The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 32
Issue 4 *December, 2002*

Article 6

12-6-2002

SALMONELLA SPP., COLIFORMS AND TOTAL BACTERIAL COUNTS FROM CULTURED ABALONES

Perasut Pianpijit

Suksan Juhong

Nattakan Tun

Channarong Rodkum

Janenuj Wongtavatchai

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm

Part of the Veterinary Medicine Commons

Recommended Citation

Pianpijit, Perasut; Juhong, Suksan; Tun, Nattakan; Rodkum, Channarong; and Wongtavatchai, Janenuj (2002) "SALMONELLA SPP., COLIFORMS AND TOTAL BACTERIAL COUNTS FROM CULTURED ABALONES," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 32: Iss. 4, Article 6.
DOI: https://doi.org/10.56808/2985-1130.1893
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol32/iss4/6

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ในหอยเป๋าฮื้อที่เพาะเลี้ยง

พีรสุทธิ์ เพียรพิจิตร[1] สุขสันต์ จูห้อง[1] ณัฐกานต์ แซ่ตัน[1]
ชาญณรงค์ รอดคำ[2] เจนนุช ว่องธวัชชัย[3*]

Abstract

Perasut Pianpijit[1] Suksan Juhong[1] Nattakan Tun[1] Channarong Rodkum[2] Janenuj Wongtavatchai[3*]

SALMONELLA SPP., COLIFORMS AND TOTAL BACTERIAL COUNTS FROM CULTURED ABALONES

The first commercial farm in Thailand to culture Abalone was studied to approve sanitation and food safety. Water quality and bacterial contamination criteria in both water from culture-related sources and Abalone prior to marketing was examined. The water quality and bacteria found in the water samples (total aerobic plate, *Vibrio* count and MPN total coliforms) indicated the culturing practices adhere to the standards for shellfish sanitation. Total coliforms and other bacteria found in the Abalone samples also complied with microbiological guidelines for seafood products. The study details good farm manufacturing practices which can assure the food safety of Abalone. Further practices; including depuration prior to harvest and temperature control during distribution will also implemented.

Keywords : Abalone, foodborne bacterial pathogens, culture, water quality

[1]Sixth year student Academic year 2001, [2]Department of Microbiology, [3]Department of Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330.
[*]Corresponding author

[1]นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2544, [2]ภาควิชาจุลชีววิทยา, [3]ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[*]ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

พีรสุทธิ์ เพียรพิจิตร[1] สุขสันต์ จูห้อง[1] ณัฐกานต์ แซ่ตัน[1] ชาญณรงค์ รอดคำ[2] เจนนุช ว่องธวัชชัย[3*]

การวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในหอยเป๋าฮื้อที่เพาะเลี้ยง

ศึกษาขั้นตอนการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อในฟาร์มเอกชนแห่งแรกของประเทศไทย เพื่อประเมินสุขลักษณะของการเลี้ยง การจัดการ และคุณภาพของผลผลิตในด้านสุขอนามัยอาหาร โดยการตรวจสอบคุณภาพน้ำและการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียอาหารเป็นพิษในน้ำและกล้ามเนื้อเท้าของหอยเป๋าฮื้อระยะส่งขายจากจุดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการเลี้ยง ผลการตรวจพบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณเชื้อวิบริโอ และปริมาณเชื้อโคไลฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยและในตัวอย่างเนื้อหอยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสุขลักษณะการเลี้ยงหอยเพื่อการบริโภคและมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารทะเล ฟาร์มดังกล่าวมีขั้นตอนควบคุมคุณภาพน้ำที่ดีตลอดระยะเวลาการเลี้ยง จึงทำให้ผลผลิตได้มาตรฐานตามเกณฑ์สุขอนามัยอาหาร อย่างไรก็ดีควรจัดให้มีมาตรการการจัดการอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น การให้ความสะอาดแก่ตัวหอยโดยการถ่ายหอยจากบ่อเลี้ยงไปแช่ในน้ำสะอาดเป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนขาย การควบคุมอุณหภูมิหลังจากการเก็บผลผลิต เป็นต้น

คำสำคัญ : หอยเป๋าฮื้อ เชื้อแบคทีเรียอาหารเป็นพิษ การเพาะเลี้ยง คุณภาพน้ำ

บทนำ

หอยเป๋าฮื้อ (Abalone) หรือที่เรียกกันว่า หอยโข่งทะเลหรือหอยร้อยรู จัดเป็นหอยฝาเดียว (gastropod) มีแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติ โดยเฉพาะตามแนวปะการังแพร่กระจายในเขตหนาว เขตอบอุ่น และเขตร้อน ซึ่งรวมถึงประเทศไทยด้วย (สมร, 1992) หอยเป๋าฮื้ออาจนับได้ว่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากเป็นที่นิยมรับประทาน มีราคาสูง และเปลือกยังสามารถนำไปทำเครื่องประดับได้ ในตลาดต่างประเทศหอยเป๋าฮื้อเป็นหอยที่มีราคาสูงมาก เช่น ในญี่ปุ่นมีราคาประมาณ 2,000-2,400 บาทต่อกก. และในสหรัฐอเมริกามีราคาประมาณ 1,000-1,650 บาท/กก. (คเชนทร, 2001) ชนชาติที่นิยมบริโภคหอยชนิดนี้ ได้แก่ ญี่ปุ่น จีน สิงคโปร์ เกาหลี อเมริกา ยุโรปและเม็กซิโก เป็นต้น โดยญี่ปุ่นเป็นชนชาติที่บริโภคหอยเป๋าฮื้อมากที่สุด เนื่องจากหอยเป๋าฮื้อที่ได้จากธรรมชาติมีปริมาณลดลง ดังนั้นจึงมีการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อในลักษณะฟาร์มเพื่อพัฒนาทดแทนการจับหอยจากธรรมชาติ ผลผลิตหอยเป๋าฮื้อทั่วโลกมีประมาณ 20,000 เมตริกตันต่อปี โดยญี่ปุ่นและจีนเป็นผู้นำด้านการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อในฟาร์ม สามารถผลิตหอยเป๋าฮื้อได้ถึงร้อยละ 75 ของกำลังการผลิตหอยจากฟาร์มทั่วโลก (Roy, 2001)

ในปัจจุบันความต้องการหอยเป๋าฮื้อในตลาดโลกมีแนวโน้มที่จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเนื่องจากหอยเป๋าฮื้อเริ่มเป็นที่รู้จักของผู้บริโภคและเนื้อมีรสชาติดี ประเทศไทยจึงเริ่มมีการพัฒนาการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อเพื่อการส่งออก ซึ่งจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพของหอยให้ได้มาตรฐานสุขอนามัยอาหาร การศึกษาในครั้งนี้เป็นการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อหอยและตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อในฟาร์ม

เอกชนหนึ่งในจังหวัดภูเก็ต เพื่อประเมินความเสี่ยงที่อาจเกิดจากการปนเปื้อนของจุลชีพในระหว่างการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีผลต่อสุขภาพของหอยเป๋าฮื้อและสุขอนามัยของผู้บริโภค

วัสดุและวิธีการ

ศึกษาขั้นตอนการเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อภายในฟาร์มเอกชนหนึ่งในจังหวัดภูเก็ต ช่วงระหว่างเดือนกันยายน 2543 ถึงเดือนธันวาคม 2544 เพื่อประเมินตำแหน่งหรือขั้นตอนที่อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นกำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำและหอยเป๋าฮื้อ ซึ่งตัวอย่างน้ำจะเก็บจากบ่อพักน้ำ บ่อเลี้ยงสาหร่าย บ่อหอยวัยรุ่น บ่อหอยขุน บ่อพ่อ-แม่พันธุ์ และบ่อน้ำทิ้ง ส่วนตัวอย่างหอยเก็บจากบ่อหอยขุน โดย เก็บตัวอย่างหอย ช่วงอายุประมาณ 6-12 เดือน มีน้ำหนักตัวรวมเปลือกประมาณ 25-50 ก.

ก่อนการเก็บตัวอย่างน้ำและหอยเป๋าฮื้อ ทำการตรวจคุณภาพทางกายภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยภายในฟาร์ม ได้แก่ ความเค็ม (salinity) และอุณหภูมิ (temperature) และตรวจคุณภาพทางเคมีของน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยโดยวิธีทางชีวเคมี (colorimetric method) ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) อัลคาไลนิตี้ (alkalinity) แอมโมเนีย (NH_3) และไนไตรท์ (NO_2) เพื่อประเมินคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงว่ามีคุณภาพตามมาตรฐานของการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อ ตรวจการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำและตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อ แบ่งออกเป็น 4 วิธี คือ

1. ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial count)
2. ตรวจนับจำนวนและแยกชนิดของวิบริโอ (Vibrio count and identification)
3. ตรวจนับจำนวนและแยกชนิดของโคไลฟอร์ม (most probable number - coliforms)
4. ตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่า (Salmonella identification)

1. การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial count) (นงลักษณ์และปรีชา, 1998)

1.1 เตรียมตัวอย่างน้ำ โดยการเจือจางน้ำด้วย Peptone Salt Dilution (PSD) แบบ ten-fold dilution จนถึง 10^{-5}

1.2 เตรียมตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อ โดยนำกล้ามเนื้อเท้าของหอย 1 ก. ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วบดรวมกับ PSD 9 มล. แล้วเจือจางแบบ ten-fold dilution จนถึง 10^{-5}

1.3 นำตัวอย่างน้ำและกล้ามเนื้อหอยที่เจือจางแล้ว มาทำการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โดยวิธีเทเพลท (pour-plate technique) ใน marine agar ที่หลอมเหลว รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งดี แล้วจึงนำไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิห้อง (30-32°ซ.) เป็นเวลานาน 48 ชม. นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ แล้วคำนวณหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

2. การตรวจนับจำนวนและแยกชนิดของวิบริโอ (*Vibrio* count and identification) (Elliot et al., 1992)

2.1 นำตัวอย่างน้ำและกล้ามเนื้อหอยที่เจือจางแล้ว dilution ละ 0.1 มล. มาทำให้เชื้อกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (spread plate) โดยใช้ Thiosulfate Citrate Bile-salt Sucrose (TCBS) agar จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30-32°ซ.) เวลานาน 48 ชม. เลือกนับเฉพาะจานที่มีเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อที่มีจำนวน 30-300 โคโลนี แล้วคำนวณหาจำนวนวิบริโอ

2.2 หลังจากนับจำนวนแบคทีเรียแล้ว คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกัน ทำการถ่ายเชื้อสู่อาหารใหม่ (subculture) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ แล้วนำเชื้อบริสุทธิ์ไปวิเคราะห์แยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียตามคุณสมบัติทางชีวเคมี (standard biochemical identification) โดยใช้

API 20E Identification kit (BioMe/rieux, France)

3. การตรวจนับจำนวนและแยกชนิดของโคไลฟอร์ม (most probable number-Coliforms) (Peeler and Mcclure, 1992)

3.1 นำตัวอย่างน้ำและกล้ามเนื้อหอยที่ทำการเจือจางแล้ว ที่ความเข้มข้น 10^0, 10^{-1} และ 10^{-2} จำนวนอย่างละ 1 มล. ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี lactose broth 9 มล. ซึ่งภายในหลอดทดลองแต่ละหลอดมี durham tube ไว้ที่ก้นหลอด แต่ละความเข้มข้นจะทำซ้ำจำนวน 3 หลอด (3-tube method) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (31°ซ.) เป็นเวลานาน 48 ชม. อ่านผลโดยการนับจำนวนหลอดที่เกิด gas ใน durham tube ในแต่ละ dilution และแปลผลตาม most probable number table

3.2 หลังจากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากหลอด lactose broth ที่เกิด gas ลงใน nutrient agar และทำการ subculture จนได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วนำเชื้อบริสุทธิ์ไปวิเคราะห์แยกชนิดของแบคทีเรียโดยใช้ API 20E identification kit (BioMe/rieux, France)

4. การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่า (Salmonella identification) (Andrews et al., 1992)

4.1 นำตัวอย่างน้ำจำนวน 500 มล. กรองผ่านผ้าก็อซ แล้วแช่ผ้าก็อซลงไปในขวดแก้วที่มี Buffer Peptone Water (BPW) ซึ่งเป็น pre-enrichment media จำนวน 180 มล. บ่มเพาะเชื้อที่ 37°ซ. นาน 18-24 ชม.

4.2 ตัวอย่างหอยใช้กล้ามเนื้อเท้า 1 ก. (ดังข้อ 1.2) ใส่ลงในหลอดที่มี BPW 9 มล. นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 37°ซ. นาน 18-24 ชม.

4.3 หลังจากบ่มใน BPW แล้วทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะสำหรับเชื้อซัลโมเนลล่า คือ Modified Semi-Solid Rappaport Vassiliadis Agar (MSRV) โดยถ่ายเชื้อจาก BPW จำนวน 0.1 มล. หยดลงบนผิวหน้าของ MSRV ให้ชิดขอบจานเพาะเชื้อแล้วหมุนจานเพาะเชื้อให้รอบ บ่มที่อุณหภูมิ 42°ซ. นาน 18-24 ชม. อ่านผลโดยพิจารณาที่สีของ MSRV ที่เปลี่ยนจากสีเขียวแกมน้ำเงินใสเป็นสีขาวขุ่น แผ่เข้ามายังจุดศูนย์กลางของจานเพาะเชื้อเนื่องจากเชื้อที่มี flagella จะเคลื่อนออกไปรอบๆ จุดที่หยดเชื้อ

4.4 ทำการพิสูจน์เชื้อที่พบเป็นเชื้อซัลโมเนลล่าโดยวิธีการขีดเชื้อ (streak plate) แบบ four-way cross streak โดยการใช้ loop แตะเชื้อที่แผ่ไปไกลสุดจากตำแหน่งที่หยดเชื้อบน MSRV (4.3) แล้วนำไปเพาะลงใน Xylose-lysine Desoxycholate agar (XLD) บ่มที่ 35°ซ. นาน 24 ชม. เมื่อเชื้อเจริญแล้วเลือกโคโลนีที่มีลักษณะของเชื้อซัลโมเนลล่า คือ โคโลนีกลม ใส สีชมพู แต่ส่วนมากจะมีสีดำอยู่ตรงกลาง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มล. นำโคโลนีที่เลือกมาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Triptic Soy Agar (TSA) แล้วนำไปทดสอบยืนยันชนิดของเชื้อด้วย API 20E identification kit (bioMe/rieux, France)

ผลการศึกษา

การตรวจคุณภาพน้ำ ได้แก่ น้ำจากบ่อเลี้ยงสาหร่าย บ่อพักน้ำ บ่อพ่อ-แม่พันธุ์ บ่อหอยขุน (อายุ 6-18 เดือน) บ่อหอยวัยรุ่น (อายุ 3-6 เดือน) และบ่อหอยวัยอ่อน (อายุน้อยกว่า 3 เดือน) แสดงคุณสมบัติของน้ำทางกายภาพและทางเคมี (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ผลการตรวจปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำและในเนื้อหอยเป๋าฮื้อพบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำที่ใช้เลี้ยงและในเนื้อหอยเป๋าฮื้อมีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 2 และ 3) และน้ำที่ใช้เลี้ยงเป็นปัจจัยสำคัญต่อชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในหอยเป๋าฮื้อ ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่พบในน้ำที่ใช้เลี้ยงหอย ได้แก่ *V. anguilarum, V. fluvialis, V. harveyi, V. damsela, V. furnissi* และ *Enterobacter cloacae*

ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างหอย ได้แก่ *V. anguilarum, V. fluvialis, V. damsela, Enterobacter cloacae* และ *Escherichia coli* ซึ่งเชื้อแบคทีเรียส่วนมากที่พบในหอยเป๋าฮื้อเป็นชนิดเดียวกับที่พบในตัวอย่างน้ำ (ตารางที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำ

	Ammonium (ppm)	Nitrite (ppm)	Alkalinity (ppm)	Salinity (ppt)	T (^oC)	pH
บ่อหอยวัยรุ่น*	0.19	0	112.5	31	32	8.3
บ่อหอยขุน*	0.00	0	130.0	31	31	8.3
บ่อพ่อ-แม่พันธุ์**	0.17	0	106.7	31	31	8.3
บ่อพักน้ำ***	0.20	0	110.0	31	33	8.3
บ่อเลี้ยงสาหร่าย***	0.20	0	90.0	15	33	9.0-9.3
บ่อน้ำทิ้ง***	0.00	0	110.0	31	31	8.6

* : ค่าเฉลี่ยจากน้ำที่เก็บแต่ละบ่อภายในฟาร์ม (n=5)
** : ค่าเฉลี่ยจากน้ำที่เก็บแต่ละบ่อภายในฟาร์ม (n=4)
*** : ตัวอย่างเดียว

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำ

ตัวอย่างน้ำ	Total bacterial count (cfu/ml)	Vibrio count (cfu/ml)	MPN coliforms (MPN index/100ml)	Salmonella Isolation
บ่อหอยวัยอ่อน*	1.08×10^5	5.71×10^3	13.1	NF
บ่อหอยขุน*	2.04×10^4	2.77×10^3	8.60	NF
บ่อพ่อ-แม่พันธุ์**	7.90×10^3	2.03×10^3	NF	NF
บ่อพักน้ำ***	1.08×10^5	1.22×10^3	NF	NF
บ่อเลี้ยงสาหร่าย***	3.20×10^3	2.10×10^3	NF	NF
บ่อน้ำทิ้ง ***	5.30×10^5	9.60×10^3	60.00	NF

NF : not found
cfu : colony forming unit
* : ค่าเฉลี่ยจากน้ำที่เก็บแต่ละบ่อภายในฟาร์ม (n=5)
** : ค่าเฉลี่ยจากน้ำที่เก็บแต่ละบ่อภายในฟาร์ม (n=4)
*** : ตัวอย่างเดียว
MPN index : ดัชนีบ่งชี้ถึงปริมาณแบคทีเรียโคไลฟอร์มที่อาจเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (<70 MPN total coliform/100 mL, Ministry of Health and Welfare, 1983 และ USFDA, 2001)

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในตัวอย่างกล้ามเนื้อเท้าของหอยเป๋าฮื้อ (n=15)*

Sample	Total bacterial count (cfu/g)	Vibrio count (cfu/g)	MPN coliforms (MPN index/100g)	Salmonella Isolation
n_1	7.50×10^4	2.90×10^3	NF	NF
n_2	$> 10^3$	2.90×10^3	NF	NF
n_3	6.90×10^3	1.90×10^3	NF	NF
n_4	$> 10^3$	1.00×10^2	NF	NF
n_5	1.30×10^6	$> 10^5$	NF	NF
n_6	4.40×10^6	$> 10^5$	3	NF
n_7	3.80×10^5	$> 10^5$	3.6	NF
n_8	4.70×10^6	$> 10^5$	NF	NF
n_9	2.50×10^6	$> 10^5$	NF	NF
n_{10}	8.10×10^7	6.50×10^6	120	NF
n_{11}	7.20×10^5	$> 10^5$	9.4	NF
n_{12}	5.80×10^5	$> 10^5$	NF	NF
n_{13}	2.80×10^7	8.8×10^6	NF	NF
n_{14}	4.20×10^6	$> 10^5$	11	NF
n_{15}	2.10×10^6	$> 10^5$	NF	NF

Cfu : colony forming unit

MPN index : ดัชนีบ่งชี้ถึงปริมาณแบคทีเรียโคไลฟอร์มที่อาจเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ

NF : not found

ตารางที่ 4 แสดงชนิดของเชื้อวิบริโอที่พบในตัวอย่างน้ำและหอยเป๋าฮื้อ

ตัวอย่าง	ชนิดของเชื้อวิบริโอ
น้ำที่ใช้เลี้ยงหอย (n=14)	*V. anguilarum (14/14), V. fluvialis (7/14), V. harveyi (1/14), V. damsela (3/14)* และ *V. furnissi (1/14)*
น้ำบ่อพัก (n=1)	*V. anguilarum, V. damsela* และ *V. fluvialis*
น้ำบ่อเลี้ยงสาหร่าย (n=1)	*V. damsela*
น้ำทิ้ง (n=1)	*V. fluvialis*
กล้ามเนื้อหอย (n=6)	*V. anguilarum (2/6), V. fluvialis (2/6)* และ *V. damsela (2/6)*

ตารางที่ 5 แสดงชนิดของเชื้อโคไลฟอร์มแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างน้ำและหอยเป๋าฮื้อ

ตัวอย่าง	ชนิดของเชื้อโคไลฟอร์มแบคทีเรีย
น้ำที่ใช้เลี้ยงหอย (n=14)	*Enterobacter cloacae* (1/14)
น้ำบ่อพัก (n=1)	*Serratia odorifera*
น้ำบ่อสาหร่าย (n=1)	NF
น้ำทิ้ง (n=1)	*Klebsiella* spp.
กล้ามเนื้อหอย (n=15)	*Enterobacter cloacae* (1/15) และ *Escherichia coli* (1/15)

NF: not found

วิจารณ์ผลและสรุป

หอยเป๋าฮื้อเป็นสัตว์น้ำที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีผู้นิยมรับประทานและมีราคาสูง การลดลงของหอยเป๋าฮื้อในธรรมชาติและปริมาณความต้องการบริโภค ทำให้มีการพัฒนาการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อขึ้นเป็นอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อจำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพของแหล่งน้ำเนื่องจากคุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยนอกจากจะมีผลต่อสุขภาพของหอยโดยตรงแล้ว ยังมีผลต่อคุณภาพของหอยในด้านสุขอนามัยของผู้บริโภค การปนเปื้อนของเชื้อโรคหรือสารพิษในน้ำสามารถติดมากับหอยสู่ผู้บริโภค การเกิดโรคระบบทางเดินอาหารเป็นพิษจากการบริโภคหอยพบมากกว่าการบริโภคเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ เพราะมีการบริโภคหอยดิบและการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อมที่ใช้เลี้ยงหอย (Hubbert et al., 1996) การทำความสะอาดน้ำก่อนการใช้เลี้ยงหอยเป็นขั้นตอนหนึ่งในการลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อโรค หรือสารพิษที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคหอย การทำความสะอาดน้ำสามารถปฏิบัติได้หลายวิธี เช่น การกรองน้ำ การให้น้ำผ่านแสง ultra-violet การผ่านโอโซนลงในน้ำ หรือการใช้ยาต้านจุลชีพหรือสารเคมีฆ่าเชื้อผสมลงในน้ำ แต่การทำความสะอาดน้ำโดยการใช้ยาต้านจุลชีพหรือสารเคมีผสมลงในน้ำ อาจก่อให้เกิดผลที่ไม่พึงประสงค์ตามมา เช่น แบคทีเรียเกิดการดื้อยาต้านจุลชีพทำให้มีการแพร่กระจายของโรคอย่างรุนแรงในภายหลัง หรือหอยเป๋าฮื้อ ที่ผ่านการแช่ยาหรือสารเคมีไม่เป็นที่ยอมรับของตลาดผู้บริโภค (Fallu, 1991)

การศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานแรกของการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย โดยตรวจการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อหอยก่อนการส่งขายและตรวจการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในน้ำที่อาจเป็นแหล่งของการปนเปื้อนสู่หอย ได้แก่ บ่อพักน้ำ บ่อสาหร่าย บ่อเลี้ยงหอยระยะต่างๆ และบ่อน้ำทิ้ง

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำในบ่อเลี้ยงหอยระยะต่างๆ มีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อ (Fallu, 1991) ทั้งนี้เนื่องจากฟาร์มมีการจัดการระบบน้ำหมุนเวียนและปล่อยน้ำใหม่จากทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อเข้าสู่บ่อเลี้ยงตลอดเวลา จึงไม่มีการสะสมของเสียภายในบ่อ

ปริมาณเชื้อวิบริโอในตัวอย่างน้ำจากบ่อพักน้ำ บ่อเลี้ยงสาหร่าย และบ่อเลี้ยงหอย มีปริมาณต่ำกว่าขนาดที่สามารถทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ (infective dose $>10^5$cfu/ml) (Ahmed, 1991) ชนิดของเชื้อวิบริโอที่พบส่วนใหญ่ เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ในน้ำทะเล และมักเป็นเชื้อฉวยโอกาส ไม่ได้เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรค

โดยตรง (Ahmed, 1991) อย่างไรก็ตามมีรายงานการตรวจพบ *V. anguilarum* ก่อโรครุนแรงในปลาทะเล (Ahmed, 1991) และการติดเชื้อ *V. damsela* บริเวณบาดแผลที่ผิวหนังของมนุษย์ (wound infection) (US-FDA, 2001) และการเกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษจากการติดเชื้อ *V. fluvialis, V. furnissii* (Ahmed, 1991) จึงควรให้ความรู้ด้านสุขอนามัยแก่พนักงานประจำบ่อซึ่งอาจติดเชื้อจากน้ำที่สัมผัส

โคไลฟอร์มแบคทีเรียเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงปริมาณแบคทีเรียที่อาจทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เพื่อป้องกัน การเกิดโรคติดเชื้อแบคทีเรียอาหารเป็นพิษจากการบริโภคสัตว์น้ำ จึงมีการกำหนดปริมาณโคไลฟอร์มแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงสัตว์น้ำไม่เกิน 70 MPN total coliforms/100 ml (Ministry of Health and Welfare,1983 และ USFDA, 2001) ตัวอย่างน้ำทั้งหมดที่นำมาศึกษาพบว่ามีปริมาณโคไลฟอร์มแบคทีเรียอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด และตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่า ชนิดของเชื้อโคไลฟอร์มที่ตรวจพบ คือ Enterobacter cloacae, *Klebsiella* spp. และ *Serratia odorifera* ซึ่งส่วนมากพบเป็น normal flora ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่นและพบได้บ้างในดินไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ (Guentzel, 2001)

การที่ปริมาณเชื้อโคไลฟอร์มอยู่ในระดับต่ำและตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่าในน้ำเลี้ยงหอย แสดงให้เห็นถึงระบบการจัดการฟาร์มที่ดี โดยฟาร์มแห่งนี้มีการฆ่าเชื้อภายในบ่อพักน้ำโดยการโรยบ่อด้วยคลอรีนผงและทำการพักบ่อให้แห้งอย่างน้อย 1 เดือน น้ำจากทะเลผ่านหัวกรองทรายและน้ำที่ใช้เลี้ยงลูกหอยวัยอ่อนผ่านแสง UV ก่อนลงสู่บ่อ รวมทั้งพนักงานประจำบ่อมีชุดปฏิบัติงานที่ผ่านการชะล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ชนิด povidone iodine ก่อนการเข้าปฏิบัติงาน

คุณภาพของหอยเป๋าฮื้อทางด้านสุขลักษณะอาหารเพื่อการบริโภคถูกกำหนดไว้ในเกณฑ์หรือกฎหมายของแต่ละประเทศ มาตรฐานสากลกำหนดให้มีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อหอยแช่แข็งได้ไม่เกิน $5x10^5$ cfu/g (Ahmed, 1991) หรือ ไม่เกิน $1x10^5$ cfu/g และไม่เกิน $5x10^4$ cfu/g ในหอยสำหรับการบริโภคดิบ (Japanese Ministry of Health and Welfare, 1983) และไม่เกิน 230 MPN fecal coliforms/100g (Ahmed, 1991)

ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในตัวอย่างหอยเป๋าฮื้อก่อนการส่งขายเพื่อบริโภคในการศึกษาครั้งนี้อยู่ระหว่าง 10^3-10^7 cfu/g ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน อย่างไรก็ตาม ปริมาณโคไลฟอร์มแบคทีเรียในเนื้อหอยอยู่ในเกณฑ์สุขอนามัยอาหารที่กำหนด (Ministry of Health and Welfare, 1983 และ USFDA, 2001) และตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่า หรือเชื้อวิบริโออาหารทะเลเป็นพิษในตัวอย่างเนื้อหอยที่ศึกษา (ตารางที่ 3 และ 4) ชนิดของเชื้อโคไลฟอร์มและวิบริโอที่ตรวจพบในเนื้อหอยจากการศึกษา ได้แก่ *Enterobacter cloacae* และ *Escherichia coli, Vibrio anguilarum, V. fluvialis* และ *V. damsela* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงหอย (ตารางที่ 4 และ 5) แม้ว่าเชื้อที่ตรวจพบในเนื้อหอยเป็นแบคทีเรียที่พบได้ในธรรมชาติ หรือเป็นเชื้อฉวยโอกาส การบริโภคหอยที่มีเชื้อเหล่านี้อาจก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษได้ในกรณีที่ผู้บริโภคมีสุขภาพอ่อนแอ ผู้บริโภคที่มีความเสี่ยง เช่น เด็ก คนชรา หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่บริโภคหอยดิบ

ผลการศึกษาชนิดของแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำและเนื้อหอย แสดงถึงชนิดของแบคทีเรียที่พบในน้ำเลี้ยงและมักพบในเนื้อหอยที่มาจากแหล่งน้ำเลี้ยงนั้น เนื่องจากหอยเป๋าฮื้อกินอาหารโดยการกรองอาหารที่มากับน้ำ ดังนั้นคุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยมีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหอยเป๋าฮื้อ อย่างไรก็ดีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหอยเป๋าฮื้ออาจเกิดขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากการขนส่งหอยจากฟาร์มมายังห้องปฏิบัติการไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิให้เย็น

เพียงพอ (15°ซ.) (Ahmed, 1991) จึงทำให้ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในเนื้อหอยสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน แม้ว่าฟาร์มมีการควบคุมคุณภาพของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อสามารถพัฒนาเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย ดังนั้นขบวนการเลี้ยงและการผลิตจำเป็นต้องเป็นที่ยอมรับของตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณภาพของหอยเป๋าฮื้อต้องเป็นไปตามเกณฑ์ของสุขอนามัยอาหารที่ประเทศคู่ค้ากำหนด การจัดการคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยเป็นมาตรการสำคัญในการควบคุมคุณภาพหอยให้ได้มาตรฐานตามเกณฑ์สุขอนามัยอาหาร เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้จำกัดเพียงคุณภาพของหอยเป๋าฮื้อด้านสุขอนามัยอาหารจากเชื้อแบคทีเรียอาหารเป็นพิษเท่านั้น จึงมิได้กล่าวถึงเชื้อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ เช่น human enteric viruses

ผลการศึกษาสรุปว่าการตรวจคุณภาพน้ำและการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในน้ำและหอยอย่างสม่ำเสมอในระหว่างการเลี้ยงเป็นวิธีหนึ่งที่อาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียจากหอยมาสู่ผู้บริโภค นอกจากนี้การจัดการอื่นๆ ที่ฟาร์มควรนำมาปฏิบัติเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียจากหอยมาสู่ผู้บริโภค ได้แก่ การถ่ายหอยไปแช่ในน้ำสะอาดเป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนการส่งขาย ประมาณ 30 วัน การควบคุมอุณหภูมิภายหลังการเก็บเกี่ยว เช่น ในระหว่างการขนส่ง และการให้คำแนะนำแก่ผู้บริโภคในการทำความสะอาดและทำให้สุกก่อนการบริโภค (Hubbert et al, 1996)

เอกสารอ้างอิง

คเชนทร เฉลิมวัฒน์. 2001 (2544). หอยโข่งทะเล. การเพาะเลี้ยงหอย. พิมพครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์รั้วเขียว. 211-228.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 1998 (2541). การแยกเชื้อบริสุทธิ์และลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 116-134.

สมร ตนะวรรณสมบัติ. 1992 (2535). การศึกษาชีววิทยาบางประการของหอยเป๋าฮื้อ *Haliotis ovina* บริเวณชายฝั่งตะวันออกของประเทศไทย. Senior project. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2-7.

Ahmed, F.E. 1991. Microbiological and Parasitic Exposure and Health Effects. In: Seafood Safety. Washington, D.C: National Academy Press, 36-45,68-69.

Andrews, W.H., Bruce, V.R., June, G., Satchell, F. and Sherrod, P. 1992. Salmonella. In: Bacteriological Analytical Manual. 7th ed. AOAC International. 51-60.

Elliot, E.L., Kaysner, C.A. and Tamplin, M.L. 1992. V. cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus and *Vibrio spp.* In: Bacteriological Analytical Manual. 7thed. AOAC International. 111-129.

Fallu, R. 1991. Disease. In: Abalone Farming. Oxford : Fishing News Books. 34-36.

Guentzel, M.N. 2001. *"Escherichia , Klebsiell, Enterobacte, Serratia, Citrobacter and Proteus."* [Online]. Available: http://gsbs.utmb.edu/microbook.ch026 (Date: June 2001)

Hubbert, W.T., Hagastad, H.V. and Spangler, E. 1996. Consumer Protection. In: Food Safety and Quality Assurance Foods of Animal Origin. 2nd ed. Washington, D.C: National Academy Press, 201-227.

Ministry of Health and Welfare. 1983. Food Sanitation Law. Notification No.153. Japan.

Peeler, J.T. and Mcclure, F.D. 1992. Most Probably Number (MPN) Table. In : Bacteriological Analytical Manual. 7th ed. AOAC International. 451.

Roy, G.H. 2001. "Fishtech: World's Most Experienced Abalone Consultants." [Online]. Available: http://www.fishtech.com/marketing. html (Date: June 2001)

U.S. Food & Drug Administration. 2001. Bacteriological Analytical Manual *Online*. [Online]. Available: http: //www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html (Date: June 2001)