

出國報告（出國類別：進修）

# 家禽屠宰場食品安全指標菌污染情形調查及相關風險因子分析

服務機關： 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局

姓名職稱： 林志憲 簡任技正

派赴國家： 澳洲

出國期間： 102 年 3 月 27 日至 105 年 3 月 31 日

報告日期： 105 年 6 月 20 日

系統識別號：

行政院及所屬各機關出國報告提要

出國報告名稱：**家禽屠宰場食品安全指標菌污染情形調查及相關風險因子分析報告**

頁數\_含附件：54

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話

林志憲/農委會動植物防疫檢疫局/肉品檢查組/簡任技正/02-33436410

出國類別：1 考察 2 進修 3 研究 4 實習 5 其他

出國期間：102年3月27日至105年3月31日 出國地區：澳洲

報告日期：105年6月20日

分類號/目：F7/農產品檢疫及家畜保健

關鍵詞：肉品檢查，屠宰場，沙門氏菌，血清型，分子分型，盛行率，危險因子

內容摘要：(二百至三百字)

本報告係以赴澳洲梅鐸大學進修博士學位三年期間所做研究之過程與發現為主要報告內容。研究期間就所研習國外屠宰場環境與屠體污染之調查與分析模式，運用於分析台灣地區家禽屠宰場中與屠體污染有關之危險因子包括採樣季節(夏秋兩季即六月至十一月高於春冬兩季即十二月至隔年五月)、屠宰場分布區域(基隆新竹轄區高於台中高雄轄區)、雞隻燙毛時間(燙毛低於90秒者高於燙毛大於90秒者)及雞隻種類(有色雞高於白肉雞)。另透過調查台灣地區家禽屠宰場之沙門氏菌污染途徑及利用細菌分子分型技術證實存在環境中以及糞便中的沙門氏菌會經由屠宰過程污染後續的屠體。此進修研究所呈現之家禽屠宰場環境及屠體已發生或潛在之污染資料，除可以提高國人對肉品安全存在相關風險的警覺外，亦可藉此發展及建立適用於台灣屠宰場環境及屠體污染監控與防範污染之制度，以生產更衛生的肉品供消費者食用。

# 家禽屠宰場食品安全指標菌污染情形 調查及相關風險因子分析報告

# 目 次

壹、緣起及進修目的(研究主題) .....	1
貳、研究過程.....	3
參、研究心得(研究發現) .....	38
肆、建議事項(具體政策建議) .....	40
伍、參考文獻.....	41
陸、附錄(研討會論文發表及相關剪影) .....	49

## 壹、緣起及進修目的（研究主題）

畜禽屠宰衛生關係著國人的食用肉類及其相關產品之衛生與安全。在畜禽的屠宰過程當中，其屠體難免遭受屠宰動物所攜帶或存於屠宰環境中之微生物污染，而這些微生物包含了食媒性病原菌，根據多篇研究報告指出若能降低屠宰流程中的細菌污染，相對的也能降低消費者食用畜禽肉類後罹患食媒性疾病的風險。此外，家畜禽屠體表面微生物的污染程度可用來做為屠宰過程中的衛生操作評估指標。近年來，歐洲與美國都陸續在禽畜屠宰場與肉品加工廠的食品安全制度上施行完善的管理系統，並陸續建立禽畜屠體的採樣及檢測方式與微生物執行標準等監控制度。另外，歐美先進國家主要的家禽屠宰規模多為企業化大規模生產，對於小型屠宰場也開始要求場方需建立微生物監控技術，並輔導其應用監控系統找出作業中的重要管制點，有效降低微生物污染程度。反觀，國內家禽屠宰場因屠宰規模與屠宰種類多樣，在生產流程中的衛生監控點也會與國外略有差異。再者，以往國內所執行之屠體微生物監控計畫囿於經費、人才及有限知識的限制，所得結果未能充分加以分析及妥善運用於產業界。因此，如何建立較為完整之屠宰場環境及屠體監控計畫，並妥善利用調查結果分析相關污染危險因子，協助國內家禽屠宰場能有效實施重點管制以維持生產作業流程衛生狀況，以及針對各屠宰場訂定符合水準的微生物監控的執行標準，期有效提昇國內畜禽肉品品質，保障消費者食肉安全，即為當前重要的工作議題。

