ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การสำรวจเชื้อ *Salmonellae* ในเนื้อโคชำแหละ ในตลาดสดบางกะปิและตลาดสดมีนบุรี

(Survey of *Salmonellae* in retailed beef sold in Bangkapi and Meanburi's Market)

จัดทำโดย

นาย ธนชัย เชื้อพาณิชย์ รหัสนักศึกษา 44040194
นางสาว รัตนาภรณ์ สุริย์ รหัสนักศึกษา 44040215

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 4 / พ.ย. / 2547 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ผศ. อดิศร เสวตวิวัฒน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20363

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การสำรวจเชื้อ Sallmonellae ในเนื้อโคชำแหละ ในตลาดสดบางกะปิและตลาดสดมีนบุรี

Survey of Salmonellae in retailed beef sold in Bangkapi and Meanburi's Market

T096451

จัดทำโดย

นาย ธนชัย เชื้อพาณิชย์ รหัสนักศึกษา 44040194

นางสาว รัตนาภรณ์ สุริย์ รหัสนักศึกษา 44040215

ปพ.
ธ 1381
2548

หมายเลขทะเบียน 96451
วัน,เดือน,ปี

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ.2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนชัย เชื้อพาณิชย์ และ รัตนาภรณ์ สุริย์. 2547. การสำรวจเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจากตลาดบางกะปี และตลาดมีนบุรี(survey of salmonellae in retailed beef sold in Bangkapi and Meanburi's Market) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร(พิเศษ) คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. อดิศร เสวตวิวัฒน์

จากการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในตัวอย่างเนื้อโคสดที่จำหน่ายในตลาดบางกะปี และตลาดมีนบุรี จำนวน 18 ตัวอย่าง ด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC โดยใช้ Tetrathionate (TT) broth บ่มที่ 37 °C และ Rappaport-Vassiliadis (RV) broth บ่มที่ 42°C ในขั้นตอน selective enrichment และทำการแยกหาเชื้อโดยใช้ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar, Rambach agar (Rm) บ่มที่ 37°C และ Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium บ่มที่ 42°C ในขั้นตอน isolation พบว่า ตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา 14 ตัวอย่าง (77.78 %) มีเชื้อรวม 15 เซโรวาร์ โดยที่ *S.* Senftenberg (15.25 %) เป็นเซโรวาร์ที่มีการตรวจพบมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *S.* Agona (13.56 %)และ*S.* Typhimurium var. copenhagen (10.67 %) ตามลำดับ จากจำนวนตัวอย่างเนื้อโคที่ตรวจพบซาลโมเนลลาทั้งหมดนี้ พบว่าการใช้ TTB ในขั้นตอน selective enrichment ให้ผลจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบซาลโมเนลลามากกว่าการใช้ RV และชนิดเซโรวาร์ที่ตรวจพบจาก TTB จะได้มากกว่า RV ด้วย สำหรับขั้นตอน isolation นั้น พบว่า MSRV ให้ผลจำนวนตัวอย่างของการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในขั้นตอน selective plating และ isolation มากกว่าชนิดอื่น แต่ถ้าใช้ร่วมกันทั้งสี่ชนิดจะทำให้การตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในด้านจำนวนตัวอย่างและชนิดของเซโรวาร์ที่มากขึ้น

ธนชัย เชื้อพาณิชย์ .....
รัตนาภรณ์ สุริย์ .....

ลายมือชื่อนักศึกษา

..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

..... วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ท่านได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ คอยช่วยเหลือทั้งในเวลางาน และนอกเวลางาน และให้ความรู้ต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง รวมทั้งได้กรุณาแก้ไขหนังสือปัญหาพิเศษจนสมบูรณ์ และขอขอบพระคุณ อ.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่เป็นคณะกรรมการที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ พี่ และน้องที่ช่วยเป็นกำลังใจในด้านการศึกษามาโดยตลอด พร้อมทั้งขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้องทุก ๆ คนในโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่ให้กำลังใจและคอยช่วยเหลือตลอดการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

(นายธนชัย เชื้อพาณิชย์)

(นางสาวรัตนาภรณ์ สุริย์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญตารางภาคผนวก	ฉ
สารบัญภาพ	ช
สารบัญภาพภาคผนวก	ซ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	4
2.1 เนื้อสัตว์	4
2.2 ปริมาณการตรวจพบเชื้อ *Salmonella*	4
2.3 ความสำคัญและการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหาร	4
2.4 ลักษณะของโรค Salmonellosis	5
2.5 อาการของโรคจำแนกออกได้เป็น 3 ลักษณะ	6
2.6 การจำหน่ายเนื้อโคชำแหละสด	7
2.7 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหาร	7
2.8 ปัจจัยที่มีผต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสด	9
2.9 รายงานการระบาดของกลุ่มเชื้อ *Salmonella* ในประเทศไทย	10
3. อุปกรณ์และการทดลอง	16
3.1 อุปกรณ์	16
3.2 เครื่องมือ	16
3.3 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ	17
3.4 สารเคมี	17
3.5 วัตถุดิบ	17
3.6 การตรวจวิเคราะห์ *Salmonella*	18
3.7 การศึกษาเปรียบเทียบหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อโคสด	20
4. ผลและวิจารณ์การทดลอง	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง	34
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	40
ภาคผนวก ข	46
ภาคผนวก ค	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ตัวอย่างของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่างๆ 15
2. อุณหภูมิและเวลาในการบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ในขั้นตอน selective enrichment 20
3. สารยับยั้งที่ใช้ในการแยก *Salmonella* ในอาหารชนิด selective enrichment 21
4. สารอาหารและสารเคมีชนิดต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective plating 22
5. เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสดโดยวิธีมาตรฐาน จากขั้นตอน selective enrichment 23
6. เปรียบเทียบชนิด serovar ของ *Salmonella* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างเนื้อโคสด 18 ตัวอย่าง จากการใช้ Rappaport Vassiliadis (RV) และ Tetrathionate broth (TTB) เป็น selective enrichment medium. 24
7. เปรียบเทียบอาหารแข็งเฉพาะเชื้อ 4 ชนิด ที่ตรวจพบ *Salmonella* จากตัวอย่างเนื้อโคสด 18 ร้าน จากการใช้ Rappaport Vassiliadis (RV) และ Tetrathionate broth (TTB) เป็น selective enrichment medium 28
8. จำนวน serovar ต่างๆ ของเชื้อซาลโมเนลลาที่ตรวจพบจากเนื้อโคชำแหละ 29
9. เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* และชนิดเซโรวาร์ที่พบจากอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน isolation หลังจากบ่มเพาะเชื้อด้วย TTB และ RV 30
10. เปรียบเทียบความไวในการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* และจำนวนเซโรวาร์ที่พบจากอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน isolation หลังจากบ่มเพาะเชื้อด้วย TTB และ RV 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

1ค. ผลการวิเคราะห์เชื้อซาลโมเนลลาเนื้อโคชำแหละในตลาดสดบางกะปิ และตลาดสดมีนบุรี 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ขั้นตอนการวิเคราะหาเชื้อ *Salmonella*	19
2. แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณการตรวจพบ *Salmonella* ของอาหารในขั้นตอน Selective enrichment	23
3. กราฟเปรียบเทียบปริมาณ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารแข็ง 4 ชนิด โดยการเขี่ยเพาะเชื้อจาก RV 42°C	27
4. กราฟเปรียบเทียบปริมาณ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารแข็ง 4 ชนิด โดยการเขี่ยเพาะเชื้อจาก TTB 37°C	27
5. กราฟเปรียบเทียบปริมาณ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารแข็ง 4 ชนิด โดยการเขี่ยเพาะเชื้อจาก TTB 43°C	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพภาคผนวก

ภาพภาคผนวกที่	หน้า
1. แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดบางกะปิ	40
2. แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดบางกะปิ	40
3. แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดบางกะปิ	40
4. แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดมีนบุรี	41
5. เนื้อโคชำแหละที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลา	41
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypicase Soy Broth (TSB) ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ	42
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Broth (TTB) Rappapost Vassiliadis (RV) ก่อนทำการบ่มเชื้อ	42
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Broth (TTB) Rappapost Vassiliadis (RV) หลังทำการบ่มเชื้อ	42
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD) agar ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ	43
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen Enteric (HE) agar ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ	43
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach (Rm) agar ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ	43
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Sami-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV) medium ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ	44
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron (TSI) agar slant Lysine-Indole-Motility (LIM) medium ก่อนทำการบ่มเชื้อ	44
14. อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron (TSI) agar slant Lysine-Indole-Motility (LIM) medium หลังทำการบ่มเชื้อ	44
15. Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67, A-I, B, C, DและE	45
16. อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) ก่อนทำการบ่มเชื้อ	45
17. อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) หลังทำการบ่มเชื้อ	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

โรคทางเดินอาหารอันเกิดจากการติดเชื้อซาลโมเนลลา (salmonellosis) ก่อให้เกิดปัญหาสำคัญแก่สุขภาพของประชากรทั่วโลก สาเหตุสำคัญของการติดเชื้อเนื่องจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อซาลโมเนลลาปนเปื้อน โดยเชื้อซาลโมเนลลานี้สามารถพบได้ในอาหารพวกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์เป็นสื่อนำเชื้อที่สำคัญมาสู่คน สำหรับประเทศในเขตร้อนรวมทั้งประเทศไทยก็พบว่ามีโรคอาหารเป็นพิษอันเกิดจากเชื้อซาลโมเนลลาเกิดขึ้นเสมอ และสาเหตุสำคัญเนื่องจากอาหารพวกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เช่นกัน

โค เป็นผลิตผลทางการเกษตร และเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการประกอบอาหารของคนโดยทั่วไป จัดเป็นแหล่งหนึ่งที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* มากและเป็นต้นเหตุหนึ่งของการปนเปื้อนมากในอาหารหลายประเภทที่มีโคเป็นส่วนประกอบ เช่น อาหารปรุงสำเร็จหลายชนิด ซึ่งมีรายงานว่า การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคที่จำหน่ายในแหล่งต่างๆ ของหลายประเทศนั้น เกิดได้ตั้งแต่การเพาะพันธุ์หรือการเลี้ยงในฟาร์ม โดยเกิดจากพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์ที่เป็นพาหะของโรค Salmonellosis อยู่ จากฟาร์มสัตว์ที่มีการจัดการที่ไม่ถูกสุขลักษณะ รวมถึงการขนส่งโคจากฟาร์มไปยังโรงฆ่าจากการใช้รถขนส่งไม่สะอาด ซึ่งจะมีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในตัวโคก่อนการฆ่า จากขั้นตอนการฆ่าในโรงฆ่าที่มีสภาพแวดล้อมไม่ถูกสุขลักษณะ รวมถึงมีการจัดการขณะผ่าซากและชำแหละที่ไม่ถูกต้อง สถานที่ชำแหละและตัดแต่งเนื้อหลังผ่าซากไม่สะอาด สุขลักษณะของผู้ที่เกี่ยวข้องในการตัดแต่งไม่ดี และไม่มีการควบคุมการขนส่งเนื้อสัตว์ไปยังร้านขายปลีกที่ดี เป็นต้น

การตรวจหา *Salmonella* ในอาหารโดยวิธีมาตรฐานของ Bacteriological Analytical Manual (BAM) และ AOAC Official Methods of Analysis (AOAC International, 1995) ได้ระบุถึงความสำคัญของขั้นตอน Preenrichment, Selective enrichment และ Selective plating เพื่อที่จะให้เชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในอาหารไม่ว่าจะอยู่ในลักษณะเซลล์ที่บาดเจ็บจากกระบวนการผลิตหรือมีปริมาณน้อยมีโอกาสเจริญได้ดีในช่วง Preenrichment และ Selective enrichment จนกระทั่งสามารถตรวจพบได้เป็นโคโลนีที่เห็นเด่นชัดในขั้นตอน Selective plating ซึ่งในขั้นตอน pre-enrichment นั้น มีอาหารหลายชนิดให้เลือก ซึ่งโดยมากจะมุ่งเน้นให้ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนและอยู่ในลักษณะเซลล์ที่บาดเจ็บหรือมีประมาณการปนเปื้อนน้อยให้อยู่ในลักษณะเซลล์แข็งแรงและมีการเพิ่มจำนวนให้มีปริมาณมากก่อนที่จะถ่ายลงสู่ขั้นตอน Selective enrichment เพื่อลดปริมาณเชื้อคู่แข่งที่ปนเปื้อนในอาหารและเจริญขึ้นพร้อมกับ *Salmonella* ในช่วงของการพรีเอนริช และขั้นตอน Selective enrichment นี้ เชื้อ *Salmonella* ที่แข็งแรงจะสามารถทนต่อสารยับยั้งต่างๆที่มีในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเจริญเพิ่มจำนวนได้ดี เมื่อนำอาหารในขั้นตอนดังกล่าวไปทำการเพาะเชื้อในอาหารของขั้นตอน Selective plating จะทำให้โอกาสการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* เพิ่มมากขึ้น

อาหารในขั้นตอน Preenrichment ที่แนะนำให้ใช้ โดยมากได้แก่ Buffered Peptone Water (BPW), Trypticase Soy Broth (TSB) หรือ Nutrient broth (NB) เป็นต้น ส่วนอาหารในขั้นตอน Selective enrichment แต่เดิมนั้น ได้มีการแนะนำให้ใช้ selenite cystine (SC) broth และ tetrathionate (TT) broth โดยใช้อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในการบ่มเพาะเชื้อ แต่จากการศึกษาของ June และคณะ (1995 และ 1996) พบว่า การใช้ Rappaport-Vassiliadis (RV) medium บ่มที่อุณหภูมิ 42°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลในการเจริญของเชื้อ *Salmonella* และการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* สูงกว่า SC broth มาก และการใช้ SC broth นั้น พบว่าหลังการใช้จะมีปริมาณของ selenium ตกค้างสูง ซึ่งสาร selenium ที่เกิดขึ้น จัดเป็นสารที่อันตรายและมีค่าใช้จ่ายสูงในการกำจัด และถ้ามีการกำจัดที่ไม่ถูดวิธีแล้ว จะทำให้เกิดการกระจายสู่สภาพแวดล้อม จนอาจเกิดผลเสียต่อการปศุสัตว์และบริเวณใกล้เคียงได้ (อ้างโดย Hammack และคณะ, 1999) ด้วยเหตุนี้การตรวจหา *Salmonella* ในอาหารสำหรับขั้นตอนดังกล่าวของ BAM และ AOAC จึงได้เปลี่ยนมาใช้ RV medium บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 42°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แทน SC broth ตั้งแต่ปีค.ศ. 1995 เป็นต้นมา สำหรับ TT broth นั้น ยังแนะนำให้ใช้ควบคู่กับ RV medium โดยที่อาหารที่มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อต่ำนั้น ได้มีการแนะนำให้ใช้ TT broth บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ควบคู่กับ RV medium และอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อสูงได้มีการแนะนำให้ใช้ TT broth บ่มที่อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ควบคู่กับ RV medium (Hammack และคณะ, 1999)

