การสำรวจเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อเป็ดและไก่จากตลาดสดในกรุงเทพมหานคร ระหว่างปี 2549-2550

พัชรี ทองคำคูณ* พรทิพย์ ศิริวรรณ์ ชิต ศิริวรรณ์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ เกษตรกลาง จตุจักร กทม. 10900

* ผู้รับผิดชอบ โทร. 0 2579 8908- 14 ต่อ 405 โทรสาร 0 2579 8919 email: patchareet@dld.go.th

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างเนื้อเป็ดและเนื้อไก่จากตลาดสดในกรุงเทพมหานคร เพื่อตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) เป็นเวลา 2 ปี ผลคือ ในปี 2549 เก็บตัวอย่างจากตลาดสด 45 แห่ง เป็นเนื้อเป็ด 36 ตัวอย่าง และเนื้อไก่ 171 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่ 10 ตัวอย่าง จากตลาดสด 7 แห่ง คิดเป็น 5.85% (10/171) ไม่พบเชื้อในตัวอย่างเนื้อเป็ด ปี 2550 เก็บตัวอย่างจากตลาดสด 56 แห่ง เป็นเนื้อเป็ด 68 ตัวอย่าง และเนื้อไก่ 301 ตัวอย่าง พบเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่ 11 ตัวอย่าง จากตลาดสด 9 แห่ง คิดเป็น 3.65% (11/301) ไม่พบเชื้อในตัวอย่างเนื้อเป็ด แสดงให้เห็นว่า การปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อสัตว์ปีกที่วางขายในกรุงเทพมหานครมีอัตราค่อนข้างต่ำ

คำสำคัญ: *Listeria monocytogenes*, เนื้อเป็ด, เนื้อไก่, ตลาดสด, กรุงเทพมหานคร

บทนำ

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) เป็นเชื้อแบคทีเรียกรัมบวก ไม่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นท่อนหรือค่อนข้างกลม (bacilli or coccobacilli) เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศและสภาพที่มีอากาศจำกัด (facultative anaerobic) โดยปกติจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือสายสั้น ๆ เชื้อที่อายุมากขึ้นจะมีการเรียงตัวเป็นสาย (filamentous) (Seeliger and Jones, 1986) พบเชื้อแพร่กระจายได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม มูลสัตว์ ในน้ำเสีย ดิน แหล่งน้ำ ผักและหญ้าหมัก แม้แต่ในอุจจาระคน เป็นเชื้อที่อยู่ในกลุ่ม psychrophilic bacteria คือ สามารถอยู่รอดและเพิ่มจำนวนได้ในอุณหภูมิต่ำกว่า 5 ºC โดยที่ *L. monocytogenes* เจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 1 - 42ºC ช่วงที่เหมาะสมคือ 30 - 37ºC ส่วนความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ pH 5.0 - 9.0 นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้ที่ระดับความเค็มร้อยละ 10 (Ryser and Marth, 1991) *L. monocytogenes* เป็นสาเหตุของโรค listeriosis ในสัตว์หลายชนิดรวมทั้งในคน ซึ่งจะทำให้มีอาการคล้ายไข้หวัดใหญ่ เช่น มีไข้ ปวดหัว คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย บางครั้งจะมีอาการสมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ติดเชื้อในกระแสเลือด การติดเชื้อในมดลูกและช่องคลอดทำให้หญิงมีครรภ์แท้งหรือทารกแรกคลอดเสียชีวิตได้ (Seeliger and Finger, 1983) ผู้ป่วยแสดงอาการได้ตั้งแต่หลายวันจนถึงหลายสัปดาห์ โดยติดต่อจากการสัมผัสแหล่งรังโรคในธรรมชาติ หรืออาจเกิดจากคนหรือสัตว์ที่ติดเชื้อ แต่ส่วนใหญ่เกิดจากการบริโภคอาหาร เช่น อาหารที่มีส่วนผสมของน้ำนมดิบ เนยแข็ง เนื้อบด ผักดิบ (Schlech et al., 1983; Fleming et al., 1985; James et al, 1985; Piffaretti et al., 1989) ผู้ที่ไวต่อการติดเชื้อ ได้แก่ หญิงตั้งครรภ์และทารกในครรภ์ ผู้สูงอายุ ผู้ที่อยู่ในภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ ซึ่งรวมถึงผู้ป่วยโรคมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Eley, 1992; Jay, 1992) การเกิดโรคที่รุนแรงมักเกิดกับทารกในครรภ์ ทารกแรกคลอด หรือผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ ซึ่ง 1 ใน 3 ของผู้ป่วยเป็นทารกแรกคลอด การติดเชื้อในผู้ใหญ่มักเกิดกับผู้ที่อายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป โดยทั่วไปอัตราการป่วยตาย (case-fatality rate) ประมาณ 30% แต่ในกรณีที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้อง อัตราการป่วยตายอาจสูงถึง 70% คนปกติอาจติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ ซึ่งจะแพร่เชื้อได้เป็นเวลานานหลายเดือน อุบัติการณ์ของโรคในประเทศกลุ่มสหภาพยุโรปจะพบประมาณปีละ 2-3 รายต่อประชากร 1 ล้านคน (de Valk et al., 2005) ส่วนอุบัติการณ์ของผู้ติดเชื้อผ่านทางอาหารในสหรัฐอเมริกา ปี 2006 พบเป็นการติดเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 138 รายจากผู้ป่วยทั้งหมด 17,252 ราย (CDC, 2007)

