

เอกสารวิชาการ

เรื่องที่ 1

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของเซลล์โมเนลลาในเนื้อไก่
จากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค

โดย

นางสาวบุณิกา จุลละโพธิ

นางธนิดา หรินทรานนท์

นายศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ

เลขทะเบียนวิชาการเลขที่ : 57(2)-0312-074

สถานที่ดำเนินการ : สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

ระยะเวลาดำเนินการ : มิถุนายน – ธันวาคม 2556

การเผยแพร่ : เว็บไซต์สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์

หัวข้อ งานวิจัย/วิชาการ <http://www.dld.go.th/certify>

: Journal of Applied Animal Science, Vol.6 No.3

September – December 2013, p.46-52

Quantitative microbial risk assessment of *Salmonella* spp. in Chicken meat from retail fresh market to the consumer

Bunika Chullabodhi^{1*}, Thanida Harintharanon¹, Suphachai Nuanualsuwan²

¹Bureau of Livestock Standard and Certification, Department of Livestock Development
69/1 Phayathai road., Ratchathewi district, Bangkok, THAILAND 10400.

²Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University,
Henri Dunant road, Patumwan, Bangkok, THAILAND 10330.

*Corresponding author, E-mail address: bunikarc@dld.go.th

Abstract

The objective of this study is to determine the adverse health effect caused by *Salmonella* spp. contaminated in the chicken meat and cooked chicken meat from retailer in fresh market to consumer by quantitative microbial risk assessment. The hazard in this study is *Salmonella* spp. in chicken meat and cooked chicken meat. For the exposure assessment, 10 samples of chicken meat were sampled three times from fresh market in 6 Bangkok divisions and 3 peripheral provinces, Nonthaburi, Patumtani, and Samutsakorn. A total of 540 samples have been detected and enumerated for prevalence and concentration of *Salmonella* spp. The mean prevalence was 79.63% and concentration 3 – 88 MPN/g. For this study the highest concentration at 88 MPN/g (1.94 log MPN/g) was used as worst case scenario. The growth during retail storage including transport to household and the survival of thermal inactivation were described by an exponential and log linear model, respectively. *Salmonella* spp. increased to 2.32 log MPN/g during 12 hr of storage at 10°C. *Salmonella* spp. concentration and after transport from retail to household about 1 hr at 17°C increased again to 2.83 log MPN/g. However, assuming that thermal inactivation by cooking was at 64°C core temperature for 1 min. *Salmonella* spp. became 0.76 log MPN/g. *Salmonella* spp. prevalence was assumed to be constant at 79.63%. The chicken meat consumption was about 9.77 g/person/day. The prevalence including concentration of *Salmonella* spp. in chicken meat and chicken meat consumption was used to calculate probability of receiving at least one *Salmonella* spp. from chicken meat consumption which is 0.7963. For hazard characterization, the dose response model estimates the probability of illness (P_{ill}) at 0.09326. The risk characterization was the integration of exposure and illness. Risk estimate of *Salmonella* spp. in chicken meat was 0.07426. Risk management options are recommended to control *Salmonella* spp. contamination along the food chain.

Keywords : quantitative microbial risk assessment, *Salmonella* spp., chicken meat

Research Paper No. : 57(2)-0312-074

การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ จากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค

บุณิกา จุลละโพธิ^{1*} ธนิตา หรินทรานนท์¹ ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ²

¹ สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ 69/1 ถ.พญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

² ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีตุนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

* ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: bunikarc@dld.go.th

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อประเมินผลกระทบจากแซลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่สดและเนื้อไก่ปรุงสุกจากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค อันตรายที่ใช้ในการศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ คือ แซลโมเนลลา โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเนื้อไก่สดจากตลาดสด 6 พื้นที่ในกรุงเทพมหานคร และ 3 จังหวัดในเขตปริมณฑล คือ จังหวัดนนทบุรี จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสมุทรสาคร จำนวน 3 ครั้ง 10 ตัวอย่างต่อครั้ง จะได้ตัวอย่างทั้งสิ้น 270 ตัวอย่าง เพื่อหาค่าความชุกและความเข้มข้นของแซลโมเนลลา ผลที่ได้คือ ความชุกเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 79.63 และความเข้มข้นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3 – 88 MPN/g ในการศึกษาครั้งนี้ จะใช้ความเข้มข้นสูงสุด 88 MPN/g ($1.94 \log \text{MPN/g}$) ใช้แบบจำลอง exponential อธิบายการเพิ่มจำนวนแซลโมเนลลาที่ระดับค้าปลีกซึ่งวางจำหน่ายในตลาดสด และระดับการขนส่งถึงระดับครัวเรือนของผู้บริโภค ผลที่ได้ในระหว่างการวางจำหน่ายที่ตลาดสด ณ อุณหภูมิ 10 °C ระยะเวลา 12 ชั่วโมง แซลโมเนลลาเพิ่มจำนวนเป็น $2.32 \log \text{MPN/g}$ ในระหว่างการขนส่งจากตลาดสดถึงครัวเรือนของผู้บริโภค ณ อุณหภูมิ 17 °C ระยะเวลา 1 ชั่วโมง แซลโมเนลลาเพิ่มจำนวนเป็น $2.83 \log \text{MPN/g}$ และใช้แบบจำลอง log linear อธิบายการลดจำนวนแซลโมเนลลาในระดับครัวเรือนเพื่อการบริโภค ผลที่ได้จากการปรุงอาหารเป็นเนื้อไก่ปรุงสุกด้วยความร้อน 64°C ระยะเวลา 1 นาที แซลโมเนลลาลดจำนวนเหลือ $0.76 \log \text{MPN/g}$ ผลจากการศึกษาพบว่า เมื่อกำหนดค่าความชุกแซลโมเนลลาที่ร้อยละ 79.63 และปริมาณการบริโภคเนื้อไก่ของประชากรไทยโดยเฉลี่ย 9.77 g/คน/วัน ความน่าจะเป็นที่จะได้รับแซลโมเนลลาจากเนื้อไก่ เท่ากับ 0.7963 ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจากแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ เท่ากับ 0.09326 และความเสี่ยงจากการเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคเนื้อไก่ที่มีการปนเปื้อนด้วยแซลโมเนลลา เท่ากับ 0.07426 ซึ่งผลจากการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณแสดงให้เห็นว่า ควรมีการจัดทำมาตรการด้านการจัดการความเสี่ยง เพื่อควบคุมแซลโมเนลลาในทุกขั้นตอนการผลิต

