วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.
KKU Veterinary Journal
ISSN 0858-2297

RESEARCH ARTICLE

Risk factors on contamination of *Streptococcus suis* in slaughterhouse in Maha Sarakham province

Topong Praserstsang[1*], Prapansak Cheveerach[2]

[1]*Master student of Veterinary Public health program, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002*
[2]*Division of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002*
[*]***Corresponding author*** *E-mail: topongprasert@gmail.com*

Received 9 April 2019, **Accepted** 25 June 2019, **Published** 31 July 2019

Abstract

Objective: This study aimed to determine the risk factors for *Streptococcus suis* (*S. suis*) contamination between registered and non-registered slaughterhouses located in Maha Sarakham province.

Materials and Methods: A total of five hundred samples were collected from pig tonsil, blood, and meat, as well as equipment and workers from five registered slaughterhouses and five non-registered slaughterhouses. *S. suis* were identified through cultivation with the conventional method and confirmed by PCR analysis. The questionnaires were filled out and observations were made in the slaughterhouses. The risk factors for the detection of S. suis were evaluated by the consideration of the following procedures used by each slaughterhouse; stunning, pork cut, carcass hanging, and meat dressing.

Results: Twenty samples (4%) out of 500 samples were found to be contaminated with S. suis. Among that, 18 were tonsil samples and two were samples collected from the equipment used in the slaughterhouses. In relation to types of slaughterhouses, 16 samples were retrieved from non-registered slaughterhouses whereas four samples were retrieved from the registered slaughterhouses. After PCR analysis, four isolates were identified as serotype II *S. suis* and 16 isolates were identified as serotype I. The risk factors for contamination with *Streptococcus* spp. and *S. suis* were both found to be significantly higher in non-registered slaughterhouses than those in registered slaughterhouses (Odds ratio = 1.44, CI=1.00 – 2.09, P < 0.04 and Odds ratio = 9.62, CI=2.20 - 41.91, P <0.002, respectively).

Conclusion: The risks of *Streptococcus* spp. and *Streptococcus suis* contamination were lower in registered slaughterhouses compared to non-registered slaughterhouses, However, consumers should beware and not encouraged to consume uncooked pork meat.

Keywords: Risk factors, *Streptococcus suis*, slaughterhouse

บทความวิจัย

ปัจจัยเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในโรงฆ่าสัตว์ในจังหวัดมหาสารคาม

ต่อพงษ์ ประเสริฐสังข์[1*], ประพันธ์ศักดิ์ ฉวีราช[2]

[1]นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, จังหวัดขอนแก่น

[2]กลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, จังหวัดขอนแก่น

[*]ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ อีเมล์: topongprasert@gmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อประเมินปัจจัยเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ระหว่างโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนกับโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนในจังหวัดมหาสารคาม

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ เก็บตัวอย่างจากต่อมทอนซิล เลือด เนื้อ อุปกรณ์และผู้ปฏิบัติงานในโรงฆ่าสัตว์จำนวน 500 ตัวอย่าง จากโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียน 5 แห่งและไม่มีทะเบียน 5 แห่ง ใช้แบบสอบถามร่วมกับการสังเกตเพื่อเก็บข้อมูลโรงฆ่าสัตว์ ตัวอย่างถูกนำไปเพาะเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติโดยวิธีมาตรฐานและแยกชนิดเชื้อโดยวิธีพีซีอาร์ ใช้การประเมินปัจจัยเสี่ยงจากองค์ประกอบของโรงฆ่าสัตว์ประกอบด้วย การทำสลบ การตัดแต่งซาก การผ่าซีกซาก การแขวนซาก ต่อการพบเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส

ผลการศึกษา พบเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสจำนวน 20 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งหมด 500 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4 โดยปนเปื้อนในตัวอย่างทอนซิลจำนวน 18 ตัวอย่างและอีก 2 ตัวอย่างจากอุปกรณ์ในโรงฆ่า เป็นตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียน 16 ตัวอย่างและอีก 4 ตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียน จากการแยกชนิดเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส พบชนิดซีโรไทป์ 2 จำนวน 4 ตัวอย่างและ ซีโรไทป์ไทม์ 1 พบจำนวน 16 ตัวอย่าง พบความเสี่ยงของการพบเชื้อกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัสในโรงฆ่าที่ไม่มีทะเบียนสูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนอย่างมีนัยสำคัญ (Odds ratio = 1.44, (CI=1.00 – 2.09, P < 0.04) และพบความเสี่ยงที่จะพบเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนสูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนอย่างมีนัยสำคัญ (Odds ratio = 9.62, CI=2.20 - 41.91, P < 0.002)

ข้อสรุป โรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อทั้งกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัสและเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสสูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียน แต่ผู้บริโภคควรระมัดระวังในการเลือกซื้อเนื้อสุกร และควรจะบริโภคเนื้อที่ปรุงสุกเพื่อลดปัญหาการเกิดโรค

คำสำคัญ: ปัจจัยเสี่ยง, เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส, โรงฆ่าสัตว์

