การสำรวจแบคทีเรียก่อโรคซึ่งปนเปื้อนในไข่ที่วางจำหน่าย ในเขตอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

Survey Study on Pathogenic Bacterial Contamination in Selling Egg in Khlong Luang District, Pathum Thani Province

ณัฐา จริยภมรกุร*, วิชัย สุทธิธรรม และดรุณี ศรีชนะ

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Nattha Jariyapamornkoon*, Wichai Sutthithum and Darunee Srichana

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการสำรวจการปนเปื้อนของโคลิฟอร์ม (coliform) อีโคไล (*Escherichia coli*) และซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) ในไข่ไก่ ไข่เป็ด และไข่นกกระทา ที่วางจำหน่ายในเขตอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยสุ่มเก็บตัวอย่างไข่ 3 ชนิด ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง แล้วทดสอบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มและอีโคไลด้วยแผ่นฟิล์มเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป และทดสอบการปนเปื้อนซัลโมเนลลาด้วยการเพาะแยกในอาหารเลี้ยงเชื้อ xylose-lysine deoxycholate agar (XLD) และ modified semi-solid rappaport vassiliadis agar (MSRV) โดยยืนยันผลด้วยการทดสอบทางชีวเคมี (biochemical test) พบว่าตัวอย่างเนื้อไข่ทั้ง 3 ชนิด ไม่พบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มและอีโคไล ส่วนบริเวณเปลือกไข่ทั้ง 3 ชนิด พบการปนเปื้อนแบคทีเรีย โดยพบเปลือกไข่เป็ดมีปริมาณโคลิฟอร์มและอีโคไลมากที่สุด สำหรับผลการทดสอบการปนเปื้อนซัลโมเนลลาพบว่าเปลือกไข่ไก่มีการปนเปื้อนร้อยละ 9 (4/45) และเนื้อไข่พบการปนเปื้อนร้อยละ 7 (3/45) ของตัวอย่างไข่ไก่ทั้งหมด ส่วนในไข่เป็ดพบการปนเปื้อนที่เปลือกไข่ร้อยละ 12 (3/25) และพบการปนเปื้อนที่เนื้อไข่ร้อยละ 8 (2/25) ของตัวอย่างไข่เป็ดทั้งหมด ส่วนเปลือกไข่และเนื้อไข่นกกระทามีอัตราการปนเปื้อนซัลโมเนลลามากที่สุดคือร้อยละ 15 (3/20) ของตัวอย่างไข่นกกระทาทั้งหมด การปนเปื้อนแบคทีเรียอาจเกิดจากหลายสาเหตุ ตั้งแต่การติดเชื้อของสัตว์ปีกร่วมกับปัจจัยที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ เช่น ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ การขนส่ง การเก็บรักษา การวางจำหน่าย ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร ผู้บริโภคควรระมัดระวัง และลดความเสี่ยงการติดเชื้อซัลโมเนลลาจากไข่ควรรนำไข่ไปผ่านความร้อนในระยะเวลาที่เหมาะสมก่อนการบริโภค

คำสำคัญ : ไข่; การปนเปื้อน; โคลิฟอร์ม; อีโคไล; ซัลโมเนลลา

***Corresponding author:** *jnattha@tu.ac.th* *DOI: 10.14456/tjst.2015.11*

Abstract

The purpose of this study was to survey the contamination of coliform, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in hen eggs, duck eggs and quail eggs in Khlong Luang district, Pathum Thani province. A total of 90 eggs were randomly collected and checked by visual examination. Then coliform and *E. coli* isolations were done by using 3M Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate whereas *Salmonella* spp. was isolated using xylose-lysine deoxycholate agar (XLD) and modified semi-solid rappaport vassiliadis agar (MSRV). The positive results were subsequently confirmed with biochemical tests. The results revealed that the coliform and *E. coli* contaminations were not found in egg contents, but in the egg shells, with the highest number in duck eggs. *Salmonella* contaminations were found the highest percentage in both shell and content of quail eggs (15 %, 3/20), followed by those of duck eggs [12 % (3/25) and 8 % (2/25), respectively] and hen eggs [9 % (4/45) and 7 % (3/45), respectively]. Bacterial contamination in eggs might involve with various causes including infected avians, farm management, transportation, storage and selling. According to food safety, consumers should be aware of salmonella infection and avoid its risk by hygienic food processing through suitable heat and time.

Keywords: egg; contamination; coliform; *Escherichia coli*; *Salmonella*

1. คำนำ

ไข่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่นิยมบริโภคอย่างกว้างขวาง และมีการนำมาเป็นวัตถุดิบในการแปรรูปของอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิตเวชภัณฑ์ วัคซีน เครื่องสำอาง เป็นต้น ความสะอาดจึงเป็นสิ่งสำคัญมากเนื่องจากมีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อมองย้อนไปที่ขั้นตอนการผลิตไข่พบว่ามีโอกาสที่ไข่จะเกิดการปนเปื้อนแบคทีเรียได้ในหลายขั้นตอน เริ่มตั้งแต่การปนเปื้อนเชื้อโรคจากไก่โดยตรง เช่น การปนเปื้อนซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) จากไก่ที่ป่วยด้วยโรคซัลโมเนลโลซิส (Snoeyenbos, 1991) ซึ่งเชื้อนี้สามารถก่อโรคอาหารเป็นพิษในคนได้ หรือในขั้นตอนการเก็บไข่ การขนส่ง การบรรจุ ตลอดจนการวางขาย ล้วนแต่มีโอกาสที่ไข่จะปนเปื้อนเชื้อจากสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) เช่น *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. เป็นต้น ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มเป็นเชื้อที่ช่วยบ่งชี้ถึงความเสี่ยงของการมีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อน (Musgrove et al., 2008)

ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในอาหาร ถือเป็นปัญหาที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งตลอดเวลาที่ผ่านมามีหน่วยงานต่าง ๆ รวมทั้งงานวิจัยหลายผลงานได้ทำการสำรวจและตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในไข่ จากการศึกษาของ Chousalkar และคณะ ในปี ค.ศ. 2010 ได้วิจัยสำรวจหาอีโคไลและซัลโมเนลลาจากไข่ที่ยังไม่ผ่านกระบวนการล้างของฟาร์มที่เลี้ยงไก่แบบอยู่ในกรง โดยทำการเก็บเชื้อจากตัวอย่างเปลือกไข่ เยื่อหุ้มไข่ และเนื้อไข่ ผลทดสอบพบว่าไม่พบซัลโมเนลลาจากส่วนใด ๆ ของไข่ และตรวจพบอีโคไล 35 ตัวอย่าง จากการเก็บตัวอย่างเชื้อด้วยวิธีการใช้ไม้พันสำลีป้ายจากเปลือกไข่ ในขณะ

ที่การเก็บตัวอย่างเชื้อด้วยวิธีการตอกเปลือกไข่พบอีโคไล 10 ชนิด ส่วนเนื้อไข่ตรวจไม่พบเชื้อใด ๆ และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อบนเปลือกไข่และเนื้อไข่ พบว่าความทึบของเปลือกไข่จะมีการเปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่ช่วงแรกของการสร้างไข่ โดยการเกิดรอยพรุนเล็ก ๆ จะทำให้เชื้อโรคจากภายนอกจากเปลือกไข่สามารถเล็ดลอดผ่านเข้าไปภายในได้ แต่อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาไข่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถช่วยยับยั้งแพร่เชื้อผ่านจากเปลือกไข่ได้ (ศุภชัย, 2549) จากการศึกษาของ Suksangawong และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 ได้สำรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในไข่ที่วางจำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 100 ตัวอย่าง โดยพบการปนเปื้อนของซัลโมเนลลาบนเปลือกไข่และเนื้อไข่จากไข่เป็ด 1 ตัวอย่าง ส่วนไข่ไก่มีการปนเปื้อนซัลโมเนลลาทั้งหมด 2 ตัวอย่าง แต่เป็นการตรวจพบเฉพาะบริเวณเปลือกไข่เท่านั้น และพบว่าอัตราการพบซัลโม เนลลาบนเปลือกไข่ที่สกปรกร้อยละ 5.8 นอกจากนี้ยังพบว่าซัลโมเนลลาบนเปลือกไข่ไม่มีความสัมพันธ์กับการพบซัลโมเนลลาในเนื้อไข่อย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาของ Ching-Lee และคณะ ในปี ค.ศ. 1991 ได้ศึกษาการปนเปื้อนซัลโมเนลลาในไข่ไก่ที่วางจำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ต พบว่าไข่ไก่มีการปนเปื้อนที่บริเวณเปลือกไข่ร้อยละ 9.4 ของตัวอย่างทั้งหมด

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยหลายผลงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนแบคทีเรียในขั้นตอนต่าง ๆ ของการผลิตไข่จนจนถึงมือผู้บริโภค ได้แก่ งานวิจัยของ Musgrove และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 ได้เปรียบเทียบแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ในไข่จากขั้นตอนต่าง ๆ ของการผลิตไข่ ได้แก่ ขั้นตอนการเก็บ ช่วงก่อนล้าง ล้างครั้งแรก ล้างครั้งที่สอง ล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดไข่ การผึ่งให้แห้ง การเคลือบ การคัดเกรด การบรรจุ เป็นต้น ซึ่งการศึกษานี้พบว่าขั้นตอนก่อนการล้างทำความสะอาดไข่ มีการปนเปื้อนแบคทีเรียมากกว่าไข่ที่ผ่านขั้นตอนการล้างทำความสะอาดแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Musgrove และคณะ ในปี ค.ศ. 2004 โดยได้เปรียบเทียบการปนเปื้อนแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ระหว่างไข่ที่ผ่านและไม่ผ่านการล้าง ซึ่งพบว่าไข่ที่ไม่ล้างตรวจพบ *E. coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Pantoea*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Serratia* และ *Yersinia* ส่วนไข่ที่ผ่านการล้างแล้วพบว่ามีเชื้อดังกล่าวน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการสำรวจการปนเปื้อนแบคทีเรียอื่น ได้แก่ โคลิฟอร์ม อีโคไล และซัลโมเนลลา ในไข่ที่วางจำหน่ายในเขตอำเภอคลองหลวง ซึ่งเป็นเขตที่อยู่อาศัยของประชากรจำนวนมาก และเป็นที่ตั้งของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ การวิจัยนี้จึงคาดว่าจะสามารถให้คำตอบเรื่องความปลอดภัยของการบริโภคไข่ที่วางจำหน่ายในเขตดังกล่าว นอกจากนี้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับความปลอดภัยในอาหารที่เป็นประโยชน์แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เนื่องจากปัจจุบันประเทศไทยให้ความสำคัญในด้านมาตรฐานสินค้าผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีก รวมทั้งไข่มากขึ้น ทั้งนี้เพื่อการส่งออกและต้องการยกระดับสู่ความเป็นสากล ดังนั้นข้อมูลการปนเปื้อนแบคทีเรียในไข่จึงเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญของข้อมูลในการพัฒนากระบวนการจัดการมาตรฐานสินค้าต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเลือกพื้นที่และการสุ่มตัวอย่างทางสถิติ

