

บทคัดย่อ

177759

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ตอน ตอนที่ 1 การศึกษาปัจจัยเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อยในกระบวนการฆ่าและตัดแต่งสุกร และตอนที่ 2 การศึกษาปัจจัยเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในกระบวนการฆ่าและตัดแต่งสุกร ทั้งนี้สุกรที่เข้าโรงฆ่ามาจากฟาร์มที่ตั้งอยู่ใน 4 จังหวัด ได้แก่ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง และจันทบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยและสุกรจากฟาร์มดังกล่าวถูกส่งเข้าโรงฆ่ามาตรฐานเพื่อการส่งออกซึ่งตั้งอยู่ในพื้นที่ปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยเช่นเดียวกัน โดยการศึกษาปัจจัยเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อยในกระบวนการฆ่าและตัดแต่งสุกร ได้ทำการศึกษาใน 3 ช่วงระยะเวลาของปี ช่วงระยะที่ 1 (กรกฎาคม-กันยายน 2547) ช่วงที่ 2 (พฤศจิกายน 2547-กุมภาพันธ์ 2548) และช่วงระยะที่ 3 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2548) โดยสุ่มตัวอย่างจากสุกร 9 ตัวต่อฟาร์ม และทำการเก็บข้อมูลจากฟาร์มในแต่ละพื้นที่จังหวัด 3 ครั้งในแต่ละช่วงเวลาของปี รวมจำนวนจากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ตลอด 3 ช่วงระยะเวลาของปี 324 ตัว แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนย่อย คือ 1) การสำรวจและใช้แบบสัมภาษณ์เพื่อศึกษาปัจจัยที่อาจปนเปื้อนในกระบวนการขนย้ายสุกรจากฟาร์มมายังโรงฆ่า 2) การสังเกตอาการและอาการของโรคปากและเท้าเปื่อยของสุกรที่คอกพักก่อนกระบวนการฆ่า 3) การตรวจสอบ antibody ต่อ non-structure protein ในเลือดโดยวิธี ELISA ด้วยชุดตรวจจากบริษัท Intervet และ UBI และการตรวจหาเชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อยในเนื้อเยื่อโดยวิธี Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) สุกรในคอกพักก่อนเข้าโรงฆ่ามีอาการ ข้อเท้าเปื่อย ข้อท้าววม สุกรเดินขาจะเพลก พบขอบแผลขีดที่ขอบเล็บเท้า บางตัวพบอาการคุ่มใสลักษณะคล้ายฝีที่ข้อเท้า อาการผิดปกติดังกล่าวพบมากที่สุดในช่วงระยะที่ 3 คิดเป็น 33.3% ในขณะที่ช่วงระยะที่ 2 พบ 9.41% และช่วงระยะที่ 1 พบ 11.1% เมื่อนำเลือดมาตรวจแอนติบอดีต่อ non-structure protein ได้ผลเป็นลบ (negative) คือไม่พบการสร้างแอนติบอดีต่อ non-structure protein ในเลือดของสุกรที่ทำการตรวจทั้ง 3 ช่วงระยะเวลาของปี ส่วนผลของการตรวจเชื้อ FMD ในตัวอย่างที่เก็บในกระบวนการฆ่าพบผลการตรวจสอบเชื้อเป็นบวก (positive) ในช่วงระยะที่ 1 เพียงครั้งเดียวจากการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 3 จากตัวอย่างของ esophageal fluid จำนวน 6 ตัวอย่างจากทั้งหมด 8 ตัวอย่าง และพบในตัวอย่างเลือด 1 ตัวอย่างและในตัวอย่างกล้ามเนื้อสะโพกระหว่างตัดแต่ง 1 ตัวอย่าง ในขณะที่ตัวอย่างจากการ swab รดขนส่งสุกรในแต่ละเที่ยวมีผลเป็นลบ (negative) เหมือนกันหมด

การศึกษากาปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในกระบวนการฆ่าและการตัดแต่งสุกร จุลินทรีย์ที่สำคัญ ได้แก่ *Salmonella* spp., *Escherichia coli* และจุลินทรีย์ทั้งหมดในกระบวนการฆ่าและตัดแต่งสุกรของโรงฆ่าสุกรที่ได้มาตรฐานเพื่อการส่งออก โดยการศึกษาสุ่มตัวอย่างจากสุกรที่มาจากเขต 2 ใน 4 จังหวัด เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1 ในช่วงระยะเวลาที่ 2 ของปี สำหรับการตรวจวิเคราะห์ *Salmonella* สุ่ม