บทนำ

การเลี้ยงสุกรเพื่อการบริโภคในปัจจุบันของประเทศไทยมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วและมีผลผลิตที่ดี นอกจากการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ เช่น กลุ่มบริษัทซีพี เครือเบทาโกร หรือกลุ่มบริษัทไทยฟูดส์ ซึ่งมีมูลค่าสูงและยังสามารถส่งเป็นสินค้าออกไปต่างประเทศได้ แม้กรมปศุสัตว์ได้มีการควบคุมคุณภาพอย่างเคร่งครัด และมีการตรวจสอบอย่างสม่ำเสมอ อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงการเลี้ยงปศุสัตว์ในประเทศจากฟาร์มขนาดใหญ่เป็นฟาร์มแบบพันธะสัญญา (Contact farming) ทำให้รูปแบบการเลี้ยงเปลี่ยนแปลงไป มีการกระจายตัวของฟาร์มลูกเล้าในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วไป ซึ่งทำให้ขั้นตอนในการควบคุมคุณภาพการเลี้ยง อาจจะด้อยประสิทธิภาพลด มีโอกาสที่เชื้อโรคจะปนเปื้อนสู่ผู้บริโภคทั้งในขั้นตอนการเลี้ยงและขั้นตอนการชำแหละ โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและเป็นเชื้อโรคสัตว์สู่คน (Zoonosis) คือ เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส (*Streptococcus suis)* โดยพบมีรายงานข่าวการระบาดและทำให้ผู้บริโภคเกิดโรค บางครั้งอาจจะขั้นเสียชีวิต

เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในสกุล *Streptococcus* ในตระกูล *Streptococcaeae* มีการจัดแบ่งเชื้อตามลักษณะของ Capsular Antigen เป็นซีโรไทป์ (Serotype) ต่างๆ ถึง 35 ซีโรไทป์ ปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อแต่ละซีโรไทป์จะแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับสาร Muramidase-released protein (MRP) และ Extracellular protein (EP) โดยพบว่า ซีโรไทป์ที่มีความรุนแรงสูงในการก่อโรคในมนุษย์คือ โรไทป์ 2 และ 1 ตามลำดับ (Wisselink et a., 2000) เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสเป็นเชื้อที่พบในโพรงจมูกและต่อมน้ำลายของสุกร เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสพบได้ในสุกรทั่วไปจนกลายเป็นเชื้อประจำถิ่นในตัวสุกร เมื่อสุกรอยู่ในภาวะเครียด เช่น อากาศชื้นหรือหนาวจากฝนตกหนัก การเลี้ยงในที่แออัด ภาวะภูมิคุ้มกันของสุกรจะลดลง เชื้อดังกล่าวจึงฉวยโอกาสเข้าสู่กระแสเลือดทำให้สุกรป่วยหรือตาย (Zhang et al., 2014) เชื้อดังกล่าวนี้สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ 2 วิธี คือ การที่เชื้อเข้าทางบาดแผลและการบริโภคเนื้อสุกรหรือเลือดโดยไม่ผ่านกระบวนการปรุงสุก โดยรายงานพบว่าพฤติกรรมการบริโภคอาหารของมนุษย์ในบางพื้นที่ เช่น ชุมชนทางภาคเหนือ พบว่ามีรายงานการเกิดโรคชนิดนี้บ่อยครั้ง ปัจจุบันพบผู้ติดเชื้อ ดังกล่าวในหลายประเทศทั่วโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงสุกรอย่างหนาแน่น รวมทั้งประเทศไทยก็พบผู้ป่วยที่ติดเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสโดยพบการรายงานจำนวนผู้ติดเชื้อในประเทศไทยมากที่สุดเป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากประเทศจีนและเวียดนาม (Wertheim et al., 2009)

จากรายงานการระบาดในประเทศไทยพบการติดเชื้อเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสสามารถเกิดขึ้นได้โดยทั่วไป และส่งผลรุนแรงจนถึงขั้นผู้ป่วยเสียชีวิต ในส่วนจังหวัดมหาสารคามมีฟาร์มเลี้ยงสุกรขนาดใหญ่จากจำนวน 13 อำเภอ โดยอำเภอที่มีประชากรสุกรมากที่สุดคือ อำเภอโกสุมพิสัย มีจำนวน 6,929 ตัว และอำเภอกันทรวิชัยมีจำนวน 4,519 ตัว ส่วนอำเภออื่น ๆ พบจำนวนประชากรสุกรลดน้อยลงตามลำดับ ส่วนเกษตรกรที่เลี้ยงสุกรมีจำนวนทั้งหมดประมาณ 1,794 ราย พบเป็นฟาร์มที่เลี้ยงสุกรพ่อแม่พันธุ์เพียง 34 ราย นอกนั้นเป็นผู้เลี้ยงสุกรขุน สภาพการเลี้ยงมีทั้งแบบฟาร์มสุกรแบบลูกเล้าและฟาร์มขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป ผลิตสุกรขุนเข้าสู่โรงฆ่าสัตว์ทั้งแบบขึ้นทะเบียนถูกต้องตามกฎหมายและโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่ขึ้นทะเบียนกระจายอยู่ทั่วไป โดยจังหวัดมหาสารคามมีโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนจำนวน 13 โรงฆ่าสัตว์ และโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนประมาณ 26 โรงฆ่าสัตว์ นอกจากนี้พฤติกรรมของผู้บริโภคในพื้นที่ยังมีพฤติกรรมแบบกินเนื้อสุก ๆ ดิบ ๆ จากการศึกษาในภาคตะวันตกและตะวันออกของประเทศไทยในฟาร์มสุกรพบรายงานการติดเชื้อในสุกรในทุกกลุ่มอายุ (Pathanasophon et al., 2009) และมีรายงานการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสที่เขียงเนื้อในตลาดในเขตจังหวัดขอนแก่น (Noppon et al., 2014) ดังนั้นการศึกษาเปรียบเทียบการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในกระบวนการฆ่าชำแหละจากโรงฆ่าสัตว์ รวมทั้งอวัยวะที่เสี่ยงที่จะพบการปนเปื้อนของเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสจึงมีความจำเป็นและต้องรีบดำเนินการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลในพื้นที่ เพื่อหาแนวทางการป้องกันและลดการปนเปื้อนทั้งในขั้นตอนการเลี้ยง การขนส่ง รวมทั้งกระบวนการชำแหละในโรงฆ่าสัตว์

