บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสาร

แหนม และกรรมวิธีการผลิตแหนม (ปาริชาต นวรัตน์กิรมย์. 2538)

แหนม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำด้วยเนื้อหมูผสมกับส่วนผสมอื่น ๆ ได้แก่ เกลือ ดินประสิว กระเทียม ข้าวสุก พริกไทย หนังหมู และพริกขี้หนู ห่อเป็นมัดโดยใช้ใบตอง หรือถุงพลาสติก หมักจนได้รสเปรี้ยว (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม มอก. 1219-2537)

1. ส่วนประกอบหลักในการผลิตแหนม

แหนมประกอบด้วย เนื้อหมูไม่น้อยกว่าร้อยละ 55 นอกจากนี้ยังมีหนังหมู หูหมู หรือจมูกหมูไม่เกินร้อยละ 40 ของน้ำหนักทั้งหมด และเกลือ กระเทียม ข้าวสุก ดินประสิว และส่วนประกอบอื่น ๆ เช่น พริกสด น้ำตาล

2. กรรมวิธีการผลิตแหนม

2.1 การผลิตแหนมแบบดั้งเดิม

แหนมได้มีการผลิตมาเป็นเวลานานร่วมร้อยปี แหล่งที่มีการผลิตแห่งแรก คือ ภาคเหนือของประเทศไทย มีวิธีการผลิตที่แตกต่างกันหลายแบบได้แก่ นำเนื้อหมูไปคลุกกับเกลือและกระเทียม หมักไว้ในหม้อดินหรือ ห่อใบตองตึง ใบตองกล้วย หรือดัดแปลงโดยสับเนื้อหมูให้ละเอียดก่อนนำมาคลุกกับเกลือ ข้าวเหนียวนึ่ง กระเทียม หมักไว้ในหม้อดิน ซึ่งจะเรียกว่า "แหนมหม้อ" หรือห่อด้วยใบตอง สามารถนำมารับประทานได้ทั้งสด หรือนำมาย่างไฟ นอกจากนี้อาจเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 วัน เพื่อให้มีรสเปรี้ยวโดยธรรมชาติ อาหารชนิดนี้มีชื่อเรียกตามภาษาพื้นเมืองว่า "จิ้นส้ม" หรือ "แหนม" บางครั้งถ้านำแหนมมาหมักในกะละมัง จะเรียกว่า "แหนมกะละมัง"

2.2 การผลิตแหนมในปัจจุบัน

นำเนื้อหมูมาแล่เอามันออกให้หมด สับและบดให้ละเอียด และเพื่อเป็นการลดปริมาณความชื้นในเนื้อหมูให้น้อยลงมักจะซับเนื้อหมูด้วยผ้าขาวบางที่แห้งและสะอาดหลาย ๆ ครั้ง จากนั้นเติมดินประสิวลงในเนื้อผสมทั้งหมดให้เข้ากันดี เติมพริกไทย กระเทียม ข้าวเหนียวนึ่งหรือข้าวจ้าวสุก ที่บดละเอียดแล้วลงผสมอีก จากนั้นใส่หนังหมูที่ผ่านการต้มจนเดือดประมาณ 10 – 15 นาที สับเป็นชิ้นเล็กผสมให้เข้ากันอีกครั้ง สำหรับการห่อแหนมนั้นปริมาณที่ใส่ในแต่ละห่อขึ้นอยู่กับแต่ละโรงงาน เช่น อาจจะห่อในถุงพลาสติกประมาณ 30 – 40 กรัม พร้อมทั้งใส่พริกขี้หนูสด

ไปอีก 1 – 2 เม็ด เพื่อให้ดูน่ารับประทาน ห่อในรูปทรงกระบอกขนาด 1 นิ้ว ยาว 2.5 – 3.0 นิ้ว จากนั้นห่อทับด้วยใบตอง 3 – 5 ชั้น รัดให้แน่นด้วยเชือกเพื่อจำกัดอากาศในห่อ และทำให้จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักเจริญได้ดี ขั้นตอนการหมักแหนมแสดงดังรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 แสดงกรรมวิธีการหมักแหนม

ลักษณะที่ดีของแหนม

1. ลักษณะทั่วไป

คุณลักษณะที่ดีของแหนมต้องมีเนื้อแน่น คงรูป เนื้อหมู จมูกหมู หูหมู และส่วนประกอบต่าง ๆ ต้องผสมรวมกันอยู่อย่างทั่วถึง มีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนมที่พร้อมบริโภค มีกลิ่นและรสชาติดีปราศจากกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นเหม็นอับ และต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ เช่น กระดูก ยกเว้นขนที่อยู่ในหนังหมู และกระดูกอ่อนของใบหู แหนมควรมีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 22 และไขมันไม่เกินร้อยละ 8

2. วัตถุเจือปนอาหาร

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (มอก. 1219 – 2537) ได้กำหนดให้ในผลิตภัณฑ์แหนมมี mono- , di- phosphate และ poly - sodium / potassium salt อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือรวมกันในผลิตภัณฑ์สำเร็จ เมื่อคำนวณจากฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P_2O_5 ไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือ sodium / potassium nitrite ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และต้องไม่มีการเจือสีใด ๆ หรือวัตถุเจือปนในอาหารอื่น ๆ ที่ไม่ได้ระบุให้ใช้

3. สุขลักษณะของแหนม

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ได้กำหนดสุขลักษณะของแหนม ให้เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม มาตรฐานเลขที่ มอก.1219 – 2537

1. Salmonellae ต่อ 25 กรัม	ไม่พบ
2. *Staphylococcus aureus* ต่อ 0.1 กรัม	ไม่พบ
3. *Clostridium perfringens* ต่อ 0.1 กรัม	ไม่พบ
4. เชื้อรา ต่อ 1 กรัม	< 10 โคโลนี

4. การเก็บรักษา

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์ที่เก็บได้ไม่นาน เพราะจะเกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ง่าย แหนมสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 – 3 วัน หลังจากนั้นต้องเก็บรักษาไว้ในตู้แช่เย็น เพื่อมิให้แหนมมีรสเปรี้ยวยิ่งขึ้น แหนมที่หมักได้ที่แล้ว สามารถเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นได้นานประมาณ 7 วัน โดยที่รสชาติไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามแหนมสามารถเก็บได้นานเป็นเดือนในตู้เย็น แต่อาจทำให้รสชาติและเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงได้ โดยแหนมจะมีรสเปรี้ยวมากขึ้น เนื้อสัมผัสจะเหนียวน้อยลง และเนื้อจะยุ่ย

การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์และทางเคมีในระหว่างการหมักแหนม

1. การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักแหนม

การหมักแหนมทำในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ นอกจากนี้ในส่วนผสมยังมีเกลือเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจะเป็นการกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่จะเจริญได้ในแหนม โดยส่วนใหญ่จะเป็นจุลินทรีย์ชนิดที่ทนเกลือ และทนต่อสภาพที่ไม่มีออกซิเจนได้ เช่นจุลินทรีย์ประเภท lactic acid bacteria ซึ่งจะมีประโยชน์ในการหมัก เชื้อ lactic acid bacteria เป็นกลุ่มแบคทีเรียรูปแท่ง หรือรูปกลม ไม่สร้างสปอร์ ติดสีแกรมบวก เจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน จากการหมักน้ำตาลกลูโคสจะแบ่งเชื้อ lactic acid bacteria ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กลุ่มแรกเรียกว่า Homofermentative ซึ่งแบ่งเป็น Homofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* และ Homofermentative cocci เช่น *Pediococcus cerevisiae* , *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidiactici* จุลินทรีย์จะหมักน้ำตาลกลูโคสได้ผลิตภัณฑ์หลักคือ กรดแลคติก ส่วนจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งคือ Heterofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus brevis* จุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้กรดแลคติกประมาณร้อยละ 50 ที่เหลือจะเป็นกรดอื่น ๆ รวมทั้งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ในช่วงแรกของการหมักคือ 24 – 72 ชั่วโมง เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้จากการใช้ข้าวเหนียวนึ่ง หรือข้าวเจ้าสุกที่เติมลงไปในส่วนผสมเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต และใช้สารประกอบไนโตรเจนอินทรีย์ วิตามิน และเกลือแร่ที่มีอยู่ในเนื้อหมูเป็นแหล่งไนโตรเจนและเป็นสารที่ช่วยให้เจริญได้ดียิ่งขึ้น (growth factor) จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้แก่ Homofermentative และ Heterofermentative lactobacilli รวมทั้ง Homofermentative cocci ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและผลิตกรดแลคติกเป็นจำนวนมาก หลังจาก 72 ชั่วโมง ของการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ประภท Homofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* จะมีการเจริญเติบโตมากที่สุด รวมทั้ง *Pediococcus* บางสายพันธุ์ และ Heterofermentative lactobacilli ยังคงเจริญเติบโตอยู่บ้าง นอกจากนี้ยังพบ *Streptococcus* และ *Leuconostoc* จนกระทั่ง 96 ชั่วโมงของการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถทนกรดได้ส่วนใหญ่จะถูกทำลายโดยสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเช่นพวก coliform bacteria

2. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมักแหนม

จุลินทรีย์ lactic acid bacteria เป็นเชื้อสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่พึงประสงค์ เช่น แหนมมีรสเปรี้ยว เนื้อมีสีชมพู แน่นและมีกลิ่นรสเฉพาะที่ไม่พบในอาหารชนิดอื่น การเกิดรสเปรี้ยวในแหนมเกิดขึ้น เนื่องจากการผลิตกรดแลคติกของ lactic acid bacteria ที่มีการเจริญได้ดีในสภาพที่มีเกลือและไม่มีออกซิเจน การผลิตกรดแลคติกออกมามากจะทำให้ค่าความ

เป็นกรด - ด่าง (pH) ลดลง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณกรดแลคติก ประมาณร้อยละ 0.5 – 1.0 คิดเทียบกับปริมาณกรดทั้งหมด และมี pH 4.3 – 4.5

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด - ด่างหรือความเป็นกรดทั้งหมดของแหนม จะเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงระยะเวลาในการบริโภคแหนม ค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับลักษณะเนื้อสัมผัส ทำให้โปรตีนเนื้อมีลักษณะเปลี่ยนไป เนื้อแน่นขึ้น และสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ โดยพบว่าแหนมที่มี pH 4.3 และมีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 1.0 เป็นระดับที่ผู้บริโภคมีการยอมรับในลักษณะเนื้อสัมผัส และสีของผลิตภัณฑ์มากที่สุด ซึ่งเป็นแหนมที่มีการหมักได้ 3 – 4 วัน

การเปลี่ยนแปลงสีโดยธรรมชาติจะเกิดจากแบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทให้ เป็นไนไตรท์ (nitrate reducing micrococci) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงสียังเกิดจากโซเดียมไนเตรทที่เติมลงไป ซึ่งจะช่วยให้เกิดสีชมพูได้ดีขึ้นเช่นเชื้อ *Micrococcus varians* จะเปลี่ยนโซเดียมไนเตรทให้เป็นโซเดียมไนไตรท์ ที่จะทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน (myoglobin) ของเนื้อ ซึ่งมีสีแดงเข้มกลายเป็นสีแดงของไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) และเปลี่ยนเป็นสีชมพูของไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosohemochrome) การใช้โซเดียมไนเตรทร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ทำให้มีผลดีต่อผลิตภัณฑ์มากกว่าการใช้สารอย่างใดอย่างหนึ่งแต่ไม่ควรเติมในปริมาณที่มากกว่ามาตรฐานอุตสาหกรรมแหนมกำหนดไว้คือ โซเดียมไนเตรทไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมแหนม ส่วนโซเดียมไนไตรท์ไม่เกิน 125 กรัมต่อกิโลกรัมแหนม เพราะอาจทำให้เกิดสารประกอบเอมีนได้เป็นสารไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งได้ นอกจากนี้โซเดียมไนเตรทที่เติมลงไปยังมีประโยชน์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยเฉพาะแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตเช่น *Clostridium*

บทบาทของส่วนประกอบต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์แหนม

1. เกลือ (salt)

เกลือมีบทบาทในผลิตแหนม ดังนี้คือป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เกลือที่นำมาใช้อยู่ในรูปของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือทราบกันในชื่อสามัญคือเกลือแกงที่นิยมใช้ในการประกอบอาหารโดยเติมเพียงเล็กน้อยในรูปของสารปรุงรส แต่ถ้าจะใช้เพื่อการถนอมอาหารจะต้องใช้ในปริมาณสูง เกลือที่เหมาะสมในการใช้หมักเนื้อสัตว์ควรเป็นเกลือที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว นิยมใช้เกลือสินเธาว์มากกว่าเกลือสมุทร เนื่องจากเกลือสมุทรอาจมีแบคทีเรียที่ทนความเค็มสูง (halophilic bacteria) และมีอนุมูลของสารพวกแคลเซียม แมกนีเซียม ซึ่งมีผลต่อการดูดซึมของน้ำเกลือ ทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง นอกจากนี้อาจมีโลหะหนัก เช่น ผลึกทองแดง ถ้ามีอยู่ในเกลือที่ใช้ในการหมักเนื้อจะมีผลเร่งปฏิกิริยาการหืนของไขมัน แต่ถ้าเกลือ

สมุทรได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งไม่พึงประสงค์ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ก็สามารถนำมาใช้ในการหมักได้

เกลือมีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เนื่องจาก

1. เกลือเป็นตัวช่วยลด A_w (available water) ของอาหารโดยการดึงความชื้นออกจากอาหารจนจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

2. เกลือช่วยลดการละลายของออกซิเจนในอาหารทำให้อาหารมีสภาพค่อนข้าง ไร้ออกซิเจน

3. ขัดขวางการทำงานของ proteolytic enzyme ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์

4. เพิ่มความดันออสโมซิส เป็นผลให้เซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการ plasmolysis พบว่าแรงดันออสโมซิสของน้ำเกลือเข้มข้นทำให้เซลล์ของแบคทีเรียแตกได้

5. เกลือจะแตกตัวให้อนุมูลโซเดียม (Na^+) และคลอไรด์ (Cl^-) ซึ่งเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่มีความไวต่ออนุมูลชนิดนั้น โดย Na^+ จะรวมตัวกับ anion ใน protoplasm ของเซลล์ ส่วน Cl^- จะรวมตัวกับสารที่มีกลุ่มซัลไฮดริล (-SH)

นอกจากนี้เกลือยังเป็นตัวกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่จะเจริญได้ตามความเข้มข้นของเกลือที่เติมลงไปในแหนม จะพบว่าจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีคือ แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกทั้งนี้เพราะจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ส่วนมากไม่สามารถทนต่อเกลือที่มีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 2 ได้ ส่วน lactic acid bacteria มีความสามารถในการทนเกลือได้ดีกว่าเชื้ออื่นๆ