สำหรับอาหารในขั้นตอน Selective plating นั้น ทั้ง BAM และ AOAC ได้แนะนำให้มีการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนดังกล่าว 3 ชนิด ได้แก่ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar และ Bismuth sulfite (BS) agar ทั้งนี้เพื่อการตรวจพบเชื้อในกลุ่ม *Salmonella* ที่มีสมาชิกอยู่รวม มากกว่า 2,500 เซโรวาร์ (Popoff และคณะ, 2001) ในอาหารมีโอกาสตรวจพบได้โดยไม่ผิดพลาดและมีโอกาสที่จะได้เซโรวาร์มากที่สุด ด้วยเหตุนี้อาหารในขั้นตอนดังกล่าวจึงเป็นที่สนใจต่อนักวิจัยหลายท่านที่จะศึกษาหาสูตรอาหารชนิดใหม่ที่จะส่งเสริมการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* ให้ได้ผลการตรวจที่แน่นอน แม่นยำ และมีความรวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์ เช่น Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium ซึ่งมีความไว (sensitivity) และมีความจำเพาะสูง (high specificity) อีกทั้งราคายังถูกกว่าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อสำหรับการตรวจหา *Salmonella* อื่นอีกหลายชนิด (O'Donoghue และ Winn, 1993) ประสิทธิภาพของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวเป็นที่ยอมรับในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะกรรมการ AOAC ในเดือน มิถุนายน ค.ศ. 1995 และได้รับการตีพิมพ์ในเอกสารการตรวจวิเคราะห์ของ AOAC ในหัวข้อ 995.07 (Smedt, 1998)

จากความเป็นไปได้ในการปนเปื้อนของเนื้อโคในขั้นตอนต่างๆดังได้กล่าวข้างต้น การศึกษานี้จึงได้ทำการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ที่จำหน่ายปลีกในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อดูการปนเปื้อนและหาเซโรวาร์ของเชื้อในกลุ่ม *Salmonella* ที่พบการปนเปื้อนมากที่สุดในเนื้อโคสดขายปลีก รวมทั้งทำการเปรียบเทียบของอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment 2 ชนิด ที่แนะนำให้ใช้ในวิธีการมาตรฐานการตรวจหา *Salmonella* ในอาหาร ได้แก่ TT broth และ RV medium รวมถึงการเปรียบเทียบอาหารในขั้นตอน selective plating 4 ชนิด ได้แก่ XLD agar, HE agar, MSRV medium และ Rambach agar ที่เป็นที่นิยมใช้สำหรับการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในปัจจุบัน ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการควบคุมและพัฒนาการฆ่าโคเพื่อการจำหน่ายตามแหล่งต่างๆ รวมถึงการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบหาเชื้อ *Salmonella* ในโคสดในโอกาสต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในเนื้อโคชำแหละที่จำหน่ายในตลาดสดบางกะปิและตลาดสดมีนบุรี

2. เพื่อเปรียบเทียบหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในขั้นตอน selective enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อโคชำแหละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์หมายถึง กล้ามเนื้อ (muscel) โดยเฉพาะจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเป็นส่วนของกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และทางชีวเคมีเกิดขึ้นภายหลังจากสัตว์ตายแล้ว ในเนื้อสัตว์มีความชื้นสูง และเป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุ และวิตามินที่อุดมสมบูรณ์จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อสัตว์ภายหลังการฆ่า สัตว์ที่ถูกฆ่าเพื่อนำเนื้อมาใช้ กล้ามเนื้อในร่างกายสัตว์จะมีการเปลี่ยนแปลงต่างๆเกิดขึ้นภายหลังการฆ่า

เนื้อสันนอกแต่ง (Loin regular skinless) หมายถึง เนื้อส่วนที่ตัดเนื้อสะโพกตัดยาวและเนื้อไหล่ออก ตัดเนื้อส่วนท้องออกตามแนวขนานกับกระดูกสันหลัง โดยตัดห่างจากกระดูกสันหลังเล็กน้อย และตัดหนัง มัน เนื้อสันใน และเนื้อกระบังลมออก อาจมีมันติดอยู่ที่เนื้อได้บ้าง

เนื้อสันในแต่ง (Trimmed tenderloin) หมายถึง เนื้อส่วนที่ติดอยู่กับกระดูกสันหลังด้านในที่เอาพังผืดและมันออกแล้ว

2.2 ปริมาณการตรวจพบเชื้อ *Salmonella*

ต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่าง 25 กรัม

2.3 ความสำคัญและการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.3.1 ลักษณะโดยทั่วไปของ *Salmonella*

Salmonella เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ จัดอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ และแหล่งของเชื้อที่สำคัญได้แก่ ของเสียจากการขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น มีขนาดความกว้าง 0.5 – 0.7 ไมครอน และยาว 2 – 3 ไมครอน สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะมีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobes) เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลา (flagella) ที่มีอยู่รอบเซลล์ที่เรียกว่า peritrichous เจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 5 – 47 °C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญอยู่ในช่วง 37 – 38 °C แบคทีเรียชนิดนี้ไม่ทนความร้อนถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 15 – 20 นาที และไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 °C ชนิดนี้สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส และให้กาซ สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส แมนนิทอล มอลโตส และซอร์บิทอล แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตส และซูโคส pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *Salmonella* ได้แก่ช่วง 4.0 – 9.0 pH ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้อยู่ในช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 – 4.3 (Jay, 1970) ที่เหมาะสำหรับการเจริญควรจะมีค่า water activity (a_w) ระหว่าง 0.945 – 0.999

ลักษณะที่สำคัญของ *Salmonella* ที่ใช้ในการจำแนกชนิด ได้แก่ ลักษณะที่แตกต่างกันของแอนติเจน แยกได้โดยการทดสอบเซรุ่มวิทยา ซึ่งแบ่งได้ 3 ชนิด (อรุณ, 2540)

1. โอ แอนติเจน หรือโซมาติก แอนติเจน (O or somatic antigen) เป็นแอนติเจนที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ประกอบด้วยสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ โปรตีน และฟอสโฟลิพิด มีคุณสมบัติ คือ สามารถทนความร้อนที่ 100°C ได้นานถึง 2 ชั่วโมง 30 นาที ทนต่อเอทธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% ทนต่อกรดเจือจาง ปฏิกิริยาของโอ แอนติเจนกับแอนติเซรั่มจำเพาะจะมีลักษณะเป็น granular Kauffman-White Schema จึงแบ่งกลุ่มของโอ แอนติเจนโดยใช้ชื่อเป็นเลขอาราบิค โดยเริ่มจากกลุ่มโอ 67

2. เอช แอนติเจน หรือ แฟลกเจลลา แอนติเจน (H or flagella antigen) เป็นส่วนประกอบของสารประเภทโปรตีน มีคุณสมบัติ คือ ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C ถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์ และกรด ปฏิกิริยาของเอช แอนติเจนกับแอนติเซรั่มที่จำเพาะ จะมีลักษณะเป็น faoccular *Salmonellae* ส่วนมากจะมีเอช – แอนติเจน 2 เฟส ได้แก่ เฟส 1 หรือเฟสจำเพาะ (specific phase) และเฟสที่ 2 คือเฟสไม่จำเพาะ (non specific phase) ตัวอย่างของซีโรวาที่มีเอช แอนติเจนเพียงเฟสเดียวที่สำคัญ ได้แก่ *S.* Paratyphi A, *S.* Typhi, *S.* Derby, *S.* Enteridis, *S.* Dublin ส่วนซีโรวาที่ไม่มีเอช แอนติเจน ได้แก่ *S.* Gallinarum

3. วีไอ แอนติเจน (Vi antigen) เป็นแอนติเจนที่คลุมอยู่รอบนอกโอ แอนติเจน คุณสมบัติของวีไอ แอนติเจน คือ จะถูกทำลายได้เมื่อได้รับความร้อน กรด หรือฟีนอล(phenol) โดยปรกติ *Salmonellae* ที่มีวีไอ แอนติเจนจะทำให้เกิดอาการของโรคที่รุนแรงกว่าเชื้อที่ไม่มีวีไอ แอนติเจน *Salmonellae* ที่มีวีไอ แอนติเจน ได้แก่ *S.* Typhi, *S.* Paratyphi C และ *S.* Dublin

2.4 ลักษณะของโรค Salmonellosis

Salmonella เกือบทุกซีโรไทป์เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหารในคนและสัตว์สามารถติดต่อได้โดยการบริโภคอาหาร หรือน้ำดื่ม การก่อโรคเกิดจากสารพิษชนิด endotoxins (อดิศร, 2538) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์-โพลีเปปไทด์-ลิปิด เอ ซึ่งจะปรากฏอยู่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้เข้าไปในปริมาณที่สูงพอ จะเกิดโรค salmonellosis โดยอาการของโรคจะมีความรุนแรง ระยะเวลาในการฟักตัวนานเท่าใด ขึ้นอยู่กับสาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ของ *salmonella* ที่ปนเปื้อน จำนวนเซลล์ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายและสุขภาพของผู้ที่ได้รับเชื้อ ได้แก่ ความแข็งแรง หรืออายุ เป็นต้น (Hobbs และ Gillbert, 1978) ผู้ที่ได้รับแบคทีเรียชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายจะแสดงอาการภายใน 6-48 ชั่วโมง ส่วนใหญ่ปรากฏในเวลา 12-24 ชั่วโมง หรืออาจนานตั้งแต่ 3 วัน ถึง 3 สัปดาห์ โดยผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรง ต้องได้รับปริมาณเซลล์อย่างน้อย $0.5 \times 10^6 - 1 \times 10^6$ เซลล์จึงจะเกิดอาการ ขณะที่ผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง ซึ่งได้แก่ ทารกอายุต่ำกว่า 1 ปี ผู้สูงอายุ ผู้มีร่างกายอ่อนแอ และมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เมื่อได้รับเชื้อเพียงเล็กน้อยเท่านั้นก็เกิดอาการได้ (Hayes, 1985)

2.5 อาการของโรคจำแนกออกได้เป็น 3 ลักษณะ(นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541)

1. โรคอุจจาระร่วง หรือกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) เป็นอาการที่พบมากที่สุด เกิดจาก *Salmonella* หลายซีโรไทป์ แต่ที่พบบ่อยเกิดจาก *S.* Typhimurium และ *S.* Enteridis ระยะฟักตัวสั้นมาก อาการเกิดหลังจากกินอาหารที่มีแบคทีเรีย 8-24 ชั่วโมง มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วงรุนแรง มีไข้ต่ำ ๆ เชื้อจะเจริญในลำไส้เท่านั้น ไม่แพร่กระจายเข้าสู่เส้นเลือด อาการปรากฏตั้งแต่ 2-5 วันในช่วงที่มีอุจจาระร่วงจะพบเชื้อในอุจจาระผู้ป่วยประมาณ 10^6-10^9 เซลล์ (Boyd และ Hoet, 1981)

2. ไข้เอนเทอริก (ไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์) มีอาการคล้ายกับไข้พาราไทฟอยด์ แต่มีอาการน้อยกว่าไข้ไทฟอยด์ เกิดจาก *S.* Typhi และ *S.* Paratyphi A, B และ C ตามลำดับ ซึ่งเชื้อเหล่านี้เป็นต้นเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อขึ้นในมนุษย์ โดยการบริโภคน้ำหรืออาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเหล่านี้ เชื้อจะเข้าสู่กระเพาะอาหารและถูกกรดในกระเพาะทำลายไปบ้าง เชื้อที่รอดชีวิตจะได้เข้ามาถึงลำไส้เล็กเข้าสู่เนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissue) ของผนังลำไส้เล็กและต่อมน้ำเหลืองบริเวณนั้น เชื้อจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเริ่มเข้าสู่กระแสโลหิต ซึ่งจะมีเชื้อจำนวนหนึ่งตาย และปล่อย endotoxin ออกมากระตุ้นเม็ดเลือดขาวทำให้เกิด endogenous pyrogen ทำให้เกิดไข้สูง (39.5-40 °C) นอกจากนี้ผู้ป่วยมีอาการปวดศีรษะ มีผื่นคัน มีจุดแดงที่ผิวของช่องท้อง อึดอัดภายในช่องท้อง หัวใจเต้นช้ากว่าปรกติ จะมีอาการอยู่ 1-3 สัปดาห์แล้วลดลงในสัปดาห์ที่ 4 การติดเชื้อในมนุษย์ส่วนใหญ่จะมีจำนวนเซลล์มากกว่า 1,000,000 เซลล์ (Jaweiz และคณะ, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. โลหิตเป็นพิษ (septicemia) เป็นอาการที่เกิดจากเชื้อ *S.* Choleraesuis เป็นการติดเชื้อในกระแสเลือดโดยตรง ทำให้ระบบหมุนเวียนโลหิตทำงานผิดปกติ นอกจากนี้อาจพบการเปลี่ยนแปลงที่ระบบทางเดินอาหาร และการติดเชื้อที่ระบบน้ำเหลือง มักพบในเด็กและผู้ใหญ่ที่มีอายุมากกว่า 50 ปี โดยเฉพาะผู้ชาย(Boyd และ Marr, 1980; Jawetz และคณะ, 1980) ผู้ป่วยจะมีไข้ หนาวสั่น เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลดลง เชื้อจะกระจายไปตามส่วนต่าง ๆ เช่น เยื่อหุ้มสมอง ปอด หัวใจ ไต ม้าม ทำให้เกิดการอักเสบที่บริเวณนั้น

2.6 การจำหน่ายเนื้อโคชำแหละสด

ในประเทศไทยจำหน่ายเนื้อโคสดมีอยู่ด้วยกัน 2 ประเภทคือ

1. การจำหน่ายตามตลาดสด
2. การจำหน่ายตามซุปเปอร์มาร์เก็ต

2.7 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหาร

แบคทีเรียในจีนัส *Salmonella* มีมากกว่า 2,700 ซีโรไทป์ นอกจากอุจจาระของคนและสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งตามธรรมชาติของแบคทีเรียชนิดนี้ สัตว์ประเภทอื่น ๆ เช่น นกก็เป็นแหล่งธรรมชาติของแบคทีเรียนี้เช่นกัน ได้มีรายงานว่า ผู้บริโภคที่ได้รับเชื้อนี้เข้าไป ส่วนใหญ่มักได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนมากับอาหารประเภทเนื้อสัตว์เป็นส่วนใหญ่ ในกระบวนการผลิตไก่แบบครบวงจร (Jones และคณะ, 1991) ได้ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อจากโรงเลี้ยง โรงเพาะพันธุ์ โรงฟัก ตลอดจนโรงงานที่ใช้ในการแปรรูป พบว่าในโรงเลี้ยงสัตว์พบเชื้อมากที่สุด โดยจะพบเชื้อ *S.* Typhimurium เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเชื้อจะปนเปื้อนมากับอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง โดยทั่วไป เชื้อเหล่านี้จะมีแมลงเป็นพาหะ แต่เมื่อวัตถุดิบเนื้อสัตว์เข้าสู่กระบวนการผลิต เชื้อจะมีการปนเปื้อนจากคน หรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต ดังนั้น ในระหว่างขั้นตอนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ จึงควรมีการควบคุมในทุก ๆ ขั้นตอน โดยเฉพาะในขั้นของการทำความสะอาดอย่างจริงจัง ในผลิตภัณฑ์ไก่พบว่า โดยธรรมชาติสามารถพบเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนบริเวณส่วนที่เป็นผิวหนังไก่ โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* จะพบ 17 - 77 % ในซากไก่สด (Conner และ Bilgili, 1994) ซึ่งในซากไก่สด 1 ตัว มักพบเชื้อ *Salmonella* ตั้งแต่ 5 - 1,000 เซลล์ (Mulder และคณะ, 1977) นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นผลผลิตจากไก่ ยังสามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ซีโรไทป์ต่าง ๆ โดยในปี 1994 Jemgklinchan และคณะ ได้ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อไก่สด เครื่องในไก่ และผลิตภัณฑ์ไก่ปรุงสุก ได้แก่ ลูกชิ้น และไส้กรอก ในกรุงเทพฯ จำนวน 1,135 ตัวอย่าง จากตลาดสด 9 แห่ง, ซุปเปอร์มาร์เกต 9 แห่ง และจากโรงงานแปรรูปไก่ 4 แห่ง พบว่า สามารถวิเคราะห์พบเชื้อ *Salmonella* จากตัวอย่างเนื้อไกสดจำนวน 705 ตัวอย่าง พบเชื้อ 467 ตัวอย่าง คิดเป็น 66% ในตัวอย่างเครื่องในไก่ 221 ตัวอย่าง พบเชื้อ 190

