

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment และ isolation ต่อการตรวจหา
เชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัวสดที่จำหน่ายในเขตลาดกระบัง

(Comparison of selective enrichment and isolate plating medium for Salmonella detection
from fresh retailed cow meat sold in Ladkrabang)



T096525

โดย

นางสาวเกศณี	วงษ์ปัดตะ	รหัสประจำตัว	45045023
นางสาวประภาพรณ	บุกแก้ว	รหัสประจำตัว	45045032
นางสาวมณีนันท์	ลิทธิโห	รหัสประจำตัว	45045036

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

ป.พ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ก774 ก

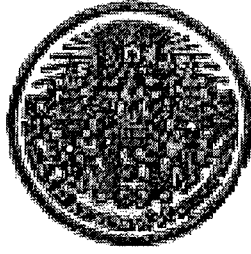
2546

2546

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 96525

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment และ isolation ต่อการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัวสดที่จำหน่ายในเขตลาดกระบัง
(Comparison of selective enrichment and isolate plating medium for Salmonella detection from fresh retailed cow meat in Ladkrabang)

โดย

นางสาวเกศณี	วงษ์ปัดตะ	รหัสประจำตัว	45045023
นางสาวประภาพรธรรม	ปุกแก้ว	รหัสประจำตัว	45045032
นางสาวมณีนันท์	สิทธิโห	รหัสประจำตัว	45045036

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... ศิพร 5 ม.ค. 47 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ
()

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

() 9

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวเกศณี วงษ์ปิตตะ, นางสาวประภาพรรณ ปุกแก้ว และนางสาวมณีนันท์ สิทธิโ.

การเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment และ isolation ต่อการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัวสดในเขตลาดกระบัง (comparisons of Selective enrichment and isolate plating medium for Salmonella detection from fresh retailed cow meat sold in Ladkrabang.)

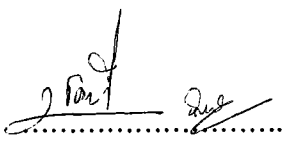
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อาจารย์ที่ปรึกษา: ผศ. อติสร เสวตวิวัฒน์: กรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร. ประภาพร ขอไพบุลย์. ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง .

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการหาเชื้อซาลโมเนลลา ที่ปนเปื้อนในเนื้อวัวสดที่จำหน่ายในตลาดเขตลาดกระบังจำนวน 21 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาปนเปื้อนในเนื้อวัวสดรวม 21 ตัวอย่าง ได้ ร้อยละ 95.24 เชื้อโรวารที่พบทั้งหมด 9 เชื้อโรวาร เชื้อโรวารที่พบมากที่สุด 3 ลำดับแรก ได้แก่ *S. Weltrevreden* (100 %), *S. Rissen* (77.77 %) และ *S. Hadar* (33.33 %) ซึ่งจากการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment ระหว่าง Tetrathionate broth (TTB) และ Rappapost Vassiliadis (RV) และเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective plating 3 ชนิด ได้แก่ Rambach (Ram) agar, Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar และ Modified Semi-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV) พบว่าในขั้นตอน Selective enrichment Rappapost Vassiliadis (RV) ให้ผลการตรวจพบเชื้อสูงกว่า Tetrathionate broth (TTB) (72% และ 28 %) ตามลำดับ และมีการตรวจพบชนิดของเชื้อโรวาร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RV มากกว่า TTB อีกด้วย

ส่วนในขั้นตอน Selective plating พบว่าการใช้ Rambach (Ram) agar ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจะให้ผลการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาดีกว่าการใช้ Modified Semi-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV), Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar ตามลำดับ การใช้ Rappapost Vassiliadis (RV) ควบคู่กับการใช้ Rambach (Ram) agar ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อวัวสด จะให้ผลการตรวจสอบเชื้อซาลโมเนลลาดีที่สุด แต่การใช้ Selective enrichment และ Selective plating มากกว่า 1 ชนิด จะให้ผลการตรวจพบชนิดเชื้อโรวารของเชื้อซาลโมเนลลาได้มากกว่าการใช้อาหารเพียงชนิดเดียว



(นางสาวเกศณี วงษ์ปัดตะ)

.....
.....

(นางสาวประภาพรณ ปุกแก้ว)

.....
.....

(นางสาวมณีนันท์ สิทธิโท

ลายเซ็นนักศึกษา

.....
.....

(ผศ. อติสร เสวตวิวัฒน์)

ลายเซ็นอาจารย์ที่ปรึกษา

.....
.....

วัน/เดือน/ปี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้ สามารถที่จะสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีนั้น คณะผู้จัดทำขอกราบ
 ขอบพระคุณ ผศ. อิศร เสวตวิวัฒน์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาคอยให้คำแนะนำ
 และช่วยให้คำปรึกษา รวมทั้งดูแลเอาใจใส่ และตรวจแก้ไขปัญหาค้นฉบับนี้ตลอดเวลารายงานปัญหา
 พิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบุลย์, ดร. บุญเทียม
 พันธุ์เพ็ง ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม คอยให้คำแนะนำและให้คำปรึกษาปัญหาต่างๆ ขอ
 ขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ สารเคมีต่างๆ
 รวมทั้งให้ความสะดวกในการปฏิบัติงาน ขอขอบพระคุณ อาจารย์อรุณ บำงตระกูลนนท์ และเจ้า
 หน้าที่WHO Salmonella-Shigella center ฝ่ายพยาธิวิทยาคลินิกกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่
 กรุณาทดสอบหาชนิดเชื้อโรวาร์ของเชื้อชาลโมเนลลา เพื่อเป็นข้อมูลในการจัดทำรายงาน และขอ
 ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือทั้งกำลังใจและกำลังกายตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนค้ำคูณ
 ทรัพย์ในการจัดทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้

ผู้จัดทำ

นางสาวเกศนิ วัฒนปัดตะ

นางสาวประภาพรณ ปุกแก้ว

นางสาวมณีนันท์ สิริโท

5 มกราคม 2547

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	
1. บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
2. วารสารปริทัศน์	3
2.1 การบริโภคเนื้อสัตว์	3
2.2 เนื้อสัตว์	3
2.3 เนื้อวัวและเนื้อลูกวัว	4
2.4 การผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	4
2.5 แบคทีเรียที่ติดเชื้อจากอาหารพวกเนื้อสัตว์	5
2.6 ปริมาณการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา	5
2.7 คุณสมบัติโดยทั่วไปของเชื้อซาลโมเนลลา	6
2.8 อาการของผู้ได้รับเชื้อซาลโมเนลลา	6
2.9 แหล่งของการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อสัตว์	8
2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลา	9
2.11 รายงานการระบาดของกลุ่มเชื้อซาลโมเนลลา	10
3. อุปกรณ์และการทดลอง	15
3.1 อุปกรณ์และการทดลอง	15
3.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	17
4. ผลและวิจารณ์การทดลอง	21
4.1 ศึกษาการปนเปื้อนเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อวัวสด จากตลาดเขตลาดกระบัง	21
4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัวสด	27
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	29
5.1 สรุปผลการทดลอง	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก ก.	34
ภาคผนวก ข.	39
ประวัติผู้เขียน	42



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ตัวอย่างของเชื้อซาลโมเนลลาที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่างๆ	11
2. เปรียบเทียบชนิดของ Serovar ในอาหารแข็ง 3 ชนิดที่ตรวจพบเชื้อ โดยใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ RV และ TTB	21
3. เปรียบเทียบอาหารแข็ง 3 ชนิดที่ตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาจากการใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ RV และ TTB	23
4. แสดงจำนวนตัวอย่างแต่ละ Serovar ที่ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อ RV และ TTB จำนวน 20 ตัวอย่าง	25
5. แสดงปริมาณ Serovar ของซาลโมเนลลาที่พบในอาหารแต่ละชนิด	26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ขั้นตอนการวิเคราะห์เชื้อชาติ โมเนลลา	20
2. แผนภูมิเปรียบเทียบการตรวจพบเชื้อชาติ โมเนลลาของอาหาร ในขั้นตอน Selective enrichment	21



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ในหลายปีที่ผ่านมาเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษสูงขึ้นทุกทวีปในโลก ซึ่งสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคจากอาหารมาจากเชื้อซาลโมเนลลา เชื้อซาลโมเนลลานี้สามารถพบได้ทุกแห่งในโลก ซึ่งมีอยู่มากกว่า 2,500 เซโรวาร์ เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในคนและสัตว์ โดยมีน้ำและอาหารเป็นสื่อของการแพร่ระบาด

แบคทีเรียที่ติดเชื้อจากอาหารพวกเนื้อสัตว์ เกิดขึ้นจากพวก *salmonella* ที่ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมาก แบคทีเรียนี้สามารถเจริญได้ในร่างกายของผู้บริโภคและผลิตสารพิษ endotoxin ขึ้นภายในเซลล์ ทำให้ผู้ติดเชื้อมีอาการเวียนศีรษะ อาเจียน และท้องเดิน ระยะเวลาของการฟักตัวหรือช่วงเวลาหลังรับเชื้อเข้าไป ถึงปรากฏอาการออกมาจะกินเวลานานกว่า 6 ชั่วโมง

ความปลอดภัยของอาหารควรเริ่มจากฟาร์มสู่ผู้บริโภค ซึ่งต้องมีการควบคุมตลอดห่วงโซ่อาหารตลาดที่ต้องการความปลอดภัยของอาหารได้ให้ประเทศผู้ผลิตที่ต้องการส่งออกจัดทำสมุดปกขาวว่าด้วยความปลอดภัย แจ้งรายละเอียดถึงแหล่งที่มาของสารอาหารทุกตัวที่นำมาใช้ เพื่อการผลิตอาหาร โดยเริ่มตั้งแต่ผู้ผลิตวัตถุดิบ (ฟาร์มเลี้ยงสัตว์) โรงฆ่าและ ฝ่ายแปรรูปอาหารในโรงงานผู้จัดจำหน่าย ตลอดจนถึงผู้บริโภค

จากเหตุผลดังกล่าวจึงต้องมีการศึกษาการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อซาลโมเนลลา จากอาหารประเภทเนื้อสัตว์ซึ่งมีหลายวิธี และชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment และ อาหารแข็งในขั้นตอน Selective plating ที่ให้ความถูกต้องแม่นยำและเหมาะสมที่สุดในการตรวจวิเคราะห์ เชื้อซาลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อวัวสด ถ้าหากมีการตรวจพบซาลโมเนลลา แสดงให้เห็นว่าสัญลักษณ์ที่ไม่ดีในการฆ่าตลอดจนการวางขายตามท้องตลาด จึงจำเป็นต้องแจ้งให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องช่วยกันแก้ไขและปรับปรุง เกี่ยวกับสัญลักษณ์ที่ดี ให้อย่างถูกต้องเหมาะสมและโดยเฉพาะผู้บริโภคใช้ความร้อนในการปรุงอาหารไม่เพียงพอในการที่จะทำลายเชื้อ ก็จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพร่างกายโดยตรง ดังนั้นการศึกษานี้จะสามารถเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคโดยตรง และยังเป็นการยกระดับคุณภาพและมาตรฐานในการผลิตเนื้อวัวสดให้ทัดเทียมกับระดับสากล