การวิจัยครั้งนี้ ได้สุ่มเก็บตัวอย่างไข่จากพื้นที่แต่ละตำบลของอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยเลือกจากร้านค้าในตลาดสด ร้านค้า

สะดวกซื้อ และห้างสรรพสินค้า เพื่อเก็บตัวอย่างไข่ 3 ชนิด ได้แก่ ไข่ไก่ ไข่เป็ด และไข่นกกระทา จำนวน 90 ตัวอย่าง ด้วยการสุ่มเก็บตัวอย่างไข่แบบสมบูรณ์ กำหนดขนาดตัวอย่างโดยประมาณจากการคำนวณจากสูตร $n = P(1-P)Z^2/d^2$ (cochran, 1977) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.2 สถานที่เก็บตัวอย่างและปฏิบัติงาน

สำรวจและเก็บข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะสถานที่จำหน่าย แหล่งที่มาของไข่ การเก็บรักษา ลักษณะตัวอย่าง กรณีไข่ไก่และไข่เป็ดใช้จำนวนไข่ 10-12 ฟองต่อตัวอย่าง และกรณีไข่นกกระทาใช้จำนวนไข่ 12-50 ฟองต่อตัวอย่าง โดยเลือกจากร้านค้าในตลาดสด ร้านค้าสะดวกซื้อ และซุปเปอร์มาร์เก็ต ในเขตอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ช่วงระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 ตัวอย่างไข่ที่เก็บมาแล้วนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และได้รับการทดสอบภายในเวลาไม่เกิน 12 ชั่วโมงหลังทำการเก็บ โดยสถานที่ทำการวิจัย คือ ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

2.3 การประเมินลักษณะทางกายภาพ

นำตัวอย่างไข่มาประเมินลักษณะทางกายภาพ โดยตรวจสอบการเปื้อนมูล เลือด รา รอยแตกที่เปลือกไข่ การเปื้อนฝุ่นละอองหรือขน และตรวจสอบลักษณะไข่ขาวหรือไข่แดงที่ผิดปกติ เช่น ไข่แดงติดเปลือกไข่ด้านใน ไข่แดงแตกเหลว เน่าเสีย มีกลิ่นผิดปกติ ไข่แดงมีสีผิดปกติ หรือสีไม่สม่ำเสมอ หรือพบจุดเลือด จุดเนื้อ ไข่ขาวสีขุ่น ไม่มีความหนืด เหลวและกระจายตัว แบนราบ

2.4 การทดสอบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มและอีโคไลด้วยแผ่นฟิล์มเลี้ยงเชื้อ

การทดสอบโคลิฟอร์มและอีโคไลด้วยแผ่นฟิล์ม 3M Petrifilm™ *E. coli*/ Coliform Count Plate (Ganger and Curiale, 1999) เป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อในแผ่นฟิล์มที่ประกอบ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ violet red bile (VRB) ในรูปแบบเจลละลายน้ำ โดยอาศัยการบ่งชี้ปฏิกิริยาจากเอนไซม์ glucuronidase และสีย้อม จากการที่ อีโคไลผลิตเอนไซม์ beta glucuronidase จะทำให้เกิดลักษณะตะกอนสีน้ำเงินและมักมีการผลิตฟองแก๊สร่วมด้วย จึงเห็นโคโลนีของอีโคไล มีสีน้ำเงินที่มักมีฟองแก๊สอยู่ด้วย ในขณะที่โคโลนีของโคลิฟอร์มที่จะผลิตกรดทำให้สีของเนื้อ เจลเข้มขึ้นและโคโลนีมีสีน้ำเงินหรือสีน้ำเงินออกสีแดงและมีฟองแก๊สเกิดขึ้นรอบ ๆ โคโลนีที่กระจายอยู่ตามแผ่นฟิล์ม

2.5 การเพาะเชื้อจากเปลือกไข่และเนื้อไข่

นำตัวอย่างเปลือกไข่ 25 กรัม หรือตัวอย่างเนื้อไข่ (ไข่แดงรวมกับไข่ขาว) 25 กรัม ใส่ในถุงบรรจุที่ปราศจากเชื้อแล้วเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที แล้วเตรียมตัวอย่างที่เจือจางแบบ ten-fold dilution จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างมาทดสอบโคลิฟอร์มและ อีโคไลด้วยแผ่นฟิล์มเลี้ยงเชื้อ (3M Petrifilm™ *E. coli*/ Coliform Count Plate) โดยถ่ายสารละลายจากตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงกลางแผ่นฟิล์ม เกลี่ยและกดให้ตัวอย่างกระจายทั่วแผ่น แล้วบ่มแผ่นฟิล์มเลี้ยงเชื้อ โดยให้ด้านใสหงายขึ้นและเก็บในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาอ่านผลและรายงานผลด้วยค่า cfu/g คำนวณจำนวนจุลินทรีย์ในหน่วย CFU ต่อกรัม (ช่วงการนับเท่ากับ 15-150 โคโลนี) โดยนำจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่นับได้ในแผ่นฟิล์มมาคูณกับ dilution factor (ten-fold dilution)

