การปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 ในอาหารทะเลแช่แข็งที่ผลิตเพื่อการส่งออก

Contaminated *Escherichia coli* O157:H7 in Frozen Seafood for Export

ปัทมา แดงชาติ **Patama Daengchat**
นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ **Nongluk Pisutilap**

กองอาหารส่งออก Division of Food for Export
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ Department of Medical Sciences
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000 Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ ได้ศึกษาการปนเปื้อนของ *E.coli* O157:H7 ในตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็งที่ผลิตเพื่อการส่งออก จำนวน 220 ตัวอย่าง ได้แก่ กุ้งดิบ กุ้งสุก ปลาหมึกดิบและปลาหมึกสุก จำนวน 75, 45, 55 และ 45 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยใช้วิธีเพาะเชื้อมาตรฐาน ไม่พบการปนเปื้อนในตัวอย่างที่ศึกษา การทดสอบวิธีวิเคราะห์โดยการเติมเชื้อที่มีความเข้มข้นที่ 10E0-10E7 CFU ต่อกรัมของอาหาร ตรวจพบเชื้อได้ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10E0 ขึ้นไป ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาจุดอันตรายวิกฤติที่ต้องควบคุม (Critical Control Point : CCP) ในการประยุกต์ใช้ระบบ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system สำหรับควบคุมกระบวนการผลิตอาหารเพื่อสนับสนุนการส่งออกและแก้ปัญหาเศรษฐกิจของประเทศต่อไป

ABSTRACT Contaminated *E.coli* O157:H7 in 220 samples of frozen seafood for export was studied by using standard conventional technique. The number of samples of raw shrimp, cooked shrimp, raw cuttlefish, and cooked cuttlefish were 75, 45, 55 and 45 respectively. Result showed no evidence in the tested samples. Nevertheless, spiked samples of approximate cell density of 10E0-10E7CFU/g of food samples were done. The 10E0 CFU/g of spiked samples showed positive results. The data will enhance in hazard analysis step of critical control point (CCP) for the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System implementation in the food processing plants in order to facilitate food for export and solve the economic crisis problem within countries.

Key words : *Escherichia coli* O157:H7, HACCP, CCP

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่าง ๆ และส่งเป็นสินค้าออก อาหารทะเลแช่แข็งที่มีการส่งออกมากคือกุ้ง และปลาหมึก ในปี พ.ศ. 2541 จากข้อมูลกองอาหารส่งออก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีการตรวจอาหารทะเลแช่แข็งเพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น โดยแบ่งเป็นประเภทกุ้งส่งออก 31,545.5 ตัน มูลค่า 180,502,334.33 เหรียญสหรัฐ และปลาหมึกส่งออก 21,065.71 ตัน มูลค่า 83,077,466.34 เหรียญสหรัฐ การตรวจวิเคราะห์คุณภาพอาหารส่งออกเป็นไปตามความต้องการและข้อกำหนดของประเทศผู้นำเข้า แต่เนื่องจากได้มีการระบาดของ *E. coli* O157:H7 ในประเทศญี่ปุ่น กองอาหารส่งออกได้ทำการศึกษาเพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7 ในอาหารทะเลแช่แข็งเพื่อการส่งออก และมีการตรวจเชื้อนี้เพิ่มในการส่งออกตามความต้องการของลูกค้า

E. coli เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่นและคน ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยเมื่อมีการปนเปื้อนในอาหาร เชื้อ *E. coli* O157:H7 จัดอยู่ในกลุ่ม Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC) พบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น วัว ควาย และผลิตภัณฑ์ของมันเช่น เนื้อ นม และปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม พบว่าบางครั้งการระบาดเกิดจากน้ำ เมื่อเกิดการติดเชื้อขึ้น จะเกิดอาการอุจจาระหรือปัสสาวะเป็นเลือด เชื้อนี้จะสร้างสารพิษที่เรียกว่า Verotoxin เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค haemorrhagic uremic syndrome ในคนมีอาการปัสสาวะเป็นเลือด มีผลให้ไตวายเฉียบพลันและทำให้เกิดโลหิตจางเนื่องจากมีการสูญเสียเลือด พบได้ในเด็กและผู้สูงอายุ ทำให้ถึงแก่ความตายได้ มีรายงานการระบาดในประเทศที่พัฒนา เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา อังกฤษ และกำลังมีการระบาดซึ่งเป็นปัญหาหนักในประเทศญี่ปุ่น (รอดมา, 2542 ; WHO, 1997) ซึ่งเป็นประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทย

ขณะนี้โรงงานผลิตอาหารเพื่อการส่งออกมีความจำเป็นต้องประยุกต์ใช้ระบบวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤติ (Hazard Analysis Critical Control Point: HACCP) ในการควบคุมกระบวนการผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค แทนการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ (Finished product) ทั้งนี้ตามที่ระบุใน Codex Alimentarius Supplement to Volume 1B-1997: Annex to CAC/RCP-1 (1969), Rev.3 (1997) Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System and Guidelines for its Application ซึ่งเป็นมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ และประกอบกับเป็นความต้องการของประเทศผู้นำเข้า การประยุกต์ใช้ระบบดังกล่าวนี้ในขั้นตอนการประเมินอันตรายเพื่อวิเคราะห์จุดวิกฤติที่ต้องควบคุม ต้องวิเคราะห์จากข้อมูลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ของอันตรายนั้น ๆ สำหรับการประเมินอันตรายในด้านจุลชีววิทยาของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ข้อมูลที่ศึกษาในประเทศไทยมีน้อยมากหรือไม่มีเลยดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงของการปนเปื้อนหลังกระบวนการผลิตของ *E. coli* O157:H7 ในอาหารทะเลแช่แข็ง สำหรับเป็นข้อมูลพิจารณาประเมินอันตรายเพื่อวิเคราะห์จุดวิกฤติที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตอาหารแช่แข็งเพื่อการส่งออก ทั้งนี้เพื่อเป็นการสนับสนุนการส่งออกและนำไปสู่การแก้ปัญหาเศรษฐกิจของประเทศโดยตรง

วัสดุและวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็งจำนวน 220 ตัวอย่าง จากโรงงานผลิตอาหารเพื่อการส่งออก 9 โรงงาน ได้แก่ กุ้งดิบ กุ้งสุก ปลาหมึกดิบและปลาหมึกสุกจำนวน 75, 45, 55 และ 45 ตัวอย่าง ตามลำดับ

วัสดุอุปกรณ์

Incubator (35° และ 37° C), Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml, Petri dish, Test tube, Pipette

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Modified TSB Broth, Novobiocin (Oxiod Supplement SR 161 E), Sorbitol Mac-Conkey Agar (Oxiod) (SMAC), (เติม 50 µl Potassium tellurite และ 50 ml Cefixime ใน 1000 Liter), Cefixime-Potassium tellurite (CT) Sorbitol Mac-Conkey Agar (CT-SMAC), Triple Sugar lron (TSI), Lysine Indole Motile Medium (LIM), Methyl Red Medium (MR), Voges-Proskauer Medium (VP), Cellobiose,

เชื้ออ้างอิง

Escherichia coli O157:H7 (The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, Japan)

สารอ้างอิง

O157 antiserum (Siken Co.,Ltd. Japan), H7 antiserum (Siken Co.,Ltd. Japan), *E. coli* O157:H7 test kit (Oxoid), Wellcolex *E. coli* O157:H7 (Murex Diagnostic Limited), Immunomagnetic Separation set (DYNAL MPC®-M)

การเตรียมจุลินทรีย์ เพื่อใช้สำหรับตัวอย่าง spiked samples

ใช้ *Escherichia coli* O157:H7 (The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Health Japan) เตรียมโดยเขี่ยเชื้อจาก Stock culture ลงใน Brain Heart Infusion Broth (BHI) สำหรับทำ inoculum อบเพาะเชื้อที่ 35°- 37° C นาน 18-24 ชั่วโมง (จะได้เชื้อประมาณ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

ทำ Serial ten fold dilution ด้วย PBS (phosphate buffer pH 7.2) เพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อโดยใช้ Plate count Technique บน TPC (Plate Count Agar)