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง คิดเป็น 86% และในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไก่ปรุงสุก 209 ตัวอย่าง พบเชื้อ 21 ตัวอย่าง คิดเป็น 10% ซึ่งเมื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาสายพันธุ์ของเชื้อพบว่า ในตัวอย่างเนื้อไก่สดพบ *S.* Blockley 14%, *S.* Virchow 12%, *S.* Enteritidis 12%, *S.* Hadar 9% และ *S.* Paratyphi B 9%, ในตัวอย่างเครื่องในไก่พบ *S.* Virchow 15%, *S.* Kentucky 13%, *S.* Enteritidis 12%, *S.* Agona 12% และ *S.* Blockley 11% สำหรับผลิตภัณฑ์ไก่ปรุงสุกพบ S. Derby 33%

ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลจำพวกกุ้งแช่เยือกแข็ง ในปี 1983 Zuberi และคณะ ได้ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งแช่เยือกแข็ง จากโรงงาน 2 แห่ง A และ B จากตัวอย่างกุ้งแช่เยือกแข็ง 338 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* 3 ตัวอย่าง ในตัวอย่างที่ผลิตจากโรงงาน B และในปี 1994 Gecan และคณะ ได้ทำการสำรวจตัวอย่างกุ้งแช่เยือกแข็ง 356 ตัวอย่าง โดยได้นำตัวอย่างกุ้ง 205 ตัวอย่าง วิเคราะห์เชื้อ *Listeria* และนำตัวอย่างกุ้ง 211 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* พบว่าตัวอย่างกุ้งจากประเทศต่าง ๆ 26 ประเทศรวมทั้งสหรัฐอเมริกา พบ *Listeria* 6.8% และพบ *Salmonella* 8.1% จากการวิเคราะห์คุณภาพโดยการตรวจสอบด้านจุลินทรีย์ในกุ้งแช่เยือกเย็น 10 ตัวอย่าง จากประเทศสหรัฐอเมริกา และ เอกวาดอร์ พบ *Listeria* ในประมาณ 6.4 และ 4.0% ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างกุ้งแช่เยือกแข็งจากประเทศจีน มาเลเซีย เอกวาดอร์ และสหรัฐอเมริกา นั้น วิเคราะห์พบเชื้อ *Salmonella* 20, 8.3, 7.1 และ 3.2% ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในตัวอย่างอาหารทะเลจำพวกกุ้งแช่เยือกแข็งจะพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อ *Salmonella* จะเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่พบในทางเดินอาหารของกุ้ง แต่การที่เชื้อสามารถปนเปื้อนในกุ้งได้นั้น เนื่องมาจาก พื้นที่ที่ใช้ในการเลี้ยงมีการสุขาภิบาลไม่ดี หรือ อาจเกิดจากการปนเปื้อนขณะที่กุ้งถูกจับรวมกับสัตว์น้ำชนิดอื่น (Kuenberg, 1991 ; Miget, 1991)

สำหรับในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์ เชื้อ *Salmonella* สามารถปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ได้ เนื่องจากเนื้อสัตว์ที่ถูกนำมาใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ มีคุณภาพต่ำ นอกจากนี้กรมวิธีในการผลิตมีการสุขาภิบาลไม่ดี ซึ่ง (Femendez-Escartin และคณะ, 1993) ได้ทำการวิเคราะห์เพื่อหาชนิดของเชื้อในสลัดเนื้อ ที่เรียกว่า Salpicon พบเชื้อ *Salmonella* ซีโรไทป์ต่าง ๆ ได้แก่ *S.* Sandiego, *S.* Worthington, *S.* Montevideo, *S.* Agona, *S.* Bredeney, *S.* Poona, *S.* Meleagridis, *S.* Derby, *S.* Panama, *S.* Anatum, *S.* Reading, *S* .Give, *S.* Schwarzengrund และ *S.* Infantis ในผลิตภัณฑ์ประเภทไส้กรอก (Abbar และTasir, 1989) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก 3 ชนิด คือ ไส้กรอกที่ผลิตจากไส้สดของวัว 70 ตัวอย่าง, ไส้กรอกที่ผลิตจากไส้วัวโดย dry and ready to wet state 60 ตัวอย่าง และ Pasturma sausage 80 ตัวอย่าง พบว่า จากตัวอย่างไส้กรอกทั้งหมด 210 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* 34 ตัวอย่าง คิดเป็น 16.2% ไส้กรอกที่ผลิตจากไส้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สด และ Pasturma sausage พบเชื้อ *Salmonella* ที่ระดับ 8.6% และ 35% ตามลำดับ และเมื่อทำหารวิเคราะห์ชนิดของเชื้อ *Salmonella* สามารถตรวจวิเคราะห์พบเชื้อ *S.* Anatum ในไส้กรอกที่ผลิตจากไส้สด และ Pasturma sausage นอกจากนี้ใน Pasturma sausage ยังตรวจพบ *S.* Typhimurium และ *S.* Molade อีกด้วย (Van Netten และคณะ, 1986) ได้รายงานถึงการเกิดโรคอาหารเป็นพิษในคนที่บริโภคไส้กรอกหมักชนิดกึ่งแห้ง Bologna 17 คน พบว่า ไม่มีผู้ใดได้รับอันตรายถึงแก่ชีวิต เมื่อได้ทำการตรวจไส้กรอกที่บริโภคพบว่ามีค่า pH และ A_w ค่อนข้างสูง คือ 5.7 และ 0.99 ซึ่งค่า pH ที่ควรเป็นควรจะอยู่ในช่วง 4.5-5.0 และ A_w ควรอยู่ในช่วง 0.92-0.97 และยังตรวจพบเชื้อ *S.* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* ปริมาณ 10^6, 10^4 และ 10^4 .เซลล์ ตามลำดับ นอกจากนี้ (นงคราญ และนิตยา, 2535) ได้ทำการตรวจแหนมที่ทำการสุ่มตัวอย่างจากจังหวัดทางภาคเหนือตอนบนได้แก่ เชียงใหม่, ลำพูน, ลำปาง, แพร่, น่าน และพะเยา ในปี 2534 จำนวน 35 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Samonella* 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 2.8% (อดิศร และคณะ, 2538) ได้ทำการตรวจแหนมจำนวน 36 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 33.3% โดยพบเชื้อ *Salmonella* ทั้งหมด 9 ซีโรไทป์ และยังสามารถตรวจพบเชื้อ *S.* Derby มากที่สุดถึง 6 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อ *S.* Anatum, *S.* Stanley, *S.* Weltevreden, *S.* Bredeney, *S.* Senftenberg, *S.* Rissen และ *S.* Krefeld

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสด

1. ลักษณะของเนื้อ

เนื้อที่ลักษณะเป็นก้อนจะเกิดการปนเปื้อนได้น้อยกว่าเนื้อบดและเนื้อเป็นแผ่น ทั้งนี้เพราะเนื้อบดและเนื้อเป็นแผ่นเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวจะแพร่กระจายไปทั่วก้อนเนื้อ ส่วนเนื้อเป็นก้อนจุลินทรีย์มักติดอยู่เฉพาะภายนอกก้อนเนื้อ เนื้อเยื่อภายในปกติจะไม่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ไขมันที่หุ้มเนื้อสัตว์จะช่วยป้องกันไม่ให้เนื้อข้างในมีจุลินทรีย์ปนเปื้อน

2. ความชื้น

ความชื้นที่อยู่บนเนื้อสัตว์มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ที่มีผิวภายนอกแห้งอยู่เสมอจะมีการปนเปื้อนได้น้อย เพราะจุลินทรีย์อาจเจริญไม่ได้ แต่ถ้ามีความชื้นมากขึ้นจะทำให้เกิดการปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. pH

ลักษณะทางสรีระวิทยาของเนื้อสัตว์ก่อนถูกฆ่ามีผลต่อ pH ของเนื้อสัตว์ปกติ เนื้อสัตว์ที่มีชีวิต pH ประมาณ 7.4 เมื่อสัตว์ตายแล้วเซลล์ของสัตว์ยังคงทำหน้าที่ต่อไปอีก ทำให้ไกลโคเจนในเซลล์ถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกและคาร์บอนไดออกไซด์เรื่อยๆ กรดและกาซที่เกิดขึ้นจะไม่ถูกกำจัดออกไปกับซาก ดังนั้นจึงคั่งไปกับเนื้อ กรดที่คั่งนี้ทำให้เนื้อมี pH ลดลงเหลือประมาณ 5.5-5.7 แต่ถ้าก่อนทำการฆ่าสัตว์ตื่นเต้น เมื่อยล้า เป็นไข้หรือตกใจไกลโคเจนในเนื้อจะถูกใช้ไป ทำให้ไกลโคเจนในเนื้อสัตว์ที่ตายแล้วน้อยกว่าปกติ กรดแลคติกก็น้อยทำให้ pH ของเนื้อสัตว์ไม่ลดลงเท่าที่ควร กล่าวคืออาจมี pH ประมาณ 6.6-7.4 การที่เนื้อสัตว์มี pH สูงจุลินทรีย์เจริญได้ดี

4. อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บเนื้อสัตว์มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งปกติเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายในตลาดสดส่วนใหญ่จะวางจำหน่ายที่อุณหภูมิสภาพปกติคือ 37°C ไม่ได้มีการวางจำหน่ายที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดี

2.9 รายงานการระบาดของกลุ่มเชื้อ *Salmonella* ในประเทศไทย

1. การประมาณอุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อ *Salmonella* ชนิดที่ไม่ใช่ไทฟอยด์ในประเทศไทย

การประมาณโรค Salmonellosis จากจำนวนผู้ป่วยจากการประมาณของโรคอุจจาระร่วงด้วยผลการวิจัยพบว่าประมาณผู้ป่วย (estimated cases) โรค Salmonellosis เฉลี่ย 4 ปีที่ทำการศึกษา (2537-2540) มีจำนวน 632,548-45,192 ราย หรืออัตราป่วย 76-1,057 รายต่อประชากร 100,000 ดังนั้นจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับรายงานจึงมีประมาณ 0.8%-11% ของจำนวนผู้ป่วยโรค Salmonellosis (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2541)

2. การกลับมาของเชื้อ *Salmonella* Paratyphi A ในปีพ.ศ.2539

การระบาดของโรคไทฟอยด์ในกรุงเทพมหานคร จำนวน 347 ราย ในช่วง มกราคม-กุมภาพันธ์ 2539 พบว่าเกิดจากเชื้อ *Salmonella* Paratyphi A ,Phage type 1 ทั้งสิ้น เมื่อเทียบกับผลการศึกษาย้อนหลัง 5 ปีพ.ศ.2534-2538 พบว่าเป็น Phage ชนิดเดียวกับที่พบมากที่สุดในเขตกรุงเทพมหานคร แสดงว่าเชื้อ *Salmonella* Paratyphi A ที่ก่อให้เกิดโรคเป็นสายพันธ์เดิมและอาจเป็นเชื้อที่มีอยู่ในแหล่งธรรมชาติในกรุงเทพมหานคร (ประภาวดี และคณะ, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20363

3. การศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็ง

การปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งที่ผลิตเพื่อการส่งออกระหว่างปี พ.ศ.2526-2528 ได้แก่ กุ้ง, ปลา, ปลาหมึกและหอย สัตว์น้ำจืดได้แก่ ปลาน้ำจืด และสับปะรดแช่แข็ง พบว่ามีอัตราการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์กุ้งแช่เยือกแข็ง 1.2 %, ปลาทะเลแช่เยือกแข็ง 2.5%, ปลาหมึกแช่เยือกแข็ง 0.8%, หอยทะเลแช่เยือกแข็ง 2.7%, ปลาน้ำจืด 8.5% และสับปะรดแช่เยือกแข็ง 0.5% เมื่อเปรียบเทียบ species ของ *Salmonella* ที่พบลักษณะการเป็นพาหะของ *Salmonella* ในคนงานของโรงงานผลิต 3 โรงงาน พบว่าเป็น species เดียวกับที่ตรวจพบในอาหาร 13 species แสดงว่าคนงานอาจเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์และ *Salmonella* ในอาหาร อาจทำให้ติดเชื้อในผู้สัมผัส (ทนงพันธ์ และคณะ, 2530)

4. รายงานการพบเชื้อ *Salmonella* จากอาหารในกรุงเทพมหานคร

- การศึกษาของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ กรุงเทพมหานคร เพื่อเฝ้าระวังการปนเปื้อนของ Enteropathogenic bacteria ในปี 2514 และ 2515 จากอาหารภัตตาคารและอาหารในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 501 และ 217 ตัวอย่างตามลำดับ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* 399 ตัวอย่าง (7.8%) และ 11 ตัวอย่าง (4.6%) ตัวอย่างตามลำดับ เซโรวาร์ที่พบ คือ *S.* Derby, *S.* Anatum, *S.* Lexington, *S.* Newport, *S.* Thomson, *S.* Weltevreden, *S.* Bovismorbificans, นอกจากนี้ยังพบ *S.* Zadur และ *S.* Luciana เป็นครั้งแรกในประเทศไทยด้วย

- การศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในอาหารของการบินไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2515-2516 จำนวน 276 ตัวอย่างพบ *Salmonella* 25 ตัวอย่าง (9.1%) โดยพบ *S.* Derby, *S.* Newport, *S.* Weltevreden, *S.* Bovismorbificans, *S.* London, *S.* Brunei, *S.* Lexington, *S.* Meleagridis, *S.* Anatum, *S.* Emek และ *S.* 1.8,20:-:- ถูกตรวจพบเป็นครั้งแรก

- การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในแหนม 217 ตัวอย่าง ในปี พ.ศ. 2515 พบ *Salmonella* 27 ตัวอย่าง (12.4%) จำนวน 8 เซโรวาร์ คือ *S.* Derby, *S.* Anatum, *S.* Bovismorbificans, *S.* Lexington, *S.* Stanley, *S.* Newport, *S.* Montevideo, และพบ *S.* Wandsworth เป็นครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งต่อมาในปี 2519-2520 พบมีการระบาดของเซโรวาร์นี้ ในเด็กแรกเกิดหลายโรงพยาบาล เขตกรุงเทพมหานคร การศึกษาการปนเปื้อนจากอุจจาระของผู้สัมผัสอาหาร ในปีพ.ศ. 2517 จำนวน 462 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 35 ตัวอย่าง (7.6%) และพบ *S.* Arizona ในผู้สัมผัสอาหารจากภัตตาคารแห่งหนึ่งด้วย และในปีพ.ศ. 2519 ตัวอย่างจากผู้สัมผัสอาหารของสายการบินไทย จำนวน 149 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 13 ตัวอย่าง (8.7%) ซึ่งเซโรวาร์ที่ตรวจพบ คือ *S.* Derby, *S.* Anatum, *S.* Lexington, *S.* Weltevreden, และ *S.* London (รัตนสุดา, 2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

5. ความสัมพันธ์ระหว่างเซโรวาร์ ของ *Salmonella* ที่พบในอาหารและในคนในประเทศไทย พ.ศ. 2534-2536.