2.6 การทดสอบการปนเปื้อนซัลโมเนลลา

เตรียมตัวอย่างเปลือกไข่หรือเนื้อไข่ (ไข่แดงรวมกับไข่ขาว) โดยเติม buffered peptone

water (BPW) ลงไปเพื่อเสริมให้เชื้อแข็งแรง และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจาก BPW ลงใน Rappaport Vassiliadis (RV) broth แล้วบ่มเที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง แล้วเพาะเลี้ยงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ modified semi-solid rappaport vassiliadis agar (MSRV) และ xylose-lysine desoxycholate agar (XLD) โดยดูดเชื้อจาก BPW หยดลงในวุ้น MSRV และ streak เชื้อจาก RV broth culture ลง XLD agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีที่ให้ลักษณะเหมือนซัลโมเนลลาเพื่อถ่ายลงใน triple sugar iron agar (TSI) และ motility indole lysine medium (MIL) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง (ISO 6579, 2011; Bangtrakulnonth *et al*., 1995) ส่วนการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี (biochemical test) จะอ่านผลเป็นพบหรือไม่พบซัลโมเนลลา เนื่องจากในทางปฏิบัติแล้ว แบคทีเรียนี้เป็นเชื้อที่ไม่ยอมรับให้มีการปนเปื้อนในอาหาร

2.7 สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

เปรียบเทียบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มอีโคไล และซัลโมเนลลาในเปลือกไข่และเนื้อไข่ รวมทั้งเปรียบเทียบระหว่างสถานที่เก็บไข่ทั้ง 3 สถานที่ และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) โดยรวบรวมข้อมูลการปนเปื้อนที่ได้นำมาแจกแจงความถี่ ค่าเฉลี่ย และค่าร้อยละของตัวอย่างที่พบแบคทีเรียปนเปื้อน รวมทั้งข้อมูลรายละเอียดต่าง ๆ ของไข่เรื่องลักษณะสถานที่จำหน่าย แหล่งที่มาของไข่ และการเก็บรักษา เพื่อใช้อธิบายลักษณะตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

3. ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 ข้อมูลด้านกายภาพ

เมื่อพิจารณาข้อมูลลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างเปลือกไข่จำนวน 90 ตัวอย่าง ประกอบด้วยไข่ไก่จำนวน 45 ตัวอย่าง ไข่เป็ดจำนวน 25 ตัวอย่าง และไข่นกกะทาจำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างไข่จำนวน 42 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 47 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด สังเกตพบคราบเลือด คราบอุจจาระ ขน แมลง และไข่แมลงติดมากับเปลือกไข่ โดยพบว่าไข่นกกะทามีอัตราส่วนความผิดปกติที่เปลือกไข่มากที่สุดเท่ากับร้อยละ 65 (13/20) ของตัวอย่างไข่นกกะทาทั้งหมด โดยพบรอยแตกหรือรอยร้าวมากที่สุดคือ 10 ตัวอย่าง ทั้งนี้อาจเนื่องมา จากไข่นกกระทามีความหนาของเปลือกไข่น้อยกว่าไข่ไก่และไข่เป็ด รวมทั้งไข่นกกระทามีการบรรจุขายจำนวนหลายฟอง คือ 12-50 ฟองต่อหนึ่งหน่วยการขาย จึงทำให้ระหว่างการขนส่งหรือวางจำหน่ายมีโอกาสเสียหายมากกว่าไข่ไก่หรือไข่เป็ด ส่วนไข่เป็ดพบว่ามีคราบอุจจาระร้อยละ 56 (14/25) ของตัวอย่างไข่เป็ดทั้งหมด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตัวอย่างไข่เป็ดที่นำมาศึกษาเป็นไข่ที่เกิดจากแม่เป็ดที่วางไข่ในเล้าและไม่ผ่านกระบวนการล้างทำความสะอาดก่อนวางจำหน่าย

ลักษณะทางกายภาพของเนื้อไข่ โดยพิจารณาลักษณะไข่ขาวหรือไข่แดง พบว่าตัวอย่างเนื้อไข่ทุกชนิดในทุกตัวอย่างไม่มีลักษณะผิดปกติ โดยลักษณะไข่ขาวที่มีความข้น ซึ่งบ่งชี้ว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบนั้นไม่ใช่ไข่เก่า และจากสอบถามข้อมูลจากผู้ขายในร้านค้าและตลาดสดพบว่าไข่ที่นำมาจำหน่ายเป็นไข่ใหม่ที่รับมาวางจำหน่ายทุก 1-5 วัน ส่วนไข่ที่วางจำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ต พบว่าที่บรรจุภัณฑ์ของตัวอย่างไข่ทุกชนิดมีการระบุวัน-เดือน-ปีที่ผลิตอย่างชัดเจน โดยไม่มีตัวอย่างไข่ที่มีอายุเกิน 7 วันนับจากวันผลิต

การศึกษาครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างไข่ไก่และไข่นกกระทาจากสถานที่วางจำหน่ายทั้ง 3 ประเภท ได้แก่ ตลาดสด ร้านค้า และซุปเปอร์มาร์เก็ต

