำหนดความเข้มข้นเฉลี่ย (mean concentration) นี้มีความสำคัญมาก เนื่องจาก ความเข้มข้นเฉลี่ยนี้เมื่อผนวกรวมกับข้อมูลปริมาณการบริโภคอาหาร (consumption) และความชุก (prevalence) ทำให้สามารถประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (quantitative risk assessment) ของผู้บริโภคในการบริโภคอาหารใน lot นั้นๆ ได้ (ตาราง 47)



ภาพ 47 ความสำคัญของประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างในการใช้ประเมินความเสี่ยง

มีการแนะนำแผนการชักตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับแต่ละกรณี (case) ตามชนิดของอันตราย (microbial hazard) และสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (condition after sampling) ดังแสดง ตาราง 52

ตาราง 52 แผนการชักตัวอย่างที่แนะนำสำหรับกรณีต่างๆ ตามชนิดอันตรายและสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (ICMSF, 2001)

อันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard)	สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (Conditions where food is expected to be handled and consumed after sampling)		
	ความเสี่ยงลดลง (reduce risk)	ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk)	ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk)
	จุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ (Utility)	กรณีที่ 1 Three-class $n = 5, c = 3$	กรณีที่ 2 Three-class $n = 5, c = 2$
จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator)	กรณีที่ 4 Three-class $n = 5, c = 3$	กรณีที่ 5 Three-class $n = 5, c = 2$	กรณีที่ 6 Three-class $n = 5, c = 1$
อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)	กรณีที่ 7 Three-class $n = 5, c = 2$	กรณีที่ 8 Three-class $n = 5, c = 1$	กรณีที่ 9 Three-class $n = 10, c = 1$
อันตรายรุนแรง (Serious hazard)	กรณีที่ 10 Two-class $n = 5, c = 0$	กรณีที่ 11 Two-class $n = 10, c = 0$	กรณีที่ 12 Two-class $n = 20, c = 0$
อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)	กรณีที่ 13 Two-class $n = 15, c = 0$	กรณีที่ 14 Two-class $n = 30, c = 0$	กรณีที่ 15 Two-class $n = 60, c = 0$

ข้อสังเกตที่น่าสนใจจาก ตาราง 52 มีดังต่อไปนี้

1. แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น (Three-class plan) ใช้สำหรับ จุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ (Utility) จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator) หรือ อันตรายต่ำ (Low hazard) และ อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)

2. แผนการชักตัวอย่าง 2 ชั้น (Two-class plan) ใช้สำหรับ อันตรายรุนแรง (Serious hazard) และ อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)

3. ความเข้มงวด (stringency) หรือประสิทธิภาพ (performance) ของแผนการชักตัวอย่าง จะขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัยต่อไปนี้ คือ

- ชนิดของอันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard) พิจารณาในเชิงเปรียบเทียบจากระดับความรุนแรงของอันตรายปานกลาง ถึง อันตรายถึงชีวิต จะมีระดับความเข้มงวดที่เพิ่มขึ้น

= อันตรายปานกลาง (moderate hazard) ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) ดังกรณีที่ 8 ใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5, c = 1$

= อันตรายรุนแรง (serious hazard) ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) ดังกรณีที่ 11 โดยมีการยกระดับความเข้มงวดของอันตรายปานกลางที่ใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น เป็นแผนการชักตัวอย่าง 2 ชั้น นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มจำนวนการชักตัวอย่างจากอันตรายปานกลาง $n = 5$ เป็น $n = 10$

= อันตรายถึงชีวิต (severe hazard) ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) ดังกรณีที่ 14 โดยมีการยกระดับความเข้มงวดของอันตรายรุนแรงที่ชักตัวอย่าง $n = 10$ เป็น $n = 30$

- สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (condition after sampling) กล่าวคือ

= สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่างทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนคงที่ ส่งผลให้ความเสี่ยงคงที่ (constant risk) ดังกรณีที่ 2 และ กรณีที่ 5 ใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5, c = 2$

= สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่างทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนลดลง ส่งผลให้ความเสี่ยงลดลง (reduce risk) ดังกรณีที่ 1 และ กรณีที่ 4 แม้ว่าจะใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5$ เหมือนกันกับกรณีที่ 2 และ กรณีที่ 5 แต่มีระดับความเข้มงวดน้อยลง เนื่องจากแผนการชักตัวอย่างกรณีที่ 1 และ กรณีที่ 4 อนุญาตให้มีจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ หรือ c เพิ่มขึ้นมา 1 ตัวอย่าง เป็น $c = 3$

= สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่างที่ทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk) ดังกรณีที่ 3 และ กรณีที่ 6 แม้ว่าจะใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5$ เหมือนกันกับกรณีที่ 2 และ กรณีที่ 5 แต่มีระดับความเข้มงวดมากขึ้น เนื่องจากแผนการชักตัวอย่างกรณีที่ 3 และ กรณีที่ 6 อนุญาตให้มีจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ หรือ c ลดลงมา 1 ตัวอย่าง เป็น $c = 1$

แผนการชักตัวอย่างในแต่ละกรณี (case) ตามชนิดของอันตราย (microbial hazard) และสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (condition after sampling) เมื่อพิจารณาร่วมกับความน่าจะเป็นในการยอมรับ (Pa) ที่ร้อยละ 5 และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของของการกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์มีค่าประมาณ 0.8 log (Legan et al., 2001 และ van Schothorst et al, 2009) ทำให้สามารถทราบความเข้มข้นเฉลี่ยของ lot ที่ผ่านแผนการชักตัวอย่างนั้นๆ ได้ (ตาราง 53)

ตาราง 53 ความเข้มข้นเฉลี่ยของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน (mean concentration) ใน lot ตามประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างที่แนะนำสำหรับกรณีต่างๆ ตามชนิดอันตรายและสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (ICMSF, 2001)

อันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard)	สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (Conditions where food is expected to be handled and consumed after sampling)		
	ความเสี่ยงลดลง (reduce risk)	ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk)	ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk)
จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator)	กรณีที่ 4	กรณีที่ 5	กรณีที่ 6
	Three-class $n = 5, c = 3$ $m=10^3/g, M=10^4/g$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 5,128/g	Three-class $n = 5, c = 2$ $m=10^3/g, M=10^4/g$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 3,311/g	Three-class $n = 5, c = 1$ $m=10^3/g, M=10^4/g$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 1,819/g
อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)	กรณีที่ 7	กรณีที่ 8	กรณีที่ 9
	Three-class $n = 5, c = 2$ $m=10^3/g, M=10^4/g$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 3,311/g	Three-class $n = 5, c = 1$ $m=10^3/g, M=10^4/g$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 1,819/g	Three-class $n = 10, c = 1$ $m=10^3/g, M=10^4/g$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 575/g
อันตรายรุนแรง (Serious hazard)	กรณีที่ 10	กรณีที่ 11	กรณีที่ 12
	Two-class $n = 5, c = 0$ $m = 0.04/g^*$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 0.032/g หรือ = 32/1,000g	Two-class $n = 10, c = 0$ $m = 0.04/g^*$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 0.012/g หรือ = 12/1,000g	Two-class $n = 20, c = 0$ $m = 0.04/g^*$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 0.0054/g หรือ = 5.4/1,000g
อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)	กรณีที่ 13	กรณีที่ 14	กรณีที่ 15
	Two-class $n = 15, c = 0$ $m = 0.04/g^*$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 0.0074/g หรือ = 7.4/1,000g	Two-class $n = 30, c = 0$ $m = 0.04/g^*$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 0.0036/g หรือ = 3.6/1,000g	Two-class $n = 60, c = 0$ $m = 0.04/g^*$ ความเข้มข้นเฉลี่ย = 0.0019/g หรือ = 1.9/1,000g

* ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคใน 25 ตัวอย่าง (analytical unit) เทียบเท่ากับ $m = 0.04$ cfu/g

ข้อสังเกตที่น่าสนใจจาก ตาราง 53 มีดังต่อไปนี้

1. ความเข้มข้นเฉลี่ยของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ใน lot นั้นจะแปรผกผันกับระดับความเข้มงวด (stringency) หรือประสิทธิภาพ (performance) ของแผนการชักตัวอย่าง กล่าวคือ

- ระดับความเข้มงวดหรือประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างต่ำ จะมีความเข้มข้นเฉลี่ยสูง
- ระดับความเข้มงวดหรือประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างสูง จะมีความเข้มข้นเฉลี่ยต่ำ

2. แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น (Three-class plan) ที่ใช้สำหรับจุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ (Utility) จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator) หรือ อันตรายต่ำ (Low hazard) อันตรายปานกลาง (Moderate hazard) จะมีระดับความเข้มงวดหรือประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างต่ำกว่า แผนการชักตัวอย่าง 2 ชั้นที่ใช้สำหรับอันตรายรุนแรง (Serious hazard) และอันตรายถึงชีวิต (Severe hazard) กล่าวคือ

- lot ที่ผ่านแผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น ดังในกรณีที่ 4 ถึง กรณีที่ 9 จะมีความเข้มข้นเฉลี่ยของจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 575-5,128 cfu/g
- lot ที่ผ่านแผนการชักตัวอย่าง 2 ชั้น ดังในกรณีที่ 10 ถึง กรณีที่ 15 จะมีความเข้มข้นเฉลี่ยของจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 0.0019-0.032 cfu/g

จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ระดับความเข้มข้นเฉลี่ย (mean concentration) ตามแผนการชักตัวอย่างที่ 3 สูงกว่าระดับความเข้มข้นเฉลี่ยตามแผนการชักตัวอย่างที่ 2 ทั้งนี้เนื่องจาก กรณีที่ 4 ถึงกรณีที่ 9 ใช้สำหรับจุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ (Utility) จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator) หรือ อันตรายต่ำ (Low hazard) อันตรายปานกลาง (Moderate hazard) ซึ่งมีระดับอันตรายต่ำกว่า ในขณะที่ กรณีที่ 10 ถึง กรณีที่ 15 ใช้สำหรับอันตรายรุนแรง (Serious hazard) และอันตรายถึงชีวิต (Severe hazard) จัดว่าเป็นแนวทางที่ถูกต้องและเหมาะสมในการเพิ่มระดับความเข้มงวดหรือประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างให้เพิ่มมากขึ้นให้สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงที่เพิ่มสูงขึ้นจากอันตรายจุลินทรีย์ที่สูงมากขึ้น

3. ความเข้มข้นเฉลี่ย (mean concentration) ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มงวด (stringency) และประสิทธิภาพ (performance) ของแผนการชักตัวอย่าง จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่อไปนี้

- ชนิดของอันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard) พิจารณาในเชิงเปรียบเทียบจากระดับความรุนแรงหรือระดับความเสี่ยงของอันตรายปานกลาง ถึง อันตรายถึงชีวิต จะมีความเข้มข้นเฉลี่ยลดลงซึ่งสอดคล้องกับระดับความเข้มงวดหรือประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น

- = อันตรายปานกลาง (moderate hazard) ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) ดังกรณีที่ 8 ใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5$, $c = 1$ มีความเข้มข้นเฉลี่ย 1,819 cfu/g
- = อันตรายรุนแรง (serious hazard) ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) ดังกรณีที่ 11 โดยมีการยกระดับความเข้มงวดของอันตรายปานกลางที่ใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น เป็นแผนการชักตัวอย่าง 2 ชั้น นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มจำนวนการชักตัวอย่างจากอันตรายปานกลาง $n = 5$ เป็น $n = 10$ ทำให้มีความเข้มข้นเฉลี่ยลดลงเป็น 0.012 cfu/g เนื่องจากอันตรายรุนแรงมีระดับความเสี่ยงมากกว่าอันตรายปานกลาง
- = อันตรายถึงชีวิต (severe hazard) ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) ดังกรณีที่ 14 โดยมีการยกระดับความเข้มงวดของอันตรายรุนแรงที่ชักตัวอย่าง $n = 10$ เป็น $n = 30$ มีความเข้มข้นเฉลี่ยลดลงเป็น 0.0036 cfu/g เนื่องจาก อันตรายถึงชีวิตมีระดับความเสี่ยงมากกว่าอันตรายรุนแรง

- สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (condition after sampling) กล่าวคือ

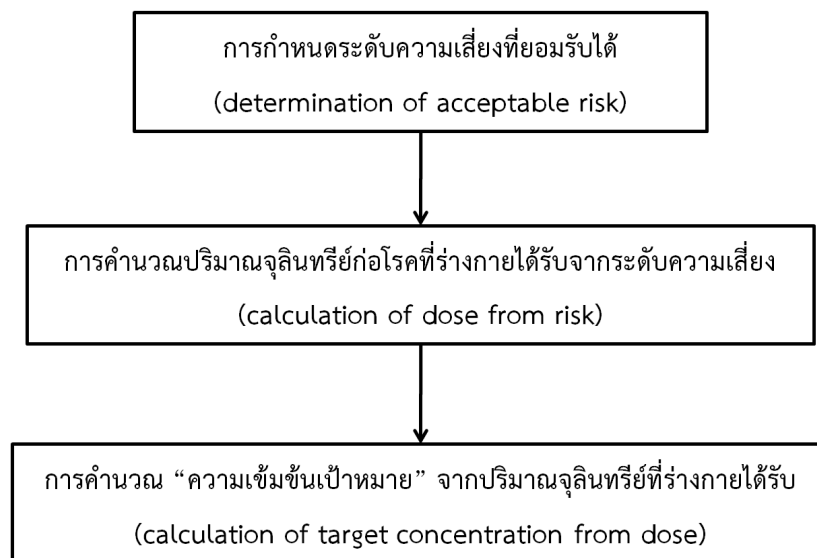
- = สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่างทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนคงที่ ส่งผลให้ความเสี่ยงคงที่ (constant risk) ดังกรณีที่ 2 และ กรณีที่ 5 ใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5$, $c = 2$ มีความเข้มข้นเฉลี่ย 3,311 cfu/g
- = สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่างทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนลดลง ส่งผลให้ความเสี่ยงลดลง (reduce risk) ดังกรณีที่ 1 และ กรณีที่ 4 แม้ว่าจะใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5$ เหมือนกันกับกรณีที่ 2 และ กรณีที่ 5 แต่มีระดับความเข้มงวดน้อยลง เนื่องจากแผนการชักตัวอย่างกรณีที่ 1 และ กรณีที่ 4 อนุญาตให้มีจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ หรือ c เพิ่มขึ้นมา 1 ตัวอย่าง เป็น $c = 3$ ทำให้มีความเข้มข้นเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 5,128 cfu/g เนื่องจาก ระดับความเสี่ยงลดลง
- = สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่างทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk) ดังกรณีที่ 3 และ กรณีที่ 6 แม้ว่าจะใช้แผนการชักตัวอย่าง 3 ชั้น $n = 5$ เหมือนกันกับกรณีที่ 2 และ กรณีที่ 5 แต่มีระดับความเข้มงวดมากขึ้น เนื่องจากแผนการชักตัวอย่างกรณีที่ 3 และ กรณีที่ 6 อนุญาตให้มีจำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์

คุณภาพ หรือ c ลดลงมา 1 ตัวอย่าง เป็น $c = 1$ ทำให้มีความเข้มข้นเฉลี่ยลดลงเป็น 1,819 cfu/g เนื่องจาก ระดับความเสี่ยงเพิ่มมากขึ้น

3.1.7 แผนการซักรตัวอย่างตามฐานความเสี่ยง

(Sampling plan based on risk)

ขั้นตอนในการพิจารณาหรือการคัดเลือกแผนการซักรตัวอย่างให้สอดคล้องกับเป้า (goal) ของระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (ภาพ 48) ประกอบด้วย



ภาพ 48 ขั้นตอนสำคัญในการกำหนดแผนการซักรตัวอย่างตามฐานความเสี่ยง

1. การกำหนดระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้

(determination of acceptable risk)

ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ คือ ระดับความเสี่ยงที่ผู้มีอำนาจหน้าที่รับผิดชอบทำหน้าที่กำหนดสัดส่วนของผู้ป่วยต่อประชากรเสี่ยง บางครั้งจะเรียกว่า appropriate level of protection (ALOP) สำหรับประเทศไทยในปัจจุบันนี้ ยังไม่มีการกำหนดระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้เป็นค่าที่แน่นอน เพื่อให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องจัดมาตรการการจัดการความเสี่ยง (risk management measures) เพื่อปรับระดับความเสี่ยงในปัจจุบันให้สอดคล้องกับเป้าของระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้นี้

การกำหนดระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ในเบื้องต้น อาจจะพิจารณาได้ 3 แนวทาง คือ

ก. การกำหนดระดับความเสี่ยงของจุลินทรีย์ก่อโรคและอาหารทุกชนิดเท่ากัน โดยแบ่งเป็น 3 ระดับ (Biosecurity Australia, 2006) คือ

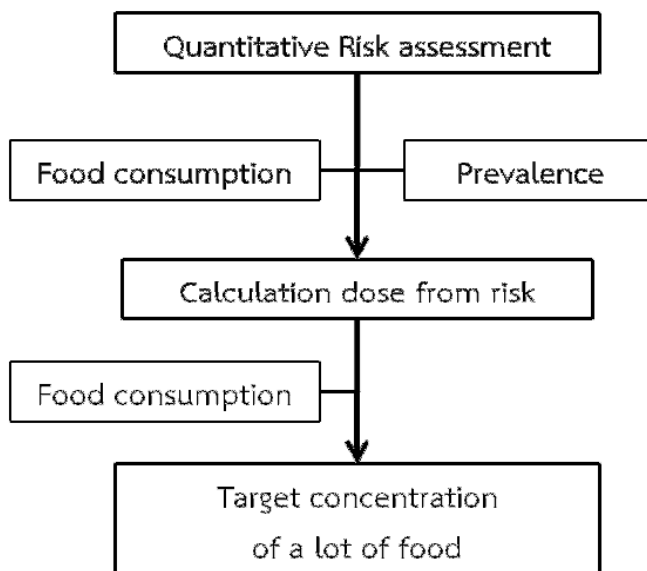
- ความเสี่ยงน้อยกว่าที่ละได้ (less than negligible risk) $\sim 10^{-7}$
- ความเสี่ยงที่ละได้ (negligible risk) $\sim 10^{-6}$

- ความเสี่ยงมากกว่าที่ละได้ (more than negligible risk) $\sim 10^{-5}$
- ข. การกำหนดระดับความเสี่ยง โดยให้มีอัตราผู้ป่วยลดลงจากอัตราผู้ป่วยในปัจจุบัน ทั้งนี้ทั้งนี้ แนวทางนี้จะได้มีการพิจารณาหรือแจกแจงอัตราผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษตามชนิดอาหาร ที่เป็นสาเหตุด้วย (food source attribution) โดยแบ่งเป็นระดับความเสี่ยงในการลดอัตราผู้ป่วยไว้ประมาณ 3 ระดับ คือ
 - ลดลงร้อยละ 10
 - ลดลงร้อยละ 20
 - ลดลงร้อยละ 50 (ICMSF 2001)
- ค. การกำหนดระดับความเสี่ยงตามชนิดของอันตรายจุลินทรีย์ โดยแบ่งได้ 3 ระดับ คือ
 - อันตรายปานกลาง $= 10^{-4}/\text{วัน}$ หรือ $3.65 \times 10^{-2}/\text{ปี}$
 - อันตรายรุนแรง $= 10^{-5}/\text{วัน}$ หรือ $3.65 \times 10^{-3}/\text{ปี}$
 - อันตรายถึงชีวิต $= 10^{-6}/\text{วัน}$ หรือ $3.65 \times 10^{-4}/\text{ปี}$

2. การคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่ร่างกายได้รับจากระดับความเสี่ยง

(calculation of dose from risk)

เมื่อสามารถกำหนดเป้าของระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้แล้ว จึงใช้แบบจำลองในการประเมินความเสี่ยง (risk assessment) (ภาพ 49) ดังนี้



ภาพ 49 การคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ (dose) จากการประเมินความเสี่ยง

2.1 การใช้แบบจำลองการอธิบายอันตราย (Dose-response models) ดังตารางที่ 4 ร่วมกับแบบจำลองการคำนวณความเสี่ยง เพื่อแปลงค่าระดับความเสี่ยงที่ยอมรับ (acceptable risk) ได้ให้เป็นปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่รับสัมผัสเข้าสู่ร่างกาย (dose) แบบจำลองการอธิบายอันตรายหรือ Dose-response model ไม่ได้ขึ้นกับชนิดอาหารแต่จะอ้างอิงตามชนิดจุลินทรีย์ก่อโรค

2.2 การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) เป็นการประเมินโอกาสในการรับสัมผัส (exposure) กับอันตราย ซึ่งในที่นี้ ก็คือ การได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจจะปนเปื้อนมากับอาหารที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้น ข้อมูลสำคัญในการประเมินการสัมผัส ก็คือ

- ความชุก (Prevalence) ของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร
- ความเข้มข้น (Concentration) ของการปนเปื้อน ในที่นี้คือ ความเข้มข้นเป้าหมาย (target concentration) ของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์
- ปริมาณการบริโภคอาหาร (food consumption) ในการประเมินความเสี่ยงในการศึกษาครั้งนี้เป็นการประเมินความเสี่ยงในเชิงกลุ่มผลิตภัณฑ์ ซึ่งประกอบด้วยอาหารหลายชนิด การจะเลือกอาหารชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นตัวแทนของกลุ่มผลิตภัณฑ์ (representative) จึงไม่เป็นตัวแทนที่ดี ดังนั้น แนวทางในกำหนดปริมาณการบริโภคกลุ่มผลิตภัณฑ์ คือ

1. แหล่งข้อมูล คือ หนังสือ "ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย Food consumption data of Thailand" (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ หรือ มกอช., 2549)

2. พิจารณาเลือกปริมาณการบริโภคที่เป็นค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารต่อคนต่อวันของเพศชายและเพศหญิง

3. ในแต่ละกลุ่มผลิตภัณฑ์ ให้พิจารณาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีจำนวนรายการสูงสุด และ/หรือ มีสัดส่วนของผลิตภัณฑ์นั้นๆ สูงสุด อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีจำนวนรายการสูงสุดแต่อาจจะไม่ได้มีสัดส่วนสูงสุด ให้พิจารณาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีจำนวนรายการสูงในอันดับถัดๆ ไป โดยมีเงื่อนไขว่า เมื่อรวมจำนวนรายการของผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความถี่สูงในอันดับต้นๆ แล้ว ควรจะมีสัดส่วนของเหล่าผลิตภัณฑ์นั้นเกินกว่าร้อยละ 40 ของจำนวนรายการที่ระบุชื่อผลิตภัณฑ์ โดพิจารณาสมดุลของ 2 ปัจจัย คือ ความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ (variety) และ ข้อมูลปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์ (consumption) กล่าวคือ ความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่สามารถครอบคลุมสัดส่วนของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มได้มาก ก็จะเป็นตัวแทนที่ดีของกลุ่มผลิตภัณฑ์นั้นๆ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์กลับไปครอบคลุมความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มได้ทั้งหมด ดังนั้น

ผู้วิจัยจึงเลือกจุดที่เหมาะสมในการถ่วงสมดุลของความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ และ ข้อมูลปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์ ในลักษณะที่มีความหลากหลายมากที่สุดและยังมีข้อมูลปริมาณการบริโภคผลิตภัณฑ์ด้วย

- แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินการสัมผัส

ความน่าจะเป็นในการสัมผัส (P_E) เป็นการอธิบายโอกาสหรือความเป็นไปได้ที่ร่างกายจะได้รับสัมผัสจุลินทรีย์ก่อโรคน้อย 1 หน่วยก่อโรค (เซลล์แบคทีเรีย หรือ อนุภาคไวรัส) ซึ่ง P_E เป็นค่าที่เป็นตัวแทนอธิบายโอกาสการเกิดเหตุการณ์การรับสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคอาหารและน้ำ โดยใช้แบบจำลอง

$$P_E = P(1 - e^{-N}) \quad (1)$$

โดยที่

P คือ ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

N คือ จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคที่ได้รับเข้าในร่างกาย

โดยที่

$$N = \text{Concentration} \times \text{Consumption} \quad (2)$$

โดยที่

Concentration คือ ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

Consumption คือ ปริมาณการบริโภคอาหารต่อครั้ง (serving) หรือ ต่อมื้อ (meal)

2.3 การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) เป็นการประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้น ขั้นตอนนี้จึงเป็นการบูรณาการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในการประเมินการสัมผัส ตามด้วย การอธิบายอันตราย กล่าวคือ เป็นการพิจารณาความน่าจะเป็นต่อเนื่องของ 2 เหตุการณ์หลัก คือ ¹ เหตุการณ์ในการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคปริมาณหนึ่ง (dose) ตามมาด้วย ² เหตุการณ์การเกิดโรค (response) อันเกิดจากปริมาณจุลินทรีย์ที่ได้รับ ดังนั้น แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงรวมทั้ง 2 เหตุการณ์ต่อเนื่องกัน คือ

$$P_S = P_E \times P_I(d) \quad (3)$$

โดยที่

P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหารเพียง 1 ครั้ง

P_E คือ ความน่าจะเป็นในการสัมผัสกับจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 หน่วยก่อโรค

$P(d)$ คือ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย หรือ สัตว์ส่วนผู้ป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคจำนวน d

ในสมการ (3) เป็นค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหารเพียง 1 ครั้ง (single exposure) อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้สูงที่อาจจะมีการสัมผัสกับอาหารที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคมมากกว่า 1 ครั้ง (multiple exposure)

$$P_M = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_S) \quad (4)$$

โดยที่

P_M คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหาร n ครั้งในระยะเวลาที่สนใจ เช่น 1 ปี

P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับอาหารเพียง 1 ครั้ง

3. การคำนวณ “ความเข้มข้นเป้าหมาย” จากปริมาณจุลินทรีย์ที่ร่างกายได้รับ

(calculation of target concentration from dose)

เมื่อทราบปริมาณจุลินทรีย์ที่ร่างกายได้รับแล้ว จึงคำนวณหาระดับ “ความเข้มข้นเป้าหมาย” ของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยใช้ปริมาณการบริโภค (consumption) ซึ่งก็คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของจุลินทรีย์ที่ผ่านแผนการชักตัวอย่างนั่นเอง (ภาพ 50) ดังสมการ

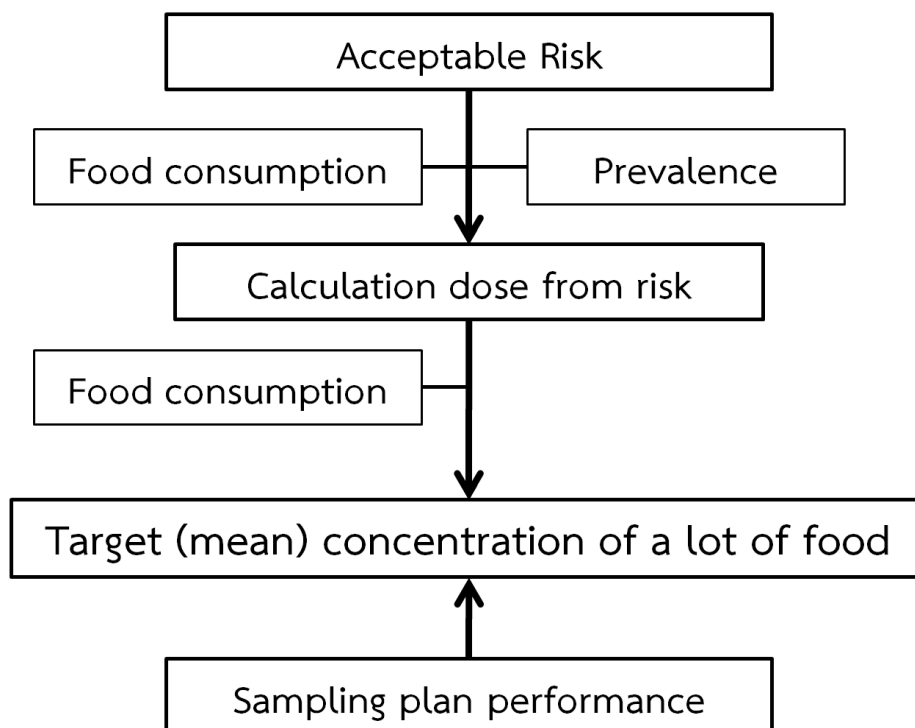
$$N = \text{Concentration} \times \text{Consumption} \quad (2)$$

โดยที่

Concentration คือ “ความเข้มข้นเป้าหมาย” ของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร

Consumption คือ ปริมาณการบริโภคอาหารต่อครั้ง (serving) หรือ ต่อมื้อ (meal)

N คือ ปริมาณจุลินทรีย์ที่ร่างกายได้รับ



ภาพ 50 ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ทำหน้าที่กำหนด dose และ ความเข้มข้นเป้าหมาย หรือ ความเข้มข้นเฉลี่ย ซึ่งจะสอดคล้องตามประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่าง (sampling plan performance) อีกทอดหนึ่ง

4. ปัจจัยในการการเลือกแผนการชักตัวอย่างตามฐานความเสี่ยง

(factor determining sampling plans based on risk)

การเลือกแผนการชักตัวอย่างตามฐานความเสี่ยง จะขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัยที่สำคัญ คือ

1. ระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ (acceptable risk)

ในการศึกษาครั้งนี้ในแนวทางการกำหนดระดับความเสี่ยงตามชนิดของอันตรายจุลินทรีย์ โดยแบ่งได้ 3 ระดับ คือ

- อันตรายปานกลาง = 10^{-4} /วัน เทียบเท่ากับ 3.65×10^{-2} /ปี
- อันตรายนรุนแรง = 10^{-5} /วัน เทียบเท่ากับ 3.65×10^{-3} /ปี
- อันตรายถึงชีวิต = 10^{-6} /วัน เทียบเท่ากับ 3.65×10^{-4} /ปี

นอกจากนี้ สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (condition after sampling) ก็มีส่วนเปลี่ยนแปลงระดับความเสี่ยงด้วย ดังนั้น ในแต่ละระดับความเสี่ยงของอันตรายทั้ง 3 ชนิด ยังมีการแบ่งย่อยได้อีก 3 ระดับความเสี่ยง คือ

- ความเสี่ยงลดลง (reduce risk) = ร้อยละ 50 ของความเสี่ยงคงเดิม
- ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk) = ความเสี่ยงปกติตามระดับอันตรายจุลินทรีย์
- ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk) = ร้อยละ 150 ของความเสี่ยงคงเดิม

เมื่อผนวกปัจจัยทั้ง 2 ข้างต้นเข้าด้วยกันทำให้สามารถแบ่งระดับความเสี่ยงได้เป็น 9 ระดับย่อย (ตาราง 54)

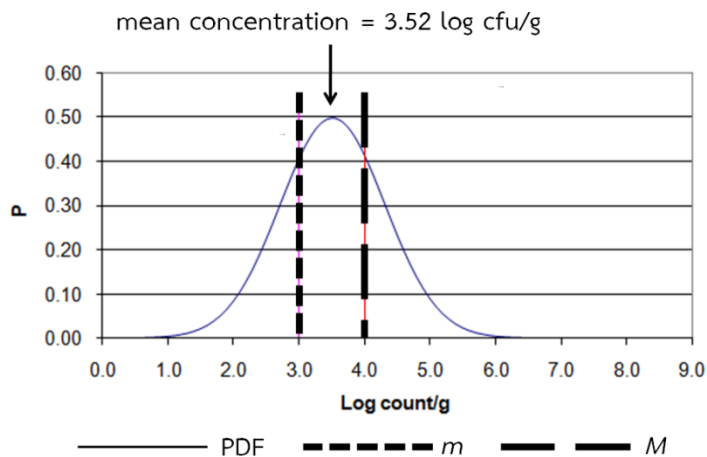
ตาราง 54 ระดับความเสี่ยงจำแนกตามชนิดอันตรายจุลินทรีย์และสถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง

อันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard)	สถานภาพอาหารหลังการชักตัวอย่าง (Conditions after sampling)		
	ความเสี่ยงลดลง (reduce risk)	ความเสี่ยงคงเดิม (constant risk)	ความเสี่ยงเพิ่มขึ้น (increase risk)
อันตรายปานกลาง (Moderate hazard)	0.5 × 10 ⁻⁴ /วัน หรือ 1.83 × 10 ⁻² /ปี	1.0 × 10 ⁻⁴ /วัน หรือ 3.65 × 10 ⁻² /ปี	1.5 × 10 ⁻⁴ /วัน หรือ 7.30 × 10 ⁻² /ปี
อันตรายรุนแรง (Serious hazard)	0.5 × 10 ⁻⁵ /วัน หรือ 1.83 × 10 ⁻³ /ปี	1.0 × 10 ⁻⁵ /วัน หรือ 3.65 × 10 ⁻³ /ปี	1.5 × 10 ⁻⁵ /วัน หรือ 7.30 × 10 ⁻³ /ปี
อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard)	0.5 × 10 ⁻⁶ /วัน หรือ 1.83 × 10 ⁻⁴ /ปี	1.0 × 10 ⁻⁶ /วัน หรือ 3.65 × 10 ⁻⁴ /ปี	1.5 × 10 ⁻⁶ /วัน หรือ 7.30 × 10 ⁻⁴ /ปี

จากระดับความเสี่ยงที่ยอมรับได้ หรือ ระดับความเสี่ยงเป้าหมาย จากนั้นจึงใช้วิธีการประเมินความเสี่ยงในการคำนวณความเข้มข้นเป้าหมาย ดังได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อที่ผ่านมา หรือกล่าวโดยสรุปได้ดังนี้

ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างในกรณีต่างๆ (Sampling plan performance by cases) ทำให้สามารถทราบความเข้มข้นเฉลี่ยการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ (mean concentration) ของ lot ของผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านแผนการชักตัวอย่างนั้นๆ ข้อสังเกตที่พึงระวัง คือ ความเข้มข้นที่คำนวณได้จากเป้าหมายอาหารนั้น เป็นค่าเดียว (point estimate) ในขณะที่ความเข้มข้นที่ได้จากประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างเป็นค่าความเข้มข้นเฉลี่ย (mean concentration) ที่คำนวณจากพื้นที่ใต้เส้นโค้งของการกระจายตัว (distribution) ของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของ lot นั้นๆ (ภาพ 51)

Probability density function (PDF) for log counts.
Distribution mean = 3.52 and sigma = 0.80



ภาพ 51 การกระจายตัวของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใน lot ที่ผ่าน

แผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$, $m = 1,000$ (10^3) cfu/g และ $M = 10,000$ (10^4) cfu/g

2. มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (microbiological limit of food)

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาแผนการชักตัวอย่างที่เหมาะสมโดยมีข้อบังคับพื้นฐาน คือ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๖๔) พ.ศ. ๒๕๕๖ เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งเป็นฉบับปัจจุบันที่สุด (โปรดศึกษาเพิ่มเติมในภาคผนวก) มีการระบุชนิดของจุลินทรีย์ก่อโรคและเกณฑ์ระดับการปนเปื้อน (microbiological limit) ซึ่งเกณฑ์ระดับการปนเปื้อน ก็คือ ค่า m ของแผนการชักตัวอย่างลักษณะทั้งแบบ 2 ชั้น และ 3 ชั้น (two-class attributes plan และ three-class attributes plan) เช่น

มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคสำหรับ อาหารทารก (ชนิดผงหรือแห้ง)

- | | |
|--|-------------------------------|
| 1. แซลโมเนลลา (<i>Salmonella</i> spp.) | ไม่พบใน 25 กรัม (g) |
| 2. สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส (<i>Staphylococcus aureus</i>) | ไม่พบใน 0.1 กรัม (g) |
| 3. แบซิลลัสซีเรียส (<i>Bacillus cereus</i>) | ไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (cfu/g) |
| 4. ครอนแบคเตอร์ ซากาซากิ (<i>Cronobacter sakazakii</i>) | ไม่พบใน 10 กรัม (g) |

3.2 Microbiological limit ที่สอดคล้องกับ Sampling plan ของ susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ในปลาและซาซิมิ

เงื่อนไขพื้นฐาน

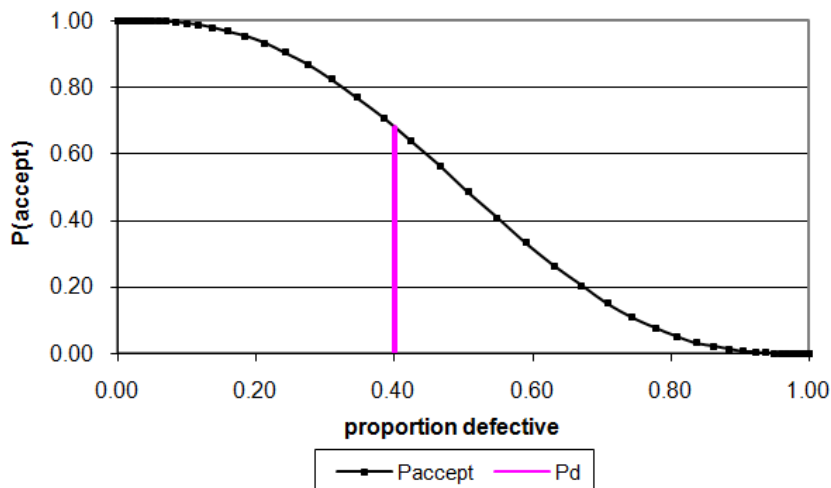
สำหรับเงื่อนไขหรือข้อกำหนดพื้นฐานที่จำเป็นต้องถือปฏิบัติหรือเป็น parameter ในการคำนวณ Microbiological limit ที่ สอดคล้องกับ Sampling plan ของทั้ง susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ในปลาและซาซิมิ ประกอบด้วย

1. ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (Probability of acceptance : Pa)
2. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD)

ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (probability of acceptance : Pa)

ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (probability of acceptance : Pa) คือ สัดส่วน lot ที่ได้รับการตัดสินให้ผ่านเกณฑ์คุณภาพ จากทุก lot ที่มีคุณภาพเดียวกันทั้งหมดที่ผ่านการชักตัวอย่างเพื่อพิจารณาเกณฑ์คุณภาพ

ประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่างอาจจะอธิบายหรือนำเสนอในรูปของเส้นโค้งลักษณะเฉพาะปฏิบัติการ (operating characteristic curve หรือ OC curve) โดยแกนตั้ง คือ ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (Pa) และ แกนนอน คือ สัดส่วนบกพร่อง (Proportion defective : Pd) ของผลิตภัณฑ์ในแต่ละ lot ดัง ภาพ 52 จะเห็นได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงหรือสัดส่วนบกพร่องของผลิตภัณฑ์ (Pd) ต่ำ ความน่าจะเป็นในการยอมรับจะสูงกว่า และในทางตรงกันข้าม ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพต่ำหรืออัตราความบกพร่องของผลิตภัณฑ์สูง ความน่าจะเป็นในการยอมรับจะต่ำกว่า



ภาพ 52 เส้นโค้งลักษณะเฉพาะปฏิบัติการ หรือ ประสิทธิภาพแผนการชักตัวอย่าง $n = 5$ $c = 2$

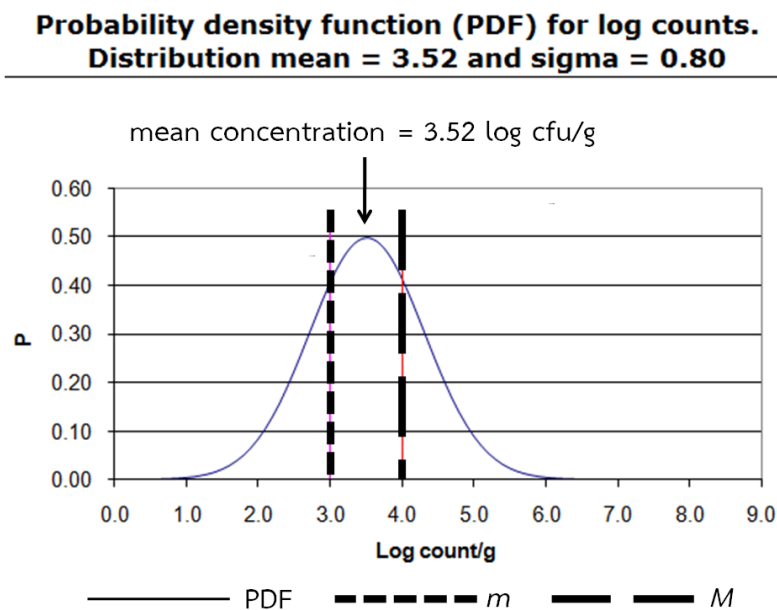
ยกตัวอย่างดัง ภาพ 52 ผลิตภัณฑ์อาหาร lot หนึ่งที่มีสัดส่วนบกพร่อง (Pd) ร้อยละ 40 เมื่อใช้แผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$ หรือ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ คือ 5 ตัวอย่าง โดยจะยอมรับ (accept) lot นี้เมื่อจำนวนตัวอย่างต่ำกว่า ค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (microbiological limit) m ไม่เกิน 2 ตัวอย่างนั้น จะมีประสิทธิภาพในการยอมรับ lot จำนวน 68 ครั้ง จากการชักตัวอย่างตรวจจำนวน 100 ครั้ง หรือ มีความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) ร้อยละ 68 หรือในทางตรงกันข้าม ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ (Probability of rejection : Pr) ร้อยละ 32 หมายความว่า แผนการชักตัวอย่างนี้ จะปฏิเสธ lot ที่มีสัดส่วนบกพร่อง (Pd) ร้อยละ 40 จำนวน 32 ครั้ง จากการชักตัวอย่างตรวจจำนวน 100 ครั้ง

ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) เรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า ความเสี่ยงผู้บริโภค (consumer's risk) คือ ความน่าจะเป็นในการยอมรับ lot ที่พึงจะตกเกณฑ์คุณภาพ หมายความว่า โอกาสที่ผู้บริโภคจะได้รับผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ และในทางตรงกันข้าม ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ (Probability of rejection : Pr) เรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า ความเสี่ยงผู้ผลิต (producer's risk) คือ ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธ lot ที่พึงจะผ่านเกณฑ์คุณภาพ หมายความว่า โอกาสที่ผู้ผลิตจะถูกระงับการจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ

โดยทั่วไปแล้วจะกำหนดความน่าจะเป็นในการยอมรับ (P_a) ที่ร้อยละ 5 หรือ 0.05 หมายความว่า ผลิตภัณฑ์อาหารคุณภาพเดียวกันทั้งหมด 100 lot ที่ผ่านการชักตัวอย่าง เพื่อพิจารณาเกณฑ์คุณภาพ จะมีเพียง 5 lot ที่ได้รับการตัดสินให้ผ่านเกณฑ์คุณภาพ

ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD)

ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) การกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ จากข้อมูล ที่รวบรวมจากแผนการเฝ้าระวัง *Salmonella*, *E.coli* O157:H7 และจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์ดิบ พบว่า ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์มีค่าประมาณ 0.8¹² ¹³(Legan et al., 2001 และ van Schothorst et al, 2009)



ภาพ 53 การกระจายตัวของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ใน lot ที่ผ่านแผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$, $m = 3$ $\log(10^3)$ cfu/g และ $M = 4 \log(10^4)$ cfu/g

ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (Pa) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานการกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ (SD) จะกำหนดให้เป็น 0.05 และ 0.8 ตามลำดับ เพื่อใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของแผนการชักตัวอย่าง โดยพบว่า แผนการชักตัวอย่าง $n = 5$, $c = 2$ หรือ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ คือ 5 ตัวอย่าง โดยจะยอมรับ (accept) lot นี้ เมื่อจำนวนตัวอย่างต่ำกว่าค่ากำหนดทางจุลชีววิทยา (microbiological limit) m ไม่เกิน 2 ตัวอย่าง โดย $m =$

¹² Legan, J.D., Vandeven, M.H., Dahms, S. and Cole, M.B., 2001. Determining the concentration of microorganisms controlled by attributes sampling plans. Food Control, 12(3), pp.137-147.

¹³ Van Schothorst, M., Zwietering, M.H., Ross, T., Buchanan, R.L. and Cole, M.B., 2009. Relating microbiological criteria to food safety objectives and performance objectives. Food Control, 20(11), pp.967-979.

3 log cfu/g และ $M = 4 \log \text{cfu/g}$ จะมีประสิทธิภาพในการอนุมานความเข้มข้นเฉลี่ย (mean concentration) การปนเปื้อนจุลินทรีย์ใน lot นั้น = 3,311 cfu/g หรือ 3.52 log cfu/g (ภาพ 52 ภาพ 53)

จากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมา (Legan et al., 2001 และ van Schothorst et al, 2009) จึงกำหนดให้ ความน่าจะเป็นในการยอมรับ (Pa) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานการกระจายตัวของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ (SD) จะกำหนดให้เป็น 0.05 และ 0.8 ตามลำดับ ในการคำนวณค่า Microbiological limit และแผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk) ไม่เกิน 1×10^{-6} ต่อปี

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 (ล่าสุด) ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหาร ด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค กำหนดให้อาหารหรือวัตถุดิบในการศึกษาโครงการนี้ มี 2 ประเภท คือ ปลาบริโภคสุก และ ซาซิมิ ปริมาณที่กำหนด แซลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) คือ ตรวจไม่พบใน 25 กรัม (g) ในอาหาร 2 กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับปลาบริโภคสุกและซาซิมิ ดังต่อไปนี้

1. ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ได้แก่ ลูกชิ้น ไส้กรอก หมูยอ และผลิตภัณฑ์ที่มีกระบวนการผลิตทำนองเดียวกันนี้ ที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย
 - 1.1. ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์พร้อมบริโภคเช่น ลูกชิ้นทอด และหมูยอทอด เป็นต้น
 - 1.2. ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ แช่เย็น
2. อาหารพร้อมบริโภค
 - 2.1. อาหารทะเล ที่บริโภคในลักษณะสดหรือดิบที่บรรจุในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย เช่น ปลา กุ้ง หมึก หอย ซาซิมิ เป็นต้น

Salmonella spp เป็นอันตรายจุลินทรีย์ (microbial hazard) กลุ่มอันตรายรุนแรง (Serious hazard) และ อันตรายถึงชีวิต (Severe hazard) แผนการชักตัวอย่างที่เหมาะสมหรือสอดคล้อง คือ แผนการชักตัวอย่างแบบ 2 ชั้น (Two-class sampling plan) กำหนด microbiological limit (m) ให้สอดคล้องกับปริมาณที่กำหนดสำหรับ *Salmonella* spp. ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 คือ ตรวจไม่พบใน 25 กรัม (not detected in 25 g.)

