

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในกระบวนการฆ่าชำแหละและสถานที่จำหน่ายเนื้อโคในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร โดยการตรวจวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคที่มีรายงานและถูกควบคุมการปนเปื้อนให้อยู่ในเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฉบับที่ 2, 2553) ประเภทอาหารดิบ (หมายถึงอาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ ต้องผ่านการทำสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆ ก่อนบริโภค) ชนิดเนื้อสดของสัตว์/สัตว์ปีก ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด, MPN *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. โดยมีเกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพฯ ดังนี้

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด/กรัม	น้อยกว่า 5×10^6
MPN <i>E. coli</i> /กรัม	น้อยกว่า 100
<i>S. aureus</i> /กรัม	น้อยกว่า 100
<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม	ไม่พบ

สำหรับตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดได้ดำเนินการสุ่มเก็บจากกระบวนการฆ่าชำแหละ (โรงฆ่าสัตว์) จำนวน 2 แห่งคือ โรงฆ่าโคหนองคำ และโรงฆ่าสัตว์เทศบาลนครสกลนคร จังหวัดสกลนคร และติดตามการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคจากสถานที่จำหน่ายเนื้อโค จำนวน 3 แห่งคือ ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์โคขุนหนองคำ (เชียงใหม่ 1), ตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร (เชียงใหม่ 2) และร้านขายเนื้อข้างทาง (เชียงใหม่ 3) การสุ่มเก็บตัวอย่างนั้นได้ดำเนินการเก็บทั้งหมด 3 ช่วงฤดูกาลคือ (1) ฤดูหนาว (เดือนมกราคม 2555), (2) ฤดูร้อน (เดือนเมษายน 2555) และ (3) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม 2555) เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งผลการวิจัยที่ได้มีดังนี้

4.1 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable plate count)

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดถูกตรวจนับด้วยเทคนิค pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงตามวิธีการของ BAM (2001) Chapter 3 หลังจากนั้นจึงทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งได้แสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 จำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ถูกสุ่มเก็บในช่วงฤดูต่างๆ

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/กรัม)				เกณฑ์มาตรฐาน (CFU/กรัม)
		ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	ค่าเฉลี่ย	
เนื้อโค	โรงฆ่าโคหนองคาย	6.2×10^2	1.4×10^2	4.1×10^2	3.9×10^2	$< 5 \times 10^6$
	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	1.1×10^3	3.9×10^2	7.2×10^2	7.4×10^2	
	เชียงใหม่ 1	7.0×10^2	1.1×10^3	4.2×10^2	7.4×10^2	
	เชียงใหม่ 2	2.1×10^3	2.3×10^4	4.6×10^3	9.9×10^3	
	เชียงใหม่ 3	6.4×10^3	1.2×10^3	6.7×10^3	4.7×10^3	
เลือดโคสด	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	1.2×10^4	1.1×10^3	1.3×10^4	8.7×10^3	
	เชียงใหม่ 2	5.5×10^3	1.5×10^6	1.6×10^6	1.1×10^6	
	เชียงใหม่ 3	3.4×10^4	4.5×10^2	1.6×10^5	6.5×10^5	
ค่าเฉลี่ย		7.8×10^3	2.4×10^4	4.3×10^4	2.5×10^5	

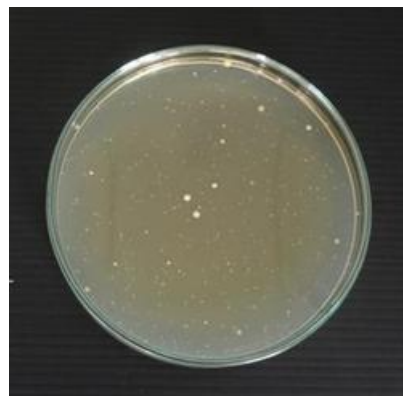
หมายเหตุ: เชียงใหม่ 1 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์โคขุนหนองคาย, เชียงใหม่ 2 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร และเชียงใหม่ 3 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านขายเนื้อข้างทาง