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของซาลโมเนลลาที่ปนเปื้อนเนื้อวัวที่จำหน่ายในเขตลาดกระบัง
2. เพื่อศึกษาการแยกเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในขั้นตอน Selective enrichment และ Isolate plating medium ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัว
3. ได้ทราบถึงระดับเซโรวาร์ ที่พบปนเปื้อนมากที่สุดในเนื้อวัวสดที่จำหน่ายในเขตลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 การบริโภคเนื้อสัตว์

ปริมาณการบริโภคอาหารหรือสินค้าประเภทเนื้อสัตว์ของประชากรในแถบยุโรปจัดเป็นอันดับที่ 4 รองจากผลิตภัณฑ์อาหารสด (ผัก ผลไม้ ฯลฯ) ผลิตภัณฑ์ธัญพืช และผลิตภัณฑ์น้ำมันสดตามลำดับ ไม่รวมอาหารที่เป็นของเหลวเนื้อสัตว์เป็นอาหารที่ให้โปรตีนคุณภาพดี แต่จะมีราคาต่อหน่วยน้ำหนักแพงกว่าผลิตผลเกษตรชนิดอื่นๆ ร่างกายของมนุษย์มีความต้องการสารอาหารโปรตีนเป็นอันดับที่สอง รองมาจากสารอาหารคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นปริมาณการบริโภคอาหารเนื้อสัตว์จึงมีอยู่ที่ระดับปานกลาง สำหรับกลุ่มประชากรในประเทศพัฒนาเช่นแถบยุโรป ขณะที่ประชากรในประเทศกำลังพัฒนาจะมีการบริโภคเนื้อสัตว์ต่อคนต่อปีน้อยมาก สำหรับประชาชนคนไทยและจีน ซึ่งจัดเป็นกลุ่มประชากรชาวเอเชีย ที่มีปริมาณการบริโภคเนื้อสัตว์เพียง 21.1 และ 18.4 กิโลกรัมต่อปีตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าปริมาณการบริโภคของคนในประเทศพัฒนาถึงเกือบ 4 - 5 เท่า (80 - 100 กิโลกรัมต่อปี)

2.2 เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ หมายถึง กล้ามเนื้อ (muscle) โดยเฉพาะจากเนื้อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก โดยเป็นส่วนของกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และทางชีวเคมีเกิดขึ้นภายหลังจากสัตว์ตายแล้ว ในเนื้อสัตว์มีความชื้นสูง และเป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุ และวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อสัตว์ภายหลังการฆ่า สัตว์ที่ถูกฆ่าเพื่อนำเนื้อมาใช้ กล้ามเนื้อในร่างกายสัตว์จะมีการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เกิดขึ้นภายหลังการฆ่า

2.3 เนื้อวัวและเนื้อลูกวัว

เนื้อวัวและเนื้อลูกวัว (beef and veal) มีการผลิตในปริมาณมากในทวีปอเมริกาและกลางเอเชีย ส่วนทวีปเอเชียจัดได้ว่าการผลิตสูงสุดหากเปรียบเทียบพื้นที่และประชากรของทวีป

1. ทวีปอเมริกาเหนือและกลาง อเมริกาใต้ และโอเชียเนีย สามารถผลิตเนื้อวัวได้ในปริมาณสูงโดยเฉพาะอาร์เจนตินา อูรุกวัย ปารากวัย ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นประเทศที่มีการพัฒนาด้านทุ่งหญ้าและอาหารสัตว์ จนสามารถส่งออกสินค้าเนื้อวัวได้ ในขณะที่ประเทศในยุโรปส่วนใหญ่ผลิตเนื้อเพียงพอสำหรับบริโภคในประเทศ และ ส่งออกภายในทวีปไปยังประเทศทางตอนเหนือที่ภูมิอากาศไม่เหมาะสมต่อการผลิต

2. หลายประเทศในทวีปอเมริกา อาจจะมีปริมาณการเลี้ยงวัวสูง แต่เป็นการเลี้ยงเป็น “สมบัติ” เพื่อแสดงฐานะทางสังคม โดยไม่มีการฆ่าเพื่อบริโภค จึงไม่มีผลต่อการใช้เป็นอาหาร

3. ประเทศต่างในเอเชียและแอฟริกา มีเพียงบางประเทศที่ผลิตเนื้อวัวสำหรับการค้า แต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ เป็นผลถึงปัญหาการขาดโปรตีนในประชากร

4. ประเทศไทยมีการผลิตเนื้อวัวถึง 296 พันตันต่อปี ซึ่งอยู่ในระดับกลางๆ ของทั่วทั้งโลก เพื่อผู้บริโภคบางกลุ่มเช่นชาวอิสลามและนักท่องเที่ยวชาวต่างประเทศทางแถบตะวันตกเป็นส่วนใหญ่ แต่โดยทั่วไปแล้วประชาชนคนไทยจะบริโภคเนื้อวัวน้อยลงเพราะราคาแพงกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ

2.4 การผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

โรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ในประเทศไทยดำเนินการอยู่ภายใต้การดูแลและควบคุมกำกับของกระทรวงอุตสาหกรรม กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (โดยกรมปศุสัตว์) กระทรวงสาธารณสุข กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และกระทรวงมหาดไทย โดยมีแนวความคิดร่วมกันด้านการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในปัจจุบันไว้ ดังนี้คือ กำหนดให้ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมอาหารต้องคำนึงถึงสิ่งสำคัญ 3 ประการคือ

1. อาหารต้องมีความปลอดภัย
2. การผลิตอาหารต้องมีศีลธรรม
3. การผลิตอาหารต้องรักษาสิ่งแวดล้อม

ความปลอดภัยของอาหารควรเริ่มจาก ฟาร์มสู่ผู้บริโภค ซึ่งต้องมีการควบคุมตลอดห่วงโซ่อาหารตลาดที่ต้องการความปลอดภัยของอาหารได้ให้ประเทศผู้ผลิตที่ต้องการส่งออกจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำสมมุคปกขาวว่าด้วยความปลอดภัย แจ้งรายละเอียดถึงแหล่งที่มาของสารอาหารทุกตัวที่นำมาใช้ เพื่อการผลิตอาหาร โดยเริ่มตั้งแต่ผู้ผลิตวัตถุดิบ (ฟาร์มเลี้ยงสัตว์) โรงชำแหละ ฝ่ายแปรรูปอาหารในโรงงาน ผู้จัดจำหน่าย ตลอดจนถึงผู้บริโภค

ผู้บริโภคทุกระดับชั้นควรมีสิทธิ์ได้รับความปลอดภัยของอาหารเท่าเทียมกันหมด ทั้งอาหารที่บริโภคภายในประเทศ อาหารส่งออก และอาหารนำเข้า ดังนั้นโรงงานจึงต้องนำวิธีการปฏิบัติต่างๆ ที่ กำหนดการดำเนินการมาใช้ เช่น ระบบ HACCP ซึ่งเป็นระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัย มาช่วยให้อาหารปลอดภัยจากอันตรายทางเคมี ทางชีวภาพและทางกายภาพ ระบบ GMP มีความเกี่ยวข้องกับการจัดการ ด้านสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต เช่น การควบคุมสุขลักษณะส่วนบุคคล การควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค การสุขาภิบาลโรงงานและการควบคุมน้ำใช้ และระบบการจัดการ ISO นอกจากนี้จะต้องนำ GAP (Good Agricultural Practice) ซึ่งเป็นการปฏิบัติการทางเกษตรที่ดีที่เหมาะสม มาใช้กับงานทางพืชไร่ พืชสวน ปศุสัตว์ และการประมง เพื่อให้ผลิตผลเกษตรมีสารตกค้างน้อยที่สุด (สารกลุ่มเบต้าอโคนิสท์ ที่ใช้เพื่อปรับปรุงซาก เช่น salbotamal , สารกลุ่มไนโตรฟูแรนส์ ซึ่งเป็นสารต่อต้านแบคทีเรียสังเคราะห์ เช่น nitrofurazone) ผลผลิตทางการเกษตรต้องไม่ใช่ผลิตผลจาก GMOs หรือถ้ามี GMOs มาเกี่ยวข้อง ต้องผ่านการพิสูจน์แล้วว่าปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม และไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต

2.5 แบคทีเรียที่ติดเชื้อจากอาหารพวกเนื้อสัตว์

แบคทีเรียที่ติดเชื้อจากอาหารพวกเนื้อสัตว์ เกิดขึ้นจากพวก *salmonella* ที่ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมาก แบคทีเรียนี้สามารถเจริญได้ในร่างกายของผู้บริโภคและผลิตสารพิษ endotoxin ขึ้นภายในเซลล์ ทำให้ผู้ติดเชื้อมีอาการเวียนศีรษะ อาเจียน และท้องเดิน ระยะเวลาของการฟักตัว หรือช่วงเวลาหลังรับเชื้อเข้าไป ถึงปรากฏอาการออกมาจะกินเวลานานกว่า 6 ชั่วโมง

2.6 ปริมาณการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา

ปริมาณการตรวจพบ จะต้องตรวจไม่พบเชื้อซาลโมเนลลา ในตัวอย่าง 25 กรัม (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 คุณสมบัติโดยทั่วไปของเชื้อซาลโมเนลลา

ซาลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เป็นเชื้อที่ไม่ทนความร้อน เชื้อถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C ในเวลา 5-10 นาที มีสมาชิกอยู่ในกลุ่มนี้มากกว่า 2,500 เซโรวาร์ ซึ่งทุกเซโรวาร์เป็นสาเหตุของการเกิดโรคทางเดินอาหารกับมนุษย์และสัตว์ โดยที่เชื้อมักปนเปื้อนมากับวัตถุดิบประเภทเนื้อสัตว์ที่มาจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีสุขลักษณะที่ไม่ดี การเกิดโรคสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเฉพาะกับคน ได้แก่ *S. Typhi* และ *S. Paratyphi* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์

กลุ่มที่ทำให้เกิดโรคเฉพาะกับสัตว์ เช่น โรคแท้งติดต่อในสัตว์

กลุ่มที่ไม่มีความเฉพาะกับโฮสต์ (host) กล่าวคือ สามารถทำให้เกิดโรคทั้งกับคนและสัตว์ ซึ่งมีมากกว่า 2,500 เซโรวาร์ และทุกเซโรวาร์เป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่เรียกว่า Salmonellosis