ค่า Microbiological limit และแผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) ปลาและชาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* และ AMR *Salmonella* ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable risk) ไม่เกิน 1×10^{-6} ต่อปี ดังแสดงใน ตาราง 55 และ ตาราง 56

Sampling plan 1 (แผนการชักตัวอย่างที่ 1) กำหนดให้ทุกตัวอย่างที่ตรวจ (n) ต้องผ่านค่า microbiological limit (m) คือ ตรวจไม่พบใน 25 กรัม ทุกตัวอย่าง หรือ $c = 0$ นั่นเอง

Sampling plan 2 (แผนการชักตัวอย่างที่ 2) อนุโลมให้มี 1 ตัวอย่างที่ไม่ผ่านค่า microbiological limit (m) หรือ $c = 1$ ซึ่งต้องแลกหรือชดเชยกับจำนวนชักตัวอย่าง (n) ที่เพิ่มมากขึ้น เกือบ 2 เท่าตัว เช่น กรณีปลาบริโภคสุก $n = 7$ ใน Sampling plan 1 เพิ่มเป็น $n = 13$ ใน Sampling plan 2 เป็นต้น (ตาราง 55)

ตาราง 55 ค่า Microbiological limit (m) แผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) และความเข้มข้นเฉลี่ยของ susceptible *Salmonella* ของปลาและซาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก susceptible *Salmonella* ในระดับที่ยอมรับได้ $< 10^{-6}$ ต่อปี

Commodity	Microbiological limit (m)	Two-class attribute plan*			
		Sampling plan 1	Mean concentration (g^{-1})	Sampling plan 2	Mean concentration (g^{-1})
Fish	not detected in 25 g	$n = 7,$ $c = 0$	0.0550	$n = 13,$ $c = 1$	0.0451
Sashimi	not detected in 25 g	$n = 3,$ $c = 0$	0.2728	$n = 5,$ $c = 1$	0.3169

* Probability of acceptance (Pa) = 5% และ Standard deviation = 0.8

ตาราง 56 ค่า Microbiological limit (m) แผนการชักตัวอย่าง (Sampling plan) และความเข้มข้นเฉลี่ยของ AMR *Salmonella* ของปลาและซาซิมิ ที่สอดคล้องกับระดับความเสี่ยงในการเจ็บป่วยถึงเสียชีวิตจาก AMR *Salmonella* ในระดับที่ยอมรับได้ $< 10^{-6}$ ต่อปี

Commodity	Microbiological limit (m)	Two-class attribute plan*			
		Sampling plan 1	Mean concentration (g^{-1})	Sampling plan 2	Mean concentration (g^{-1})
Fish	not detected in 25 g	$n = 14,$ $c = 0$	0.018	$n = 24,$ $c = 1$	0.017
Sashimi	not detected in 25 g	$n = 5,$ $c = 0$	0.100	$n = 8,$ $c = 1$	0.111

* Probability of acceptance (Pa) = 5% และ Standard deviation = 0.8

Information graphic : การดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella* ในปลาและชาชิมิ

ข้อมูลหรือเนื้อหาส่งเสริมความปลอดภัยการดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella* ในปลาและชาชิมิ ดังแสดงใน Information Graphic 4 และ Information Graphic 5

การปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในปลาสด

Salmonella spp.
แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่งสั้น เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแสลรอบตัว

อาศัยอยู่ในก้นอาหารของสัตว์ต่างๆ ทั้งในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลานรวมทั้งมนุษย์ แพร่เชื้อผ่านการอุจจาระ ปนเปื้อนไปยังแหล่งน้ำและอาหาร

เมื่อได้รับเชื้อจากการบริโภคอาหารและน้ำที่ปนเปื้อน อาจจะมีอาการ *เสลง* อาการป่วยหรือ *ไม่เสลง* อาการก็ได้ แต่ผู้ติดเชื้อยังสามารถแพร่เชื้อต่อไปสู่ผู้อื่นได้ (carrier)

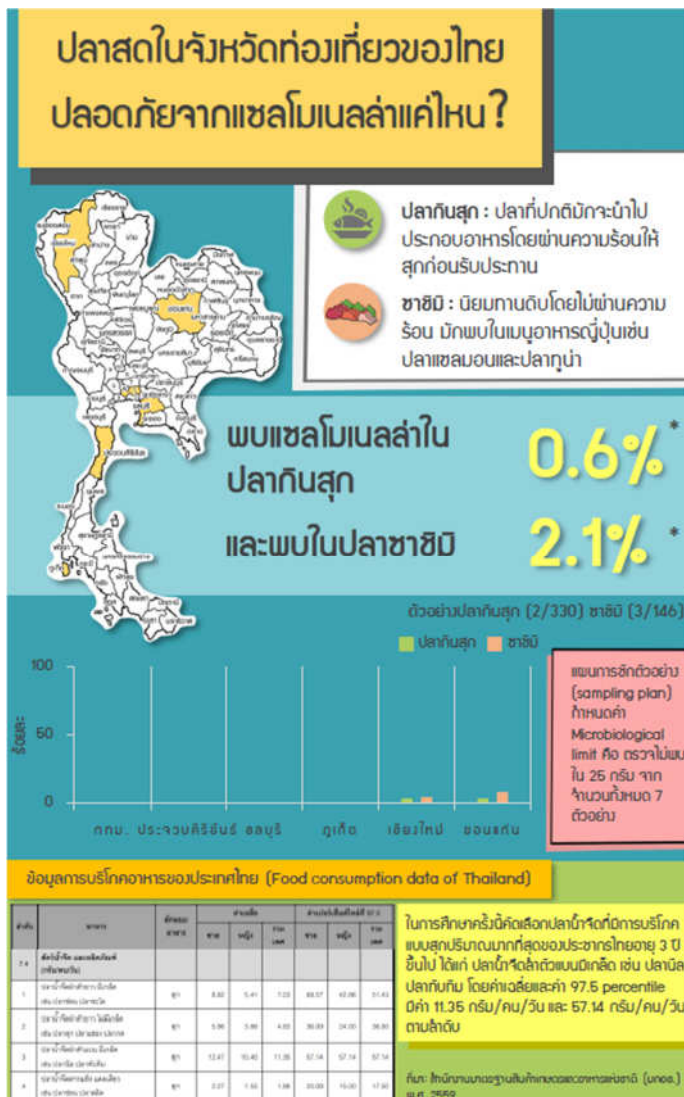
อาการ
ระบบทางเดินอาหาร : เป็นอาการหลักที่พบได้ โดยผู้ป่วยจะปวดท้อง, ท้องเสีย, ถ่ายเหลว, คลื่นไส้, อาเจียน มีอาการได้ตั้งแต่ 6 ชั่วโมง-5 วัน
อาการไข้กฟอยด์ : ไข้สูง, ปวดศีรษะ, ปวดเมื่อยร่างกาย, ผื่นแดงที่ท้องหรืออก, ท้องบวม, บำบืด
อาการติดเชื้อในกระแสเลือด

การป้องกัน

- หลีกเลี่ยงการบริโภคเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ไม่ผ่านการปรุงสุกหรือการ pasteurization
- ป้องกันการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) โดยแยกอุปกรณ์ประกอบอาหารระหว่างอาหารดิบและอาหารสุก
- ล้างมือก่อนสัมผัสอาหารและหลีกเลี่ยงเข้าห้องน้ำหรือสัมผัสกับสัตว์เลี้ยงสมอ

IMPORTANT INFORMATION
มาตรฐานอาหารของกรมสาธารณสุข (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๔๑๖) พ.ศ. ๒๕๖๓) ต้องไม่พบเชื้อซัลโมเนลลาใน 25 กรัมของอาหารทุกชนิดอาหาร

Information Graphic 4 การดื้อยาต้านจุลชีพ *Salmonella* ในปลาและชาชิมิ 1



Information Graphic 5 การดื้อยาต้านจุลชีพ Salmonella ในปลาและชาชิมี 2

เอกสารอ้างอิง

- Abdullah Sani, N., Ariyawansa, S., Babji, A. and Hashim, J. 2013. The risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in cooked black tiger shrimps (*Penaeus monodon*) in Malaysia. *Food Control* 31:546-552.
- Aiso, K., and K. Fujiwara. 1963. Feeding tests of the pathogenic halophilic bacteria. *Ann. Res. Inst. Food Microbiol. Chiba Univ.* 15:34-38.
- Anderson S.A., Yeaton Woo R.W., Crawford L.M. (2001) Risk assessment of the impact on human health of resistant *Campylobacter jejuni* from fluoroquinolone use in beef cattle. *Food Control* 12:13-25.
- Annual Epidemiological Surveillance Report (AESR) 2011. Bureau of Epidemiology. National Trustworthy and Competent Authority in Epidemiological Surveillance and Investigation, Thai Veteran support Organization (Under Royal Patronage) Publishing, Bangkok. ISBN 0857 – 6521.
- Archambault, M., Petrov, P., Hendriksen, R.S., Asseva, G., Bangtrakulnonth, A., Hasman, H., Aarestrup, F.M. 2006. Molecular Characterization and Occurrence of Extended-Spectrum β -Lactamase Resistance Genes among *Salmonella enterica* Serovar Corvallis from Thailand, Bulgaria, and Denmark. *Microbial Drug Resistance.* 12(3):192-198.
- Bartholomew M.J., Vose D.J., Tollefson L.R., Travis C.C. 2005. A linear model for managing the risk of antimicrobial resistance originating in food animals. *Risk Analysis* 25:99-108.
- Berends B.R., Van den Bogaard A.E.J.M., Van Knapen F., Snijders J.M.A. 2001. Human health hazards associated with the administration of antimicrobials to slaughter animals: Part II. An assessment of the risks of resistant bacteria in pigs and pork. *Veterinary Quarterly* 23:10-21.
- Buchanan, R. L., J. L. Smith, and W. Long. 2000. Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *Int J Food Microbiol* 58:159-72.
- Burch, D.G.S. 2002. Risk assessment – *Campylobacter* infection transmission from pigs to man using erythromycin resistance as a marker. *Pig Journal* 50:53-58.
- Bywater R.J., Casewell M.W. 2000. An assessment of the impact of antibiotic resistance in different bacterial species and of the contribution of animal sources to resistance in human infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46:643-645.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN), Food and Drug Administration. 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* In raw oysters.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition (U.S.). *Vibrio parahaemolyticus* Risk Assessment Task Force. Draft risk assessment on the public health impact of *Vibrio parahaemolyticus* in raw molluscan shellfish. 2001 Available from: <http://purl.access.gpo.gov/GPO/LPS111991>.

- Chanratchakool, P., Pearson, M., Limsuwan, C. and Roberts, R. 1995. Oxytetracycline sensitivity of *Vibrio* species isolated from diseased black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. *Journal of Fish Diseases* 18: 79-82.
- Chen, Y. and Liu, X. 2006. Quantitative risk Assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in retail raw oysters in Fujian. *Chinese Journal of Food Hygiene*. 2:.
- Claycamp, G. and Hooberman, B. 2004. Antimicrobial Resistance Risk Assessment in Food Safety. *Journal of Food Protection*, Vol. 67, No. 9, 2004, Pages 2063–2071
- CLSI 2006 Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Proposed guideline : M45-P
- Codex Alimentarius Commission, C., Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. (CAC/GL-30). 1999, Codex Alimentarius Commission. p. 6.
- Cox Jr L.A., Popken D.A. 2004a. Bayesian Monte Carlo uncertainty analysis of human health risks from animal antimicrobial use in a dynamic model of emerging resistance. *Risk Analysis* 24:1153-1164.
- Cox Jr L.A., Ricci P.F. 2005. Causation in risk assessment and management: Models, inference, biases, and a microbial risk-benefit case study. *Environment International* 31:377-397.
- Cox L.A., Popken D.A., Mathers J.J. 2009. Human health risk assessment of penicillin/aminopenicillin resistance in enterococci due to penicillin use in food animals. *Risk Analysis* 29:796-805.
- Cox, L. A. and Popken, D. 2002. A simulation model of human health risks from chicken-borne *Campylobacter jejuni*. *Technology* 9, 55–84.
- Dorn-in, S., Fries, R., Padungtod, P., Kyule, M., Baumann, M., Srikitjakarn, L., Chantong, W., Sanguangiat, A. and Zessin, K. 2009. A cross-sectional study of *Salmonella* in pre-slaughter pigs in a production compartment of northern Thailand. *Preventive Veterinary Medicine* 88 : 15–23
- Durán, G. and Douglas, M. 2005. Ready-to-eat shrimp as an international vehicle of Antibiotic resistant bacteria. *Journal of Food Protection*, Vol.68, No. 11 pp. 2395-2401.
- FAO WHO 2011. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Interpretive summary and Technical report
- FDA-CVM. 2001. Risk assessment on the human health impact of fluoroquinolone resistant *Campylobacter* associated with the consumption of chicken. Food and Drug Administration and Center of Veterinary Medicine. [Online.] http://www.fda.gov/cvm/antimicrobial/Risk_asses.htm (7 January 2004, date last accessed).
- Food and Agricultural Organization (FAO) 2013. FAO Fisheries and Aquaculture Report No. 1053 FIRA/R1053 (En) : Report of the FAO/MARD Technical workshop on early mortality syndrome (EMS) or acute hepatopancreatic necrosis syndrome (AHPNS) of cultured shrimp (Under TCP/VIE/3304) Hanoi, Viet Nam, 25–27 June 2013

- Franklin, A., Acar, J., Anthony, F., Gupta, R., Nicholls, T., Tamura, Y., Thompson, S., Threlfall, E., Vose, D., van Vuuren, M., White, D., Wegener, H. and Costarrica, M. 2001. Antimicrobial resistance: harmonisation of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and in animal derived food. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 20 (3), 859-870.
- Geenen, P., Koene, M., Blaak, H., Havelaar, A. and van de Giessen, A. 2010. Risk profile on antimicrobial resistance transmissible from food animals to humans. National Institute for Public Health and the Environment. pp. 121.
- Hald T., Lo Fo Wong D.M.A., Aarestrup F.M. 2007. The attribution of human infections with antimicrobial resistant *Salmonella* bacteria in Denmark to sources of animal origin. *Foodborne Pathogens and Disease* 4:313-326.
- Han, F., Wang, F. and Ge. B. 2011. Detecting Potentially Virulent *Vibrio vulnificus* Strains in Raw Oysters by Quantitative Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 77(8) 2589–2595.
- Health Protection Agency. 2005. Outbreak of drug-resistant *Salmonella* Virchow phage type 8 infection. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 15: issue 9 News.
- Heuer, O., Kruse, H., Grave, K., Collignon, P., Karunasagar, I., and Angulo, F. 2009. Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. *Clinical Infectious Diseases* 49:1248–53.
- Holmstrom, K., Graslund, S., Wahlstrom, A., Pongshompoo, S., Bengtsson, B. and Kautsky, N. 2003. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science and Technology*, 38 : 255 266.
- Hopkins, K.L., Wootton, L., Day, M.R. and Threlfall, E.J. 2007. Plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrS1* found in *Salmonella enterica* strains isolated in the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59:1071-1075.
- Hurd H.S., Doores S., Hayes D., Mathew A., Maurer J., Silley P., Singer R.S., Jones R.N. (2004) Public health consequences of macrolide use in food animals: A deterministic risk assessment. *Journal of Food Protection* 67:980-992.
- Hurd H.S., Enøe C., Sørensen L., Wachman H., Corns S.M., Bryden K.M., Grenier M. 2008. A stochastic assessment of the public health risks of the use of macrolide antibiotics in food animals. *Risk Analysis* 28:695-710.
- Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 1997. Principle for the establishment and application of microbiological criteria for foods : CAC/GL 21
- Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 2011. Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance : CAC/GL 77
- Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 1999. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment : CAC/GL 30

- Joint FAO/WHO Food Standards Programme CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. 2003. Hazard Characterization for Pathogens in Food and Water: Guideline. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.
- Joint Food and Agriculture Organization and World Health Organization. 2002. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological risk assessment series, 2.
- Joint Food and Agriculture Organization and World Health Organization. 2003. Hazard characterization for pathogens in food and water: guidelines. Microbiological risk assessment series, 3.
- Joint Food and Agriculture Organization and World Health Organization. 2002. Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok, 5-9 August, Thailand.
- Kaysner, C. and DePaola, A. 2004. Bacteriological Analytical Manual Chapter 9 *Vibrio*, FDA Bacteriological Analytical Manual Online (BAM) <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070830.htm>
- Kelly L., Smith D.L., Snary E.L., Johnson J.A., Harris A.D., Wooldridge M., Morris Jr J.G. 2004. Animal growth promoters: to ban or not to ban? A risk assessment approach. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24:205-212.
- Kruse, H., Sorum, H., Tenover, F. and Olsvik, O. 1995. A Transferable Multiple Drug Resistance Plasmid from *Vibrio cholerae* O1. *Microbial Drug Resistance* 1(3): 203-210.
- Lammerding, A. M., and A. Fazil. 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *Int J Food Microbiol* 58:147-157.
- Makino, K., Oshima, K., Kurokawa, K., Yokoyama, K., Uda, T., Tagomori, K., Iijima, Y., Najima, M., Nakano, M., Yamashita, A., Kubota, Y., Kimura, S., Yasunaga, T., Honda, T., Shinagawa, H., Hattori, M. and Iida T. 2003. *Lancet* 361: 743-49.
- Manasatit, S., Jongtawornsatit, S., Teerawitayalert, R., and Tuwanon, P. 2003. Guidelines for taking care of patient with acute diarrhoea in adult. Department of disease control, Ministry of Public Health in conjunction with Physician Society for the gastrointestinal diseases in Thailand. ISBN 974-297-101-3.
- Nishibuchi, M. and Kaper, J. 1996. Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*: a virulence gene acquired by a marine bacterium. *Infect Immun.* 63(6): 2093-2099.
- Nuanualsuwan, S. 2009. Food Risk Analysis series No. 1. Tiranasan publishing, Bangkok. ISBN 978-611-90302-0-6 pp. 508.
- Nuanualsuwan, S. 2011. Final Report under Research project "Hazard Characterization of *Salmonella* spp. and *Vibrio parahaemolyticus*" supported by National Science and Technology Development Agency (NSTDA).

- Presi, P., Stärk, K.D.C., Stephan, R., Breidenbach, E., Frey, J., Regula G. 2009. Risk scoring for setting priorities in a monitoring of antimicrobial resistance in meat and meat products. *International Journal of Food Microbiology* 130:94-100.
- Reinthalder F.F., Feierl G., Galler H., Haas D., Leitner E., Mascher F., Melkes A., Posch J., Winter I., Zarfel G., Marth E. ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. *Water Res* 44:1981-1985.
- Sanpong, P., Theeragool, G., Wajjwalku, G. and Amavisit, P. 2010. Characterization of Multiple-Antimicrobial Resistant *Salmonella* Isolated from Pig Farms in Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 44 : 643 – 651.
- Sanyal, S. C., and P. C. Sen. 1974. Human volunteer study on the pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus*. p. 227-230. In T. Fujino, G. Sakaguchi, R. Sakazaki, and Y. Takeda. (eds), *International Symposium on Vibrio parahaemolyticus*. Saikon Publishing Company, Tokyo.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L. and Griffin, P.M. 2011. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases* 17(1) 7-15.
- Shaw, K.S., Goldstein, R.R. He, X., Jacobs, J., Crump, B. and Sapkota, A. 2014. Antimicrobial Susceptibility of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* Recovered from Recreational and Commercial Areas of Chesapeake Bay and Maryland Coastal Bays. *PLOS ONE* 9(2) e89616.
- Singer R.S., Cox Jr L.A., Dickson J.S., Hurd H.S., Phillips I., Miller G.Y. 2007. Modeling the relationship between food animal health and human foodborne illness. *Preventive Veterinary Medicine* 79:186-203.
- Smith D.L., Harris A.D., Johnson J.A., Silbergeld E.K., Morris Jr J.G. 2002. Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:6434-6439.
- Snary, E.L., Kelly, L.A., Davison, H.C., Teale, C.J., Wooldridge, M. 2004. Antimicrobial resistance: A microbial risk assessment perspective. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53:906-917.
- Sommer, H., Aabo, S., Christensen, B., Saadbye, P., Nielsen, N., Nørrung, B. and Wong, D. 2003. Risk assessment of the impact on human health related to multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT 104 from slaughter pigs with an assessment of the impact of possible risk management changes. *Institute of Food Safety and Nutrition*. pp. 104.
- Stewart, G. and Sinifalliano, C. 1990. Detection of horizontal gene transfer by natural transformation in native and introduced species of bacteria in marine and synthetic sediments. *App. Env. Microbiol.* 56 (6) : 1818-1824
- Stiles, M.E. and Ng, L.K. 1981. *Enterobacteriaceae* associated with meats and meat handling. *Appl. Environ. Microbiol.* 41(4):867.
- Su, C. and Liu, C. 2007. Review : *Vibrio parahaemolyticus* : A concern of seafood safety. *Food Microbiology* 24 : 549–558.

- Takikawa, I. 1958. Studies on pathogenic halophilic bacteria. Yokohama Med. Bull. 9:313-322.
- Thai Frozen Food Association (TFFA) 2014. Summary statistics of export shrimp of Thailand during January-December 2013 (2556) <http://www.thai-frozen.or.th/statistic16.php>
- Tran, L., Reantaso, M., Fitzsimmons, K., Lightner, D. and Hoang, P. 2013. Antibiotic use intended to reduce losses due to the early mortality syndrome (EMS/AHPNS) in shrimp farms in Viet Nam. Asian Pacific Aquaculture 2013 by World Aquaculture Society. https://www.was.org/meetings/mobile/MG_Paper.aspx?i=30688
- VLA. (2004) Assessment relative to other pathways of the contribution made by the food chain to the problem of quinolone resistance in microorganisms causing human infections.
- Vose D., Hollinger K., Bartholomew M., Thompson S., Andres C., Brooks D., Hemming K. (2001a) The Human Health Impact of Fluoroquinolone Resistant *Campylobacter* Attributed to the Consumption of Chicken. Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine.
- WHO-AGISAR 2009. Critically important antimicrobials for human medicine. 2nd Revision Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR).
- Wielinga, P. and Schlundt, J. 2012. Combating the risk of antimicrobial resistance in animals for the benefit of human health in Denmark : A case study of emerging risks related to AMR for the International Risk Governance Council (IRGC). pp. 30.
- Wilson, I.G. 2004. Antimicrobial resistance of *Salmonella* in raw retail chickens. imported chicken portions, and human clinical specimens. *Journal of Food Protection* 67(6):1220-1225.
- Woolridge, M. 1999. Qualitative risk assessment for antibiotic resistance. Case study: *Salmonella* Typhimurium and the quinolone/fluoroquinolone class of antimicrobials. In : Antibiotic resistance in the European Union associated with the therapeutic use of veterinary medicines: Report and Qualitative Risk Assessment by the Committee for Veterinary Medicinal Products. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), 7 Westferry Circus, London, UK.

โครงการย่อยที่ 3. การประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยง อาหารริมบาทวิถีที่จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของ ประเทศไทย

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ภายใต้พระราชบัญญัติ “การสาธารณสุข” (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2560 สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร ทำหน้าที่รับผิดชอบด้านการควบคุมกำกับดูแลการสุขาภิบาลอาหาร การควบคุมคุณภาพอาหาร และการคุ้มครองผู้บริโภคด้านอาหารและด้านสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องกับอาหาร เพื่อให้สามารถดำเนินการตามภาระหน้าที่ซึ่งได้ประสานงานกับ 50 สำนักงานเขตกรุงเทพมหานคร เพื่อดำเนินการเขตอาหารปลอดภัยภายใต้โครงการ “กรุงเทพฯ เมืองอาหารปลอดภัย” ณ สถานที่จำหน่ายอาหาร ได้แก่ ตลาด ร้านอาหาร แผงลอย ซูเปอร์มาร์เก็ต โรงอาหารในโรงเรียน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารริมบาทวิถี โดยหน่วยเคลื่อนที่ (mobile unit) เพื่อกำกับดูแลด้านความปลอดภัยอาหารของตาม 6 กลุ่มสำนักงานเขต โดยกองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย ได้ดำเนินการตรวจเฝ้าระวังความปลอดภัยอาหารจากอันตรายเคมีและอันตรายจุลินทรีย์ โดยตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นด้วยชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit) และมีการยืนยัน (confirm) ผลการตรวจวิเคราะห์ซ้ำทางห้องปฏิบัติการ

เมื่อไม่นานมานี้ (18 กรกฎาคม 2560) ผู้ว่าราชการกรุงเทพมหานคร ได้ให้ความสำคัญกับโครงการ “กรุงเทพฯเมืองอาหารปลอดภัย” โดยได้เป็นประธานเปิดงาน “เยาวราชย่านอาหารปลอดภัย” และได้ส่งมอบป้ายรับรองมาตรฐานอาหารปลอดภัยให้แก่ผู้ประกอบการร้านอาหารและแผงลอยจำหน่ายอาหารริมบาทวิถีย่านเยาวราชที่ประกอบปรุงและจำหน่ายอาหารเป็นไปตามมาตรฐาน สถานที่ แผงค้าที่สะอาด ถูกสุขลักษณะ และผู้สัมผัสอาหาร โดยพิจารณาเน้น 3 เกณฑ์สุ่มลักษณะ คือ ¹เกณฑ์การอบรมหลักสูตรการสุขาภิบาลอาหารของกรุงเทพมหานคร ²เกณฑ์การตรวจโรคติดต่อรวมถึงโรคที่อาจก่อให้เกิดโรคทางระบบทางเดินอาหาร 9 โรค ได้แก่ วัณโรค อหิวาตกโรค ไข้รากสาดน้อย โรคบิด ไข้สวกใส โรคคางทูม โรคเรื้อน โรคผิวหนังที่น่ารังเกียจ โรคไวรัสตับอักเสบ ³เกณฑ์อาหารปลอดภัย โดยมีคณะผู้บริหารกรุงเทพมหานคร สำนักอนามัย สำนักงานเขตสัมพันธวงศ์ สภา

วัฒนธรรมเขตสัมพันธวงศ์ ผู้ประกอบการร้านอาหารและแผงลอยจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ร่วมพิธี ณ วงเวียนโอเดียน เขตสัมพันธวงศ์

ในขณะที่ กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร โดยได้ดำเนินโครงการกรุงเทพฯ เมืองอาหารปลอดภัย เพื่อส่งเสริมพัฒนาและยกระดับมาตรฐานสุขาภิบาลอาหารในสถานประกอบการร้านอาหารและแผงลอยจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี ให้มีการเตรียม ประกอบ ปูรง และจำหน่ายอาหารที่สะอาด ปลอดภัย สร้างความมั่นใจแก่ผู้บริโภค รวมทั้งเป็นการส่งเสริมภาพลักษณ์ในด้านการท่องเที่ยวของประเทศด้วย โดยเฉพาะย่านเยาวราช เขตสัมพันธวงศ์ ซึ่งเป็นแหล่งจำหน่ายอาหารที่หลากหลาย เป็นที่รู้จักของประชาชนและนักท่องเที่ยวเป็นอย่างดี

การวิเคราะห์ความเสี่ยง (Risk analysis) เป็นเครื่องมือหรือกรอบแนวทางในการยกระดับความปลอดภัยของอาหาร ประกอบด้วย 3 กระบวนการ ดังนี้

1. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) เป็นกระบวนการในการวัดระดับความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหาร ด้วยวิธีการทางวิทยาศาสตร์และสถิติ โดยอาศัยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematical model) และผลจากการวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อนของอันตราย (จุลินทรีย์ก่อโรค) สามารถชี้แนะแนวทางในการจัดการความเสี่ยงได้

2. การจัดการความเสี่ยง (Risk management) เป็นกระบวนการในการใช้มาตรการต่างๆ เพื่อควบคุมหรือลดระดับความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable level of risk) โดยทั่วไปแล้ว การจัดการความเสี่ยงเป็นหน้าที่ของหน่วยงานราชการที่ทำหน้าที่กำกับดูแล (regulator) ด้านความปลอดภัยของอาหาร เช่น สำนักอนามัย กรมปศุสัตว์ กรมประมง กรมวิชาการเกษตร เป็นต้น

3. การสื่อสารความเสี่ยง (Risk communication) เป็นกระบวนการในการสื่อสารข้อมูลความรู้ระหว่างผู้ประเมินความเสี่ยง (risk assessor) และผู้จัดการความเสี่ยง (risk manager) ไปสู่ที่มีส่วนได้ส่วนเสีย (stakeholders) เช่น ผู้บริโภค หน่วยงานรัฐบาลที่กำกับดูแลความปลอดภัยอาหาร ผู้ประกอบการในห่วงโซ่การผลิตอาหาร เป็นต้น กระบวนการสื่อสารความเสี่ยงที่สำคัญ อาจพิจารณาเป็น 2 องค์ประกอบ คือ

3.1 การสร้างเสริมศักยภาพผู้จัดการความเสี่ยง (capacity building of risk manager) หน่วยงานในสังกัดของ กรุงเทพมหานคร เช่น กองสุขาภิบาลอาหาร เจ้าหน้าที่เขตที่รับผิดชอบพื้นที่ ให้สามารถและมีความรู้ความเข้าใจในการประเมินความเสี่ยง ส่งผลให้เป็นการยกระดับความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถีได้

3.2 การสื่อสารข้อมูลความเสี่ยงเชิงปฏิสัมพันธ์ (interactive risk communication) ระหว่างผู้ส่งสาร คือ หน่วยงานรัฐ และผู้รับสาร คือ ผู้บริโภคผ่านระบบสื่อสังคมออนไลน์ (social media) ช่วยให้ข้อมูลที่ต้องการสื่อสารส่งตรงถึงผู้รับสาร และ ผู้รับสารสามารถโต้ตอบ ความคิดเห็น คำแนะนำ (comment) อย่างรวดเร็ว ทันเหตุการณ์ ตรงจุด/ตรงประเด็น/จำเพาะ ถึงผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถีแต่ละราย (individual street food entrepreneur) ได้ด้วย

การประเมินความเสี่ยงเพื่อทราบระดับความเสี่ยงพื้นฐานของอาหารริมบาทวิถี รวมถึงการสื่อสารความเสี่ยงข้อมูล เช่น มาตรการสุขลักษณะ (hygienic practice) หรือค่าประมาณความเสี่ยงที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงไปสู่ผู้บริโภค นักท่องเที่ยว ส่งผลให้กองสุขาภิบาลอาหารสามารถปรับใช้มาตรการจัดการความเสี่ยง (risk management option) ที่ถูกต้อง เหมาะสม ตรงประเด็น จึงเท่ากับเป็นการยกระดับความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ฝ้าระวังระดับการปนเปื้อน *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* ในอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวเชิงอาหาร
2. วิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* ปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวเชิงอาหาร
3. วิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* ปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวเชิงอาหาร
4. ประเมินความเสี่ยง *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio cholera* ปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวเชิงอาหาร
5. ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าประมาณความเสี่ยงกับการปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถีในจังหวัดท่องเที่ยวเชิงอาหาร
6. การสื่อสารข้อมูลวิจัยเชิงเทคโนโลยีสารสนเทศ (IT-oriented research communication)

การทบทวนวรรณกรรม

อาหารริมบาทวิถี

(street food)

อาหารริมบาทวิถี (street vended food) ตามนิยามขององค์การอาหารและเกษตรและสหประชาชาติ (FAO) หมายถึง อาหารและเครื่องดื่มพร้อมบริโภคที่เตรียมหรือจำหน่ายโดยผู้ขายในถนนหรือสถานที่สาธารณะ สามารถบริโภคได้ทันทีหรือบริโภคภายหลังโดยปราศจากการแปรรูปหรือเตรียมเพิ่มเติม (WHO/FNU/FOS/96.7, 1996) ผู้ค้าขายเร่แผงลอย (street vendor) หมายถึง บุคคลผู้นำเสนอสินค้าเพื่อการจำหน่ายต่อสาธารณะโดยปราศจากสิ่งปลูกสร้างถาวร มีเพียงสิ่งปลูกสร้างชั่วคราวหรือแผงค้าเท่านั้น ผู้ค้าริมบาทวิถีอาจจะขายอยู่เฉพาะที่ (stationary) โดยการครอบครองพื้นที่บนบาทวิถีหรือพื้นที่เอกชน พื้นที่สาธารณะ หรือ เร่ขาย (mobile) ไปตามสถานที่ต่างๆ โดยบรรทุกสินค้าไปบนรถเข็นหรือจักรยานหรือตะกร้าบนศีรษะ หรือ การจำหน่ายในรถไฟหรือรถประจำทาง (Government of India, 2004) (Malhotra, 2017)

อาหารริมบาทวิถี (street food) หมายถึง อาหารที่ได้จัดเตรียมโดยผู้ค้าและจำหน่ายในพื้นที่เปิดโล่ง ในลักษณะร้านค้า รถเข็น รถกระบะบรรทุก หรือเป็นรูปแบบแผงร้าน เน้นจำหน่ายอาหารที่ปรุงรวดเร็ว ปรุงง่าย รับประทานง่าย หรือ รับประทาน ณ บริเวณที่จำหน่ายหรือ ขณะกำลังเดินในบริเวณดังกล่าว ดังนั้น ผู้ค้าอาหารหาบเร่แผงลอย ณ สถานที่ท่องเที่ยว จึงรวมความถึง กลุ่มผู้ค้าอาหารริมบาทวิถี ณ สถานที่ท่องเที่ยวด้วย ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อการดึงดูดนักท่องเที่ยวให้ตัดสินใจเลือกสถานที่ท่องเที่ยวนั้นๆ อีกด้วย (โรจนศักดิ์และธนธร, 2558)

นอกจากนี้ ได้มีผู้แจกแจงความหมายที่แตกต่างกันระหว่าง “road” หมายถึง สถานะของการเคลื่อนที่จากจุดหนึ่งไปอีกจุดหนึ่งในเชิงการเดินทางหรือการขนส่ง ในขณะที่ street ครอบคลุมความหมายของ road รวมไปถึงวิถีการดำเนินชีวิตและประชาสังคม สิ่งแวดล้อมในบริเวณนั้นๆ ซึ่งพึงจะหมายรวมถึง sidewalks อันเป็นบริเวณแนวทางเดินหน้าอาคารหรือสิ่งปลูกสร้างคู่ขนานไปกับ street ด้วย (อริยา อรุณินท์, 2545)

การเลือกสถานที่ท่องเที่ยวที่มีอาหารริมบาทวิถี

(Street food and tourism destination selection)

แม้ว่าแนวโน้มอาหารริมบาทวิถีในเชิงการท่องเที่ยวเพื่อการเรียนรู้เกี่ยวกับอาหารท้องถิ่น (Gastronomic tourism) จะได้รับความสนใจมากขึ้น กระทั่งประเทศไทยได้รับการคัดเลือกจากสำนักข่าว CNN ให้กรุงเทพฯ เป็น สวรรค์ของอาหารริมบาทวิถี ต่อเนื่อง 2 ปีซ้อน ในขณะที่การรักษาชื่อเสียงยังมีความเปราะบาง

(vulnerability) ขึ้นอยู่กับความรู้สึกหรือภาพลักษณ์ด้านสุขลักษณะและความปลอดภัยของอาหารริมบาทวิถี อย่างมีนัยสำคัญ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยได้มีการศึกษาวิจัย “การท่องเที่ยวเพื่อการเรียนรู้เกี่ยวกับอาหารโดยกลุ่มหาบเร่แผงลอยกับการตัดสินใจ เลือกสถานที่ท่องเที่ยว หรือ Gastronomic tourism of hawking food and tourism destination selection” โดย ดร.โรจนศักดิ์ โฉมวิไลลักษณ์ และ ดร.ธนธร วชิรขจร พ.ศ. 2558 ใน 4 กลุ่มตัวอย่างนักท่องเที่ยว ใน ถนนคนเดินเชียงใหม่ ถนนคนเดินขอนแก่น ถนนคนเดินสงขลาแต่แรก และตลาดเยาวราช กรุงเทพมหานคร ซึ่งจากการทดสอบสมมติฐานจากข้อมูลกลุ่มตัวอย่างนักท่องเที่ยวโดยรวม ($n = 651$) พบว่า ภาพลักษณ์ด้านความสะอาดถูกสุขอนามัย (cleanliness/sanitation) และความปลอดภัย (street food safety) ของอาหารหาบเร่แผงลอยมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.001$ และ $p < 0.05$ ตามลำดับ ในการตัดสินใจเลือกสถานที่ท่องเที่ยวด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (coefficient) ที่ 0.200 และ -0.099 ตามลำดับ หมายความว่า ความสะอาด/ถูกสุขลักษณะของอาหารหาบเร่แผงลอยเป็นปัจจัยประมาณร้อยละ 20 ในการเลือกสถานที่ท่องเที่ยวที่มีอาหารหาบเร่แผงลอย ในขณะที่ความปลอดภัยของอาหารหาบเร่แผงลอยเป็นปัจจัยเพียงร้อยละ 9 ต่อการเลือกสถานที่ท่องเที่ยวที่มีอาหารหาบเร่แผงลอย นอกจากนี้ ยังหมายความว่า นักท่องเที่ยวมีทัศนคติที่ดีต่อความสะอาด/สุขอนามัยของอาหารหาบเร่แผงลอยมากกว่าความปลอดภัยของอาหารหาบเร่แผงลอย และเมื่อพิจารณาสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของปัจจัยความปลอดภัยของอาหารหาบเร่แผงลอยที่มีค่าลบในระดับต่ำ แสดงว่า การปัจจัยการเลือกสถานที่ท่องเที่ยวที่มีอาหารหาบเร่แผงลอยนั้นสวนทางเพียงเล็กน้อยกับการความปลอดภัยของอาหารหาบเร่แผงลอย แสดงว่านักท่องเที่ยวมีทัศนคติที่ยังไม่เป็นบวกต่อความปลอดภัยของอาหารหาบเร่แผงลอย จนในอนาคตอาจจะเป็นเหตุให้นักท่องเที่ยวปฏิเสธการท่องเที่ยวและอาหารหาบเร่แผงลอยของประเทศไทยได้

นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มของนักท่องเที่ยวพบว่า นักท่องเที่ยวชาวไทยร้อยละ 62.5 (407 คน) นักท่องเที่ยวชาวต่างชาติ ร้อยละ 37.5 (244 คน) แจกแจงเป็นชาวจีนร้อยละ 13.7 (89 คน) ชาวอเมริกันจำนวนร้อยละ 4.3 (28 คน) ชาวอังกฤษร้อยละ 2.2 (14 คน) ชาวแคนาดาร้อยละ 1.8 (12 คน) ชาวออสเตรเลียร้อยละ 1.5 (10 คน) พบว่าภาพลักษณ์ด้านความสะอาดถูกสุขอนามัยของอาหารหาบเร่แผงลอยมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการตัดสินใจเลือกสถานที่ท่องเที่ยวของนักท่องเที่ยวชาวไทย นักท่องเที่ยวชาวจีน และนักท่องเที่ยวชาวตะวันตก ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (coefficient) ร้อยละ 10, 26 และ 38 ตามลำดับ ดังนั้นนักท่องเที่ยวทุกชาติต่างก็ให้ความสำคัญด้านความสะอาดถูกสุขลักษณะของอาหารหาบเร่แผงลอยเป็นสำคัญ

การขาดสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี

(Poor hygiene of street food)

คณะกรรมการอาหาร Codex Alimentarius Commission ได้ออกหลักเกณฑ์การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะสำหรับอาหารริมบาทวิถีในภูมิภาคเอเชีย ฉบับล่าสุด ค.ศ. 2017 (CAC/RCP 76R-2017) เพื่อเป็นการเน้นย้ำถึงความสำคัญในการป้องกันโรคอาหารเป็นพิษด้วยการรักษาสุขลักษณะที่เหมาะสมของอาหารริมบาทวิถี การได้ทราบความถี่ (frequency of problem) และขนาดของปัญหา (magnitude of problem) ในประเด็นต่างๆ ทำให้หน่วยงานรัฐบาลที่กำลังดูแลสามารถดำเนินมาตรการจัดการความเสี่ยง (risk management option) ที่เหมาะสมในการแก้ไขปัญหาได้อย่างตรงประเด็นและมีประสิทธิภาพสูงสุด ประเด็นของสุขลักษณะที่เป็นปัญหาสำคัญสามารถแจกแจงได้ดังนี้

สุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี

1. สุขลักษณะส่วนบุคคล พบว่า อาหารริมบาทวิถีของประเทศเคนยา ผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี ไม่ใช้ผ้ากันเปื้อน (apron) ร้อยละ 81.3, เล็บยาวร้อยละ 12.3, ไม่สวมหมวกป้องกัน ร้อยละ 65 (Muinde and Kuria, 2005) ในขณะที่สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวง Port-au-Prince ประเทศเฮติ มีความหลากหลายในประเด็นต่างๆ ดัง ตาราง 57

ตาราง 57 สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงของประเทศเฮติ

สุขลักษณะส่วนบุคคล	ร้อยละ
ไม่สวมถุงมือในการสัมผัสอาหาร	80
ไม่ป้องกันการปนเปื้อนของเครื่องประดับ	75
ไม่ใช้ apron	60
ไม่สวมหมวกป้องกันการปนเปื้อน	35
สวมเครื่องประดับระหว่างการจำหน่ายอาหาร	20
เล็บยาว ไม่สะอาด	10
สูบบุหรี่ระหว่างจำหน่ายอาหาร	0
สวมเสื้อผ้าที่ไม่สะอาด	0

ที่มา Samapundo et al., 2015

2. พฤติกรรมสุขลักษณะ พบว่า อาหารริมบาทวิถีของประเทศเคนย่า ผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมไม่มีการล้างมือหลังจากการสัมผัสเหรียญ/ธนบัตร ร้อยละ 100 สวมเครื่องประดับร้อยละ 10 (Muinde and Kuria, 2005) ใกล้เคียงกับประเทศบราซิลผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีไม่มีการล้างมือหลังจากการสัมผัสเหรียญ/ธนบัตร ร้อยละ 80.2 แต่มีการล้างทำความสะอาดมือระหว่างทำงานร้อยละ 77.4 (Silva et al., 2014) ในขณะที่ พฤติกรรมสุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวง Port-au-Prince ของประเทศไฮติ มีความหลากหลายในประเด็นต่างๆ ดัง ตาราง 58

ตาราง 58 พฤติกรรมสุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงของประเทศไฮติ

พฤติกรรมสุขลักษณะ	ร้อยละ
ไม่ทำความสะอาดหลังการสัมผัสเหรียญ/ธนบัตร	94
สัมผัสอาหารด้วยมือเปล่า	80
สัมผัสเหรียญ/ธนบัตร ขณะจำหน่ายอาหาร	80
ไม่ล้างมือในน้ำสะอาดก่อนสัมผัสอาหาร	55
การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยผ้าไม่สะอาด	30
การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยผ้ากันเปื้อน	5
ไม่ล้างมือในน้ำสะอาดหลังใช้ห้องสุขา	0

ที่มา Samapundo et al., 2015

3. ภาวะสุขภาพ พบว่า อาหารริมบาทวิถีในประเทศไนจีเรีย ผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีมีใบรับรองสุขภาพทางการแพทย์ร้อยละ 31 (Omemu and Aderoju, 2008)

สุขลักษณะของสถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถี

สถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถีในประเทศเคนย่ามีการกำหนดพื้นที่ที่ไม่เหมาะสม กล่าวคือ มีการตั้งวางใกล้กับขยะและจุดทิ้งขยะถึงร้อยละ 85 ไม่มีถังขยะร้อยละ 92.5 ในขณะที่ถังขยะส่วนใหญ่ไม่มีการทำความสะอาด (Muinde and Kuria, 2005) ส่วนเมือง Kampala ประเทศอูกันดา มีการใช้ถังขยะที่ไม่มีฝาปิดมิดชิด แข็งแรงและมีการใช้กระสอบป่านในการเก็บขยะร้อยละ 92.8 (Muyanja et al., 2011) ในขณะที่สุขลักษณะของสถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวง Port-au-Prince ของประเทศไฮติ มีความหลากหลายในประเด็นต่างๆ ดัง ตาราง 59

ตาราง 59 สุขลักษณะของสถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงประเทศไฮติ

สุขลักษณะของสถานที่/แผงค้า	ร้อยละ
ไม่มีเครื่องป้องกันแสงแดด สัตว์รังควาน แมลงวัน	85
ใช้เต็นผ้าใบเป็นวัสดุทำแผงค้า	45
ใช้โต๊ะไม้เป็นวัสดุทำแผงค้า	35
ไม่มีการบำรุงรักษาแผงค้า	25
ใช้เหล็ก/สังกะสี/เป็นวัสดุทำแผงค้า	10
ใช้ภาชนะบรรจุเป็นวัสดุทำแผงค้า	5

ที่มา Samapundo et al., 2015

สุขลักษณะของพื้นที่บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี

ศูนย์จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในประเทศทรีนิแดดส่วนมากไม่มีน้ำประปา ไม่มีระบบการระบายน้ำเสีย ร้อยละ 97.5 (Benny-Olliviera and Badrie, 2007) ในขณะที่สุขลักษณะของศูนย์/บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวง Port-au-Prince ของประเทศไฮติ มีความหลากหลายในประเด็นต่างๆ ดัง ตาราง 60

ตาราง 60 สุขลักษณะของศูนย์/บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในเมืองหลวงประเทศไต้หวัน

สุขลักษณะของศูนย์/บริเวณจำหน่าย	ร้อยละ
ไม่มีสถานที่/อุปกรณ์ล้างทำความสะอาดมือ	80
ไม่มีระบบกำจัดขยะ/น้ำเสีย	80
ไม่มีน้ำสะอาดระดับดื่มได้	60
แผงค้าใกล้ขยะ/น้ำเสีย/ระบายของเสีย/สุขา/สัตว์	5

ที่มา Samapundo et al., 2015

สุขลักษณะของอุปกรณ์เครื่องใช้ วัสดุติด เครื่องปรุง การบรรจุภาชนะ การเตรียม/การปรุงอาหาร
มีรายงานสุขลักษณะไม่เหมาะสมของการปนเปื้อนข้ามระหว่างอาหารดิบและอาหารสุก (cross contamination) ประมาณร้อยละ 40-80 (Bean and Griffin, 1990; Muinde and Kuria, 2005; Zhang et al., 2015) สุขลักษณะของการเตรียมอาหารไม่เหมาะสม ร้อยละ 20-30 (Lucca and Torres, 2006; Chukuezi, 2010)

สุขลักษณะการเตรียม/การเก็บรักษาอาหาร

มีรายงานการเก็บรักษาอาหารในภาชนะหรืออุณหภูมิไม่เหมาะสม ร้อยละ 50 (Bean and Griffin, 1990) ผู้จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในประเทศไนจีเรีย ฟิลิปปินส์ มีการเตรียมอาหารในตอนเช้า ร้อยละ 90 และ 55 ตามลำดับ (Omemu and Aderoju, 2008; Canini, 2013) ในขณะที่ผู้จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในประเทศอุกานดาเตรียมปรุงอาหารในพื้นที่และเตรียมล่วงหน้าก่อนการบริโภค ร้อยละ 75-77 (Muyanja et al., 2011) เจ้าหน้าที่จำนวน 112 คนของหน่วยบริการอาหารในมหาวิทยาลัย Malaysia Kebangsaan ไม่ทราบอุณหภูมิเหมาะสมในการเก็บรักษาอาหารริมบาทวิถี (Sani and Siow, 2014) ผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถีในประเทศเคนยาเก็บรักษาอาหารเหลือจำหน่ายในสถานที่เปิด ตู้เย็น กล่องพลาสติก และถุงพลาสติกในตู้ ร้อยละ 26, 21, 21 และ 16 ตามลำดับ (Muinde and Kuria, 2005) ในประเทศอินเดียขาดแคลนเครื่องทำความเย็นในการเก็บรักษาอาหารเหลือจำหน่ายและมีการเก็บรักษา ผักใบเขียว อาหารดิบ อาหารกระป๋อง น้มนมและผลิตภัณฑ์ เพื่อจำหน่ายในวันต่อไป ร้อยละ 20, 93, 97 และ 30 ตามลำดับ (Choudhury et al., 2011)

ความรู้ ทศนคติและการปฏิบัติ (Knowledge, Attitude and Practice)

ระดับความรู้ของผู้ประกอบการ/จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในประเทศอูกานดา มีระดับความรู้ต่ำ ร้อยละ 87.6 (Muyanja et al., 2011) ผู้ประกอบการ/จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในประเทศอินเดีย ได้รับข้อมูลความรู้ด้านสุขลักษณะและการปนเปื้อนอาหาร ร้อยละ 30-37 และ 8-11 ตามลำดับ ในขณะที่การอบรมเพิ่มความรู้ของผู้ประกอบการจากร้อยละ 24.4 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 66.2 และการนำความรู้ที่ได้ไปปฏิบัติจริงเพิ่มขึ้นจาก 37.3 เป็นร้อยละ 50.8 (Choudhury et al., 2011)

มีการศึกษาถึงระดับความรู้ของผู้ประกอบการธุรกิจอาหารขนาดเล็ก พบว่า ความรู้เรื่องการปนเปื้อนอาหารด้วยแบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษ ร้อยละ 57 ความรู้เรื่องอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแช่เย็นอาหาร ร้อยละ 16 Walker et al. (2003) ในขณะที่หลายการศึกษาระบุถึงการขาดความรู้ด้านสุขลักษณะเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (Mensah et al., 2002; Muinde and Kuria, 2005; Lues et al., 2006)

สัดส่วนของผู้ประกอบการจำหน่ายอาหารริมบาทวิถีในประเทศไนจีเรีย ได้รับการอบรมความรู้ด้านการเตรียมอาหารจากสถาบันระดับมหาวิทยาลัย มีสัดส่วนร้อยละ 12 (Omemu and Aderoju, 2008)

การศึกษาในกรุงโฮจิมิน ประเทศเวียดนามพบว่าผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถีขาดความรู้เพียงพอ และปฏิบัติบกพร่องในด้านความปลอดภัยอาหารร้อยละ 95 และ 88 ตามลำดับ (Nguyen et al., 2010) ผลการศึกษาในประเทศจีนสอดคล้องกันในเรื่องของการขาดความรู้และการปฏิบัติด้านสุขลักษณะที่เหมาะสม ร้อยละ 66 (Zhang et al., 2015) ซึ่งสอดคล้องกับอีกหลายการศึกษาในเรื่องจุลินทรีย์ก่อโรคของผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถี (Askarian et al., 2004; Gomes-Neves et al., 2011)

หลักเกณฑ์การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะสำหรับอาหารริมบาทวิถีในภูมิภาคเอเชีย

(Regional Code of Hygienic Practice for Street-vended Foods in Asia)

คณะกรรมการ Codex Alimentarius Commission ได้ออกหลักเกณฑ์การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะสำหรับอาหารริมบาทวิถีในภูมิภาคเอเชีย ฉบับล่าสุด ค.ศ. 2017 (CAC/RCP 76R-2017) มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการพิจารณากำหนดมาตรการควบคุมอาหารริมบาทวิถี โดยมีเนื้อหา (scope) ครอบคลุมการปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะทั่วไปที่จำเป็นเพื่อความปลอดภัยของอาหารริมบาทวิถี ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้มีส่วนเกี่ยวข้อง (stakeholders) ส่งเสริมสุขลักษณะอาหารริมบาทวิถี ซึ่งประกอบด้วย ¹ผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี ²ผู้บริโภคอาหารริมบาทวิถี และ ³เจ้าหน้าที่รัฐควบคุมอาหารริมบาทวิถี สำหรับประเทศที่อยู่ในทวีปเอเชีย

สุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

1. สุขลักษณะส่วนบุคคล (personal hygiene)

เสื่อผ้าสะอาด สวมถุงมือ ตาข่ายคลุมผม เล็บสั้น สะอาดตลอดเวลา ไม่สวมเครื่องประดับ/นาฬิกา ระหว่างการเตรียมอาหาร มีการป้องกันแผลบาด/แผลเปิดด้วยวัสดุกันน้ำที่เปลี่ยนเป็นประจำ

2. พฤติกรรมสุขลักษณะ (hygienic behavior)

ระหว่างการสัมผัสอาหาร ไม่กิน ไม่เคี้ยว ไม่สูบบุหรี่ ไม่ถมน้ำลาย ไม่ล้าง/แคะ/ทุกช่องเปิดร่างกาย (เช่น จมูก หู เป็นต้น) ไม่สัมผัสร่างกาย ไม่สัมผัสโทรศัพท์มือถือ ไม่สัมผัสเหรียญ/ธนบัตร ไม่ไอ/จาม/รดอาหาร ล้างมือให้สะอาดอย่างทั่วถึงด้วยสบู่/น้ำสะอาดทั้งก่อนการสัมผัสอาหาร/หลังใช้ห้องสุขา/หลังกิจกรรมต้องห้าม ดังกล่าวข้างต้น