จากตารางที่ 4.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ตรวจนับได้ในแต่ละฤดูกาลนั้นพบว่า มีค่าเฉลี่ยของการปนเปื้อนในทุกตัวอย่างอยู่ที่ 2.5×10^5 CFU/กรัม ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานฯ ที่ยอมรับได้คือพบน้อยกว่า 5×10^6 CFU/กรัม ในขณะที่ในฤดูฝนพบว่า มีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทุกกลุ่ม (ทุกตัวอย่าง) สูงมากที่สุด คือ 4.3×10^4 CFU/กรัม

รองลงมาคือฤดูหนาว และฤดูร้อน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนฯ ที่ 7.8×10^3 และ 2.4×10^4 CFU/กรัม ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์สูงมากที่สุดคือ ตัวอย่างเลือดโคสดจากเชียงใหม่ 2 ที่เก็บในฤดูฝนที่พบการปนเปื้อนที่ 1.6×10^6 CFU/กรัม โดยลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดได้แสดงในภาพประกอบที่ 4.1 และ 4.2



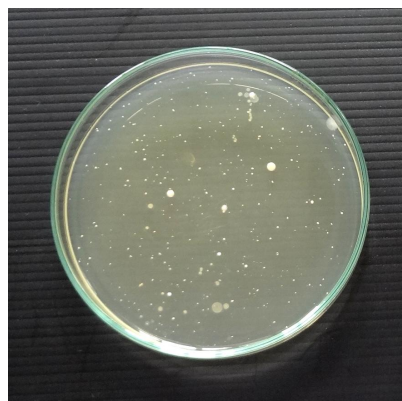
(1) เนื้อโค/โรงฆ่าไก่หนองคาย



(2) เนื้อโค/โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ



(3) เนื้อโค/ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์ฯ

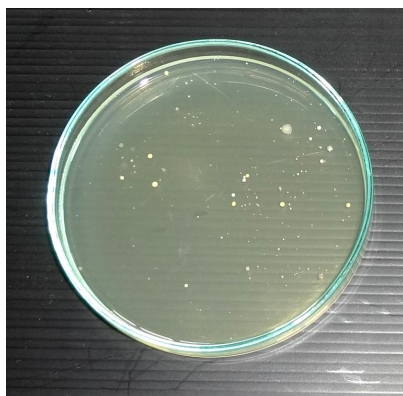


(4) เนื้อโค/ตลาดสดเทศบาลฯ

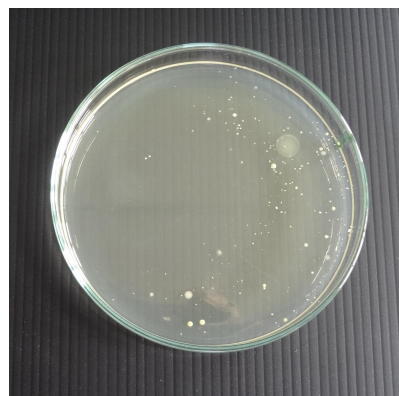


(5) เนื้อโค/ร้านขายเนื้อข้างทาง

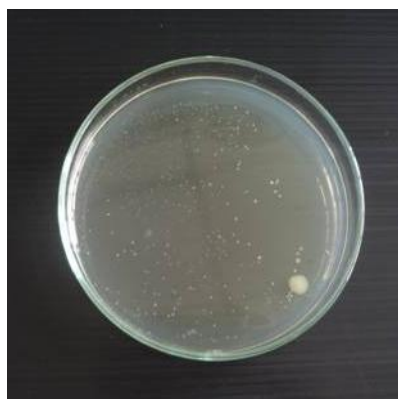
ภาพประกอบที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเนื้อโค (เนื้อจาก 10 เท่า)
บนอาหาร PCA ภายหลังจากการบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



