



การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แยกจาก
เนื้อสัตว์ในตลาดสด อำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย

The Detection of *Salmonella* spp. and *Salmonella* Enteritidis, Isolated from Raw Meats
in Fresh Markets, Mueang Loei District, Loei Province

ศศิวิมล โสภาววัฒน์¹, สันติราช ทองภู¹, นครินทร์ คำสุนันท์¹, ปิยะพงษ์ ชุ่มศรี², พัชรีย์ พรรษา³ และ ชลธิชา จินาพร⁴
Sasiwimon Sopawat¹, Santirat Thongphu¹, Nakarin khamsunan¹, Piyapong Choomsri², Patcharee Pansa³ and
Chontichar Jinapon⁴

E-mail: sb6340242105@lru.ac.th¹, sb6340242106@lru.ac.th¹, sb6340242112@lru.ac.th¹, choomseer@gmail.com²,
patchareepansa@gmail.com³ and chontichar.jin@lru.ac.th⁴
โทรศัพท์: 09-8691-5176¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แยกจากเนื้อสัตว์ในตลาดสด อำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2566 โดยทำการเก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์แบบสุ่มตัวอย่างละ 300 กรัม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว จากตลาดสด 3 แห่ง เก็บตัวอย่างจำนวน 3 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 27 ตัวอย่าง จากการตรวจวิเคราะห์ขั้น non selective enrichment ขั้น selective enrichment และ ขั้น selective plating พบเชื้อที่คาดว่าเป็เชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 78 ไอโซเลต จากตัวอย่างจำนวน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 62.96) จากนั้นทำการตรวจยืนยันผลด้วย 1. วิธี conventional method โดยการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) 2. การทดสอบทางชีวเคมีด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และอาหารเลี้ยงเชื้อ motility indole lysine medium (MIL) และ 3. การตรวจวิเคราะห์ทาง serological test ด้วยวิธี agglutination test โดยใช้ *Salmonella* polyvalent O-antigen A-I antiserum เพื่อยืนยันในระดับสกุล และ *Salmonella* polyvalent O-antigen group D เพื่อยืนยันในระดับซีโรวาร์ ผลการศึกษา *Salmonella* spp. จำนวน 78 ไอโซเลต พบยืนยันเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 30 ไอโซเลต (ร้อยละ 38.46) ในจำนวนนี้พบเป็นเชื้อ *Salmonella* Enteritidis จำนวน 17 ไอโซเลต (ร้อยละ 21.79) อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ตามประเภทของเนื้อสัตว์แล้ว พบตัวอย่างเนื้อวัวมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. มากที่สุดร้อยละ 88.89 รองลงมาคือเนื้อไก่พบปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 55.56 และเนื้อหมูพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 44.44 ตามลำดับ โดยเมื่อตรวจยืนยันในระดับซีโรวาร์ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Enteritidis จากเนื้อวัว เนื้อไก่ และเนื้อหมู ที่ร้อยละ 66.67, 44.44 และ 22.22 ตามลำดับ ข้อมูลจากผลการศึกษาดังกล่าวนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของโรค Salmonellosis และการตัดสินใจของผู้บริโภค ในการเลือกซื้อเนื้อสัตว์รวมถึงเลือกวิธีการประกอบอาหารเพื่อความปลอดภัย