การติดเชื้อ *L. monocytogenes* ในผู้ป่วยแม้จะมีอัตราค่อนข้างต่ำ แต่ความรุนแรงในผู้ป่วยไวรับที่ทำให้มีอัตราการตายค่อนข้างสูง นักวิจัยหลายประเทศจึงทำการสำรวจหาความชุกของเชื้อในสัตว์ต่าง ๆ หรือตรวจการปนเปื้อนของเชื้อในเนื้อสัตว์ รวมทั้งในอาหารพร้อมรับประทาน (ready-to-eat food) เพื่อเป็นข้อมูลในการประเมินความเสี่ยงและหามาตรการลดการติดเชื้อในผู้บริโภค การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อเป็ดและเนื้อไก่ดิบที่วางขายตามแผงใน

ตลาดสดต่าง ๆ ในเขตกรุงเทพมหานคร เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับประเมินความเสี่ยงในเนื้อสัตว์เหล่านี้ และหาแนวทางดำเนินการที่เหมาะสม หากพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อในอัตราที่สูง เพื่อให้เกิดความปลอดภัยแก่ผู้ที่บริโภคสินค้าปศุสัตว์เหล่านี้

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง

ในระหว่างปี พ.ศ. 2549 – 2550 เก็บตัวอย่างเป็ดและไก่ชำแหละจากร้านค้า (แผง) ในตลาดสดที่อยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร 61 แห่ง ได้ตัวอย่างจากร้านขายเป็ดชำแหละ จำนวน 104 แผง และจากร้านขายไก่ชำแหละ จำนวน 472 แผง โดยจำนวนไก่หรือเป็ดที่เก็บจากแต่ละแผงจะเลือกตามความเหมาะสม ใส่ในถุงพลาสติกแยก 1 ร้านต่อ 1 ถุง แช่ไว้ในถังน้ำแข็งระหว่างนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ ทำการตัดเนื้อจากผิวนอกของไก่หรือเป็ดดังกล่าวให้ได้รวม 25 กรัม จาก 1 แผง คิดเป็น 1 ตัวอย่าง รวมเป็นจำนวนทั้งสิ้น 576 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อ *L. monocytogenes* โดยวิธีการเพาะเชื้อ

การเพาะเชื้อ

ดัดแปลงจาก Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from red meat, poultry, eggs and environmental samples (USDA/FSIS, 2006) มีวิธีการดังนี้ นำเนื้อเป็ดหรือเนื้อไก่ ตัวอย่างละ 25 กรัม ตัดให้เป็นชิ้นเล็กละเอียดด้วยกรรไกร แล้วใส่ลงในขวดเพาะเชื้อที่มี modified University of Vermont broth (UVM-1) ปริมาตร 225 ml เขย่าโดยแรงให้ตัวอย่างกระจายทั่วในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดตัวอย่างมา 1 ml ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี fraser broth ปริมาตร 9 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ loop แตะ broth เขี่ยลงบน modified Oxford agar บ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Listeria spp.* จะมีสีดำ มีรอยบุ๋มตรงกลางและวุ้นโดยรอบเชื้อมีสีดำเช่นกัน เขี่ยเชื้อที่สงสัยเพาะลงบน 7% defibrinated sheep blood agar (SBA) บ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โคโลนีของเชื้อ *Listeria* spp. มีสีขาวปนเทา โดยที่เชื้อ *L. monocytogenes* จะมี hemolysis ล้อมรอบโคโลนี ทำการพิสูจน์เชื้อ *Listeria* spp. และ *L. monocytogenes* โดยการทำ PCR และ duplex PCR

การพิสูจน์เชื้อ *Listeria* spp. และ *Listeria monocytogenes* โดยวิธี PCR และ duplex PCR

เตรียมดีเอ็นเอจากเชื้อที่ขึ้นบน SBA โดยเขี่ยเชื้อ 1 โคโลนีใส่ลงใน microcentrifuge tube ที่มีน้ำ-กลั่นที่ปราศจาก DNase และ RNase 100 µl ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เก็บส่วนใสเป็น DNA template สำหรับทำ PCR และ duplex PCR ตามวิธีการของ Cocolin et al. (2002) และ Furrer et al. (1991) ตามลำดับ โดยเติม DNA template ปริมาตร 3.5 µl ลงใน PCR mastermix (1x PCR buffer, 3.5 mM $MgCl_2$, 100 µM (each) dNTP, 0.2 U *Taq* polymerase) ที่มีไพรเมอร์ Lis-univ.1 (5'-ATG TCA TGG AAT AA-3') และ Lis-univ.2 (5'-GCT TTT CCA AGG TGT TTT T-3') อย่างละ 0.2 µM และเติมน้ำ