คำสำคัญ : ประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณ แซลโมเนลลา เนื้อไก่

ทะเบียนวิชาการเลขที่ : 57(2)-0312-074

บทนำ (Introduction)

แซลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) เป็น genus หนึ่งของแบคทีเรียใน family Enterobacteriaceae มีรูปร่างลักษณะเป็นแท่ง (rod shape) ติดสีแกรมลบ (gram negative) เจริญเติบโตได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ (facultative anaerobe) มีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่และสิ่งแวดล้อมภายนอกตัวของสิ่งมีชีวิต ทำให้พบว่ามีแซลโมเนลลามากมายหลายชนิด ทั้งนี้ ยังสามารถพบแซลโมเนลลาได้เกือบทุกแห่งทั่วโลก โดยแซลโมเนลลาที่พบมากที่สุด คือ *Salmonella* Enteritidis ตามมาด้วย *Salmonella* Typhimurium โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากแซลโมเนลลา เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขที่พบได้เกือบทุกแห่งทั่วโลก และมีแนวโน้มที่จะมีอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้น (ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ 2549) ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้มีรายงานจำนวนผู้ที่ป่วยจากโรค Salmonellosis ระหว่างปี 2536 – 2540 มีจำนวน 32,610 ราย หรือคิดเป็นร้อยละ 37.9 ของจำนวนผู้ป่วยจากโรคของแบคทีเรียที่ติดต่อทางอาหาร ในจำนวนนี้มีผู้ที่เสียชีวิต 13 ราย หรือคิดเป็นร้อยละ 44.8 ของจำนวนผู้ที่เสียชีวิตจากโรคของแบคทีเรียที่ติดต่อทางอาหาร นับว่าแซลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียอันดับหนึ่งที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยและตายจากการบริโภคอาหาร (Olsen et al. 2000)

ในประเทศไทย แซลโมเนลลาเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญ การควบคุมอุบัติการณ์วิธีหนึ่ง คือ การลดการแพร่กระจายของแซลโมเนลลาจากอาหารที่มาจากสัตว์ (foods from animal origins) (ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ 2549) หน่วยงานของรัฐบาลที่ทำหน้าที่กำกับดูแลด้านความปลอดภัยของอาหาร เช่น กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จำเป็นที่จะต้องมีการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของแซลโมเนลลาในอาหารทุกขั้นตอนการผลิต ตั้งแต่การผลิตสัตว์ การเชือดและชำแหละ การแปรรูป การเก็บรักษา การขนส่ง การกระจายสินค้า การวางจำหน่าย จนกระทั่งถึงครัวเรือนของผู้บริโภค การเฝ้าระวังการปนเปื้อนของแซลโมเนลลาในอาหารทุกขั้นตอนการผลิตจึงมีความสำคัญ เนื่องจากหากมีการปนเปื้อนแซลโมเนลลาในบางขั้นตอนของการผลิตแล้ว แซลโมเนลลาก็จะคงตัวอยู่ในอาหารจนกระทั่งผ่านไปถึงผู้บริโภค และมีความเป็นไปได้ที่ผู้บริโภคจะเจ็บป่วยจากโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ วิธีการเก็บรักษาอาหารที่ไม่เหมาะสมในแต่ละขั้นตอนการผลิต จะทำให้แซลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในอาหารเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้น เป็นการเพิ่มโอกาสให้ผู้บริโภคเกิดความเจ็บป่วยหรือมีระดับความเสี่ยงต่อโรคอาหารเป็นพิษสูงมากขึ้นตามลำดับ ทั้งนี้ หากมีขั้นตอนการผลิตที่สามารถทำลายหรือกำจัดแซลโมเนลลาให้มีจำนวนลดน้อยลงได้ ก็จะเป็นการลดโอกาสในการเกิดความเจ็บป่วยของผู้บริโภคหรือมีระดับความเสี่ยงต่อโรคอาหารเป็นพิษลดน้อยลงตามลำดับเช่นเดียวกัน ดังนั้น การเฝ้าระวังการปนเปื้อนของแซลโมเนลลาในอาหาร จึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการตรวจสอบระดับการปนเปื้อนแซลโมเนลลาในขั้นตอนต่างๆ ของขั้นตอนในการผลิต