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

ประชากรและตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์ที่ขึ้นทะเบียนโรงฆ่าสัตว์กับสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดจำนวน 5 แห่ง และโรงฆ่าที่ไม่ขึ้นทะเบียน จำนวน 5 แห่ง ในจังหวัดมหาสารคาม โดยโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนจะรับสุกรขุนที่โรงเรือนปิดและมีระบบจัดการฟาร์มที่ดี ส่วนโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนจะรับสุกรขุนจากผู้เลี้ยงรายย่อยทั่วไปใช้แบบสิบถามร่วมกับการสังเกต แหล่งที่มาของสุกรขุน อุปกรณ์ในโรงฆ่าสัตว์และขั้นตอนวิธีการชำแหละ

การเก็บตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์

ก่อนการฆ่าสุกร เก็บตัวอย่างเลือดนำมาเพาะแยกเชื้อโดยเจาะจากหลอดเลือดดำที่คอสุกร จำนวน 10 มิลลิลิตรก่อนการปาดคอสุกร รวม 125 ตัวอย่าง หลังการฆ่า เก็บตัวอย่าง

ทอนซิลทั้งซ้ายและขวา ด้านละ 10 กรัม รวมเป็น 1 ตัวอย่าง จากสุกรโรงฆ่าสัตว์ละ 25 ตัว รวม 125 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างเนื้อสุกรจำนวน 40 กรัม จากกล้ามเนื้อ Hamstrings โรงฆ่าละ 25 ตัว รวม 125 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างจากอุปกรณ์และผู้ปฏิบัติงาน โดยการใช้สำลีป้ายเชื้อ (Cotton swab) โดยใช้ก้านสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อป้ายที่มีดและภาชนะรองรับเนื้อที่ชำแหละ พื้นที่ขนาด 25 ตารางเซ็นติเมตร และจากมือด้านขวา ตั้งแต่ปลายมือถึงกลางฝ่ามือของผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งหมดจำนวน 125 ตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างที่เก็บได้ทั้งหมดใส่ในหลอดที่มี Stuart transport medium (Oxoid) เพื่อป้องกันการสลายตัวของเชื้อ นำตัวอย่างที่ได้เก็บแช่ในกระติกน้ำแข็ง ส่งห้องปฏิบัติการและทำการเพาะเชื้อภายในเวลา 4 ชั่วโมงหลังการเก็บตัวอย่าง

การเพาะแยกเชื้อ

นำตัวอย่างมาเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาการปศุสัตว์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จังหวัดสุรินทร์ ตามวิธีใน Standard diagnostic manual for livestock diseases in Thailand (Nation Institute of Animal Health, 2004) ดังนี้

เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar ที่มีเลือดแกะร้อยละ 5.0 (Difco, England) เติมยาปฏิชีวนะ Polymyxin B และ Nalidixic Acid บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ครั้ง หลังการบ่มเชื้อที่ 24 และ 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะจำเพาะคือ มีขนาดเล็ก ใส มีการสลายเม็ดเลือดแดงชนิดอัลฟ่า (α-hemolysis) การย่อยสลายเม็ดเลือดแดงไม่สมบูรณ์ รอบโคโลนีเป็นสีเขียวใส แยกเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยว นำไปย้อมสีแกรม และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีตามวิธีของ Quinn et al. (1994) จากนั้นนำไปตรวจยืนยันเชื้อและแยกซีโรไทป์โดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ณ ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จังหวัดสุรินทร์

ตรวจยืนยันเชื้อและซีโรไทป์โดยใช้เทคนิค PCR

การเตรียม DNA template

เตรียมจากเชื้อโคโลนีเชื้อ hemolysis *Streptococcus* บริสุทธิ์ที่เพาะบน Blood Agar ละลายเชื้อ 15 - 20 โคโลนี ในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ล้าง 1 ครั้ง โดยปั่นที่ 13,539 g ต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งน้ำใส แล้วใส่น้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ต้มให้เดือด 10 นาที ทำให้เย็นลงทันทีโดยแช่ในน้ำแข็ง ปั่น 13,539 g ต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที เก็บส่วนใสเพื่อใช้เป็น DNA template เก็บรักษาไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียส

Primers

ใช้ไพรเมอร์ 3 ชุดที่จำเพาะต่อเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส เพื่อตรวจยืนยันเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส (16S rRNA) ตาม Marois et al. (2004) และแยกเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 และ 1 โดยตรวจหา capsular genes ตาม Smith et al., (1999a,1999b) (Table 1)

ตรวจหา 16S rRNA ดัดแปลงจากวิธีการของ Marois et al. (2004) โดยเติม DNA template ปริมาณ 5 ไมโครลิตร ลงในหลอดที่มี PCR master mix ปริมาตร 45 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย PCR buffer (TrisHCl, KCl, $(NH_4)_2SO_4$, ซึ่งมี 1.5 mM $MgCl_2$, pH 8.7), 2.5 unit ของ HotStarTaq DNA polymerase (QIAGEN, Hilden, Germany), 200 µM ของ dNTP each (Fermentas, Germany), น้ำกลั่น และ 1 ไมโครลิตร ของ primer แต่ละสาย โดยมี DNA ของเชื้ออ้างอิงสเตรนมาตรฐานเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 1 (NCTC 10237) และเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 (NCTC 10234) จาก Na-

Table 1. Primers and base pair of PCR products

Primers	Base pair (5' to 3')	Size (bp)
16S-195(s)	CAG TAT TTA CCG CAT GGT AGA TAT	294*
16S-489(as2)	GTA AGA TAC CGT CAA GTG AGA A	
Cps2J-(F)	CAA ACG CAA GGA ATT ACG GTA TC	675**
Cps2J-(R)	GAG TAT CTA AAG AAT GCC TAT TG	
Cps1 (F)	GAA TCA ATC CAG TCA GTG TTG G	440***
Cps1 (R)	CTA ATT CGA TAC GAA AAA C	

* Marois et al. (2004) **Smith et al. (1999b), ***Smith et al. (1999a)

tional Institute of Animal Health ประเทศญี่ปุ่นเป็นตัวควบคุมบวก และน้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมลบ จากนั้นนำเข้าเครื่อง Thermal cycler (Px2, Thermo electron cooperation, USA) โดย initial activation ที่ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาทีจากนั้นตั้ง 35 รอบของ denaturation 94 องศาเซลเซียส 45 วินาที, annealing 54 องศาเซลเซียส 45 วินาที และ extension 72 องศาเซลเซียส 1 นาที แล้วต่อด้วยขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ (final extension) 72 องศาเซลเซียส 10 นาทีนำ ไปแยกแถบ DNA ด้วย 1.5% (w/v) agarose gel ในเครื่อง electrophoresis (BIO-RAD, USA) ย้อมด้วย 1.5% ethidium bromide ดูภายใต้แสงยูวีเทียบกับ 100 bp DNA Ladder (Fermentas, Germany)

การแยกซีโรไทป์ 1 และ ซีโรไทป์ 2 โดยใช้เทคนิค PCR

ทำเช่นเดียวกับการตรวจยืนยันเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส แต่เปลี่ยนเฉพาะไพรเมอร์ โดยใช้ Cps1สำหรับซีโรไทป์ 1 และ Cps2J สำหรับซีโรไทป์ 2

การวิเคราะห์ผลการวิจัย

นำผลการเพาะเชื้อจากตัวอย่างจำนวน 500 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม STATA 10.1 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบถดถอยโลจิสติก (logistic regression) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งอวัยวะที่ปนเปื้อน และการจัดการในโรงฆ่าสัตว์

ผลการศึกษา

การเพาะแยกเชื้อจากตัวอย่างที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ จำนวน 500 ตัวอย่าง จาก Table 2 พบว่าในโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนมีการปนเปื้อนเชื้อกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัส (*Streptococcus* spp.) เป็นจำนวน 78 ตัวอย่างใน 250 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.2 ในขณะที่โรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนพบเชื้อชนิดกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัส. จำนวน 99 ตัวอย่าง ใน 250 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 39.6 ซึ่งสูงกว่าโรงฆ่าสัตว์แบบมีทะเบียนอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.04$; Pearson chi-square= 3.86) และเมื่อเปรียบเทียบกับปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ทั้งซีโรไทป์ I และ II พบการปนเปื้อนในโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนสูงกว่าโรงฆ่าที่มีทะเบียนอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.002; Pearson chi-square= 13.33) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ในตัวอย่างทั้งต่อมทอนซิล เลือด เนื้อและจากอุปกรณ์และมือผู้ปฏิบัติงาน โดยเชื้อแบคที่พบปนเปื้อนในตัวอย่างมี *Streptococcus consteilatus, Streptococcus pneumonia, Streptococcus porcinus, Streptococcus dysgalactiae, Aerococcus viridans, Streptococcus mitis, Streptococcus dysgalactiae* โดยพบมากที่สุดจากต่อมทอนซิล รองลงมาคือ เลือด เนื้อและอุปกรณ์ตามลำดับดัง Table 2