2. ข้าวเหนียวนึ่งหรือข้าวจ้าวหุงสุก

ในการหมักแหนมมีการเติมข้าว เพื่อเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตให้จุลินทรีย์ lactic acid bacteria ใช้ในการเจริญได้ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักแหนม

3. ไนไตรท์ (nitrite) และ / หรือไนเตรท (nitrate)

ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับเกลือโซเดียมไนเตรท และเกลือโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับเกลือโพแทสเซียมไนเตรท หน้าที่ของเกลือไนไตรท์ และเกลือไนเตรท เมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ

1. ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดงและรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความน่ารับประทานมากขึ้น

2. ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) และกลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว

3. ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด และป้องกันการงอกของสปอร์ของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนโดยเฉพาะเชื้อ *Clostridium*

4. ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อโดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

5. ช่วยให้สภาวะในการหมักดองเป็นสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) เหมาะสมแก่การเจริญของ lactic acid bacteria

เกลือไนไตรท์ และไนเตรทที่ใช้ทางการค้า

ในทางการค้าจะผสมเกลือทั้ง 2 ชนิดออกมาจำหน่ายเพื่อสะดวกในการใช้ มีชื่อเรียกทางการค้าว่า ผงเพรก (Praque powder) มีลักษณะเป็นผงสีชมพู เป็นส่วนผสมของเกลือไนเตรทและไนไตรท์ใน อัตราส่วน 100 ต่อ 1 โดยมีปริมาณที่แนะนำใช้เป็นร้อยละ 0.25 – 0.38 ของน้ำหนักเนื้อทั้งหมด

ปริมาณไนไตรท์ และไนเตรทที่เหมาะสม

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 20 (2517) อนุญาตให้ใช้ ไนเตรทได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และไนไตรท์ให้ใช้ได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์) กรณีที่ใช้ไนเตรทและไนไตรท์รวมกัน ต้องมีไนไตรท์เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ไม่เกิน 200 ส่วนต่อล้านส่วน

อันตรายชีวภาพ (biological hazards) (พวงพร โชติกไกร. 2537 : 307-331)

อันตรายชีวภาพ (biological hazards) หมายถึง อันตรายที่เกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัสและพยาธิ ในอาหาร ปัญหาอันเนื่องจากอันตรายชีวภาพในอาหารที่บริโภคกันส่วนใหญ่มักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อหรือเกิดโรคอาหารเป็นพิษ จึงแบ่งลักษณะการเกิดโรคอันเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารได้เป็น 2 ลักษณะคือ

1. Food borne infection เกิดจากการบริโภคจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อ ได้แก่ *Salmonella, Shigella* เมื่อบริโภคเชื้อเข้าไปเชื้อจะแทรกตัวเข้าไปในผนังลำไส้ (intestinal mucosa) แล้วจะแบ่งตัวเจริญเติบโตที่บริเวณนั้น เมื่อจุลินทรีย์เหล่านี้เข้าไปในร่างกาย ร่างกายจะมีปฏิกิริยาตอบสนอง เกิดมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อีกลักษณะหนึ่งคือเกิดจากการบริโภคจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ เช่น *Clostridium perfringens, Vibrio cholerae* เมื่อเข้าสู่ลำไส้ เชื้อจะเจริญเติบโตและสร้างสารพิษ enterotoxins ทำให้เกิดอาการปวดท้อง แต่มักไม่มีอาการอาเจียนหรือไข้

2. Food borne intoxication เกิดจากการบริโภคสารพิษ (toxin) ที่จุลินทรีย์สร้างไว้ในอาหาร เช่น botutinum toxin, Staphylococcal enterotoxin, mycotoxin เป็นต้น หรือ สารพิษที่เกิด

ขึ้นโดยธรรมชาติซึ่งพบในพืช และสัตว์บางชนิด เช่น สารพิษในเห็ดบางชนิด สารพิษจากหอย และปลาบางชนิด เป็นต้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคติดเชื้อจากอาหารหรือการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่

1. การเก็บรักษาอาหารอย่างไม่ถูกวิธี
2. การให้ความร้อนไม่เพียงพอ
3. สุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่ดีของผู้ปฏิบัติงาน
4. การปนเปื้อนเชื้อภายหลังการปรุงให้สุกแล้ว
5. การให้ความร้อนแก่อาหารก่อนการบริโภคไม่ถูกต้อง

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร

การที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในอาหารทั่วไปเป็นธรรมชาติของอาหารนั้นๆ เนื่องจากมีจุลินทรีย์อยู่ในสภาวะแวดล้อม จึงไม่ได้เป็นสิ่งที่แสดงว่าอาหารนั้นต้องเป็นอันตรายหรือด้อยคุณภาพเสมอไป ยกเว้นแต่ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว อาหารที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคมักเป็นอาหารที่ผลิตขึ้นโดยไม่ถูกต้องตามสุขลักษณะการผลิตอาหาร ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อโรคทางเดินอาหารและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารส่วนใหญ่ คือ แบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์

แบคทีเรียที่ใช้เป็นดัชนีคุณภาพความปลอดภัยของอาหารแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 แบคทีเรียที่ใช้เป็นดัชนีทางสุขาภิบาลอาหาร (sanitary indicator microorganisms)

การที่มีแบคทีเรียกลุ่มนี้ปนเปื้อนแสดงว่า อาหารนั้นผ่านสภาวะที่อาจมีการปนเปื้อน ของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่อผู้บริโภคได้หรือมีการเจริญของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในปริมาณที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค ทำให้อาหารเน่าเสีย หรือหมดอายุการใช้บริโภคได้ ตัวอย่างเช่นกลุ่มแบคทีเรียที่มีมากในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ เช่น *Escherichia coli*, coliforms , *Enterococcus*

กลุ่มที่ 2 แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (foodborne disease bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคโดยมีอาหารเป็นสื่อนำ อาจมีการสร้างสารพิษขึ้นมาในอาหาร หรือ แบคทีเรียที่แพร่ผ่านเข้าไปในร่างกายของผู้บริโภคทางผนังบุลำไส้ ทำให้เกิดการติดเชื้อ แต่แบคทีเรียบางชนิดสามารถทำให้เกิดผลได้ทั้ง 2 แบบ คือ ทั้งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และทำให้เกิดการติดเชื้อ ได้แก่

1. Salmonellae (Mahon and Manuselis. 1995 : 447-490)

Salmonellae เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น ค่อนข้างกว้าง มีขนาดกว้างประมาณ 0.6 ไมครอน และยาว 1 – 3 ไมครอน

ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างแคปซูล เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ยกเว้น *S. pullorum* และ *S. gallinarum* ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ เช่น MacConkey, EMB, SS agar โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 – 2 มิลลิเมตร ลักษณะกลม ขอบเรียบ เป็นมัน ไม่มีสี (ไม่หมักย่อยน้ำตาลแลคโตส ซูโครส และ ซาลิซิน) ไม่ทึบแต่ไม่โปร่งแสง บางสายพันธุ์มีโคโลนีเป็นเมือก อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ตรวจพบในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ หรือสัตว์เลื้อยคลานบางประเภท และในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ เชื้อ *Salmonella* spp. ทุกสปีชีส์สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์อื่น ๆ ส่วนมากทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารอักเสบ

โครงสร้างแอนติเจนของ Salmonellae

การศึกษาโครงสร้างแอนติเจนช่วยในการพิสูจน์เชื้อให้ละเอียดยิ่งขึ้นถึงสายพันธุ์เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับด้านระบาดวิทยา โครงสร้างแอนติเจนของแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นประโยชน์ในการตรวจสอบทางภูมิคุ้มกันวิทยา จะอยู่ที่ผนังเซลล์ และแคปซูล อันประกอบด้วยแอนติเจนที่สำคัญ ๆ คือ H, Vi และ O

H หมายถึง แอนติเจนส่วน flagella

Vi หมายถึง แอนติเจนส่วน capsule

O หมายถึง แอนติเจนที่ตัวเชื้อ (somatic antigen) ตรงส่วนผนังเซลล์ที่เป็น lipopolysaccharide (LPS)

ในการตรวจสอบปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน แอนติบอดี นั้น H และ Vi ซึ่งเป็นส่วนนอกจะบัง O antigen ซึ่งจะต้องนำเชื้อมาต้ม หรือใช้กรดให้ H หรือ Vi สลายไป

เชื้อ Salmonellae สร้างสารพิษ 2 ชนิด ชนิดแรกคือ endotoxin ซึ่งเป็นสารพิษที่อยู่ที่ผนังเซลล์ส่วน lipid A ของ lipopolysaccharide (LPS) เชื้อในวงศ์ Enterobacteriaceae ทุกชนิดมี endotoxin แต่จะมีความรุนแรงแตกต่างกัน endotoxin แสดงผลหลายอย่างที่สำคัญคือทำให้เกิดอาการไข้และช็อก ผลเหล่านี้อาจเกิดจากการที่ endotoxin ทำปฏิกิริยากับ complement และ granulocytes โดยตรง หรือเกิดจากการที่ endotoxin ไปกระตุ้น macrophage หรือ endothelial cell ให้ผลิตสารที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ออกมา endotoxin นี้จะทนความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยการนึ่งด้วย autoclave ได้แม้เชื้อจะถูกทำลายไปแล้วแต่ endotoxin อาจจะยังคงอยู่ ส่วนสารพิษอีกชนิดหนึ่งคือ enterotoxin เป็นสารพิษชนิด cytotoxic enterotoxin ทำให้เกิดอุจจาระร่วง และเกิดการตายของเนื้อเยื่อต่าง ๆ

เชื้อ Salmonellae มีความสำคัญทางการแพทย์ในการทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง เชื้อ Salmonellae ประกอบไปด้วย serotypes ต่าง ๆ มากมาย ที่พบทั่วไปในคนและสัตว์ดังนั้นการแพร่ของ Salmonellae จากสัตว์มาสู่คนจึงเป็นไปได้ง่าย โดยการทานอาหารที่ไม่สุก การจัดแบ่งกลุ่ม Salmonellae เป็นไปด้วยความยากลำบาก เพราะคุณสมบัติทางชีวเคมีอย่างเดียวไม่อาจแยกได้ชัดเจน จึงต้องใช้คุณสมบัติทางภูมิคุ้มกันวิทยาด้วย Kauffmann – White จัดแยก Salmonellae ออกเป็น serotypes ต่าง ๆ มากกว่า 3,000 ชนิด แต่ละชนิดมีความหมายเหมือน 1 สปีชีส์ วงการแพทย์นิยมแบ่ง Salmonellae ออกเป็นกลุ่ม ๆ ตามประเภทของ host เช่น

1. กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคในคนคือ *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B และ *S. paratyphi* C

2. กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับสัตว์บางชนิด เช่น *S. choleraesuis* ในหมู *S. pulloruom* ในนก

3. กลุ่มที่มี host range กว้าง ซึ่งประกอบด้วย Salmonellae มากมายหลายชนิด โดยเฉพาะ *S. typhimurium* ซึ่งพบในสัตว์หลายชนิดสามารถติดต่อมายังคนได้ เป็นสาเหตุของท้องร่วงที่พบได้บ่อยที่สุด

การทำให้เกิดโรค

Salmonellae มี virulence factor ที่ช่วยในการทำให้เกิดโรคคือ แอนติเจนที่ผิวเซลล์ เช่น O หรือ Vi antigen ช่วยให้เชื้อเกาะเซลล์ได้ดี (พบว่าสายพันธุ์ที่ไม่มี Vi antigen จะมีความรุนแรงน้อยลง) มีความสามารถในการรุกล้ำเนื้อเยื่อ (invasiveness) ผ่านเยื่อบุลำไส้เข้าไปภายใน มี endotoxin ที่ทำให้เกิดไข้สูง ช็อก มี enterotoxin ที่มีผลต่อเซลล์ของลำไส้ ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง และความสามารถในการอาศัยอยู่ภายในเซลล์แบบ intracellular parasite ทำให้เชื้อรอดพ้นจากการถูกทำลาย และเป็นปัญหาทำให้โรคไม่หายขาดซึ่งเรียกสภาวะนี้ว่าพาหะ การติดเชื้อ Salmonellae จะต้องกินเชื้อเข้าไปปริมาณมาก $10^6 - 10^8$ เซลล์ เพราะเชื้อไม่ทนกรดจะถูกทำลายด้วยกรดของกระเพาะไปส่วนหนึ่ง ดังนั้นการทานยาลดกรดจะช่วยให้ติดเชื้อง่ายขึ้น เมื่อได้รับเชื้อ Salmonellae เข้าสู่ร่างกายจะทำให้เกิดโรคที่เรียกว่า Salmonellosis ในทางการแพทย์จำแนกโรคที่เกิดเป็น 3 แบบคือ enteric fever, septicemia และโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis)

1. Enteric fever ได้แก่ โรคไทฟอยด์ มีสาเหตุจาก *S. typhi* และโรคพาราไทฟอยด์ มีสาเหตุจาก *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B และ *S. paratyphi* C ร่างกายอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากผู้ป่วยหรือผู้เป็นพาหะหรือจากอาหารและน้ำ เชื้อจะเข้าสู่ลำไส้เล็กและอาจแพร่กระจายสู่ต่อมน้ำเหลืองและท่อน้ำเหลืองบริเวณอกตลอดจนเข้าสู่กระแสโลหิตไปสู่อวัยวะต่าง ๆ ระยะฟักตัวของ *S. typhi* 7 – 14 วัน ผู้ป่วยมีอาการไข้ หนาวสั่น อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ ปวดหลัง อุจจาระร่วง

และเหม็นมาก อุณหภูมิของร่างกายจะสูงประมาณ 39 – 40 องศาเซลเซียส จะเป็นเช่นนี้นาน 1 – 2 สัปดาห์ และอาการไข้จะลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 4 จะไม่มีอาการไข้ สำหรับในรายที่เจ็บป่วยแต่ไม่ได้รับการรักษาจนถึงระยะสัปดาห์ที่ 2 – 3 นั้น จะเกิดจุดสีแดง ขนาด 2 – 5 มิลลิเมตร ตามผิวหนัง เนื่องจากมีเชื้อจำนวนมากในเส้นเลือดฝอย ผู้ป่วยอาจมีอาการสมองเลอะเลือนและไม่รู้สึกตัว คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เจ็บคออย่างรุนแรง ร่างกายอ่อนเพลียมาก ชีพจรเต้นเร็ว มีเลือดออกจากลำไส้หรือลำไส้ทะลุ และอุจจาระมีเมือกออกมาด้วย ในกรณีของโรคพาราไทฟอยด์จะมีอาการรุนแรงน้อยกว่า และมีระยะฟักตัวประมาณ 1 – 10 วัน การติดเชื้อในกระแสโลหิตจะเกิดในระยะแรกและอาการไข้จะหายไปภายใน 1 – 3 สัปดาห์

