แบบประเมินบทความ/งานวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

ชื่อบทความ (ภาษาไทย) : การตรวจหาแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในสลัดพร้อมรับประทาน

(ภาษาอังกฤษ) : DETECTION OF PATHOGENIC BACTERIA CONTAMINATED IN READY-TO- EAT SALAD

| หัวข้อ | ระดับประเมิน 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | ข้อเสนอแนะ / ข้อคิดเห็น |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. บทคัดย่อ | | | | | / | 1. ในหัวเรื่อง ควรกำหนดขอบเขตพื้นที่ศึกษา<br>เช่น ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล<br>2. ในคำหลัก focus Salmonella spp. มากกว่า<br>ตามหัวข้อของบทคัดย่อ ซึ่งจะรู้เชื้อก่อโรค 2 ชนิด |
| 2. Abstract | | | | / | | |
| 3. บทนำ | | | | / | | พบมากกว่า ถ้าเน้นการเปรียบเทียบกับการตอบสนองโรค<br>ที่เกิดแล้วรุนแรง, การปรับวิธีการปรุง หรือสุขอนามัย<br>ในการตอบสนองเชื้อก่อโรคนี้ |
| 4. วัตถุประสงค์การวิจัย/การศึกษา | | | | / | | 3. การอ้างอิงภาษาไทย ให้ตรงกับภาษาอังกฤษ.<br>- ควรระบุ หรือรู้จัก การตอบสนองเชื้อก่อโรคที่ทำให้<br>อาการที่แสดงเป็นโรคปรากฏขึ้นของคน เช่น |
| 5. วิธีการวิจัย/วิธีการศึกษา | | | | / | | เชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นพิษ, เชื้อที่ทนกรด หรือเชื้อใดที่<br>ก่อให้เกิดอาการ.<br>- การทบทวน การปนเปื้อน ที่มาจากผู้ปรุงอาหาร<br>เช่น S. aureus เชื้อที่มักเป็นพาหะในผู้ปรุงอาหาร |
| 6. ผลการวิจัย/ผลการศึกษา | | | | / | | |
| 7. สรุปผลการวิจัย/สรุปผลการศึกษา | | | | / | | - ควรระบุรายละเอียดของการตรวจแยกเชื้อว่า<br>มาจากวัตถุดิบ หรือน้ำล้างผัก หรือโต๊ะ หรือ หลังจาก<br>แยกได้ |
| 8. อภิปรายผล/ข้อเสนอแนะ | | | | / | | - ควรระบุ เชื้อที่ตรวจพบที่มีการใช้ในการทำสลัดพร้อม<br>รับประทาน<br>- แสดงการอ้างอิงถึงวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการ<br>- ควรเพิ่มเติม การปนเปื้อน หรือเชื้อที่ให้เกิด<br>ภูมิคุ้มกัน งานดีมาก. |
| 9. เอกสารอ้างอิง | | | | / | | |
| 10. ความใหม่และคุณค่าทางวิชาการ | | | | | / | |

(ถ้ามีเอกสารแนบหรือข้อเสนอแนะเพิ่มเติม – ถ้ามี)

# การตรวจหาแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในสลัดพร้อมรับประทาน

วชิราพรรณ มุสิกา, ชนม์ชนก เมืองนาโพธิ์, อรษา สุตเธียรกุล, เฟื่องฟ้า อุตรารัชต์กิจ

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

email: musika33@hotmail.com

**บทคัดย่อ**

การบริโภคอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอุจจาระร่วงในประเทศไทย *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียก่อโรคซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคที่มีอาหารและน้ำเป็นสื่อ การศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินอัตราการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* spp. และ *S. aureus* และเชื้อชี้วัดความเสี่ยงต่อสุขภาพที่สำคัญคือ *E. coli* เก็บตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภค จำนวน 125 ตัวอย่าง จากร้านริมบาทวิถีในพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี ในระหว่างเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2564 โดยเก็บตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภคสองประเภทคือ สลัดรวม (n=60) และสลัดโรล (n=65) ตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบดั้งเดิม ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.6 (17/125), 60.8 (76/125) และ ร้อยละ 56.0 (70/125) ตามลำดับ พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. (ร้อยละ 15.4, 10/65), *S. aureus* (ร้อยละ 63.1, 41/65) และ *E. coli* (ร้อยละ 61.5, 40/65) ในตัวอย่างสลัดโรลในอัตราสูง และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปนเปื้อนที่พบในสลัดรวม ผลการศึกษาพบว่าการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภคที่เก็บจากร้านริมบาทวิถีในพื้นที่จังหวัดนนทบุรี มีอัตราการปนเปื้อนสูงกว่าการปนเปื้อนในตัวอย่างจากพื้นที่ในกรุงเทพมหานครอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่การปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างที่เก็บจากริมบาทวิถีในพื้นที่กรุงเทพมหานคร มีอัตราการปนเปื้อนสูงกว่าการปนเปื้อนในตัวอย่างที่เก็บจากพื้นที่จังหวัดนนทบุรีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นได้ชัดว่าสลัดพร้อมบริโภคที่จำหน่ายริมบาทวิถีมีการปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรคสำคัญ โดยเฉพาะ *Salmonella* spp. ข้อมูลความเสี่ยงของสลัดพร้อมบริโภคจากการศึกษานี้เป็นสัญญาณเตือนให้มีมาตรการควบคุมและปรับปรุงสุขอนามัยของอาหารริมบาทวิถีให้ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค และลดการเกิดโรคที่มีอาหารและน้ำเป็นสื่อ