สุกร 3 ตัว/ครั้ง รวมทั้งสิ้น 14 ครั้ง ส่วน *E. coli* สุ่มสุกร 3 ตัว/ครั้ง รวมทั้งสิ้น 12 ครั้ง และสำหรับการตรวจวิเคราะห์ Total Bacterial Count สุ่มสุกร 5 ตัว/ครั้ง รวมทั้งสิ้น 14 ครั้ง โดยทำการเก็บตัวอย่างสุราห์ละ 1 ครั้ง แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 3 ขั้นตอน คือ 1.1) ขั้นตอนก่อนกระบวนการฆ่า เก็บตัวอย่างจากรถขนส่งสุกรมีชีวิต คอกสุกรก่อนและหลังจากสุกรเข้าพัก เป็นพื้นที่ละ 100 ตารางเซนติเมตร และน้ำปนในคอกพักสุกร 1.2) ขั้นตอนในกระบวนการฆ่า เก็บตัวอย่างจากน้ำในถังลอกซากก่อนและหลังการลอกซากสุกร ซากสุกรก่อนถูกลวกและหลังการลวก ซากสุกรผ่าซีก ซากสุกรก่อนแช่เย็น เป็นพื้นที่ละ 100 ตารางเซนติเมตร แผลแทงคอเป็นพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างเลือดสุกร และน้ำปนซาก content ในลำไส้ใหญ่ และ 1.3) ขั้นตอนภายหลังกระบวนการฆ่าสุกร เก็บตัวอย่างจากซากสุกรหลังการแช่เย็น ที่ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร swab มีด มือพนักงาน และโต๊ะก่อนและหลังการใช้ตัดแต่งซาก เป็นพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร รวมทั้งชิ้นเนื้อภายหลังการตัดแต่ง เป็นพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างภายใน 12 ชั่วโมง 1) การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. โดยวิธี MPN (FDA-BAM, 1992) และยืนยันผลในระดับ serovar โดยการส่งตัวอย่างที่ให้ผลบวกบน TSI ไปตรวจวิเคราะห์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์- การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2) การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *E. coli* โดยวิธี MPN (FDA-BAM, 1992) 3) การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี pour plate (FDA-BAM, 1992)

ผลการการศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในกระบวนการฆ่าและการตัดแต่งสุกร พบว่า ในขั้นตอนก่อนเข้าสู่กระบวนการฆ่าเป็นแหล่งการปนเปื้อนสำคัญของเชื้อ *Salmonella* spp. มากยังซาก ได้แก่ รถบรรทุกสัตว์จากฟาร์มมายังโรงฆ่า และคอกพักสัตว์ โดยพบการปนเปื้อน 92.31 และ 85.71% ตามลำดับ มีปริมาณเชื้อตั้งแต่ 3 ถึงมากกว่า 1100 MPN/100 ตารางเซนติเมตร ทุกครั้งภายหลังการขน เมื่อสุกรเข้าสู่กระบวนการฆ่าพบว่าซากก่อนการลวกและเผาขนมีการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. ถึง 73.81 % และภายหลังการลอกซากการปนเปื้อนลดลง เหลือเพียง 14.28 % ลดการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. แผลแทงคอก็พบการปนเปื้อนถึง 42.88 % และพบการปนเปื้อนของซากภายหลังการลอก 14.28 % และการปนเปื้อนนี้ยังคงคิดไปถึงซากภายหลังการผ่าซีกและซากก่อนการแช่เย็น ซึ่งพบการปนเปื้อน 16.67 และ 9.42 % ตามลำดับ มีปริมาณเชื้อ 3-27 MPN/100 ตารางเซนติเมตร และตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในน้ำปนซาก ในขั้นตอนการตัดแต่งพบการปนเปื้อนบนมีดและโต๊ะก่อนการตัดแต่ง 7.14 %

Serovar ของเชื้อ *Salmonella* ที่พบมากที่สุด คือ *S. Rissen* และ *S. Stanley* นอกจากนี้ยังพบ *S. Bovis* ในมูลของสุกรจากฟาร์มที่มาจากจังหวัดระยอง ซึ่งมีการเลี้ยงโคมาก

ปัจจัยการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในกระบวนการก่อนการฆ่าก็เช่นเดียวกัน คือรถขนส่งและคอกพักสัตว์ ซึ่งพบปริมาณการปนเปื้อนเฉลี่ยสูงกว่า 1100 MPN/100 ตารางเซนติเมตร ในขณะที่น้ำในคอกพักมีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยมาก คือ <3MPN/มิลลิลิตร ในระหว่างกระบวนการฆ่าและชำแหละพบปริมาณเฉลี่ยของการปนเปื้อนบนซากก่อนการลอกสูงถึง 778 MPN/100 ตารางเซนติเมตร ในขณะที่ซาก

ภายหลังการลวก ซากภายหลังการผ่าซีก และซากก่อนการแช่เย็น มีการปนเปื้อนเชื้อเพียง 9, 8 และ 3 MPN/100 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ และที่แผลแทงคอกมีปริมาณเชื้อ 6 MPN/25 ตารางเซนติเมตร และไม่พบเชื้อในน้ำลวกซากทั้งก่อนและหลังการลวก รวมทั้งน้ำที่ใช้พ่นล้างซาก ในกระบวนการตัดแต่งชิ้นเนื้อพบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* บนชิ้นเนื้อภายหลังการตัดแต่งเพียง 3 MPN/100 ตารางเซนติเมตร และตรวจไม่พบเชื้อภายหลังการเก็บชิ้นเนื้อที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับปัจจัยการปนเปื้อนจากพนักงานตัดแต่ง มีคและโต๊ะทั้งก่อนและหลังการตัดแต่ง พบเชือบนโต๊ะภายหลังการตัดแต่งเพียง 4 MPN/100 ตารางเซนติเมตรเท่านั้น

สำหรับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่ารถขนส่งมีปริมาณเชื้อ 1.4×10^6 โคโลนี/ตารางเซนติเมตร คอกพักก่อนและหลังสุกรเข้าพักพบ 6.4×10^4 และ 2.3×10^5 โคโลนี/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ และน้ำคอกพัก 5.5×10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร สำหรับซากสุกรก่อนการลวก แผลแทงคอ ซากภายหลังการลวก และซากหลังผ่าซีก มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.2×10^5 , 3.4×10^4 และ 3.1×10^4 และ 1.2×10^2 โคโลนี/ตารางเซนติเมตรตามลำดับ โดยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงตามขั้นตอนของกระบวนการฆ่าและชำแหละ และพบปริมาณเชือบนซากก่อนการแช่เย็นเพียง 60 โคโลนี/ตารางเซนติเมตร แต่ภายหลังการแช่เย็นซากในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบปริมาณเชือบนซากเพิ่มขึ้นเป็น 2.3×10^2 โคโลนี/ตารางเซนติเมตร และปริมาณเชื้อในชิ้นเนื้อภายหลังการตัดแต่งมีค่าเฉลี่ย 1.6×10^5 โคโลนี/กรัม ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเนื้อสุกรของกรมปศุสัตว์

Abstract

177759

Study on risk factors of foot and mouth disease virus (FMDV) and pathogen contamination on pork in slaughtering and cutting process was performed into two parts; part I was FMDV contamination and part II was pathogen contamination. Growing-finishing pigs were selected from farms in 4 provinces; Chachoengsao, Chonburi, Rayong and Chanthaburi, where were in FMDV free zone, and killed in export-standardized slaughterhouse in Chachoengsao.

The experiments in part I were conducted throughout the year in three periods; first period (Jul.-Sep. 2004), second period (Nov. 2004-Feb 2005) and third period (May-Aug. 2005). Three farms in individual province were chosen at each period. While, nine pigs were randomized for samples collection each time with total number of pigs at 324. Questionnaire and interview the drivers from farm to slaughterhouse were done, in order to evaluate the risk factors of FMDV contamination during transportation. Observation of FMD-like symptoms on pigs before being slaughtered, revealed erosion and swollen of feet, lameness, with blanching of the skin around coronary bands and vesicular lesions (blisters) on the ankles. The percentage of pigs with FMD-like symptoms found, was highest in third period at 33.3%, whereas second period at 9.41% and third period at 11.1%. There was no antibody against FMDV non-structure protein detected neither by ELISA kit from Intervet nor UBI company. Moreover, detection of FMDV using Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) from samples collected during slaughtering process, showed positive result only once at the third sample collections from the first period. FMDV was detected in six out of eight esophageal fluid samples, one in blood sample and another in muscle sample at cutting table. Whereas, swab samples from each pig-loaded truck gave all negative results.