2. Septicemia

เกิดจาก Salmonellae ได้หลาย serotypes โดยเฉพาะ *S. choleraseuis* จะพบเชื้อจำนวนมากในกระแสโลหิต และแพร่ไปสู่อวัยวะต่าง ๆ เช่น ไต ตับ ม้าม หัวใจ สมองและปอด ทำให้เกิดฝีหนองที่อวัยวะเหล่านี้ รวมทั้งทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อหุ้มสมอง หัวใจและปอด เป็นต้น สำหรับอาการที่เกิดขึ้นได้แก่ ครั่นเนื้อครั่นตัวหรือหนาวสั่น เบื่ออาหารและน้ำหนักตัวลดลง

3. โรคกระเพาะอาหาร และลำไส้อักเสบ (gastroenteritis)

ส่วนมากเกิดจาก *S. newport*, *S. anatum* , *S. enteritidis* , *S. worthingtkon* , *S. typhimurium* เชื้อมีระยะฟักตัว 8 – 48 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะเกิดอาการเป็นไข้ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง และเป็นตะคริว ซึ่งจะเป็นอยู่ระยะหนึ่งและมักจะหายได้เองภายใน 1 สัปดาห์ ในกรณีนี้พบว่ามีการแบ่งตัวของเชื้อภายในเซลล์บริเวณลำไส้แต่มักไม่ก่อให้เกิดการทำลายเซลล์อย่างรุนแรง โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ มีอาการที่ไม่รุนแรงมากนัก แต่ในคนไข้ที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือในทารก หรือคนสูงอายุอาจถึงตายได้

การป้องกัน

การป้องกันโรค Salmonellosis ที่ดีที่สุดคือการระมัดระวังไม่ให้เกิดการติดเชื้อ เช่น ดื่มน้ำที่สะอาด และรับประทานอาหารที่ปรุงให้สุกด้วยความร้อน เนื่องจาก Salmonellae ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน เช่น ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 – 20 นาที หรืออุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ดังนั้นการปรุงอาหารให้สุกจนเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะช่วยลดการติดเชื้อได้เป็นอย่างดี ทำให้มีความปลอดภัยในการรับประทานยิ่งขึ้น

2. *Staphylococcus aureus* (Baron *et al.* 1994 : 321-332)

เชื้อ *Staphylococcus aureus* อยู่ในวงศ์ Micrococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรือมีการจัดเรียงตัวคล้ายพวงองุ่น เจริญได้ดีบนอาหาร

เลี้ยงเชื้อธรรมดาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 7.4 ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือเข้มข้นร้อยละ 7.5 สามารถใช้น้ำตาลแมนนิทอล กลูโคส แลคโตส มอลโตส แล้วให้กรด และผลิตเอนไซม์ coagulase ได้

แหล่งที่พบจะพบได้ทั่วไป เช่น อากาศ ฝุ่นละออง เสื้อผ้า น้ำ น้ำโสโครก และแมลง แต่แหล่งที่สำคัญคือ ในสัตว์และมนุษย์จะพบตามจมูก คอ มือ ผิวหนัง บาดแผล สิว อุจจาระ ทำให้เกิดการแพร่กระจายสู่อาหารได้ โดยเฉพาะอาหารประเภทข้าว นม เนย พบว่าการปนเปื้อนของเชื้อส่วนใหญ่จะเกิดจากการสัมผัสกับอาหารภายหลังการทำให้สุก อาหารที่ทำให้เกิดโรคนี้ต้องมีเซลล์จุลินทรีย์อยู่ 5.0×10^{6} - 2.0×10^{8} โคโลนีต่อกรัม

Cellular antigens

แคปซูล เชื้อ *S. aureus* บางสายพันธุ์สร้างแคปซูล ซึ่งประกอบด้วย glucosaminuronic acid ได้ และการสร้างแคปซูลของเชื้อนี้มักเกิดขึ้นใน *in vivo* แล้ว มักสูญเสียความสามารถในการสร้างไป เมื่อนำมาเลี้ยงในหลอดทดลอง

โปลีแซคคาไรด์ เอ (polysaccharide A) เป็นคาร์โบไฮเดรตแอนติเจนที่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อ *S. aureus* โปลีแซคคาไรด์ เอ ประกอบด้วย ribitol teichoic acid โดยมี N – acetyl – glucosamine เกาะติดที่ตำแหน่ง C – 4 ของ ribitol และ D – alanine ที่ตำแหน่ง C – 2 โดยที่ antigenic determinant จะอยู่ที่ glucosamine residue ซึ่งอาจจะเป็น alpha หรือ beta - glycosidic linkage

โปรตีน เอ (protein A) เป็นโปรตีนที่อยู่บนผิวเซลล์ของ *S. aureus* มีน้ำหนักโมเลกุล 42 กิโลดาลตัน โปรตีนนี้ส่วนใหญ่จะอยู่ที่ชั้น peptidoglycan บางส่วนอาจถูกปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ได้ โปรตีน เอ มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน และสามารถจับกับส่วน Fc ของ immunoglobulin ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทั้ง Ig G (ยกเว้น Ig G3), Ig M และ Ig A2

Clumping factor (bound coagulase) เป็น coagulase ที่อยู่บนผิวเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* จะทำให้เกิดการ clot

Adhesins เป็นโปรตีนที่อยู่บนผิวเซลล์ที่ช่วยให้เชื้อสามารถเกาะติดกับ matrix protein อื่น ๆ เช่น laminin, fibronectin, collagen และผิวเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เชื้อนั้นอาศัยอยู่ ความสามารถในการเกาะติดนี้มีความเกี่ยวข้องกับการอาศัยอยู่ของเชื้อ (colonization) บนพื้นผิวอวัยวะในผู้ป่วย หรือเกี่ยวข้องกับการบุกรุกเข้าไปในเนื้อเยื่อ และช่วยในการต่อต้านการจับกินของเม็ดเลือดขาว เป็นต้น

การทำให้เกิดโรค

เชื้อ *S. aureus* จะทำให้เกิดโรคโดยการบุกรุกและแพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกาย และมีความสามารถในการสร้างสารพิษ และเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (แสดงในตารางที่ 2.1) ได้แก่

1. Hemolysins (Staphylolysins) เป็นสารประกอบที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ถูกทำลายด้วยความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนทำลายเม็ดเลือดแดงได้อย่างสมบูรณ์ แบ่งออกเป็น

1.1 Alpha hemolysin เป็นโปรตีน น้ำหนักโมเลกุล 34,000 ดาลตัน จับกับตัวรับ "Sialoglycoprotein" มีคุณสมบัติทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่าย และทำลายเกล็ดเลือดของคนได้ เมื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวหนังกระต่ายทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรง และทำให้เนื้อเยื่อส่วนนั้นเน่าตาย หากฉีดเข้าหลอดเลือดจะทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้ เนื่องจากการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ

1.2 Beta hemolysin พบมากในเชื้อที่แยกได้จากสัตว์เป็นพวก sphingo – myelinase C น้ำหนักโมเลกุล 30,000 ดาลตัน เป็น hemolysin ชนิด "hot – cold" เนื่องจากความสามารถในการทำลายเม็ดเลือดแดงจะเกิดได้ดีเมื่อผสมกับเลือดหรือเลี้ยงบน blood agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงแกะ แต่ไม่ทำลายเม็ดเลือดแดงของกระต่าย จะปรากฏคุณสมบัตินี้เมื่อเลี้ยงเชื้อบน blood agar plate

1.3 Delta hemolysin เป็นพวก phospholipase มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว และต่อเนื้อเยื่ออื่น ๆ หลายชนิด