คำสำคัญ: *Salmonella* spp., การปนเปื้อน, เนื้อสัตว์, ตลาดสด

¹นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

²อาจารย์ประจำสาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

³นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

⁴อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

Abstract

The objective of this research was to analyze the contamination of *Salmonella* spp. and *Salmonella* Enteritidis isolated from raw meats in fresh markets Mueang Loei District, Loei Province, during April until August, 2023. By random collecting samples of 300 grams each, 3 types of meat, including pork, chicken, and beef, from 3 fresh markets, collecting samples 3 times, totaling 27 samples, After analysis by the non-selective enrichment step, the selective enrichment step, and the selective plating step. A total of 78 isolates expected to be *Salmonella* spp. were found from 17 samples (62.96%). Then these isolates were confirmed by 1. conventional method by Gram's staining 2. Biochemical test using triple sugar iron agar (TSI) and motility indole lysine medium (MIL) and 3. Serological analysis using agglutination test using *Salmonella* polyvalent O-antigen A-I antiserum to confirm at the genus level and *Salmonella* polyvalent O-antigen group D to confirm at the serovar level. Results of the study of 78 *Salmonella* spp. Isolates were found to be *Salmonella* spp., 30 isolates (38.46%). In these numbers, 17 isolates (21.79%) were found to be *Salmonella* Enteritidis. However, when analyzed by type of meat, beef samples were found to be contaminated with *Salmonella* spp. the most at 88.89 percent, followed by chicken meat was contaminated with *Salmonella* spp. at 55.56 percent and pork was contaminated with *Salmonella* spp. 44.44 percent respectively. The lastly, confirmed at the serovar level *Salmonella* Enteritidis contamination from beef, chicken, and pork was found at 66.67%, 44.44%, and 22.22%, respectively. Information from this study can be used as a guideline for monitoring the spread of disease. Salmonellosis and consumer decisions when purchasing meat and choosing cooking methods for safety

Keywords: *Salmonella* spp., contamination, meat, fresh market

ความเป็นมาของปัญหา

ปัจจุบันเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายในตลาดสดบางครั้งอาจไม่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค เนื่องจากมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร โดยองค์การอนามัยโลกได้ให้ความสำคัญกับเชื้อกลุ่ม *Salmonella* spp. ที่พบได้ทุกประเทศทั่วโลก (Mead et al., 1999) จึงเป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุข จากการเก็บรวบรวมข้อมูลในปี พ.ศ.2560 ของสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พบผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษหรือท้องร่วงจากการติดเชื้อจุลินทรีย์เฉียบ 104.64 คนต่อประชากรแสนคน ซึ่งในจำนวนนี้มีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากเชื้อ *Salmonella* spp. โดยเฉพาะ *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (S. Enteritidis) (ผาณพรรณ ศรีธาดา, 2561 อ้างอิงมาจาก สำนักระบาดวิทยา, 2560) โดยเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค Salmonellosis โดยผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้อง ท้องร่วงรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน และมีไข้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2556) ปวดศีรษะ หรือเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด ทำให้โลหิตเป็นพิษและอาจถึงแก่ชีวิตได้ในรายที่มีการติดเชื้อ (ยุทธพงษ์ ศรีมงคล และคณะ, 2555, มาร์ต เชียงเถียร และคณะ, 2552, เพ็ญภา มัชยพงศ์, 2551) ซึ่งมีการประมาณการณ์ ร้อยละ 75 ของกลุ่มผู้ป่วยโรค Salmonellosis เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์เช่น เนื้อสุกร วัว ไก่ ไข่ไก่ และนม (Galton et al., 1968) โดยมีรายงานว่าในแต่ละปีทั่วโลกจะมีผู้เจ็บป่วยเนื่องจากติดเชื้อ *Salmonella* spp. ประมาณ 80.5 ล้านคน (Scallan et al., 2011) การแพร่กระจายของเชื้ออาจเกิดขึ้นในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ตั้งแต่ การเลี้ยงสัตว์ในฟาร์ม กระบวนการฆ่าที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ขาดความระมัดระวังในการนำเครื่องในออกจากซากทำให้มีมูลสัตว์มาสัมผัสกับเนื้อ การใช้เครื่องมือ มีด เขียงที่สกปรก หรือขาดความเอาใจใส่ทำความสะอาด น้ำที่ใช้ในกระบวนการเลี้ยงสัตว์ และน้ำที่ใช้ในโรงฆ่าสัตว์ไม่มีความสะอาดที่เพียงพอทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อ (เดชา สิทธิกุล และสรพรเพญ อังกิตตระกูล, 2554) ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายให้ผู้บริโภค (บัณฑิตย ตรีการวีระเดช, 2550) ดังนั้นการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายตามท้องตลาดจึงเป็นสิ่งจำเป็น อย่างไรก็ตามจากการศึกษาข้อมูลพบว่ยังไม่มีรายงานการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ประเภทต่าง ๆ ในเขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย มาก่อน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาการปนเชื้อของ *Salmonella* spp. ที่แยกจากเนื้อสัตว์ในตลาดสด อำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้เป็นข้อมูลแก่ผู้บริโภคในการตัดสินใจเลือกซื้อเนื้อสัตว์ และยังสามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการเฝ้าระวังการปนเชื้อของ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ได้อีกด้วย



วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจวิเคราะห์อัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แยกจากเนื้อสัตว์ในตลาดสด อำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์ ได้แก่ เนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อวัว จากตลาดสด 3 แห่ง ในเขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย (9 ตัวอย่าง ต่อการเก็บ 1 ครั้ง) ระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2566 โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 3 ครั้ง (ระยะเวลาห่างกันครั้งละ 2 เดือน) รวมทั้งสิ้น 27 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างจะต้องมีน้ำหนักรวมไม่น้อยกว่า 300 กรัม ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual (BAM) (U.S. Food and Drug Administration) นำตัวอย่างที่ได้ติดฉลากรายละเอียด และเก็บในกล่องเก็บความเย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำกลับมาตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. ที่ห้องปฏิบัติการภายใน 6 ชั่วโมง

2. การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp.

2.1 การตรวจวิเคราะห์ขั้น non selective enrichment

ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ใน tryptic soy broth (TSB) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-1} และเขย่าผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Lee et al., 2015)

2.2 การตรวจวิเคราะห์ขั้น selective enrichment

นำเชื้อที่ผ่านการเพิ่มจำนวนใน non selective enrichment ปริมาตร 1 ml ย้ายลงในอาหาร 5-tetrathionate broth (TTB) ปริมาตร 10 ml และอีก 1 ml ย้ายลงในอาหาร rappaport-vassiliadis soy broth ปริมาตร 10 ml บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.3 การตรวจวิเคราะห์ขั้น selective plating

นำเชื้อจากขั้นตอน selective enrichment จำนวน 1 loop full มา streak ลงบน selective agar ชนิด *Salmonella-Shigella* agar และ brilliant green bile agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการคัดเลือกโคโลนีที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp. โดยทั่วไปเชื้อ *Salmonella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella-Shigella* agar จะเกิดโคโลนีสีดำตรงกลาง เนื่องจากการที่เชื้อ *Salmonella* spp.จะสามารถใช้ thiosulphate ซึ่งให้ผลผลิตเป็นสาร sulfite และแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ เมื่อทำปฏิกิริยากับเหล็ก (ferric) จึงทำให้เกิดเป็นสีดำ ในส่วนเชื้อ *Salmonella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green bile agar จะมีโคโลนีสีแดงรอบ ๆ พื้นสีแดงใส เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp.จะไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้ จากนั้นทำการเก็บเชื้อโดยการนำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar slant เป็นการ stock culture

3. การตรวจยืนยันยืนยันผล (confirmation test)

3.1 การย้อมสีแกรม (Gram's staining) เพื่อตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ทำโดยหยดน้ำลงบนแผ่นสไลด์ 1-2 หยด เหยยเชื้อที่ต้องการ smear ลงบนสไลด์แล้วปล่อยให้แห้ง จากนั้นนำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟพอให้อุ่น เพื่อเป็นการตรึงเชื้อ (fix) ให้ติดแน่นกับสไลด์ หยดสี crystal violet ให้ทั่วรอย smear นาน 1 นาที ชะสไลด์ด้วยน้ำกลั่น หยดสารละลาย iodine นาน 1 นาที ชะสไลด์ด้วยน้ำกลั่น เติสสีทิ้ง หยด 95% ethyl alcohol ทิ้งไว้นาน 20 วินาที ชะสไลด์ด้วยน้ำกลั่น และหยด safranin นาน 30 วินาที ชะสไลด์ด้วยน้ำกลั่น และนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

3.2 การตรวจยืนยันทางชีวเคมี (Biochemical test)

3.2.1 การทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI)