**คำสำคัญ:** แบคทีเรียก่อโรค, สลัดพร้อมรับประทาน, *Salmonella, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*

# DETECTION OF PATHOGENIC BACTERIA CONTAMINATED IN READY-TO- EAT SALAD

Wachiraprun Musika, Chonchanok Muangnapoh, Orasa Suthienkul, Fuangfa Utrarachkij

Department of Microbiology, Faculty of Public Health, Mahidol University

email: musika33@hotmail.com

**Abstract**

The consumption of bacterial contaminated food is one of the major causes of diarrheal diseases in Thailand. *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are common bacteria that can causes food-borne diseases. The objective of this study was to evaluate the contamination of pathogenic bacteria, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. The potential health risk indicator, *E. coli* was also detected. A total of 125 ready-to-eat salad samples were collected from street food vendors in Bangkok and Nonthaburi province during January to March 2021. Two types of ready-to-eat salad, mixed ready-to-eat salad (n=60) and roll ready-to-eat salad (n=65) were investigated for the bacterial contaminants by conventional culture method. The overall contamination of *Salmonella* spp. *S. aureus* and *E. coli* in study salad samples were 13.6% (17/125), 60.8% (76/125) and 56.0% (70/125), respectively. The high contamination rate of *Salmonella* spp. (15.4%, 10/65), *S. aureus* (63.1%, 41/65) and *E. coli* (61.5%, 40/65) were found in roll ready-to-eat salad, of which not significant higher than those in mixed salad. The results revealed the significant higher contamination rates of *S. aureus* (80%, 28/35) in salad samples collected from street vendors in Nonthaburi province ($p<0.05$), while the significant higher contaminated *E. coli* (63.3%, 57/90) was observed in salad samples collected from street vendors in Bangkok areas ($p<0.05$). This study declared the high contamination of potential pathogenic bacteria, especially *Salmonella* spp. in ready-to-eat salad collected from street vendors. This information on the risk of ready-to-eat salad would be alarming message for conducting measurement control and improvement of street food hygiene to safe the consumers and reduce the food-borne diseases.

**Key word:** pathogenic bacteria, ready- to- eat salad, *Salmonella* spp. , *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

บทนำ

การเจ็บป่วยที่มีสาเหตุจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญทั่วโลก ซึ่งส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วย และเสียชีวิต สร้างความความสูญเสียทางเศรษฐกิจ การท่องเที่ยว รวมถึงการค้าและการส่งออก (Kirk, *et al.*, 2015) องค์การอนามัยโลก (WHO) รายงานข้อมูลการเจ็บป่วยที่เกิดจากอาหารที่ปนเปื้อน พบว่า 600 ล้านคนเจ็บป่วยจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน โดยเสียชีวิต 420,000 รายทั่วโลก ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อก่อโรค (WHO, 2015) และพบว่าโรคท้องร่วงเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในเด็กเล็กทั่วโลก มีรายงานภาระโรคที่เกิดจากการบริโภคอาหารปนเปื้อนในภูมิภาคแอฟริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่ามีอัตราการเสียชีวิตสูงสุดโดยเฉพาะในเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี ซึ่งเชื้อ *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เป็นเชื้อที่พบบ่อยและเป็นสาเหตุสำคัญของโรค (Tong, *et al.*, 2015, Ali, *et al.*, 2017), (Abakari, *et al.*, 2018) จากการประเมินสาเหตุการเจ็บป่วยของประชากรทั่วโลกในปี พ.ศ. 2560 พบว่าเชื้อ non-typhoidal *Salmonella* เป็นสาเหตุสำคัญของการโรคในระบบทางเดินอาหาร ประมาณการจำนวนผู้ป่วยสูงถึง 95.1 ล้านราย เสียชีวิต 50,771 ราย นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อนอกลำไส้ (invasive salmonellosis) ได้บ่อย ประมาณการจำนวนผู้ป่วย 535,000 ราย และเสียชีวิต 77,500 ราย โดยมีอุบัติการณ์สูงสุดในแถบทวีปแอฟริกา โดยเฉพาะในเด็กเล็กและผู้สูงอายุ และผู้ติดเชื้อเอชไอวี (Stanaway, *et al.*, 2019) รายงานดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงผลกระทบด้านสุขภาพและความเสี่ยงของผู้บริโภค

*S. aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญพบมีการปนเปื้อนในอาหาร โดย *S. aureus* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชนิด intoxication ซึ่งเกิดจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษ (enterotoxin) ที่เชื้อสร้างขึ้น แม้จะปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ โดยทั่วไป *S. aureus* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้ในคน โดยประมาณ 30% ของคนปกติจะพบเชื้อ *S. aureus* อยู่บนร่างกาย เช่น ผิวหนังและโพรงจมูก (Tong, *et al.*, 2015) ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของการปนเปื้อนในอาหารโดยผ่านการสัมผัส การปรุงประกอบอาหาร หรือผ่านทางสารคัดหลั่งทางเดินหายใจ ของผู้สัมผัสอาหาร (Argudín, *et al.*, 2010) *S. aureus* สามารถเจริญเพิ่มจำนวนในอาหารและผลิต enterotoxins ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ (FDA, 2012) อย่างไรก็ตาม มีหลายปัจจัยที่ส่งผลให้การรายงานจำนวนผู้ป่วยน้อยกว่าอุบัติการณ์จริง ได้แก่ การวินิจฉัยคลาดเคลื่อน ขาดการเฝ้าระวังที่เหมาะสม และข้อจำกัดในการตรวจหาสารพิษที่เป็นสาเหตุของโรค และการรายงานผู้ป่วย (Kadariya, *et al.*,. 2014)