1.4 Gamma hemolysin มีฤทธิ์น้อยกว่าชนิดอื่น ไม่ค่อยมีความสำคัญในการทำให้เกิดโรคประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด ทำหน้าที่ร่วมกัน สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่าย คน และแกะ แต่เนื่องจาก hemolysin ชนิดนี้ จะถูกยับยั้งโดยวุ้นและ sulfatol polymer อื่น ๆ จึงไม่พบลักษณะการทำลายเม็ดเลือดแดงบน blood agar plate

2. Leukocidin (Panton – Valentine leukocidin) ออกฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวของสัตว์หลายชนิด ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนถูกทำลายด้วยความร้อนง่าย

3. Enterotoxins เชื้อ *S. aureus* บางสายพันธุ์สามารถสร้าง enterotoxin ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ เชื้อสร้างสารดังกล่าวได้ดียิ่งขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงใน semi – solid media ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูง enterotoxin เป็นโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 35,000 ดาลตัน ทนต่อความร้อน 100 องศาเซลเซียส ได้นานประมาณ 30 นาที ทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร สารพิษนี้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษในคน

4. Coagulase เชื้อ *S. aureus* ที่ทำให้เกิดโรคในคนส่วนมากสร้างเอนไซม์ coagulase ซึ่งทำให้พลาสมาแข็งตัวได้มี 2 ชนิด คือ

4.1 Bound coagulase (clumping factor) ทำให้เชื้อเกิดการเกาะกลุ่ม (agglutination)

4.2 Free coagulase เอนไซม์นี้จะทำให้พลาสมาแข็งตัว ทำให้เม็ดเลือดขาวของ host ไม่สามารถจับทำลายเชื้อได้ โดยที่เอนไซม์จะไปจับกับ coagulase reacting factor (CRF) ในพลาสมา ทำให้ prothrombin เปลี่ยนเป็น thrombin และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง coagulase – CRF จะทำให้ fibrinogen เปลี่ยนเป็น fibrin ทำให้พลาสมาแข็งตัว

5. Hyaluronidase เป็นเอนไซม์ที่ทำลาย hyaluronic acid ซึ่งเป็นสารเชื่อมเซลล์ให้ติดต่อกันเป็นเนื้อเยื่อ ทำให้เชื้อบุกรุกเข้าไปเจริญในเนื้อเยื่อและแพร่กระจายได้ดี

6. Exfoliatin (Epidermolysin) สร้างโดย *S. aureus* phage type 2 ทำให้หนังกำพร้าหลุดลอกทั่วร่างกาย มักพบในเด็ก ส่วนผู้ใหญ่ที่มีภูมิต้านทานต่ำก็อาจเป็นได้

7. Penicillinase (Beta – lactamase) เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เชื้อดื้อยาในกลุ่มเพนนิซิลลินและเซฟาโลสปอริน โดยที่เอนไซม์นี้จะทำลายวงแหวนแลคแตม (beta lactam ring)

8. Staphylokinase มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ Streptokinase โดยสามารถทำให้เลือดที่แข็งตัวสลายตัวได้โดยการกระตุ้น proenzyme plasminogen ไปเป็น plasmin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อย fibrin ได้

9. Pyrogenic exotoxins เชื้อ *S. aureus* สร้างสารพิษที่ส่งออกมานอกเซลล์หลายชนิดด้วยกัน และสารพิษเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็น pyrogen ได้แก่ pyrogenic exotoxin A และ B, enterotoxin และ TSST – 1 ซึ่งเป็นสาเหตุของ toxic shock syndrome เชื้อ *S. aureus* ที่สร้าง TSST - 1 นี้ ได้แก่สายพันธุ์ที่ไวต่อ phage type 29 หรือ 52 และมักมียีนที่ดื้อต่อแคดเมียม สารหนูและเพนนิซิลินร่วมอยู่ด้วย pyrogenic exotoxins นี้ มีส่วนช่วยในการกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง interleukin –1 ช่วยเสริมพิษของ endotoxin ของเชื้อแกรมลบ เนื่องจากสารนี้จะไปยับยั้งการกำจัดสารพิษของ reticuloendothelial systems นอกจากนั้นยังก่อให้เกิดอาการผื่นแดงที่ผิวหนัง (erythroderma) เนื่องจากภาวะภูมิแพ้ (delay type hypersensitivity)

ตารางที่ 2.1 สารพิษที่สร้างโดยเชื้อ *S. aureus*

สารพิษ	ฤทธิ์
Staphylolysins	
Alpha hemolysin	ทำลายเม็ดเลือดแดง เพิ่ม permeability ของเยื่อหุ้มเซลล์
Beta hemolysin	มีฤทธิ์สูงกว่า alpha hemolysin พบในสัตว์
Gamma hemolysin	ทำลายเม็ดเลือดแดง เป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว
Delta hemolysin	มีพิษต่อเซลล์ผิวหนังและเม็ดเลือดขาว
Epsilon hemolysin	พบในเชื้อ *S. epidermidis*
Leucocidin	ทำลายเม็ดเลือดขาว
Enterotoxins	มีฤทธิ์ต่อผนังลำไส้ ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน
Exfoliative toxins	ทำลาย desmosome ที่ชั้นของผิวหนัง ทำให้ผิวหนังหลุดลอก
Coagulase	ทำให้พลาสมาแข็งตัว
Hyaluronidase	ทำให้ ground substance ของเนื้อเยื่อไม่เกาะติดกัน
Staphylokinase	ละลายการแข็งตัวของ fibrin
Bacteriocin (Staphylococcin)	ทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกคอกไคอื่น ๆ

เชื้อ *S. aureus* ทำให้เกิดโรคในอวัยวะและเนื้อเยื่อเกือบทุกส่วนของร่างกายที่พบบ่อยที่สุด คือ การติดเชื้อที่ผิวหนัง เริ่มต้นจะเป็นการอักเสบเฉพาะที่มีการคั่งของเม็ดเลือดขาว เกิดการเน่าตายของเนื้อเยื่อ กลายเป็นการอักเสบแบบมีหนอง บางครั้งเชื้อสามารถแพร่กระจายไปทางท่อน้ำเหลือง หรือทางกระแสเลือดทำให้เกิดการติดเชื้อที่อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (รูปที่ 2.2)

โรคที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ได้แก่

1. การติดเชื้อเฉพาะที่ (localised infection) ได้แก่ การติดเชื้อที่ผิวหนังที่พบทั่วไป เช่น ฝี (boils หรือ furuncles) กุ้งยิง (stye) หูอักเสบ ผิวหนังหลุดลอก (scald skin syndrome, SSS)

2. การติดเชื้อแบบแพร่กระจาย (systemic infection) ได้แก่

2.1 อาหารเป็นพิษ (Staphylococcal food poisoning) เกิดเนื่องจาก *S. aureus* ที่สร้าง enterotoxin หากรับประทานอาหารที่มีสารพิษนี้ปนเปื้อนเข้าไป จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็น

พิษ ภายหลังการบริโภคประมาณ 1 – 6 ชั่วโมง โดยมีอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง แต่ไม่มีไข้ อาการจะหายภายใน 1 วัน