เชื้อกลุ่มแรกถึงแม้จะมีอาการของโรครุนแรง แต่โอกาสการแพร่กระจายของเชื้อจะน้อยกว่ากลุ่มที่ 3 ซึ่งมีวงจรการแพร่ระบาดของเชื้อได้ทั้งจากคนและจากสัตว์ โดยที่มีอาหารและน้ำเป็นสื่อ นอกจากนี้ ทั้งคนและสัตว์ที่เป็นโรคจากเชื้อนี้เมื่อรักษาจนหายไม่เกิดอาการของโรคนี้แล้ว ยังอาจเป็นพาหะของเชื้อไปได้อีกระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งบางรายสามารถตรวจพบได้เป็นเวลานาน 2 - 3 เดือน หลังจากหายป่วยแล้ว (อดิศร, 2538)

2.8 อาการของผู้ได้รับเชื้อซาลโมเนลลา

โรค Salmonellosis

เกิดจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ปริมาณเชื้อต่ำสุดที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในกลุ่มคนอยู่ระหว่าง 10^6 ถึง 10^{10} เซลล์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อซาลโมเนลลา ชนิดของอาหารที่บริโภคและสุขภาพของผู้บริโภค

การก่อให้เกิดโรคของเชื้อซาลโมเนลลา เริ่มจากการเกาะติดกับผนังลำไส้ การบุกรุกเข้าสู่ epithelial หรือ M-cell ที่เยื่อลำไส้ การอยู่รอดใน macro phage

เนื่องจากร่างกายของคนและสัตว์มีระบบการป้องกันการติดเชื้อซาลโมเนลลาเข้าสู่ร่างกาย เชื้อจะต้องเผชิญกับสารและสภาวะต่างๆ ที่ไม่เหมาะสมต่อการอยู่รอดและการเจริญของเชื้อ เริ่มตั้งแต่เอนไซม์ในน้ำลาย เยื่อบุ (mucosal surface) ในหลอดอาหาร สภาวะความเป็นกรดสูงใน

กระเพาะอาหาร ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำและสภาวะความเป็นกรดต่ำในลำไส้ การถูกขับออกจากร่างกาย โดยการบีบรัดตัวของลำไส้ (peristalsis) รวมถึงการถูกกำจัดโดยสารหรือเซลล์จากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย จากการศึกษาโมเนลลามีกัลไกในการป้องกันตัวเองจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมจึงสามารถทำให้เกิดโรคในคนและสัตว์ได้

1. อาการทั่วไป

มักเกิดหลังจากการกินพิษของเชื้อซาลโมเนลลาซึ่งปนอยู่ในอาหารเข้าไป 8-48

ชั่วโมง

1.1 อาการ

มีไข้หนาวสั่น ปวดบิดในท้อง ถ่ายเป็นน้ำ คลื่นไส้อาเจียนเล็กน้อย บางครั้งมีมูกเลือดปน อาการจะค่อยๆหายภายใน 2-5 วัน บางคนอาจเรื้อรัง ถึง 10-14 วัน

1.2 สิ่งตรวจพบ

ไข้ อาจมีสภาวะขาดน้ำ

1.3 อาการแทรกซ้อน

ภาวะขาดน้ำอย่างรุนแรง

2. การรักษา

2.1 ถ้าอาการไม่รุนแรง ให้การรักษาแบบอาการท้องเดินทั่วไป โดยการให้สารละลายน้ำตาลเกลือแร่ ยาลดไข้

2.2 ถ้าอาการรุนแรงหรือมีภาวะ การขาดน้ำรุนแรง ควรส่งโรงพยาบาลเพื่อให้น้ำเกลือทางหลอดเลือดดำ และควรส่งอุจจาระตรวจหาเชื้อ อาจมีสาเหตุจากเชื้อชนิดอื่นได้

3. ข้อแนะนำเสริม

ถ้าพบผู้ป่วยมีอาการ ไข้ร่วมกับท้องเดินไม่มาก แต่เป็นเรื้อรังมากกว่าสัปดาห์ เมื่อคลำบริเวณตับและม้ามถ้าโตขึ้น แสดงว่าเป็นไข้มาลาเรีย และไข้ไทฟอยด์

2.9 แหล่งของการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อสัตว์

ปกติสัตว์ที่สุขภาพดีจะปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ แต่ภายหลังการฆ่า เนื้อสัตว์จะมีจำนวนจุลินทรีย์แตกต่างกัน ทั้งนี้แล้วแต่จำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนลงไปในระยะต่าง ๆ ดังนี้

2.9.1 ระหว่างการฆ่าและการชำแหละ

การปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลา ในกระบวนการฆ่าสัตว์มีดังนี้

- 1) การปนเปื้อนของเชื้อสามารถพบได้ตั้งแต่อยู่ในฟาร์ม จากสภาพแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำ อาหารสัตว์ สัตว์ที่ติดเชื้อมาก่อน ซึ่งเชื้อซาลโมเนลลาส่วนใหญ่จะปนเปื้อนมาในอาหารสัตว์
- 2) การเคลื่อนย้ายสัตว์จากฟาร์มไปยังโรงฆ่าสัตว์ เป็นการนำสัตว์จากหลาย ๆ แหล่งมาอยู่รวมกัน จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่ง เช่น จากมูลที่ขับถ่ายออกมา นอกจากนี้ปริมาณ CO_2 และ NH_4 ที่เกิดขึ้นในคอกพักสัตว์จะมีผลต่อการเคลื่อนตัวของสารในลำไส้ทำให้มีการขับถ่ายเพิ่มขึ้น ซึ่งมูลสัตว์จะมีเชื้อซาลโมเนลลาอยู่มาก
- 3) ขั้นตอนทำให้สัตว์สลบ โดยการใช้ปืน (Cative bolt) พบบริเวณการปนเปื้อนที่บริเวณแท่งเหล็กที่ถูกขับออกมาจากการยิง ซึ่งเป็นทางหนึ่งที่ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้
- 4) ขั้นตอนการแทงคอเอาเลือดออก จะเป็นโอกาสให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายบริเวณบาดแผลซึ่งเชื้ออาจติดอยู่บริเวณผิวหนังสัตว์ หรือมีดที่ไม่สะอาดและโดยเฉพาะอย่างยิ่งเข้าทางบาดแผลที่อาจเปิดกว้างมาก ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้มาก
- 5) การปนเปื้อนในขั้นตอนการลดหนังสัตว์ เป็นการเปิดโอกาสให้เชื้อซาลโมเนลลาเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย หากมีการปฏิบัติที่ไม่ดี ไม่มีความสะอาดที่เพียงพอ
- 6) การปนเปื้อนในขั้นตอนการเปิดซาก (visceration) ในขั้นตอนการผ่าท้องเอาเครื่องในออก ถ้ากระทำไม่ระมัดระวัง อาจทำให้เครื่องในแตกฉีกขาด มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในทางเดินอาหารและลำไส้
- 7) การปนเปื้อนในขั้นตอนการตัดแต่งการเลาะกระดูก (cutting and debonig) ขั้นตอนนี้ จะพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุปกรณ์ไม่สะอาด มีการปนเปื้อนจากมือผู้ปฏิบัติงาน หรืออุณหภูมิในห้องตัดแต่งสูงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ในระยะนี้สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ในระยะนี้ได้โดยล้างผิวหนังภายนอกของสัตว์และพื้นห้อง ก่อนจะทำการฆ่าด้วยอุปกรณ์ที่สะอาด และน้ำที่สะอาด เพื่อลดจุลินทรีย์ในลำไส้

2.9.2 การขนส่ง

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระยะนี้จะมาจากรถ ภาชนะบรรจุ อากาศ ฝุ่นละอองและมนุษย์ เนื่องจากในระหว่างการขนส่งส่วนใหญ่ที่จะไม่มีการปิดคลุมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากฝุ่นละออง หรืออาจมาจากตัวรถที่ใช้บรรทุกไม่ได้มีการทำความสะอาดก่อนและหลังทำการขนส่งทำให้จุลินทรีย์มีการปนเปื้อนสะสมอยู่

ซึ่งในบางครั้งการขนส่งจะไม่มีภาชนะบรรจุที่ใช้ในการบรรจุเลย หรืออาจมีจะใช้ถุงพลาสติก ซึ่งถุงพลาสติกอาจฉีกขาดทำให้เกิดการปนเปื้อนในขั้นตอนนี้ และรวมไปถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการขนส่ง ในการขนส่งเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่ถูกขนส่งโดยไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งในอุณหภูมิบรรยากาศปกติ

2.9.3 การจำหน่าย

ระหว่างการจำหน่าย ในระยะนี้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ลงไปในเนื้อสัตว์จะมาจากผู้ขาย โต๊ะที่ทำการชำแหละเนื้อสัตว์ ตาชั่ง เครื่องบด มีดที่หั่น เขียง เครื่องหั่นและภาชนะบรรจุป้องกันการปนเปื้อนได้ โดยการใช้อุปกรณ์ที่สะอาดและระมัดระวังด้านสาธารณสุข

2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลา

2.10.1 ลักษณะของเนื้อ

เนื้อที่มีลักษณะเป็นก้อนจะเกิดการปนเปื้อนได้น้อยกว่าเนื้อบดและเนื้อเป็นแผ่น ทั้งนี้เพราะเนื้อบดและเนื้อเป็นแผ่นเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวจะแพร่กระจายไปทั่วก้อนเนื้อ ส่วนเนื้อเป็นก้อน จุลินทรีย์มักติดอยู่เฉพาะภายนอกก้อนเนื้อ เนื้อเยื่อภายในปกติจะไม่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ไชมันที่หุ้มก้อนเนื้อสัตว์จะช่วยป้องกันมิให้เนื้อข้างในมีจุลินทรีย์ปนเปื้อน

2.10.2 ความชื้น

ความชื้นที่อยู่บนเนื้อสัตว์มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ที่มีผิวภายนอกแห้ง อยู่เสมอจะมีการปนเปื้อนได้น้อย เพราะจุลินทรีย์อาจเจริญไม่ได้ แต่ถ้ามีความชื้นมากขึ้นจะทำให้เกิดการปนเปื้อน

2.10.3 พีเอช

ลักษณะทางสรีระวิทยาของเนื้อสัตว์ก่อนถูกฆ่ามีผลต่อ pH ของเนื้อสัตว์ปกติ เนื้อสัตว์ที่มีชีวิต pH ประมาณ 7.4 เมื่อสัตว์ตายแล้วเซลล์ของสัตว์ยังคงทำให้ไกลโคเจนในเซลล์ถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกและคาร์บอนไดออกไซด์เรื่อยๆ กรดและแก๊สที่เกิดขึ้นจะไม่ถูกกำจัดออกไปกับซาก ดังนั้นจึงคั่งในเนื้อ กรดที่คั่งนี้อาจทำให้เนื้อมี pH ลดลงเหลือประมาณ 5.5 – 5.7 แต่ถ้าก่อนทำการฆ่าสัตว์ที่ตื่นเต้น เมื่อยล้า เป็นไข้หรือตกใจไกลโคเจนในเนื้อจะถูกใช้ไป ทำให้ไกลโคเจนในเนื้อสัตว์ที่ตายแล้วน้อยกว่าปกติ กรดแลคติกก็น้อยทำให้ pH ของเนื้อสัตว์ไม่ลดลงเท่าที่ควร กล่าวคืออาจมี pH ประมาณ 6.6 – 7.4 การที่เนื้อสัตว์มี pH สูงจุลินทรีย์เจริญได้ดี