為學習歐美先進國家屠宰場微生物監控及管理制度及了解其監控系統之田間調查設計、採樣方式、細菌培養及鑑定方法與結果分析解讀，並運用其模式置入於國內家禽屠宰場環境及屠體微生物污染之調查，藉以瞭解屠宰過程中之交叉污染途徑及循線追溯污染源，並分析影響污染之危險因子，俾利建立及發展適用於台灣屠宰場環境及屠體監控與防範污染之制度，即依據「行政院選送優秀公務人員國外進修實施計畫」之相關規定申請 101 年度赴澳洲梅鐸大學(Murdoch University)以「家禽屠宰場食品安全指標菌污染情形調查及相關風險因子分析」

為主題研讀博士學位，並獲行政院 100 年 7 月 13 日院授人培字第 10000434771 號函核准在案。後因國內發生高病原性家禽流行性感冒疫情，為規劃全國家禽屠宰場、批發市場及理貨場之消毒防疫及相關肉品安全維護工作等，爰以延至 102 年 3 月底赴澳洲進修。

由於沙門氏菌在全世界是造成人類食媒性疾病主要病原之一(EFSA, 2014; WHO, 2013)，沙門氏菌症通常發生於食用被沙門氏菌污染食物 12 至 72 小時後，造成可自癒的急性胃腸炎，其症狀包括下痢、發燒及腹痛。在某些狀況下，特別是年幼或年長以及有免疫功能缺損的患者，這些症狀可能會變的嚴重或者將危及生命(CDC, 2015; Ellermeier & Schlauch, 2006; WHO, 2013)。有研究評估(Majowicz et al., 2010) 全球每年由沙門氏菌所造成的腸胃炎案例約有 9,380 萬件，並造成 11.5 萬人死亡。美國疾病控制與預防中心(The Centers for Disease Control and Prevention, CDC)推估沙門氏菌在美國每年約造成 120 萬件病例，其中 450 人死亡(CDC, 2015)，其所造成的經濟損失約美金 37 億元(CDC, 2014)。在台灣，1986 至 1995 期間爆發食物中毒案件中有 5.6%係由沙門氏菌所引起的(Pan, Wang, Lee, Chien, & Horng, 1997)。每年與沙門氏菌症有關的住院醫療成本經評估約為美金 320 萬元(P. L. Chen et al., 2012)，然而，相較美國的分析，這些成本顯然被低估，因為這並不包含門診病例、住院後之照顧的經濟成本及生產人力之損失。此外，禽肉已經被認為是人類沙門氏菌症病原來源之一(ESR, 2010; FAO/WHO, 2007; Finstad, O'Bryan, Marcy, & Crandall, 2012; Mead et al., 2010; Morar, Imre, Nichita, Colibar, & Sala, 2014)，新鮮雞肉也被證實是最常受到沙門氏菌污染的肉品(EFSA, 2014)，而這些污染主要發生於屠宰過程當中(Chotinun, Rojanasthien, Unger, Tadee, & Patchanee, 2014; Goksoy, Kirkan, & Kok, 2004; Rasschaert, Houf, & De Zutter, 2007; Rasschaert et al., 2008; Zutter, Herman, & Heyndrickx, 2005)。在台灣，禽肉是最常被食用肉類中排第二名，平均每人每年食用 31.9 公斤(占所有肉類消費的 42.2%)(COA, 2014b)。然而，到目前為止，並沒有論及有關台灣地區家禽

屠宰場中沙門氏菌污染源頭及污染途徑與藉由屠體上沙門氏菌污染盛行率分析與污染有關危險因子之研究報告。因此，本次進修就是要研習國外之調查與分析模式，並運用於分析台灣地區家禽屠宰場中與屠體污染有關之危險因子及調查台灣地區家禽屠宰場其沙門氏菌污染源頭為何，並分析其後續之交叉污染於何處及何時發生，藉此研究發現建立適用於台灣屠宰場環境及屠體監控與防範污染之制度。

## 貳、 研究過程

本次進修之研究主要分為兩大部分，第一部分先進行綜觀性的台灣地區屠宰雞隻沙門氏菌污染盛行率及危險因子之調查；第二部分再進行微觀性的台灣家禽屠宰場環境及屠體沙門氏桿菌交叉污染之調查。