ในขณะที่ไข่เป็ดมีการเก็บตัวอย่างจากตลาดสดและร้านค้าเท่านั้น ตัวอย่างไข่ทั้ง 3 ชนิด จากตลาดสดและร้านค้าส่วนใหญ่มีการบรรจุอยู่ในถุงพลาสติก โดยไข่ไก่และไข่เป็ดมีการจำหน่าย 10-12 ฟองต่อหน่วยการขาย ส่วนไข่นกกระทามีการจำหน่าย 20-30 ฟองต่อหน่วยการขาย ตัวอย่างไข่ไก่และไข่เป็ดจากซุปเปอร์มาร์เก็ตมีการบรรจุอยู่ในรูปกล่องพลาสติก (12 ฟองต่อหน่วยการขาย) ส่วนไข่นกกระทามีการบรรจุทั้งในกล่องพลาสติกและกล่องกระดาษ โดยบรรจุภัณฑ์ในซุปเปอร์มาร์เก็ตมีฉลากบอกรายละเอียดสินค้าได้แก่ แหล่งผลิต วัน-เดือน-ปีที่บรรจุ จำนวนฟอง หรือน้ำหนักสุทธิ เป็นต้น ลักษณะการจัดวางสินค้าที่พบมี 2 รูปแบบ คือ วางบนชั้นจำหน่าย ซึ่งพบทั้งตลาดสด ร้านค้า และซุปเปอร์มาร์เก็ต ส่วนการจัดวางบนพื้นพบเฉพาะในร้านค้า โดยพบว่าตัวอย่างไข่ไก่และไข่เป็ดมีการจัดวางทั้งแบบบนชั้นวางและบนพื้น ส่วนไข่นกกระทามีการจัดวางบนชั้นวางเท่านั้น ทั้งนี้การจัดวางไข่ที่พื้นอาจทำให้ไข่ที่วางจำหน่ายมีโอกาสสัมผัสฝุ่นละอองหรือดิน ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพที่เปลือกไข่ นอกจากนี้พบว่าการวางจำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ตมีการจัดวางในชั้นวางที่มีการปรับอากาศที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ส่วนตัวอย่างไข่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดและร้านค้าทั้งหมดมีการจัดวางที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งอุณหภูมิใช้ที่เก็บรักษาไข่จะมีผลต่อความสดของไข่ ทั้งนี้ Chousalkar และคณะ (2010) รายงานว่าการเก็บไข่ไว้ในห้องปรับอากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะช่วยหยุดการเสื่อมคุณภาพไข่ได้ ในขณะที่ศุภชัย (2549) ระบุว่าการเก็บไข่ที่อุณหภูมิ 33-34 องศาเซลเซียส มีผลทำให้คุณภาพความสดของไข่ลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 6 ชั่วโมง ไข่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดและร้านค้าของอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี มาจากฟาร์มสัตว์ปีกในหลายจังหวัดของภาคกลาง ได้แก่ สุพรรณบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี ฉะเชิงเทรา เป็นต้น และมีตัวอย่างบางส่วนที่ผู้จำหน่ายไม่เปิดเผยแหล่งที่มา ส่วนตัวอย่างไข่จากซุปเปอร์มาร์เก็ตมีฉลากบอกรายละเอียดสินค้าเรื่องผู้ผลิตที่ชัดเจน

3.2 การปนเปื้อนโคลิฟอร์มและอีโคไล

การตรวจสอบในตัวอย่างไข่ไก่พบว่าปริมาณโคลิฟอร์มที่เปลือกไข่เท่ากับ 182 x 10 cfu/g ในขณะที่ไข่เป็ดพบปริมาณเชื้อที่เปลือกไข่เท่ากับ 244 x 10 cfu/g และไข่นกกระทามีปริมาณโคลิฟอร์มที่เปลือกไข่เท่ากับ 202 x 10 cfu/g ส่วนที่เนื้อไข่ทั้ง 3 ชนิด ไม่พบโคโลนีของโคลิฟอร์ม (ตารางที่ 1) ข้อมูลที่ได้จากผลการทดสอบนี้บ่งชี้ว่าตัวอย่างไข่ที่นำมาทดสอบมีสภาพเปลือกไข่ที่สามารถป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรียภายนอกได้ เนื่องจากบริเวณเปลือกไข่ถูกเคลือบด้วยไขหรือ cuticle ซึ่งมีบัติในการป้องกันเชื้อจุลชีพจากภายนอกเข้าไปในฟองไข่ (Board and Halls, 1973) ในกรณีที่ตรวจพบว่าเนื้อไข่มีการปนเปื้อนโคลิฟอร์มอาจเกิดจากสมบัติการป้องกันเชื้อจุลชีพที่เปลือกไข่เสื่อมลง ทั้งนี้เนื่องจากไขที่เคลือบเปลือกไข่อาจลดลงหรือหมดไปเมื่อไข่มีอายุมากขึ้นหรือเป็นไข่เก่า (Alls *et al*., 1964) นอกจากนี้การล้างไข่ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อไขที่เคลือบเปลือกไข่ เนื่องจากความเปียกชื้นอาจส่งผลทำให้ความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างภายในและภายนอกไข่ จนเกิดเป็นความดันที่เป็นลบ (negative pressure) ทำให้จุลินทรีย์อยู่ที่ผิวเปลือกไข่มีโอกาสผ่านเข้ามาทางรูพรุนที่เปลือกไข่ได้ (ศุภชัย, 2549) แต่อย่างไรก็ตาม ผู้ผลิตไข่บางรายใช้วิธีล้างทำความสะอาดไข่เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่เปลือกไข่และลดปริมาณเชื้อจุลชีพก่อนส่งขายต่อผู้บริโภค ซึ่งกระบวนการล้างทำความสะอาดไข่จะใช้น้ำสะอาดที่มีการผสมสารฆ่าเชื้อ และนำไข่ที่ล้างเสร็จแล้วมาทำให้แห้งด้วยอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมอย่าง

รวดเร็ว เพื่อไม่ให้ไขที่เคลือบเสียหาย จนเป็นเหตุให้เชื้อจุลชีพผ่านเข้ามาตามรูพรุนที่เปลือกไข่ มีการศึกษาพบว่าการล้างไข่อาจเป็นขั้นตอนหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณแบคทีเรียที่บริเวณเปลือกไข่ (Musgrove *et al*., 2004) โดยการด้วยสารละลายที่มีความเป็นด่างสามารถช่วยลดอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียได้ จากการศึกษาของ Pearson และคณะ (1971) พบว่าการสารละลายที่มี KH_2PO_4 และ $Na_2S_2O_3$ ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.05 % (w/v) ตามลำดับ มีสมบัติในการป้องกันโคลิฟอร์ม