2.10.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บเนื้อสัตว์มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งปกติแล้วเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายในตลาดสดส่วนใหญ่จะวางจำหน่ายที่อุณหภูมิสภาพอากาศปกติ คือ 37 องศาเซลเซียส ไม่ได้มีการวางจำหน่ายที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดี

2.11 รายงานการระบาดของกลุ่มเชื้อซาลโมเนลลาในประเทศไทย

2.11.1 การประมาณอุบัติการณ์ของโรคติดเชื้อซาลโมเนลลาชนิดที่ไม่ใช่ไทฟอยด์ในประเทศไทย

การประมาณโรค Salmonellosis จากจำนวนผู้ป่วยจากการประมาณของโรคอุจจาระร่วงด้วยผลการวิจัยพบว่าประมาณผู้ป่วย (estimated cases) โรค Salmonellosis เฉลี่ย 4 ปี ที่ทำการศึกษา (2537 – 2540) ดังนั้นจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับรายงานจึงมีประมาณ 0.8 % - 11 % ของจำนวนผู้ป่วยโรค Salmonellosis (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.2 การกลับมาของเชื้อ Salmonella Paratyphi A ในปี พ.ศ. 2539

การระบาดของโรคไทฟอยด์ ในกรุงเทพมหานคร จำนวน 347 รายในช่วง มกราคม – กุมภาพันธ์ 2539 พบว่าเกิดจากเชื้อ Salmonella Paratyphi A , Phage type 1 ทั้งสิ้น เมื่อเทียบกับผลการศึกษาย้อนหลัง 5 ปี (พ.ศ. 2534 – 2538) พบว่าเป็น Phage ชนิดเดียวกับที่พบมากที่สุดในเขตกรุงเทพมหานคร แสดงว่าเชื้อ Salmonella Paratyphi A ที่ก่อให้เกิดโรคเป็นสายพันธุ์เดิม และอาจเป็นเชื้อที่มีอยู่ในแหล่งธรรมชาติกรุงเทพมหานคร (ปรากฏดีและคณะ , 2539)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของเชื้อซาลโมเนลลาที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่างๆ

ตัวอย่าง	จำนวน (สายพันธุ์)
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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.3 รายงานการตรวจยืนยันเชื้อซาลโมเนลลา จาก WHO National Salmonella and Shigella Center

ปี พ.ศ. 2543 WHO National Salmonella and Shigella Center ตรวจตัวอย่างเพื่อยืนยันเชื้อซาลโมเนลลา จำนวน 7,870 สายพันธุ์ ผลการตรวจยืนยันว่าเป็นเชื้อซาลโมเนลลา 7,681 สายพันธุ์ (97.59 %) เชื้อเหล่านี้ส่งมาจากหน่วยงานต่าง ทั้งภาครัฐและภาคเอกชนจากทั่วประเทศ โดยแบ่งออกเป็น 12 เขต ตามการแบ่งเขตของกองระบาดวิทยา

เมื่อนำมาจำแนกตามแหล่งที่พบเชื้อ พบว่าเป็นเชื้อจากผู้ป่วย 4,095 สายพันธุ์ (52.03%) ไก่แช่แข็ง , อาหารทะเล , อาหารพร้อมบริโภค , อาหารสัตว์ , น้ำและอื่นๆ 3,586 สายพันธุ์ (45.56 %)

(ตารางที่ 1) และแยกเป็นเซโรวาร์ ตามแบบของ Kauffmann White Schema ได้ทั้งหมด 29 เซโรวาร์ (รายงานประจำปี 2543 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2544)

2.11.4 ความสัมพันธ์ระหว่างเซโรวาร์ของซาลโมเนลลาที่พบในอาหารและในคนภายในประเทศไทย พ.ศ. 2534 – 2536

ความสัมพันธ์ระหว่างเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลา ที่พบในคนและในอาหารระหว่างปี 2534 – 2536 พบสายพันธุ์ของเชื้อซาลโมเนลลา ที่ได้รับการตรวจแยกชนิด โดยศึกษาลักษณะของ antigen จาก WHO National Salmonella & Shigella Center จำนวน 14,117 สายพันธุ์ เชื้อที่แยกได้จากอาหารพร้อมบริโภค , 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. I. 4, 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 (2.66 %) , *S. Choleraesuis* 252 สายพันธุ์ (2.24 %) , *S. Typhi* 191 สายพันธุ์ (1.91 %) ในจำนวน 15 เซโรวาร์นี้มี 12 เซโรวาร์ ที่พบบ่อยในอาหารยกเว้น *S. Paratyphi A* *S. Choleraesuis* , *S. Typhi* โดยชนิด เซโรวาร์ ในคนและไก่แช่แข็ง 9 เซโรวาร์ (รัตนสุตาและคณะ , 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.5 การสำรวจชาลโมเนลลา ในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดที่จำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต

การปนเปื้อนของเชื้อชาลโมเนลลา ในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ ลูกชิ้นเนื้อ , ลูกชิ้นกึ่ง , ปูอัด , ไส้กรอกหมู , ลูกชิ้นหมู , ลูกชิ้นไก่ , ไส้กรอกไก่ , หมูยอ , และลูกชิ้นปลา จำนวนทั้งสิ้น 223 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต ในเขตกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี พบว่ามี การปนเปื้อนของเชื้อชาลโมเนลลา 42 ตัวอย่าง (18.82 %) ผลิตภัณฑ์ที่พบมากที่สุด และรองลงมา ได้แก่ ลูกชิ้นเนื้อ 18 ตัวอย่าง (54.56 %) , ลูกชิ้นกึ่ง 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 แม้ได้ผ่านกรรมวิธีในการผลิตแล้วก็ตาม แต่ยังมี การปนเปื้อนถึงร้อยละ 18.82 (อรุณและคณะ, 2542)

2.11.6 การศึกษาเซโรวาร์ที่สำคัญของเชื้อชาลโมเนลลาที่แยกได้จากคนและอาหารในประเทศไทย

ในการศึกษาเพื่อต้องการหาเซโรวาร์ที่สำคัญของเชื้อชาลโมเนลลา ที่แยกได้จากคนและอาหาร ซึ่งรวมไปถึงเนื้อไก่และสิ่งแวดล้อมต่างๆ ในประเทศไทย โดยรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อทั้งสิ้น จำนวน 29,073 สายพันธุ์ ระหว่างปี พ.ศ. 2536 – 2539 โดยแยกได้จากคน , เนื้อไก่ , อุจจาระ ไก่ , อาหารเลี้ยงไก่ , อาหารไทยสำเร็จพร้อมบริโภค , น้ำดื่ม , กุ้ง และน้ำเสีย เพื่อนำมาหา เซโรวาร์ ผลพบว่า สายพันธุ์จากคนมีเซโรวาร์ทั้งสิ้น 72 เซโรวาร์ และสายพันธุ์จากสัตว์ และอื่นๆ มีเซโรวาร์ทั้งหมด 81 เซโรวาร์ โดยมี *S. Weltevreden* จำนวน 2,153 สายพันธุ์ , *S. Derby* จำนวน 1,834 สายพันธุ์ , *S. Enteritidis* จำนวน 1,554 สายพันธุ์ และ *S. Anatum* จำนวน 1,293 สายพันธุ์ ที่แยกได้จาก อุจจาระคน ; *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 จากอุจจาระ ไก่ ; *S. Amsterdam* จำนวน 55 สายพันธุ์ และ *S. Senftenberg* จำนวน 44 สายพันธุ์ (สุมาลี และคณะ , 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.7 ความสำคัญของการสุ่มตัวอย่างภาชนะและอุปกรณ์ประกอบอาหารเพื่อตรวจหาเชื้อโรคอุจจาระร่วง

การศึกษาหาเชื้อในอุปกรณ์และภาชนะประกอบอาหารตามร้านอาหาร แผงลอย และแม่ค้าหาบเร่ เพื่อเป็นข้อมูลให้กับประชาชนโดยวิธีการ Swab จากเชียง , ช้อน , จาน , ชาม , ครก และอุปกรณ์อื่นๆ รวม 1,216 ตัวอย่าง จากร้านอาหารและแผงลอยในจังหวัดนนทบุรี 360 ร้าน (298 ตัวอย่าง) สำหรับเชื้อซาลโมเนลลา ที่ตรวจหาทำการศึกษาถึงระดับเซโรวาร์ ผลการศึกษาพบว่าการปนเปื้อนของเชื้ออุจจาระร่วง 89 ตัวอย่าง ร้อยละ 7.32 คือ ก้านมิด พบเชื้อ 8 ตัวอย่าง ร้อยละ 63 , ถาด พบเชื้อ 3 ตัวอย่าง ร้อยละ 13.04 , เหยิง พบเชื้อ 38 ตัวอย่าง ร้อยละ 11.08 , ตะเกียบ พบเชื้อ 1 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.66 ครก พบเชื้อ 6 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.59 , ถ้วย พบเชื้อ 2 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.45 , แก้ว พบเชื้อ 3 ตัวอย่าง ร้อยละ 6.25 , ช้อน พบเชื้อ 14 ตัวอย่าง ร้อยละ 5.43 , จาน พบเชื้อ 7 ตัวอย่าง ร้อยละ 3.61 , ชาม พบเชื้อ 6 ตัวอย่าง ร้อยละ 4.08 และคีมจับอาหารพบ 1 ตัวอย่าง ร้อยละ 20.00 เชื้อที่พบมากที่สุดแก่เชื้อซาลโมเนลลา 28 สายพันธุ์ (รายงานประจำปี 2542 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และการทดลอง

3.1.1 อุปกรณ์การทดลอง

1. หลอดทดลองขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร
2. หลอดทดลองขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร
3. จานเพาะเชื้อ
4. บีกเกอร์ขนาด 300 ml.
5. บีกเกอร์ขนาด 50 ml.
6. กระบอกตวงขนาด 100 ml.
7. กระบอกตวงขนาด 10 ml.
8. ลูกปี่เย็บเชื้อ
9. เข็มเย็บเชื้อ
10. ปิเปต
11. ถุง stomacher
12. ถุงร้อน
13. ยางรัดของ
14. มีดและเบียงพลาสติก
15. ขวดแก้ว
16. ซ้อนตักสาร
17. กระจก slide
18. ชุดตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.2 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

