



วารสารอาหารและยา
ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 (2568): มกราคม – เมษายน
<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/fdajournal/index>

THAI FOOD AND DRUG JOURNAL
Vol. 32 No. 1 (2025): January – April



การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในตัวอย่างเนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว ที่วางจำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้า เขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ด้วยวิธีทางชีวเคมี และเทคนิค Conventional PCR

สันติราช ทองภู¹ ปิยะพงษ์ ชูมศรี¹ ฉันทนา เคนศรี¹ ศศิวิมล โสภาว์วัฒน์¹ นครินทร์ คำสุนันท์¹ พชรชัย พรธชา² ชลธิชา จินาพร¹

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ²ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย

ที่อยู่ติดต่อ: ชลธิชา จินาพร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย 234 ถนนเลย-เชียงคาน ตำบลเมือง อำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย 42000 chontichar_jj@hotmail.com

Detection of *Salmonella* spp. and *Salmonella* enteritidis in Pork, Chicken, and Beef from Supermarkets in Mueang Loei District, Loei Province by Biochemical Test and Conventional PCR Techniques

Santirat Thongphu¹, Piyapong Choomsri¹, Chantana Khensri¹, Sasiwimon Sopawat¹, Nakarin khamsunan¹, Patcharee Pansa², Chontichar Jinapon¹

¹Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University. ²Science Center, Loei Rajabhat University, Loei.

Contact address: Chontichar Jinapon, Department of Science, Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University, 234 Loei- Chiang Khan Road, Tambon Maueng, Loei, 42000, Thailand, chontichar.jin@lru.ac.th

Received: 8 June 2024, Revised: 14 September 2024, Accepted: 18 October 2024

Abstract

Background: Salmonellosis is a significant public health concern caused by *Salmonella* spp., commonly found in the environment, water, and food ingredients.

Objectives: To analyze the contamination of *Salmonella* spp. and *Salmonella* Enteritidis in meat samples obtained from supermarkets in Mueang Loei District, Loei Province, between April and August 2023.

Methods: A random sample of 300 grams of meat was collected from 3 supermarkets, including pork, chicken, and beef. Samples were collected three times (April, June, and

August), totaling 27 samples. Analysis included nonselective enrichment, selective enrichment, and selective plating. Confirmation involved: 1. Conventional method with Gram's staining, 2. Biochemical tests using triple sugar iron agar (TSI) and motility indole lysine medium (MIL), and 3. Conventional Polymerase Chain Reaction (cPCR) for genus and serovar confirmation.

Results: From a total of 27 meat samples, 81 isolates of bacteria suspected to be *Salmonella* spp. were identified. Among these, confirmation tests revealed contamination with *Salmonella* spp. in 8 isolates (9.88%) of chicken meat samples. Upon further confirmation at the serovar level, 7 isolates (8.64%) were identified as *S. Enteritidis*. The study results indicate that the type of meat significantly affects the contamination levels of *Salmonella* spp. and *S. Enteritidis*, with statistical significance ($p < 0.05$).

Conclusions: In this study, *Salmonella* spp. was found from chicken samples and most of these isolates were confirmed to be *S. enteritidis*.

Keywords: *salmonella* spp., *S. enteritidis*, biochemical test, conventional PCR, raw meat

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: โรคติดเชื้อซาลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) เป็นหนึ่งในโรคติดต่อทางเดินอาหารที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุข โดยมีสาเหตุมาจากเชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) ซึ่งพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม แหล่งน้ำ และวัตถุดิบที่ใช้ประกอบอาหาร

วัตถุประสงค์: เป็นการตรวจวิเคราะห์เพื่อสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แยกจากตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้า เขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย

วิธีการวิจัย: เก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์แบบสุ่ม ตัวอย่างละ 300 กรัม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว จากห้างสรรพสินค้า 3 แห่ง จำนวน 3 ครั้ง (เดือน เมษายน มิถุนายน และสิงหาคม) รวมทั้งสิ้น 27 ตัวอย่าง จากการตรวจวิเคราะห์ขั้น non selective enrichment ขั้น selective enrichment และขั้น selective plating ทำการตรวจยืนยันผลด้วย 1. วิธี conventional method โดยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) 2. การทดสอบทางชีวเคมีด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ triple sugar iron agar (TSI) และ motility indole lysine medium (MIL) และ 3. การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค conventional Polymerase Chain Reaction (cPCR) เพื่อยืนยันในระดับสกุล และระดับซีโรวาร์

ผลการศึกษา: จากเนื้อสัตว์จำนวน 27 ตัวอย่าง พบเชื้อที่คาดว่าจะเป็ *Salmonella* spp. ได้ 81 isolates โดยในจำนวนนี้ได้ทำการตรวจยืนยัน พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. เฉพาะในตัวอย่าง เนื้อไก่จำนวน 8 isolates (ร้อยละ 9.88) เมื่อตรวจยืนยันในระดับซีโรวาร์ พบเป็นเชื้อ *S. Enteritidis* จำนวน 7 isolates (ร้อยละ 8.64) ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าประเภทของเนื้อสัตว์แต่ละชนิดมีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และเชื้อ *S. Enteritidis* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุป: การศึกษาในครั้งนี้พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างเนื้อไก่ โดยเมื่อวิเคราะห์ในระดับซีโรวาร์ พบส่วนใหญ่เป็น *S. Enteritidis*