ความสัมพันธ์ระหว่างเซโรวาร์ของเชื้อ *Salmonella* ที่พบในคนและในอาหารระหว่างปีพ.ศ. 2534-2536 พบสายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella* ที่ได้รับการตรวจแยกชนิด โดยศึกษาลักษณะของ antigen จาก WHO National Salmonella & Shigella Center จำนวน 14,117 สายพันธุ์เชื้อที่แยกได้จากอาหารพร้อมบริโภค, อาหารทะเลแช่แข็ง, เนื้อไก่แช่แข็ง และจากคน จำนวน 197,229, 3,694, 9,997 สายพันธุ์ตามลำดับ เซโรวาร์ที่ตรวจพบมากตามลำดับ 15 ชนิด ในคน ได้แก่ *S.* Weltevreden 1,327 สายพันธุ์ (13.27%), *S.* Derby 1,250 สายพันธุ์ (12.50%), *S.* Enteritidis 886 สายพันธุ์ (8.86%), *S.* Typhimurium 585 สายพันธุ์ (5.85%), *S.* Krefeld 474 สายพันธุ์ (4.74%), *S.* Agona 473 สายพันธุ์ (4.73%), *S.*1.4,5,12:i:- 439 สายพันธุ์ (4.39%) *S.* Anatum 384 สายพันธุ์ (3.84%), *S.* Virchow 285 สายพันธุ์ (2.85%), *S.* Paratyphi A 277 สายพันธุ์ (2.77%), *S.* Blockley 266 สายพันธุ์ (2.55%), *S.* Choleraesuis 252 สายพันธุ์ (2.52%), *S.* Stanley 226 สายพันธุ์ (2.26%), *S.* Hadar 224 สายพันธุ์ (2.24%), *S.* Typhi 191 สายพันธุ์ (1.91%) ในจำนวน 15 เซโรวาร์นี้มี 12 เซโรวาร์ที่พบบ่อยในอาหารยกเว้น *S.* Paratyphi A, *S.* Choleraesuis, *S.* Typhi โดยชนิดที่เหมือนกันทั้งในคนและอาหารพร้อมบริโภค 7 เซโรวาร์, ในคน และอาหารแช่แข็ง 8 เซโรวาร์, ในคนและไก่แช่แข็ง 9 เซโรวาร์ (รัตนสุดา และคณะ, 2537)

6. การสำรวจ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์ชนิดที่จำหน่ายในตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ต

การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดต่างๆได้แก่ ลูกชิ้นเนื้อ, ลูกชิ้นกุ้ง, ปูอัด, ไส้กรอกหมู, ลูกชิ้นหมู, ลูกชิ้นไก่, ไส้กรอกไก่, หมูยอ, และลูกชิ้นปลาจำนวนทั้งสิ้น 223 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในตลาดสด และซุปเปอร์มาร์เก็ต ในเขตกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* 42 ตัวอย่าง (18.82%) ผลิตภัณฑ์ที่พบมากที่สุด และรองลงมาได้แก่ ลูกชิ้นเนื้อ 18 ตัวอย่าง (54.56%), ลูกชิ้นกุ้ง 5 ตัวอย่าง (50.00%), ปูอัด 3 ตัวอย่าง (30.00%), ไส้กรอกหมู 5 ตัวอย่าง (13.16%), ลูกชิ้นหมู 3 ตัวอย่าง (17.65%), ลูกชิ้นไก่ 3 ตัวอย่าง (9.38%), ไส้กรอกไก่ 4 ตัวอย่าง (7.02%), หมูยอ 1 ตัวอย่าง (6.25%) และในลูกชิ้นเนื้อปลาไม่พบการปนเปื้อน จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์เนื้อนั้น แม้ได้ผ่านกรรมวิธีการผลิตแล้วก็ตาม แต่ยังมีการปนเปื้อนถึงร้อยละ 18.82 (อรุณ และคณะ, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การศึกษาเซโรวาร์ที่สำคัญของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากคนและอาหารในประเทศไทย

ในการศึกษาเพื่อต้องการหาเซโรวาร์ที่สำคัญของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากคนและอาหาร ซึ่งรวมไปถึงเนื้อไก่และสิ่งแวดล้อมต่างๆในประเทศไทย โดยรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อทั้งสิ้นจำนวน 29,073 สายพันธุ์ ระหว่างปีพ.ศ. 2536-2539 โดยแยกได้จากคน, เนื้อไก่, อุจจาระไก่, อาหารเลี้ยงไก่, อาหารไทยสำเร็จพร้อมบริโภค, น้ำดื่ม, กุ้ง และน้ำเสีย เพื่อนำมาหาเซโรวาร์ผลพบว่า สายพันธุ์จากคนมีเซโรวาร์ทั้งสิ้น 72 เซโรวาร์ และมีสายพันธุ์จากสัตว์และอื่นๆมีเซโรวาร์ทั้งหมด 81 เซโรวาร์ โดยมี *S.* Weltevreden จำนวน 2,153 สายพันธุ์, *S.* Derby จำนวน1,834 สายพันธุ์, *S.* Enterritidis จำนวน 1,554 สายพันธุ์ และ *S.* Anatum จำนวน 1,293 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากอุจจาระคน, พบ *S.* Enteritidis จำนวน 899 สายพันธุ์ สายพันธุ์จากเลือดคน, *S.* Enteritidis จำนวน 1,834 สายพันธุ์, *S.* Hadar จำนวน 738 สายพันธุ์ และ *S.* Paratyphi B biover Java จำนวน 600 สายพันธุ์ จากเนื้อไก่, *S.* Enteritidis จำนวน 233 สายพันธุ์ จากอุจจาระไก่, *S.* Amsterdam จำนวน 158 สายพันธุ์ และ *S.* Derby จำนวน 44 สายพันธุ์ จากอาหารเลี้ยงไก่, ส่วน *S.* Anatum จำนวน 158 สายพันธุ์ และ *S.* Derby จำนวน 147 สายพันธุ์ จากอาหารไทยสำเร็จพร้อมบริโภค และยังพบ *S.* Weltevreden จำนวน 38,119 และ 13 สายพันธุ์ จากน้ำดื่ม, กุ้งและน้ำเสีย ตามลำดับ (สุมาลี และคณะ, 2543)

8. รายงานการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในอาหารพร้อมปรุงที่จำหน่ายในซุปเปอร์มาร์เก็ต

การศึกษาหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอาหารพร้อมปรุง เพื่อเป็นข้อมูลให้ห้างสรรพสินค้าและประชาชนที่นิยมบริโภคอาหารพร้อมปรุง โดยได้เก็บตัวอย่างอาหารพร้อมปรุงบรรจุโฟม จำนวน 137 ตัวอย่าง จากซุปเปอร์มาร์เก็ตในกรุงเทพมหานคร นนทบุรี และปทุมธานี 33 แห่ง ทำการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอาหารพร้อมปรุง 105 ตัวอย่าง สำหรับ *Salmonella* เซโรวาร์ที่พบมากใน 5 อันดับ ได้แก่ *S.* Anatum 42 ตัวอย่าง ร้อยละ 42, *S.* Rissen 18 ตัวอย่าง ร้อยละ 18, *S.* Typhimurium 101 ตัว อย่าง ร้อยละ 10, *S.* Panama 8 ตัวอย่าง ร้อยละ 8 และ *S.* London 7 ตัวอย่าง ร้อยละ 7 (รายงานประจำปี 2542 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ความสำคัญของการสุ่มตัวอย่างภาชนะและอุปกรณ์ประกอบอาหารเพื่อตรวจหาเชื้อโรคอุจจาระร่วง

การศึกษาหาเชื้อในอุปกรณ์และภาชนะประกอบอาหารตามร้านอาหาร แผงลอย และแม่ค้าหาบเร่ เพื่อเป็นข้อมูลให้กับประชาชนโดยวิธีการ Swab จากเขียง, ช้อน, จาน, ชาม, ครก และอุปกรณ์อื่นๆ รวม 1,216 ตัวอย่าง จากร้านอาหาร และแผงลอยในจังหวัดนนทบุรี 360 ร้าน (610 ตัวอย่าง) จังหวัดอยุธยา 93 ร้าน (308 ตัวอย่าง) และจังหวัดปทุมธานี 156 ร้าน (298 ตัวอย่าง) สำหรับเชื้อ *Salmonella* ที่ตรวจหาทำการศึกษาถึงระดับเซโรวาร์ ผลการศึกษาผลว่า มีการปนเปื้อนของเชื้ออุจจาระร่วง 89 ตัวอย่าง ร้อยละ 7.32 จำแนกได้ คือ มีด พบเชื้อ 8 ตัวอย่าง ร้อยละ 63, ถาดพบ 3 ตัวอย่าง ร้อยละ 13.04, เขียงพบ 38 ตัวอย่าง ร้อยละ 11.08, ตะเกียบพบ 1 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.66, ครกพบ 6 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.59 ถ้วยพบ 2 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.45, แก้วพบ 3 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.25, ช้อนพบ 14 ตัวอย่าง ร้อยละ 5.43, จานพบ 7 ตัวอย่าง ร้อยละ 3.61, ชามพบ 6 ตัวอย่าง ร้อยละ 4.08 และคีมจับอาหารพบ 1 ตัวอย่าง ร้อยละ 20.00 เชื้อที่พบมากได้แก่เชื้อ *Salmonella* 28 สายพันธุ์ (รายงานประจำปี 2542 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2543)

10. รายงานการตรวจยืนยันเชื้อ *Salmonella* จาก WHO National Salmonella and Shigella Center

ปีพ.ศ. 2543 WHO National Salmonella and Shigella Center ตรวจตัวอย่างเพื่อยืนยันเชื้อ *Salmonella* จำนวน 7,870 สายพันธุ์ ผลการตรวจยืนยันว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* 7,681 สายพันธุ์ (97.59%) เชื้อเหล่านี้ส่งมาจากหน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชนจากทั่วประเทศ โดยแบ่งออกเป็น 12 เขต ตามการแบ่งเขตของกองระบาดวิทยา

เมื่อนำมาจำแนกตามแหล่งที่พบเชื้อ พบว่าเป็นเชื้อจากผู้ป่วย 4,095 สายพันธุ์ (52.03%) ไก่แช่แข็ง, อาหารทะเลแช่แข็ง, อาหารพร้อมบริโภค, อาหารสัตว์, น้ำ และอื่นๆ 3,586 สายพันธุ์ (45.56%) (ตารางที่ 1) และแยกเป็นเซโรวาร์ ตามแบบของ Kauffimamn White Schema ได้ทั้งหมด 29 เซโรวาร์ (รายงานประจำปี 2543 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่างๆ

ตัวอย่าง	จำนวนสายพันธุ์
ผู้ป่วย	4,095
อาหารพร้อมบริโภค	169
อาหารดิบ	777
เนื้อไก่แช่แข็ง	952
อาหารทะเลแช่แข็ง	160
เนื้อเป็ดแช่แข็ง	956
ปลาน้ำจืดแช่แข็ง	13
อาหารสัตว์	11
สัตว์	49
น้ำ	333
อื่นๆ	166
รวม	7,618

ที่มา : รายงานประจำปี 2543 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2544)

11. รายงานการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* จากผลิตภัณฑ์เนื้อไก่และเนื้อหมู

จากการศึกษาคุรภาพทางจุลชีววิทยา ของผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมู จำนวนชนิดละ 100 ตัวอย่าง ได้แก่ ไส้กรอก แหนม กุนเชียง ไก่ยอ หมูยอ ที่จำหน่ายตามห้างสรรพสินค้าและตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรี พบการปนเปื้อน 32 ตัวอย่าง (16%) โดยแยกเป็นเนื้อไก่ 8 ตัวอย่าง (8%) เนื้อหมู 24 ตัวอย่าง (24%) พบการปนเปื้อนจากตัวอย่างในห้างสรรพสินค้า 24 ตัวอย่าง (18.90%) จากตลาดสด 8 ตัวอย่าง (10.96%) ผลิตภัณฑ์ที่พบการปนเปื้อนมากที่สุดคือแหนมไก่ และแหนมหมู นอกจากนั้นพบว่าผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมูมีการปนเปื้อนจำนวน 3 ตัวอย่าง ที่มีเชื้อ *Salmonella* 2 เซโรวาร์ ในหนึ่งตัวอย่างเชื้อ *Salmonella* เซโรวาร์ที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ 8 ตัวอย่าง มี 6 เซโรวาร์ 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *S.* Heidelberg, *S.* Anatum, อย่างละ 2 สายพันธุ์ *S.* Rissen, *S.* Hadar, *S.* Panama, *S.* Enteritidis อย่างละ 1 สายพันธุ์ สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อหมู 24 ตัวอย่าง มี 11 เซโรวาร์ 27 สายพันธุ์ ได้แก่ *S.* Anatum, *S.* Panama, *S.* Derby, *S.* London, *S.* Tennessee และ *S.* Livington พบอย่างละ 1 สายพันธุ์ (สุมาลี และคณะ, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ
2. ปิเปตขนาด 10 ml., 0.1 ml.
3. rack วางหลอดทดลอง
4. หลอดทดลองขนาด 16 X 150 และ 13 X 100 + ฝา
5. บิกเกอร์ขนาด 1000 ml., 500 ml.
6. กระบอกตวงขนาด 250 ml.
7. ลูปเขี่ยเชื้อ
8. เข็มเขี่ยเชื้อ
9. ถุงร้อน
10. ยางรัดของ
11. กรรไกร
12. ขวดแก้ว
13. กระจก slide
14. ช้อนตักสาร
15. ตะเกียงแอลกอฮอล์
16. หลอดฉีดยาขนาด 10 ml.

3.2 เครื่องมือ

1. ตู้บ่ม
2. Water bath
3. ตู้เย็น
4. Autoclave
5. Vortex mixer
6. เครื่องชั่งสาร
7. เตาอบไมโครเวฟ
8. ตู้อบลมร้อน
9. เครื่องฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ

1. ขั้นตอน Pre-enrichment

   Trypicase Soy Broth (TSB)

2. ขั้นตอน Selective enrichment

   Tetrathionate Broth (TTB)

   Rappaport Vassiliadis (RV)

3. ขั้นตอน Selective plating

   Rambach (Rm) agar

   Hektoen Enteric (HE) agar

   Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD) agar

   Modified Semi-Solid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium

5. ขั้นตอน Biochemical screening test

   Triple Sugar Iron (TSI) agar slant

   Lysine-Indole-Motility (LIM) medium

6. ขั้นตอน Serological confirmation

   Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67, A-I, B, C, Dและ E ของเชื้อ *Salmonella*

7. Trypticase soy agar (TSA) สำหรับเก็บเชื้อ *Salmonella* เพื่อส่งตรวจสอบยืนยันเซโรวาร์ของ *Salmonella*

3.4 สารเคมี

1. 70% alcohol
2. 95% alcohol
3. 2% Iodine solution
4. Kovacs' Indole Reagent (Merck)

3.5 วัตถุดิบ

เนื้อสะโพกโคชำแหละสดจากเขียงในตลาดบางกะปิ 14 ตัวอย่าง และตลาดมีนบุรี 4 ตัวอย่าง ประมาณ 1 ขีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96451

3.6 การตรวจวิเคราะห์ *Salmonella*

มีหลายหน่วยงานที่ทำหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ *Salmonella* ในอาหาร และกำหนดวิธีมาตรฐานเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ได้แก่ หน่วยงาน Association of Official Analytical Chemist (AOAC) American Public Healt Association (APHA) Food and Drug Administration (FDA) International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF) International Organization for Agriculture (USDA) เป็นต้น ได้มีการศึกษาและพัฒนาวิธีการทดสอบ (ภาพที่ 1) เพื่อให้การตรวจสอบแบคทีเรียชนิดนี้เป็นไปอย่างถูกต้อง และให้ผลที่แม่นยำ โดยมีขั้นตอนต่าง ๆ ที่สำคัญอยู่ 5 ขั้นตอน คือ

1. preenrichment ขั้นตอนนี้เพื่อให้เซลล์ของ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในอาหารซึ่งมีปริมาณที่น้อย หรือเซลล์บาดเจ็บมีโอกาสปรับตัวให้แข็งแรง และเพิ่มปริมาณมากขึ้น มีการแนะนำให้ใช้ preenrichment medium หลายชนิด ได้แก่ Lactose broth, Brilliant green water, Trypticase soy broth, Nutrient broth และ Buffered peptone water Clark และ Ordal (1969) รายงานว่า การใช้ Trypticase soy broth เพื่อ preenrich เซลล์ของ *Salmonella* ที่บาดเจ็บจากความร้อนอยู่ให้ผลดีกว่าการใช้ Lactose broth และ Nutrient broth สำหรับระยะเวลาในการเพาะเชื้อก็เป็นจุดหนึ่งที่เป็นเรื่องสำคัญ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับ อดิศร และ นภา (2534) ที่รายงานว่าการใช้ TSB เป็น preenrichment จะให้ผลดีกว่า NB+LB ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในแหนม เนื่องจาก TTB ให้ผลการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในปริมาณที่มากกว่าอาหารทั้งสองชนิด