เนื้อวัวสด จำหน่ายในตลาดเขตตลาดกระบี่ กรุงเทพมหานคร โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 8.00 นาฬิกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 เครื่องมือ

1. เครื่อง stomacher
2. ตู้บ่มอุณหภูมิ 37 °C
3. Water bath อุณหภูมิ 42 °C
4. ตู้อบลมร้อน
5. เตาอบไมโครเวฟ
6. เครื่องชั่งสาร
7. Vortex mixer
8. ตู้เย็น
9. Autoclave

3.1.4 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Trypticase soy broth (TSB) ปริมาตร 225 ml.
2. Tetrathionate broth (TTB) + Iodine solution
3. Rappapost Vassiliadis (RV)
4. Rambach (R) agar
5. Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD) agar
6. Modified Sami-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV)
7. Triple Sugar Iron (TSI) agar slant
8. Lysin-Indole-Motility (LIM) medium
9. Trypticase soy agar (TSA) หรือ Nutrient agar (NA) slant
10. Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67 และ A-I
11. 70% alcohol
12. 95 % alcohol
13. น้ำยาฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนและวิธีการ

3.2.1 การเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างเนื้อวัวสดที่จำหน่ายจากเขตลาดกระบัง

การเก็บตัวอย่าง สุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อวัวสดจากตลาดเขตลาดกระบังจำนวน 10 ตัวอย่าง จากแผงในเวลา 8.00-8.15 น. แล้วรีบนำกลับเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวัดค่า pH และตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาทันที

3.2.2 วิธีการตรวจเชื้อซาลโมเนลลา

ในการทดลองนี้ใช้วิธี standard conventional [SCM]

ขั้นตอนที่ 1 สุ่มตัวอย่างเนื้อวัวสด ตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ในถุง Stomacher

ขั้นตอนที่ 2 เติม TSB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 225 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB อย่างสม่ำเสมอ ด้วยเครื่อง Stomacher

ขั้นตอนที่ 3 นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ขั้นตอนนี้จะได้ Pre-enrichment medium ซึ่งจะเอื้ออำนวยให้ซาลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่มีจำนวนน้อยหรือเซลล์บาดเจ็บที่มีอยู่ในอาหารฟื้นตัวและเพิ่มปริมาณมากยิ่งขึ้น ทำให้โอกาสตรวจพบเชื้อมากขึ้น

ขั้นตอนที่ 4 เขย่า Pre – enrichment medium จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลวเพาะเชื้อ ซึ่งจะใช้อาหาร 2 ชนิดในการเพาะเชื้อ คือ

- 1) Tetrathionate broth (TTB) (10 มิลลิลิตร) เติม iodine solution 0.02 มิลลิลิตร เพื่อกำจัดแบคทีเรียแกรมบวก จากนั้นถ่ายเชื้อจาก Pre – enrichment medium ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง
- 2) Rappapost Vassiliadis (RV) (10 มิลลิลิตร) ถ่ายเชื้อจาก Pre – enrichment medium ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร นำไปบ่มใน Water bath อุณหภูมิ 42 °C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

ในขั้นตอนนี้จะเรียกว่า Selective enrichment ซึ่งขั้นตอนนี้สารยับยั้งที่มีใน Selective enrichment จะช่วยในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช่และแบคทีเรียอื่น ๆ ที่ไม่ใช่เชื้อซาลโมเนลลา แต่เชื้อซาลโมเนลลาที่แข็งแรงจะทนสารยับยั้งต่าง ๆ เหล่านี้และเพิ่มจำนวนมากขึ้นในอาหารเพาะเชื้อที่ใช้

ขั้นตอนที่ 5 นำเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment มาทำการเขี่ยเชื้อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร XLD agar และ Ram agar เนื่องจากการใช้อาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อสามารถแยกความแตกต่างระหว่างเชื้อซาลโมเนลลาและเชื้อแบคทีเรียลำไส้อื่นได้ (Differential medium) โดยอาศัยหลักการหมักย่อยน้ำตาล เช่น น้ำตาลแลคโตส ซึ่งเชื้อซาลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลได้ ยกเว้น *S. Arizona* ซึ่งจะหมักย่อยน้ำตาลได้บ้างหลังบ่มที่ 37 °C นานกว่า 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 6 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียลำไส้บางชนิดสามารถสร้างโคโลนีในลักษณะคล้ายซาลโมเนลลามกในอาหาร XLD agar อาจทำให้เลือกโคโลนีผิดได้ ซึ่งในขั้นตอนนี้จะตรวจสอบเพื่อหาแนวโน้มที่จะพบเชื้อซาลโมเนลลาในตัวอย่าง

โดยในอาหารแข็ง XLD จะทำการเลือกโคโลนีที่มีลักษณะกลมใสหรือมีจุดสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ตรงกลางโคโลนี ส่วนในอาหารแข็ง Ram agar จะเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีแดงสดเล็กน้อย และใน MSRV จะพิจารณาที่สีของ MSRV จะเปลี่ยนจากสีเขียวแกรมน้ำเงินใสเป็นสีขาวขุ่นรอบ ๆ จุดที่หยดเชื้อลงไป จากนั้น ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่แผ่ไปไกลที่สุดจากตัวอย่างที่หยด

นำลักษณะดังกล่าวในอาหาร XLD agar, Ram agar และ MSRV ถ่ายลงใน TSI agar และ LIM บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 7 การทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางซีโรโลยี โดยการหยด Agglutinating antiserum (polyvalent) A – 67 ลงบนสไลด์ที่สะอาด แล้วใช้ห่วงหรือเข็มเขี่ยเชื้อจาก TSI agar หรือ NA slants เกลี่ยเชื้อให้ทั่วหยดของ antiserum บนสไลด์ สังเกตการตกตะกอนของเชื้อในหยด antiserum ถ้าเป็นเชื้อซาลโมเนลลาจะเกิดการตกตะกอนของเชื้อขึ้น ถ้าไม่ใช่เชื้อจะละลายอยู่ในหยดของ antiserum ขาวขุ่นเหมือนน้ำมันทั้งหยด

ขั้นตอนที่ 8 ส่งตรวจวิเคราะห์ยืนยัน เพื่อหาชนิดเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาที่ WHO Salmonella – Shigella center กรมพยาธิชีววิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

3.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัวสด

ศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อวัวสดในขั้นตอน Selective enrichment และ Selective plating โดยพิจารณาจากปริมาณการตรวจพบและจำนวนเซโรวาร์ที่ตรวจพบ จากตัวอย่างทั้งหมด ถ้าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อใดที่มีปริมาณการตรวจพบและจำนวนเซโรวาร์สูง ถือได้ว่าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อชนิดนั้นมีความเหมาะสมในการตรวจเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อวัวสด



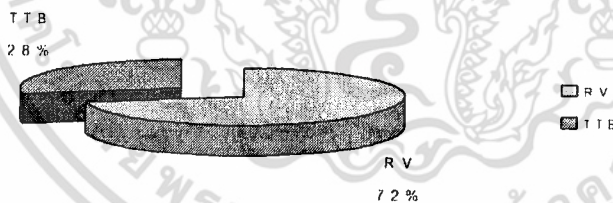
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ศึกษาการปนเปื้อนเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อโค จากตลาดเขตลาดกระบัง

จากการตรวจสอบหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อโคสดที่มีการจำหน่ายในตลาดกระบุงจำนวน 7 ร้าน 21 ตัวอย่าง พบว่า มีการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาอยู่ 20 ตัวอย่าง (95.24%) โดยที่ใช้ RV มีการตรวจเชื้อซาลโมเนลลาจำนวนตัวอย่างที่มากกว่า TTB ในขั้นตอน Selective enrichment แต่อย่างไรก็ตามการใช้ขั้นตอน Selective enrichment ตามวิธีของ standard conventional method (SCM) ที่แนะนำให้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 1 ชนิด จะทำให้ผลการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลามากขึ้นกว่าการใช้ชนิดเดียว จากการปนเปื้อนของเชื้อนั้นประการหนึ่งเนื่องมาจากสภาวะที่ไม่ดีพอในการฆ่าและเนื้อโค การขนส่ง ตลอดจนถึงการวางจำหน่ายที่ไม่มีการระมัดระวังหรือการป้องกัน และจากการตรวจสอบหาเชื้อซาลโมเนลลาในตัวอย่างเนื้อโค โดยการใช้วิธี standard conventional method (SCM) ให้ผลการตรวจสอบพบเชื้อซาลโมเนลลา 100 % เมื่อเปรียบเทียบการใช้ RV และ TTB เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงในขั้นตอน Selective enrichment ให้ผลการตรวจสอบจำนวนเชื้อจากทั้งหมดที่ทำการตรวจพบ ซึ่ง RV จะให้ผลการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในอาหารแข็งมากกว่า TTB ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แผนภูมิเปรียบเทียบการตรวจพบซาลโมเนลลาของอาหารในขั้นตอน Selective enrichment

นอกจากนี้ ยังพบว่า การตรวจหาเชื้อโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาโดยใช้ RV เป็น Selective enrichment พบมากกว่าการใช้ TTB (ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น **ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร** อิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนตัวอย่างแต่ละเซโรวาร์ที่ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อ RV และ TTB จำนวน 20 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	RV		TTB	
	พบชาลโมเนลลา (+) / ไม่พบ (-)	เซโรวาร์ที่พบ	พบชาลโมเนลลา (+) / ไม่พบ (-)	เซโรวาร์ที่พบ
1	+	S. weltevreden	-	-
2	+	S. weltevreden	-	-
3	+	S. weltevreden	-	-
4	+	S. Augustenbory	-	-
5	+	S.Brunei,	-	-
6	-	S. Weltevreden	+	S. Weltevreden
7	+	-	-	-
8	+	S. Brunei	-	-
9	+	S. Weltevreden	-	-
10	+	S. Weltevreden	-	-
11	+	S. Hadar	-	-
12	+	S.Mbandaka,S. Hadar	-	-
13	-	S. Rissen	+	S. Hadar
14	-	-	+	S. Bergen
15	+	-	+	S. Rissen
16	+	S. Weltevreden,S. Rissen	-	-
17	+	S. Rissen,S. Anatum	-	-
18	-	S. Rissen,S. Lexington	+	S.Rissen,S. Weltevreden
19	+	-	+	S. Rissen
20	-	S. Rissen	+	S. lexington
รวม	(15/21)			(7/21)
21	(71.43%)			(33.33%)
ตรวจพบจาก 2 วิธี 20 ตัวอย่าง 20/21 (95.24 %)				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในตารางที่ 3 เป็นการแสดงให้เห็นถึงชนิดของเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาที่ทำการตรวจสอบพบจากตัวอย่างเนื้อวัวสดจำนวน 7 ร้าน 21 ตัวอย่าง โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง RV และ TTB ซึ่งพบว่ามีจำนวนเซโรวาร์ในตัวอย่างแตกต่างกัน เมื่อนำเชื้อซาลโมเนลลาดังกล่าวไปทำการแยกเซโรวาร์ พบว่า อาหารทั้งสองชนิดนี้สามารถที่จะตรวจแยกชนิดของเชื้อซาลโมเนลลาออกมาได้รวมทั้งสิ้น 9 เซโรวาร์ โดยอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ RV สามารถตรวจแยกชนิดเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาออกมาได้จำนวน 8 เซโรวาร์ คิดเป็นร้อยละ 88.88 และอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ TTB สามารถตรวจแยกเชื้อซาลโมเนลลาออกมาได้จำนวน 5 เซโรวาร์ คิดเป็นร้อยละ 55.55 โดยที่เซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาที่สามารถแยกได้มากที่สุดในการศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ *Salmonella* Weltevreden , ร้อยละ 33.33 *Salmonella* Rissen ร้อยละ 25.93 และ *Salmonella* Lexington ร้อยละ 7.41 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ซึ่ง *Salmonella* Weltevreden ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อ RV มากที่สุด โดยรวมแล้วอาหารเลี้ยงเชื้อ RV จะสามารถตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาได้มากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ TTB คิดเป็น ร้อยละ 72 และร้อยละ 28 ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณ Serovar ของ Salmonella ที่พบในอาหารแต่ละชนิด