*E. coli* เป็นแบคทีเรียที่พบในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค แต่มีความสำคัญในการเป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ (Ellis, *et al.*, 2020) อย่างไรก็ตามมีบางสายพันธุ์อาจทำให้เกิดการเจ็บป่วยอย่างรุนแรงได้ องค์การอนามัยโลกประมาณการผู้ป่วยโรคท้องร่วงพบว่ากว่า 10% มีสาเหตุมาจาก *E. coli* สายพันธุ์ Shiga-like toxin producing *Escherichia coli* (STEC) โดยติดเชื้อผ่านการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน เช่น ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ปรุงไม่สุก น้ำนมดิบ ผักดิบและผลไม้ (Khalil, *et al.*, 2018) *E. coli* เป็นสาเหตุหลักของโรคท้องร่วงในประชากรกลุ่มประเทศที่มีรายได้น้อยและปานกลาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กที่อายุต่ำกว่า 2 ปี รวมถึงนักท่องเที่ยวที่เดินทางมาจากประเทศรายได้สูง (WHO, 2021).

จากสถานการณ์การระบาดของโรคที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถปนเปื้อนในผักสดได้ในระหว่างกระบวนการเก็บหรือตัดแต่งแม้จะอยู่ในอุณหภูมิต่ำ (Sun, *et al.*, 2021) โดยเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในสลัดผักนั้น อาจจะมาจากการปนเปื้อนของน้ำ ดิน น้ำล้างทำความสะอาดผักที่ปนเปื้อน อุปกรณ์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะการจัดการและการเก็บรักษาที่ไม่ถูกสุขลักษณะภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ หรือจากการสัมผัสของผู้ประกอบอาหารและบรรจุภัณฑ์ เมื่อเชื้อโรคเหล่านี้ได้มาอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ก็จะเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว จนมีปริมาณมากเพียงพอที่จะก่อให้เกิดโรคได้ ทำให้ผู้ที่รับประทานสลัดผักมีโอกาสได้รับเชื้อโรคเหล่านี้เข้าไปด้วย (Balali, *et al.*, 2020) ปัจจุบันการบริโภคสลัดผักพร้อมรับประทานมีจำนวนมากเพิ่มขึ้นตามรูปแบบการใช้ชีวิตที่เปลี่ยนไป

ขณะเดียวกันก็มีรายงานพบเชื้อก่อโรคในสลัดผักได้หลากหลายชนิด (Mir, *et al.*, 2018) เนื่องจากสลัดผักมีรูปแบบการรับประทานเป็นผักสดไม่ผ่านกระบวนการปรุงให้สุกและมีการสัมผัสกับมือผู้ประกอบอาหารระหว่างกระบวนการผลิต ดังนั้น ผู้บริโภคจึงมีความเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร การศึกษานี้จึงสนใจการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในสลัดผักพร้อมรับประทาน เพื่อเป็นข้อมูลความเสี่ยงในการรับประทานสลัดพร้อมรับประทานตามร้านริมบาทวิถี และเป็นประโยชน์ในการควบคุมและปรับปรุงสุขลักษณะของผู้ประกอบอาหารและกระบวนการผลิตให้มีคุณภาพ เพื่อลดความเสี่ยงของโรค และความปลอดภัยของผู้บริโภค

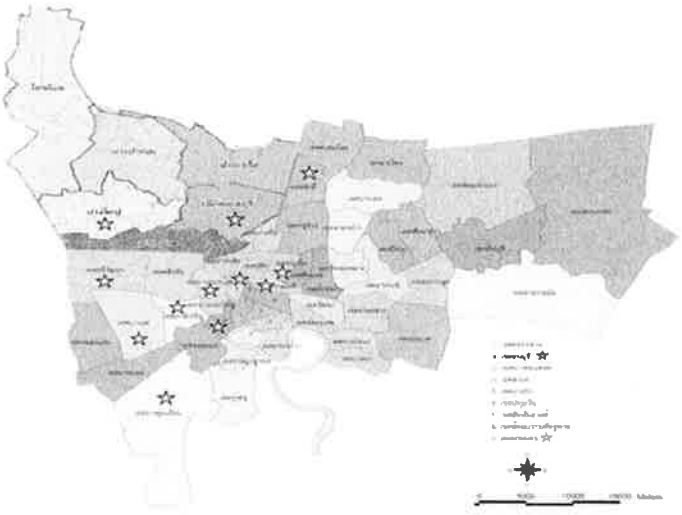
**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

เพื่อประเมินอัตราการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในสลัดพร้อมรับประทาน