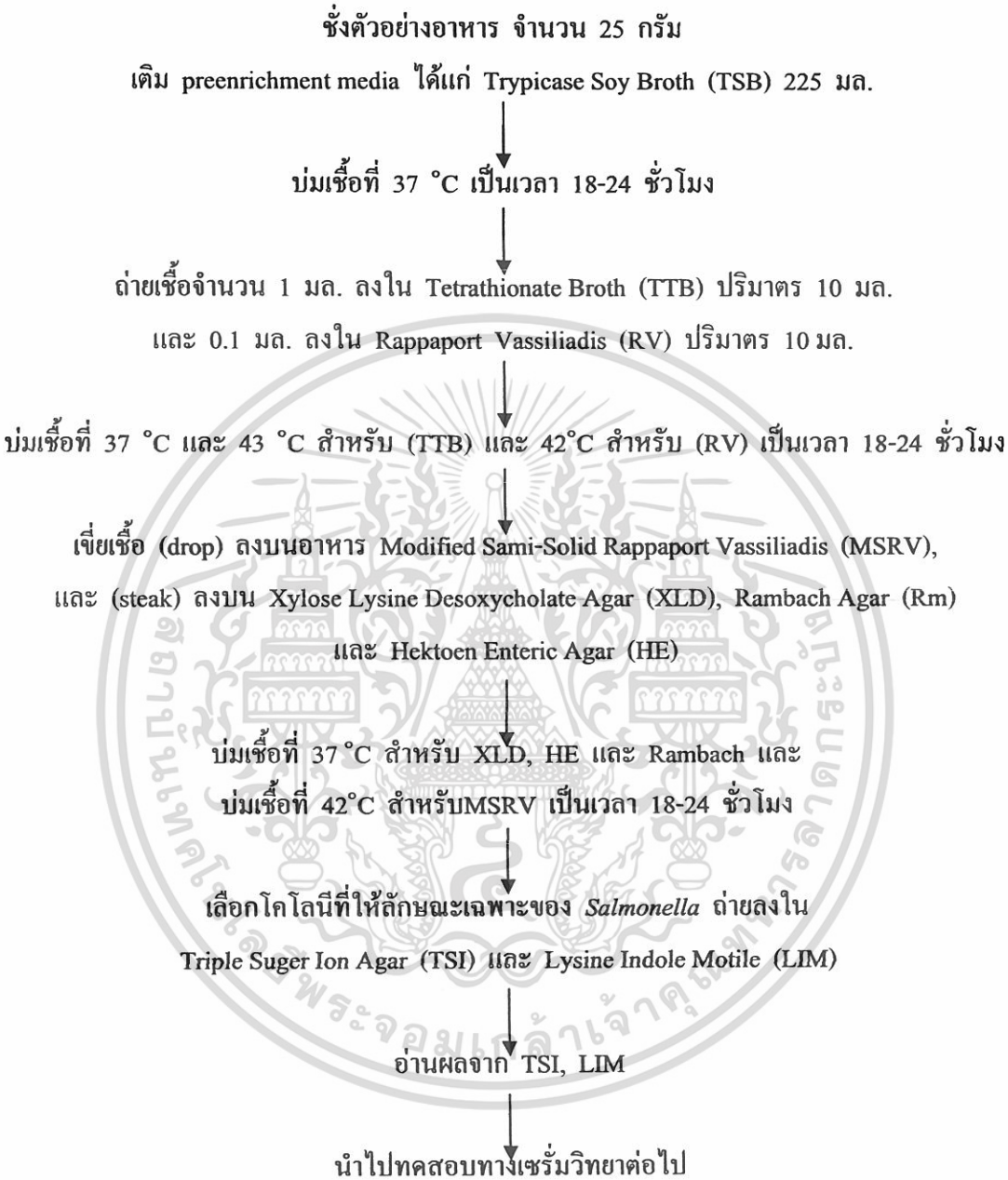
2. ขั้นตอนต่อมาคือการถ่ายเชื้อจาก pre-enrichment medium ในขั้นตอนที่ 1 ลงใน selective enrichment medium เพื่อเสริมการเจริญของ *Salmonella* (D'Aoust, 1981) ได้รวบรวมชนิดของ selective enrichment medium อุณหภูมิ และเวลาในการเพาะเชื้อในขั้นตอนนี้ไม่ควรใช้เวลานานเกินไป เพราะสาร selective agent ที่เป็นองค์ประกอบใน selective enrichment จะเป็นผลต่อเซลล์ของ *Salmonella* ด้วย

3. ถ่ายเชื้อจากขั้นตอน selective enrichment medium ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด differential selective agar เพื่อพิจารณาลักษณะของโคโลนี *Salmonella* บนอาหารที่เพาะเชื้อ ซึ่งอาหารประเภทนี้นอกจากจะมีสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ แล้วยังทำให้โคโลนีของ *Salmonella* มีลักษณะเฉพาะ สามารถแยกจากแบคทีเรียชนิดอื่นได้ชัดเจน

4. เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Salmonella* จากข้อ 3 มาทดสอบทางชีวเคมี เพื่อเป็นการยืนยันว่าคือ *Salmonella*

เขี่ยเชื้อจากข้อ 4 แล้วทดสอบทางเซรั่มวิทยากับแอนติบอดีย์ เพื่อแยกซีโรไทป์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการวิเคราะหาเชื้อ *Salmonella* โดยวิธี standard conventional method ของหน่วยงาน AOAC

ที่มา : (AOAC, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 การศึกษาเปรียบเทียบหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อโคสด

ศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อโคสดในขั้นตอน Selective enrichment และ Selective plating โดยพิจารณาจากปริมาณการตรวจพบและจำนวนเซโรวาร์ที่ตรวจพบ จากตัวอย่างทั้งหมด ถ้ามีอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อใดที่มีปริมาณการตรวจพบและจำนวนเซโรวาร์สูงถือได้ว่าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อชนิดนั้นมีความเหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในเชื้อโคสด

ตารางที่ 2 อุณหภูมิและเวลาในการบ่มอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ในขั้นตอน selective enrichment

หน่วยงาน	อาหารเลี้ยงเชื้อ/อุณหภูมิที่ใช้บ่มเชื้อ	ระยะเวลาที่ใช้บ่มเชื้อ (ชั่วโมง)
AOAC และ APHA	TBG[1]/35[2], SC/35	24 +/- 2
FDA	TBG/35, SC/35	24 +- 2
HTB	TBG/35, SC/35	24 +/- 2
ICMSF	TBG/35, SC/35	24
ISO	MK TBG/35, SC/35	24 และ 28
NAS	TBG/35, SC/35	18 - 24
USDA	TT/35	18 - 24

หมายเหตุ [1] = ชื่ออาหารเลี้ยงเชื้อ, [2] = อุณหภูมิที่ใช้บ่มเชื้อ

AOAC = Association of Official Analytical Chemist

APHA = American Public Health Association

FDA = Food and Drug Administration

HPB = Health Protection Branch

ICMSF = International Commision on Microbiological Specification for Food

ISO = International Organization for Standardizaton

NAS = National Academy of Sciences

USDA = United States Department of Agriculture

TBG = Tetrathionate Brilliant Green

SC = Selenite Cystine Broth

MK TBG = Mueller-Kauffman Tetrathionate Brilliant Green

TT = Tetrathionate Broth

ที่มา : ดัดแปลงจาก (D'Aoust, 1981) อ้างอิงโดย สุภาวดี, 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 สารยับยั้งที่ใช้ในการแยก *Salmonella* ในอาหารชนิด selective enrichment

สารเคมี	อาหารเลี้ยงเชื้อ
Bile salt	Mac, HE, SS
Sodium desoxycholate	XLD, HE
Desoxycholate-citrate	DC
Brilliant green dye	BG, BGS, BS, SS, BG-Mac, TSXL, TSBG
Bismuth sulfite	BS
Novobiocin	HE, XLD, TSXL, TSBG, Shanson
Mandelic acid	BG, BGS
Sulfacetamide	BG, BGS
Sulfonamides	BGS, TSBG, TSXL

หมายเหตุ BG = Brilliant Green
BGS = Brilliant Green Sulfa
BG-Mac = Brilliant Green-MacConkey
BS = Bismuth sulfite
DC = Desoxycholate citrate
HE = Hektoen Enteric
Mac = MacConkey
SS = Salmonella-Shigella
TSBG = Tryptic-Soy Brilliant Green
TSXL = Tryptic-Soy Xylose-Lysine
XLD = Xylose-Lysine Desoxycholate

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก (Moats, 1981) อ้างอิงโดย สุภาวดี, 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 สารอาหารและสารเคมีชนิดต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective plating

สารเคมี	อาหารเลี้ยงเชื้อ
Lactose	Mac, Shanson
Lactose, sucrose	BG, BGS, EMB, BC
Lactose, sucrose	TSBG
Iron-thiosulfate (H_2S indicator)	
Lactose, sucrose, salicin	HE
Iron-thiosulfate (H_2S indicator)	
Lactose, sucrose, xylose, lysine	XLD
Iron-thiosulfate (H_2S indicator)	
Sucrose, xylose, lysine	TSXL
Iron-thiosulfate (H_2S indicator)	
Bismuth sulfite-iron	BS
(black cdonies)	

หมายเหตุ EMB = Eosin-Methylene blue ; ตัวย่ออื่น ๆ อ้างตามในตารางที่ 2

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก (Moats, 1981) อ้างอิงโดย สุภาวดี, 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

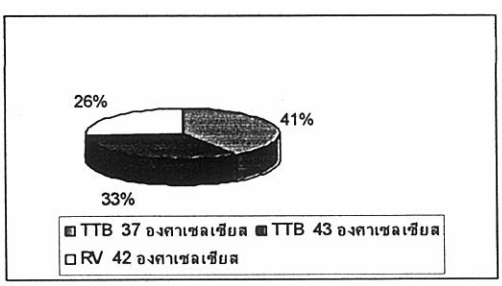
บทที่ 4
ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ผลศึกษาชนิดของ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนเนื้อโคที่จำหน่ายในตลาดสดบางกะปิ และตลาดสดมีนบุรี

จากการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสดที่จำน่ายในตลาดสดบางกะปิ และตลาดสดมีนบุรี จำนวน 18 ตัวอย่าง พบว่า ยังคงมีการปนเปื้อนของเชื้ออยู่ในเนื้อโคสดถึง 14 ตัวอย่าง (77.78%) ทั้งนี้เนื่องจาก สุขลักษณะที่ไม่ดีตั้งแต่การฆ่าและการชำแหละเนื้อโค การขนส่ง ตลอดจนกระทั่งการวางจำหน่าย ซึ่งส่วนใหญ่จะมีคนเข้ามาเกี่ยวข้องทุกกระบวนการ ดังนั้น การควบคุมสุขลักษณะส่วนบุคคลในกระบวนการจึงเป็นไปได้ยาก โอกาสที่เชื้อ *Salmonella* จะมีการปนเปื้อนแบบข้ามมายังเนื้อโคสด (Cross contamination) จึงเกิดได้ง่ายขึ้น และจากการตรวจวิเคราะห์หา *Salmonella* ในตัวอย่างดังกล่าว โดยใช้วิธี Standard conventional method (SCM) ให้ผลการตรวจพบ *Salmonella* 77.78% เมื่อเปรียบเทียบการใช้ TTB และ RV เป็นอาหารเพาะเลี้ยงในขั้นตอน Selective enrichment จะให้ผลการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* โดย TTB บ่มที่อุณหภูมิ 37°C มากที่สุด (41%) รองลงมาคือ TTB บ่มที่อุณหภูมิ 43°C (33%) และRV บ่มที่อุณหภูมิ 42°C (26%) ตามลำดับ (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสดโดยวิธีมาตรฐานจากขั้นตอน selective enrichment

จำนวนตัวอย่าง (%)	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Salmonella* จาก			จำนวนทั้งหมดที่ตรวจพบ *Salmonella* (%)
	RV 42°C	TTB 37°C	TTB 43°C	
18 (100.0)	7 (38.9)	9 (50.0)	9 (50.0)	14 (77.78)



ภาพที่ 2 แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณการตรวจพบ *Salmonella* ของอาหารในขั้นตอน Selective enrichment

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6..เปรียบเทียบชนิด serovar ของ *Salmonella* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างเนื้อโคสด 18 ตัวอย่าง จากการใช้ Rappaport Vassiliadis (RV) และ Tetrathionate broth (TTB) เป็น selective enrichment medium.

Serovar	RV 42°C จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ / จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)	TTB 37°C จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ / จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)	TTB 43°C จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ / จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)	RV และ TTB จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ / จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)
1. S.Agona	0/26 (0.0)	3/26 (11.5)	2/26 (7.7)	3/26 (11.5)
2. S.Senftenberg	2/26 (7.7)	0/26 (0.0)	3/26 (11.5)	3/26 (11.5)
3. S.Augustenborg	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)
4. S.Rissen	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	2/26 (7.7)
5. S.enterica subsp.enterica ser.4,5,12:l:-	0/26 (0.0)	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)
6. S.Anatum	0/26 (0.0)	2/26 (7.7)	1/26 (3.8)	2/26 (7.7)
7. S.Lexington	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	0/26 (0.0)	2/26 (7.7)
8. S.Kedougou	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)
9. S.Weltevreden var.15^{+}	2/26 (7.7)	1/26 (3.8)	0/26 (0.0)	3/26 (11.5)
10. S.Typhimurium var. copen-hagen	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)
11. S.Farmsen	1/26 (3.8)	0/26 (0.0)	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)
12. S.Hvittingfoss	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)
13. S.Weltevreden	2/26 (7.7)	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	3/26 (11.5)
14. S.Amsterdam	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)
15. S.Give	0/26 (0.0)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)	1/26 (3.8)
รวมเซโรวาร์ทั้งหมดที่ตรวจพบ	7/15 (46.7)	11/15 (73.3)	9/15 (60.0)	15/15 (100.0)
รวมเชื้อที่แยกได้ทั้งหมด	10/26 (38.5)	14/26 (53.8)	12/26 (46.1)	26/26 (100.0)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 5 ซึ่งแสดงให้เห็นชนิดของเซโรวาร์ของ *Salmonella* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างเนื้อโคสด 18 ตัวอย่าง จาก RV และ TTB มีจำนวนเซโรวาร์ที่พบตามภาพที่ 2 แต่ในตารางที่ 6 จะเห็นว่าเมื่อนำเชื้อ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหาร RV และ TTB ที่อุณหภูมิทั้งสอง ไปทำการแยกเซโรวาร์ พบว่า อาหารทั้งสองชนิดสามารถตรวจแยกชนิดของ *Salmonella* ออกมาได้รวม 15 เซโรวาร์ โดยอาหาร TTB บ่มที่อุณหภูมิ 37°C สามารถแยกชนิดเซโรวาร์ของ *Salmonella* ออกมาได้รวม 11 เซโรวาร์ (73.3%) ในขณะที่ TTB บ่มที่อุณหภูมิ 43°C แยกได้ 9 เซโรวาร์ (60.0%) และอาหาร RV แยกได้ 7 เซโรวาร์ (46.7%) เซโรวาร์ของ *Salmonella* ที่พบมากในการศึกษานี้ได้แก่ *S.* Senftenberg (15.25%) รองลงมาได้แก่ *S.* Agona (13.56%) และ *S.* Typhimurium var. copen-hagen (10.67%) ตามลำดับ

