กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

วารสาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 64 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2565 • Vol. 64 No. 3 July - September 2022

ISSN 0125-684X
E-ISSN 2697-4525

ว กรมวิทย 64 (3) ก.ค. - ก.ย. 2565 Bull Dept Med Sci 64 (3) July - September 2022

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ที่ปรึกษาด้านบริหาร
นพ.ศุภกิจ ศิริลักษณ์ นพ.พิเชฐ บัญญัติ
นพ.บัลลังก์ อุปพงษ์ นพ.ปิยะ ศิริลักษณ์

ที่ปรึกษาด้านวิชาการ
นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท ดร.สุมล ปวิตรานนท์
ดร.ปนัดดา ชิลวา ดร.เดือนถนอม พรหมขัติแก้ว
ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรธนะ

บรรณาธิการบริหาร ดร.ประไพ วงศ์สินคงมั่น

บรรณาธิการ ดร.อภิวัฎ ธวัชสิน

รองบรรณาธิการ
นางสิริภากร แสงกิจพร ดร.อุรุญากร จันทร์แสง
ดร.นวลจันทร์ วิจักษณ์จินดา

คณะบรรณาธิการ

ศ.เกียรติคุณ ดร.พิไลพันธ์ พุธวัฒนะ	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ.ดร.นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล	มหาวิทยาลัยมหิดล
ดร.ดนัย ทิวาเวช	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ภญ.สุวรรณา จารุนุช	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ศ.ดร.นพ.เผด็จ สิริยะเสถียร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศ.ดร.พรพิมล กองทิพย์	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร.ศรีสุรางค์ ตันติมาวานิช	มหาวิทยาลัยมหิดล
ดร.สุณี ศิริวิชยกุล	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รศ.ดร.ภญ.ชนิตรา ธุวจิตต์	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร.ภญ.พิณทิพย์ พงษ์เพชร	นักวิชาการอิสระ
ดร.สลักจิต ชุติพงษ์วิเวท	นักวิชาการอิสระ
ดร.อุษาวดี ถาวระ	นักวิชาการอิสระ
นายสุธน วงษ์ชีรี	นักวิชาการอิสระ
นางวิชชุดา จริยะพันธุ์	นักวิชาการอิสระ
ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา	นักวิชาการอิสระ
รศ.ดร.นวลฉวี เวชประสิทธิ์	นักวิชาการอิสระ
ดร.วันทนา ปวีณกิตติพร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ดร.ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ฝ่ายจัดการ

นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
นางสาวประสาน จุลวงษ์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
นางสาวอภิมน จิรพงศธร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
นายนาวี ศรีวรมย์	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
นางสาวภาวิณี สุขเจริญ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สำนักงานวารสาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000
โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297

พิมพ์ที่ บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด
457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200
โทร. 0-2282-6033-4

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 64 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2565 Vol. 64 No. 3 July - September 2022

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ของประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงปี พ.ศ. 2562-2563 147

อุทัยทิพย์ บุญเกษม สิริพร ศรีรุ่งเรือง ปัทมา อายุโย และ วิวรพรรณ สรรประเสริฐ

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธี Polymerase Chain Reaction สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *Legionella pneumophila* 160

เบญจพร หนูทอง อาภากร นบนอบ และ ศศิธร หนูทอง

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าวที่สัมผัสผู้ป่วยในโรงงานทอผ้า อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ด้วยวิธี real-time RT-PCR 172

พายุ ภักดีนวน ธานี วงษ์ชัย ณัฐกานต์ ชื่นชม วิพัฒน์ กล้ายุทธ โสภา ศรีสังข์งาม สุปราณี บุญชู เบญจวรรณ เพชรสุขศิริ และ จณิศรา ฤดีอเนกสิน

คุณภาพน้ำผึ้งที่ผลิตในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2564 181

พัชริดา พิชัย และ ไพรินทร์ บุตรกระจ่าง

การตรวจสอบการปลอมและการปนเปื้อนทางกายภาพของอาหาร ระหว่างปี พ.ศ. 2552-2563 197

ขันทอง เพ็ชรนอก

การตรวจสอบสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตรที่ส่งออก ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2560 212

ขันทอง เพ็ชรนอก

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 64 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2565 Vol. 64 No. 3 July - September 2022

CONTENTS

Page

Original Articles

Prevalence and Risk Factors of Intestinal Parasitic Infections in the Population of Phayuha Khiri District, Nakhon Sawan, Thailand During 2019-2020 147

Uthaitip Bunkasem, Siriporn Srirungruang, Pattama Ayuyoe, and Vivornpun Sanprasert

Validation of Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of *Legionella pneumophila* 160

Benjaporn Nuthong, Aapakon Nobnorb, and Sasitorn Nuthong

Laboratory Findings

Detection of SARS-CoV-2 Infected Persons Among Foreign Workers Exposed to Patients in the Textile Factory, Mae Sot District, Tak Province Using real-time RT-PCR 172

Payu Bhakdeenuan, Thanee Wongchai, Nattagarn Chuenchom, Wiphat Klayut, Sopa Srisungngam, Supranee Boonchu, Benjawan Phetsuksiri, and Janisara Rudeeaneksin

Quality of Honey Produced in Chiang Mai, Lamphun and Chiang Rai Provinces During 2019–2021 181

Patcharida Pichai and Pirin Budkrajang

Inspection of Counterfeit and Physical Contamination of Food During 2009-2020 197

Kuntong Pednog

Foreign Matters Examinations in Exported Agricultural Products During 2012-2017 212

Kuntong Pednog

บรรณาธิการแถลง

ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (ศูนย์ TCI) ได้ทำการประเมินคุณภาพวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI รอบที่ 4 ครั้งที่ 3 (2565–2567) เพื่อปรับกลุ่มคุณภาพวารสาร จำนวนทั้งหมด 194 วารสาร โดยมีเพียง 71 วารสารที่ผ่านการประเมินคุณภาพจากวารสารกลุ่มที่ 2 ได้เลื่อนเป็นวารสารกลุ่มที่ 1 และวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ก็เป็นวารสารที่ได้รับการได้เลื่อนเป็นวารสารกลุ่มที่ 1 จากการประเมินรอบนี้ ทั้งนี้ ศูนย์ TCI จะทำการรับรองคุณภาพของวารสาร ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2565 ไปจนถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2567 นับเป็นความสำเร็จในการมุ่งมั่นพัฒนาคุณภาพของวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มาอย่างต่อเนื่อง

กองบรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ขอขอบคุณผู้นิพนธ์ทุกท่านที่ส่งบทความมาให้พิจารณาตีพิมพ์เผยแพร่องค์ความรู้และงานวิจัย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานด้านการพัฒนาวิทยาศาสตร์การแพทย์และสาธารณสุขของประเทศ ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านในการพิจารณาบทความ (peer review) ที่ให้ข้อเสนอแนะในการปรับปรุงแก้ไขบทความวิจัยต่าง ๆ ให้มีความถูกต้องทางวิชาการและอ่านได้เข้าใจง่ายขึ้น และขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนในการจัดทำวารสารฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี กองบรรณาธิการหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวารสารฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้อ่านทุกท่านในการเสริมสร้างองค์ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์และสาธารณสุข และโปรดติดตามความรู้และงานวิจัยจากวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ฉบับต่อไป ซึ่งจะเผยแพร่ภายในเดือนธันวาคม 2565

ดร.อภิวัฏ ธวัชสิน

บรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

คำแนะนำสำหรับผู้นิพนธ์

ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ของประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงปี พ.ศ. 2562-2563

อุทัยทิพย์ บุญเกษม[1,2] สิริพร ศรีรุ่งเรือง[1,3] ปัทมา อายุโย[1,3] และ วิวรพรรณ สรรประเสริฐ[1,2,3]

[1]หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคเท้าช้างและโรคเขตร้อน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

[2]ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

[3]ฝ่ายปรสิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย กรุงเทพมหานคร 10330

บทคัดย่อ โรคติดเชื้อปรสิตเป็นโรคซึ่งพบได้ต่อเนื่องและยังเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ มีผลทำให้เกิดภาวะต่าง ๆ ในร่างกายและเสียชีวิตได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้นักเรียนและผู้ใหญ่ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2563 จำนวน 583 ราย ใช้การตรวจวินิจฉัย 3 วิธี คือ simple smear, formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT) และ locke egg serum (LES) medium culture ผลการตรวจพบว่ากลุ่มประชากรมีความชุกของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ 28.8% ปรสิตที่พบส่วนใหญ่เป็นกลุ่มโปรโตซัว (28.1%) และกลุ่มหนอนพยาธิ (0.7%) ชนิดของปรสิตก่อโรคที่พบ ได้แก่ *Blastocystis hominis* (17.15%), *Entamoeba histolytica* (2.57%), *Giardia lamblia* (0.51%), *Opisthorchis viverrini* (0.34%), *Strongyloides stercoralis* (0.17%), *Trichuris trichiura* (0.17%) และโปรโตซัวที่ไม่ก่อโรค ได้แก่ *Endolimax nana* (3.26%) และ *Entamoeba coli* (4.63%) ทั้งนี้พบการติดเชื้อในผู้ใหญ่ (38.60%) มากกว่าในนักเรียน (21.93%) ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ คือ ดื่มน้ำที่ไม่ผ่านการต้ม/กรองก่อนดื่ม ไม่สวมรองเท้าเมื่อสัมผัสพื้นดิน และรับประทานปลาสุก ๆ ดิบ ๆ นอกจากนี้การเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยทั้ง 3 วิธี พบว่าวิธี LES culture ให้ผลรวดเร็วที่สุด (69.64%) ในกลุ่มโปรโตซัว รองลงมา คือ วิธี FECT (17.26%) และวิธี simple smear (13.10%) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ยังคงพบการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ ซึ่งนอกจากการให้ความรู้แก่นักเรียนแล้ว ควรมีการป้องกันและควบคุมโรคปรสิตในลำไส้แก่ประชาชนทั่วไปด้วย

คำสำคัญ: ความชุก, ปรสิตในลำไส้, การตรวจวินิจฉัย

Corresponding author E-mail: uthaitip.b@chula.ac.th

Received: 4 March 2022 *Revised: 19 July 2022* *Accepted: 3 August 2022*

บทนำ

โรคติดเชื้อปรสิต เป็นโรคที่พบได้ต่อเนื่องและเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย ที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน เช่น เกิดภาวะย่อยและดูดซึมอาหารผิดปกติ ท้องเสีย สูญเสียความสามารถในการทำงานบกพร่อง รวมถึงการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าปกติ[1] พบการติดเชื้อในทางเดินอาหารของประชากรทั่วโลกมากกว่า 1.5 พันล้านคน (ร้อยละ 24) โดยเป็นเด็กวัยก่อนเรียน 267 ล้านคน และเด็กวัยเรียนมากกว่า 568 ล้านคน[2] จากข้อมูลโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์พบว่าผู้ป่วยที่มารักษาในโรงพยาบาล จำนวน 6,231 ราย ติดเชื้อปรสิต จำนวน 557 ราย คิดเป็นร้อยละ 8.9 การติดเชื้อหนอนพยาธิที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Strongyloides stercoralis* ร้อยละ 33.39 และการติดเชื้อโปรโตซัวที่พบมากที่สุด คือ *Giardia lamblia* ร้อยละ 14.36[3] จากการสำรวจโรคหนอนพยาธิในประเทศไทย โดยสำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ในปี พ.ศ. 2552 พบว่าประชากรไทยมีอัตราการติดเชื้อโรคหนอนพยาธิสูง ร้อยละ 18.1 พยาธิที่ตรวจพบมากที่สุด คือ พยาธิใบไม้ตับ (ร้อยละ 8.7 หรือประมาณ 6 ล้านคน) และพยาธิปากขอ (ร้อยละ 6.5 หรือประมาณ 4.5 ล้านคน)[4] และข้อมูลโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจอุจจาระ จำนวน 2,772 ราย พบติดเชื้อปรสิต จำนวน 213 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.68 ประชากรมีการติดเชื้อปรสิตสูงสุดในภาคตะวันออก ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคใต้ ตามลำดับ ปรสิตที่พบการติดเชื้อมากที่สุด คือ *Taenia* spp. ร้อยละ 1.23 และ *Blastocystis hominis* ร้อยละ 2.71[5] แม้ว่าโรคปรสิตในลำไส้ส่วนใหญ่จะไม่ปรากฏอาการชัดเจน แต่เป็นโรคเรื้อรัง นอกจากนี้ปรสิตในลำไส้บางชนิดเมื่อปรากฏอาการแล้วก่อความรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้อย่างรวดเร็วและไม่สามารถรักษาได้ทันท่วงที ซึ่งมีสาเหตุจากการได้รับไข่หรือตัวอ่อนของปรสิตในลำไส้เข้าสู่ร่างกาย ทั้งจากการบริโภคอาหารที่ปรุงไม่สุก เช่น เนื้อสัตว์ที่เป็นโฮสต์ตัวกลางที่มีระยะติดต่อ หรือจากการบริโภคอาหารและน้ำที่ปนเปื้อนระยะติดต่อของเชื้อ นอกจากการติดต่อทางการบริโภคอาหารและน้ำ ปรสิตยังสามารถติดต่อเข้าสู่คนผ่านการไชเข้าสู่ผิวหนังได้ ทั้งนี้จังหวัดนครสวรรค์มีรายงานการเสียชีวิตจากการติดเชื้อโรคและปรสิตในปี พ.ศ. 2556 จำนวน 846 คน คิดเป็นร้อยละ 79.09[6] และปี พ.ศ. 2561 มีรายงานอัตราการป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน จำนวน 1,986.65 ต่อประชากรแสนคน ซึ่งสาเหตุหนึ่งมาจากการติดเชื้อปรสิตในลำไส้[7]

คณะผู้วิจัยตระหนักถึงปัญหาการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ ที่พบการแพร่กระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย ในจังหวัดนครสวรรค์ยังมีข้อมูลการรายงานเกี่ยวกับการติดเชื้อปรสิตน้อย จึงทำการศึกษาความชุกของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ของนักเรียนและประชาชนทั่วไป ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 เพื่อเปรียบเทียบอัตราการติดเชื้อในวัยเด็กกับวัยผู้ใหญ่ และศึกษาปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ เพื่อหาแนวทางกำหนดมาตรการและกิจกรรมส่งเสริมกระตุ้นให้ประชากรในจังหวัดนครสวรรค์ ตระหนักถึงอันตรายที่เกิดขึ้นและเห็นความสำคัญของการดูแลสุขภาพรวมทั้งมีการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมอย่างถูกต้อง

วัสดุและวิธีการ

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ได้แก่ 0.85% normal saline: NSS, ethyl acetate, 10% formalin, sodium chloride: NaCl, potassium chloride: KCl, calcium chloride: $CaCl_2$, magnesium chloride: $MgCl_2$, monosodium phosphate: $NaH_2PO_42H_2O$, sodium bicarbonate: $NaHCO_3$, streptomycin 1 gm, penicillin G. sodium 1,000,000 units และ horse serum

เครื่องมือและอุปกรณ์

ตู้ปลอดเชื้อ (biological safety cabinet class II) ยี่ห้อ Biobase, China รุ่น BSC-1100IIA2-X สำหรับทำการทดสอบตัวอย่างอุจจาระ เพื่อตรวจหาเชื้อปรสิตและป้องกันการปนเปื้อนของผู้ปฏิบัติงาน, เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) ยี่ห้อ Eppendorf, Germany รุ่น 5418 สำหรับปั่นเหวี่ยงตกตะกอนตัวอย่าง

ด้วยน้ำยา formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT), เครื่องชั่งสารเคมียี่ห้อ Sartorius, Germany รุ่น Quintix, เครื่องกวนสารละลาย ยี่ห้อ IKA, Germany รุ่น C-MAG HS7, ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert, Germany รุ่น UN30 ที่อุณหภูมิ 135±10 องศาเซลเซียส สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ LES media และตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) ยี่ห้อ Memmert, Germany รุ่น IF30 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

กลุ่มตัวอย่าง

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงสำรวจแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional survey research) ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 เพื่อหาความชุกและพฤติกรรมเสี่ยงของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ของประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ โดยทำการสำรวจ 2 กลุ่มประชากร คือ 1) กลุ่มนักเรียน ได้แก่ กลุ่มนักเรียนตั้งแต่ชั้นอนุบาล 1 ถึงชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 ที่มีอายุตั้งแต่ 3-18 ปี ทั้งหมด 5 แห่ง จำนวน 342 ราย และ 2) กลุ่มผู้ใหญ่ที่มีอายุระหว่าง 19-90 ปี จำนวน 12 หมู่บ้าน ใน 5 ตำบล ได้แก่ ตำบลเนินมะกอก ตำบลนิคมเขาบ่อแก้ว ตำบลท่าน้ำอ้อย ตำบลน้ำทรง และตำบาลเขาทอง อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 241 ราย รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 583 ราย โดยให้ความสมัครใจเข้าร่วมการวิจัยและลงนามแสดงความยินยอมในแบบบันทึกใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (informed consent form) โครงการนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เลขที่ 713/61 เมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2561

วิธีการศึกษา

เก็บตัวอย่างอุจจาระนักเรียนและประชาชนคนละ 1 กระปุก หรือประมาณ 5 กรัม นำมาตรวจวินิจฉัยทางปรสิตวิทยา 3 วิธี ได้แก่ วิธีตรวจอย่างง่าย (simple smear) วิธีการตกตะกอนด้วยน้ำยา formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT) และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อโปรโตซัวด้วย LES media (locke egg serum (LES) medium culture)[8,9] ตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจวินิจฉัยทั้ง 3 วิธี นำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า และ 40 เท่า ด้วยวิธีดูแบบสดและวิธีย้อมด้วยสีไอโอดีนในการจำแนกชนิดของโปรโตซัว จำแนกลักษณะเฉพาะของไข่หรือตัวอ่อนของหนอนพยาธิจากโครงสร้าง (structure) รูปร่าง (shape) ขนาด (size) สี (color)[10] และจำแนกระยะซีสต์ (cyst) หรือระยะโทรโฟซอยท์ (trophozoite) ของโปรโตซัว จากลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา ซึ่งประกอบด้วยไซโทพลาสซึม (cytoplasm) นิวเคลียส (nucleus) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell envelope) และอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่[11,12] รวมทั้งแบบสอบถามเกี่ยวกับพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อปรสิต

วิธีการตรวจอย่างง่าย (simple smear)[13]

นำไม้จิ้มฟันเขี่ยอุจจาระขนาดเท่าหัวไม้ขีด แล้วนวนเป็นรูปวงกลมบนสไลด์ที่หยดน้ำเกลือ 0.85% NSS ประมาณ 1-2 หยด ปิดด้วย cover glass จากนั้นนำสไลด์ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า และ 40 เท่า

วิธีการตรวจด้วยวิธีตกตะกอนด้วยน้ำยาฟอร์มาลินและเอทิลอะซิเตท (formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT)[14,15]

ละลายอุจจาระ 2-3 กรัม ในน้ำเกลือ 0.85% NSS 10 มิลลิลิตร ให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วกรองอุจจาระผ่านผ้าก๊อซ 2 ชั้น ลงในหลอดขนาด 15 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตรประมาณ 1-2 มิลลิลิตร เติมน้ำยา ethyl acetate 3 มิลลิลิตร และน้ำยา 10% formalin ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากัน นำไปปั่นด้วยความเร็ว 2,500 รอบ/นาที นาน 3 นาที จะเห็นตะกอน 4 ชั้น จากนั้นเทสารละลายส่วนบนออกให้เหลือเฉพาะชั้นตะกอน ใช้ pasteur pipette ดูดตะกอนที่ก้นหลอดขึ้นลงเพื่อผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูดตะกอนหยดลงบนสไลด์แก้ว ปิดด้วย cover glass นำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า และ 40 เท่า

วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อด้วย LES media (Boeck and Drbohlav Locke egg serum (LES) medium culture)[16]

การเตรียม Ringer's solution

ชั่งสาร NaCl จำนวน 8.0 กรัม, KCl จำนวน 0.2 กรัม, $CaCl_2$ จำนวน 0.2 กรัม, $MgCl_2$ จำนวน 0.1 กรัม, $NaH_2PO_4.2H_2O$ จำนวน 0.1 กรัม และ $NaHCO_3$ จำนวน 0.4 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 1,000 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายเข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

การเตรียมอาหาร LES media

นำไข่ไก่ขนาดใหญ่ จำนวน 4 ฟอง ล้างให้สะอาด ตอกไข่ลงในบีกเกอร์ เติม Ringer's solution ปริมาตร 125 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยผ้ากรอง จากนั้นดูดส่วนผสมลงในหลอดแก้วปริมาตร 4 มิลลิลิตร ปิดฝาหลวม ๆ ลนไฟ เอียงเป็นแนวลาด (slant) นำเข้าตู้อบอุณหภูมิประมาณ 135 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จนไข่สุก จากนั้นนำออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็น เติม Ringer's solution กับ 10% horse serum (Ringer 900 ml/horse serum 100 ml) หลอดละปริมาตร 7 มิลลิลิตร

วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ

เติมยาปฏิชีวนะ (streptomycin, penicillin G. sodium) และแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดอาหาร LES media เขี่ยอุจจาระลงในหลอด หลอดละประมาณ 1 กรัม จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 3–5 วัน แล้วนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยวิธีอย่างง่าย

แบบสอบถาม

แบบสอบถามประกอบด้วย 3 ส่วน ดังนี้ ส่วนที่ 1 แบบสอบถามเกี่ยวกับข้อมูลลักษณะพื้นฐานทั่วไปของประชาชน ส่วนที่ 2 แบบสอบถามเกี่ยวกับด้านสุขลักษณะพฤติกรรม และสิ่งแวดล้อม และส่วนที่ 3 แบบสอบถามประวัติเกี่ยวกับโรคพยาธิ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่เก็บรวบรวมถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม excel 2016 เพื่อวิเคราะห์หาความชุกของเชื้อปรสิตในลำไส้ของประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 ด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive analysis) นำเสนอด้วยค่าเฉลี่ย ความถี่ ร้อยละ รวมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะพื้นฐานประชาชนและข้อมูลพฤติกรรมสุขภาพต่าง ๆ โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าสูงสุด และค่าต่ำสุด

ผล

การศึกษาครั้งนี้เพื่อหาความชุกของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ของประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 ตลอดจนพฤติกรรมที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ ผู้ติดเชื้อ จำนวน 583 ราย เป็นนักเรียน 342 ราย และผู้ใหญ่ 241 ราย โดยใช้การตรวจวินิจฉัย 3 วิธี คือ วิธี simple smear วิธี FECT และวิธี LES culture ผลการศึกษาพบอัตราความชุกของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ จำนวน 168 ราย คิดเป็น 28.80% เป็นกลุ่มโปรโตซัว 28.10% และกลุ่มหนอนพยาธิ 0.70% ซึ่งกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อปรสิตในลำไส้ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง จำนวน 115 ราย (17.70%) และเพศชาย จำนวน 53 ราย (9.10%) ช่วงอายุที่ติดเชื้อมากที่สุด คือ 3–12 ปี จำนวน 41 ราย (7.03%) รองลงมา คือ ช่วงอายุ 41–60 ปี จำนวน 34 ราย (5.83%) ช่วงอายุ 13–18 ปี จำนวน 26 ราย (4.46%) ช่วงอายุ 61–80 ปี จำนวน 21 ราย (3.60%) ช่วงอายุมากกว่า 80 ปี จำนวน 3 ราย (0.51%) ช่วงอายุ 21–40 ปี (0.17%) และไม่ระบุช่วงอายุ จำนวน 42 ราย (7.20%) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การติดเชื้อปรสิตในลำไส้ แบ่งตามเพศและกลุ่มช่วงอายุ

	จำนวนที่ตรวจ (ราย)	จำนวนที่ติดเชื้อ (ราย)	ร้อยละ
เพศ			
ชาย	230	53	9.10
หญิง	347	115	17.70
ไม่ระบุ	6	0	0.00
อายุ			
3–12 ปี	200	41	7.03
13–18 ปี	133	26	4.46
21–40 ปี	9	1	0.17
41–60 ปี	98	34	5.83
61–80 ปี	65	21	3.60
81–90 ปี	6	3	0.51
ไม่ระบุ	72	42	7.20

จากการตรวจปรสิตในลำไส้ของประชากรทั้ง 2 กลุ่ม พบการติดเชื้อทั้งหมด 168 ราย ชนิดของปรสิตก่อโรคที่พบ ได้แก่ *B. hominis* (17.15%), *E. histolytica* (2.57%), *G. lamblia* (0.51%), *O. viverrini* (0.34%), *S. stercoralis* (0.17%), *T. trichiura* (0.17%) และปรสิตที่ไม่ก่อโรค ได้แก่ *E. coli* (4.63%) และ *E. nana* (3.26%) พบในกลุ่มนักเรียน จำนวน 75 ราย จากทั้งหมด 342 ราย (21.93%) ปรสิตที่พบ ได้แก่ *B. hominis* (11.70%), *E. histolytica* (2.34%), *G. lamblia* (0.58%), *O. viverrini* (0.29%), *T. trichiura* (0.29%), *E. coli* (4.68%) และ *E. nana* (2.05%) ส่วนในกลุ่มผู้ใหญ่พบการติดเชื้อ จำนวน 93 ราย จากทั้งหมด 241 ราย (38.60%) ปรสิตที่พบ ได้แก่ *B. hominis* (24.90%), *E. histolytica* (2.90%), *G. lamblia* (0.42%), *O. viverrini* (0.42%), *S. stercoralis* (0.42%), *E. nana* (4.98%) และ *E. coli* (4.56%) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบความชุกของปรสิตในลำไส้ กลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่

ปรสิตในลำไส้	อัตราการติดเชื้อทั้งหมด (%) (n = 583 ราย)	อัตราการติดเชื้อ (%)	
		นักเรียน	ผู้ใหญ่
ปรสิตก่อโรค			
Blastocystis hominis	100 (17.15)	40 (11.70)	60 (24.90)
Entamoeba histolytica	15 (2.57)	8 (2.34)	7 (2.90)
Giardia lamblia	3 (0.51)	2 (0.58)	1 (0.42)
Opisthorchis viverrini	2 (0.34)	1 (0.29)	1 (0.42)
Trichuris trichiura	1 (0.17)	1 (0.29)	0 (0.00)
Strongyloides stercoralis	1 (0.17)	0 (0.00)	1 (0.42)
ปรสิตไม่ก่อโรค			
Endolimax nana	19 (3.26)	7 (2.05)	12 (4.98)
Entamoeba coli	27 (4.63)	16 (4.68)	11 (4.56)
รวม	**168 (28.80)**	**75 (21.93)**	**93 (38.60)**

ผลการตรวจวินิจฉัยตัวอย่างอุจจาระด้วยวิธีทางปรสิตวิทยาทั้ง 3 วิธี คือ simple smear, FECT และ LES medium culture ในตัวอย่างกลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่ พบว่าวิธี LES medium culture สามารถตรวจพบเชื้อปรสิตในลำไส้ได้มากที่สุด คือ 68.0% และ 71.1% ตามลำดับ รองลงมา คือ วิธี FECT สามารถตรวจพบเชื้อ คือ 17.3% และ 17.0% ตามลำดับ และวิธี simple smear ตรวจพบเชื้อน้อยที่สุด คือ 14.7% และ 11.9% ตามลำดับ ในภาพรวม (กลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่) เชื้อปรสิตที่ตรวจด้วยวิธี LES medium culture สามารถตรวจพบได้มากกว่า 2 วิธี คือ เชื้อ *B. hominis*, *E. histolytica* และ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อปรสิตในลำไส้ 3 วิธี ในกลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่

ปรสิตในลำไส้	จำนวนผู้ติดเชื้อปรสิตในลำไส้ (%) (n = 168)							
	นักเรียน				ผู้ใหญ่			
	จำนวนทั้งหมด	simple smear	FECT	LES medium culture	จำนวนทั้งหมด	simple smear	FECT	LES medium culture
ปรสิตก่อโรค								
Blastocystis hominis	40	5 (6.8)	2 (2.8)	33 (44.0)	60	3 (3.2)	0 (0.0)	57 (61.3)
Entamoeba histolytica	8	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (10.6)	7	2 (2.2)	3 (3.2)	2 (2.2)
Giardia lamblia	2	1 (1.3)	1 (1.3)	0 (0.0)	1	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
Opisthorchis viverrini	1	0 (0.0)	1 (1.3)	NA	1	0 (0.0)	1 (1.0)	NA
Trichuris trichiura	1	0 (0.0)	1 (1.3)	NA	0	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
Strongyloides stercoralis	0	0 (0.0)	0 (0.0)	NA	1	0 (0.0)	1 (1.0)	NA
ปรสิตไม่ก่อโรค								
Endolimax nana	7	1 (1.3)	4 (5.3)	2 (2.8)	12	2 (2.2)	5 (5.4)	5 (5.4)
Entamoeba coli	16	4 (5.3)	4 (5.3)	8 (10.6)	11	4 (4.3)	5 (5.4)	2 (2.2)
รวม	**75 (100)**	**11 (14.7)**	**13 (17.3)**	**51 (68.0)**	**93 (100)**	**11 (11.9)**	**16 (17.0)**	**66 (71.1)**

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้านพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ พบว่าพฤติกรรมด้านการป้องกันตนเองในเรื่องการขับถ่ายอุจจาระโดยมีการขับถ่ายอุจจาระแบบส้วมหลุม ทั้งในกลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่ โดยในกลุ่มผู้ใหญ่ (44.09%) สูงกว่ากลุ่มนักเรียน (2.97%) พบการขับถ่ายลงพื้นดินในกลุ่มผู้ใหญ่และกลุ่มนักเรียนมีค่าใกล้เคียงกัน (0.54% และ 0.23%) การสวมรองเท้าเมื่อสัมผัสพื้นดิน พบว่าไม่สวมรองเท้าหรือสวมเป็นบางครั้งในกลุ่มผู้ใหญ่ (5.71% และ 40.00%) สูงกว่ากลุ่มนักเรียน (0.91% และ 28.57%) สำหรับการล้างมือก่อนรับประทานอาหาร พบว่าไม่ล้างมือหรือล้างเป็นบางครั้งในกลุ่มนักเรียน (4.97% และ 43.57%) สูงกว่าในกลุ่มผู้ใหญ่ (1.66% และ 22.65%) ส่วนการล้างผักผลไม้ก่อนรับประทาน พบทั้งในกลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่มีการล้างทุกครั้งสูงสุด (62.53% และ 81.87%) ไม่ล้างน้อยสุด (0.68% และ 0.55%) ในส่วนของการล้างมือหลังสัมผัสสัตว์เลี้ยง พบว่ามีการล้างมือทุกครั้งสูงสุดทั้งในกลุ่มนักเรียนและผู้ใหญ่ (49.53% และ 59.12%) ในขณะที่ไม่ล้างน้อยสุด (5.40% และ 8.03%) ดังแสดงในตารางที่ 4

พฤติกรรมด้านการบริโภค พบว่ารับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ เป็นประจำและรับประทานทุกวัน ทั้งในกลุ่มนักเรียน (1.60% และ 1.83%) และกลุ่มผู้ใหญ่ (1.66% และ 1.66%) ซึ่งประเภทของอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ที่รับประทานในกลุ่มนักเรียนรับประทานจำพวกเนื้อหมู/เนื้อวัวสูงสุด รองลงมา คือ ปลา (37.06% และ 33.55%) ส่วนในกลุ่มผู้ใหญ่รับประทานปลาสูงสุด รองลงมา คือ เนื้อหมู/

เนื้อวัว (41.25% และ 32.5%) สำหรับแหล่งน้ำดื่ม กลุ่มนักเรียนและผู้ใหญ่มีการดื่มน้ำประปาสูงสุด (65.24% และ 67.01%) รองลงมา คือ น้ำฝน (27.09% และ 27.32%) ในส่วนของการต้มหรือกรองน้ำก่อนดื่ม พบว่าในกลุ่มนักเรียนมีการต้มทุกครั้งสูงสุด รองลงมา คือ ไม่ต้ม/กรอง (39.68% และ 26.15%) ในขณะที่กลุ่มผู้ใหญ่ พบว่าไม่ต้ม/กรองสูงสุด รองลงมา คือ ต้ม/กรองทุกครั้ง (60.8% และ 27.84%) สำหรับแหล่งน้ำใช้ของทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีการใช้น้ำประปาสูงสุด (82.27% และ 89.89%) รองลงมา คือ น้ำฝน (11.59% และ 8.51%) ดังแสดงในตารางที่ 5

พฤติกรรมการรับบริการตรวจและรักษาโรคติดเชื้อปรสิต พบว่าไม่เคยตรวจอุจจาระอยู่ในเกณฑ์สูงทั้งในกลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่ (80.45% และ 88.46%) สำหรับประวัติการรับประทานยาถ่ายพยาธิในกลุ่มนักเรียน พบว่าไม่เคยรับประทานสูงสุด (74.36%) ส่วนในกลุ่มผู้ใหญ่ พบว่าเคยรับประทานยาถ่ายพยาธิ โดยซื้อรับประทานเองสูงสุด (88.33%) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 4 ข้อมูลพฤติกรรมด้านการป้องกันตนเองต่อการติดเชื้อปรสิตในลำไส้

พฤติกรรมการป้องกันตนเอง		นักเรียน		ผู้ใหญ่	
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
การขับถ่ายอุจจาระ	ส้วมหลุม	13	2.97	82	44.09
	ส้วมซึม (นั่งยอง)	280	64.07	101	54.30
	ชักโครก	143	32.72	2	1.08
	ถ่ายลงพื้นดิน/แหล่งน้ำธรรมชาติ	1	0.23	1	0.54
การสวมรองเท้าเมื่อสัมผัสพื้นดิน	ไม่สวมรองเท้า	4	0.91	2	5.71
	สวมเป็นบางครั้ง	126	28.57	14	40.00
	สวมเป็นส่วนใหญ่	110	24.94	19	54.29
	สวมทุกครั้ง	201	45.58	0	0.00
การล้างมือก่อนรับประทานอาหาร	ไม่ล้างมือ	22	4.97	3	1.66
	ล้างมือเป็นบางครั้ง	193	43.57	41	22.65
	ล้างมือเป็นส่วนใหญ่	111	25.06	29	16.02
	ล้างมือทุกครั้ง	117	26.41	108	59.67
การล้างผักผลไม้ก่อนรับประทาน	ไม่ล้างผักผลไม้	3	0.68	1	0.55
	ล้างเป็นบางครั้ง	64	14.45	11	6.04
	ล้างเป็นส่วนใหญ่	99	22.35	21	11.54
	ล้างทุกครั้ง	277	62.53	149	81.87
การล้างมือหลังสัมผัสสัตว์เลี้ยง	ไม่ล้างมือ	23	5.40	11	8.03
	ล้างมือเป็นบางครั้ง	103	24.18	21	15.33
	ล้างมือเป็นส่วนใหญ่	89	20.89	24	17.52
	ล้างมือทุกครั้ง	211	49.53	81	59.12

ตารางที่ 5 ข้อมูลพฤติกรรมด้านการบริโภค

พฤติกรรมการบริโภค		นักเรียน		ผู้ใหญ่	
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
การรับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ	ไม่รับประทาน	254	58.12	112	61.88
	รับประทานเป็นครั้งคราว	168	38.44	63	34.81
	รับประทานเป็นประจำ	7	1.60	3	1.66
	รับประทานทุกวัน	8	1.83	3	1.66
ประเภทอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ที่รับประทาน	กุ้งน้ำจืด	62	19.81	11	13.75
	เนื้อวัว/เนื้อหมู	116	37.06	26	32.50
	ปลา	105	33.55	33	41.25
	ปูน้ำตก/ปูนา	30	9.58	10	12.50
แหล่งน้ำดื่ม	น้ำฝน	120	27.09	53	27.32
	น้ำประปา	289	65.24	130	67.01
	น้ำบ่อ	3	0.68	1	0.52
	น้ำคลอง	7	1.58	0	0.00
	น้ำถัง/น้ำขวด	24	5.42	10	5.15
การต้ม/กรองน้ำก่อนรับประทาน	ไม่ต้ม/ไม่กรอง	114	26.15	107	60.80
	ต้ม/กรองบางครั้ง	99	22.17	9	5.11
	ต้ม/กรองเป็นส่วนใหญ่	50	11.47	11	6.25
	ต้ม/กรองทุกครั้ง	173	39.68	49	27.84
แหล่งน้ำใช้	น้ำฝน	51	11.59	16	8.51
	น้ำประปา	362	82.27	169	89.89
	น้ำบ่อ	6	1.36	3	1.60
	น้ำคลอง	16	3.64	0	0.00
	น้ำถัง/น้ำขวด	5	1.14	0	0.00

ตารางที่ 6 ข้อมูลพฤติกรรมการรับบริการตรวจและรักษาโรคติดเชื้อปรสิต

พฤติกรรมการรับบริการตรวจและรักษาโรคติดเชื้อปรสิต		นักเรียน		ผู้ใหญ่	
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
ประวัติการตรวจอุจจาระเพื่อหาพยาธิ	เคย/ไม่พบพยาธิ	84	19.09	21	11.54
	เคย/พบพยาธิ	2	0.45	0	0.00
	ไม่เคย	354	80.45	161	88.46
ประวัติการรับประทานยาถ่ายพยาธิ	ไม่เคย	322	74.36	21	11.67
	เคยซื้อยารับประทานเอง	99	22.86	159	88.33
	เคยรับประทานยาที่ได้รับแจก (โรงเรียน/รพ.สต.)	12	2.77	0	0.00

วิจารณ์

จากผลการศึกษาความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ของประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงปี พ.ศ. 2562–2563 จำนวน 583 ราย พบกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อปรสิตในลำไส้ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (17.70%) มากกว่าเพศชาย (9.10%) ซึ่งมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาในปี พ.ศ. 2564 โดยศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อปรสิตในลำไส้และปัจจัยเสี่ยงของแรงงานข้ามชาติชาวเมียนมาร์ ในจังหวัดนครราชสีมา ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จำนวน 600 คน พบอัตราการติดเชื้อในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย (27.84% และ 26.38% ตามลำดับ)[17] แตกต่างจากการศึกษาในปี พ.ศ. 2559 ที่ศึกษาความชุกของโรคติดเชื้อหนอนพยาธิในพื้นที่ตำบลซำสูง จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย จำนวน 240 ราย พบอัตราการติดเชื้อปรสิต จำนวน 14 ราย (5.83%) พบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (6.16% และ 5.32% ตามลำดับ)[18] และในปี พ.ศ. 2561 ศึกษาความชุกของปรสิตในลำไส้และปัจจัยเสี่ยง ในอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 224 ราย พบอัตราการติดเชื้อ 36 ราย (16.1%) พบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (22.7% และ 11.8% ตามลำดับ)[19] การศึกษาในครั้งนี้ยังพบการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ในผู้ใหญ่ (38.60%) มากกว่าในนักเรียน (21.93%) ทั้งนี้ในปี พ.ศ. 2556 มีการศึกษาอัตราการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ในกลุ่มอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน จังหวัดเชียงราย จำนวน 159 ราย พบอัตราการติดเชื้อ 30.2%[20] ปี พ.ศ. 2560 ศึกษาความชุกของพยาธิในลำไส้ของพนักงานโรงงานอุตสาหกรรม ในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ จำนวน 540 ราย พบการติดเชื้อ 34 ราย (6.30%)[21] และประชาชนในอำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดน่าน จำนวน 2,846 ราย พบการติดเชื้อ จำนวน 543 ราย (19.08%) โดยพบในกลุ่มผู้ใหญ่ 24.68% และกลุ่มนักเรียน 9.75%[22] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ ในปี พ.ศ. 2564 ทำการศึกษาในโรงเรียนภายใต้โครงการพัฒนาเด็กและเยาวชนในถิ่นทุรกันดาร ตามพระราชดำริสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จังหวัดบุรีรัมย์ และสุรินทร์ จำนวน 1,720 ราย พบการติดเชื้อในนักเรียน จำนวน 27 ราย (1.57%)[23] ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าในกลุ่มวัยทำงานหรือกลุ่มผู้ใหญ่ หรือแม้กระทั่งกลุ่มอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน ซึ่งเป็นกำลังสำคัญในการมีส่วนช่วยควบคุมและป้องกันโรคปรสิต ยังพบอัตราการติดเชื้อสูงกว่าในกลุ่มนักเรียน สาเหตุเนื่องจากกระทรวงสาธารณสุขมีการจัดตั้งโครงการควบคุมโรคหนอนพยาธิ ในโครงการตามพระราชดำริสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี โดยมุ่งเน้นการควบคุมโรคอย่างยั่งยืน คือ ตรวจหาหนอนพยาธิ ให้การรักษา ตลอดจนให้ความรู้ความเข้าใจสามารถป้องกันตนเองและถ่ายทอดองค์ความรู้สู่ชุมชนได้[24] ซึ่งจากโครงการดังกล่าวทำให้อัตราการติดเชื้อในกลุ่มเด็กนักเรียนมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง

จากการศึกษาพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ พบว่าปัจจัยเสี่ยงด้านการดื่มน้ำที่ไม่ผ่านการต้มหรือกรองก่อนดื่มสอดคล้องกับผลการติดเชื้อโปรโตซัวในอัตราที่สูง (28.10%) ทั้ง 2 กลุ่ม พฤติกรรมการสวมรองเท้าเมื่อสัมผัสพื้นดินสอดคล้องกับผลการติดเชื้อ *S. stercoralis* พบเฉพาะในกลุ่มผู้ใหญ่เท่านั้น และพฤติกรรมการรับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ประเภทปลาสอดคล้องกับผลการติดเชื้อ *O. viverrini* ตรวจพบทั้ง 2 กลุ่ม คือ จำนวน 1 ราย ปัจจัยด้านพฤติกรรมมีสาเหตุและอิทธิพลมาจากความเชื่อที่กำหนดพฤติกรรมสุขภาพต่อการกระทำของบุคคล[25] ปัจจัยภายในของแต่ละบุคคลที่ส่งผลต่อการกระทำหรือพฤติกรรม เช่น การเรียนรู้ การรับรู้ ทัศนคติ ค่านิยม การเลียนแบบ และการถูกบังคับ ตลอดจนสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ การปฏิบัติซึ่งเป็นพฤติกรรมทั้งด้านบวก (positive behavior) และด้านลบ (negative behavior) พฤติกรรมทางด้านลบเป็นสิ่งที่ก่อให้เกิดปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญต้องรีบดำเนินการแก้ไข ปัจจัยภายนอกที่มีอิทธิพลต่อความเชื่อและการปฏิบัติด้านสุขภาพ ได้แก่ การปฏิบัติของครอบครัว ปัจจัยทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และพื้นฐานทางวัฒนธรรม[26] โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัฒนธรรมที่มีอิทธิพลต่อความเชื่อ การให้คุณค่า และการปฏิบัติที่เป็นธรรมเนียมสืบทอดกันมา ซึ่งจะมีผลต่อการเข้าระบบการดูแลสุขภาพและการทำกิจกรรมเพื่อสุขภาพดี ในบางกลุ่มชนอาจไม่ยอมรับและไม่ใช้ระบบการให้การดูแลสุขภาพ แต่จะปฏิบัติตามวิถีที่สืบทอดกันมา[27] ซึ่งในกลุ่มผู้ใหญ่มีการ

ถ่ายทอดวัฒนธรรมความเชื่อมาเป็นระยะเวลายาวนาน ทำให้เกิดความเคยชิน ส่งผลให้เกิดการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมได้ยากกว่าในนักเรียนซึ่งอยู่ในช่วงของวัยเรียนรู้

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาเชื้อปรสิตในลำไส้ทั้ง 3 วิธี พบว่าทั้งกลุ่มนักเรียนและกลุ่มผู้ใหญ่ การตรวจด้วยวิธี FECT ไวกว่าวิธี simple smear (17.30% และ 17.0% ตามลำดับ) เนื่องจากวิธี FECT เป็นวิธีที่ใช้ปริมาณอุจจาระมากกว่าขั้นตอนการปั่นตกตะกอน และแยกกากอาหารกับไขมัน ทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อปรสิตในลำไส้ได้มากกว่า[28] ขณะที่วิธี simple smear แม้จะสะดวก รวดเร็ว แต่ใช้ปริมาณอุจจาระเพียงเล็กน้อย ทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อปรสิตในลำไส้น้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีจำนวนเชื้อปรสิตจำนวนน้อย อาจตรวจไม่พบ[29] ส่วนวิธี LES medium culture นั้น สามารถตรวจพบเชื้อให้ผลเร็วที่สุด (69.64%) โดยเฉพาะในกลุ่มโปรโตซัว ซึ่งเชื้อที่พบ ได้แก่ *B. hominis* (53.57%), *E. histolytica* (5.95) และ *E. coli* (5.95%) เนื่องจากใน LES medium culture มีสารอาหารที่สำคัญหลายอย่างที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อโปรโตซัว[30] ยกเว้นเชื้อ *G. lamblia* ไม่สามารถตรวจพบด้วยวิธี LES medium culture เนื่องจากวงจรชีวิตสภาพแวดล้อม อุณหภูมิของเชื้อ *G. lamblia* มีความแตกต่างจากเชื้อดังกล่าว จึงอาจไม่เหมาะสมที่จะตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี LES medium culture ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยหาความชุกของเชื้อโปรโตซัวในลำไส้ ควรมีการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อด้วย LES medium culture เพิ่มเติม จะช่วยเพิ่มความไวในการตรวจวินิจฉัยให้สูงยิ่งขึ้น

สรุป

การศึกษาความชุกของการติดเชื้อปรสิตในลำไส้และพฤติกรรมเสี่ยงของกลุ่มประชากร ในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 จำนวนทั้งหมด 583 ราย ทำให้ทราบอัตราการติดเชื้อของประชากรในกลุ่มนักเรียน 21.39% และในกลุ่มผู้ใหญ่ 38.60% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในพื้นที่อำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ แม้จะเป็นเมืองใหญ่ไม่ห่างไกลกรุงเทพมหานคร แต่ยังคงพบการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ และจากการพบอัตราการติดเชื้อในกลุ่มผู้ใหญ่สูงกว่าในกลุ่มนักเรียนนั้น ทำให้ทราบสถานการณ์แนวโน้มการติดเชื้อในกลุ่มผู้ใหญ่ที่อาจถูกละเลยในการเข้าไปควบคุมป้องกันการติดเชื้อ ถึงแม้ว่าอัตราการติดเชื้อในกลุ่มนักเรียนจะพบต่ำกว่ากลุ่มผู้ใหญ่ แต่โรคปรสิตในลำไส้เป็นโรคที่สามารถติดต่อได้ หากขาดการใส่ใจในการดูแลสุขอนามัยของตนเอง อีกทั้งยังสามารถควบคุมและป้องกันได้จากการร่วมมือของทุกภาคส่วน ดังนั้นจึงควรส่งเสริมการสร้างความตระหนักรู้ (health literacy) แก่นักเรียน ประชาชน และชุมชนในการรู้จักดูแลสุขอนามัยของตนเองให้ห่างไกลจากโรคปรสิต มุ่งเน้นที่ตัวแปรที่สำคัญ ได้แก่ ความรู้ (knowledge) ทัศนคติ (attitude) และการยอมรับปฏิบัติ (practice) ตามทฤษฎี KAP โดยการให้ความรู้ความเข้าใจที่แท้จริงต่อการตระหนักถึงอันตรายของโรค ซึ่งจะนำไปสู่การปรับเปลี่ยนความเชื่อและพฤติกรรมเสี่ยงได้ อีกทั้งควรมีการกำหนดมาตรการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ จึงจะสามารถช่วยลดอัตราความชุกของปรสิตในลำไส้ได้อย่างยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์อย่างสูงจากเจ้าหน้าที่สาธารณสุข ผู้นำชุมชน ประชาชนในตำบลเขาทอง ผู้อำนวยการโรงเรียน ครูและนักเรียนโรงเรียนในอำเภอพยุหะคีรี จังหวัดนครสวรรค์ ในการลงพื้นที่เก็บตัวอย่างอุจจาระ รวมทั้งขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นอย่างสูงที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือตลอดการดำเนินงาน จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Prevention and control of intestinal parasitic infections: report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization; 1987.

2. World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic, 2017: monitoring tobacco use and prevention policies. Geneva: World Health Organization; 2017.
3. Nuchprayoon S, Siriyasatien P, Kraivichian K, Porksakorn C, Nuchprayoon I. Prevalence of parasitic infections among Thai patients at the King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand. J Med Assoc Thai 2002; 85 (Suppl 1): S415-23.
4. Wongsaroj T, Nithikathkul C, Rojkitikul W, Nakai W, Royal L, Rammasut P. National survey of helminthiasis in Thailand. Asian Biomedicine 2014; 8(6): 779-83.
5. Chonsawat P, Wongphan B. Prevalence of parasitic infections in patients at Hospital for Tropical Diseases, Mahidol University. J Med Tech Assoc Thai 2017; 45(2): 6073-84.
6. สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. รายงานการตายรายจังหวัดนครสวรรค์ พ.ศ. 2554-2556. นนทบุรี: กระทรวงสาธารณสุข; 2560.
7. สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ กรมควบคุมโรค. รายงานประจำปี 2561. นครสวรรค์: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2561.
8. Nuchprayoon S, Sanprasert V, Kaewzaithim S, Saksirisampant W. Screening for intestinal parasitic infections among Myanmar migrant workers in Thai food industry: a high-risk transmission. J Immigr Minor Health 2009; 11(2): 115-21.
9. Assavapongpaiboon B, Bunkasem U, Sanprasert V, Nuchprayoon S. A cross-sectional study on intestinal parasitic infections in children in suburban public primary schools, Saraburi, the central region of Thailand. Am J Trop Med Hyg 2018; 98(3): 763-7.
10. อดุลย์ศักดิ์ วิจิตร. คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคหนอนพยาธิเพื่อหาไข่พยาธิและตัวอ่อนในอุจจาระคนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวิธีคาโต้ ธิค สเมียร์ หรือ คาโต้ แคทธ์. เชียงใหม่: สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2561.
11. พิสัย กรัยวิเชียร, บรรณาธิการ. ปาราสิตวิทยาทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2534.
12. ประยงค์ ระดมยศ, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, ศรีวิชา ครุฑสูตร, พลรัตน์ วิไลรัตน์, สุภลัคน์ โพธิ์พฤกษ์. Atlas of medical parasitology: with 469 colour illustrations. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ: คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล; 2553.
13. ชูมณี ละม่อม, รัชฎา เกียรติเฟื่องฟู. เทคนิคพื้นฐานทางปรสิตวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2548.
14. Hailu T, Abera B. Performance evaluation of direct saline stool microscopy, Formol ether concentration and Kato Katz diagnostic methods for intestinal parasitosis in the absence of gold standard methods. Trop Doct 2015; 45(3): 178-82.
15. Sanprasert V, Charuchaibovorn S, Bunkasem U, Srirungruang S, Nuchprayoon S. Comparison between direct smear, formalin-ethyl acetate concentration, and Mini Parasep® Solvent-Free Concentrator for screening of intestinal parasitic infections among school-age children. Chula Med J 2016; 60(3): 255-69.
16. Saksirisampant W, Nuchprayoon S, Wiwanitkit V, Yenthakam S, Ampavasiri A. Intestinal parasitic infestations among children in an orphanage in Pathum Thani province. J Med Assoc Thai 2003; 82 (Suppl 2): S263-70.

17. Sangwalee W, Rattanapitoon N, Thanchomnang T. Intestinal parasitic infections and risk factors among Myanmar migrant workers in northeast Thailand. Asian Pac J Trop Med 2021; 14(1): 17-26.
18. Taepongsorat L, Nithikathkul C, Homchampa P, Changsap B, Wannapinyosheep S, Reungsang P, et al. Prevalence of parasitic infection in Sum Sung sub-district, Khon Kaen Province, Thailand. SNRU J Sci Tech 2016; 8(2): 211-5.
19. Suntaravitun P, Dokmaikaw A. Prevalence of intestinal parasites and associated risk factors for infection among rural communities of Chachoengsao Province, Thailand. Korean J Parasitol 2018; 56(1): 33-9.
20. พิสิษฐ์ สุนทราวิฑูร, งามนิตย์ ราชกิจ, จักรกฤษณ์ วังราษฎร์, สุนทรี สุรัตน์, ชัยพงศ์ เครือจักร, สมศักดิ์ มณีรัตน์, และคณะ. ความชุกของการติดเชื้อปรสิตลำไส้ในกลุ่มอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน เทศบาลตำบลป่าอ้อดอนชัย อำเภอเมืองเชียงราย จังหวัดเชียงราย. ว สาธารณสุขศาสตร์ 2556; 43(2): 113-25.
21. สุภาภรณ์ วรรณภิญโญชีพ, บังอร ฉางทรัพย์, ชูศักดิ์ นิธิเกตุกุล. ความชุกของพยาธิลำไส้ในพนักงานของโรงงานอุตสาหกรรมในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ. ว มฉก.วิชาการ 2560; 20(40): 13-28.
22. เกษตร ปะทิ. ความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหนอนพยาธิของประชาชนอำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดน่าน พ.ศ. 2559. ว สุขภาพภาคประชาชน 2560: 12(4); 36-42.
23. วิวัฒน์ สังฆะบุตร, อรอุษา ปราสาททอง, กิตติศักดิ์ ประครองใจ. ความชุกของการติดหนอนพยาธิและพฤติกรรมสุขภาพของนักเรียนในโรงเรียนภายใต้โครงการพัฒนาเด็กและเยาวชนในถิ่นทุรกันดารตามพระราชดำริฯ จังหวัดบุรีรัมย์ และสุรินทร์ พ.ศ. 2562. ว ควบคุมโรค 2564; 47(2): 246-56.
24. สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค. แนวทางการปฏิบัติงานโครงการควบคุมโรคหนอนพยาธิในโครงการตามพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สำหรับบุคลากรสาธารณสุข. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2561.
25. Rosenbaum M. Learned resourcefulness: on coping skills self control and adaptive behavior. New York: springer; 1990.
26. Becker MH. The health belief model and sick role behavior. Health Education Monographs. 1974; 2(4): 409-19.
27. Kitphati R, Seangkeao K, Muangyim K, Nak-ai W. Participatory development in community health for the Pgazkoenyau ethnic: a case study in an ethnic community in Thailand. Open Public Health J 2022; 15: 1-10.
28. McHardy IH, Wu M, Shimizu-Cohen R, Couturier MR, Humphries RM. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. J Clin Microbiol 2014; 52(3): 712-20.
29. Parameshwarappa KD, Chandrakanth C, Sunil B. The prevalence of intestinal parasitic infestations and the evaluation of different concentration techniques of the stool examination. JCDR 2012; 6(7): 1188-91.
30. Saksirisampant W, Nuchprayoon S, Pradniwat P, Lamchuan D. Boeck and Drbohlav Locke egg serum medium for detection of *Blastocystis hominis*. Chula Med J 2010; 54(6): 527-36.

Prevalence and Risk Factors of Intestinal Parasitic Infections in the Population of Phayuha Khiri District, Nakhon Sawan, Thailand During 2019-2020

Uthaitip Bunkasem,[1,2] **Siriporn Srirungruang,**[1,3] **Pattama Ayuyoe,**[1,3] **and Vivornpun Sanprasert**[1,2,3]

[1]*Lymphatic Filariasis and Tropical Medicine Research Unit, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

[2]*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

[3]*Department of Parasitology, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand*

ABSTRACT Intestinal parasitic infections are common public health problems in Thailand. They affect various internal organs in human body and can cause death. In this study, we determined the prevalence of intestinal parasitic infections among the students and people living in Phayuha Khiri district, Nakhon Sawan, Thailand between 2019 and 2020. Stool samples were collected from 583 subjects. The diagnosis of intestinal parasitic infections was performed by using 3 techniques including simple smear technique, formalin–ethyl acetate concentration technique (FECT) and locke egg serum (LES) medium culture. The results showed that the overall prevalence of intestinal parasitic infection was 28.8%. Protozoan infections (28.1%) were more common than helminth infection (0.7%). The intestinal parasites found in this population were *Blastocystis hominis* (17.15%), *Entamoeba histolytica* (2.57%), *Giardia lamblia* (0.51%), *Opisthorchis viverrini* (0.34%), *Strongyloides stercoralis* (0.17%) and *Trichuris trichiura* (0.17%), while the non-pathogenic protozoa were *Endolimax nana* (3.26%) and *Entamoeba coli* (4.63%). The higher prevalence was found in adults (38.6%) than in students (21.93%). The potential risk factors were drinking untreated water, walking in barefoot, and eating undercooked freshwater fish. In a comparative study, we found that LES culture technique was the most sensitive method (69.64%), especially for detecting protozoa, while the FECT was more sensitive (17.26%) than simple smear (13.10%) method. This study emphasized the persistent problems of intestinal parasitic infections in in Phayuha Khiri district, Nakhon Sawan Province. In addition to the health education in students, the prevention and control program among adults is also necessary to be implemented.

Keywords: Prevalence, Parasitic infections, Diagnostic

ว กรมวิทย พ 2565; 64 (3): 160-171

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธี Polymerase Chain Reaction สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *Legionella pneumophila*

เบญจพร หนูทอง[1] อาภากร นบนอบ[2] และ ศศิธร หนูทอง[3]

[1]*ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สงขลา 90100*

[2]*ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11/1 ภูเก็ต กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ภูเก็ต 83110*

[3]*มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110*

บทคัดย่อ เชื้อ *Legionella pneumophila* เป็นสาเหตุหลักของโรคลีเจียนแนร์ ซึ่งพบปนเปื้อนได้ในแหล่งน้ำต่าง ๆ สามารถแพร่กระจายสู่คนผ่านทางการสูดดมละอองฝอยที่ปนเปื้อน การเฝ้าระวังเชื้อในแหล่งน้ำจึงเป็นสิ่งจำเป็น สำหรับการตรวจหาเชื้อที่เป็นวิธีมาตรฐาน คือ การเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการอ่านผลและใช้เวลานาน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธี PCR สำหรับตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* ที่รวดเร็ว มีความจำเพาะสูง ไม่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ และสามารถตรวจตัวอย่างจำนวนมากได้ โดยใช้ยีน macrophage infectivity potentiator (*mip*) เป็นยีนเป้าหมาย เปรียบเทียบความสอดคล้องของผลที่ได้กับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ผลผลิตของวิธี PCR ที่พัฒนาได้มีขนาด 265 bp มีค่า limit of detection เท่ากับ 10^2 CFU/ml โดยไม่พบปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับ 100 ไอโซเลท ของเชื้อ *Legionella* และเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ่อยในแหล่งน้ำ 10 ชนิด จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้ตัวอย่างน้ำ พบความสอดคล้องกันในระดับค่อนข้างดี (kappa = 0.81) และค่า negative predictive value ร้อยละ 100.00 นอกจากนี้เมื่อใช้โคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *L. pneumophila* ผลการเปรียบเทียบแสดงความสอดคล้องตรงกันอย่างสมบูรณ์ (kappa = 1.00) แต่วิธี PCR ให้ผลการตรวจที่รวดเร็วกว่าวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อถึง 8 เท่า ดังนั้นวิธี PCR ที่พัฒนาขึ้นจึงเหมาะที่จะใช้เป็นวิธีทางเลือกในการควบคุมและเฝ้าระวังการปนเปื้อนเชื้อในแหล่งน้ำต่าง ๆ รวมถึงสามารถนำไปใช้เป็นวิธีการตรวจยืนยันโคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *L. pneumophila* นอกจากวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อเดิมที่มีอยู่ เพื่อให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็วขึ้น

คำสำคัญ: Polymerase chain reaction, *Legionella pneumophila*, โรคลีเจียนแนร์, ยีน *mip*, แหล่งน้ำ

Corresponding author E-mail: benjaporn.n@dmsc.mail.go.th

Received: 30 May 2022 *Revised: 5 September 2022* *Accepted: 9 September 2022*

บทนำ

Legionella pneumophila เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ที่มีแฟลกเจลลา ขนาด 2-20 ไมครอน จัดเป็น waterborne pathogen ชนิดหนึ่ง[1,2] ที่เป็นสาเหตุหลักของโรคลีเจียนแนร์ (Legionnaire's disease)[3] ซึ่งก่อให้เกิดอาการปอดอักเสบรุนแรงเฉียบพลัน และมีผลกระทบรุนแรงต่ออุตสาหกรรมการท่องเที่ยวของหลายประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย[4] เชื้อชนิดนี้สามารถปนเปื้อนได้ทั้งในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ เช่น ห้วย หนอง คลอง บึง แม่น้ำ บ่อน้ำร้อน เป็นต้น และแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น สระว่ายน้ำ น้ำพุประดับ น้ำก๊อก หอผึ่งเย็น ถังเก็บน้ำ ถังน้ำร้อน เป็นต้น[5] เชื้อ *L. pneumophila* สามารถแพร่กระจายเข้าสู่คนได้โดยผ่านทางการสูดดมเอาละอองน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อเข้าไป[6] ดังนั้นโรคลีเจียนแนร์จึงสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดทั้งปี และไม่มีการติดต่อจากคนสู่คน[7] แต่อาจเกิดขึ้นได้ในผู้ป่วยจำนวนน้อยมาก[8] โดยเฉพาะผู้สูงอายุ เด็ก ผู้ที่มีโรคประจำตัว หรือผู้ที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ง่ายกว่าคนทั่วไป[6] สำหรับประเทศไทยมีรายงานพบผู้ติดเชื้อครั้งแรกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527[9] ซึ่งรายงานส่วนใหญ่เป็นรายงานจากทางต่างประเทศที่พบนักท่องเที่ยวติดเชื้อภายหลังกลับจากการท่องเที่ยวในประเทศไทย[10] โดยรายงานผ่านทางกระทรวงการต่างประเทศมายังกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทย นำไปสู่การสอบสวนโรคและมาตรการการควบคุมโรค เพื่อกำจัดเชื้อจากแหล่งน้ำที่ได้รับการระบุเป็นที่มาของการติดเชื้อ[4] ประมาณร้อยละ 10 ของผู้ติดเชื้อเสียชีวิตด้วยโรคแทรกซ้อน และประมาณร้อยละ 40-80 ของผู้ติดเชื้อป่วยจนเสียชีวิต ซึ่งความรุนแรงของอาการขึ้นกับความไวในการได้รับเชื้อของแต่ละบุคคล[11] ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันการเกิดโรคและลดความเสียหายทางธุรกิจการท่องเที่ยว รวมถึงภาพลักษณ์ของประเทศ หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนจึงควรเฝ้าระวังโรคนี้ด้วยการตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อในแหล่งน้ำต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ท่องเที่ยวที่สำคัญของประเทศ

ปัจจุบันวิธีการตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อ *L. pneumophila* ในแหล่งน้ำที่เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) คือ วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะในการอ่านผล ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะที่มีราคาแพง และใช้เวลานาน 10 วัน ในการดำเนินการ[12] ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่มีความรวดเร็ว มีความจำเพาะสูง ไม่ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะในการอ่านผล และรองรับปริมาณตัวอย่างจำนวนมาก โดยใช้เทคนิคทางอณูชีว-โมเลกุลด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งถูกนำมาใช้ในการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมหลายชนิด เช่น *Escherichia coli*[13], *Shigella sonnei*[14], enteroviruses และ adenoviruses[15] เป็นต้น เพื่อตรวจหายีน macrophage infectivity potentiator (*mip*) ซึ่งเป็น major virulence factor ที่มีความสำคัญต่อการอยู่รอดและเพิ่มจำนวนภายในเซลล์ของเชื้อ *L. pneumophila* ในตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม[16-18] เปรียบเทียบความสอดคล้องกับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลความน่าเชื่อถือสำหรับนำไปใช้เฝ้าระวังและป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อในแหล่งน้ำต่าง ๆ ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

เชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน

เชื้อ *L. pneumophila* ATCC 33152 ถูกนำมาใช้เป็นตัวควบคุมผลบวก และเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 10 ชนิด ตามรายงานของ Collins S และคณะ ปี 2015[17] ประกอบด้วย *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Burkholderia cepacia* DMST 15507, *Bacillus subtilis* ATCC 15896, *Klebsiella oxytoca* DMST 16071, *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, และ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ถูกใช้สำหรับทดสอบความจำเพาะของวิธี โดยเชื้อแบคทีเรียจะถูกเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

นอกจากนี้เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้ จากตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ[19] และจำแนกชนิดสายพันธุ์เชื้อด้วยวิธี latex agglutination test (Oxoid, Hampshire, UK) จำนวน 100 ไอโซเลท

ประกอบด้วย *L. pneumophila* serogroup 1 จำนวน 25 ไอโซเลท, *L. pneumophila* serogroups 2–14 จำนวน 50 ไอโซเลท และ *Legionella* species จำนวน 25 ไอโซเลท เก็บรวบรวมโดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11/1 ภูเก็ต ในปี 2562 โดยการเก็บรักษาเชื้อไว้ในกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ –70 องศาเซลเซียส ถูกใช้สำหรับทดสอบยืนยันความจำเพาะของวิธี PCR ที่พัฒนาขึ้น โดยเชื้อ *Legionella* จะถูกเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด buffered charcoal yeast extract agar (BCYE) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48–72 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้

ตัวอย่างไอโซเลทของเชื้อที่สงสัย *Legionella* และตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม

ตัวอย่างไอโซเลทของเชื้อที่สงสัยเป็นเชื้อ *Legionella* ซึ่งมีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาว ตรงกลางมีลักษณะคล้าย cut-glass ที่เพาะเลี้ยงได้จากตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม ระหว่างเดือนตุลาคม–พฤศจิกายน 2562 โดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11/1 ภูเก็ต จำนวน 385 ไอโซเลท

ตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อมที่สงสัยมีการปนเปื้อนเชื้อ *Legionella* ทั้งแหล่งน้ำตามธรรมชาติและแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น ห้วย หนอง คลอง บึง แม่น้ำ บ่อน้ำร้อน น้ำพุร้อน สระว่ายน้ำ น้ำพุประดับ น้ำก๊อก น้ำทิ้งถาดแอร์ หอผึ่งเย็น ถังเก็บน้ำ ถังน้ำร้อน เป็นต้น ซึ่งส่งตรวจ ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11/1 ภูเก็ต ในเดือนมกราคม 2563 จำนวน 161 ตัวอย่าง

การสกัด DNA

ตัวอย่างไอโซเลทของเชื้อที่สงสัย ขนาด 2–3 มิลลิเมตร ถูกละลายลงในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร การสกัด DNA ทำโดยการต้ม[20] ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีในน้ำแข็ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Eppendorf, Germany) เก็บตัวอย่าง DNA ที่ได้ ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

สำหรับตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อมที่สงสัยมีการปนเปื้อนเชื้อ *Legionella* ให้เตรียมตัวอย่างก่อนการตรวจวิเคราะห์ตามคำแนะนำขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์เชื้อลีจิโอเนลลาของ Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ปี 2005[19] โดยใช้แผ่นกรองชนิด polycarbonate ขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร (Fisher Scientific, USA) จากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้มาสกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด NucleoSpin® Tissue kit (Macherey-Nagel, Germany) ทำตามขั้นตอนต่าง ๆ ตามที่ระบุในชุดสกัด และ DNA ที่สกัดได้เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *L. pneumophila* ด้วยวิธี PCR

วิธี PCR ถูกนำมาใช้ตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *L. pneumophila* ในส่วนยีน macrophage infectivity potentiator (*mip*) ความยาว 265 bp โดยชุดไพรเมอร์ถูกออกแบบจากข้อมูล GenBank accession number S42595[21] ชุดไพรเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 1 PCR product ที่ได้ถูกตรวจสอบความจำเพาะโดยใช้โปรแกรม basic local alignment search tool (BLAST) และประเมินรูปแบบความจำเพาะการตัด PCR product โดยใช้เอนไซม์ *Eco*RI (Thermo Scientific, Waltham, MA) ซึ่งเลือกจากผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NEBcutter (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ตรวจสอบผลผลิต PCR ที่ตัดได้ด้วยวิธี gel electrophoresis

สำหรับส่วนประกอบและสภาวะของปฏิกิริยาทั้งหมดถูกปรับให้มีสภาวะที่เหมาะสม ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1X reaction buffer, 2.5 mM $MgCl_2$ (New England Biolabs, USA), 0.2 mM dNTP mix (Thermo Scientific, USA), 0.2 µM forward primer และ reverse primer (Pacific Science, Thailand), 0.625 U Taq DNA polymerase (New England Biolabs, USA) เติม nuclease-free water ให้ครบปริมาตร 24 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมตัวอย่าง DNA 1 ไมโครลิตร นำหลอดทดลองบรรจุส่วนประกอบปฏิกิริยาทั้งหมดเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม T100™ (Bio-Red, โดยใช้สภาวะของปฏิกิริยาดังนี้ initial denaturation ที่ 95°C 2 นาที และ 30 รอบ ของ denaturation ที่ 95°C 30 วินาที, USA) annealing ที่ 57°C 30 วินาที และ extension ที่ 68°C 30 วินาที จากนั้นเข้าสู่ final extension ที่ 68°C

5 นาที โดยใช้ DNA ของเชื้อ *L. pneumophila* ATCC 33152 เป็นตัวควบคุมผลบวก มี PCR product ขนาด 265 bp และ nuclease-free water เป็นตัวควบคุมผลลบ โดยผลผลิตที่ได้ถูกตรวจสอบด้วย 2% agarose gel electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide

ตารางที่ 1 ชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบได้ สำหรับตรวจหายีน *mip* ของเชื้อ *L. pneumophila*

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'→3')	ตำแหน่ง (bp)	PCR product (bp)
Forward primer	GCA TTG GTG CCG ATT TGG G	110-374	265
Reverse primer	GGC AAT ACA ACA ACG CCT GG		

การหาปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่ตรวจพบ (limit of detection) และความจำเพาะ (specificity)

ปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบของวิธี PCR ได้รับการตรวจสอบโดยใช้ตัวอย่างน้ำที่ปราศจากเชื้อ เติมเชื้อ *L. pneumophila* ปริมาณ 1.5×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร และทำการเจือจางแบบ serial 10-fold dilution ตั้งแต่ 10^6 ถึง 10^0 นำตัวอย่างน้ำที่เตรียมได้แต่ละความเข้มข้นไปทำการทดสอบ

สำหรับความจำเพาะของการตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *L. pneumophila* ถูกตรวจสอบโดยใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานอื่น จำนวน 10 ชนิด ตามรายงานของ Collins S และคณะ ปี 2015[17] และตรวจสอบยืนยันความจำเพาะเพิ่มเติมโดยใช้เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้จากวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ จำนวน 100 ไอโซเลท

การประเมินประสิทธิภาพของวิธี PCR และความสอดคล้องเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ

วิธี PCR ได้รับการประเมินประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ[19] (วิธีมาตรฐาน) โดยใช้โคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *Legionella* จากตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม จำนวน 385 ไอโซเลท

นอกจากนี้วิธี PCR ที่พัฒนาขึ้นยังได้รับการประเมินโดยใช้ตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม ที่สงสัยมีการปนเปื้อนเชื้อ *Legionella* จำนวน 161 ตัวอย่าง

การคำนวณทางสถิติ

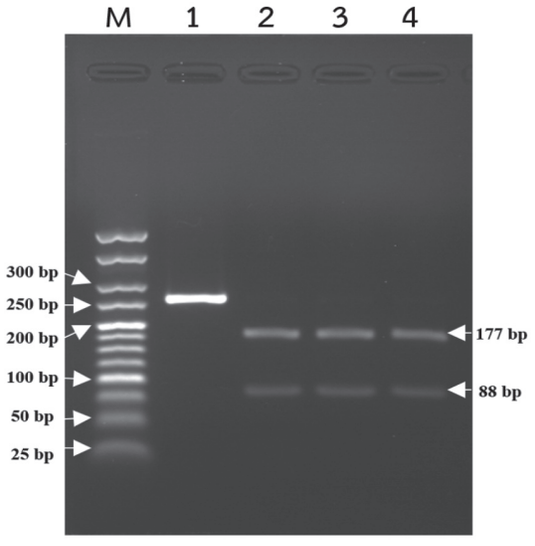
ผลของวิธี PCR ที่ได้จะได้รับการประเมินความสอดคล้องระหว่างวิธี โดย kappa analysis และประเมินค่า sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value และ negative predictive value โดยใช้สูตรมาตรฐานตามผลของวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ผล

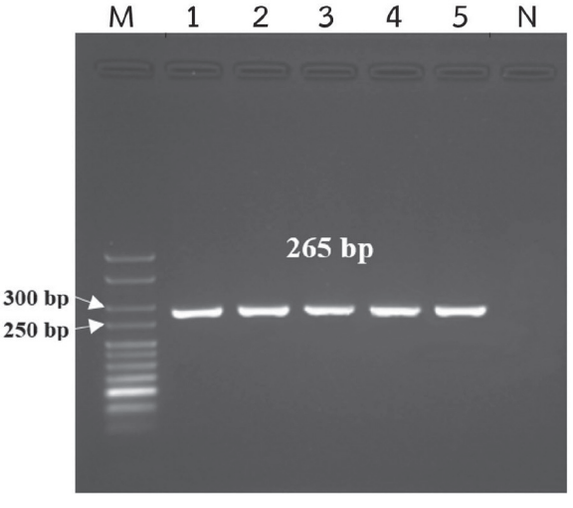
การประเมินความจำเพาะของ PCR product ที่ได้โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ PCR product ที่ได้ถูกประเมินผลความจำเพาะต่อเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NEBcutter โดยนำ PCR product ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของยีน *mip* ขนาด 265 bp ตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI ผลการประเมินพบว่า สามารถตัด PCR product ที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน ประกอบด้วย 177 และ 88 bp ซึ่งขนาดของ PCR product ที่ตัดได้มีขนาดตรงตามผลการวิเคราะห์ดังแสดงในภาพที่ 1

การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *L. pneumophila* ด้วยวิธี PCR

การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *L. pneumophila* ด้วยวิธี PCR ได้รับการจัดตั้งโดยใช้ยีน *mip* เป็นยีนเป้าหมายในการตรวจหา ผลผลิตของวิธีที่ได้มีขนาด 265 bp ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 1 PCR product ซึ่งตัดด้วยใช้เอนไซม์ *Eco*RI โดย Lanes M: DNA marker, 1 = เชื้อ *L. pneumophila* ขนาด 265 bp, 2-4 = ผลผลิตที่ตัดได้ด้วยใช้เอนไซม์ *Eco*RI มีขนาด 177 และ 88 bp



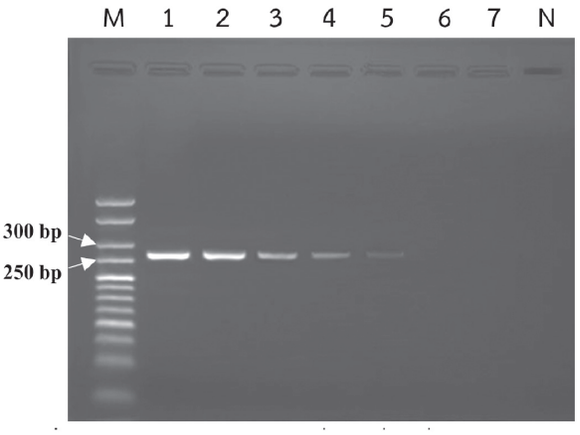
ภาพที่ 2 PCR product ของวิธีที่จัดตั้งได้ สำหรับการตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ *L. pneumophila* โดย Lanes M = DNA marker, 1-5 = PCR product ของเชื้อ *L. pneumophila* เป็นตัวควบคุมผลบวกมีขนาด 265 bp, N = nuclease-free water เป็นตัวควบคุมผลลบ

ปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบด้วยวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้น

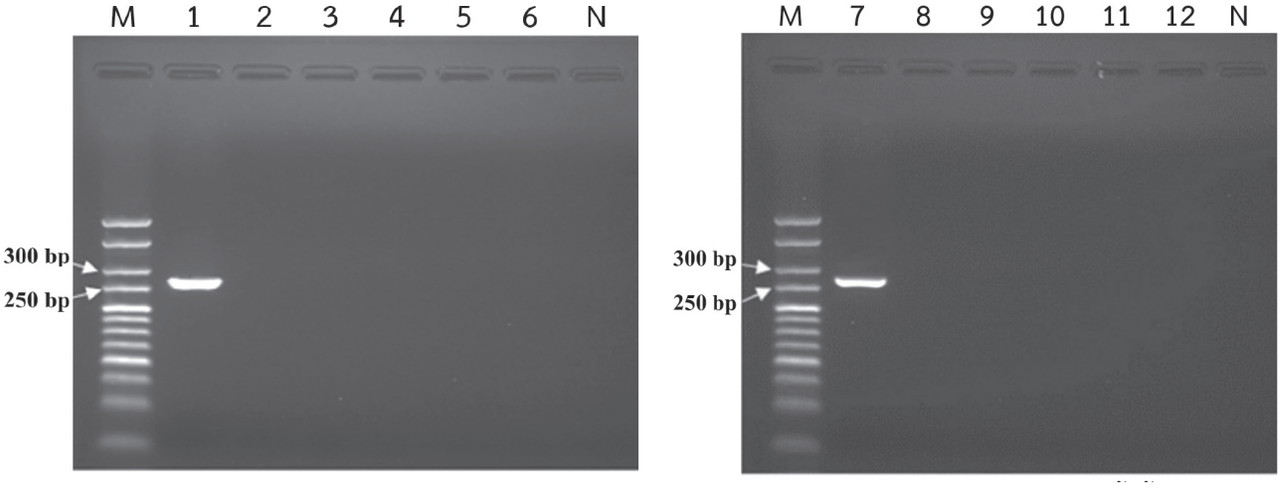
วิธี PCR ได้รับการตรวจสอบปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบได้ โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่เติมเชื้อ *L. pneumophila* ปริมาณ 1.5×10^{8} เซลล์/มิลลิลิตร นำมาเจือจาง 10 เท่า ตั้งแต่ 10^{6} ถึง 10^{0} ผลปรากฏความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ คือ 10^{2} เซลล์/มิลลิลิตร ดังแสดงในภาพที่ 3

ความจำเพาะของวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้น

ความจำเพาะของวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้นถูกตรวจสอบโดยใช้เชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่พบได้บ่อยในน้ำจากสิ่งแวดล้อม[17] จำนวน 10 ชนิด ผลพบยีน *mip* จากสารพันธุกรรมของเชื้อ *L. pneumophila* เพียงชนิดเดียว โดยไม่พบยีน *mip* ในสารพันธุกรรมของแบคทีเรียอื่นที่นำมาทดสอบ ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 3 ปริมาณสารพันธุกรรมที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบได้ (limit of detection) ของวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้น โดย Lanes M = DNA marker, 1-7 = เชื้อ *L. pneumophila* ที่ปริมาณ 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1 และ 10^0 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ, N = nuclease-free water เป็นตัวควบคุมผลลบ