3. สถานะสุขภาพ (health status)

ไม่มีอาการดีซ่าน ถ่ายเหลว อาเจียน ไข้ เจ็บคอ สิ่งคัดหลั่งทางหู/ตา/จมูก ไอถี่บ่อย บาดแผลติดเชื้อจากไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แผลบาด

สุขลักษณะของผู้บริโภค

- ไม่กิน ไม่เคี้ยว ไม่สูบบุหรี่ ไม่ถมน้ำลาย ไม่สัมผัสใกล้กับอาหาร
- ไม่ทิ้ง ไม่จาม ไม่ไอ ใกล้อาหาร
- ทิ้งเศษอาหารเหลือลงในถังขยะ
- รายงานพฤติกรรมที่ไม่ถูกสุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีต่อเจ้าหน้าที่รัฐ

บทบาทความรับผิดชอบของเจ้าหน้าที่รัฐ

- ใฝ่ระวังสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถีที่จำหน่าย
- ใฝ่ระวังสภาวะแวดล้อม ความสะอาดน้ำ การกำจัดสิ่งสกปรกปนเปื้อน
- ส่งเสริมความตระหนักรู้ จูงใจ อบรม ผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีและผู้บริโภค
- ร่วมกับผู้เชี่ยวชาญ อาสาสมัครในการส่งเสริมความตระหนักรู้ จูงใจ อบรม ผู้ประกอบการและผู้บริโภค

สุขลักษณะของสถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถี

- สถานที่จำหน่ายสะอาด อากาศถ่ายเท ไม่มีมลพิษ

- สถานที่จำหน่ายมีพื้นที่เพียงพอทั้งสำหรับรถเข็นและพื้นที่ระหว่างรถเข็น
- แผงค้าควรมีการปกคลุมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนอาหาร
- เต้า อุณหภูมิทำความสะอาด โต๊ะ/ชั้น/ตู้สำหรับอาหารควรสูงจากพื้นเพียงพอที่จะป้องกันการปนเปื้อน

- แผงค้าทำจากวัสดุปลอดภัย ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อได้สะดวก
- ถังขยะปิดมิดชิด ทำจากวัสดุปลอดภัย ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อได้สะดวก
- แผงค้ามีการแยกพื้นที่ระหว่างวัตถุดิบและอาหารที่ผ่านการปรุงแล้ว เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้าม
- สถานที่ชำระล้างทำความสะอาดมีน้ำเพื่ออำนวยความสะดวกให้กับผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถีและผู้บริโภคในระยะห่างที่ปลอดภัยจากพื้นที่ปรุง/จำหน่าย/อาหาร

- สถานที่ล้างมือถูกสุขลักษณะ ประกอบด้วย น้ำสะอาด สบู่ สารทำความสะอาด
- สุขลักษณะของพื้นที่บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี

- ได้รับอนุญาตจากเจ้าหน้าที่รัฐ
- มีพื้นที่เพียงพอในการจัดระเบียบแผงค้า เพื่อการจัดเตรียม เก็บรักษาและบริการจำหน่ายอาหาร
- มีพื้นที่เพียงพอในการจัดระเบียบการเคลื่อนย้ายวัสดุ/อุปกรณ์ เพื่อป้องกันการเป็นแหล่งปนเปื้อนอาหาร

- มีการเตรียมสถานที่อำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้บริการ เช่น ห้องสุขา การล้างมือ การรับประทานอาหาร โดยกำหนด/จัดเตรียม/ตำแหน่งที่สามารถป้องกันการเป็นแหล่งปนเปื้อนอาหาร

- มีการเตรียมพื้นที่เหมาะสม/เพียงพอสำหรับการเก็บรักษาขยะและทำความสะอาด ล้าง ฆ่าเชื้ออุปกรณ์ทำอาหารและเครื่องไฟฟ้าในตำแหน่งที่สามารถป้องกันการเป็นแหล่งปนเปื้อนอาหาร

- พื้นมีลักษณะเป็นซีเมนต์เรียบหรือกระเบื้องผิวมัน มีท่อ/ทาง/ระบายน้ำจากพื้น ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อได้สะดวก

- มีแสงสว่างที่เพียงพอ/เหมาะสมช่วยในการจัดเตรียม/เก็บรักษา/ให้บริการอาหาร
- มีท่อดูดเหนือเต้าเพื่อระบายแก๊สหุงต้ม/ควัน/กลิ่นจากพื้นที่ใจกลางศูนย์จำหน่ายอาหารออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก

- มีน้ำสะอาดและพื้นที่เก็บน้ำเพียงพอ
- มีระบบระบายของเสีย

- มีชั้นหรือกล่องบรรจุที่มีฝาปิดสำหรับเก็บภาชนะหรือขวด

การบำรุงรักษาและการทำความสะอาดฆ่าเชื้อ

- แผงค้ำและผิวหน้างานได้รับการบำรุงรักษา/ซ่อมแซม/ให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนอาหารจากอันตรายทางกายภาพ เช่น ผิวหน้างานแตก/บิ่น ตะปู/หลวม/หลุด/หักงอ เป็นต้น

- ผู้ประกอบการมีน้ำสะอาดใช้

- การเผื่อระวังความสะอาดของน้ำ 3 จุด คือ แหล่งน้ำ บ่อพักและจุดใช้น้ำ

- ผู้ประกอบการควรตระหนักถึงการใช้/การเก็บรักษา/น้ำและน้ำแข็ง

- ผู้ประกอบการมีมาตรการเหมาะสมในการเก็บรักษาแผงค้ำให้ปลอดจากสัตว์รบกวน (pest) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

- ทำลายอาหารที่ปนเปื้อนด้วยสัตว์รบกวน

- ป้องกันอาหารปนเปื้อนด้วยสารกำจัดสัตว์รบกวน (เช่น ยาเบื่อ) เชื้อเพลิง สารทำความสะอาด สารเคมีทั่วไป

- ขณะมีการกำจัดอย่างถูกต้องในภาชนะที่เหมาะสมมีฝาปิดแข็งแรง เจ้าหน้าที่รัฐดำเนินการกำจัดขยะเป็นระยะๆ

- น้ำเสียมีการระบายลงท่อรับเพื่อป้องกันการสะสม

สุขลักษณะของอุปกรณ์เครื่องใช้

- อุปกรณ์เครื่องใช้ ภาชนะบรรจุ ทำจากวัสดุที่ไม่ปล่อยสารพิษ กลิ่น รสชาติ ไม่ดูดซับสาร ไม่ปนเปื้อนอาหาร ทนต่อการกัดกร่อน การทำความสะอาดและฆ่าเชื้อซ้ำๆ

- รักษาความสะอาดของอุปกรณ์ เครื่องใช้ไฟฟ้า พื้นผิวสัมผัสอาหาร ทำความสะอาดก่อนและหลังการใช้งานทุกวัน และทันทีที่สัมผัสกับอาหารดิบ ใช้เฉพาะสารทำความสะอาดที่ปลอดภัยกับอาหารเท่านั้น

- อุปกรณ์สัมผัสอาหาร ภาชนะ เป็นชนิดปลอดภัยกับอาหาร ทำความสะอาดสม่ำเสมอ อยู่ในสภาพที่ทำงานได้ดี มีการเลือกใช้วัสดุอุปกรณ์ชนิดใช้ครั้งเดียวทิ้ง

สุขลักษณะของวัตถุดิบ เครื่องปรุง การบรรจุภาชนะ

- กำหนดมาตรฐานวัตถุดิบ เครื่องปรุง การบรรจุภาชนะ

- น้ำแข็งทำจากน้ำสะอาดระดับดื่มได้ น้ำแข็งที่ไม่สัมผัสกับอาหารอนุญาตให้ทำจากน้ำสะอาดทั่วไปได้

- ใช้วัตถุดิบ เครื่องปรุงในบรรจุภัณฑ์ก่อนวันหมดอายุหรือวันที่มีคุณภาพดีที่สุด (best before date)

- ใช้วัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ในปริมาณที่อนุญาต
- ห่อหุ้มอาหารด้วยวัสดุที่สะอาดป้องกันการปนเปื้อน

สุขลักษณะการเตรียม/การปรุงอาหาร

- ใช้วัตถุดิบอาหารที่ปลอดภัยในการทำอาหาร
- ทำความสะอาดอาหารดิบด้วยน้ำที่สะอาดก่อนการปรุงอาหาร
- ละลายอาหารแช่แข็งในจิ้งหะก่อนการปรุงอาหาร
- หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามระหว่างอาหารดิบและอาหารสุกผ่านความร้อนแล้ว เช่น การแยกชุด

อุปกรณ์สำหรับอาหารดิบออกจากชุดอุปกรณ์สำหรับอาหารสุก

- อาหารผ่านความร้อนนานเพียงพอและให้สุกทั่วถึงกันทั้งหมด
- อาหารที่ปรุงสุกแล้วมีการอุ่นซ้ำในจิ้งหะก่อนการบริโภคอาหาร
- น้ำมันปรุงอาหารผ่านการตรวจสอบสี กลิ่นและรส
- อาหารรับประทานแบบร้อนมีอุณหภูมิขั้นต่ำ 60°C
- อาหารรับประทานแบบร้อนจึงเก็บรักษาให้ร้อนตลอดเวลา ส่วนอาหารรับประทานเย็นจึงเก็บรักษา

ให้เย็นตลอดเวลา

- เก็บรักษาอาหารที่ปรุงสุกแล้วในที่ถูกสุขลักษณะ หากไม่รับประทานภายใน 2 ชั่วโมงให้อุ่นอาหารซ้ำก่อนการบริโภค

สุขลักษณะการเตรียม/การเก็บรักษาอาหาร

- ปกคลุมอาหารเพื่อป้องกันการปนเปื้อนอาหารจากฝุ่นหรือสิ่งสกปรก
- ทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องใช้ที่สัมผัสอาหารให้ถูกสุขลักษณะ
- อุปกรณ์เกี่ยวกับอาหารชนิดใช้ครั้งเดียวทิ้ง (disposable) เช่น จาน ถ้วย หลอด กระดาษซับ ถู่มือ

ไม่นำกลับมาใช้ซ้ำ

- อาหารพร้อมบริโภคที่ไม่ผ่านความร้อนต้องให้ความระมัดระวังสูงสุด มีการปนคลุมาอาหาร หรือ นำแสดงอาหารภายในตู้หรือกล่องปิดมิดชิด

- ทำลายอาหารเหลือ/เน่าเสียได้/จำหน่ายไม่หมดอย่างถูกสุขลักษณะ
- แยกเตรียมและเก็บรักษาอาหารดิบและอาหารสุกจากกัน
- เก็บรักษาเครื่องปรุง น้ำซอสที่อุณหภูมิเหมาะสม

- ใช้ภาชนะและการบรรจุอาหารแยกกันระหว่างผู้บริโภคแต่ละคน
- เก็บรักษาอาหารที่สุกและอาหารเน่าเสียได้ไม่เกิน 5๐ซ
- เก็บรักษาเชื้อเพลิง สารทำความสะอาด สบู่ ในภาชนะเฉพาะและแยกจากพื้นที่เก็บรักษาอาหาร
- ขนส่งและเก็บรักษาอาหารอย่างถูกต้องลักษณะและบริโภคภายในระยะเวลาที่กำหนด
- หลังการทำงานอื่นแล้ว ล้างทำความสะอาดมือก่อน การสัมผัสอาหาร

การให้ความรู้และการอบรม

- ผู้ประกอบการ ผู้ช่วย ผู้สัมผัสอาหารผ่านการอบรมสุขลักษณะอาหาร โดยทั่วไปแล้ว จุลินทรีย์โรคอาหารเป็นพิษส่วนมากสามารถป้องกันได้ด้วยการปรุงอาหารด้วยความร้อนอย่างทั่วถึง การเก็บรักษาอาหารอุ่นให้อุ่นและเก็บรักษาอาหารเย็นให้เย็นตลอดเวลา การเก็บรักษาในตู้เย็น การหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม เจ้าหน้าที่รัฐหรือสถานบันทำหน้าที่ในการอบรม ผู้ประกอบการควรมีสำนักรับผิดชอบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

- อุปกรณ์การอบรมควรเน้นภาพมากกว่าตัวอักษร ข้อมูลสำคัญควรมีลักษณะสั้น กระชับ ตรงประเด็น ด้วยภาษาที่เข้าใจได้ง่าย อุปกรณ์การอบรมควรกันน้ำได้ นำเสนอง่าย สอดคล้องกับแผงค้าและศูนย์จำหน่ายอาหาร ข้อมูลอบรมอยู่บนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ โดยผู้เชี่ยวชาญที่มีประสบการณ์ตรงด้วยความช่วยเหลือจากเจ้าหน้าที่รัฐ หน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องและสถาบันที่ไม่ใช่ราชการ

- ผู้บริโภคควรตระหนักถึงหน้าที่ความรับผิดชอบด้วย

การวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหาร

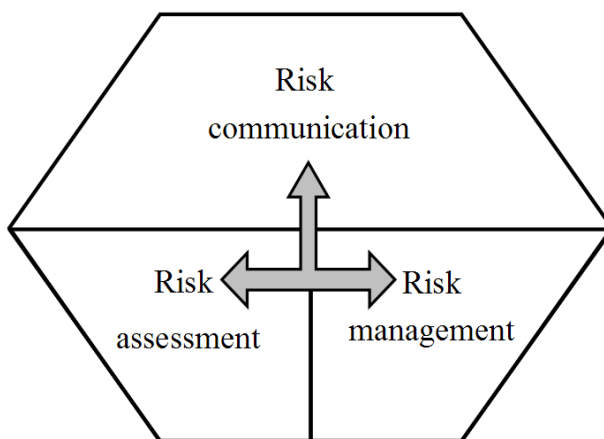
(Food Risk Analysis)

การวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหารตามแนวทางปฏิบัติของคณะกรรมการธิการเกณฑ์อาหาร หรือ Codex Alimentarius Commission (CAC) ประกอบด้วย 3 องค์ประกอบหลักที่มีความเชื่อมโยงต่อเนื่อง (ภาพ 54) คือ

1. การจัดการความเสี่ยง (Risk management)
2. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)
3. การสื่อสารความเสี่ยง (Risk communication)

การแบ่งองค์ประกอบดังกล่าวนี้ ไม่ใช่เป็นเรื่องใหม่แต่อย่างใด หน่วยงานต่างๆ ที่ดำเนินการควบคุมความปลอดภัยของอาหารได้ใช้กระบวนการนี้มานานก่อนที่จะมีการจัดแบ่งอย่างเป็นทางการโดยองค์การระหว่างประเทศ อย่างไรก็ตาม ตั้งแต่ได้มีการแนะนำแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงอย่างเป็นทางการโดย

คณะกรรมการการเกณฑ์อาหารเมื่อประมาณกว่า 20 ปีมาแล้ว แนวคิดและแนวทางนี้ก็ได้รับการยอมรับ ปรับปรุง บูรณาการเป็นหนึ่งศาสตร์ความรู้ขึ้นมาในระดับชาติและระดับนานาชาติ



ภาพ 54 องค์ประกอบของการวิเคราะห์ความเสี่ยงความปลอดภัยอาหาร

แม้ว่าจะมีการพยายามขีดเส้นเพื่อกำหนดหน้าที่หรือแนวทางที่แยกจากกันในองค์ประกอบทั้ง 3 (ภาพ 54) ที่กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ตาม ทั้ง 3 องค์ที่สำคัญนี้แทบจะแยกกันไม่ได้ในเชิงการทำหน้าที่และยังช่วยเติมเต็มซึ่งกันและกันเป็นหนึ่งศาสตร์ความรู้ด้วย กระนั้นก็ตาม เมื่อได้มีการแบ่งแยกย่อยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงเป็น 3 ขั้นตอนแล้ว จึงได้นิยามแต่ละขั้นตอนโดยมีผู้จัดการความเสี่ยงเป็นผู้ขับเคลื่อนหรือกำหนดทิศทางของการควบคุม ดังนี้

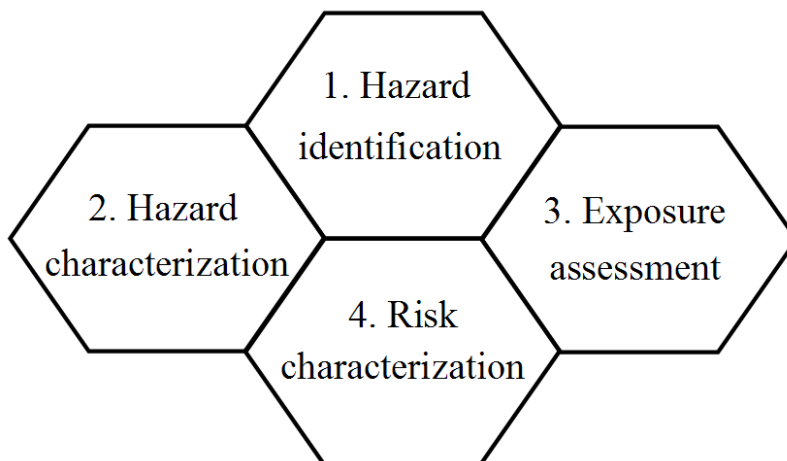
1. การจัดการความเสี่ยง (Risk management) เป็นกระบวนการที่ใช้ดุลยพินิจวางดุลวิธีการควบคุม ป้องกันความปลอดภัยของอาหารที่เหมาะสม โดยได้รับคำปรึกษาจากผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่าย โดยอาศัยข้อมูลในการตัดสินใจจากผลการประเมินความเสี่ยงและปัจจัยอื่นๆ ที่เอื้อในการคุ้มครองผู้บริโภคและเอื้อต่อการค้าระหว่างประเทศอย่างยุติธรรม และเป็นกระบวนการที่เลือกวิธีการควบคุมและป้องกันความเสี่ยงที่เหมาะสม แม้ว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะเป็นศาสตร์ที่อ้างอิงวิทยาศาสตร์เป็นพื้นฐาน แต่การจัดการความเสี่ยงหรือการตัดสินใจกลับเป็นสิ่งที่ละเอียดอ่อนมากต้องเข้าใจปัจจัยอื่นๆ ร่วมพิจารณาด้วย เช่น เศรษฐศาสตร์ สังคม วัฒนธรรมและจรรยาบรรณ เป็นต้น ทั้งนี้ทั้งนั้น การตัดสินใจยังต้องมีข้อมูลจากการประเมินความเสี่ยงด้วย

2. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) เป็นกระบวนการหาความรู้หรือความจริงโดยอาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์ ที่ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน (ภาพ 55) คือ

- 2.1 การระบุอันตราย (Hazard identification)
- 2.2 การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)

2.3 การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)

2.4 การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization)



ภาพ 55 องค์ประกอบการประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)

3. การสื่อสารความเสี่ยง (Risk communication) เป็นการแลกเปลี่ยนข้อมูลและข้อความเห็นตลอดกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยง โดยเน้นในเรื่องของความเสี่ยง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความเสี่ยงและการรับรู้ความเสี่ยง (Risk perception) ของผู้ประเมินความเสี่ยง (Risk assessor) ผู้จัดการความเสี่ยง (Risk manager) ผู้บริโภค ผู้ประกอบการ ชุมชนวิชาการรวมถึงภาคส่วนที่มีความสนใจ และการสื่อสารความเสี่ยงยังจะต้องให้คำอธิบายผลการประเมินความเสี่ยงและพื้นฐานข้อมูลในการตัดสินใจการจัดการความเสี่ยงด้วย

แนวทางการสื่อสารความเสี่ยง

(Risk communication guideline)

การสื่อสารในการวิเคราะห์ความเสี่ยงจำเป็นต้องมีการจัดระบบระเบียบและวางแผนเป็นอย่างดี เช่นเดียวกับการประเมินความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยง ในกรณีที่มีทรัพยากรเอื้ออำนวย รัฐบาลอาจจะผนวกผู้เชี่ยวชาญในการทำและจัดการการสื่อสารในด้านการวิเคราะห์ความเสี่ยงอาหารสำหรับผู้ที่เกี่ยวข้อง

เป้าหมายของการสื่อสาร (Goals of communication)

ขั้นตอนแรกที่สำคัญ คือ การกำหนดเป้าหมายของการสื่อสาร โดยสิ่งที่จะต้องตระหนักถึง คือ แต่ละขั้นตอนของการสื่อสารความเสี่ยงจะมีจุดเน้นที่ค่อนข้างจะแตกต่างกัน การวางแผนโปรแกรมการสื่อสารจำเป็นต้องคำนึงถึง

- เนื้อหาที่สื่อสาร (content) คือ หัวข้อของการสื่อสาร เช่น นโยบายการประเมินความเสี่ยง ความเข้าใจผลลัพธ์ของการประเมินความเสี่ยง การระบุทางเลือกการจัดการความเสี่ยง
- ผู้รับสาร (audience) คือ ผู้ที่เข้าร่วมในการสื่อสาร โดยต้องคำนึงถึงกลุ่มทั่วไป เช่น ผู้ประเมินความเสี่ยง อุตสาหกรรมที่ได้รับผลกระทบ เป็นต้น และคำนึงถึงกลุ่มจำเพาะ เช่น ปัจเจกบุคคล เป็นต้น
- เวลาที่ต้องการสื่อสาร (timing) คือ ระหว่างกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยง จะต้องมีการสื่อสารที่แตกต่างกันออกไป ประเด็นเน้น คือ ความถี่ของสื่อสาร เช่น การสื่อสารเพียงครั้งเดียว หรือการสื่อสารซ้ำๆ กัน

สิ่งที่สำคัญ คือ การหลีกเลี่ยงการเลือกเป้าหมายการสื่อสารความเสี่ยงที่ไม่เหมาะสม ความพยายามในการสื่อสารที่ไม่ได้เกิดจากความสนใจที่แท้จริงหรือเพียงแต่ดำเนินการเพื่อให้เสร็จสิ้นเท่านั้น มักจะไม่ประสบความสำเร็จในการสื่อสารความเสี่ยง ตัวอย่างของการสื่อสารที่เหมาะสมหรือไม่ตรงกับเป้าหมายการสื่อสารความเสี่ยง เช่น

= การให้ความรู้แก่สาธารณชน (public education) เป็นกระบวนการศึกษาที่ประกอบด้วยผู้สอนและผู้เรียน

= การประชาสัมพันธ์ (public relation) เป้าหมายการสื่อสารความเสี่ยงมีได้ต้องการให้สาธารณชนทั่วไปรู้และเข้าใจลึกซึ้งเท่ากับผู้เชี่ยวชาญ และมีใช้การฝึกให้สาธารณชนมีมุมมองแบบเดียวกับผู้เชี่ยวชาญ เพราะ สาธารณชนก็มีมุมมองของตนเอง ซึ่งผู้เชี่ยวชาญมีได้อยู่ในฐานะที่จะตัดสินว่ามุมมองใดมีความถูกต้องหรือไม่

- ความรู้ของผู้เชี่ยวชาญ มิได้ทำให้สาธารณชนเห็นคล้อยตามเสมอไป สิ่งที่ยากสำหรับรัฐบาล/ผู้ประกอบการ คือ การเปลี่ยนความคิดหรือมุมมองผู้บริโภค รัฐบาล/ผู้ประกอบการอาจจะยืนยันความถูกต้องโดยอาศัยหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ อย่างไรก็ตามผู้บริโภคก็อาจจะยังคงมีความกังวลและความกลัวอยู่ ซ้ำร้ายกว่านั้น หากว่า ผู้บริโภครู้สึกว่ รัฐบาล/ผู้ประกอบการไม่มีความจริงจังหรือจริงจังกับความปลอดภัยอาหารแล้ว ก็อาจจะยังทำให้ผู้บริโภคขาดความเชื่อในรัฐบาล/ผู้ประกอบการ ยิ่งส่งผลให้ผู้บริโภคกังวลมากขึ้นอีก สิ่งที่ต้องทำคือ การพูดคุยกับผู้บริโภคในลักษณะ 2 ทาง (two-way communication) ฟังและตอบคำถามของผู้บริโภค การพูดคุยกับผู้บริโภคพร้อมกับอ้างอิงหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มักจะช่วยในการปรับมุมมองหรือความรู้สึกต่อความเสี่ยงได้ดีกว่า

กลยุทธ์การสื่อสาร (Communication strategies)

กลยุทธ์ให้เกิดการสื่อสารความเสี่ยงที่มีประสิทธิภาพมีอยู่หลายวิธีซึ่งย่อมจะเหมาะสมกับสถานการณ์ต่างๆ กันไป ตามแต่วัฒนธรรม องค์ประกอบพื้นฐานของกลยุทธ์การสื่อสารความเสี่ยง คือ

- เก็บ วิเคราะห์และแลกเปลี่ยนข้อมูลเกี่ยวกับความเสี่ยงความปลอดภัยอาหาร
- ศึกษาความเข้าใจ ความรู้ทัศนคติ พฤติกรรมเกี่ยวกับความเสี่ยงความปลอดภัยอาหารของผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย

- ศึกษาความกังวลที่เกี่ยวข้องกับความเสี่ยงของผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย
- ศึกษาประเด็นที่มีความอ่อนไหวหรือสำคัญต่อผู้มีส่วนได้ส่วนเสียมากกว่าการศึกษาความเสี่ยงเอง

- ศึกษาชนิดของข้อมูลจากผู้มีส่วนได้ส่วนเสียเห็นว่าสำคัญและต้องการจะได้รับข้อมูลนั้น
- ศึกษาข้อมูลจากผู้มีส่วนได้ส่วนเสียมีอยู่แล้วและต้องการที่จะสื่อสารออกมา
- ศึกษาชนิดของข้อมูลจากผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย และ ศึกษาว่าจะได้ข้อมูลจากแหล่งใด
- ระบุวิธีการและสื่อที่เหมาะสมที่สุดในการถ่ายทอดข้อมูลออกไปสู่ผู้มีส่วนได้ส่วนเสียต่างๆ
- อธิบายกระบวนการที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงรวมถึงความไม่รู้ด้วย
- เน้นความเปิดเผย โปร่งใสและยืดหยุ่นในทุกกิจกรรมการสื่อสาร
- ระบุและใช้กลยุทธ์และวิธีการในการส่งเสริมการพูดคุยกันในทีมวิเคราะห์ความเสี่ยงและผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย

- ประเมินคุณภาพของข้อมูลที่ได้จากผู้มีส่วนได้ส่วนเสียและประเมินการใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์ความเสี่ยง

การบ่งชี้ผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (Identifying stakeholders)

แม้ว่าผู้จัดการความเสี่ยงจะเห็นด้วยกับการเชิญผู้มีส่วนได้ส่วนเสียที่ได้รับผลกระทบมาร่วมในกระบวนการจัดการความเสี่ยง แต่ก็ยังคงเป็นการยากที่จะทราบหรือระบุได้ว่ากลุ่มใดควรจะมีส่วนร่วมในกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยง บ่อยครั้งที่ผู้จัดการความเสี่ยงทราบถึงกลุ่มผู้มีส่วนได้ส่วนเสียที่ได้รับผลกระทบตั้งแต่ระยะแรก ทำให้สามารถขอความร่วมมือได้ตั้งแต่แรกเริ่มของการจัดการความเสี่ยง ในทางตรงกันข้าม บางครั้งผู้มีส่วนได้ส่วนเสียที่ได้รับผลกระทบอาจจะไม่รู้ตัวว่าควรจะได้เข้าร่วมในกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยง

ครั้งเมื่อสามารถระบุผู้มีส่วนได้ส่วนเสียแล้ว ก็ควรจะต้องมีการนิยามบทบาทในการวิเคราะห์ความเสี่ยง เนื่องจาก ความร่วมมือของผู้มีส่วนได้ส่วนเสียมีประโยชน์อย่างมากในกระบวนการจัดการความเสี่ยงหลายๆ ขั้นตอน ก็อาจจะมีข้อจำกัดบ้างในบางกรณี ยกตัวอย่างเช่น เมื่อมีความต้องการมาตรการการดูแลอย่างเร่งด่วน ก็อาจจะทำให้มีเวลาไม่เพียงพอในการปรึกษากับผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย ในบางกรณีข้อมูลที่ได้จากผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย อาจจะไม่ได้นำมาใช้ อย่างมีนัยสำคัญต่อการเลือกการจัดการความเสี่ยง ผู้จัดการความเสี่ยงจำเป็นต้องแจ้งให้ผู้มีส่วนได้ส่วนเสียรับทราบแต่เนิ่นๆ เพื่อมิให้ผู้มีส่วนได้ส่วนเสียรู้สึกว่าการร่วมมืออาจจะไม่ได้เห็นผลเท่าที่ควร ตัวอย่างของกลุ่มผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย เช่น ผู้เลี้ยงสัตว์ ผู้จับสัตว์น้ำ ผู้ผลิตวัตถุดิบ ผู้แปรรูปอาหาร ผู้ผลิต ผู้กระจายสินค้าและผู้จำหน่าย ผู้ค้าส่งและค้าปลีก ผู้บริโภคและองค์กรผู้บริโภค กลุ่มตัวแทนสาธารณะ ด้านสิ่งแวดล้อมหรือศาสนา กลุ่มชุมชน เช่น เครือข่ายท้องถิ่น สหกรณ์ ชุมชนสุขภาพสาธารณะ มหาวิทยาลัยและสถาบันวิจัย รัฐบาล เช่น องค์กรบริหารส่วนท้องถิ่น ประเทศนำเข้าอาหาร ตัวแทนของกลุ่มภูมิศาสตร์ วัฒนธรรม เศรษฐกิจและชนชาติ สมาคมเอกชน ธุรกิจ สหภาพแรงงาน สมาคมการค้า สื่อมวลชน เช่น หนังสือพิมพ์ วิทยุ โทรทัศน์ เป็นต้น

วิธีการและสื่อในการสื่อสาร (Methods and media for communication)

จำนวนและธรรมชาติของกลุ่มผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย ลักษณะทางสังคม จะมีผลต่อวิธีการเลือกการสื่อสาร ตัวอย่างของวิธีการและสื่อในการสื่อสาร เช่น การประชุม การสรุปและการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ เป็นต้น ช่วยในการเพิ่มการเข้าร่วมของผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย ยกตัวอย่างเช่น การสัมมนาเชิงปฏิบัติการที่เกี่ยวกับวิทยาศาสตร์และเศรษฐศาสตร์สำหรับการควบคุมความปลอดภัยของอาหารจะช่วยให้ส่งเสริมการเข้าร่วมในการให้ความคิดเห็นเห็นได้ดี ส่วนการอภิปรายโต๊ะกลมมักจะเหมาะกับผู้เชี่ยวชาญด้านวิชาการและผู้มีส่วนได้ส่วนเสียอื่นๆ ด้วย ส่วนแนวทางที่ไม่ใช่การประชุมสามารถมีได้หลากหลายรูปแบบ ยกตัวอย่างเช่น การจัด event เพื่อส่งเสริมการมีส่วนร่วมของชุมชนเพื่อเป็นการส่งเสริมความตระหนักรู้เกี่ยวกับความปลอดภัยของอาหาร ความสำเร็จในการสื่อสารจะขึ้นอยู่กับชนิดและธรรมชาติของกลุ่มผู้มีส่วนได้ส่วนเสียและสถานการณ์ (Nuanalsuwan, 2552)

แบคทีเรียโรคอาหารเป็นพิษ

(Foodborne disease bacteria)

แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ (foodborne disease bacteria) แบ่งได้เป็น 2 กลไกการก่อโรค คือ

1. Infection : โรคอาหารเป็นพิษจากการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารจนก่อให้เกิดการติดเชื้อ เช่น *Campylobacter* spp., *E.coli*, *Salmonella* Typhi, *Shigella* spp. และ *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย *Enterobacteriaceae* ชนิดที่ไม่ทนความร้อน ดังนั้นการปรุง

หรือการกินอาหารที่สุกด้วยความร้อนอย่างทั่วถึงจะสามารถควบคุมปัญหาจากกลไก infection นี้ได้ อย่างไรก็ตาม ปัญหาของ infection ยังอาจจะเกิดจากการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) ได้ด้วย (Nuanalsuwan, 2006)

2. Intoxication : โรคอาหารเป็นพิษจากสารพิษ (toxin) ที่ผลิตขึ้นในขณะที่แบคทีเรียเพิ่มจำนวนในอาหาร เช่น *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น แม้ว่า *Staphylococcus aureus* จะเป็นแบคทีเรียที่ไม่ทนความร้อน แต่สารพิษที่ *Staphylococcus aureus* สร้างขึ้นในอาหารกลับทนทานต่อความร้อนได้ดี ดังนั้นแม้ว่าความร้อนในการปรุงเนื้อสัตว์ให้สุกจะสามารถทำลายแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษได้ แต่สารพิษที่ทนความร้อนได้จะยังก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ จึงก่อให้เกิดปัญหาโรคอาหารเป็นพิษจากเนื้อสัตว์ได้มากกว่ากลไก infection (Nuanalsuwan, 2006)

การปนเปื้อนจุลินทรีย์(ก่อโรค)ของอาหารริมบาทวิถี

(microbial contamination of street food)

อาหารริมบาทวิถีเป็นสาเหตุของการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ 691 ครั้งพร้อมกับมีผู้เสียชีวิตถึง 49 ราย ระหว่างปี ค.ศ. 1983 และ 1992 ในประเทศจีน (Rane, 2011) และมีผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษจำนวน 300 รายและเสียชีวิตจำนวน 14 รายจากการรับประทานอาหารริมบาทวิถีในฮ่องกง (FAO, 1990) มีรายงานโรคอหิวาตกโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี (Abdussalam and Kaferstein, 1993) สอดคล้องกับข้อมูลในหลายประเทศถึงการพบจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถี เช่น *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *E.coli*, *Salmonella* Typhi, *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* (Ghosh et al., 2007; Yuli et al., 2008; Mahale et al., 2008; Abdalla et al., 2009; Abdallah and Mustafa, 2010; Gordon-Davis, 2011; Tambekar et al., 2011; Zhang et al., 2015). อาหารริมบาทวิถีในประเทศอินเดียมีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* Typhi และ *E.coli* และพบว่าอาหารมีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียร้อยละ 70 (Garode and Waghode, 2012) ในมหาวิทยาลัยอิสลาม อำเภอ Kushtia ประเทศบังคลาเทศ วิเคราะห์การปนเปื้อนของอาหารริมบาทวิถีจำนวน 50 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนด้วย *E.coli* ร้อยละ 74 (n=37) ส่วนอาหารที่มีส่วนผสมของผักมีการปนเปื้อนด้วย *E.coli* ร้อยละ 91 ตัวอย่างปลา เนื้อสัตว์ ธัญพืช ยังพบการปนเปื้อนของ *E.coli* เช่นเดียวกัน (Biswas et al., 2010)

ในทวีปแอฟริกามีการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหลายชนิด การศึกษาในเมือง Johannesburg ประเทศแอฟริกาใต้พบการปนเปื้อนในสลัดผลไม้และน้ำ gravies โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถแยก *Clostridium botulinum* จากตัวอย่างสลัดผลไม้ร้อยละ 3 (Kubheka et al., 2001) และมีรายงานการปนเปื้อนแบบที่เรีย (aerobic plate count) และสปอร์ 7.6 และ 2.2 log cfu/g ตามลำดับ ในเนื้อโคและเนื้อไก่ (Mosupye and von Holy, 2000) ในประเทศแซมเบียและไนจีเรียมีรายงานการปนเปื้อน coliform 5.0 log cfu/g ในเนื้อโคและไก่ (Bryan et al. 1997; Ekanem, 1998) การศึกษาในประเทศกานา พบการปนเปื้อนในระดับสูงของ *Shigella sonnei* และ pathogenic *E.coli* ในตัวอย่างอาหารประเภท สลัด ซุป ซอส และ แมคคาโรนี (Mensah et al., 2002) การสำรวจการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถีในประเทศไนจีเรีย พบว่ามีการปนเปื้อนด้วย *Staphylococcus aureus*, haemolytic *E.coli* และ enterotoxigenic *E.coli* ร้อยละ 13, 43.8 และ 18 ตามลำดับ (Umoh and Odoba, 1999)การศึกษาในประเทศทรีเน็ดด พบว่า ผู้บริโภคที่สำรวจมีประสบการณ์โรคอาหารเป็นพิษจากอาหารริมบาทวิถีร้อยละ 52.5 (Surujlal and Badrie, 2004) ในขณะที่ ผู้บริโภคที่สำรวจไม่ทราบว่าโรคอาหารเป็นพิษเกิดได้จาก *Salmonella* spp., Hepatitis A virus และ *Staphylococcus aureus* ร้อยละ 80 (Samapundo et al., 2015)

นอกจากวัตถุดิบอาหารจะเป็นแหล่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารแล้ว ผู้สัมผัสอาหารก็เป็นแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ก่อโรคเช่นเดียวกัน ในการศึกษาที่ประเทศกานา พบว่า การใช้มือเปล่าในการจำหน่ายอาหารบาทวิถีเป็นแหล่งปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella* Typhi (Mensah et al., 1999; Mensah et al., 2002) ในประเทศไทยมีการแยก enterotoxigenic *E.coli* ตรงกันระหว่างผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษและมือของหญิงที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Echeverria et al., 1987)

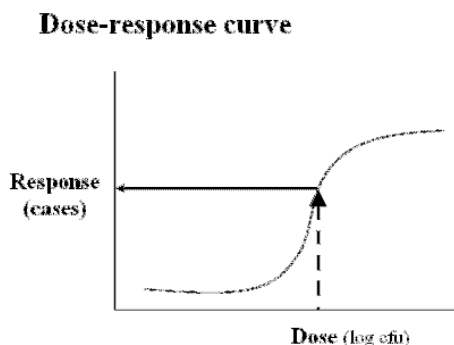
การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ

(quantitative risk assessment)

การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ (Quantitative microbial risk assessment : QMRA) สามารถใช้เป็นเครื่องมือสำคัญในการประมาณ (estimate) ในเชิงความน่าจะเป็น (probability) และจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรค (cases) ที่อาจจะปนเปื้อนในอาหารและน้ำจากการบริโภค การประเมินความเสี่ยงประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้ คือ

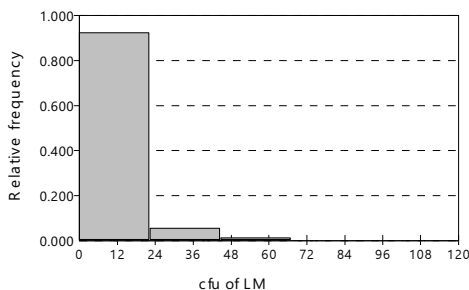
1. การระบุอันตราย (Hazard identification) เป็นการทบทวนและยืนยันการเจ็บป่วยจริงที่เกิดจากอันตรายที่สนใจ คือ จุลินทรีย์ก่อโรคผ่านน้ำ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และโปรโตซัว เป็นต้น

2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization) เป็นการประเมินความน่าจะเป็นหรือจำนวนผู้เจ็บป่วยที่ต่อเนื่องจากการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค โดยอาศัยข้อมูลจากขั้นตอน การประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3) โดยทั่วไปแล้ว ขั้นตอนนี้จะอาศัยแบบจำลองในรูปของสมการคณิตศาสตร์ในการวิเคราะห์ เรียกว่า Dose-response model ดัง ภาพ 56



ภาพ 56 คำนวณจำนวนผู้ป่วย (Cases) โดยอาศัย Dose-response model

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) เป็นการประเมินโอกาสในการรับสัมผัส (exposure) อันตราย ในที่นี้คือ การรับจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจจะปนเปื้อนมากับน้ำที่บริโภค ดังนั้น ข้อมูลสำคัญในการประเมินการสัมผัส ก็คือ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำใน (Prevalence and/or Concentration) รวมถึงปริมาณการบริโภคอาหารและน้ำ (Consumption) ด้วย ผลลัพธ์ที่ได้จากการประเมินการสัมผัส คือ ปริมาณจุลินทรีย์ที่รับเข้าสู่ร่างกาย (dose) ซึ่งจะรายงานในหน่วย ของ colony-forming unit (CFU) ดัง ภาพ 57 หรือ most probable number (MPN) ทั้งนี้ทั้งนั้น จะขึ้นอยู่กับวิธีการวิเคราะห์หาจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนเป็นสำคัญ



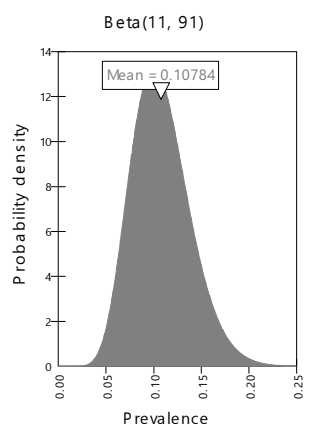
ภาพ 57 การแจกแจงความน่าจะเป็นการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค (ขั้นตอน Exposure assessment)

4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) เป็นการประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการบริโภค น้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้น ขั้นตอนนี้จึงเป็นการบูรณาการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 3 ตามด้วย ขั้นตอนที่ 2 กล่าวคือ เป็นการพิจารณาความน่าจะเป็นต่อเนื่องของ 2 เหตุการณ์ คือ ¹เหตุการณ์ในการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคปริมาณหนึ่ง (dose) ตามมาด้วย ²เหตุการณ์การเกิดโรค (response) อันเกิดจากปริมาณ จุลินทรีย์ที่ได้รับ จากนั้น จึงนำข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) โดยอาศัย โปรแกรมสำเร็จรูป

ข้อมูลในการวิเคราะห์โดยมากแล้วจะอยู่ในรูปแบบของการแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ดัง ภาพ 58 กล่าวคือ ข้อมูลที่ได้จะมีการปรับให้มีลักษณะที่สะท้อนค่าที่เป็นไปได้ตั้งแต่ต่ำสุดไปจนถึงมากที่สุด โดยมีการกำกับความจะเป็น (probability) ของค่าที่เป็นไปได้เหล่านั้นด้วย ซึ่งการปรับรูปแบบ ข้อมูลในลักษณะของการแจกแจงความน่าจะเป็นจัดเป็นรูปแบบเฉพาะที่ใช้กันทั่วไปในการประเมินความเสี่ยง

ประเด็นที่สำคัญการกำหนดความน่าเชื่อถือและการนำไปใช้ประโยชน์ของการประเมินความเสี่ยง คือ uncertainty ซึ่งอาจจะเรียกกันทั่วไปว่า ความไม่แน่นอน กล่าวคือ การประเมินความเสี่ยงที่มีค่า uncertainty มาก ก็ทำให้ผลการศึกษามีความน่าเชื่อถือน้อย เนื่องจาก ผู้จัดการความเสี่ยงยังคงจะต้องคาดเดาค่าที่ถูกต้องที่แท้จริงจากช่วงของผลการศึกษาที่กว้าง ทำให้เกิดการใช้ประโยชน์ในทางปฏิบัติที่น้อย ดังนั้น ผู้จัดการความเสี่ยงที่จะสามารถตัดสินใจได้อย่างถูกต้อง จำเป็นต้องอาศัยผลการประเมินความเสี่ยงที่มีความน่าเชื่อถือที่มีค่า uncertainty น้อย โดยทั่วไปแล้ว ค่า uncertainty นี้จะแปรผกผันกับจำนวนตัวอย่าง (sample size) หมายความว่า จำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นก็จะทำให้ค่า uncertainty น้อยลง หรือ จำนวนตัวอย่างที่น้อยลงก็จะทำให้ค่า uncertainty มากขึ้นนั่นเอง อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่า จำนวนตัวอย่างมิได้เป็นอุปสรรคในการ

ประเมินความเสี่ยงแต่อย่างใด หมายความว่า การประเมินความเสี่ยงสามารถดำเนินการได้ไม่จำกัดว่าจำนวน ตัวอย่างจะน้อยหรือมากก็ตาม



ภาพ 58 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability density) ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรค

วิธีการดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างและจำนวนตัวอย่าง (Sampling plan and sample size)

กำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี 6 จังหวัดตัวแทนของ 6 ภาคทั่วประเทศ ประกอบด้วย

- ภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่
- ภาคกลาง เช่น กรุงเทพมหานคร
- ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น ขอนแก่น
- ภาคตะวันตก เช่น ประจวบคีรีขันธ์
- ภาคตะวันออก เช่น ชลบุรี
- ภาคใต้ เช่น ภูเก็ต

ลักษณะตัวอย่างที่เก็บในแต่ละผู้ประกอบการ แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. อาหาร
2. Swab พื้นผิวที่สัมผัสอาหารในการทำงาน
 - มือ (และถุงมือ) ผู้ปฏิบัติงาน (ถ้ามีการใช้ถุงมือ ให้ swab รวมทั้งมือและถุงมือ)
 - ภาชนะ เช่น จาน ชาม ช้อน ช้อม ตะเกียบ

ดำเนินการเก็บตัวอย่างซ้ำ 3 จุด เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงของฤดูกาล

ตาราง 61 แนวทางการเก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีและ swab

ภาค	ผู้ประกอบการอาหาร		ตัวอย่าง/ผู้ประกอบการ		จำนวน/ ฤดู	ฤดู	รวม
	ชนิด	จำนวน	ชนิด	จำนวน			
เหนือ	หาบเร่/แผงลอย	5	อาหาร/Swab	3	15	x 3	90
	ร้านค้าถาวร	5	อาหาร/Swab	3	15		
กลาง	หาบเร่/แผงลอย	10	อาหาร/Swab	3	30	x 3	180
	ร้านค้าถาวร	10	อาหาร/Swab	3	30		
ตะวันออกเฉียงเหนือ	หาบเร่/แผงลอย	5	อาหาร/Swab	3	15	x 3	90
	ร้านค้าถาวร	5	อาหาร/Swab	3	15		
ตะวันตก	หาบเร่/แผงลอย	5	อาหาร/Swab	3	15	x 3	90
	ร้านค้าถาวร	5	อาหาร/Swab	3	15		
ตะวันออก	หาบเร่/แผงลอย	5	อาหาร/Swab	3	15	x 3	90
	ร้านค้าถาวร	5	อาหาร/Swab	3	15		
ใต้	หาบเร่/แผงลอย	5	อาหาร/Swab	3	15	x 3	90
	ร้านค้าถาวร	5	อาหาร/Swab	3	15		
							630

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (Microbiological analysis)

ดำเนินการวิเคราะห์แบคทีเรียเชิงปริมาณทั้ง 3 ชนิด คือ

1. *E.coli* โดยวิธี Bacteriological Analytical Manual, US.FDA.
2. *Salmonella* spp. โดยวิธี Bacteriological Analytical Manual, US.FDA.
3. *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Bacteriological Analytical Manual, US.FDA.
4. *Vibrio cholera* โดยวิธี ISO-TS 21872-1

การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ

(Quantitative microbial risk assessment: QMRA)

1. การระบุอันตราย (Hazard identification) เป็นการทบทวนและยืนยันการเจ็บป่วยจริงที่เกิดจากอันตรายที่สนใจ ซึ่งในที่นี้ ก็คือ จุลินทรีย์ก่อโรคที่ติดต่อทางการบริโภคอาหารและน้ำ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และ โปรโตซัวชนิดต่างๆ ที่สามารถก่อโรคในคนได้ ดังนั้น โดยทั่วไปแล้ว ขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา

2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization) เป็นการประเมินความน่าจะเป็นหรือจำนวนการเจ็บป่วยต่อเนื่องจากการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค หรือ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness) โดยอาศัยข้อมูลจากขั้นตอน การประเมินการสัมผัส

การตอบสนองของประชากรมนุษย์เมื่อได้รับจุลินทรีย์เข้าในร่างกายนั้น เป็นกระบวนการที่ซับซ้อนอย่างยิ่ง เนื่องจาก ประกอบด้วยปัจจัยมากมายที่เข้ามาเกี่ยวข้อง แต่อาจจะสามารถแจกแจงได้เป็น 3 องค์ประกอบหลักที่สำคัญ คือ

- องค์ประกอบทางจุลชีววิทยา (Microbiological factor)
- องค์ประกอบทางร่างกาย (Host factor)
- องค์ประกอบทางอาหารบริโภค (Food matrix factor)

Dose-response model ที่ใช้ในการทำนายจำนวนผู้ป่วยจากปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่ได้รับ มีอยู่หลายชนิด (ตาราง 62)

ตาราง 62 แบบจำลองการอธิบายอันตรายโดยการตอบสนองต่อจุลินทรีย์ก่อโรค (Dose-response model)

ชื่อแบบจำลอง	แบบจำลองทางคณิตศาสตร์*
Log-Logistic	$P = \beta / (1 + [(1-p)/p] \exp^{-\epsilon (\log N - \chi)})$
Simple exponential	$P = 1 - \exp^{-r \log N}$
Beta-Poisson	$P = 1 - (1 + N / \beta)^{-\alpha}$
Beta-Binomial	$P = 1 - [1 - P(1)]^N$
Weibull-Gamma	$P = 1 - [1 + N^b / \beta]^{-\alpha}$

* P หรือ P(d) หมายถึง ค่าน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย หรือ สัดส่วนผู้ป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคจำนวน d

N หมายถึง ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่ได้รับ บางครั้งจะใช้คำว่า dose (d)

จากสมการทั้งหมดในตารางข้างต้น จะเห็นได้ชัดเจนว่า ค่า P หรือ สัดส่วนผู้ป่วยจะมากขึ้น เมื่อ ปริมาณ จุลินทรีย์ก่อโรค (N) ที่ได้รับมากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้กำหนดให้ N หรือ dose เป็นปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ที่ได้รับ เพื่อให้สอดคล้องกับการคำนวณค่าน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure : P_E) ในขั้นตอน การประเมินการสัมผัส โดย Dose-response model ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยหลายแบบจำลองตาม ชนิดของจุลินทรีย์ก่อโรค (ตาราง 63)