ปัจจุบัน แนวทางในการควบคุมโรคอาหารเป็นพิษของคณะกรรมการโคเด็กซ์ (the Codex Alimentarius Commission: CAC) ซึ่งเป็นองค์การระหว่างประเทศในการกำหนดมาตรฐานอาหารระดับสากลได้แนะนำไว้ คือ การวิเคราะห์ความเสี่ยง (risk analysis) ประกอบด้วย 3 กระบวนการที่มีความเชื่อมโยงสัมพันธ์กัน การประเมินความเสี่ยง (risk assessment) เป็นกระบวนการประเมินเพื่อให้ทราบถึงระดับความเสี่ยงของผู้บริโภค ซึ่งหากค่าประมาณความเสี่ยงที่ประเมินได้มีระดับสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ก็จะต้องมีการควบคุมหรือลดระดับความเสี่ยงให้อยู่ในเกณฑ์ โดยกระบวนการที่เรียกว่า การจัดการความเสี่ยง (risk management) และการสื่อสารความเสี่ยง (risk communication) คือ กระบวนการของผู้ที่ประเมินความเสี่ยงและผู้จัดการความเสี่ยงมีดำเนินการติดต่อและประสานงานกัน เชื่อมโยงองค์ความรู้ในการประเมินความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยง รวมถึงการให้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความเสี่ยงไปยังผู้ที่เกี่ยวข้องทุกฝ่าย

(FAO/WHO 2012) ทั้งนี้ ให้หมายรวมถึง 3 ภาคหลัก คือ ภาคเอกชนที่ทำหน้าที่ผลิต แปรรูป นำเข้า ส่งออก และจัดจำหน่ายอาหาร ภาครัฐบาลที่ทำหน้าที่กำกับดูแลความปลอดภัยของอาหาร และภาคผู้บริโภคซึ่งเป็นผู้ที่ได้รับผลกระทบหรือความเสี่ยงในการบริโภคอาหารในขั้นตอนสุดท้ายของห่วงโซ่อาหาร (food chain) (ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ 2549)

การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณ (quantitative microbial risk assessment: QMRA) สามารถใช้เป็นเครื่องมือสำคัญในการประมาณค่าความเสี่ยง (risk estimate) เช่น จำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคแซลโมเนลลา ที่อาจจะเกิดการปนเปื้อนในเนื้อไก่ การประเมินความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณตามที่คณะกรรมการอาหารโคเด็กซ์ได้แนะนำไว้ เป็นกระบวนการที่ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ คือ การระบุอันตราย (hazard identification) การอธิบายอันตราย (hazard characterization) การประเมินการสัมผัส (exposure assessment) และการอธิบายความเสี่ยง (risk characterization)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เป็นการประเมินผลกระทบจากแซลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่สด และเนื้อไก่ปรุงสุกจากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค ซึ่งผลจากการประเมินผลกระทบจะทำให้สามารถทราบค่าประมาณความเสี่ยงพื้นฐานของเนื้อไก่ และสามารถนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการกำหนดระดับการปนเปื้อนแซลโมเนลลาในทุกขั้นตอนการผลิต และเพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังทางด้านความปลอดภัยของการปนเปื้อนแซลโมเนลลาในเนื้อไก่

อุปกรณ์และวิธีการ (Material and Methods)

วิธีการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของแซลโมเนลลา ตามที่คณะกรรมการโคเด็กซ์ได้แนะนำไว้ ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ

1. การระบุอันตราย จุลินทรีย์ก่อโรคที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ แซลโมเนลลา (*Non-typhoidal Salmonella* spp.) เป็นขั้นตอนในการทบทวนและยืนยันการเจ็บป่วยจริง โดยเกิดจากแซลโมเนลลาที่อาจมีการปนเปื้อนในเนื้อไก่ และเป็นขั้นตอนในการเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงจำนวนแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ที่อาจมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นหรือถูกทำลายลง ทำให้จำนวนของแซลโมเนลลาลดลงทุกขั้นตอนการผลิตได้ (Lammerding and Fazil 2000)

2. การอธิบายอันตราย เป็นการประเมินความน่าจะเป็นหรือจำนวนผู้ป่วยที่ต่อเนื่องจากการสัมผัสกับจุลินทรีย์ก่อโรค (P_{ill}) โดยอาศัยข้อมูลจากการประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3) ขั้นตอนนี้จะอาศัยแบบจำลองในรูปของสมการคณิตศาสตร์ในการวิเคราะห์ เรียกว่า Dose – Response model ซึ่งจะประมาณจำนวนผู้เจ็บป่วย ซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ก่อโรค (ไม่ขึ้นกับชนิดของอาหาร) (Buchanan et al. 2000) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แบบจำลอง Beta – Poisson ดังสมการ (1)

$$P_{ill} = 1 - \left(1 + \frac{Dose}{\beta} \right)^{-\alpha} \quad (1)$$

α เท่ากับ 0.1324

β เท่ากับ 51.45

Dose คือ จำนวนแซลโมเนลลาที่เข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคเนื้อไก่ คำนวณได้จากผลคูณของความเข้มข้นของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ปรุงสุกที่ผ่านการปรุงอาหารด้วยความร้อนแล้ว (log MPN/g) และปริมาณการบริโภคเนื้อไก่ต่อวัน (g/day) (FAO/WHO 2012)