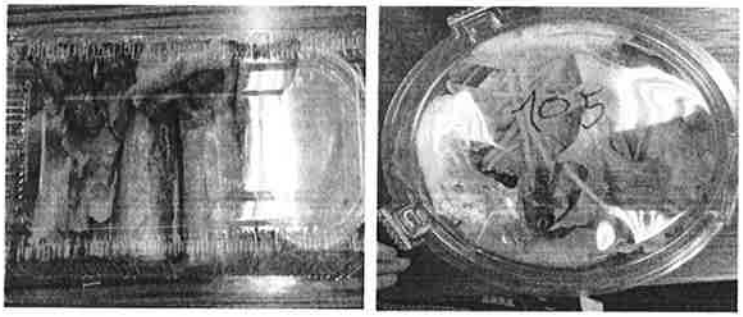
**ระเบียบวิธีวิจัย**

**รูปแบบการศึกษาและการเก็บตัวอย่าง**

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาแบบ Cross-sectional study เก็บตัวอย่างจากสลัดพร้อมรับประทาน จำนวน 125 ตัวอย่าง จากร้านริมบาทวิถีในพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี (ภาพที่ 1) ในระหว่างเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2564 ตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน ประกอบด้วย สลัดโรล จำนวน 65 ตัวอย่าง สลัดรวม จำนวน 60 ตัวอย่าง โดยมีรูปแบบสลัดดังแสดงในภาพที่ 2



**ภาพที่ 1.** ภาพแผนที่แสดงพื้นที่การเก็บตัวอย่างที่ในเขตกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี



**ภาพที่ 2** ภาพตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน A) สลัดโรล และ B) สลัดรวม

ที่มา : ภาพถ่ายโดย นางสาววชิราพรรณ มุสิกา นักศึกษาภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 15 เดือนมกราคม พ.ศ. 2564

**การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp.**

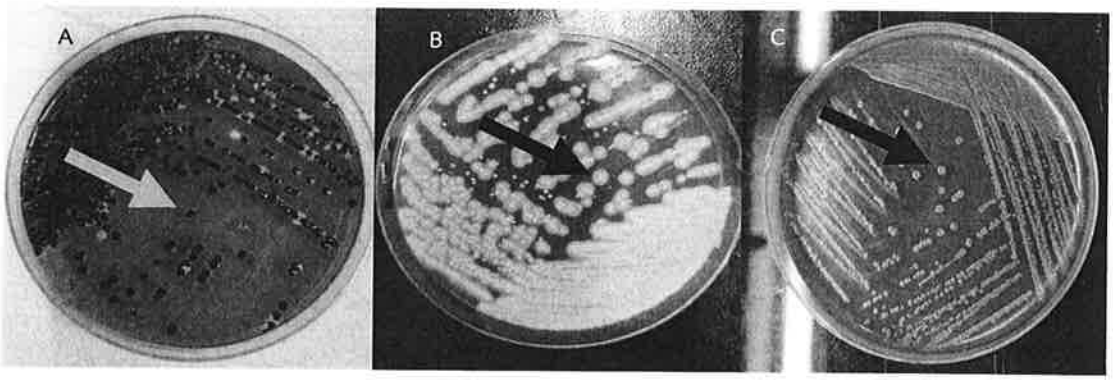
การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ด้วยวิธี Enrichment โดยนำตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทานมาตัดให้มีขนาดเล็ก ผสมให้เข้ากันก่อนชั่งน้ำหนัก 25 กรัม ใส่ลงใน flask และเติม Buffered Peptone Water (BPW) ปริมาตร 125 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้นดูดตัวอย่าง ปริมาตร 100 µl หยดลงบน Modified Semi-solid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยจะมีการเคลื่อนที่ของเชื้อจากตำแหน่งที่หยดเชื้อไว้ จากนั้นใช้ลูปแตะเชื้อจากบริเวณที่เชื้อเคลื่อนที่ไกลออกมา นำไป streak บน xylose lysine deoxycholate agar (XLD) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะจำเพาะรูปร่างกลม สีดำ (ภาพที่ 3 A) เพื่อนำไปพิสูจน์เชื้อโดยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ Oxidase test, Triple sugar iron (TSI) และ Lysine Indole Motility (LIM) และตรวจหาซีโรกรุ๊ปของเชื้อด้วยแอนติเซรั่มที่จำเพาะ

**การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus***

การตรวจหาเชื้อโดยใช้วิธี Enrichment โดยนำตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน นำมาตัดให้มีขนาดเล็ก ผสมให้เข้ากันก่อนชั่งน้ำหนัก 25 กรัม ใส่ลงใน flask และเติม TSB+10%NaCl ปริมาตร 125 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้น นำตัวอย่างมา streak บน mannitol salt egg yolk agar และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่มีลักษณะจำเพาะ รูปร่างกลม สีเหลือง มีโซนรอบโคโลนี (ภาพที่ 3B) เพื่อนำไปพิสูจน์เชื้อด้วยการย้อมสีแกรมและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ catalase test และ coagulase test

**การตรวจหาเชื้อ *Escherichia coli***

การตรวจหาเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี Enrichment โดยนำตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภค นำมาตัดให้มีขนาดเล็ก ผสมให้เข้ากัน ก่อนชั่งน้ำหนัก 25 กรัม ใส่ลงใน flask และเติม EC broth ปริมาตร 125 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 44.5 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมา streak บน MacConkey agar และบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้น เลือกโคโลนีที่มีลักษณะจำเพาะ รูปร่างกลม สีชมพู และผิวหน้าของโคโลนีด้าน และขอบเรียบ (ภาพที่ 3 C) เพื่อนำไปพิสูจน์เชื้อ โดยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ Indole, Methyl red, Voges-Proskauer และ Citrate utilization (IMViC test)




**ภาพที่ 3** ภาพลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

A ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Salmonella* spp. บน xylose lysine deoxycholate agar (XLD)

B ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* บน Mannitol salt egg yolk agar

C ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E.coli* บน MacConkey agar

ที่มา : ภาพถ่ายโดย นางสาววชิราพรรณ มุสิกา นักศึกษาภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 20 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564