(1) เลือดโคสด/โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ



(2) เลือดโคสด/ตลาดสดเทศบาลฯ



(3) เลือดโคสด/ร้านขายเนื้อข้างทาง

ภาพประกอบที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเลือดโคสด (เนื้อจาก 10 เท่า)
บนอาหาร PCA ภายหลังการบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.2 การตรวจวิเคราะห์หาค่า MPN *Escherichia coli*

Escherichia coli คือกลุ่มของแบคทีเรียฟิคอลโคลิฟอร์ม (faecal coliform) ที่พบในอุจจาระจึงถูกใช้เป็นดัชนีหลักในการประเมินสุขลักษณะของการผลิตอาหารหรือน้ำดื่ม แบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติในการหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดและแก๊สที่อุณหภูมิ 44.5°C ภายใน 24 ชั่วโมง สำหรับการตรวจหา *E. coli* ในงานวิจัยนี้ได้ใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติที่เรียกว่า most probable number (MPN) หรือ MPN *E. coli* ซึ่งหมายถึงจำนวนสูงสุดของ *E. coli* ที่ยังมีชีวิตอยู่และอาจพบได้ใน

ตัวอย่าง ตามวิธี multiple-tube technique แบบ 3-tube MPN โดยผลตรวจหาค่า MPN *E. coli* ในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดได้แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่า MPN *Escherichia coli* ในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ถูกสุ่มเก็บในช่วงฤดูต่างๆ

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	ค่า MPN <i>Escherichia coli</i> (MPN/กรัม)			เกณฑ์ มาตรฐาน (MPN/กรัม)
		ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	
เนื้อโค	โรงฆ่าโคหนองคาย	<3	3.6	9.2	<100
	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	<3	15	3.6	
	เชียงใหม่ 1	<3	3.6	3.6	
	เชียงใหม่ 2	23	>1,100	460	
	เชียงใหม่ 3	43	460	>1,100	
เลือดโคสด	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	<3	<3	>1,100	
	เชียงใหม่ 2	3.6	<3	9.2	
	เชียงใหม่ 3	>1,100	>1,100	15	

หมายเหตุ: เชียงใหม่ 1 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์โคขุนหนองคาย, เชียงใหม่ 2 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร และเชียงใหม่ 3 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านขายเนื้อข้างทาง

จากตารางที่ 4.2 การหาค่า MPN *E. coli* ในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ถูกสุ่มเก็บในช่วงฤดูต่างๆ พบว่า มี 5 ตัวอย่างที่ตรวจพบการปนเปื้อน *E. coli* ในปริมาณที่เกินเกณฑ์มาตรฐานฯ ที่กำหนดไว้ได้แก่ ตัวอย่างเนื้อโคจากเชียงใหม่ 2 ที่เก็บในฤดูร้อน, เชียงใหม่ 3 ที่เก็บในฤดูหนาว, ตัวอย่างเลือดโคสดจากโรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ ในฤดูฝน และ เชียงใหม่ 3 ที่เก็บในฤดูหนาวและฤดูร้อน พบว่าทั้ง 5 ตัวอย่างมีค่า MPN *E. coli* สูงมากถึง >1,100 MPN/กรัม ในขณะที่มีเพียงตัวอย่างเลือดโคสดจากเชียงใหม่ 2 เท่านั้นที่มีค่า MPN *E. coli* อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานฯ ที่ยอมรับได้คือพบ <100 MPN/กรัม เช่นเดียวกับตัวอย่างเนื้อโคที่เก็บจากโรงฆ่าโคหนองคาย และร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์โคขุนหนองคาย พบว่า ทุกตัวอย่างที่เก็บในแต่ละฤดูกาลมีค่า MPN *E. coli* อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานฯ ที่

ยอมรับได้ทั้งหมด แสดงให้เห็นถึงการมีมาตรฐานที่ดีของระบบการป้องกันการปนเปื้อน *E. coli* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคหลักในระบบทางเดินอาหารในทุกกระบวนการตั้งแต่ขั้นตอนผลิตจนถึงการขนส่งสินค้าไปยังแหล่งจำหน่ายขององค์กร