คำสำคัญ: ซาลโมเนลลา ห้างสรรพสินค้า วิธีทางชีวเคมี ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ส เนื้อสัตว์

บทนำ

การบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้บ่อยครั้ง โดยอาจมีสาเหตุจากสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นหรือจากการติดเชื้อแบคทีเรียโดยตรง¹ ซึ่งโรค Salmonellosis เป็นโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Salmonella enterica* กลุ่ม Non-typhoidal ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษและท้องร่วงอย่างรุนแรง เนื่องมาจากสารพิษที่เชื้อ *Salmonella* สร้างขึ้น (Endotoxin, Cytotoxin และ Enterotoxin) โดยเชื้อ *Salmonella* เป็นเชื้อที่มีจำนวนซีโรวาร์ (serovars) มากกว่า 2,579 ซีโรวาร์² สามารถอยู่ได้ทั้งในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคลาน เมื่อเกิดการปนเปื้อนของอุจจาระสู่สิ่งแวดล้อม จึงสามารถแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมได้เป็นวงกว้าง ทั้งในแหล่งน้ำ ดิน แปลงเพาะปลูก ฟาร์มปศุสัตว์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการฆ่าและสัตว์ที่ไม่ได้มาตรฐานมักทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหารของสัตว์แพร่กระจายและปนเปื้อนไปยังผิวหนังและเนื้อสัตว์ส่วนต่าง ๆ ซึ่งเนื้อสัตว์ประเภท เนื้อไก่ เนื้อวัว และเนื้อหมู จัดเป็นแหล่งโปรตีนสำคัญที่นิยมบริโภค

มากที่สุดทั่วโลก อย่างไรก็ตาม เนื้อไก่ถือเป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* มากที่สุด (ร้อยละ 29) โดยซีโรวาร์ที่สำคัญ พบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีกที่มากที่สุดคือ *Salmonella* Enteritidis³⁻⁴

ในปี พ.ศ. 2563 กระทรวงสาธารณสุข โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้ออกประกาศ กระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) ซึ่งออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหาร ด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค โดยผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์แช่เย็น และแช่แข็ง น้ำหนัก 25g จะต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp.⁵ ซึ่งข้อกำหนดดังกล่าวเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับประกาศของกรมปศุสัตว์ เรื่องเกณฑ์ด้านจุลชีววิทยาของสินค้าปศุสัตว์เพื่อการส่งออก ลงวันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2551 โดยกำหนดมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของเนื้อสัตว์แช่เย็นและแช่แข็ง ในตัวอย่างน้ำหนัก 25g จะต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp.⁶ สำหรับประเทศไทยนั้น กองอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้กำหนดวิธีการตรวจ

วิเคราะห์ทางวิชาการ สำหรับเชื้อ *Salmonella* spp. โดยให้เป็นไปตาม ISO 6579-1: Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1 Detection of *Salmonella* spp.⁵

จากการทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ยังไม่พบการศึกษาเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้า เขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่มีการจำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้าเขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ด้วยเทคนิคทางชีวเคมีร่วมกับเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งเป็นการตรวจวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็ว และความแม่นยำสูง เหมาะกับการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่แต่ละซีโรวาร์มีความสามารถทางชีวเคมีและลักษณะทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันมาก⁷ โดยข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลแก่ผู้บริโภคในการตัดสินใจเลือกซื้อเนื้อสัตว์ และใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการเฝ้าระวังการปนเชื้อของ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในเนื้อสัตว์ได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้า เขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย

ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์ (analytical research) ดำเนินการศึกษาระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2566

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา คือ ห้างสรรพสินค้าขนาดใหญ่ ในเขตพื้นที่อำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ซึ่งมีจำนวนทั้งสิ้น 3 แห่ง โดยเป็นห้างที่ได้มาตรฐาน และเป็นแหล่งจำหน่ายเนื้อสัตว์ที่ประชาชนนิยมซื้อเพื่อนำไปบริโภค ทำการเก็บตัวอย่างจากทั้ง 3 ห้าง แบบเฉพาะเจาะจง (purposive sampling) และสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์ 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว ตัวอย่างละ 300 g ชนิดละ 3 ตัวอย่าง จำนวน 3 ครั้ง (ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน และครั้งที่ 3 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2567 โดยช่วงเดือนดังกล่าวเป็นช่วงเวลาที่ประเทศไทยมีอุณหภูมิและความชื้นสูงตามฤดูกาล) รวมทั้งสิ้น 27 ตัวอย่าง ตามวิธีการของ Bacteriological Analytical Manual (BAM)⁸ โดยมีรายละเอียดในการเก็บตัวอย่างดังนี้