เตรียมตัวอย่างอาหารแช่แข็ง 2 ชนิดคือ กุ้งและปลาหมึก ชนิดละ 9 ขวด ๆ ละ 25 กรัม โดยเติม inoculum ของ *E. coli* O157:H7 ซึ่งทำการเจือจางด้วย PBS ที่ความเข้มข้น 10^8, 10^7, 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1, 10^0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตรโดยใช้ mTSB & Novobiocin 20 mg/L จำนวน 225 มิลลิลิตร เป็น enrichment media จะได้ตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อโดยประมาณ (approximate cell suspension) 10^7, 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, 10^1, 10^0 เซลล์ต่อกรัมของอาหาร

ตัวอย่างอาหารที่ไม่ได้เติมเชื้อ ใช้เป็นตัวอย่างควบคุม (Control sample) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (trial)

วิธีวิเคราะห์

ใช้วิธีการตามระบุใน ISO 16654/1999 : Microbiology of food and animal feeding

Stuffs-Horizontal method for the detection of *E. coli* O157 ซึ่งมี 3 ขั้นตอนคือ การเพาะเชื้อ (enrichment) การแยกเชื้อ (Isolation) การตรวจยืนยัน (identification) ดังนี้ :-

1. การทดลองที่ 1 ตรวจสอบเชื้อ *E.coli* O157:H7 ในตัวอย่าง spiked sample

2. การทดลองที่ 2 ตรวจสอบเชื้อ *E.coli* O157:H7 ในอาหารทะเลแช่แข็ง จำนวน 220 ตัวอย่าง

ผล

การตรวจหา *Escherichia coli* O157:H7 โดยวิธีการเพาะเชื้อมาตรฐานตาม ISO 16654/1999 : Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *E. coli* O157 ใช้ตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็ง 2 ชนิดคือกุ้งและปลาหมึกโดยการเติมเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่าง ๆ กัน จำนวน 48 ตัวอย่าง และตัวอย่างควบคุม (control) ซึ่งไม่มีการเติมเชื้อจำนวน 3 ตัวอย่าง พบว่าหลังการอบเพาะเชื้อที่ 42°c นาน 6 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ตรวจพบได้ตั้งแต่ 10^0 CFU ต่อกรัมของอาหารขึ้นไป (ตารางที่ 1) ตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็งประเภทกุ้งและปลาหมึกที่สุ่มตรวจตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็งรวม 220 ตัวอย่างจากโรงงานอาหารแช่แข็งจำนวน 9 โรงงาน ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในตัวอย่างที่นำมาศึกษาครั้งนี้ (ตารางที่2) การคำนวณเพื่อศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) หมายถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ในการตรวจตัวอย่างที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ได้อย่างถูกต้อง คือร้อยละของตัวอย่างที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่และให้ผลบวก ส่วนความจำเพาะของการวิเคราะห์ (specificity) หมายถึง

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์วิธีเพาะเชื้อ (Culture technique) ผ่านขั้นตอน IMS หา *E.coli* O157:H7 ตัวอย่าง (Spiked samples) หลังจากการอบเพาะเชื้อนาน 6 และ 24 ชั่วโมง

Product	App.Cell density CFU/g	No.of sample	No. of positive sample 6 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
กุ้งแช่แข็ง	10^7	3	3	3
	10^6	3	3	3
	10^5	3	3	3
	10^4	3	3	3
	10^3	3	3	3
	10^2	3	3	3
	10^1	3	3	3
	10^0	3	3	3
Control	0	3	0	0
ปลาหมึกแช่แข็ง	10^7	3	3	3
	10^6	3	3	3
	10^5	3	3	3
	10^4	3	3	3
	10^3	3	3	3
	10^2	3	3	3
	10^1	3	3	3
	10^0	3	3	3
Control	0	3	0	0

ตารางที่ 2 ผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของ *Echerichia coli* O157:H7 ในตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็ง โดยวิธีเพาะเชื้อผ่านขั้นตอน Immunomagnetic Separation

Product	No. of Sample	Results
Raw shrimp	75	ND
Cooked shrimp	45	ND
TOTAL	120	-
Raw Cuttlefish, squid, octopus	55	ND
Precooked, Cooked Cuttlefish, squid, octopus	45	ND
TOTAL	100	-

ND = not detected

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกและผลลบจากการตรวจวิเคราะห์หา การปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 โดยวิธี Immunomagnatic separation