ภาพที่ 4 ความจำเพาะของวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้น ประเมินโดยใช้เชื้อแบคทีเรียอื่น จำนวน 10 ชนิด โดย Lanes M: DNA marker, 1 และ 7 = DNA เชื้อ *Legionella pneumophila*, 2-6 และ 8-12 = DNA เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterococcus faecalis* ตามลำดับ, N = nuclease-free water เป็นตัวควบคุมผลลบ

นอกจากนี้ความจำเพาะของวิธี PCR ที่จัดตั้งได้ยังได้รับการตรวจสอบยืนยัน โดยใช้เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้เพิ่มเติมอีก จำนวน 100 ไอโซเลท ประกอบด้วย *L. pneumophila* serogroup 1 (n = 25), *L. pneumophila* serogroups 2–14 (n = 50) และ *Legionella* species (n = 25) ผลปรากฏพบยีน *mip* เฉพาะเชื้อ *L. pneumophila* จำนวน 75 ไอโซเลท เท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความจำเพาะของวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้น ตรวจสอบยืนยันโดยใช้เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ จำนวน 100 ไอโซเลท

		วิธี PCR	
		ผลบวก	ผลลบ
วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ[a, b] (มาตรฐาน)	ผลบวก	75	0
	ผลลบ	0	25

[a] วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ; ผลบวก: latex agglutination test เป็น *L. pneumophila*, ผลลบ: latex agglutination test เป็น *Legionella* species
[b] เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้ ประกอบด้วย *L. pneumophila* serogroup 1 (n = 25), *L. pneumophila* serogroups 2–14 (n = 50) และ *Legionella* species (n = 25)

ผลการประเมินประสิทธิภาพวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้นเปรียบเทียบความสอดคล้องกับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

วิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้นถูกประเมินเปรียบเทียบความสอดคล้องของผลกับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ[19] (วิธีมาตรฐาน) โดยใช้โคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *Legionella* จำนวน 385 ไอโซเลท ผลพบเชื้อ *L. pneumophila* จำนวน 39 ไอโซเลท จากทั้งวิธี PCR และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยสอดคล้องตรงกันทั้งสองวิธี ด้วยค่า kappa เท่ากับ 1.00 และมีค่า sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value และ negative predictive value ร้อยละ 100.00

นอกจากนี้วิธี PCR ยังได้รับการประเมินโดยใช้ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม ที่สงสัยมีการปนเปื้อนเชื้อ *Legionella* จำนวน 161 ตัวอย่าง ผลการตรวจหาด้วยวิธี PCR พบเชื้อ *L. pneumophila* จำนวน 17 ตัวอย่าง ขณะที่วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อผลพบเชื้อ จำนวน 12 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4 สอดคล้องตรงกันด้วยค่า kappa เท่ากับ 0.81 มีค่า sensitivity ร้อยละ 100.00, specificity ร้อยละ 96.64, accuracy ร้อยละ 96.89, positive predictive value ร้อยละ 70.59 และ negative predictive value ร้อยละ 100.00

ตารางที่ 3 ผลการเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* ด้วยวิธี PCR และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยใช้โคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *Legionella* จากตัวอย่างน้ำทางสิ่งแวดล้อม (n = 385)

		วิธี PCR		Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)	PPV[c] (%)	NPV[d] (%)	Kappa
		ผลบวก	ผลลบ						
วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ[a, b] (มาตรฐาน)	ผลบวก	39	0	100	100	100	100	100	1.00
	ผลลบ	0	346						

[a] วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ; ผลบวก: latex agglutination test เป็น *L. pneumophila*, ผลลบ: latex agglutination test เป็น *Legionella* species หรือผลลบ
[b] เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้ ประกอบด้วย *L. pneumophila* serogroup 1 (n = 13), *L. pneumophila* serogroups 2–14 (n = 26) และ *Legionella* species (n = 11)
[c] PPV = positive predictive value
[d] NPV = negative predictive value

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบความสอดคล้องการตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* ด้วยวิธี PCR และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมที่สงสัยมีการปนเปื้อนเชื้อ *Legionella* (n = 161)

		วิธี PCR		Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)	PPV[c] (%)	NPV[d] (%)	Kappa
		ผลบวก	ผลลบ						
วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ[a, b]	ผลบวก	12	0	100	96.64	96.89	70.59	100	0.81
(มาตรฐาน)	ผลลบ	5	144						

[a] วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ; ผลบวก: latex agglutination test เป็น *L. pneumophila*, ผลลบ: latex agglutination test เป็น *Legionella* species หรือผลลบ
[b] เชื้อ *Legionella* ที่แยกได้ ประกอบด้วย *L. pneumophila* serogroup 1 (n = 4), *L. pneumophila* serogroups 2–14 (n = 8) และ *Legionella* species (n = 3)
[c] PPV = positive predictive value
[d] NP = negative predictive value

วิจารณ์

จากผลการศึกษาพบว่าวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้น เพื่อตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* โดยใช้ยีน *mip* เป็นยีนเป้าหมายที่มีรายงานความจำเพาะกับเชื้อ *L. pneumophila* ทั้งในตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างทางคลินิก[12,17,18,22-25] มาใช้ออกแบบชุดไพรเมอร์ในการศึกษา ซึ่งผลผลิตที่ออกแบบได้มีขนาด 265 bp ผลการศึกษาแสดงความจำเพาะโดยไม่พบปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross reaction) กับเชื้อ *Legionella* สายพันธุ์อื่นและแบคทีเรียชนิดอื่นที่พบได้บ่อยในแหล่งน้ำ สอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ และผลการวิเคราะห์โดยการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลิอิกที่มีรายงานก่อนหน้า[17, 18, 23, 24-26] แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลิอิกในสภาพจริง ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจตัวอย่างน้ำ[17,18] พบว่าวิธีที่จัดตั้งขึ้นยังมีความไวน้อยกว่าและมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก แต่วิธี PCR ที่ได้นี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างง่าย ไม่ต้องการเครื่องมือที่มีราคาสูงหรือผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ ค่า limit of detection เท่ากับ 10^2 CFU/ml ไม่ต่างจากวิธีเพาะเชื้อ และสูงกว่าวิธีการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลิอิกในสภาพจริง (5 genome unit/reaction)[17] ข้อดี คือ เหมาะกับการนำมาใช้งานในห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก งบประมาณน้อย และไม่จำเป็นต้องมีผู้เชี่ยวชาญเฉพาะในการดำเนินงาน[22] อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีข้อจำกัด เนื่องจากจำนวนชนิดของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่พบได้บ่อยในแหล่งน้ำที่นำมาทดสอบมีจำนวนน้อย และจากการตรวจสอบความจำเพาะของผลผลิตที่ได้จากชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบขึ้นเพื่อใช้ในงานวิจัยนี้ พบว่าให้ผลผลิตที่มีรูปแบบความจำเพาะต่อเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Eco*RI ถูกต้องตรงตามผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NEBcutter ที่วิเคราะห์ไว้ นอกจากนี้จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธี PCR ที่ได้กับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ[19] (วิธีมาตรฐาน) โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่สงสัยการปนเปื้อนเชื้อ พบว่าให้ความสอดคล้องตรงกันระหว่าง 2 วิธี ในระดับค่อนข้างสมบูรณ์ (kappa = 0.81) โดยวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้นพบเชื้อ จำนวน 17 ตัวอย่าง ขณะที่วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อพบเชื้อ จำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งอาจมีสาเหตุจากวิธี PCR สามารถตรวจจับเชื้อ *Legionella* ทั้งที่มีชีวิต (viable) ไม่มีชีวิต (non-viable) รวมถึงเชื้อที่มีชีวิตแต่อยู่ในระยะที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ (viable but nonculturable; VBNC)[27] นอกจากนี้วิธี PCR ยังมีความไวในการตรวจจับการปนเปื้อนของเชื้อ *L. pneumophila* ที่ปริมาณเชื้อเพียง 10^2 เซลล์/มิลลิลิตร ด้วยค่า negative predictive value เป็นร้อยละ 100 ซึ่งแสดงว่าไม่มีผลของวิธี PCR เป็นลบเมื่อวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นบวก ดังนั้นวิธี PCR ที่ได้จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในระบบการเฝ้าระวังแหล่งน้ำที่สงสัยมีการปนเปื้อนของเชื้อ *L. pneumophila* เพื่อการดำเนินการป้องกันก่อนเกิดการแพร่กระจายของเชื้อ หรือใช้เป็นวิธีการยืนยันโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากการแยกโคโลนีเชื้อยังเป็นวิธีการที่จำเป็นสำหรับการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิต โดยจากการใช้โคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *Legionella* ซึ่งมีลักษณะ

กลม นูน ขอบเรียบ และ cut-glass like มาตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบกันระหว่างวิธี PCR ที่ได้กับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ[19] ผลของการตรวจวิเคราะห์แสดงค่า kappa เท่ากับ 1.00 ซึ่งบ่งชี้ความสอดคล้องตรงกันอย่างสมบูรณ์ของทั้งสองวิธี แต่วิธี PCR ให้ผลที่รวดเร็วกว่าวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อถึง 8 เท่า (3 ชั่วโมง vs 24 ชั่วโมง) จึงสามารถที่จะนำมาใช้เป็นวิธีทางเลือกเพื่อตรวจเชื้อ *L. pneumophila* อย่างไรก็ตามควรมีการพัฒนาต่อเนื่องให้ครอบคลุมการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. อื่น ๆ ที่ก่อโรคด้วย

สรุป

วิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้นเพื่อตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* โดยใช้ยีน *mip* เป็นยีนเป้าหมายในครั้งนี้ มีความไว ความจำเพาะสูง ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูงและผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ รวมทั้งเป็นวิธีที่สามารถรองรับปริมาณตัวอย่างจำนวนมากได้ จึงเหมาะที่จะนำมาใช้เป็นวิธีทางเลือกในห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก งบประมาณน้อยและไม่จำเป็นต้องมีผู้เชี่ยวชาญเฉพาะในการดำเนินงาน เพื่อการควบคุมและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อ *L. pneumophila* ในแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั้งแหล่งน้ำตามธรรมชาติและแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น รวมทั้งสามารถนำไปใช้เป็นวิธีการตรวจยืนยันโคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *L. pneumophila* แทนวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอยู่ เพื่อให้การตรวจวิเคราะห์เป็นไปอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามวิธี PCR ที่จัดตั้งขึ้นในครั้งนี้ยังมีข้อจำกัดที่ต้องได้รับการปรับปรุงในเรื่องของจำนวนชนิดเชื้อแบคทีเรียอื่นที่นำมาทดสอบ cross reaction เช่น *Salmonella typhi และ Salmonella enteritidis* ถึงแม้ *L. pneumophila* จะเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคลีเจียนแนร์ แต่การพัฒนาวิธีการตรวจให้ครอบคลุม genus และให้ผลบวกเฉพาะเชื้อที่มีชีวิต ยังคงจำเป็นสำหรับการเฝ้าระวังและป้องกันการเกิดโรคอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาคลินิก ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11/1 ภูเก็ต ทุกท่านที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาในครั้งนี้เป็นอย่างดี การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนวัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11/1 ภูเก็ต

เอกสารอ้างอิง

1. Brenner DJ, Steigerwalt AG, McDade JE. Classification of the Legionnaires'disease bacterium: *Legionella pneumophila*, genus novum, species nova, of the family Legionellaceae, familia nova. Ann Intern Med 1979; 90(4): 656-8.
2. Heuner K, Swanson M. Legionella: molecular microbiology. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2008.
3. Yu VL, Plouffe JF, Pastoris MC, Stout JE, Schousboe M, Widmer A, et al. Distribution of Legionella species and serogroups isolated by culture in patients with sporadic community acquired legionellosis: an international collaborative survey. J Infect Dis 2002; 186: 127-8.
4. โรม บัวทอง, รุ่งนภา ประสานทอง, วิวัตน์ ศีตมโนชน์, ทวีศักดิ์ เนตรวงศ์, ธาริยา เสาวรัญ, ขจรเดช จันทะยานี และคณะ. การระบาดของโรคลีเจียนแนร์ในนักท่องเที่ยวชาวยุโรป ภายหลังจากการเดินทางมาท่องเที่ยวในจังหวัดภูเก็ต ธันวาคม 2549 - มกราคม 2550: บทบาทของการสอบสวนสิ่งแวดล้อมในประเทศที่เกิดเหตุ. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 2556; 44: S38-46.
5. World Health Organization (WHO). Legionella and the prevention of legionellosis. Geneva: WHO; 2007.
6. Centers for Diseases Control and Prevention. Legionella (Legionnaires' disease and pontiac fever). [online]. 2021; [cited 2022 Jan 27]; [1 screen]. Available from: URL: http://www.cdc.gov/legionella/index.html.

7. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clin Microbiol Rev 2002; 15(3): 506-26.
8. Correia AM, Ferreira JS, Borges V, Nunes A, Gomes B, Capucho R, et al. Probable person-to-person transmission of Legionnaires' disease. N Engl J Med 2016; 374(5): 497-8.
9. ไพรัช ศรีไสว, สงคราม ทรัพย์เจริญ, เบญจะ เพชรคล้าย, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์, อรุณรัตน์ ร่มพฤกษ์. ลีจิโอเนลโลสิส รายงานผู้ป่วยรายแรกในประเทศไทย. สารศิริราช 2527; 36: 269-77.
10. Tishyadhigama P, Dejsieilert S, Srisawai P. Environmental surveillance of *Legionella pneumophila* in Thailand. J Med Assoc Thai 1995; 78: 57-71.
11. Dooling KL, Toews KA, Hicks LA, Garrison LE, Bachaus B, Zansky S, et al. Active bacterial core surveillance for Legionellosis United States, 2011–2013. MMWR 2015; 64(42): 1190-3.
12. Chen DJ, Procop GW, Vogel S, Yen-Lieberman B, Richter SS. Utility of PCR, culture, and antigen detection methods for diagnosis of legionellosis. J Clin Microbiol 2015; 53(11): 3474-7.
13. Yuan Y, Zheng G, Lin M, Mustapha A. Detection of viable Escherichia coli in environmental water using combined propidium monoazide staining and quantitative PCR. Water Res 2018; 145: 398-407.
14. Hsu WB, Wang JH, Chen PC, Lu YS, Chen JH. Detecting low concentrations of Shigella sonnei in environmental water samples by PCR. FEMS Microbiol Lett 2007; 270(2): 291-8.
15. Lee SH, Lee C, Lee KW, Cho HB, Kim SJ. The simultaneous detection of both enteroviruses and adenoviruses in environmental water samples including tap water with an integrated cell culture-multiplex-nested PCR procedure. J Appl Microbiol 2005; 98(5): 1020-9.
16. Wagner C, Khan AS, Kamphausen T, Schmausser B, Unal C, Lorenz U, et al. Collagen binding protein Mip enables *Legionella pneumophila* to transmigrate through a barrier of NCI-H292 lung epithelial cells and extracellular matrix. Cell Microbiol 2007; 9(2): 450-62.
17. Collins S, Jorgensen F, Willis C, Walker J. Real-time PCR to supplement gold-standard culture-based detection of Legionella in environmental samples. J Appl Microbiol 2015; 119(4): 1158-69.
18. Gruas C, Llambi S, Arruga MV. Detection of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* in water samples of Spain by specific real-time PCR. Arch Microbiol 2014; 196: 63-71.
19. Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Procedures for the recovery of Legionella from the environment. Atlanta, GA: CDC; 2005.
20. Luo R, Li Y, Lin X, Dong F, Zhang W, Yan L, et al. A colorimetric assay method for *invA* gene of Salmonella using DNAzyme probe self-assembled gold nanoparticles as single tag. Sens Actuator B-Chem 2014; 198: 87-93.
21. Fischer G, Bang H, Ludwig B, Mann K, Hacker J. Mip protein of *Legionella pneumophila* exhibits peptidyl-prolyl-cis/trans isomerase (PPlase) activity. Mol Microbiol 1992; 6(10): 1375-83.
22. Fiume L, Sabattini BMA, Poda G. Detection of *Legionella pneumophila* in water samples by species-specific real-time and nested PCR assays. Lett Appl Microbiol 2005; 41(6): 470-5.

23. Templeton KE, Scheltinga SA, Sillekens P, Crielaard JW, van Dam AP, Goossens H, et al. Development and clinical evaluation of an internally controlled, single-tube multiplex real-time PCR assay for detection of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. J Clin Microbiol 2003; 41(9): 4016-21.
24. Benitez AJ, Winchell JM. Clinical application of a multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of Legionella species, *Legionella pneumophila*, and *Legionella pneumophila* serogroup 1. J Clin Microbiol 2013; 51(1): 348-51.
25. Wilson DA, Yen-Lieberman B, Reischl U, Gordon SM, Procop GW. Detection of *Legionella pneumophila* by real-time PCR for the mip gene. J Clin Microbiol 2003; 41(7): 3327-30.
26. Yang G, Benson R, Pelish T, Brown E, Winchell JM, Fields B. Dual detection of *Legionella pneumophila* and *Legionella* species by real-time PCR targeting the 23S-5S rRNA gene spacer region. Clin Microbiol Infect 2010; 16(3): 255-61.
27. Dusserre E, Ginevra C, Hallier-Soulier S, Vandenesch F, Festoc G, Etienne J, et al. A PCR-based method for monitoring *Legionella pneumophila* in water samples detects viable but noncultivable legionellae that can recover their cultivability. Appl Environ Microbiol 2008; 74(15): 4817-24.

Validation of Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of *Legionella pneumophila*

Benjaporn Nuthong,[1] Aapakon Nobnorb,[2] and Sasitorn Nuthong[3]

[1]*Regional Medical Sciences Center 12 Songkhla, Department of Medical Sciences, Songkhla 90100, Thailand*

[2]*Regional Medical Sciences Center 11/1 Phuket, Department of Medical Sciences, Phuket 83110, Thailand*

[3]*Prince of Songkla University, Songkhla 90110, Thailand*

ABSTRACT *Legionella pneumophila*, the main cause of Legionnaires' disease, is found in various water sources. The bacterium is spread to humans through the inhalation of contaminated aerosols. Surveillance of pathogens in water sources is therefore essential. The standard method for the detection of *L. pneumophila* is culture. This requires an expert to read the results, and it takes a long time. This study aimed to develop and validate a PCR method for rapid detection of *L. pneumophila* with high specificity but without the requirement for specialists. Many samples were tested using the macrophage infectivity potentiator (*mip*) gene as the target, and the results were compared with the culture method to measure consistency. The PCR product of the developed PCR method was 265 bp, with a limit of detection equal to 10^2 CFU/mL, without cross-reactivity with 100 isolates of *Legionella* and 10 common waterborne bacteria. Comparing the effectiveness with culture using water samples, the results showed a well-correlated agreement (kappa = 0.81) and a negative predictive value of 100%. In addition, when bacterial colonies suspected of being *L. pneumophila* were used, the comparison results indicated a perfect agreement (kappa = 1.00). However, the PCR method provided the results eight times faster than the culture method. Thus, the developed PCR method is suitable as an alternative method for the surveillance and the control of *L. pneumophila* contamination in water resources. It can also be used as a method for the confirmation of suspected *L. pneumophila* bacterial colonies in addition to the existing culture method for faster analysis results.

Keywords: Polymerase chain reaction, *Legionella pneumophila*, Legionaires' disease, *mip* gene, Water sources

การตรวจหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าวที่สัมผัสผู้ป่วยในโรงงานทอผ้า อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ด้วยวิธี real-time RT-PCR

พายุ ภักดีนวน[1] ธานี วงษ์ชัย[2] ณัฐกานต์ ชื่นชม[2] วิพัฒน์ กล้ายุทธ[1] โสภา ศรีสังข์งาม[1] สุปราณี บุญชู[1] เบญจวรรณ เพชรสุขศิริ[3] และ จณิศรา ฤดีอเนกสิน[1]

[1]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

[2]โรงพยาบาลแม่สอด อำเภอแม่สอด ตาก 63110

[3]35 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ เชื้อ SARS-CoV-2 ก่อให้เกิดโรคโควิด 19 ซึ่งเป็นโรคอุบัติใหม่ที่มีผู้ป่วยและเสียชีวิตจำนวนมากทั่วโลก รายงานนี้นำเสนอผลการตรวจค้นหาผู้ป่วยในกลุ่มแรงงานต่างด้าวของโรงงานทอผ้าแห่งหนึ่งในอำเภอแม่สอด ซึ่งเป็นผู้เสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อจากการสัมผัสหรือสงสัยมีการสัมผัสกับผู้ป่วย ภายหลังเหตุการณ์พบแรงงานป่วยด้วยโรคโควิด 19 จากการเข้ารับการตรวจที่โรงพยาบาลแม่สอด ช่วงกลางปี พ.ศ. 2564 ดำเนินการติดตามผู้สัมผัสและตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ตามกระบวนการเฝ้าระวังโรคเชิงรุก โดยเก็บตัวอย่าง nasopharyngeal swab ส่งโรงพยาบาล เพื่อตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 โดยวิธี real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) ด้วยชุดน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR ผู้ที่ได้รับการตรวจเป็นแรงงานชาวเมียนมาร์ 106 ราย ซึ่งมีอายุระหว่าง 18–55 ปี เป็นเพศชาย 32 คน (ร้อยละ 30.19) และเพศหญิง 74 คน (ร้อยละ 69.81) โดยพบผู้ติดเชื้อ 7 ราย (ร้อยละ 6.66) ซึ่งมีอายุระหว่าง 20–39 ปี เป็นเพศชาย 2 คน และเพศหญิง 5 คน มีค่า cycle threshold (Ct) ในการตรวจพบผลบวกยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัส ระหว่าง 20.16–33.36 และ 22.13–33.55 รอบ ตามลำดับ จากผลตรวจแสดงถึงการติดเชื้อในประชากรกลุ่มนี้มีอัตราการต่ำ การตรวจเชิงรุกด้วยวิธี real-time RT-PCR เพื่อค้นหาผู้ติดเชื้อและแยกผู้ติดเชื้อออกจากกลุ่มเป็นการควบคุมการแพร่เชื้อ ช่วยในการประเมินความเสี่ยงและเตรียมพร้อมต่อโรค ข้อมูลที่รายงานนี้อาจเป็นประโยชน์และเป็นแนวทางในการดำเนินงานหรือพัฒนาแนวทางปฏิบัติต่อไป

คำสำคัญ โควิด 19, เชื้อไวรัสโคโรนา 2019, Real-time RT-PCR, โรงพยาบาลแม่สอด, การเฝ้าระวังเชิงรุก

Corresponding author E-mail:janisara.r@dmsc.mail.go.th

Received: 29 April 2022 *Revised: 15 September 2022* *Accepted: 19 September 2022*

บทนำ

เชื้อ SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) เป็นเชื้อไวรัสที่สามารถก่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (COVID-19) ซึ่งเป็นโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจและเป็นโรคอุบัติใหม่ ซึ่งเริ่มพบผู้ติดเชื้อรายแรกในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน[1] ก่อนแพร่ระบาดไปทั่วโลก การระบาดยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นต่อเนื่องในหลายประเทศ รวมทั้งในประเทศไทยและเพื่อนบ้านซึ่งมีการระบาดหนัก เช่น ประเทศเมียนมาร์และมาเลเซีย ประเทศไทยมีรายงานการพบผู้ป่วยยืนยันรายแรกเมื่อวันที่ 13 มกราคม พ.ศ. 2563 ซึ่งนับเป็นผู้ป่วยรายแรกที่พบนอกสาธารณรัฐประชาชนจีน[2,3] ต่อมามีการระบาดเป็นระลอกในช่วงปลายปี พ.ศ. 2563 และระบาดอีกครั้งในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2564 เรื่อยมา รัฐบาลได้กำหนดมาตรการในการเฝ้าระวังโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เพื่อการควบคุมโรคในประเทศไทย ซึ่งนอกจากการเร่งระดมการฉีดวัคซีนป้องกันแล้ว การเฝ้าระวังโรคโดยการตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อที่บ่งชี้ว่าอาจมีการระบาดเป็นกลุ่มก้อน (cluster) ยังทำให้ทราบขนาดของปัญหาการระบาด และติดตามแนวโน้มของการเกิดโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในกลุ่มประชากรเสี่ยงและพื้นที่เสี่ยงได้อย่างทันเวลา ในระบบการเฝ้าระวังทำโดยตรวจประชากรทุกรายที่เข้าเกณฑ์ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ 1) การเฝ้าระวังกลุ่มผู้ป่วยหรือมีอาการเข้าได้กับนิยามผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่เข้าเกณฑ์สอบสวนโรค (patient under investigation: PUI) 2) การเฝ้าระวังกลุ่มผู้ป่วยก่อนการทำหัตถการ 3) การเฝ้าระวังในผู้เดินทางเข้าประเทศและอยู่ในสถานที่กักกันซึ่งทางราชการกำหนด (quarantine facilities) และ 4) การเฝ้าระวังกลุ่มผู้ต้องขังแรกรับในเรือนจำ สถานพินิจ ผู้หลบหนีเข้าเมือง ศูนย์กักกันของสำนักงานตรวจคนเข้าเมือง[4] สำหรับการเฝ้าระวังเชิงรุกเน้นการค้นหาผู้ป่วย การตรวจ และการติดตามผู้สัมผัสผู้ป่วย เมื่อเกิดการแพร่ระบาดของโรค

เชื้อไวรัสโคโรนา 2019 จัดอยู่ในวงศ์ Coronaviridae กลุ่ม Betacoronavirus และในกลุ่มย่อย Sarbecovirus เช่นเดียวกับเชื้อ SARS-CoV ที่เคยเกิดการระบาดเมื่อปี พ.ศ. 2545[5] สำหรับการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการนั้น องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้วิธีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยเทคนิค real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) ในสิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินหายใจ วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูง และมีการใช้อย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการ[6,7] โดยใช้ระยะเวลาการทดสอบ 2-3 ชั่วโมง ผู้ปฏิบัติงานต้องมีความชำนาญและมีค่าใช้จ่ายในการทดสอบค่อนข้างสูง จากสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด 19 ทำให้ห้องปฏิบัติการหลายแห่งทั่วประเทศมีการพัฒนาให้สามารถตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR รวมทั้งห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแม่สอด ทั้งนี้เนื่องจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก เป็นเขตเศรษฐกิจชายแดนที่มีแรงงานต่างด้าวซึ่งมักจะรวมกลุ่มทำงานอยู่ในโรงงานหรือสถานประกอบการต่าง ๆ จำนวนมาก จากการมีพื้นที่ติดประเทศเมียนมาร์ จึงมีการลักลอบเข้าเมืองโดยผ่านการกักกันโรค แรงงานเหล่านี้ส่วนใหญ่ไม่ได้ฉีดวัคซีนป้องกันและมักมีการพบปะติดต่อหรืออยู่รวมกันอย่างแออัด ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดการระบาด การรายงานการตรวจหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR ของโรงพยาบาลแม่สอด นำเสนอข้อมูลการดำเนินการเฝ้าระวังเชิงรุก เพื่อตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อในกลุ่มผู้สงสัยติดเชื้อเข้าเกณฑ์สืบสวนโรคโควิด 19 จากการอยู่รวมกันหรือสัมผัสกับผู้ป่วย ดำเนินการในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 ซึ่งเป็นช่วงที่ยังไม่มีการใช้วิธีอื่นในการตรวจหาผู้ติดเชื้อ ผลการดำเนินงานการตรวจค้นหาผู้ป่วยแบบเชิงรุกนี้ นอกจากการตรวจพบผู้ติดเชื้อเพิ่มขึ้นแล้ว ยังเป็นข้อมูลในการพิจารณาแนวทางปฏิบัติที่เหมาะสมสำหรับการเฝ้าระวังโรคโควิด 19 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าว

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างและพื้นที่ดำเนินการ

การลงทะเบียนผู้สัมผัสโรค ซึ่งเป็นกลุ่มแรงงานต่างด้าวทั้งหมด จำนวน 106 คน ที่ทำงานในโรงงานทอผ้าแห่งหนึ่ง อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก โดยมีประวัติเป็นผู้สัมผัสที่อาจเป็นแหล่งโรค ได้แก่ ผู้ที่สัมผัสผู้ติดเชื้อเข้าข่าย/ผู้ป่วยยืนยัน ในช่วง 14 วันก่อนเริ่มป่วย หรือเป็นผู้สัมผัสที่อาจรับเชื้อจากผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ที่สัมผัส

ผู้ติดเชื้อเข้าข่าย/ผู้ป่วยยืนยัน นับแต่วันเริ่มป่วย (หรือก่อนมีอาการประมาณ 1–2 วัน)[4] ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 เจ้าหน้าที่ผู้เข้าสำรวจพื้นที่ระบาด ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่ควบคุมโรคร่วมกับเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลแม่สอด เก็บตัวอย่าง nasopharyngeal swab (NPS) ใน viral transport media (VTM) จำนวน 106 ตัวอย่าง รวบรวมหลอดบรรจุตัวอย่างใส่กล่องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2–8 องศาเซลเซียส และนำส่งห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ของโรงพยาบาลแม่สอด พร้อมแบบนำส่งตัวอย่าง

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยที่ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนโรงพยาบาลแม่สอด ตามเลขที่อนุมัติ MSHP 024/2564 ลงวันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2564

การสกัดสารพันธุกรรม RNA

การสกัดสารพันธุกรรม RNA ของไวรัสด้วยชุดสกัดหลักการ magnetic bead (Zybio Inc., ประเทศจีน) เป็นการสกัดแบบ manual นำน้ำยาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและเขย่าให้เข้ากันก่อนใช้งาน เตรียม working solution โดยผสม extraction reagent 500 ไมโครลิตร กับ magnetic beads solution 4 ไมโครลิตร และ proteinase K 15 ไมโครลิตร เข้าด้วยกัน จากนั้นผสม working solution ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กับตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เขย่านาน 5 วินาที ก่อนนำไปต้มใน dry bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้น spin down ด้วยเครื่อง centrifuge (ยี่ห้อ MIULAB , บริษัท Hangzhou Miu instrument Co., Ltd., ประเทศจีน) เป็นเวลา 5 วินาที ก่อนนำหลอดไปวางบนเครื่อง magnetic separator (Zybio Inc., ประเทศจีน) เป็นเวลา 1 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้งโดยห้ามสัมผัส magnetic beads ที่ติดอยู่ข้างหลอด จากนั้นเติม extraction reagent II 600 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอดก่อนเขย่านาน 5 วินาที นำหลอดไปวางบนเครื่อง magnetic separator เป็นเวลา 1 นาที เทส่วนใสทิ้ง กำจัดของเหลวส่วนเหลือที่ก้นหลอดโดยคว่ำหลอดทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที เติม elution buffer 50 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอดแล้วเขย่านาน 5 วินาที จึงนำไป spin down ด้วยเครื่อง centrifuge บ่มใน dry bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาที จากนั้นวางหลอดบน magnetic separator และดูดเก็บตัวอย่าง RNA ที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี real-time RT-PCR

การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ตำแหน่งยีน *RdRp* (RNA-dependent RNA polymerase gene), ยีน *N* (nucleocapsid protein gene) และยีน *RNP* (ribonucleoprotein gene) ควบคู่กับยีน *RNase P* (ribonuclease P gene) ที่ใช้เป็น internal control เพื่อตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรม RNA จนถึงการทำปฏิกิริยา RT-PCR[8,9] โดยใช้ชุดตรวจ COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit (บริษัท SIAM BIOSCIENCE, ประเทศไทย) ซึ่งปฏิกิริยาทดสอบ ประกอบด้วย enzyme mix ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, primer mix 5 ไมโครลิตร และตัวอย่าง RNA 10 ไมโครลิตร โดยมีตัวอย่างควบคุมบวก (positive control) และตัวอย่างควบคุมลบ (negative control) ในแต่ละรอบการตรวจ จากนั้นไปทำปฏิกิริยาในเครื่อง real-time thermal cycler (Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad Laboratories Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยใช้สภาวะ ดังนี้ 1) reverse transcription ที่ 50 องศาเซลเซียส 10 นาที จำนวน 1 รอบ 2) initial activation ที่ 95 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 1 รอบ และ 3) ขั้นตอนทำปฏิกิริยา 45 รอบ ประกอบด้วยขั้นตอน denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส 10 วินาที และขั้นตอน annealing/extension ที่ 56 องศาเซลเซียส 45 วินาที วิเคราะห์ผลตรวจระหว่างปฏิกิริยาแบบ real-time เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาข้อมูลจะถูกวิเคราะห์โดยการพิจารณาจากกราฟในซอฟต์แวร์ Bio-Rad CFX Manager IVD Edition 1.6 โดยตัวอย่างที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 จะต้องมีผลบวกทั้งยีน *RdRp* และ *N* รวมทั้งยีน *RNP* ซึ่งเป็น internal control ที่ Ct น้อยกว่า 40 รอบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาครั้งนี้ใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ (percentage) ในการแจกแจงความถี่ของข้อมูล

ผล

จากการเก็บตัวอย่าง NPS ของแรงงานต่างด้าวในโรงงานทอผ้า โดยผู้ได้รับการลงทะเบียนและถูกเก็บตัวอย่างทั้งหมดเป็นชาวเมียนมาร์ จำนวน 106 ราย ซึ่งมีอายุระหว่าง 18–55 ปี เป็นเพศชาย 32 คน คิดเป็นร้อยละ 30.19 และเพศหญิง 74 คน คิดเป็นร้อยละ 69.81 โดยมีค่าเฉลี่ยอายุ 30.6±9.96 ปี ส่วนใหญ่มีอายุระหว่าง 16–35 ปี คิดเป็นร้อยละ 69.81 ผลการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR พบผู้ติดเชื้อ 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.66 ซึ่งมีอายุระหว่าง 20–39 ปี เป็นเพศชาย 2 คน และเพศหญิง 5 คน สรุปผลตรวจดังแสดงในตารางที่ 1 และผลแสดงค่า Ct ของ RT-PCR ในการตรวจพบยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัสในตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้ง 7 ตัวอย่าง เท่ากับ 20.16–33.36 และ 22.13–33.55 รอบ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

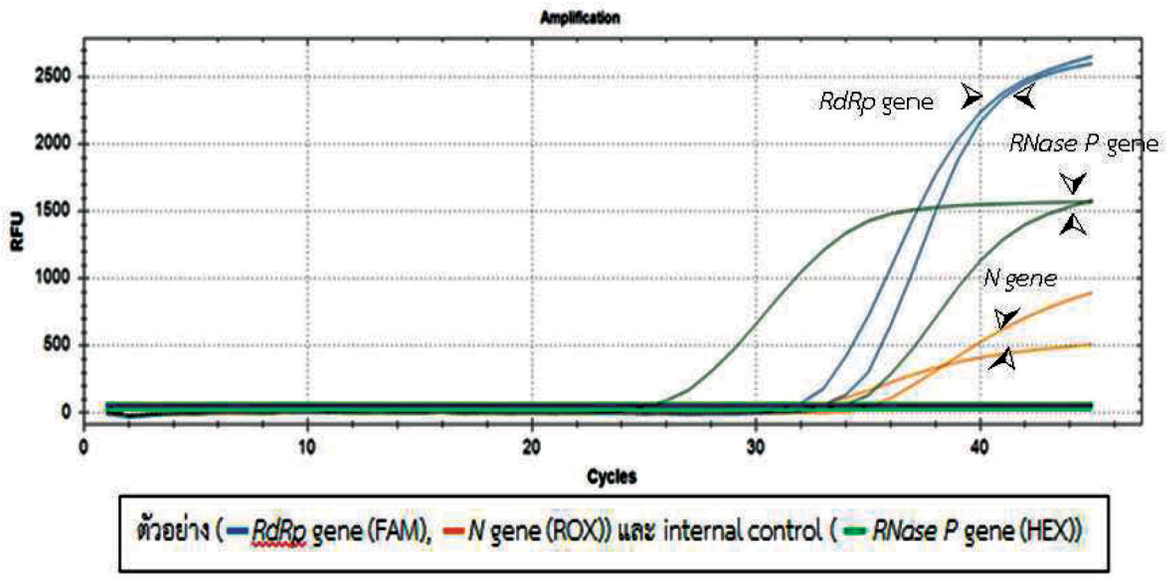
ตารางที่ 1 ข้อมูลประชากรศาสตร์กลุ่มแรงงานต่างด้าวในโรงงานท้อผ้า แยกเป็นกลุ่มตัวอย่างที่มีผลการตรวจหาเชื้อก่อโรคโควิด 19 ด้วยวิธี real-time RT-PCR เป็นบวกและเป็นลบ ในช่วงการศึกษาเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564

กลุ่มแรงงานในโรงงานทอผ้า (n = 106)	ผลตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วย real-time RT-PCR: จำนวน (ร้อยละ)	
	ผลบวก	ผลลบ
	7 (6.66)	99 (94.34)
เพศ		
ชาย	2 (1.89)	30 (28.30)
หญิง	5 (4.72)	69 (65.09)
อายุ (ปี)		
16–35	6 (5.66)	68 (64.15)
36–45	1 (0.94)	14 (13.21)
45–55	0 (0.00)	13 (12.26)
ไม่มีข้อมูล	0 (0.00)	4 (3.77)

ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง จำนวน 106 ตัวอย่าง ไม่พบข้อบกพร่องในการเก็บและการตรวจตัวอย่างโดยวิธี RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit สังเกตได้จากอ่านผลได้ทุกตัวอย่าง โดยทุกตัวอย่างให้ค่าสัญญาณบวกต่อ *RNase P* internal control ทั้งนี้ในการตรวจแต่ละรอบมีการทำ positive control ตัวอย่างของผลการตรวจบนหน้าจอแสดงผลการตรวจสอบสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 โดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ดังแสดงในภาพที่ 1

ตารางที่ 2 ค่า cycle threshold (Ct) ของผลตรวจ RT-PCR ในการตรวจพบยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัสในตัวอย่างที่ให้ผลบวกในกลุ่มประชากรที่รายงาน

อายุ	เพศ	RT-PCR (Ct)		
		RdRp	***N***	***RNase P***
39	ญ	22.86	24.21	25.02
20	ช	27.88	28.38	26.25
24	ญ	29.93	30.34	25.42
26	ช	20.16	22.13	24.72
25	ญ	33.36	33.55	25.83
28	ญ	25.03	26.18	23.64
21	ญ	22.47	24.12	24.21



ภาพที่ 1 ผลการตรวจสอบสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ในตัวอย่าง โดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit

วิจารณ์

การตรวจเฝ้าระวังเชิงรุกนี้เป็นการตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในกลุ่มเสี่ยงซึ่งสัมผัสผู้ป่วย เป็นการดำเนินการเมื่อเกิดโรคและมีผู้สัมผัสผู้ป่วยจำนวนมาก เพื่อการค้นหาผู้ติดเชื้อรายใหม่ที่รวดเร็วและคัดแยกผู้ติดเชื้อในการควบคุมการแพร่ระบาด ร่วมกับการเฝ้าระวังติดตามกลุ่มเสี่ยงซึ่งสัมผัสผู้ป่วย รายงานทางห้องปฏิบัติการนี้นำเสนอผลการตรวจหาผู้ติดเชื้อ SAR-CoV-2 จากการเฝ้าระวังเชิงรุกกรณีพบผู้ป่วยโควิด 19 ในโรงงานทอผ้า อำเภอแม่สอด ช่วงการระบาดเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 เนื่องจากช่วงระยะเวลาที่เกิดโรคในโรงงานแห่งนี้ยังไม่มีการนำวิธีการตรวจอื่นมาใช้ เช่น การตรวจแอนติเจน (antigen test kit; ATK) ที่ตรวจง่าย ได้ผลเร็ว ราคาถูก และใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน ดังนั้นการตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อในกลุ่มผู้สัมผัสผู้ป่วย โรงพยาบาลแม่สอดทำการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อไวรัสก่อโรคโควิด 19 ทางห้องปฏิบัติการโดยใช้ชุดสกัดสาร