ตารางที่ 1 ปริมาณโคลิฟอร์มและอีโคไลในตัวอย่างไข่ไก่ ไข่เป็ด และไข่นกกระทา

ชนิดไข่	โคลิฟอร์ม (cfu/g)		อีโคไล (cfu/g)	
	เปลือกไข่	เนื้อไข่	เปลือกไข่	เนื้อไข่
ไข่ไก่	182 x 10	ND	< 10	ND
ไข่เป็ด	244 x 10	ND	48	ND
ไข่นกกระทา	202 x 10	ND	22	ND

ND (no detectable) หมายถึง ตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียไม่พบบนแผ่น 3M Petrifilm™ ในทุก dilution

< 10 หมายถึง แผ่นฟิล์มทุกแผ่นมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 10 โคโลนี ให้นับจำนวนโคโลนีในแผ่นที่มีการเจือจาง (dilution) ที่น้อยที่สุด นำมาคูณ dilution factor

จากการตรวจสอบตัวอย่างเนื้อไข่ทั้ง 3 ชนิด ไม่พบการปนเปื้อนอีโคไล ส่วนการตรวจสอบปริมาณเชื้อที่เปลือกไข่พบว่าตัวอย่างไข่ไก่มีปริมาณเชื้อน้อยกว่า 10 cfu/g ใน ขณะที่ไข่เป็ดและไข่นกกระทามีปริมาณเชื้อเท่ากับ 48 และ 22 cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการเปรียบเทียบปริมาณอีโคไลที่เป็นแบคทีเรียที่พบมากในอุจจาระ (fecal coliform) ในไข่ทั้ง 3 ชนิด พบว่าเปลือกไข่เป็ดมีปริมาณเชื้อมากที่สุด ซึ่งข้อมูลนี้สอดคล้องกับผลการตรวจลักษณะทางกายภาพที่เปลือกไข่ที่พบว่าตัวอย่างไข่เป็ดมีรอยอุจจาระเปื้อนที่เปลือกไข่เท่ากับร้อยละ 56 (14/25) ของตัวอย่างไข่เป็ดทั้งหมด ในขณะที่ตัวอย่างเปลือกไข่ไก่พบเชื้อมีการเปื้อนอุจจาระเท่ากับร้อยละ 9 (4/45) ของตัวอย่างไข่ไก่ทั้งหมด ส่วนเนื้อไข่ 3 ชนิด ไม่พบเชื้อ (ตารางที่ 1) อาจเนื่องมาจากภายในฟองไข่มีกระบวนการป้องกันการปนเปื้อน เช่น ไข่ขาวมี lysozyme (Chart and Rowe, 1993) ในขณะที่ไข่แดงมีแอนติบอดีต่ออีโคไล ซึ่งปัจจัยเหล่าจะช่วยป้องกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเนื้อไข่ แต่อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนอีโคไลที่เปลือกไข่มีโอกาสเกิดได้ เนื่องจากอีโคไลเป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในทางเดินอาหารของสัตว์ปีกและสิ่งแวดล้อม จึงทำให้มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของอีโคไลที่บริเวณเปลือกไข่ได้ในทุกขั้นตอนที่มีการสัมผัสกับดินหรือสิ่งแวดล้อมที่ไม่ถูกสุขอนามัย

3.3 การปนเปื้อนของซัลโมเนลลา

การตรวจสอบซัลโมเนลลาในตัวอย่างไข่ไก่พบว่าบริเวณเปลือกไข่มีการปนเปื้อนเชื้อร้อยละ 9 (4/45) เนื้อไข่พบการปนเปื้อนร้อยละ 7 (3/45) ของตัวอย่างไข่ไก่ทั้งหมด ส่วนในไข่เป็ดพบการปนเปื้อนที่เปลือกไข่ร้อยละ 12 (3/25) และพบการปนเปื้อนที่เนื้อไข่ร้อยละ 8 (2/25) ของตัวอย่างไข่เป็ดทั้งหมด สำหรับการตรวจสอบในไข่นกกระทาพบการปนเปื้อนที่เปลือกไข่และเนื้อไข่ร้อยละ 15 (3/20) ของตัวอย่างไข่กระทาทั้งหมด (ตารางที่ 2)

เนื่องจากมาตรฐานสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม (มกอช.) ได้กำหนดเรื่องความปลอดภัยในอาหารเกี่ยวกับซัลโมเนลลาว่าต้องไม่มีการตรวจพบในผลิตภัณฑ์ประเภทไข่จากสัตว์ปีก แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้มีการพบการปนเปื้อนของซัลโมเนลลาในตัวอย่างไข่ทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้การปนเปื้อนอาจเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ การติดเชื้อซัลโมเนลลาในสัตว์ปีกหรือโรค salmonellosis ซึ่งสัตว์ที่ติดเชื้อจะมีแบคทีเรียดังกล่าวอยู่ที่ท่อนำไข่ ทำให้ซัลโมเนลลามีโอกาสปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการสร้างฟองไข่ (Snoeyenbos, 1991) นอกจากนี้ในขั้นตอนการบรรจุ การเก็บรักษา การขนส่ง รวมทั้งการวางจำหน่ายก็เป็นปัจจัยอื่น ๆ ที่ทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในไข่ได้เช่นกัน (USDA, 1998) ผลการตรวจสอบซัลโมเนลลาที่พบในตัวอย่างไข่ทั้ง 3 ชนิด ในการศึกษานี้พบว่ามีการปนเปื้อนที่เปลือกไข่และเนื้อไข่ในตัวอย่างเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Suksangawong และคณะ (2008) ซึ่งพบว่าไข่เป็ดมีการปนเปื้อนซัลโม เนลลาที่บริเวณเปลือกไข่และเนื้อไข่จากตัวอย่างเดียวกัน แต่พบไข่ไก่มีการปนเปื้อนซัลโมเนลลาเฉพาะบริเวณเปลือกไข่เท่านั้น