กลั่นจนครบปริมาตร 25 µl ต่อตัวอย่าง นำเข้าเครื่อง thermal cycler (Hybaid, Thermo Electron, Germany) ตามโปรแกรม preheating 95ºC นาน 10 นาที ตามด้วย denaturation 95ºC นาน 1 นาที, annealing 36ºC นาน 2 นาที, extension 72ºC นาน 3 นาที จำนวน 35 รอบ และ final extension 72ºC นาน 7 นาที หลังจากนั้นตรวจหาแถบของ PCR product โดยนำมาผ่านกระแสไฟฟ้าใน 1.5% agarose เปรียบเทียบกับ 100 bp ladder ซึ่งเป็น standard marker เชื้อ *Listeria* spp. จะพบ product ที่ขนาดประมาณ 457, 472, 601 หรือ 610 bp ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ โดยที่เชื้อ *L. monocytogenes* จะได้ product ขนาดประมาณ 457 bp แต่การทำ electrophoresis โดยใช้ 1.5% agarose ไม่สามารถแยกความแตกต่างของขนาด PCR product ระหว่าง 601 กับ 610 bp และ 457 กับ 472 bp ได้ (รูปที่ 1)

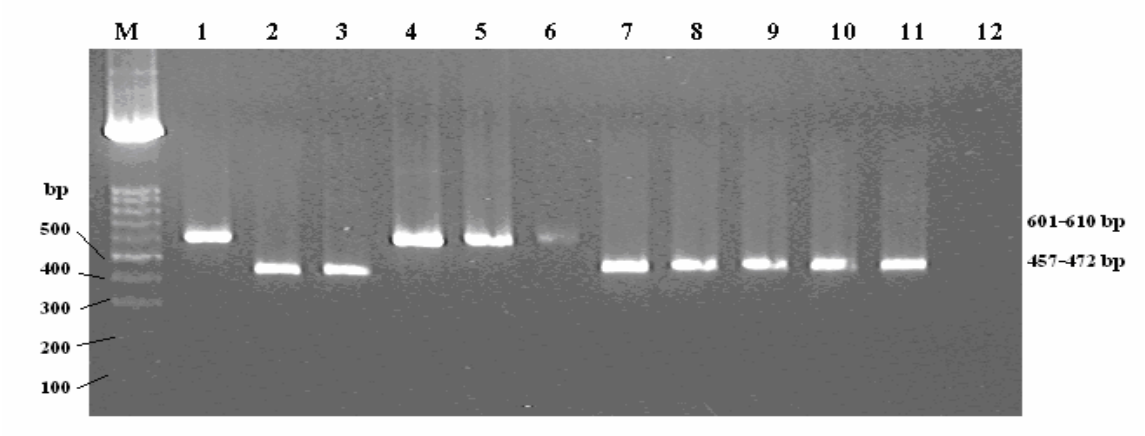
ดังนั้นตัวอย่างที่เกิด PCR product ขนาดประมาณ 457 – 472 bp จึงให้ผลสงสัยว่าเป็นเชื้อ *L. monocytogenes* จะนำมาทดสอบ duplex PCR (Furrer et al., 1991) เพื่อยืนยันเชื้อ *L. monocytogenes* โดยเติม DNA template ของตัวอย่างดังกล่าว ปริมาตร 2 µl ลงใน PCR mastermix (1x PCR buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM (each) dNTP, 0.2 U *Taq* polymerase) ที่มีไพรเมอร์ α - hemolysis (5'-CGG AGG TTC CGC AAA AGA TG-3') และ (5'-CCT CCA GAG TGA TCG ATG TT-3') และไพรเมอร์ ß- hemolysis (5'-ACA AGC TGC ACC TGT TGC AG-3') และ (5'-TGA CAG CGT GTG TAG TAG CA-3') อย่างละ 0.8 µM และเติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 20 µl ต่อตัวอย่าง นำเข้าเครื่อง thermal cycler (Hybaid, Thermo Electron, Germany) ตามโปรแกรม preheating 95ºC นาน 10 นาที ตามด้วย denaturation 95ºC นาน 30 วินาที, annealing 55ºC นาน 30 วินาที, extension 72ºC นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ และ final extension 72ºC นาน 5 นาที หลังจากนั้นตรวจหาแถบของ PCR product โดยการผ่านกระแสไฟฟ้าใน 1.5% agarose เชื้อ *L. monocytogenes* จะพบ product 2 แถบ มีขนาดประมาณ 234 bp และ 130 bp (รูปที่ 2)

ผล

ในปี พ.ศ. 2549 ตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* จากตัวอย่างเนื้อเป็ด จำนวน 36 ตัวอย่าง (แผง) และเนื้อไก่ จำนวน 171 ตัวอย่าง รวมเป็นจำนวนทั้งสิ้น 207 ตัวอย่าง จากตลาดสด รวม 45 แห่ง ตรวจพบเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเนื้อไก่ 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 5.85% (10/171) จากตลาดสด 7 แห่ง ได้แก่ ตลาดเงินวิจิตร 2 ตัวอย่าง จากการเก็บ 1 ใน 2 ครั้ง, ตลาดลาดพร้าวสะพานสอง 2 ตัวอย่าง จากการเก็บ 2 ครั้ง, ตลาดรุ่งเจริญ 2 ตัวอย่าง จากการเก็บครั้งเดียว, ตลาดรวมใจเมืองทองธานี ตลาดลานบุญ ตลาดวัดศรีเขมา ตลาดละ 1 ตัวอย่าง จากการเก็บครั้งเดียว และตลาดแฮบปี้แลนด์ 1 ตัวอย่าง จากการเก็บ 1 ใน 2 ครั้ง ตรวจไม่พบเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเนื้อเป็ด นอกจากนี้ตรวจพบเชื้อ *Listeria* spp. ทั้งในตัวอย่างเนื้อเป็ดและเนื้อไก่ รวมจำนวน 106 ตัวอย่าง จากตลาดสดรวม 31 แห่ง