### 1. 台灣地區屠宰雞隻沙門氏菌污染盛行率及危險因子之調查

#### 1.1 材料及方法

##### 1.1.1 屠宰場之選擇

本實驗於行政院農業委員會動植物防疫檢疫局(以下簡稱防檢局)核可之家禽屠宰場中依不同的屠宰雞種、屠宰速度、屠宰能量、掏內臟方法及地理位置等條件挑選出選擇了 45 家家禽屠宰場(2013 年 33 家，2014 年 33 家，其中 21 家兩年均有採樣)，這 45 家屠宰場總和年屠宰量約佔全台雞隻年屠宰量的 91.6% (BAPHIQ, 2015)，該等屠宰場之地理位置請詳見圖 1.1。這些家禽屠宰場因屠宰規模或屠宰種類的不同，在整個管理與設備上有一些差異。各場主要屠宰步驟依序包含雞隻繫留、屠前檢查、取雞與掛雞、致昏、割喉放血、燙毛與脫毛、開肛與掏內臟、屠後檢查、屠體清洗與預冷、包裝及黏貼合格標誌。各場之屠宰設備及作業都必須符合防檢局所制定屠宰有關之衛生、安全及動物福利之規定。

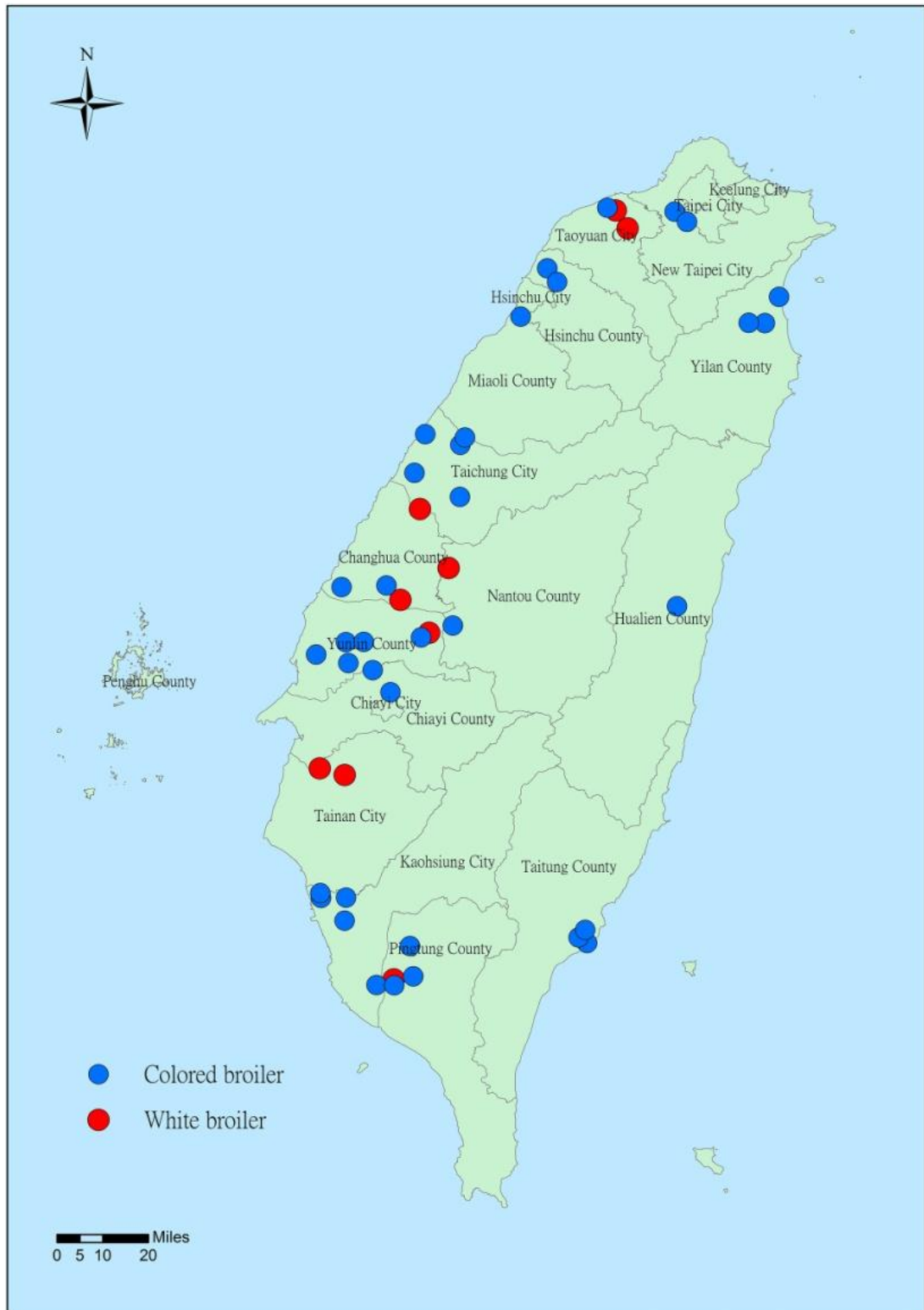


圖 1.1 Location of the 45 abattoirs

### 1.1.2 樣品及資料收集

本實驗研究執行期間為 2013 年 2 月至 2014 年 11 月。每一屠宰場採樣的批



數原則上係以各場採樣年度的前一年之年度屠宰量所占全國屠宰量之比例做分配，計算出每週各屠宰場應採樣的批數，採樣單位以每一批雞為單位，每次每批雞各採 5 隻，採樣屠體的選擇係於該批雞屠宰期間由屠檢人員逢機選出。家禽的採樣係參照美國農業部食品安全檢查署 (USDA-FSIS) 之所採行的方法 (FSIS, 2011)，利用整隻家禽屠體的浸洗液方法做為檢測沙門氏菌的方式。樣品採集時，操作人員均戴無菌手套，並於採集下個樣品時更換新的無菌手套。所有樣品係由防檢局派駐各屠宰場之屠宰衛生檢查獸醫師從出冷卻槽後的平台或分切包裝前的吊掛線上隨機選取經浸冷卻後的整隻屠體並用無菌採樣方式將屠體放入一個 3.5 公升的 Stomacher-type 採樣袋內。倒入 400 ml 0.1% BPW 溶液做為浸洗液後，將採樣袋口轉緊後做 30 次(約一分鐘)的振搖以沖洗屠體內外。隨後取出屠體留下浸洗液做為檢測原液並到入無菌收集瓶中，採樣完的屠體可再放入冷卻槽中(沖洗液為無菌、無害的)。採樣後，採樣人員會依照該樣品的背景資料如採樣年份、採樣季節、屠宰場所屬防檢局轄區分局、屠宰速度、屠宰場年紀、屠宰場年屠宰量、CAS 認證與否、ISO22000 認證與否、雞隻繫留時間、雞隻燙毛時間、雞隻燙毛溫度、雞隻脫毛時間、掏內臟方式、冷卻槽數目、冷卻槽加氯濃度、用熱水清潔與否、工作人員總人數、內臟懸掛方式、燙毛方式、脫毛方式及雞隻種類等 21 項因素詳加記錄。依標準採樣程序完成採樣後的浸洗液樣品應於 4°C 冰箱保存，並於採樣當天以宅配冷藏寄回實驗室。檢測人員需確保樣品在採樣後 24 小時之內完成檢測。