นำเชื้อมาทดสอบโดยใช้ needle streak ลงที่ผิวหน้าของหลอดอาหาร slant จากนั้น จึงทำการแทง (stab) ลงสู่ส่วนล่างของหลอดอาหาร (butt) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วสังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารที่บริเวณ slant และก้นหลอด (butt) โดยเชื้อ *Salmonella* spp. แผลผลได้ดังนี้ Slant (K), Butt (A), G (+) และ H₂S (+)

3.2.2 การทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ motility indole lysine medium (MIL)

โดย stab เชื้อทดสอบลงในอาหาร MIL บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลาย Kovac's reagent ลงบนผิวหน้าอาหาร 0.2 - 0.3 มิลลิลิตร แล้วสังเกตการเกิดวงแหวนสีแดง โดยเชื้อ



Salmonella spp. ให้ผลเป็นลบ เนื่องจากไม่สามารถสร้างสารอินโดล (indole) จากกรดอะมิโน tryptophan ได้ เมื่อหยดสารละลาย Kovac's reagent ลงไปในหลอดอาหารจึงไม่เกิดวงแหวนสีแดง และความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อที่แพร่กระจายออกจาก รอย stab ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ว่า เชื้อดังกล่าวมีแฟลกเจลลา (flagella) โดยเชื้อ *Salmonella* spp. ให้ผลเป็นบวก

3.3 การตรวจวิเคราะห์ทาง serological test ด้วยวิธี agglutination test

3.3.1 การตรวจเพื่อยืนยันในระดับสกุล

นำเชื้อทดสอบมาทำปฏิกิริยา agglutination ร่วมกับ *Salmonella* polyvalent O-antigen A-I antiserum โดยเชื้อ *Salmonella* spp. จะให้ผลบวกภายใน 10 วินาที (เกิดการตกตะกอนของเชื้อ)

3.3.2 การตรวจเพื่อยืนยันในระดับซีรัวร์

นำเชื้อทดสอบมาทำปฏิกิริยา agglutination ร่วมกับ *Salmonella* polyvalent O-antigen group D โดยเชื้อ *Salmonella* Enteritidis จะให้ผลบวกภายใน 10 วินาที (เกิดการตกตะกอนของเชื้อ)

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการวิจัยในครั้งนี้ใช้หลักการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้ Chi-square Test โดยใช้ช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ 95% (95% Confidence intervals) และประมวลผลโดยใช้โปรแกรม Statistical Package for Social Science (SPSS)

ผลการวิจัย

เมื่อพิจารณาคุณภาพทางจุลชีววิทยาในตัวอย่างเนื้อสัตว์จำนวน 27 ตัวอย่าง ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว จากการตรวจวิเคราะห์ขั้น non selective enrichment ขั้น selective enrichment และ ขั้น selective plating พบเชื้อที่คาดว่าป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 78 ไอโซเลต จากตัวอย่างจำนวน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 62.96) จากนั้นทำการตรวจยืนยันผลด้วย 1. วิธี conventional method โดยการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) 2. การทดสอบทางชีวเคมีด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และอาหารเลี้ยงเชื้อ motility indole lysine medium (MIL) และ 3. การตรวจวิเคราะห์ทาง serological test ด้วยวิธี agglutination test โดยใช้ *Salmonella* polyvalent O-antigen A-I antiserum เพื่อยืนยันในระดับสกุล และ *Salmonella* polyvalent O-antigen group D เพื่อยืนยันในระดับซีรัวร์ ผลการศึกษา *Salmonella* spp. จำนวน 78 ไอโซเลต พบยืนยันเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 30 ไอโซเลต (ร้อยละ 38.46) (ดังตารางที่ 1) ในจำนวนนี้พบเป็นเชื้อ *Salmonella* Enteritidis จำนวน 17 ไอโซเลต (ร้อยละ 21.79) (ดังตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ตามประเภทของเนื้อสัตว์แล้ว พบตัวอย่างเนื้อวัวมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. มากที่สุดร้อยละ 88.89 รองลงมาคือเนื้อไก่พบปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 55.56 และเนื้อหมูพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 44.44 ตามลำดับ โดยเมื่อตรวจยืนยันในระดับซีรัวร์ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Enteritidis จากเนื้อวัว เนื้อไก่ และเนื้อหมู ที่ร้อยละ 66.67, 44.44 และ 22.22 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ที่พบในตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด

ตลาด	เนื้อสัตว์	การเก็บตัวอย่าง			No. of positive	รวม	Incidence (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
1	เนื้อหมู	0	1	0	1	11/27*	40.74%
	เนื้อไก่	0	3	1	4		
	เนื้อวัว	2	3	1	6		
2	เนื้อหมู	0	3	2	5	11/25*	44.00%
	เนื้อไก่	0	0	1	1		
	เนื้อวัว	2	2	1	5		
3	เนื้อหมู	0	3	0	3	8/26*	30.77%
	เนื้อไก่	1	0	2	3		
	เนื้อวัว	0	1	1	2		
รวม						30/78*	38.46%



หมายเหตุ: * หมายถึงจำนวนเชื้อที่แยกจากตัวอย่างในการเก็บแต่ละครั้ง และคาดว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp.

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ที่พบในตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด

ตลาด	เนื้อสัตว์	การเก็บตัวอย่าง			No. of positive	รวม	Incidence (%)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
1	เนื้อหมู	0	0	0	0	7/25*	28.00%
	เนื้อไก่	0	2	1	3		
	เนื้อวัว	1	2	1	4		
2	เนื้อหมู	0	0	2	2	6/26*	23.08%
	เนื้อไก่	0	0	1	1		
	เนื้อวัว	1	2	0	3		
3	เนื้อหมู	0	2	0	2	4/27*	14.81%
	เนื้อไก่	0	0	1	1		
	เนื้อวัว	0	1	0	1		
รวม						17/78*	21.79%

หมายเหตุ: * หมายถึงจำนวนเชื้อที่แยกจากตัวอย่างในการเก็บแต่ละครั้ง และคาดว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp.

ตารางที่ 3 การปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด

ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่เก็บ	จำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนเชื้อ <i>Salmonella</i> spp.	Incidence	จำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนเชื้อ <i>Salmonella</i> Enteritidis	Incidence
เนื้อหมู	9	4	44.44%	2	22.22%
เนื้อไก่	9	5	55.56%	4	44.44%
เนื้อวัว	9	8	88.89%	6	66.67%

สำหรับวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS โดยสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ ข้อมูลคือ สถิติเชิงพรรณนา เพื่อหา ค่าความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับสถิติเชิงอนุมาน เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ของ 1) ชนิดตัวอย่าง (เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว) 2) ตลาด 3 แห่ง 3) เวลาที่แตกต่างกัน 3 เวลา และ 4) เดือนที่แตกต่างกัน 3 เดือน สถิติที่ใช้ในการทดสอบคือ Chi-square Test

เมื่อทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างชนิดของเนื้อสัตว์ ตลาด 3 แห่ง การเก็บตัวอย่างแต่ละช่วงเวลา และเดือนที่เก็บตัวอย่าง พบว่าเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังตารางที่ 4 -6) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังตารางที่ 7)

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด

ชนิดตัวอย่าง	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value
เนื้อหมู	27	30.00	2.024	0.332	27	23.53	2.048	0.359
เนื้อไก่	25	26.67			25	29.41		
เนื้อวัว	26	43.33			26	47.06		



ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จากตลาดทั้ง 3 แห่ง

ตลาด	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value
ตลาดที่ 1	25	33.67	1.376	0.503	25	41.18	1.362	0.506
ตลาดที่ 2	26	33.67			26	35.29		
ตลาดที่ 3	27	26.67			27	23.53		

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในแต่ละช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์

เวลา	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value
13.00	25	33.67	1.376	0.503	25	41.18	1.362	0.506
15.30	26	33.67			26	35.29		
07.00	27	26.67			27	23.53		

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในแต่ละเดือนของการเก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์

เดือน	เชื้อ <i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value	จำนวนเชื้อทดสอบ (ไอโซเลต)	% ที่พบ	χ^2	P-value
เมษายน	24	16.67	8.385	0.015*	24	11.76	4.663	0.097
มิถุนายน	27	53.33			27	52.94		
สิงหาคม	27	30.00			27	35.29		