2.2 ลำไส้อักเสบ (Staphylococcal enteritis) ตามปกติพบเชื้อ *S. aureus* ในลำไส้ได้ไม่มากนัก แต่เชื้อสามารถเพิ่มจำนวนขึ้นหากสมดุลของเชื้อเสียไป เนื่องจากการกินยาปฏิชีวนะ เช่น ในผู้ป่วยที่จะผ่าตัดช่องท้องแล้วได้รับยาฆ่าเชื้อก่อนการผ่าตัด ทำให้เกิดการระคายเคืองทางเดินอาหารอักเสบ ผู้ป่วยจะมีอาการท้องเดินเฉียบพลัน อาเจียน มีไข้สูง สูญเสียน้ำและเกลือแร่ ในกรณีที่เชื้อสามารถแบ่งตัวได้รวดเร็วจะอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่ ทำให้เกิด pseudomembranous enterocolitis คล้ายกับการเกิดเนื่องจากเชื้อ *Clostridium difficile* ทำให้ชีอกถึงแก่ชีวิตได้ นอกจากนี้ ยังทำให้ปอดบวม เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบและไขกระดูกอักเสบอีกด้วย

รูปที่ 2.2 แสดงการแพร่กระจายของเชื้อ *S. aureus* ในร่างกาย

3. *Clostridium perfringens* (Ryan. 1994 :295-308)

C. perfringens หรือ *C. welchii* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน สั้น ปลายทู่ เซลล์มีขนาด 2 – 6 x 0.8 – 1.5 ไมครอน พบอยู่เดี่ยว ๆ เป็นคู่หรือสายสั้น ๆ สร้างสปอร์รูปร่างยาวรีอยู่ตรงกลางเซลล์ ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (anaerobe) เจริญและเพิ่มจำนวนได้ในอาหารหลายชนิดโดยเฉพาะอาหารที่มีกลูโคสอยู่ด้วย พบสปอร์ได้ทั่วไปในดิน น้ำ อาหาร ฝุ่น ละออง เครื่องเทศ และทางเดินอาหารของคน สัตว์ และน้ำโสโครก สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมักพบในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหุงต้มและปล่อยให้เย็นลงอย่างช้า ๆ ช่วงหนึ่งก่อนนำไปบริโภคทำให้สปอร์สามารถงอกได้

C. perfringens เป็นสายพันธุ์เดียวที่สามารถรีดิวซ์ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ และทำให้เกิด stromy fermentation ในนม สร้างกรดและก๊าซจากแลคโตส และย่อยเจลลาตินใน 48 ชั่วโมง มีการสลายเม็ดเลือดแดงแบบ double zone hemolysis โดยที่ hemolysis zone ด้านในจะมีการสลายเม็ดเลือดแดงอย่างสมบูรณ์ ส่วนด้านนอกจะมีการสลายอย่างไม่สมบูรณ์

การทำให้เกิดโรค

1. Gas gangrene (clostridial myonecrosis) *C. perfringens* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้คน แต่เมื่อไปอยู่ในบาดแผลจะมีการทำลายเนื้อเยื่อทำให้เกิดความรุนแรงได้ เชื้อเจริญได้ดี มีการสะสมก๊าซ ทำลายกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

2. โรคอาหารเป็นพิษจาก *C. perfringens*

การทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food – borne disease) ของ *C. perfringens* มักเกิดจากสายพันธุ์ที่สามารถสร้าง toxin type A อาการของโรคเกิดขึ้นได้โดยรับประทานเนื้อวัว ไก่ หมู ไก่งวง และอาหารอื่น ๆ ที่มีเชื้อก่อโรคเข้าไปประมาณ 10^8 เซลล์ต่อกรัมของอาหาร อาการป่วยเกิดขึ้นหลังจาก *C. perfringens* เข้าถึงลำไส้เล็กและเริ่มสร้างสปอร์ขึ้นที่นั่น เมื่อสปอร์มีการงอกเป็นเซลล์จะสร้าง enterotoxin ทำให้มีอาการปวดท้องรุนแรงอย่างเฉียบพลันภายในเวลา 7 – 15 ชั่วโมง หลังจากรับประทานอาหารปนเปื้อนเข้าไป นอกจากนี้ยังมีอาการอุจจาระร่วงแต่มักไม่มีอาการอาเจียนหรือไข้ และอาการจะหายเองภายใน 1 – 2 วัน

4. เชื้อรา (พรรณกร อิ่มวิทยา. 2535 : 24-29)

เชื้อราจัดเป็น eukaryotic cell คือมีนิวเคลียส ผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเซลล์ประกอบด้วย chitin ที่พบในแมลง และเซลลูโลสที่พบในพืช นอกจากนี้ยังพบ chitosan, glucan และ mannan ได้รับอาหารจากการดูดซึม มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่ผสมเพศและผสมเพศ

เชื้อราก่อโรคในคน สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 จำพวก คือ

1. เชื้อราสร้างสารพิษ (toxigenic fungi) หมายถึงเชื้อราที่มีสารพิษอยู่ภายในหรือสาม
สร้างและปลดปล่อยสารพิษออกสู่ภายนอกได้ เช่นสารพิษจากเห็ดเมา และสารพิษจากพิษจากเชื้อ

2. เชื้อราก่อโรคภูมิแพ้ (allergenic fungi) หมายถึงเชื้อราหรือส่วนของเชื้อรา เช่นโคนิ
ทำหน้าที่ประหนึ่งเป็นแอนติเจนกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี เมื่อทำปฏิกิริยากันก่อให้เกิด
เสียแบบที่เรียกว่าปฏิกิริยาภูมิไวเกิน เช่น โรคปอดชาวนา (Farmer' s lung), Bagassosis

3. เชื้อราบุกรุก (invasive fungi) หมายถึงเชื้อราที่สามารถบุกรุกเข้าไปเจริญอยู่ภายใ
ร่างกายมนุษย์ อาจจะเจริญได้แก่ผิวหนัง หรือลุกลามเข้าสู่อวัยวะภายใน โรคที่เกิดจากเชื้อราบุกรุ
และเชื้ออื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อรา มีดังนี้

Superficial infection การก่อโรคจำกัดอยู่ตื้น ๆ ไม่มี cellular response และไม่มีอันตรา
หรืออาการที่รุนแรง ได้แก่ เกลื้อน tenca nigra , piedra

Cutaneous infection บางแห่งอาจจัดโรคที่กล่าวมาข้างต้นอยู่ในกลุ่มนี้ สำหรับ
cutaneous infection เป็นการเกิดโรคจากราที่เกี่ยวข้องกับส่วนของร่างกายที่มี keratin มีอาการ
แสดงออกหลายแบบ ได้แก่ กลาก และโรคผิวหนังจากราอื่นทั้งที่เป็นเส้นใยและยีสต์

Subcutaneous mycoses มักจะเริ่มอาการโรคจากการที่เชื้อเข้าสู่ร่างกายโดยตรงทางบาด
แผล หรือเชื้อเข้าจากการทิ่มตำของสิ่งของ แล้วลุกลามอย่างช้า ๆ ไปเนื้อเยื่อข้างเคียง แต่บางโรคจะ
มีการรุกเข้ากระแสโลหิตและน้ำเหลืองได้ ได้แก่ mycetoma chromoblastomycosis, sporotrichosis,
phaeohyphomycosis, rhinosporidiosis

Systemic mycoses โรคจากราชนิดนี้มีอาการแสดงออกต่างกันไป เกิดได้จากราก่อโรคที่
เป็นราทวิรูป ได้แก่ *Coccidioides, Blastomyces, Histoplasma* ราหลายชนิดที่เป็นราฉวยโอกาส
ก่อโรคได้ในผู้ป่วยที่มีโรคอื่นอยู่แล้ว หรือภูมิคุ้มกันต่ำ ทำให้รุกรานเข้าไปได้ลึกเป็น systemic
infection ราพวกนี้ได้แก่ *Aspergillus, Rhizopus, Cryptococcus* และ *Candida*