### 1.1.3 沙門氏菌分離及血清學鑑定

所有樣品皆依 USDA/F SIS 之微生物實驗室指導手冊 (USDA/F SIS Microbiology Laboratory Guidebook) (FSIS, 2014) 所敘述的方法及國際公定分析化學家協會 (Association of Official Analytical Communities, AOAC INTERNATIONAL) 之建議方法 (Andrews, 1998) 進行沙門氏菌分離。所有樣品會先進添加 30 ml BPW 至 30 ml 屠體浸洗液樣品，再以 1:10 的稀釋方式與 BPW 混合

後並在 35°C 的培養箱內進行增菌。接著取出 50  $\mu$ l 增菌液加至 5 ml 的 Rappaport-Vassiliadis broth (Oxoid) 於 42°C 培養 24 小時(Andrews, 1998)。隨後將於 Rappaport-Vassiliadis broth 中培養的菌液調出並分別塗抹在木蜜糖培養基(Xylose Lysine Desoxycholate, Difco, BD)、海克頓腸內菌瓊脂培養基(Hektoen enteric agar, Difco, BD) 及科馬嘉沙門氏菌顯色培養基(*Salmonella* identification agar, CHROMagar, Paris, France)三種培養基上進行細菌培養。經培養後，若有出現沙門氏菌典型特性菌落如於木蜜糖培養基上出現紅色菌落中央有硫化鐵黑色沉澱、於海克頓腸內菌瓊脂培養基上出現藍綠色菌落且菌落中央有硫化鐵黑色沉澱以及於科馬嘉沙門氏菌顯色培養基上出現紫色菌落等沙門氏菌典型特性菌落，則將該等可疑菌落再以 API 20E(bioMérieux)細菌快速鑑定系統鑑定其是否屬於沙門氏菌。每一樣品中一個或一個以上菌落具有典型的沙門氏菌特型即被記錄陽性。經上述程序鑑定為沙門氏菌陽性的樣品，則再取一個菌落依據 Kanffman-White scheme 方法(Grimont & Weill, 2007) 及沙門氏菌血清型鑑定套組(Difco, BD)，分析沙門氏菌 O 抗原型別及測定沙門氏菌 H 抗原以鑑定血清型別。本實驗分別以個別樣品及批次為單位計算沙門氏菌盛行率，計算批次盛行率時，每一批次 5 個樣品中有 1 個或 1 個以上樣品呈沙門氏菌陽性者，該批次及被記錄為陽性。