หมายเหตุ * คือ P-value < 0.05

อภิปรายผล

จากการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว จากตลาดสด 3 แห่ง ทำการเก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง รวมทั้งสิ้น 27 ตัวอย่าง จากการตรวจวิเคราะห์ขั้น non selective enrichment ขั้น selective enrichment และ ขั้น selective plating พบเชื้อที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 78 ไอโซเลต จากตัวอย่างจำนวน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 62.96) จากนั้นทำการตรวจยืนยันผลด้วย 1. วิธี conventional method โดยการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) 2. การทดสอบทางชีวเคมีด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และอาหารเลี้ยงเชื้อ motility indole lysine medium (MIL) และ 3. การตรวจวิเคราะห์ทาง serological test ด้วยวิธี agglutination test โดยใช้ *Salmonella* polyvalent O-antigen A-I antiserum เพื่อยืนยันในระดับสกุล และ *Salmonella* polyvalent O-antigen group D เพื่อยืนยันในระดับซีโรวาร์ ผลการศึกษาพบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis มากที่สุดในเนื้อวัวจำนวน 8 ตัวอย่างจากตัวอย่างเนื้อวัว 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 88.89) อาจเนื่องมาจากเนื้อวัวเป็นเนื้อของสัตว์ที่มีขนาดใหญ่ ดังนั้นในกระบวนการชำแหละจนมาถึงการจัดจำหน่ายหากผู้ขายไม่สามารถจำหน่ายได้หมดภายใน 1 วัน เนื้อเหล่านี้ถูกเก็บไว้ขายในวันถัดไป จึงเป็นโอกาสการเพิ่มปริมาณเชื้อ รวมถึงการแพร่กระจายของเชื้อในกลุ่ม *Salmonella* spp. มากยิ่งขึ้น เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีความสามารถในการเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างระหว่าง 5-47 องศาเซลเซียส จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เชื้อทนต่อสิ่งแวดล้อมได้ดี รองลงมาคือตัวอย่างเนื้อไก่จำนวน 5 ตัวอย่างจากเนื้อไก่ 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.56) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเชื้อ *Salmonella* spp. โดยเฉพาะ *Salmonella* Enteritidis จะพบมากผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีก แต่เนื่องด้วยในตลาดสดมีการวางเนื้อไก่