Spiked sample		IMS technique	
กุ้งแช่แข็ง	ผลบวก	24 (a_1)	0 (b_1)
	ผลลบ	0 (c_1)	3 (d_1)
ปลาหมึกแช่แข็ง	ผลบวก	24 (a_2)	0 (b_2)
	ผลลบ	0 (c_2)	3 (d_2)

a = True Positive
b = False Positive
c = False Negative
d = True Negative
a + c = Total True Positive
b + d = Total True Negative
a+b+c+d = Total Samples

[a/a+c] x100 = Sensitivity
[d/b+d] x100 = Specificity

$$\text{Sensitivity} = \left[\frac{(a1+a2)}{(a1+a2)+(c1+c2)}\right]^{\circ} 100$$

$$= \left[\frac{24+24}{(24+24)+(0+0)}\right]^{\circ} 100 = 100\%$$

$$\text{Specificity} = \left[\frac{(d1+d2)}{(b1+b2)+(d1+d2)}\right]^{\circ} 100$$

$$= \left[\frac{(3+3)}{(0+0)+(3+3)}\right]^{\circ} 100\%$$

$$= (6^{\circ}\ 100)/6 = 100\%$$

ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ในการตรวจตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อนได้อย่างถูกต้อง คือร้อยละของตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่และให้ผลลบ โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการ spiked sample เป็นข้อมูลในการประเมิน (ตารางที่ 3)(ชำนิการกิจ ต.2527, โล่ห์สุนทร พ. 2531)

วิจารณ์

เนื่องจากในอาหารมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นเป็นจำนวนมาก ถ้ามีการปนเปื้อนในอาหารจะสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วเบียดบังเชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้นในการตรวจพบเชื้อ *E.coli* O157:H7 จึงมีการสร้างเงื่อนไขของการตรวจสอบเพื่อเพิ่มโอกาสของการตรวจพบให้สูงขึ้น 3 ประการคือ หนึ่งการอบเพาะเชื้อที่ 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง เพื่อหลีกเลี่ยงการถูกเจริญเบียดบังโดยเชื้ออื่น ประการที่ 2 เพิ่มขั้นตอน Immuno magnetic Separation Technique ภายหลังการอบเพาะเชื้อโดยใช้ Magnetic particles (Polystyrene) ซึ่ง Coat ด้วย Specific antibodies (O157) สำหรับจับ (Capture) เชื้อ O157 และประการที่ 3 เติม Cefixime และ Potassium

tellurite ลงใน (SMAC : Sorbitol MAC Conkey Agar) ทั้งนี้เพื่อต่อต้านการเจริญของเชื้อ *E. coli* กลุ่มที่ไม่สามารถใช้ Sorbital สำหรับการเจริญ โดยที่โคโลนีเหล่านี้จะมีลักษณะเหมือนกับโคโลนีของ *E. coli* O157:H7 ซึ่งมีอยู่ประมาณ 6% (AOAC International 1995) และเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อ Proteus

การวิเคราะห์เชื้อ *E. coli* O157:H7 เนื่องจากมีโอกาสในการถูกเจริญเบียดบังสูง โดยเฉพาะกรณีที่มีการปนเปื้อนในปริมาณน้อย วิธีวิเคราะห์จึงมีความสำคัญมาก ต้องเลือกวิธีที่เหมาะสมที่สุด เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เชื่อถือได้

การเลือกวิธีที่ใช้สำหรับระบบตรวจสอบ (monitoring) ที่ถูกต้อง เป็นสิ่งที่มีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับระบบ HACCP เช่น การตรวจสอบ (monitoring) โดยใช้ตารางเป็นตารางตรวจวัด หรือการสังเกตด้วยวิธีตรวจพินิจ เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อใช้ประเมินระดับมาตรฐาน (target level) และค่ามาตรฐาน (tolerance) ที่ระบุไว้สำหรับควบคุมในแต่ละจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (CCP : Critical Control Point) การตรวจสอบ (monitoring) จะระบุวิธีการในการปฏิบัติไว้ว่าต้องดำเนินการอย่างไร เพื่อให้ยืนยันได้ว่าจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (CCP : Critical Control Point) ทุก ๆ จุดอยู่ในความควบคุม การตรวจสอบนั้นต้องสามารถประเมินผลได้อย่างรวดเร็ว เพื่อที่จะสามารถดำเนินการแก้ไข (Corrective action) ได้ทันทีเพื่อให้กระบวนการผลิตกลับมาอยู่ในความควบคุมได้อีกครั้งหนึ่ง