#### 1.1.4 危險因子及統計學分析

在本實驗中，可能與批次屠體之沙門氏菌污染結果有關的危險因子(共 21 項，詳見表 1.1)會以單一變項(univariable)及多變項邏輯迴歸 (Multiple logistic regression)進行兩階段分析。第一階段的單一變項分析係先將每一單一變項分成兩種級數(Level-dichotomous)，每一級數所佔比例以不低於 10%為原則(Arsenault, Letellier, Quessy, Normand, & Boulianne, 2007; Dohoo, Ducrot, Fourichon, Donald, & Hurnik, 1996)，再將每一個變項(univariable)以卡方測試(chi-square analyses)來檢視該變項是否影響對該批雞隻屠體受沙

門氏菌之污染，只有該變項對批次屠體受沙門氏菌污染有影響時(Pearson  $\chi^2$ -test,  $P < 0.2$ )，才會被選入第二階段以多變項邏輯迴歸分析(Multiple logistic regression analysis)之模式進行各因子之比較(Mickey & Greenland, 1987)。第二階段的多變項邏輯迴歸分析模式係以向後逐步刪除的程序(stepwise backward elimination procedure)、沃爾德統計顯著性(significance of Wald statistics)及 Hosmer and Lemeshow 適配度(Goodness of fit)做分析(Hosmer, Lemeshow, & Ebooks, 2000)。在最後模式中，如  $p$  值小於 0.05 者，則認為具有顯著性之差異(Ansari-Lari, Shekarforoush, Mehrshad, & Safari, 2014)。本實驗之資料係以 SPSS<sup>®</sup>軟體(Version 21.0; SPSS, Inc., Chicago, USA)進行分析。

**表 1.1 Univariable analysis : association between exposure variables and *Salmonella* status in broiler batches at slaughter**

Definition of variables	Level-dichotomous	Number of batches	%positive	OR	95% CI	<i>p</i> -value
Sampling year	2014	199	55.8	0.949	0.625-1.442	0.808
	2013	163	57.1			
Sampling season	warm	235	60.9	1.682	1.088-2.600	0.019
	cool	127	48.0			
Branch of BAPHIQ	southern	264	52.3	0.531	0.326-0.864	0.010
	northern	98	67.3			
Slaughter speed (birds/hour)	>2100	211	41.2	0.204	0.127-0.326	<0.001
	≤2100	151	77.5			
Slaughterhouse age (years)	>9	233	43.8	0.206	0.125-0.339	<0.001
	≤9	129	79.1			
Birds slaughtered annual	≥1million	310	52.6	0.297	0.147-0.600	<0.001
	<1million	52	78.8			
Certified Agricultural Standards	yes	224	42.0	0.184	0.112-0.301	<0.001
	no	138	79.7			
Certified ISO 22000	yes	161	48.4	0.559	0.367-0.852	0.007
	no	201	62.7			
Time in lairage (minutes)	>120	68	63.2	1.421	0.825-2.448	0.204
	≤120	294	54.8			

Time of scalding (seconds)	>90	127	33.1	0.223	0.140-0.353	<0.001
	≤90	235	68.9			
Temperature of scalding (°C)	≥62	156	71.2	2.997	1.927-4.663	<0.001
	<62	206	45.1			
Time of plucking (seconds)	>60	112	66.1	1.798	1.131-2.857	0.013
	≤60	250	52.0			
Evisceration type	manual	124	75.8	3.646	2.248-5.913	<0.001
	automated	238	46.2			
Total number of chilling tank	>3	71	60.6	1.240	0.731-2.105	0.425
	≤3	291	55.3			
Concentration of chlorination (ppm)	≥30	193	43.0	0.299	0.193-0.464	<0.001
	<30	169	71.6			
Clean with hot water	yes	148	43.9	0.423	0.275-0.649	<0.001
	no	214	65.0			
Total number of workers	>40	190	38.4	0.195	0.124-0.308	<0.001
	≤40	172	76.2			
Types of viscera hanging	detached from carcass	93	47.3	0.612	0.381-0.983	0.041
	attached carcass	269	59.5			
Types of scalding	tunnel	221	48.0	0.404	0.259-0.631	<0.001
	tank	141	69.5			
Types of plucking	tunnel, or tank & tunnel	204	39.7	0.187	0.117-0.299	<0.001
	tank	158	77.8			
Bird type	white	177	37.9	0.213	0.136-0.334	<0.001
	colored	185	74.1			