1. เนื้อหมูและไก่ ลักษณะเป็นเนื้อสัตว์แช่เย็น สุ่มเก็บตัวอย่างจากเนื้อสัตว์แบบตักชั่งกิโลที่วางจำหน่ายบนถาดสเตนเลสทำความสะอาดแบบเปิดโล่งภายในแผนกซูเปอร์มาร์เก็ต โดยทั้ง 3 ห้างไม่มีการระบุข้อมูล ยี่ห้อ/แหล่งของฟาร์ม ทำการเก็บครั้งละ 1 ตัวอย่าง/ห้าง

2. เนื้อวัว ลักษณะเป็นเนื้อสัตว์แช่แข็งนำเข้าจากต่างประเทศ สุ่มเก็บตัวอย่างจากเนื้อวัวที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 °C โดยทั้ง 3 ห้าง วางจำหน่ายคนละยี่ห้อ ทำการเก็บครั้งละ 1 ตัวอย่าง/ห้าง

ติดฉลากข้อมูลพร้อมบรรจุลงในกล่อง เก็บความเย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 °C แล้วจึง นำกลับมาตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. ในห้องปฏิบัติการภายใน 4-6 ชั่วโมง

การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. จาก ตัวอย่างเนื้อสัตว์

1. การตรวจวิเคราะห์ขั้น Non selective pre-enrichment ซึ่งตัวอย่าง 25 g ใส่ใน tryptic soy broth (TSB) ปริมาตร 225 ml จะได้ระดับ ความเจือจางที่ 10^{-1} และเขย่าผสมให้เข้ากันเป็น เวลา 2 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง⁹

2. การตรวจวิเคราะห์ขั้น Selective enrichment นำเชื้อที่ผ่านการเพิ่มจำนวนใน non selective pre-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

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 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการคัดเลือกโคโลนี ที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp. โดยทั่วไป เชื้อ *Salmonella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Salmonella*-Shigella agar จะเกิดโคโลนีสีดำ ตรงกลาง 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

การตรวจยืนยันยัณผล (confirmation test)

1. การย้อมสีแกรม (Gram's staining) เพื่อตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเชื้อ หยดน้ำลงบนแผ่นสไลด์ 1-2 หยด เชื้อเชื้อที่ต้องการ smear ลงบนสไลด์แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟพอให้อุ่น เพื่อเป็นการตรึงเชื้อ (fix) ให้ติดแน่นกับสไลด์ หยดสี crystal violet ให้ทั่วม รอย smear นาน 1 นาที เชะสไลด์ด้วยน้ำกลั นหยดสารละลาย iodine นาน 1 นาที เชะสไลด์ด้วย น้ำกลั น เทสีทิ้ง หยด 95% ethyl alcohol ทิ้งไว้ นาน 20 วินาที เชะสไลด์ด้วยน้ำกลั น และหยด safranin นาน 30 วินาที เชะสไลด์ด้วยน้ำกลั น และนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

2. การทดสอบเพื่อยืนยันด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี (Biochemical test)

2.1 การทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple sugar iron agar (TSI) นำเชื้อมาทดสอบ โดยใช้ needle streak ลงที่ผิวหน้าของหลอดอาหาร slant จากนั้นจึงทำการแทง (stab) ลงสู่ส่วนล่าง ของหลอดอาหาร (butt) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารที่บริเวณ slant และก้นหลอด (butt) โดย เชื้อ *Salmonella* spp. แผลผลได้ดังนี้ Slant (K), Butt (A), G (+) และ H₂S (+)

2.2 การทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Motility lysine indole medium (MIL) โดย stab เชื้อทดสอบลงไป ในอาหาร MIL บ่มที่อุณหภูมิ

35 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลาย Kovac's reagent ลงบนผิวหน้าอาหาร 0.2 - 0.3 ml แล้วสังเกตการเกิดวงแหวนสีแดง โดยเชื้อ *Salmonella* spp. ให้ผลเป็นลบ เนื่องจากไม่สามารถสร้างสารอินโดล (indole) จากกรดอะมิโน tryptophan ได้ เมื่อหยดสารละลาย Kovac's reagent ลงไปในหลอดอาหารจึงไม่เกิดวงแหวนสีแดง และดูความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อที่แพร่กระจายออกจากรอย stab ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ว่าเชื้อมีแฟลกเจลลัม (flagella) โดยเชื้อ *Salmonella* spp. ให้ผลเป็นบวก

3. การตรวจสอบทางชีววิทยาโมเลกุลด้วยเทคนิค Conventional Polymerase Chain Reaction

3.1 การสกัด DNA จากเชื้อ *Salmonella* spp. นำเชื้อที่ผ่านการทดสอบทางชีวเคมีมา restreak บนอาหาร nutrient บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเชื้อมาละลายในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 200 µl และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex mixer จากนั้นบ่มเชื้อในเครื่อง water bath ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นระยะเวลา 10 นาที และตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 g เป็นเวลา 2 นาที ดูดสารละลาย DNA ใส่ไว้ใน microcentrifuge tube จากนั้นวัดค่าปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารละลาย DNA ด้วยเครื่อง nanodrop spectrophotometer และเก็บรักษา DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอการทดสอบในขั้นตอนต่อไป¹⁰