ตารางที่ 2 ปริมาณซัลโมเนลลาในตัวอย่างไข่ไก่ ไข่เป็ด และไข่นกกระทา

ชนิดไข่	จำนวนตัวอย่าง	การปนเปื้อนโมเนลลา	
		เปลือกไข่	เนื้อไข่
ไข่ไก่	45	4	3
ไข่เป็ด	25	3	2
ไข่นกกระทา	20	3	3

จากการตรวจหาซัลโมเนลลาที่มีการปนเปื้อนที่เปลือกไข่และเนื้อไข่ในตัวอย่างเดียวกัน มีความเป็นไปได้ว่าการปนเปื้อนเชื้ออาจเกิดขึ้นตั้งแต่กระบวนการสร้างฟองไข่ ซึ่งต้องผ่านมาตามท่อนำไข่ที่มีเชื้อซัลโมเนลลา โดยการติดเชื้อ *S.* Enteritidis ในสัตว์ปีกเกิดแบบแม่สู่ลูก (vertical transmission) ทำให้เนื้อไข่มีเชื้ออยู่ก่อนขั้นตอนการสร้างเปลือกไข่ (Humphrey, 1994; Gast and Holt, 2000) อย่างไรก็ตาม ไข่ขาวมี lysozyme และขาดธาตุเหล็กที่แบคทีเรียนำไปใช้ได้ (Chart and Rowe, 1993) ในขณะที่ไข่แดงมีแอนติบอดี ซึ่งปัจจัยเหล่าจะช่วยป้องกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเนื้อไข่ จึงอาจเป็นไปได้ว่าซัลโมเนลลาสามารถปรับตัวและเติบโตได้ในไข่ (Keller *et al*., 1997) แต่หากเป็นการปนเปื้อนภายหลังจากสิ้นสุดกระบวนการสร้างไข่หรือในช่วงที่สัตว์ออกไข่แล้ว มีความเป็นไปได้น้อยที่ซัลโมเนลลาจากสิ่งแวดล้อมจะแทรกเข้าไปในเนื้อไข่ เนื่องจากบริเวณเปลือกไข่จะถูกปกคลุมด้วยไขหรือ cuticle ซึ่งสามารถป้องกันแบคทีเรียเข้าไปในฟองไข่ได้ (Board and Halls, 1973) แต่อย่างไรก็ตาม ในช่วงแรกที่ไข่เพิ่งออกมาจากร่างกายสัตว์ปีก อาจมีความเสี่ยงต่อปนเปื้อนแบคทีเรียได้ เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวไขที่เคลือบที่เปลือกไข่ยังไม่แห้ง และความแตกต่างของอุณหภูมิภายในและภายนอกร่างกายสัตว์อาจทำให้เกิดแรงดันดูดอากาศจากภายนอกเข้าไปในฟองไข่ ซึ่งช่วงนี้มีโอกาสที่แบคทีเรียจากภายนอกหลุดลอดเข้าไปในฟองไข่ ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวนี้แม้ว่าเป็นช่วงเวลาสั้น ๆ แต่ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ (ศุภชัย, 2549) ดังนั้นเพื่อ

ความปลอดภัยด้านอาหาร ผู้บริโภคจึงควรระมัดระวังและลดความเสี่ยงการติดเชื้อซัลโมเนลลาจากไข่ด้วยการนำไข่ไปผ่านความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที หรือ 62 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที ก่อนบริโภคก็จะสามารถป้องกันเชื้อได้ (สุมณฑา และคณะ, 2549)

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้ยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าปัจจัยใดมีผลต่อการปนเปื้อนโมเนลลามากที่สุด เนื่องจากเป็นเพียงการเก็บตัวอย่างจากการวางจำหน่าย หากต้องการศึกษาเพิ่มเติมถึงสาเหตุหลักของการปนเปื้อน อาจต้องมีขั้นตอนการตรวจสอบการติดเชื้อซัลโมเนลลาในสัตว์ปีก รวมทั้งการตรวจหาเชื้อในสิ่งแวดล้อมที่ไข่มีโอกาสสัมผัส เช่น วัสดุปูรอง ภาชนะบรรจุไข่ ถาดไข่ กระบวนการทำความสะอาด การเก็บรักษา การขนส่ง การจัดวางรวมทั้งบุคคลที่เกี่ยวข้อง ซึ่งสามารถเป็นพาหะได้เช่นกัน

4. สรุป

ผลการทดสอบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มและอีโคไลในตัวอย่างไข่ทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อที่บริเวณเปลือกไข่เท่านั้น โดยพบว่าเปลือกไข่เป็ดมีปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวมากที่สุด และผลการทดสอบการปนเปื้อนซัลโมเนลลาพบว่าไข่นกกระทามีอัตราการปนเปื้อนเชื้อมากที่สุดคือร้อยละ 15 ของตัวอย่างไข่นกกระทาทั้งหมด

5. กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนนักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2555

6. เอกสารอ้างอิง

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544, จุลชีววิทยาทั่วไป, พิมพ์ครั้งที่ 3, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2549, ไข่นกกระทา, สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555, ไข่ไก่, สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555, ไข่เป็ด, สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

วรวิทย์ วณิชาภิชาติ, 2531, ไข่และการฟักไข่, พิมพ์ครั้งที่ 3,). รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2549, ความปลอดภัยของอาหาร, ซิสเตอร์ปริ๊นท์แอนด์มีเดียกรุ๊ป, กรุงเทพฯ.