3. การประเมินการสัมผัส เป็นขั้นตอนในการคำนวณโอกาสในการบริโภคเนื้อไก่ที่มีการปนเปื้อนด้วยแซลโมเนลลา โดยอาศัยข้อมูลความชุกและจำนวนแซลโมเนลลาที่ปนเปื้อนอยู่ในเนื้อไก่ รวมถึงปริมาณในการบริโภคเนื้อไก่ (Lammerding and Fazil 2000) และศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของจำนวนแซลโมเนลลาในทุกขั้นตอนการผลิต ตั้งแต่ขั้นตอน การผลิตสัตว์ การฆ่าสัตว์ การแปรรูป การเก็บรักษาเนื้อสัตว์ การขนส่ง และการกระจายสินค้า จนกระทั่งถึงครัวเรือนของผู้บริโภค บางขั้นตอนในการผลิตอาจจะทำให้แซลโมเนลลา มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้น ในขณะที่บางขั้นตอนอาจจะทำลายหรือกำจัดแซลโมเนลลาให้มีจำนวนลดน้อยลงก็ได้

การศึกษานี้ได้คำนวณตัวอย่าง ณ ระดับความเชื่อมั่น 95% ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error) 0.05 และความชุก 50% (ค่าความชุกที่คำนวณแล้วต้องการจำนวนตัวอย่างสูงสุด) ต้องเก็บอย่างน้อย 100 ตัวอย่าง อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างเนื้อไก่สดจากตลาดสด รวมจำนวนทั้งสิ้น 270 ตัวอย่าง ในเขตกรุงเทพมหานคร ซึ่งแบ่งเป็น 6 พื้นที่ รวมถึงจังหวัดในเขตปริมณฑล คือ จังหวัดนนทบุรี จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดสมุทรสาคร เก็บทั้งหมด 3 ครั้ง จำนวน 10 ตัวอย่าง/ครั้ง และส่งตรวจวิเคราะห์เพื่อหาค่าความชุกและค่าความเข้มข้นของแซลโมเนลลาที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

1) ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ด้วยวิธีมาตรฐาน EN ISO 6579: 2002/A1:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Amendment 1: Annex D: Detection of *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002/A1:2007) จะได้ค่าความชุกของแซลโมเนลลา (prevalence of *Salmonella* spp.)

2) ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ด้วยวิธี Most Probable Method (MPN) ชนิด 3 หลอด (3-tubes series MPN) โดยการชั่งเนื้อไก่ตัวอย่าง 25 กรัม และนำมาเจือจางด้วย buffered peptone water (BPW) 225 มล. ซึ่งจะได้การเจือจาง 10^{-1} จากนั้นจึงทำการเจือจาง 10 เท่าอย่างต่อเนื่อง (10-fold serial dilution) อีก 2 ครั้ง จะได้การเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} ตามลำดับ ดึงตัวอย่าง 1 มล. จากระดับการเจือจาง 10^{-1} ใส่ใน Rappaport Vassiliadis medium with soya broth จำนวน 3 ซ้ำ และดำเนินการในลักษณะเดียวกันกับการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3} นำไปเพาะเชื้อเพื่อสังเกตการเจริญเติบโต และการยืนยันแซลโมเนลลาจากจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละการเจือจาง นำไปหา MPN index จากตาราง MPN จะได้ค่าความเข้มข้นแซลโมเนลลา (concentration of *Salmonella* spp.) (Andrew et al. 2011 และ Blodgett 2010)

จากการสืบค้นระบบของฐานข้อมูลปริมาณอาหารที่คนไทยบริโภค ในกลุ่มประชากรไทยที่มีอายุมากกว่า 3 ปีขึ้นไป ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 97.5 ของปริมาณอาหารที่บริโภคเฉพาะผู้ที่บริโภค (Eater only) ของสำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ที่ website: <http://consumption.acfs.go.th/index.php> พบว่าข้อมูลการบริโภคเนื้อไก่โดยเฉลี่ยของประชากรไทยโดยประมาณ 9.77 g/คน/วัน (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ 2550)

เนื่องจากแซลโมเนลลาเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการปรับตัวได้ดี และสามารถเพิ่มจำนวนในอาหารได้หากมีการเก็บรักษาอาหารไว้ในสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแซลโมเนลลา โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของแซลโมเนลลาในอาหาร เช่น อุณหภูมิ (temperature) ความเป็นกรดต่าง (pH) ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในเนื้อไก่ (water content) อากาศหรือออกซิเจน เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเก็บรักษาเนื้อไก่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยอุณหภูมิ ดังสมการ (2)

$$\log / hr = e^{(-6.2251+0.3234 TEMP-0.0045 TEMP^2)} \quad (2)$$

อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อไก่ เป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ ทั้งนี้ อุณหภูมิจะทำหน้าที่ในการกำหนดอัตราการเจริญเติบโตต่อหนึ่งหน่วยเวลา โดยทั่วไปแล้วแซลโมเนลลาจะมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นใกล้เคียงกับอุณหภูมิร่างกาย และระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อไก่ จะทำให้ทราบจำนวนแซลโมเนลลาที่เจริญเติบโตจริงของอุณหภูมิที่เก็บรักษาเนื้อไก่ ในการศึกษาครั้งนี้ จะพิจารณาสภาวะการเก็บรักษาเนื้อไก่สดจากโรงฆ่าไก่ถึงครัวเรือนของผู้บริโภค แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนหลัก คือ

1) สภาวะการวางจำหน่ายเนื้อไก่สดในตลาดสด คือ อุณหภูมิ 10°C ใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมง (ศุภชัยและโอภาส 2550) เมื่อแทนค่า 10°C ในสมการ (2) จะได้อัตราการเจริญเติบโตของแซลโมเนลลา ที่อุณหภูมิ 10°C คือ 0.38 log (FAO/WHO 2012)

2) สภาวะการเก็บรักษาเนื้อไก่สด ในขั้นตอนการขนส่งจากตลาดสดถึงครัวเรือนของผู้บริโภค คือ อุณหภูมิ 17°C ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง (ศุภชัยและโอภาส, 2550) เมื่อแทนค่า 17°C ในสมการ (2) จะได้อัตราการเจริญเติบโตของแซลโมเนลลาที่อุณหภูมิ 17°C คือ 0.51 log (FAO/WHO 2012)

ขั้นตอนต่อไปหลังจากเนื้อไก่สดถึงครัวเรือนของผู้บริโภค คือ การปรุงอาหารด้วยความร้อนเป็นเนื้อไก่ปรุงสุก ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สามารถลดความเข้มข้นหรือกำจัดแซลโมเนลลาลงได้ ตามสัดส่วนของระยะเวลาในการปรุงอาหาร จากข้อมูลตามรายงานของ FAO/WHO (2012) พบว่า ความร้อนของการปรุงอาหารอยู่ที่อุณหภูมิ 64°C ใช้ระยะเวลาประมาณ 1 นาที อัตราการทำลายแซลโมเนลลาที่อุณหภูมิ 64°C จะคำนวณได้จากสมการ (3)

$$\text{Log reduction} = \frac{\text{Inactivation time}}{D_{64}} \quad (3)$$

โดยที่ D_{64} ของแซลโมเนลลาเท่ากับ 0.48 นาที
ระยะเวลาในการปรุงอาหาร (Inactivation Time) เท่ากับ 1 นาที

เมื่อแทนค่าลงไปในสมการ (3) ก็จะได้การทำลายแซลโมเนลลา คือ 2.07 log จากนั้น จึงคำนวณความน่าจะเป็นในการสัมผัสกับแซลโมเนลลา (Probability of Exposure) โดยอาศัยสมการ (4)

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

โดยที่ P คือ ความชุก (Prevalence) ของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ คำนวณจากสัดส่วนจำนวนตัวอย่างเนื้อไก่ที่ตรวจวิเคราะห์พบการปนเปื้อนแซลโมเนลลาต่อจำนวนตัวอย่างเนื้อไก่ทั้งหมดที่ตรวจ Dose คือ จำนวนแซลโมเนลลาที่เข้าสู่ร่างกาย ดังเช่นสมการ (1) (FAO/WHO 2012)

4. การอธิบายความเสี่ยง เป็นขั้นตอนในการคำนวณจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคเนื้อไก่ที่ปนเปื้อนแซลโมเนลลา ขั้นตอนนี้เป็นกระบวนการเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการอธิบายอันตราย (ขั้นตอนที่ 2) และขั้นตอนการประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3) เข้าด้วยกัน จากนั้นจึงนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์และคำนวณได้เป็นค่าประมาณความเสี่ยง ซึ่งก็คือ ระดับความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจากการบริโภคเนื้อไก่ หรือจำนวนผู้ป่วยต่อจำนวนประชากรที่บริโภคเนื้อไก่ (Buchanan et al. 2000)

คำนวณค่าประมาณความเสี่ยง ดังสมการ (5)

$$\text{Risk} = P_E \times P_{ill} \quad (5)$$

โดยที่ P_E มาจากในสมการ (4) จากขั้นตอนการประเมินการสัมผัส (ขั้นตอนที่ 3)

P_{ill} มาจากในสมการ (1) จากขั้นตอนการอธิบายอันตราย (ขั้นตอนที่ 2)

ผลการทดลอง (Results)

ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric Mean) ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่สด ณ ตลาดสด ดังตารางที่ 1 อยู่ระหว่าง 3 – 88 MPN/g อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้จะใช้ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาสูงสุดในเนื้อไก่ 88 MPN/g หรือ 1.94 log MPN/g เพราะการเลือกสภาวะที่เลวร้ายที่สุด (Worst Case Scenario) จะทำให้ได้ค่าความเสี่ยงสูงสุด ซึ่งสามารถครอบคลุมเนื้อไก่ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า และเพื่อกำหนดการจัดการความเสี่ยงที่เข้มงวด

ตารางที่ 1 ความชุก (%) และความเข้มข้นของแซลโมเนลลา (MPN/g) ในเนื้อไก่สดจากตลาดสด

| เขต / จังหวัด | ความชุก* | ค่าต่ำสุด | ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ความเข้มข้น | Estimated 90 th Percentile | ค่าสูงสุด |
|-----------------------|---------------|-----------|----------------------------------|--|-----------|
| กรุงเทพมหานคร | 90 (27/30) ** | 2.9 | 16 | 87 | 120 |
| กรุงเทพมหานครตะวันออก | 67 (20/30) | 2.9 | 12 | 84 | 120 |
| กรุงเทพมหานครเหนือ | 100 (30/30) | 3.5 | 66 | 375 | 1,100 |
| กรุงเทพมหานครใต้ | 73 (22/30) | 2.9 | 12 | 84 | 120 |
| ธนบุรีเหนือ | 100 (30/30) | 2.9 | 88 | 693 | 1,200 |
| ธนบุรีใต้ | 80 (24/30) | 2.9 | 22 | 156 | 1,100 |
| นนทบุรี | 50 (15/30) | 2.9 | 14 | 176 | 1,100 |
| ปทุมธานี | 100 (30/30) | 3.6 | 87 | 595 | 1,100 |
| สมุทรสาคร | 57 (17/30) | 0.3 | 3 | 33 | 93 |

* ค่าความชุกเฉลี่ยร้อยละ 79.63

** (จำนวนบวกต่อแซลโมเนลลา / จำนวนตัวอย่าง)

ระดับความเข้มข้นของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่สด มีการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ขั้นตอนจากการวางจำหน่ายที่ตลาดสด การขนส่ง และลดลงหลังจากเนื้อไก่สดผ่านความร้อนเป็นเนื้อไก่ปรุงสุก มีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแซลโมเนลลาตั้งแต่โรงฆ่าไก่ถึงการบริโภค

เนื้อไก่สดจากโรงฆ่าไก่ได้วางจำหน่ายที่ตลาดสด ณ อุณหภูมิ 10°C โดยการวางจำหน่ายใช้ระยะเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง ดังนั้น

- ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาเพิ่มจำนวนขึ้นมา $= 0.38 \text{ log}$
- ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาจากตลาดสดจึงมีความเข้มข้น $= 1.94 \text{ log} + 0.38 \text{ log}$
 $= 2.32 \text{ log MPN/g}$

เนื้อไก่สดจากการวางจำหน่ายที่ตลาดสด ได้ขนส่งถึงครัวเรือนของผู้บริโภค ณ อุณหภูมิ 17°C โดยการขนส่งใช้ระยะเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ดังนั้น

- ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาเพิ่มจำนวนขึ้นมาอีก $= 0.51 \text{ log}$
- ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาในครัวเรือนจึงมีความเข้มข้น $= 2.32 \text{ log} + 0.51 \text{ log}$
 $= 2.83 \text{ log MPN/g}$

ในระดับครัวเรือน เนื้อไก่สดที่ได้ผ่านการปรุงอาหารเป็นเนื้อไก่ปรุงสุก โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 64°C เป็นระยะเวลา 1 นาที ดังนั้น

- ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาลดลง $= 2.07 \text{ log}$
- ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาหลังปรุงอาหารจึงมีความเข้มข้น $= 2.83 \text{ log} - 2.07 \text{ log}$
 $= 0.76 \text{ log MPN/g}$

การศึกษานี้มีข้อสมมุติฐานว่า ความชุกของแซลโมเนลลาตั้งแต่ระดับค่าปัสติกถึงระดับคริวเรือนไม่มีการเปลี่ยนแปลง เท่ากับร้อยละ 79.63 (จำนวนบวกต่อแซลโมเนลลา 215 ตัวอย่าง/จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 270 ตัวอย่าง) ปริมาณการบริโภคเนื้อไก่ของคนไทยโดยเฉลี่ยประมาณ 9.77 g/คน/วัน เมื่อคูณกับความเข้มข้นแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ $0.76 \log \text{ MPN/g}$ (5.76 MPN/g) จะได้เป็นปริมาณแซลโมเนลลาที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย (Dose) เท่ากับ 56.32 MPN

- เมื่อแทนค่าความชุก (ร้อยละ 79.63) และปริมาณแซลโมเนลลา (56.32 MPN) ลงในสมการ (4) จะได้ความน่าจะเป็นที่จะได้รับสัมผัสแซลโมเนลลาจากเนื้อไก่ (P_E) เท่ากับ 0.7963

- เมื่อแทนค่าปริมาณแซลโมเนลลา ลงในสมการ (1) ก็จะได้ความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจากแซลโมเนลลา (P_{ill}) เท่ากับ 0.09326