Opportunistic infections เนื่องจากเชื้อราบางชนิดเป็น flora ของคน บางชนิดเป็น
contaminant พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติจึงมีอยู่มากชนิด พวกที่เป็นยีสต์ที่สำคัญได้แก่ โรคจาก
Candida, Cryptococcus, Rhodotorula และ *Trichosporon* ส่วนที่เป็นราเส้นใย ได้แก่
Aspergillus, Monosporium, Mucor, Rhizopus รวมทั้งราอื่น ๆ

5. เชื้อยีสต์ (Kwon-Chung and Bennett. 1992 :280-446)

โคโลนีของยีสต์ มีสีต่าง ๆ กัน เช่น ขาว ส้ม ดำ ผิวหน้าโคโลนีคล้ายเนย หรือคล้ายกับ
โคโลนีของแบคทีเรีย ยีสต์บางสายพันธุ์มีมิวโคโพลีแซคคาไรด์ (mucopolysaccharide) เป็นแคปซูล
ล้อมรอบ โคโลนีจึงมีลักษณะเยิ้ม เช่น *Cryptococcus neoformans* ซึ่งพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ

และเป็น normal flora ในคนด้วย ตัวแปรที่กำหนดการเกิดโรคจากยีสต์ ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกันชนิด CMI และ normal flora ของผู้นั้น เมื่อเกิดการเปลี่ยนโดยอะไรก็ตามทำให้ยีสต์สามารถแบ่งตัวจับกลุ่มรุกรานทำให้เกิดโรคได้ ซึ่งสิ่งนี้จะสำคัญมากกว่าความรุนแรงของเชื้อ ซึ่งในที่นี้เชื้อสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดคือ *Candida albicans* รองมาคือ *Cryptococcus neoformans*

การก่อโรค

Candidiasis (candidosis) เกิดจาก *C. albicans* โรคที่พบได้บ่อย ได้แก่

Thrush ในปากเด็กแรกเกิดมี pH ต่ำ ทำให้ราเจริญได้ดี มีลักษณะเป็นแผ่นสีขาวครีม ปกคลุมอยู่ตามลิ้น เหงือก เพดานปาก กระพุ้งแก้ม จนถึงทอนซิล ฝ้านี้จับตัวอย่างหลวม ๆ เขี่ยออกได้ง่าย ดูคล้ายนมที่จับเป็นก้อน เนื้อเยื่อโดยรอบภายในปากอาจบวมแดง

Angular cheilitis เกิดที่มุมปาก 1 หรือ 2 ข้าง ซึ่งจะเป็นรอยแตกมีคราบสีขาวจับอยู่ข้างบน ด้านใต้จะอักเสบและเจ็บ ในบางรายอาจพบลักษณะเป็นก้อนนูนแดงของ แกรนูโลมา (granuloma) และมีสะเก็ดคลุมอยู่

Denture stomatitis พบในผู้ใส่ฟันปลอมโดยพบแผลอักเสบเรื้อรัง หรือเพียงแต่บวมแดงในตำแหน่งที่ฟันปลอมกด เมื่อเพาะเชื้อจากบริเวณเพดาน และฟันปลอมชนิดถอดได้ในตำแหน่งเดียวกันจะพบว่ามีเชื้อเจริญอยู่

Bronchial and pulmonary candidiasis พบได้ไม่มากนัก เนื่องจากอาจเป็นแค่ colonization แต่มีผลมาจากความเป็นแอนติเจนของเชื้อ หรือเป็นผลมาจากการแพร่กระจายเชื้อจากตำแหน่งอื่น ผู้ป่วยมีไข้ต่ำ เหงื่อออกตอนกลางคืน ไอ เสมหะอาจมีเลือดปนและเขียวเหนียว

Alimentary cadidiasis มีสาเหตุเหนี่ยวนำจากกรรมพันธุ์ โดยเฉพาะในเด็กโตหรือการมีภาวะร่างกายอ่อนแอในผู้ใหญ่ หรือมี thrush ในช่องปากของเด็กแรกเกิดทำให้เชื้อลุกลาม และทำให้เกิด esophagitis ซึ่งทำให้การกลืนลำบาก

Systemic infection การรุกเข้าสู่อวัยวะภายในของ *C. albicans* เกิดได้จากการที่เชื้อเข้าสู่ร่างกายโดยตรง โดยเข็มฉีดยา ใช้สายสวน เมื่อมีโรคเกิดขึ้นจะมีอัตราตายสูง เนื่องจากมีอาการโรคทั่วร่างกาย

Cryptococcosis

เกิดจาก *Cryptococcus neoformans* เข้าไปสู่ระบบทางเดินหายใจส่วนล่างได้โดยการหายใจเอาเชื้อโรคเข้าไปทำให้เกิดอาการคล้ายไข้หวัดซึ่งอาจหายได้เอง นอกจากนี้พบว่าเป็นสาเหตุสำคัญของปอดอักเสบและเยื่อหุ้มสมองอักเสบในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ดวงดาว วงศ์สมมาตร นงคราญ เรืองประพันธ์ , จุรีภรณ์ บุญวงศ์วิโรจน์ และคณะ (ดวงดาว วงศ์สมมาตร และคณะ. 2537 :163-171) ได้ทำการตรวจหาเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ *S. aureus* , *C. perfringens* , Salmonellae , *Bacillus cereus* และตรวจหาพยาธิ *Trichinella spiralis* , *Taenia solium* , *Gnathostoma* spp. ในแหนมที่ผลิตในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวม 80 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2535 พบว่ามีแหนมที่มีคุณภาพไม่ถูกสุขลักษณะ ร้อยละ 91.3 (73/80) เนื่องจากพบ fecal coliforms เกินเกณฑ์มาตรฐาน ร้อยละ 82.5 และยังพบเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ *S. aureus* , *C. perfringens* และ Salmonellae ร้อยละ 26.3 , 16.3 และ 12.5 ตามลำดับ แต่ไม่พบพยาธิในทุกตัวอย่างตรวจ จากข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่าแหนมเป็นอาหารที่มีความเสี่ยงสูงในการบริโภคอาจก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษระบาดได้

นงคราญ เรืองประพันธ์ และนิตยา พันธ์บัว (นงคราญ เรืองประพันธ์ และนิตยา พันธ์บัว. 2535 : 32-39) ได้ทำการสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของแหนมและหมูยอที่ผลิตในจังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ในปี 2533-2534 พบว่า แหนมมีการปนเปื้อนเชื้อสูงกว่าหมูยอ ในปี 2533 ได้ทำการวิเคราะห์แหนมจำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่าแหนมมีคุณภาพไม่ถูกสุขลักษณะ ร้อยละ 17.2 (5/29) โดยพบการปนเปื้อนเชื้อ *C. perfringens* , *S. aureus* ร้อยละ 13.7 และ 6.9 ตามลำดับ ในปี 2534 ทำการวิเคราะห์แหนมจำนวน 35 ตัวอย่าง พบว่าไม่ถูกสุขลักษณะร้อยละ 80 (28/35) โดยพบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* , *S. aureus* , *C. perfringens* , Salmonelle ร้อยละ 71.4 , 22.8 , 17.1 และ 2.8 ตามลำดับ และตรวจไม่พบ *Trichinella spiralis* ในทุกตัวอย่าง จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแหนมที่ผลิตในจังหวัดภาคเหนือตอนบนยังมีสุขลักษณะไม่ดี ผู้บริโภคแหนมดิบมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