ในปี พ.ศ. 2550 ตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* จากตัวอย่างเนื้อเป็ด จำนวน 68 ตัวอย่างและเนื้อไก่ จำนวน 301 ตัวอย่าง รวมเป็นจำนวนทั้งสิ้น 369 ตัวอย่าง จากตลาดสด รวม 56 แห่ง ตรวจพบเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเนื้อไก่ 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.65% (11/301) จากตลาดสด 9 แห่ง ได้แก่ ตลาดการเคหะธนบุรี 2 ตัวอย่าง จากการเก็บ 1 ใน 2 ครั้ง, ตลาดคลองเตย และตลาดมณีพิมาน 1 ตัวอย่าง จากการเก็บครั้งเดียว, ตลาดดาวคะนอง ตลาดบางกะปิ ตลาดพรานนก ตลาดใหม่บางแค และตลาดอุดมสุขพัฒนา ตลาดละ1 ตัวอย่าง จากการเก็บ 1 ใน 2 ครั้ง และตลาดศูนย์การค้าบางปะกอก 2 ตัวอย่าง จากการเก็บ 1 ใน 2 ครั้ง แต่ตรวจไม่พบในตัวอย่างเนื้อเป็ด นอกจากนี้ตรวจพบเชื้อ *Listeria* spp. ทั้งในตัวอย่างเนื้อเป็ดและเนื้อไก่ รวมจำนวน 117 ตัวอย่าง จากตลาดสดรวม 43 แห่ง (ตารางที่ 1)

รูปที่ 1 แสดงผล PCR จากเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ *Listeria* spp.

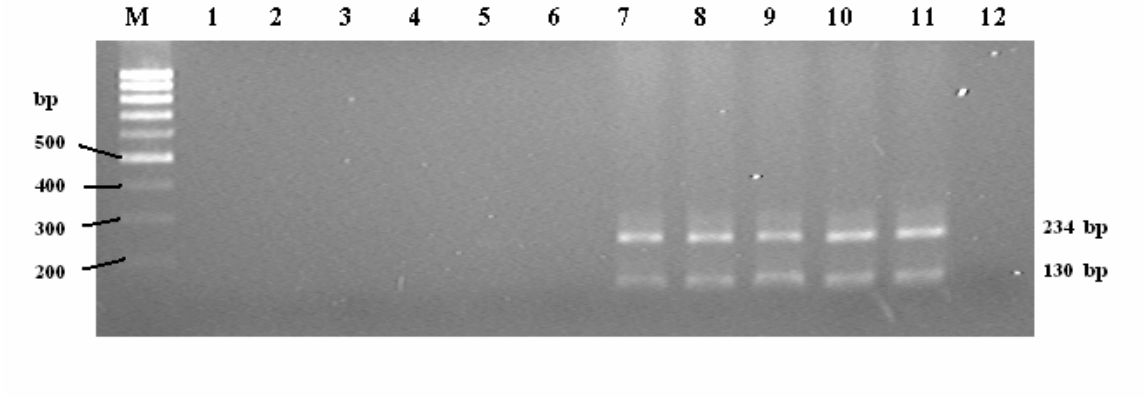


lane M = 100 bp ladder marker lane 1-6 = *Listeria* spp. from field samples

lane 7-10 = *L. monocytogenes* from field samples lane 11 = *L. monocytogenes* ATCC 7644

lane 12 = distilled water (negative control)

รูปที่ 2 แสดงผล PCR จากเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ *L. monocytogenes*



lane M = 100 bp ladder marker lane 1-6 = *Listeria* spp. from field samples

lane 7-10 = *L. monocytogenes* from field samples lane 11 = *L. monocytogenes* ATCC 7644

lane 12 = distilled water (negative control)

ตารางที่ 1 ผลการเพาะเชื้อ *Listeria monocytogenes* จากตัวอย่างเนื้อเป็ดและไก่ที่เก็บจากร้านค้าในตลาดสดในกรุงเทพมหานคร