## 1.2 結果

### 1.2.1 沙門氏菌盛行率及血清型分布

在研究期間(2013年2月至2014年11月)所採的1810個樣品中,有2個是無效樣品,所以總計有效樣品數為1808(來自362批雞隻)。若以單一樣品為單位,其中589件樣品為陽性(32.6%, 95%CI: 30.4-34.8)。以雞隻種類劃分,白肉雞有效樣品數為883件,其中155件為陽性(17.6%, 95%CI: 15.1-20.2),有色雞有效樣品數為925件,其中434件為陽性(46.9%, 95%CI: 43.7-50.1),兩種類別間有明顯差異( $\chi^2=177.36$ ,  $p<0.0001$ )。若以批次為單位,總數為362批

次，其中 204 批為陽性，(56.4%，95%CI: 51.1-61.5)。以雞隻種類劃分，白肉雞有效樣品批次數為 177 件，其中 67 件為陽性(37.9%，95%CI: 30.7-45.4)，有色雞有效樣品數為 185 件，其中 137 件為陽性(74.1%，95%CI: 67.1-80.2)，兩種類別間有明顯差異( $\chi^2=48.20$ ,  $p<0.0001$ )。

所有 589 個陽性樣品經血清學鑑定，其中 11 株(1.9%)無法鑑定，剩下 578 株可分為 24 種血清型(表 1.2)。其中最常見的三種血清型分別為 Albany 有 187 株(31.8%，95%CI: 28.0-35.7)，Enteritidis 有 80 株(13.6%；10.9-16.6)，Typhimurium 有 57 株(9.7%；7.4-12.4)。以雞隻種類劃分，白肉雞 155 陽性樣品中，2 株(1.3%)無法鑑定，剩下 153 株可分為 15 種血清型，其中最常見的 3 種血清型分別為 Enteritidis 有 41 株(26.5%；19.7-34.1)，Albany 有 34 株(21.9%；15.7-29.3)，Typhimurium 有 19 株(12.3%；7.5-18.5)。有色雞 434 陽性樣品中，9 株(2.1%)無法鑑定，剩下 425 株可分為 23 種血清型，其中最常見的 3 種血清型分別為 Albany 有 153 株(35.3%；30.8-40.0)，Enteritidis 有 39 株(9.0%；6.5-12.1)，Montevideo, Schwarzengrund, Tennessee, Typhimurium 各有 38 株(8.8%；6.3-11.8)。

表 1.2 The serotypes of *Salmonella* isolates from all abattoirs

Serotype	Total number	%
Albany	187	31.7
Enteritidis	80	13.6
Typhimurium	57	9.7
Schwarzengrund	44	7.5
Montevideo	38	6.5
Tennessee	38	6.5
Hadar	35	5.9
Livingstone	24	4.1
Newport	16	2.7
1,4,[5],12:i:-	11	1.9
Livingstone var. O14+	8	1.4
Agona	7	1.2

Derby	6	1.0
Cremlieu	5	0.8
Virchow	5	0.8
Cerro	4	0.7
Kentucky	4	0.7
Potsdam	2	0.3
Stanley	2	0.3
Bardo	1	0.2
Haardt	1	0.2
Mbandaka	1	0.2
Muenster	1	0.2
Vejle	1	0.2
Non-typeable	11	1.9
Total	589	100.0

### 1.2.2 危險因子分析

在 21 個潛在危險因子中，經過單一變項的分析後，有 18 個顯示與批次屠體之沙門氏菌污染結果有關 ( $p < 0.2$ )，詳見表二。這 18 個變項再經第二階段的多變項邏輯迴歸分析後，確認 4 個變項為危險因子 ( $p < 0.05$ )，包含採樣季節、屠宰場所屬防檢局轄區分局、雞隻燙毛時間及雞隻種類(表 1.3)；其餘 14 項為混擾因子(confounding factor) ( $p > 0.05$ )。四個危險因子中，溫暖季節採樣(六月至十一月)之批次屠體沙門氏菌污染率高於涼爽季節(十二月至隔年五月) ( $p = 0.010$ )；屠宰場位於防檢局北部分局轄區者(基隆分局及新竹分局)其批次屠體沙門氏菌污染率高於南部分局轄區者(台中分局及高雄分局) ( $p = 0.006$ )；屠體燙毛時間小於等於 90 秒者其批次屠體沙門氏菌污染率高於大於 90 秒者 ( $p < 0.001$ )；有色雞之批次屠體沙門氏菌污染率高於白肉雞 ( $p < 0.001$ )。

表 1.3 Final multivariable logistic regression model for risk factors for contamination of broiler chicken carcasses by *Salmonella* spp. at slaughterhouses (362 batches).