พันธุกรรมสำเร็จรูป magnetic bead และชุดตรวจหาสารพันธุกรรมสำเร็จรูป COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ซึ่งผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย)[7]

น้ำยาสกัดสารพันธุกรรม magnetic bead ที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแม่สอดเลือกใช้ในรายงานนี้มีการนำเข้ามาจำหน่ายและใช้งานในประเทศไทย โดยทั่วไปโรงพยาบาลใช้งานร่วมกับน้ำยา SARS-CoV-2 Nucleic acid detection kit (Zybio Inc., ประเทศจีน) แต่ได้นำมาใช้งานร่วมกับชุดตรวจ COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ซึ่งตรวจได้ผล ในขณะที่ชุดตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR นั้น ปัจจุบันมีชุดตรวจทางการค้า (commercial test kit) หลากหลาย[4] ซึ่งมีความแตกต่างกันในหลายส่วน รวมทั้งด้านประสิทธิภาพความยากง่ายในการใช้งาน และใช้ยีนเป้าหมายแตกต่างกัน เช่น ยีน *N* (nucleocapsid protein gene), *ORF* (open reading frames), *RdRp* (RNA-dependent RNA polymerase gene) และ *S* (spike protein gene) ชุดน้ำยาต่าง ๆ มักใช้ตำแหน่งจำเพาะเหล่านี้ในการตรวจอย่างน้อย 1–3 ยีน ซึ่งยีนที่มีการใช้มากที่สุด คือ ยีน *N* มีรายงานน้ำยาส่วนใหญ่เป็นแบบ 2 ยีนเป้าหมาย[4] ในบางชุดน้ำยาออกแบบให้จำเพาะต่อยีน *E* (envelope protein gene) ซึ่งเป็นยีนเป้าหมายที่จำเพาะต่อไวรัสกลุ่ม Sarbecovirus เพื่อใช้ควบคุมในกรณีเกิดการกลายพันธุ์ในยีนเป้าหมายอื่น โดยแปลผลเป็นบวกเมื่อทั้งยีน *E* และยีนที่จำเพาะต่อ SARS-CoV-2 อย่างน้อยหนึ่งยีนเป็นบวก การใช้ยีน *E* ควบคู่กับยีน *RdRp* จะทำให้การตรวจวิเคราะห์มีความไวสูงกว่าชุดตรวจอื่น[7] สำหรับชุดน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ที่โรงพยาบาลแม่สอดใช้นั้นใช้ตรวจยีนที่จำเพาะต่อ SARS-CoV-2 รวม 2 ยีน คือ ยีน *RdRp* และยีน *N* ควบคู่กับยีน *RNase P* (ribonuclease P gene) ซึ่งยีน *RNase P* นี้ใช้เป็น endogenous internal control สามารถตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรม RNA จนถึงการทำปฏิกิริยา RT-PCR[8,9] ทั้งนี้ชุดทดสอบรายงานความจำเพาะของ primer และ probe ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับสายพันธุ์ทดสอบอื่น โดยที่ความไว (sensitivity) ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ของยีน *RdRp* และยีน *N* เท่ากับ 50 และ 5 copies ต่อปฏิกิริยาตามลำดับ[10]

ผลการตรวจค้นหาผู้ป่วยเชิงรุก โดยการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เกิดโรคแบบกลุ่มก้อนและตรวจหาสารพันธุกรรม RNA ของเชื้อ SAR-CoV-2 ในตัวอย่าง NPS โดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit พบผู้ป่วยติดเชื้อ SAR-CoV-2 จำนวน 7 ราย อัตราพบผลบวกคิดเป็นร้อยละ 6.66 ซึ่งนับว่าไม่สูงมากนัก ทั้งนี้พบค่า Ct ของ RT-PCR ในการตรวจพบยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัสอยู่ระหว่าง 20.16–33.36 และ 22.13–33.55 รอบ ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงปริมาณเชื้อที่พบในตัวอย่างมีระดับปานกลางถึงน้อย โดย 5 ใน 7 ตัวอย่าง มีค่า Ct ต่ำกว่า 30 รอบ ผู้ติดเชื้อทั้งหมดมีอายุระหว่าง 20–39 ปี จึงเป็นแรงงานกลุ่มอายุน้อย ไม่พบโรคในกลุ่มแรงงานสูงอายุ ผู้ติดเชื้อที่ตรวจพบใหม่นี้ได้รับการคัดแยกและรักษาโดยโรงพยาบาลแม่สอด ส่วนผู้มีผลตรวจลบมีการกักตัวและเฝ้าระวังต่อเนื่องจนครบ 14 วัน การตรวจค้นหาเชิงรุกนี้ นอกจากทำให้ค้นพบผู้ติดเชื้อเพิ่มได้อย่างรวดเร็วแล้ว ยังช่วยในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค โดยแยกผู้ป่วยออกและเฝ้าระวังติดตามต่อเนื่องในกลุ่มเสี่ยงซึ่งสัมผัสผู้ป่วย อัตราการตรวจพบผู้ติดเชื้อต่ำแสดงถึงการแพร่ติดต่อของโรคยังไม่เป็นปัญหามาก การตรวจค้นหาเชิงรุกด้วยวิธี real-time RT-PCR นี้ได้ผลตรวจรวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง แต่ค่าใช้จ่ายสูง วิธีที่ใช้ในการตรวจใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนและเจ้าหน้าที่ที่ชำนาญ อาจเป็นข้อจำกัดหากต้องทำการตรวจค้นหาเชิงรุกในกลุ่มประชากรเสี่ยงขนาดใหญ่ที่มีอัตราการตรวจพบผลบวกต่ำ จึงควรมีการใช้วิธีการตรวจอื่นที่ตรวจได้ง่าย ประหยัด และเป็นที่ยอมรับด้านประสิทธิภาพ โดยจัดการตรวจเป็นลำดับร่วมกับการคัดกรองประเมินความเสี่ยงของการติดเชื้อก่อนการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR สำหรับการตรวจรูปแบบอื่นที่มีรายงานเผยแพร่ในกลุ่มแรงงานต่างด้าว ได้แก่ การตรวจตัวอย่างน้ำลายที่นำมารวมกัน (pooled saliva) โดยตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time PCR ซึ่งรายงานในกลุ่มแรงงานต่างด้าว

จังหวัดสมุทรสาคร จากผลการตรวจตัวอย่าง 2,162 ราย พบว่าเป็นลบทั้งหมด[11]

ผลการตรวจค้นหาผู้ป่วยในรายงานทางห้องปฏิบัติการนี้ เป็นข้อมูลที่บ่งชี้ขนาดของโรคที่เกิดขึ้นกับกลุ่มประชากรในช่วงที่ดำเนินการ ซึ่งขนาดของโรคขึ้นกับปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อก่อโรค บุคคล และสภาพแวดล้อม เช่น สายพันธุ์ ความรุนแรงของโรค การสัมผัสโรค พฤติกรรม มาตรการที่ใช้ในการป้องกันโรค และการได้รับวัคซีนป้องกันโรค เป็นต้น สำหรับผู้ที่มีผลตรวจ real-time RT-PCR เป็นลบ อาจมีผลตรวจในครั้งต่อไปเป็นบวกได้ หากตรวจในระยะแรกของการติดเชื้อหรือมีการติดเชื้อเกิดขึ้นภายหลังการตรวจ ควรมีการเฝ้าระวังติดตาม ดังนั้นวิธีการตรวจและผลการตรวจจึงมีประโยชน์ในช่วงระยะเวลาที่จำกัด จำเป็นต้องมีการบริหารจัดการการเฝ้าระวังโรคในแรงงานต่างด้าวด้วยแนวทางปฏิบัติที่เหมาะสมสำหรับแต่ละช่วงเวลา รายงานนี้จัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่ มีข้อจำกัดเกี่ยวกับข้อมูลการระบาด โรงงาน ข้อมูลของผู้ติดเชื้อ เป็นต้น อย่างไรก็ตามเป็นรายงานทางห้องปฏิบัติการฉบับแรกที่เผยแพร่เกี่ยวกับการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR ของห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแม่สอด และความสำคัญของการตรวจทางห้องปฏิบัติการในการสนับสนุนการควบคุมโรค

สรุป

การตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 จากการตรวจเชิงรุกด้วยการเข้าสำรวจพื้นที่เกิดโรคในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 เก็บตัวอย่างในกลุ่มผู้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากการสัมผัสผู้ป่วยและตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปและตรวจวิเคราะห์โดยโรงพยาบาลแม่สอด พบผู้ติดเชื้อเพิ่มในสถานประกอบการ อัตราการติดเชื้อรายงานการเกิดโรคคิดเป็นร้อยละ 6.66 การดำเนินการตรวจค้นหาเชิงรุกและวิธีการตรวจนับว่ามีความสำคัญ เพื่อควบคุมโรคอย่างรวดเร็ว ซึ่งต้องอาศัยมาตรการควบคุมโรคหลายวิธีร่วมกัน รวมถึงเลือกใช้วิธีการตรวจที่เหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช) ในการสนับสนุนงบประมาณดำเนินโครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาระบาดวิทยาของโรคโควิด 19 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าว ขอขอบคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลแม่สอด และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการสนับสนุนการดำเนินงาน

เอกสารอ้างอิง

1. D'Cruz RJ, Currier AW, Sampson VB. Laboratory testing methods for novel severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2). Front Cell Dev Biol 2020; 8: 468. (11 pages).
2. อนุตรา รัตน์นราทร. รายงานผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19): ผู้ป่วยรายแรกของประเทศไทยและนอกประเทศจีน. ว สถาบันบำราศนราดูร 2563; 14(2): 116-23.
3. Okada P, Bauthong R, Phuygun S, Thanadachakul T, Parnmen S, Wongboot W, et al. Early transnmission patterns of coraona disease 2019 (COVID-19) in travellers from Wuhan to Thailand, Jaunuary 2020. Euro Surveill 2020; 25(8): 2000097. (5 pages).
4. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการเฝ้าระวังและสอบสวนโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (Coronavirus Disease 2019: COVID-19) ฉบับวันที่ 11 สิงหาคม 2564. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2564. หน้า 2.
5. ดนตร์ ช่างสม, สิริพรรณ แสงอรุณ, ธนัสภา ธนเดชากุล, ฐิติพร ห่านตระกูล, โศภิตา กาหลง, ขันธ์ทิวา ชัยราช และคณะ. การประเมินคุณภาพชุดน้ำยาตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR เพื่อขึ้นทะเบียนจำหน่ายในกรณีเร่งด่วน. ว กรมวิทย พ 2563; 62(3): 205-19.
6. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases: interim guidance, 17 January 2020. [online]. 2020; [cited 2022 Feb 15]; [7 screens]. Available from: URL:

https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-corona-virus-(-2019-ncov)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020.

7. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill 2020; 25(3): 2000045. (8 pages).
8. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. Pitfall ในการตรวจ SARS-CoV-2 ด้วยเทคนิค Real-time RT-PCR. นนทบุรี: กองแผนงานและวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2563.
9. Wang Y, Zhang J, Patrick K, Li M, Gong J, Xu B, et al. Hydroxymethylbilane synthase (HMBS) gene-based endogenous internal control for avian species. AMB Express 2020; 10(1): 181. (9 pages).
10. พิไลลักษณ์ อัคคไพบูลย์ โอกาดะ, วราวรรณ วงษ์บุตร, ธนัสภา ธนเดชากุล, สิริภาภรณ์ ผุยกัน, สิริชล กาละ, วันดี มีฉลาด และคณะ. การพัฒนาชุดน้ำยา DMSc COVID-19 real-time RT-PCR. ว กรมวิทย พ 2563; 62(3): 143-54.
11. ศิริวรรณ ชัยสมบูรณ์พันธ์, สิริลดา สุพรรณคง, วิภาดา ขวัญแก้ว, สุคนธ์ทิพย์ ปุจฉาการ, ปานทิพย์ ศิริโชติ, นุสรา สัตย์เพริศพราย และคณะ. การตรวจ SARS-CoV-2 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าวจังหวัดสมุทรสาคร: ถอดบทเรียนการจัดการเก็บน้ำลาย. ว กรมวิทย พ 2563; 62(3): 261-7.

Detection of SARS-CoV-2 Infected Persons Among Foreign Workers Exposed to Patients in the Textile Factory, Mae Sot District, Tak Province Using real-time RT-PCR

Payu Bhakdeenuan,[1] Thanee Wongchai,[2] Nattagarn Chuenchom,[2] Wiphat Klayut,[1] Sopa Srisungngam,[1] Supranee Boonchu,[1] Benjawan Phetsuksiri,[3] and Janisara Rudeeaneksin[1]

[1]*National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand*

[2]*Mae Sot Hospital, Maesot District, Tak 63110, Thailand*

[3]*35 Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand*

Abstract: SARS-CoV-2 has caused COVID-19 which is an emerging disease affecting numerous deaths and cases throughout the world. This report provided results of case finding among migrant workers of a textile factory in Mae Sot district who were at risk for infection through close contact or suspected to have contact with patients. It occurred after case detection in factory employees visiting Mae Sot Hospital in the middle of 2021. Through routine active surveillance, contact tracing and laboratory testing were performed. Nasopharyngeal swabs were collected and transported to the hospital for SARS-CoV-2 detection by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) using a COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit. Among 106 Myanmar workers tested for the infection. Their ages ranged from 18 to 55 years old, and genders were 32 (30.19%) males and 74 (69.81%) females. Seven cases (6.66%) were identified with the age range of 20–39 years old. Of these, 2 were male and 5 were female. Targeting cycle threshold (Ct) of RT-PCR, all positive samples had Ct values for the detection of *RdRp* and *N* gene in a range of 20.16–33.36 and 22.13–33.55, respectively. Overall, the testing results indicated a low infection rate in this population. By active case finding using real-time RT-PCR, new cases and isolating infected persons from risk groups, and spreading control, could be done more quickly, and facilitated risk assessment and preparedness for the disease. The information addressed in this report could be useful as a practical guideline or to improve practice further.

Keywords: COVID-19, Coronavirus 2019, Real-time RT-PCR, Mae Sot Hospital, Active case finding

ว กรมวิทย พ 2565; 64 (3): 181-196

คุณภาพน้ำผึ้งที่ผลิตในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2562-2564

พัชริดา พิชัย และ ไพรินทร์ บุตรกระจ่าง

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เชียงใหม่ 50180

บทคัดย่อ น้ำผึ้งเป็นผลผลิตจากธรรมชาติและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำผึ้งที่ผลิตในท้องถิ่นของไทยจัดเป็นสินค้าเศรษฐกิจที่ตลาดโลกต้องการ เพื่อให้ผู้เลี้ยงผึ้งได้ผลิตน้ำผึ้งที่มีคุณภาพดีตามมาตรฐานสากลและเป็นที่ยอมรับของตลาดโลก สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ร่วมกับภาคเอกชนจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย จึงได้เก็บตัวอย่างน้ำผึ้งเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์คุณภาพตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ในระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2562-2564 รวมทั้งหมด 122 ตัวอย่าง จากจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย จำนวน 92, 8 และ 22 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่ามีรายการน้ำผึ้งไม่ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด จำนวนรวม 17 ตัวอย่าง (18 รายการ) คิดเป็นร้อยละ 13.9 ได้แก่ ความชื้น ไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล ไดแอสเตส แอกติวิตี น้ำตาลซูโครส ยีสต์ และรา จำนวน 2, 8, 1, 2 และ 5 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 1.6, 6.6, 0.8, 1.6 และ 4.1 ตามลำดับ ดังนั้นเพื่อให้สอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐาน จึงควรเฝ้าระวังการตรวจสอบคุณภาพน้ำผึ้งของประเทศไทยอย่างสม่ำเสมอ เพื่อคุ้มครองผู้บริโภค

คำสำคัญ: น้ำผึ้ง, คุณภาพ, เชียงใหม่, ลำพูน, เชียงราย

Corresponding author E-mail: patcharida.p@dmsc.mail.go.th

Received: 21 June 2022 *Revised: 7 September 2022* *Accepted: 22 September 2022*

บทนำ

น้ำผึ้งเป็นผลผลิตธรรมชาติที่ได้จากผึ้ง ผู้บริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศนิยมบริโภคน้ำผึ้งกันอย่างแพร่หลาย จึงทำให้น้ำผึ้งเป็นสินค้าเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและเป็นที่ต้องการของตลาดโลก หน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) จึงมีการวิจัยและพัฒนา เพื่อส่งเสริมการเลี้ยงผึ้งให้ได้ปริมาณและคุณภาพที่ดีตามมาตรฐานสากล เป็นการสร้างอาชีพ เพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้ง ซึ่งในปัจจุบันมีการรวมกลุ่มของเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งจัดตั้งเป็นกลุ่มวิสาหกิจชุมชน รวมถึงส่งเสริมให้ความรู้ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งของภาคเอกชน ประเทศไทยผลิตน้ำผึ้งมากเป็นอันดับที่ 36 ของโลก และเป็นอันดับ 2 ของอาเซียนรองจากเวียดนาม ในปี พ.ศ. 2563 ไทยผลิตน้ำผึ้งได้ 10,110 ตัน มีการส่งออกน้ำผึ้งไปยังประเทศต่าง ๆ เช่น ไต้หวัน สหรัฐอเมริกา อินโดนีเซีย แคนาดา และจีน จำนวน 7,907.95 ตัน คิดเป็นมูลค่า 616.59 ล้านบาท[1] ในประเทศพบผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งหลายยี่ห้อวางจำหน่ายตามท้องตลาด เช่น ร้านขายของฝากตามสถานที่ท่องเที่ยวและห้างสรรพสินค้าขนาดใหญ่ โดยผู้บริโภคสามารถนำน้ำผึ้งไปรับประทานโดยตรงหรือผสมกับส่วนผสมอื่น ๆ ของอาหาร เครื่องดื่ม และยา ได้หลากหลายชนิด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 เรื่องน้ำผึ้ง[2] หมายถึง ของเหลวรสหวานซึ่งผึ้งผลิตขึ้นโดยให้น้ำผึ้งมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังต่อไปนี้ มีสี กลิ่น รส ตามลักษณะเฉพาะของน้ำผึ้ง มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก น้ำผึ้งที่มีความชื้นเกินกว่านี้เชื้อยีสต์และราสามารถเจริญเติบโตได้จนเกิดกระบวนการหมักขึ้น ทำให้น้ำผึ้งเกิดการบูดหรือเน่าเสียได้ง่าย[3] จึงต้องทดสอบหาความชื้นที่เหมาะสมตามกฎหมายกำหนด ค่าบ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำผึ้ง คือ ค่าไฮดรอกซี-เมทธิลเฟอร์ฟิวรัล (hydroxymethylfurfural) ซึ่งต้องไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[2] หากค่าเกินกว่าที่กำหนดอาจเกิดจากการเก็บรักษาน้ำผึ้งไว้นานเกินไป วางน้ำผึ้งไว้ในสภาวะที่มีความร้อนเป็นเวลานาน หรือการใช้ความร้อนไล่ความชื้นออกจากน้ำผึ้งในกระบวนการผลิตน้ำผึ้ง ส่งผลให้ค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลสูงขึ้น[4] ซึ่งสารนี้เกิดได้เองตามธรรมชาติจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกับกรดอะมิโนของโปรตีนในน้ำผึ้ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของสารประกอบกลูโคสและเอมีนที่มีสีน้ำตาล เป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ เรียกว่า ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction)[5] เนื่องจากสารไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลเป็นสารอันตรายที่สามารถก่อมะเร็งในผู้บริโภคได้[6] สารนี้จึงมีความสำคัญในการกำหนดคุณภาพของน้ำผึ้ง ส่วนค่าไดแอสเตส แอกติวิตี (diastase activity) ต้องไม่น้อยกว่า 3 โกเต สเกล ซึ่งเป็นค่าที่บ่งชี้ว่าน้ำผึ้งนี้เป็นน้ำผึ้งแท้สดใหม่ มีคุณภาพที่เหมาะสมสำหรับการนำมาบริโภค มีเอนไซม์ตามธรรมชาติที่ผู้บริโภคต้องการรับประทานเพื่อช่วยในกระบวนการย่อยอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต[7] และมีค่าของน้ำตาลรีดิวซิงคิดเป็นน้ำตาลอินเวิร์ตไม่น้อยกว่าร้อยละ 65 ของน้ำหนัก น้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก ค่าของน้ำตาลนี้เป็นค่าที่อาจบ่งชี้ได้ว่าน้ำผึ้งที่ได้มามีการผสมน้ำตาลซูโครสลงไปหรือในกระบวนการเลี้ยงผึ้งมีการปนเปื้อนหรือตกหล่นของน้ำตาลซูโครสลงไปในรังผึ้ง หากค่าของน้ำตาลไม่เป็นไปตามประกาศฯ อาจเข้าเกณฑ์น้ำผึ้งผสมหรือเครื่องดื่มผสมน้ำผึ้ง ไม่ใช่น้ำผึ้งแท้และมีการจำหน่ายในราคาของน้ำผึ้งแท้ซึ่งมีราคาแพงกว่าเครื่องดื่มทั่วไป ซึ่งถือได้ว่าเป็นการเอาเปรียบผู้บริโภค จึงต้องมีการทดสอบหาน้ำตาลที่ผสมอยู่ในน้ำผึ้ง สำหรับการตรวจยีสต์และราในน้ำผึ้งต้องพบได้ไม่เกิน 10 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม ยีสต์และราที่ปนเปื้อนในน้ำผึ้งชี้ให้เห็นว่าในกระบวนการผลิตน้ำผึ้งไม่เหมาะสม น้ำผึ้งอาจมีความชื้นเกินกว่าร้อยละ 21 ของน้ำหนัก หรือเกิดการปนเปื้อนระหว่างการผลิตและทำให้น้ำผึ้งเน่าเสียได้ง่าย[3] รวมทั้งต้องไม่พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ คือ เชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ซึ่งเชื้อ *S. aureus* เป็นตัวบ่งชี้ถึงสุขลักษณะที่ดีในการผลิต เชื้อนี้อาจมาจากจมูก มือ บาดแผล สิว และผิวหนังของมนุษย์ปนเปื้อนลงไปในน้ำผึ้ง ส่งผลให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยผู้ป่วยจะมีอาการน้ำลายออกมามากผิดปกติ คลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย บางรายที่มีอาการมากอาจพบเลือดและมูกในอุจจาระ บางรายปวดศีรษะ กล้ามเนื้อเป็นตะคริว

เหงื่อออก หนาวสั่น ชีพจรอ่อนและช็อก มักพบมีไข้ต่ำ ๆ มากกว่าไข้สูง[8] สำหรับเชื้อ *Salmonella* spp. เป็นตัวบ่งชี้ได้ว่าในกระบวนการผลิตมีการปนเปื้อนของอุจจาระที่มีเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ บางครั้งพบว่ามาจากไก่ ไข่ นก และเนื้อสัตว์อื่น ๆ ส่งผลให้เมื่อบริโภคน้ำผึ้งที่มีการปนเปื้อนเชื้อนี้เกิดอาการป่วยเป็นโรคระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ อาเจียน ท้องร่วง ตะคริว และมีไข้ โดยทั่วไปจะมีอาการประมาณสองวันและค่อย ๆ หายไปในหนึ่งสัปดาห์ แต่สำหรับผู้ที่มีภูมิต้านทานต่ำ เชื้อนี้จะสามารถแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่น ๆ จนเกิดความเจ็บป่วยที่รุนแรงขึ้นและถึงขั้นเสียชีวิตได้[8]

น้ำผึ้งผลิตจากผึ้งได้หลายสายพันธุ์ เช่น ผึ้งหลวง *(Apis dorsata)* ผึ้งโพรง *(Apis cerana)* ผึ้งพันธุ์ *(Apis mellifera)* และผึ้งมิ้ม *(Apis florea)* การผลิตน้ำผึ้งเริ่มจากผึ้งงานดูดน้ำหวานมาจากดอกไม้และแหล่งน้ำหวานอื่น ๆ นำมาเก็บสะสมไว้ในกระเพาะน้ำหวาน เอนไซม์จากต่อมน้ำลายของผึ้งจะถูกขับออกมาเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทสให้เป็นน้ำตาลอินเวิร์ต คือ น้ำตาลลีวูโลส เดกซ์โทรส มอลโทส และมีน้ำตาลอื่น ๆ อีกเล็กน้อย[9] จากอดีตจนถึงปัจจุบันน้ำผึ้งยังคงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเสมอมา บางครั้งผู้ผลิตลดต้นทุนการผลิตโดยการเติมน้ำตาลสังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำตาลทรายหรือแบะแซลงในน้ำผึ้ง ทำให้ผู้บริโภคซื้อสินค้าที่ไม่ตรงตามวัตถุประสงค์และราคาแพงเกินจริง หรือน้ำผึ้งที่เก่าเก็บทำให้เกิดการเสื่อมคุณภาพตามธรรมชาติจนอาจเป็นอันตรายกับผู้บริโภคได้ ดังนั้นในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562–2564 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ร่วมกับสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และภาคเอกชนผู้ผลิตน้ำผึ้งจากจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย ดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งเพื่อตรวจสอบคุณภาพและควบคุมให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 เพื่อเฝ้าระวังคุณภาพของน้ำผึ้งให้เป็นไปตามมาตรฐานกำหนดและคุ้มครองผู้บริโภคให้มีความปลอดภัย รวมถึงผลการตรวจวิเคราะห์นี้เป็นส่วนหนึ่งในการคัดแยกผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งให้เป็นไปตามมาตรฐานสากลของตลาดโลก ช่วยส่งเสริมพัฒนาสินค้าเศรษฐกิจของประเทศไทยได้ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างศึกษา

ตัวอย่างน้ำผึ้งในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562–2564 เก็บโดยสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน (เก็บจากร้านค้าขายน้ำผึ้ง) และภาคเอกชนจังหวัดเชียงใหม่ (เก็บจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชน) ลำพูนและเชียงราย (เก็บจากผู้ผลิตน้ำผึ้ง) ส่งตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้ง จำนวนทั้งหมด 122 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างของจังหวัดเชียงใหม่ 92 ตัวอย่าง ลำพูน 8 ตัวอย่าง และเชียงราย 22 ตัวอย่าง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้

hand-held refractometer N.O.W. (รุ่น 505-IR Nippon optical works Co.,Ltd. ประเทศญี่ปุ่น), เทอร์โมมิเตอร์ (ไม่ทราบยี่ห้อ ประเทศไต้หวัน), spectrophotometer (Agilent รุ่น 8453 บริษัท เอจิเลนต์ เทคโนโลยีส์ จำกัด ประเทศสหรัฐอเมริกา), เครื่องชั่งความละเอียด 0.10 มิลลิกรัม (Sartorius รุ่น 324s Sartorius Weighing Technology GmbH ประเทศเยอรมนี), เครื่องหมุนเหวี่ยง (Vortex Genie2 รุ่น SI Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา), เตาไฟฟ้า (Electrothermal รุ่น EM0500/C TEquipment ประเทศอังกฤษ), เครื่องชั่งความละเอียดไม่เกิน 0.001 กรัม (Mettler Toledo รุ่น PB303-S Mettler Toledo (Swizerland) AG ประเทศสวิตเซอร์แลนด์), pH meter (Metrohm รุ่น 827 Metrohm Herisau (Swizerland) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์), ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Binder รุ่น KB 240 (E6) ประเทศเยอรมนี), ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 36 และ 37 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น INE600 และรุ่น IFE600 ประเทศเยอรมนี), ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 41.5 องศาเซลเซียส (Binder รุ่น BF240 (E6) ประเทศเยอรมนี) และ water bath อุณหภูมิ 41.5 องศาเซลเซียส (Thermo scientific รุ่น Neslab EX7 Digital one ประเทศสหรัฐอเมริกา)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี (ด้านเคมี)

carrez I solution ($K_4Fe(CN).3H_2O$) และ phenolphthalein (Sigma–Aldrich, ประเทศสหรัฐอเมริกา) sodium bisulfite ($NaHSO_3$) (HIMEDIA ประเทศอินเดีย), sodium acetate trihydrate ($NaCH_3COO.3H_2O$) (Supelco ประเทศเยอรมนี), carrez II solution ($Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$), iodine (I_2), potassium iodide (KI), acetic acid (CH_3COOH), sodium chloride (NaCl), starch, anhydrous sodium carbonate (Na_2CO_3), citric acid monohydrate ($C_6H_8O_7.H_2O$), copper (II) sulphate pentahydrate ($CuSO_4.5H_2O$), sulfuric acid (H_2SO_4), sodium thiosulphate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$), sodium hydroxide (NaOH), zinc acetate ($Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$), hydrochloric acid (HCl), potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) (MERCK ประเทศเยอรมัน), ethanol 95% (J.T.Baker ประเทศมาเลเซีย) สารเคมีทั้งหมดเป็นชนิด analytical grade

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี (ด้านจุลชีววิทยา)

phosphate saline buffer (0.02 M) pH 7.3–7.4, Baird-Parker medium (BP), brain heart infusion broth, trypticase soy broth (TSB) ที่เติม 10% sodium chloride และ 1% pyruvate, coagulase rabbit plasma, gram's stain, buffered peptone water (BPW), Brilliant green agar, rappaport vassiliadis medium (RVS), Muller-Kauffmann tetrathionate/novobiocin broth (MKTTn broth), xylose lysine deoxycholate agar, triple sugar iron agar, decarboxylase base medium, L-lysine, *Salmonella* spp. antiserum (Difco ประเทศสหรัฐอเมริกา)

วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น[10]

ทดสอบโดยใช้ hand-held refractometer ในการวัดค่าดัชนีหักเห (refractive index: RI) ใช้ระบบการส่องผ่านของแสง ปรับเครื่องมือตามวิธีการใช้ refractometer แล้วหยดน้ำผึ้งลงบนแผ่นปริซึมของ refractometer อ่านค่า RI บันทึกอุณหภูมิตัวอย่างจากเทอร์โมมิเตอร์ คำนวณแล้วเปรียบเทียบหาปริมาณความชื้นดังแสดงในตารางที่ 1

การคำนวณ

กรณีที่อุณหภูมิของตัวอย่างไม่ใช่ 20 องศาเซลเซียส ให้ใช้ค่าแก้ 0.00023 ต่อองศาเซลเซียส เพื่อปรับค่าที่อ่านได้เป็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เช่น ถ้าอุณหภูมิตัวอย่างเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส และอ่านค่า RI จาก refractometer เท่ากับ 1.4985 จะได้ค่าแก้เท่ากับ 0.00115 คำนวณจาก (25–20) × 0.00023 แล้วนำค่าแก้ที่ได้ไปบวกกับค่าที่อ่านได้จาก refractometer ดังนั้นค่า RI เท่ากับ 1.49965 (1.4985 + 0.00115) ในทางกลับกันถ้าอุณหภูมิตัวอย่างต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ให้นำค่าแก้ดังกล่าวไปลบออกจากค่า RI ที่อ่านได้ จากนั้นนำค่า RI ที่ปรับแก้แล้วไปเทียบค่าปริมาณความชื้น จากตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีหักเหและปริมาณความชื้นในน้ำผึ้ง[10] รายงานผลเป็นร้อยละของน้ำหนัก ความแม่นยำ (precision) ในการวิเคราะห์แสดงด้วย $\%RSD_r$ (relative standard deviation) มีค่า = 0.91 (ค่า HORRAT = 0.53) โดยค่า HORRAT คือ การประเมินค่าความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ คำนวณได้จาก Horwitz equation repeatability : $RSD_r = 0.66 \times 2 (1-0.5 \log C)$ โดยที่ C = concentration ratio กำหนดเกณฑ์การยอมรับค่า HORRAT (Horwitz's ratio ≤ 2)[11]

การวิเคราะห์ค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล[12]

สารไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล ใช้หลักการหาความแตกต่างของการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้น้ำผสมกับสารละลายน้ำผึ้ง 1 หลอดทดลอง และใช้ NaHSO ความเข้มข้น 0.2% (reference) ผสมกับสารละลายน้ำผึ้งอีก 1 หลอดทดลอง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 284 และ 336 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาหักลบกัน คำนวณหาค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลที่ได้ตามสูตรในวิธีทดสอบ โดยชั่งตัวอย่างน้ำผึ้ง 5 กรัม ละลายด้วยน้ำปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม carrez I และ carrez II ชนิดละ 0.5 มิลลิลิตร เพื่อตกตะกอน ปรับปริมาตรด้วยน้ำ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วปิเปตสารละลายที่กรองได้ลงในหลอดทดลองทั้งสองหลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร โดยหลอดทดลองแรก (sample) เติมน้ำ 10

มิลลิลิตร หลอดทดลองที่สอง (reference) เติม 0.2% $NaHSO_3$ จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำทั้งสองหลอดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 284 และ 336 นาโนเมตร คำนวณหาค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล (HMF)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีหักเหและปริมาณความชื้นในน้ำผึ้ง[10]

%water content	Refractive index			%water content	Refractive index		
	20°C	60°F	40°C		2°C	60°F	40°C
13.0	1.5044	1.5053	1.4998	19.0	1.4890	1.4900	1.4845
13.2	1.5038	1.5048	1.4993	19.2	1.4885	1.4895	1.4840
13.4	1.5033	1.5043	1.4988	19.4	1.4880	1.4890	1.4835
13.6	1.5028	1.5038	1.4983	19.6	1.4875	1.4885	1.4829
13.8	1.5023	1.5033	1.4978	19.8	1.4870	1.4880	1.4824
14.0	1.5018	1.5027	1.4973	20.0	1.4865	1.4875	1.4819
14.2	1.5012	1.5022	1.4968	20.2	1.4860	1.4870	1.4814
14.4	1.5007	1.5017	1.4962	20.4	1.4855	1.4865	1.4809
14.6	1.5002	1.5012	1.4957	20.6	1.4850	1.4860	1.4804
14.8	1.4997	1.5007	1.4952	20.8	1.4845	1.4855	1.4799
15.0	1.4992	1.5002	1.4947	21.0	1.4840	1.4850	1.4794
15.2	1.4987	1.4997	1.4942	21.2	1.4835	1.4845	1.4788
15.4	1.4982	1.4992	1.4937	21.4	1.4830	1.4840	1.4783
15.6	1.4976	1.4986	1.4932	21.6	1.4825	1.4835	1.4778
15.8	1.4971	1.4981	1.4927	21.8	1.4820	1.4830	1.4773
16.0	1.4966	1.4976	1.4922	22.0	1.4815	1.4825	1.4768
16.2	1.4961	1.4971	1.4916	22.2	1.4810		
16.4	1.4956	1.4966	1.4911	22.4	1.4805		
16.6	1.4951	1.4961	1.4906	22.6	1.4800		
16.8	1.4946	1.4956	1.4901	22.8	1.4795		
17.0	1.4940	1.4951	1.4896	23.0	1.4790		
17.2	1.4935	1.4946	1.4891	23.2	1.4785		
17.4	1.4930	1.4940	1.4886	23.4	1.4780		
17.6	1.4925	1.4935	1.4881	23.6	1.4775		
17.8	1.4920	1.4930	1.4876	23.8	1.4770		
18.0	1.4915	1.4925	1.4870	24.0	1.4765		
18.2	1.4910	1.4920	1.4865	24.2	1.4760		
18.4	1.4905	1.4915	1.4860	24.4	1.4755		
18.6	1.4900	1.4910	1.4855	24.6	1.4750		
18.8	1.4895	1.4905	1.4850	24.8	1.4745		
				25.0	1.4740		

หมายเหตุ

- ถ้าอุณหภูมิขณะทำการวัดค่าดัชนีหักเห มีค่ามากกว่า 20 องศาเซลเซียส ให้บวกค่าดัชนีหักเหเพิ่ม 0.00023 ต่อองศาเซลเซียส
- ถ้าอุณหภูมิขณะทำการวัดค่าดัชนีหักเห มีค่าน้อยกว่า 20 องศาเซลเซียส ให้ลบค่าดัชนีหักเหออก 0.00023 ต่อองศาเซลเซียส
- ตารางนี้เป็นส่วนหนึ่งของการคำนวณหาความชื้นในน้ำผึ้ง

การคำนวณหาค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล

$$\text{HMF, mg/Kg} = \frac{(A284 - A336) \times 14.97 \times 5 \times 10}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

$$\text{14.97 มาจาก} = \frac{126 \times 1{,}000 \times 100}{16{,}830 \times 10 \times 5}$$

126 มาจาก	=	MW ของ HMF
16,830	=	molar a of HMF at 284 nm
1,000	=	mg/g
10	=	centiliters/L
100	=	g honey reported
5	=	nominal sample weight

รายงานผลด้วยตัวเลขทศนิยม 1 ตำแหน่ง มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กิโลกรัม ความแม่นยำในการวิเคราะห์แสดงด้วย $\%RSD_r$ มีค่า = 5.37 (ค่า HORRAT = 0.87)

การวิเคราะห์ไดแอสเตส แอกติวิตี[13]

ใช้หลักการของการทำปฏิกิริยากันระหว่างสารละลายแป้งและน้ำผึ้ง เอนไซม์ที่อยู่ในน้ำผึ้งจะไปทำการย่อยสลายแป้ง โดยมีไอโอดีนเป็นอินดิเคเตอร์ สีของสารละลายเปลี่ยนแปลงเมื่อปฏิกิริยาถึงจุดยุติ ผลที่ได้จะแสดงออกมาในรูปของจำนวน 1% แป้งที่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ในน้ำผึ้ง 1 กรัม ภายในเวลา 1 ชั่วโมง โดยปิเปต 2% starch solution 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิเปตน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน พักไว้ แล้วปิเปต iodine solution 10 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายน้ำแป้งที่พักไว้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงไป ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ แล้วนำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่า absorbance อยู่ในช่วง 0.760±0.02 ถ้าไม่ได้ค่านี้ต้องเพิ่มหรือลดปริมาณน้ำที่ปรับปริมาตร เช่น ถ้าวัดค่า absorbance ได้ 0.790 อาจต้องเพิ่มน้ำครั้งละ 1 มิลลิลิตร รวมเป็น 51 มิลลิลิตร หรือจนกว่าจะได้ค่า absorbance อยู่ในช่วง 0.760±0.02 จากนั้นชั่งน้ำผึ้ง 5 กรัม ละลายน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม acetate buffer solution pH 5.3 (1.59M) 2.5 มิลลิลิตร และเติม 0.5M NaCl solution 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ เขย่าให้เข้ากัน แล้วปิเปต 2% starch solution 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในside arm ของขวดที่ใช้ทำปฏิกิริยา จากนั้นปิเปตสารละลายน้ำผึ้งที่เตรียมไว้ จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในส่วนที่เป็นขวด นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 40±0.2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ผสมสารละลายทั้งสองให้เข้ากัน แช่ใน water bath อีกครั้ง เริ่มจับเวลาทุก ๆ 5 นาที ปิเปตสารละลายผสม จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มีสารละลาย iodine 10 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้มีปริมาตรเท่ากับน้ำที่ใช้การ standardize น้ำแป้ง (เช่น ปรับปริมาตรเป็น 50 หรือ 51 มิลลิลิตร ตามที่ใช้ในการ standardize น้ำแป้ง) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ทำการผสมและปรับปริมาตรใหม่ทุก ๆ 5 นาที และนำไปวัดค่า absorbance จนได้ค่าเท่ากับ

0.235 จากนั้นนำค่า absorbance ที่วัดได้กับระยะเวลาที่วัดไปพลอตกราฟ โดยให้แกน X เป็นค่า absorbance ส่วนแกน Y เป็นเวลา เพื่อสร้างสมการเส้นตรง ซึ่งนำไปใช้ในการคำนวณหาเวลาที่เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับน้ำแป้ง แล้วคำนวณหาค่าไดแอสเตส แอกติวิตี รายงานผลด้วยตัวเลข ทศนิยม 1 ตำแหน่ง มีหน่วยเป็น โกเต สเกล ความแม่นยำในการวิเคราะห์แสดงด้วย $\%RSD_r$ มีค่า = 2.56 (ค่า HORRAT = 0.34)