ตลาด		ปี 2549					ปี 2550				
		จำนวนตัวอย่าง/จำนวน Listeria spp./จำนวน L. mono			จำนวนรวม		จำนวนตัวอย่าง/จำนวน Listeria spp./จำนวน L. mono			จำนวนรวม	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	*Listeria* spp	*L. mono*	ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	*Listeria* spp	*L. mono*
1	การเคหะธนบุรี	C3/3/0			3	0	C3/0/2	C2/1/0		1	2
2	กรมภูธเรศ	D1/1/0, C2/2/0	D5/1/0, C5/1/0		5	0	D10/0/0, C2/1/0	D3/0/0	D9/4/0, C2/0/0	5	0
3	คลองตัน	C4/0/0			0	0	D1/1/0, C3/3/0			4	0
4	คลองเตย	C5/3/0	D4/1/0, C9/4/0	D3/1/0,C4/2/0	11	0	D1/0/0, C8/0/1			0	1
5	เงินวิจิตร+วงเวียนใหญ่	D1/1/0	D6/1/0, C9/3/2		5	2	D4/1/0, C6/0/0	D4/0/0, C8/4/0		5	0
6	ฉัตรสาคร	C1/0/0			0	0	C2/1/0			1	0
7	โชคชัย 4	C2/2/0			2	0	C3/1/0	D1/0/0, C5/3/0		4	0
8	ดาวคะนอง				-	-	D2/2/0, C2/1/0	D2/1/0, C3/1/1		5	1
9	โต้รุ่งหัวหมาก	C1/1/0			1	0	C3/0/0			0	0
10	เทวราช	D1/1/0	C4/3/0		4	0	C4/3/0	C4/0/0		3	0
11	บางกะดี	C1/0/0			0	0				-	-
12	บางกะปิ	C4/4/0	C3/3/0		7	0	D2/0/0, C8/5/0	D1/1/0, C10/5/1		11	1
13	บางเขน				-	-	C2/1/0			1	0
14	บางคอแหลม	C2/2/0			2	0	C3/0/0			0	0
15	บางจาก	C2/1/0			1	0	C2/2/0			2	0
16	ปฐวิกรณ์				-	-	C3/1/0			1	0
17	ประชานิเวศน์				-	-	C3/2/0			2	0
18	พงษ์ทรัพย์	C2/0/0			0	0	C1/1/0			1	0
19	พงษ์เพชร				-	-	C3/1/0			1	0
20	พัฒนาการ				-	-	C3/1/0			1	0
21	พุทธมณฑล	C2/0/0			0	0	C2/1/0			1	0
22	พรานนก	C4/1/0			1	0	C10/4/0	C9/6/1		10	1

ตารางที่ 1 ผลการเพาะเชื้อ *Listeria monocytogenes* จากตัวอย่างเนื้อเป็ดและไก่ที่เก็บจากร้านค้าในตลาดสดในกรุงเทพมหานคร (ต่อ)

ตลาด		ปี 2549					ปี 2550				
		จำนวนตัวอย่าง/จำนวน Listeria spp./จำนวน L. mono			จำนวนรวม		จำนวนตัวอย่าง/จำนวน Listeria spp./จำนวน L. mono			จำนวนรวม	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	*Listeria* spp	*L. mono*	ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	*Listeria* spp	*L. mono*
23	โพธิสุวรรณ	C2/1/0			1	0	C2/1/0			1	0
24	มงคลไชย กม 4	C4/4/0			4	0				-	-
25	มิ่งขวัญบ้านนา				-	-	C3/2/0			2	0
26	มีนบุรี				-	-	D1/0/0, C7/2/0			2	0
27	มณีพิมาณ				-	-	C3/2/1			2	1
28	เมืองทองธานี				-	-	C3/0/0			0	0
29	ยิ่งเจริญ	D2/1/0, C3/2/0	D3/1/0, C7/6/0		10	0	D2/0/0, C8/4/0			4	0
30	ราชวัตร				-	-	C4/2/0	C4/3/0		5	0
31	รามอินทรา กม2	C1/1/0			1	0	C2/1/0			1	0
32	รถไฟบางกอกน้อย	C4/4/0	C6/3/0		7	0	D2/0/0, C8/1/0	D1/0/0, C7/3/0		4	0
33	รุ่งเจริญ	C2/0/2			0	2				-	-
34	รุ่งอรุณ+แสงทิพย์	D1/0/0, C3/0/0	D1/0/0, C4/1/0		1	0	D1/0/0, C4/0/0	D2/0/0, C6/3/0		3	0
35	รวมใจเมืองทองธานี	C7/4/1			4	1	C3/0/0			0	0
36	ลาซาล	C2/1/0			1	0	C2/0/0			0	0
37	ลาดพร้าวสะพาน 2	C3/2/1	C4/2/1		4	2	C5/2/0	C6/1/0	C4/0/0	3	0
38	ลานบุญ	C2/0/1			0	1	C2/1/0			1	0
39	วัฒนานันท์	C2/2/0			2	0	C4/0/0			0	0
40	วัดแขก	C1/1/0			1	0	C3/0/0			0	0
41	วัดจันทราราม				-	-	D1/0/0, C2/0/0	C5/2/0		2	0
42	วัดศรีเขมา	C3/1/1			1	1	C2/1/0			1	0
43	ศิริชัย				-	-	C3/1/0			1	0
44	ศรีตากล่ำ	C2/0/0			0	0	C2/0/0			0	0

ตารางที่ 1 ผลการเพาะเชื้อ *Listeria monocytogenes* จากตัวอย่างเนื้อเป็ดและไก่ที่เก็บจากร้านค้าในตลาดสดในกรุงเทพมหานคร (ต่อ)

