

การตรวจหาแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในสลัดพร้อมรับประทานในพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี

วชิราพรณ มุสิกกา, ชนม์ชนก เมืองนาโพธิ์, อรสา สุตะธีรกุล, เฟื่องฟ้า อุตราชต์กิจ

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

email: musika33@hotmail.com

บทคัดย่อ

การบริโภคอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอุจจาระร่วงในประเทศไทย *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียก่อโรคซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคที่มีอาหารและน้ำเป็นสื่อ การศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* spp. และ *S. aureus* และเชื้อชี้วัดความเสี่ยงต่อสุขภาพที่สำคัญคือ *E. coli* เก็บตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภค จำนวน 125 ตัวอย่าง จากร้านริมบาทวิถี ในพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี ในระหว่างเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2564 โดยเก็บตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภค สองประเภทคือ สลัดรวม (n=60) และสลัดโรล (n=65) ตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบดั้งเดิม ผลการศึกษา พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.6 (17/125), 60.8 (76/125) และร้อยละ 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 ซึ่งไม่แตกต่างกับการปนเปื้อนที่พบใน สลัดรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาพบว่าการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภคที่เก็บจากร้าน ริมบาทวิถีในพื้นที่จังหวัดนนทบุรี (80%, 28/35) มีอัตราการปนเปื้อนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่การ ปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างที่เก็บจากริมบาทวิถีในพื้นที่กรุงเทพมหานคร (63.3%, 57/90) มีอัตราการปนเปื้อนสูงกว่าอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นได้ชัดว่าสลัดพร้อมบริโภคที่จำหน่ายริมบาทวิถีมีการปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรค สำคัญ ตัวบ่งชี้ความเสี่ยงของสุขภาพคือ *E. coli* และแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ คือ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ข้อมูลความ เสี่ยงของสลัดพร้อมบริโภคจากการศึกษานี้เป็นสัญญาณเตือนให้มีการควบคุมและปรับปรุงสุขอนามัยของอาหารริมบาทวิถี ให้ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค และลดการเกิดโรคที่มีอาหารและน้ำเป็นสื่อ

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

DETECTION OF PATHOGENIC BACTERIA CONTAMINATED IN READY-TO- EAT SALAD IN BANGKOK AND NONTHABURI PROVINCE

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 contaminates 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 the health risk indicators as *E.coli* and potential pathogenic bacteria as *S. aureus* and *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 สร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจ 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* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษชนิด 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 (Argudin, *et al.*, 2010) *S. aureus* สามารถเจริญเพิ่มจำนวนในอาหารและผลิต enterotoxins ที่ทำให้เกิดอาการเป็นพิษ (FDA, 2012) อย่างไรก็ตาม มีหลายปัจจัยที่ส่งผลให้การรายงานจำนวนผู้ป่วยน้อยกว่าอุบัติการณ์จริง ได้แก่ การวินิจฉัยคลาดเคลื่อน ขาดการเฝ้าระวังที่เหมาะสม และข้อจำกัดในการตรวจหาสารพิษที่เป็นสาเหตุของโรค และการรายงานผู้ป่วย (Kadariya, *et al.*, 2014)

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

จากสถานการณ์การระบาดของโรคที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถปนเปื้อนในผักสดได้ในระหว่างกระบวนการเก็บหรือตัดแต่งแม้จะอยู่ในอุณหภูมิต่ำ (Sun, *et al.*, 2021) โดยเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในสลัดผักนั้น อาจมาจากการปนเปื้อนของน้ำ ดิน น้ำล้างทำความสะอาดผักที่ปนเปื้อน อุปกรณ์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ การจัดการและการเก็บรักษาที่ไม่ถูกสุขลักษณะภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ 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

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ Cross-sectional study เก็บตัวอย่างจากสลัดพร้อมรับประทาน จำนวน 125 ตัวอย่าง จากร้านริมบาทวิถีในพื้นที่กรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี (ภาพที่ 1) ในระหว่างเดือนมกราคม ถึง มีนาคม พ.ศ. 2564 ตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน ประกอบด้วย

- สลัดโรล จำนวน 65 ตัวอย่าง (มีส่วนประกอบของผักสด แผ่นแป้งห่อสลัด และเนื้อสัตว์ เช่น ปูอัด ไส้กรอก แฮม ทูน่า)
- สลัดรวม จำนวน 60 ตัวอย่าง (มีส่วนประกอบของผักสดและธัญพืช)

การศึกษานี้ตรวจหาเชื้อเฉพาะในสลัดพร้อมรับประทานไม่ได้ตรวจในน้ำสลัด โดยมีรูปแบบสลัดดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 1. ภาพแผนที่แสดงพื้นที่การเก็บตัวอย่างที่ในเขตกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี



ภาพที่ 2 ภาพตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน A) สลัดโรล และ B) สลัดรวม

ที่มา : ภาพถ่ายโดย นางสาวชิราพรรณ มุสิกานักศึกษาภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 15 เดือนมกราคม พ.ศ. 2564

