

การสำรวจการปนเปื้อน *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae* และ *E. coli* O157:H7 ในเนื้อสัตว์ดิบ ที่จำหน่ายในตลาดสด เขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล

รัชฎาพร สุวรรณรัตน์ และดวงดาว วงศ์สมมาตร

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ช่วงธันวาคม 2555 ถึง กุมภาพันธ์ 2557 สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้สำรวจการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae* และ *E. coli* O157:H7 ในเนื้อสัตว์ดิบ 90, 24 และ 108 ตัวอย่าง ตามลำดับ จากตลาดสด 28 แห่ง ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล คือ ตรวจหา *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่ หมู และวัว ชนิดละ 30 ตัวอย่าง ตรวจหา *Salmonellae* ในเนื้อชนิดละ 8 ตัวอย่าง และตรวจหา *E. coli* O157:H7 ในเนื้อไก่ หมู และวัว 26, 24 และ 58 ตัวอย่าง ตามลำดับ ผลพบ *L. monocytogenes* ในเนื้อไก่ หมู และวัว ร้อยละ 26.7, 6.7 และ 6.7 และ *Salmonellae* ร้อยละ 100, 87.5 และ 75 ตามลำดับ *E. coli* O157:H7 พบเฉพาะในเนื้อวัว ร้อยละ 15.5 สรุปเนื้อดิบเสี่ยงต่อโรคอาหารเป็นพิษ ควรบริโภคเนื้อปรุงสุกที่เตรียมอย่างถูกสุขลักษณะ และระวังการปนเปื้อนข้ามจากของดิบมาของสุก

บทนำ

เนื้อสัตว์เป็นอาหารโปรตีนที่มีประโยชน์ ประกอบด้วยกรดไขมันที่จำเป็นต่อคนทุกเพศ ทุกวัย แต่การบริโภคเนื้อสัตว์ต้องมีความระมัดระวังในการเตรียมอย่างถูกสุขลักษณะ เพราะเนื้อสัตว์ดิบหรือเนื้อสัตว์ที่ปรุงไม่สุกดีมีโอกาสนำเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ มากมาย รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่ติดผ่านอาหารและน้ำ ซึ่งจะทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ โดยผู้ป่วยอาจมีอาการ เช่น ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน หรือท้องเสีย เป็นต้น⁽¹⁾ อย่างไรก็ตามเชื้อโรคบางชนิดอาจก่ออาการผิดปกติในระบบอื่นของร่างกายได้ด้วย เชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่อาจปนเปื้อนในเนื้อสัตว์มีหลายชนิด แต่เชื้อแบคทีเรียที่มีความสำคัญในด้านความปลอดภัยอาหารและการแพทย์และสาธารณสุข มีอย่างน้อย 3 ชนิด ได้แก่ *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae* และ *E. coli* O157:H7⁽²⁾

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อนสั้น เรียงต่อเป็นเชลล์เดี่ยว สายสั้น ๆ รูปตัววี และตัววาย ถ้าเชื้อมีอายุมากขึ้นจะมีรูปร่างกลมหรือเป็นสายยาว 6–20 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ สร้างแฟลกเจลลารอบตัวจำนวนเล็กน้อย เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่ชอบสภาพที่มีออกซิเจนเล็กน้อย (microaerophyle) เจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 0 ถึง 50 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) ตั้งแต่ว่า 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส แต่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาบ่มภายใน 2–3 วัน^(3, 4) เป็นเชื้อที่ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี เช่น สภาวะอาหารที่เป็นกรดและอาหารที่มี water activity ต่ำ พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ดิน แหล่งน้ำ น้ำเสีย มูลสัตว์ ปุ๋ยจากพืชและหญ้าหมัก แม้แต่ในอุจจาระคน รวมทั้งมีโอกาสปนเปื้อนในอาหารที่มาจากสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ นมโค และผลิตภัณฑ์จากนม โดยเฉพาะเนยแข็ง นอกจากนี้ยังพบได้ในอาหารทะเลและผักที่รับประทานดิบหรือผักที่ไม่ได้ผ่านความร้อนสูง⁽⁵⁾ เชื้อนี้ก่อโรคลิสเทอริโอซิส (Listeriosis) ในคนและสัตว์ ผู้ป่วยมักเป็นบุคคลในกลุ่มเสี่ยง ซึ่งประกอบด้วย เด็ก ผู้สูงอายุ (เฉลี่ย 65 ปีขึ้นไป) หญิงมีครรภ์ และผู้มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือบกพร่อง ระยะฟักตัว 2–3 วัน ถึง 3 เดือน อาการในผู้ที่ติดเชื้อ มักมีไข้ ปวดกล้ามเนื้อ (คล้ายอาการหวัด) บางรายมีอาการทางระบบทางเดินอาหาร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย แต่รายที่เป็นแบบ invasive form จะเกิดโรครุนแรงและมีอาการทางระบบประสาทเนื่องจากเยื่อหุ้มสมองอักเสบและโลหิตเป็นพิษ (septicemia) ในสตรีมีครรภ์มักแท้ง หรือทารกตายขณะคลอด หรือทารกติดโรคลิสเทอริโอซิส อัตราการป่วยตาย ร้อยละ 15–30⁽⁶⁾ โดยในทวีปอเมริกาและยุโรปมีรายงานการตายและเจ็บป่วยเนื่องจากเชื้อนี้เป็นระยะ ๆ⁽⁷⁾