Table 2. Type of bacteria and number in samples

Samples	Type of Slaughterhouse	Bacteria contamination	Numbers
Tonsil	1. Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus consteilatus*	25
		2.Streptococcus porcinus	15
		*3.**Streptococcus suis***	**2**
	2. Non-Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus dysgalactiae*	20
		2. Streptococcus mitis	15
		*3. **Streptococcus suis***	**16**
Meat	1. Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus porcinus*	9
		2. Aerococcus viridans	5
	2. Non-Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus pneumonia*	11
		2.Streptococcus consteilatus	11
Blood	1. Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus dysgalactiae*	10
		2. Streptococcus mitis	9
	2. Non-Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus porcinus*	12
		2. Aerococcus viridans,	18
Materials and Workers	1. Registered Slaughterhouse	*1. Streptococcus dysgalactiae*	8
	2. Registered Slaughterhouse	*1.Streptococcus mitis*	12
		*2. **Streptococcus suis***	**2**

พบการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส จำนวน 20 ตัวอย่างจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 500 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4 โดยพบจากต่อมทอนซิลจำนวน 18 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.4 จากตัวอย่างต่อมทอนซิล 125 ตัวอย่างทั้งจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนและไม่มีทะเบียนอีก 2 ตัวอย่าง ที่พบการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส พบจากการปนเปื้อนจากอุปกรณ์และมือผู้ปฏิบัติงานคิดเป็นร้อยละ 1.6 จากตัวอย่างจำนวน 125 ตัวอย่าง

ต่อมทอนซิลมีการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส มากที่สุด โดยพบในต่อมทอนซิลของสุกรขุนจากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนจำนวน 14 ตัวอย่าง อีก 4 ตัวอย่างที่พบเชื้อมาจากต่อมทอนซิลจากสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียน เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ที่ปนเปื้อนทั้งหมดจำนวน 20 ตัวอย่างเมื่อทำการวิเคราะห์หาชนิดซีโรไทป์พบเป็นซีโรไทป์ II จำนวน 4 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 20 ที่เหลือเป็นชนิดซีโรไทป์ I จำนวน 16 ตัวอย่าง (ร้อยละ 80) ดัง Table 3

ผลการวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยง (Risk factor analysis)

การวิเคราะห์ทางระบาดวิทยาพบโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนมีความเสี่ยงที่จะพบการปนเปื้อนเชื้อกลุ่ม สเตร็พโตค็อกคัส สูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนอย่างมีนัยสำคัญ (Odds ratio = 1.44, CI=1.00 – 2.09, $P < 0.04$) นอกจากนี้ยังพบความเสี่ยงที่จะปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส สูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนอย่างมีนัยสำคัญ (Odds ratio = 9.62, CI=2.20 - 41.91, $P < 0.002$) โดยในขั้นตอนการตัดแต่งซากและแขวนซากจะพบเฉพาะในโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนเท่านั้น ส่วนในขั้นตอนการทำสลบและการผ่าซากพบว่ามีเพียง 3 โรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนที่ใช้ปืนทำสลบและมีการผ่าซากบนพื้นยกสูง อีก 2 โรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียนกับ 5 โรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนไม่มีการใช้ปืนทำสลบและไม่ได้ผ่าซากบนพื้นยกสูง ดัง Table 4

วิจารณ์

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Noppon et al. (2014) ที่ศึกษาจากตัวอย่างในตลาดสด 12 แห่งในจังหวัดขอนแก่น โดยทำการสำรวจเนื้อสุกร เลือดและอวัยวะภายในทั้งหมด 320 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2556 พบการปนเปื้อนในเลือดร้อยละ 24.5 ในตัวอย่างตับ อวัยวะภายในร้อยละ 15.4 ในตัวอย่างเนื้อสุกรร้อยละ 10.8 และในตัวอย่างเนื้อบดร้อยละ 2.7 เนื่องจากตัวอย่างที่ได้จากตลาดสดกับตัวอย่างที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ในการศึกษานี้มีแหล่งที่มาของตัวอย่างแตกต่างกัน โดยตัวอย่างจากตลาดสดเชื้อมีโอกาสปนเปื้อนเพิ่มขึ้นจากสิ่งแวดล้อม และขั้นตอนในการตัดแต่งเพื่อจำหน่าย ดังที่มีรายงานการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ที่เขียงเนื้อในตลาดในเขตจังหวัดขอนแก่น (Noppon et al., 2014) นอกจากนี้ระยะฟักตัวของเชื้อที่ปนเปื้อนยังนานขึ้น กอปรกับเชื้อมีความทนทาน ทำให้โอกาสติดเชื้อมีได้ง่ายยิ่งขึ้น (Choi et al., 2013)

ส่วนการพบเชื้อกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัสในรายงานการศึกษาครั้งนี้ที่พบประมาณร้อยละ 35.4 ใน 500 ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อน อาจเนื่องจากเชื้อส่วนใหญ่เป็นกลุ่มแกรมบวกที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ในกระบวนการเชือดและการชำแหละมีโอกาสที่จะปนเปื้อนได้สูง โดยมีความเสี่ยงสูงในโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนมากกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียน เพราะในขั้นตอนการชำแหละจะกระทำบนพื้นของโรงฆ่าสัตว์ ซึ่งง่ายต่อการปนเปื้อน (Gill and Bryant, 1992) ดังนั้นกระบวนการฆ่าในโรงฆ่าสัตว์ต้องมีการดำเนินการให้ถูกต้องตามหลักสุขศาสตร์ที่ดีในโรงฆ่าสัตว์ เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัส และอาจช่วยลดการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ได้อีกด้วย