4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อโคสด

เนื่องจากเนื้อโคสดที่จำหน่ายตามแผงตลาดสดมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด ขั้นตอนการเพาะเชื้อหลังจาก pre-enrichment จะมีส่วนช่วยให้การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จึงมีส่วนสำคัญอย่างยิ่ง (อดิศร และคณะ, 2534) ซึ่งจากการศึกษาการเปรียบเทียบการใช้ RV บ่มที่อุณหภูมิ 42°C และ TTB บ่มที่อุณหภูมิ 37°C และ43°C ในขั้นตอน selective enrichment พบว่าการใช้ RV ในการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสด พบว่า การบ่มอาหารที่อุณหภูมิ 42°C นี้จะทำให้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่นซึ่งปนเปื้อนอยู่ในเนื้อโคสดไม่สามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อ *Salmonella* ได้ ซึ่งอุณหภูมิ 42°C เชื้อ *Salmonella* สามารถเจริญอยู่ได้ ทำให้เมื่อตรวจสอบโดยใช้ RV จะสามารถตรวจพบเชื้อได้ดี แต่ RV มีข้อเสียตรงที่ *Salmonella* บางเซโรวาร์อาจเป็นเซลล์ที่บาดเจ็บจึงไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมินี้ ทำให้ RV พบความหลากหลายของเซโรวาร์น้อยกว่า TTB

จากการศึกษาเปรียบเทียบอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ *Salmonella* 4 ชนิดคือ Rambach agar, XLD agar, HE agar และMSRV (ตารางที่ 7) ในการใช้ RV ในขั้นตอน selective enrichment ควบคู่กับการใช้อาหารแข็ง MSRV จะให้ผลที่ดีกว่าอาหารแข็งอีก 3 ชนิด คือ สามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* จากอาหาร selective enrichment ทั้ง 3 ชนิดได้ สาเหตุที่ MSRV ให้ผลการตรวจพบมากกว่าอาหาร XLD agar, HE agar และ Rambach agar เนื่องจากว่า อาหารที่เลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Salmonella* และยังสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ใช่เชื้อ *Salmonella* เจริญแข่งขันกับเชื้อ *Salmonella* ได้ส่วนข้อดีของอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar คือให้ลักษณะโคโลนีที่เด่นชัดกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar และHE agar มาก โดยอาศัยหลักการที่ว่าเชื้อ *Salmonella* ที่อยู่ในกลุ่ม non-typhi Salmonella ส่วนใหญ่จะสามารถหมักย่อย

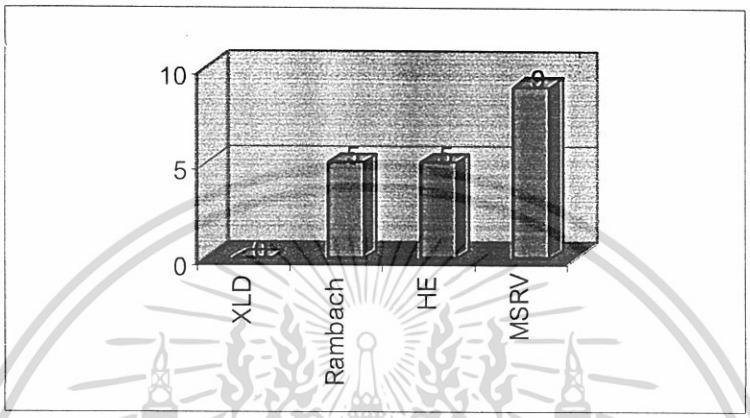
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Propylene glycol ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจนเกิดกรดชนิดต่างๆได้ ปริมาณกรดที่เพิ่มมากขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับ Neutral red ซึ่งใช้เป็นสารบ่งชี้ถึงความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้โคโลนีของ *Salmonella* ที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีสีแดงสด ในขณะที่เชื้อโรคลำไส้อื่นๆที่ปนเปื้อนในเนื้อโค เช่น *E. coli* ซึ่งไม่มีเอนไซม์ในการหมักย่อย Propylene glycol แต่มีเอนไซม์ B-galactosidase ในการหมักย่อยน้ำตาลในกลุ่มแลกโตส จะให้โคโลนีสีน้ำเงิน ส่วนเชื้อที่มีเอนไซม์ที่สามารถหมักย่อยน้ำตาลทั้งสองชนิด เช่น เชื้อในกลุ่ม *Citrobactor* spp. จะให้โคโลนีลักษณะสีม่วง และเชื้อที่ไม่มีเอนไซม์ในการหมักย่อยน้ำตาลทั้งสอง เช่น *Proteus* spp. หรือ *Salmonella Typhi* จะให้โคโลนีที่มีลักษณะไม่มีสีบนอาหารเพาะแยกเชื้อนี้ ในขณะที่อาหารเพาะแยกเชื้อ XLD agar และ HE agar อาศัยหลักการแยกเชื้อระหว่างกลุ่ม lactose fermenter และ non lactose fermenter เท่านั้น กล่าวคือ เชื้อกลุ่ม lactose fermenter เช่น *E. coli*, Coliform นั้นจะมีเอนไซม์ในการหมักย่อยน้ำตาลแลกโตส ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ต่างๆ และปริมาณความเป็นกรดที่เพิ่มมากขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับสารที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงความเป็นกรดด่าง เช่น phenol red ใน XLD agar และ bromothymol blue ใน HE agar และเกิดสีเหลือง บน XLD agar และ HE agar ตามลำดับ สำหรับเชื้อในกลุ่ม non lactose fermenter เช่น *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp. และ *Proteus* spp. เป็นต้น จะมีลักษณะโคโลนีใสและสามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้บนอาหารทั้งสองชนิดนี้เช่นเดียวกัน (Merck, 1994) ดังนั้นการแยกโคโลนีที่ได้จากอาหารทั้งสองชนิดเพื่อทำการทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมีจึงมีโอกาสผิดพลาดได้เมื่อเปรียบเทียบกับ Rambach agar ซึ่งให้ลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* ที่เด่นชัดกว่าและมีโคโลนีต่างจากเชื้อกลุ่ม *Citrobacter* spp. และ *Proteus* spp. (อดิศร และอรุณ, 2539) จึงให้ความถูกต้องแม่นยำในการเลือกโคโลนีบนอาหารดังกล่าวไปทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมีผลที่ได้จึงให้การตรวจพบมาก

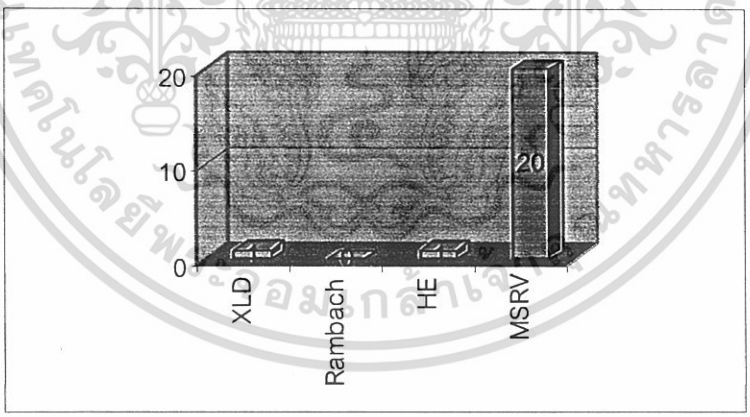
การใช้ MSRV สามารถใช้ได้ทั้ง RV และ TTB เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้คือ 42°C อาศัยหลักการที่ว่า ที่อุณหภูมิดังกล่าว อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment ที่มีเชื้อ *Salmonella* ที่แข็งแรง เชื้อ *Salmonella* ในกลุ่มที่สร้างแฟลกเจลลาได้จะสร้างแฟลกเจลลาได้ดีที่อุณหภูมิดังกล่าว ทำให้เชื้อสามารถเคลื่อนที่ไปรอบๆ จุดที่หยดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment ซึ่งอุณหภูมิที่สูงนี้จะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่นซึ่งปนเปื้อนอยู่ในเนื้อโคสดไม่สามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อ *Salmonella* ได้ดี เชื้อ *Salmonella* ที่แข็งแรงสามารถเจริญได้ เหมาะสำหรับอาหารที่มีการปนเปื้อนสูง และในการใช้ TTB ควบคู่กับการใช้ MSRV สามารถให้ชนิดของเซโรวาร์มากกว่าอาหารแข็งอีก 3 ชนิด เนื่องจากการบ่มอาหารแข็ง 3 ชนิด จะบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ทำให้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่นซึ่งปนเปื้อนอยู่ในเนื้อโคสดสามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อ *Salmonella* ทำให้บางเซโรวาร์ของ *Salmonella* ไม่สามารถเจริญได้ แต่ที่อุณหภูมิ 42°C ของการบ่ม MSRV การแข่งขันมีน้อยทำให้บางเซโรวาร์ไม่สามารถเจริญพบใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารแข็งอีก 3 ชนิด สามารถตรวจพบใน MSRV และใน MSRV มีส่วนผสมของ magnesium chloride และ malachite green ที่เป็นส่วนที่ทำให้แบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ ไม่สามารถเจริญได้ (อรุณ และนพรัตน์, 2542)

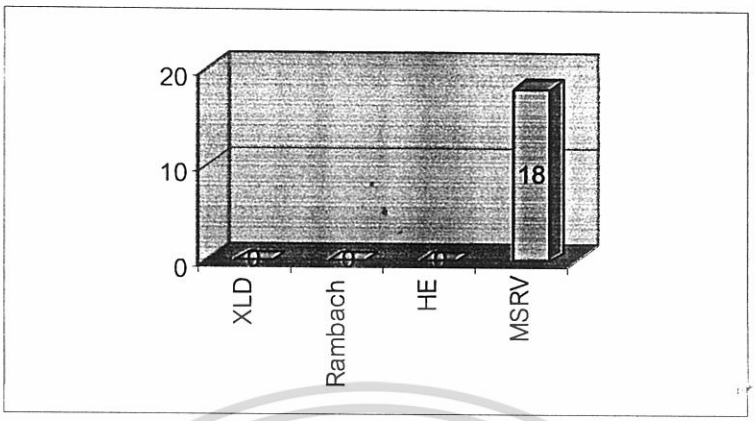


ภาพที่ 3 กราฟเปรียบเทียบปริมาณ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารแข็ง 4 ชนิด โดยการเขี่ยเพาะเชื้อจาก RV 42°C



ภาพที่ 4 กราฟเปรียบเทียบปริมาณ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารแข็ง 4 ชนิด โดยการเขี่ยเพาะเชื้อจาก TTB 37°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 กราฟเปรียบเทียบปริมาณ *Salmonella* ที่ตรวจพบในอาหารแช่แข็ง 4 ชนิด โดยการเขี่ยเพาะเชื้อจาก TTB 43°C

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบอาหารแช่แข็งเฉพาะเชื้อ 4 ชนิด ที่ตรวจพบ *Salmonella* จากตัวอย่างเนื้อโคสด 18 ร้าน จากการใช้ Rappaport Vassiliadis (RV) และ Tetrathionate broth (TTB) เป็น selective enrichment medium.

Medium	Selective enrichment medium		
	RV 42°C	TTB 37°C	TTB 43°C
Xylose-Lysine-Desoxycholate agar (XLD)	-	1/18(5.56%)	-
Rambach agar (RB)	3/18(16.67%)	-	-
Hektoen agar (HE)	3/18(16.67%)	1/18(5.56%)	-
Modified semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV)	5/18(27.78%)	9/18(50%)	9/18(50%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 จำนวน serovar ต่างๆ ของเชื้อซาลโมเนลลาที่ตรวจพบจากเนื้อโคชำแหละ

serovar	จำนวนที่แยกได้	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
S.Senftenberg	9	15.25
S.Agona	8	13.56
S.Typhimurium var. copen-hagen	6	10.67
S.Anatum	5	8.47
S.Give	5	8.47
S.Weltevreden	5	8.47
S.Amsterdam	4	6.78
S.Hvittingfoss	4	6.78
S.Rissen	3	5.08
S.Weltevreden var.15^{+}	3	5.08
S.Augustenborg	2	3.39
S.Lexington	2	3.39
S.enterica subsp.enterica ser.4,5,12:I:-	1	1.69
S.Farmsen	1	1.69
S.Kedougou	1	1.69
รวม	59	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* และชนิดเซโรวาร์ที่พบจากอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน isolation หลังจากบ่มเพาะเชื้อด้วย TTB และ RV

	จำนวนตัวอย่างที่พบ (%)[ก]	จำนวนตัวอย่างที่พบจาก TTB และ RV (%) [ก]	จำนวนเซโรวาร์ที่พบ (%)[ข]	จำนวนเซโรวาร์ที่พบจาก TTB และ RV (%)[ข]
TTB 37°C → MSRV	9 (64.3)	12	9 (60.0)	11
TTB 43°C → MSRV	9 (64.3)	(85.7)	9 (60.0)	(42.3)
RV 42°C → MSRV	5 (35.7)		4 (26.7)	
TTB 37°C → XLD	1 (7.1)	1	1 (6.7)	1
TTB 43°C → XLD	0 (0.0)	(7.1)	0 (0.0)	(3.8)
RV 42°C → XLD	0 (0.0)		0 (0.0)	
TTB 37°C → HE	1 (7.1)	4	1 (6.7)	4
TTB 43°C → HE	0 (0.0)	(28.6)	0 (0.0)	(15.4)
RV 42°C → HE	3 (21.4)		3 (20.0)	
TTB 37°C → Rambach	0 (0.0)	3	0 (0.0)	3
TTB 43°C → Rambach	0 (0.0)	(21.4)	0 (0.0)	(11.5)
RV 42°C → Rambach	3 (21.4)		3 (20.0)	

ก – เป็นค่าเปอร์เซ็นจากตัวอย่างที่พบ *Salmonella* ทั้งหมด 14 ตัวอย่าง

ข – เป็นค่าเปอร์เซ็นจากเซโรวาร์ของ *Salmonella* ที่ได้รับการตรวจยืนยันผลจากทาง WHO National Salmonella and Shigella Center ทั้งหมด 26 สายพันธุ์ จากตัวอย่างที่พบ *Salmonella* 14 ตัวอย่าง

แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสดตามวิธีของ AOAC ด้วยการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment อย่างน้อย 2 ชนิด เช่น TTB ที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 43°C และ RV ที่บ่มที่อุณหภูมิ 42°C แล้วนำมาเพาะแยกเชื้อโดยใช้อาหารในขั้นตอน selective plating ถึงแม้ว่า MSRV จะให้ผลความไวในการตรวจเชื้อ *Salmonella* ได้มากกว่าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ HE, XLD และ Rambach โดยมีเปอร์เซ็นความไวในการตรวจพบเชื้อหลังจากบ่มเพาะเชื้อใน TTB บ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 43 °C และ RV บ่มที่อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

42 °C เท่ากับ 64.3, 64.3 และ 35.7% ตามลำดับ รวมถึงได้ชนิดเซโรวาร์ที่สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้ออื่น 60.0, 60.0 และ 26.7% ตามลำดับ (ตารางที่ 10) แต่ว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective plating มากกว่า 1 ชนิด จะให้ผลการตรวจพบซาลโมเนลลาคิดเป็นจำนวนตัวอย่างที่สูงกว่าใช้อาหารชนิดเดียว รวมถึงเปอร์เซ็นความไว และจำนวนเซโรวาร์ที่เพิ่มมากขึ้นด้วย

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบความไวในการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* และจำนวนเซโรวาร์ที่พบจากอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน isolation หลังจากบ่มเพาะเชื้อด้วย TTB และ RV