ตาราง 63 Dose-response model สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้

Pathogen	Dose response model	Parameter	Reference
<i>Salmonella</i> spp.	Beta-Poisson	$\alpha = 0.1324$ $\beta = 51.45$	WHO/FAO 2002
<i>Staphylococcus aureus</i>	Exponential	$r = 7.64 \times 10^{-12}$	Lee et al., 2015
<i>Vibrio cholerae</i>	Exponential	$r = 1.76 \times 10^{-9}$	Cash, 1974

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment) เป็นการประเมินโอกาสในการรับสัมผัส (exposure) กับอันตราย ซึ่งในที่นี้ ก็คือ การได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจจะปนเปื้อนมากับอาหารและน้ำที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้น ข้อมูลสำคัญในการประเมินการสัมผัส ก็คือ

1. ข้อมูลการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารและน้ำ (Prevalence & Concentration)

- ความชุก (Prevalence) การแจกแจงความน่าจะเป็นของความชุกจะใช้ Beta distribution เป็นการอาศัยหลักการกระบวนการทวินาม (Binomial process) กล่าวคือ ความชุกหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่สนใจนั้นมีความเป็นไปได้เพียง 2 กรณีเท่านั้น คือ มีการปนเปื้อนและไม่มีการปนเปื้อน ดังนั้น จึงได้นำเอาหลักการนี้มาวิเคราะห์หาระดับความชุกหรือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างหรือตัวแปรสุ่มที่สนใจ

ความชุกของ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างอาหาร เป็นการคำนวณความชุกของ *Salmonella* spp. ภายในตัวอย่างอาหาร โดยข้อมูลที่ต้องการทราบก่อน คือ จำนวนตัวอย่างอาหารที่ทดสอบแล้วให้ผลบวกต่อ *Salmonella* spp. (contaminated) แต่เนื่องจาก ไม่ทราบความชุกของ *Salmonella* spp. ในอาหารมาก่อนล่วงหน้า ดังนั้น ความชุกก่อนการทดสอบจึงเป็นการแจกแจงแบบสมมติความชุกในช่วงระหว่างร้อยละ 0 และ

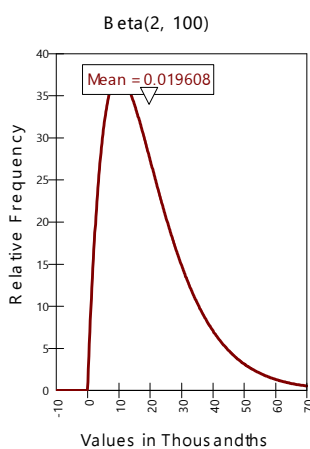
100 หรือเขียนเป็นแบบการแจกแจงความน่าจะเป็นว่า Uniform (0,1) ภาพ 59 หลังจากทำการทดสอบแล้วจะได้ การแจกแจงความน่าจะเป็นความชุกภายในฝูงเป็น Beta (α_1 , α_2)

โดยที่ α_1 คือ $s + 1$

α_2 คือ $n - s + 1$

n คือ จำนวนตัวอย่างอาหารที่ทดสอบ (trial)

s คือ จำนวนตัวอย่างอาหารที่มีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* spp. (success)

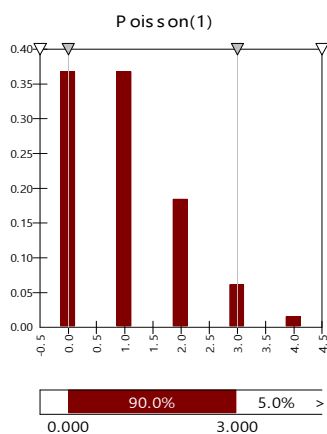


ภาพ 59 ตัวอย่างอาหารมีการปนเปื้อน 1 จาก 100 ตัวอย่างอาหาร จะมีค่าเฉลี่ยความชุกร้อยละ 1.96

ตัวอย่างการคำนวณความชุก ถ้าจำนวนตัวอย่างอาหาร 100 ตัวอย่าง พบว่า มีอยู่ 1 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับการทดสอบหา *Salmonella* spp. ดังนั้น การแทนค่าในการแจกแจงความน่าจะเป็น Beta($1+ 1$, $100-1+1$) หรือ Beta(2,100) (ภาพ 59) ได้ค่าเฉลี่ยของความชุก เป็น ร้อยละ 1.96 และมีค่าความชุกที่มีโอกาสเป็นไปได้สูงสุด ร้อยละ 1 แต่มีความเป็นไปได้ที่จะมีค่าความชุกเป็นค่าอื่นๆ ได้ด้วย เช่น ร้อยละ 0 ถึง ร้อยละ 100 แต่โอกาสการเกิดความชุกในค่าอื่นๆ นั้น มีระดับความเป็นไปได้ที่น้อยกว่าความชุกร้อยละ 1 ดังภาพที่ 4 จะสังเกตเห็นได้ว่า ความชุกที่เป็นค่าเฉลี่ยจากการแจกแจงความน่าจะเป็น Beta มีค่าใกล้เคียงกับการคำนวณตามปกติ คือ 1/100 หรือ ร้อยละ 1

- ความเข้มข้น (Concentration) การเลือกแบบการแจกแจงความน่าจะเป็นสำหรับความเข้มข้น (Poisson Distribution) ระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในตัวอย่างนั้น จะสอดคล้องกับแบบการแจกแจงแบบ Poisson ซึ่งมีการกำหนดค่าพารามิเตอร์ λ (แลมดา) เพื่อสร้างการแจกแจงความน่าจะเป็น ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ก็คือ ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในตัวอย่างที่ศึกษา

ตัวอย่างอาหารที่เก็บได้จำนวน 50 ตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการแล้วพบว่ามีความเฉลี่ยความเข้มข้น 1 เซลล์/มิลลิลิตรน้ำ ดังนั้น การแจกแจงความน่าจะเป็นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำเป็น Poisson(1) ซึ่งสามารถแสดงได้ดัง ภาพ 60



ภาพ 60 แบบการแจกแจงความน่าจะเป็นของความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำ

ในกรณีที่วิธีการตรวจวิเคราะห์จุลชีววิทยาเป็นการตรวจเชิงคุณภาพ (qualitative data) จะใช้แบบจำลองในการแปลค่าความชุก (prevalence) เป็นความเข้มข้น (quantitative data) ได้โดยอาศัยข้อมูลจำนวนตัวอย่าง (sample size) ที่ตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดร่วมกับ ค่าความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคในตัวอย่างที่วิเคราะห์

2. ปริมาณการบริโภคอาหารและน้ำ (Consumption)

ข้อมูลปริมาณการบริโภคน้ำใช้รายงานโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติในรูปแบบของเอกสาร และแบบ search online (<http://consumption.acfs.go.th/index.php>)

แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินการสัมผัส

1. ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Probability of exposure)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_E) เป็นการอธิบายโอกาสหรือความเป็นไปได้ที่ร่างกายจะได้รับสัมผัสจุลินทรีย์ก่อโรคอย่างน้อย 1 หน่วยก่อโรค (เซลล์แบคทีเรีย หรือ อนุภาคไวรัส) ซึ่ง P_E เป็นค่าที่เป็นตัวแทนอธิบายโอกาสการเกิดเหตุการณ์การรับสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคอาหารและน้ำ โดยใช้แบบจำลอง

$$P_E = P(1 - e^{-N}) \quad (1)$$

โดยที่

P คือ ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหรือน้ำ

N คือ จำนวนจุลินทรีย์ที่ร่างกายได้รับเข้าในร่างกาย

โดยที่

$$N = \text{Concentration} \times \text{Consumption} \quad (2)$$

โดยที่

Concentration คือ ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหรือน้ำ

Consumption คือ ปริมาณการบริโภคอาหารหรือน้ำต่อครั้ง (serving) หรือ ต่อมื้อ (meal)

4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk characterization) เป็นการประเมินโอกาสในการเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้น ขั้นตอนนี้จึงเป็นการบูรณาการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 3 ตามด้วย ขั้นตอนที่ 2 กล่าวคือ เป็นการพิจารณาความน่าจะเป็นต่อเนื่องของ 2 เหตุการณ์หลัก คือ ¹เหตุการณ์ในการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรคปริมาณหนึ่ง (dose) ตามมาด้วย ²เหตุการณ์การเกิดโรค (response) อันเกิดจากปริมาณจุลินทรีย์ที่ได้รับ ดังนั้น แบบจำลองที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยง รวมทั้ง 2 เหตุการณ์ต่อเนื่องกัน คือ

$$P_S = P_E \times P_I(d) \quad (3)$$

โดยที่

P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับน้ำเพียง 1 ครั้ง

P_E คือ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัสกับจุลินทรีย์อย่างน้อย 1 หน่วยก่อโรค

$P_I(d)$ คือ คำน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย หรือ สัดส่วนผู้ป่วยเมื่อได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคจำนวน d

ในสมการ (3) เป็นค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับน้ำเพียง 1 ครั้ง (single exposure) อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้สูงที่อาจจะมีการสัมผัสกับน้ำที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคมมากกว่า 1 ครั้ง (multiple exposure)

$$P_M = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_S) \quad (4)$$

โดยที่

P_M คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับน้ำ n ครั้งในระยะเวลาที่สนใจ เช่น 1 ปี

P_S คือ ค่าประมาณความเสี่ยงจากการสัมผัสกับน้ำเพียง 1 ครั้ง

จากนั้น จึงนำข้อมูลทั้งหมดมาจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 10,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม @Risk 4.5.3 Professional edition (Risk analysis Add-in for Microsoft Excel : Palisade Corporation) ก็จะได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็นของความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

ศึกษาความสัมพันธ์ของการปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถีต่อระดับการปนเปื้อน/ค่าประมาณความเสี่ยงกับ
(Association of “hygienic practice” of street food against “contamination level/risk estimate” and)

1. ศึกษาแนวทางการกำหนดการปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ (hygienic practice) ของอาหารริมบาทวิถีของ กองสุขาภิบาลอาหาร กรุงเทพมหานคร เพื่อเป็นต้นแบบในการศึกษาสุขลักษณะในจังหวัดท่องเที่ยวอื่นๆ ในรูปของแบบสอบถาม โดยครอบคลุม สุขลักษณะของผู้ปฏิบัติงาน เช่น การตรวจถึงการเข้าห้องสุขา สภาพของห้องสุขา อ่างล้างมือและสบู่ รวมถึงระบบควบคุมหรือกำจัดเศษอาหาร ขยะและสิ่งปฏิกูล ระบบบำบัดน้ำเสีย การป้องกันการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) ที่มีจุลินทรีย์ก่อโรคร่วมกับวัตถุติดและอาหารริมบาทวิถี

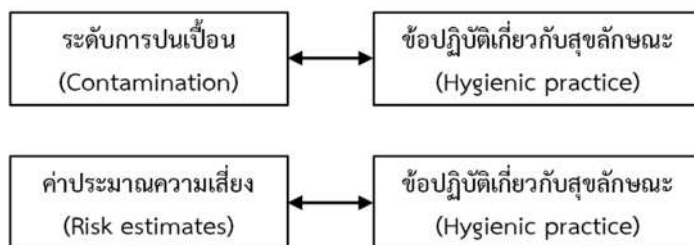
2. การกำหนดหลักเกณฑ์การประเมิน (evaluation criteria) การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี

3. การประเมินผล (evaluation) การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะพื้นฐานของผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถีที่ได้รับการเก็บตัวอย่างเพื่อการเฝ้าระวังการปนเปื้อนหรือการประเมินความเสี่ยง

4. หาความสัมพันธ์ (association) ของตัวแปร คือ การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ และ ระดับการปนเปื้อน (contamination level) หรือ ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) และประเมินความสัมพันธ์โดยใช้สถิติ 2 เทคนิค คือ

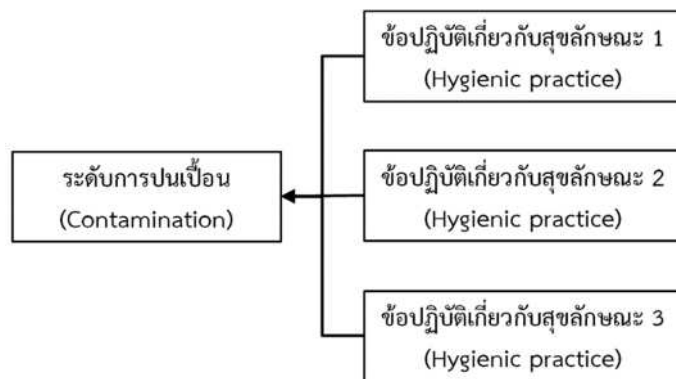
4.1 สหสัมพันธ์ (Pearson correlation) โดยพิจารณาค่า correlation coefficient (r) มีค่าอยู่ระหว่าง -1 ถึง +1 โดยไม่ได้กำหนดว่า ตัวแปรใดเป็นตัวแปรต้นหรือตัวแปรตาม หรือ เป็นความสัมพันธ์แบบ 2 ทาง (ภาพ 61) กล่าวคือ

- = ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ $r < 0$ หรือ ค่าลบ (negative) หมายความว่า ตัวแปร 1 และ ตัวแปร 2 สัมพันธ์กันแบบสวนทางกัน เมื่อค่าตัวแปร 1 เพิ่มขึ้น ค่าตัวแปร 2 กลับลดลง โดยระดับความสัมพันธ์จะมากขึ้น เมื่อ r เข้าใกล้ -1
- = ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ $r = 0$ หมายความว่า ตัวแปร 1 และ ตัวแปร 2 ไม่มีความสัมพันธ์กัน
- = ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ $r > 0$ หรือ ค่าบวก (positive) หมายความว่า ตัวแปร 1 และ ตัวแปร 2 สัมพันธ์กันแบบไปในทางเดียวกัน เมื่อค่าตัวแปร 1 เพิ่มขึ้น ค่าตัวแปร 2 เพิ่มขึ้นตาม โดยระดับความสัมพันธ์จะมากขึ้น เมื่อ r เข้าใกล้ +1

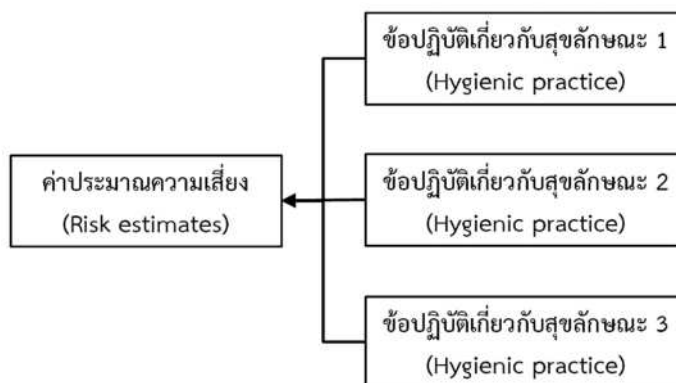


ภาพ 61 ความสัมพันธ์แบบ 2 ทางของ “ระดับการปนเปื้อน/ค่าประมาณความเสี่ยง” และ “การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ”

4.2 การถดถอยพหุคูณ (multiple regression) เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปร “ระดับการปนเปื้อน (contamination level)” หรือ “ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate)” กับ กลุ่มตัวแปร “การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ” ซึ่งอาจจะมีหลายข้อย่อย เช่น ผู้ประกอบการ/เจ้าหน้าที่/อาหารริมบาทวิถี สถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถี พื้นที่บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี อุปกรณ์เครื่องใช้ วัสดุดับ เครื่องปรุง การบรรจุภาชนะ การปรุงอาหาร การเตรียม การเก็บรักษาอาหาร เป็นต้น หรือ เป็นการใช้อุปกรณ์ปฏิบัติเกี่ยวกับสุขอนามัยหลายกลุ่มในการอธิบายระดับการปนเปื้อน/ค่าประมาณความเสี่ยงของอาหารริมบาทวิถี (ภาพ 62 และ ภาพ 63)



ภาพ 62 ความสัมพันธ์แบบ regression ของ “ระดับการปนเปื้อน” และ “การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ”



ภาพ 63 ความสัมพันธ์แบบ regression ของ “ค่าประมาณความเสี่ยง” และ “การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะ”

การสื่อสารข้อมูลวิจัยเชิงเทคโนโลยีสารสนเทศ

(IT-oriented research communication)

การนำเสนอผลการวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อน (contamination level) ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) การประเมินสุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี ไปสู่ผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (stakeholders) โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้บริโภค ในรูปแบบที่เข้าใจได้ง่าย (understandable form) และพร้อมที่จะมีส่วนร่วม (ready to participate) นั้นมีความสำคัญมาก อย่างไรก็ตาม แนวทางการนำเสนอข้อมูลโดยนักวิจัยที่ผ่านมานั้น ส่วนมากไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากข้อจำกัดหลายประการ เช่น ข้อมูลอยู่ในรูปแบบเอกสารตีพิมพ์ทางราชการ (hard copy) รูปแบบการนำเสนอหรือใช้ภาษาที่เข้าใจยาก ขาดความคล่องตัวในการพกพาหรือใช้งานในตำแหน่งที่ต้องการ การเข้าถึงข้อมูลจำกัด (limited access) ในเชิงเวลาที่จะใช้งาน สถานที่ใช้งาน และบุคคลากรที่ใช้งาน เป็นต้น

ปัจจุบันนี้การเข้าถึง internet หรือ online โดยใช้อุปกรณ์สื่อสารรูปแบบต่างๆ เช่น smart phone หรือ tablet เป็นต้น เป็นไปได้โดยสะดวกและรวดเร็ว ในขณะที่สื่อสังคม (social media) ที่เข้าถึงผู้ใช้อุปกรณ์สื่อสารจำนวนมากพร้อมๆ กันกลายเป็นรูปแบบที่เป็นมาตรฐานทั่วไป ดังนั้น จึงมีการปรับรูปแบบการนำเสนอข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้เพื่อการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเป็นรูปธรรมและใช้ได้ในทางปฏิบัติจริง ในรูปแบบการสื่อสารความเสี่ยงเชิงปฏิสัมพันธ์ผ่านเทคโนโลยีสารสนเทศ โดยมีลักษณะเฉพาะ ดังนี้

1. ข้อมูลมีลักษณะเป็นรูปแบบ electronic หรือ digital online
2. การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition)
 - ก. สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ ทุกคน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้บริโภคอาหารริมบาทวิถี (any one)
 - ข. สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ ตลอดเวลา 24 ชั่วโมง (any time)
 - ค. สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ จากทุกสถานที่ทั่วโลก (any where)
 - ง. สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ ณ จุดที่ใช้บริการ (point of service) เช่น ตำแหน่งที่ตั้งร้านอาหารริมบาทวิถี
3. การแบ่งปันข้อมูล (data sharing) ระหว่างผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย (stakeholders) เช่น
 - ก. ผู้บริโภคในพื้นที่ (local consumer)
 - ข. นักท่องเที่ยวต่างชาติ ณ จุดท่องเที่ยว (on-site tourist)
 - ค. นักท่องเที่ยวต่างชาติที่วางแผนการท่องเที่ยว (prospect tourist)
 - ง. หน่วยงานรัฐที่ทำหน้าที่กำกับดูแลความปลอดภัย (regulator)
4. การรับ-ส่งข้อมูลแบบ 2 ทาง (interactive communication)
 - ก. หน่วยงานให้ข้อมูลของผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถี
 1. การวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อน (contamination level)
 2. ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate)
 3. การประเมินสุขลักษณะของผู้ประกอบการ/จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (hygienic practice)
 - ข. ผู้บริโภคให้ข้อมูลของผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถี
 1. ความคิดเห็น (opinion)
 2. คำแนะนำ (suggestion)

3. คำติชม (comment)
5. สถิติการเข้าถึงข้อมูล (data acquisition statistics)
 - ก. วันและเวลา (date & time)
 - ข. ช่องทาง (channel)
 1. Search engine เช่น Google, Yahoo
 2. Referral จาก web page อื่น
 3. Direct โดยใช้ URL ของ web page
 4. ข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าใช้ (demography) เช่น อายุ เพศ อาชีพ ประเทศ เมือง ภาษา
 - ค. เทคโนโลยี (technology)
 1. อุปกรณ์สื่อสาร เช่น mobile, tablet, desktop
 2. Operating system เช่น Android, iOS, Macintosh
 3. Screen resolution เช่น
 4. Internet software เช่น Chrome, Safari, Internet explorer, Firefox
 5. รุ่นอุปกรณ์สื่อสาร เช่น Samsung Note, iphone X
 - ง. เครือข่าย (network)
 1. Network domain เช่น asianet.co.th, totbb.net, 3bb.co.th,
 2. Service provider เช่น total access communication, 3bb, tot

ขั้นตอนการศึกษา

1. ศึกษา platform การนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital ที่เหมาะสม
 - ก. ศึกษา domain และ server เช่น เข้าจากผู้ให้บริการเอกชน, ฝาก subdomain/server กับสถาบัน
 - ข. ศึกษาการสร้าง web page เช่น เข้า web สำเร็จรูปเอกชน, ใช้โปรแกรมฟรี, ใช้ระบบ Facebook
 - ค. ศึกษากระบวนการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition) เช่น Google analytic, Facebook analytic

- ง. ศึกษากระบวนการแบ่งปันข้อมูล (data sharing) เช่น chat room, Facebook
2. การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital
- ก. คัดเลือกและดำเนินการ domain และ server
 - ข. คัดเลือกและดำเนินการ web page
 - จ. คัดเลือกและดำเนินการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition)
 - ค. คัดเลือกและดำเนินการระบบการแบ่งปันข้อมูล (data sharing)
3. การจัดการข้อมูลวิจัยสารสนเทศ (Research information management)
- ก. การ organize ข้อมูลสารสนเทศการวิจัย
 - ข. การ publish ข้อมูลสารสนเทศการวิจัย
 - ค. การเผยแพร่หรือสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี
 - รายงานเฉพาะร้านค้าที่มีระดับความปลอดภัยในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable)
 - รายงานเฉพาะผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บได้เท่านั้น (history)
 - ไม่ประกันความปลอดภัยของอาหารในอนาคต
 - นำเสนอข้อมูลในลักษณะทางเดียว โดยไม่รับการ comment จาก user เพื่อป้องกัน comment ด้านลบจากร้านค้าคู่แข่ง หรือกระทั่งประเทศคู่แข่ง หรือ กรณีนักท่องเที่ยวที่คึกคะนอง
 - พยายามนำเสนอในรูปแบบ info graphic เพื่อให้ผู้บริโภคและนักท่องเที่ยวเข้าใจได้ง่าย ไม่สับสน
4. การจัดการระบบระบุผู้ประกอบการอาหารริมบาทวิถี (Entrepreneur identification system)
- ก. การสำรวจความต้องการของผู้ประกอบการที่สมัครใจเข้าร่วมระบบจัดการข้อมูลสารสนเทศการวิจัยเชิงปฏิสัมพันธ์ผ่านเทคโนโลยีสารสนเทศ
 - ข. การกำหนด ID code ประจำตัวผู้ประกอบการ/จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (ID code generation)
 - ค. การจัดทำ/นำส่งป้าย ID ประจำตัวผู้ประกอบการ นำไปแสดงที่ร้านค้า เป็นเครื่องมือให้ผู้บริโภคเข้าถึงข้อมูลสารสนเทศการวิจัยของตัวผู้ประกอบการนั้นๆ (ID sign made/delivered)

- ง. การจับคู่ข้อมูลสารสนเทศวิจัย กับ ID ประจำตัวผู้ประกอบ (Information vs. ID synchronization)

ผลการศึกษา

1. การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ (Quantitative risk assessment)

1. การระบุอันตราย (Hazard identification)

1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E.coli*) เป็นแบคทีเรียแกรมลบใน family *Enterobacteriaceae* สามารถพบได้ในลำไส้ของเด็ก ผู้ใหญ่และสัตว์เลือดอุ่นเกือบทุกชนิด ดังนั้น จึงอาจจะถือได้ว่า *E.coli* เป็นจุลินทรีย์ถิ่น (normal microflora) ที่ไม่ก่อโรคอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ อย่างไรก็ตาม *E.coli* บางกลุ่มก็อาจจะก่อโรค (pathogenic) ได้ถ้าหาก *E.coli* เคลื่อนตัวไปอยู่ส่วนต้นของทางเดินอาหารหรือได้รับ *E.coli* ชนิดที่ไม่คุ้นเคย หรือเป็น *E.coli* ที่สร้างสารพิษได้ จนก่อให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษทั่วโลก จึงได้มีการแบ่งกลุ่ม *E.coli* ที่ก่อโรค (diarrhoeagenic strains) ออกเป็น 4 กลุ่มตามลักษณะและลำดับความรุนแรงในการก่อโรค คือ กลุ่ม Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) และกลุ่ม Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea) กลุ่ม Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) และกลุ่ม Vero-cytotoxigenic *E.coli* (VTEC) ซึ่งรวมเอา Enterohemolytic *E.coli* (EHEC) ด้วย ทำให้เกิดอาการที่รุนแรงกว่า คือ อาการถ่ายเหลวปนเลือด (bloody diarrhoea) และก่อโรคในระบบขับถ่ายปัสสาวะ (hemolytic uremic syndrome : HUS) และ ระบบประสาทด้วย นอกจากนี้ยังมี *E.coli* อุบัติใหม่ (newly emerging) อีก 2 กลุ่ม ซึ่งพบว่ก่อโรคได้เช่นกัน แต่ยังไม่สามารถระบุสารพิษที่ก่อให้เกิดโรคหรืออาหารที่เกี่ยวข้องได้อย่างชัดเจน คือ กลุ่ม Diffuse-adhering *E.coli* (DAEC) และกลุ่ม Enteraggregative *E.coli* (EAEC) แม้ว่า *E.coli* เพิ่งได้รับความสนใจว่าเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษเมื่อไม่นานมานี้เอง แต่ทว่าได้มีการรายงานถึงอาการท้องเสียในเด็กที่เป็นสาเหตุจาก *E.coli* มาตั้งแต่ปีทศวรรษ 1700

วิธีการแพร่กระจายโรคที่สำคัญ คือ การปนเปื้อนของอาหารด้วยสิ่งขับถ่ายที่มี *E.coli* จากทางเดินอาหารของผู้ป่วยหรือสัตว์ที่เป็นพาหะ (fecal oral route) ดังนั้น อาหารที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษจาก *E.coli* มักจะเป็นอาหารที่ได้จากสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ น้านม ผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น นอกจากนี้ อาหารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น

น้ำผลไม้ น้ำดื่ม ผักสด เป็นต้น วิธีการป้องกันที่สำคัญ คือ การระมัดระวังเรื่องสุขอนามัยของผู้ป่วย การป้องกันการปนเปื้อน *E.coli* เข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร(food chain) ตั้งแต่ก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวอาหาร(pre and post harvest) การทำอาหารให้สุกเพียงพอและทั่วถึงเพื่อกำจัด *E.coli* ที่อาจจะปนเปื้อนมาในอาหาร

การแบ่งชนิดของ *E.coli* โดย serotyping

นอกจากจะแบ่ง *E.coli* ตามลักษณะการเกิดโรคแล้ว ยังสามารถแบ่ง *E.coli* ได้อีกหลายวิธีด้วยกัน เช่น phage typing หรือ วิธีการทางอนุจุลชีววิทยา (molecular biology) เช่น pulsed field gel electrophoresis(PFGE) หรือ restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis อย่างไรก็ตามพบว่า วิธีการ serotyping เป็นวิธีที่ได้ผลในการแบ่ง *E.coli* ที่มีความใกล้เคียงกันมากๆ ได้มีประสิทธิภาพสูงสุด การแบ่งชนิด *E.coli* ด้วยวิธี serotyping โดย Kauffmann ซึ่งอาศัยความแตกต่างของ surface antigen 3 ส่วน คือ O (somatic) antigen H (flagella) antigen และ K (capsule) antigen ตัวอย่างของ serogroup ที่สำคัญในแต่ละกลุ่มของ *E.coli* แสดงไว้ใน ตาราง 64 มีข้อสังเกตว่าบาง serogroup จะเป็นสมาชิก *E.coli* มากกว่าหนึ่งกลุ่มเช่น serogroup O111 เป็นได้ทั้ง EAEC, VTEC, และ EPEC หรือ serogroup O128 เป็นได้ทั้ง VTEC, EPEC, และ ETEC เป็นต้น

ตาราง 64 somatic antigen ของ *E.coli* กลุ่มต่างๆ

กลุ่ม <i>E.coli</i>	Serogroup
Enterotoxigenic <i>E.coli</i> (ETEC)	O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O85, O115, O128ac, O148, O159, และ O167
Enteropathogenic <i>E.coli</i> (EPEC)	O55, O86, O111ab, O119, O125ac, O126, O127, O128ab, และ O142
Enteroinvasive <i>E.coli</i> (EIEC)	O28ac, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164, และ O167
Vero cytotoxigenic <i>E.coli</i> (VTEC)	O5, O26, O91, O103, O111, O113, O128, O145, และ O157
Diffuse-adhering <i>E.coli</i> (DAEC)	O1, O2, O21, และ O75
Enteraggregative <i>E.coli</i> (EAEC)	O3, O15, O44, O77, O86, O92, O111, และ O127

NORMAL *E.coli*

E.coli ชนิดนี้เป็นกลุ่มที่พบในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เกือบทุกชนิดตามปกติโดยไม่เป็นอันตราย (harmless) แต่อาจจะก่อโรค gastroenteritis ได้ เช่น ถ้ามี *E.coli* จำนวนมากเคลื่อนตัวมาที่ลำไส้เล็ก เหตุการณ์นี้จะเกิดขึ้นเมื่อมีการรับจุลินทรีย์เข้าในร่างกายเป็นจำนวนมาก หรือ กรณีที่ได้รับ *E.coli* ชนิดที่ไม่คุ้นเคยมาก่อน (unfamiliar strain) เช่น *E.coli* จากเขตพื้นที่อื่น หรือ กรณีทารกและเด็กเล็กที่ได้รับ *E.coli* เป็นครั้งแรก

ENTEROTOXIGENIC *E.coli* (ETEC)

ETEC เป็น *E.coli* ชนิดที่ก่อโรคในคนโดยเฉพาะทารกและเด็กเล็ก แม้ว่าจะสามารถพบ ETEC ได้ในสุกร และโคแต่ไม่ก่อให้เกิดโรค ETEC ผลิต enterotoxin ชนิดที่ไม่ทนความร้อน (heat labile enterotoxin: LT) และทนความร้อน(heat stable enterotoxin: ST) นอกจากทำให้ลำไส้สูญเสียน้ำแล้วยังลดการดูดซึมน้ำกลับด้วย ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ(watery diarrhoea) พบเป็นปัญหาในประเทศที่กำลังพัฒนาเฉพาะในเขตที่มีการสุขาภิบาลที่ไม่ได้มาตรฐานเพียงพอ

ระบาดวิทยา (epidemiology)

ETEC เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคของคนโดยเฉพาะ ดังนั้น การแพร่ระบาดใหญ่จึงมักจะเกี่ยวข้องกับสุขอนามัยของคนและการแพร่กระจายไปในสิ่งแวดล้อมผ่านทางสิ่งปฏิกูล(human sewage) แล้วกลับเข้ามาปนเปื้อนหรือก่อให้เกิดการระบาดผ่านทางแหล่งน้ำดื่มน้ำใช้

ETEC ไม่เป็นปัญหามากนักในประเทศที่พัฒนาแล้ว เนื่องจาก มีระบบสุขาภิบาลพื้นฐานที่ได้มาตรฐาน แต่ที่พบการระบาดของ ETEC serogroup O6, O78, O159 จะเกี่ยวข้องกับเด็ก คือ infantile enteritis ในโรงพยาบาล แต่จากการสืบสวนการระบาดไม่สามารถระบุแหล่งที่มาของ ETEC หรือกระทั่งวิธีการแพร่ระบาดที่ชัดเจน แหล่งที่มาสำคัญของ ETEC ที่เคยมีการติดตามได้อย่างชัดเจน คือ สิ่งแวดล้อม(environment) โดยพบว่า ETEC มีการปนเปื้อนในนมผงชง (milk fed) อาหารและน้ำดื่มที่ปนเปื้อนด้วยสิ่งปฏิกูลก่อนบำบัด(raw sewage) บ่อน้ำดื่มปนเปื้อนด้วย ETEC แม้ว่า ETEC ที่พบในสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการระบาดผ่านทางน้ำมากกว่าอาหารอื่น แต่ก็มียารายงานการระบาดของ ETEC ผ่านทางอาหารด้วย ซึ่งก็น่าจะมีการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมหรือการสัมผัสกับน้ำที่มี ETEC เช่น เนยแข็ง มายองเนส(mayonnaise) ผักสลัด แซมเบอร์เกอร์เนื้อ ไส้กรอก และอาหารทะเล นอกจากนี้ การแพร่กระจายโดยตรงจากคนสู่คน(direct transmission) ของ ETEC ก็มีการรายงานด้วย และที่

สำคัญมาก คือ กลุ่มคนที่เป็พพาหะ(carrier) ของ ETEC จะแพร่กระจายเชื้อได้โดยไม่รู้ตัว เนื่องจาก ไม่มีอาการเจ็บป่วย

สำหรับประเทศที่กำลังพัฒนา ETEC ก็เป็นปัญหาในเด็กเช่นเดียวกัน เนื่องจาก ระดับของการสุขาภิบาลที่อาจจะไม่ได้มาตรฐาน โรคที่เกิดจาก ETEC จะมีอัตราสูงมากในเด็กอายุไม่เกิน 2 ปีและในช่วงที่เริ่มจะหย่านม (weaning)แล้วมากินอาหารแบบผู้ใหญ่ก็จะมีโอกาสสัมผัสกับอาหารหรือน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนด้วย ETEC มากขึ้น แต่ว่าอัตราการเกิดโรคจาก ETEC จะลดลงเมื่อเด็กมีอายุมากขึ้น แสดงให้เห็นว่า ระบุภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้นทำให้อัตราการเกิดโรคจาก ETEC ลดลงได้ ปัจจัยเรื่องฤดูกาลก็มีส่วนสำคัญในการระบาดเช่นกัน โดยพบว่า ETEC มีการระบาดในฤดูร้อนมากที่สุด คนที่ป่วยด้วยโรคนี้อาจสามารถเป็นแหล่งแพร่โรคโดยตรงได้ด้วย แม้ว่า ETEC จะก่อโรคเฉพาะในคนแต่ก็มีรายงานการตรวจพบ ETEC จากอุจจาระของวัวและสุกรด้วย ดังนั้น นอกเหนือจากสิ่งปฏิกูลของคนี่ปนเปื้อน ETEC ไปในสิ่งแวดล้อมได้แล้วสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ก็ยังเป็นแหล่งในการเพิ่มจำนวน ETEC ในสิ่งแวดล้อมได้ด้วย

มีการศึกษาอยู่หลายครั้งในประเทศไทย เช่น การตรวจพบ ETEC 3 ตัวอย่างในจำนวน 588 ตัวอย่าง ปริมาณ ETEC ในน้ำดื่มประมาณไม่เกิน 100/มิลลิลิตร ในอาหารประมาณ 100-1,000/กรัม ซึ่งถือว่าน้อยเมื่อเทียบกับ infective dose และต่อมาได้มีการสุ่มเก็บตัวอย่างและตรวจหา ETEC อีกครั้งและตรวจพบ ETEC ร้อยละ 3 จากจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 510 ตัวอย่าง(298)

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด

อาหารประเภทสลัด หรืออาหารที่จะไม่ผ่านกระบวนการความร้อน เนยแข็งชนิดอ่อนและน้ำดื่ม

อาการ(clinical symptoms)

ปริมาณเชื้อที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) ค่อนข้างสูง คือ ประมาณ 10^6 - 10^{10} เซลล์ ซึ่ง infective dose อาจจะต่ำกว่าที่ประมาณไว้ได้ เนื่องจาก ระดับของกรดในกระเพาะที่น้อยลงหรือระดับภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระยะฟักตัวโรค 12-72 ชั่วโมง ระยะป่วย 1-2 วัน อาการหลักของ ETEC เกิดจากการอักเสบของทางเดินอาหาร (gastroenteritis) คือ การถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea) อาเจียน(vomiting) ปวดท้อง (abdominal cramp) มีไข้ คลื่นไส้(malaise) บางรายที่มีอาการรุนแรงมากอาจจะถ่ายเหลวคล้ายน้ำข้าวข้าว(rice water stool) ที่เกิดจาก *Vibrio cholerae* ทั้งนี้เป็นไปได้ว่า ETEC ได้รับ virulence gene มาจาก *Vibrio cholerae* ได้

ประชากรกลุ่มเสี่ยง(susceptible population)

ในประเทศที่กำลังพัฒนา ETEC เป็นสาเหตุหลักหนึ่งที่ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวในเด็ก(infantile enteritis) อายุไม่เกิน 5 ปี คิดเป็นสัดส่วนประมาณร้อยละ 13 และ traveler's diarrhoea เมื่อมีการสัมผัสกับ *E.coli* ชนิดที่ไม่คุ้นเคยในพื้นที่อื่นๆ อันเนื่องมาจากการสุขาภิบาลที่ไม่เท่าเทียมกัน เช่น กรณีทหารชาวอังกฤษเดินทางไปประเทศแถบตะวันออกกลาง และอีกกรณีที่คล้ายกัน คือ ทหารชาวอังกฤษและชาวอเมริกันเดินทางมาปฏิบัติหน้าที่ที่ประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้(south east asian countries) และย่านอ่าวเปอร์เซีย(arabian gulf) มีรายงานอัตราการป่วยสูงถึงร้อยละ 29-48 ของการเกิด traveler's diarrhoea ในประเทศเม็กซิโก และสามารถแยก ETEC ได้จากจำนวนครึ่งหนึ่งของผู้ที่ป่วย โดยอาหารที่มักเป็นสาเหตุของ traveler's diarrhoea ก็คือ ผักสดที่ไม่ได้ผ่านความร้อนเพื่อทำลาย ETEC ที่ปนเปื้อนมาในอาหาร อีกกรณีให้เห็นได้ชัดของการเกิด traveler's diarrhoea คือ ETEC ที่มีการปนเปื้อนในน้ำที่ใช้ในทำให้เกิดการระบาดในเรือท่องเที่ยวขนาดใหญ่(cruise ships)

พยาธิกำเนิด(pathogenesis)

ETEC สร้าง enterotoxin ได้ 2 ชนิด (ตาราง 65) ในขณะที่เพิ่มจำนวน(colonization) อยู่ที่ลำไส้เล็ก คือ heat labile toxin (LTI และ LTII) ไม่ทนความร้อนที่ 100°C นาน 30 นาที และ heat stable toxin(STI และ STII) ทนความร้อนที่ 100°C นาน 30 นาที

สารพิษ LTI มีลักษณะโครงสร้างและหน้าที่การทำงาน antigenicity คล้ายกับ cholerae toxin (CT) ที่สร้างโดย *Vibrio cholerae* ประมาณร้อยละ 70 โครงสร้างโปรตีนของ LTI เป็นแบบจตุรภูมิ(quaternary structure) ประกอบด้วย subunit A ขนาด 30 KDa และ subunit B pentamer(5 subunits) ขนาด subunit ละ 11.5 KDa เชื่อมกันด้วยพันธะ hydrogen และประจุที่ตรงข้ามกัน subunit A เริ่มต้นจะถูกสังเคราะห์เป็น polypeptide ยาวเพียงหนึ่งสาย แต่จะถูกย่อยเป็น 2 สาย คือ A₁ และ A₂ และใช้ disulfide bond เชื่อมกับ subunit B pentamer

LTI เข้าสู่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้(intestinal epithelial cells) โดยอาศัยการจับกันของ subunit B pentamer กับตัวรับ(receptor) ชนิด monosialoganglioside G_{M1} ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของ intestinal epithelial cells บางแหล่งยังระบุถึงการจับกันของ subunit B pentamer กับ monosialoganglioside G_{M2} จากนั้น (หรือ CT) สาย A₁ ของ LTI จะทำหน้าที่เหมือนเอนไซม์ adenosine-diphospho-ribosyl transferase ทำให้เกิด ADP ribosylation ของ G protein ซึ่งจะกระตุ้นการทำงานของ adenylate cyclase ทำให้ปริมาณของ cyclicAMP

เพิ่มมากขึ้น เกิดการขับประจุ chloride ออกจากเซลล์ (crypt cells) ที่บริเวณลำไส้เล็กและทำให้สมดุลการดูดซึม sodium และ chloride ผิดปกติที่บริเวณลำไส้ใหญ่ จนทำให้มีแร่ธาตุนอกเซลล์หรืออยู่ในช่องว่างลำไส้ (intestinal lumen) มากขึ้น ทำให้มีการไหลของน้ำจากเซลล์ออกสู่ภายนอกทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea)

EPEC ผลิต LTII น้อยมากเพียงร้อยละ 1 ของ LTI เท่านั้น แต่มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์เช่นเดียวกับ LTI เนื่องจาก มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน และการผ่านเข้าสู่เซลล์ของ LTII จะอาศัยการจับตัวกับตัวรับชนิด disialoganglioside G_{D1a} และ G_{D1b} แทนที่จะเป็น G_{M1} (หรือ G_{M2})

STa มีขนาดโมเลกุลเล็กมากประมาณ 2 Kda จึงทำให้เป็นโปรตีนที่มีความทนต่อความร้อนมากเป็นพิเศษ STa ทำให้เกิดการถ่ายเหลวเป็นน้ำโดยอาศัยกลไกคล้ายกับ LT แต่ STa เมื่อผ่านเข้าไปในเซลล์เยื่อบุลำไส้จะจับกับ guanylate cyclase เท่ากับเป็นการกระตุ้นการทำงานของ guanylate cyclase ที่ brush border ของ epithelial cell ของลำไส้ส่วน jejunum และ ileum ทำให้ปริมาณ cyclicGMP เพิ่มมากขึ้น เกิดการขับประจุ chloride ออกจากเซลล์ (crypt cells) ที่บริเวณลำไส้เล็ก และทำให้สมดุลการดูดซึม chloride ควบคู่กับ sodium ผิดปกติที่บริเวณลำไส้ใหญ่ จนทำให้มีแร่ธาตุนอกเซลล์หรืออยู่ในช่องว่างลำไส้ (intestinal lumen) มากขึ้น ทำให้มีการไหลของน้ำจากเซลล์ออกสู่ภายนอกทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea) แม้การออกฤทธิ์ของ STa จะเร็วแต่กลับมีระยะเวลาออกฤทธิ์ที่สั้น

กลไกการออกฤทธิ์ของ STIb ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ยังไม่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นสร้าง cyclic AMP หรือ cyclic GMP เพิ่มมากขึ้น สาเหตุที่ EPEC ก่อโรคเฉพาะในคน เนื่องจาก EPEC ไม่สามารถสร้าง enterotoxin ได้เพียงพอที่จะก่อโรคได้ในสุกรและความจำเพาะของ fimbrial adhesion

virulence factor ที่สำคัญของ EPEC นั้นนอกเหนือจาก enterotoxin แล้วยังรวมถึง adhesin เนื่องจาก EPEC จะต้องมีความสามารถในการจับเกาะ (adherence) กับผิวของเซลล์เยื่อบุลำไส้ให้ได้ก่อนที่จะสามารถเพิ่มจำนวนได้ ลักษณะ adhesin ของ EPEC เป็นสายโปรตีนท่อนสั้น เรียกว่า fimbria หรือ pili มีความจำเพาะต่อ species ของ host เช่น คน วัวหรือสุกร colonization factor antigen I (CFA) เป็น adhesin ของ EPEC มี 2 ชนิด คือ CFA/I และ CFA/II ทำหน้าที่ในการจับเกาะกับผิวเซลล์เยื่อบุลำไส้ ที่ปลาย adhesin เท่านั้นที่จะจับเกาะกับตัวรับที่ผิวของเซลล์เยื่อบุลำไส้ CFA/I มีเพียง antigen เดียวแต่ CFA/II มี 3 antigen คือ CS1, CS2, และ CS3 CFA/IV มี 3 antigen คือ CS4, CS5, และ CS6 ปัจจุบันนี้ ยังคงมีการระบุถึง colonization factor อื่นๆ อีก เช่น CFA/III, bundle-forming type, putative colonization factor (PCF)

ตาราง 65 Toxin และ virulence factors ของ *E.coli* กลุ่มต่างๆ

<i>E.coli</i>	Toxin	Virulence factor
Enterotoxigenic <i>E.coli</i> (ETEC)	LTI, LTII, STa, STb	Adhesin, CFA/I, CFA/IV
Enteropathogenic <i>E.coli</i> (EPEC)	-	Bundle-forming pili, Intimin
Enteroinvasive <i>E.coli</i> (EIEC)	-	IpaD, IpaB, IpaC, VirG
Vero cytotoxigenic <i>E.coli</i> (VTEC)	VT1, VT2	Intimin

หลักการควบคุมและป้องกัน (control and prevention)

แหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญของ ETEC คือ สิ่งปฏิกูลหรือสิ่งขับถ่ายจากมนุษย์ เนื่องจาก เป็นโรคที่เกิดขึ้นเฉพาะในมนุษย์เป็นสำคัญ ดังนั้นหลักการควบคุมและป้องกันโรคก่อนข้างจะคล้ายกับกรณีโรคอื่นๆ ที่เกิดขึ้นเฉพาะในมนุษย์ คือ การลดโอกาสการที่ ETEC จะผ่านจากผู้ป่วยหรือผู้ที่เป็นพาหะของโรค(carrier)นี้มาสู่ผู้อื่น ดังนั้น จึงต้องเน้นเรื่องการสุขาภิบาลที่ดี (sanitation) ของผู้ป่วยหรือผู้ที่เป็นพาหะของโรค(carrier)นี้ ระวังการแพร่กระจายหรือการปนเปื้อนสิ่งปฏิกูลของกลุ่มคนเหล่านี้ไปสู่สิ่งแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำดื่ม น้ำใช้ เป็นสำคัญ เน้นความสะอาดในการเตรียมอาหารและห้ามกลุ่มคนเหล่านี้เกี่ยวข้องกับเตรียมอาหาร เนื่องจาก ETEC เป็นกลุ่ม mesophilic ดังนั้น การใช้ความร้อนในการปรุงอาหารหรือต้มน้ำก็จะช่วยลดปริมาณ ETEC ได้ หลีกเลี่ยงการบริโภคอาหารดิบ เช่น ผักและผลไม้ ซึ่งอาจจะปนเปื้อนด้วย ETEC มาก่อนก็ได้ แม้แต่อาหารที่ปรุงสุกแล้วก็ตามก็อาจจะมีการปนเปื้อนข้าม(cross contamination)หรือปนเปื้อนหลัง (post contamination) ก็ควรต้องเก็บรักษาอาหารในสภาวะที่เหมาะสม ป้องกันการเพิ่มจำนวนของ ETEC ในอาหารนั้นๆ เช่น เก็บรักษาอาหารในที่เย็นกว่า 10°C หรือในที่ร้อนกว่า 60°C เป็นต้น

การป้องกัน traveler's diarrhoea ก็อาศัยหลักการเดียวกัน คือ การหลีกเลี่ยงการกินอาหารที่ดิบหรือกึ่งดิบกึ่งสุก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักและผลไม้ ดื่มน้ำเฉพาะที่สะอาดหรือผ่านการทำลายจุลินทรีย์ในน้ำมาแล้ว หลีกเลี่ยงสันทนาการทางน้ำ(water recreation) ซึ่งอาจจะปนเปื้อนด้วยสิ่งปฏิกูลจากแหล่งที่พักอาศัย น้ำแข็งที่ไม่ได้ผลิตจากน้ำตามมาตรฐานน้ำดื่มก็เป็นแหล่งของ ETEC ได้ด้วย

วัคซีนที่ใช้ป้องกัน ETEC มีทั้งที่เป็นแบบเชื้อเป็น(lived vaccine)และเชื้อตายเฉพาะส่วน antigen ของแบคทีเรีย มีการผลิตวัคซีน ETEC ที่เพิ่ม B subunit ของ Cholerae toxin(CT) และวัคซีนอีกชนิดหนึ่งเพิ่มเซลล์ของ *Vibrio cholerae* เข้าไปด้วย อย่างไรก็ตาม ปัญหาของการใช้วัคซีนมาจากความแตกต่างและความ

หลากหลายของ serogroup และ virulence factor (colonization factor antigen) ของ ETEC ทำให้วัคซีนที่ผลิตจาก serogroup หรือ CFA หนึ่ง ไม่สามารถป้องกันการติด ETEC ในอีก serogroup หรือ อีก CFA หนึ่งอย่างมีประสิทธิภาพ

ENTEROPATHOGENIC *E.coli* (EPEC)

EPEC ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ(watery diarrhoea) ในเด็ก บางครั้งเรียกว่า infantile enteritis มักจะระบาดในโรงพยาบาลหรือสถานรับเลี้ยงเด็กที่ขาดการสุขาภิบาลที่ดีเพียงพอ ทารกและเด็กที่อายุไม่เกิน 3 ปี จะเป็นประชากรกลุ่มเสี่ยง ดังนั้น จึงมักไม่มีการตรวจหา EPEC ในผู้ใหญ่ ปัญหาของ EPEC ในประเทศที่พัฒนาแล้วมีค่อนข้างน้อย แต่จะยังเกิดปัญหาในทารกและเด็กในประเทศที่กำลังพัฒนา

ระบาดวิทยา (epidemiology)