3.2 ปฏิกริยา PCR การตรวจเพื่อยืนยันชนิดของเชื้อโดยใช้ Primers ที่มีความจำเพาะ

ต่อยีน *Inv-A* (796 bp) ซึ่งประกอบไปด้วย Forward primers (*Inv-AF* 5'-CGGTGGTTTTAAGCGTACTCTT-3') และ Reverse primers (*Inv-AR* 5'-CGAATATGCTCC ACAAGGTTA -3')¹¹ และ Primers ที่มีความจำเพาะต่อยีน *IE-1* (316 bp) ซึ่งประกอบไปด้วย Forward primers (*IE-1F* 5'-AGTGCCATACTTTTAATGAC-3') และ Reverse primers (*IE-1R* 5'-ACTATGTCGATACGGTGG G-3') โดยจำเพาะต่อเชื้อ *Salmonella Enteritidis*⁵ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ 90 V เป็นเวลา 70 นาที และตรวจสอบขนาดของผลผลิต PCR ภายใต้แสง ultraviolet โดยเทียบกับขนาดของ DNA มาตรฐาน (standard DNA ladder marker)

การวิเคราะห์ผล

นำผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับมาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) ซึ่งออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค โดยผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์แช่เย็น และแช่แข็ง น้ำหนัก 25 g จะต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp.⁵

ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ใช้หลักการวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อวิเคราะห์ผลของการวิจัยโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาเพื่อหาค่าความถี่ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ Chi-square Test ในช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 (95% confidence intervals)

ผลการศึกษา

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างเนื้อสัตว์จำนวนทั้งหมด 27 ตัวอย่าง จากเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิดได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว โดยจากผลการศึกษาในขั้นตอน selective diagnostic isolation บนอาหาร Brilliant green bile agar และ *Salmonella-Shigella agar* ได้ทำการคัดเลือกโคโลนีที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp. ตัวอย่างละ 3 isolates จาก 27 ตัวอย่าง รวมจำนวนทั้งหมด 81 isolates และนำมาทำการตรวจสอบลักษณะทาง

สัณฐานวิทยาด้วย Gram's staining การทดสอบทางชีวเคมีด้วย Triple sugar iron test และการทดสอบ Motility indole lysine test พบเชื้อที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp. จำนวนทั้งหมด 22 isolates แล้วจึงนำไปตรวจสอบทางชีวโมเลกุลด้วยเทคนิค PCR เพื่อยืนยันในระดับชนิดและ Serovar ผลการศึกษา พบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 8 isolates (ร้อยละ 9.88) ดังตารางที่ 1 และในจำนวนนี้พบเป็เชื้อ *S. Enteritidis* จำนวน 7 isolates (ร้อยละ 8.64) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ที่พบในตัวอย่างเนื้อสัตว์จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR

ห้วงสรรพสินค้า	เนื้อสัตว์	จำนวนของตัวอย่างที่เก็บในแต่ละครั้ง			จำนวน <i>Salmonella</i> spp. (isolates)	รวม (isolates)	ความชุก (%)
		1	2	3			
1	เนื้อหมู	0	0	0	0	0/27*	0
	เนื้อไก่	0	0	0	0		
	เนื้อวัว	0	0	0	0		
2	เนื้อหมู	0	0	0	0	5/27*	18.52
	เนื้อไก่	2	0	3	5		
	เนื้อวัว	0	0	0	0		
3	เนื้อหมู	0	0	0	0	3/27*	11.11
	เนื้อไก่	0	1	2	3		
	เนื้อวัว	0	0	0	0		
รวม						8/81*	9.88

หมายเหตุ: * หมายถึงจำนวนเชื้อที่แยกจากตัวอย่างในการเก็บแต่ละครั้ง และคาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp.

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ที่พบในตัวอย่างจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR

ห้างสรรพสินค้า	เนื้อสัตว์	จำนวนของตัวอย่างที่เก็บ ในแต่ละครั้ง			จำนวน <i>S. Enteritidis</i> (isolates)	รวม (isolates)	ความชุก (%)
		1	2	3			
1	เนื้อหมู	0	0	0	0	0/27*	0
	เนื้อไก่	0	0	0	0		
	เนื้อวัว	0	0	0	0		
2	เนื้อหมู	0	0	0	0	4/27*	14.81
	เนื้อไก่	2	0	2	4		
	เนื้อวัว	0	0	0	0		
3	เนื้อหมู	0	0	0	0	3/27*	11.11
	เนื้อไก่	0	1	2	3		
	เนื้อวัว	0	0	0	0		
รวม						7/81*	8.64

หมายเหตุ: * หมายถึงจำนวนเชื้อที่แยกจากตัวอย่างในการเก็บแต่ละครั้ง และคาดว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp.

สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนาเพื่อหาค่าความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติเชิงอนุมานเพื่อใช้เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ของชนิดตัวอย่าง (เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว) ห้างสรรพสินค้า ทั้ง 3 แห่ง และรอบเดือนที่เก็บตัวอย่าง 3 เดือน ซึ่งในส่วนของสถิติที่ใช้ในการทดสอบคือ Chisquare Test เมื่อทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างชนิดของเนื้อสัตว์ ห้างสรรพสินค้า

ทั้ง 3 แห่ง และรอบเดือนที่เก็บตัวอย่าง พบว่าเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ที่พบในเนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 3

แต่หากวิเคราะห์สถานที่เก็บตัวอย่าง ห้างสรรพสินค้าทั้ง 3 แห่ง และช่วงเวลาเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง (เมษายน มิถุนายน และสิงหาคม) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4 และ 5

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

ตัวอย่าง	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวน isolates ที่ทดสอบ	ความชุก (%)	χ^2	P-Value	จำนวน isolates ที่ทดสอบ	ความชุก (%)	χ^2	P-Value
เนื้อหมู	27	0	17.753	< 0.001	27	0	15.324	< 0.001
เนื้อไก่	27	29.629			27	25.925		
เนื้อวัว	27	0			27	0		

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จากห้างสรรพสินค้า ทั้ง 3 แห่ง

ห้างสรรพสินค้า	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวน isolates ที่ทดสอบ	ความชุก (%)	χ^2	P-Value	จำนวน isolates ที่ทดสอบ	ความชุก (%)	χ^2	P-Value
1	27	0	5.271	0.075	27	0	4.066	0.131
2	27	18.518			27	14.814		
3	27	11.111			27	11.111		

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในแต่ละรอบเดือน ที่เก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์

เดือน	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Salmonella</i> Enteritidis			
	จำนวน isolates ที่ทดสอบ	ความชุก (%)	χ^2	P-Value	จำนวน isolates ที่ทดสอบ	ความชุก (%)	χ^2	P-Value
เมษายน	27	7.407	3.606	0.165	27	7.407	2.189	0.335
มิถุนายน	27	3.703			27	3.703		
สิงหาคม	27	18.518			27	14.814		

หมายเหตุ * คือ p -value < 0.05

อภิปรายผล

จากการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. จากตัวอย่างของเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว ศึกษาด้วยวิธี Conventional method ซึ่งประกอบไปด้วยการ Non-selective pre-enrichment โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อใน Trypticase soya broth (TSB) แล้วนำมา Selective enrichment ในอาหาร Tetrathionate broth (TT) และ Rappaport vassiliadis soya broth (RVS) จากนั้นนำไป Selective diagnosis isolation บนอาหาร *Salmonella-Shigella* agar (SS) และ Brilliant green agar (BGA) ซึ่งสามารถคัดแยกเชื้อได้จำนวน 81 isolates แล้วจึงตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโดยวิธี Gram's staining และทดสอบการ Metabolize สารเพื่อดำรงชีวิตของเชื้อหรือการทดสอบทางชีวเคมี

ได้แก่ Triple sugar iron (TSI) test และ Motility indole lysine (MIL) test เพื่อเป็นการคัดแยกเชื้อเบื้องต้นที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Salmonella* spp. ได้จำนวน 22 isolates และนำมาตรวจสอบเพื่อยืนยันเชื้อด้วยเทคนิค Conventional Polymerase Chain Reaction ซึ่งจากการทดสอบนี้จะสามารถยืนยันได้ว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. จากการที่เชื้อมียีน Invasion protein A หรือ *Inv-A*¹¹ ที่จำเพาะกับ Primer *Inv-A* forward และ *Inv-A* reverse ซึ่งพบเชื้อจำนวน 8 isolates เมื่อนำไปวิเคราะห์ในระดับซีโรวาร์ โดยตรวจวิเคราะห์ยีน Insertion element หรือ *IE-1* ที่จำเพาะกับ Primer *IE-1* forward และ *IE-1* reverse พบเชื้อ *S. Enteritidis* จำนวน 7 isolates โดยทุก isolate เป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ จึงทำให้ตัวอย่างเนื้อไก่ที่พบเชื้อ *Salmonella* spp. และ

S. Enteritidis ไม่ผ่านมาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) ที่กำหนดให้ การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อสัตว์แช่เย็น/แช่แข็ง น้ำหนัก 25g ต้องไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ซึ่งไก่และผลิตภัณฑ์จากไก่ถือเป็นวัตถุดิบหลักที่สามารถพบเชื้อ S. Enteritidis มากที่สุดทั่วโลก¹²⁻¹⁴ โดย S. Enteritidis เป็นกลุ่ม Non-typhoidal *Salmonella* ซึ่งเป็นเชื้อที่ไม่เลือกโฮสต์และสามารถปรับตัวตามโฮสต์ได้ดี และมีคุณสมบัติที่เป็น Zoonosis เนื่องจากสามารถเข้าสู่ร่างกายสัตว์โดยที่ อาจไม่แสดงอาการ เมื่อมนุษย์นำสัตว์เหล่านั้นมา บริโภค จึงมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรค Salmonellosis¹⁵ โดยหากได้รับเชื้อปริมาณเพียง 10^8 - 10^9 เซลล์ ก็อาจเกิดโรค Salmonellosis ได้³ อย่างไรก็ตาม แม้ตัวอย่างเนื้อไก่ในการศึกษาครั้งนี้จะพบการปนเปื้อนของทั้งเชื้อ *Salmonella* spp. และ S. Enteritidis แต่ผู้บริโภคสามารถลดความเสี่ยง ในการเกิดโรค Salmonellosis ได้ โดยการปรุงสุก ที่ความร้อน 64 °C เป็นเวลา 1 นาที ขึ้นไป เพื่อลด ปริมาณเชื้อและลดโอกาสในการเกิดโรคดังกล่าว¹⁶