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ	จำนวนตัวอย่าง		ความไวในการตรวจสอบ (%)	จำนวนเซโรวาร์ที่พบ[n] (%)
	พบซาลโมเนลลา	ไม่พบซาลโมเนลลา		
TTB 37°C →				
MSRV	9	5	64.3	9 (60.0)
XLD	1	13	7.1	1 (6.7)
HE	1	13	7.1	1 (6.7)
Rambach	0	14	0.0	0 (0.0)
MSRV+XLD	10	4	71.4	10 (66.7)
MSRV+HE	9	5	64.3	9 (60.0)
MSRV+Rambach	9	5	64.3	9 (60.0)
XLD+HE	2	12	14.3	2 (13.3)
XLD+Rambach	1	13	7.1	1 (6.7)
HE+Rambach	1	13	7.1	1 (6.7)
MSRV+XLD+HE+Rambach	10	4	71.4	11 (73.3)
TTB 43°C →				
MSRV	9	5	64.3	9 (60.0)
XLD	0	14	0.0	0 (0.0)
HE	0	14	0.0	0 (0.0)
Rambach	0	14	0.0	0 (0.0)
MSRV+XLD	9	5	64.3	9 (60.0)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 (ต่อ)

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ	จำนวนตัวอย่าง		ความไวในการตรวจสอบ	จำนวนเซโรวาร์ที่พบ[ก]
	พบซาลโมเนลลา	ไม่พบซาลโมเนลลา	(%)	(%)
TTB 43°C →				
MSRV+HE	9	5	64.3	9 (60.0)
MSRV+Rambach	9	5	64.3	9 (60.0)
XLD+HE	0	14	0.0	0 (0.0)
XLD+Rambach	0	14	0.0	0 (0.0)
HE+Rambach	0	14	0.0	0 (0.0)
MSRV+XLD+HE+Rambach	9	5	64.3	9 (60.0)
RV 42°C →				
MSRV	5	9	35.7	4 (26.7)
XLD	0	14	0.0	0 (0.0)
HE	3	11	21.4	3 (20.0)
Rambach	3	11	21.4	3 (20.0)
MSRV+XLD	5	9	35.7	4 (26.7)
MSRV+HE	7	7	50.0	6 (40.0)
MSRV+Rambach	7	7	50.0	6 (40.0)
XLD+HE	3	11	21.4	3 (20.0)
XLD+Rambach	3	11	21.4	3 (20.0)
HE+Rambach	3	11	21.4	4 (26.7)
MSRV+XLD+HE+Rambach	7	7	50.0	7 (46.7)

ก – เป็นค่าเปอร์เซ็นจากเซโรวาร์ของซาลโมเนลลาที่ได้รับการตรวจยืนยันผลจากทาง WHO National Salmonella and Shigella Center ทั้งหมด 15 เซโรวาร์ จากตัวอย่างที่พบซาลโมเนลลาทั้งหมด 14 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานี้พบว่า การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อโคสดตามวิธีมาตรฐานของการตรวจหา *Salmonella* ในอาหารของ BAM หรือ AOAC โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment ด้วยอาหาร RV บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 42°C (26%) ให้ผลการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* น้อยกว่า การใช้ TTB บ่มที่อุณหภูมิ 37°C (41%) แต่มากกว่า TTB บ่มที่อุณหภูมิ 43°C (33%) ซึ่งใน TTB ทั้งสองอุณหภูมิพบชนิดของเซโรวาร์ที่มากกว่า RV และ ในขั้นตอน selective plating MSRV เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในขั้นตอน selective plating ต่อการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อโคสด โดยให้ความไวในการตรวจพบเชื้อสูง และจำนวนชนิดเซโรวาร์มาก (64.3%) และ (60.0%) ตามลำดับ จากการถ่ายเชื้อมาจาก TTB ที่บ่มที่อุณหภูมิ 37°C รองลงมาคือ HE agar (21.4%) จากการถ่ายเชื้อจาก RV ที่บ่มที่อุณหภูมิ 42°C แต่พบว่าถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective plating ทั้งสี่ชนิด หรือ MSRV และ HE agar ร่วมกับ TTB ที่บ่มที่อุณหภูมิ 37°C จะให้ความไวในการตรวจเชื้อมากที่สุด (71.4%) โดยพบเชื้อ *Salmonella* มากถึง 15 เซโรวาร์ จาก 18 ตัวอย่างการทดลอง โดยที่ *S.* Senftenberg เป็นเซโรวาร์ที่มีการตรวจพบมากที่สุด (15.25%) รองลงมาได้แก่ *S.* Agona (13.56%) และ *S.* Typhimurium var. copen-hagen (10.67%) ตามลำดับ

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

1. ในขั้นตอนการเขี่ยเพาะเชื้อบนผิวหน้าของอาหารแข็งผิวหน้าต้องแห้งเพราะถ้าไม่แห้งจะทำให้โคโลนีที่ได้ไม่แยกออกเป็นโคโลนีเดี่ยว

2. ในขั้นตอนการเขี่ยแยกเชื้อจากอาหารแข็งเพื่อทำการทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมี ต้องเลือกในส่วนที่เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ เพราะอาจจะมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่ใช่เชื้อ *Salmonella* และต้องสังเกตลักษณะเฉพาะโคโลนีของเชื้อ *Salmonella* ให้ดี

3. ในขั้นตอนการเขี่ยเพาะเชื้อ *Salmonella* ลงใน TSA ต้องมีความระวังเป็นพิเศษ ไม่ให้มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น เนื่องจาก *Salmonella* สามารถเจริญแข่งกับเชื้อชนิดอื่นได้ เมื่อจะทำการตรวจหาชนิดของเซโรวาร์ทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2544. รายงานบริการตรวจยืนยันเชื้อ *Salmonella* . รายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์: 73-75

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. อาหารพร้อมปรุงในซุปเปอร์มาเก็ต ปลอดภัยจากเชื้อโรคอาหารเป็นพิษจริงหรือ?. รายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์: 91.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. ความสำคัญของการสุ่มตัวอย่างภาชนะและอุปกรณ์ประกอบอาหารเพื่อตรวจหาเชื้อโรคอุจจาระร่วง. รายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์: 92.

เกรียงศักดิ์ สายธนู และอรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2541. การประมาณอุบัติการณ์(จริง?)ของโรคติดเชื้อซาลโมเนลลาชนิดที่ไม่ใช่เชื้อไทฟอยด์ในประเทศไทย. การสัมมนาระดับชาติเพื่อกำหนดแนวทางแก้ไขปัญหา Non-Typhi Salmonellosis ในประเทศไทย. ครั้งที่ 24, 2-25 ธันวาคม 2541: 1-15.

นงคราญ เรืองประพันธ์ และ นิตยา พันธ์บัว. 2535. การสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของแหนมและหมูยอที่ผลิตในจังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย. อาหาร 2: 31-39.

ทนงพันธ์ สัจจะปาละ, อรุณี ศรพรหม, ภัชราภรณ์ ศรีสมวงษ์, ลดาวัลย์ จึงษมานุกูล และ พงศ์เทพ วิไลพันธุ์. 2530. การศึกษาการปนเปื้อน ของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็ง. Proceeding การสัมมนาระบาดวิทยาแห่งชาติ. ครั้งที่ 15, 17-19 สิงหาคม 2530.

ประภาวดี ติษยาธิคม, สมใจ ไผ่สมบูรณ์, กรองแก้ว ศุภวัฒณ์ และ มยุรา กุสุมภ์. 2539. การกลับมาของเชื้อ *Salmonella* Paratyphi A ในปีพ.ศ. 2539. Proceeding การสัมมนาระบาดวิทยาครั้งที่ 14, 7-9 สิงหาคม 2539.

รัตนสุดา พันธุ์อุไร. 2521. Occurrence of *Salmonella* in Common Foodstuffs in Bangkok. Gastrointestinal Infection in Southern Asia (III).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รัตนสุดา พันธุ์อุไร, อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และ จุฑามาศ วิศวเหรัญ. 2537. เรื่องความสัมพันธ์ระหว่างเซโรวาร์ของซาลโมเนลลาที่พบในอาหารและคนในประเทศไทยพ.ศ. 2534-2536 สาธารณสุขศาสตร์. ปีที่24 ฉบับที่3, กันยายน 2537: 206-210.

สุภาวดี ตั้งจิตร. 2543. ผลของสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีนต่อการบาดเจ็บของ *S.* Typhimurium, กรุงเทพฯ. 9-11.

สุมาลี บุญมา, นพรัตน์ หมานริม, ศรีรัตน์ พลเรืองวงศ์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2540. การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และเนื้อหมู. วิทยาศาสตร์. สาขาวิทยาศาสตร์, ปีที่31, เล่มที่4: 413-418.

สุมาลี บุญมา, อรุณ บ่างตระกูลนนท์, ศรีรัตน์ พลเรืองวงศ์ และ นพรัตน์ หมานริม. 2543. การศึกษาซีโรวาร์ที่สำคัญ ของเชื้อซาลโมเนลลาที่พบในอาหารและคนในประเทศไทยพ.ศ. 2534-2536. Journal of Veterinary Medical Sciences. Vol. 60 (7): 877-880.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2538. จุลชีววิทยาอาหารเล่ม 1 ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ นภา โล่ทอง. 2534 อาหารเพาะเชื้อสำหรับพรีเอนริชซาลโมเนลลาในแหนมและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบ่มเชื้อ. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์33 (1): 1-12.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2539. ประสิทธิภาพของ Salmosyst กับอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ต่อการตรวจหาซาลโมเนลลาในแหนม. การประชุมวิชาการเกษตร : 272-279.

อดิศร เสวตวิวัฒน์, ปรีชา จึงสมานุกูล และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2538. ซาลโมเนลลาในอาหารพร้อมบริโภค. วารสารเทคนิคการแพทย์ 23 (2): 153-160.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และ นพรัตน์ หมานริม. 2542. การเปรียบเทียบ pre-enrichment 4 ชนิดในการตรวจหาซาลโมเนลลาจากอาหาร โดยวิธี MSRV. อาหาร 23 (3): 193-201.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2540. การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารและผลิตภัณฑ์: ผลการสำรวจเชื้อ *Salmonella* spp. ในประเทศไทย. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ. 50 น.

AOAC International. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed., 967.25, 967.26, 967.28, and 995.20. AOAC International, Gaithersburg, Md.

Abbar, F.M. and M.M. Tahir. 1989. Beef casings anf finished beef sausages as a source of *Salmonella* in Iraq. J. Food Prot. 52: 254-255.

Association of Official Analytical Chemist. 1984. Official method of analysis. 14th .ed. Association of Analyticial Chemist. Arlington, Verginia.

Boyd, R.F. and B.G. Hoerl. 1981. Basic Medical Microbiology. Little, Brown and Company,Inc., Boston. 766 p.

Boyd, R.F. and J.J. Marr. 1980. Medical Microbiology. Little Brown and Company, Inc., Boston. 753 p.

Clark, C.W. and Z.J. Ordal. 1969. Thermal injury and recovery of *Salmonella* Typhimurium and its effect on enumeration procedures. Appl. Microbiol. 18: 332-336.

Conner, D.E. and S.F. Bilgili. 1994. Skin attachment model for improved laboratory evaluation of potential carcass disinfectants for their efficacy against *Salmonella* attached to broiler skin. J. Food Sci. 57 (8): 684-688.

D'Aoust, J.Y. 1981. Update on preenrichment and selective enrichment condition for detection on *Salmonella* in foods. J. Food Prot. 44: 369-374.

Femendez-Escatin, E., J. Saldana-Lozano and O. Rodriguez-Garcia. 1993. Fate of *Salmonella* in sapicon, a Mexican cold shredded beef salad. J. Food Prot. 56 (3): 197-200.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gecan, J.S., R. Bandler and W.F. Staruszkiewicz. 1994. Fresh and frozen shrimp: A profile of filth, microbiological contamination, and decomposition. J. Food Prot. 57 (2): 154-158, 168.

Hammack, T.S., Amaguana, R.M., June, G.A., Sherrod, P.S., and Andrews, W.H. 1999. Relative Effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate Broth, and Rappaport-Vassiliadis Medium for the Recovery of *Salmonella* from Foods with a Low Microbial Load. J. Food Prot. 62 (1): 16-21.

Hayes, P.R. 1985. Food Microbiology and Hygiene. Elsevier Applied Science Publishers, London. 403 p.

Hobbs, B.C. and R.J. Gilbert. 1978. Food Poisoning and Food Hygiene. Edward Amold (Publishers) Ltd., London. 366 p.

Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1980. Review of Medical Microbiology. Lange Medical Publications, California. 593 p.

Jay, J.M. 1970. Modern Food Microbiology. Rienhold Book Coporation, New York. 328 p.

Jemgklinchan, J., C. Koowatananukul, K. Daengporm and K. Saitanu. 1994. Occurrence of Salmonellae in raw broilers and thrir products in Thailand. J. Food Prot. 57 (9): 808-810.

Jones, F.T., R.C. Axtell, D.V. Rives, S.E. Scheideler, F.R. Tarver, Jr., R.L. Walker and M.J. Wineland. 1991. A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. J. Food Prot. 54 (7): 502-507.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

June, G.A., Sherrod, P.S., Hammack, T.S., Amaguana, R.M., and Andrews, W.H. 1995. Relative Effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate Broth, and Rappaport-Vassiliadis Medium for the Recovery of *Salmonella* from Raw Flesh and Other Highly Contaminated Foods: Precollaborative Study. J. AOAC Int. 78: 375-380.

June, G.A., Sherrod, P.S., Hammack, T.S., Amaguana, R.M., and Andrews, W.H. 1996. Relative Effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate Broth, and Rappaport-Vassiliadis Medium for the Recovery of *Salmonella* from Raw Flesh and Highly Contaminated Foods: Precollaborative Study. J. AOAC Int. 79: 1307-1323.

Kuenberg, J.E. 1991. Nonindigenous bacterial pathogens, pp. 267-284. *in* D.R. Ward and C. Hackney (eds.). Microbiology of Marine Food Products. Van Nostrand Reinhold, New York.

Merck. 1994. microbiology Manual. E.Merek, Darmstadt, Germany.

Miget, R.J. 1991. Microbiology of crustacean processing: shrimp, crawfish and prawns, pp. 65-87. *in* D.R. Ward and C. Hackney(eds.). Microbiology of Marine Food Products. Van Nostrand Reinhold, New York.

Moats, W.A. 1981. Update on *Salmonella* in foods: selective plating media and other diagnostic media. J. Food Prot. 44: 375-380.

Mulder, R.W.A.W., S. Notermans and E.H. Kampelmacher. 1977. Inactivation of *Salmonella* on a chilled and deep frozen broiler carcasses by irradiation. J. Appl. Bacteriol. 42: 179-7-182.

O'Donoghue, D., and Winn, E. 1993. Comparison of the MSRV Method with an in Hours Conventional Method for the Detection of Salmonella in Various High and Low Moisture Foods. Lett. Appl. Microbial. 17: 174-177.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Popoff, M.Y., Bockemuehl, J., Brenner, F.W., and Gheesling, L.L. 2001. //supplement 2000 (no.44) to the Rathmann White Scheme. Res Microbial. 152: 907-909.

Smedt, J.M. 1998. AOAC Validation of Qualitative and Quantitative Methods for Microbiology in Foods Inter J. food Microbial. 45: 25-28.

Van Netten, P., J. Leenaerts, G.M. Heikant and D.A. Mossel. 1986. A small outbreak of salmonellosis caused by bologna sausage. Tijdschrift voor Diergneeskunde 111 (24): 1271-1275. (Abstr.)

Zuberi, R., R.B. Qadri and P.M.A. Siddiqui. 1983. Influence of processing on bacteriological quality of frozen shrimp. J. Food Prot. 46 (7): 572-577.