Salmonellae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสม อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลารอบตัว (peritrichous flagella) ยกเว้น *S. Pullorum* และ *S. Gallinarum* โดยที่จริง *Salmonellae* แบ่งเป็น 2 species คือ *S. enterica* และ *S. bongori* แต่ subspecies ที่สำคัญที่สุดในการก่อโรคระบบทางเดินอาหาร (food-borne diseases) คือ *S. enterica subspecies enterica* ในปัจจุบัน *Salmonellae* ยังจัดแบ่งต่อไป เป็น serotype หรือ serovar มากกว่า 2,500 serovar แต่ส่วนใหญ่หรือมากกว่า 1,500 serovar อยู่ภายใต้ *S. enterica subspecies enterica* ซึ่งรวมถึงเชื้อ Non-typhoidal *Salmonellae* ที่พบก่อโรคบ่อย ๆ เช่น *S. Enteritidis* และ *S. Typhimurium*⁽⁸⁾ เชื้อ *Salmonellae* แยกได้จากอาหารและน้ำที่ปนเปื้อนมุลสัตว์ โดยสัตว์ได้รับเชื้อนี้จากอาหารสัตว์และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นอาหารที่มาจากสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ นมดิบ จึงมีโอกาสพบเชื้อนี้ได้บ่อย เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ นมดิบ นอกจากนี้ในพืชผักสดอาจพบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonellae* ได้เนื่องจากการสัมผัสมูลสัตว์หรือสิ่งแวดล้อมอื่น ระยะฟักตัวภายใน 12–14 ชั่วโมง หลังได้รับเชื้อ อาการของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Salmonellae* มีอาการปวดท้อง ท้องเสีย เป็นไข้⁽⁹⁾ จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ในแต่ละปีมีประชากรทั่วโลกป่วยเพราะเชื้อนี้หลายสิบล้านคนและตายมากกว่า 100,000 คน⁽¹⁰⁾ ส่วนข้อมูลในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติ (Centers for Disease Control and Prevention: CDC) ระบุว่าทุกปีจะมีประชากร

ชาวอเมริกันเจ็บป่วยเพราะเชืื่อนี้ประมาณ 1-2 ล้านคน และตายประมาณ 450 คน โดยในปี ค.ศ. 2009 ประมาณการว่ามีการป่วยเพราะเชืื่อนี้ประมาณ 1.2 ล้านคน เสียชีวิตประมาณ 2.6 พันล้านเหรียญสหรัฐ^(11, 12)

E. coli O157:H7 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถสร้างแคปซูลและสารพิษ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา รอบตัว (peritrichous flagella) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 7 ถึง 45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส เชื้อนี้มักพบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น วัว ควาย แพะ แกะ และพบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม พบการระบาดของเชื้อ *E. coli* O157:H7 เนื่องจากการบริโภคเนื้อวัวดิบ รวมทั้งอาหารประเภทผัก ผลไม้ ระยะฟักตัว 3-8 วัน เชื้อกลุ่มนี้สามารถสร้างสารพิษ “Shiga toxin” หรือ “Verocytotoxin” ได้ ซึ่งแบ่งย่อยออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Shiga toxin 1 (STX1) และ Shiga toxin 2 (STX2) ปัจจุบันจึงเรียกเชื้อในกลุ่มนี้ว่า “Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC)” หรือ Verocytotoxin producing *E. coli* (VTEC) หรือ “Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)” ซึ่ง *E. coli* O157:H7 เป็นเชื้อในกลุ่ม STEC ที่พบก่อโรคบ่อยที่สุด เชื้อนี้สร้างโปรตีนอินติมิน (Intimin) ที่เป็นสาเหตุของลำไส้อักเสบรุนแรง (hemorrhagic colitis) ทำให้มีอาการรุนแรงเป็นเลือด และไตวาย [Hemolytic uremic syndrome (HUS)] โดยเฉพาะในผู้ป่วยเด็กและคนชรา⁽¹³⁾

ภายใต้โครงการอาหารปลอดภัย สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งเป็นหน่วยงานที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์อาหารเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคและสนับสนุนการยกระดับการผลิตอาหาร ต้องการสำรวจการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae* และ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ดิบประเภทเนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อวัว ที่จำหน่ายในตลาดสดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยดำเนินการในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2555 ถึง กุมภาพันธ์ 2557 เชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 เป็นเชื้อที่ก่อโรครุนแรง ทำให้เจ็บป่วยถึงแก่ชีวิตได้ ส่วน *Salmonellae* เป็นเชื้อที่พบก่อโรคอาหารเป็นพิษได้บ่อย ดังที่กล่าวมาข้างต้น การสำรวจครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบแนวโน้มการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคดังกล่าว เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับแจ้งเตือนภัยสุขภาพผู้บริโภค และเป็นแนวทางประเมินความเสี่ยงในการบริโภคสินค้าปศุสัตว์เหล่านี้