EPEC เป็น *E.coli* ที่ก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้น เช่นเดียวกับ ETEC หลักฐานการระบาดของ EPEC จะมีความเกี่ยวเนื่องกับฤดูกาลมาตั้งแต่ช่วงทศวรรษที่ 1930 ส่วนมากจะเป็นการระบาดในช่วงฤดูร้อน ทำให้ทารกและเด็กเกิดอาการถ่ายเหลว บางครั้งเรียกว่า summer diarrhoea ในกลุ่มประเทศยุโรปและอเมริกา และในช่วงทศวรรษต่อมาเป็นการระบาดของ EPEC ในทารกและเด็กเช่นเดียวกันแต่กลับเกิดขึ้นในช่วงฤดูหนาวแทน serogroup ของ EPEC ที่มีการระบาดมาก่อน เช่น O55 และ O111 เป็นต้น ลักษณะสำคัญของการระบาด EPEC คือ มีอัตราการป่วย(morbidity rate)และอัตราการตาย(mortality rate)ที่สูง บางครั้งมากกว่าร้อยละ 50 แบบฉับของการระบาดของ EPEC คือ การระบาดวงจร(cyclic transmission) ตัวอย่างเช่น สถานรับเลี้ยงเด็กซึ่งมีประชากรกลุ่มเสี่ยงจำนวนมาก ก่อปรกับการสุขาภิบาลที่ไม่ได้มาตรฐานเมื่อมีจำนวนประชากรกลุ่มเสี่ยงมาก เมื่อมีทารกหรือเด็กที่บังเอิญได้รับ EPEC มาจากนอกสถานรับเลี้ยงเด็ก เมื่อเข้ามาภายในสถานรับเลี้ยงเด็กก็มีโอกาสอย่างมากที่จะนำมาแพร่กระจายอย่างรวดเร็วภายในสถานรับเลี้ยงเด็ก เนื่องจาก การสุขาภิบาลที่ไม่ทั่วถึงโดยผู้ดูแล ทารกหรือเด็กไม่มีระเบียบวินัยในการดูแลความสะอาดและระบบภูมิคุ้มกันที่ยังไม่ครบสมบูรณ์ เด็กที่มี EPEC ก็จะปล่อยเชื้อออกมาทางอุจจาระ เชื้อในอุจจาระก็อาจจะปนเปื้อนกับมือของเด็กและการเข้าใกล้สัมผัสกันโดยตรงระหว่างเด็ก ก็ทำให้ EPEC ผ่านไปสู่มือของเด็กอื่นได้ จากนั้น EPEC ก็จะผ่านจากมือเข้าสู่ปาก และไปเพิ่มจำนวนในลำไส้ของเด็ก ก่อนที่จะมีการปล่อย EPEC ออกมาทางอุจจาระอีกครั้ง(fecal oral route) แล้วก็จะเกิดการแพร่กระจายของ EPEC ในหมู่เด็กในสถานรับเลี้ยงเด็กเป็นวงจรเช่นนี้เรื่อยไป การแพร่กระจายอาจจะผ่านจากเด็กที่ป่วยไปสู่ผู้ดูแลหรือกระทั่งในสิ่งแวดล้อมของสถานรับเลี้ยงเด็กด้วย ครั้นเมื่อระบบการสุขาภิบาลของโรงพยาบาลหรือการเลี้ยงดูเด็กมีการปรับปรุงดีขึ้นตามลำดับ การระบาดของ EPEC ก็มีจำนวนลดลง คงมีแต่

การรายงานการเจ็บป่วย infantile diarrhoea แบบเป็นครั้งเป็นคราว(sporadic) และจะมีจำนวนสูงสุดในช่วงฤดูร้อน สำหรับ EPEC ในผู้ใหญ่ นั้น ปัญหาอยู่ที่การขาดการวินิจฉัยโรค เนื่องจาก ผู้ป่วยที่อายุเกิน 3 ปี มักจะไม่ตรวจหา EPEC การระบาดในชุมชนเกิดขึ้นได้จากการปนเปื้อนของอาหารหรือแหล่งน้ำด้วยสิ่งปนเปื้อนจากบ้านเรือน

การระบาดของ EPEC ยังคงกำลังเป็นปัญหาในประเทศที่กำลังพัฒนา เนื่องจาก ระบบสุขาภิบาล ทำให้ยังคงมีรายงานการระบาดของ EPEC ทำให้เด็กทารกถ่ายเหลว รวมถึงการระบาดแบบวงจรหรือการระบาดในชุมชน เนื่องจาก การปนเปื้อนของ EPEC ในแหล่งน้ำดื่ม เป็นต้น เด็กที่เลี้ยงด้วยน้ำนมจากขวดจะมีโอกาสการป่วยมากกว่าเด็กที่ดื่มน้ำนมแม่ การระบาดจะเกิดมากที่สุดในช่วงที่อากาศอบอุ่นหรือร้อน ดังนั้น ประเทศไทยจึงน่าจะมีโอกาสการระบาดของ EPEC ได้ตลอดทั้งปี เนื่องจาก สภาพอากาศโดยรวมประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนชื้น

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด

อาหารประเภทสลัด หรืออาหารที่จะไม่ผ่านกระบวนการความร้อน เนยแข็งชนิดอ่อนและน้ำดื่ม

อาการ(clinical symptoms)

ปริมาณเชื้อที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) คือ ประมาณ 10^6 เซลล์ อาการหลักของ EPEC จะคล้ายกับ ETEC โดยเกิดจากการอักเสบของทางเดินอาหาร (gastroenteritis) คือ การถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea) อาเจียน(vomiting) ปวดท้อง(abdominal cramp) มีไข้ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ(malaise) ความเจ็บป่วยส่วนมากแล้วจะหายได้เองถ้าเด็กมีความแข็งแรงเพียงพอ แต่ถ้าเด็กอ่อนแออาจจะกลายเป็นการถ่ายเหลวแบบเรื้อรัง(chronic enteritis) จนอาจจะทำให้เสียชีวิตได้ EPEC ส่วนมากแล้วจะก่อโรคในโรงพยาบาลหรือสถานรับเลี้ยงเด็กที่ขาดการสุขาภิบาลที่ดี

ประชากรกลุ่มเสี่ยง(susceptible population)

ประชากรกลุ่มเสี่ยง คือ กลุ่มที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ทารกที่เลี้ยงด้วยน้ำนมจากขวด(bottle feeding) หรือเด็กที่อายุประมาณ 6 เดือน ซึ่งเป็นช่วงอายุที่เปลี่ยนจากน้ำนมแม่มาเป็นอาหารเสริม และเด็กในกลุ่มอายุประมาณไม่เกิน 3 ปี ทั้งนี้ทั้งนั้น ปัจจัยที่กำหนดช่วงอายุที่อาจจะเสี่ยงต่อ EPEC นั้น นอกจากภูมิคุ้มกันแล้ว ยังรวมถึง มาตรฐานของระบบสุขาภิบาลด้วย

พยาธิกำเนิด(pathogenesis)

แม้ว่าอาการของโรคที่เกิดจาก EPEC และ ETEC จะคล้ายกัน คือ อาการถ่ายเหลวปนน้ำ หากแต่กลไกการก่อโรคกลับแตกต่างกันอย่างมาก ETEC สร้าง enterotoxin แต่ EPEC อาศัยการจับเกาะ(adherence) กับผิวเซลล์ที่เยื่อลำไส้เป็นสาเหตุหลักของอาการโรคที่เกิดขึ้น

EPEC จะจับเกาะ(adherence) กับผิวเซลล์เยื่อลำไส้จากโปรตีนที่ได้จาก EPEC adherence factor(EAF) plasmid จากนั้นจะเกิด attaching-effacing(AE) process โดยอาศัยโปรตีนที่ถอดรหัสจาก *E.coli* attachemnt-effacement (*eae*) gene กระบวนการเริ่มต้นด้วย ขั้นตอนที่ 1 คือ การสร้างสัมพันธ์ (non-intimate binding) ของ EPEC กับผิวเซลล์เยื่อลำไส้ โดยอาศัย bundle-forming pili (ตาราง 65) ทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงของ cytoskeletal structure (ส่วนใหญ่ประกอบด้วย actin ซึ่งละลายใน cytoplasm) ของเซลล์ร่างกาย ตามมาด้วยขั้นตอนที่ 2 การประกบ(effacing) ของ microvilli กับ EPEC เป็น signal transduction ทำให้เซลล์ร่างกายผลิต pedestal-like structure (เป็น actin fiber ท่อนสั้น) รับ EPEC ไว้ จากนั้นขั้นตอนที่ 3 จะเกิดการยึดเชื่อม(intimate attachment) ของ EPEC กับผิวเยื่อผนังลำไส้โดยอาศัยโปรตีน intimin (ตาราง 65) ที่ในเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก(outer membrane) โปรตีน intimin เป็นโปรตีนที่ถอดรหัสจาก chromosomal *eaeA* gene การจับเกาะ(adherence)จนกระทั่งถึงการยึดเชื่อม(intimate attachment) ทำให้เกิดการเพิ่มระดับของแคลเซียมในเซลล์เยื่อลำไส้เซลล์ การเกิด phosphorylation ของ cytoskeletal protein ในเซลล์ การจัดเรียงตัวใหม่ของ cytoskeletal structure ผลที่เกิดตามมาคือ การขังการดูดซึมของ brush border และกระตุ้นการปล่อยน้ำเข้าสู่ช่องว่างในลำไส้ ทำให้เกิดการถ่ายเหลวปนน้ำในที่สุด(watert diarrhoea)

หลักการควบคุมและป้องกัน(control and prevention)

มีหลักการควบคุมและป้องกันเหมือนกับ EPEC

ENTEROINVASIVE *E.coli* (EIEC)

อุบัติการณ์ของ EIEC มีน้อยกว่า *E.coli* กลุ่มอื่น สามารถก่อโรคได้เฉพาะในคนโดยไม่จำกัดอายุ แม้ว่าอายุระหว่าง 3-5 ปีจะเป็นกลุ่มอายุที่มีความเสี่ยงสูงสุด EIEC ไม่สร้างสารพิษแต่กลับมีลักษณะสำคัญตามชื่อ “enteroinvasive” คือ EIEC มี virulence factor สำคัญที่ทำให้สามารถบุกรุกเข้าไปในเซลล์ของร่างกาย(invasive) และหลบหนีระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ ทำให้สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างมีประสิทธิภาพ จนทำลายเซลล์เยื่อลำไส้ของร่างกายให้ลอกหลุดพร้อมกับมีเลือดออกตามมา ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวปนเลือด

ระบาดวิทยา (epidemiology)

EIEC เป็น *E.coli* ที่ก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้น(107) เช่นเดียวกับ ETEC และ EPEC เนื่องจาก ไม่มีหลักฐานการพบ EIEC ในอาหารที่ได้จากสัตว์ การระบาดของ EIEC ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการเตรียมอาหารมวลชน(institutional epidemics) ในอดีตเคยเป็นปัญหาตั้งแต่ช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 โดยทหารมีอาการถ่ายเหลวปนมูกเลือด(dysentery) ต่อมามีการรายงานถึงความสัมพันธ์ของ EIEC (*E.coli* O124) กับอาการถ่ายเหลวปนเลือดในเด็ก เนื่องจากอาหารกลางวันในโรงเรียนแม้ว่าจะไม่สามารถระบุหาเชื้อได้ก็ตาม(187) มีการระบาดของ EIEC ที่เกี่ยวข้องกับเนยแข็งฝรั่งเศส หลังจากการสืบสวนการระบาดพบว่า เกิดจากการใช้น้ำจากแหล่งน้ำที่ไม่สะอาดในการทำความสะดวกในการผลิตเนยแข็ง ปัญหาการระบาดของ EIEC พบได้ทั่วโลกและมีผลกระทบไม่จำกัดเฉพาะเด็กเท่านั้น ทั้งนี้ทั้งนั้น ขึ้นอยู่กับระดับการสุขาภิบาลของแต่ละเขตหรือแต่ละประเทศ ถ้าหากเป็นเขตที่มาตรฐานการสุขาภิบาลที่ไม่ดีเพียงพอจะเกิดปัญหาการระบาด(epidemic) ของ EIEC ส่วนในเขตที่มีระบบสุขาภิบาลที่ดีเพียงพอก็มักจะพบ EIEC เพียงครั้งคราว(sporadic) เท่านั้น เช่น การแพร่จากโดยตรงจากคนสู่คน(direct contact) นอกจากนี้ EIEC ยังสามารถเป็นสาเหตุของ traveler's diarrhoea ด้วย

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด

อาหารประเภทสลัด หรืออาหารที่จะไม่ผ่านกระบวนการความร้อนและน้ำดื่ม

อาการ(clinical symptoms)

ปริมาณเชื้อที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) คือ ประมาณ 10 เซลล์ ระยะฟักตัวโรค 12-72 ชั่วโมง อาการป่วยจาก EIEC จะเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกมีอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ(watery diarrhoea) ตามด้วยอาการไข้และปวดท้อง ช่วงที่สองอาการจะรุนแรงขึ้น เรียกว่า colonic phase เนื่องจาก EIEC มีลักษณะรุกเข้าเซลล์(invasive) หลังจาก EIEC เพิ่มจำนวนในเซลล์ต่อไป ก็จะทำให้เซลล์เยื่อบุลำไส้เกิดความเสียหายหรือลอกหลุดและมีเลือดออกด้วย ทำให้เกิดอาการที่คล้ายกับอาการป่วยจาก *Shigellae* คือ การถ่ายเหลวปนมูกเลือด(bloody and mucoid diarrhoea) อย่างไรก็ตาม อาการใน colonic phase ไม่จำเป็นจะร้องเกิดขึ้นเสมอไปเมื่อมีการติด EIEC ลักษณะของ EIEC ที่แตกต่างจาก *E.coli* อื่นๆ ทั่วไปแต่กลับมีความคล้ายคลึงกับ *Shigellae* ไม่เพียงเฉพาะแต่อาการถ่ายเหลวเป็นมูกเลือดเท่านั้น ยังมีลักษณะร่วมกันของคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วย เช่น ไม่ต้องการอากาศหรือออกซิเจน (anaerogenic) ใช้น้ำตาลโมเลกุลคู่ชนิดแลคโตสไม่ได้ ไม่มี lysine decarboxylase enzyme เป็นต้น

ประชากรกลุ่มเสี่ยง(susceptible population)

เด็กอายุประมาณ 3-5 ปีเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงสุด รวมถึงเด็กในโรงเรียนด้วย ผู้ใหญ่ก็สามารถป่วยจาก EIEC ได้ เช่น การรับ EIEC จากโรงพยาบาลหรือสถานที่รวมมวลชน หรือกระทั่งจากการเดินทางระหว่างสถานที่ เป็นต้น

พยาธิกำเนิด(pathogenesis)

กลไกของการเกิดอาการถ่ายเหลวปนเลือดจะคล้ายกับกลไกของการเกิด dysentery ของ Shigellae เริ่มต้นจากการรุกราน(invasive) เข้าเซลล์เยื่อบุลำไส้ การเพิ่มจำนวน EIEC ภายในเซลล์ ทำให้เซลล์เสียหายหรือตายไป จากนั้น EIEC จะเคลื่อนตัวไปยังเซลล์ที่อยู่ประชิดกันโดยไม่ออกไปอยู่ในช่องว่างของลำไส้ ผลสุดท้ายทำให้เกิดการลอกหลุดของเซลล์เยื่อบุลำไส้ที่เสียหายหรือตายไปพร้อมกับมีเลือดปนออกมาด้วย

virulence factor ที่สำคัญของ EIEC ในกระบวนการรุกรานเข้าเซลล์ คือ โพรตีน invasion plasmid antigen(Ipa) (ตาราง 65) Ipa ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น antigen มีอยู่หลายชนิด เช่น โพรตีน Ipa D เป็นโพรตีนที่ทำหน้าที่ในการจับเกาะ(adhesion) กับผิวเซลล์เยื่อบุลำไส้ ทำหน้าที่ในการนำ EIEC เข้าสู่(entry) เซลล์ร่างกาย โพรตีน IpaB และ IpaC ทำหน้าที่ ทำหน้าที่ในการย่อยสลาย phagocytic vacuole ที่เซลล์ร่างกายสร้างขึ้นหุ้ม EIEC ดังนั้น EIEC จึงสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างอิสระและรวดเร็ว

ในขณะที่มีการจับกันของ EIEC กับ host-cell receptor ก่อนเข้าสู่เซลล์เป็นการส่งสัญญาณผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane signal transduction) ทำให้มีการจัดเรียงตัวใหม่ของ cytoskeleton ฉะนั้น เมื่อ EIEC ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์และย่อยสลาย phagocytic vacuole แล้ว cytoskeleton ซึ่งมี actin filament เป็นส่วนประกอบหลักจะมีการเชื่อมกัน(polymerize) กันที่ปลายด้านหนึ่งของ EIEC ลักษณะคล้ายกับหางของดาวหาง มี EIEC เป็นตัวหรือหัวของดาวหาง โครงสร้างของ actin filament ที่ปลายของ EIEC ทำให้ EIEC มีการเคลื่อนตัวไปมาได้ภายใน cytoplasm ของเซลล์ นอกจากนี้ EIEC ยังมี virulence factor อีก 2 ชนิด คือ โพรตีน intercellular spread A (IcsA หรือ Vir G) ซึ่งจะอยู่ที่ปลายด้านหนึ่งของ EIEC มีคุณสมบัติของ ATPase ทำให้สามารถขับเคลื่อน(propel) EIEC จนกระทั่งสัมผัสกับผนังเซลล์ที่ติดต่อกับเซลล์ข้างเคียง และ โพรตีน IcsB ช่วยในการย่อยสลายโครงสร้างที่กั้นระหว่างเซลล์ ทำให้ EIEC เคลื่อนตัวแพร่ไปทำลายเซลล์ข้างเคียงได้อย่างมีประสิทธิภาพ virulence factor ชนิดนี้ไม่พบใน *Salmonella* หรือ *Yersinia* เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้จะเกิดการเสียหายอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น ทำให้ EIEC ก่อโรคได้รุนแรงจนเกิดเป็นการถ่ายเหลวปนมูกเลือด

หลักการควบคุมและป้องกัน(control and prevention)

มีหลักการควบคุมและป้องกันเหมือนกับ EPEC

VERO CYTOTOXIGENIC *E.coli* (VTEC)

การระบาดของ VTEC ในประเทศที่พัฒนาแล้วหลายๆ ประเทศ เมื่อไม่นานมานี้ เช่น ญี่ปุ่น กลุ่มประเทศยุโรป อเมริกา แคนาดา เป็นต้น ทำให้ VTEC กลายเป็นโรคอุบัติใหม่(emerging disease) ที่ได้รับความสนใจมากกว่า *E.coli* ในกลุ่มอื่นๆ ทั้งนี้ทั้งนั้น เนื่องจาก ความรุนแรงหรือโรคที่เกิดจาก VTEC มีผลกระทบต่อประชากรเป็นวงกว้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มเด็กซึ่งมีภูมิคุ้มกันต่ำกว่าผู้ใหญ่และมีแนวโน้มที่จะเกิดอาการรุนแรงต่อไตและอาจจะถึงขั้นเสียชีวิตได้ VTEC ได้รวมกลไกสำคัญในการก่อโรคของ *E.coli* กลุ่มอื่นๆ คือ การสร้างสารพิษคล้ายกับกลุ่ม ETEC (คล้ายกับ cytotoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae*) การจับเกาะกับเซลล์ร่างกายคล้ายกับกลุ่ม EPEC และการรุกเข้าเซลล์คล้ายกับกลุ่ม EIEC ทำให้ VTEC เป็น *E.coli* ที่มีศักยภาพในการก่อโรคได้อย่างรุนแรง อาทิ อาการถ่ายเหลวปนเลือดและมูก โรค hemolytic uremic syndrome(HUS) โรคไตวาย และ โรคทางระบบประสาท

ระบาดวิทยา (epidemiology)

พบ VTEC ครั้งแรกในปี 1977 แต่กว่าจะทราบว่า VTEC เป็นสาเหตุของทั้งอาการถ่ายเหลวมีเลือดปนมูก (HC) และ กลุ่มอาการโลหิตจางจากการเสียเลือด(HUS) ก็ล่วงเลยมาอีก 5 ปี ในปี 1982 แม้ว่าจะมี serogroup อื่นของ VTEC ที่สามารถก่อโรคได้ แต่จากการรายงานพบว่า serogroup O157 ของ VTEC มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคถ่ายเหลวมีเลือดปนมูกมากกว่า เนื่องจาก โอกาสการแยก O157 VTEC มีสูงมากถึงร้อยละ 15 และร้อยละ 70 ของตัวอย่างอุจจาระที่มีอาการถ่ายเหลวมีเลือดปนมูกจากประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศอังกฤษ ตามลำดับ ประเทศอังกฤษผู้ป่วยที่ได้รับ O157 VTEC จะมีอาการ HUS สูงถึงร้อยละ 10 HUS เป็นสาเหตุหลักที่สำคัญของโรคไตวายในทารกและเด็กในประเทศอาร์เจนตินาและชิลี ในแต่ละปีจะมีเด็กที่ป่วยด้วย HUS จาก O157 VTEC สูงถึง 7.8 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน และมีการติด VTEC สูงถึงร้อยละ 70 จะสังเกตได้ว่า serogroup O157 VTEC เป็น serogroup ที่เป็นสาเหตุของ HC และ HUS ทั่วโลกไม่ว่าจะเป็นกลุ่มประเทศที่กำลังพัฒนาหรือพัฒนาแล้วก็ตาม ดังนั้น แหล่งแพร่กระจาย O157 VTEC นั้น อาจจะมาจกคน (person-to-person) เนื่องจาก ระบบสุขาภิบาลที่ไม่ดีเพียงพอและอาจจะมาจากอาหารที่มาจากสัตว์ได้ด้วย

แหล่งเก็บเชื้อ (reservoir) ที่สำคัญของ EHEC คือ โค ดังนั้น อาหารหรือสื่ออื่นๆ ที่เป็นสาเหตุของการระบาดนั้นมักจะปนเปื้อนข้ามด้วยเนื้อโคดิบ หรือ ผักสด นม นม น้ำแอปเปิ้ล และแหล่งน้ำ ที่มีการปนเปื้อนข้ามด้วย

อุจจาระของโค EHEC ได้รับการพุดถึงเป็นครั้งแรกในปี 1982 แต่เพิ่งได้รับความสนใจว่าเป็นแบคทีเรียอาหารเป็นพิษที่สำคัญ เนื่องมาจาก ความตื่นตัวของประชาชนมาจากการระบาดใหญ่หลายรัฐ(multistate epidemic) ของ VTEC serotype O157:H7 ในปี 1993 ของร้านอาหารด่วนทันใจ (fast food chain restaurant) ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีการวิเคราะห์หาสาเหตุของการระบาดซึ่งอาจจะเกิดขึ้นได้ 2 ขั้นตอน คือ การมี EHEC ในเนื้อวัว ปริมาณสูงกว่าปกติ และ การใช้ความร้อน (อุณหภูมิ) ในการปรุงอาหารต่ำเกินไปที่จะทำลาย EHEC ได้

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด

แฮมเบอร์เกอร์ นมดิบ เนื้อวัวย่าง(roasted beef) ไส้กรอก น้ำแอปเปิ้ล(apple cider) โยเกิร์ต ผักประเภทถั่วงอก(sprout) อาหารประเภทสลัด หรืออาหารที่จะไม่ผ่านกระบวนการความร้อนและน้ำดื่ม

อาการ(clinical symptoms)

ปริมาณเชื้อที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) คือ ประมาณ 10^1-10^3 เซลล์ ระยะฟักตัวโรค 1-10 วัน แต่โดยทั่วไปจะอยู่ประมาณ 2-5 วัน ระยะป่วย 3-7 วัน อาการป่วยจาก VTEC ที่สำคัญมี 2 ส่วน คือ ในระบบทางเดินอาหารและที่ไต ในระบบทางเดินอาหารทำให้เกิดอาการปวดท้อง ถ่ายเหลวมักจะมีเลือดปนมูก (haemorrhagic colitis) โดยไม่มีอาการไข้ร่วมด้วย และอาจจะมีกลุ่มอาการโลหิตจางจากการเสียเลือดทางปัสสาวะ hemolytic uremic syndrome(HUS) ตามมาหรือไม่ก็ได้ ดังนั้น จึงเรียก serogroup O157 VTEC ว่า **enterohaemorrhagic *E.coli* (EHEC)**

อาการบ่งชี้ของ HUS คือ อาการโลหิตจางจากการเสียเลือด (microangiopathic hemolytic anemia) เกิดเลือดต่ำ(thrombocytopenia) และอาการไตวายเฉียบพลัน(acute renal failure) ซึ่งภาวะไตวายนี้อาจจะทำให้ถึงชีวิตได้ แต่ถ้าไม่เสียชีวิตก็จำเป็นต้องล้างไต (dialysis) ไปตลอดชีวิต อาการ HUS สามารถเกิดขึ้นได้กับคนทุกเพศและทุกกลุ่มอายุ แต่ว่าเด็กจะมีโอกาสป่วยด้วย HUS สูงกว่าผู้ใหญ่ นอกจากอาการทางระบบทางเดินอาหารและไตแล้ว VTEC ยังก่อให้เกิด thrombotic thrombocytopenic purpura(TTP) ด้วย ในรายที่มีอาการ TTP ร่วมกับ HUS แล้วจะมีอาการไข้และเกล็ดเลือดต่ำจากการเสียเลือด(hemolytic anemia) ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดลิ่มเลือด(thrombi) และอาจจะไปอุดตันในสมองจนก่อให้เกิดอาการทางระบบประสาท(neurological disorder)

ประชากรกลุ่มเสี่ยง(susceptible population)

อาการถ่ายเหลวที่อาจจะไม่มีหรือมีเลือดปนมูก(HC) และ กลุ่มอาการโลหิตจางจากการเสียเลือด(HUS) สามารถเกิดขึ้นได้กับคนทุกเพศและทุกกลุ่มอายุ แต่ว่าเด็กจะมีโอกาสป่วยด้วย HUS สูงกว่าผู้ใหญ่

พยาธิกำเนิด(pathogenesis)

VTEC ได้รวมกลไกสำคัญในการก่อโรคของ *E.coli* กลุ่มอื่นๆ คือ การสร้างสารพิษคล้ายกลุ่ม ETEC (Shiga-like toxin) และ การจับเกาะกับเซลล์ร่างกาย(tight binding) คล้ายกลุ่ม EPEC ทำให้ VTEC เป็น *E.coli* ที่มีศักยภาพในการก่อโรคได้อย่างรุนแรง อาทิ อาการถ่ายเหลวปนเลือดและมูก โรค hemolytic uremic syndrome (HUS) โรคไตวาย และ โรคทางระบบประสาท

VTEC สร้างสารพิษทำลาย Vero cell line ได้ จึงเรียกลักษณะนี้ว่า Vero cytotoxin(VT) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ VT1 และ VT2 (ตาราง 65) แต่เนื่องจาก VT มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับ Shiga toxin ซึ่งเป็น cytotoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae* ดังนั้น VT จึงมีอีกชื่อว่า Shiga-like toxin(SLT) หรือ Shiga toxin(Stx) ภูมิคุ้มกัน(antibody) ต่อ Shiga toxin สามารถจะจับ(neutralize) กับ VT1(Stx1) ได้แต่ไม่สามารถจับกับ VT2(Stx2) ได้ ทั้งนี้เนื่องจาก VT2 มีความผันแปรสูงกว่า VT1 VT เป็นโปรตีนขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วย subunit A และ subunit B เป็น pentamer ดังนั้น LT ของ VTEC จึงไม่ทนความร้อนเช่นเดียวกับ LT ของ ETEC กลไกของ VT ในเซลล์ร่างกายเหมือนกับ Shiga toxin คือ การห้ามการสังเคราะห์โปรตีน(protein synthesis inhibito) ชนิดที่ไม่ย้อนกลับ(irreversible) โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ribosome subunit B ของ VT1, VT2 และ Shiga toxin ทำหน้าที่เหมือน subunit B ของ ETEC คือ จับกับตัวรับ(receptor) แต่ว่าเป็นตัวรับชนิด glycolipid G_{b3} ตัวรับ G_{b3} เป็นกุญแจสำคัญในการกำหนดการก่อโรคของ VT กล่าวคือ G_{b3} สามารถพบได้ในเซลล์ของเนื้อเยื่อของร่างกาย เช่น glomerular microvascular endothelial cell ของไต รวมถึง เม็ดเลือดด้วย เซลล์เป้าหมายของ VT ก็คือ เซลล์ที่มี G_{b3} ดังนั้น จึงเป็นเครื่องพิสูจน์อย่างหนึ่งว่า VT ทำให้เกิด HUS และ thrombotic thrombocytopenic purpura(TTP) สัดส่วนของ G_{b3} ที่เซลล์ไตและเม็ดเลือดแดงก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่กำหนดโอกาสการเกิด HUS ในผู้ป่วยด้วย กล่าว คือ เม็ดเลือดของผู้ป่วย HUS มักจะมี G_{b3} ในระดับที่ต่ำกว่า ผู้ที่ติด VTEC แต่ไม่มีอาการ HUS กลไกการก่อโรคของ VT ไม่เพียงแต่เป็น cytotoxin แล้ว ยังมีรายงานว่า VT มีคุณสมบัติทำให้เกิด watery diarrhoea อย่าง enterotoxin ในลำไส้กระต่ายด้วย

VTEC บาง serogroup เช่น O5, O26, O111, และ O157 ยังมีความสามารถคล้ายกับ EPEC ในกระบวนการ attaching-effacing(AE) กับ microvilli ของลำไส้ด้วย แม้ว่า *eae* gene ที่เก็บรหัสโปรตีน intimin ที่ทำให้เกิดรอยโรค AE ของ O157 VTEC และ gene ของ EPEC อยู่ใน chromosome ตำแหน่งที่เรียกว่า pathogenicity island หรือ locus of enterocyte effacement (LEE) แต่ว่าโปรตีน intimin ของทั้ง 2 *E.coli* กลับมีความแตกต่างกันประมาณร้อยละ 14 อาจจะเป็นหลักฐานที่ระบุถึงความจำเพาะของ intimin ของ

EPEC ที่ก่อโรคเฉพาะในคน ในขณะที่ intimin ของ O157 VTEC สามารถจับกับเซลล์ของคนและสัตว์ได้ ตัวรับของ intimin คือ โปรตีน translocating intimin receptor (Tir) ทำหน้าที่นำ VTEC เข้าภายในเซลล์ของร่างกาย นอกจากนี้ virulence factor ที่กล่าวมาแล้ว VTEC ยังอาจจะรวม enterohaemolysin(E-Hly) ด้วย เกือบรหัสพันธุกรรมไว้ใน hemolysin operon พบได้ใน VTEC หลาย serogroup รวมถึง O157 VTEC ด้วย

หลักการควบคุมและป้องกัน(control and prevention)

การควบคุมและการป้องกัน VTEC โดยเฉพาะอย่างยิ่ง serogroup O157 VTEC ให้ได้ผลจำเป็นต้องเข้าใจว่า แหล่งที่มาสำคัญของ O157 VTEC คือ อุจจาระของโค หรือ สัตว์เลี้ยงอื่นๆ และ อาหารด้วย นอกจากนี้ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่าง คือ infective dose ของ O157 VTEC ค่อนข้างต่ำ ดังนั้น การควบคุมและป้องกัน O157 VTEC อาจจะแบ่งพิจารณาการแพร่กระจาย VTEC ได้เป็น 3 ทาง คือ สื่อที่เป็นอาหาร การได้รับทั้งทางตรงและทางอ้อมจากแหล่งเก็บเชื้อ (reservoir) ที่เป็นสัตว์และที่เป็นคน(person-to-person)

การพบ O157 VTEC ในอาหาร เช่น นมหรือน้ำเนื้อสัตว์นั้น มีแหล่งมาจากการปนเปื้อนอุจจาระนั้นเอง ดังนั้น การจัดการควบคุมการปล่อย O157 VTEC ในอุจจาระโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุจจาระโคเป็นสิ่งที่ทำได้ยาก เช่น การกำจัดโคที่มี O157 VTEC การลดการปนเปื้อนของอุจจาระโคไปที่เนื้อสัตว์ การใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ทันสมัยในการฆ่าหรือการทำความสะอาดในโรงฆ่าสัตว์ เป็นต้น ตัวอย่างของการจัดการเพื่อลดปริมาณของ O157 VTEC เช่น ความร้อนเป็นวิธีการที่ใช้ค่อนข้างได้ผลในการทำลาย O157 VTEC ที่อุณหภูมิอย่างต่ำ 88-90°C ที่ผิวของเนื้อโค จะลดเชื้อได้มากกว่า 5 log₁₀CFU/cm² การฉีดล้างผิวซากด้วยกรดอินทรีย์ จะลดเชื้อได้มากกว่า 2 log₁₀CFU/cm² อย่างไรก็ตาม บางการศึกษาพบว่า การใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับความร้อนไม่ได้ผลดีนัก

การใช้ HACCP เป็นวิธีการหนึ่งในการลดโอกาส VTEC จะเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนการรับเนื้อโค จะต้องปลอด O157 VTEC ในเนื้อโคและปลอดการปนเปื้อนข้ามของเนื้อโคจากอุจจาระด้วย O157 VTEC เมื่อสามารถปนเปื้อนในสายการผลิตเนื้อโคแล้วยากที่จะกำจัดได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเกือบทั้งหมดมีการปนเปื้อนไปด้วย ดังนั้น กฎเกณฑ์สำคัญของการควบคุม คือ การป้องกันการเกิดการปนเปื้อนข้าม(cross contamination) จากแหล่งต่างๆ ตั้งแต่การผลิตต้นทางคือ โรงงาน ตลอดไปจนถึงการเตรียมอาหารเพื่อการบริโภคในครัวเรือนด้วย

มาตรการที่สำคัญอีกประเด็นหนึ่งในการควบคุมและป้องกัน VTEC คือ การลดการปนเปื้อนจากคนสู่คน เนื่องจาก VTEC สามารถก่อโรคและเพิ่มจำนวนในคนได้ ดังนั้น ผู้ที่ป่วยและมี VTEC จะมีความเสี่ยงสูงที่จะผ่านเชื้อจากอุจจาระของตนเองไปสู่คนอื่น สิ่งแวดล้อม อาหาร และอุปกรณ์ในการทำอาหารด้วย

DIFFUSE-ADHERING *E.coli*(DAEC)

เป็น *E.coli* ที่พบก่อให้เกิดโรคในเด็กเล็กระหว่าง 1-4 ขวบ แต่ยังไม่ทราบสาเหตุว่าทำไมจึงก่อโรคเฉพาะในเด็กกลุ่มอายุนี้อาการสำคัญ คือ อาเจียนและถ่ายเหลวเพียงเล็กน้อยไม่มีเลือดปน เนื่องจาก ไม่สร้าง enterotoxin ทั้งชนิดทนความร้อนและชนิดไม่ทนความร้อน ไม่สร้าง Shiga toxin สาเหตุที่ได้ชื่อ DAEC นี้ เนื่องจาก เป็น *E.coli* ที่จับกับผิว HeLa cell line แบบกระจายทั่วไป(diffuse adherence)

ENTEROAGGREGATIVE *E.coli* (EAEC)

EAEC มีความแตกต่างจาก DAEC คือ EAEC จับกับผิว Hep-2 แบบรวมกลุ่ม(aggregative adherence) เป็นสาเหตุของอาการท้องเสียในทารกและเด็กบางครั้งนานถึง 2 สัปดาห์ (persistent diarrhoea) มีอาการ อาเจียน ชาดน้ำ และปวดท้อง เด็กบางรายอาจจะมีไข้และถ่ายอุจจาระมีเลือดปน แต่มิได้เป็นสาเหตุของ traveler's diarrhoea

สรุป

E.coli เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในลำไส้คนและสัตว์ปกติจะไม่ก่อโรค อย่างไรก็ตาม *E.coli* ยังมีอีกหลายชนิดที่ก่อโรคได้ การแบ่งกลุ่มของ *E.coli* ปัจจุบันที่นิยมใช้กัน คือ การใช้การตรวจ antigen ที่ผิวของเซลล์ ซึ่งมี 3 ส่วน คือ O(somatic) antigen, H antigen, และ K antigen ส่วนมากแล้วการแบ่ง serogroup จะอาศัย O antigen เป็นหลัก นอกจากการแบ่งตาม antigen แล้ว ความสำคัญของ *E.coli* ในแง่การก่อโรคจึงได้ใช้เป็นพื้นฐานในการแบ่งกลุ่ม *E.coli* ตามพยาธิกำเนิดหรือกลไกการก่อโรค เป็น 6 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่ม Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC) ซึ่งก่อโรคโดยการสร้างสารพิษ LT และ ST ทำให้เซลล์เยื่อบุลำไส้ขับน้ำออกและไม่สามารถดูดน้ำกลับได้ด้วย กลุ่ม Enteropathogenic *E.coli* (EPEC) ทำให้เกิดอาการถ่ายเหลวเป็นน้ำ (watery diarrhoea) จากการเพิ่มจำนวน(colonization) เมื่อ EPEC สามารถยึดกับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ได้ โดยอาศัย virulence factor คือ bundle-forming pili(BFP) และ intimin กลุ่ม Enteroinvasive *E.coli* (EIEC) จะก่อให้เกิดความรุนแรงมากกว่า ETEC และ EPEC เนื่องจาก EIEC มีความสามารถในการรุกรานเซลล์ร่างกายได้ดี โดยอาศัยโปรตีน Ipa(invasion plasmid antigen) ทำให้เซลล์ที่ถูกรุกรานเกิดการเสียหายและตายไปในที่สุด จากนั้น EIEC ก็จะเคลื่อนตัวไปสู่เซลล์ข้างเคียงที่ติดกันเพื่อเพิ่มจำนวนต่อไป ทำให้เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เสียหายมากจนหลุดออกมา ทำให้มีอาการถ่ายเหลวปนเลือดและมูก ประชากรกลุ่มเสี่ยงของการเจ็บป่วยจาก ETEC, EPEC, และ EIEC คือ ทารกและเด็กเล็ก วิธีการควบคุมป้องกันที่เหมาะสม คือ การรักษาระดับการสุขาภิบาลให้ได้มาตรฐาน และกลุ่ม Vero-cytotoxigenic *E.coli*(VTEC) ซึ่งรวมเอา Enterohemolytic *E.coli* (EHEC) สามารถสร้างสารพิษ

VT ที่รุนแรงเหมือน Shiga toxin(Stx) และการยึดกับเซลล์เยื่อผนังลำไส้โดยอาศัยโปรตีน intimin ทำให้เกิดอาการที่รุนแรงกว่า คือ อาการถ่ายเหลวปนเลือด(bloody diarrhoea) และก่อโรคในระบบขับถ่ายปัสสาวะ (hemolytic uremic syndrome:HUS) และ ระบบประสาทด้วย นอกจากนี้ยังมี *E.coli* อุบัติใหม่(newly emerging) อีก 2 กลุ่ม ซึ่งพบว่าก่อโรคได้เช่นกัน แต่ยังไม่สามารถระบุสารพิษที่ก่อให้เกิดโรคหรืออาหารที่เกี่ยวข้องได้อย่างชัดเจน คือ กลุ่ม Diffuse-adhering *E.coli*(DAEC) และ กลุ่มEnteroadherent *E.coli* (EAEC)

1.2 *Salmonella* spp.

การระบุอันตรายของ *Salmonella* spp. มีเนื้อหาเดียวเช่นเดียวกับ การระบุอันตรายในโครงการย่อยที่ 2 ดังนั้น จึงขอเชื่อมโยงเนื้อหาในหัวข้อ ผลการศึกษา เรื่อง การระบุอันตราย (Hazard identification) ในโครงการย่อยที่ 2

1.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม โดยอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายรวงงุ่น พบได้ทั่วไปในอากาศและบนผิวหนังของร่างกาย เช่น บริเวณใบหน้า ใบบุหือ มือ เป็นต้น ดังนั้น อาหารที่ใช้มือในการเตรียมจะมีโอกาสที่จะพบเชื้อนี้ได้ อาหารที่เคยมีรายงานการระบาดมักจะมีน้ำใช้ได้ต่ำ เนื่องจาก *Staphylococcus aureus* สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอาหารที่มีน้ำใช้ได้ต่ำประมาณ 0.85 เช่น อาหารที่มีความเค็มสูง เป็นต้น ในระหว่างกระบวนการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน *Staphylococcus aureus* จะหลั่งน้ำย่อย (enzyme) เพื่อใช้ย่อยโมเลกุลอาหารให้เล็กลง และน้ำย่อยนี้เองที่เป็นสารพิษ หรือ enterotoxin ทำให้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษชนิด การรับพิษผ่านอาหาร (foodborne intoxication) ข้อเหมือนและข้อแตกต่างของ *Staphylococcus aureus* กับจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ คือ กลุ่มแบคทีเรียลำไส้(enteric family) และแบคทีเรียสร้างสปอร์(spore-forming bacteria) โดยที่ลักษณะร่วมกับกลุ่มแบคทีเรียลำไส้ คือ มีความสัมพันธ์โดยตรงกับร่างกายคนและสัตว์ แต่พบ *Staphylococcus aureus* ที่ผิวหนังไม่ใช่ในลำไส้ ลักษณะร่วมกับแบคทีเรียสร้างสปอร์ คือ สร้าง extracellular enzyme(protein) ซึ่งเป็นพิษต่อมนุษย์ แต่ *Staphylococcus aureus* ไม่สร้างสปอร์ ดังนั้น จึงไม่อยู่รอดจากการปรุงอาหาร นอกจากโรคอาหารเป็นพิษแล้ว *Staphylococcus aureus* ยังเป็น เป็นสาเหตุของการติดเชื้อหนองของแผลที่ผิวหนังและ กลุ่มอาการ toxic shock syndrome ด้วย

ลักษณะและการจัดแบ่ง

(characteristics and classification)

Staphylococcus aureus เป็น type species ของ Genus *Staphylococcus* มีความใกล้เคียงกับ Genus *Micrococcus* สมาชิกในกลุ่มนี้จะเป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอากาศ เป็นกลุ่มที่ไม่เคลื่อนไหว (non-motile) ติดสีแกรมบวก (Gram positive) เป็น mesophilic bacteria ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (aerobic) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore former) เป็นกลุ่มที่ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการสร้างพลังงานก็ได้ (facultative anaerobe) การแบ่งแยก *Staphylococcus aureus* จาก *Staphylococcus* ชนิดอื่นๆ โดยอาศัยการผลิต coagulase การใช้พลังงานจากน้ำตาลชนิดต่างๆ และความไวต่อ Novobiocin ส่วนความแตกต่างของแต่ละ strain ของ *Staphylococcus aureus* จัดแบ่งโดย Hajek and Marsalek มีอยู่ด้วยกัน 6 biotype โดยอาศัยคุณสมบัติ เช่น การผลิต staphylokinase และ beta-hemolysin การเกิดการจับตัวแข็ง (coagulation) ของ bovine plasma และการเจริญเติบโตใน crystal violet agar

Staphylococcus aureus ชนิดที่ก่อโรคในคนหรือมีแหล่งที่มาจากคนนั้น จะเป็น biotype A มีคุณสมบัติผลิต staphylokinase และ thermonuclease (TNase) เกิดการจับตัวแข็งของ human plasma แต่ไม่เกิดการจับตัวแข็งกับ bovine plasma สร้าง alpha-hemolysin ส่วนการสร้าง beta-hemolysin ไม่มีความแน่นอน ส่วน biotype B พบได้ในสัตว์ปีกและสุกร biotype C พบได้ในสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดใหญ่และขนาดเล็ก biotype D พบได้ในกลุ่มกระต่าย

Staphylococcus aureus สามารถเจริญเติบโตได้ที่ความเข้มข้นเกลือสูงถึงร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) แต่แบคทีเรียอื่นเกือบจะไม่เจริญเติบโตที่ความเข้มข้นเกลือสูงกว่าร้อยละ 4 เท่านั้น ความทนเกลือเป็นคุณสมบัติที่ทำให้สามารถทนความแห้งหรือน้ำใช้ได้ในระดับต่ำ ($a_w = 0.85$) ดังนั้น *Staphylococcus aureus* จึงสามารถแข่งขันในการเจริญเติบโตในอาหารที่เค็มและแห้งได้ดี

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด เนื้อสัตว์สุก(ผ่านความร้อน) แยม เนื้อสัตว์ปีก อาหารทะเล ขนมอบ ใส้ครีม(cream-filled bakery products) เนยแข็ง นมผง อาหารที่มีโปรตีนสูงและเหลือจากการบริโภค (high-protein leftover food)

ระบาดวิทยา

(Epidemiology)

Staphylococcus aureus พบได้ทั่วไปบนผิวหนังและเยื่อเมือกของร่างกายของสัตว์เลือดอุ่นทั่วไปรวมถึงคนด้วย โดยทั่วไปแล้ว *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) บนผิวหนังจึงพบ *Staphylococcus aureus* ได้เสมอในปริมาณไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม *Staphylococcus aureus* จะมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในบาดแผลที่เกิดขึ้นที่ผิวหนัง เนื่องจาก *Staphylococcus aureus* เป็นสาเหตุของฝีหนองที่ผิวหนังนั่นเอง นอกจากกรณีบาดแผลที่มีหนองอันเกิดจาก *Staphylococcus aureus* แล้ว มือที่จำเป็นต้องสัมผัสกับน้ำหรือต้องล้างมือบ่อยๆ เช่น พยาบาล ผู้ที่ทำงานในโรงเชือดไก่ ก็มีแนวโน้มที่จะมี *Staphylococcus aureus* ที่ผิวหนังหรือที่มือจำนวนมาก ผิวหนังส่วนอื่นที่พบว่ามี *Staphylococcus aureus* เช่น ช่องจมูก หน้ใบหู เป็นต้น ดังนั้น อาหารที่มีการใช้มือจับต้อง(handle) จะมีโอกาสที่จะมี *Staphylococcus aureus* ได้

Staphylococcus aureus บางชนิดมีที่มาจากตัวสัตว์เอง เช่น *Staphylococcus aureus* biotype B, C, D, และ E พบว่าขนมอบ เนื้อวัว ไส้กรอกสุกร อาหารทะเล และเนื้อไก่ดิบ มีอุบัติการณ์ของ *Staphylococcus aureus* ในอัตราร้อยละ 10, 16, 33, 38 และ 41-84 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังมีการสำรวจเพิ่มเติมพบ *Staphylococcus aureus* ที่ผิวหนังของสัตว์ปีกที่แข็งแรงในระดับที่ไม่มากนัก ประมาณไม่เกิน 100 เซลล์ต่อกรัม แต่จำนวน *Staphylococcus aureus* กลับเพิ่มมากขึ้นเมื่อสำรวจ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อไก่ที่ได้จากซากไก่ผ่านกระบวนการเชือดในโรงงาน ดังนั้น อาหารประเภทเนื้อสัตว์จะมี *Staphylococcus aureus* บางส่วนจากตัวสัตว์เองและบางส่วนจากมือคนที่จับต้อง แต่เฉพาะ *Staphylococcus aureus* ที่มาจากคนเท่านั้นที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษได้ จะสังเกตได้ว่า แหล่งที่มาสำคัญของ *Staphylococcus aureus* นั้นมิได้มาจากตัวสัตว์เอง แต่แหล่งที่มากลับมาจากกระบวนการผลิตหรือแปรรูปเนื้อสัตว์ในโรงงาน ทั้งนี้เหตุผลสำคัญหนึ่งคือ *Staphylococcus aureus* มีความทนทานต่อความแห้งหรือระดับน้ำใช้ได้ดีต่ำมาก ประมาณ 0.85 และทนต่อคลอรีนได้ดี ทำให้ *Staphylococcus aureus* คงตัวอยู่ในสิ่งแวดล้อมและก่อให้เกิดการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) จากอุปกรณ์ไปยังเนื้อสัตว์ได้ง่าย

สถานการณ์ที่เกิดขึ้นบ่อยๆเท่าที่ผ่านมา(classical situation) คือ การเตรียมอาหารที่มีการสัมผัสโดยตรงกับมือและไม่มีการแช่เย็นเป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง อาหารหลายชนิดเหมาะที่ *Staphylococcus aureus* จะเจริญเติบโตได้แต่ที่เจริญเติบโตได้ดีมากคือ อาหารที่มีไขมัน(เชื้อสร้าง lipase ย่อยไขมันได้) และกรณีนี้

อาหารมีเชื้อคู่แข่งน้อย เช่น ผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์หรืออาหารเค็ม จุลินทรีย์ไม่เจริญเติบโตในอาหารที่เป็นกรด เช่น mayonnaise แต่สามารถเจริญเติบโตได้เมื่อมีการเจือจางกรดโดยอาหารประเภทอื่น เช่น แยมหรือทูน่า การให้ความร้อนซ้ำอีกครั้งจะไม่ทำลายพิษ เพราะ enterotoxin ของ *Staphylococcus aureus* ทนต่อความร้อนมาก(extremely heat stable)

แม้ว่าผู้เตรียมอาหารที่มีเซลล์ *Staphylococcus aureus* เริ่มต้นจำนวนมากที่ผิวหนังจะเป็นการเพิ่มโอกาสที่จะสร้างพิษจนถึงระดับที่ก่อโรคได้มากขึ้น แต่ว่าผู้เตรียมอาหารที่มีเซลล์ *Staphylococcus aureus* เริ่มต้นจำนวนน้อยก็ยังสามารถปนเปื้อนจุลินทรีย์ลงในอาหารได้เช่นกัน เพียงแต่อาจจะต้องใช้เวลานานขึ้นกว่าเมื่อเทียบกับจำนวนเซลล์เริ่มต้นที่มากกว่าในการสร้างพิษจนถึงระดับที่ก่อโรคได้