การศึกษานี้ตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียทั้งสามชนิด โดยดัดแปลงจากวิธีที่กำหนดไว้ในคู่มือการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียในอาหารขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (อ้างอิง Bacteriological analytical manual of U.S. FDA) โดยใช้วิธี Enrichment method ซึ่งเป็นวิธีที่เสริมการเจริญของเชื้อก่อโรคในตัวอย่างที่มีเชื้อประจำถิ่นรวมอยู่ด้วย หรืออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ยังไม่พร้อมจะเจริญเพิ่มจำนวน ทำให้เชื้อที่ต้องการตรวจวิเคราะห์เจริญเติบโตได้ดีขึ้น และมีโอกาสตรวจพบเชื้อได้มากขึ้น (Bari, *et al.*, 2021)

การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp.

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

การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus*

การตรวจหาเชื้อโดยใช้วิธี Enrichment โดยนำตัวอย่างสดพร้อมรับประทาน มาตัดให้มีขนาดเล็ก 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) เพื่อนำไปพิสูจน์เชื้อด้วยการย้อมสีแกรม และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ catalase test และ coagulase test

การตรวจหาเชื้อ *Escherichia coli*

การตรวจหาเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี Enrichment โดยนำตัวอย่างสดพร้อมบริโภค มาตัดให้มีขนาดเล็ก ผสมให้เข้ากันก่อนชั่งน้ำหนัก 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) เพื่อนำไปพิสูจน์เชื้อโดยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี 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 นางสาวชิราพรรณ มุสิกานักศึกษาภาควิชาจุลชีววิทยา 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 ($n=65$) ตรวจสอบเชื้อที่ปนเปื้อนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบดั้งเดิม ผลการศึกษพบการปนเปื้อนเชื้อ *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	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
สลัดโรล ($n=65$)	15.4% (10/65)	63.1% (41/65)	61.5% (40/65)
สลัดรวม ($n=60$)	11.7% (7/60)	58.3% (35/60)	50.0% (30/60)
Total	13.6% (17/125)	60.8% (76/125)	56.0% (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	<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>
กรุงเทพมหานคร	14.4% (13/90)	53.3% (48/90)	63.3% (57/90)
จังหวัดนนทบุรี	11.4% (4/35)	80% (28/35)	37.1% (13/35)
Total	13.6% (17/125)	60.8% (76/125)	56.0% (70/125)
P value	0.659	0.006	0.008

สรุปและอภิปรายผล

ผลิตภัณฑ์ประเภทสลัดผักมักมีรูปแบบการบริโภคแบบดิบไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนอย่างเหมาะสม ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ในการศึกษาครั้งนี้ได้ดำเนินการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp., *S.aureus* และ *E.coli* จากตัวอย่างสลัดพร้อมรับประทาน จำนวน 125 ตัวอย่างในกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรี โดยผลการศึกษาแสดงอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 13.6 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Waturangi, et al. ที่ได้ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักสดที่วางขายในกรุงเทพมหานคร ประเทศอินโดนีเซีย พบมีการปนเปื้อนเชื้อในผักสดร้อยละ 13.6 (Waturangi, et al., 2019) การศึกษาอื่นในประเทศไทย พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักสดที่เก็บตัวอย่างจากตลาดค้าปลีกในจังหวัดพัทลุง ร้อยละ 46 (Lertworapreecha, et al., 2012) ซึ่งสูงกว่าการศึกษาของ Ananchaipattana, et al. ซึ่งเก็บตัวอย่างจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต พบความชุกของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 5 และพบว่าตัวอย่างจากตลาดสดมีการปนเปื้อนเชื้อสูงกว่าตัวอย่างที่เก็บจากซูเปอร์มาร์เก็ต (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 ในการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคสลัดมีความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยจากเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ มีรายงานการระบาดของ *Salmonella* Coeln ในประเทศนอร์เวย์ พบผู้ป่วย 26 ราย จากการสอบสวนการระบาด โดยการตรวจสอบสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างอาหาร เพื่อหาแหล่งเชื้อที่มาของการระบาด พบว่าสลัดผักรวมพร้อมรับประทาน เป็นสาเหตุการระบาดดังกล่าว (VESTRHEIM, et al., 2016) ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้ผักสลัดพร้อมบริโภคมีการปนเปื้อน *Salmonella* spp. เกิดได้จากหลายสาเหตุเนื่องจาก *Salmonella* spp. เป็นเชื้อก่อโรคที่พบได้ทั่วไปทั้งในคน สัตว์เลี้ยง สัตว์ในฟาร์ม แมลง และในสิ่งแวดล้อมต่างๆ จึงพบ *Salmonella* spp. 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 และการเก็บในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดี 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 ตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ต 10 แห่ง พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ร้อยละ 21.9 (Cruz, et al., 2019) และการศึกษาในประเทศแคนาดา พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในสลัดผักที่ขายในตลาดสด ร้อยละ 35 (Akoachere, et al., 2018)

การปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพอาหารและน้ำว่ามีการปนเปื้อนและผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะ โดยการศึกษาครั้งนี้พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* ในระดับสูง ร้อยละ 56.0 การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* ในผักจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตในประเทศไทย พบอัตราการปนเปื้อนร้อยละ 29 ทั้งนี้ พบว่าอัตราการปนเปื้อนของเชื้อในผักจากตลาดสดสูงกว่าในซูเปอร์มาร์เก็ต ซึ่งมีข้อสังเกตว่าในซูเปอร์มาร์เก็ตผลิตโดยบริษัทที่มีฟาร์มคุณภาพสูง มีระบบการบรรจุภัณฑ์ที่มีคุณภาพ รักษาอุณหภูมิที่เหมาะสมไว้ตลอดกระบวนการจัดจำหน่าย (Ananchaipattana, et al., 2012) และจากการศึกษาอัตราการปนเปื้อนของผักแปรรูปพร้อมรับประทานในประเทศบราซิล มีรายงานการปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูงเช่นเดียวกัน โดยพบการปนเปื้อนร้อยละ 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* ในผักสดและผลไม้ที่วางขายในกรุงจาการ์ตา 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)

จะเห็นว่าในการศึกษานี้พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้ออยู่ในระดับสูง ซึ่งการปนเปื้อนของผักสดมีความเชื่อมโยงกับการปนเปื้อนเชื้อในสลัดพร้อมรับประทาน ซึ่งผักสดเป็นองค์ประกอบสำคัญ หากไม่ผ่านกระบวนการทำความสะอาดที่ถูกสุขลักษณะ เก็บภายใต้อุณหภูมิไม่เหมาะสมแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดี ทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหรือเจ็บป่วยจากโรคทางเดินอาหารมากขึ้น ดังนั้นการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับความเสี่ยงในการรับประทานสลัดพร้อมรับประทานและการบริโภคอาหารตามร้านริมบาทวิถี และเป็นข้อมูลสำหรับดำเนินการควบคุมและปรับปรุงสุขลักษณะของผู้ประกอบอาหารและกระบวนการผลิตให้มีคุณภาพ เพื่อลดความเสี่ยงของโรค และความปลอดภัยของผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

ผลิตภัณฑ์ประเภทสลัดผักมักมีรูปแบบการบริโภคแบบดิบไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนอย่างเหมาะสม การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสลัดพร้อมบริโภคจึงมีความเสี่ยงและโอกาสเกิดได้ง่ายตลอดห่วงโซ่อาหาร ทั้งจากวัตถุดิบที่ใช้ สุขลักษณะในการปรุงประกอบ การขนส่ง อุณหภูมิการเก็บรักษา และจัดวางระหว่างการซื้อขาย และการเก็บรักษาของผู้บริโภคเอง ทำให้ผู้บริโภคสลัดพร้อมรับประทานมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรกระบบทางเดินอาหารได้ ประกอบกับปัจจุบันสลัดพร้อมบริโภคเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมและมีจำหน่ายอย่างแพร่หลาย ทั้งริมบาทวิถี ตลาดนัด ร้านสะดวกซื้อ และห้างสรรพสินค้า การป้องกันและเฝ้าระวังการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสลัดพร้อมบริโภคจึงมีความสำคัญและจำเป็น นอกจากการสุ่มตรวจตัวอย่างสลัดพร้อมบริโภคที่วางจำหน่ายในรูปแบบต่างๆ แล้ว สิ่งสำคัญที่เป็นการป้องกันการเจ็บป่วยของผู้บริโภคได้อย่างยั่งยืน คือการให้ความรู้กับผู้ปรุงประกอบ ผู้จำหน่าย และผู้บริโภค เพื่อให้ตระหนักถึงความสำคัญของการปรุงประกอบสลัดพร้อมบริโภคที่ถูกสุขลักษณะ เช่น การล้างผัก การล้างมือ และสุขอนามัยของผู้ปรุงประกอบ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิเหมาะสม รวมถึงการให้ความรู้กับผู้บริโภคในการเลือกซื้อสลัดพร้อมบริโภคที่สะอาดถูกสุขลักษณะได้อย่างถูกต้องปลอดภัย

การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในประเด็นความครอบคลุมของกลุ่มตัวอย่าง อาจมีการปรับขนาดจำนวนกลุ่มตัวอย่าง และขยายขอบเขตพื้นที่การเก็บตัวอย่างในการศึกษาครั้งต่อไป

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
- Bari, L., and Yeasmin, S. (2021). Microbes culture methods. Reference Module in Biomedical Sciences Elsevier, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818731-9.00128-2
- Cruz, M., Leite, Y., Marques, J., Pavelquesi, S., Oliveira, L., Silva, I., and Orsi, D. (2019). Microbiological quality of minimally processed vegetables commercialized in Brasília, 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](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30475-4)
- Kirk, M., Pires, M., Black, R., Caipo, M., Crump, A., Devleeschauwer, 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](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.
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). [cited 28 November 2021] Available from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam#TOC>
- 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>
- World 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