- เมื่อแทนค่า P_E และ P_{ill} ลงในสมการ (5) หรือ เป็นคูณกันของทั้ง 2 ค่า ก็จะได้ความเสี่ยงจากการเจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคเนื้อไก่ที่มีการปนเปื้อนด้วยแซลโมเนลลาเท่ากับ 0.07426

วิจารณ์ผล (Discussion)

ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่สดเริ่มต้นที่ผู้ค้าปลีกในตลาดสดในระดับ 88 MPN/g ต่อมาแซลโมเนลลาได้เพิ่มจำนวนจากการเจริญเติบโตใน 2 ขั้นตอน คือ การวางจำหน่ายที่ตลาดสด และการขนส่งจากตลาดสดถึงครัวเรือนของผู้บริโภค ทำให้แซลโมเนลลามีการเพิ่มจำนวนอย่างน้อย 2 – 7 เท่า เป็น 213 MPN/g และ 677 MPN/g ตามลำดับ ประกอบกับความชุกของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่อยู่ในระดับสูงประมาณร้อยละ 79.63 ทำให้ความน่าจะเป็นที่จะได้รับสัมผัสแซลโมเนลลาจากเนื้อไก่ เท่ากับ 0.7963 ซึ่งเป็นค่าที่สูงและความน่าจะเป็นในการเจ็บป่วยจากแซลโมเนลลาเท่ากับ 0.09326 หมายความว่า หากได้รับปริมาณแซลโมเนลลา 56.32 MPN จำนวน 100 ครั้ง จะมีโอกาสเจ็บป่วย 9 ถึง 10 ครั้ง

ความเข้มข้นของแซลโมเนลลาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เช่น การเก็บรักษาในระหว่างการวางจำหน่ายที่ตลาดสด และการขนส่ง เป็นต้น อาจจะมีมีความเข้มข้นของแซลโมเนลลาสูงกว่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากแซลโมเนลลาส่วนหนึ่งอาจจะปรับเปลี่ยนเซลล์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต หรือเรียกว่า viable but non culturable (VNC) หมายความว่า เซลล์ยังมีชีวิตอยู่แตเมื่อนำมาเพาะเชื้อ ในสภาวะที่เหมาะสมจะไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน ดังนั้น ความเข้มข้นที่สามารถวิเคราะห์ได้ในขั้นตอนการเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำอาจจะต้องมีการปรับให้สูงขึ้น หากสามารถแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่าแซลโมเนลลามีการปรับสภาวะเซลล์เป็น VNC ก็จะส่งผลให้ระดับความเสี่ยงมีระดับที่สูงขึ้นอีกด้วย (Reissbrodt et al. 2002)

ค่าประมาณความเสี่ยงของแซลโมเนลลาจากการบริโภคเนื้อไก่ จากการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ 0.07426 หมายความว่า ผู้บริโภคจำนวน 100 คน ที่บริโภคเนื้อไก่ จะมีผู้เจ็บป่วยประมาณ 7 ถึง 8 คน/วัน และจำนวนผู้ป่วยก็จะสูงมากขึ้นตามสัดส่วนของผู้บริโภค เช่น หากประชากรไทยทั้งประเทศจำนวน 65 ล้านคนบริโภคเนื้อไก่ จะมีประชากรไทยประมาณ 4,826,837 คน/ปี ที่จะป่วยด้วยแซลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่

เมื่อเปรียบเทียบกับความเสี่ยงของแซลโมเนลลาของประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า สัดส่วนการป่วยด้วยโรค salmonellosis จากการบริโภคผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก ประมาณ 0.00054 เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีจำนวนประชากรไทยทั้งประเทศ 65 ล้านคนบริโภคเนื้อไก่ จะมีประชากรประมาณ 34,846 คน/ปี ที่จะป่วยด้วยแซลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่ ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ความเสี่ยงจากการป่วยด้วยโรค salmonellosis ของประชากรไทยสูงกว่าความเสี่ยงของประชากรสหรัฐอเมริกาประมาณ 139 เท่า (Painter et al. 2013)

นอกจากนี้ จำนวนผู้ป่วยที่ป่วยเป็นโรค Food Poisoning และ Acute Diarrhea ในทุกผลิตภัณฑ์อาหารจากการรายงานของกระทรวงสาธารณสุข จะมีผู้ป่วยด้วยแซลโมเนลลาประมาณ 56,255 คน/ปี หรือประมาณ 154 คน/วัน (กรมควบคุมโรค, 2555)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนผู้ป่วย ตามการรายงานของกระทรวงสาธารณสุข (56,255 คน/ปี) และจำนวนผู้ป่วยด้วยแซลโมเนลลาที่มีสาเหตุจากบริโภคเนื้อไก่จากการศึกษาครั้งนี้ (4,826,837 คน/ปี) ก็จะเห็นได้ว่า ข้อมูลไม่สอดคล้องกัน กล่าวคือ จำนวนผู้ป่วยด้วยแซลโมเนลลาจากอาหารทุกชนิด มีจำนวนผู้ป่วยด้วยแซลโมเนลลาน้อยกว่าสาเหตุจากการบริโภคเนื้อไก่เพียงอย่างเดียว ดังนั้น ความเป็นไปได้ในการอธิบายความแตกต่างของประเด็นนี้ ยกตัวอย่างเช่น การเกิดโรคอาหารเป็นพิษทั้งหมดอาจจะมีได้เข้าสู่ระบบการรายงาน ทำให้จำนวนที่รายงาน มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง หรืออาจเกิดจากข้อมูลจากการศึกษาความชุกและความเข้มข้นของแซลโมเนลลา ในการศึกษาครั้งนี้มีคลาดเคลื่อนในลักษณะที่มากเกินไป ดังนั้น อาจจะต้องมีการ validate ผลการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณต่อไป