ระบบการตรวจสอบโดยใช้วิธีทางจุลชีววิทยาโดยวิธีเพาะเชื้อ เป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมหรือ และไม่แนะนำให้นำมาใช้ในการประเมินจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม (CCP : Critical Control Point) เนื่องจากการวิเคราะห์หาการปนเปื้อนของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษใช้เวลานาน การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา เป็นวิธีที่ใช้ในขั้นตอนการตรวจพิสูจน์ (verification) คือการตรวจดูคุณภาพความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้สามารถระบุได้ว่ากระบวนการผลิตที่ควบคุมโดยใช้ระบบ HACCP แล้วนั้น ณ จุดอันตรายวิกฤติที่ต้องควบคุม (CCP) นั้น ๆ วิธีการตรวจสอบและวิธีการแก้ไข ที่ดำเนินการอยู่ยังเหมาะสมที่จะนำไปใช้ได้หรือ/และนำไปสู่การต้องแก้ไขปรับปรุงขั้นตอนหรือ/และกระบวนการผลิตต่อไป

วิธีวิเคราะห์เชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 โดยวิธี Immunomagnetic Separation สามารถใช้ประเมินความเสี่ยงสำหรับขั้นตอนการตรวจพิสูจน์ (verification) ในการควบคุมกระบวนการผลิตโดยใช้ระบบวิเคราะห์อันตรายและควบคุมจุดวิกฤติ (HACCP) ได้ เนื่องจากให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำเชื่อถือได้

สรุป

การปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในตัวอย่างอาหารทะเลแช่แข็งเพื่อการส่งออก แม้ว่าจะไม่ได้เป็น ตัวแทนของอาหารทะเลแช่แข็งทั้งหมดได้ แต่เป็นประโยชน์มากสำหรับทีมงาน HACCP ของโรงงานผลิตอาหารทะเลแช่แข็งเพื่อการส่งออก สำหรับใช้เป็นข้อมูลทางวิชาการประกอบการพิจารณาประเมินอันตรายเพื่อวิเคราะห์จุดวิกฤติที่ต้องควบคุม และการหามาตรการควบคุมในกระบวนการผลิตของเชื้อนี้ในผลิตภัณฑ์ได้ นอกจากนั้นยังมีประโยชน์ในด้านการเฝ้าระวังด้วย อย่างไรก็ตาม ยังมีความจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาการปนเปื้อนอย่างต่อเนื่องทั้งในอาหารทะเลแช่แข็งและอาหารอื่น ๆ เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคและส่งเสริมการส่งออก และการแก้ไขปัญหาเศรษฐกิจของประเทศไทยโดยตรงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณเพ็ญศรี รอดมา ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านสุขลักษณะการผลิต ที่ได้สนับสนุนให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขให้งานลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ชำนิจารกิจ ต. สถิติประยุกต์ทางการแพทย์: ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2527 : 136-143

โล่ห์สุนทร พ. การทดสอบเพื่อตรวจคัดโรคและวินิจฉัยโรควิทยาการระบาดประยุกต์: ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531: 17-25

รอดมา พ. การวิเคราะห์ *E.coli* O157:H7 ในอาหารโดยวิธี Immunomagnetic Separation technique. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการกองอาหารส่งออก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2542

AOAC International. FDA Bacteriological Analytical Manual 8th Edition, Isolation and identification of Enterohaemorrhagic (EHEC), 1995:p4.20-4.23

Codex Alimentarius Supplement to Volume 1B-1997: Annex to CAC/RCP-1 (1996), Rew.3 (1997) Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System and Guidelines for its Application.

International Standard ISO/DIS 16654, Microbiology of Food and animal Feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *E. coli* O157:H7. 1999

World Health Organization. Prevention and Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Infection, Report of a WHO Consultation Geneva. 1997