4.3 การตรวจวิเคราะห์หา *Staphylococcus aureus*

ในงานวิจัยนี้การตรวจวิเคราะห์ *S. aureus* ได้ดัดแปลงตามวิธีของ BAM (2001) Chapter 12 โดยใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติหรือ most probable number (MPN) เช่นเดียวกับการตรวจหา *E. coli* ตามวิธี multiple-tube technique แบบ 3-tube MPN โดยผลตรวจหา *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดได้แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่า MPN ของ *S. aureus* ในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ถูกสุ่มเก็บในช่วงฤดูต่างๆ

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	ค่า MPN ของ <i>S. aureus</i> (MPN/กรัม)			เกณฑ์ มาตรฐาน (MPN/กรัม)
		ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	
เนื้อโค	โรงฆ่าโคหนองคาย	<10	<10	<10	<100
	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	<10	<10	<10	
	เชียงใหม่ 1	<10	<10	<10	
	เชียงใหม่ 2	<10	<10	<10	
	เชียงใหม่ 3	<10	<10	<10	
เลือดโคสด	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	<10	<10	<10	
	เชียงใหม่ 2	<10	<10	<10	
	เชียงใหม่ 3	<10	<10	<10	

หมายเหตุ: เชียงใหม่ 1 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์โคขุนหนองคาย, เชียงใหม่ 2 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร และเชียงใหม่ 3 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านขายเนื้อข้างทาง

จากตารางที่ 4.3 พบว่าในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ถูกสุ่มเก็บในสถานที่ และช่วงฤดูต่างๆ นั้นค่า MPN ของ *S. aureus* ที่ตรวจวิเคราะห์ได้คือ <10 MPN/กรัม ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานอยู่ประมาณ 10 เท่าโดยประมาณ ในขณะที่ปัจจัยทางสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้นก็พบว่าไม่มีผลต่อการกระจายตัวของเชื้อดังกล่าว แสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยที่พึงจะได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคต่อไป

4.4 การตรวจวิเคราะห์หา *Salmonella* spp.

สำหรับการตรวจวิเคราะห์หา *Salmonella* spp. จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการ non-selective enrichment หรือ pre-enrichment ของตัวอย่างในอาหารเหลวเพื่อ recovery หรือชุบชีวิต (resuscitation) เซลล์ที่บาดเจ็บหรือใกล้ตายให้เจริญขึ้นมาใหม่ เนื่องจาก *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบปริมาณการปนเปื้อนในอาหารที่น้อยมากเมื่อเทียบกับ normal flora ชนิดอื่นๆ ขั้นตอนต่อมาคือการเพิ่มจำนวน *Salmonella* spp. ในอาหารประเภท selective enrichment เพื่อคัดเลือกเฉพาะ *Salmonella* spp. ให้เจริญเท่านั้น ก่อนนำมา streak บน selective differential agar เพื่อตรวจสอบลักษณะ single colony ที่เฉพาะของแบคทีเรียสกุล *Salmonella* ในอาหารแต่ละชนิด ทำให้การทดสอบวิธีการนี้ไม่สามารถระบุการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. ในเชิงปริมาณได้ จึงรายงานได้เพียงว่าพบการเจริญของ *Salmonella* spp. หรือไม่ โดยผลการตรวจวิเคราะห์ได้แสดงดังตารางที่ 4.4