Table 3. Serotype of *Streptococcus suis* in samples

Slaughterhouses	Serotype I	Serotype II
Registered Slaughterhouse		
Tonsil	1	1
Non- Registered Slaughterhouse		
1.Tonsil	13	3
2. Materials and Workers	2	-
Total	16	4

Table 4. Risk factor of contamination of *Streptococcus suis* in slaughterhouse

Risk factor	Odd ratio	Confidence interval	*P* value
Type of Slaughterhouse	9.62	2.20 - 41.91	0.002*
Stunning	0.04	0.40 – 2.49	0.8
Pork cut	0.04	0.40 – 2.94	0.8
Carcass dressing	9.62	2.20 – 41.92	0.002*
Carcass hanging	9.62	2.20 - 41.91	0.002*

*(Significant values, $P < 0.05$)

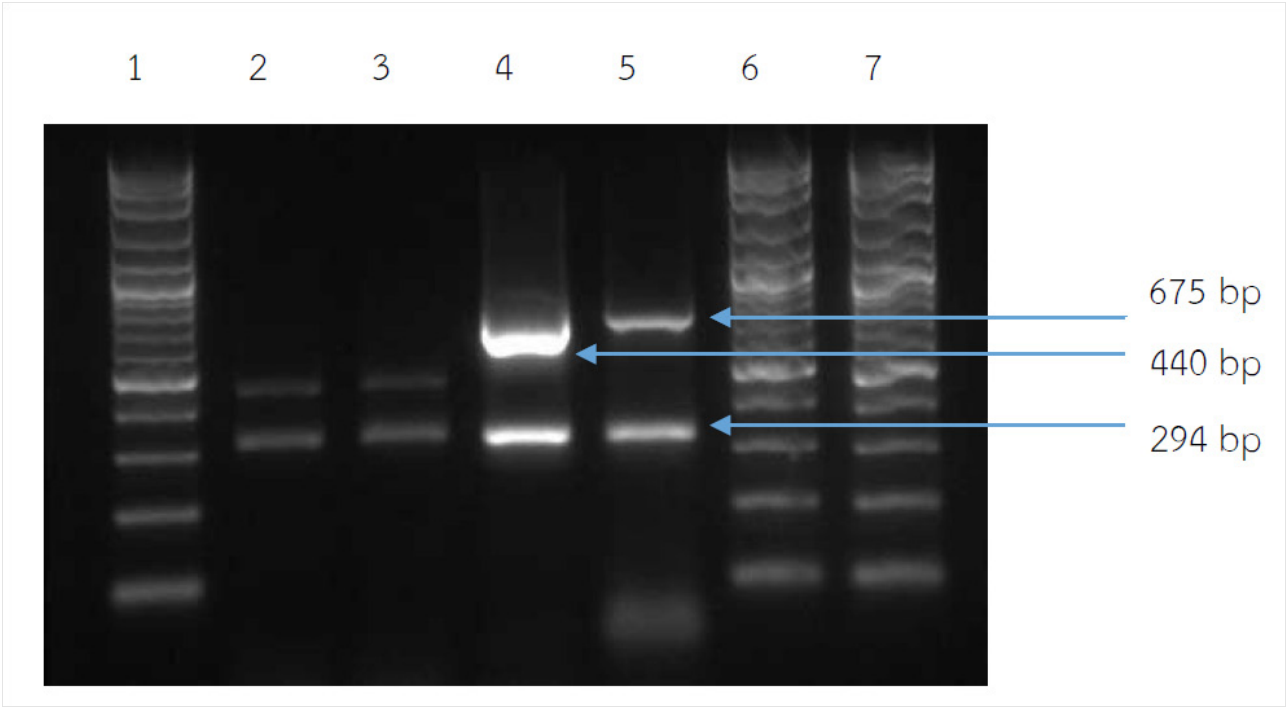

Figure 1. An electrophoresed gel showing PCR products. Lane I = DNA ladder, Lane II, III = Positive control *S. suis*, 294 bp., Lane IV = Positive *S. suis* serotype I, 440 bp., Lane V = Positive *S. suis* serotype II, 675 bp., Lane VI = DNA ladder, Lane VII = DNA ladder.