การวิเคราะห์น้ำตาลซูโครสและน้ำตาลรีดิวซิง[14]

การทดสอบน้ำตาลในน้ำผึ้งใช้วิธีลุฟ-สกอร์ล ซึ่งเป็น copper reduction method ใช้หลักการหาปริมาณ Cu (II) ที่เหลือจากปฏิกิริยารีดักชัน โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน sodium thiosulphate

รีเอเจนต์ลุฟ-สกอร์ล (Luff-Schoorl reagent)

ละลาย anhydrous Na_2CO_3 จำนวน 143.8 กรัม ในน้ำปริมาตร 300 มิลลิลิตร ละลาย citric acid monohydrate จำนวน 50 กรัม ในน้ำ 50 มิลลิลิตร และละลาย $CuSO_4.5H_2O$ จำนวน 25 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้ง 3 ชนิด ให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน ถ้ามีตะกอนเกิดขึ้นต้องกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง pH 9.3–9.4

การเตรียมตัวอย่างน้ำผึ้ง

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ละลายด้วยน้ำอุ่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม carrez I และ carrez II ชนิดละ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำให้ครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ได้สารละลายตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างเพื่อการทดสอบน้ำตาลรีดิวซิง

นำสารละลายตัวอย่างน้ำผึ้ง 10 มิลลิลิตร ใส่ volumetric flask เติมน้ำให้ครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำมาเจือจาง โดยปิเปตมา 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (sample solution A)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อการทดสอบน้ำตาลอินเวิร์ต

นำสารละลายตัวอย่างน้ำผึ้ง 25 มิลลิลิตร ใส่ volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 45 มิลลิลิตร และ HCl conc. 1 มิลลิลิตร จุ่มลงใน water bath อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีใน ice bath 1–2 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง หยด phenolphthalein indicator 3–5 หยด และเติม 10% NaOH ทีละหยดจนได้สารละลายสีชมพูอ่อน ๆ เติมน้ำให้ครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปิเปตมา 10 มิลลิลิตร ใส่ volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำให้ครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร (sample solution B)

การทดสอบน้ำตาลรีดิวซิง

ปิเปตรีเอเจนต์ลุฟ-สกอร์ล 25 มิลลิลิตร และ sample solution A 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร (ทำ 2 ซ้ำ) ทำ blank โดยปิเปตน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร (แทนการใส่ตัวอย่าง) ใส่ glass bead จำนวน 2–3 ลูก ต่อขวดก้นกลมเข้ากับ reflux condenser ต้มให้เดือด 10 นาที แล้วนำไปแช่ให้เย็นทันทีใน ice bath ประมาณ 1–2 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา ใส่ 30% KI จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติม 3M H_2SO_4 จำนวน 25 มิลลิลิตร ลงไปทีละน้อยพร้อมเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีน้ำตาลขุ่น นำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน 0.1N $Na_2S_2O_3$ จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติม 0.5% starch จำนวน 2–3 มิลลิลิตร ลงไปพร้อมเขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน 0.1N $Na_2S_2O_3$ จนได้สารละลายสีขาวขุ่น บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรทจนถึงจุดยุติ

การทดสอบน้ำตาลอินเวิร์ต

ปิเปต sample solution B 25 มิลลิลิตร ทำการทดสอบเช่นเดียวกับน้ำตาลรีดิวซิง (ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ) คำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง, น้ำตาลอินเวิร์ต และซูโครสในน้ำผึ้ง รายงานผลการทดสอบด้วยตัวเลข ทศนิยม 1 ตำแหน่ง มีหน่วยเป็นร้อยละของน้ำหนัก ความแม่นยำในการวิเคราะห์แสดงด้วย $\%RSD_r$ มีค่า = 2.22 (ค่า HORRAT = 1.02)

การปนเปื้อนจุลชีพก่อโรค

การทดสอบยีสต์และรา[15]

ชั่งน้ำผึ้ง 50 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ (stomacher bag) เติม 0.1% peptone water จำนวน 450 มิลลิลิตร นำไปตีให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher น้ำผึ้งจะถูกเจือจางเป็นอัตราส่วน 1 ต่อ 10 จากนั้นปิเปตน้ำผึ้งที่เจือจาง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวด 0.1% peptone water จำนวน 90 มิลลิลิตร น้ำผึ้งจะถูกเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า ปิเปตตัวอย่างที่ถูกเจือจางตามอัตราส่วนข้างต้นลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC ที่แต่ละระดับการเจือจาง จำนวน 3 จาน จานละ 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร ใช้ spreader glass เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน นับจำนวนโคโลนีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทุกจานรวมกัน คูณด้วย dilution factor รายงานผลเป็นเลขจำนวนเต็มต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม ถ้าไม่พบการเจริญเติบโตของยีสต์และราให้รายงานน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม

การทดสอบ *Staphylococcus aureus*[16]

ชั่งตัวอย่างน้ำผึ้งจำนวน 50 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ (stomacher bag) เติม phosphate buffer solution 450 มิลลิลิตร นำไปตีให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher น้ำผึ้งจะถูกเจือจางเป็นอัตราส่วน 1 ต่อ 10 ปิเปตน้ำผึ้งที่เจือจาง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวด phosphate buffer solution จำนวน 90 มิลลิลิตร น้ำผึ้งจะถูกเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า ปิเปตตัวอย่างที่ถูกเจือจางตามอัตราส่วนข้างต้นลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker จำนวน 3 จาน จานละ 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร ใช้ spreader glass เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 36±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45–48 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีที่สงสัยตรวจยืนยันผลด้วย coagulase test นับจำนวนโคโลนีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทุกจานที่ยืนยันแล้วว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus aureus* นำมาคำนวณคูณด้วย dilution factor รายงานผลเป็นเลขจำนวนเต็มต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม ถ้าไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อให้รายงานน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม

การทดสอบ *Salmonella* spp.[17]

ชั่งตัวอย่างน้ำผึ้ง 25 กรัม ใส่ในขวดแก้วฆ่าเชื้อขนาด 250 มิลลิลิตร เติม BPW 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 36±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18±2 ชั่วโมง ปิเปตสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร ลงใน RVS broth นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 41.5±1 องศาเซลเซียส นาน 24±3 ชั่วโมง และปิเปตสารละลาย 1.0 มิลลิลิตร ลงใน MKTTn broth นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง ถ่ายสารละลายจาก RVS broth และ MKTTn broth เพื่อ streak บนอาหาร BGA และ XLD agar นำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±3 ชั่วโมง นำโคโลนีที่สงสัยตรวจยืนยันผลด้วยการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและน้ำเหลืองวิทยา รายงานผลพบหรือไม่พบ *Salmonella* spp. ต่อน้ำผึ้ง 25 กรัม

ผล

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้งของจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562–2564 ตรวจวิเคราะห์ตามรายการของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 แต่ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์ครบทุกรายการตามประกาศฯ เนื่องจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา อนุญาตให้ผู้ประกอบการตรวจวิเคราะห์เฉพาะสารสำคัญที่บ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำผึ้งแท้ สดใหม่ ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค คือ ตรวจวิเคราะห์หาค่าปริมาณความชื้นได้ไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก ค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าไดแอสเตส แอกติวิตีไม่น้อยกว่า 3 โกเต สเกล ค่าน้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก ค่าของน้ำตาลรีดิวซิงคิดเป็นน้ำตาลอินเวิร์ตไม่น้อยกว่าร้อยละ 65 ของน้ำหนัก พบยีสต์และราได้ไม่เกิน 10 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม ไม่มีเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค คือ เชื้อ *Salmonella* spp. และ *S. aureus* รายละเอียดของผลการตรวจวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างน้ำผึ้งเก็บจากจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย ที่ผ่านและไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2562–2564

จังหวัด	ปีงบประมาณ พ.ศ. 2562			ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563			ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564		
	จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ)			จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ)			จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ)		
	ตัวอย่างทั้งหมด	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ตัวอย่างทั้งหมด	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ตัวอย่างทั้งหมด	ผ่าน	ไม่ผ่าน
เชียงใหม่	41	33 (80.5)	8 (19.5)	37	35 (94.6)	2 (5.4)	14	14 (100)	0 (0)
ลำพูน	4	3 (75.0)	1 (25.0)	3	2 (66.7)	1 (33.3)	1	1 (100)	0 (0)
เชียงราย	7	4 (57.1)	3 (42.9)	6	6 (100)	0 (0)	9	7 (77.8)	2 (22.2)
รวม	52	40 (76.9)	12 (23.1)	46	43 (93.5)	3 (6.5)	24	22 (91.7)	2 (8.3)

หมายเหตุ : เกณฑ์มาตรฐานที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ในครั้งนี้ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา อนุญาตให้ผู้ประกอบการตรวจวิเคราะห์เฉพาะสารสำคัญที่บ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำผึ้งแท้ มียีสต์และราได้ไม่เกินตามมาตรฐานกำหนด และไม่มีเชื้อจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรค (*Salmonella* spp. และ *S. aureus*)

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่างน้ำผึ้งที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำแนกตามรายการตรวจวิเคราะห์ ในช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2562–2564

จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน (ปริมาณที่ตรวจพบ)														
		ปีงบประมาณ พ.ศ. 2562					ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563					ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564				
		Moisture	HMF	Diastase activity	Sucrose	Yeast Mold	Moisture	HMF	Diastase activity	Sucrose	Yeast Mold	Moisture	HMF	Diastase activity	Sucrose	Yeast Mold
เชียงใหม่	92	2 (21.4, 22.1)	1 (90.9)	1 (1.7)	2 (7.9, 11.1)	3 (70, 110, 240)	0	0	0	0	2 (120, 650)	0	0	0	0	0
ลำพูน	8	0	1 (131.5)	0	0	0	0	1 (154.5)	0	0	0	0	0	0	0	0
เชียงราย	22	0	3 (87.9, 90.7, 93.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (83.2, 170.2)	0	0	0
รวม	122	2	5	1	2	3	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0

หมายเหตุ : เกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 เรื่องน้ำผึ้ง
HMF = hydroxymethylfurfural (ไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
moisture content (ไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก)
diastase activity (ไม่น้อยกว่า 3 โกเต สเกล)
sucrose (ไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก)
invert sugar (ไม่น้อยกว่าร้อยละ 65 ของน้ำหนัก)
yeast and mold (ไม่เกิน 10 โคโลนี ต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม)
Salmonella spp. (ไม่พบ ต่อน้ำผึ้ง 25 กรัม)
S. aureus (ไม่เกิน 100 ต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม)
invert sugar, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ไม่แสดงในตาราง เนื่องจากมีค่าเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด

วิจารณ์

ปัจจุบันน้ำผึ้งเป็นสินค้าเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่ตลาดโลกมีความต้องการค่อนข้างสูง หน่วยงานที่เกี่ยวข้องจึงมีการพัฒนาส่งเสริมการเลี้ยงผึ้งมากขึ้น เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำผึ้งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจว่าน้ำผึ้งที่ได้จากอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งมีคุณภาพได้ตามเกณฑ์มาตรฐานสากล เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 และรับประกันความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงมีตัวอย่างน้ำผึ้ง

ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่เพิ่มมากขึ้น ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำผึ้งของจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย พบว่าจากค่ามาตรฐานของปริมาณความชื้น คือ ไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก แต่บางตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์มีปริมาณความชื้นเกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก คือ อยู่ในช่วงร้อยละ 21.4 และ 22.1 ของน้ำหนัก จำนวน 2 ตัวอย่าง จากตัวอย่างน้ำผึ้ง 41 ตัวอย่าง ในปี พ.ศ. 2562 คิดเป็นร้อยละ 4.9 ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งปริมาณความชื้นเป็นตัวแปรที่สำคัญของน้ำผึ้ง เกิดได้จากปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ในน้ำผึ้งหลังจากการบ่มน้ำผึ้งจนได้ที่ ปริมาณความชื้นที่เกิดขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความชื้นเดิมของน้ำผึ้ง สภาพอากาศ[18] และช่วงเวลาของการเก็บน้ำผึ้งว่าเป็นเวลาที่ผึ้งไล่ความชื้นเสร็จแล้วหรือไม่ บางครั้งการตีผึ้งป่าที่ยังไม่ได้ที่สภาพความชื้นของอากาศในวันที่เก็บน้ำผึ้งหรือการเก็บน้ำผึ้งเลี้ยงเร็วหรือถี่เกินไป อาจจะได้น้ำผึ้งที่มีความชื้นสูงเช่นเดียวกัน[9] น้ำผึ้งที่มีความชื้นสูงจะทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี อาจเกิดการหมักของออสโมฟิลิกยีสต์ (osmophilic yeasts)[19] ซึ่งการหมักนี้ทำให้น้ำผึ้งเกิดกลิ่นบูดเปรี้ยวและเน่าเสียได้เร็วขึ้น ในทางกลับกันน้ำผึ้งที่มีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 20 ไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก สามารถเก็บได้นาน เพราะน้ำผึ้งที่มีความชื้นต่ำทำให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง น้ำผึ้งจะเกิดแรงดันออสโมซิสดึงดูดน้ำออกจากเซลล์ของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้[20] ความชื้นในน้ำผึ้ง จึงถูกใช้เป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในการซื้อขายน้ำผึ้งจากรายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยและพัฒนา เพื่อยกระดับการผลิตและการตลาดน้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งในภาคเหนือ เพื่อรองรับการเปิดตลาดการค้าเสรีของไทยกับต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2558 พบว่าผลการวิเคราะห์น้ำผึ้งที่เลี้ยงด้วยเกสรดอกไม้ 10 ชนิด มีความชื้นเกินร้อยละ 20 ของน้ำหนัก จำนวน 4 ชนิด โดยมาตรฐาน CODEX กำหนดให้ค่าความชื้นไม่เกินร้อยละ 20 ของน้ำหนัก[21] แต่ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 กำหนดให้ไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก[2] Mariee Yayinie et al.[22] ได้ศึกษาค่าความชื้นในน้ำผึ้ง จำนวน 47 ตัวอย่าง จาก Amhara region และ Ethiopia พบว่ามีค่าความชื้นไม่เกินร้อยละ 20 ของน้ำหนัก

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 กำหนดให้พบสารไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ในปี พ.ศ. 2562–2564 พบค่าของสารนี้อยู่ในช่วงระหว่าง 83.2–170.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเกินมาตรฐาน จำนวน 5, 1 และ 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.6, 2.2 และ 8.3 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 สารไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลใช้เป็นค่าบ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำผึ้ง[23] เกิดจากสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของฟูแรนของน้ำตาลเฮกโซส ได้เป็นอนุพันธ์ของฟูแรน เป็นสารก่อมะเร็งที่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ โดยสามารถเกิดได้จาก 2 กลไก คือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกับกรดอะมิโนของโปรตีน แล้วได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของสารประกอบกลูโคสและเอมีนที่มีสีน้ำตาล และปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (caramelization) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของน้ำตาลที่ได้รับความร้อนเกินจุดหลอมเหลว ทำให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเปลี่ยนรูปเป็นโพลิเมอร์ของสารประกอบคาร์บอน ได้เป็นสารสีน้ำตาลที่มีกลิ่นรสเฉพาะตัว เรียกว่า คาราเมล ซึ่งปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสารไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลในน้ำผึ้ง คือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด[6] มักตรวจพบในน้ำผึ้งที่เก็บไว้เป็นเวลานานหรือเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำผึ้งที่ได้รับความร้อน น้ำผึ้งที่มีค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลสูงจะมีสีดำคล้ำและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคไม่เหมาะที่จะนำมารับประทาน จากการศึกษาของทิพย์สุดาตั้งตระกูล และรุ่งทิพย์ กาวารี[24] พบว่าน้ำผึ้งจากจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ในปี พ.ศ. 2554 ส่วนใหญ่มีค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลสูงมากกว่าค่ามาตรฐานกำหนด จากการศึกษาของชนัญพร หิรัญเรือง และคณะ[25] เกี่ยวกับคุณลักษณะของน้ำผึ้งโพรงไทย อำเภอหลังสวน จังหวัดชุมพร ในปี พ.ศ. 2562 พบว่าค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนดทั้งหมด De Beer et al. 2021[26] ศึกษาคุณภาพของน้ำผึ้งที่ South African พบว่าค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลน้อยกว่าหรือเท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขไทย กำหนดให้ค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลในน้ำผึ้งไม่เกิน 80 มิลลิกรัม

ต่อกิโลกรัม[2] ในขณะที่มาตรฐานอาหารขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ และองค์การอนามัยโลก (Joint FAO/WHO CODEX Alimentarius Commission) ซึ่งทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานด้านความปลอดภัยของสินค้าประเภทอาหารที่ผลิตออกจำหน่าย หรือเรียกว่า CODEX กำหนดให้ค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลในน้ำผึ้งไม่เกิน 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[27] และ The European Directive Union and Quality & Standards Authority of Ethiopia กำหนดให้ค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลในน้ำผึ้งไม่เกิน 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[28] ดังนั้นเพื่อประโยชน์ในการส่งออกน้ำผึ้งไปตลาดต่างประเทศ ผู้ส่งออกน้ำผึ้งจึงควรศึกษากฎหมายที่เกี่ยวข้องของแต่ละประเทศว่าใช้ข้อกำหนดตามประกาศฉบับใด และเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคน้ำผึ้ง ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 ควรมีการปรับปรุงให้มีค่าไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัลใกล้เคียงกับค่ามาตรฐานของ CODEX

ไดแอสเตส แอกติวิตี ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 กำหนดให้มีค่าไม่น้อยกว่า 3 โกเต สเกล ในปี พ.ศ. 2562 ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างของจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 41 ตัวอย่าง พบว่ามีน้ำผึ้งเพียง 1 ตัวอย่าง มีค่าไดแอสเตส แอกติวิตี 1.7 โกเต สเกล ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานกำหนด คิดเป็นร้อยละ 2.4 แต่มาตรฐานของ CODEX กำหนดให้มีค่าไดแอสเตส แอกติวิตี 8 โกเต สเกล ขึ้นไป[27] ดังนั้นเพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานสากลและมีประโยชน์กับผู้บริโภค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของไทย ควรมีการปรับเปลี่ยนประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 เช่นเดียวกัน ซึ่งไดแอสเตส แอกติวิตี เป็นเอนไซม์ในน้ำผึ้งที่ใช้กำหนดเป็นค่ามาตรฐานและเป็นตัวบ่งชี้ได้ว่าเป็นน้ำผึ้งแท้และเป็นน้ำผึ้งสดใหม่[22] โดยน้ำผึ้งเก็บใหม่จะมีคุณภาพดีกว่าน้ำผึ้งที่เก็บมานานแล้ว และน้ำผึ้งที่เก่าเก็บหรือการเก็บรักษาไม่ดี รวมถึงน้ำผึ้งที่ผ่านการอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานานจะมีปริมาณเอนไซม์ต่ำ ซึ่งเอนไซม์นี้เรียกอีกชื่อหนึ่ง คือ อะไมเลส เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของสิ่งที่มีชีวิต มีหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในเซลล์นั้น ๆ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล โดยไฮโดรไลซ์พันธะ 1,4-glycosidase bond ในโมเลกุลของแป้งให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง ทำให้ได้เดกซ์ทรินและน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทส น้ำตาลมอโนแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส ซึ่งอะไมเลสในน้ำผึ้งได้จากน้ำลายของผึ้ง[6] ดังนั้นเมื่อเก็บน้ำผึ้งไว้เป็นเวลานาน ๆ หรือในกระบวนการผลิตมีการใช้ความร้อนจะทำให้เอนไซม์เสื่อมสภาพและสลายไปในที่สุด เอนไซม์นี้จึงเป็นส่วนหนึ่งในการพิจารณาและกำหนดคุณภาพของน้ำผึ้ง Tosi E. et al. 2008[29] ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าไดแอสเตส แอกติวิตี เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่ความร้อนสูงขึ้นค่าไดแอสเตส แอกติวิตีจะต่ำลง

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 ได้กำหนดให้น้ำผึ้งมีน้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก แต่จากการศึกษาในปี พ.ศ. 2562 ที่จังหวัดเชียงใหม่ พบน้ำตาลซูโครสเกินมาตรฐานกำหนดเพียง 2 ตัวอย่าง จากตัวอย่างน้ำผึ้ง 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.9 (อยู่ในช่วงร้อยละ 7.9 และร้อยละ 11.1 ของน้ำหนัก) อาจเกิดได้จากในกระบวนการเลี้ยงผึ้ง คือ ช่วงเดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม เป็นช่วงที่อาหารตามธรรมชาติจากเกสรดอกไม้ของผึ้งขาดแคลน ผู้เลี้ยงผึ้งจำเป็นต้องหาอาหารมาเสริมให้เพียงพอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำหวานและเกสรเทียม อาหารเสริมน้ำหวาน คือ น้ำเชื่อมที่ทำจากน้ำตาลทราย โดยการเอาน้ำตาลทรายมาละลายน้ำที่สะอาดหรือน้ำต้มในอัตราส่วนต่าง ๆ อัตราส่วนที่นิยมใช้ ได้แก่ อัตราส่วน 1 ต่อ 1 (น้ำตาลทราย 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร) และในช่วงที่อากาศร้อนและแห้งแล้งใช้อัตราส่วนที่เจือจาง คือ อัตราส่วน 2 ต่อ 3 (น้ำตาลทราย 2 กิโลกรัมต่อน้ำ 3 ลิตร) การให้น้ำตาลทรายอีกวิธีการหนึ่ง คือ การให้ในรูปแบบน้ำตาลทรายผง โดยใส่น้ำตาลทรายลงบนภาชนะหรือถาดวางบนหลังคอนในรังผึ้ง ใส่น้ำตาลทรายลงไป อาจเติมน้ำลงบนน้ำตาลทรายเล็กน้อยแต่ไม่ให้ล้นออกมาจากภาชนะ สำหรับเกสรเทียมมีน้ำตาลทรายเป็นองค์ประกอบ[9] ในปี พ.ศ. 2533 ชาวไต้หวันได้นำเทคโนโลยีการเลี้ยงผึ้งเข้ามาประเทศไทย เพื่อส่งเสริมอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งในประเทศไทย พบว่าสภาพแวดล้อมทาง

ธรรมชาติของไทยมีน้ำหวานจากเกสรดอกไม้ไม่เพียงพอในการเลี้ยงผึ้ง รังผึ้งจึงอาจต้องได้รับน้ำหวานจากน้ำตาลทรายเชื่อม ซึ่งน้ำตาลทราย คือ น้ำตาลซูโครส และจากสาเหตุนี้ทำให้น้ำตาลซูโครสสามารถปนเปื้อนลงไปในรังผึ้งได้ ในบางครั้งการเก็บรังผึ้งเร็วเกินไปหลังการให้น้ำตาลซูโครส จะทำให้เอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) ในผึ้งที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็นน้ำตาลกลูโครสและฟรักโทสได้ไม่สมบูรณ์ ทำให้ตรวจพบน้ำตาลซูโครสได้มากกว่าเกณฑ์กำหนด[30] ในปี พ.ศ. 2560 มีรายงานพบว่าน้ำผึ้งที่วางจำหน่ายในตลาดภายในประเทศไทยมีการเติมน้ำตาลสังเคราะห์ต่าง ๆ หรือแบะแซ ผสมลงในน้ำผึ้งเพื่อลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มกำไรในการขายผลิตภัณฑ์น้ำผึ้ง เรียกน้ำผึ้งนี้ว่าน้ำผึ้งผสม แต่ขายในราคาน้ำผึ้งแท้ สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนได้ตรวจจับผู้ผลิตน้ำผึ้งผสมและส่งตัวอย่างน้ำผึ้งตรวจที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ พบว่ามีน้ำตาลซูโครสเกินค่ามาตรฐานกำหนด

ยีสต์และราจัดเป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 กำหนดให้พบได้ไม่เกิน 10 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม แต่ในปี พ.ศ. 2562 และ 2563 ที่จังหวัดเชียงใหม่พบยีสต์และราในตัวอย่างน้ำผึ้ง จำนวน 3 และ 2 ตัวอย่าง จากตัวอย่างน้ำผึ้ง 41 และ 37 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 7.3 และ 5.4 มีค่าอยู่ระหว่าง 70–650 โคโลนีต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์นี้อาจมาจากละอองเกสรดอกไม้ ระบบทางเดินอาหารของผึ้ง ฝุ่น อากาศ น้ำหวานจากดอกไม้ ซึ่งไม่สามารถควบคุมให้เกิดการปลอดเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด แต่กระบวนการผลิต การเก็บรักษา การบรรจุหีบห่อ สามารถควบคุมไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้[18] อีกสาเหตุหนึ่งของการพบยีสต์และราในน้ำผึ้งอาจมาจากความไม่สะอาดของกระบวนการเก็บน้ำผึ้ง การเก็บน้ำผึ้งป่าจำเป็นต้องใช้การบีบคั้นน้ำผึ้งออกจากรังผึ้ง ซึ่งในรังผึ้งนอกจากมีน้ำผึ้งแล้ว ยังมีเกสรดอกไม้ ไข่ ตัวอ่อน อยู่รวมกันและถูกคั้นออกมาด้วย ถ้าอุปกรณ์การบีบคั้น ภาชนะรองรับหรือพื้นที่ไม่สะอาด อาจมีเชื้อยีสต์และราหรือเชื้อโรคอื่น ๆ ปนเปื้อนมาได้ง่าย ส่วนน้ำผึ้งจากฟาร์มเลี้ยงแม้จะมีวิธีการสลัด (centrifuge) ได้น้ำผึ้งที่สะอาดมากกว่าแต่อาจจะปนเปื้อนจากกระบวนการที่ไม่สะอาด ซึ่งยีสต์และรานี้เป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำผึ้งเกิดการเน่าเสียได้ง่าย[3] นอกจากการปนเปื้อนจากกระบวนการผลิต อาจเกิดจากการเติมสิ่งแปลกปลอมโดยผู้ประกอบการลงในน้ำผึ้ง เช่น กรณีการตรวจน้ำผึ้งสีเขียวที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รับตัวอย่างจากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดบุรีรัมย์ เมื่อปี พ.ศ. 2560 ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่ามีการใส่สีสังเคราะห์ลงในน้ำผึ้ง ส่งผลให้ค่าไดแอสเตส แอกติวิตีต่ำกว่ามาตรฐาน ความชื้นเกินมาตรฐาน ยีสต์และราเกินมาตรฐานจำนวนมาก[31] ซึ่งค่าต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้น้ำผึ้งเน่าเสีย เสื่อมสภาพ เกิดผลเสียต่อผู้บริโภค และเกิดปัญหาด้านสาธารณสุขตามมา ดังนั้นประกาศกระทรวงสาธารณสุขจึงห้ามใส่สีหรือสิ่งแปลกปลอมลงในน้ำผึ้ง

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำผึ้งของแต่ละจังหวัด พบว่าน้ำผึ้งของจังหวัดเชียงใหม่ทั้ง 3 ปี มีแนวโน้มดีขึ้น โดยในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน คิดเป็นร้อยละ 19.5 ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 5.4 และปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 ผ่านเกณฑ์ทุกตัวอย่าง สำหรับจังหวัดลำพูนเมื่อพิจารณาผลการตรวจวิเคราะห์ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 มีแนวโน้มที่ดีขึ้นเช่นเดียวกัน คือ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 25.0 ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 ไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 33.3 แต่ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกตัวอย่าง ในขณะที่จังหวัดเชียงรายมีผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดีขึ้นจากการตรวจในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 คือ ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 42.9 ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 ผ่านเกณฑ์ทุกตัวอย่าง แต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 ยังคงมีไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 22.2 ดังนั้นเพื่อเฝ้าระวังคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำผึ้งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้ความรู้กับผู้ประกอบการผลิตน้ำผึ้ง ผู้บริโภคควรเลือกซื้อน้ำผึ้งที่สะอาด ไม่มีเศษละอองเกสร เศษตัวผึ้งหรือดักแด้ปน มีสีอ่อนตามธรรมชาติ ไม่แยกชั้น มีสีเดียวกลมกลืนไปทั้งหมด มีความหนืดหรือมีความเข้มข้นไม่มากหรือน้อยจนเกินไป เมื่อมองดูจะมีลักษณะใสและโปร่งแสง มีเครื่องหมายรับรองคุณภาพจากหน่วยงานราชการที่สามารถตรวจสอบได้ มีการแสดงฉลากครบถ้วน เช่น ชื่อผู้ผลิต สถานที่ผลิต

เครื่องหมายการค้า เลขทะเบียนอาหารและยา (อย.) วันที่ผลิตและวันหมดอายุ เป็นต้น เมื่อผู้บริโภคซื้อน้ำผึ้งมาแล้วรับประทานไม่หมดในครั้งเดียว ควรศึกษาการเก็บรักษาน้ำผึ้งให้เหมาะสม คือ ถ้าน้ำผึ้งมีความชื้นสูงควรบริโภคให้หมดภายใน 1–2 เดือน และควรเก็บน้ำผึ้งในที่เย็น ไม่โดนแสงแดด แต่ไม่ต้องเก็บในตู้เย็น สำหรับน้ำผึ้งที่เก็บไว้นานจะมีสีเข้มเพราะปฏิกิริยาการสลายของน้ำตาลฟรักโทสยังสามารถนำมาบริโภคได้ แต่ไม่ควรเก็บนานเกินกว่า 2 ปี[31] เพราะอาจเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่าง ๆ เกิดสารไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล หรือเกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ไดแอสเตส แอกติวิตีได้ตามธรรมชาติและกาลเวลา

สรุป

สถานการณ์คุณภาพของน้ำผึ้งส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 ของจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย รวมทั้งหมด 52 ตัวอย่าง ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 40 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23.1 ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 จำนวนตัวอย่างส่งตรวจทั้งหมด 46 ตัวอย่าง ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 43 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.5 และในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 24 ตัวอย่าง ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 22 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8.3 ดังแสดงในตารางที่ 2 เห็นได้ว่าผลการตรวจวิเคราะห์เป็นไปในทิศทางที่ดี มีคุณภาพได้ตามเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ. 2543 เป็นส่วนใหญ่ มีบางส่วนที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน คิดเป็นร้อยละ 13.9 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 122 ตัวอย่าง โดยรายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานมากที่สุด ได้แก่ ไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรัล (ร้อยละ 6.5) รองลงมา คือ ยีสต์และรา (ร้อยละ 4.1) ดังนั้นเพื่อให้ผู้ประกอบการได้ผลิตน้ำผึ้งที่ดีมีคุณภาพสอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ หน่วยงานภาครัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้อง ควรติดตามตรวจสอบคุณภาพของน้ำผึ้งให้เป็นไปตามมาตรฐานกำหนดและให้ความรู้กับผู้ประกอบการผลิตน้ำผึ้งในเรื่องคุณภาพที่เป็นข้อกำหนดและกฎหมายที่เกี่ยวข้อง เพื่อเฝ้าระวังความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคน้ำผึ้งและดูแลคุณภาพสินค้าเศรษฐกิจของประเทศไทยสู่ตลาดโลก รวมทั้งควรประชาสัมพันธ์ให้ความรู้ต่อผู้บริโภคน้ำผึ้ง ทั้งการเลือกซื้อ การบริโภค การเก็บรักษาน้ำผึ้งให้ถูกต้องและปลอดภัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.จารุวรรณ คำแก้ว ดร.ประภัสสร ทิพย์รัตน์ และคุณปิ่นนรี ชินวรรธนวงศ์ ที่ให้คำแนะนำและแก้ไขการเขียนบทความให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. วิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้งพัฒนาผลผลิตแปรรูป เพิ่มศักยภาพการแข่งขันพร้อมเข้าสู่ตลาดออนไลน์. กรุงเทพฯ: กลุ่มเผยแพร่และประชาสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร; 2563.
2. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 (พ.ศ. 2543) เรื่อง น้ำผึ้ง. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. (วันที่ 24 มกราคม 2544). หน้า 96.
3. พร้อมลักษณ์ สมบูรณ์ปัญญากุล. องค์ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์การอาหาร. ใน: การประชุมวิชาการนักกำหนดอาหาร ประจำปี 2551. 22 เม.ย. 2551. นครปฐม: คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2551. หน้า 11–15.
4. Besir A, Yazici F, Mortas M, Gul O. A novel spectrophotometric method based on Seliwanoff test to determine 5-(Hydroxymethyl) furfural (HMF) in honey: Development, in house validation and application. LWT 2021; 139: 110602. (8 pages).
5. พรพิมล ม่วงไทย, ยลรวี วิวัฒน์ชาญกิจ, มะยูโซ๊ะ กูโน. การศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ดในระบบต้นแบบ. ว มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 2557; 6(12): 59–76.

6. Shapla UM, Solayman M, Alam N, Khalil MI, Gan SH. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. Chem Cent J 2018; 12: 35. (18 pages).
7. วิราสิณี จันทร์เป็ง, นพพล เล็กสวัสดิ์. อะไมเลส. เชียงใหม่: สาขาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. [ออนไลน์]. 2564; [สืบค้น 7 ธ.ค. 2564); [5 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://www.agro.cmu.ac.th/absC/data/57/57-025.pdf.
8. ธีรพร กงบังเกิด. จุลชีววิทยาอาหาร. พิษณุโลก: คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร; 2546. หน้า 144-150.
9. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารวิชาการที่ 2/2527 การผลิตน้ำผึ้งคุณภาพ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2557.
10. George W, Latimer Jr, editors. Official method of analysis of AOAC international. 21st ed. Maryland: AOAC International; 2019. p. 26-27.
11. Horwitz W, Albert R. The Horwitz ratio (HorRat): a useful index of method performance with respect to precision. J AOAC Int 2006; 89(4): 1095-109.
12. George W, Latimer Jr, editors. Official method of analysis of AOAC international. 21st ed. Maryland: AOAC International; 2019. p. 32.
13. George W, Latimer Jr, editors. Official method of analysis of AOAC international. 21st ed. Maryland: AOAC International; 2019. p. 36.
14. Kirk RS, Sawyer R. Pearson's composition and analysis of foods. 9th ed. Harlow, UK: Longman Group Ltd; 1991. p. 198-199.
15. Ryu D, Wolf-Hall C. Yeasts and molds. In: Salfinger Y, Tortorello ML, editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5th ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2015. p. 277-286.
16. Tallent S, Hait J, Bennett RW, Lancette GA. Bam chapter 12: Staphylococcus aureus. [online]. 2016; [cite 2021 Dec 7); [6 screens]. Available From: URL: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus.
17. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain-Horizontalmethod for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: detection of Salmonella spp. Geneva: International Organization for Standardization; 2017.
18. ชลพิณทุ์ หวานใจ. การประเมินคุณภาพของน้ำผึ้งไทยและการพัฒนาเจลลิปสติกจากน้ำผึ้ง [วิทยานิพนธ์]. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะเกษตรศาสตร์. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2554.
19. ONishi H. Osmophilic yeasts. Adv Food Res 1963; 12: 53-94.
20. Almasaudi S. The antibacterial activities of honey. Saudi J Biol Sci 2021; 28(4): 2188-96.
21. สำนักบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. รายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อยกระดับการผลิตและการตลาดน้ำผึ้ง และผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งในภาคเหนือเพื่อรองรับการเปิดตลาดการค้าเสรีของไทยกับต่างประเทศ. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2558.
22. Yayinie M, Atlabachew M, Tesfaye A, Hilluf W, Reta C. Quality authentication and geographical origin classification of honey of Amhara region, Ethiopia based on physicochemical parameters. Arab J Chem 2021; 14(3): 102987. (12 pages).
23. Pasias IN, Kiriakou IK, Proestos C. HMF and diastase activity in honeys: a fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. Food Chem 2017; 229: 425-31.
24. ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, รุ่งทิพย์ กาวารี. รายงานผลการวิจัย การวิเคราะห์ละอองเรณูและคุณสมบัติทางเคมีเพื่อเพิ่มมูลค่าของน้ำผึ้งลำไยโดยการติดฉลากผลิตภัณฑ์. เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้; 2555.

25. ชนัญพร หิรัญเรือง, สุนันทา กำเหนิดโทน, กีรติ อุสาหวงษ์, สันติ แก่อินทร์, จิตพิสุทธิ์ ศิริพร. รายงานการวิจัย เรื่อง การศึกษากระบวนการเก็บรักษาน้ำผึ้งโพรงไทย (*Apis cerana*) ต่อการตกผลึกจากกลุ่มแปลงใหญ่แมลงเศรษฐกิจในพื้นที่ภาคใต้. ชุมพร: ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านแมลงเศรษฐกิจ จังหวัดชุมพร กรมส่งเสริมการเกษตร; 2562.
26. De Beer T, Otto M, Pretoruis B, Schönfeldt HC. Monitoring the quality of honey: South African case study. Food Chem 2021; 343: 128527. (8 pages).
27. Codex Alimentarius Commission. Revised Codex standard for honey Codex Stan 12-1981, Rev. 1 (1987), Rev. 2 (2001).
28. Council of the European Union. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. Off J Eur Comm L 2002; 10: 47-52.
29. Tosi E, Martinet R, Ortega M, Lucero HA, Ré E. Honey diastase activity modified by heating. Food Chem 2008; 106(3): 883-7.
30. Chen CT, Chen BY, Nai YS, Chang YM, Chen KH, Chen YW. Novel inspection of sugar residue and origin in honey based on the 13C/12C isotopic ratio and protein content. J Food Drug Anal 2019; 27(1): 175-83.
31. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เผยผลตรวจน้ำผึ้งสีเขียว. [ออนไลน์]. 2560; [สืบค้น 22 ส.ค. 2565]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/index.php/2017/06/23/honey.

Quality of Honey Produced in Chiang Mai, Lamphun and Chiang Rai Provinces During 2019–2021

Patcharida Pichai and Pirin Budkrajang

Regional Medical Sciences Center 1 Chiang Mai, Department of Medical Sciences, Chiang Mai 50180, Thailand

ABSTRACT Honey is a natural product and is widely consumed around the world. The honey produced from local of Thailand is found to be the one of economic materials for the world markets. To enable beekeepers for the good quality of honey production conformed to the international standards for the world market acceptance, the honey samples were collected by Chiang Mai and Lamphun Provincial Public Health Offices; together with private sectors form Chiang Mai, Lamphun and Chiang Rai. The Regional Medical Sciences Center 1, Chiang Mai performed the quality analysis of 122 samples, from Chiang Mai, Lamphun and Chiang Rai for 92, 8 and 22 samples respectively, during the fiscal year 2019-2021, according to the Notification of Public Health Ministry No.211 A.D. 2000. It was found that 17 samples (18 items) out of 122 samples (13.9%) did not meet the standard criteria according to the Notification of Public Health Ministry No. 211 A.D. which were moisture content, hydroxymethylfurfural, diastase activity, sucrose, and yeast and mold counts for 2, 8, 1, 2, and 5 samples respectively (1.6, 6.6, 0.8, 1.6, and 4.1%). Therefore, in order to comply with the standards, the surveillance of the quality of honey in Thailand is necessary to monitor regularly for consumers protection.