ผลการศึกษาในครั้งนี้อาจมีหลายปัจจัย ที่ส่งผลต่อโอกาสในการพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ S. Enteritidis ในเนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว โดยเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 3 เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของ การเก็บรักษาเนื้อสัตว์แต่ละประเภทจะพบว่า ห้างสรรพสินค้ามักจะเก็บรักษาเนื้อไก่ในอุณหภูมิ ที่สูงกว่า เนื้อหมู และเนื้อวัว ซึ่งโดยทั่วไปเนื้อไก่ จะถูกวางจำหน่ายบนถาดสเตนเลสทำความเย็น แต่อุณหภูมิดังกล่าวอาจไม่ใช่อุณหภูมิที่ต่ำมากพอ ที่จะชะลอหรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อได้ โดยการศึกษาครั้งนี้จะพบตัวอย่างเนื้อไก่ ที่มีน้ำ และเลือดปะปนมาด้วย ในขณะที่เนื้อหมูแม้จะวาง

จำหน่ายบนถาดสเตนเลสทำความเย็นเช่นเดียวกับ เนื้อไก่ แต่จากการสังเกต ในขณะที่ดำเนินการ เก็บตัวอย่าง พบว่าเนื้อหมูมีความแข็งตัวและ มีอุณหภูมิต่ำ เนื่องจากน้ำแข็งที่เกาะภายในและ ภายนอกเนื้อหมูยังไม่ละลาย จึงอาจเป็นปัจจัยที่ช่วย คงอุณหภูมิของเนื้อหมูให้อยู่ในช่วงที่ไม่เหมาะสม ต่อการเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. (ต่ำกว่า 4 °C)³ ในขณะที่เนื้อวัวทุกตัวอย่างเป็นเนื้อวัว นำเข้าจากต่างประเทศ จึงมีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C ตลอดเวลา เมื่อวิเคราะห์สถานที่เก็บตัวอย่าง ห้างสรรพสินค้าทั้ง 3 แห่ง และช่วงเวลาเก็บ ตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง (เมษายน มิถุนายน และสิงหาคม) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4 และ 5 จึงอาจกล่าวได้ว่าสถานที่ และช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง ไม่มีผลต่อการพบ การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ S. Enteritidis ที่แตกต่างกันในเนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการ เก็บตัวอย่างชนิดของเนื้อสัตว์ ต่อครั้งและสถานที่ รวม 27 ตัวอย่าง โดยจำนวนตัวอย่างดังกล่าว อาจส่งผลต่อโอกาสในการพบเชื้อ *Salmonella* spp. และ S. Enteritidis ซึ่งหากมีการศึกษาโดยเพิ่ม จำนวนเนื้อสัตว์ จำนวนครั้งที่เก็บ และสถานที่ ให้มากขึ้น อาจส่งผลต่อโอกาสในการพบเชื้อ *Salmonella* spp. และ S. Enteritidis ที่สูงขึ้นได้

ซึ่งการศึกษานี้ สอดคล้องกับงานวิจัย ของอังสุมา แก้วคต และคณะ¹⁷ ที่ได้ทำการศึกษา การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อไก่ ที่วางจำหน่ายในตลาด 2 ประเภทคือ ตลาดสด และห้างสรรพสินค้า โดยใช้วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิ เมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) จำนวนทั้งหมด 30 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นสุ่มจาก ตลาดสดจำนวน 15 ตัวอย่าง และห้างสรรพสินค้า จำนวน 15 ตัวอย่าง ซึ่งการตรวจสอบหาเชื้อ