สรุปผลและข้อเสนอแนะ (Summary)

เนื้อไก่เป็นหนึ่งในปัจจัยการผลิตของอุตสาหกรรมการผลิตอาหารที่สำคัญ เพราะเนื้อไก่เป็นที่นิยมในการบริโภค มีการผลิต และวางจำหน่ายทั่วโลก แต่เนื้อไก่เป็นเนื้อสัตว์ที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของแซลโมเนลลาซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร และเนื่องจากการปนเปื้อนแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ สามารถเกิดขึ้นได้จากทุกขั้นตอนการผลิต โดยขั้นตอนที่มีโอกาสสูงในการปนเปื้อน คือ การวางจำหน่ายในตลาดสด และปัจจัยสำคัญในการกำหนดการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ คือ อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อไก่ ในการศึกษาการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่สดจากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค จะทำให้ทราบค่าประมาณความเสี่ยงพื้นฐานของเนื้อไก่ ซึ่งสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการกำหนดระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในกระบวนการผลิตอาหาร และสามารถใช้อ้างอิงที่ได้นำไปเปรียบเทียบระหว่างมาตรฐานความปลอดภัยของจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อไก่ภายในประเทศ มาตรฐานระหว่างประเทศ และมาตรฐานของประเทศที่นำเข้า หน่วยงานของภาครัฐ ซึ่งก็คือกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจในการพิจารณาเกณฑ์ หรือกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อไก่ หรือกำหนดมาตรการด้านการจัดการความเสี่ยง ในขั้นตอนการผลิต ตั้งแต่ในระดับฟาร์มเลี้ยงไก่เนื้อ โรงฆ่าไก่ โรงแปรรูปเนื้อไก่ การขนส่งซากไก่ การวางจำหน่ายและการเก็บรักษาเนื้อไก่ในระดับค้าปลีก ทั้งนี้ การให้ความรู้แก่ผู้บริโภคในการปรุงอาหารให้สุกที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม จะช่วยลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผู้บริโภคจะได้บริโภคอาหารที่มีความปลอดภัย

คำขอบคุณ (Acknowledgements)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์ชัยวัฒน์ พูลศรีกาญจน์ และคุณภัทรภร ชัยชนะ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์การวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อนของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ทางห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง (References)

- กรมควบคุมโรค 2555. สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรคประจำปี 2554. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข Available from: <http://www.boe.moph.go.th>
- ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ 2549. ความปลอดภัยของอาหาร (Food Safety). ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 715 หน้า
- ศุภชัย เนื่อนवलสุวรรณ และโอภาส วงศ์นิติพัฒน์ 2550. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง “ประเมินความเสี่ยงของลิสทีเรียโมโนไซโตจีเนสในผลิตภัณฑ์ไก่ 248 หน้า
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ 2550. ฐานข้อมูลปริมาณอาหารที่คนไทยบริโภค (Database of Food Consumption of Thai People) สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ Available from: <http://consumption.acfs.go.th/index.php>
- Buchanan, R. L., J. L. Smith, and W. Long. 2000. Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *Int. J. Food Microbiol.* 58:159-72.
- FAO/WHO 2012. Risk Assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological risk assessment series 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 302p.
- ISO 6579:2002/A1:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Amendment 1: Annex D: Detection of *Salmonella* spp.
- John A. Painter, Robert M. Hoekstra, Tracy Ayers, Robert V. Tauxe, Christopher R. Braden, Frederick J. Angulo, and Patricia M. Griffin. 2013. Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998–2008 *Emerging Infectious Diseases.* 19:404-415
- Lammerding, A. M., and A. Fazil. 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.* 58:147-57.
- Olsen, S. J., L. C. MacKinnon, J. S. Goulding, N. H. Bean, and L. Slutsker. 2000. Surveillance for foodborne-disease outbreaks United States, 1993-1997. *MMWR CDC Surveill Summ* 49:1-62.
- R. Reissbrodt, I. Rienaeker, J. M. Romanova, P. P. E. Freestone, R. D. Haigh, M. Lyte, H. Tschäpe and P. H. Williams 2002. Resuscitation of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* from the viable but nonculturable state by heat-stable enterobacterial autoinducer. *Appl. Environ. Microbiol.* October 68:4788-4794
- Robert Blodgett 2010. Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions In: *Bacteriological Analytical Manual (BAM)* United States Food and Drug Administration Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm>
- Wallace H. Andrews, Andrew Jacobson, and Thomas Hammack 2011. *Salmonella* In: *Bacteriological Analytical Manual (BAM)* United States Food and Drug Administration Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>