(Cheung et al., 2008) เชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ที่พบการปนเปื้อนในการศึกษานี้อาจจะต่ำกว่ารายงานจากภาคตะวันออกและตะวันตกของประเทศไทย ที่พบประมาณร้อยละ 33 อาจจะเพราะตัวอย่างที่ได้แตกต่างกัน โดยการศึกษานี้เก็บตัวอย่างเฉพาะในสุกรขุนที่อายุการเลี้ยงสั้นกว่า ขณะที่การศึกษาจากภาคตะวันตกพบมีศึกษาทั้งจากสุกรขุน แม่สุกร และลูกสุกรและลักษณะการเลี้ยงที่แตกต่างกัน โดยพบว่าระยะเวลาการคงอยู่ของเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในแม่สุกรมีการถ่ายทอดสู่ลูกสุกรได้ส่วนหนึ่ง จึงทำให้เชื้อมีการคงอยู่ในฟาร์มระหว่างการเลี้ยง ส่งผลให้จำนวนเชื้อในลูกสุกรขุนสูงขึ้นต่างจากการศึกษานี้

เมื่อเปรียบเทียบจากตัวอย่างชนิดเดียวกันจากประเทศจีนตามความชุกของเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส เพาะแยกจากแม่สุกร ได้มีการศึกษาความชุกของเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส เก็บตัวอย่างจากต่อมทอนซิลแม่สุกร ทั้งหมด 1,043 ตัวอย่าง พบชนิดเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส เป็นซีโรไทป์ II จำนวน 31 ตัวอย่าง พบเชื้อในแม่สุกรร้อยละ 40.4 โดยพบจากเพดานปากหรือต่อมทอนซิลคิดเป็นร้อยละ 3 (Zhang et al., 2009) ซึ่งมีโอกาสพบในส่วนของการป้ายเชื้ออยู่ในระดับที่ต่ำใกล้เคียงจากการศึกษานี้ จากการศึกษาของ Pathanasophon et al. (2009) ที่ได้ศึกษาความชุกของเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในโรงฆ่าสัตว์ 10 แห่งใน

ภาคตะวันตกและตะวันออกของไทย จากตัวอย่างทั้งฟาร์มสุกรและโรงฆ่าสัตว์พบจากต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่า 237 ตัวอย่าง พบเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ร้อยละ 10.1 ซึ่งพบสูงกว่าการศึกษาในครั้งนี้ อาจเนื่องจากชนิดของสุกรที่เข้าโรงฆ่าสัตว์ในเขตตะวันตกและตะวันออกของประเทศเป็นเขตที่เลี้ยงแบบอุตสาหกรรม ที่มีการเลี้ยงแบบหนาแน่น ดังนั้นสุกรจึงมีโอกาสที่จะแพร่เชื้อในฝูงได้สูงกว่าการเลี้ยงแบบลูกเล้าในเขตจังหวัดมหาสารคาม อย่างไรก็ตามพบสุกรขุนที่ส่งเข้าโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนมีการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส อยู่ในปริมาณที่สูงกว่า อาจจะเป็นเพราะส่วนใหญ่เลี้ยงในฟาร์มที่มีการเลี้ยงแบบรายย่อย ไม่ได้มาจากฟาร์มที่มีสุขลักษณะที่ดี ไม่มีการตรวจประเมินฟาร์มอย่างสม่ำเสมอ ทำให้มีสุกรได้รับการดูแลไม่ดีพอจนเป็นเหตุให้สุกรเกิดอาการเครียดทั้งจากการจัดการที่ไม่ถูกสุขลักษณะและการจัดการด้านอาหารที่ไม่เหมาะสม สุกรขุนที่ส่งเข้าโรงฆ่าส่วนใหญ่มีอายุการเลี้ยงที่นานกว่าสุกรขุนจากฟาร์มลูกเล้าหรือฟาร์มขนาดใหญ่ (Wertheim et al., 2009)

ข้อสรุป

การศึกษาสรุปได้ว่าการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสมีโอกาสปนเปื้อนได้ตั้งแต่สุกรยังมีชีวิตอยู่ เพราะเป็นแหล่งสำคัญในการกักเชื้อโรคจากสภาพการเลี้ยง โดยสุกรที่ติดเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสแล้วไม่มีการแสดงอาการป่วยแต่อย่างใด โดยแหล่งที่พบเชื้อมากที่สุดคือ ต่อมทอนซิล ซึ่งเป็นแหล่งเก็บกักเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ ซึ่งน่าจะมาจากการติดเชื้อภายในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ หรือในช่วงของการขนส่งสุกรขุนมาโรงฆ่าสัตว์ส่งผลทำให้สุกรเครียดและมีการปล่อยแพร่เชื้อออกมา ส่วนในขั้นตอนการฆ่าและชำแหละที่โรงฆ่าสัตว์นั้น พบโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนมีความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนมากที่สุด รวมทั้งการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ส่วนการพบเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสจากอวัยวะอื่น ๆ เช่น เลือด หรือเนื้อนั้นน่าจะเป็นผลจากการปนเปื้อนในขั้นตอนการชำแหละ โดยเฉพาะจากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียน

การพบเชื้อปนเปื้อนในอุปกรณ์และผู้ปฏิบัติงานหรือที่อื่น ๆ เกิดจากการปนเปื้อนเชื้อกลุ่มสเตร็พโตค็อกคัส ในโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่มีทะเบียนสูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ที่มีทะเบียน อาจจะเพราะการปนเปื้อนจากจากพื้นในกระบวนการชำแหละ ถึงแม้จะเป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรครุนแรง แต่ก็มีความเสี่ยงที่ผู้บริโภคที่จะรับเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนจากกระบวนการฆ่าและชำแหละที่โรงฆ่าสัตว์ ดังนั้นควรหาวิธีลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการฆ่าและชำแหละ เพื่อลดความเสี่ยง โดยใช้อุปกรณ์การฆ่าที่สะอาดและถูกสุขลักษณะ จากงานวิจัยอื่นที่ศึกษาในตลาดสดพบว่ามีความชุกของการเกิดสูงกว่าในโรงฆ่าสัตว์ อาจจะเป็นเพราะเนื้อสุกรมีการปนเปื้อนทั้งในขั้นตอนระหว่างการขนส่งและขณะที่วางจำหน่ายในตลาดสดอีกด้วย