วัสดุและวิธีการ

เชื้อมาตรฐาน

เชื้อมาตรฐานที่ใช้สำหรับควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ เป็นเชื้อจุลินทรีย์จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Listeria ivanovii* DMST 9012, *Listeria innocua* DMST 9011, *Rhodococcus equi* DMST 17256, *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *E. coli* O157:H7 DMST 12743 และ *Salmonella* Typhimurium DMST 562

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. *Listeria monocytogenes*: Half Fraser broth, Fraser broth, Agar *Listeria* according to Ottavani and Agosti (ALOA) medium, oxford agar, tryptone soya yeast extract agar (TSYEA), tryptone soya yeast extract broth (TSYEB), sheep blood agar, carbohydrate utilization broth (rhamnose, xylose และ mannitol) และ motility medium

2. *Salmonellae*: Buffered peptone water (BPW), Muller-Kauffmann tetrathionate novobiocin (MKTTn) broth, Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone (RVS) Broth, xylose lysine desoxycholate (XLD) agar, hektoen enteric (HE) agar, Triple Sugar Iron (TSI) agar, Motility Indole Lysine (MIL) medium, Urea agar, Voges Proskauer (VP) broth, ONPG discs

3. *E. coli* O157:H7: BioControl modified EHEC (mEHEC), Brain Heart Infusion broth, CHROMagar STEC (CHROMagar STEC), Cefixime Tellurite Sorbitol MacConkey (CT-SMAC) agar, Tryptone medium, 0.1% peptone water, Tryptone Soy Tryptose Broth (TSTB), Nutrient agar (NA), Motility agar

น้ำยาและสารเคมี

Gram's stain reagent, 3% hydrogen peroxide solution, iodine-iodide solution, Kovacs' reagent, VP test reagent, saline peptone water, 37% formaldehyde, sodium chloride 0.85% solution, *Salmonella* polyvalent O antisera and monovalent O antisera groups, *E. coli* O157 และ H7 antisera และชุดน้ำยา Real-time PCR สำหรับ *E. coli* O157:H7 (Assurance GDS for *E. coli* O157:H7 test kit, BioControl Systems, USA)

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

autoclave ($121 \pm 3^{\circ}\text{C}$), centrifuge, incubator ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $41.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ และ $42 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$), light microscope, water bath ($41.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$), pH-meter, Real-time PCR machine (Assurance GDS Rotor-GeneTM RG-3000 (Corbette Life Science) พร้อมชุดอุปกรณ์คอมพิวเตอร์ และซอฟต์แวร์, stomacher, vortex mixer, glass slide, loop, needle, petri dishes (90×150 มิลลิเมตร), pipettes (1, 5 และ 10 มิลลิลิตร), stomacher bag, test tube

ตัวอย่างทดสอบ

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้สุ่มเก็บตัวอย่าง เนื้อไก่ หมู และวัว ที่ชำแหละจำนวนรวม 108 ตัวอย่าง จากแผงลอยในตลาดสดเขตกรุงเทพฯ นนทบุรี ปทุมธานี และสมุทรปราการ รวม 28 แห่ง ในช่วงเดือนธันวาคม 2555 ถึง กรกฎาคม 2556 สำหรับ เนื้อไก่และหมู และช่วงเดือนธันวาคม 2555 ถึง กุมภาพันธ์ 2557 สำหรับเนื้อวัว ทำการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา เพื่อสำรวจการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ 3 ชนิด คือ *L. monocytogenes* ในเนื้อสัตว์ 90 ตัวอย่าง (ชนิดละ 30 ตัวอย่าง) *Salmonellae* ในเนื้อสัตว์ 24 ตัวอย่าง (ชนิดละ 8 ตัวอย่าง) และ *E. coli* O157:H7 ในเนื้อสัตว์ 108 ตัวอย่าง (เนื้อไก่ หมู และวัว 26, 24 และ 58 ตัวอย่าง ตามลำดับ)

การทดสอบ

1. การเตรียมตัวอย่าง นำตัวอย่างตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผสมให้เข้ากัน ตักชั่ง 25 ± 0.1 กรัม ใส่ในภาชนะปราศจากเชื้อโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนสู่ตัวอย่างและควบคุมคุณภาพภายใน เช่น ควบคุมสิ่งแวดล้อมให้มีเชื้อปริมาณน้อย ๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อน เครื่องมือเครื่องใช้ที่สัมผัสตัวอย่างต้องปราศจากเชื้อเป็นต้น⁽¹⁴⁾