serovar	จำนวนตัวอย่างที่พบใน	
	RV	TTB
<i>Samonella</i> Weltevreden	7	2
<i>Samonella</i> Rissen	5	2
<i>Samonella</i> Hadar	2	1
<i>Samonella</i> Brunei	2	0
<i>Samonella</i> Lexington	1	1
<i>Samonella</i> Anatum	1	0
<i>Samonella</i> Augustenborg	1	0
<i>Samonella</i> Bergen	0	1
<i>Samonella</i> Mbandaka	1	0
รวมพบ 9 เซโรวาร (100%)	8/9 (88.89%)	5/9(55.56%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณ Serovar ของ Salmonella ทั้งหมด

serovar	จำนวนตัวอย่าง	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
<i>Samonella</i> Weltevreden	9	9/27 (33.33 %)
<i>Samonella</i> Rissen	7	7/27(25.93 %)
<i>Samonella</i> Hadar	3	3/27(11.12 %)
<i>Samonella</i> Brunei	2	2/27(7.41 %)
<i>Samonella</i> Lexington	2	2/27(7.41 %)
<i>Samonella</i> Anatum	1	1/27(3.70 %)
<i>Samonella</i> Augustenborg	1	1/27(3.70 %)
<i>Samonella</i> Bergen	1	1/27(3.70 %)
<i>Samonella</i> Mbandaka	1	1/27(3.70 %)
รวม 27 ตัวอย่าง		100 %

จากขั้นตอน Selective planting เพื่อแยกหาเชื้อซาลโมเนลลาหลังจากบ่มเพาะเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment โดยการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด Modified semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV), Rambach agar (Ram) และ Xylose-Lysine-Desoxycholate agar (XLD) (ตารางที่ 5) พบว่าการใช้ Ram สามารถใช้ได้ทั้ง RV และ TTB โดยให้ผลการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในขั้นตอน Selective enrichment ด้วย RV และ TTB ในปริมาณ 45 % และ 20% รองลงมาได้แก่ XLD และ MSRV ตามลำดับ

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบอาหารแข็ง 3 ชนิด ที่ตรวจพบซาลโมเนลลาจากตัวอย่างเนื้อวัว 7 ร้าน 21 ตัวอย่างจากการใช้ Rappaport Vassiliadis (RV) และ Tetrathionate broth (TTB) เป็น selective enrichment medium.

Medium	Selective enrichment medium.	
	RV	TTB
Modified semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV)	3/20 (15%)	2/20 (10%)
Rambach agar (Ram)	9/20 (45%)	4/20 (20%)
Xylose-Lysine-Desoxycholate agar (XLD)	8/20 (40%)	1/20 (5%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาจาก เนื้อโคสด

เนื่องจากว่าเนื้อโคที่มีการจำหน่ายตามแผงในเขตพื้นที่ลาดกระบัง มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จำนวนมากมายหลายชนิด ซึ่งขั้นตอนในการเพาะเชื้อหลังการ pre - enrichment จะมีส่วนช่วยในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาได้ จึงเป็นส่วนที่สำคัญเป็นอย่างยิ่ง (อดิสรและคณะ , 2543) โดยจากการศึกษาการเปรียบเทียบการใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ RV ที่มีการนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และ อาหารเลี้ยงเชื้อ TTB ที่นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส ในขั้นตอน selective enrichment พบว่าในการใช้ RV ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อโคสด พบว่า ในการบ่มอาหารไว้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นี้ ทำให้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่นที่มีการปนเปื้อนในเนื้อโคไม่สามารถเจริญแข่งกับเชื้อซาลโมเนลลาได้ จึงทำให้เชื้อซาลโมเนลลามีการเจริญได้ดี ทำให้เมื่อตรวจสอบโดยการใช้ RV จะตรวจสอบพบปริมาณเชื้อซาลโมเนลลาได้มากกว่า TTB (ภาพที่ 2) แต่ RV มีข้อเสียอยู่ที่ว่าซาลโมเนลลาบางเซโรวาร์ที่ไม่แข็งแรงไม่สามารถที่จะเจริญได้ในอุณหภูมินี้ ทำให้ RV พบความหลากหลายของเซโรวาร์ของซาลโมเนลลาได้น้อย

เนื่องจากในการศึกษาในครั้งนี้ใช้อาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อซาลโมเนลลา 3 ชนิดคือ Ram agar , XLD agar และ MSRV (ตารางที่ 5) ในการใช้ RV ในขั้นตอน selective enrichment ควบคู่กับการใช้อาหารแข็ง Ram agar จะให้ผลการตรวจสอบพบเชื้อซาลโมเนลลาได้มากกว่าอาหารแข็งชนิดอื่นๆที่ได้กล่าวมา สาเหตุที่ Ram agar ให้ผลการตรวจพบเชื้อได้มากกว่าอาหาร XLD agar และ MSRV ในด้านปริมาณตัวอย่างเนื่องจากว่า อาหารเพาะแยกเชื้อดังกล่าวให้ลักษณะโคโลนีที่เด่นกว่าอาหารเพาะแยกเชื้อ XLD agar และ MSRV ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่าเชื้อซาลโมเนลลาที่อยู่ในกลุ่ม non-typhi Salmonella ส่วนใหญ่จะสามารถหมักย่อย Propylene glycol ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจนเกิดกรดชนิดต่างๆขึ้นมาได้ ปริมาณกรดที่เพิ่มมากขึ้นนั้นจะไปทำปฏิกิริยากับ Neutral red ซึ่งใช้เป็นสารบ่งชี้ถึงความเข้มข้นกรดต่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้โคโลนีของเชื้อซาลโมเนลลาที่เจริญในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีสีแดงสด ในขณะที่อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ XLD agar อาศัยหลักการแยกเชื้อระหว่างกลุ่ม lactose fermenter และ non lactose fermenter เท่านั้น กล่าวคือ เชื้อกลุ่ม lactose fermenter เช่น E. coli, Coliform นั้นจะมีเอนไซม์ในการหมักย่อยน้ำตาลแลคโตส ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ต่างๆ และปริมาณความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับสารที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงความเข้มข้นกรดต่าง เช่น phenol red ใน XLD agar และเกิดสีเหลืองบน XLD agar ลักษณะโคโลนีที่เกิดจะมีลักษณะใสและมีการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้บนอาหารชนิดนี้ ดังนั้นการแยกโคโลนีที่ได้จากอาหารชนิดนี้เพื่อทำการทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมีจึงมีโอกาสผิดพลาดได้เมื่อเปรียบเทียบกับ Ram agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ MSRV สามารถใช้ได้ดีทั้ง RV และ TTB เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้คือ 42 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่นซึ่งปนเปื้อนอยู่ในเนื้อ โคสด ไม่สามารถที่จะเจริญได้เหมาะสมสำหรับอาหารที่มีการปนเปื้อนสูง และในการใช้ TTB ควบคู่กับการใช้ MSRV สามารถใช้ชนิดของเซโรวาร์มากกว่า

อาหารแข็งอีก 2 ชนิด เนื่องจากการบ่มอาหารแข็ง 2 ชนิดจะบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งจะทำให้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่นซึ่งปนเปื้อนอยู่ในเนื้อวัวสามารถเจริญได้ แต่ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ของการบ่ม MSRV การแข่งขันมีน้อยทำให้บางเซโรวาร์ที่ไม่สามารถตรวจพบในอาหารแข็ง 2 ชนิด สามารถตรวจพบใน MSRV และใน MSRV มีส่วนผสมของ magnesium chloride และ malachite green ที่เป็นส่วนที่ทำให้แบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ ไม่สามารถเจริญได้ (อรุณและนพรัตน์, 2542)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อวัวสดที่จำหน่ายในเขตตลาดกระบ้งจำนวน 7 ร้าน 21 ตัวอย่าง พบว่า มีการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาอยู่สูง คือ พบว่าเชื้อซาลโมเนลลาในตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ 7 ร้าน 21 ตัวอย่าง พบเชื้อซาลโมเนลลา 20 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 95.24 โดยเชโรวาร์ที่มีการตรวจพบทั้งหมด 9 เชโรวาร์ และเซลโรวาร์ที่พบมากที่สุด 3 ลำดับแรกคือ *Salmonella* Weltevreden คิดเป็นร้อยละ 33.33 , *Salmonella* Rissen คิดเป็นร้อยละ 25.93 และ *Salmonella* Lexington คิดเป็นร้อยละ 11.12 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเนื้อวัวที่มีการจำหน่ายในตลาดกระบ้งค่อนข้างมีคุณภาพที่ต่ำ เพราะมีการปนเปื้อนของเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคกับคนได้ ซึ่งสาเหตุเกิดจากหลายประการ เช่น โรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน การจัดการในฟาร์ม การขนส่ง รวมไปถึงจนถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีของผู้จัดจำหน่าย ดังนั้นเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลา จึงต้องจำเป็นที่จะต้องมีการปรับปรุงแก้ไข โดยเริ่มตั้งแต่การจัดการในฟาร์มเป็นต้นมา รวมไปถึงจนถึงการขนส่ง การฆ่าชำแหละ และการจัดจำหน่าย เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคแก่คนและเป็นการป้องกันการเกิดโรคด้วย ประกอบกับผู้ที่บริโภคต้องมีสุขลักษณะที่ดีในการบริโภคเนื้อวัวด้วย ควรหลีกเลี่ยงการบริโภคเนื้อแบบดิบๆ จะต้องมีการให้เนื้อผ่านความร้อนก่อนทุกครั้งก่อนที่นำมาบริโภค เพื่อความปลอดภัยในการที่จะก่อให้เกิดโรคจากซาลโมเนลลาได้

จากการศึกษาถึงการเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลา ซึ่งใช้ TTB และ RV เป็นอาหารในขั้นตอน selective enrichment ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อวัวสด 7 ร้าน 21 ตัวอย่าง ซึ่งพบว่า RV ให้ผลปริมาณการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในตัวอย่างมากกว่าการใช้ TTB(72 %) และ (28 %) ตามลำดับ และการตรวจพบชนิดของเชโรวาร์นั้นการใช้ RV ยังสามารถตรวจพบเชโรวาร์ที่มากกว่าการใช้ TTB

การใช้อาหารแข็งเพาะแยกเชื้อในขั้นตอน Selection plating การใช้ RV ควบคู่กับการใช้ Ram agar สามารถให้ผลการตรวจพบเชื้อในทุกตัวอย่าง และให้ผลปริมาณการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลามากกว่า XLD agar และ MSRV ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามการใช้ selective enrichment และ selective plating ในการเพาะเลี้ยงเชื้อควบคู่กันมากกว่าหนึ่งชนิด จะมีโอกาสการตรวจพบชนิดเชโรวาร์มากกว่าการใช้อาหารเพาะเชื้อเพียงชนิดเดียว

5.2 ข้อเสนอนะ

1. ในขั้นตอนการเจียเพาะเชื้อ ผิวหน้าของอาหารแข็งต้องแห้งเพราะถ้าผิวหน้าไม่แห้งจะทำให้โคโลนีที่ได้ไม่เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ
2. ในขั้นตอนการแยกเชื้อจากอาหารแข็งเพื่อทำการทดสอบยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมี ต้องเลือกในส่วนที่เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ เพราะอาจจะมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่ใช่เชื้อซาลโมเนลลา และต้องสังเกตลักษณะเฉพาะโคโลนีของเชื้อซาลโมเนลลาให้ดี
3. ในขั้นตอนการเจียเชื้อซาลโมเนลลาใน Nutrient agar (NA) slants ต้องมีความระมัดระวังเป็นพิเศษไม่ให้มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ เมื่อจะทำการตรวจหาชนิดของเซโรวาร์ทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กองระบาดวิทยา. 2544. รายงานการเฝ้าระวังโรคระบาด : 151 — 152.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2542. ความสำคัญของการสุ่มตัวอย่างภาชนะและอุปกรณ์ประกอบอาหารเพื่อตรวจหาเชื้อโรคอุจจาระร่วง. รายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ : 92.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. รายงานบริการตรวจยืนยันเชื้อ *Salmonella*. รายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ : 73 — 75.
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. อาหารพร้อมปรุงในซูเปอร์มาเก็ต ปลอดภัยจากเชื้อโรคอาหารเป็นพิษจริงหรือไม่?. รายงานประจำปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ : 91.
- เกรียงศักดิ์ สายชนูและอรุณ บำรุงตระกูลนนท์. 2541. การประมาณอุบัติการณ์ (จริง?) ของโรคติดเชื้อซาลโมเนลลาชนิดที่ไม่มีเชื้อไทฟอยด์ในประเทศไทย. การสัมมนาระดับชาติเพื่อกำหนดแนวทางแก้ไขปัญหา Non — Typhi Salmonellosis ในประเทศไทย. ครั้งที่ 24, 2 — 25 ธันวาคม 2541: 1 — 15.
- ทองพันธ์ สัจจะปาละ, อรุณี ศรีพรหม, ภัชราภรณ์ ศรีสมวงษ์, ลดาวัลย์ จึงสมานุกุล และ พงศ์เทพ วิไลพันธุ์. 2530. การศึกษาการปนเปื้อน ของเชื้อ *Salmonella* ในประเทศผลิตภัณฑอาหารแช่เยือกแข็ง. Proceeding การสัมมนาระบาดวิทยาแห่งชาติ. ครั้งที่ 15, 17 — 19 สิงหาคม 2530.
- ประภาวดี ดิษยาธิคม, สมใจ ไผ่สมบูรณ์, กรองแก้ว สุภวัฒน์ และ มยุรา กุสุมภ์. 2539. การกลับมาของเชื้อ *Salmonella Paratyphi A* ในปี พ.ศ. 2539. Proceeding การสัมมนาระบาดวิทยา ครั้งที่ 14, 7-9 สิงหาคม 2539.
- พวงพร โชติกโกกร. 2525. จุลชีววิทยาของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์. จุลชีววิทยาของอาหารและนม. ภาควิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยรามคำแหง: 135-146.
- รัตนสุดา พันธุ์อุไร, อรุณ บำรุงตระกูลนนท์ และ จุฑามาศวิศวะเจริญ. 2537. เรื่องความสัมพันธ์ระหว่างเซโรวาร์ของซาลโมเนลลาที่พบในอาหารและคนในประเทศไทย พ.ศ. 2534 — 2536 สาธารณสุขศาสตร์. ปีที่ 24 ฉบับที่ 3, กันยายน 2537 : 7 — 15.
- วันทนา อ่อนภิรมย์, เพิ่มผล สัตย์พันธ์, นิพนธ์ อินทร์วัฒนา และ กรชนก ขยันคิด. 2544. การสำรวจการปนเปื้อนของ Enteric Bacteria และ *Saphylococcus aureus*. ในสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ของจังหวัดราชบุรี. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (3): 206 — 210
- สุมาลี บุญมา, อรุณ บำรุงตระกูลนนท์, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และนพรัตน์ ฆมานริน. 2543. การศึกษาซีโรไทป์ที่สำคัญ ของซาลโมเนลลาที่พบในอาหารและคนในประเทศไทย พ.ศ. 2534 — 2536. Journal of Veterinary Medical Sciences. Vol. 60 (7): 877 — 880.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สุวรรณ เทพสุนทร. 2543. รายงานการเฝ้าระวังโรคระบาด. กองระบาดวิทยา : 73 — 75.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2538 . บทปฏิบัติการการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหาร. จุลชีววิทยาอาหาร 2 : 33 — 37.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ และนภา โล่ห์ทอง. 2534. อาหารเพาะเชื้อสำหรับพรีเอนริชชัลโมเนลลาในเนนมและอุทกภูมิที่เหมาะสมต่อการบ่มเชื้อ. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 33 (1) : 1-12.
- อรุณ บำงตระกูลนนท์ และนพรัตน์ หมานริม. 2542. การเปรียบเทียบ pre — enrichment 4 ชนิด ในการตรวจหาซั่มโมเนลลาจากอาหาร โดยวิธี MSRV. อาหาร 23 (3) : 193 — 201.
- อรุณ บำงตระกูลนนท์, สุมาลี บุญมาล นพรัตน์ หมานริม, สุพล เรียงยศลือชากุล, จตุรงค์ สุตันทวีบูลย์ และมยุรา กุสุมภ์. 2537. Study of Pig Salmonellosis in Thailand . Proceeding of the 13th International Pig Veterinary Society congress, June 1994 : 26 — 30.
- อรุณ บำงตระกูลนนท์, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ สุมาลี บุญมา. 2542. การสำรวจ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์ เนื้อสัตว์ที่จำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 37 : 412 — 419.
- Merck. 1994. Microbiology Manual. E. Merck, Darmstadt, Germany.
- Rambach. A. 1990. New Plate Medium for Facilitated Differentiation of *Salmonella* spp. From *Proteus* spp. And Other Enteric Bacteria
- “Salmonella”. (Online). เข้าถึงได้จาก <http://gsbs.utmb.edu/microbook/cho21.htm>
- “Salmonella”. (Online). เข้าถึงได้จาก <http://thaiabonline.com/secsifoodpoison.htm>.
- “Salmonella”. (Online). เข้าถึงได้จาก <http://www.cdc.gov/ncezid/db/phlisdta/salmonella.htm>.
- “Salmonellosis”. (Online). เข้าถึงได้จาก. <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch021.htm>.
- “Salmonellosis”. (Online). เข้าถึงได้จาก <http://anamai.go.th>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

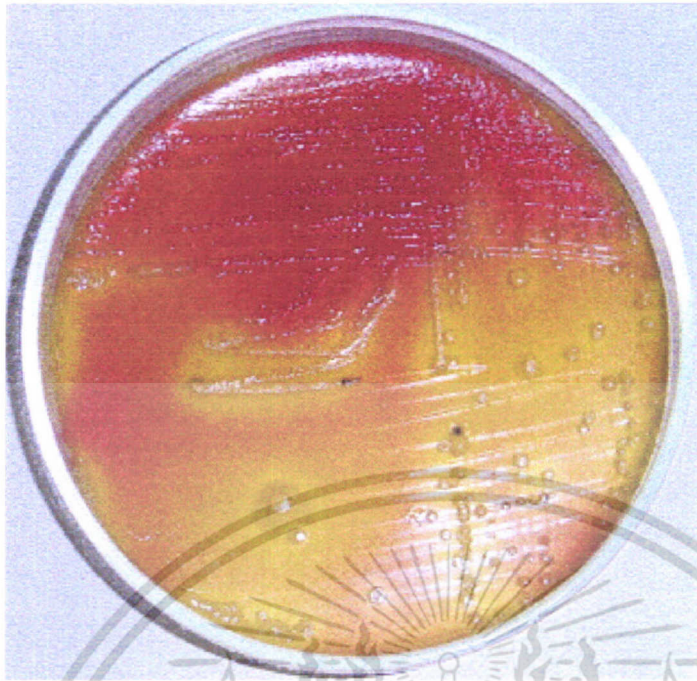


ภาคผนวก ก. 1 : แผงที่จำหน่ายเนื้อโคสดที่จำหน่ายในเขตลาดกระบัง

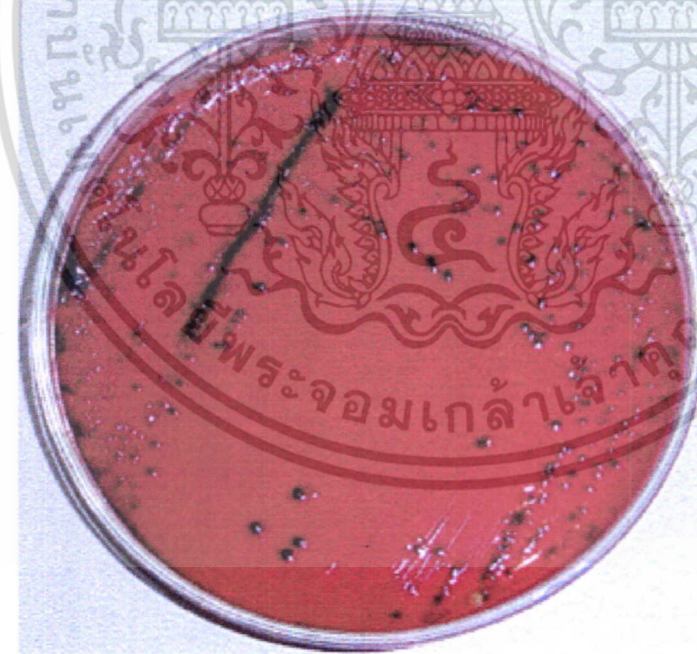


ภาคผนวก ก. 2 : แผงที่จำหน่ายเนื้อโคสดที่จำหน่ายในเขตลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