Variables	<i>Salmonella</i> -positive batches (%)	OR	95% CI	<i>p</i> -value
Sampling season				

warm	60.9	1.948	1.175-3.230	0.010
cool	48.0	1.000		
Branch of BAPHIQ				
southern	52.3	0.452	0.256-0.797	0.006
northern	67.3	1.000		
Time of scalding				
>90 seconds	33.1	0.198	0.118-0.332	<0.001
≤90 seconds	68.9	1.000		
Bird type				
white	37.9	0.214	0.132-0.349	<0.001
colored	74.1	1.000		

OR, Odds ratio ; CI, confidence interval.

Hosmer and Lemeshow goodness-of-fit test:  $\chi^2 = 7.611$ , d.f. = 8,  $p = 0.472$

### 1.3 討論

#### 1.3.1 沙門氏菌盛行率及血清型分布

本實驗發現，若以單一樣品為單位，整體冷卻後屠體之沙門氏菌盛行率為 32.6% (95%CI: 30.4-34.8)。由於台灣食用雞隻種類主要分為白肉雞與有色雞兩種，若以雞隻種類劃分，白肉雞經冷卻後屠體之沙門氏菌盛行率為 17.6% (95%CI: 15.1-20.2)，有色雞為 46.9% (95%CI: 43.7-50.1)，兩種類別間有明顯差異 ( $\chi^2=177.36$ ,  $p<0.0001$ )。然而，有色雞在其他國家並非主要的食用雞種，相關研究資料闕如，無法找到相關食源性病原菌的資料做比較。若以本實驗之白肉雞屠體沙門氏菌盛行率與其他國家比較，發現在台灣的盛行率高於紐西蘭 (2%) (ESR, 2004)、美國(3.9%) (FSIS, 2015)以及泰國(9%) (Padungtod & Kaneene, 2006)，並與歐盟國家(範圍介於 0-22.7%) (EFSA, 2014)相似，但低於韓國(42.7%) (Bae et al., 2013)。然而，當比較不同研究得結果時，必須注意到不同的採樣方式及細菌分離方法也可能影響最後結果。本實驗採樣時間為 2013 年 2 月至 2014 年 11 月，此結果較 S.-P. Chen et al. (2004)於 2000 年至 2002 年於台灣地區 14 家白肉雞屠宰場所做的屠體沙門氏菌盛行率逐年調查結果(2000 年 4.5%，2001 年 0.7%，2002 年 1.7%)還要高。由於本實驗與 S.-P. Chen et al. (2004)

的樣品採樣方法及細菌分離方式一樣(同一實驗室),這顯示近年來台灣地區白肉雞屠體沙門氏菌盛行率有升高,不過,S.-P. Chen et al. (2004)之調查並未針對相關危險因子做分析,故無法比較近年屠體沙門氏菌污染增加之原因,這值得主管機關在未來監測時可以增加危險因子分析,以做為未來擬定屠體污染管控對策之參考。

本實驗從家禽屠體所分離到最常見的沙門氏菌血清型為 *S. Albany* (31.8%, 95%CI: 28.0-35.7), 這結果與 Lin et al. (2008)從台灣地區肉雞的肝臟、膽囊及泄殖腔的內容物中分離所得的沙門氏菌之最常見的血清型之結果一致。相較台灣地區人類感染沙門氏菌症血清型的分布,*S. Albany* 並非主要血清型(Chu et al., 2009; Torpdahl et al., 2013),另跟據 Lauderdale et al. (2006)之研究分析,從台灣地區多家醫院沙門氏菌症病患中所分離沙門氏菌之血清型分布顯示 1998 年至 2002 年 *S. Albany* 所佔比例僅 4.5%, 這與本實驗從家禽屠體所分離到 *S. Albany* 為最常見的沙門氏菌血清型之結果有差異。此外,*S. Enteritidis* 及 *S. Typhimurium* 兩種血清型已被認為是在台灣地區人類感染沙門氏菌症中最常見的血清型別(Chu et al., 2009; Lauderdale et al., 2006; Torpdahl et al., 2013),於 2009-2010 年間此兩種血清型分別佔人源血清型 33.7%及 22.8% (Torpdahl et al., 2013),這與本實驗從家禽屠體所分離到 *S. Enteritidis* 及 *S. Typhimurium* 兩種血清型分佔 13.6% (95%CI:10.9-16.6) 及 9.7% (95%CI:7.4-12.4)也有差距。這樣的結果顯示,在台灣地區家禽屠宰場中所發現的沙門氏菌血清型分布與人類感染的血清型並不一致,這或許說明家禽產品並非台灣地區人類感染沙門氏菌症主要食物媒介。