Keywords: Honey, Quality, Chiang Mai, Lamphun, Chiang Rai

ว กรมวิทย พ 2565; 64 (3): 197-211

การตรวจสอบการปลอมและการปนเปื้อนทางกายภาพของอาหาร ระหว่างปี พ.ศ. 2552-2563

ขันทอง เพ็ชรนอก

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ในมาตรา 25 ระบุห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้าเพื่อจำหน่าย หรือจำหน่าย ซึ่งอาหารไม่บริสุทธิ์ และอาหารปลอมเพื่อลวงผู้ซื้อให้เข้าใจผิดในเรื่องคุณภาพ ปริมาณ หรือประโยชน์ จากปัญหาในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์อาหาร อาหารปลอม หรืออาหารปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอมมีการพัฒนาคุณภาพและรูปแบบ เพื่อจูงใจและดึงดูดให้ผู้บริโภคเลือกซื้อมากขึ้น ทำให้ผู้บริโภคเกิดความไม่พึงพอใจและร้องเรียนตามสื่อต่าง ๆ ดังนั้นเพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับอาหารที่มีคุณภาพและความปลอดภัย จึงได้ตรวจสอบตัวอย่างอาหารซึ่งถูกร้องเรียนจากการพบการปนเปื้อนทางกายภาพ ตัวอย่างนำส่งตรวจโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ และผู้บริโภค จำนวน 1,062 ตัวอย่าง แบ่งเป็นอาหารปลอม จำนวน 140 ตัวอย่าง และอาหารปนเปื้อนทางกายภาพหรือพบสิ่งแปลกปลอม จำนวน 922 ตัวอย่าง ในช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง เดือนกันยายน 2563 ผลการตรวจกรณีร้องเรียนสาหร่าย หมูหย็อง และเนื้อปูปลอม ไม่พบการปลอมในทุกตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.0 ในกรณีร้องเรียนอาหารปนเปื้อนทางกายภาพหรือพบสิ่งแปลกปลอม ตรวจพบแมลง ชิ้นส่วนแมลง เส้นขน ตะกอน และเศษพลาสติก จำนวน 473 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.3 ผลการตรวจเป็นการยืนยันถึงคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารที่ถูกนำมาร้องเรียน ซึ่งเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับประทานอาหารที่สะอาดและปลอดภัย

คำสำคัญ: อาหารร้องเรียน, อาหารปลอม, อาหารปนเปื้อน, การตรวจสอบกายภาพ

Corresponding author E-mail: kuntong.p@dmsc.mail.go.th

Received: 3 December 2021 *Revised: 22 July 2022* *Accepted: 26 July 2022*

บทนำ

ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 (ฉบับปรับปรุง ปี 2554) อาหาร ในมาตรา 4 หมายความว่า ของกินหรือเครื่องค้ำจุนชีวิต ได้แก่ วัตถุทุกชนิดที่คนกิน ดื่ม อม หรือนำเข้าสู่ร่างกาย ไม่ว่าด้วยวิธีใด ๆ หรือในรูปลักษณะใด ๆ แต่ไม่รวมถึงยา วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท หรือยาเสพติดให้โทษ[1] และในมาตรา 25 ระบุห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้าเพื่อจำหน่าย หรือจำหน่าย ซึ่งอาหารดังต่อไปนี้ (1) อาหารไม่บริสุทธิ์ (2) อาหารปลอม (3) อาหารผิดมาตรฐาน (4) อาหารอื่นที่รัฐมนตรีกำหนด ซึ่งในมาตรา 26 อาหารไม่บริสุทธิ์ หมายถึง อาหารที่มีสิ่งที่น่าจะเป็นอันตรายแก่สุขภาพเจือปนอยู่ด้วย หรือมีวัตถุเคมีเจือปนอันอาจเป็นเหตุให้คุณภาพของอาหารลดลง หรืออาหารที่ผลิต บรรจุ หรือเก็บรักษาไว้ไม่ถูกสุขลักษณะ เป็นต้น และมาตรา 27 อาหารปลอม หมายถึง อาหารที่ได้สับเปลี่ยนใช้วัตถุอื่นแทนบางส่วน หรืออาหารที่ผลิตขึ้นเทียมอาหารชนิดอื่นและจำหน่ายเป็นอาหารแท้ หรืออาหารที่มีฉลากเพื่อลวงผู้ซื้อให้เข้าใจผิดในเรื่องคุณภาพ ปริมาณ ประโยชน์ หรือลักษณะพิเศษอย่างอื่น[1]

อาหารจัดเป็นสิ่งสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ เมื่ออาหารเข้าสู่ร่างกายจะเกิดกระบวนการย่อย การดูดซึม การแปรรูป การขนส่งไปยังอวัยวะส่วนต่าง ๆ เพื่อใช้ประโยชน์ในการทำงานของเซลล์อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายให้เป็นปกติ[2] ปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารมีการพัฒนาคุณภาพและรูปแบบ เพื่อจูงใจและดึงดูดให้ผู้บริโภคเลือกซื้อมากขึ้น แต่มีการผลิตของปลอมเลียนแบบของแท้เพื่อขายในราคาเทียบเท่าของแท้หรือถูกกว่า และการปลอมปนผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อความได้เปรียบในการแข่งขันและเพิ่มพูนกำไรจากการขายในราคาสินค้าของแท้ อาจนำมาสู่ผลกระทบเชิงลบและก่อความเสียหายต่อภาพลักษณ์ของตราสินค้าและชื่อเสียงของผู้ผลิต ทำให้ผู้บริโภคลดความเชื่อถือในคุณภาพของสินค้า[3] จึงเกิดปัญหาร้องเรียนเกี่ยวกับอาหารปลอม เช่น สาหร่ายปลอม หมูหย็องปลอม และเนื้อปูปลอม เป็นต้น และร้องเรียนเกี่ยวกับอาหารปนเปื้อนหนอน แมลง ชิ้นส่วนแมลง เส้นขน ตะกอน และเศษพลาสติก ดังเป็นข่าวตามสื่อต่าง ๆ ทั้งหนังสือพิมพ์ วิทยุ โทรทัศน์ ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากอาหารเป็นเรื่องใกล้ตัวและสร้างความแตกตื่นให้กับสังคม เมื่อเกิดกรณีเช่นนี้ หน่วยงานที่รับผิดชอบ เช่น สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และสาธารณสุขจังหวัด จะส่งตัวอย่างตรวจพิสูจน์ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในเขตพื้นที่รับผิดชอบ เนื่องจากปัญหาการร้องเรียนดังกล่าวมีความหลากหลาย ทั้งประเภทอาหารและลักษณะปัญหา ห้องปฏิบัติการที่รับตัวอย่างต้องหาวิธีตรวจพิสูจน์ตัวอย่างอาหารที่นำมาร้องเรียน เพื่อให้ผลการตรวจถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ และใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติต่อไป

ปัจจุบัน สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร สามารถตรวจวิเคราะห์อาหารร้องเรียน ในเรื่องอาหารปลอมและอาหารปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอม โดยการตรวจด้วยประสาทสัมผัสและการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อยืนยันว่าอาหารดังกล่าวปลอดภัยต่อการบริโภค ซึ่งเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับอาหารที่มีคุณภาพและความปลอดภัย

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารร้องเรียนที่ได้รับจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในเขตพื้นที่รับผิดชอบ และผู้บริโภคนำมาส่งตรวจด้วยตัวเอง ประกอบด้วย น้ำ เครื่องดื่ม และอาหารเบ็ดเตล็ดอื่น ๆ จำนวน 1,062 ตัวอย่าง แบ่งเป็นการตรวจกรณีร้องเรียนอาหารปลอม จำนวน 140 ตัวอย่าง ได้แก่ สาหร่าย ได้รับในช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง เดือนกันยายน 2563 จำนวน 50 ตัวอย่าง หมูหย็อง ได้รับในช่วงเดือนมกราคม 2559 ถึง เดือนกันยายน 2563 จำนวน 88 ตัวอย่าง และเนื้อปู จำนวน 2 ตัวอย่าง ได้รับในเดือนกันยายน 2563 และการตรวจกรณีร้องเรียนอาหารปนเปื้อนหรือพบสิ่งแปลกปลอม จำนวน 922 ตัวอย่าง ได้แก่ ไข่แมลง และตัวหนอน จำนวน 50 ตัวอย่าง แมลง ชิ้นส่วนแมลง และเส้นขน จำนวน 672 ตัวอย่าง และตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอม จำนวน 200 ตัวอย่าง ได้รับในช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง เดือนกันยายน 2563

เครื่องมือ

กล้องจุลทรรศน์ชนิด zoom stereo microscope (Olympus Optical, ญี่ปุ่น) กำลังขยาย 7–75 เท่า ใช้ศึกษาลักษณะภายนอกของตัวอย่าง ภาพที่เห็นเป็นภาพ 3 มิติ (กว้าง × ยาว × หนา) ให้ภาพเสมือนหัวตั้ง ใช้ศึกษาได้ทั้งวัตถุโปร่งแสงและวัตถุทึบแสง เช่น เศษแก้ว เศษพลาสติก แมลง ชิ้นส่วนแมลง ขนสัตว์ ใบพืช และชิ้นส่วนพืช เป็นต้น

กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope (Olympus Optical, ญี่ปุ่น) กำลังขยาย 40–400 เท่า ใช้ศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในของเซลล์ตัวอย่าง ภาพที่เห็นเป็นภาพ 2 มิติ (กว้าง × ยาว) ให้ภาพจริงหัวกลับ ใช้ศึกษาโครงสร้างภายในของเซลล์พืช เซลล์สัตว์ ได้แก่ เซลล์สาหร่าย เส้นใยสำลี เส้นใยหมูหย็อง เส้นใยเนื้อปู แมลง ชิ้นส่วนแมลง พยาธิ และโปรโตซัว เป็นต้น ในกรณี ขนสัตว์จะดูลักษณะโครงสร้างภายในของเซลล์ (medulla) ซึ่งสามารถระบุได้ว่าเป็น ขนคน ขนหนู ขนแมว/สุนัข และขนนก เป็นต้น การเตรียมตัวอย่างตัดเป็นชิ้นบาง ๆ ขนาดเล็ก และบางส่วนของตัวอย่างที่ตัดได้ต้องโปร่งแสง ซึ่งตัวอย่างส่วนใหญ่จะถูกตัดวางไว้บนสไลด์

อุปกรณ์

โดยทั่วไปการตรวจทางกายภาพเป็นการตรวจโดยใช้ประสาทสัมผัส (sensory evaluation) คือ ตาดู จมูกดมกลิ่น มือสัมผัส หูรับฟังเสียง ซึ่งมีอุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่ flask, beaker จานเพาะเชื้อ (petri dish) ขวดน้ำ (bottle) ปากคีบ (forceps) เข็มเขี่ย (needle) จานสีขาว ช้อน ที่เปิดกระป๋อง มีดผ่าตัด กรรไกร แผ่นสไลด์ (slide) แผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover glass) dropper และแว่นขยายกำลังขยาย 2–5 เท่า รวมทั้งอุปกรณ์แหล่งกำเนิดแสงเพิ่มเติมจากหลอดไฟส่องสว่างภายในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ส่องตรวจตัวอย่างและ/หรือสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งจะสามารถทำให้เห็นวัตถุต้องสงสัยได้ชัดเจนมากขึ้น โดยใช้โคมไฟที่ให้แสงสีขาว

วิธีการ

สิ่งที่ร้องเรียนเป็นตัวอย่างชิ้นเดียวกับที่เกิดปัญหาและตัวอย่างถูกเปิดก่อนแล้ว ทำให้ผู้ตรวจวิเคราะห์สงสัยว่าสิ่งแปลกปลอมอยู่ในภาชนะบรรจุหลังจากผู้บริโภคเปิดภาชนะแล้ว ซึ่งเกิดจากการเก็บรักษาตัวอย่างไม่ถูกต้อง จึงเกิดการปนเปื้อน เช่น พบไข่แมลงบนชิ้นอาหารหรือพบหนอนมีชีวิตในปลากระป๋อง เป็นต้น ประเด็นนี้อยู่นอกเหนือจากข้อเท็จจริงที่ห้องปฏิบัติการได้รับ จึงให้เป็นความรับผิดชอบของผู้นำส่งตัวอย่าง ในกรณีสิ่งที่ร้องเรียนเป็นตัวอย่างต่างชิ้นกับที่เกิดปัญหา แต่เป็นตัวอย่างชนิดเดียวกัน ยี่ห้อเดียวกัน ผู้ผลิตเดียวกัน และอาจเป็นตัวอย่างที่มีรุ่นผลิตเดียวกัน ซึ่งเมื่อตรวจวิเคราะห์อาจพบหรือไม่พบปัญหาที่ร้องเรียน

ผู้รับตัวอย่างต้องตรวจสอบความถูกต้อง (ชนิด จำนวน และสิ่งที่ส่งมากับตัวอย่าง) จากนั้นประชุมผู้ตรวจวิเคราะห์ ตรวจสอบหนังสือนำส่งตัวอย่าง โดยละเอียดรอบคอบ ทั้งสาเหตุหรือปัญหาของอาหารที่ร้องเรียน และคำถามที่ต้องการให้ห้องปฏิบัติการตอบ เช่น วัตถุแปลกปลอมคืออะไร อาหารดังกล่าวรับประทานแล้วมีอันตรายหรือไม่ ซึ่งข้อมูลทั้งหมดจะช่วยให้ห้องปฏิบัติการสามารถกำหนดแผนการตรวจวิเคราะห์ในแต่ละกรณีได้ ก่อนการเปิดตัวอย่างให้ตรวจความเรียบร้อยของบรรจุภัณฑ์ ความผิดปกติต่าง ๆ และถ่ายภาพวัตถุตัวอย่างสิ่งแปลกปลอม ลักษณะภายนอก หรือความเรียบร้อยของกล่อง ขวดบรรจุ กระป๋องบรรจุ ฯลฯ ซึ่งใช้เป็นหลักฐานประกอบการตรวจวิเคราะห์และการทวนสอบ เพื่อให้เกิดความชัดเจนในการรายงานผล ดำเนินการตรวจสอบ กรณีการตรวจอาหารปลอมที่มีขนาดใหญ่สามารถแยกได้ด้วยตาเปล่า ใช้ประสาทสัมผัสเป็นแนวทางตัดสินเปรียบเทียบกับตัวอย่างจริง จากนั้นให้นำไปตรวจยืนยันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากอาหารปลอมดังกล่าวไม่สามารถแยกความแตกต่างด้วยตาเปล่าได้ ให้นำไปตรวจเปรียบเทียบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนการตรวจอาหารปนเปื้อนหรือตรวจสิ่งแปลกปลอมขนาดเล็กที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ใช้วิธีตาม Whitlock LL.[4] หรือในกรณีผู้ส่งตัวอย่างไม่ได้ขอให้ตรวจทางจุลชีววิทยา ผู้ตรวจสอบเห็นว่าควรตรวจเพิ่มเติมทางจุลชีววิทยา จะต้องแบ่งตัวอย่างสำหรับตรวจ โดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) เช่น กรณีพบสารแขวนลอยสีขาวในเครื่องดื่มชาเขียว สงสัยว่าสารสีขาวเป็นเส้นใยของเชื้อรา เป็นต้น

การตรวจกรณีร้องเรียนอาหารปลอม[5] (สาหร่ายปลอม หมูหย็องปลอม และเนื้อปูปลอม)

การร้องเรียนสาหร่ายปลอม เช่น สาหร่ายแห้งทำมาจากพลาสติกสีดำ ตรวจสอบเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น จากนั้นเทตัวอย่างลงในจานสีขาว เพื่อตรวจหาสิ่งแปลกปลอมในตัวอย่างอีกครั้ง แบ่งตัวอย่างบางส่วนส่งตรวจยืนยันด้วยวิธีทางเคมีและสารพันธุกรรม โดยวิธีทางเคมีเป็นการตรวจโครงสร้างของสารอินทรีย์ด้วยเทคนิค infrared spectroscopy ด้วยใช้เครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) แล้วประเมินผลจาก IR spectrum เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีใน library การตรวจสารพันธุกรรมเป็นการตรวจว่าตัวอย่างนั้นมีสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตหรือไม่ เนื่องจากตัวอย่างสาหร่ายมีขนาดใหญ่ การตรวจทางกายภาพ สามารถตรวจแยกความแตกต่างระหว่างสาหร่ายกับพลาสติกสีดำได้ โดยการตรวจด้วยประสาทสัมผัสเปรียบเทียบการดึงเพื่อดูความเหนียว การอังไฟเพื่อดมกลิ่น และการนำไปแช่น้ำ เพื่อดูการพองตัว จากนั้นให้นำชิ้นสาหร่ายและพลาสติกสีดำที่แช่น้ำมาหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ ขนาดเล็ก นำไปตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อยืนยันความแตกต่างโครงสร้างภายในของเซลล์ว่าเป็นพืชหรือพลาสติก กรณีหมูหย็องปลอมและเนื้อปูปลอม มีการร้องเรียนว่าหมูหย็องและเนื้อปูทำมาจากสำลี ตรวจสอบเช่นเดียวกับวิธีข้างต้น เทตัวอย่างลงในจานสีขาว สุ่มตัวอย่างเส้นใยหมูหย็องบางส่วนส่งตรวจยืนยันด้วยสารพันธุกรรม เพื่อตรวจสารพันธุกรรมของหมู ไก่ หรือสัตว์ชนิดอื่นว่ามีการปนเปื้อนหรือไม่ เนื่องจากเนื้อหมูได้ผ่านกระบวนการแปรรูป ทำให้สีและขนาดของชิ้นส่วนเปลี่ยนไป การตรวจทางกายภาพเพื่อดูความแตกต่างด้วยประสาทสัมผัสไม่สามารถแยกความแตกต่างของเส้นใยได้ นำเส้นใยหมูหย็องและเส้นใยสำลีตัดเป็นชิ้นเล็ก ตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า เพื่อเปรียบเทียบลักษณะภายนอก เช่น สี ขนาดของเส้นใย การบิดงอของเส้นใย และรอยตัด จากนั้นนำเส้นใยหมูหย็อง เส้นใยเนื้อปู และเส้นใยสำลี หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก ตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อตรวจยืนยันความแตกต่างของโครงสร้างภายในเซลล์

การตรวจกรณีร้องเรียนอาหารปนเปื้อนหรือพบสิ่งแปลกปลอม (หนอน แมลง ชิ้นส่วนแมลง เส้นขน ตะกอน และเศษพลาสติก)

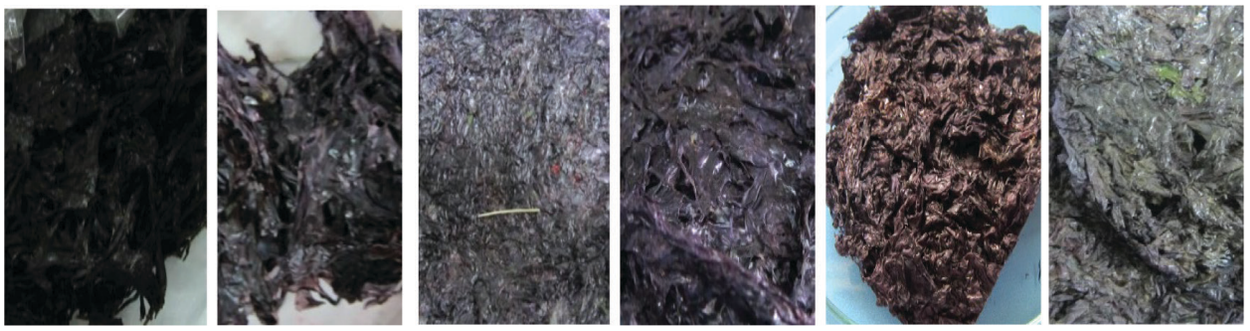
การร้องเรียนกรณีพบไข่แมลงและตัวหนอนในอาหารพร้อมบริโภค ซึ่งเป็นอาหารที่บริโภคไปแล้วบางส่วน ผู้บริโภคต้องการทราบว่าเป็นไข่และหนอนของแมลงชนิดใด ก่อนการเปิดตัวอย่างตรวจสอบตามที่ระบุข้างต้น จากนั้นนำตัวอย่างไข่แมลงและตัวหนอนตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า เพื่อดูรูปร่างลักษณะภายนอกเปรียบเทียบกับตัวอย่างจริง จากข้อมูลที่อาจเป็นเอกสาร สิ่งตีพิมพ์หรือภาพถ่ายในหนังสือ[6] กรณีพบแมลง ชิ้นส่วนแมลง และเส้นขน ตัวอย่างที่ร้องเรียนส่วนใหญ่เป็นผลไม้แห้ง เมล็ดธัญพืช และเครื่องเทศ เช่น อินทผาลัม องุ่น บ๊วย มะขามหวาน ข้าวสาร พริกป่น และพริกไทยป่น เป็นต้น ก่อนการเปิดตัวอย่างต้องตรวจสอบตามวิธีการตรวจทางกายภาพตามวิธีมาตรฐานสากลที่กำหนดไว้ใน AOAC โดยวิธีดังกล่าวเป็นการแยกสิ่งแปลกปลอมออกจากตัวอย่างนำส่วนที่แยกได้ไปกรอง แล้วนำกระดาษกรองตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า เพื่อตรวจหาชนิดและจำนวนของสิ่งแปลกปลอมจำพวกแมลง ชิ้นส่วนแมลง และเส้นขน หากต้องการยืนยันชนิดให้นำไปตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อตรวจดูลักษณะที่ชี้เฉพาะว่าเป็นแมลงหรือขนสัตว์ชนิดใด กรณีพบตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอมลักษณะเป็นจุดหรือก้อนแขวนลอยอยู่ในตัวอย่างน้ำ น้ำแข็ง และเครื่องดื่ม เป็นตัวอย่างบรรจุในขวดแก้วปิดสนิทที่ผู้บริโภคสังเกตเห็นสิ่งแขวนลอยอยู่ในตัวอย่าง ก่อนการเปิดตัวอย่างต้องตรวจสอบตามที่ระบุในวิธีการ กรณีที่ตรวจเพิ่มเติมทางจุลชีววิทยา ให้แบ่งตัวอย่างโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) จากนั้นตรวจด้วยตาเปล่าและบันทึกสิ่งที่ปรากฏให้ละเอียด เช่น สี ขนาด ลักษณะ จากนั้นเทตัวอย่างลงใน petri dish เพื่อแยกตะกอนนำไปตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า และตรวจยืนยันภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูโครงสร้างของตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอม กรณีที่ผู้ร้องเรียนนำ

เฉพาะตัวอย่างตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอมส่งตรวจ ให้บันทึกรายละเอียดที่พบ ถ่ายภาพวัตถุตัวอย่าง สิ่งแปลกปลอม และลักษณะภายนอกหรือความเรียบร้อยของภาชนะบรรจุ จากนั้นนำตัวอย่างตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอมตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า และตรวจยืนยันภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า

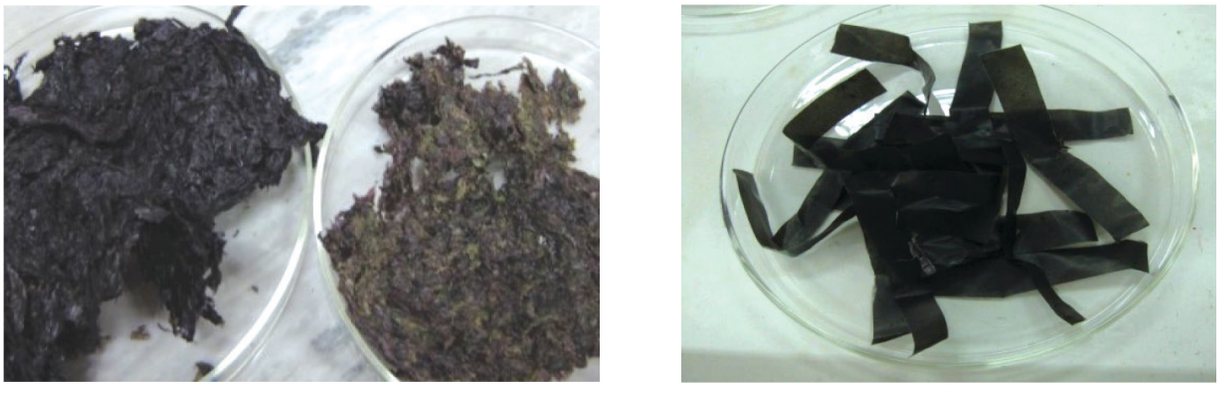
ผล

จากผลการศึกษากรณีอาหารปลอม ระหว่างปี พ.ศ. 2552–2563 จำนวน 140 ตัวอย่าง ไม่พบอาหารปลอมในทุกตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100 กรณีสาหร่ายที่ได้รับระหว่างปี พ.ศ. 2552–2563 จากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา จำนวน 50 ตัวอย่าง ผลการตรวจด้วยประสาทสัมผัส พบตัวอย่างสาหร่ายแห้งสีต่าง ๆ จำนวน 50 ตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 1 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสาหร่ายแห้งกับพลาสติกสีดำ ดังแสดงในภาพที่ 2 ได้โดยดูจากลักษณะของความเหนียว เมื่อใช้มือดึงสาหร่ายจะขาดง่ายกว่าพลาสติก เมื่อนำไปอังไฟจะมีกลิ่นคาวของสาหร่าย ดูลักษณะการพองตัว เมื่อแช่น้ำสาหร่ายจะพองตัวขยายออกและมีผิวสัมผัสที่เป็นเมือก พลาสติกไม่มีการพองตัวและไม่มีเมือก การตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบโครงสร้างภายในของสาหร่ายชัดเจน ดังแสดงในภาพที่ 3 เมื่อนำสาหร่ายกับพลาสติกสีดำมาเปรียบเทียบด้วยตาเปล่า และตรวจดูโครงสร้างภายในของเซลล์ภายใต้กล้อง compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 4 พบพลาสติกสีดำและสาหร่ายมีโครงสร้างต่างกันอย่างชัดเจน จึงตรวจไม่พบสาหร่ายปลอมตามที่ผู้บริโภคร้องเรียนในตัวอย่างทั้งหมด คิดเป็นร้อยละ 0.0 กรณีหมูหย็องที่ได้รับระหว่างปี พ.ศ. 2559–2563 จากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ และจากผู้บริโภค จำนวน 88 ตัวอย่าง ที่ผู้บริโภคร้องเรียนว่าหมูหย็องทำมาจากสำลีดังแสดงในภาพที่ 5 เมื่อตรวจด้วยตาเปล่าไม่พบสำลี และตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 7 เท่า พบเส้นใยหมูหย็องมีสีเหลือง ส่วนเส้นใยสำลีมีสีขาว ดังแสดงในภาพที่ 6 เมื่อนำเส้นใยหมูหย็องและเส้นใยสำลีรวมกันเพื่อเปรียบเทียบดูลักษณะและความแตกต่าง ภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 60 เท่า พบเส้นใยหมูหย็องมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยสำลีประมาณ 2–3 เท่า และไม่บิดตัว ส่วนเส้นใยสำลีมีการบิดตัวดังแสดงในภาพที่ 7 A เมื่อนำเส้นใยมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อเปรียบเทียบดูลักษณะและความแตกต่างภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 40 เท่า พบเส้นใยหมูหย็องมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยสำลี ประมาณ 2–3 เท่า ไม่บิดตัวและมีรอยตัดเรียบ ส่วนเส้นใยสำลีมีการบิดตัวและมีรอยตัดไม่เรียบดังแสดงในภาพที่ 7 B เมื่อนำเส้นใยที่ตัดมาตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยหมูหย็องมีรอยตัดเรียบ ส่วนเส้นใยสำลีมีรอยตัดไม่เรียบดังแสดงในภาพที่ 8 และพบเส้นใยหมูหย็องมีแถบลายขวาง ส่วนเส้นใยสำลีไม่ปรากฏแถบลายขวางดังแสดงในภาพที่ 9 กรณีเนื้อปูที่ได้รับเมื่อปี พ.ศ. 2563 จากสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด จำนวน 2 ตัวอย่าง ผู้บริโภคร้องเรียนว่าเนื้อปูทำมาจากสำลี เมื่อตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 7 เท่า ไม่พบสำลีดังแสดงในภาพที่ 10 และผลการตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเส้นใยเนื้อปูมีแถบลายขวางเช่นเดียวกันเส้นใยหมูหย็อง ซึ่งเป็นโครงสร้างของเซลล์สัตว์ ส่วนเส้นใยสำลีไม่พบแถบลายขวางดังแสดงในภาพที่ 11

กรณีการตรวจอาหารปนเปื้อนทางกายภาพหรือพบสิ่งแปลกปลอม จำนวน 922 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนหรือสิ่งแปลกปลอม จำนวน 473 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.3 พบไข่แมลงและตัวหนอน จำนวน 5 ตัวอย่าง จาก 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10.0 จากอาหารปรุงสุกพร้อมบริโภค เช่น ไก่ย่าง ยำปลากระป๋อง และผัดเนื้อ เป็นต้น ผลการตรวจด้วยตาเปล่าพบไข่สีขาวบนอาหาร เมื่อตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า เปรียบเทียบกับตัวอย่างจริงจากข้อมูลที่เป็นเอกสารสิ่งตีพิมพ์และภาพถ่ายในหนังสือ[6] พบไข่แมลงวันดังแสดงในภาพที่ 12 แมลง

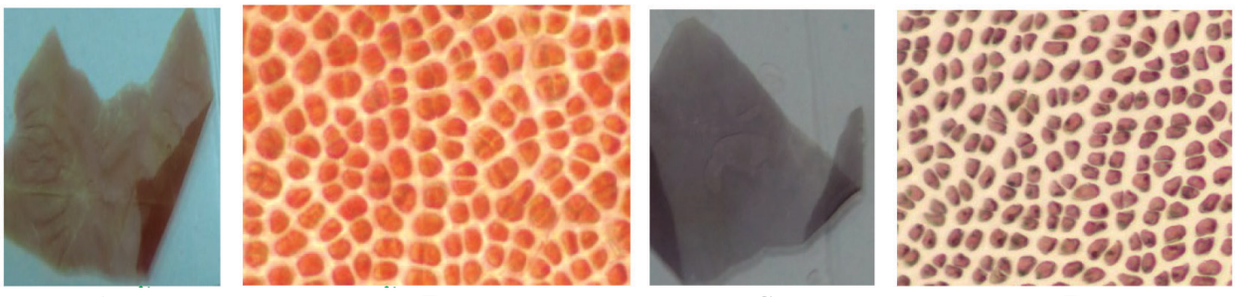


ภาพที่ 1 สาหร่ายแห้งสีต่าง ๆ



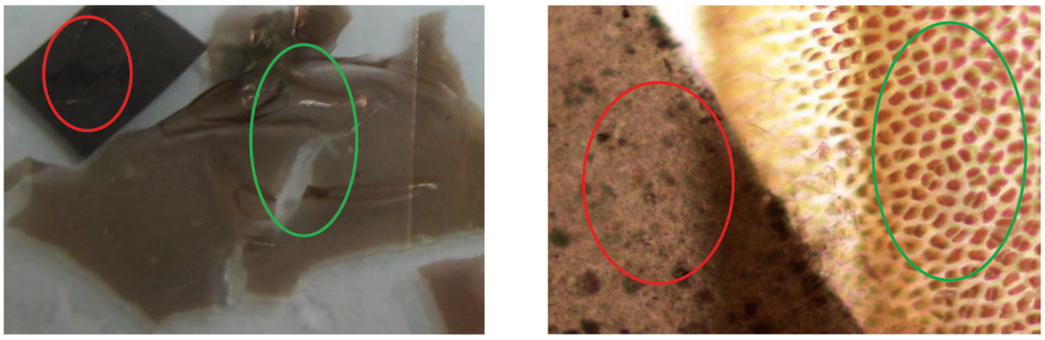
A B

ภาพที่ 2 ความแตกต่างระหว่างสาหร่ายและพลาสติกสีดำ
A. สาหร่ายแห้ง B. พลาสติกสีดำ



A B C D

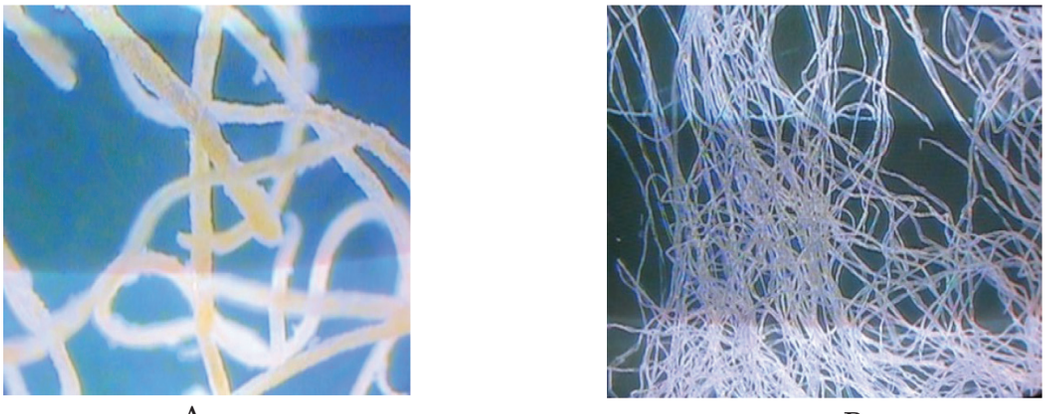
ภาพที่ 3 ตัวอย่างสาหร่ายและโครงสร้างของเซลล์ ภายใต้ compound microscope
A. สาหร่ายสีน้ำตาล B. สาหร่ายสีน้ำตาล (× 100 เท่า) C. สาหร่ายสีม่วง D. สาหร่ายสีม่วง (× 100 เท่า)



A B

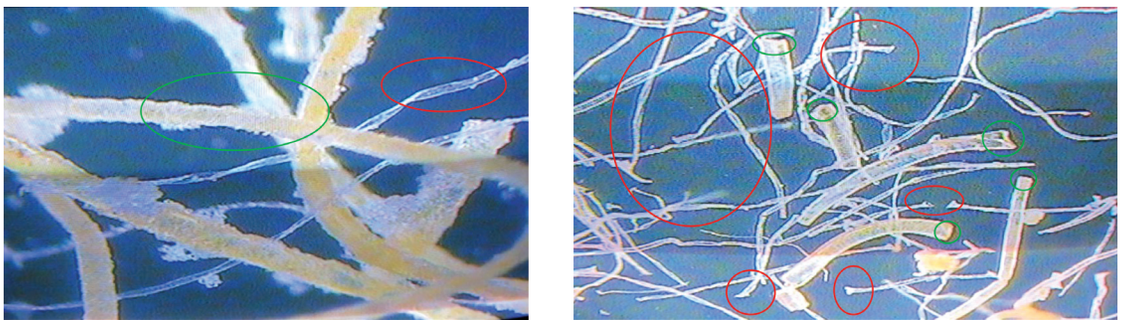
ภาพที่ 4 การเปรียบเทียบพลาสติก (วงกลมสีแดง) และสาหร่าย (วงกลมสีเขียว)
A. มองเห็นด้วยตาเปล่า B. ภายใต้ compound microscope (× 100 เท่า)

ภาพที่ 5 หมูหย็องที่ผู้บริโภคร้องเรียนที่มองเห็นด้วยตาเปล่าลักษณะคล้ายเส้นใยสำลี



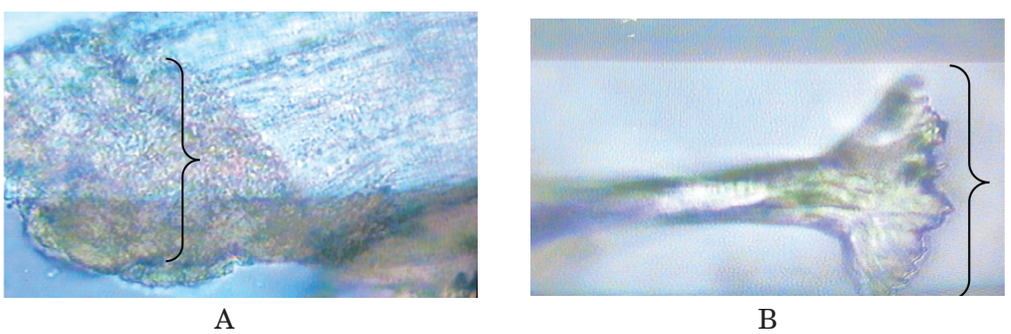
A B

ภาพที่ 6 เส้นใยหมูหย็องและเส้นใยสำลี ภายใต้ zoom stereo microscope (× 7 เท่า)



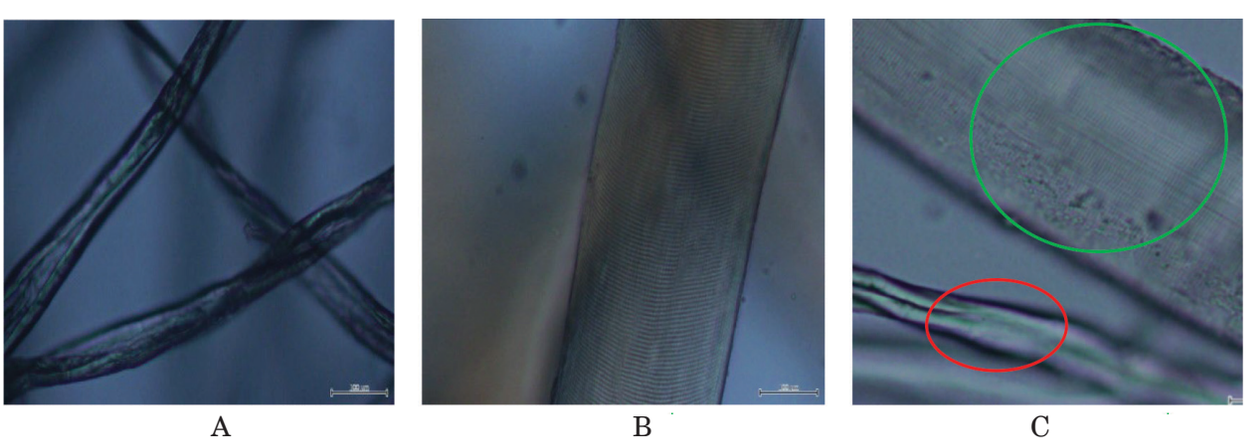
A B

ภาพที่ 7 การเปรียบเทียบเส้นใยหมูหย็อง (วงกลมสีเขียว) และเส้นใยสำลี (วงกลมสีแดง)
A. ภายใต้ zoom stereo microscope (× 60 เท่า) B. ภายใต้ zoom stereo microscope (× 40 เท่า)



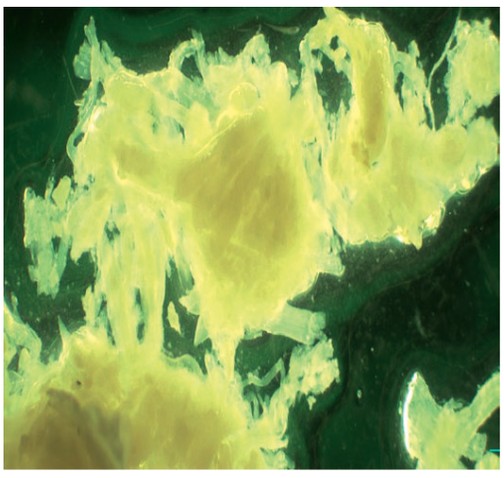
A B

ภาพที่ 8 รอยตัดบนเส้นใย ภายใต้ compound microscope (× 400 เท่า)
A. หมูหย็อง B. สำลี