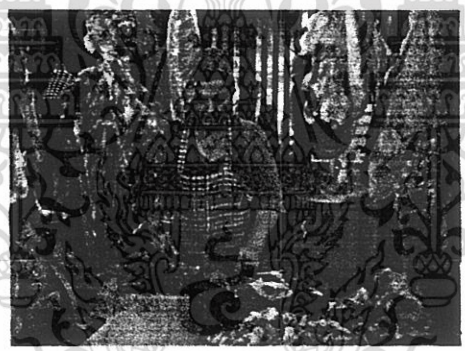
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ภาคผนวก ก. 1: แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดบางกะปี



ภาคผนวก ก. 2: แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดบางกะปี

ภาคผนวก ก. 3: แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดบางกะปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก. 4: แผงจำหน่ายเนื้อโคชำแหละในตลาดมีนบุรี

ภาคผนวก ก. 5: เนื้อโคชำแหละที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลา

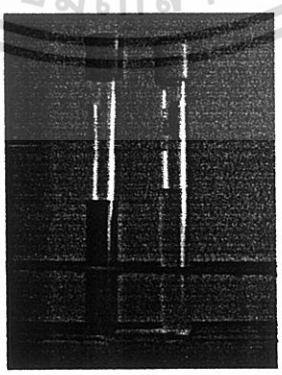
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อน หลัง

ภาคผนวก ก. 6: อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypicase Soy Broth (TSB) ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ

RV TTB

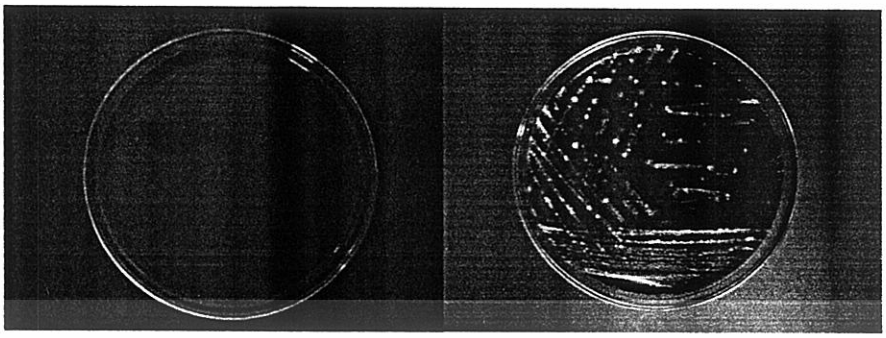
ภาคผนวก ก. 7: อาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Broth (TTB) Rappapost Vassiliadis (RV) ก่อนทำการบ่มเชื้อ



RV TTB

ภาคผนวก ก. 8: อาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Broth (TTB) Rappapost Vassiliadis (RV) หลังทำการบ่มเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

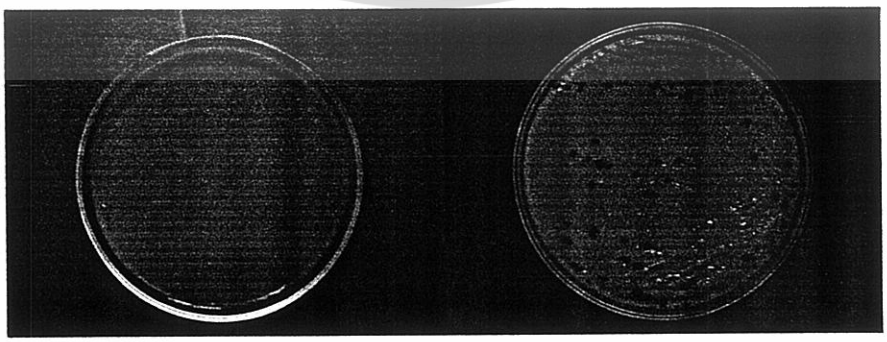


ก่อน หลัง

ภาคผนวก ก. 9: อาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD) agar ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ

ก่อน หลัง

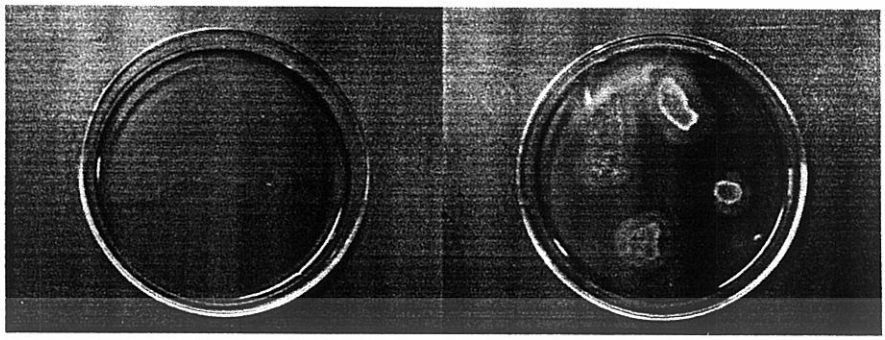
ภาคผนวก ก. 10: อาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen Enteric (HE) agar ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ



ก่อน หลัง

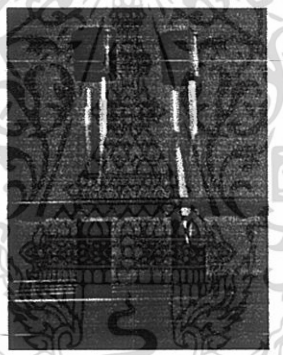
ภาคผนวก ก. 11: อาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach (Rm) agar ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



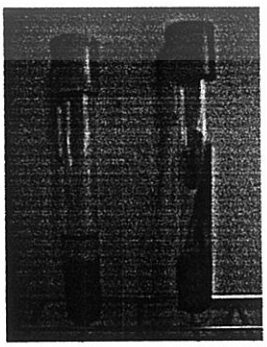
ก่อน หลัง

ภาคผนวก ก. 12: อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Sami-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV) medium ก่อนและหลังทำการบ่มเชื้อ



LIM TSI

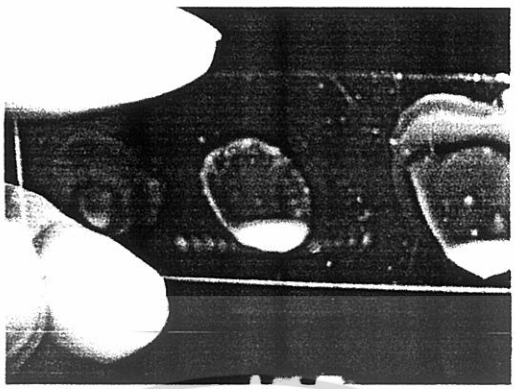
ภาคผนวก ก. 13: อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron (TSI) agar slant Lysine-Indole-Motility (LIM) medium ก่อนทำการบ่มเชื้อ



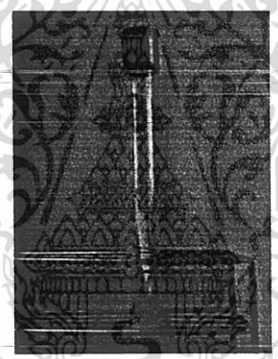
LIM TSI

ภาคผนวก ก. 14: อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron (TSI) agar slant Lysine-Indole-Motility (LIM) medium หลังทำการบ่มเชื้อ

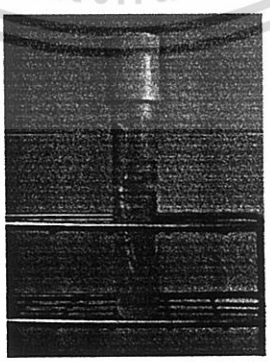
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก. 15: Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67, A-I, B, C, Dและ E



ภาคผนวก ก. 16: อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) ก่อนทำการบ่มเชื้อ



ภาคผนวก ก. 17: อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar (TSA) หลังทำการบ่มเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ

ขั้นตอน Pre-enrichment

1. Trypicase Soy Broth (TSB)

ประกอบด้วย

peptone from casein	17.0 ก.
peptone from soymeal	3.0 ก.
D(+)glucose	2.5 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
di-potassium hydrogen phosphate	2.5 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน Selective enrichment

1. Tetrathionate Broth (TTB)

ประกอบด้วย

peptone from casein	2.5 ก.
peptone from meat	2.5 ก.
bile salt mixture	1.0 ก.
calcium carbonate	10.0 ก.
sodium thiosulfate	30.0 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

2. Rappapost Vassiliadis (RV)

ประกอบด้วย

peptone from soymeal	4.5 ก.
magnesium chloride hexahydrate	29.0 ก.
sodium chloride	8.0 ก.
di-potassium hydrogen phosphate	0.4 ก.
potassium di-hydrogen phosphate	0.6 ก.
Malachite-green	0.036 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน Selective plating

1. Rambach (Rm) agar

ประกอบด้วย

peptone	8.0 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
sodium deoxychlolate	1.0 ก.
chromogenic mix	1.5 ก.
proplylene glycol	10.5 ก.
agar-agar	15.0 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

2. Hektoen Enteric (HE) agar

ประกอบด้วย

peptone	15.0 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
yeast extract	3.0 ก.
sucrose	14.0 ก.
lactose	14.0 ก.
salicin	2.0 ก.
sodium thisulfate	5.0 ก.
ammonium iron(III) citrate	1.5 ก.
bile salt mixture	2.0 ก.
bromothymol blue	0.05 ก.
acidic fuchsin	0.08 ก.
agar-agar	13.5 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD) agar

ประกอบด้วย

yeast extract	3.0 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
D(+)xylose	3.5 ก.
lactose	7.5 ก.
sucrose	7.5 ก.
lysine	5.0 ก.
sodium deoxychlolate	2.5 ก.
sodium thiosulfate	6.8 ก.
ammonium iron(III) citrate	0.8 ก.
phenol red	0.08 ก.
agar-agar	13.5 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

4. Modified Sami-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV) medium

ประกอบด้วย

tryptose	4.59 ก.
casein hydrolysate	4.59 ก.
sodium chloride	7.34 ก.
potassium dihydrogen phosphate	1.47 ก.
magnesium chloride anhydrous	10.93 ก.
malachite green	0.037 ก.
agar-agar	2.7 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน Biochemical screening test

1. Triple Sugar Iron (TSI) agar slant

ประกอบด้วย

peptone from casein	15.0 ก.
peptone from meat	5.0 ก.
meat extract	3.0 ก.
yeast extract	3.0 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
lactose	10.0 ก.
sucrose	10.0 ก.
D(+)glucose	1.0 ก.
ammonium iron(III) citrate	0.5 ก.
sodium thiosulfate	0.5 ก.
phenol red	0.024 ก.
agar-agar	12.0 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

2. Lysine-Indole-Motility (LIM) medium

ประกอบด้วย

peptone from meat	5.0 ก.
yeast extract	3.0 ก.
D(+)glucose	1.0 ก.
L-lysine monohydrochloride	10.0 ก.
sodium thiosulfate	0.04 ก.
ammonium iron(III) citrate	0.5 ก.
bromocresol purple	0.02 ก.
agar-agar	12.5 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน Serotyping

1. Trypticase soy agar (TSA)

ประกอบด้วย

peptone from casein	15.0 ก.
peptone from soymeal	5.0 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
agar-agar	15.0 ก.
น้ำกลั่น	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ตารางที่ 1ค. ผลการวิเคราะห์เชื้อซาลโมเนลลาเนื้อโคชำแหละในตลาดสดบางกะปีและตลาดสดมีนบุรี

ลำดับที่	แผงเนื้อโคที่	Selective enrichment	Selective plating	Group	Serovar
1	6	TTB 37°C	MSRV	-	*S.* Agona
2	6	TTB 37°C	MSRV	-	*S.* Agona
3	6	TTB 43°C	MSRV	-	*S.* Agona
4	7	RV 42°C	RM	-	*S.* Senftenberg
5	7	RV 42°C	HE	E	*S.* Senftenberg
6	7	TTB 43°C	MSRV	-	*S.* Senftenberg
7	7	RV 42°C	MSRV	-	*S.* Senftenberg
8	9	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Rissen
9	10	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Agona
10	10	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Agona
11	11	TTB 37°C	MSRV	B	*S.* Agona
12	11	TTB 37°C	MSRV	B	*S.* Agona
13	11	TTB 43°C	MSRV	B	*S.* Agona
14	11	TTB 43°C	MSRV	B	*S.* Agona
15	11	TTB 43°C	MSRV	B	*S.* Agona
16	12	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Anatum
17	12	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Anatum
18	12	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Anatum
19	12	TTB 43°C	MSRV	E	*S.* Enterica subsp. enterica sar. 4,5,12:i:-
20	12	TTB 43°C	MSRV	E	*S.* Anatum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์เชื้อซาลโมเนลลาเนื้อโคชำแหละในตลาดสดบางกะปิและตลาดสดมีนบุรี (ต่อ)

ลำดับที่	แผงเนื้อโคที่	Selective enrichment	Selective plating	Group	Serovar
21	12	TTB 43°C	MSRV	E	*S.* Senftenberg
22	12	RV 42°C	MSRV	E	*S.* Senftenberg
23	13	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Rissen
24	13	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Anatum
25	13	TTB 37°C	MSRV	E	*S.* Rissen
26	14	TTB 37°C	HE	E	*S.* Weltevreden var. 15^{+}
27	14	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Lexington
28	14	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Kedougou
29	14	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Augustenborg
30	15	TTB 37°C	XLD	E	*S.* Typhimurium var. copen-hagen
31	15	RV 42°C	RM	B	*S.* Typhimurium var. copen-hagen
32	15	RV 42°C	RM	B	*S.* Typhimurium var. copen-hagen
33	15	RV 42°C	RM	B	*S.* Weltevreden var. 15^{+}
34	15	RV 42°C	HE	B	*S.* Typhimurium var. copen-hagen
35	15	RV 42°C	HE	B	*S.* Typhimurium var. copen-hagen
36	15	RV 42°C	HE	B	*S.* Typhimurium var. copen-hagen
37	16	RV 42°C	RM	E	*S.* Weltevreden var. 15^{+}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์เชื้อซาลโมเนลลาเนื้อโคชำแหละในตลาดสดบางกะปิและตลาดสดมีนบุรี (ต่อ)

ลำดับที่	แผงเนื้อโคที่	Selective enrichment	Selective plating	Group	Serovar
38	16	RV 42°C	HE	E	*S.* Farnsen
39	17	TTB 37°C	MSRV	-	*S.* Hvittingfoss
40	17	TTB 43°C	MSRV	E	*S.* Hvittingfoss
41	17	RV 42°C	MSRV	E	*S.* Hvittingfoss
42	17	RV 42°C	MSRV	E	*S.* Hvittingfoss
43	18	TTB 43°C	MSRV	D	*S.* Senftenberg
44	18	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Senftenberg
45	18	RV 42°C	MSRV	D	*S.* Lexington
46	18	RV 42°C	MSRV	D	*S.* Weltevreden
47	19	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Amsterdam
48	19	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Amsterdam
49	19	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Amsterdam
50	19	TTB 43°C	MSRV	D	*S.* Amsterdam
51	19	RV 42°C	MSRV	D	*S.* Weltevreden
52	19	RV 42°C	MSRV	D	*S.* Weltevreden
53	19	RV 42°C	MSRV	C	*S.* Weltevreden
54	20	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Give
55	20	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Give
56	20	TTB 37°C	MSRV	C	*S.* Give
57	20	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Weltevreden
58	20	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Give
59	20	TTB 43°C	MSRV	C	*S.* Give

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นาย ธนชัย เชื้อพาณิชย์

- เกิดวันที่ 18 ตุลาคม พ.ศ. 2524
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนอนุบาลปราจีนบุรี พ.ศ.2536
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาจากโรงเรียนปราจีนราษฎรอำรุง พ.ศ. 2542
- จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2548

นางสาว รัตนาภรณ์ สุริย์

- เกิดวันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2524
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนอนุบาลลพบุรี พ.ศ.2536
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนวินิตศึกษาในพระราชูปถัมภ์ พ.ศ. 2539
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนพิบูลวิทยาลัย พ.ศ. 2542
- จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้