## การวิเคราะห์ผล

การศึกษานี้วิเคราะห์ผลและประเมินอัตราการปนเปื้อนของเชื้อเป็นค่าร้อยละ โดยเปรียบเทียบอัตราการปนเปื้อนของตัวอย่าง 2 ชนิดได้แก่ สลัดโรลและสลัดรวม และเปรียบเทียบอัตราการปนเปื้อนเชื้อใน 2 พื้นที่ได้แก่ กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี โดยการทดสอบไคสแควร์ ( Chi – square Test) ที่มีระดับนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$)

## ผลการวิจัย

**อัตราการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในสลัดพร้อมรับประทาน**

เก็บตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภคจากร้านริมบาทวิถี ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี ในระหว่างเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2564 โดยเก็บตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภคสองประเภทคือ สลัดรวม (n=60) และสลัดโรล (n=65) ตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบดั้งเดิม ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.6 (17/125), 60.8 (76/125) และ ร้อยละ 56.0 (70/125) ตามลำดับ โดยพบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. (ร้อยละ 15.4, 10/65), *S. aureus* (ร้อยละ 63.1, 41/65) และ *E. coli* (ร้อยละ 61.5, 40/65) ในตัวอย่างสลัดโรลในอัตราสูงกว่าสลัดรวม ซึ่งพบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. (ร้อยละ 11.7, 7/60), *S. aureus* (ร้อยละ 58.3, 35/60),

และ *E. coli* (ร้อยละ 50, 30/60) ดังแสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอัตราการปนเปื้อนเชื้อในตัวอย่างทั้ง 2 ประเภทไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 1** อัตราการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสลัดพร้อมรับประทาน

| ประเภทสลัด | *Salmonella* spp. | *S.aureus* | *E.coli* |
|---|---|---|---|
| สลัดโรล (n=65) | 15.4% | 63.1% | 61.5% |
| | (10/65) | (41/65) | (40/65) |
| สลัดรวม (n=60) | 11.7% | 58.3% | 50.0% |
| | (7/60) | (35/60) | (30/60) |
| Total | 13.6% | 60.8% | 56% |
| | (17/125) | (76/125) | (70/125) |
| P value | 0.545 | 0.587 | 0.194 |

**อัตราการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในสลัดพร้อมรับประทานในกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี**

ตัวอย่างจากพื้นที่กรุงเทพมหานคร ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. (ร้อยละ 14.4, 13/90), *S. aureus* (ร้อยละ 53.3, 48/90) และ *E.coli* (ร้อยละ 63.3, 57/90) และจังหวัดนนทบุรี จำนวน 35 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. (ร้อยละ 11.4, 4/35), *S. aureus* (ร้อยละ 80,28/35) และ *E.coli* (ร้อยละ 37.1, 13/35) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอัตราการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างสลัดที่เก็บจากจังหวัดนนทบุรีสูงกว่าเขตกรุงเทพมหานคร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.006$) และพบว่าอัตราการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ในตัวอย่างสลัดจากพื้นที่กรุงเทพมหานครสูงกว่าจังหวัดนนทบุรี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.008$) ส่วนอัตราการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างสลัดจากพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** อัตราการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในสลัดพร้อมรับประทานในกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี

| **พื้นที่เก็บตัวอย่าง** | *Salmonella* spp. | *S. aureus* | *E.coli* |
|---|---|---|---|
| **กรุงเทพมหานคร** | 14.4% | 53.3% | 63.3% |
| | (13/90) | (48/90) | (57/90) |
| **จังหวัดนนทบุรี** | 11.4% | 80% | 37.1% |
| | (4/35) | (28/35) | (13/35) |
| **Total** | 13.6% | 60.8% | 56.0% |
| | (17/125) | (76/125) | (70/125) |
| **P value** | 0.659 | 0.006 | 0.008 |

## สรุปและอภิปรายผล

ผลิตภัณฑ์ประเภทสลัดผักมักมีรูปแบบการบริโภคแบบดิบไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนอย่างเหมาะสม ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ในการศึกษานี้ได้ดำเนินการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp., *S.aureus* และ *E.coli* จากตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน จำนวน 125 ตัวอย่างในกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี โดยผลการศึกษาแสดงอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 13.6 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Waturangi, *et al.* ที่ได้ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักสดที่วางขายในกรุงจากาต้า ประเทศอินโดนีเซีย พบมีการปนเปื้อนเชื้อในผักสดร้อยละ 13.6 (Waturangi, *et al.*, 2019) การศึกษาอื่นในประเทศไทย พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักสดที่เก็บตัวอย่างจากตลาดค้าปลีกในจังหวัดพัทลุง ร้อยละ 46 (Lertworapreecha, *et al.*, 2012) ซึ่งสูงกว่าการศึกษาของ Ananchaipattana, *et al.* ซึ่งเก็บตัวอย่างจากตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ต พบความชุกของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 5 และพบว่าตัวอย่างจากตลาดสดมีการปนเปื้อนเชื้อสูงกว่าตัวอย่างที่เก็บจากซุปเปอร์มาร์เก็ต (Ananchaipattana, *et al.*, 2012) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความชุกของเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างสลัดผักที่เก็บจากตลาดสด ในเมือง Dhanbad city ประเทศอินเดีย พบอัตราปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 4 (Mritunjay, *et al.*, 2017). ขณะที่การศึกษาในประเทศกานา พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในสลัดผักพร้อมรับประทานระดับสูงถึง ร้อยละ 76.7 (Abakari, *et al.*, 2018)