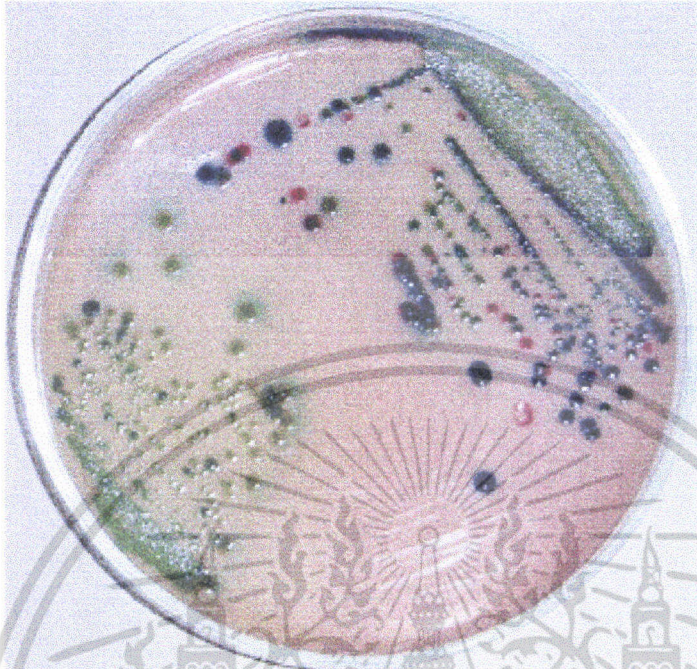


ภาพผนวก ก. 3 : แสดงโคโลนีที่นำส่งสับนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar ที่เขี่ยเชื้อจาก TTB



ภาพผนวก ก. 4 : แสดงโคโลนีที่นำส่งสับนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar ที่เขี่ยเชื้อจาก RV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

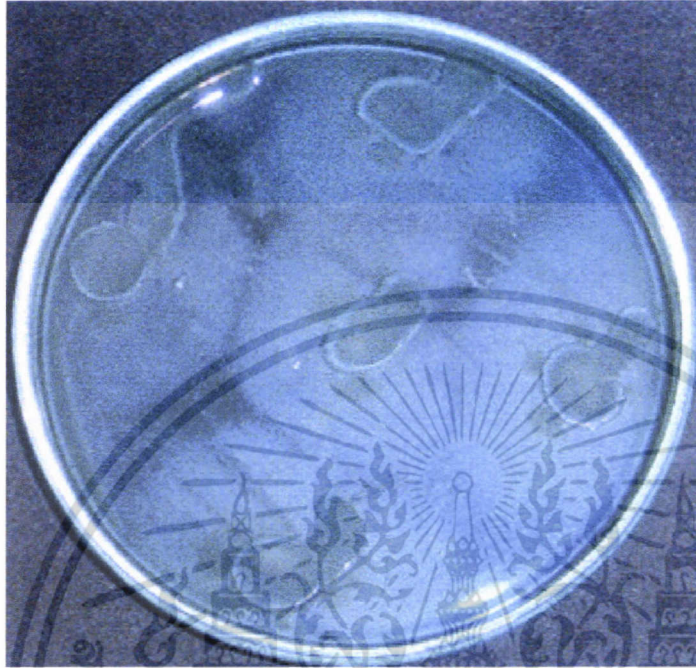


ภาคผนวก ก. 5 : แสดงโคโลนีที่นำส่งสัณบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Ram agar ที่เขียนชื่อจาก TTB



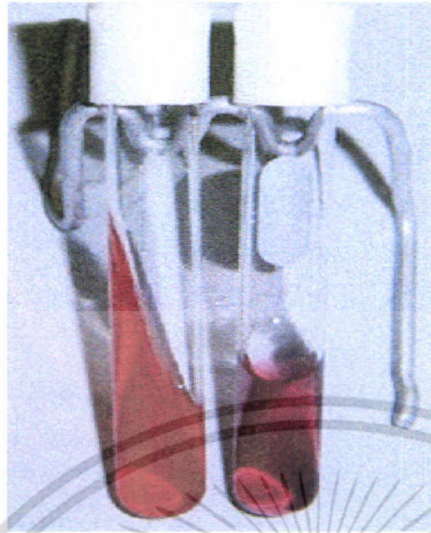
ภาคผนวก ก. 6 : แสดงโคโลนีที่นำส่งสัณบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Ram agar ที่เขียนชื่อจาก RV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวก ก. 7 : แสดงลักษณะที่นำส่งสับนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSRV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก. 8 : อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ LIM



ภาคผนวก ก. 9 : ลักษณะเชื้อซาลโมเนลลา
เชื้อในอาหาร TSI และ LIM

ภาคผนวก ก. 10 : ลักษณะที่ไม่ใช่
ซาลโมเนลลาในอาหาร TSI และ LIM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการวิเคราะห์เชื้อซาลโมเนลลาจากเนื้อโคสดในเขตลาดกระบัง

ลำดับที่	แผงเนื้อวัวที่	Selective enrichmant		Group	Serovar
		TTB	RV		
1	ก		MSRV	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
2	ก		XLD	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
3	ก		XLD	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
4	ก		XLD	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
5	ก		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
6	ก		Ram	C	<i>Salmonella Weltevreden</i>
7	ก		Ram	C	<i>Salmonella Weltevreden</i>
8	ข		XLD	C	<i>Salmonella Augustenborg</i>
9	ข		XLD	C	<i>Salmonella Augustenborg</i>
10	ค	MSRV		C	<i>Salmonella Rissen</i>
11	ค		Ram	C	<i>Salmonella Weltevreden</i>
12	ค		Ram	C	<i>Salmonella Brunei</i>
13	ค		Ram	C	<i>Salmonella Weltevreden</i>
14	ค		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
15	ค		XLD	E	<i>Salmonella Brunei</i>
16	ง	MSRV		C	<i>Salmonella Hadar</i>
17	ง		MSRV	C	<i>Salmonella Rissen</i>
18	ง	Ram		A-67	<i>Salmonella Bergen</i>
19	ง	Ram		E	<i>Salmonella Bergen</i>
20	ง	Ram		E	<i>Salmonella Bergen</i>
21	ง		Ram	C	<i>Salmonella Hadar</i>
22	ง		Ram	C	<i>Salmonella Hadar</i>
23	ง		Ram	C	<i>Salmonella Hadar</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับที่	แฟงเนื้อวัวที่	Selective enrichmant		Group	Serovar
		TTB	RV		
24	ง		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
25	ง		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
26	ง		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
27	ง		XLD	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
28	ง		XLD	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
29	ง		XLD	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
30	ง		XLD	C	<i>Salmonella Hadar</i>
31	ง		XLD	C	<i>Salmonella Mbandaka</i>
32	จ	MSRV		C	<i>Salmonella Rissen</i>
33	จ		MSRV	C	<i>Salmonella Rissen</i>
34	จ		MSRV	C	<i>Salmonella Rissen</i>
35	จ	Ram		E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
36	จ	Ram		E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
37	จ	Ram		C	<i>Salmonella Weltevreden</i>
38	จ		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
39	จ		Ram	E	<i>Salmonella Lexington</i>
40	จ		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
41	จ		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
42	จ		Ram	E	<i>Salmonella Weltevreden</i>
43	จ		Ram	C	<i>Salmonella Rissen</i>
44	จ		Ram	C	<i>Salmonella Rissen</i>
45	จ		Ram	C	<i>Salmonella Rissen</i>
46	จ		XLD	E	<i>Salmonella Anatum</i>
47	จ		XLD	C	<i>Salmonella Rissen</i>
48	จ		XLD	C	<i>Salmonella Rissen</i>
49	จ		XLD	C	<i>Salmonella Rissen</i>
50	ช	Ram		E	<i>Salmonella Lexington</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับที่	แผงเนื้อวัวที่	Selective enrichmant		Group	Serovar
		TTB	RV		
51	ช	Ram		E	Salmonella Lexington

เป็นการแสดงให้เห็นถึงชนิดของเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาที่ทำการตรวจสอบพบจากตัวอย่างเนื้อวัวสดจำนวน 7 ร้าน 21 ตัวอย่าง โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง RV และ TTB ซึ่งพบว่ามีจำนวนเซโรวาร์ในตัวอย่างแตกต่างกัน เมื่อนำเชื้อซาลโมเนลลาดังกล่าวไปทำการแยกเซโรวาร์ พบว่าอาหารทั้งสองชนิดนี้สามารถที่จะตรวจแยกชนิดของเชื้อซาลโมเนลลาออกมาได้รวมทั้งสิ้น 9 เซโรวาร์ โดยที่เซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาที่สามารถแยกได้มากที่สุดในการศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ *Salmonella Weltevreden* คิดเป็น ร้อยละ 33.33 , *Salmonella Rissen* คิดเป็นร้อยละ 25.93 และ *Salmonella Lexington* คิดเป็นร้อยละ 11.12 ตามลำดับ ซึ่ง *Salmonella Weltevreden* ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อ RV มากที่สุด โดยรวมแล้วอาหารเลี้ยงเชื้อ RV จะสามารถตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาได้มากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ TTB คิดเป็น ร้อยละ 72 และ 28 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเกศณี วงษ์ปัดตะ เกิดเมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม 2525 จังหวัดอุดรธานี สำเร็จ การศึกษาประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง เมื่อ 2544 จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยา เขตปทุมธานี และจบการศึกษาจากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรม เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรีหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

นางสาวประภาพรณ ปุกแก้ว เกิดเมื่อวันที่ 26 มกราคม 2525 จังหวัดสงขลา สำเร็จ การศึกษาประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง เมื่อ 2544 จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยา เขตนครศรีธรรมราช และจบการศึกษาจากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรม เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญา ตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

นางสาวมณีนันท์ สิทธิโห เกิดเมื่อวันที่ 25 มกราคม 2524 จังหวัดลำปาง สำเร็จ การศึกษาประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง เมื่อ 2544 จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยา เขตปทุมธานี และจบการศึกษาจากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรม เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรีหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)