หรือชิ้นส่วนต่าง ๆ ของไก่ไว้บนถาดน้ำแข็ง ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้เนื้อไก่มีอุณหภูมิที่ต่ำ แม้อุณหภูมิดังกล่าวจะไม่ทำให้เชื้อตายแต่อาจเป็นปัจจัยที่ช่วยชะลอการเจริญของเชื้อ นอกจากนี้เนื้อไก่มักถูกจำหน่ายอย่างรวดเร็วและไม่ถูกเก็บรักษาไว้นานเหมือนเนื้อวัว ส่วนเนื้อหมูพบเชื้อในตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่าง จากตัวอย่างเนื้อหมู 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 44.44) ซึ่งมีปริมาณที่ใกล้เคียงกับการพบเชื้อในตัวอย่างเนื้อไก่ นอกจากนี้พบว่าจากตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้ง 17 ตัวอย่าง ที่ถูกยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในระดับสกุล เมื่อมาวิเคราะห์ในระดับซีโรไทป์พบเป็นเชื้อ *Salmonella* Enteritidis มากถึงร้อยละ 70.59 ทั้งนี้โดยทั่วไปเชื้อ *Salmonella* spp. จะอาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลื้อยคลาน สาเหตุของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. อาจเกิดขึ้นในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ ตั้งแต่กระบวนการเลี้ยงสัตว์ในฟาร์ม กระบวนการชำแหละที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ขาดความระมัดระวังในการนำเครื่องในออกจากเนื้อสัตว์ ทำให้มีมูลสัตว์มาสัมผัสกับเนื้อ การใช้เครื่องมือ มีด เขียงที่สกปรก หรือขาดความเอาใจใส่ทำความสะอาด น้ำที่ใช้ในกระบวนการเลี้ยงสัตว์ และน้ำที่ใช้ในโรงฆ่าสัตว์ไม่มีความสะอาดที่เพียงพอทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อ (เดชา สิทธิกุล และสรรพชญ อังกิติตระกูล, 2554) โดยผลจากการศึกษาในครั้งนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ นุศรา ยินยอม และคณะ (2561) ซึ่งได้ทำการศึกษการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์จากสถานที่จำหน่ายในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ในจังหวัดกำแพงเพชร ตาก นครสวรรค์ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ สุโขทัย อุตรดิตถ์ และอุทัยธานี ระหว่างปี 2560 และ 2561 พบว่าในปี 2560 มีความชุกของการปนเปื้อน *Salmonella* spp. ร้อยละ 36.97 และในปี 2561 มีความชุกของการปนเปื้อน *Salmonella* spp. ร้อยละ 32.59 ทั้งนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Siriken et al. (2020) ที่ได้ทำการศึกษาความชุก และการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Salmonella* Enteritidis และ *Salmonella* Typhimurium ในตัวอย่างเนื้อบดจำนวน 50 ตัวอย่าง และลูกชิ้น 50 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในรัฐซิมชัน ประเทศตุรกี โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิม ร่วมกับเทคนิค PCR และทำการทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่แยกได้กับยาปฏิชีวนะ 9 ชนิด ซึ่งเชื้อ *Salmonella* spp. ตรวจพบ (n = 20 ตัวอย่าง 86 ไอโซเลต) ในเนื้อบด 12 ตัวอย่าง และลูกชิ้น 8 ตัวอย่าง เชื้อ *S. Enteritidis* (n = 12 ตัวอย่าง 24 ไอโซเลต) *S. Typhimurium* (n = 3 ตัวอย่าง 6 ไอโซเลต) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุมาลี เลี่ยมทอง (2560) ซึ่งได้ทำการศึกษาความชุกของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่แยกจากเนื้อสัตว์ค้าปลีก ในอำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 172 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนทั้งหมด 116 ตัวอย่าง โดยมีค่าความชุก 74.6% ซึ่งจากการศึกษา ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ ที่วางจำหน่าย พบว่า *Salmonella* spp. มีค่าความชุกสูงสุด 75.0% ในตัวอย่างเนื้อหมู รองลงมาคือในตัวอย่างเนื้อไก่ 73.3 % และมีค่าความชุกต่ำสุดในตัวอย่างเนื้อวัว 51.9% ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แยกจากเนื้อสัตว์ในตลาดสดอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2566 จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว จากตลาดสด 3 แห่ง รวมทั้งสิ้น 27 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์ขั้น non selective enrichment ขั้นselective enrichment และ ขั้นselective plating พบเชื้อที่คาดว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 78 ไอโซเลต ตรวจยืนยันผลด้วย 1. วิธี conventional method ด้วยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) 2. การทดสอบทางชีวเคมีด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และอาหารเลี้ยงเชื้อ motility indole lysine medium (MIL) และ 3. การตรวจวิเคราะห์ทาง serological test ด้วยวิธี agglutination test โดยใช้ *Salmonella* polyvalent O-antigen A-I antiserum เพื่อยืนยันในระดับสกุล และ *Salmonella* polyvalent O-antigen group D เพื่อยืนยันในระดับซีโรไทป์ พบตัวอย่างเนื้อวัวมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. มากที่สุด ร้อยละ 88.89 รองลงมาคือเนื้อไก่พบปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 55.56 และเนื้อหมูพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ร้อยละ 44.44 ตามลำดับ โดยเมื่อตรวจยืนยันในระดับซีโรไทป์ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Enteritidis จากเนื้อวัว เนื้อไก่ และเนื้อหมู ที่ร้อยละ 66.67, 44.44 และ 22.22 ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