2. *L. monocytogenes* ใช้วิธีมาตรฐาน ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004⁽¹⁵⁾ เติมน้ำ Fraser broth บ่มตามระยะเวลา แล้ว selective enrichment ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Fraser broth แยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะชนิดแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ ALOA และ OXA ส่วน Fraser broth เมื่อบ่มตามที่กำหนดแล้วก็แยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะชนิดแข็ง 2 ชนิด เช่นกัน เลือกลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *Listeria* spp. ทดสอบยืนยัน 5 โคโลนี streak บน TSYEA plate (เป็นการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้ง) ทดสอบทางชีวเคมีโดยทำ catalase reaction จะให้ผลบวก ฟองก๊าซ motility test โดย stab เชื้อลงใน motility agar เป็นแบบร่มกาง (umbrella-like) การทดสอบยืนยัน *Listeria monocytogenes* ผลบวก เกิดโซนในสโรวโคโลนี (β -haemolysis) carbohydrate utilization ทดสอบการใช้น้ำตาล rhamnose, mannitol และ xylose โดยจะให้ผลบวก rhamnose อาหารเลี้ยงเชื้อขุนและเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองและทดสอบ CAMP test อ่านผลโดยดูการเสริมฤทธิ์การย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (β -haemolysis) ในกรณีเสริมฤทธิ์กับเชื้อ *S. aureus*

3. *Salmonellae* ใช้วิธีมาตรฐาน ISO 6579:2002/Cor.1:2004⁽¹⁶⁾ pre-enrichment โดย เติมน้ำ BPW บ่มตามระยะเวลาที่กำหนด แล้ว selective enrichment ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ RVS broth และ MKTTn broth นำไปบ่มตามระยะเวลานำแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะชนิดแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ XLD agar และ HE agar นำโคโลนีลักษณะเฉพาะไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีทั้งหมด ถ้ามีน้อยกว่า 5 โคโลนีในแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ streak ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ NA นำไปบ่ม แล้วนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยใช้อาหาร TSI agar, LIM medium, Urea agar, VP medium ในกรณีที่ทำอ่านผลแล้วตรงตามผลทางชีวเคมีของเชื้อ *Salmonellae* ก็นำไปทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยาโดยใช้ *Salmonella* polyvalent O antiserum ทดสอบกับ polyvalent A-I และ OMA-OMG ถ้าตกตะกอนให้ทดสอบต่อกับ monovalent O antiserum group ต่าง ๆ ที่สอดคล้องกับ polyvalent O antiserum นั้น ๆ

4. *E. coli* O157:H7 ตรวจสอบเบื้องต้นด้วยวิธี Real-time PCR (Assurance GDS[®]) ตาม AOAC (Association of Official Analytical Chemists) Official Method 2005.04⁽¹⁷⁾ สำหรับตัวอย่างที่ให้ผลบวก ตรวจยืนยัน *E. coli* O157 ต่อ ตามวิธีมาตรฐาน ISO 16654:2001⁽¹⁸⁾ โดยนำเชื้อที่เพิ่มจำนวน (enrichment) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ mEHEC และทำให้เชื้อเข้มข้นโดยหลักการ immunomagnetic separation มาแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะชนิดแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ CT-SMAC และ CHROMagar-STECS นำโคโลนีลักษณะเฉพาะไปทดสอบการสร้าง indole แล้วนำโคโลนีที่สร้าง indole (ให้ผลบวก) ทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยากับ O157 antiserum ด้วยวิธี slide agglutination กรณีพบเชื้อที่ให้ผลบวก แสดงว่าเป็น *E. coli* O157 ตรวจยืนยัน H7 ต่อโดยทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยากับ H7 antiserum ด้วยวิธี tube agglutination ตาม AOAC Official Method 997.11⁽¹⁹⁾ ซึ่งถ้าให้ผลบวกแสดงว่าเป็น *E. coli* O157:H7

ผล

จากการสำรวจการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ 3 ชนิดในเนื้อไก่ หมู และวัว ที่จำหน่ายในตลาดสดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 15 แห่ง พบการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* 12 ตัวอย่าง จาก 90 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.3 แบ่งเป็นพบในเนื้อไก่ 8 ตัวอย่าง เนื้อหมู 2 ตัวอย่าง และเนื้อวัว 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.7, 6.7 และ 6.7 ตามลำดับ ซึ่งจากเนื้อไก่ที่พบ *L. monocytogenes* 8 ตัวอย่าง (จาก 30 ตัวอย่าง) แยกเป็นพบในเขตกรุงเทพฯ ร้อยละ 12.5 (2 ตัวอย่าง จาก 16 ตัวอย่าง) พบในเขตปริมณฑลร้อยละ 42.9 (6 ตัวอย่าง จาก 14 ตัวอย่าง) โดยพบการแพร่กระจาย (distribution) ของเชื้อนี้จากเนื้อไก่ในตลาด 4 แห่ง (กรุงเทพฯ 1 แห่ง และปริมณฑล 3 แห่ง) เนื้อหมูในตลาด 2 แห่ง (กรุงเทพฯ 1 แห่ง และปริมณฑล 1 แห่ง) และเนื้อวัวในตลาด 1 แห่ง