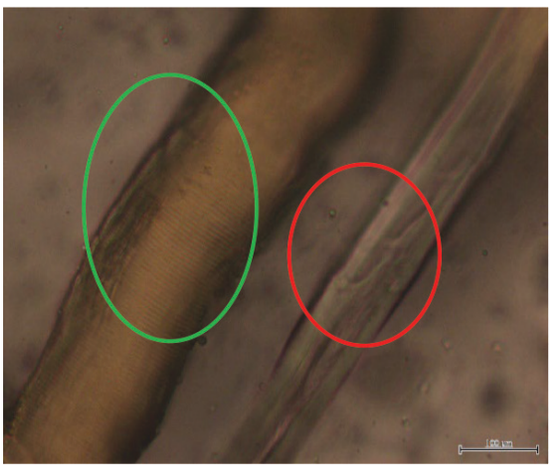


A B C

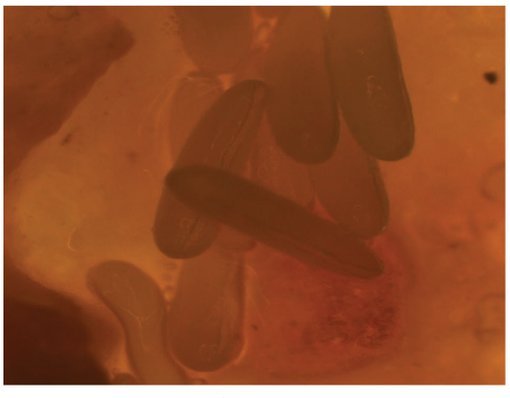
ภาพที่ 9 การเปรียบเทียบเส้นใยสำลีและหมูหย็อง
A. เส้นใยสำลี B. เส้นใยหมูหย็อง C. เส้นใยสำลี (วงกลมสีแดง) และเส้นใยหมูหย็อง (วงกลมสีเขียว) ภายใต้ compound microscope (× 400 เท่า)



ภาพที่ 10 เนื้อปูที่ผู้บริโภคร้องเรียน ภายใต้ zoom stereo microscope (× 7 เท่า) เป็นเนื้อปูแท้ ไม่พบเส้นใยสำลี



ภาพที่ 11 เส้นใยเนื้อปู (วงกลมสีเขียว) และเส้นใยสำลี (วงกลมสีแดง) ภายใต้ compound microscope (× 400 เท่า)



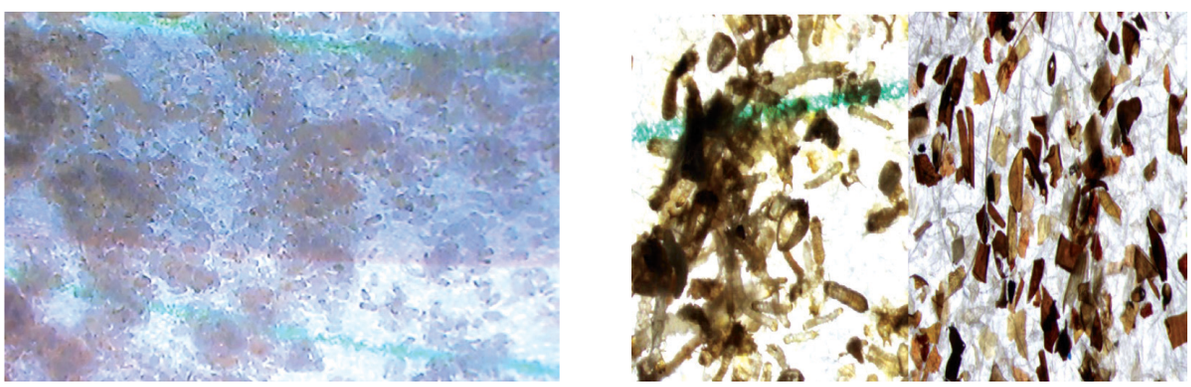
A

B

ภาพที่ 12 ไข่แมลงวัน ภายใต้ zoom stereo microscope (× 30 เท่า)
A. บนชิ้นไก่ย่าง และ B. ที่แยกออกจากอาหาร

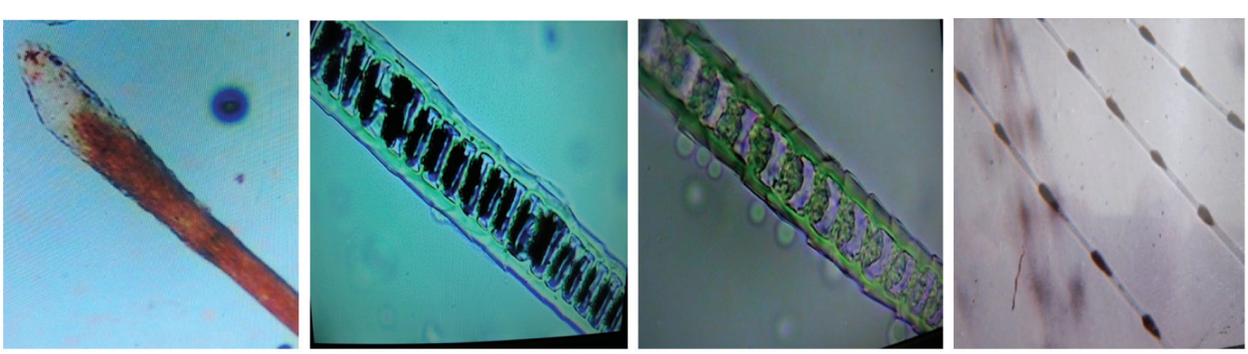
ชิ้นส่วนแมลง และเส้นขน จำนวน 368 ตัวอย่าง จาก 672 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.8 ในผลไม้แห้งตรวจด้วยตาเปล่าบนผิวพบฝุ่นสีขาวจำนวนมาก เมื่อตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า พบไรจำนวนมากดังแสดงในภาพที่ 13 A นำธัญพืชและเครื่องเทศตรวจด้วยตาเปล่า พบแมลงมีชีวิตและไม่มีชีวิต เมื่อตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า พบแมลง ชิ้นส่วนแมลง และเส้นขนดังแสดงในภาพที่ 13 B และตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อยืนยันชนิด พบตัวอ่อนและชิ้นส่วนแมลงของด้วงงวง (*Sitophilus* spp.) และมอดฟันเลื่อย (*Oryzaephilus* spp.) ส่วนเส้นขนเมื่อแยกชนิดด้วย medulla พบขนคน โดยมี medulla ต่อเนื่อง ไม่แบ่งเป็นช่อง (non-striated) ขนหนู และขนแมว/สุนัข จะเห็นชั้น medulla คล้ายรางรถไฟ โดยขนหนูมี air space รูป I-beam และมี free area ขนแมว/สุนัข มี medulla เป็นรูปชามโค้ง ไม่มี free zone ขนนกจะมีลักษณะคล้ายใบสนที่เป็นปล้องต่อกัน ดังแสดงในภาพที่ 14 พบตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอม จำนวน 100 ตัวอย่าง จาก 200 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50.0 ในตัวอย่างน้ำเปล่า น้ำแข็ง เครื่องดื่มประเภทชูกำลัง และน้ำผลไม้ในตัวอย่างน้ำเปล่า ตรวจด้วยตาเปล่า

พบตะกอนสีดำดังแสดงในภาพที่ 15 A ตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 50 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 15 B เมื่อนำไปตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบสิ่งแปลกปลอมลักษณะคล้ายเส้นใยของเชื้อราดังแสดงในภาพที่ 15 C ในตัวอย่างน้ำแข็ง ผู้บริโภคนำส่งตรวจตัวอย่างเฉพาะสิ่งแปลกปลอมที่พบ เมื่อตรวจด้วยตาเปล่า พบเศษวัสดุสีขาวลักษณะคล้ายเศษแก้วดังแสดงในภาพที่ 16 A เมื่อนำไปตรวจภายใต้ zoom stereo microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า เปรียบเทียบกับพลาสติกชนิดแข็งสีขาวพบเศษพลาสติก ดังแสดงในภาพที่ 16 B ในกรณีตัวอย่างเครื่องดื่มประเภทชูกำลังและน้ำผลไม้บรรจุในภาชนะปิดสนิท เมื่อตรวจด้วยตาเปล่าพบชิ้นส่วนสิ่งแปลกปลอมแขวนลอยอยู่ในตัวอย่าง เมื่อแยกสิ่งแปลกปลอมออกจากตัวอย่าง แล้วนำไปตรวจภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบเส้นใยของเชื้อราดังแสดงในภาพที่ 17



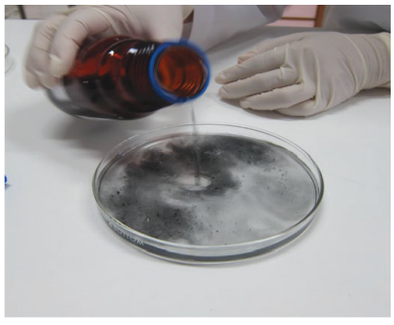
A B

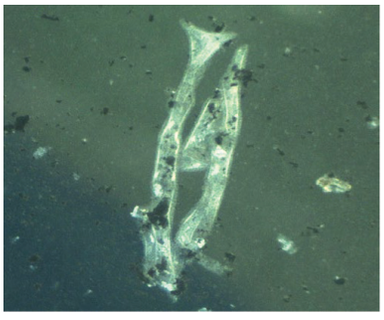
ภาพที่ 13 ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนทางกายภาพ ภายใต้ zoom stereo microscope (× 30 เท่า)
A. ไรบนผลผลิตอินทผาลัมแห้ง B. แมลง ชิ้นส่วนแมลง และขนสัตว์ ในพริกไทยป่น

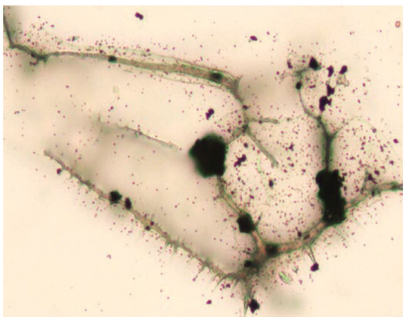


A B C D

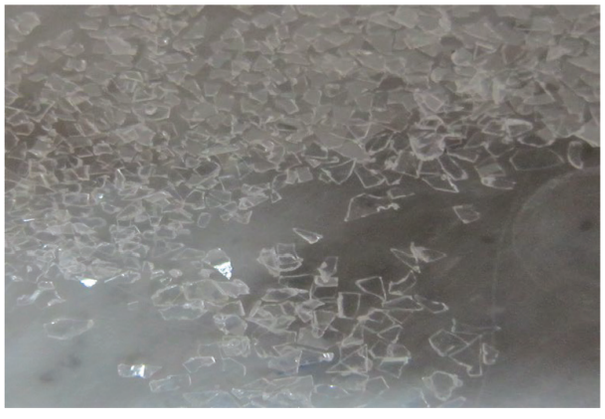
ภาพที่ 14 ขนสัตว์ ภายใต้ compound microscope (× 100 เท่า)
A. ขนคน B. คนหนู C. ขนแมวหรือขนสุนัข D. ขนนก

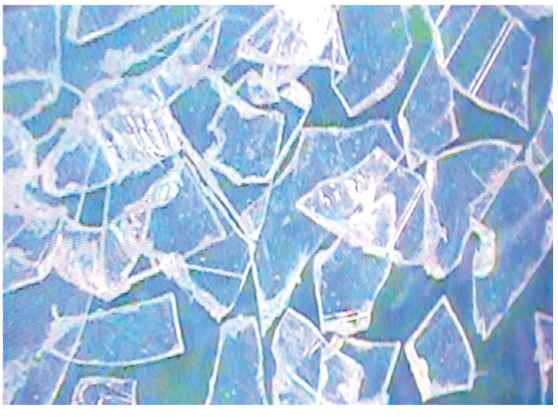

A


B

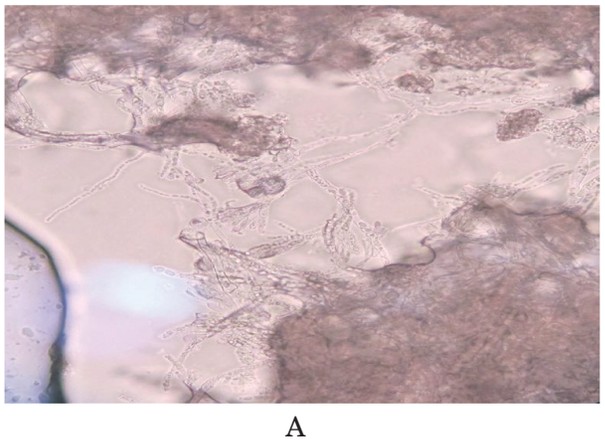

C

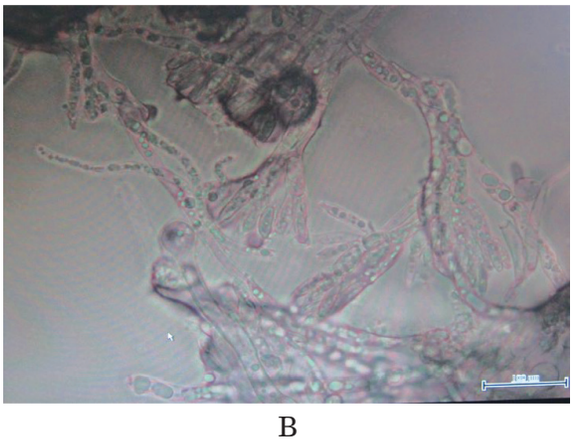
ภาพที่ 15 ตะกอนสีดำ หรือสิ่งแปลกปลอมในน้ำเปล่า
A. มองเห็นด้วยตาเปล่า B. ภายใต้ zoom stereo microscope (× 50 เท่า)
C. ภายใต้ compound microscope (× 400 เท่า)


A


B

ภาพที่ 16 เศษวัสดุสีขาวลักษณะคล้ายเศษแก้วในน้ำแข็ง
A. มองเห็นด้วยตาเปล่า B. ภายใต้ zoom stereo microscope (× 30 เท่า)


A


B

ภาพที่ 17 เส้นใยเชื้อรา ภายใต้ compound microscope (× 100 เท่า)
A. ในเครื่องดื่มชูกำลัง B. ในน้ำผลไม้

วิจารณ์

กรณีการร้องเรียนอาหารปลอม พบว่ามีการร้องเรียนสาหร่ายปลอมระหว่างปี พ.ศ. 2552–2563 โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดำเนินการร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สุ่มเก็บตัวอย่าง ณ ด่านอาหารและยาที่นำเข้า จำนวน 50 ตัวอย่าง เพื่อดำเนินการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ (ตรวจด้วยประสาทสัมผัสและตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์) ไม่พบตัวอย่างที่เป็นสาหร่ายปลอมในตัวอย่างทั้งหมด (คิดเป็นร้อยละ 0.0) การร้องเรียนเกิดจากเมื่อมองด้วยตาเปล่าสาหร่ายแห้งบางชนิดมีสีดำคล้ายกับพลาสติกสีดำ เนื่องจากประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนทำให้สาหร่ายแห้งมีสีเปลี่ยนไป เมื่อนำมาแช่น้ำจะมองเห็นเป็นสีต่าง ๆ ตามชนิดของรงควัตถุที่อยู่ในเซลล์ของสาหร่ายนั้น ๆ ที่เกิดจากพลาสติด (plastid) ซึ่งเป็นแหล่งรวมของรงควัตถุต่าง ๆ ในเซลล์ หากพลาสติดมีคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ให้สีเขียว เรียกว่า คลอโรพลาสต์ (chloroplast) มีแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ให้สีเหลือง ส้ม แดง เรียกว่า โครโมพลาสต์ (chromoplast)[7] โดยทั่วไปสามารถจำแนกกลุ่มสาหร่ายได้จากสีที่เห็น สาหร่ายทะเลเป็นที่รู้จักและนิยมบริโภค ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ เรียกว่า seaweed ได้แก่ กลุ่มสาหร่ายสีแดง (Rhodophyta, red algae) กลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyta, brown algae) และกลุ่มสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta, green algae)[7] กรณีหมูหย็องมีการร้องเรียนระหว่างปี พ.ศ. 2559–2563 เมื่อดำเนินการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ ตรวจไม่พบเส้นใยของสำลีในทุกตัวอย่าง ซึ่งลักษณะเด่นของเซลล์สัตว์ที่ต่างจากพืช คือ แถบลายตามขวางของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากการเรียงตัวของ myofibrils[8] การร้องเรียนเกิดจากการแปรรูปเนื้อหมูชิ้นใหญ่ให้เป็นเส้นฝอย ๆ และฟูขึ้นเมื่อตรวจด้วยตาเปล่ามีลักษณะคล้ายเส้นใยสำลี ดังนั้นหมูหย็องที่วางจำหน่ายตรวจไม่พบเส้นใยของสำลี สำหรับการเลือกซื้ออาหารประเภทที่เรียกว่าหย็องนั้น หากเป็นหมูหย็องจะมีลักษณะเป็นเส้นใยขนาดแตกต่างกัน ไก่หย็องจะมีลักษณะเป็นเส้นสั้น ๆ ปลาหย็องจะเป็นผงหยาบ ๆ ผู้บริโภคควรเลือกซื้ออาหารเหล่านี้ที่ไม่มีกลิ่นหืน ไม่มีเศษวัสดุอื่นเจือปน และเลือกซื้อที่มีฉลาก อย. ซึ่งเป็นสัญลักษณ์ที่แสดงให้ผู้บริโภคได้ทราบว่า ผลิตภัณฑ์สุขภาพนั้น ๆ ผ่านการพิจารณาด้านประสิทธิภาพ คุณภาพ ความปลอดภัย และถูกต้องตรงตามมาตรฐานเกณฑ์การผลิตหรือการนำเข้าจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กรณีเนื้อปูปลอมร้องเรียนเมื่อปี พ.ศ. 2563 เนื้อปูเมื่อเก็บในช่องเย็นแล้วนำออกมาเพื่อประกอบอาหาร จะเห็นเส้นใยเนื้อปูเป็นสีขาวคล้ายเส้นใยสำลี แต่ผลการตรวจไม่พบสำลี ซึ่งเนื้อปูมีลักษณะเด่นที่ต่างจากพืช คือ แถบลายตามขวางของกล้ามเนื้อลายที่เกิดจากการเรียงตัวของ myofibrils[8] เช่นเดียวกับเซลล์ของหมูหย็อง

ผู้ประกอบการควรระบุฉลากอาหารให้ตรงกับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ซึ่งอาหารดังกล่าวแม้ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค แต่เป็นการหลอกลวงผู้บริโภค ปัญหาของการร้องเรียนเกี่ยวกับอาหารเกิดจากการจงใจของผู้ผลิตเพื่อลดค่าใช้จ่าย เป็นการกระทำความผิดที่เข้าข่ายการปลอมปนอาหารหรือผลิตอาหารปลอม ถือเป็นการก่ออาชญากรรมในรูปแบบหนึ่งที่ทำให้เกิดความผู้เสียหายต่อบุคคลอื่น กฎหมายบัญญัติบทลงโทษทั้งจำคุกและปรับผู้ที่กระทำการผิดแล้วแต่กรณี และอาหารดังกล่าวเข้าข่ายเป็นอาหารปลอม ตามมาตรา 27 พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 (ฉบับปรับปรุง ปี 2559) โดยมาตรา 25 (2) ห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้าเพื่อจำหน่าย หรือจำหน่าย ซึ่งผู้ใดฝ่าฝืนจะมีบทลงโทษตามมาตรา 59 มีโทษจำคุกตั้งแต่หกเดือนถึงสิบปี และปรับตั้งแต่ 5,000–100,000 บาท และประมวลกฎหมายอาญา มาตรา 236 มาตรา 237 และมาตรา 271 การปลอมปนการขายของโดยหลอกลวง มีโทษจำคุกหกเดือนถึงสิบปี หรือปรับถึง 20,000 บาท[9]

กรณีการร้องเรียนอาหารปนเปื้อนหรือพบสิ่งแปลกปลอม จากผลการตรวจสอบอาหาร จำนวน 5 ตัวอย่าง จาก 50 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10.0 ที่มีการพบไข่แมลงและหนอนแมลงในอาหารพร้อมบริโภคนั้น สาเหตุการปนเปื้อนอาจเกิดจากการเก็บรักษาของผู้บริโภคที่อาจตั้งอาหารทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยปราศจากภาชนะปิด จึงทำให้แมลงวันไข่ลงบนอาหารดังกล่าว ซึ่งแมลงวันเป็นพาหะนำโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย เช่น โรคบิด ไข้รากสาด ไข้ไทฟอยด์ พาราไทฟอยด์ อาหาร

เป็นพิษ โรคที่เกิดจากโปรโตซัว เช่น บิดมีตัว โรคติดเชื้อในลำไส้ โรคที่เกิดจากหนอนพยาธิ เช่น พยาธิเส้นด้าย พยาธิตัวกลม พยาธิปากขอ โรคที่เกิดจากไวรัส เช่น โรคโปลิโอ โรคตับอักเสบ ตาแดง และโรคที่เกิดจากโรคผิวหนังและแผลเรื้อรัง เช่น โรคคุดทะราด โรคเรื้อน[6] นอกจากนี้ผลการตรวจสอบอาหาร จำนวน 368 ตัวอย่าง จาก 672 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.8 พบหนอน แมลง ชิ้นส่วนแมลง เส้นขนในผลไม้แห้ง เมล็ดธัญพืช และเครื่องเทศ ซึ่งเกิดจากการใช้วัตถุดิบที่ด้อยคุณภาพ ทำให้ตรวจพบชิ้นส่วนแมลงจำนวนมาก และเกิดจากการเก็บรักษาในโรงเก็บที่ไม่สะอาด ไม่มีการป้องกันหรือกำจัดแมลง ทำให้ตรวจพบแมลงมีชีวิตและไม่มีชีวิต เช่น ด้วงงวง มอดฟันเลื่อย และไร เป็นต้น[10] ส่วนกรณีพบตะกอนและสิ่งแปลกปลอมชนิดอื่น ๆ ของน้ำดื่ม น้ำแข็ง เครื่องดื่ม และน้ำผลไม้ จำนวน 100 ตัวอย่าง จาก 200 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50.0 นั้น สาเหตุจากกระบวนการผลิต การเก็บรักษา การขนส่ง และการจัดจำหน่ายที่ผู้ผลิตไม่ปฏิบัติตามข้อกำหนดในการผลิตอาหาร (Good Manufacturing Practice; GMP) ซึ่งเป็นระบบประกันคุณภาพ เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อการบริโภค นับตั้งแต่เริ่มต้นวางแผนการผลิต ระบบควบคุมตั้งแต่วัตถุดิบต้องมีคุณภาพ ไม่มีการปนเปื้อนสิ่งสกปรก ระหว่างการผลิตมีการป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งแปลกปลอม ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปมีการตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนด การจัดเก็บ การควบคุมคุณภาพ ต้องเป็นไปตามสภาวะที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการป้องกันปนเปื้อนจากแมลงหรือสัตว์ และการขนส่งมีการควบคุมอุณหภูมิและการปนเปื้อนจนถึงผู้บริโภค มีระบบบันทึกข้อมูล ตรวจสอบ และติดตามผลคุณภาพผลิตภัณฑ์ รวมถึงระบบการจัดการที่ดี เรื่องสุขอนามัย (hygiene)[11] ซึ่งพระราชบัญญัติความรับผิดต่อความเสียหายที่เกิดขึ้นจากสินค้าที่ไม่ปลอดภัย พ.ศ. 2551 มาตรา 10 และมาตรา 12 ผู้บริโภคเรียกค่าเสียหายได้ ไม่ว่าจะเป็นความเสียหายต่อชีวิตร่างกาย สุขภาพอนามัย จิตใจ สิทธิเรียกร้องภายในสามปีนับแต่วันที่ผู้เสียหายรู้ แต่ไม่เกินสิบปี และความเสียหายต่อจิตใจ หมายถึง ความเจ็บปวด ความทุกข์ทรมาน ความหวาดกลัว ความวิตกกังวล ความเศร้าโศกเสียใจ ความอับอาย อันเป็นผลต่อร่างกาย สุขภาพ[12]

ดังนั้นผู้บริโภคควรเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ที่มีฉลาก อย. และตรวจสอบรายละเอียดของฉลากซึ่งต้องแจ้งข้อมูลสำคัญ เช่น ชื่อ ชนิด ผู้ผลิต ผู้จัดจำหน่าย และวันหมดอายุของอาหาร เป็นต้น รวมถึงบรรจุภัณฑ์ต้องอยู่ในสภาพดี ไม่ฉีกขาด หรือมีร่องรอยการเปิดหีบห่อมาก่อน

สรุป

ตัวอย่างอาหารที่ได้รับจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ และผู้บริโภค ระหว่างปี พ.ศ. 2552–2563 จำนวน 1,062 ตัวอย่าง ตรวจกรณีร้องเรียนอาหารปลอม (สาหร่ายปลอม หมูหย็องปลอม และเนื้อปูปลอม) จำนวน 140 ตัวอย่าง และการตรวจกรณีร้องเรียนอาหารปนเปื้อนหรือพบสิ่งแปลกปลอม จำนวน 922 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบอาหารปลอมในทุกตัวอย่าง แต่ตรวจพบการปนเปื้อนหรือสิ่งแปลกปลอม จำนวน 473 ตัวอย่าง ได้แก่ ตรวจพบไข่แมลงและตัวหนอน จำนวน 5 ตัวอย่าง จาก 50 ตัวอย่าง ตรวจพบแมลง ชิ้นส่วนแมลง และเส้นขน จำนวน 368 ตัวอย่าง จาก 672 ตัวอย่าง และตรวจพบตะกอนหรือสิ่งแปลกปลอม จำนวน 100 ตัวอย่าง จาก 200 ตัวอย่าง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ นายก่อเกียรติ ศาสตรินทร์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ นางกนกวรรณ นุชนิยม นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ และนางจำปา เปลี่ยนกลิ่น พนักงานห้องทดลอง ฝ่ายกายภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยในการเตรียมตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์ ทำให้งานนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎกระทรวงและประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับปรับปรุง ปี 2554). กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา; 2554.

2. คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. บทที่ 4 อาหารและโภชนาการ ใน: เอกสารประกอบการเรียนวิชาสุขภาพเพื่อการดำรงชีวิต. [ออนไลน์]. [สืบค้น 14 ก.พ. 2565]; [33 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL:http://www.libarts.mju.ac.th/LibDocument/EBook/013/บทที่%204%20โภชนาการ.pdf.
3. บังอร บุญชู, นิภาพร ชนะคช, กมลกาญจน์ จิญกาญจน์. ระวังอาหารปลอม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. [วารสารออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 14 ก.พ. 2565]; 62(194): [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2557_62_194_P7-9.pdf.
4. Whitlock LL, Chapter editor. Chapter 16, Extraneous materials: isolation. In: Latimer GW. Official methods of analysis of AOAC International. 21st ed. Gaithersburg, MD: AOAC International; 2019.
5. ขันทอง เพ็ชรนอก. คู่มือการตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมในอาหาร (หมูหย็องปลอมและสาหร่ายปลอม). นนทบุรี: สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2563.
6. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. WHY FLIES ทำไมต้องแมลงวัน. [ออนไลน์]. 2559; [สืบค้น 7 ธ.ค. 2564]; [26 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://nih.dmsc.moph.go.th/login/filedata/WHY_FLIES.pdf.
7. สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้สาหร่าย (Algae). [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 7 ธ.ค. 2564]; [32 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://siweb1.dss.go.th/repack/fulltext/IR%2035.pdf.
8. บทที่ 2 เข้ามาดูกล้ามเนื้อใกล้ ๆ. ใน: มหาวิทยาลัยมหิดล. ท่องไปในโลกของกล้ามเนื้อ. [ออนไลน์]. 2565; [สืบค้น 14 ก.พ. 2565]; [20 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://il.mahidol.ac.th/e-media/muscle/Chapter2.html.
9. สถาบันนิติธรรมาลัย. ประมวลกฎหมายอาญาฉบับออนไลน์ Update ล่าสุด. [ออนไลน์]. 2560; [สืบค้น 20 เม.ย. 2565]; เข้าถึงได้ที่: URL: https://area3.labour.go.th/2015-12-03-04-55-08/37-update.
10. พรทิพย์ วิสารทานนท์, อัจฉรา เพชรโชติ. แมลงศัตรูผลิตผลเกษตรและแมลงศัตรูธรรมชาติ. ใน: เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการควบคุมศัตรูผลิตผลเกษตร. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2551. หน้า 1-31.
11. World Health Organization Thailand. การสุขาภิบาลและสุขอนามัย. [ออนไลน์]. 2562; [สืบค้น 14 ก.พ. 2565]; [4 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/environment-climate-change-and-health/air-pollution-infographics-in-thai/sanitation-and-hygiene-thai.pdf.
12. พระราชบัญญัติความรับผิดต่อความเสียหายที่เกิดขึ้นจากสินค้าที่ไม่ปลอดภัย พ.ศ. 2551. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 125 ตอนที่ 36 ก (วันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2551). หน้า 17.

Inspection of Counterfeit and Physical Contamination of Food During 2009-2020

Kuntong Pednog

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT According to the Food Act B.E. 2522 (1979), section 25 states that no one shall produce or import for sale, or sell impure food and counterfeit food, to deceive buyers about its quality or usefulness. At present, counterfeit food are produced by developing both quality and product charecteristics to attract consumers, however, it often causes dissatisfaction and complaints through various media. Therefore, in order to protect consumers regarding to food quality and safety, food samples complained of physical contamination were examined. The total of 1,062 samples were submitted from the Food and Drug Administration, Provincial Public Health Offices, Regional Medical Sciences Centers and consumers from January 2009 to September 2020. Among all the samples, 140 samples were counterfeit food and 922 samples were physically contaminated. The results showed that algae, pork floss and fake crab meat were not counterfeit, while 473 samples (51.3%) were physically contaminated insects, insect fragments, hairs, sediments and scrap plastic materials. Thus, the tests should be performed to confirm the quality and safety of the food complaints for consumer protection purposes.

Keywords: Food complaints, Counterfeit food, Contaminated food, Physical inspection

การตรวจสอบสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตรที่ส่งออก ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2560

ขันทอง เพ็ชรนอก

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ สินค้าเกษตร มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยเฉพาะการส่งออกซึ่งสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นจำนวนมากในแต่ละปียังมีปัญหาพบสิ่งแปลกปลอม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการประเมินคุณภาพสินค้าเกษตรก่อนที่จะส่งออกจำหน่าย เพื่อยืนยันว่าสินค้าเกษตรมีคุณภาพตามข้อกำหนดของประเทศผู้นำเข้า โดยตัวอย่างสินค้าเกษตรได้รับจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และผู้ผลิตหรือผู้ส่งออก ส่งตรวจในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2555 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2560 จำนวน 432 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น เมล็ดธัญพืช เครื่องเทศ และผลิตภัณฑ์ประเภทแป้ง จำนวน 179, 131, 62 และ 60 ตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งตรวจสอบด้วยวิธีการตรวจสอบทางมหภาคและจุลภาค ผลการศึกษาพบแมลงมีชีวิตและไม่มีชีวิต ชิ้นส่วนแมลงและขนสัตว์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 149 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 34.49 แบ่งเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 71 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 39.66 เมล็ดธัญพืชไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.30 เครื่องเทศไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 37.10 และผลิตภัณฑ์ประเภทแป้งไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23.33 ดังนั้นผู้ประกอบการควรควบคุมกระบวนการผลิตในทุกขั้นตอนโดยนำหลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practices: GMPs) มาใช้เพื่อประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้าต่อไป

คำสำคัญ: สิ่งแปลกปลอม, สินค้าเกษตรที่ส่งออก, สิ่งแปลกปลอมขนาดเล็ก น้ำหนักเบา

Corresponding author E-mail: kuntong.p@dmsc.mail.go.th

Received: 1 February 2022 *Revised: 1 September 2022* *Accepted: 2 September 2022*

บทนำ

สินค้าเกษตร (กสิกรรม ประมง และปศุสัตว์) เป็นสินค้าที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย ในด้านการบริโภคภายในประเทศและการส่งออก รวมถึงเป็นอาชีพหลักที่สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกร และเป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตสินค้าเพื่อบริโภคอุปโภค รวมถึงอุตสาหกรรมอาหารแปรรูปต่าง ๆ ซึ่งในแต่ละปีจะมีการส่งออกสินค้าเกษตรสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นจำนวนมาก แม้ว่าในปีที่ผ่านมา การส่งออกสินค้าเกษตรของไทยได้รับผลกระทบจากการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (โควิด 19) รวมถึงปัญหาภัยแล้งที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตสินค้าเกษตรและการส่งออกสินค้าเกษตรของไทย ในปี พ.ศ. 2562-2564 สินค้าส่งออกของไทยตามโครงสร้างสินค้าโลกเป็น 3 ลำดับแรก ได้แก่ สหรัฐอเมริกา จีน และญี่ปุ่น[1] ประเภทสินค้าเกษตรกรรม มีมูลค่า 675,197.65 ล้านบาท 656,175.27 ล้านบาท และ 823,058.35 ล้านบาท ตามลำดับ

ประเทศไทยเข้าร่วมเป็นสมาชิกการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) จึงต้องปฏิบัติตามข้อตกลงต่าง ๆ เช่น การเปิดการค้าเสรี ซึ่งนำไปสู่การแข่งขันที่เข้มข้นยิ่งขึ้น ความต้องการสินค้าอาหารของตลาดโลกในยุคปัจจุบันเน้นเรื่องคุณภาพและมาตรฐานสุขอนามัยและความปลอดภัย การอนุรักษ์ธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเกษตรกร ผู้ผลิต และผู้ส่งออกจะต้องพัฒนาสินค้าให้เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ ซึ่งปัจจุบันสินค้าเกษตรส่งออกของไทยยังมีปัญหาในเรื่องคุณภาพ เช่น มีแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วง มีสารเจือปน สารเคมีกำจัดศัตรูพืช และสิ่งแปลกปลอม เป็นต้น ทำให้สินค้าถูกปฏิเสธส่งคืนกลับประเทศหรือถูกเผาทำลาย สิ่งแปลกปลอมเป็นปัญหาหนึ่งของสินค้าอาหารส่งออกของไทยเป็นเวลามากกว่า 20 ปี ประเทศต่าง ๆ มีข้อกำหนด กฎระเบียบ มาตรฐานต่าง ๆ กัน บางประเทศเข้มงวด โดยเฉพาะประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งเป็นตลาดหลักแห่งหนึ่งของอาหารส่งออกในประเทศไทย มีกฎหมายอาหาร ยา และเครื่องสำอาง มาตรา 402 (a)(3) และ (4)[2] กำหนดว่าอาหารที่ตรวจพบสิ่งแปลกปลอม (filth) ซึ่งเป็นดัชนีทางกายภาพของสุขลักษณะการผลิต องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration หรือ US FDA) จะพิจารณาตามเกณฑ์ defect action levels (DAL) โดยมีเกณฑ์กำหนดไว้ สำหรับ light filth ในอาหารบางประเภท ถ้าตรวจพบว่าตกเกณฑ์ ให้สรุปว่ารอบของอาหารนำเข้านั้น เป็นอาหารที่มีกระบวนการผลิตและ/หรือบรรจุอย่างไม่ถูกต้องตามหลักสุขลักษณะ ถือว่าละเมิดต่อกฎหมาย ทำให้เกิดสภาพบังคับตามมา คือ การยึด การเรียกคืน และการดำเนินคดีต่อผู้ผลิต กรณีอาหารนำเข้า จะถูกกักกันที่ด่านทำให้เสียชื่อเสียงของประเทศ และเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ซึ่งสิ่งแปลกปลอม หมายถึง สิ่งที่ปะปนอยู่ในผลิตภัณฑ์ เกิดจากการปฏิบัติต่าง ๆ ในกระบวนการผลิต การเก็บรักษา หรือการจำหน่าย ได้แก่ filth สิ่งเน่าเสีย และสิ่งอื่น ๆ เช่น ทราย ดิน แก้ว สนิมเหล็ก ยางรัดของ เศษไม้ เป็นต้น โดย filth หมายถึง สิ่งที่น่ารังเกียจ ซึ่งเกิดการปนเปื้อนจาก 5 กลุ่ม คือ สัตว์พาหะนำโรคที่มากับอาหาร (filth from vectors of food-borne disease) ประกอบด้วย ชิ้นส่วนของสัตว์พาหะนำโรคชนิดมีกระดูกสันหลัง เช่น นก หนู และสัตว์พาหะนำโรคชนิดไม่มีกระดูกสันหลัง/ชิ้นส่วนของสัตว์ดังกล่าว เช่น แมลงวัน แมลงสาบ มด มอด สัตว์ที่ไม่เป็นพาหะนำโรคที่มากับอาหาร (filth that poses a nonpathogenic health hazard) เช่น แมลงปีกแข็ง ไรฝุ่น ชิ้นส่วนที่แข็ง/คมของแมลงอื่น ๆ สัตว์อื่น ๆ เช่น แมงมุม และแมลงอื่น ๆ แมลง/สัตว์อื่นจากการเก็บรักษาอาหาร (stored-product pest) เช่น มอด ตัวไร และสิ่งแปลกปลอมที่น่ารังเกียจ (incidental filth) ไม่มีอันตรายต่อผู้บริโภค[3] ซึ่งสามารถแบ่ง filth ได้ 3 ชนิด ตามลักษณะหรือวิธีการทดสอบ คือ ชนิดเบาหรือน้ำหนักน้อย (light filth) ได้แก่ แมลง ชิ้นส่วนแมลง ขนคน ขนสัตว์ต่าง ๆ (หนู สุนัข แมว) และไร เป็นต้น ซึ่งแยกออกจากผลิตภัณฑ์โดยใช้ส่วนผสมที่เป็นของเหลว มีชั้นน้ำมัน ชนิดหนักหรือมีน้ำหนัก (heavy filth) ได้แก่ มูลแมลง มูลสัตว์ แยกออกจากผลิตภัณฑ์โดยการทำให้ตกตะกอน ซึ่งขึ้นกับความหนาแน่นที่ต่างกันของ filth อนุภาคอาหารและของเหลวที่ใช้ เช่น คลอโรฟอร์ม ฯลฯ และชนิดร่อน (sieved filth) ได้แก่ filth ที่แยกจากผลิตภัณฑ์โดยการร่อนด้วยตะแกรงตามขนาดต่าง ๆ ที่กำหนด[4] เพื่อเป็นการประเมินคุณภาพสินค้าเกษตร ผู้ประกอบการหรือผู้ส่งออกควรตรวจ

คุณภาพสินค้าเกษตรก่อนส่งออก ตามวิธีที่กำหนดในแต่ละชนิดของสินค้า โดยส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการเอกชนหรือส่วนราชการ ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพตามเกณฑ์ข้อกำหนดของประเทศผู้นำเข้า หากผลการตรวจวิเคราะห์ไม่ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนด จะต้องแก้ไขหรือปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตในส่วนที่มีการปนเปื้อน เพื่อทำให้สินค้าเกษตรดังกล่าวได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคและผู้นำเข้า ณ ประเทศปลายทาง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ตรวจสอบการปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตร จากตัวอย่างที่ได้รับจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และผู้ผลิตหรือผู้ส่งออก เพื่อเฝ้าระวังคุณภาพด้านสิ่งแปลกปลอม

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ AND HF-6100 (Scientific promotion Co., Ltd., ญี่ปุ่น) กล้องจุลทรรศน์ชนิด widefield stereoscopic microscope และ compound microscope ยี่ห้อ Olympus (Olympus Optical®, ญี่ปุ่น) ชุดเครื่องกรอง ยี่ห้อ GAST (GE Motors & Industrial systems®, สหรัฐอเมริกา) ตะแกรง เบอร์ 230 (Endecotts®, สหราชอาณาจักร) และกระดาษกรองยี่ห้อ Whatman เบอร์ 8 (Whatman International®, สหราชอาณาจักร)

ตัวอย่างศึกษา

ตัวอย่างสินค้าเกษตรได้รับจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เป็นกรณีสินค้าส่งคืนที่ถูกอายัดและเฝ้าระวัง และตัวอย่างบางส่วนได้จากผู้ผลิตหรือผู้ส่งออกนำส่งตรวจเพื่อตรวจสอบคุณภาพสินค้า ส่งตรวจในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2555 ถึง เดือนเมษายน พ.ศ. 2560 จำนวน 432 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น เมล็ดธัญพืช (ข้าว ถั่ว งา) เครื่องเทศ และผลิตภัณฑ์ประเภทแป้ง จำนวน 179, 131, 62 และ 60 ตัวอย่าง ตามลำดับ ในการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์โดยการสุ่มน้ำหนักตัวอย่างของสินค้าเกษตรที่ตรวจหาสิ่งแปลกปลอม (filth) จะปรากฏอยู่ใน AOAC[4] ตามชนิดตัวอย่างอาหาร

หลักการตรวจสิ่งแปลกปลอม

การตรวจสอบทางมหภาค (macroscopic method)[5] เป็นวิธีการตรวจอย่างหยาบ ที่ใช้ตรวจหาสิ่งแปลกปลอมอย่างง่าย ๆ ไม่ยุ่งยาก โดยการใช้สายตาหรือแว่นขยาย รวมทั้งการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า และที่กำลังขยาย 60 เท่า สำหรับการยืนยัน แบ่งเป็นวิธีย่อย ๆ ได้แก่ วิธีตรวจพินิจโดยตรง (direct/visual examination) เป็นวิธีที่นำผลิตภัณฑ์มาตรวจด้วยสายตา เช่น ข้าวสาร เมล็ดถั่ว และกุ้งแห้ง เป็นต้น วิธีร่อนผ่านตะแกรงอย่างแห้งและอย่างเปียก (dry/wet sieving) เป็นวิธีที่นำผลิตภัณฑ์มาผ่านการร่อนด้วยตะแกรง โดยไม่ใช้น้ำหรือใช้น้ำ แล้วตรวจสิ่งที่ผ่านตะแกรง รวมทั้งตรวจสิ่งที่ค้างอยู่บนตะแกรงด้วยสายตา เช่น พริกแห้ง ปลาแห้ง และกุ้งแห้ง เป็นต้น

การตรวจสอบทางจุลภาค (microscopic method)[4] เป็นวิธีการตรวจอย่างละเอียด ที่ใช้ตรวจหาสิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 30 เท่า โดยมีขั้นตอนที่แยกหรือสกัด สิ่งแปลกปลอมออกจากผลิตภัณฑ์ก่อน แล้วจึงตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นวิธีที่ใช้เวลา แต่ได้ผลการตรวจที่แน่นอน ถูกต้อง ซึ่งแบ่งย่อยได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีร่อนผ่านตะแกรงแห้งหรือเปียก (dry/wet sieving method) นำสิ่งที่ผ่านตะแกรงมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้วิธีนี้ เช่น เห็ดกระป๋อง ผักกาดกระป๋อง กุ้งแช่แข็ง และกุ้งแห้ง เป็นต้น วิธีกรอง (filtration method) ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลว เช่น น้ำปลา น้ำหวาน ซีอิ๊ว และผลิตภัณฑ์ที่เป็นของแข็งแต่สามารถละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาล โดยนำมากรองผ่านชุดเครื่องกรอง เป็นต้น วิธีที่ทำให้สิ่งแปลกปลอมลอยขึ้นมากับชั้นน้ำมัน (floatation method) ใช้สำหรับแยกสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็ก น้ำหนักเบา (light filth) น้ำมันที่ใช้แยก ได้แก่ เฮพเทน พาราฟิน น้ำมันละหุ่ง และน้ำมันก๊าด เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ตรวจด้วยวิธีนี้ เช่น แป้ง เส้นหมี่ เส้นก๋วยเตี๋ยว มักกะโรนี ปลาแช่แข็ง/แช่เย็น และกุ้งแช่แข็ง/แช่เย็น เป็นต้น และวิธีตกตะกอน (sedimentation method) สำหรับแยกสิ่งแปลกปลอมชนิดหนัก (heavy filth) เช่น ทราย โลหะ มูลสัตว์ โดยใช้น้ำ คลอโรฟอร์ม ปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮพเทน ผลิตภัณฑ์ที่ใช้วิธีนี้ เช่น พริกไทยป่น กระเทียม และพริกป่น เป็นต้น

หลักการวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมประเภท light filth[4]

เนื่องจากสิ่งแปลกปลอมประเภท light filth ที่ปะปนอยู่ในอาหารมีขนาดเล็ก และไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันกับอาหาร ก่อนการวิเคราะห์ต้องพิจารณาว่าผลิตภัณฑ์นั้นเป็นอะไร มีส่วนประกอบอะไรบ้าง และมีอะไรเป็นองค์ประกอบหลัก ลักษณะของผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปใด (ของแข็งหรือของเหลว) จากนั้นเลือกวิธีที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ภายใต้ chapter 16 ของ AOAC, 2019 ที่จะแบ่งวิธีวิเคราะห์ light filth เป็นกลุ่มใหญ่ตาม subchapter โดยระบุเป็นประเภทอาหาร และระบุวิธีวิเคราะห์ตามชนิดอาหารที่อยู่ใต้ subchapter นั้น ๆ ถ้าต้องการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีวิธีการตรวจระบุไว้ใน AOAC[4] ให้พิจารณาจากสูตรอาหาร และเทียบเคียงกับชนิดอาหาร ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิตที่ใกล้เคียงกับวิธีวิเคราะห์ระบุ ซึ่งการตรวจวิเคราะห์เริ่มจากการตรวจตัวอย่างเบื้องต้นอย่างหยาบ (macroscopic methods) ในทุกกรณี ซึ่งหลักการวิธีวิเคราะห์ light filth แบ่งเป็น 2 วิธี ตามเทคนิคที่ใช้ ซึ่งเป็นพื้นฐานที่สามารถวิเคราะห์อาหารตามที่กำหนดไว้ในวิธีอื่น ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีที่ไม่มีการย่อยตัวอย่าง ใช้วิธีวิเคราะห์ที่เรียกว่า heptane water ซึ่งสามารถตรวจสิ่งแปลกปลอมได้อย่างรวดเร็ว ใช้กับตัวอย่างกุ้งแช่แข็ง อาหารกระป๋อง อาหารที่มีส่วนผสมระหว่างเนื้ออาหารและของเหลว ได้แก่ ผักและผลไม้ดอง เป็นต้น โดยนำตัวอย่างอาหารวางบนตะแกรง (sieve) ที่มีขนาดและความละเอียดของรูตะแกรงเป็นตัวคัดกรองสิ่งแปลกปลอม ฉีดน้ำล้างตัวอย่างจนน้ำล้างใส นำส่วนที่ติดค้างบนตะแกรงตรวจหาสิ่งแปลกปลอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หากพบว่ามีสิ่งแปลกปลอมค้างอยู่บนตะแกรงจำนวนมาก ให้นำไปแยกด้วยการดักลอยใน wildman trap flask โดยใช้ heptane เป็นตัวดักลอยสิ่งแปลกปลอมประเภท light filth ซึ่งแยกออกจากของเหลวลอยขึ้นข้างบน จากนั้นนำชั้น heptane กรองผ่านกระดาษกรอง นำสิ่งที่ตกค้างอยู่บนกระดาษกรองตรวจหาสิ่งแปลกปลอมและนับจำนวนภายใต้ widefield stereoscopic microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า และตรวจจำแนกชนิดสิ่งแปลกปลอมภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อตรวจลักษณะโครงสร้างของแมลง ชิ้นส่วนแมลง ขนหนู ขนแมว/สุนัข ขนคน และขนนก โดยเปรียบเทียบกับลักษณะอ้างอิงจากสมุดภาพ[6]

วิธีที่มีการย่อยตัวอย่าง ในการทดสอบทุกครั้งจะต้องมีการควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control) โดยทดสอบตัวอย่างอย่างน้อย 2 ซ้ำ (duplicate) ซึ่งเป็นการควบคุมความแม่นยำ (precision) ของการทดสอบ การวิเคราะห์วิธีนี้จะต้องนำตัวอย่างมาย่อยด้วยกรดเกลือเข้มข้น (concentrated hydrochloric acid) และใช้ความร้อนใน autoclave หรือ hot plate ตัวอย่างอาหาร ได้แก่ ก๋วยเตี๋ยว มักกะโรนี สปาเกตตี ผลิตภัณฑ์จากข้าว และขนมปัง เป็นต้น โดยการย่อยตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นก้อน เส้น แท่ง หรือของแข็ง ด้วยสารละลายกรด หรือน้ำร้อน ทำให้อนุภาคของอาหารมีขนาดเล็กหรือละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกับสารละลาย สิ่งแปลกปลอมที่ปะปนอยู่ในเนื้ออาหารจะหลุดออกมาปะปนกับสารละลาย นำตัวอย่างอาหารที่ถูกย่อยแล้ว วางบนตะแกรง (sieve) ที่มีขนาดของรูตะแกรง 63 ไมโครเมตร เป็นตัวคัดกรองสิ่งแปลกปลอม ฉีดล้างด้วยน้ำร้อนจนน้ำล้างใส นำส่วนที่ติดค้างบนตะแกรงแยกสิ่งแปลกปลอม โดยใช้สารประเภทน้ำมันเป็นตัวดักลอย เช่น น้ำมันพาราฟิน น้ำมันก๊าด เฮพเทน เป็นต้น การจะใช้น้ำมันชนิดใดขึ้นอยู่กับวิธีวิเคราะห์และชนิดของอาหาร จากนั้นนำชั้นน้ำมันกรอง แล้วนำสิ่งที่ตกค้างอยู่บนกระดาษกรองตรวจหาสิ่งแปลกปลอมและนับจำนวนภายใต้ widefield stereoscopic microscope ที่กำลังขยาย 30 เท่า และตรวจจำแนกชนิดสิ่งแปลกปลอมภายใต้ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อตรวจลักษณะโครงสร้างของแมลง ชิ้นส่วนแมลง ขนหนู ขนแมว/สุนัข ขนคน และขนนก โดยเปรียบเทียบกับลักษณะอ้างอิงจากสมุดภาพ[6]

การวินิจฉัยสิ่งแปลกปลอม

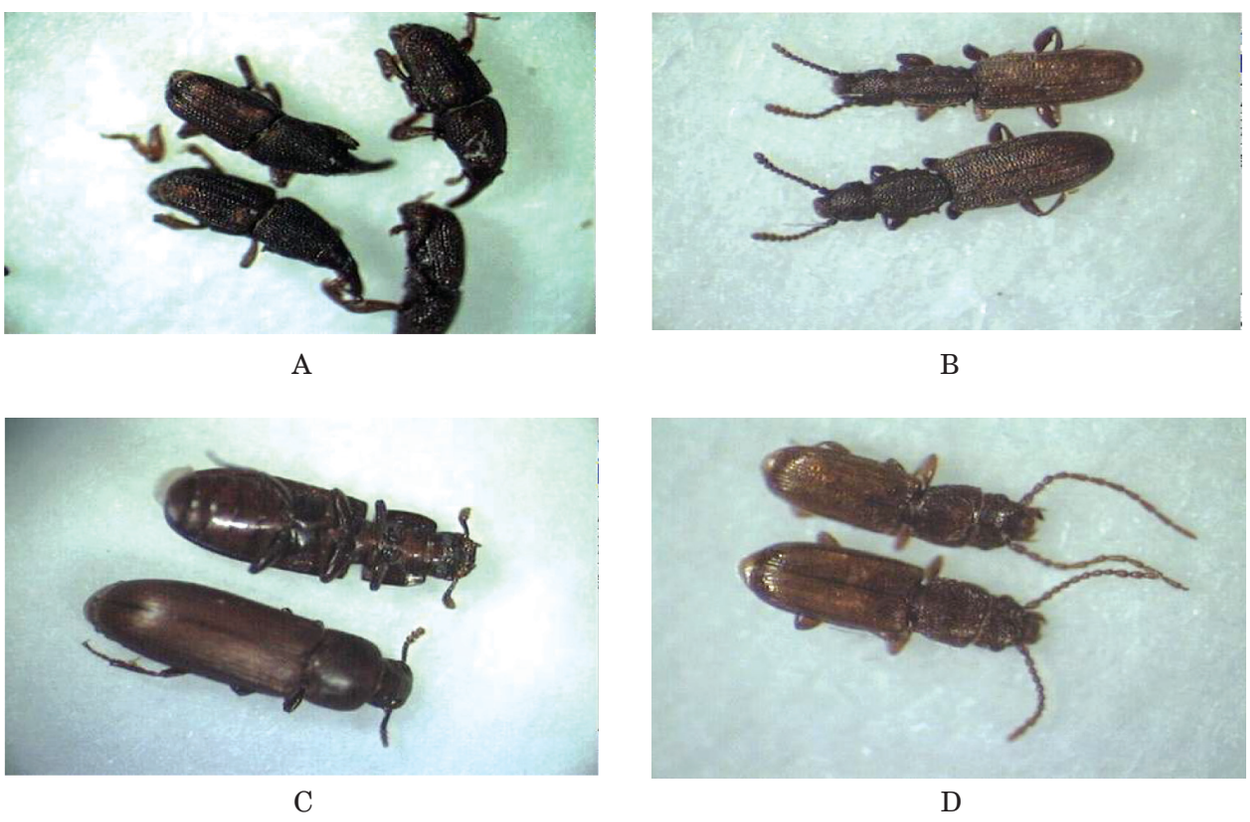
การตรวจวินิจฉัยสิ่งแปลกปลอมพร้อมทั้งบันทึกปริมาณสิ่งแปลกปลอมเป็นจำนวนหรือน้ำหนัก ผู้วิเคราะห์สามารถวินิจฉัย (identify) สิ่งแปลกปลอมที่พบ เช่น แมลงชนิดต่าง ๆ ขนนก ขนหนู และขนแมว/สุนัข เป็นต้น จำเป็นต้องศึกษาจากสิ่งต่าง ๆ เช่น คู่มือ (keys) แผ่นภาพ

หรือหนังสือวิชาการ เอกสาร รายงานต่าง ๆ[6] ลักษณะและชนิดของแมลง เช่น ชนิดของแมลงตัวเต็มวัย หรือหนอนที่ตรวจพบ ภาพของแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรในโรงเก็บชนิดต่าง ๆ จะช่วยในการวินิจฉัยแมลงที่ตรวจพบว่าเป็นชนิดใด การดูสไลด์ของจริง (authentic slide) เช่น นำชิ้นส่วนมอดแป้งตัวเต็มวัย ได้แก่ ส่วนหัว ปาก หนวด กราม ขา อก ท้อง มาเก็บไว้ในแผ่นสไลด์ เมื่อตรวจพบเศษชิ้นส่วนแมลงของตัวอย่าง ให้ใช้สไลด์ของจริงศึกษาเปรียบเทียบ การจำได้ (recognition) เมื่อตรวจวินิจฉัยอย่างต่อเนื่อง มีประสบการณ์เพิ่มมากขึ้น ทำให้การวินิจฉัยรวดเร็วขึ้น และหากไม่สามารถวินิจฉัยได้ ให้ศึกษาจากผู้เชี่ยวชาญ (expert) ที่มีความรอบรู้และชำนาญสูง

ผล

จากผลการตรวจวิเคราะห์และวินิจฉัยสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตรที่ส่งออก จำนวน 432 ตัวอย่าง พบสิ่งแปลกปลอมเป็นแมลง ชิ้นส่วนแมลง และขนสัตว์ ซึ่งภาพถ่ายทั้งหมดได้จากการศึกษา โดยเป็นภาพที่บันทึกในห้องปฏิบัติการฝ่ายกายภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ผลการศึกษาดังนี้

ผลการตรวจด้วยตาเปล่า (macroscopic method) ในตัวอย่างเมล็ดธัญพืชและผลิตภัณฑ์พบแมลงมีชีวิตและไม่มีชีวิต ซึ่งแมลงที่ตรวจพบในสินค้าเกษตรส่วนใหญ่เป็นแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร[7] ได้แก่ ด้วงงวง (*Sitophilus* spp.) มอดฟันเลื่อย (*Oryzaephilus* spp.) มอดแป้ง (*Tribolium* spp.) และมอดหนวดยาว (*Cryptolestes pusillus*) เป็นต้น ดังแสดงในภาพที่ 1

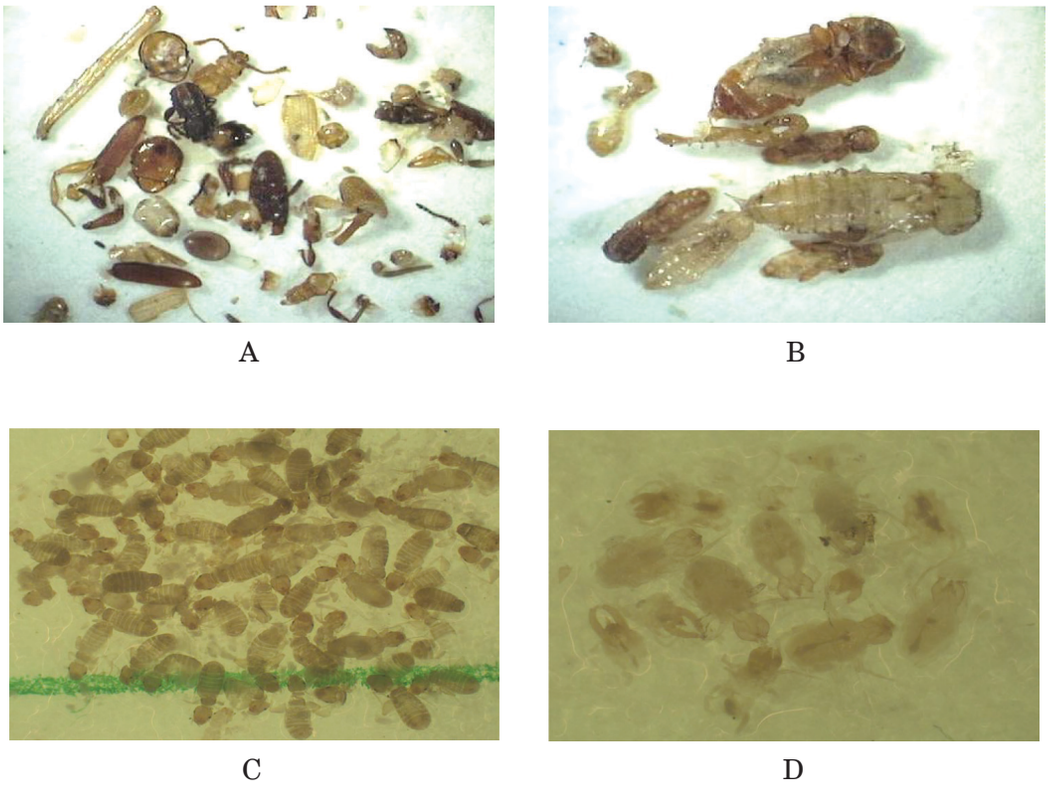


A B C D

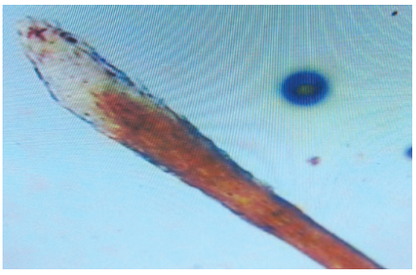
ภาพที่ 1 การตรวจพบแมลงศัตรูพืชในผลิตผลการเกษตร
A. ด้วงงวง (*Sitophilus* spp.) B. มอดฟันเลื่อย (*Oryzaephilus* spp.) C. มอดแป้ง (*Tribolium* spp.) D. มอดหนวดยาว (*Cryptolestes pusillus*)

ผลการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic method) ตัวอย่างสินค้าเกษตร จำนวน 432 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 149 ตัวอย่าง คิดเป็น

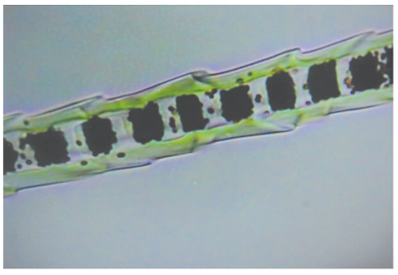
ร้อยละ 34.49 ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น จำนวน 179 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 71 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 39.66 เมล็ดธัญพืช (ข้าว ถั่ว งา) จำนวน 131 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.30 เครื่องเทศ จำนวน 62 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 37.10 และผลิตภัณฑ์ประเภทแป้ง จำนวน 60 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23.33 ตรวจพบแมลงไม่มีชีวิต ซึ่งเป็นแมลงชนิดเดียวกับที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า และพบชิ้นส่วนแมลง ตัวอ่อนของแมลง เหาหนังสือ (*Liposcelis* spp.) และไร (Mite) ตรวจภายใต้ widefield stereoscopic microscope ดังแสดงในภาพที่ 2 พบขนสัตว์ ได้แก่ ขนคน (Human hair) ขนหนู (Rat/Mouse hair) ขนแมว/สุนัข (Cat/Dog hair) และขนนก (Feather) จากการตรวจภายใต้ compound microscope ดังแสดงในภาพที่ 3 ในตัวอย่างเครื่องแกง เครื่องเทศ ตรวจพบชิ้นส่วนแมลงและเส้นขน ในตัวอย่างสมุนไพร ผลไม้แห้ง ตรวจพบเพลี้ยอ่อน (Aphids) เพลี้ยไฟ (Thrips) ชิ้นส่วนแมลง และไร (Mite) จากการตรวจภายใต้ widefield stereoscopic microscope ดังแสดงในภาพที่ 4 ในตัวอย่างเครื่องแกง และเครื่องเทศ พบเส้นผมของคน ขนหนู ในตัวอย่างอาหารทะเล และอาหารเบ็ดเตล็ด ตรวจพบชิ้นส่วนแมลง จากการตรวจภายใต้ compound microscope ดังแสดงในภาพที่ 5



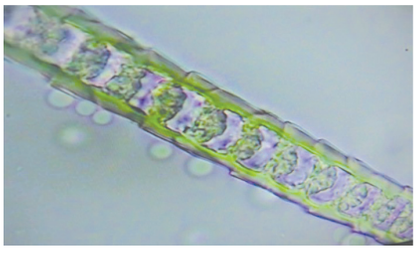
ภาพที่ 2 การตรวจพบสิ่งแปลกปลอมภายใต้ widefield stereoscopic microscope
A. ชิ้นส่วนแมลง B. ตัวอ่อนมอดฟันเลื่อย C. เหาหนังสือ (*Liposcelis* spp.) D. ไร (Mite)



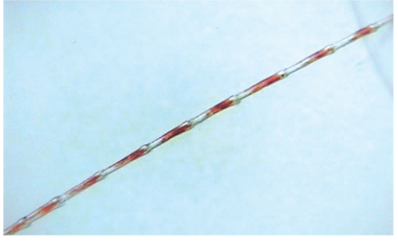
A



B

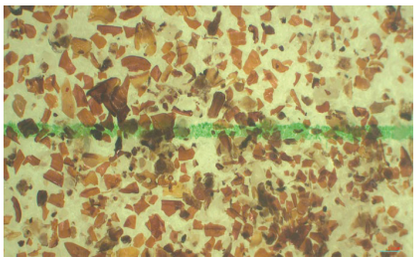


C

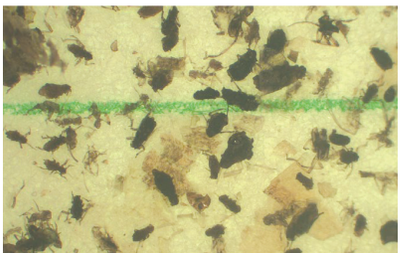


D

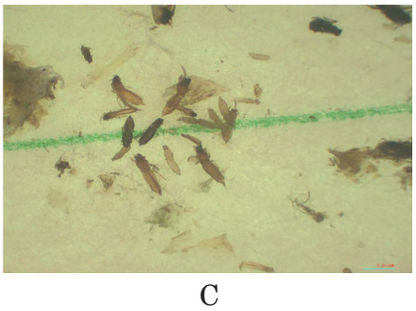
ภาพที่ 3 การตรวจพบเส้นผม ขนสัตว์ ภายใต้ compound microscope
A. โคนรากเส้นผมของคน B. ขนหนู C. ขนแมว/สุนัข D. ขนนก



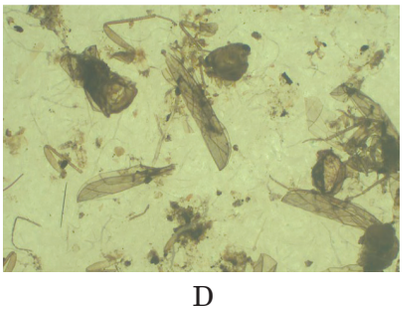
A



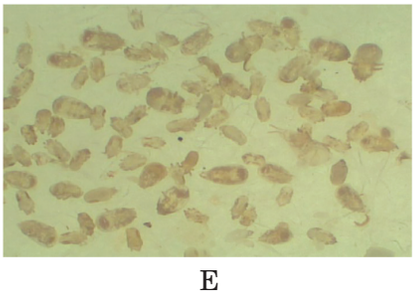
B



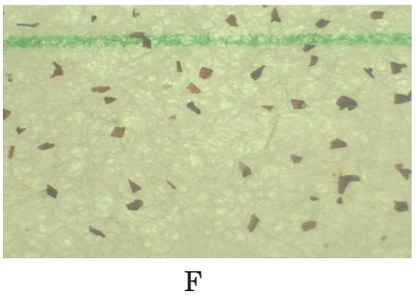
C



D

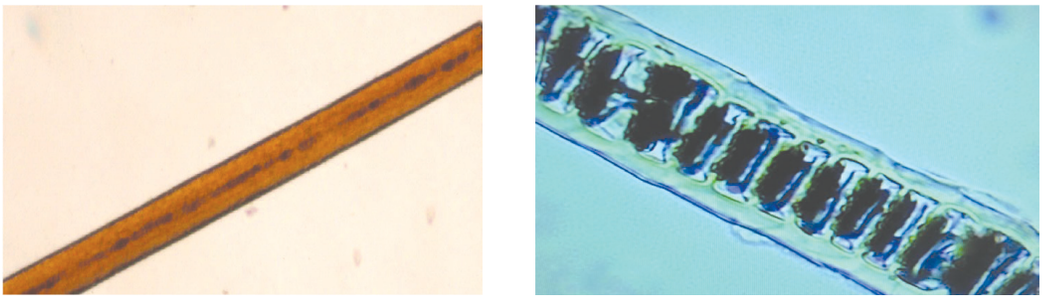


E



F

ภาพที่ 4 การตรวจพบสิ่งแปลกปลอมภายใต้ widefield stereoscopic microscope
A. ชิ้นส่วนแมลง B. เพลี้ยอ่อน (Aphids) C. เพลี้ยไฟ (Thrips) D. ชิ้นส่วนแมลง
E. ไร (Mite) F. ชิ้นส่วนแมลง



A B

ภาพที่ 5 การตรวจพบสิ่งแปลกปลอมภายใต้ compound microscope
A. เส้นผมคน (บริเวณกลางเส้น) B. ขนหนู

วิจารณ์

จากผลการตรวจพบว่าแมลงมีชีวิตและชิ้นส่วนแมลงเป็นสาเหตุให้สินค้าเกษตรไม่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน แมลงทุกชนิดที่ตรวจพบเป็นแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรที่พบในโรงเก็บ (stored pest) ทำให้เกิดความเสียหายกับผลิตผลเกษตรในด้านการสูญเสียน้ำหนัก สูญเสียคุณค่าทางอาหาร และเป็นสาเหตุให้สูญเสียคุณภาพเมื่อมีการทำลายสูง ซึ่งสินค้าเกษตรส่งออกของไทยส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์จากข้าวและธัญพืช เครื่องเทศ ผักและผลไม้แห้ง ซึ่งจะเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่ง การเก็บในยุ้งฉางและไซโล พบปัญหาแมลงเข้าทำลายซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญที่สุด ปัจจัยที่ทำให้แมลงศัตรูผลิตผลเกษตรมีการระบาดตลอดปี เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพอากาศร้อนและชื้น เหมาะในการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของแมลง[7,8] ปัญหาสิ่งแปลกปลอมที่ตรวจพบ คือ แมลงและชิ้นส่วนแมลง ซึ่งแมลงมีชีวิตพบได้ทุกระยะการเจริญเติบโต แมลงทุกชนิดเป็นศัตรูผลิตผลเกษตรที่พบในโรงเก็บ (stored pest) และก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผลิตภัณฑ์เกษตร หากพบในสินค้าส่งออกจะถูกปฏิเสธจากผู้นำเข้าทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการส่งกลับหรือค่าใช้จ่ายในการทำลายสินค้าดังกล่าว บางครั้งตรวจพบขนหนูในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นผู้ประกอบการต้องมีความระมัดระวังตั้งแต่วัตถุดิบจนกระทั่งเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป และมีการตรวจสอบคุณภาพสินค้าอย่างสม่ำเสมอ หากสินค้าเกษตรมีการตรวจพบสิ่งแปลกปลอมที่ประเทศผู้นำเข้า อาจส่งผลให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจและภาพลักษณ์ของประเทศไทยได้ เนื่องจากแมลงก่อให้เกิดความเสียหายต่อสินค้าเกษตรในด้านสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) จากแมลงที่อาศัยจะกัดกินอยู่ในเมล็ด ทำให้เมล็ดเหลือแต่เปลือกหรือผิวนอก สูญเสียคุณค่าทางอาหาร (food loss) จากแมลงทำลายเมล็ดที่มีส่วนประกอบของ vitamin และธาตุอาหาร สูญเสียคุณภาพ (quality loss) จากแมลงและของเสียจากแมลง จะทำให้เกิดกลิ่นเหม็น ซากหรือชิ้นส่วนแมลงที่ตายแล้วติดอยู่กับอาหาร ทำให้เป็นที่รังเกียจในการนำไปบริโภค สูญเสียเงิน (money loss) เมื่อน้ำหนักของผลิตผลลดลง ทำให้เสียรายได้ เนื่องจากน้ำหนักหายไปและคุณภาพของผลิตผลลดลงทำให้ราคาลดลง และสูญเสียชื่อเสียง (loss of goodwill) ผลผลิตที่ถูกทำลายในด้านคุณภาพ ทำให้ผู้ซื้อและผู้บริโภคเสื่อมความเชื่อถือและไว้ใจในสินค้า เมื่อขายสินค้าคุณภาพไม่ดีตามสัญญาของการซื้อขาย ทำให้ความเชื่อถือในการค้าลดลง อาจจำหน่ายไม่ได้ หรือลดน้อยลง และกระทบกระเทือนถึงสินค้าชนิดอื่น ๆ[8]

ปัญหาด้านสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตรของไทยยังไม่มีเกณฑ์ข้อกำหนดหรือมาตรฐานการตัดสินพิจารณาผลวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอม จึงต้องอาศัยข้อกำหนดและ/หรือเกณฑ์ของประเทศผู้นำเข้า อีกทั้งในแต่ละประเทศยังมีความหลากหลายในเรื่องไม่ต้องมีหนังสือรับรองด้านสิ่งแปลกปลอม เช่น ญี่ปุ่น สหภาพยุโรป เป็นต้น บางประเทศมีข้อกำหนดด้านสิ่งแปลกปลอม

เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา เป็นต้น ผู้ประกอบการผลิตสินค้าเกษตรเพื่อส่งออกต้องพิจารณาตัดสินใจว่าจะผลิตเพื่อส่งออกไปยังประเทศใด และผลกระทบถึงปัญหาด้านสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตรควรอยู่ในระดับไหน สิ่งที่ผู้ประกอบการควรนำมาปฏิบัติเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมในสินค้าเกษตร โดยปฏิบัติตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหาร (Good Manufacturing Practices: GMPs) ซึ่งเป็นเกณฑ์ขั้นต่ำในการควบคุมการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมาตรฐานเรื่องความสะอาดและความปลอดภัย ตั้งแต่การคัดเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพ มีระบบควบคุมการปนเปื้อนจากสิ่งแปลกปลอมในทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิต มีระบบการป้องกันและกำจัดแมลง การเก็บรักษา การขนย้าย และขนส่งผลิตภัณฑ์อาหาร

การตรวจวิเคราะห์สิ่งแปลกปลอมจะได้ผลถูกต้องเป็นที่น่าเชื่อถือขึ้นกับปัจจัยหลายประการ อาทิ วิธีที่ได้มาตรฐานตามข้อกำหนดของประเทศผู้นำเข้า เครื่องมือที่มีการบำรุงรักษา และผ่านการสอบเทียบตามกำหนด ผู้วิเคราะห์ที่มีความสามารถและได้รับการฝึกอบรม มีสถานที่และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ฯลฯ ซึ่งเป็นสิ่งที่ห้องปฏิบัติการในปัจจุบันนี้มีการจัดทำระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน มอก. 17025 (ISO/IEC 17025) ถ้าห้องปฏิบัติการทดสอบใดที่สามารถจัดทำระบบคุณภาพตามข้อกำหนดของมาตรฐานดังกล่าวได้ จะได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบจากสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) กระทรวงอุตสาหกรรม และสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (สมป.) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งเป็นการยกระดับมาตรฐานห้องปฏิบัติการให้เป็นที่ยอมรับทั้งในและต่างประเทศ

สรุป

ผลการตรวจสอบสินค้าเกษตรของไทย จำนวน 432 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนเมษายน 2555 ถึง เดือนเมษายน 2560 พบว่ามีสิ่งแปลกปลอม 149 ตัวอย่าง จากแมลงมีชีวิตและไม่มีชีวิต รวมถึงชิ้นส่วนแมลงและขนสัตว์ ทั้งที่มองเห็นด้วยตาเปล่า และมองเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คิดเป็นร้อยละ 34.40 ทำให้สินค้าเกษตรไม่เป็นไปตามมาตรฐานและถูกปฏิเสธจากลูกค้า ดังนั้น ผู้ผลิตควรปฏิบัติตามหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหาร ซึ่งเป็นเกณฑ์ขั้นต่ำในควบคุมการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมาตรฐานและเป็นที่ยอมรับของลูกค้า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ นายก่อเกียรติ ศาสตรินทร์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ นางกนกวรรณ นุชนิยม นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ และนางจำปา เปลี่ยนกลิ่น พนักงานห้องทดลอง ฝ่ายกายภาพ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยเตรียมตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์ และทำให้งานนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ โดยความร่วมมือจากกรมศุลกากร. สถิติการค้าระหว่างประเทศของไทย ปี 2535-2565 (มกราคม - กรกฎาคม). [ออนไลน์]. 2565; [สืบค้น 4 ก.พ. 2565]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://tradereport.moc.go.th /Report/Default.aspx?Report=TradeThBalanceYearly.
2. Gorham JR, editor. Ecology and management of food-industry pests. Virginia: Association of Official Analytical Chemists; 1991. p. 491-494.
3. Gorham JR, editor. Principle of food analysis for filth, decomposition and foreign matter, FDA Technical Bulletin No. 1. 3rd ed. Washington, DC: AOAC International; 1993. p. 83-94.
4. Whitlock LL, Chapter editor. Chapter 16, Extraneous materials: isolation. In: Official method of analysis of AOAC international. 21st ed. Maryland: AOAC International; 2019. p. 1-6.

5. Food and Drug Administration. Macroanalytical procedures manual. FDA Technical Bulletin Number 5. Washington, DC: AOAC International; 1984.
6. Gentry JW, Harris KL. Microanalytical entomology for food sanitation control. Florida: LithoGraphics Almonte Springs; 1991.
7. พรทิพย์ วิสารทานนท์, อัจฉรา เพชรโชติ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การควบคุมศัตรูผลิตผลเกษตร เรื่อง แมลงศัตรูผลิตผลเกษตรและแมลงศัตรูธรรมชาติ. วันที่ 9-11 กรกฎาคม 2551. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2551.
8. พรทิพย์ วิสารทานนท์, พรรณเพ็ญ ชโยภาส, ใจทิพย์ อุไรชื่น, รังสิมา เก่งการพานิช, กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม, จิราภรณ์ ทองพันธ์, และคณะ. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2551.

Foreign Matters Examinations in Exported Agricultural Products During 2012-2017

Kuntong Pednog

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Agricultural products are important to Thailand economy, especially the exports, which generate high income into the country. However, some products were rejected due to the problem of foreign matters (filth). In order to assess the quality of agricultural products prior to the export distribution, it is necessary to determine from a domestic agency. In this study, the samples were obtained from the Thai Food and Drug Administration, manufacturers or exporters for inspection during April 2012 to April 2017 as a total of 432 samples consisting of noodles, grains, spices, and flour products for 179, 131, 62, and 60 samples, respectively. The test methods were the macroscopic and microscopic examinations. As a result, a total of 149 samples (34.49%) did not meet the standard criteria due to the living insects, non-living insects, insect fragments, and animal hair. Among these samples, the noodles, grains, spices, and flour products were failed for 71, 41, 23, and 14 samples, respectively, calculated as 39.66%, 31.30%, 37.10%, and 23.33%, respectively. Therefore, the requirement on Good Manufacturing Practices (GMPs) should be emphasized by the manufacturers on every processing step to assure that the quality of products will be acceptable from the importing country.

Keywords: Foreign matters, Exported agricultural products, Light filth

THE BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

The Bulletin of the Department of Medical Sciences is an official publication of the Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. It is devoted to the dissemination of knowledge concerning medical sciences and the facilitation of co-operation among scientists.

Owner	Department of Medical Sciences,	Ministry of Public Health
Administrative Advisor	Supakit Sirilak	Phichet Banyati
	Ballang Uppapong	Piya Sirilak
Technical Advisor	Pimjai Naigowit	Sumol Pavitranon
	Panadda Silva	Duanthanorm Promkhatkaew
	Busarawan Sriwanthana	
Executive Editor	Prapai Wongsinkongman	
Editor	Apiwat Tawatsin	
Assistant Editor	Siripakorn Sangkitporn	Uruyakorn Chansang
	Nuanjan Wichukchinda	
Editorial Board	Pilaipan Puthavathana	Mahidol University
	Prasert Auewarakul	Mahidol University
	Danai Tiwawech	Naresuan University
	Suwanna Charunut	Huachiew Chalermprakiet University
	Padet Siriyasatien	Chulalongkorn University
	Pornpimol Kongtip	Mahidol University
	Srisurang Tantimavanich	Mahidol University
	Sunee Sirivichayakul	Chulalongkorn University
	Chanitra Thuwajit	Mahidol University
	Pintip Pongpech	Independent Scholar
	Salakchit Chutipongvivate	Independent Scholar
	Usavadee Thavara	Independent Scholar
	Suthon Vongsheree	Independent Scholar
	Wichuda Jariyapan	Independent Scholar
	Supanee Duangteraprecha	Independent Scholar
	Nuanchawee Wetprasit	Independent Scholar
	Wantana Paveenkittiporn	Department of Medical Sciences
	Piyada Wangroongsarb	Department of Medical Sciences
Administration	Numfon Noiprasert	Department of Medical Sciences
	Prasan Julwong	Department of Medical Sciences
	Aphimon Jiraphongsathorn	Department of Medical Sciences
	Navy Srivarom	Department of Medical Sciences
	Pawinee Sukcharoen	Department of Medical Sciences

Office Department of Medical Sciences
88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand.
Tel. 0-2951-0000 Fax: 0-2951-1297

Printed by Thanaaroonkarnpim Co., Ltd.
457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200
Tel. 0-2282-6033-4

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

80 ปี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วิจัยและพัฒนา เพื่อสุขภาพที่ดีของคนไทย

https://bit.ly/BullDmsc