ในการตรวจวิเคราะห์เชื้อด้วยวิธี agglutination test ควรเพิ่มชนิดของ polyclonal antibody ให้มากขึ้น เพื่อเพิ่มระดับความน่าเชื่อถือของผลการทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก กองทุนอุดหนุนการทำโครงการวิจัย (Project) สำหรับนักศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ประจำปี 2566



เอกสารอ้างอิง

- ผาณพรรธน์ ศรีธาดา, นฤพล พร้อมขุนทด, สืบชาติ สัจจวาที, วิลาวรรณ บุตรกุล และดารณี นาคโอภาส. 2561. รายงานความชุกของการพบเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์จากตลาดสดพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยนเรศวร
- เดชา สิทธิกุล และสรพรเพญ อังกิตติตระกูล. 2554. ความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากสุกรซากสุกร น้ำใช้ และพนักงานฆ่าสัตว์ในโรงฆ่าสัตว์ในเขตจังหวัดขอนแก่น. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 21(1): 33-40.
- นุศรา ยินยอม, นฤพล พร้อมขุนทด, สืบชาติ สัจจวาที, วิลาวรรณ บุตรกุล, ดารณี นาคโอภาส และศิริวรรณ วิชัย. 2561. การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์จากสถานที่จำหน่าย ในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- บัณฑูรย์ ตระการวีระเดช. 2550. ตอนที่ 2 การปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในโรงฆ่าสัตว์. ค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2665, จาก Available:<http://th.merial.com/pdf/salmonella2.pdf>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2556. Food Network Solution ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร. ค้นเมื่อ 27 พฤศจิกายน 2565, จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1123/salmonella>.
- เพ็ญนภา มัธยมพงศ์. 2551. การลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในโรงฆ่าสัตว์ปีก. ธุรกิจอาหารสัตว์.ก.ค.-ส.ค. 2551. 25(121): 36-45.
- มารุต เชียงเถียร, สุภานันท์ บุญญกาญจน์ และปราโมทย์ ศรีสังข์. 2552. การศึกษาสถานะของเชื้อซัลโมเนลลาของโรงฆ่าสัตว์ภายในประเทศ ปี 2549-2551. ค้นเมื่อ 27 พฤศจิกายน 2565, จาก <https://certify.dld.go.th/certify/images/research/a24NewCorrected.doc>
- ยุทธพงษ์ ศรีมงคล, สมเกียรติ ทองเล็ก, จุฑารัตน์ ศรีณภู, สถาพร เทียมพูล, ปัญญากร เหลลาลา และ เพ็ญ ผกาศรี. 2555. การสอบสวนการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากการรับประทานเนื้อหมูปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* group B อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว วันที่ 30 สิงหาคม – 4 กันยายน 2554. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำปีสถาบัน 2555. 43: 161- 169.
- สมาลี เลี่ยมทอง. 2559. ความชุกของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกจากเนื้อสัตว์ค้าปลีกในอำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช. วารสารวิชามหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช. 1(36): 72-85.
- Galton, M.M., Morris, G.K. and Martin, W.T. 1968. *Salmonella* in foods and feeds review of Isolation methods and recommended procedures. US Department of Health, Education, and Welfare.
- Gomez, T.M., Motarjemi, Y., Miyagawa, S., Kaferstein, F.K. and Stohr, K. 1997. Foodborne salmonellosis. World Health Stat 1997(50): 81-9.
- Lee, K., Runyon, M., Herman, T., Phillips, R. and Hsieh, J. 2015. Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Journal Food Control*. 47: 264-276.
- Mead, P.S., Slutsker, D.V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapio, C., Griffin, P.M. and Teuxe, R.V. 1999. Food-Related Illness and Death in the United States. *Emerg Infect*. 5(5): 607-625.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Winddowson, A., Roy, S.L., Jones, J.L. and Griffin, P. 2011. Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. *Emerging Infection Disease*. 17(1): 7-15.
- Siriken, B., Al, G. and Erol, I. 2020. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in Ground Beef and Meatball Samples in Samsun, Turkey [Abstract]. *Microbial Drug Resistance*. 26(2): 136



World Health Organization (1988). Salmonellosis control: the role of animal and product hygiene, World Health Organization technical report series, 774,1-83.