การศึกษานี้พบการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสได้ในสุกรทั่วไป แม้แต่ในสุกรที่มีสุขภาพดี ดังนั้นในขั้นตอนการเลี้ยงควรเน้นให้เกษตรกรลดความเครียดที่จะทำให้เชื้อแพร่จากสุกรไปยังสุกรตัวอื่นๆ ส่วนในขั้นตอนการชำแหละควรเน้นให้ความสะอาด ถูกสุขลักษณะที่ดี และมีโรงฆ่าสัตว์ที่ถูกต้องตามกฎหมาย ที่สามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ว่าสุกรขุนที่เข้าโรงฆ่าสัตว์นั้นมาจากฟาร์มไหน จะช่วยลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิส ในสุกรที่นำมาบริโภค ในส่วนผู้บริโภคจากรายงานนี้จะเห็นได้ว่า ในทุกขั้นตอนของห่วงโซ่การผลิตมีโอกาสเสี่ยงที่จะพบการปนเปื้อนเชื้อสเตร็พโตค็อกคัส ซูอิสดังนั้นควรบริโภคอาหารที่ปรุงสุกและเลือกซื้อเนื้อจากเขียงเนื้อที่รับเนื้อสุกรโรงฆ่าสัตว์ที่มีมาตรฐานเพื่อป้องกันการติดเชื้อนี้

เอกสารอ้างอิง

Cheung, P.Y., Lo, K.L., Cheung, T.T., Yeung, W.H., Leung, P.H., Kam, K.M. 2008. *Streptococcus suis* in retail markets: How prevalent is it in raw pork? International Journal of Food Microbiology 127, 316–320.

Choi, Y.M., Park, H.J., Jang, H.I., Kim, S.A., Imm, J.Y., Hwang, I.G., Rhee, M.S. 2013. Changes in microbial contamination levels of porcine carcasses and fresh pork in slaughterhouses, processing lines, retail outlets, and local markets by commercial distribution. Research in Veterinary Science 94, 413–418

Gill, C.O., Bryant, J.1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. International Journal of Food Microbiology 16, 51–62.

Marois, C., Bougeard, S., Gottschalk, M., Kobisch, M. 2004. Multiplex PCR assay for detection of *Streptococcus suis* species and serotype 2 and 1/2 in tonsils of live and dead pigs. Journal of Clinical Microbiology 42(7), 3169 – 3175.

Nation Institute of Animal Health. 2004. Standard Diagnosis Manual of Livestock Disease in Thailand. Nation Institute of Animal Health, Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand

Noppon, B., Khaeng, S., Sopa, A., Phuaram, P., Wongsan, R., Laohasinnurak, T. 2014. *Streptococcus suis* serotype 2 in uncooked pork meat products in Khon Kaen, northeastern Thailand, and their antimicrobial profiles. International Journal of Scientific & Engineering Research 5(9), 1130-1133

Pathanasophon P, Narongsak W, Worarach A, Yuwapanichsampan S, Sagarasaeranee P. 2009. Prevalence of *Streptococcus*

suis in pigs and pig farmers in 11 provinces in the East and the West of Thailand. Journal of the Thai Veterinary Medical Association under the Royal Patronage 60(1-3), 49-62.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby, Elsevier Lts. Spain. 388 pp.

Smith, H.E., van Bruijnsvoort, L., Buijs, H., Wisselink, H.J., Smits, M.A. 1999a. Rapid PCR test for *Streptoccoccus suis* serotype 7. FEMS Microbiology Letters 178, 265-270.

Smith, H.E., Venbergen, V., Velde, J., Damman, M., Wisselink, H.J., Smits, M.A. 1999b. The cps genes of *Streptococcus suis* serotypes 1,2, and 9 Development of rapid serotype-specific PCR assays. Journal of Clinical Microbiology 37(10), 3140 – 3152.

Wertheim, H.F., Nghia, H.D., Taylor, W., Schultsz, C. 2009. *Streptococcus suis* an emerging human pathogen. Clinical Infectious Diseases 48, 617-625.

Wisselink H.J, Smith H.E, Stockhofe-Zurwieden N., Peperkamp K., Vecht U. 2000. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. Veterinary Microbiology.74 (3), 237–48.

Zhang, D., Du, N., Ma, S., Hu, Q., Lu, G, Chen, W., Zeng, C. 2014. In vitro transcriptome analysis of two Chinese isolates of *Streptococcus suis* serotype 2. Genomics, proteomics & bioinformatics 12(6), 266-275.

Zhang, C.P., Ning, Y.B., Zhang, Z.Q., Song, L., Qiu, H.S., Gao, H.Y., Fan, X.Z. 2009. Prevalence of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy sows in China. Agric. Sci. China 8: 638–642.