Salmonella spp. มียื่นเป้าหมายคือยีน *Inv-A* และจากผลการศึกษาพบว่าประเภทของตลาด มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อไก่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 10 ตัวอย่างจากทั้งหมด 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 66.67 ในขณะที่เนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 3 ตัวอย่างจากทั้งหมด 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20 และยังมีผลการศึกษาที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ สุมาลี เลี่ยมทอง¹⁸ ที่ได้ทำการศึกษาเพื่อหาความชุกของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ค้าปลีกที่วางจำหน่ายในตลาดสดและห้างสรรพสินค้าในอำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ซึ่งผลการศึกษาพบว่า จากจำนวนตัวอย่างเนื้อสัตว์ค้าปลีก 172 ตัวอย่าง มีเนื้อสัตว์ที่ปนเปื้อนจำนวน 116 ตัวอย่าง (ร้อยละ 67.4) โดยมีค่าความชุกของเชื้อในเนื้อสัตว์จากตลาดสด ร้อยละ 74.6 และในเนื้อสัตว์จากห้างสรรพสินค้า ร้อยละ 59.8 ค่าความชุกของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดมีค่าสูงกว่าร้อยละ 50 โดยในเนื้อหมู เนื้อไก่ และเนื้อวัว มีค่าเท่ากับร้อยละ 75, 73.3 และ 51.9 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาวิธีการตรวจวิเคราะห์แบบดั้งเดิม (conventional methods) ที่นิยมทำร่วมกับวิธีทางชีวเคมี ซึ่งใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ 1 - 2 สัปดาห์ และมีความแม่นยำที่ค่อนข้างต่ำหรือวิธี slide agglutination ซึ่งแม้จะเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เพราะมีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยากและให้ผลการทดสอบที่รวดเร็ว แต่เป็นวิธีที่เกิดปฏิกิริยา cross-reaction ได้บ่อย เนื่องจากเป็นการใช้ polyclonal antibodies ซึ่งจับกับ

อีพิโทป (epitope) ของเชื้อได้หลากหลายตำแหน่ง ส่วนวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) แม้จะเป็นวิธีทดสอบที่ให้ความแม่นยำสูง เพราะใช้ monoclonal antibody ที่จำเพาะต่ออีพิโทปของเชื้อเพียงอีพิโทปเดียวเท่านั้น จึงไม่เกิดปฏิกิริยา cross-reaction แต่ ELISA เป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากในคราวเดียว เพราะต้องใช้ไมโครเพลท 96 หลุมในการปฏิบัติงาน ดังนั้นจึงมีค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ที่สูงกว่าการตรวจด้วยวิธี Conventional PCR ซึ่งไม่จำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างคราวละมาก ๆ ในการศึกษาครั้งนี้การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ด้วยวิธีทางชีวเคมี และเทคนิค conventional PCR ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่วางจำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้าเขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ถือเป็นอีกวิธีในการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จาก *Salmonella* ซีโรวาร์อื่น ๆ และแบคทีเรียชนิดอื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งมีความไวและความจำเพาะที่สูงและสะดวกในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถใช้ในการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis ในเนื้อสัตว์ ทั้งยังเป็นข้อมูลทางเลือกในการตัดสินใจเพื่อบริโภคสินค้าและบริการได้

สรุปผล

จากการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Salmonella* Enteritidis จากเนื้อหมู ไก่ วัว ที่วางจำหน่ายภายในห้างสรรพสินค้า เขตอำเภอเมืองเลย จังหวัดเลย ระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2566 จำนวน 27 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อที่คาดว่าจะ

Salmonella spp. ได้ 81 isolates พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. เฉพาะในตัวอย่างเนื้อไก่จำนวน 8 isolates (ร้อยละ 9.88) เมื่อตรวจยืนยันในระดับซีโรวาร์ พบเป็นเชื้อ *S. Enteritidis* จำนวน 7 isolates (ร้อยละ 8.64) ไม่ผ่านมาตรฐานของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) ที่กำหนดให้การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อสัตว์แช่เย็น/แช่แข็ง น้ำหนัก 25 g ต้องไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. และจากผลการศึกษาพบว่าประเภทของเนื้อสัตว์แต่ละชนิดมีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และเชื้อ *S. Enteritidis* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.05) ในขณะที่สถานที่เก็บตัวอย่างห้างสรรพสินค้าทั้ง 3 แห่ง และช่วงเวลาเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง (เมษายน มิถุนายน และสิงหาคม) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพื่อระบุชนิดของเชื้อ *Salmonella* spp. ชนิดอื่น ๆ ที่ได้ทำการตรวจยืนยันจากเทคนิค conventional PCR เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลและการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* serovar ต่าง ๆ ต่อไป
2. ผู้จำหน่ายควรเก็บรักษาเนื้อสัตว์สำหรับการจำหน่ายไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อชะลอการเพิ่มจำนวนของเชื้อ ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาและความปลอดภัยในการบริโภคเนื้อสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก กองทุนอุดหนุนการทำโครงการวิจัย (Project) สำหรับนักศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ประจำปี 2566

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมโรค. อาหารเป็นพิษ (Food Poisoning) [อินเทอร์เน็ต]. นนทบุรี: กลุ่มระบาดวิทยาโรคติดต่อ; 2562 [เข้าถึงเมื่อ 11 ต.ค. 2567] เข้าถึงได้จาก: https://ddc.moph.go.th/disease_detail.php?d=10
2. Grimont PA, Weill FX. Antigenic formulae of the *Salmonella* Serovars [Internet]. 9th ed. Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur; 2007. [cited 2024 May 1]. Available from: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
3. ชลธิชา จินาพร. การพัฒนาเทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยาเพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนก *Salmonella* Enteritidis จาก *S. Typhimurium*, *S. Virchow* และ *S. Hadar* [วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2562.
4. Goodman LB, McDonough PL, Anderson RR, Franklin-Guild RJ, Ryan JR, Perkins GA, Thompson BS. Detection of *Salmonella* spp. in veterinary samples by combining selective enrichment and real-time PCR. J Vet Diagn Invest [Internet]. 2017 [cited 2024 May 20]; 29(6):844-851. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28862083/> doi: 10.1177/1040638717728315.
5. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2563 เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานหลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 137, ตอนพิเศษ 237 ง (ลงวันที่ 9 ตุลาคม 2563).