(กรุงเทพฯ) รวมพบในตลาด 6 แห่ง จาก 15 แห่ง (มี 1 แห่ง พบทั้งในเนื้อไก่และเนื้อหมู) เชื้อนี้มีการแพร่กระจายเท่ากับร้อยละ 26.7, 13.3 และ 6.7 รวม 40 (ตารางที่ 1)

ส่วน *Salmonellae* ตรวจ 24 ตัวอย่าง (ในเนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อวัว ชนิดละ 8 ตัวอย่าง) จากตลาด 4 แห่ง (กรุงเทพฯ 2 แห่ง และปริมณฑล 2 แห่ง) พบ 21 ตัวอย่าง เท่ากับร้อยละ 87.5 แยกเป็นพบในเนื้อไก่ หมู และวัว 8, 7 และ 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100, 87.5 และ 75.0 ตามลำดับ และพบการแพร่กระจายของเชื้อนี้ ในเนื้อไก่จากตลาด 4 แห่ง หมู 4 แห่ง และเนื้อวัว 3 แห่ง แสดงว่าเชื้อนี้มีการแพร่กระจายร้อยละ 100, 100 และ 75.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ส่วน *E. coli* O157:H7 ตรวจในเนื้อไก่ หมู และวัว 26, 24 และ 58 ตัวอย่าง รวม 108 ตัวอย่าง จากตลาด 13, 12 และ 28 แห่ง ตามลำดับ พบเชื้อนี้เฉพาะในเนื้อวัว 9 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.5 โดยพบการแพร่กระจายในตลาด 6 จาก 28 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 21.4 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างเนื้อไก่ หมู และวัว จากตลาด 15 แห่ง (กรุงเทพมหานคร 8 แห่ง และปริมณฑล 7 แห่ง)

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (ร้อยละ)	จำนวนตลาดที่ตรวจพบ (ร้อยละ)
ไก่	30	8* (26.7)	4** (26.7)
หมู	30	2 (6.7)	2** (13.3)
วัว	30	2 (6.7)	1 (6.7)
รวม	90	12 (13.3)	6** (40.0)

* ในเขตกรุงเทพฯ พบ 2 ตัวอย่าง จาก 16 ตัวอย่าง เท่ากับ ร้อยละ 12.5

ในเขตปริมณฑล พบ 6 ตัวอย่าง จาก 14 ตัวอย่าง เท่ากับ ร้อยละ 42.9

** รวมพบในตลาด 6 แห่ง เพราะมี 1 แห่ง ตรวจพบ *L. monocytogenes* ทั้งในเนื้อไก่และหมู

ตารางที่ 2 ผลการตรวจ *Salmonellae* ในตัวอย่างเนื้อไก่ หมู และวัว จากตลาด 4 แห่ง (กรุงเทพมหานคร 2 แห่ง และปริมณฑล 2 แห่ง)

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (ร้อยละ)	จำนวนตลาดที่ตรวจพบ (ร้อยละ)
ไก่	8	8 (100)	4 (100)
หมู	8	7 (87.5)	4 (100)
วัว	8	6 (75.0)	3 (75.0)
รวม	24	21 (87.5)	4 (100)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจ *E. coli* O157:H7 ในตัวอย่างเนื้อไก่ หมู และวัว จากตลาด 13, 12 และ 28 แห่ง (เนื้อวัว เก็บจากตลาดในเขตกรุงเทพฯ 17 แห่ง และปริมณฑล 11 แห่ง)

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (ร้อยละ)	จำนวนตลาดที่ตรวจพบ (ร้อยละ)
ไก่	26	0 (0)	0 (0)
หมู	24	0 (0)	0 (0)
วัว	58	9* (15.5)	6 (21.4)
รวม	108	9 (8.4)	6 (21.4)

* พบในเขตกรุงเทพฯ 8 ตัวอย่าง จาก 35 ตัวอย่าง เท่ากับ ร้อยละ 22.8 จากตลาด 5 แห่ง และปริมณฑล 1 ตัวอย่าง จาก 23 ตัวอย่าง เท่ากับ ร้อยละ 4.3 จากตลาด 1 แห่ง