สุบัญฑิต นิ่มรัตน์, 2552, การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนวงศ์เอนเทอร์โรแบคทีเรียซีอี, พิมพ์ครั้งที่ 1, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549, ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, ปทุมธานี.

Alls, A.A., Cover, M.S., Benton, W.J. and Krauss, W.C., 1964, Treatment of hatching eggs for disease prevention factors affecting permeability and a visual inspection of drug absorption, Avian Dis. 8: 245-246.

Bangtrakulnonth, A., Marnrim, N., Kusum, M., Yuthayong, P., Sutivigit, Y., Jiamwatasuk, N. and Saitanu, K., 1995, Detection of salmonella from fecal specimens: A comparison of modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis and Selenite-F

broth, Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 26: 235-237.

Baumler, A.J., Hargis, B.M. and Tsolis, R.M., 2000, Tracing the origins of salmonella outbreaks, Science 287: 50-52.

Board, R.G. and Halls, N.A., 1973, The cuticle: A barrier to liquid and particle penetration of the shell of hen's egg, Br. Poult. Sci. 14: 67-97.

Board, R.G., 1966, The course of microbial infection of the hen's egg, J. Appl. Bacterial. 29: 319-341.

Boyd, R.F. and Hoerl, B.G., 1981, Basic Medical Microbiology, Little, Brown and Company, Inc., Boston.

Caldwell, D.J., Hargis, B.M., Corrier, D.E., Vidal, L. and DeLoach, J.R., 1995, Evaluation of persistence and distribution of salmonella serotype isolation from poultry farms using drag-swab sampling, Avian Dis. 39: 617-621.

Chart, H. and Rowe, B., 1993, Iron restriction and the growth of *Salmonella* Enteritidis, Epidemiol. Infect 110: 41-47.

Ching-Lee, M.R., Katz, A.R., Sasaki, D.M. and Minette, H.P., 1991, *Salmonella* egg survey in Hawaii: Evidence for routine bacterial surveillance, Am. J. Public Health 81: 764-766.

Chousalkar, K.K., Flynn, P., Sutherland, M., Roberts, J.R. and Cheetham, B.F., 2010, Recovery of *Salmonella* and *Escherichia coli* from commercial egg shells and effect of translucency on bacterial penetration in eggs, Int. J. Food Microbiol. 142: 207-213.

Chris, B. and Alec, K., 2002, *Salmonella*, Blackwell Science company, Iowa.

Clemmer, D.I., Hickey, J.L.S., Bridges, J.F., Schliessmann, D.J. and Shaffer, M.F., 1960, Bacteriologic studies of experimental airborne salmonellosis in chick, J. Infect. Dis. 106: 197-201.

Cochran, W.G., 1977, Sampling Techniques, John Wiley and Sons, New York.

D'Aoust, J.Y., 1991, Psychrotrophy and foodborne salmonella, Int. J. Food Microbiol. 12: 207-216.

Darlow, H.M., Bale, W.R. and Carter, G.B., 1961, Infection of mice by respiratory route with *Salmonella* Typhimurium, J. Hyg. 59: 303-308.

Ganger, V. and Curiale, M.S., 1999, Dry rehydratable film method for enumerating confirmed Escherichia coli in poultry, meat, and seafood: Collaborative study, J. AOAC int. 82: 998-1008.

Guthrie, R.K., 1992, *Salmonella*, CRC Press, Inc., Florida.

Holt, P.S., Buhr, R.J., Cunningham, D.L. and Porter, R.E., 1994, Effect of two different molting procedures on a *Salmonella* Enteritidis infection, Poult. Sci. 73: 1267-1275.

Holt, P.S., Mitchell, B.W. and Gast, R.K., 1998, Airborne horizontal transmission of *Salmonella* Enteritidis in molted laying chickens, Avian Dis. 42: 45-52.

Humphrey, T.J., 1994, Contamination of egg shell and contents with *Salmonella* Enteritidis: A review, Int. J. Food Microbiol. 21: 31-40.

Keller, L.H., Schifferli, D.M., Benson, C.E., Aslam, S. and Eckroade, R.J., 1997, Invasion of chicken reproductive tissues and forming eggs is not unique to *Salmonella* Enteritidis, Avian Dis. 41: 535-539.

Musgrove, M.T., Jones, D.R., Northcutt, J.K., Cox, N.A. and Harrison, M.A., 2004, Identification of Enterobacteriaceae from washed and unwashed commercial shell eggs, J. Food Prot. 67: 2613-2616.

Musgrove, M.T., Northcutt, J.K., Jones, D.R., Cox, N.A. and Harrison, M.A., 2008, Enterobacteriaceae and related organisms isolated from shell eggs collected during commercial processing, Poult. Sci. 87: 1211-1218.

Pearson, J.A.N.E., Gordon, G.S. and Richard, A.H., 1987, Survival and transport of bacteria in egg washwater, Appl. Environ. Microbiol. 53: 2060-2065.

Snoeyenbos, G.H., 1991, Pullorum disease, In Disease of Poultry, Iowa State University Press, Iowa.

Suksangawong, C., 2008, Survey study on *Salmonella* spp. in eggs in Muang District, Chiang Mai, pp. 73-78, Proceedings of the 15th Congress of FAVA-OIE Joint Symposium on Emerging Diseases, Bangkok.

USDA, 1998, *Salmonella* Enteritidis Risk Assessment: Shell Eggs and Egg Products, United States Department of Agriculture, Washington, DC.