6. กรมปศุสัตว์. ประกาศกรมปศุสัตว์ พ.ศ. 2551 เรื่อง เกณฑ์ด้านจุลชีววิทยาของสินค้าปศุสัตว์เพื่อการส่งออก [เข้าถึงเมื่อ 11 ต.ค. 2567]. (ลงวันที่ 30 ธันวาคม 2551). เข้าถึงได้จาก: <https://qcontrol.dld.go.th/images/stories/law/micro2551.pdf>
7. Jinapon C, Wangman P, Pengsuk C, Chaivisuthangkura P, Sithigorngul P, Longyant S. Development of monoclonal antibodies for the rapid detection and identification of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis in food sample using dot-blot assays. J Food Saf [Internet]. 2020 [cited 2024 Apr 15]; 40: 1-11. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfs.12841> doi: <https://doi.org/10.1111/jfs.12841>
8. Andrews WH, Wang H, Ge B, Zhang G, Hammack T. Bacteriological Analytical Manual Chapter 5: Salmonella. U.S. Food and Drug Administration. May 2024 Edition. 2014.
9. Lee K, Runyon M, Herman T, Phillips R, Hsieh J. Review of Salmonella detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. Journal Food Control [Internet]. 2015 [cited 2024 Apr 2]; 47: 264-276. Available from: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-45c46920-4d5e-39b0-9011-5504ed740f87> doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.011>
10. Wang SJ, Yeh DB. Designing of polymerase chain reaction primers for the detection of *Salmonella* Enteritidis in foods and faecal samples. Lett Appl Microbiol [Internet]. 2002 [cited 2024 May 15]; 34(6):422-427. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12028423/> doi: 10.1046/j.1472-765X.2002.01114.x.
11. Fratamico P, Strobaugh T. Simultaneous detection of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157: H7 by multiplex PCR. J Ind Microbiol Biotech [Internet]. 1981 [cited 2024 Apr 15]; 21:92-98. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1038/sj.jim.2900520> doi: <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900520>
12. Colavita G. Igiene e tecnologie degli alimenti di origine animale. Veterinaria Italiana [Internet]. 2008 [cited 2024 May 1]; 44(3):561. Available from: https://www.izs.it/vet_italiana/2008/44_3/561.pdf
13. Andreoletti O, Budka H, Buncic S, Colin P, Collins J, De Koeijer A, Klein G. Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European commission on assessment of the public health significance of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. EFSAJ [Internet]. 2008 [cited 2024 May 15]; 993:1-73. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/765> doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.993>

14. De Felip G. Recenti sviluppi di igiene e microbiologia degli alimenti: Tecniche Nuove [Internet]. 2001 [cited 2024 Apr 2]. Available from: <https://www.libreriauniverso.it/articolo /54527/884811279x-recenti-sviluppi-igiene-e-microbiologia-alimenti-de-felip-tecniche-nuove>
15. Bangtrakulnonth A, Pornreongwong S, Pulsrikarn C, Sawanpanyalert P, Hendriksen RS, Wong DMLOF, Aarestrup F. Salmonella serovars from humans and other sources in Thailand, 1993–2002. Emerg Infect Dis [Internet]. 2004 [cited 2024 Mar 25];10(1):131. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15078609/> doi: 10.3201/eid1001.02-0781
16. บุญิกา จุลละโพธิ, ธนิตา หรินทรานนท์, ศุภชัย เนื่อนวลสุวรรณ. การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของแซลโมเนลลาในเนื้อไก่ จากผู้ค้าปลีกในตลาดสดถึงผู้บริโภค 2556 [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์กรมปศุสัตว์; 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 เม.ย. 2567]. เข้าถึงได้จาก: <https://certify.dld.go.th/certify/images/research/a23salmonella.pdf>
17. อังสุมา แก้วคต, อัจฉรา ขยัน, ชัยวัฒน์ บุญแก้ววรรณ, ทิพย์ระวี ดีบปาละ. การตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่จากตลาดสดและซูเปอร์มาเก็ตโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ส. วารสารแก่นเกษตร [อินเทอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 15 เม.ย. 2567]; (47)2:295-300. เข้าถึงได้จาก: https://kukr.lib.ku.ac.th/kukr_es/bkn/search_detail/result/400888
18. สุมาลี เลี่ยมทอง. ความชุกของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกจากเนื้อสัตว์ค้าปลีก ในอำเภอเมืองจังหวัดนครศรีธรรมราช. วารสารวิชชามหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช [อินเทอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 2 เม.ย. 2567]; 1(36):72-85. เข้าถึงได้จาก: <http://dspace.nstru.ac.th:8080/dspace/handle/123456789/2258>