วิจารณ์

L. monocytogenes ปนเปื้อนสู่เนื้อสัตว์ได้ เนื่องจากเชื้อมีแพร่กระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อม อาจติดปนมากับตัวสัตว์ เช่น บริเวณผิวหนัง กีบเท้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งขนและปีกของสัตว์ปีก ตั้งแต่การเลี้ยงในฟาร์ม ขณะขนส่ง (รวมถึงการใช้กรง รถขนส่ง ที่ไม่สะอาด จะเป็นแหล่งสะสมของเชื้อโรค) จากโรงเชือดหรือโรงงานชำแหละที่มีมูลสัตว์ ตกค้างสะสมอยู่ภายใน รวมทั้งขั้นตอนการกำจัดขนและการชำแหละที่มีการจัดการไม่เหมาะสม ทำให้เชื้อปนเปื้อนข้ามระหว่างซากได้ นอกจากนี้มีการศึกษาที่ระบุว่า การล้างทำความสะอาดพื้นและท่อระบายของเสีย ทำให้พื้นผิวที่สัมผัสเนื้อสัตว์และอากาศที่หมุนเวียนภายในเกิดการปนเปื้อนเชื้อนี้ได้เช่นกัน⁽²⁰⁾ ซึ่งจากผลการสำรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *L. monocytogenes* ครั้งนี้ พบปนเปื้อนสูงสุดในเนื้อไก่ ร้อยละ 26.7 ขณะที่เนื้อหมูและเนื้อวัว พบร้อยละ 6.7 โดยพบเนื้อไก่ในเขตกรุงเทพมหานคร มีการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* สูงกว่าการสำรวจของกรมปศุสัตว์ในระหว่างปี 2549 - 2550 ที่พบร้อยละ 5.85 (10 ตัวอย่าง จาก 171 ตัวอย่าง) และ 3.65 (11 ตัวอย่าง จาก 301 ตัวอย่าง) ตามลำดับ⁽²¹⁾ และในเขตปริมณฑลสูงกว่าการสำรวจในเนื้อไก่ดิบจังหวัดนนทบุรี ปี 2548 ที่พบเชื้อมีร้อยละ 29⁽²²⁾ แสดงให้เห็นว่าในเนื้อไก่มีการพบเชื้อมีเพิ่มขึ้น ส่วนเนื้อหมูและเนื้อวัว ยังพบเชื้อมีน้อยอยู่และนอกจากนั้นพบการแพร่กระจายของเชื้อมีร้อยละ 40 (ในตลาด 6 แห่ง จาก 15 แห่ง) แต่อย่างไรก็ตามพบร้อยละของการปนเปื้อนและการแพร่กระจาย *L. monocytogenes* อยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง จึงมีโอกาสเกิดโรค Listeriosis แบบ sporadic หรือเป็นครั้งคราว ดังเห็นได้จากการระบาดของโรค Listeriosis ในต่างประเทศที่พบบ้าง แต่ไม่บ่อยอย่าง Salmonellosis อีกทั้งไม่เคยพบการระบาดในบ้านเราหรืออาจมีผู้ป่วยบ้างแต่ไม่มีการรายงาน

ส่วนการปนเปื้อนเชื้อ Salmonellae สู่อาหารส่วนใหญ่มาจากมูลสัตว์หรือสิ่งแวดล้อม จุดที่ปนเปื้อนเป็นไปตั้งแต่โรงเชือด กระบวนการชำแหละ การขนส่ง และแหล่งจำหน่ายในตลาดสดที่ไม่ถูกสุขลักษณะ แต่เนื่องจาก Salmonellae มีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางเป็นประจำทั่วโลก⁽¹¹⁾ ซึ่งจากการสำรวจครั้งนี้ ตรวจหา Salmonellae ในตัวอย่างจำนวนไม่มากนัก (24 ตัวอย่าง จากตลาด 4 แห่ง) เพื่อดูแนวโน้มการปนเปื้อน ทั้งนี้พบการปนเปื้อนของเชื้อมีจากทุกตลาด (ยกเว้นในเนื้อวัว พบในตลาด 3 แห่ง จาก 4 แห่ง) และพบการปนเปื้อนในเนื้อไก่ หมู และวัว สูงมากคือพบถึงร้อยละ 100, 87.5 และ 75 ตามลำดับ โดยร้อยละของการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิด พบสูงกว่างานวิจัยหลายฉบับ เช่น งานวิจัยในเนื้อไก่ดิบตามตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานครปี 2540 ที่พบ Salmonellae ร้อยละ 72⁽²³⁾ งานวิจัยในเนื้อวัวดิบ ปี 2552 สำรวจในเขตเทศบาลนครขอนแก่น ซึ่งพบ Salmonellae ร้อยละ 66.67⁽²⁴⁾

และงานวิจัยของสำนักงานปศุสัตว์ราชบุรีและประจวบคีรีขันธ์ในปี 2554 ที่พบการปนเปื้อน ร้อยละ 80.95, 61.26 และ 56.25 ตามลำดับ และในปี 2555 ของหน่วยงานเดียวกัน ที่พบร้อยละ 75.75, 65.85 และ 83.33 ตามลำดับ⁽²⁵⁾ แสดงว่า ในเนื้อสัตว์ดิบมีแนวโน้มการแพร่กระจายของเชื้อนี้มากขึ้น ซึ่งหากมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้จากเนื้อสัตว์ดิบลงในอาหารปรุงสุกจะทำให้เกิดโรคต่อผู้บริโภคได้