Study of pathogen contamination on pork in slaughtering and cutting process was demonstrated only one period (Nov. 2004-Feb. 2005) on *Salmonella* spp. , *Escherichia coli* and total bacterial count. Samples were collected once a week. Samples for *Salmonella* spp. were collected 14 times by randomized 3 pigs each time, while samples for *E. coli* were collected 12 times. Whereas, total bacterial count was conducted by randomized 5 pigs each for 14 times.

The sample collections were done in 3 steps: 1) ante-mortem; by swabbing truck and lairage before and after pigs loading about 100 cm² and collecting sprayed water in pig lairage: 2) slaughtering; by collecting water in scalding vat before and after scalding process, swabbing pig carcass before and after scalding , splitting and pre-chilling process about 100 cm² , swabbing sticking wound about 25 cm² , collecting blood sample , sprayed water after splitting and large intestine content: 3)post-mortem; by

swabbing pig carcass after chilling at 4 °C for 24 hours about 100 cm², swabbing knives, hands, cutting tables before and after work about 100 cm² and pork tissue at 25 cm². All samples were analyzed within 12 hours. MPN (FDA-BAM, 1992) method was used for *Salmonella* spp and *E. coli* and serovar of *Salmonella* spp was confirmed by Ministry of Public Health. Pour plate method (FDA-BAM, 1992) was applied to total bacterial count study.

The result showed that at the ante-mortem steps was the best source of the *Salmonella* contamination of pig carcass. Contamination percentage was 92.31 % and 85.71 % of live pig transported from farm to the slaughterhouse and at the lairage respectively, with the amount of *Salmonella* from 3 to > 1100 MPN/100 cm². In the slaughtering process, *Salmonella* contaminated carcasses before scalding found at 73.81 % and 14.28 % after scalding. On the sticking wound found 42.88 % *Salmonella* contamination, and the contamination remained on the carcasses after splitting and before chilling at 16.67 % and 9.42 % respectively, with the amount of 3 to 27 MPN/100 cm². However, there was no *Salmonella* spp. detected in the water sprayed on the carcasses after cooling at 4 °C for 24 hours. But on cutting knives and board, the contamination was at 7.14 %.

Most of *Salmonella* spp. serovars found were *S. Rissen* and *S. Stanley*. Furthermore, *S. Bovis* was isolated in pig feces from farm in Rayong Province, where there were a lot of cattle husbandries.

The factors of *E. coli* contamination of pig carcasses in ante-mortem processes were mainly on transportation of live animals from farm and in the lairage, where *E. coli* > 1100 MPN/100 cm² was isolated. Whereas, in lairage water, < 3 MPN/ml of *E. coli* was detected. In the slaughtering process, the mean number of *E. coli* contamination was about 778 MPN/100 cm². In addition to, the amount of *E. coli* isolated from sticking wound, on carcasses after scalding, splitting and before cooling was 6MPN/25 cm², 9 MPN/100 cm², 8 MPN/100 cm² and 3 MPN/100 cm² respectively. However, there was no *E. coli* found in hot water before and after scalding, and sprayed water on carcasses after splitting. The contamination in the cutting process was found on pork tissue only 3 MPN/100 cm² during cutting, but not after chilling at 4 °C for 48 hour. Swabbing of knives, personal hands and cutting boards before and after using found 4 MPN/100 cm² of *E. coli*.

The total aerobic count on vehicles from farm to the slaughter house was 1.4 x 10⁶ cfu/cm², while in the lairage before and after animal resting was 6.4 x 10⁴ and 2.3 x 10⁵ cfu/cm², whereas, in water supply at lairage was 5.5 x 10² cfu/ml. The total count on the surface of sticking wound, carcasses before and after scalding was 3.4 x 10⁴, 1.2 x 10⁵, 3.1 x 10⁴ cfu/cm² respectively, but after spitting the total count on the pork surface was only 2.1 x 10² cfu/cm². The figure showed reduction of total count after each slaughtering step. Although before chilling it was at 60 cfu/cm², the figure increased to 2.3 x 10² cfu/cm², due to air blast chilling at 4 °C for 48 hours. In the cutting processes, the mean number of total count on meat tissue was 1.6 x 10⁵ cfu/g, that was lower than standard figure requirement of Department of Livestock.