จากข้อกำหนดมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ของกระทรวงสาธารณสุข กำหนดเกณฑ์การปนเปื้อนเชื้อว่าต้องไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในอาหาร 25 กรัม การพบ *Salmonella* spp. ปนเปื้อนในสลัดพร้อมรับประทานสูงถึงร้อยละ 13.6 ในการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคสลัดมีความเสี่ยงต่อการเกิดเจ็บป่วยจากเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ มีรายงานการระบาดของ *Salmonella* Coeln ในประเทศนอร์เวย์ พบผู้ป่วย 26 ราย จากการสอบสวนการระบาด โดยการตรวจสอบสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างอาหาร เพื่อหาแหล่งเชื้อที่มาของการระบาด พบว่าสลัดผักรวมพร้อมรับประทาน เป็นสาเหตุการระบาดดังกล่าว (VESTRHEIM, *et al.*, 2016) ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้ผักสลัดพร้อมบริโภคมีการปนเปื้อน *Salmonella* spp. เกิดได้จากหลายสาเหตุ เนื่องจาก *Salmonella* spp. เป็นเชื้อก่อโรคที่พบได้ทั่วไปทั้งในคน สัตว์เลี้ยง สัตว์ในฟาร์ม แมลง และในสิ่งแวดล้อมต่างๆ จึงพบ *Salmonella* ในผักได้โดยธรรมชาติ การล้างผักไม่สะอาดก่อนนำมารับประทานจึงเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยพบว่าน้ำที่อยู่ในถุงผักสลัดซึ่งเป็นน้ำที่ออกมาจากตัวผักที่ล้างและตัดแต่งพร้อมบริโภค เป็นแหล่งเพาะเชื้อ *Salmonella enterica* ที่ช่วยให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตในน้ำจากผักได้ดี โดยลักษณะถุงแบบปิดทำให้เชื้อที่ปนเปื้อนเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น และยังพบว่าน้ำจากผักในถุงที่แช่ตู้เย็นไว้นาน 5 วัน ช่วยเสริมให้เชื้อเกาะติดใบผักในถุงได้ดีขึ้น และช่วยให้เชื้อ *Salmonella* spp. เติบโตได้ดีขึ้นถึง 280 เท่าเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงในน้ำที่ไม่มีน้ำจากผักดังกล่าว (Koukkidis, *et al.*, 2019)

*S. aureus* เป็นเชื้อที่พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม และในร่างกายมนุษย์ รวมทั้งมีการปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งสาเหตุของการปนเปื้อนส่วนใหญ่เนื่องมาจากกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ จากการศึกษาครั้งนี้พบการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ร้อยละ 60.8 และพบการปนเปื้อนในตัวอย่างสลัดโรลในอัตราสูงถึงร้อยละ 63 และสูงกว่าสลัดรวม (ร้อยละ 58.3) อาจเนื่องมาจากสุขอนามัยของผู้ประกอบอาหารไม่เหมาะสม สลัดโรลมีโอกาสสัมผัสมือผู้ประกอบอาหารมากกว่าสลัดรวม การปนเปื้อนของน้ำล้างทำความสะอาดผัก การเก็บในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม อาจมีผลต่อการปนเปื้อนเชื้อ ทั้งนี้ *S. aureus* สามารถเติบโตได้ขณะอยู่ในกระบวนการผลิต ผ่านการสัมผัสของผู้ประกอบอาหาร การปนเปื้อนอาจเกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้น้ำล้างที่ไม่สะอาด และการ

เก็บในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดี การบริโภคแบบดิบอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญสำหรับการแพร่กระจายและการก่อโรคของเชื้อ (Cruz, *et al*., 2019)

การศึกษาในประเทศต่างๆ ที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *S.aureus* สอดคล้องกับการศึกษานี้ เช่น การศึกษาในประเทศสาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) รายงานว่ามีการปนเปื้อน *S. aureus* ในผลไม้และผักตัดสด ร้อยละ 62.2 (Wang, *et al*., 2019) และการศึกษาในประเทศปากีสถาน พบอัตราการปนเปื้อน *S. aureus* ในสลัดพร้อมรับประทานที่ขายในตลาดท้องถิ่นร้อยละ 54 (Saifullah, *et al*., 2018) อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาที่พบการปนเปื้อน *S. aureus* ในผักและอาหารพร้อมบริโภค ต่ำกว่าการศึกษาในครั้งนี้ เช่น จากการศึกษาในมณฑล Shaanxi ประเทศจีน พบมีการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในสลัดผักพร้อมรับประทาน ร้อยละ 23.1 (Xing, *et al*., 2014) และการศึกษาตัวอย่างผัก จาก 39 เมืองในประเทศจีนพบมีการปนเปื้อนร้อยละ 5.73 (Wu, *et al*., 2018) ในประเทศสาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) พบอุบัติการณ์การปนเปื้อนของ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมรับประทาน ร้อยละ 17.9 (Fang, *et al*., 2003) การศึกษาในประเทศบราซิล ซึ่งเก็บตัวอย่างผัก จำนวน 32 ตัวอย่าง จากซุปเปอร์มาร์เก็ต 10 แห่ง พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ร้อยละ 21.9 (Cruz, *et al*., 2019) และการศึกษาในประเทศแคเมอรูน พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในสลัดผักที่ขายในตลาดสด ร้อยละ 35 (Akoachere, *et al*., 2018)

การปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพอาหารและน้ำว่ามีการปนเปื้อนและผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ โดยการศึกษาครั้งนี้พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* ในระดับสูง ร้อยละ 56.0 การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* ในผักจากตลาดสดและซุปเปอร์มาเก็ตในประเทศไทย พบอัตราการปนเปื้อนร้อยละ 29 ทั้งนี้ พบว่าอัตราการปนเปื้อนของเชื้อในผักจากตลาดสดสูงกว่าในซูเปอร์มาร์เก็ต ซึ่งมีข้อสังเกตว่าในซูเปอร์มาร์เก็ตผลิตโดยบริษัทที่มีฟาร์มคุณภาพสูง มีระบบการบรรจุภัณฑ์ที่มีคุณภาพ รักษาอุณหภูมิที่เหมาะสมไว้ตลอดกระบวนการจัดจำหน่าย (Ananchaipattana, *et al*., 2012) และจากการศึกษาอัตราการปนเปื้อนของผักแปรรูปพร้อมรับประทานในประเทศบราซิล มีรายงานการปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูงเช่นเดียวกัน โดยพบการปนเปื้อนร้อย 53.1 (Oliveira, *et al*., 2018) มีการศึกษาในประเทศต่างๆ ที่พบการปนเปื้อนน้อยกว่าการศึกษานี้ กล่าวคือ ประเทศแอฟริกาใต้มีรายงานความชุกของเชื้อ *E.coli* ในผักสดที่ขายในเมือง Amathole ร้อยละ 10.3 (Abong, *et al*., 2008) ประเทศอินโดนีเซีย พบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ในผักสดและผลไม้ที่วางขายในกรุงจากาต้า ร้อยละ 7.69 (Waturangi, *et al*., 2019) ใกล้เคียงกับผลการศึกษาในประเทศเกาหลีใต้ พบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ในผักสด ร้อยละ 7.2 และในสลัดผักรวม ร้อยละ 3.1 เช่นเดียวกับการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสลัดผัก ในกรุงโซล ประเทศเกาหลีใต้ พบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ร้อยละ 4.7 (Seo, *et al*., 2010) และประเทศอินเดีย พบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ในตัวอย่างผักที่เก็บจากตลาดสด ร้อยละ 16.7 (Mritunjay, *et al*., 2017) ขณะที่การศึกษาในประเทศกานา พบการปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* ในสลัดผักพร้อมรับประทานสูงถึง ร้อยละ 96.7 (Abakari, *et al*., 2018)

จะเห็นว่าในการศึกษาครั้งนี้พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้ออยู่ในระดับสูง ซึ่งการปนเปื้อนของผักสดมีความเชื่อมโยงการการปนเปื้อนเชื้อในสลัดพร้อมรับประทาน ซึ่งผักสดเป็นองค์ประกอบสำคัญ หากไม่ไม่ผ่านกระบวนการทำความสะอาดที่ถูกสุขลักษณะ เก็บภายใต้อุณหภูมิไม่เหมาะสมแบคทีเรียเจริญเติมโตได้ดี ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหรือเจ็บป่วยจากโรคทางเดินอาหารมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับความเสี่ยงในการรับประทานสลัดพร้อมรับประทานและการบริโภคอาหารตามร้านริมบาทวิถี และเป็นข้อมูลสำหรับดำเนินการควบคุมและปรับปรุงสุขลักษณะของผู้ประกอบอาหารและกระบวนการผลิตให้มีคุณภาพ เพื่อลดความเสี่ยงของโรค และความปลอดภัยของผู้บริโภค

**ข้อเสนอแนะ**

การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในประเด็นความครอบคลุมของกลุ่มตัวอย่าง อาจมีการปรับขนาดจำนวนกลุ่มตัวอย่างและขยายขอบเขตพื้นที่การเก็บตัวอย่างในการศึกษาครั้งต่อไป

**เอกสารอ้างอิง**


Abakari, G., Cobbina, S., and Yeleliere, E. (2018). Microbial quality of ready-to-eat vegetable salads vended in the central business district of Tamale, Ghana. International Journal of Food Contamination, 5(1), 3. doi.org/10.1186/s40550-018-0065-2

Abong, B., Momba, M., and Mwambakana, J. (2008). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* o157:H7 in vegetables sold in the amathole district, eastern cape province of South Africa. Journal of Food Protection, 71(4), 816–819. https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.4.816

Akoachere, J., Tatsinkou, B., and Nkengfack, J. (2018). Bacterial and parasitic contaminants of salad vegetables sold in markets in Fako Division, Cameroon and evaluation of hygiene and handling practices of vendors. BMC Research Notes, 11(1), 100. https://doi.org/10.1186/s13104-018-3175-2

Ali, Y., Islam, A., Muzahid, N., Sikder, M., Hossain, M., and Marzan, L. (2017). Characterization, prevalence and antibiogram study of *Staphylococcus aureus* in poultry. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 7(3), 253–256. https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.12.001

Ananchaipattana, C., Hosotani, Y., Kawasaki, S., Pongsawat, S., Latiful, B. M., Isobe, S., and Inatsu, Y. (2012). Prevalence of foodborne pathogens in retailed foods in Thailand. *Foodborne Pathogens and Disease, 9*(9), 835-840. doi:10.1089/fpd.2012.1169

Argudín, M., Mendoza, M., and Rodicio, M. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. Toxins, 2(7), 1751–1773. https://doi.org/10.3390/toxins2071751