ตลาด		ปี 2549					ปี 2550				
		จำนวนตัวอย่าง/จำนวน Listeria spp./จำนวน L. mono			จำนวนรวม		จำนวนตัวอย่าง/จำนวน Listeria spp./จำนวน L. mono			จำนวนรวม	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	*Listeria* spp	*L. mono*	ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	*Listeria* spp	*L. mono*
45	ศูนย์การค้าบางปะกอก	D2/0/0, C4/0/0			0	0	C3/0/0	C5/0/2		0	2
46	สะพานใหม่	D1/0/0, C3/3/0			3	0	D2/0/0, C7/2/0			2	0
47	สายเนตร	C2/2/0			2	0	D1/0/0, C5/1/0			1	0
48	สี่แยกบางนา	C1/1/0			1	0	C4/0/0			0	0
49	สุขสวัสดิ์	C3/0/0			0	0	C1/0/0			0	0
50	ห้วยขวาง	D1/1/0, C2/2/0			3	0	C6/3/0			3	0
51	หนองจอก				-	-	C3/1/0			1	0
52	ใหม่จอมทอง				-	-	C2/1/0			1	0
53	ใหม่ทุ่งครุ				-	-	C3/1/0			1	0
54	ใหม่บางแค+แสงฟ้า	D1/1/0, C10/8/0			9	0	D6/0/0, C5/0/1	D5/3/0, C8/4/0		7	1
55	อุดมสุข	C2/0/0			0	0	C3/1/0	D1/0/0, C4/2/0		3	0
56	อุดมสุขพัฒนา	C1/1/0			1	0	C2/0/1	C4/1/0		1	1
57	อ่อนนุช	C4/2/0			2	0	C3/1/0			1	0
58	เอกชัย	C1/0/0			0	0				-	-
59	เอกมัย	C2/1/0			1	0				-	-
60	เอี่ยมสมบัติ				-	-	C3/0/0			0	0
61	แฮบปี้แลนด์	D2/1/0	D1/0/0, C5/4/1		5	1	D2/1/0, C2/0/0	D1/0/0, C5/4/0		5	0
	รวม (%)	D36/12/0 (33.3%,0%), C171/94/10 (54.9%,5.85%)			106	10	D68/14/0 (20.6%,0%), C301/103/11 (34.2%,3.65%)			117	11

L. mono = *Listeria monocytogenes*, C = Chicken, D = Duck

= ไม่ได้เก็บตัวอย่าง

วิจารณ์

การสำรวจหาเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อเป็ดและเนื้อไก่จากตลาดสดในกรุงเทพมหานครครั้งนี้ พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่ 5.85% ในปี 2549 และ 3.65% ในปี 2550 แต่ไม่พบการปนเปื้อนในเนื้อเป็ด น้อยกว่าที่ศรีกาญจนา (2541) เคยสำรวจหาเชื้อนี้ในตัวอย่างอาหาร 17 ชนิด พบการปนเปื้อนของเชื้อนี้ในตัวอย่างบางชนิด โดยพบในเนื้อไก่ จำนวน 2 จาก 10 ตัวอย่าง (20%) ซึ่งอัตราที่สูงนี้ อาจเนื่องมาจากตัวอย่างแต่ละชนิดที่เก็บมาตรวจมีจำนวนน้อย มีการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่ในหลายประเทศ พบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อที่แตกต่างกันไป เช่น ในสหราชอาณาจักรพบการปนเปื้อนในเนื้อไก่ดิบสูงถึง 60% (Pini and Gilbert, 1988) ในประเทศฟินแลนด์พบ 62% (Miettinen et al., 2001) ในประเทศนอร์เวย์พบการปนเปื้อนในเนื้อไก่ดิบ 50% (Rorvik et al., 2003) และประเทศโปรตุเกสพบ 41% (Antunes et al., 2002) ส่วนที่ประเทศญี่ปุ่นพบ 15%

(Okutani et al., 2004) Rocourt and Lossart (1997) ตั้งข้อสังเกตไว้ว่า มักจะมีรายงานการพบเชื้อ *L. monocytogenes* ในประเทศอุตสาหกรรม (industrialized country) แถบยุโรปและอเมริกาเหนือ แต่ไม่มีรายงานในแถบเอเชียและอาฟริกา อาจมีสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับชนิดของอาหาร วัฒนธรรมการบริโภค ตลอดจนเทคโนโลยีการเก็บและถนอมอาหารที่แตกต่างกัน หรืออาจเป็นเพราะขาดการตรวจสอบรวมทั้งข้อจำกัดด้านความสามารถของห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามปัจจุบันมีการสำรวจเชื้อนี้ในประเทศเขตร้อนมากขึ้น โดยพบอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเนื้อไก่สดหรือแช่แข็ง เพียง 1% ในประเทศเอธิโอเปีย (Molla et al., 2004), 2.5-7.5% ในประเทศปากีสถาน (Mahmood et al., 2003), 8.5% ในประเทศอินเดีย (Kalorey et al., 2005) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้ ยกเว้นการสำรวจในประเทศมาเลเซียที่มีอัตราการปนเปื้อนในเนื้อไก่สูงถึง 45% (Tan et al., 2007) การที่เชื้อนี้มีอัตราการปนเปื้อนค่อนข้างมากในประเทศที่อยู่ในเขตภูมิอากาศหนาว อาจเป็นเพราะเชื้อทนทานต่อความเย็น (cryotolerance) จึงมีอัตรารอดชีวิตอยู่ในอากาศที่หนาวเย็นได้เป็นเวลานาน อย่างไรก็ตามอุบัติการณ์ของโรค listeriosis ในประชากรของประเทศเหล่านั้นไม่สูงนัก เนื่องจากผู้ที่ไวรับต่อการติดเชื้อจะเป็นเฉพาะในผู้สูงอายุ ผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องและหญิงมีครรภ์ อีกทั้งการมีมาตรการให้ผู้บริโภคตระหนักถึงความเสี่ยงต่อการติดโรค ในปัจจุบันอัตราการเกิดโรค listeriosis ในประเทศญี่ปุ่นลดลงเรื่อย ๆ จาก 62 รายในปี 1982 เป็น 19 รายในปี 1988 (Okutani et al., 2004) อุบัติการณ์ของผู้ป่วยโรค listeriosis ใน 10 รัฐของสหรัฐอเมริกาในปี 2006 ก็ลดลงจากปี 1996-1998 ถึง 34% (CDC, 2007)

โดยปกติการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* ในโรงฆ่าสัตว์พบไม่สูงนัก ประมาณ 1-11% แต่อัตราการปนเปื้อนสูงขึ้นเป็น 60% ในระดับร้านค้าแหล่งจำหน่าย (Meittinen et al., 2001) จึงมีความเป็นไปได้มากที่เชื้อมีการกระจาย และมีอัตราสูงขึ้นจากการปะปนของสินค้าที่ทำให้มีการปนเปื้อนเชื้อไป

สู่กัน (cross contamination) แม้ว่าการสำรวจเชื้อ *L. monocytogenes* ในครั้งนี้จะไม่ได้ทำการสำรวจในระดับโรงฆ่าสัตว์ เพื่อหาอัตราการปนเปื้อนก่อนมีการขนส่งเข้าสู่ตลาดสดที่เป็นแหล่งจำหน่าย แต่ก็ยังพบว่าการปนเปื้อนของเชื้อในระดับตลาดสดนี้ มีอัตราค่อนข้างต่ำ และจะเห็นว่าโอกาสพบการปนเปื้อนเชื้อนี้ในตลาดมีลักษณะกระจัดกระจายและไม่สม่ำเสมอ กล่าวคือ ในตลาดที่มีการเก็บตัวอย่างมากกว่า 1 ครั้ง ก็พบการปนเปื้อนของเชื้อนี้เพียงครั้งเดียว ยกเว้นตลาดลาดพร้าวสะพานสองเพียงแห่งเดียวที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจากการเก็บตัวอย่างทั้ง 2 ครั้งในปี 2549 อีกทั้งการปนเปื้อนของเชื้อในปี 2549 และ 2550 ก็พบในตลาดที่ไม่ซ้ำแห่งกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระบบการจัดการตลาดที่ดี ทำให้พบเชื้อได้น้อย หรือเชื้อนี้ไม่ใช่เชื้อที่แพร่หลายในภูมิอากาศที่ร้อนอย่างประเทศไทยและกรุงเทพมหานคร อย่างไรก็ตามการมีอยู่ของเชื้อนี้เป็นสัญญาณว่า ผู้บริโภคไม่ควรละเลยที่จะรักษาสุขอนามัย โดยการรับประทานอาหารที่ปรุงสุกอยู่เสมอ นอกจากนี้ควรมีการสำรวจหาเชื้อนี้ในสินค้าอื่น เช่น เนื้อสุกร เนื้อวัว และอวัยวะต่าง ๆ ซึ่งมักจะมีรายงานการตรวจพบในหลายประเทศ ส่วนเชื้อ *L. monocytogenes* ที่แยกได้ในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจะได้ทำการศึกษาต่อไปถึงความแตกต่างในระดับสายพันธุ์ รวมทั้งศึกษาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลทางระบาดวิทยาและเชื้อดื้อยา ซึ่งเป็นการเฝ้าระวังโรคและจะเป็นประโยชน์ทางด้านสัตวแพทย์สาธารณสุขในการดูแลสุขภาพและอนามัยของผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณณัฐธิกา รัตนพันธุ์ และคุณพงษ์พิทักษ์ พิลาสมบัติ ที่ช่วยทำการเพาะเชื้อจากตัวอย่าง คุณอุบลรัตน์ แทนกลาง ที่ช่วยจัดเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งเจ้าหน้าที่กลุ่มแบคทีเรียและพนักงานขับรถทุกท่านที่ช่วยเหลืองานต่าง ๆ ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ศรีกาญจนา คล้ายเรือง. 2541. การคัดเลือกพืชสมุนไพรไทยเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes*. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 116 หน้า.

Antunes, P., Reu, C., Sousa, J.C., Pestana, N. and Peixe, L. 2002. Incidence and susceptibilityto antimicrobial agents of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from poultry carcasses in Porto, Portugal. J. Food Prot. 65(12): 1888-1893.

CDC. 2007. Preliminary foodnet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food—10 states, 2006. Morbidity Mortality Weekly Report 56(14): 336-339.

Cocolin, L., Rantsiou, K., Lacumin, L., Cantoni, C. and Comi, G. 2002. Direct identification in food samples of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* by molecular methods. Appl.

