

Abstract

Bacterial contamination in pork was responsible for the foodborne disease and spoilage. The monitoring of bacterial contamination demands a lag time of laboratory analysis. Therefore rapid test kit was developed to promptly evaluate the contamination on site. The preliminary test kits were initiated and based on physical and biochemical properties. The result indicated that Oxidase test was specific and correlated with concentration of *Pseudomonas* spp. which is a major spoilage bacterium in pork stored in refrigerator. The response contamination model was developed to convert the color response of oxidase test to be contamination level using linear regression. While catalase test was linearly correlated with *Klebsiella* spp., which is a major bacterium in pork stored without refrigerator, and *Staphylococcus aureus*, which is a foodborne pathogen. Likewise the gas response contamination models for *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus aureus* were developed. After developed oxidase and catalase test kits were used to evaluate the concentration of *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus aureus* in 314 pork samples from 16 traditional retail markets in 6 regions of Bangkok. The concentrations of *Pseudomonas* spp. from oxidase test kit were higher than those of *Pseudomonas* spp. from laboratory analysis. Even though for the spoilage assessment of pork, *Klebsiella* spp. concentrations from catalase test kit were 8.13-8.82 log cfu/cm² which were higher than that those from laboratory analysis at 5.63-6.06 log cfu/g. The agreement of catalase test kit and laboratory result were acceptable (Accuracy factor = 1.36). The response contamination model of *Klebsiella* spp. was reparameterized as $Klebsiella \text{ (log cfu/cm}^2\text{)} = (\text{Catalase activity} - 0.1914) / 0.0995$ to achieve the same concentration level of laboratory analysis. Average risk of *Staphylococcus aureus* from 325 pork samples in Bangkok for the first sampling round was 56-101/100,000 people at risk annually. Applying the catalase test kit as a tool for risk assessment in the second sampling round of 314 pork samples revealed an acceptable agreement with results from laboratory analysis (Accuracy factor = 1.49). The average risk per 100,000 people from laboratory result was 147-151 annually. However The response contamination model of *Staphylococcus aureus* was reparameterized as $Staphylococcus \text{ aureus (log cfu/cm}^2\text{)} = (\text{Catalase activity} - 0.0640) / 0.1878$ to obtain the same concentration level of laboratory analysis.

บทคัดย่อ

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรก่อให้เกิดปัญหา โรคอาหารเป็นพิษและการเสื่อมทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกร การเฝ้าระวังการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต้องใช้ระยะเวลาการตรวจทางห้องปฏิบัติการทำให้เกิดข้อจำกัดที่สำคัญ จึงมีการพัฒนาชุดตรวจสอบจุลชีววิทยาเพื่อให้สามารถทราบระดับการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรได้อย่างรวดเร็ว ชุดตรวจสอบเบื้องต้นที่ศึกษาในโครงการนี้มี 2 ลักษณะ คือ ชุดตรวจสอบโดยอาศัยคุณสมบัติทางกายภาพและทางชีวเคมี การศึกษาความสัมพันธ์ของการตอบสนองของชุดทดสอบ (response) ต่อปริมาณจุลินทรีย์ในรูปของสารละลายและปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสุกร พบว่า คุณสมบัติทางชีวเคมีของจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าคุณสมบัติทางกายภาพ จากนั้นจึงมีการพัฒนา 2 ชุดตรวจสอบฐานชีวเคมี คือ Oxidase test และ Catalase test ผลการศึกษา พบว่า Oxidase test มีความจำเพาะและสัมพันธ์เชิงปริมาณกับ *Pseudomonas* spp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์เสื่อมเนื้อสัตว์แช่เย็น โดยมีการพัฒนาแบบจำลองการปนเปื้อนจากการตอบสนอง (Response Contamination model) โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) เพื่อใช้ในการแปลงค่าการตอบสนองของ Oxidase test ที่สังเกตได้จากการเกิดสีให้เป็นระดับการปนเปื้อน *Pseudomonas* spp. ส่วน Catalase test มีความสัมพันธ์เชิงปริมาณทั้ง *Klebsiella* spp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์เสื่อมเนื้อสัตว์ที่เก็บแบบไม่แช่เย็น และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคด้วย โดยมีการพัฒนาแบบจำลองการปนเปื้อนจากการตอบสนองในการแปลงค่าการตอบสนองของ Catalase test ที่สังเกตได้จากปริมาณก๊าซ (gas) ให้เป็นระดับการปนเปื้อน *Klebsiella* spp. และ *Staphylococcus aureus* เมื่อนำชุดทดสอบที่พัฒนาได้ คือ Oxidase test kit ไปใช้วัดปริมาณการปนเปื้อน *Pseudomonas* spp. และ Catalase test ไปใช้วัดปริมาณการปนเปื้อน *Klebsiella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสุกร 16 ตลาดสดทั่วกรุงเทพมหานครรวม 6 เขต จำนวน 314 ตัวอย่าง พบว่า Oxidase test kit ให้ผลการประเมินการเสื่อมเนื้อสุกรจากการปนเปื้อน *Pseudomonas* spp. สูงกว่าการปนเปื้อนที่วิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ แม้ว่าผลการประเมินการเสื่อมเนื้อสุกรจากการปนเปื้อน *Klebsiella* spp. โดยใช้ Catalase test kit พบการปนเปื้อน $8.13-8.82 \log \text{ cfu/cm}^2$ ซึ่งสูงกว่าการปนเปื้อนที่วิเคราะห์ได้ทางห้องปฏิบัติการ $\log 5.63-6.06 \log \text{ cfu/g}$ อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ความสอดคล้อง (agreement) กับผลการปนเปื้อนที่วิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการในระดับที่ยอมรับได้ (Accuracy factor = 1.36) และ เมื่อมีการปรับพารามิเตอร์ของแบบจำลอง Response Contamination แล้วก็ทำให้แบบจำลองใหม่ คือ $Klebsiella (\log \text{ cfu/cm}^2) = (\text{Catalase activity}-0.1914)/0.0995$ สามารถประเมินการเสื่อมเนื้อสุกรจากการปนเปื้อน *Klebsiella* spp. ได้เท่ากับค่าจากห้องปฏิบัติการ ส่วนค่าเฉลี่ยความเสี่ยงจาก *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสุกรในเขตกรุงเทพมหานครจำนวน 325 ตัวอย่าง ในการเก็บตัวอย่างรอบที่ 1 อยู่ที่ระดับ 56-101 คน/แสนคน/ปี ต่อมาจึงใช้ Catalase test kit ที่พัฒนาได้นำมาทดสอบเพื่อการประเมินความเสี่ยงในการเก็บตัวอย่างรอบที่ 2 จำนวน 314 ตัวอย่าง โดยผลการใช้ catalase test kit มีความสอดคล้องกับการปนเปื้อนที่ได้จากห้องปฏิบัติการในระดับที่ยอมรับได้เช่นเดียวกัน (Accuracy factor = 1.49) โดยค่าเฉลี่ยความเสี่ยง *Staphylococcus aureus* ที่ประเมินได้จากการใช้ Catalase test สูงกว่าค่าเฉลี่ยความเสี่ยง *Staphylococcus aureus* ที่ประเมินได้จากผลทางห้องปฏิบัติการ 147-151 คน/แสนคน/ปี อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการปรับพารามิเตอร์ของแบบจำลอง Response contamination ใหม่ คือ $Staphylococcus aureus (\log \text{ cfu/cm}^2) = (\text{Catalase activity}-0.0640)/0.1878$ สามารถประเมินความเสี่ยงได้เทียบเท่ากับความเสี่ยงที่ประเมินได้จากห้องปฏิบัติการ