การระบาดของ *Staphylococcus aureus* มักจะมีจำนวนผู้ป่วยไม่มากนักประมาณไม่เกิด 10 ราย แต่มีหลายรายงานที่ระบุจำนวนผู้ป่วยจำนวนมากกว่า 100 ราย เช่น การระบาดของ *Staphylococcus aureus* ในอาหารประเภทพาสต้า(pasta) ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* ในไข่ที่แปรรูปที่อุณหภูมิ 30-40°C เนื้อหมัก(salami) เกิดจากการแปรรูปเนื้อ ณ อุณหภูมิสูงกว่าปกติทำให้ *Staphylococcus aureus* เพิ่มจำนวนก่อนที่กรดจากการหมักจะยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* เนยแข็ง เกิดจากการเพิ่มจำนวนของ *Staphylococcus aureus* มากกว่าแบคทีเรียแลคติกในน้ำมัน อาหารกระป๋องที่เป็นเนื้อปลา ผัก เกิดจากการปนเปื้อนในกระป๋องภายหลัง(post contamination)ผ่านความร้อน จากการจับต้องรอยตะเข็บกระป๋องด้วยมือขณะที่กระป๋องยังอุ่นอยู่

อาการของโรคจาก *S.aureus*

(Clinical symptoms)

ปริมาณเชื้อที่คาดว่าจะทำให้ป่วย (infective dose) ประมาณ 5×10^5 เซลล์ โดยมีระยะฟักตัวโรค (incubation period) ประมาณ 1-8 ชั่วโมง แต่ส่วนมากประมาณ 2-4 ชั่วโมง ลักษณะอาการที่พบบ่อยเป็นแบบฉับ คือ อาการคลื่นไส้ (nausea) อาเจียน (vomit) พบร่วมกับอาการปวดท้อง (stomachache) และท้องเสีย (diarrhea) อาการจะนานประมาณ 1-2 วัน อาการของโรคเกิดจากพิษไม่ได้เกิดจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์แบคทีเรีย แต่ว่าจำเป็นจะต้องมีเซลล์ในอาหารจำนวนมากพอที่จะสร้างสารพิษ (exotoxin) ที่ทำให้เกิดโรค *Staphylococcus aureus* แม้จะมีจำนวนสูงถึง 10^9 เซลล์ ก็ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสของอาหาร

หลักการควบคุมและป้องกัน

(Control and prevention)

จุดเริ่มต้นของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก *Staphylococcus aureus* คือ การปนเปื้อน *Staphylococcus aureus* ในอาหาร จากนั้นก็มีการเก็บรักษาหรือแปรรูปอาหาร ณ อุณหภูมิที่ *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญเติบโตได้ในระยะเวลาที่นานเพียงพอ ดังนั้น อุณหภูมิในการแปรรูปหรือการเก็บอาหารที่ปรุงสุกแล้วเป็นกุญแจสำคัญในการควบคุมป้องกัน อาหารที่เตรียมจากการสัมผัสกับมือโดยตรง(ไม่ได้สวมถุงมือ) ควรจะแช่เย็นอาหารนั้นที่อุณหภูมิระหว่าง 0-7°C (32-45°F) หรือเก็บอาหารให้ร้อนอยู่เสมอที่อุณหภูมิสูงกว่า 60°C (140°F) เพื่อเป็นการป้องกัน *Staphylococcus aureus* (mesophile) เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในอาหาร อาหารที่ไม่เป็นกรดที่เตรียมด้วยการสัมผัสกับมือโดยตรง(ไม่ได้สวมถุงมือ) และเก็บที่อุณหภูมิระหว่าง 10-50°C (45-145°F) ให้ถือว่าอาหารนั้นไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค อาหารที่มี Staphylococcal enterotoxin แม้ผ่านความร้อนซ้ำก็มักจะไม่สามารถทำลายสารพิษได้หมด เนื่องจาก SE เป็นสารพิษที่ทนความร้อนได้สูง เช่น D_{120} ในน้ำนม มีค่าประมาณ 20 นาที ในขณะที่ค่า z ประมาณ 29°C การระบาดของ *Staphylococcus aureus* พบได้บ่อยในฤดูร้อน เพราะว่า อุณหภูมิและความร้อนในฤดูร้อนจะช่วยเร่งการเพิ่มจำนวนของ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร

1.4 *Vibrio cholerae*

Vibrio spp. ที่สำคัญอันเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่มักเกี่ยวข้องกับอาหารทะเล มีอยู่ 3 spp. ด้วยกัน คือ *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* โดย *Vibrio cholerae* มักจะเกี่ยวข้องกับปลาและหอยที่จับได้จากเขตทะเลที่มีการปนเปื้อนของสิ่งปนเปื้อนจากชุมชนที่มีการระบาดของเชื้อนี้อยู่ เนื่องจาก *Vibrio cholerae* เป็นเชื้อที่ก่อโรคในคนเท่านั้น ดังนั้น แหล่งที่มาของเชื้อที่สำคัญจึงเกี่ยวข้องกับเขตชุมชนหรือสุขอนามัยส่วนบุคคลของผู้ป่วย ทำให้มีการแพร่กระจายไปสู่สาธารณะโดยอาจจะมีอาหารเป็นสื่อได้ด้วย อาการที่เกิดจาก *Vibrio cholerae* ค่อนข้างจะรุนแรง (อหิวาตกโรค) บางครั้งอาจจะถึงแก่ชีวิตได้ เนื่องจาก การเสียน้ำจากร่างกายเป็นจำนวนมาก ในกรณีของ *Vibrio parahaemolyticus* เกี่ยวข้องกับการบริโภคปลาและหอยแบบดิบหรือกึ่งดิบกึ่งสุก ส่วนการระบาดของ *Vibrio vulnificus* จะเกี่ยวข้องกับการบริโภคหอยแบบดิบ

Vibrio cholerae ชนิดที่มีรายงานการระบาด เช่น serogroup O1 classical Biotype และ El Tor Biotype เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการรายงาน El Tor *V.cholerae* O1 ที่มี *ctxB^C* trait เรียกว่า El Tor variant และ hybrid *V.cholerae* O1 (mix biotypes) ในประเทศไทยด้วย พบได้ในน้ำทะเลชายฝั่ง (coastal water) serotype ส่วนใหญ่ก่อโรคได้ (virulent) โดยบาง serotype อาจจะก่อโรครุนแรงกว่า ยังไม่ชัดเจนว่าทำไมการที่พบจุลินทรีย์นี้อยู่ได้บ่อยแต่กลับพบการระบาด (epidemic) น้อยครั้งมาก อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาด เช่น ปลาดิบ หอยดิบ ปู กุ้ง ผักดิบ น้ำ อาหารที่ล้างด้วยน้ำที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์

โรคที่เกิดจาก *Vibrio cholerae* คือ อหิวาตกโรค (cholera) เป็นรูปแบบอาการที่รุนแรงที่สุดของ gastroenteritis แบคทีเรียผ่านเข้าไปเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในลำไส้ตามด้วยการสร้าง enterotoxin ซึ่งจะผ่านเข้าไปในเซลล์ลำไส้ (enterocyte) enterotoxin จะไปรบกวนลำดับขั้นตอนปฏิกิริยาการควบคุมสมดุลประจุ (ion) และน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ลำไส้ที่ได้รับ enterotoxin เข้าไปจะมีการสร้าง cyclic AMP มากเกินไป โดยที่ cyclic AMP ทำหน้าที่กระตุ้นการขับ (release) เกลือแร่ (electrolyte) ออกจากเซลล์ ตามหลักความดันออสโมติก (osmotic pressure) แล้ว เมื่อมีการเสียเกลือแร่ออกจากเซลล์ก็就会有การขับน้ำตามออกมาจากเซลล์ด้วย ทำให้มีอาการถ่ายเหลว (diarrhea) เชื้อตัวที่รุนแรงมากๆ อาจจะทำให้เสียน้ำได้มากถึง 1 ลิตรต่อชั่วโมงซึ่งผู้ป่วยอาจจะเสียชีวิตได้ถ้าไม่ได้รับน้ำเกลือทางเส้นเลือด (intravenous rehydration)

ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค ประมาณหลายร้อยเซลล์ มีระยะฟักตัวโรค 1-5 วัน แต่ที่พบบ่อยคือประมาณ 2-3 วัน อาการ explosive, potentially fatal dehydrating diarrhea มีระยะเวลาป่วยนานหลายวัน และอัตราการตายสูงถึงร้อยละ 60 ถ้าไม่ได้รับการรักษาอย่างทันที่

การแพร่กระจายและการควบคุม การระบาดอาจเกิดจากน้ำทะเลชายฝั่ง อาหารทะเล เช่น หอย (shellfish) ที่ไม่สุก การดื่มน้ำทะเลชายฝั่งเข้าไปโดยไม่ตั้งใจ ทำให้เกิดการป่วยเป็นรายๆ ทั่วโลก อย่างไรก็ตาม โรคมักจะไม่ระบาดจากคนหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่ง (person-to-person) แต่ถ้าผู้ป่วยเป็นรายๆ เหล่านี้บังเอิญปนเปื้อนจุลินทรีย์ลงในแหล่งน้ำ (water supply) ของชุมชนแล้วจะทำให้เกิดโรคระบาดได้ การแพร่กระจายจุลินทรีย์อาจจะผ่านทางแม่น้ำไกลเป็นระยะทางหลายๆ กิโลเมตร หรือมีการแพร่กระจายระหว่างชุมชนผ่านทางแหล่งน้ำ การควบคุม คือ การสุขาภิบาล การทำน้ำดื่มให้บริสุทธิ์ การปรุงอาหารทะเล (หอย) ให้สุกอย่างทั่วถึง และเพียงพอ

2. การอธิบายอันตราย (Hazard characterization)

2.1 แบบจำลอง Dose-response models ในการอธิบายอันตราย

การอธิบายอันตรายของจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 4 ชนิด มีเนื้อหาเช่นเดียวกับ การอธิบายอันตรายในโครงการย่อยที่ 2 ดังนั้น จึงขอเชื่อมโยงเนื้อหาในหัวข้อ ผลการศึกษา เรื่อง การอธิบายอันตราย (Hazard characterization) ในโครงการย่อยที่ 2

ส่วนที่แตกต่างจากโครงการย่อยที่ 2 คือ ผลการคัดเลือก dose-response model ดังแสดงใน ตาราง 66

ตาราง 66 Dose-response model สำหรับจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาครั้งนี้¹⁴

จุลินทรีย์ก่อโรค (Abbreviation)	DR Model	Parameter	เอกสารอ้างอิง
1. <i>E.coli</i> (EC)	Beta-Poisson	$\alpha = 0.16$ $\beta = 24,400$	DuPont 1971
2. <i>Salmonella</i> spp. (SE)	Beta-Poisson	$\alpha = 0.1324$ $\beta = 51.45$	WHO/FAO 2002
3. <i>Staphylococcus aureus</i> (SA)	Exponential	$r = 7.64 \times 10^{-12}$	Lee et al., 2015
4. <i>Vibrio cholerae</i> (VC)	Exponential	$r = 1.76 \times 10^{-9}$	Cash 1974

2.2 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจากจุลินทรีย์ก่อโรค 4 ชนิด

(Probability of illness: P_i)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA)

¹⁴ DuPont, H.L. et al., 1971. Pathogenesis of Escherichia coli diarrhea. The New England Journal of Medicine, 285(1), pp.1-9.

World Health Organization, 2002. Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens (Vol. 1). World Health Organization.

Lee, H., Kim, K., Choi, K and Yoon, Y. 2015. Quantitative microbial risk assessment for Staphylococcus aureus in natural and processed cheese in Korea. J. Dairy Sci. 98 :5931–5945.

Cash, R.A., Music, S.I., Libonati J.P., Snyder, M.L.m Wenzel, R.P., and Hornick, R.B. 1974. Response of man to infection with Vibrio cholerae. i.Clinical, serological, and bacteriologic responses to a known inoculum. Journal of Infectious Diseases. 129(1):45-52.

และ *Vibrio cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี 6 ภาค (จังหวัด) 3 ฤดูกาล ดังแสดงใน ตาราง 67 โดยคำนวณจาก dose-response models (ตาราง 66) ระดับความเข้มข้นในอาหารริมบาทวิถี (ตาราง 72) ปริมาณการบริโภคอาหารริมบาทวิถี (ภาพ 64)

ตาราง 67 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (Prob. of illness: P_i) จาก 4 จุลินทรีย์ก่อโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี

ภาค (จังหวัด)	จุลินทรีย์ก่อโรค	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพฯ)	<i>E.coli</i>	9.7×10^{-7}	1.9×10^{-6}	1.9×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	3.8×10^{-4}	3.8×10^{-4}	3.8×10^{-4}
	<i>S.aureus</i>	1.1×10^{-12}	3.4×10^{-12}	1.1×10^{-12}
	<i>V.cholerae</i>	2.6×10^{-10}	2.6×10^{-10}	2.6×10^{-10}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	<i>E.coli</i>	1.9×10^{-6}	5.8×10^{-6}	1.9×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}
	<i>S.aureus</i>	2.2×10^{-12}	2.2×10^{-12}	2.2×10^{-12}
	<i>V.cholerae</i>	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}
ตะวันออก (ชลบุรี)	<i>E.coli</i>	1.9×10^{-6}	3.9×10^{-6}	7.7×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}
	<i>S.aureus</i>	2.2×10^{-12}	2.2×10^{-12}	2.2×10^{-12}
	<i>V.cholerae</i>	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	<i>E.coli</i>	5.8×10^{-6}	3.9×10^{-6}	1.5×10^{-5}
	<i>Salmonella</i>	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}	5.2×10^{-3}
	<i>S.aureus</i>	4.5×10^{-12}	2.2×10^{-12}	1.3×10^{-11}
	<i>V.cholerae</i>	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	<i>E.coli</i>	7.7×10^{-6}	3.9×10^{-6}	1.9×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}
	<i>S.aureus</i>	4.5×10^{-12}	2.2×10^{-12}	2.0×10^{-11}
	<i>V.cholerae</i>	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}
เหนือ (เชียงใหม่ S1 นครสวรรค์ S2S3)	<i>E.coli</i>	1.9×10^{-6}	5.8×10^{-6}	3.9×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-4}	5.9×10^{-3}
	<i>S.aureus</i>	2.2×10^{-12}	9.0×10^{-12}	1.8×10^{-11}
	<i>V.cholerae</i>	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}	5.2×10^{-10}

เกณฑ์ประเมิน (Evaluation criteria)

ความน่าจะเป็น (probability) หรือ โอกาส (likelihood) ในรูปของค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) สามารถจำแนกตามระดับความมากน้อยตามเกณฑ์ที่แนะนำโดยหน่วยงานความปลอดภัยชีวภาพของประเทศออสเตรเลีย (Biosecurity Australia, 2006) ตาราง 68

ตาราง 68 เกณฑ์ประเมินระดับความน่าจะเป็น โอกาส หรือ ความเสี่ยง

ความน่าจะเป็น โอกาส หรือความเสี่ยง (percent)	ระดับประเมิน (Evaluation level)
> 0.7 (70%)	สูง (High)
> 0.3 - 0.7 (30%-70%)	ปานกลาง (Moderate)
> 0.05 - 0.3 (5%-30%)	ต่ำ (Low)
> 0.001 - 0.05	ต่ำมาก (Very low)
> 10^{-6} - 0.001	ต่ำอย่างมาก (Extremely low)
< 10^{-6}	ละเลยได้ (Negligible)

2.3 การแปลผล (Interpretation)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (probability of illness) หมายถึง โอกาสในการเจ็บป่วยจากการได้รับจำนวนเซลล์ (dose) ของแบคทีเรียก่อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย *E.coli* ที่ปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถี เท่ากับ 9.7×10^{-7} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 68 แล้วจัดอยู่ในระดับ ละเลยได้ (Negligible)

ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจาก *E.coli* 9.7×10^{-7} หมายความว่า
ปัจเจกบุคคลบริโภคอาหารริมบาทวิถีเฉลี่ย 123.78 กรัม/วัน ที่มี *E.coli* เฉลี่ย 0.12378 เซลล์ (0.001 cfu/g x 123.78 g)

- จำนวน 10^7 วัน จะมีโอกาสเจ็บป่วยจาก *E.coli* เพียง 9.7 วัน (ครั้ง)
หรือ
- จำนวน 2.7×10^4 ปี จะมีโอกาสเจ็บป่วยจาก *E.coli* เพียง 9.7 วัน (ครั้ง)

3. การประเมินการสัมผัส (Exposure assessment)

3.1 การเก็บตัวอย่าง

พื้นที่เก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี 6 จังหวัดตัวแทนของ 6 ภาคทั่วประเทศ ประกอบด้วย กลาง (กรุงเทพ) ภาคตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์) ภาคตะวันออก (ชลบุรี) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น) ภาคใต้ (ภูเก็ต, สุราษฎร์ธานี) และ ภาคเหนือ (เชียงใหม่) ดำเนินการเก็บตัวอย่างซ้ำ 3 ฤดู เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงของฤดูกาล รวม 630 ตัวอย่าง

ลักษณะตัวอย่างที่เก็บ แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. อาหารริมบาทวิถี 2 ประเภท คือ คูหาและหาบเร่แผงลอย จำนวน 420 ตัวอย่าง
2. Swab พื้นผิวที่สัมผัสอาหาร จำนวน 210 ตัวอย่าง ตาราง 69

ตาราง 69 จำนวนตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab) 3 ฤดูกาล 6 ภาค ($n = 630$)

ภาค	Season 1		Season 2		Season 3		รวม (รายจังหวัด)	
	อาหาร	พื้นผิว	อาหาร	พื้นผิว	อาหาร	พื้นผิว	อาหาร	พื้นผิว
	(Food)	(Swab)	(Food)	(Swab)	(Food)	(Swab)	(Food)	(Swab)
กลาง	40	20	40	20	40	20	120	60
ตะวันตก	20	10	20	10	20	10	60	30
ตะวันออก	20	10	20	10	20	10	60	30
ตะวันออกเฉียงเหนือ	20	10	20	10	20	10	60	30
ใต้	20	10	20	10	20	10	60	30
เหนือ	20	10	20	10	20	10	60	30
รวม (ชนิดตัวอย่าง)							420	210

3.2 พื้นที่การเก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศ

1. กรุงเทพฯ : ถนนเยาวราช เขตสัมพันธวงศ์
2. กระจวบคีรีขันธ์ : ตลาดโต้รุ่งหัวหิน
3. ชลบุรี : จอมเทียน ไนท์ มาร์เก็ต พัทยา
4. ขอนแก่น : ถนนคนเดินขอนแก่น
5. ภูเก็ต : Phuket walking street (ตลาดใหญ่)
6. เชียงใหม่ : ถนนคนเดินประตูเมือง

ผลการวิเคราะห์การปนเปื้อน *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) ในอาหารริมบาทวิถีและพื้นผิวสัมผัสที่มีการปนเปื้อนอย่างน้อย 1 ชนิดจุลินทรีย์ก่อโรคใน 3 ฤดูกาล ใน 6 จังหวัดทั่วประเทศ ดังแสดงใน ตาราง 70

ตาราง 70 จำนวนตัวอย่างอาหารและพื้นผิวสัมผัสที่มีการปนเปื้อนอย่างน้อย 1 ชนิดจุลินทรีย์ก่อโรค

ภาค (จังหวัด)	Season 1		Season 2		Season 3		Province Mean	
	Food	Swab	Food	Swab	Food	Swab	Food	Swab
กลาง (กรุงเทพ)	0/40	0/20	3/40	0/20	1/40	0/20	4/120 (3.3%)	0/60 (0%)
							4/180 (2.2%)	
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	0/20	0/10	2/20	1/10	0/20	1/10	2/60 (3.3%)	2/30 (6.7%)
							4/90 (4.4%)	
ตะวันออก (ชลบุรี)	0/20	0/10	1/20	0/10	2/20	0/10	3/60 (5%)	0/30 (0%)
							3/90 (3.3%)	
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	1/20	1/10	1/20	0/10	5/20	1/10	7/60 (11.7%)	2/30 (6.7%)
							9/90 (10.0%)	
ใต้ (ภูเก็ต, สุราษฎร์ธานี)	4/20	0/10	2/20	1/10	3/20	0/10	9/60 (15%)	1/30 (3.3%)
							10/90 (11.1)	
เหนือ (เชียงใหม่)	0/20	0/10	4/20	0/10	9/20	0/10	13/60 (21.7%)	0/30 (0%)
							13/90 (14.4%)	
Seasonal Mean	5/140	1/70	13/140	2/70	20/140	2/70	38/420	5/210
	3.8%	1.4%	9.3%	2.9%	14.3%	2.9%	9.0%	2.4%
	6/210 (2.9%)		15/210 (7.1%)		22/210 (10.5%)		43/630 (6.7%)	

การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab) ใน 3 ฤดูกาล ใน 6 จังหวัดทั่วประเทศ พบว่า

1. สัดส่วนการปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถี (ร้อยละ 9.0) สูงกว่าการปนเปื้อนในพื้นที่ผิวสัมผัส (ร้อยละ 2.4) ประมาณ 3 เท่า เมื่อเฉลี่ยรวมทั้งหมดมีสัดส่วนการปนเปื้อนประมาณ ร้อยละ 6.7
2. สัดส่วนการปนเปื้อนรายจังหวัดเรียงลำดับจากน้อยไปมาก คือ กรุงเทพฯ ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ขอนแก่น ภูเก็ต และ เชียงใหม่
3. สัดส่วนการปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงหรือขึ้นอยู่กับฤดูกาล เนื่องจาก สัดส่วนการปนเปื้อนทยอยเพิ่มขึ้นจาก ร้อยละ 2.9 เป็น ร้อยละ 6.7 และ ร้อยละ 10.5 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในฤดูกาลสุดท้าย เป็นการเก็บตัวอย่างหลังจากช่วงการ lockdown การระบาดของโรค ซึ่งอาจจะส่งผลต่อการปนเปื้อนมากกว่าผลของฤดูกาล

3.3 ระดับการปนเปื้อน 4 จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี

(Prevalence and Concentration of pathogens)

รายงานระดับการปนเปื้อน *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) คือ สัดส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวก (No. of positive samples) ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) และ ความเข้มข้น (Concentration)

3.4 ความชุก (Prevalence)

ความชุกของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ สามารถรายงานได้ 2 ลักษณะ คือ

1. ความชุกแน่นอน (deterministic prevalence) คำนวณความชุกโดยอนุมานว่า ความชุกมีค่าเดียวที่ดีที่สุดแน่นอนเพียงค่าเดียว (point estimate) โดยไม่ได้คำนึงถึง uncertainty และ variability ของตัวแปรสุ่ม (random variable) ไม่ใช่ในการศึกษารั้งนี้

2. ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (probabilistic prevalence) คำนวณความชุกโดยผนวกความไม่แน่นอนของตัวแปรสุ่ม (random variable) ในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น ใช้ในการศึกษารั้งนี้

ความชุกของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยทั่วไปแล้วนิยมใช้ร้อยละของการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคต่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ เรียกว่า ความชุกแน่นอน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการประเมินความเสี่ยงมีความเกี่ยวข้องกับความไม่แน่นอน ดังนั้นจึงนิยมใช้การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ในการอธิบายความไม่แน่นอน

ของความชุก โดยทั่วไปแล้วการอธิบายความไม่แน่นอนของความชุกจะใช้ Beta distribution Beta(α_1 , α_2) (Vose, 1998)

โดยที่ α_1 คือ $s + 1$

α_2 คือ $n - s + 1$

n คือ จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ (trial)

s คือ จำนวนตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* spp. ($s = \text{success}$)

นอกจากนี้ ค่าคาดหวัง (expected value) หรือ ค่าเฉลี่ยของ Beta distribution จะใช้สูตร

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2} \quad (3)$$

ตัวอย่างที่ 1 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 30 ตัวอย่าง ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคเลย ความชุกเฉลี่ยของจุลินทรีย์ก่อโรค

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 30 ตัวอย่าง หรือ $n = 30$

จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก 0 ตัวอย่าง หรือ $s = 0$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{0+1}{30+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = 1/32 = 0.03125 \text{ หรือ ประมาณร้อยละ } 3$$

ดังนั้น แม้ว่าจะตรวจไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างที่ตรวจ ($s = 0$) แต่ mean prevalence ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจาก Beta distribution ก็ให้ค่าเฉลี่ยความชุกที่ไม่เป็นศูนย์

ในทางตรงกันข้าม การคำนวณความชุกทางระบาดวิทยา จะเป็นสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก ต่อจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด คือ $s = 0$ และ $n = 30$ ดังนั้น ความชุกที่ได้จึงเป็น ร้อยละ 0

ตัวอย่างที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 3,000 ตัวอย่าง ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคเลย ความชุกเฉลี่ยของจุลินทรีย์ก่อโรค

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 3,000 ตัวอย่าง หรือ $n = 3,000$

จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก 0 ตัวอย่าง หรือ $s = 0$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{s+1}{n+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = \frac{0+1}{3,000+2}$$

$$\text{Mean Prevalence} = 1/3,002 = 0.000333 \text{ หรือ ประมาณร้อยละ } 0.03$$

ในตัวอย่างที่ 2 จำนวนตัวอย่างที่ตรวจมีจำนวนมากกว่าตัวอย่างที่ 1 ถึง 100 เท่า กล่าวคือ $n = 3,000$ ในขณะที่ ตรวจไม่พบการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างที่ตรวจ ($s = 0$) เช่นเดียวกัน โดย mean prevalence ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยจาก Beta distribution ก็ให้ค่าเฉลี่ยความชุกที่ไม่เป็นศูนย์เช่นเดียวกัน เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อจำนวนตัวอย่างที่ตรวจมีจำนวนมากขึ้น และ $s = 0$ เหมือนเดิม ความชุกเฉลี่ยจะมีค่าที่เข้าใกล้ศูนย์ ซึ่งเป็นความชุกที่ได้จากการคำนวณความชุกทางระบาดวิทยา

โดยที่ความชุกทางระบาดวิทยา คือ สัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด คือ $s = 0$ และในตัวอย่างที่ 2 มี $n = 3,000$ ดังนั้น ความชุกที่ได้จึงเป็น ร้อยละ 0 ไม่แตกต่างจากความชุกเมื่อมีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจเพียง 30 ตัวอย่าง

ตาราง 71 ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (Probabilistic prevalence) ของ 4 จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถีใน 6 จังหวัด 3 ฤดูกาล

ภาค (จังหวัด)	จุลินทรีย์ก่อโรค	Season 1			Season 2			Season 3		
		s	n	P_{PROB}	s	n	P_{PROB}	s	n	P_{PROB}
กลาง (กรุงเทพ)	<i>E.coli</i>	0	40	2.4%	1	40	4.8%	1	40	4.8%
	<i>Salmonella</i>	0	40	2.4%	0	40	2.4%	0	40	2.4%
	<i>S.aureus</i>	0	40	2.4%	2	40	7.1%	0	40	2.4%
	<i>V.cholerae</i>	0	40	2.4%	0	40	2.4%	0	40	2.4%
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	<i>E.coli</i>	0	20	4.5%	2	20	13.6%	0	20	4.5%
	<i>Salmonella</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
	<i>S.aureus</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
	<i>V.cholerae</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
ตะวันออก (ชลบุรี)	<i>E.coli</i>	0	20	4.5%	1	20	9.1%	3	20	18.2%
	<i>Salmonella</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
	<i>S.aureus</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
	<i>V.cholerae</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	<i>E.coli</i>	2	20	13.6%	1	20	9.1%	7	20	36.4%
	<i>Salmonella</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	6	20	31.8%
	<i>S.aureus</i>	1	20	9.1%	0	20	4.5%	5	20	27.3%
	<i>V.cholerae</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	<i>E.coli</i>	3	20	18.2%	1	20	9.1%	0	20	4.5%
	<i>Salmonella</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
	<i>S.aureus</i>	1	20	9.1%	0	20	4.5%	8	20	40.9%
	<i>V.cholerae</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%
เหนือ (เชียงใหม่)	<i>E.coli</i>	0	20	4.5%	2	20	13.6%	1	20	9.1%
	<i>Salmonella</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	7	20	36.4%
	<i>S.aureus</i>	0	20	4.5%	3	20	18.2%	7	20	36.4%
	<i>V.cholerae</i>	0	20	4.5%	0	20	4.5%	0	20	4.5%

3.5 ความเข้มข้น (Concentration)

ระดับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ คำนวณจากค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนจากจำนวนตัวอย่างในผลิตภัณฑ์ โดยการวิเคราะห์ความเข้มข้นเพื่อใช้ในการคำนวณความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส แบ่งได้เป็น 2 กรณี คือ

1. กรณีการปนเปื้อนทั่วไป

ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นจุลินทรีย์ในตัวอย่าง จะรายงานเป็นจำนวนจุลินทรีย์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งอาจจะรายงานในระบบตัวเลขปกติ เช่น 1,000 cfu/g หรือ รายงานในระบบเลขยกกำลัง เช่น 10^3 cfu/g ซึ่งเท่ากับ $3 \log$ cfu/g

2. กรณีที่ไม่มีการปนเปื้อน

ในกรณีที่ไม่มี การปนเปื้อนของเชื้อในตัวอย่าง ไม่ได้หมายความว่า ประชากรที่ต้องการอนุมานจะไม่มี การปนเปื้อน เนื่องจากการสุ่มตัวอย่าง อาจจะไม่พบได้

อย่างไรก็ตาม การคำนวณความเข้มข้นจะใช้วิธี maximum likelihood estimator (MLE) (Alali, Mann, & Beuchat, 2012; Haas et al., 1999)

$$C = \frac{\sum_{i=1}^k N_i}{\sum_{i=1}^k V_i}$$

โดย C = ความเข้มข้นของ *S. suis* ในผลิตภัณฑ์ (g^{-1})

N_i = จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก ตัวอย่างที่ i ถึง k

V_i = analytical unit ของผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์ในตัวอย่างที่ i ถึง k

k = จำนวนตัวอย่างผลิตภัณฑ์ต่อฤดูกาล

ยกตัวอย่างเช่น การตรวจวิเคราะห์ที่ไม่พบเชื้อในตัวอย่างปริมาณ 25 กรัม จะรายงานความเข้มข้นเป็น น้อยกว่า $1/25$ cfu/g หรือ < 0.04 cfu/g โดยในการคำนวณจะใช้ค่า 0.04 cfu/g ในการคำนวณ

ตาราง 72 ความเข้มข้น (Concentration) ของ 4 จุลินทรีย์ก่อโรค (g^{-1}) ในอาหารริมบาทวิถีใน 6 จังหวัด 3 ฤดูกาล

ภาค (จังหวัด)	จุลินทรีย์ก่อโรค	Season 1			Season 2			Season 3		
		s	n	C	s	n	C	s	n	C
กลาง (กรุงเทพ)	<i>E.coli</i>	0	40	0.001	1	40	0.002	1	40	0.002
	<i>Salmonella</i>	0	40	0.001	0	40	0.001	0	40	0.001
	<i>S.aureus</i>	0	40	0.001	2	40	0.003	0	40	0.001
	<i>V.cholerae</i>	0	40	0.001	0	40	0.001	0	40	0.001
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	<i>E.coli</i>	0	20	0.002	2	20	0.006	0	20	0.002
	<i>Salmonella</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
	<i>S.aureus</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
	<i>V.cholerae</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
ตะวันออก (ชลบุรี)	<i>E.coli</i>	0	20	0.002	1	20	0.004	3	20	0.008
	<i>Salmonella</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
	<i>S.aureus</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
	<i>V.cholerae</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	<i>E.coli</i>	2	20	0.006	1	20	0.004	7	20	0.016
	<i>Salmonella</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	6	20	0.014
	<i>S.aureus</i>	1	20	0.004	0	20	0.002	5	20	0.012
	<i>V.cholerae</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	<i>E.coli</i>	3	20	0.008	1	20	0.004	0	20	0.002
	<i>Salmonella</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
	<i>S.aureus</i>	1	20	0.004	0	20	0.002	8	20	0.018
	<i>V.cholerae</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002
เหนือ (เชียงใหม่)	<i>E.coli</i>	0	20	0.002	2	20	0.006	1	20	0.004
	<i>Salmonella</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	7	20	0.016
	<i>S.aureus</i>	0	20	0.002	3	20	0.008	7	20	0.016
	<i>V.cholerae</i>	0	20	0.002	0	20	0.002	0	20	0.002

3.6 ปริมาณการบริโภคอาหารริมบาทวิถีของประชากรไทย

(Street food consumption)

ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (Food consumption data of Thailand) โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) พ.ศ. 2559 ไม่มีรายงานการบริโภคอาหารริมบาทวิถี อย่างไรก็ตาม ได้เลือกใช้อุณหภูมิจากค่าเฉลี่ยฟาสต์ฟู้ดส์แบบตะวันตกของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 123.78 กรัม/คน/วัน และ 97.5 percentile 194 กรัม/คน/วัน (ใช้เป็น ค่า maximum ใน Triangular distribution) ดัง ภาพ 64



ตารางที่ 4.11 ค่าเฉลี่ยและค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคเฉพาะผู้ที่บริโภค (eater only) อายุ 3 ปีขึ้นไป

ลำดับ	อาหาร	ลักษณะอาหาร	ค่าเฉลี่ย			ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5		
			ชาย	หญิง	รวมเพศ	ชาย	หญิง	รวมเพศ
1.3	ฟาสต์ฟู้ดส์แบบตะวันตก (กรัม/คนที่บริโภค/วัน)							
1	เบอร์เกอร์หมู เบอร์เกอร์ไก่ เบอร์เกอร์ปลา	พร้อมบริโภค	128.89	118.10	123.78	194.00	194.00	194.00
2	хотดอก	พร้อมบริโภค	94.57	86.94	90.46	100.00	100.00	100.00
3	แซนด์วิช	พร้อมบริโภค	66.15	63.13	64.40	113.00	113.00	113.00
4	พิซซ่า	พร้อมบริโภค	107.59	104.86	105.98	216.00	216.00	216.00

ภาพ 64 ค่าเฉลี่ยการบริโภคอาหารริมบาทวิถี อนุมานจากข้อมูลฟาสต์ฟู้ดส์แบบตะวันตกของประชากรไทยอายุ 3 ปีขึ้นไป 123.78 กรัม/คน/วัน

3.7 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส 4 จุลินทรีย์ก่อโรค

(Probability of exposure)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) คำนวณจาก ความชุกเชิงความน่าจะเป็น (ตาราง 71) ความเข้มข้น (ตาราง 72) และ ปริมาณการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ภาพ 64 ดังแสดงใน ตาราง 73

ตาราง 73 ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Prob. of exposure) จาก *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี

ภาค (จังหวัด)	จุลินทรีย์ก่อโรค	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	<i>E.coli</i>	3.3×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>Salmonella</i>	3.3×10^{-3}	3.3×10^{-3}	3.3×10^{-3}
	<i>S.aureus</i>	3.3×10^{-3}	2.5×10^{-2}	3.3×10^{-3}
	<i>V.cholerae</i>	3.3×10^{-3}	3.3×10^{-3}	3.3×10^{-3}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	<i>E.coli</i>	1.2×10^{-2}	8.0×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>Salmonella</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>S.aureus</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>V.cholerae</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
ตะวันออก (ชลบุรี)	<i>E.coli</i>	1.2×10^{-2}	4.0×10^{-2}	1.3×10^{-1}
	<i>Salmonella</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>S.aureus</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>V.cholerae</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	<i>E.coli</i>	8.0×10^{-2}	4.0×10^{-2}	3.3×10^{-1}
	<i>Salmonella</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	2.8×10^{-1}
	<i>S.aureus</i>	4.0×10^{-2}	1.2×10^{-2}	2.3×10^{-1}
	<i>V.cholerae</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	<i>E.coli</i>	1.3×10^{-1}	4.0×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>Salmonella</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
	<i>S.aureus</i>	4.0×10^{-2}	1.2×10^{-2}	3.8×10^{-1}
	<i>V.cholerae</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}
เหนือ (เชียงใหม่)	<i>E.coli</i>	1.2×10^{-2}	8.0×10^{-2}	4.0×10^{-2}
	<i>Salmonella</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	3.3×10^{-1}
	<i>S.aureus</i>	1.2×10^{-2}	1.3×10^{-1}	3.3×10^{-1}
	<i>V.cholerae</i>	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.2×10^{-2}

การแปลผล (Interpretation)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (probability of exposure) หมายถึง โอกาสในการได้รับสัมผัสหรือรับเอาอันตรายเข้าสู่ร่างกายอย่างน้อย 1 เซลล์ ต่อวัน

ผลการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *E.coli* ที่ปนเปื้อนอาหารริมบาทวิถี 3.3×10^{-3} โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ประเมินความน่าจะเป็น ดัง ตาราง 68 จัดอยู่ในระดับ ต่ำอย่างมาก (Extremely low)

ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส *E.coli* $3.3 \times 10^{-3} = 0.0033 = 0.33 \%$ หมายความว่า

ปัจเจกบุคคลบริโภคอาหารริมบาทวิถี 123.78 กรัม/วัน

- จำนวน 10,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *E.coli* ปนเปื้อนอาหารริมบาทวิถี 33 วัน เทียบเท่ากับ
- จำนวน 1,000 วัน จะมีโอกาสในการรับสัมผัส *E.coli* ปนเปื้อนอาหารริมบาทวิถี 3.3 วัน

4. การอธิบายความเสี่ยง (Risk Characterization)

การอธิบายความเสี่ยงเป็นการบูรณาการผลที่ได้จาก 2 ขั้นตอน คือ การอธิบายอันตราย (dose-response assessment หรือ hazard characterization) และ การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) คือ ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (Probability of illness: P) ตาราง 67 และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (Probability of exposure: P_E) ตาราง 73 เข้าด้วยกัน โดยพิจารณาเป็นการเกิด 2 เหตุการณ์ต่อเนื่องกันและเป็นอิสระต่อกัน (independent events) จึงนำความน่าจะเป็นทั้ง 2 ค่า มาคูณกัน ก็จะได้ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate)

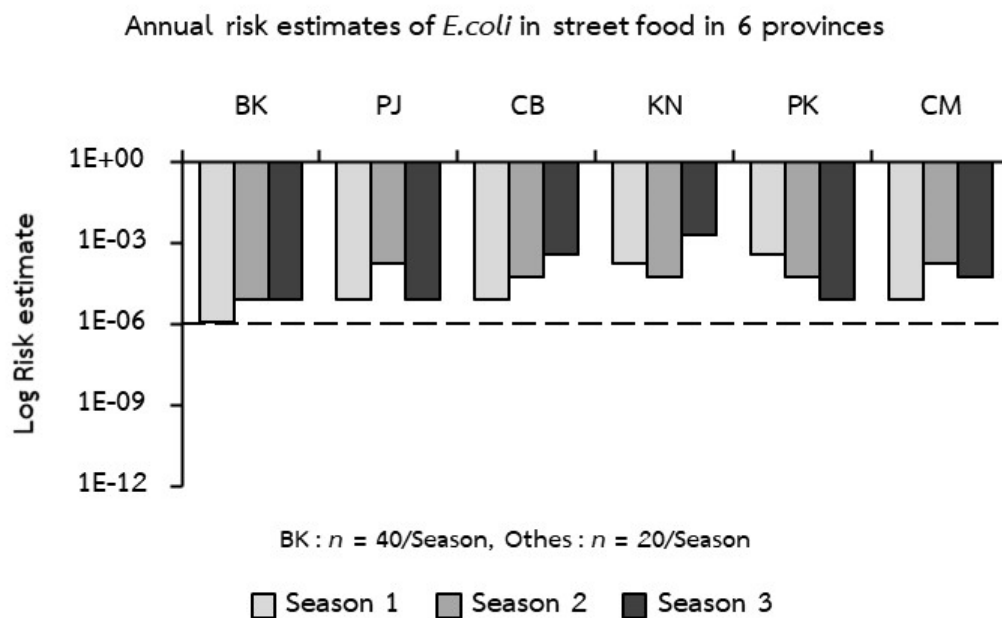
4.1 ค่าประมาณความเสี่ยงจาก 4 จุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี

(Annual risk estimate)

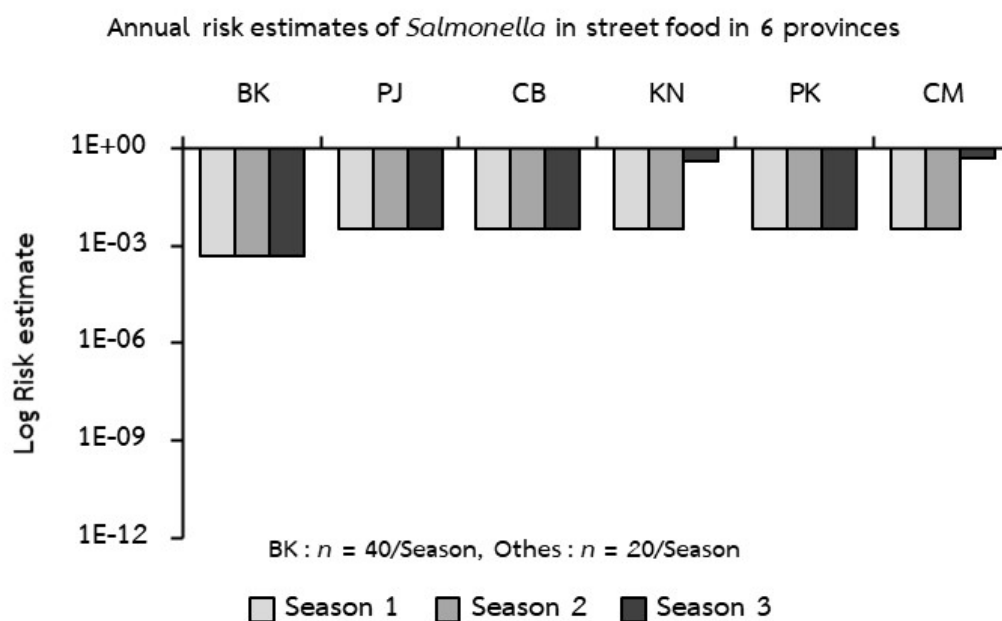
ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) ที่ปนเปื้อนจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี คำนวณจาก ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วย (P) และ ความน่าจะเป็นในการรับสัมผัส (P_E) ดังแสดงใน ตาราง 74 และ ภาพ 65 ถึง ภาพ 68 และ รายงานเป็นอัตราการเจ็บป่วยรายปี (Annual risk rate) ในหน่วย สัดส่วนผู้ป่วยต่อแสนคนต่อปี เพื่อให้สอดคล้องกับการรายงานของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ดังแสดงใน ตาราง 75

ตาราง 74 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก 4 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี

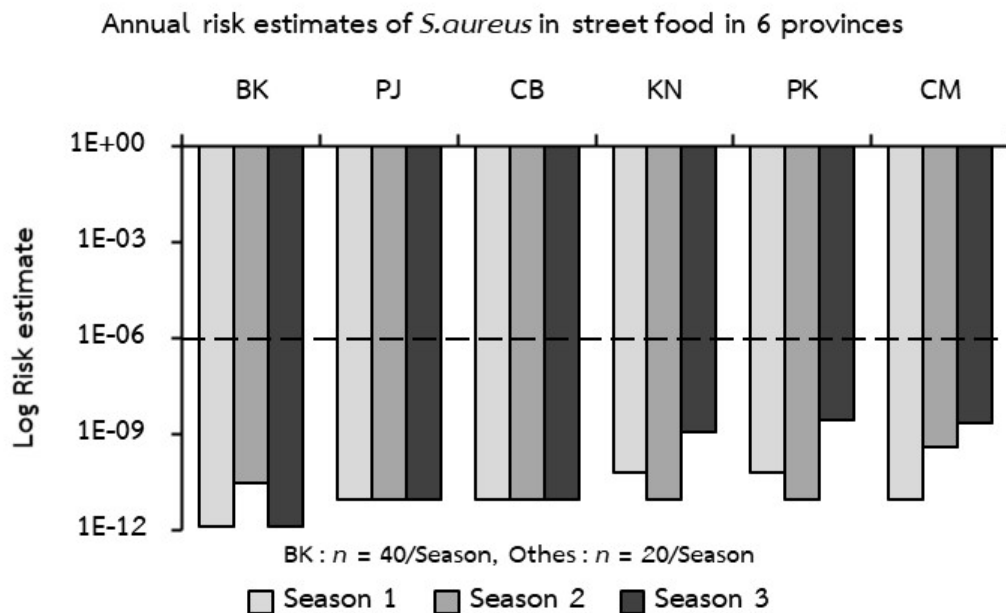
ภาค (จังหวัด)	จุลินทรีย์ก่อโรค	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	<i>E.coli</i>	1.1×10^{-6}	8.6×10^{-6}	8.6×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	4.5×10^{-4}	4.5×10^{-4}	4.5×10^{-4}
	<i>S.aureus</i>	1.3×10^{-12}	3.1×10^{-11}	1.3×10^{-12}
	<i>V.cholerae</i>	3.1×10^{-10}	3.1×10^{-10}	3.1×10^{-10}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	<i>E.coli</i>	8.2×10^{-6}	1.7×10^{-4}	8.2×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}
	<i>S.aureus</i>	9.5×10^{-12}	9.5×10^{-12}	9.5×10^{-12}
	<i>V.cholerae</i>	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}
ตะวันออก (ชลบุรี)	<i>E.coli</i>	8.2×10^{-6}	5.7×10^{-5}	3.5×10^{-4}
	<i>Salmonella</i>	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}
	<i>S.aureus</i>	9.5×10^{-12}	9.5×10^{-12}	9.5×10^{-12}
	<i>V.cholerae</i>	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	<i>E.coli</i>	1.7×10^{-4}	5.7×10^{-5}	1.9×10^{-3}
	<i>Salmonella</i>	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}	4.1×10^{-1}
	<i>S.aureus</i>	6.6×10^{-11}	9.5×10^{-12}	1.1×10^{-9}
	<i>V.cholerae</i>	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	<i>E.coli</i>	3.5×10^{-4}	5.7×10^{-5}	8.2×10^{-6}
	<i>Salmonella</i>	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}
	<i>S.aureus</i>	6.6×10^{-11}	9.5×10^{-12}	2.8×10^{-9}
	<i>V.cholerae</i>	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}
เหนือ (เชียงใหม่)	<i>E.coli</i>	8.2×10^{-6}	1.7×10^{-4}	5.7×10^{-5}
	<i>Salmonella</i>	3.2×10^{-3}	3.2×10^{-3}	5.1×10^{-1}
	<i>S.aureus</i>	9.5×10^{-12}	4.1×10^{-10}	2.2×10^{-9}
	<i>V.cholerae</i>	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}	2.2×10^{-9}



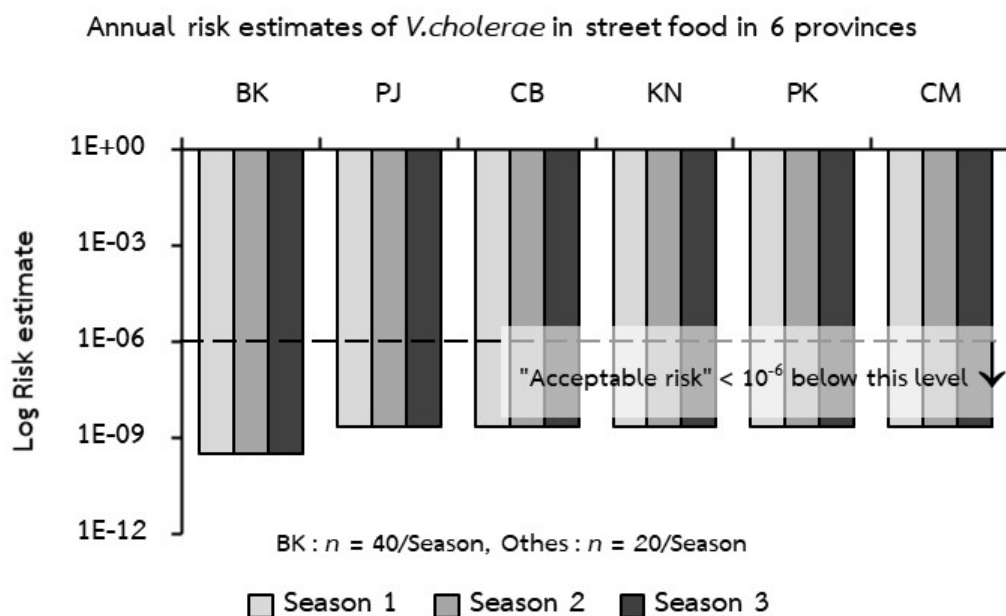
ภาพ 65 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* (EC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3



ภาพ 66 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* spp. (SE) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3



ภาพ 67 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Staphylococcus aureus* (SA) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3



ภาพ 68 ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1-3

ตาราง 75 อัตราการเจ็บป่วยรายปี (หน่วย: คน/แสนคน/ปี) (Annual risk rate) จาก 4 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคจากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี

ภาค (จังหวัด)	จุลินทรีย์ก่อโรค	Season 1	Season 2	Season 3
กลาง (กรุงเทพ)	<i>E.coli</i>	1×10^{-1}	9×10^{-1}	9×10^{-1}
	<i>Salmonella</i>	40	40	40
	<i>S.aureus</i>	1×10^{-7}	3×10^{-6}	1×10^{-7}
	<i>V.cholerae</i>	3×10^{-5}	3×10^{-5}	3×10^{-5}
ตะวันตก (ประจวบคีรีขันธ์)	<i>E.coli</i>	8×10^{-1}	20	8×10^{-1}
	<i>Salmonella</i>	3×10^2	3×10^2	3×10^2
	<i>S.aureus</i>	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}
	<i>V.cholerae</i>	2×10^{-4}	2×10^{-4}	2×10^{-4}
ตะวันออก (ชลบุรี)	<i>E.coli</i>	8×10^{-1}	6	40
	<i>Salmonella</i>	3×10^2	3×10^2	3×10^2
	<i>S.aureus</i>	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}
	<i>V.cholerae</i>	2×10^{-4}	2×10^{-4}	2×10^{-4}
ตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น)	<i>E.coli</i>	20	6	2×10^2
	<i>Salmonella</i>	3×10^2	3×10^2	4×10^4
	<i>S.aureus</i>	7×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-4}
	<i>V.cholerae</i>	2×10^{-4}	2×10^{-4}	2×10^{-4}
ใต้ (ภูเก็ต S1, S2 สุราษฎร์ธานี S3)	<i>E.coli</i>	40	6	8×10^{-1}
	<i>Salmonella</i>	3×10^2	3×10^2	3×10^2
	<i>S.aureus</i>	7×10^{-6}	1×10^{-6}	3×10^{-4}
	<i>V.cholerae</i>	2×10^{-4}	2×10^{-4}	2×10^{-4}
เหนือ (เชียงใหม่)	<i>E.coli</i>	8×10^{-1}	20	6
	<i>Salmonella</i>	3×10^2	3×10^2	5×10^4
	<i>S.aureus</i>	1×10^{-6}	4×10^{-5}	2×10^{-4}
	<i>V.cholerae</i>	2×10^{-4}	2×10^{-4}	2×10^{-4}

4.2 การแปลผล (Interpretation)

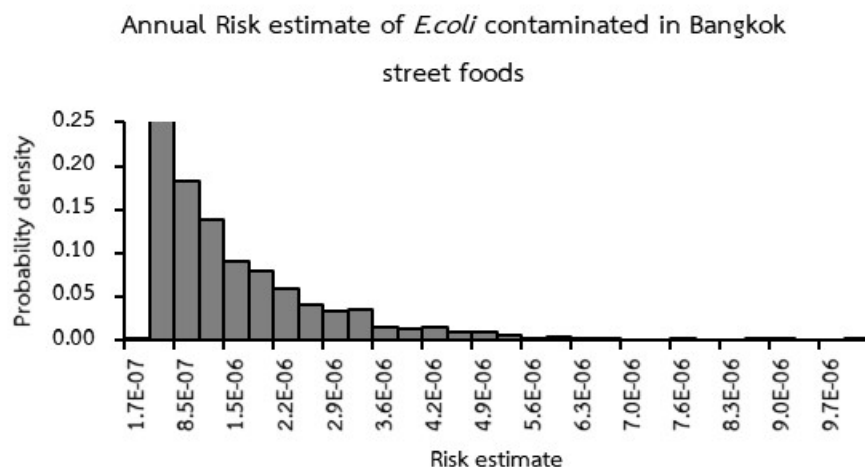
ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) หรือ ระดับความเสี่ยง (risk) หมายถึง โอกาสในการเจ็บป่วยจากการได้รับจำนวนเซลล์ (dose) จุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถีที่บริโภคเข้าสู่ร่างกาย

ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีเท่ากับ 1.1×10^{-6} หมายความว่า ปีจะมีบุคคลบริโภคอาหารริมบาทวิถีเฉลี่ย 123.78 กรัม/วัน นาน 2739 ปี จะมีโอกาสได้รับ (exposed) ที่ก่อโรคและตามมาด้วยการเจ็บป่วย (illness) จาก *E.coli* จำนวน 1.1 วัน (ครั้ง)

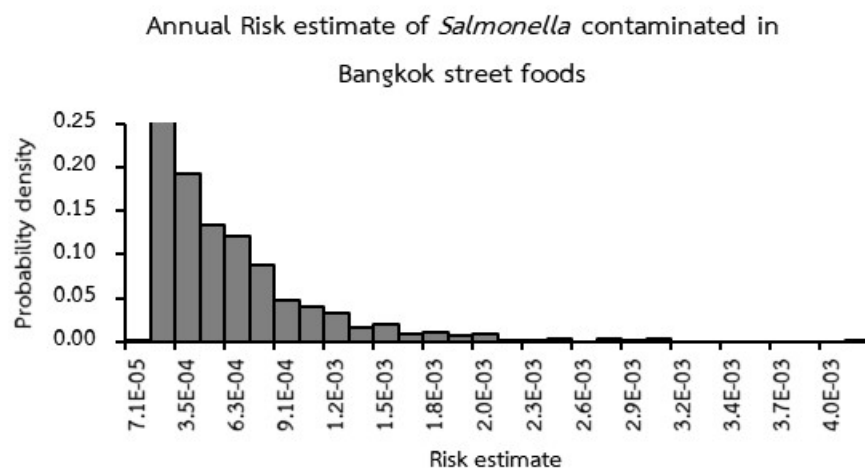
4.3 การจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation)

นำข้อมูลและแบบจำลอง (model) เพื่อใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซ้ำๆ อย่างต่ำ 1,000 รอบ (iteration) โดยอาศัยโปรแกรม Simulacion 4.0 โดย José Ricardo Varela ก็จะได้การแจกแจงค่าที่น่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงของประชากรไทยต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

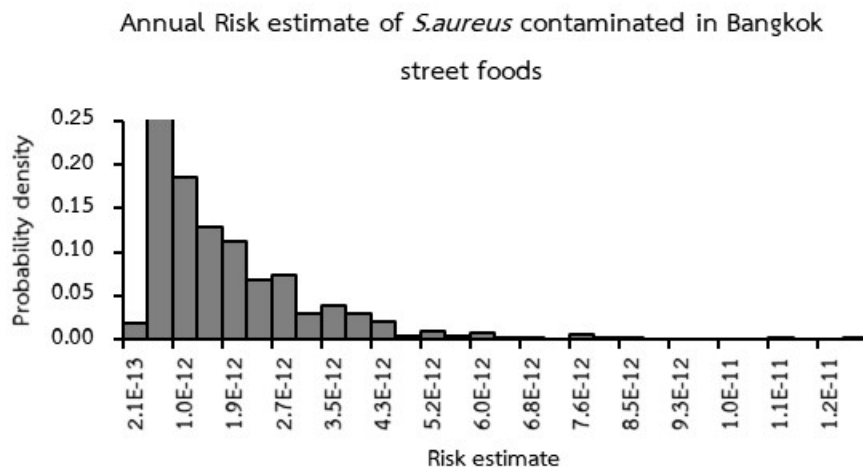
ค่าประมาณความเสี่ยง (risk estimate) ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากการจำลองเหตุการณ์ (simulation) ของ *E.coli* (EC) *Salmonella* spp. (SE) *Staphylococcus aureus* (SA) และ *Vibrio cholerae* (VC) ที่ปนเปื้อนในอาหารริมบาทวิถี จังหวัดกรุงเทพฯ และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ดังแสดงใน ภาพ 69 ถึง ภาพ 76



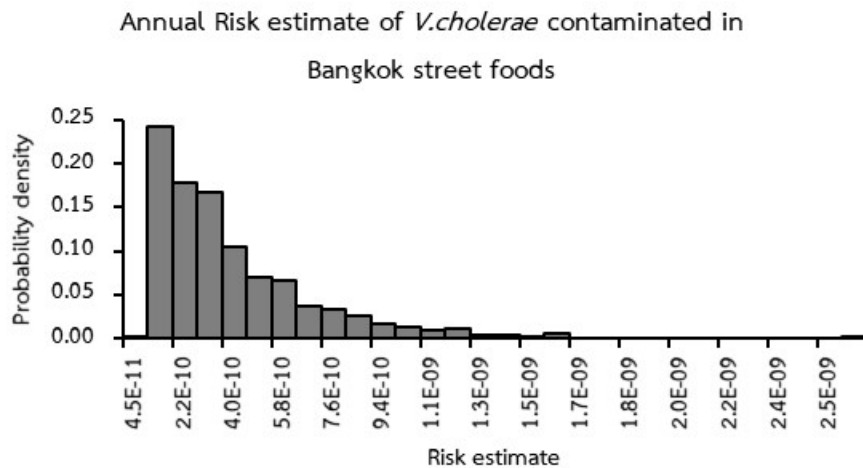
ภาพ 69 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* (EC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค เขตภาคที่ 1 จังหวัดกรุงเทพฯ



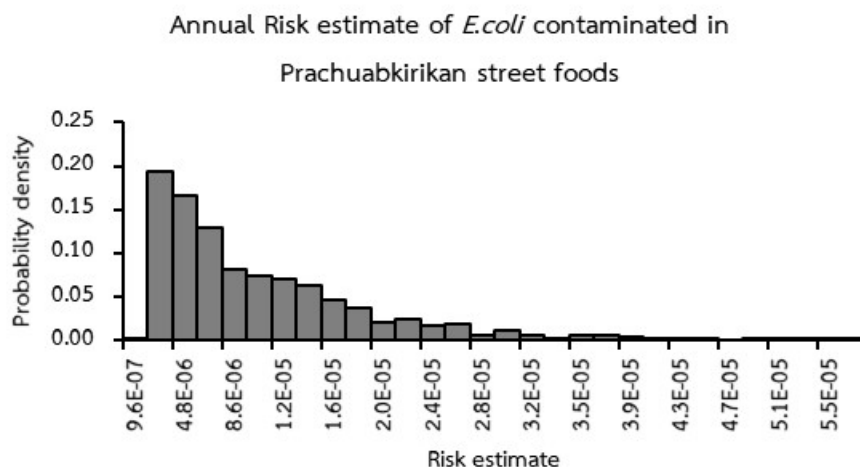
ภาพ 70 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* spp. (SE) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค เขตภาคที่ 1 จังหวัดกรุงเทพฯ



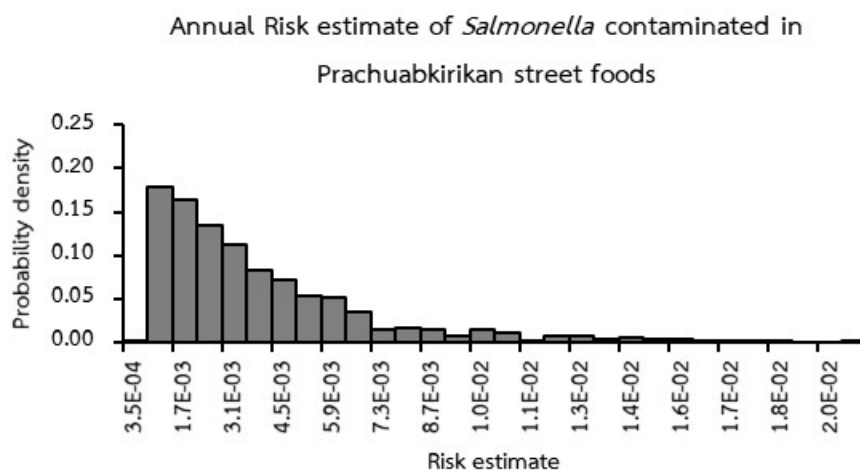
ภาพ 71 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Staphylococcus aureus* (SA) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัด กรุงเทพมหานคร



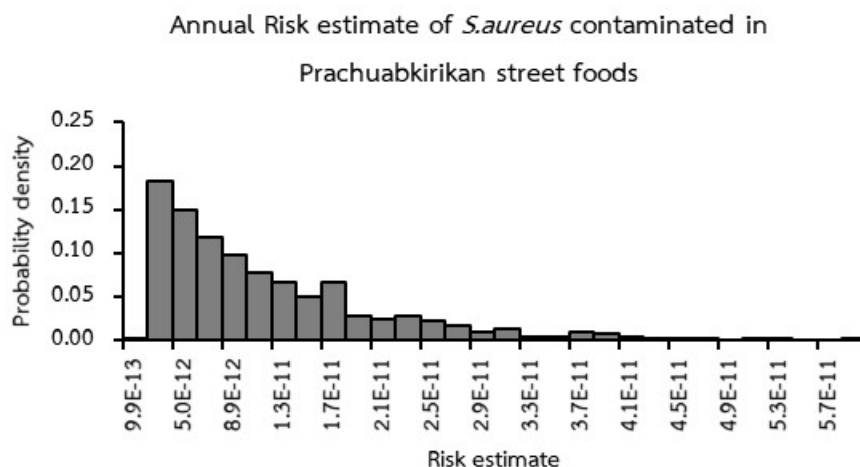
ภาพ 72 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Vibrio cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดกรุงเทพมหานคร



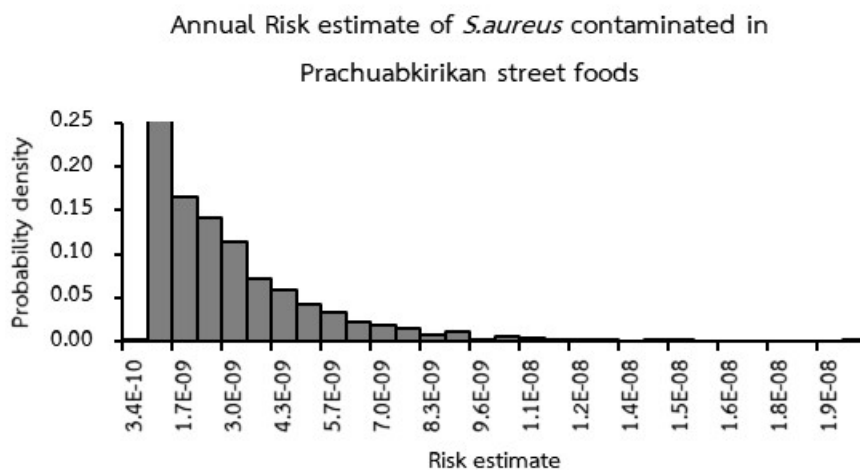
ภาพ 73 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* (EC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์



ภาพ 74 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* spp. (SE) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์



ภาพ 75 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Staphylococcus aureus* (SA) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์



ภาพ 76 การแจกแจงความน่าจะเป็น (probability distribution) ของค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Vibrio cholerae* (VC) จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี ใน 6 ภาค ฤดูกาลที่ 1 จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์

2. ศึกษาความสัมพันธ์สุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี

2.1 การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี (hygiene)

การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี (hygiene) ตามคำแนะนำของ กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร ในการประเมินอาหารริมบาทวิถีในโครงการนี้ แบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ คือ สถานที่จำหน่ายอาหาร (ร้านอาหารถาวร) และ การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร (หาบเร่/แผงลอย)

1. สถานที่จำหน่ายอาหาร (ร้านอาหารถาวร) ประกอบด้วย 5 หมวด ดังนี้

- ◁ หมวดที่ 1 สถานที่ (สถานที่ตั้ง สถานที่และบริเวณที่ใช้เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร จำหน่ายอาหาร และบริโภคอาหาร) จำนวน 10 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 2 สุขลักษณะของอาหาร กรรมวิธีการทำ ประกอบ หรือปรุง การเก็บรักษา และการจำหน่ายอาหาร จำนวน 19 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 3 สุขลักษณะของภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้อื่นๆ จำนวน 9 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 4 ระบบการสุขาภิบาล (การจัดการมูลฝอย น้ำเสีย ห้องส้วม และการป้องกัน ควบคุมแมลง และสัตว์นำโรค) จำนวน 7 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 5 สุขลักษณะส่วนบุคคล (ผู้ประกอบกิจการและผู้สัมผัสอาหาร) จำนวน 5 ข้อ

2. การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร (หาบเร่/แผงลอย)

ประกอบด้วย 5 หมวด ดังนี้

- ◁ หมวดที่ 1 สถานที่ (สุขลักษณะแผงสำหรับวางขาย และบริเวณที่ตั้ง) จำนวน 7 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 2 สุขลักษณะของอาหาร กรรมวิธีการทำ ประกอบ หรือปรุง การเก็บรักษา และการจำหน่ายอาหาร จำนวน 8 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 3 สุขลักษณะของภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้อื่นๆ จำนวน 4 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 4 ระบบการสุขาภิบาล (การจัดการมูลฝอย น้ำเสีย ห้องส้วม และการป้องกัน ควบคุมแมลง และสัตว์นำโรค) จำนวน 3 ข้อ
- ◁ หมวดที่ 5 สุขลักษณะส่วนบุคคล (ผู้ประกอบกิจการและผู้สัมผัสอาหาร) จำนวน 10 ข้อ

2.1.1 สุขลักษณะ “สถานที่จำหน่ายอาหาร”

หมวดที่ 1 : สถานที่ (สถานที่ตั้ง สถานที่และบริเวณที่ใช้เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร จำหน่ายอาหาร และ บริโภคอาหาร)

1. บริเวณโดยรอบทั่วไปสะอาด เป็นระเบียบ ตั้งอยู่ห่างจากบริเวณที่น่าจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น ที่ฝังศพ หรือเก็บศพ ที่เลี้ยงปศุสัตว์ ที่เลี้ยงสัตว์ หรือที่อื่นใดที่เจ้าพนักงานสาธารณสุขเห็นว่า เป็นอันตรายต่อสุขภาพไม่น้อยกว่า 100 เมตร เว้นแต่สามารถปรับปรุงสถานที่ให้ถูกต้องด้วยสุขลักษณะ ตามคำแนะนำของเจ้าพนักงานสาธารณสุขหรือคำสั่งเจ้าพนักงานท้องถิ่น
2. พื้นบริเวณที่ใช้เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร จำหน่ายอาหาร และบริโภคอาหาร ต้องสะอาด ไม่มีเศษขยะหรือเศษอาหาร ในระหว่างให้บริการ ทำด้วยวัสดุที่แข็งแรง ไม่ชำรุด ไม่มีน้ำขังบนพื้น และทำความสะอาดง่าย
3. ผนังหรือเพดานต้องสะอาด ทำด้วยวัสดุที่แข็งแรง และไม่ชำรุด (กรณีมี)
4. มีการระบายอากาศเพียงพอ เช่น มีปล่องระบายควัน พัดลมดูดอากาศ หรือเครื่องปรับอากาศ และในกรณีที่สถานที่จำหน่ายอาหารเป็นสถานที่สาธารณะ ให้ดำเนินการตามกฎหมายว่าด้วยการควบคุมผลิตภัณฑ์ยาสูบ
5. มีค่าความเข้มของแสงสว่างเพียงพอตามความเหมาะสมในแต่ละบริเวณ
 - บริเวณจำหน่ายอาหาร หรือให้บริการอาหารแบบบริการตนเอง (บุฟเฟ่ต์) อย่างน้อย 215 Lux และมีที่ครอบหลอดไฟ
 - บริเวณเตรียม ปรุงอาหาร อย่างน้อย 300 Lux และมีที่ครอบหลอดไฟ
 - บริเวณที่ล้างภาชนะอุปกรณ์ อย่างน้อย 300 Lux และมีที่ครอบหลอดไฟ
 - ห้องแช่เย็น อย่างน้อย 100 Lux
 - ห้องเก็บอาหาร อย่างน้อย 100 Lux
 - ห้องส้วม 100 Lux
6. บริเวณที่ประกอบหรือปรุงอาหาร ต้องจัดให้มีอ่างล้างมือที่มีสภาพดี สะอาด พร้อมใช้งาน และอุปกรณ์สำหรับล้างมือที่เพียงพอ เช่น น้ำสะอาด สบู่ล้างมือ

7. บริเวณที่บริโภคอาหาร ต้องจัดให้มีที่ล้างมือที่มีสภาพดี สะอาด พร้อมใช้งาน และอุปกรณ์สำหรับล้างมือที่เพียงพอ เช่น น้ำสะอาด สบู่ล้างมือ เว้นแต่สถานที่หรือบริเวณบริโภคอาหารไม่มีพื้นที่เพียงพอสำหรับจัดให้มีที่ล้างมือ ต้องจัดให้มีอุปกรณ์สำหรับทำความสะอาดมือที่เหมาะสม เช่น เจลล้างมือ
8. ไม่เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร บนพื้น และบริเวณหน้าห้องส้วม สำหรับโต๊ะที่ใช้เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร หรือจำหน่ายอาหาร ต้องสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร ทำด้วยวัสดุที่ทำความสะอาดง่าย เรียบ ไม่เป็นสนิม ไม่เป็นพิษ ทนต่อการกัดกร่อน และมีสภาพดี
9. โต๊ะหรือเก้าอี้ที่จัดไว้สำหรับบริโภคอาหารต้องสะอาด ทำด้วยวัสดุที่แข็งแรง ไม่ชำรุด จัดเป็นระเบียบ และสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร
10. ต้องมีมาตรการ อุปกรณ์ หรือเครื่องมือสำหรับป้องกันอัคคีภัยจากการใช้เชื้อเพลิงในการทำ ประกอบ หรือปรุงอาหาร ตามกฎหมายว่าด้วยการควบคุมอาคาร เช่น มีการติดตั้งเครื่องดับเพลิงที่อยู่ในสภาพใช้งานได้ ติดไว้ในบริเวณที่มองเห็นชัดเจนและหยิบใช้งานได้สะดวก

หมวดที่ 2 : สุขลักษณะของอาหาร กรรมวิธีการทำ ประกอบ หรือปรุง การเก็บรักษา และการจำหน่ายอาหาร

1. อาหารสดที่นำมาประกอบและปรุงอาหาร ต้องเป็นอาหารสดที่มีคุณภาพดี ไม่มีสี กลิ่นและลักษณะที่ผิดปกติไปจากธรรมชาติของอาหารนั้นๆ สะอาดและปลอดภัยต่อผู้บริโภค และมีการล้างทำความสะอาดวัตถุดิบอย่างถูกวิธี ก่อนนำมาประกอบปรุงอาหาร
2. อาหารสดต้องเก็บรักษาในอุณหภูมิที่เหมาะสม
 - อาหารสดโดยการแช่เยือกแข็ง ต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส
 - อาหารสดโดยการแช่เย็น ต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส
 - ผักสด ผลไม้ ต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือวิธีการอื่นที่สามารถเก็บรักษาได้ในระยะยาวและปลอดภัยต่อผู้บริโภค
3. ต้องมีการจัดเก็บอาหารสดเป็นสัดส่วน มีการปกปิด ไม่วางบนพื้นหรือบริเวณที่อาจทำให้อาหารปนเปื้อน
4. อาหารแห้งต้องสะอาด ปลอดภัย ไม่มีการปนเปื้อน และจัดเก็บในภาชนะที่สะอาดมีการปกปิด หรือเก็บในที่อากาศถ่ายเท ไม่อับชื้น จัดวางในบริเวณที่สะอาด และวางสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร
5. อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท เครื่องปรุงรส วัตถุเจือปนอาหาร และสิ่งอื่นที่นำมาใช้ในกระบวนการประกอบหรือปรุงอาหารต้องปลอดภัย มีเครื่องหมาย อย. มอก. หรือเครื่องหมายอื่นที่หน่วยงานราชการรับรอง

6. อาหารประเภทปรุงสำเร็จต้องเก็บในภาชนะที่สะอาด ปลอดภัย เหมาะสมกับอาหาร และมีการป้องกันการปนเปื้อน เช่น จัดเก็บในตู้ ภาชนะที่มีฝาปิด รวมทั้งวางสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร
7. อาหารปรุงสำเร็จ สำหรับบริโภคที่รอการจำหน่ายหรือบริการ เช่น อาหารประเภทต้ม/แกง เก็บที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ขึ้นไป
8. อาหารปรุงสำเร็จ สำหรับบริโภคเย็น (เช่น สลัด ซูชิ เป็นต้น) เก็บที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส
9. น้ำดื่มหรือเครื่องดื่มที่เป็นอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่ใช้ในสถานที่จำหน่ายอาหารต้องมีคุณภาพและมาตรฐานตามกฎหมายว่าด้วยอาหาร โดยต้องวางสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 15 เซนติเมตร และต้องทำความสะอาดพื้นผิวภายนอกของภาชนะบรรจุให้สะอาดก่อนนำมาให้บริการ
10. น้ำดื่มหรือเครื่องดื่มที่ไม่ได้อยู่ในภาชนะที่ปิดสนิทหรือเครื่องดื่มที่ปรุงจำหน่าย ต้องบรรจุในภาชนะที่สะอาด มีการปกปิด และป้องกันการปนเปื้อน มีก๊อกหรือทางเทริน้ำหรืออุปกรณ์ที่มีด้ามสำหรับดักโดยเฉพาะ และวางสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร
11. น้ำดื่มและน้ำที่ใช้สำหรับเตรียม ประกอบ หรือปรุงอาหารต้องใช้น้ำที่มีคุณภาพไม่ต่ำกว่าเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ของกรมอนามัย พ.ศ. 2553 หรือผ่านเกณฑ์มาตรฐาน อย.
12. น้ำแข็งสำหรับบริโภคต้องสะอาด และมีคุณภาพ ผ่านเกณฑ์มาตรฐานหรือดำเนินการตามกฎหมายว่าด้วยอาหาร (อย.)
13. ต้องจัดเก็บน้ำแข็งไว้ในภาชนะที่มีสภาพดี สะอาด ทำด้วยวัสดุที่ทำความสะอาดง่าย เรียบ ไม่เป็นสนิม ไม่เป็นพิษ มีฝาปิด วางสูงจากพื้นอย่างน้อย 15 เซนติเมตร ปากขอบภาชนะสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร ไม่วางในบริเวณที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนและต้องไม่ระบายน้ำจากถังน้ำแข็งลงสู่พื้นบริเวณที่วางภาชนะ
14. จัดให้มีอุปกรณ์สำหรับคืบหรือตักน้ำแข็งโดยเฉพาะ มีสภาพดี สะอาด มีด้ามจับ ทำจากวัสดุที่ปลอดภัย ทำความสะอาดง่าย และไม่นำอาหารหรือสิ่งของอื่นใดแช่หรือเก็บรวมไว้ด้วยกัน กับน้ำแข็งสำหรับบริโภค
15. น้ำใช้ต้องเป็นน้ำประปา ยกเว้นในท้องถิ่นที่ไม่มีระบบประปาให้ใช้น้ำที่มีคุณภาพเทียบเท่าน้ำประปาหรือเป็นไปตามคำแนะนำของเจ้าพนักงานสาธารณสุข และจัดเก็บในภาชนะบรรจุน้ำใช้ที่สะอาด ปลอดภัย และสภาพดี

16. สารเคมี สารทำความสะอาด วัตถุมีพิษ หรือวัตถุที่อาจเป็นอันตรายต่ออาหาร ต้องมีการจัดเก็บแยกบริเวณเป็นสัดส่วนจากบริเวณที่ใช้ทำ ประกอบ ปูรง จำหน่าย และบริโภคอาหาร โดยติดฉลากและป้ายให้เห็นชัดเจนพร้อมทั้งมีคำเตือนและคำแนะนำเมื่อเกิดอุบัติเหตุจากสารดังกล่าว
17. ห้ามนำภาชนะบรรจุสารเคมี สารทำความสะอาด วัตถุมีพิษ หรือวัตถุที่อาจเป็นอันตรายต่ออาหารมาใช้บรรจุอาหาร และห้ามนำภาชนะบรรจุอาหารมาใช้บรรจุสารเคมี สารทำความสะอาด วัตถุมีพิษ หรือวัตถุที่อาจเป็นอันตรายต่ออาหาร
18. ห้ามใช้ก๊าซหุงต้มเป็นเชื้อเพลิงในการประกอบหรือปูรงอาหารบนโต๊ะหรือที่รับประทานอาหาร
19. ห้ามใช้เมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์เป็นเชื้อเพลิงในการทำประกอบ ปูรง หรืออุ่นอาหาร ในกรณีใช้แอลกอฮอล์ แชนจ์สำหรับใช้เป็นเชื้อเพลิง ต้องมีมาตรฐานตามกฎหมายว่าด้วยมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

หมวดที่ 3 สัญลักษณ์ของภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้อื่นๆ

1. ภาชนะและอุปกรณ์และเครื่องใช้ต่างๆ ต้องมีสภาพดี สะอาด ทำจากวัสดุที่ปลอดภัยเหมาะสมกับอาหารแต่ละประเภท มีจำนวนเพียงพอ ทำด้วยวัสดุผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ไม่เป็นพิษ ทนต่อการกัดกร่อน ง่ายต่อการทำความสะอาด มีสภาพดี ไม่ชำรุด มีการป้องกันการปนเปื้อนที่เหมาะสม และมีการบำรุงรักษาให้อยู่ในสภาพใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพสม่ำเสมอ
2. มีการจัดเก็บภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้ไว้ในที่สะอาด เก็บให้เป็นระเบียบ เก็บไว้ในที่หรือภาชนะที่สะอาด โดยวางสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 60 เซนติเมตร และมีการปกปิดหรือป้องกันการปนเปื้อนที่เหมาะสม
3. ตู้เย็น ตู้แช่ หรืออุปกรณ์เก็บรักษาคุณภาพอาหารด้วยความเย็นอื่น ๆ ต้องมีขนาดที่เพียงพอ สะอาด มีสภาพดี ไม่ชำรุด และมีประสิทธิภาพเหมาะสมในการเก็บรักษาคุณภาพอาหาร
4. ตู้อบ เต้าอบ เตาไมโครเวฟ อุปกรณ์ประกอบหรือปูรงอาหารด้วยความร้อนอื่นๆ หรืออุปกรณ์เตรียมอาหาร ต้องสะอาด มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย สภาพดี และไม่ชำรุด
5. กรณีที่รับประทานอาหารร่วมกัน ต้องมีบริการช้อนกลางสำหรับตัก แบ่งอาหาร
6. ภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้ที่รอการทำความสะอาด มีการแยกเศษอาหารออกก่อนการทำความสะอาด ต้องเก็บในที่ที่สามารถป้องกันสัตว์และแมลงนำโรคได้ และวางสูงจากพื้นไม่น้อยกว่า 30 เซนติเมตร

7. จัดให้มีบริเวณและที่สำหรับทำความสะอาดภาชนะ อุปกรณ์และเครื่องใช้ ให้เพียงพอ อุปกรณ์การล้างต้องสูงจากพื้นอย่างน้อย 60 เซนติเมตร และมีการทำความสะอาดบริเวณโดยรอบ ทำความสะอาดอุปกรณ์การล้างให้สะอาดและจัดเก็บเป็นสัดส่วน
8. มีการทำความสะอาดภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้ที่ถูกสุขลักษณะ โดยล้างภาชนะอุปกรณ์ 3 ชั้นตอนชั้นแรกล้างด้วยสารทำความสะอาดภาชนะ และตามด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง หรือล้างด้วยน้ำไหล หากมีการล้างด้วยเครื่องล้างจาน อุปกรณ์ต้องมีสภาพดี ได้มาตรฐาน สารเคมีที่ใช้มีความปลอดภัย และการนำล้างชั้นสุดท้ายต้องมีอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 85 องศาเซลเซียส และใช้สารทำความสะอาดที่เหมาะสม โดยปฏิบัติตามคำแนะนำการใช้สารทำความสะอาดนั้นๆ จากผู้ผลิต
9. จัดให้มีการฆ่าเชื้อภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้ภายหลังการทำความสะอาด เช่น ตากแดด แขน้ำร้อน แขน้ำคลอรีน ใช้เครื่องอบ

หมวดที่ 4 ระบบการสุขาภิบาล (การจัดการมูลฝอย น้ำเสีย ห้องส้วม และการป้องกัน ควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค)

1. มีถังรองรับมูลฝอยที่มีจำนวนเพียงพอ ขนาดเหมาะสม สภาพดี ไม่รั่วซึม ไม่ดูดซับน้ำ มีฝาปิดมิดชิด
2. ต้องมีการแยกเศษอาหารจากมูลฝอยประเภทอื่น และต้องดูแลรักษาความสะอาดถังรองรับมูลฝอยและบริเวณโดยรอบตัวถังรองรับมูลฝอยอย่างสม่ำเสมอ และมีการขนขยะไปทิ้งในพื้นที่ที่กำหนด อย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง
3. มีท่อหรือรางระบายน้ำที่มีสภาพดี ไม่แตกรั่ว ทำด้วยวัสดุแข็งแรง ทำความสะอาดง่าย มีการระบายน้ำได้ดี ไม่มีน้ำขัง และไม่มีเศษอาหารตกค้าง
4. ต้องมีการแยกเศษอาหารออกจากภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้ก่อนการทำความสะอาด และมีการแยกไขมันไปกำจัดก่อนระบายน้ำทิ้งออกสู่ระบบระบายน้ำ โดยใช้ถังดักไขมัน หรือบ่อดักไขมัน หรือการบำบัดน้ำเสียก่อนระบายน้ำทิ้งออกสู่ระบบระบายน้ำสาธารณะ
5. ต้องจัดให้มีหรือจัดหาห้องส้วม และที่ล้างมือ ที่มีสภาพดี พร้อมใช้งาน และมีจำนวนเพียงพอ แยกเป็นสัดส่วน โดยประตูไม่เปิดโดยตรงสู่บริเวณที่เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร ที่เก็บ ที่จำหน่าย ที่บริโภคอาหาร ที่ล้างและที่เก็บภาชนะอุปกรณ์ ในกรณีที่ไม่สามารถแยกห้องส้วมเป็นสัดส่วนได้ ประตูห้องส้วมต้องปิดตลอดเวลา มีฉากปิดกั้นที่เหมาะสม เช่น มู่ลี่ ม่านพลาสติก และมีการจัดการห้องส้วมให้สะอาดอยู่เสมอ

6. ห้องส้วมและสุขภัณฑ์ต้องสะอาด พื้นระบายน้ำได้ดี ไม่มีน้ำขัง มีการระบายอากาศที่ดี และมีแสงสว่างเพียงพอ มีที่รองรับสิ่งปฏิกูลที่มีสภาพดี ไม่รั่วซึม และมีที่ล้างมือที่มีสภาพดี สะอาด พร้อมใช้งาน และอุปกรณ์สำหรับล้างมือที่เพียงพอ เช่น น้ำสะอาด สบู่ล้างมือ
7. ไม่พบสัตว์ แมลงนำโรค และสัตว์เลี้ยง ในบริเวณที่ใช้เตรียม ประกอบ หรือปรุงอาหาร และจำหน่ายอาหาร และต้องจัดให้มีมาตรการในการป้องกันสัตว์ แมลงนำโรค และสัตว์เลี้ยงตามหลักวิชาการ

หมวดที่ 5 สุขลักษณะส่วนบุคคล (ผู้ประกอบการกิจการและผู้สัมผัสอาหาร)

1. ผู้ประกอบการกิจการและผู้สัมผัสอาหารต้องมีสุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่เป็นโรคติดต่อหรือพาหะนำโรคติดต่อ โรคผิวหนังที่น่ารังเกียจ วัณโรค อหิวาตกโรค ไข้รากสาดน้อย (ไทฟอยด์) โรคบิด ไข้สวกใส โรคคางทูม โรคเรื้อน โรคตับอักเสบที่เกิดจากไวรัส หรือโรคอื่นๆ ตามที่กรุงเทพมหานครกำหนด ไม่แสดงอาการเจ็บป่วยด้วยโรคที่เกิดจากอาหารและน้ำเป็นสื่อในขณะที่ปฏิบัติงาน ในกรณีที่เจ็บป่วยต้องหยุดปฏิบัติงานและรักษาให้หายก่อนจึงกลับมาปฏิบัติงานได้
2. มีทะเบียน หรือหลักฐานแสดงว่าผู้ประกอบการกิจการและผู้สัมผัสอาหาร ผ่านการอบรมด้านการสุขาภิบาลอาหารตามหลักเกณฑ์และวิธีการที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศกำหนด
3. ผู้สัมผัสอาหารต้องรักษาความสะอาดของร่างกาย สวมเสื้อผ้าสะอาด มีแขน สวมผ้ากันเปื้อนที่สะอาด สวมหมวกหรือตาข่ายคลุมผมให้เรียบร้อย ใส่รองเท้านิรภัย
4. ผู้สัมผัสอาหารต้องล้างมือได้ถูกต้องตามขั้นตอนที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด มีการล้างตามช่วงเวลาที่เหมาะสม กรณีมีบาดแผลที่มีต้องปิดแผลให้มิดชิด และไม่ปฏิบัติงานที่มีโอกาสสัมผัสอาหาร
5. ผู้สัมผัสอาหารต้องปฏิบัติตนในการเตรียม ประกอบ ปรุง จำหน่ายและเสิร์ฟอาหาร ให้ถูกสุขลักษณะ ใช้อุปกรณ์ในการหยิบจับอาหารที่ปรุงสำเร็จพร้อมบริโภค ตัดเล็บสั้นและสะอาด ไม่ทาสีเล็บ ไม่สวมเครื่องประดับ ไม่สูบบุหรี่ และไม่กระทำการใด ๆ ที่จะทำให้เกิดการปนเปื้อนต่ออาหารหรือก่อให้เกิดโรค

2.1.2 สุขลักษณะ “การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร”

หมวดที่ 1 : สถานที่ (สถานที่ตั้ง สถานที่และบริเวณที่ใช้เตรียม ประกอบหรือปรุงอาหาร จำหน่ายอาหาร และ บริเวณอาหาร)

1. แผงสำหรับวางขาย เช่น แคร่ แท่น โต๊ะ รถเข็น ทำด้วยวัสดุที่แข็งแรงอยู่สูงจากพื้นอย่างน้อย 60 เซนติเมตร
2. จัดวางสิ่งของ อุปกรณ์ประกอบการค้าและทรัพย์สินใดๆ เป็นระเบียบ เรียบร้อย ไม่ยื่นล้ำบริเวณที่กำหนด รวมทั้งตัวผู้ค้าต้องไม่ล้ำลงมาในผิวจราจร
3. รักษาความสะอาดบริเวณที่จำหน่ายสินค้าอยู่เสมอทั้งในระหว่างทำการค้าและหลังจากเลิกทำการค้า
4. ห้ามกระทำการใดๆ กับต้นไม้หรือคอกต้นไม้ เช่น พาด ติดตั้ง วางแผงค้า หรือเกาะเกี่ยวสายไฟฟ้า หลอดไฟฟ้าหรืออุปกรณ์ ประกอบการค้า รวมตลอดถึงการตอกตะปู ผูกเชือกหรือยึดสิ่งหนึ่งสิ่งใดโดยเด็ดขาด
5. ไม่ใช่เครื่องกำเนิดไฟฟ้า เครื่องขยายเสียงหรือเปิดวิทยุเทปที่ก่อให้เกิดเสียงดังจนเกิดเหตุรำคาญแก่ผู้อื่น
6. ที่เตรียม ทำ ประกอบ ปรุง และแผงวางจำหน่ายอาหาร ต้องสูงจากพื้น อย่างน้อย 60 เซนติเมตร และจัดให้มีการป้องกันอันตรายต่อสุขภาพรวมทั้งป้องกันไม่ให้เกิดเหตุรำคาญเนื่องจากการจำหน่าย ทำ ประกอบ ปรุง และเก็บอาหาร
7. มีการเก็บวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการประกอบการค้าออกจากบริเวณที่ได้รับอนุญาตทุกครั้งหลังเลิกทำการค้า

หมวดที่ 2 : สุขลักษณะของอาหาร กรรมวิธีการทำ ประกอบ หรือปรุง การเก็บรักษา และการจำหน่ายอาหาร¹⁵

1. มีการปกปิดอาหาร เครื่องปรุงอาหาร ภาชนะใส่อาหาร เครื่องมือเครื่องใช้สำหรับประกอบอาหารด้วย อุปกรณ์ที่สามารถป้องกันฝุ่นละออง แมลงวัน สัตว์และสิ่งซึ่งเป็นพาหะนำโรค รวมทั้งดูแลรักษาให้สะอาด และใช้การได้ดีอยู่เสมอ
2. อาหารสด และอาหารพร้อมบริโภค เก็บในอุณหภูมิที่เหมาะสม เช่น เนื้อสดแช่ในถังน้ำแข็ง เป็นต้น
3. สารปรุงแต่งอาหารและเครื่องปรุงรส ต้องได้มาตรฐาน เช่น มีเลขทะเบียนตำรับอาหาร (เครื่องหมาย อย.)

¹⁵ ข้อที่เป็นตัวเอียง ไม่ได้กำหนดไว้ใน ข้อบัญญัติกรุงเทพมหานคร เรื่อง การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะ พ.ศ. 2545 ให้เป็นข้อเพิ่มเติม เพื่อเป็นการยกระดับการสุขาภิบาลอาหาร

4. น้ำดื่มต้องเป็นน้ำที่สะอาด ได้มาตรฐาน บรรจุในภาชนะมีฝาปิด
 - เครื่องดื่มที่อยู่ในภาชนะปิดสนิท ต้องมีเลขทะเบียนตำรับอาหาร (เครื่องหมาย อย.)
5. ใช้น้ำสะอาดในการทำ ประกอบ ปรง แซ่ ล้างอาหาร เครื่องมือ เครื่องใช้ ภาชนะและอุปกรณ์
6. น้ำแข็งสำหรับบริโภคต้องสะอาด ถูกสุขลักษณะ
7. จัดเก็บในภาชนะที่สะอาด มีฝาปิดมิดชิดปากภาชนะใส่น้ำแข็งอยู่สูงจากพื้นอย่างน้อย 60 เซนติเมตร
8. มีอุปกรณ์ด้ามยาวสำหรับตักน้ำแข็งโดยเฉพาะ หรือใช้อุปกรณ์คืบ และต้องไม่นำอาหารหรือของอื่นแช่ในภาชนะเก็บน้ำแข็งสำหรับบริโภค

หมวดที่ 3 สุขลักษณะของภาชนะ อุปกรณ์ และเครื่องใช้อื่นๆ

1. ใช้วัสดุ เครื่องมือ เครื่องใช้ ภาชนะและอุปกรณ์ที่สะอาด ปลอดภัย สำหรับใส่หรือเตรียม ทำ ประกอบ ปรง และจำหน่ายอาหาร
2. การจำหน่ายอาหารที่ต้องมีการล้างเครื่องมือ เครื่องใช้ ภาชนะ และอุปกรณ์ ต้องไม่ถ่ายเทน้ำที่มีเศษอาหาร หรือไขมันลงพื้น หรือลงสู่ท่อหรือทางระบายน้ำสาธารณะ
3. รักษาเครื่องมือ เครื่องใช้ ภาชนะและอุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ในการจำหน่ายอาหารให้สะอาดและใช้การได้ดีอยู่เสมอ
4. มีการเตรียมจาน ชาม ช้อน ส้อม ตะเกียบ และภาชนะอื่นๆ ให้เพียงพอต่อการจำหน่ายอาหารในแต่ละครั้ง

หมวดที่ 4 ระบบการสุขาภิบาล (การจัดการมูลฝอย น้ำเสีย ห้องส้วม และการป้องกัน ควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค)

1. จัดให้มีที่รองรับมูลฝอยที่ถูกสุขลักษณะไว้ให้เพียงพอ
2. ไม่มีการถ่ายเททั้งมูลฝอยลงในท่อ หรือทางระบายน้ำ หรือทางสาธารณะ
3. มีมาตรการป้องกันและควบคุมแมลงและสัตว์นำโรคของแผงสำหรับวางขายและบริเวณที่ตั้งแผง

หมวดที่ 5 สุขลักษณะส่วนบุคคล (ผู้ประกอบการกิจการและผู้สัมผัสอาหาร)

1. ผู้จำหน่ายสินค้า และผู้ช่วยจำหน่ายสินค้า (ผู้สัมผัสอาหาร) มีสัญชาติไทย
2. มีสุขภาพดี ไม่เป็นโรคติดต่อ หรือพาหะนำโรคติดต่อ ได้แก่ วัณโรค อหิวาตกโรค ไข้รากสาดน้อย (ไทฟอยด์) โรคบิด ไขสุกใส โรคคางทูม โรคเรื้อน โรคผิวหนังที่น่ารังเกียจ โรคตับอักเสบที่เกิดจากไวรัส

และ หยุดประกอบการค้าเมื่อมีอาการ หรือสงสัยว่าเป็นโรคติดต่อ หรือเมื่อ ตรวจพบว่าเป็นพาหะของ โรคติดต่อ และโรคอื่นๆ ตามที่ทางราชการ กำหนด

3. ผ่านการอบรมการสุขาภิบาลอาหารแล้ว หรือสอบผ่านหลักสูตร การเรียนรู้ด้วยตนเองด้านสุขาภิบาลอาหาร
4. แต่งกายสะอาด สุภาพเรียบร้อย สวมเสื้อที่มีแขน สวมผ้ากันเปื้อน ที่สะอาด สวมรองเท้าหุ้มส้น และสวมหมวกหรือเนทคลุมผม
5. รักษาความสะอาดมือและเล็บ ถ้ามีบาดแผล หรือถูกฉีก หรือ ระบายเคืองผิวหนัง บริเวณมือหรือนิ้วมือ ต้องทำแผลให้เรียบร้อย
6. ไม่สูบบุหรี่ ขบเคี้ยว รับประทานอาหารในขณะที่เตรียม ทำ ประกอบปรุงหรือจำหน่ายอาหารหรือไม่ไอจามรดบนอาหาร
7. ใช้อุปกรณ์ในการหยิบจับอาหารหรือสวมถุงมือสำหรับหยิบจับอาหาร
8. ใช้ช้อนและถ้วยสำหรับชิมอาหารโดยเฉพาะ และมีการทำความสะอาดอุปกรณ์อยู่เสมอ
9. มีการใช้ช้อนกลางในการบริการอาหารให้ลูกค้า
10. ในขณะที่ทำการจำหน่ายสินค้าต้องแสดงใบอนุญาตตลอดเวลาที่ทำการจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะตามประเภทสินค้าและลักษณะการจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะที่ได้รับอนุญาต ต้องติดบัตรประจำตัวผู้ได้รับใบอนุญาตหรือบัตรประจำตัวผู้ช่วยจำหน่ายสินค้าไว้ที่หน้าอกซ้ายตลอดเวลาที่จำหน่ายสินค้า

2.2 หลักเกณฑ์การประเมิน (evaluation criteria)

หลักเกณฑ์การประเมินสุขอนามัย ตามคำแนะนำของ กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร ในการประเมินอาหารริมบาทวิถีในโครงการนี้ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ สถานที่จำหน่ายอาหาร (ร้านอาหารถาวร) และ การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร (หาบเร่/แผงลอย)

1. สถานที่จำหน่ายอาหาร (ร้านอาหารถาวร) ประกอบด้วย 3 กรณี คือ

< กรณีการออกใบอนุญาต/หนังสือรับรองการแจ้ง

การตรวจสอบลักษณะสถานประกอบการ ต้องผ่านเกณฑ์การประเมิน หมวด 1 และ 4 รวม 17 ข้อ

< กรณีการขอต่ออายุใบอนุญาต

การตรวจสอบลักษณะสถานประกอบการ ต้องผ่านเกณฑ์การประเมินทุกข้อ รวม 50 ข้อ

< กรณีให้การรับรองมาตรฐานอาหารปลอดภัย

การตรวจสอบลักษณะสถานประกอบการ ต้องผ่านเกณฑ์การประเมินทุกข้อ รวม 50 ข้อ

2. การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร (หาบเร่/แผงลอย)

ประกอบด้วย 2 กรณี คือ

< กรณีการออกใบอนุญาต (รายใหม่) หรือการต่อใบอนุญาต

การตรวจสอบลักษณะของสถานประกอบการ ต้องผ่านเกณฑ์การประเมินทุกข้อ (ยกเว้น ข้อที่เป็นตัวเอียง และหมวดที่ 5 ข้อ 10) รวม 20 ข้อ

< กรณีให้การรับรองมาตรฐานอาหารปลอดภัย

การตรวจสอบลักษณะของสถานประกอบการ ต้องผ่านเกณฑ์การประเมินทุกข้อ รวม 32 ข้อ

2.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี

แนวทางในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี ใช้วิธีการสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่าง 2 ตัวแปร คือ

1. การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food)
2. การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในพื้นที่สัมผัสอาหารริมบาทวิถี (Swab)

วิธีสหสัมพันธ์ (correlation) เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบสองทาง (two-way relationship) มีค่าระหว่าง -1 (-100%) ถึง +1 (100%)

▫ ค่าสหสัมพันธ์เป็นบวก (positive correlation coefficient) มีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะเพิ่มขึ้น และ ในทางตรงกันข้ามด้วย

▫ ค่าสหสัมพันธ์เป็นลบ (negative correlation coefficient) มีความสัมพันธ์สวนทางกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะลดลง และ ในทางตรงกันข้ามด้วย

สัดส่วนตัวอย่างอาหารและภาชนะที่มีการปนเปื้อนอย่างน้อย 1 ชนิดจุลินทรีย์ก่อโรค และความสัมพันธ์ของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab) ดังแสดงใน ตาราง 76 และ ตามลำดับ

ตาราง 76 สัดส่วนตัวอย่างอาหารและพื้นผิวสัมผัสที่มีการปนเปื้อนอย่างน้อย 1 ชนิดจุลินทรีย์ก่อโรค

ภาค	จังหวัด	Season 1		Season 2		Season 3	
		Food	Swab	Food	Swab	Food	Swab
กลาง	กรุงเทพฯ	0/40	0/20	3/40	0/20	1/40	0/20
ตะวันตก	ประจวบคีรีขันธ์	0/20	0/10	2/20	1/10	0/20	1/10
ตะวันออก	ชลบุรี	0/20	0/10	1/20	0/10	2/20	0/10
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	1/20	1/10	1/20	0/10	5/20	1/10
ใต้	ภูเก็ต, สุราษฎร์ธานี	4/20	0/10	2/20	1/10	3/20	0/10
เหนือ	เชียงใหม่	0/20	0/10	4/20	0/10	9/20	0/10
	รวม	5/140	1/70	12/140	2/70	20/140	2/70

ตาราง 77 ความสัมพันธ์ของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารริมบาทวิถี (Food) และพื้นผิวสัมผัส (Swab)

ภาค	จังหวัด	ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient)
กลาง	กรุงเทพฯ	between -1% and 1%
ตะวันตก	ประจวบคีรีขันธ์	-7.1%
ตะวันออก	ชลบุรี	between -1% and 1%
ตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	29.2%
ใต้	ภูเก็ต, สุราษฎร์ธานี	between -1% and 1%
เหนือ	เชียงใหม่	between -1% and 1%
	เฉลี่ย	12.9%

2.4 การวิเคราะห์ความไว (Sensitivity analysis)

หลังจากขั้นตอนการจำลองเหตุการณ์จริง (Monte Carlo Simulation) ซึ่งเป็นการสุ่มเลือกค่าที่เป็นไปได้ทั้งหมดของตัวแปรอิสระในรูปของการแจกแจงความน่าจะเป็น จากนั้นจึงคำนวณความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระ (independent variable) หรือ ปัจจัยเสี่ยง (risk factors) เช่น ความเข้มข้น (concentration) ความชุก (prevalence) และ ปริมาณการบริโภค (consumption) และ ตัวแปรตาม (dependent variable) ในที่นี้ คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถี โปรแกรม Simulacion 4.0 โดย José Ricardo Varela ที่ใช้ในการจำลองเหตุการณ์จริง ให้ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity analysis) คือ

วิธีสหสัมพันธ์ (correlation) เป็นการหาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามแบบสองทาง (two-way relationship) มีค่าระหว่าง -1 ถึง +1

1. ค่าสหสัมพันธ์เป็นบวก (positive correlation coefficient) มีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะเพิ่มขึ้น และ ในทางตรงกันข้ามด้วย

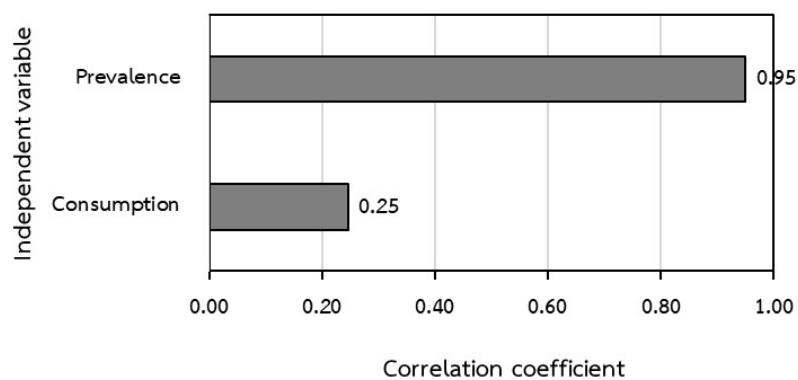
2. ค่าสหสัมพันธ์เป็นลบ (negative correlation coefficient) มีความสัมพันธ์สวนทางกัน กล่าวคือ เมื่อค่าของตัวแปรอิสระเพิ่มขึ้น ค่าของตัวแปรตามก็จะลดลง และ ในทางตรงกันข้ามด้วย

ผลการวิเคราะห์ความไวของปัจจัยเสี่ยงต่อ Annual risk estimate

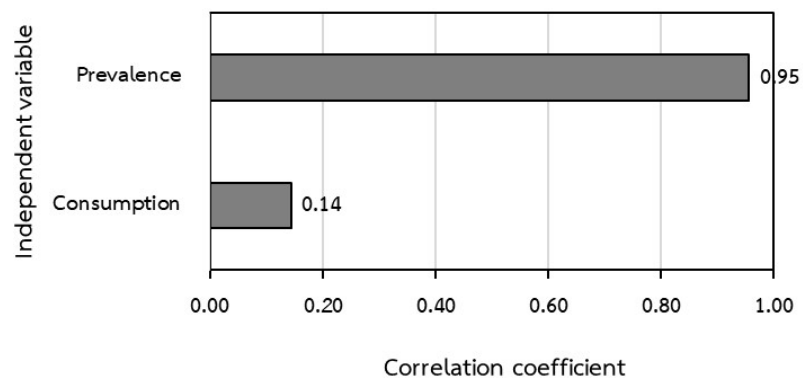
ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อตัวแปรตาม คือ ค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพ ดัง ตาราง 78 และ ภาพ 77 ถึง ภาพ 80

ตาราง 78 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีปลาบริโภคสุกและชาขมิ

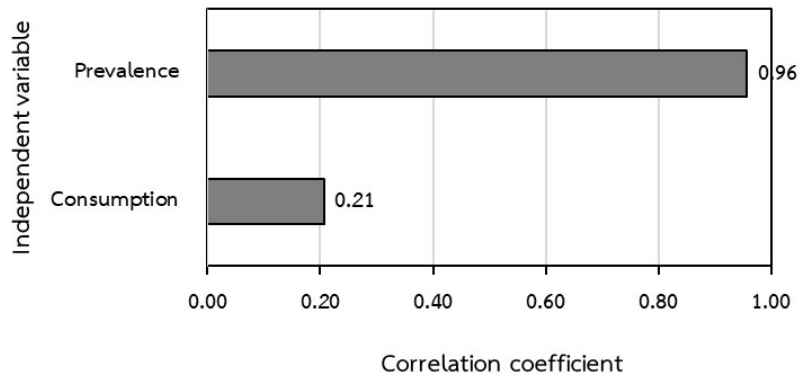
Independent variable (unit)	Correlation coefficient			
	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S.aureus</i>	<i>V.cholerae</i>
Consumption (g/day)	0.25	0.14	0.21	0.14
Prevalence (%)	0.95	0.95	0.96	0.95

Annual risk estimate of *E.coli* contaminated street food

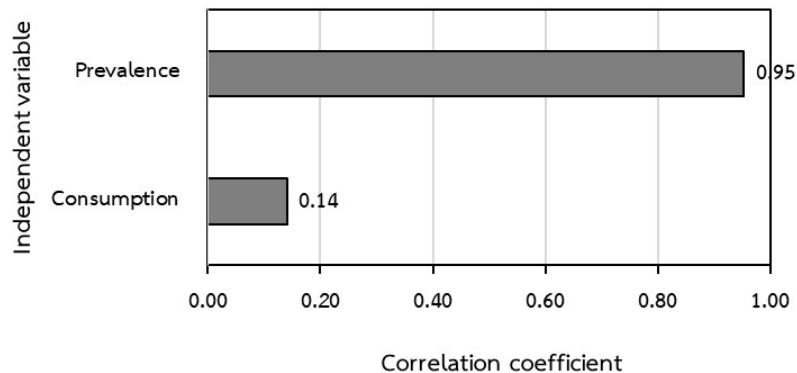
ภาพ 77 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *E.coli* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ

Annual risk estimate of *Salmonella* contaminated street food

ภาพ 78 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *Salmonella* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ

Annual estimate of *S.aureus* contaminated street food

ภาพ 79 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *S.aureus* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ

Annual risk estimate of *V.cholerae* contaminated street food

ภาพ 80 ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ตัวแปรอิสระต่อค่าประมาณความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) จาก *V.cholerae* จากการบริโภคอาหารริมบาทวิถีในกรุงเทพฯ

การอภิปราย (Discussion)

1. ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient) ของตัวแปรอิสระต่อ Annual risk estimate ของอาหารริมบาทวิถี โดยวิธี correlation มีความสม่ำเสมอ (inconsistent)

1.1. *E.coli* : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ ความชุก (prevalence)

1.2. *Salmonella* : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ ความชุก (prevalence)

1.3. *S.aureus* : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ ความชุก (prevalence)

1.4. *V.cholerae* : ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงสุด คือ ความชุก (prevalence)

2. ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่กำหนดการปนเปื้อนตามมาด้วยความเสี่ยงรายปี (Annual risk estimate) คือ ความชุก (prevalence) ซึ่งมีความสอดคล้องหรือสัมพันธ์กับ สุขลักษณะผู้ประกอบการ/จำหน่าย/อาหารริมบาทวิถี, สุขลักษณะสถานที่/แผงค้า/สำหรับอาหารริมบาทวิถี, สุขลักษณะของพื้นที่บริเวณจำหน่ายอาหารริมบาทวิถี, สุขลักษณะการเตรียม/การเก็บรักษาอาหารริมบาทวิถี

2.5 แนวทางการจัดการความเสี่ยงความสัมพันธ์สุขลักษณะและอาหารริมบาทวิถี

การปฏิบัติเกี่ยวกับสุขลักษณะของอาหารริมบาทวิถี (hygiene) ตามคำแนะนำของ กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร ในการประเมินอาหารริมบาทวิถีในโครงการนี้ แบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ คือ สถานที่จำหน่ายอาหาร (ร้านอาหารถาวร) และ การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร (หาบแร่/แผงลอย) ร่วมกับ หลักเกณฑ์การประเมินสุขอนามัย ตามคำแนะนำของ กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร ในการประเมินอาหารริมบาทวิถีในโครงการนี้ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ สถานที่จำหน่ายอาหาร (ร้านอาหารถาวร) และ การจำหน่ายสินค้าในที่หรือทางสาธารณะของกรุงเทพมหานคร ประเภทอาหาร (หาบแร่/แผงลอย)

3. ระบบสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถีสู่ผู้บริโภคโดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ

3.1 ศึกษา platform การนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital ที่เหมาะสม

3.1.1 ศึกษา domain และ server เช่น เข้าจากผู้ให้บริการเอกชน, ฝาก subdomain/server กับสถาบัน

Domain (โดเมน)

Domain (โดเมน) คือ ชื่อ website หรือ ชื่อที่ใช้ระบุตัวตน identification ของ website ซึ่งจะมีความจำเพาะและไม่ซ้ำกับ website อื่น ประกอบด้วย domain และ นามสกุล

Domain name (ชื่อโดเมน) หมายถึง ชื่อที่ใช้ระบุลงในคอมพิวเตอร์ โดยอาจจะเป็นส่วนหนึ่งของที่อยู่ website หรือ email address เพื่อไปค้นหาใน domain name system เพื่อระบุถึง IP address ของชื่อนั้น ๆ เป็นชื่อที่ผู้จดทะเบียนเว็บไซต์ของตน บางครั้งอาจใช้ "website address" แทนได้

การเลือกหรือกำหนด Domain name ควรเป็นชื่อที่ตั้งขึ้นเพื่อให้ง่ายต่อการจดจำ ทั้งนี้เนื่องจาก IP address ที่เป็นรหัสตัวอักษรและหมายเลข นั้นจดจำได้ยากกว่า และเมื่อการเปลี่ยนแปลง IP address ผู้ใช้ไม่จำเป็นต้องรับรู้หรือจดจำ IP address ใหม่ ยังคงใช้ domain name เดิมได้ต่อไป

อักขระที่จะใช้ในการตั้ง domain name ได้แก่ ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ตัวเลข และ "-" (ยัติภังค์) คั่นด้วย "." (มหัพภาค) โดยปกติ จะขึ้นต้นด้วยตัวอักษร และลงท้ายด้วยตัวอักษรหรือตัวเลข มีความยาวตั้งแต่ 1 ถึง 63 ตัวอักษร ตัวอักษรตัวใหญ่เล็กถือว่าเหมือนกัน โดย 1 IP address สามารถใช้ domain name ได้มากกว่า 1 IP address และในทางกลับกัน หลาย ๆ domain name ก็อาจจะใช้ IP address เดียวกันได้

เงื่อนไขและความหมายของ Domain

การจดทะเบียน domain name แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. Domain name ระดับบนสุดตามหมวด เช่น .com, .net, .org เป็นต้น
2. Domain name ระดับบนสุดตามรหัสประเทศ เช่น .th สำหรับประเทศไทย

หลักที่ใช้ในการตั้ง Domain name

1. ความยาวของชื่อโดเมนตั้งได้ไม่เกิน 63 ตัวอักษร
2. สามารถใช้ตัวอักษรภาษาอังกฤษผสมกับตัวเลข หรือเครื่องหมายขีด (-) ได้

3. ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ใช้ตัวเล็กหรือตัวใหญ่ก็ได้
4. ห้ามใช้เครื่องหมายขีด (-) นำหน้าชื่อโดเมน
5. ห้ามเว้นวรรคในชื่อโดเมน

ตาราง 79 Domain name ระดับบนสุด ตามหมวด

Domain name ระดับบนสุดตามหมวด	ชื่อเต็ม	วัตถุประสงค์
.com	commercial	ธุรกิจ การค้า บริษัท การพาณิชย์
.net	network	ระบบเครือข่าย
.org	organization	องค์กรที่ไม่หวังผลตอบแทนทางธุรกิจ
.biz	business	กลุ่มธุรกิจโดยทั่วไป ลักษณะเดียวกับ .com
.info	information	การให้ข้อมูล
.us	United States	ระดับบนสุดตามประเทศ
.cn	China	ระดับบนสุดตามประเทศ
.mobi	Mobile	โทรศัพท์เคลื่อนที่

ตาราง 80 Domain name ระดับบนสุด ตามหมวด/ประเทศ

Domain name ระดับบนสุดตามหมวด/ประเทศ	ชื่อเต็ม	วัตถุประสงค์
.ac.th	<u>a</u> cademic in Thailand	สถาบันการศึกษา ประเทศไทย
.co.th	<u>c</u> omercial in Thailand	ธุรกิจ การค้า บริษัท การพาณิชย์ ประเทศไทย
.go.th	<u>g</u> overnment	สถาบัน องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น หน่วยงาน ภายใต้การบริหารงานรัฐบาลไทย
.in.th	<u>i</u> ndividual หรือ <u>i</u> n Thailand	บุคคลหรือหน่วยงานทั่วไป
.mi.th	<u>m</u> ilitary organization	สถาบัน หน่วยงานด้านการทหาร
.net.th	<u>n</u> etwork Thailand	ระบบเครือข่าย ประเทศไทย
.or.th	<u>o</u> rganization Thailand	องค์กรที่ไม่หวังผลตอบแทนทางธุรกิจ ประเทศไทย

Server (เครื่องบริการ หรือ เครื่องแม่ข่าย)

Server หรือ เครื่องบริการ หรือ เครื่องแม่ข่าย คือ เครื่องหรือโปรแกรมคอมพิวเตอร์ซึ่งทำงานให้บริการในระบบ network แก่ลูกข่าย (ผู้รับบริการ) เครื่องคอมพิวเตอร์ที่ทำหน้าที่เป็น server นี้ควรมีประสิทธิภาพสูง มีความเสถียร สามารถให้บริการแก่ผู้ใช้หรือลูกข่ายได้เป็นจำนวนมากในเวลาเดียวกัน โดยภายใน server ให้บริการได้ด้วยโปรแกรมบริการ ซึ่งทำงานอยู่บนระบบปฏิบัติการอีกชั้นหนึ่ง

Server มีหลายชนิด ในการศึกษาครั้งนี้ เน้นเฉพาะ web server เนื่องจากเป็นเครื่องแม่ข่ายที่ทำงานด้านการให้บริการ website ผู้ใช้เรียกชม web page ได้โดยใช้ HTTP Protocol ผ่านทาง web browser เช่น Google chrome.

การใช้งาน Server

1. ผู้ใช้ป้อนยูอาร์แอล (URL) ใน web browser program
2. เครื่องลูกข่าย (client) จะแปลง Host ภายใน URL ไปเป็น IP Address
3. เครื่องลูกข่าย (client) ติดต่อกับ web server โดยปรกติจะใช้ Protocol TCP Port 80
4. เมื่อทำการเชื่อมต่อเสร็จ จะใช้ Protocol HTTP ในการเรียกดึงข้อมูลที่ต้องการ

Server software

Server software สำหรับ Web server ที่ได้รับความนิยมสูงสุด 4 อันดับแรก คือ

1. Apache HTTP Server จาก A
2. Internet Information Server (IIS) จากไมโครซอฟท์
3. Sun Java System Web Server จากซัน ไมโครซิสเต็มส์ (เดิมชื่อ Sun ONE Web Server, iPlanet Web Server และ Netscape Enterprise Server)
4. Zeus Web Server จาก Zeus Technology

การเลือกใช้ domain และ server สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะและพื้นที่ของการใช้งาน ข้อมูลจริง คือ การเช่าจากผู้ให้บริการเอกชน และการฝาก subdomain/server กับสถาบัน ดัง ตาราง 81 ตาราง 81 เปรียบเทียบการเช่าจากผู้ให้บริการเอกชน และการฝาก subdomain/server กับสถาบัน

	การเช่า server จากผู้ให้บริการเอกชน	การฝาก subdomain/server กับสถาบัน
ข้อดี	<ol style="list-style-type: none"> กำหนดชื่อโดเมนได้ง่าย ตามที่ต้องการ ไม่ต้องบริหารจัดการแก้ไขปัญหาได้เมื่อเวลาเครื่องมีปัญหา มีระบบบริหารจัดการข้อมูล หรือการอัปเดตไฟล์ได้ง่าย สะดวก สามารถเข้าสู่ระบบการใช้งานได้โดยตรง 	<ol style="list-style-type: none"> ไม่ต้องเสียค่าในการเช่าพื้นที่สำหรับจัดเก็บข้อมูล ทำให้ระบบเป็นส่วนหนึ่งของหน่วยงาน มีความน่าเชื่อถือกับผู้ใช้งาน
ข้อเสีย	<ol style="list-style-type: none"> มีค่าใช้จ่ายในการเช่าพื้นที่เพื่อเก็บข้อมูลในเครื่องแม่ข่ายจากผู้ให้บริการเว็บโฮสติ้ง 	<ol style="list-style-type: none"> โดเมนจะขึ้นต้นเป็นชื่อหน่วยงาน ทำให้ชื่อระบบจะถูกกำหนดเป็นซับโดเมน ทำให้การค้นหาหรือเข้าสู่ระบบได้ยากขึ้น ไม่สามารถจัดการระบบได้โดยตรง ต้องติดต่อผ่านเจ้าหน้าที่หน่วยงานในการแก้ไข้ปัญหา ระบบไม่มีความยืดหยุ่น ไม่สามารถปรับแก้ไขระบบได้

3.1.2 ศึกษาการสร้าง web page เช่น เว็บไซต์สำเร็จรูปเอกชน, ใช้โปรแกรมฟรี, ใช้ระบบ Facebook

ผลการศึกษาทางเลือกในการสร้าง web page เว็บไซต์สำเร็จรูปเอกชน, ใช้โปรแกรมฟรี, ใช้ระบบ Facebook ดังแสดงใน ตาราง 82

ตาราง 82 เปรียบเทียบทางเลือกในการสร้าง web page

	Web สำเร็จรูป	Free program	Facebook
ข้อดี	<ol style="list-style-type: none"> 1. สร้างเว็บไซต์ได้ง่าย โดยเลือกรูปแบบที่ได้พัฒนาเอาไว้แล้ว 2. พัฒนาหน้าเว็บไซต์ และฐานข้อมูลได้ง่าย และรวดเร็ว 3. ไม่ต้องเสียค่าจ้างออกแบบเว็บไซต์ซึ่งมีราคาสูง 4. ไม่จำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานด้านการทำเว็บไซต์มาก่อน 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการจัดทำเว็บไซต์ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. สร้างเว็บไซต์ได้ง่ายเหมือน web สำเร็จรูป 2. ไม่มีค่าใช้จ่ายในการจัดทำหน้าเว็บไซต์
ข้อเสีย	<ol style="list-style-type: none"> 1. มีข้อจำกัดในการออกแบบรูปแบบเว็บไซต์ที่เป็นกรณีพิเศษ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ผู้พัฒนาเว็บต้องมีความรู้พื้นฐานในการทำเว็บไซต์ 2. การออกแบบเว็บไซต์มีข้อจำกัดตามโปรแกรมที่ใช้งาน 3. อาจพบข้อผิดพลาดในการพัฒนาระบบที่เกิดจากผู้ใช้งานหรือขั้นตอนต่างๆ ที่ยุ่งยาก 	<ol style="list-style-type: none"> 1. มีข้อจำกัดในการออกแบบหน้าเว็บไซต์ 2. ไม่สามารถรองรับระบบฐานข้อมูลได้

3.1.3 ศึกษากระบวนการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition) เช่น Google analytic, Facebook analytic

ผลการศึกษาเปรียบเทียบระบบการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition) เช่น Google analytic, Facebook analytic ดังแสดงใน ตาราง 83

ตาราง 83 เปรียบเทียบระบบการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition)

	Google analytic	Facebook analytic
คุณสมบัติ	เป็นระบบช่วยเก็บข้อมูลของกลุ่มผู้ใช้งานบนเว็บไซต์เพื่อช่วยให้เจ้าของเว็บไซต์สามารถนำรายงานต่าง ๆ ไปใช้วิเคราะห์เพื่อเข้าใจกับพฤติกรรมของผู้ใช้งานบนเว็บไซต์	เป็นเครื่องมือที่สามารถวิเคราะห์การเข้าถึงได้จากเบราว์เซอร์ หรือ แอป Facebook Analytics
ข้อดี	<ol style="list-style-type: none"> ติดตั้งง่าย และไม่มีค่าใช้จ่าย ใช้ได้สำหรับทุกโดเมนเว็บไซต์ วิเคราะห์ข้อมูลพฤติกรรมการใช้งานเว็บไซต์ได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ ในด้านต่างๆ ดังนี้ <ol style="list-style-type: none"> ประชากรศาสตร์ เช่น เพศ อายุ เมืองหรือประเทศที่อาศัยอยู่ และข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความสนใจและความชอบส่วนตัวของผู้เข้าชมเว็บไซต์ ยี่ห้อและอุปกรณ์ของผู้เข้าชมเว็บไซต์ พฤติกรรมการเข้าใช้งานในแต่ละหน้าเว็บไซต์ ระยะเวลาการเข้าชมแต่ละหน้าเว็บไซต์ 	<ol style="list-style-type: none"> ติดตั้งง่าย และไม่มีค่าใช้จ่าย วิเคราะห์ข้อมูลพฤติกรรมบนเว็บไซต์ ข้อมูล Activity ต่างๆ ที่เกิดขึ้นบนเว็บไซต์ และข้อมูลประชากรศาสตร์ (Demographic) รวมถึงพฤติกรรม (Behavior) ของคนที่เข้ามาใช้งานเว็บไซต์ นำไปวิเคราะห์แสดงออกมาเป็นกราฟข้อมูลรูปแบบต่างๆ และมีคุณสมบัติเหมือน Google analytic
ข้อเสีย	Not applicable	<ol style="list-style-type: none"> ต้องสมัครแอป Facebook ก่อนจึงจะสามารถวิเคราะห์ข้อมูลได้

3.1.4 ศึกษากระบวนการแบ่งปันข้อมูล (data sharing) เช่น chat room, Facebook/Line

ผลการศึกษาทางเลือกระบบการแบ่งปันข้อมูล (data sharing) เช่น chat room, Facebook/Line ดังแสดงใน ตาราง 84

ตาราง 84 ทางเลือกระบบการแบ่งปันข้อมูล (data sharing)

	Chat room	Facebook/Line
คุณสมบัติ	เป็นการสนทนาออนไลน์ที่มีการส่งข้อความถึงกัน โต้ตอบกันได้อย่างรวดเร็ว และสามารถแลกเปลี่ยน ความคิดเห็นกันผ่านเว็บไซต์ที่ให้บริการห้อง สนทนา	เป็นการสนทนาออนไลน์ที่มีการส่งข้อความถึง กัน โต้ตอบกันได้อย่างรวดเร็ว แลกเปลี่ยน ความคิดเห็นผ่าน Facebook/Line
ข้อดี	1. สามารถติดตั้งภายในเว็บไซต์ได้ 2. กำหนดให้เป็นข้อมูลส่วนตัว หรือข้อมูลที่เปิด เผยได้	1. สามารถติดตั้งภายในเว็บไซต์ได้ 2. กำหนดให้เป็นข้อมูลส่วนตัว หรือข้อมูลที่เปิด เผยได้
ข้อเสีย	1. แสดงความคิดเห็นต่อสาธารณชนที่เปิดเผยได้ จึงต้องมีระบบการตรวจสอบ	1. แสดงความคิดเห็นสาธารณชนที่เปิดเผยได้ จึงต้องมีระบบตรวจสอบ

3.2 การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital

การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital พิจารณาจากลำดับขั้นตอน ดังต่อไปนี้

- ก. คัดเลือกและดำเนินการ domain และ server
- ข. คัดเลือกและดำเนินการ web page
- ค. คัดเลือกและดำเนินการวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition)
- ง. คัดเลือกและดำเนินการระบบการแบ่งปันข้อมูล (data sharing)

ผลของการจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital ดังแสดงใน

ตาราง 85 การจัดการระบบการนำเสนอข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital

การนำเสนอข้อมูลแบบ digital	ผลการคัดเลือก	การดำเนินการ
ก. domain และ server	การเช่า server จากผู้ให้บริการเอกชน	คัดเลือกผู้ให้บริการที่รับจดโดเมน
ข. web page	การทำเว็บไซต์สำเร็จรูป	และให้บริการเช่า server พร้อมกับให้บริการทำเว็บไซต์สำเร็จรูป
ค. การวิเคราะห์การเข้าถึงข้อมูล (data acquisition)	การใช้ระบบ Google analytic	ขึ้นทะเบียนกับ Google เพื่อรับบริการ Google analytic โดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใดใด
ง. ระบบการแบ่งปันข้อมูล (data sharing)	ควรใช้ chatroom และ social media อื่นๆ ภายใต้อินเทอร์เน็ต ได้แก่ facebook Line สำหรับการสื่อสาร แบ่งปันข้อมูล	กำหนดให้ระบบการแบ่งปันข้อมูลดังกล่าว เป็นระบบสื่อสารระหว่างผู้ใช้งานกับผู้ดูแลระบบเท่านั้น

3.3 การจัดการข้อมูลวิจัยสารสนเทศ (Research information management)



3.3.1 การ organize ข้อมูลสารสนเทศการวิจัย

จากการศึกษาหา platform การ organize ข้อมูลวิจัยสารสนเทศแบบ digital ที่เหมาะสม พบว่า โดยทั่วไปในการนำเสนอข้อมูลนั้น ส่วนมากข้อมูลไม่ได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพนัก จากข้อจำกัดหลายประการ เช่น ข้อมูลอยู่ในรูปแบบเอกสารตีพิมพ์ทางราชการ (hard copy) มีรูปแบบการนำเสนอหรือใช้ภาษาที่เข้าใจยาก ขาดความคล่องตัวในการพกพาหรือใช้งานข้อมูล การจำกัดการเข้าถึงข้อมูล (limited access) ในเวลาที่จะใช้งาน สถานที่ใช้งาน และบุคคลากรที่ใช้งาน เป็นต้น ประกอบกับในปัจจุบันนี้การเข้าถึง internet หรือ online โดยใช้อุปกรณ์สื่อสารรูปแบบต่าง ๆ เช่น smart phone หรือ tablet เป็นไปได้โดยสะดวกและรวดเร็ว ในขณะที่สื่อสังคม (social media) ที่เข้าถึงผู้ใช้อุปกรณ์สื่อสารจำนวนมากพร้อมกันกลายเป็นรูปแบบที่เป็นมาตรฐานทั่วไป ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงมีการปรับรูปแบบการนำเสนอข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ เพื่อการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเป็นรูปธรรมและใช้ได้ในทางปฏิบัติจริง โดยจัดข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบ electronic หรือ digital online ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลผู้ประกอบการอาหารและเครื่องดื่ม
2. ข้อมูลอาหารและเครื่องดื่มที่ตรวจสอบ
3. ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนในอาหารและเครื่องดื่มที่เก็บตัวอย่าง

3.3.2 การ publish ข้อมูลสารสนเทศการวิจัย

1. ข้อมูลของผู้ประกอบการอาหารและเครื่องดื่ม
 - หมายเลขประจำตัวผู้ประกอบการ
 - ชื่อ-นามสกุล ภาพถ่ายผู้ประกอบการและร้านค้า ที่อยู่ เบอร์โทรศัพท์ e-mail ประเภทธุรกิจ ตำแหน่งที่ตั้ง GPS เป็นต้น
2. ข้อมูลสินค้าอาหาร ได้แก่ รายการอาหาร ประเภทสินค้า รายละเอียดของสินค้า และภาพถ่ายสินค้า เป็นต้น และแสดงรายละเอียดของสินค้า
3. ข้อมูลการตรวจสอบการปนเปื้อนในอาหารในร้านอาหารและวันที่ตรวจสอบ รวมถึงรูปที่ใช้สื่อสารให้กับผู้บริโภคเกิดความเข้าใจถึงความเสี่ยงที่เกิดจากการบริโภค
4. ข้อมูลที่ปรากฏบนป้ายประชาสัมพันธ์โครงการ

- ชื่อโครงการ
- สัญลักษณ์ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) 
- สัญลักษณ์ ประจำจังหวัด 
- ระยะเวลาเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง
- ตราสัญลักษณ์ของโครงการฯ

3.3.3 การเผยแพร่หรือสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี

เงื่อนไขของการเผยแพร่หรือสื่อสารข้อมูลความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี

1. รายงานเฉพาะร้านค้าที่มีระดับความปลอดภัยในระดับที่ยอมรับได้ (acceptable)
2. รายงานเฉพาะผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บได้เท่านั้น (history)
3. ไม่ประกันความปลอดภัยของอาหารในอนาคต
4. นำเสนอข้อมูลในลักษณะทางเดียว โดยไม่รับการ comment จาก user เพื่อป้องกัน comment ด้านลบจากร้านค้าคู่แข่ง หรือกระทั่งประเทศคู่แข่ง หรือ กรณีนักท่องเที่ยวที่คึกคะนอง
5. พยายามนำเสนอในรูปแบบ info graphic เพื่อให้ผู้บริโภคและนักท่องเที่ยวเข้าใจได้ง่าย ไม่สับสน

3.4 การจัดการระบบระบุพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Identification system)

3.4.1 QR Codes สำหรับพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศ

สำรวจความต้องการของผู้ประกอบการที่สมัครใจเข้าร่วมระบบจัดการข้อมูลสารสนเทศการวิจัยเชิงปฏิสัมพันธ์ผ่านเทคโนโลยีสารสนเทศ ตามด้วยการกำหนด QR Code สำหรับพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศจำนวน 6 ภาค (QR code generation) ดังแสดงใน ภาพ 81 ประกอบด้วย

- | | |
|--------------------------|--|
| 1. ภาคกลาง | จังหวัดกรุงเทพ |
| 2. ภาคตะวันตก | จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ |
| 3. ภาคตะวันออก | จังหวัดชลบุรี |
| 4. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ | จังหวัดขอนแก่น |
| 5. ภาคใต้ | จังหวัดภูเก็ต และ/หรือ จังหวัดสุราษฎร์ธานี |
| 6. ภาคเหนือ | จังหวัดเชียงใหม่ |

ดำเนินการจัดทำและนำส่งป้าย QR code ประจำพื้นที่เก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถีเป็นเครื่องมือให้ผู้บริโภคเข้าถึงข้อมูลสารสนเทศการวิจัยของตัวผู้ประกอบการนั้นๆ (QR sign made/ delivered) ดังแสดงใน ภาพ 81 ในช่วงฤดูกาลที่ 3 ของการเก็บตัวอย่างอาหารริมบาทวิถี




โครงการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารอาหารริมบาทวิถี
 จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

ร้านสตรีทฟู้ด เยาวราช กทม.
 Yaowarat street food, Bangkok



 SCAN ME



ดาวน์โหลดบนแอปพลิเคชันได้ที่
 WWW.ARDASTREETFOOD.ORG
 E-mail: ardstreetfood@gmail.com

ดาวน์โหลดสำหรับมือถือ "ARDASTREETFOOD"
 Please scan the QR Code or follow
 below links to download this application










โครงการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารอาหารริมบาทวิถี
 จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

ร้านสตรีทฟู้ดหัวหิน ประจวบคีรีขันธ์
 Huahin street food



 SCAN ME



ดาวน์โหลดบนแอปพลิเคชันได้ที่
 WWW.ARDASTREETFOOD.ORG
 E-mail: ardstreetfood@gmail.com

ดาวน์โหลดสำหรับมือถือ "ARDASTREETFOOD"
 Please scan the QR Code or follow
 below links to download this application










โครงการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารอาหารริมบาทวิถี
 จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

ร้านสตรีทฟู้ด จังหวัดชลบุรี
 Chonburi street food



 SCAN ME



ดาวน์โหลดบนแอปพลิเคชันได้ที่
 WWW.ARDASTREETFOOD.ORG
 E-mail: ardstreetfood@gmail.com

ดาวน์โหลดสำหรับมือถือ "ARDASTREETFOOD"
 Please scan the QR Code or follow
 below links to download this application










โครงการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารอาหารริมบาทวิถี
 จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

ร้านสตรีทฟู้ด จังหวัดขอนแก่น
 Khonkaen street food



 SCAN ME



ดาวน์โหลดบนแอปพลิเคชันได้ที่
 WWW.ARDASTREETFOOD.ORG
 E-mail: ardstreetfood@gmail.com

ดาวน์โหลดสำหรับมือถือ "ARDASTREETFOOD"
 Please scan the QR Code or follow
 below links to download this application










โครงการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารอาหารริมบาทวิถี
 จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

ร้านสตรีทฟู้ด จังหวัดภูเก็ต
 Phuket street food



 SCAN ME



ดาวน์โหลดบนแอปพลิเคชันได้ที่
 WWW.ARDASTREETFOOD.ORG
 E-mail: ardstreetfood@gmail.com

ดาวน์โหลดสำหรับมือถือ "ARDASTREETFOOD"
 Please scan the QR Code or follow
 below links to download this application










โครงการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารอาหารริมบาทวิถี
 จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

ร้านสตรีทฟู้ด จังหวัดเชียงใหม่
 Chiangmai street food



 SCAN ME



ดาวน์โหลดบนแอปพลิเคชันได้ที่
 WWW.ARDASTREETFOOD.ORG
 E-mail: ardstreetfood@gmail.com

ดาวน์โหลดสำหรับมือถือ "ARDASTREETFOOD"
 Please scan the QR Code or follow
 below links to download this application







ภาพ 81 QR Code สำหรับพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีทั่วประเทศจำนวน 6 ภาค

3.4.2 การจับคู่ข้อมูลสารสนเทศวิจัย กับ QR Code ประจำพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Information vs. QR synchronization)

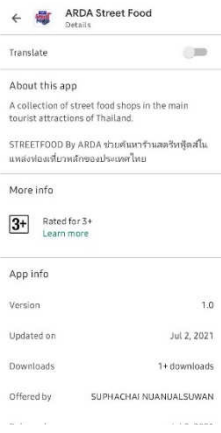
ผลการจับคู่ข้อมูลสารสนเทศวิจัย กับ QR Code ประจำพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถี (Information vs. QR synchronization) ดำเนินการใน Application ทั้งชนิด Android และ iOS ซึ่งสามารถจะ download และ install ได้ผ่าน QR Code ดังแสดงใน ภาพ 82



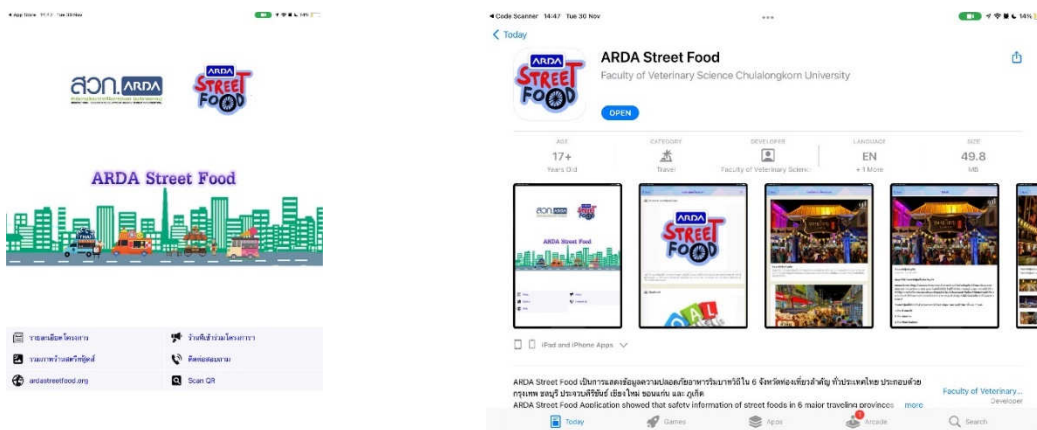
ภาพ 82 QR code สำหรับการ download และ install Application สารสนเทศอาหารริมบาทวิถี

3.4.3 การจัดการระบบระบุพื้นที่จำหน่ายอาหารริมบาทวิถีนำเสนอใน Application ชนิด Android และ iOS

ดำเนินการจัดทำ Mobile Application ทั้งชนิด Android และ iOS ดังแสดงใน ภาพ 83 และ ภาพ 84 ตามลำดับ ซึ่งสามารถจะ download และ install ได้ผ่าน QR Code ดังแสดงใน ภาพ 82 ฐานข้อมูลใน Mobile Application เก็บส่วนหนึ่งไว้ใน Web page : <https://www.ardastreetfood.org/> ดังแสดงใน ภาพ 85



ภาพ 83 ดำเนินการจัดทำ Mobile Application ชนิด Android



ภาพ 84 ดำเนินการจัดทำ Mobile Application ชนิด iOS



ภาพ 85 Web page : <https://www.ardastreetfood.org/>

Information graphic : อาหารริมบาทวิถี

ข้อมูลหรือเนื้อหาส่งเสริมความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี ดังแสดงใน Information Graphic 6

โครงการการประเมินความเสี่ยงและการสื่อสารความเสี่ยง อาหารริมบาทวิถีที่จำหน่ายในจังหวัดท่องเที่ยวหลักของประเทศไทย

Salmonella spp.

โรคอาหารเป็นพิษเป็นโรคที่พบได้บ่อยในประชาชนทุกวัย เกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อน โดยมีอาการท้องเสียเด่น (อาการระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง) มีอาการได้ตั้งแต่ 6 ชั่วโมง-5 วัน

แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค
“อาหารเป็นพิษ”??
มีอะไรบ้าง?

Vibrio cholerae

เชื้อสัณฐานทรงแท่งเป็นรูปวงรีในน้ำและอาหาร โดยเฉพาะอาหารทะเลที่ดิบหรือปรุงไม่สุก ระยะฟักตัวเฉลี่ย 1-3 วัน อาการสำคัญคือ อูจาระร่วงเฉียบพลันอย่างรุนแรง มักพบอาการคลื่นไส้อาเจียนร่วมด้วย แต่มักไม่พบไข้หรืออาการปวดท้อง ถ้าไม่ได้รับการรักษาอาจทำให้เสียชีวิตได้

Escherichia coli (E. coli)

โรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน คือ กลุ่มอาการที่มีการถ่ายอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำ อาจมีอาการอาเจียนหรือเป็นไข้ด้วย ลักษณะอาการทางคลินิกที่ใช้ในการพิจารณาวินิจฉัย คือ อาการถ่ายอุจจาระเหลวอย่างน้อย 3 ครั้ง ใน 24 ชั่วโมง หรือถ่ายเป็นน้ำอย่างน้อย 1 ครั้ง อาจร่วมกับอาการอาเจียนหรืออาการขาดน้ำ

Staphylococcus aureus

เป็นโรคที่พบได้บ่อยในประชาชนทุกวัย เกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อน มีอาการอาเจียนเด่นกว่าอุจจาระร่วง หรือ มีอาการอาเจียนน้ำเหลืองหรืออุจจาระร่วง เกิดภายใน 1-6 ชั่วโมง มักเกิดจากสารพิษ ซึ่งสารพิษดังกล่าวไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน

วิธีป้องกันการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ



กินอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ
ไปกินอาหารดิบ
หรือจิ้มจุ่มก็งด



ล้างมือให้สะอาด
ก่อนการปรุงอาหาร
หรือรับประทานอาหาร



ป้องกันการปนเปื้อนข้ามจากอาหารดิบสู่อาหารสุก

Information Graphic 6 ส่งเสริมความปลอดภัยอาหารริมบาทวิถี

เอกสารอ้างอิง

- โรจนศักดิ์ โฉมวิไลลักษณ์ และ ธนธร วชิรขจร พ.ศ. 2558 การท่องเที่ยวเพื่อการเรียนรู้เกี่ยวกับอาหารโดยกลุ่มหาบเร่แผงลอยกับการตัดสินใจเลือกสถานที่ท่องเที่ยว (Gastronomic tourism of hawking food and tourism destination selection) โดย โรจนศักดิ์ โฉมวิไลลักษณ์และธนธร วชิรขจร พ.ศ. 2558
- อริยา อรุณินท์. 2545. "การจัดกิจกรรมสาธารณะบนถนนสาธารณะ : บทวิพากษ์ถนนคนเดินและนโยบายการใช้พื้นที่ถนนกรณีศึกษากรุงเทพมหานคร". การประชุมทางวิชาการการสาธารณสุข
- Abdalla, M.A., Suliman, S.E. and Bakhiet, A.O., 2009. Food safety knowledge and practices of street foodvendors in Atbara City (Naher Elneel State Sudan). *African Journal of Biotechnology*, 8(24).
- Abdallah, M.S. and Mustafa, N.E.M., 2010. Bacteriological quality of street-vended Um-Jinger, a traditional Sudanese food. *Internet Journal of Food Safety*, 12(1).
- Abdussalam, M., Kaferstein, F.K. (1993). Safety of street foods. *World Health. Forum*. 14: 191-194.
- Askarian, M., Kabir, G., Aminbaig, M., Memish, Z.A. and Jafari, P., 2004. Knowledge, attitudes, and practices of food service staff regarding food hygiene in Shiraz, Iran. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 25(1), pp.16-20.
- Bean, N.H. and Griffin, P.M., 1990. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973–1987: pathogens, vehicles, and trends. *Journal of food protection*, 53(9), pp.804-817.
- Benny-OllivieraLLIVIERA, C. and Badrie, N., 2007. Hygienic practices by vendors of the street food “doubles” and public perception of vending practices in Trinidad, West Indies. *Journal of food safety*, 27(1), pp.66-81. Biswas et al., 2010
- Bryan, F.L., Jermini, M., Schmitt, R., Chilufya, E.N., Michael, M., Matoba, A., Mfume, E. and Chibiya, H., 1997. Hazards associated with holding and reheating foods at vending sites in a small town in Zambia. *Journal of Food Protection*, 60(4), pp.391-398.
- CAC/RCP 76R-2017. Region Code of Hygienic Practice for Street-vended foods in Asia.
- Canini, N.D., Bala, J.J.O., Maragiot, E.N. and Mediana, B.C.B., 2013. Evaluation of Street Food Vending in Ozamiz City. *Journal of Multidisciplinary Studies*, 1(1).
- Cash, R.A., Music, S.I., Libonati J.P., Snyder, M.L.m Wenzel, R.P., and Hornick, R.B. 1974. Response of man to infection with *Vibrio cholerae*. i.Clinical, serological, and bacteriologic responses to a known inoculum. *Journal of Infectious Diseases*. 129(1):45-52.

- Choudhury, M., Mahanta, L., Goswami, J., Mazumder, M. and Pegoo, B., 2011. Socio-economic profile and food safety knowledge and practice of street food vendors in the city of Guwahati, Assam, India. *Food Control*, 22(2), pp.196-203.
- Chukuezi, C.O., 2010. Food safety and hygienic practices of street food vendors in Owerri, Nigeria. *Studies in sociology of science*, 1(1), p.50.
- da Silva, S.A., Cardoso, R.D.C.V., Góes, J.Â.W., Santos, J.N., Ramos, F.P., de Jesus, R.B., do Vale, R.S. and da Silva, P.S.T., 2014. Street food on the coast of Salvador, Bahia, Brazil: A study from the socioeconomic and food safety perspectives. *Food control*, 40, pp.78-84.
- Echeverria, P., Taylor, D.N., Seriwatana, J., Leksomboon, U., Chaicumpa, W., Tirapat, C. and Rowe, B., 1987. Potential sources of enterotoxigenic *Escherichia coli* in homes of children with diarrhoea in Thailand. *Bulletin of the World Health Organization*, 65(2), p.207.
- Ekanem, E.O., 1998. The street food trade in Africa: safety and socio-environmental issues. *Food Control*, 9(4), pp.211-215.
- FAO/WHO. 2002. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological risk assessment series 2. pp.17-96.
- Garode, A.M. and Waghode, S.M., 2012. Bacteriological status of street-vended foods and public health significance: A Case Study of Buldana District, MS, India. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3), pp.69-71.
- Ghosh, M., Wahi, S., Kumar, M. and Ganguli, A., 2007. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and *Shigella* spp. in some raw street vended Indian foods. *International Journal of Environmental Health Research*, 17(2), pp.151-156.
- Gomes-Neves, E., Cardoso, C.S., Araújo, A.C. and da Costa, J.M.C., 2011. Meat handlers training in Portugal: a survey on knowledge and practice. *Food Control*, 22(3), pp.501-507.
- Gordon-Davis, L. (2011). The Hospitality Industry Handbook on Hygiene and Safety for South
- Kubheka, L.C., Mosupye, F.M. and Von Holy, A., 2001. Microbiological survey of street-vended salad and gravy in Johannesburg city, South Africa. *Food control*, 12(2), pp.127-131.
- Lee, H., Kim, K., Choi, K and Yoon, Y. 2015. Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* in natural and processed cheese in Korea. *J. Dairy Sci.* 98 :5931–5945.
- Lucca, A. and da Silva Torres, E.A.F., 2006. Street-food: the hygiene conditions of hot-dogs sold in São Paulo, Brazil. *Food Control*, 17(4), pp.312-316.

- Lues, J.F., Rasephei, M.R., Venter, P. and Theron, M.M., 2006. Assessing food safety and associated food handling practices in street food vending. *International Journal of Environmental Health Research*, 16(5), pp.319-328.
- Mahale, D.P., Khade, R.G. and Vaidya, V.K., 2008. Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India. *Internet Journal of Food Safety*, 10(9).
- Malhotra, S., 2016. Food safety issues related to street vendors. In *Food Safety in the 21st Century* (pp. 395-402).
- Mensah, P., Owusu-Darko, K., Yeboah-Manu, D., Ablordey, A., Nkrumah, F.K. and Kamiya, H., 1999. The role of street food vendors in the transmission of enteric pathogens. *Ghana med. J*, 33, pp.19-29.
- Mensah, P., Yeboah-Manu, D., Owusu-Darko, K. and Ablordey, A., 2002. Street foods in Accra, Ghana: how safe are they?. *Bulletin of the World Health Organization*, 80(7), pp.546-554.
- Mosupye, F.M. and von Holy, A., 2000. Microbiological hazard identification and exposure assessment of street food vending in Johannesburg, South Africa. *International Journal of Food Microbiology*, 61(2), pp.137-145.
- Muinde, O.K. and Kuria, E., 2005. Hygienic and sanitary practices of vendors of street foods in Nairobi, Kenya. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 5(1).
- Muyanja, C., Nayiga, L., Brenda, N. and Nasinyama, G., 2011. Practices, knowledge and risk factors of street food vendors in Uganda. *Food Control*, 22(10), pp.1551-1558.
- Nguyen, M.H., Nguyen, T.H.M. and Le, T.G., 2010. Food Safety Status of Public Kitchen in Company Enterprise at Ho Chi Minh City and Solution to Prevent Food Poisoning. *HCMC Medical Journal*, 14(1), pp.88-94.
- Nuanualsuwan, S. 2006. Food safety. Trironasan Publishing Limited. Bangkok. ISBN 974-9993-82-9 pp. 715
- Nuanualsuwan, S. 2009. Food Risk Analysis Trironasan Publishing Limited. Bangkok. ISBN 9786119030206 pp. 508
- Nuanualsuwan, S. 2011. Third Progress Report under Research project "Hazard Characterization of *Salmonella* spp. and *Vibrio parahaemolyticus*" supported by National Science and Technology Development Agency (NSTDA).
- Omemu, A.M. and Aderoju, S.T., 2008. Food safety knowledge and practices of street food vendors in the city of Abeokuta, Nigeria. *Food control*, 19(4), pp.396-402.
- Rane, S., 2011. Street vended food in developing world: hazard analyses. *Indian journal of microbiology*, 51(1), pp.100-106.

- Samapundo, S., Climat, R., Xhaferi, R. and Devlieghere, F., 2015. Food safety knowledge, attitudes and practices of street food vendors and consumers in Port-au-Prince, Haiti. *Food control*, 50, pp.457-466.
- Sani, N.A. and Siow, O.N., 2014. Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the Universiti Kebangsaan Malaysia. *Food Control*, 37, pp.210-217.
- Surujlal, M. and Badrie, N., 2004. Household consumer food safety study in Trinidad, West Indies. *Internet journal of food safety*, 3, pp.8-14.
- Tambekar, D.H., Kulkarni, R.V., Shirsat, S.D. and Bhadange, D.G., 2011. Bacteriological quality of street vended food panipuri: a case study of Amravati city (MS) India. *Bioscience Discovery*, 2(3), pp.350-54.
- Umoh, V.J. and Odoaba, M.B., 1999. Safety and quality evaluation of street foods sold in Zaria, Nigeria. *Food Control*, 10(1), pp.9-14.
- WHO/FNU/FOS/96.7, 1996 *Essential Safety Requirements for Street-vended Foods*. Food Safety Unit Division of Food and Nutrition World Health Organization
- Yuli, H., Robin, T., Chai, L.C., Lee, H.Y., Tang, S.Y. and Radu, S., 2008. Characterization of Enterobacter cloacae isolated from street foods. *ASEAN Food Journal*, 15(1), pp.57-64.
- Zhang, H., Lu, L., Liang, J. and Huang, Q., 2015. Knowledge, attitude and practices of food safety amongst food handlers in the coastal resort of Guangdong, China. *Food Control*, 47, pp.457-461.