Balali, G., Yar, D., Dela, V., and Kusi, P. (2020). Microbial contamination, an increasing threat to the consumption of fresh fruits and vegetables in today's world. International Journal of Microbiology, 1–13. https://doi.org/10.1155/2020/3029295

Cruz, M., Leite, Y., Marques, J., Pavelquesi, S., Oliveira, L., Silva, I., and Orsi, D. (2019). Microbiological quality of minimally processed vegetables commercialized in Brasilia, DF, Brazil. Food Science and Technology, 39 (suppl 2), 498-503. doi:10.1590/fst.16018

Ellis, S., Crossman, L., McGrath, C., Chattaway, M., Hölken, J., and Brett, B. (2020). Identification and characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* subtypes associated with human disease. Scientific Reports, 10(1), 7475. https://doi.org/10.1038/s41598-020-64424-3

Fang, T., Wei Q., Liao C., Hung M., and Wang T. (2003). Microbiological quality of 18 °C ready-to-eat food products sold in Taiwan. International Journal of Food Microbiology, 80(3), 241-250.

Food and Drug Administration. (2012). Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Second Edition, (87-91).

Kadariya, J., Smith, T., and Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: An ongoing challenge in public health. BioMed Research International, 1–9. https://doi.org/10.1155/2014/827965

Khalil, I., Troeger, C., Blacker, B., Rao, P., Brown, A., and Atherly, D. (2018). Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: The Global Burden of Disease Study 1990–2016. The Lancet Infect Dis, 18(11), 1229–1240. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30475-4

Kirk, M., Pires, M., Black, R., Caipo, M., Crump, A., Devleesschauwer, B., and Angulo, F. (2015). Correction: World health organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. PLOS Medicine, 12(12), e1001940. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001940

Koukkidis, G., Haigh, R., Allcock, N., Jordan, S., and Freestone, P. (2017). Salad leaf juices enhance *salmonella* growth, colonization of fresh produce, and virulence. Applied and Environmental Microbiology, 83(1). https://doi.org/10.1128/AEM.02416-16

Lertworapreecha, M., Sutthimusik, S., and Tontikapong, K. (2012). Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* isolated from pork, chicken, and vegetables in southern thailand. Jundishapur Journal of Microbiology, 6(1), 36–41. https://doi.org/10.5812/jjm.4312

Mir, S., Shah, M., Mir, M., Dar, B., Greiner, R., and Roohinejad, S. (2018). Microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salads in developing countries and potential solutions in the supply chain to control microbial pathogens. Food Control, 85, 235–244. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.006

Mritunjay, S., and Kumar, V. (2017). A study on prevalence of microbial contamination on the surface of raw salad vegetables. 3 Biotech, 7(1), 13. https://doi.org/10.1007/s13205-016-0585-5

Oliveira, S., Tombini, L., and Tondo, E. (2018). Foodborne outbreaks in Brazil associated with fruits and vegetables: 2008 through 2014. Food Quality and Safety,2(4):173–181.

Saifullah, S. (2018). *Staphylococcus aureus* prevalence in the fresh salad and vegetables of the Quetta city. Pure and Applied Biology,7(1). doi:10.19045/bspab.2018.70031

Seo, Y., Jang, J. and Moon, K. Microbial evaluation of minimally processed vegetables and sprouts produced in Seoul, Korea. Food Science and Biotechnology, 19, 1283–1288 (2010). https://doi.org/10.1007/s10068-010-0183-y

Stanaway, J., Parisi, A., Sarkar, K., Blacker, B., Reiner, R., Hay, S., and Nixon, M. (2019). The global burden of non-typhoidal *Salmonella* invasive disease: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. The Lancet Infectious Diseases, 19(12), 1312–1324. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30418-9

Sun, Y., Zhao, X., Xu, X., Ma, Y., Guan, H., Liang, H., and Wang, D. (2021). Monitoring of transfer and internalization of *Escherichia coli* from inoculated knives to fresh cut cucumbers (Cucumis sativus L.) using bioluminescence imaging. Scientific Reports, 11(1), 11425. https://doi.org/10.1038/s41598-021-90584-x

Tong, S., Davis, J., Eichenberger, E., Holland, L., and Fowler, G. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clinical Microbiology Reviews, 2015;28 (3):603-661.

Vestrheim, D., Lange, H., Nygard, K., Borgen, K., Wester, A., Kvarme, M., and Vold, L. (2016). Are ready-to-eat salads ready to eat? An outbreak of *Salmonella* Coeln linked to imported, mixed, pre-washed and bagged salad, Norway, November 2013. Epidemiology and Infection, 144(8), 1756–1760. https://doi.org/10.1017/S0950268815002769

Waturangi, D., Hudiono, F., and Aliwarga, E. (2019). Prevalence of pathogenic *Escherichia coli* from salad vegetable and fruits sold in Jakarta. BMC Research Notes, 12(1), 247. https://doi.org/10.1186/s13104-019-4284-2

Word Health Organization. *E. coli*. [cited 1 August 2021] Available https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli

World health organization. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths. [cited 2 August 2021] Available from https://www.who.int/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths

Xing, X., Li, G., Zhang, W., Wang, X., Xia, X., Yang, B., and Meng, J. (2014). Prevalence, antimicrobial susceptibility, and enterotoxin gene detection of *Staphylococcus aureus* isolates in ready-to-eat foods in Shaanxi, People's Republic of China. Journal of Food Protection, 77(2), 331-334. doi:10.4315/0362-028X.JFP-13-301