จากตารางที่ 4.4 พบว่ามีเพียงตัวอย่างเลือดโคสดจากตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร (เชียงใหม่ 2) ที่เก็บในช่วงฤดูฝนเท่านั้น ที่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. ทั้งในอาหารชนิด XLD agar และ SS agar โดยพบว่าลักษณะโคโลนีบนอาหาร XLD agar มีสีแดงใส มีจุดสีดำอยู่ตรงกลาง ในขณะที่ SS agar พบโคโลนีใส ไม่มีสี (transparent) และมีจุดสีดำอยู่ตรงกลาง ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการรีดิวซ์ซัลเฟต (เป็นส่วนประกอบในอาหาร) ให้เป็นแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Ferrous sulfide, FeS) (วีรานูช หลาง, 2552) *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารที่สำคัญ ได้แก่ โรคอาหารเป็นพิษในมนุษย์หรือโรคที่เรียกว่า ซัลโมเนลโลซิส (Salmonellosis), ลำไส้อักเสบ ไทฟอยด์ และการติดเชื้อในกระแสเลือด มักพบปนเปื้อนในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไก่ นม ไข่ ผัก ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบว่า องค์ประกอบของเลือดโคสด รวมถึงความชื้นในชั้นบรรยากาศที่มีปริมาณสูงในช่วงฤดูฝน มีผลส่งเสริมต่อการแพร่กระจายและการเจริญ

ของ *Salmonella* spp. ได้มากกว่าฤดูกาลอื่นๆ นอกจากนี้การปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. อาจมีหลายปัจจัยเช่น การสุขาภิบาล สภาพแวดล้อมภายในฟาร์ม การจัดการทางด้านสุขลักษณะ และการขนส่งเพื่อเข้าสู่กระบวนการแปรรูปทั้งสภาพเนื้อสดและผลิตภัณฑ์ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้สามารถควบคุมได้โดยการควบคุมคุณภาพและความสะอาดของวัตถุดิบในขั้นตอนการขนส่งก่อนการแปรรูป

ตารางที่ 4.4 ผลการตรวจวิเคราะห์หา *Salmonella* spp. ในตัวอย่างเนื้อโคและเลือดโคสดที่ถูกสุ่มเก็บในช่วงฤดูต่างๆ

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	ผลการเจริญของ <i>Salmonella</i> spp. ใน selective differential agar ชนิดต่างๆ						เกณฑ์มาตรฐาน
		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน		ฤดูฝน		
		XLD	SS	XLD	SS	XLD	SS	
เนื้อโค	โรงฆ่าโคหนองคำ	-	-	-	-	-	-	ไม่พบ
	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	-	-	-	-	-	-	
	เชียงใหม่ 1	-	-	-	-	-	-	
	เชียงใหม่ 2	-	-	-	-	-	-	
	เชียงใหม่ 3	-	-	-	-	-	-	
เลือดโคสด	โรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ	-	-	-	-	-	-	
	เชียงใหม่ 2	-	-	-	-	+	+	
	เชียงใหม่ 3	-	-	-	-	-	-	

หมายเหตุ: เชียงใหม่ 1 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของสหกรณ์โคขุนหนองคำ, เชียงใหม่ 2 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากตลาดสดเทศบาลนครสกลนคร และเชียงใหม่ 3 คือ ตัวอย่างที่เก็บจากร้านขายเนื้อข้างทาง

จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้สามารถอธิบายได้ว่า ความชื้นและอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมและอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับความชุกของ *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยสามารถบ่งชี้ได้ว่าการปนเปื้อนข้ามจากหลายแหล่ง ทั้งระหว่างกระบวนการฆ่าล้างทำความสะอาด การสับหั่นชิ้นเนื้อ การขนส่งอย่างไม่ถูกสุขอนามัย และวิธีการจัดการภายในร้านจำหน่ายเนื้อโคในตลาดขายปลีก หรือเชิงเนื้อริมถนน โดยปัจจัยเหล่านี้ได้ส่งผลต่อการปนเปื้อนของทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่เป็นตัวบ่งชี้ของการบกพร่องด้านสุขอนามัยในกระบวนการผลิต ดังนั้นจึงควรเน้นให้ความสำคัญในเรื่องการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในระดับที่ต่ำเสมอระหว่างการผลิต เนื่องจากเป็นอีกหนึ่งแนวทางที่สามารถช่วยควบคุมหรือลดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคได้