การศึกษาเบื้องต้นด้านคุณภาพทางจุลชีววิทยาและความปลอดภัยของปลานิลจากการเลี้ยงใต้เล้าไก่

Preliminary Study in Microbiological Quality and Safety of Tilapia Obtained from Chicken-Fish Integrated Ponds

สมสมร แก้วบริสุทธิ์ และเพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว

S. Gawborisut and P. Srisakultiew

Abstract

Chicken-fish integrated cultivation system is a common practice in Thailand and Southeast Asian countries. However, contamination of chicken manure in fish ponds may affect safety and quality of fish meat. Total bacterial counts indicating fish quality and some pathogenic bacteria indicating fish safety were studied. The studies showed that total bacterial counts in fish meat and water were $5.6x10^3$ CFU/g and $1.8x10^4$ CFU/ml, respectively. Some pathogenic bacteria found in fish meat were *Salmonella* spp. ($8x10^2$ MPN/g), *Vibrio cholerae* ($1.5x10^3$ MPN/g), and *Staphylococcus aureus* ($4x10^2$ CFU/g). *Salmonella* spp. ($1.4x10^3$ MPN/ml) and *Vibrio cholerae* ($3.9x10^2$ MPN/ml) were found in the water as well. The considerably high population of human pathogenic bacteria in raw fish meat may cause sickness in the person handling the meat. These preliminary data can be used to warn the consumers about the safety of tilapia obtained from chicken-fish integrated ponds.

Key words: Integration, tilapia, chicken, total bacterial counts, pathogenic bacteria

บทคัดย่อ

ระบบการเลี้ยงปลาแบบผสมผสานร่วมกับการเลี้ยงไก่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในประเทศไทยและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ระบบดังกล่าวซึ่งมีการถ่ายเทของสิ่งปฏิกูลจากไก่ลงในบ่อลี้ยงปลา อาจก่อเกิดปัญหาในด้านความปลอดภัย และคุณภาพของเนื้อปลาได้ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดซึ่งเป็นดัชนีแสดงคุณภาพและปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ซึ่งเป็นดัชนีแสดงความปลอดภัย จากน้ำในบ่อเลี้ยงและเนื้อปลานิลซึ่งมาจากการเลี้ยงแบบผสมผสานใต้เล้าไก่จากการศึกษา พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อปลาและน้ำเฉลี่ย $5.6x10^3$ CFU/g และ $1.8x10^4$ CFU/val ตามลำดับ ในเนื้อปลาพบ *Salmonella* spp. ($8x10^2$ MPN/g), *Vibrio cholerae* ($1.5x10^3$ MPN/g) และ *Staphylococcus aureus* ($4x10^2$ CFU/g) มีการตรวจพบ *Salmonella* spp. ($1.4x10^3$ MPN/ml) และ *Vibrio cholerae* ($3.9x10^2$ MPN/ml) ในน้ำจากบ่อเลี้ยงด้วย ปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อปลาอาจทำให้ผู้ที่สัมผัสเนื้อปลาเจ็บป่วยได้ ข้อมูลเบื้องต้นนี้เตือนให้ผู้บริโภคระมัดระวังความปลอดภัยจากการบริโภคปลานิลที่เลี้ยงใต้เล้าไก่

คำสำคัญ : ผสมผสาน ปลานิล ไก่ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์

ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

บทนำ

การใช้มูลสัตว์เพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่น จีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น และฮังการี (ยุพินท์ และคณะ, 2545) แต่ความนิยมมีมากในประเทศแถบเอเชีย (Tapiador et al., 1977) การเลี้ยงปลาแบบผสมผสานกับการเลี้ยงสัตว์ที่พบในประเทศไทยแบ่งเป็น 2 ประเภทได้แก่ การเลี้ยงปลาใต้คอกหมูและการเลี้ยงปลาใต้คอกไก่ (ยุพินท์ และคณะ, 2545) วิธีดังกล่าวทำให้มีการใช้ที่ดิน น้ำ เศษอาหาร และมูลสัตว์อย่างคุ้มค่า เนื่องจากปลาหลายชนิดสามารถกินมูลหมูหรือไก่ และเศษอาหารจากหมูหรือไก่ได้โดยตรง นอกจากนี้มูลสัตว์ดังกล่าวยังทำให้เกิดอาหารธรรมชาติในแหล่งน้ำ ได้แก่ แพลงก์ตอนชนิดต่างๆ ซึ่งสามารถเป็นอาหาร ปลาได้เช่นกัน ถึงแม้การทำฟาร์มแบบผสมผสานจะส่งเสริมให้มีการใช้ทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพ แต่ระบบดังกล่าว อาจก่อเกิดปัญหาในด้านความปลอดภัย (safety) และคุณภาพ (quality) ของสัตว์น้ำที่ผลิตได้ เนื่องจากอาจมี การปนเปื้อนของแบคทีเรียปริมาณมาก โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ (human bacterial pathogen)

โดยปกติในปลาที่เลี้ยงในบ่อซึ่งไม่มีการเลี้ยงสัตว์แบบผสมผสาน มีการพบแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด ดังตัวอย่างใน channel catfish ซึ่งได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวาง พบว่ามี *Salmonella* spp., *Shigella* spp. และ *Edwardsiella* tarda (Andrews *et al*., 1977); *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* (Fernandes et al., 1997a; Cotton and Marshall 1998); *Pseudomonas aeruginosa* (Leung et al., 1992); *Aeromonas hydrophila* (Leung et al., 1992; Wang and Silva, 1999); *Klebsiella pneumonia* และ *Vibrio* spp. (Fernandes et al., 1997b) การเลี้ยงสัตว์แบบผสมผสานร่วมกับการเลี้ยงปลา อาจเพิ่มความเสี่ยงของผู้บริโภคต่อการได้รับแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ เพราะนอกจากแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ที่พบในปลาแล้ว ยังมีแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์อีกจำนวนหนึ่งมาจากสัตว์บกที่เลี้ยงแบบผสมผสานร่วมกับปลา เช่น *Salmonella* spp. ที่พบบริเวณลำตัว ทางเดินอาหาร และ มูลของหมู (Huis in't Veld et al., 1994; Jay, 2000) นอกจากนี้ *Salmonella* spp. อาจมาจากฟาร์มเลี้ยงและอาหารสัตว์ (Huis in't Veld et al., 1994; Berends et al., 1998) ส่วนในไก่มีชีวิตพบ *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., และ *Escherichia coli* (Sackey et al., 2001) แบคทีเรียเหล่านี้อาจมีการปนเปื้อนในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำโดยมีการส่งผ่านทางอุจจาระ หรืออาจมีการตกของขน/เศษอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อลงไปในน้ำ หลังจากนั้นแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ อาจส่งผ่านมายังมนุษย์ระหว่างการจับต้องสัตว์น้ำมีชีวิต หรือผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำดิบนอกจากนี้ปลาที่มาจากการเลี้ยงแบบผสมผสานอาจมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacteria counts) ที่เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพของปลาในปริมาณสูงเช่นกัน แบคทีเรียดังกล่าวทำให้สัตว์น้ำเน่าเสียอย่างรวดเร็ว การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์บางชนิดในเนื้อปลานิลและน้ำที่มาจากการเลี้ยงแบบผสมผสานร่วมกับการเลี้ยงไก่

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างปลาและน้ำจากบ่อเลี้ยง

เก็บตัวอย่างปลานิลจาก 3 ฟาร์ม (3 ซ้ำ) ที่มีการเลี้ยงปลานิลผสมผสานกับการเลี้ยงไก่ไข่ ในเดือนเมษายน 2550 ใช้ปลานิลขนาด 2-4 ตัว/กิโลกรัม จำนวน 6-8 ตัว และเก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อเลี้ยง ปลาแต่ละตัวจะถูกแยกลำเลียงมายังห้องปฏิบัติการในกล่องพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น ร้อยละ 70 ระหว่างการลำเลียงมีการเติมน้ำจากบ่อเลี้ยงในกล่องและเก็บกล่องในลังน้ำแข็ง

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการ ปลาถูกฆ่าโดยการตัดบริเวณที่กระดูกสันหลังเชื่อมกับกะโหลก โดยใช้มีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ในเนื้อปลาและ

น้ำจากบ่อเลี้ยงโดยใช้มีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วตัดเนื้อปลาบริเวณลำตัวพร้อมเกล็ด โดยไม่ให้ตัดลำไส้ปลาและเหงือกปลา จากนั้นหั่นเนื้อเป็นชิ้นเล็กปริมาณ 25 กรัม และใส่ในน้ำเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 225 มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์หา mesophilic bacteria [colony count technique โดยใช้อาหาร plate count agar (BBL, Cockeysville, USA) บ่ม plate ที่ 30 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง] ตามคำแนะนำของ Chytiri (2003), *Staphylococcus aureus* [colony count technique โดยใช้อาหาร Blair-Parker agar (BBL, Cockeysville, USA) บ่ม plate ที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง] ตามคำแนะนำของ American Public Health Association (1992), *Vibrio cholerae* [MPN technique โดยใช้ 2% alkaline peptone water ตามด้วยการ streak บน TCBS agar (BBL, Cockeysville, USA) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และ identify typical colony โดยใช้ API 20E (bioMerieux, Hazelwood, MO, USA)] ตามคำแนะนำของ American Public Health Association (1992), *Salmonella* spp. [MPN technique โดยใช้ selenite cystine broth (BBL, Cockeysville, USA) และ streak บน bismuth sulfite agar (BBL, Cockeysville, USA) และบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง] ตามวิธีของ Lukinmaa *et al.* (2006) เลือก typical colony ตามด้วยการทดสอบทางชีวเคมี เช่นปฏิกริยาใน lysine iron agar slant (BBL, Cockeysville, USA) และ triple sugar iron agar slant (BBL, Cockeysville, USA) ตามคำแนะนำของ American Public Health Association (1992)

ผลการศึกษา

จากการตรวจปริมาณแบคทีเรียในเนื้อปลาและน้ำจากการเลี้ยงปลานิลผสมผสานกับไก่ไข่ พบ mesophilic bacteria ที่ปริมาณ $5.6x10^3$ CFU/g และ $1.8x10^4$ CFU/ml ในเนื้อปลาและน้ำตามลำดับ พบแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ชนิด *Salmonella* spp. ($8x10^2$ MPN/g), *Vibrio cholerae* ($1.5x10^3$ MPN/g) และ *Staphylococcus aureus* ($4x10^2$ CFU/g) ในเนื้อปลา ส่วนน้ำในบ่อเลี้ยงพบ *Salmonella* spp. ($1.4x10^3$ MPN/ml) และ *Vibrio cholerae* ($3.9x10^2$ MPN/ml) (Table 1) ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด และแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์เฉลี่ยจาก 3 ฟาร์มแสดงใน Table 1

Table 1 Total bacterial counts and some human bacterial pathogens in fish meat and water obtained from chicken-fish integrated ponds

mesophilic bacteria		*S. aureus*		*V. cholera*		*Salmonella* spp.	
Meat (CFU/g)	Water (CFU/ml)	Meat (CFU/g)	Water (CFU/ml)	Meat (MPN/g)	Water (MPN/ml)	Meat (MPN/g)	Water (MPN/ml)
$5.6x10^3$ ± 0.4	$1.8x10^4$ ±0.1	$4x10^2$ ±0.3	*ND	$1.5x10^3$ ±0.3	$3.9x10^2$ ±0.4	$8x10^2$ ±0.4	$1.4x10^3$ ±0.2

* ND=not detectable

สรุปและวิจารณ์

การทดลองพบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อปลา (mesophilic bacteria) มีปริมาณ 5.6x10^3 CFU/g ซึ่งน้อยกว่าค่ามาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536)ซึ่งกำหนดว่าในสัตว์น้ำพร้อมบริโภคต้องมีแบคทีเรียทั้งหมดไม่เกิน 1.0x10^6 CFU/g สำหรับเนื้อปลาที่มีคุณภาพดีปริมาณแบคทีเรียในเนื้อจะอยู่ระหว่าง 10^3-10^4 CFU/g (Al-Harbi and Uddin, 2005) ค่าที่ได้จากการทดลองมาจากการตัดเนื้อปลาบริเวณข้างของลำตัว โดยไม่ทำให้เนื้อสัมผัสกับเหงือกและสิ่งปฏิกูลในลำไส้ พบปริมาณ แบคทีเรียต่ำ เมื่อเนื้อปลาที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อสัมผัสกับเหงือกซึ่งมีเมือกที่สะสมแบคทีเรียได้ดีและลำไส้ ซึ่งเป็นแหล่งสะสมเศษอาหาร (Huss, 1995) ในขณะชำแหละ อาจทำให้เนื้อปลาเกิดการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นจนปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อปลาหลังชำแหละสูงกว่ามาตรฐาน กำหนด เนื้อปลานิลจากการเก็บตัวอย่างตรวจพบ *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholerae* ทำให้ปลาดังกล่าวไม่ผ่านมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536)ในด้านความปลอดภัย เนื่องจากตามมาตรฐานกำหนดว่าต้องไม่พบ *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholerae* ในสัตว์น้ำพร้อมบริโภคเมื่อสุ่มมาตรวจ 25 กรัม *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholerae* ที่พบอาจปนเปื้อนจากน้ำที่มีมูลไก่ผสมอยู่ นอกจากนี้เมื่อผู้บริโภคชำแหละปลา การปนเปื้อนของแบคทีเรียดังกล่าวมีโอกาสเพิ่มขึ้น เนื่องจากเนื้อปลาสัมผัสกับเหงือกและลำไส้

การวัดปริมาณแบคทีเรียในน้ำจากบ่อเลี้ยงปลานิลแบบผสมผสานพบ mesophilic bacteria ปริมาณ 1.8x10^4 CFU/ml ค่าดังกล่าวใกล้เคียงกับรายงานของ Al-Harbi (2003) ซึ่งพบว่าแบคทีเรียในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลในประเทศซาอุดิอาราเบียมีปริมาณ 1.8 x10^2 ถึง 6.0 x 10^4 CFU/ml ส่วน Khalit and Hussein (1997) พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในน้ำทิ้งจากชุมชนที่บำบัดแล้ว ซึ่งใช้เพื่อเลี้ยงปลานิลในประเทศอียิปต์มีปริมาณ 3x10^3 CFU/ml จากการทดลองนี้พบว่าน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาแบบผสมผสานมี *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholera* ที่เป็นแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ แบคทีเรียทั้งสองชนิดอาจมาจากมูลไก่ที่เลี้ยงอยู่เหนือบ่อปลาที่อาจถูกส่งผ่านมายังมนุษย์เมื่อสัมผัสกับน้ำขณะจับปลา หรืออาจส่งผ่านมายังปลาแล้วต่อมาถึงมนุษย์ขณะชำแหละปลา น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาแบบผสมผสานมีการปนเปื้อนมากเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Khalit and Hussein (1997) ซึ่งพบว่าไม่มี *Salmonella* spp. ในน้ำทิ้งจากชุมชนที่บำบัดแล้วในประเทศอียิปต์ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรเตือนผู้บริโภคให้ระวังการได้รับเชื้อจากปลาที่มาจากการเลี้ยงแบบผสมผสาน โดยระหว่างการจับปลาควรระวังไม่ให้น้ำเข้าปากและอาบน้ำชำระร่างกายให้สะอาดทุกครั้งหลังการจับปลา ระหว่างการชำแหละหรือแปรรูปปลาควรใส่ถุงมือทุกครั้ง และล้างมือให้สะอาดหลังกิจกรรมดังกล่าว นอกจากนี้ยังควรมีการศึกษาวิธีทำความสะอาดปลา (depuration) ก่อนนำออกจำหน่ายให้ผู้บริโภคอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค. เข้าถึงได้จาก : http://webdb.dmsc.moph.go.th. สืบค้นเมื่อ 28 พฤษภาคม 2550.

ยุพินท์ วิวัฒนชัยเศรษฐ์ สิทธิสักดิ์ สมศรี และ รัชนีบูลย์ ทิพย์เนตร. 2545. การเลี้ยงปลาแบบผสมผสาน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพ. 24 หน้า.

Al-Harbi, A.H. 2003. Feacal coliforms in pond water sediment and hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Aqua Res. 34: 517-524.

Al-Harbi, A.H., M.N. Uddin. 2005. Microbiological quality changes in the intestine of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) in fresh and frozen storage. Lett. Appl. Microbiol. 40: 486-490.

Andrews, W.H., C.R Wilson, I.L. Poetma, A. Romero. 1977. Bacteriological survey of channel catfish (*Ictalurus puntatus*) at the retail level. J. Food Sci. 42: 359 - 363.

American Public Health Association. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington, D.C.1219 p.

Berends, B.R., F. Knapen, D.A.D. Mosell, S.A. Burt, J.M.A. Snijders. 1998. Impact of human health of *Salmonella* spp. in the Netherlands and the anticipated effects of some currently-proposed control strategies. Inter. Food Microbiol. 44: 219-229.

Chytiri, I., I.N. Savvaidis, M.G. Kontominas. 2003. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiol. 21: 157-165

Cotton, L.N., D.L. Marshall. 1998. Predominant microflora on catfish processing equipment. Dairy Food Environ. Sanit. 18: 650 - 654.

Fernandes, C.F., G.J. Flick., J.L. Silva, T.A. McCaskey. 1997a. Influence of processing schemes on inactive bacteria and quality of fresh aquaculture catfish fillets. J. Food Prot. 60: 54 - 58.

Fernandes, C.F., G.J. Flick., J.L Silva, T.A. McCaskey. 1997b. Comparison of quality in aquaculture fresh catfish fillets II. Pathogen E. coli O157:H7, *Campylobacter, Vibrio, Pleasiomonas,* and *Klebsiella.* J. Food Prot. 60: 1182 - 1180.

Huis in't Veld, J.H.J., R. Mulder, J.M.A. Snijders. 1994. Impact of animal husbandry and slaughter technology on microbial contamination of meat: monitoring and control. Meat Sci. 36: 123-154.

Huss, H.H. 1995. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 195 p.

Jay, M.M.. 2000. Modern Food Microbiology. 6th ed. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MR. 676 p.

Khalit, M.I., H.A. Hussein. 1997. Use of waste water for aquaculture: an experimental field study at a seawage treatement plant, Egypt. Aqua. Res. 28: 859-865.

Lukinmaa, S., K. Mattila, V. Lehtinen, M. Hakkinen, M. Koskela. 2006. Territorial waters of the Baltic Sea as a source of infections caused by *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139: report of 3 hospitalized cases. Diagnos. Microbiol. Infect. Dis. 54: 1-6.

Leung, C., Y. Huang, O.C. Pancorbo. 1992. Bacterial pathogens and indicators in catfish pond environments. J. Food Prot. 55: 424 - 427.

Sackey, .B.A, P. Mensah, E. Collison , E. Sakyi-Dawson. 2001. *Campylobacter, Salmonella, Shigella,* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. Inter. J. Food Microbiol. 71: 21-28.

Wang, C., J.L. Silva. 1999. Prevalence and characteristics of *Aeromonas* species isolated from processed channel catfish. J. Food Prot. 62: 30 - 34.

Tapiador, D.D., H.F. Henderson, H.N. Delmendo, H. Tsuitsuy. 1977. Freshwater Fisheries and Aquaculture in China. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 169 p.