ส่วน *E. coli* O157:H7 ที่พบในเนื้อวัวเพราะสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นแหล่งรังโรค (reservoir host) ของเชื้อ *E. coli* กลุ่มที่ก่อโรค⁽²⁶⁾ โดยเชื้อจากอุจจาระของวัวอาจปนเปื้อนทั้งทางตรงและทางอ้อมลงในเนื้อขณะฆ่าหรือชำแหละ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการระบาดของ *E. coli* O157 STEC จากการบริโภคเนื้อวัวดิบมากกว่าอาหารอื่น⁽²⁷⁾ และงานวิจัยเกี่ยวข้องกับ *E. coli* O157:H7 ของประเทศไทยที่พบเชื้อนี้ในเนื้อวัวที่วางขายปลีกร้อยละ 9 เนื้อวัวจากโรงฆ่าสัตว์ร้อยละ 8-28 และจากอุจจาระวัว ร้อยละ 11-84⁽²⁸⁾

สรุป

จากการสำรวจตัวอย่าง เนื้อไก่ หมู และวัว ที่วางจำหน่ายในตลาดสดเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เพื่อหาการปนเปื้อนของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ 3 ชนิด ผลพบ *L. monocytogenes* ร้อยละ 26.7, 6.7 และ 6.7 และ *Salmonellae* ร้อยละ 100, 87.5 และ 75 ตามลำดับ ส่วน *E. coli* O157:H7 พบเฉพาะในเนื้อวัว ร้อยละ 15.5 ดังนั้นเนื้อไก่ หมู และวัวดิบ มีโอกาสพบการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษแตกต่างกันไป หากผู้บริโภคได้รับเชื้อที่ก่อโรครุนแรงอาจเกิดความเจ็บป่วยถึงขั้นเสียชีวิตได้ ดังนั้นไม่ควรบริโภคเนื้อสัตว์ดิบ หรืออาหารปรุงสุกไม่ทั่วถึง และขณะเตรียมหรือประกอบอาหารระวังการปนเปื้อนข้ามของเชื้อโรคจากของดิบมาของสุก โดยล้างมือและอุปกรณ์ที่สัมผัสของดิบ เช่น เขียง มีด ภาชนะ ให้สะอาดก่อนนำไปใส่ของสุก และถ้าทำได้ควรแยกเขียงที่หั่นเนื้อสัตว์และผักผลไม้ ก่อนบริโภคต้องปรุงเนื้อสัตว์ให้สุกอย่างทั่วถึง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายตรวจวิเคราะห์และรับรองอาหารปลอดภัย สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ช่วยเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายอาหาร กลุ่มจุลชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยให้การดำเนินงานนี้สำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. สุมณฑา วัฒนสินธุ์. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2545. หน้า 136.
2. Food poisoning bacteria and viruses overview. [online]. [cited 2016 May 25]; [5 screens]. Available from: URL: <http://foodsafety.asn.au/food-poisoning-bacteria-and-viruses-overview>
3. Salfinger Y, Tortorello ML, editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5th ed. Washington, DC: APHA Press; 2015. p. 425-438.
4. Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, Editors. Manual of clinical microbiology Vol. 1. 10th ed. Washington, DC: ASM Press; 2011. p. 403.
5. สุมณฑา วัฒนสินธุ์. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2545. หน้า 157-78.
6. Listeriosis [online]. 2005 [cited 2015 May 11]; [5 screens]. Available from: URL: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/listeriosis.pdf>