Environ. Microbiol. 68: 6273-6282.

de Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., Desenclos, J.C. and Martin, P. 2005. Surveillance of *Listeria* infection in Europe. Euro Surveill. 2005(10): 251-255.

Eley, A.R. 1992. Microbial food poisoning. Chapman and Hall, London, England. 211 p.

Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. and Reingold, A.L. 1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. N. Engl. J. Med. 312: 404-407.

Furrer, B., Candrian, U., Hoefelein, Ch. and Luethy, J. 1991. Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by in vitro amplification of haemolysin gene fragments. J. Appl. Bacteriol. 70: 372-379.

James, S.M., Fannin, S.L., Agee, B.A., Hall, B., Parker, E., Vogt, J., Run, G., Williams, J., Lieb, L., Saminen, C., Prendergast, T.,Werner, S.B. and Chin, J. 1985. Listeriosis outbreaks associated with mexican-style cheese California. Morbidity Mortality Weekly Report 34: 357-359.

Jay, M.J. 1992. Modern food microbiology. 4th ed., Chapman and Hall, New York, U.S.A. 701 p.

Kalorey, D.R., Barbuddhe, S.B., Kurkure, N.V. and Gunjal, P.S. 2005. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat in Vidharba region of India. The 17th European Symposium on the Quality of Poultry Meat. 2005 May 23-26. Doorwerth, The Netherlands. pp. 172-173.

Mahmood, M.S., Ahmed, A.N. and Hassain, I. 2003. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in poultry meat, poultry meat products and other related in animates at Faisalabad. Pakistan J. Nutr. 2(6): 346-349.

Miettinen, M.K., Palmu, L., Bjorkroth, K.J. and Korkeala, H., 2001. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant and retail level. J. Food Prot. 64(7): 994-999.

Molla, B., Yilma, R. and Alemayehu, D. 2004. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail meat and milk products in Addis Ababa, Ethiopia. Ethiop. J. Health Dev. 18(3): 208-212.

Okutani, A., Okada, Y., Yamamoto, S. and Igimi, S. 2004. Overview of *Listeria monocytogenes* contamination in Japan. Int. J. Food Microbiol. 93: 131-140.

Piffaretti, J.C., Kressebuch, H., Aeschbacher, M., Bille, J., Bannerman, E., Musser, J.M.,

Selander, R.K. and Rocourt, J. 1989. Genetic characterization of clones of the bacterium *Listeria monocytogenes* causing epidemic disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86(10): 3818-22.

Pini, P.N. and Gilbert, R.J. 1988. The occurrence in the U.K. of *Listeria* species in raw chickens and soft cheeses. Int. J. Food Microbiol. 6: 317-326.

Rocourt, J. and Lossart, P. 1997. *Listeria monocytogenes*. In: Food Microbiology : Fundamental and Frontiers. Edited by M. P. Doyle, L. R. Beuchat, and J. J. Monville. ASM Press, Washington D.C., U.S.A. p. 337 – 352.

Rorvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T. and Caugant, D.A. 2003. Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry products. J. Appl. Microbiol. 94: 633-640.

Ryser, E.T. and Marth, E.H. 1991. *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. Marcel Decker Inc. New York, U.S.A. 632 p.

Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C.V. m1983. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. N. Engl. J. Med. 308(4): 203-208.

Seeliger, H.R.P. and Finger, H. 1983. Listeriosis. In: Infectious diseases of the fetus and the newborn infant. Edited by J.S. Remington and J. Klein. Saunders. pp. 333-365.

Seeliger, H.R.P. and Jones, D. 1986. Listeria. In: Bergey's manual of systematic bacteriology. Edited by P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. Vol.2 Williams and Wilkins Co. Baltimore, U.S.A. pp 1235-1245.

Tan, D.Y., Rozila, A., Wee, S.K.,Gaisthre, R., Hanini, S.N. and Seetha, J. 2007. Detection and Isolation of *Listeria monocytogenes* from poultry and seafood in Malaysia. The 19th Veterinary Association Malaysia Congress, 2007 August 3-5. Malaysia. pp 192-193.

USDA/FSIS, 2006. Microbiology laboratory guidebook, notice of change. Revision 5. August 1, 2006. MLG 8.05, 20 p.

A survey of *Listeria monocytogenes* in duck and chicken meat from fresh markets in Bangkok during 2006-2007

Pacharee Thongkamkoon* **Porntip Sirivan** **Chit Sirivan**

National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

* Corresponding person: Tel. 02579 8908- 14 ext. 405, Fax 02579 8919, email: patchareet@dld.go.th

Abstract

Duck and chicken meat was collected from fresh markets in Bangkok for 2 years to detect the contamination of *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*). In 2006, the samples were collected from 45 fresh markets and *L. monocytogenes* was found in 10 out of 171 samples of chicken meat (5.85%) from 7 markets, whereas none of 36 duck meat samples was positive. In 2007, the samples were collected from 56 fresh markets and *L. monocytogenes* was found in 11 out of 301 samples of chicken meat (3.65%) from 9 markets, whereas none of 68 duck meat samples was positive. The results indicated that the contamination rates of *L. monocytogenes* in duck and chicken meat from fresh markets in Bangkok were rather low.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, duck and chicken meat, fresh market, Bangkok