7. Elliot TR, Catherine WD. *Listeria*. In: Yvonne S, Mary LT, editors. Compendium of methods for the Microbiological examination of foods. 5th edition. Washington, DC: APHA Press; 2015. p. 425-438.
8. Identification of immunogenic proteins and generation of antibodies against *Salmonella* Typhimurium using phage display [online]. [cited 2016 May 22]; [16 screens]. Available from: URL: <http://www.bmcbiotechnol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6750-12-29>
9. สมณฑา วัฒนสินธุ์. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2545. หน้า 163-169.
10. *Salmonella* (non-typhoidal). [online]. 2013 [cited 2016 Apr 11]; [3 screens]. Available from: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>
11. CDC. Foodborne disease active surveillance network (FoodNet): FoodNet surveillance report for 2012 (final report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2014.
12. Nelson AC, Jonathan GF, Wendy M, Charlene RJ, Jason R, Jason R, et al. *Salmonella*. In: Yvonne S, Mary LT, editors. Compendium of methods for the Microbiological examination of foods. 5th ed. Washington, DC: APHA Press; 2015. p. 445-75.
13. Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, Editors. Manual of clinical microbiology Vol. 1. 10th ed. Washington, DC: ASM Press; 2011. p. 603-13
14. Andrews WH, Hammack TS. BAM: food sampling/preparation of sample homogenate. In: Bacteriological analytical manual. 8th ed. Rockville, Maryland: Food and Drug Administration. [online]. 2003 [cited 2016 Apr 11]; [9 screens]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063335.htm>
15. ISO 11290-1:1996/Amd 1: 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method AMENDMENT 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data. Geneva: ISO 2004.
16. ISO 6579:2002/Cor.1:2004. Microbiological of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. TECHNICAL CORRIGENDUM 1. Geneva: ISO; 2004.
17. 17.4.01E. AOAC official method 2005.04 *Escherichia coli* O157:H7 in selected foods assurance GDS for *E. coli* O157:H7. [online]. 2005; [3 screens]. Available from: URL: http://www.agrinea.com/fileadmin/user_upload/Assurance_GDS_AOAC_Official_Method__2005.04.pdf
18. ISO 16654:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. Geneva: ISO; 2001.
19. 17.4.01C. AOAC official method 997.11 *Escherichia coli* O157:H7 counts in foods hydrophobic grid membrane filter (ISO-GRID) method using SD-39 agar and serological confirmation. [online]. 2001; [4 screens]. Available from: URL: <http://img.21 food.cn/img/biaozhun/20100108/177/11285264.pdf>
20. Saini JK, Marsden JL, Fung DY, Crozier-Dodson BA, Evaluation of potential for translocation of *Listeria monocytogenes* from floor drain to food contact surfaces in the surrounding environment using *Listeria innocua* as a surrogate [online]. 2012; [6 screens]. Available from: URL: <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2012.24073>
21. พัชรี ทองคำคุณ, พรทิพย์ ศิริวรรณ, ชิต ศิริวรรณ. การสำรวจเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อเป็ดและเนื้อไก่จากตลาดสดในกรุงเทพมหานคร ระหว่างปี 2549-2550. ว. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ [วารสารออนไลน์]. 2552; [สืบค้น 23 มี.ค. 2558]; 3(3): [13 หน้า]. เข้าได้ถึงจาก : URL: <http://niah.dld.go.th/th/files/ejournal/v03n3t03.pdf>
22. ปรีดา พานิชกุล, จำเรียง ปุญญะประสิทธิ์. การศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *Listeria* spp. ในไก่และผลิตภัณฑ์ไก่. ว. กรมวิทย พ 2548; 47(4): 270-5.

23. Boonmar S, Bangtrakulnonth A, Pornrunangwong S, Marnrim N, Kaneko K, Ogawa M. Salmonella in broiler chickens in Thailand with dpecial reference to contamination of retail meat with *Salmonella enteritidis*. J Vet Med Sci 1998; 60(11): 1233-6.
24. สรรเพชญ์ อังกิตติตระกูล, ประสาน ตั้งควัฒนา, อรุณี พลภักดี, เดชา ลิทธิกุล. ความชุกและการติดต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อวัวในเขตเทศบาลนครขอนแก่น. วารสารวิจัย มข. 2554; 16(2): 105-11.
25. สุวัฒน์ มลิจารย์, ศิริจันทร์ทิพย์ วนาประเสริฐศักดิ์. การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสัตว์จากตลาดสดและตลาดนัดในจังหวัดราชบุรี. [ออนไลน์]. [สืบค้น 23 มี.ค. 2558]; [14 หน้า]. เข้าได้ถึงจาก: URL: <http://pvlo-rrri.dld.go.th/pdf/gps/ผลงานวิชาการ-น.สพ-สมบูรณ์.pdf>
26. World Health organization. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). [online]. 2011. [4 screens]; Available form: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/en/>
27. Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. Emerg Infect Dis 2005; 11(4): 603-9.
28. Suthienkul O, Brown JE, Seriwatana J, Tienthongdee S, Sastravaha S, Echeverria P. Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* in retail meats and cattle in Thailand. Appl Environ Microbiol 1990; 56(4): 1135-9.

Survey of *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae* and *E. coli* O157:H7 Contamination in Raw Meats from Fresh Markets in Bangkok and Circumferences

Ratchadaporn Suwannarat and Duangdao Wongsommart

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Between December 2012 and February 2014, Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences had surveyed food poisoning bacteria, *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae* and *E. coli* O157:H7 contaminations in total of 90, 24 and 108 raw meat samples, respectively, from 28 fresh markets in Bangkok and circumferences. Thirty samples from each of chicken, pork, and beef were examined for *L. monocytogenes* and 8 samples from each of those meat were examined for *Salmonellae*, while 26, 24 and 58 samples, respectively were analysed for *E. coli* O157:H7. The results showed that *L. monocytogenes* was detected in 26.7%, 6.7% and 6.7% of chicken, pork and beef, respectively and 100%, 87.5% and 75%, of those meat, respectively, were *Salmonellae* positive. For the survey of *E. coli* O157:H7, it was detected only in beef samples with the percentage of 15.5. Raw meats consumption might be a cause of food poisoning. Therefore, fully-cooked meat with good hygienic preparation including the avoidance of cross contamination from raw to cooked meat is recommended for safety of consumers.

Key words: Food poisoning bacteria, *Listeria monocytogenes*, *Salmonellae*, *E. coli* O157:H7, raw meats