### 1.3.2 危險因子分析

本實驗分析結果發現溫暖季節採樣(夏秋兩季即六月至十一月)之批次屠體沙門氏菌污染率高於涼爽季節(春冬兩季即十二月至隔年五月)( $p=0.010$ ),這與多篇報告針對屠宰場中之家禽屠體(Williams, Ebel, Golden, & Schlosser,



2014)或販售場所之零售家禽屠體(Ayaz, Ormeci, & Oz, 2010; Cohen, Ennaji, Bouchrif, Hassar, & Karib, 2007; Huang, Zong, Zhao, Zhu, & Jiao, 2016; Zdragas et al., 2012)的調查一致，該等報告指出於溫暖的季節(尤其是夏季)家禽屠體之沙門氏菌盛行率高於涼爽季節(尤其是冬季)，這或許是跟沙門氏菌有嗜溫的特性有關，一般認為適合沙門氏菌生長的溫度為 35-43°C (Ellermeier & Schlauch, 2006; FAO/WHO, 2007)，而台灣的夏秋兩季高溫高濕的天氣環境適合沙門氏菌生長。不過，Wilson (2002)在英國所做為期六年的研究發現，販售場所之零售家禽屠體沙門氏菌污染率於每年的第一季(一至三月)高於其他季節，但原因不明，作者推測這或許與因應聖誕節增加家禽產品需求而改變後續家禽上市日齡有關，這個論點係由當地獸醫官提出，但並沒有明確的解釋，也許只是假象。另外，歐盟針對其會員國之屠宰場中家禽屠體所做的研究(EFSA, 2010)顯示，家禽屠體沙門氏菌污染盛行率與季節變化無關。

為了辦理動物防檢疫及肉品檢查工作，防檢局除了在台北市設置總局，另外在國際機場、港口鄰近處設有 4 個分局([www.baphiq.gov.tw](http://www.baphiq.gov.tw))，基隆分局轄區範圍包括台北市、新北市、基隆市、宜蘭縣、花蓮縣及福建省連江縣等地；新竹分局轄區包括桃園市、新竹縣、新竹市及苗栗縣等四縣市；台中分局轄區包括台中市、彰化縣、南投縣、雲林縣、嘉義縣市及澎湖縣等七縣市；高雄轄區包括台南市、高雄市、屏東縣、台東縣及金門縣等 5 縣市。各分局就近督導及查核轄內屠宰場之屠宰衛生檢查業務。本實驗分析結果顯示屠宰場位於防檢局北部分局轄區者(基隆分局及新竹分局)其批次屠體沙門氏菌污染率高於南部分局轄區者(台中分局及高雄分局) ( $p=0.006$ )，其真正原因未明，尚須進一步調查分析。或許這與各分局對於轄內屠宰場之管理強度及查核標準不一有關，因為目前各分局對於轄內屠宰場的清潔衛生查核係以查核人員之主觀認定為主，並無一套具有科學資料為基礎的客觀標準為依據。然而，每個查核人員對於屠宰場的環境是否符合清潔衛生的定義及觀感並不一致，所以可能造成對於屠宰場的督導強度有落差，而此差異結果可能就以屠體沙門氏菌污染率高低來呈現。為了解決這個潛在的管

理差異問題，宜凝聚防檢局總局及各分局查核人員之共識並訂定相關查核指導手冊，並在該手冊以圖片或說明詳述各種可能造成家禽屠體污染之情況及相關可能的矯正措施，此舉不僅可讓查核人員有所依據，也可提供屠宰業者做好場區清潔衛生管理之參考，以降低屠體沙門氏菌污染率。

在燙毛步驟中，家禽屠體是浸潤於溫度介於 50-65°C 燙毛槽中以使羽毛鬆軟利於脫毛(FSANZ, 2005)。依據本實驗的調查，台灣地區雞隻屠宰場通常使用的燙毛溫度為 57-64°C，但也有屠宰場使用低至 43°C 或高至 66°C。這是在家禽屠宰過程中第一個步驟讓帶有病原菌的糞便物質從雞隻身上掉落並進入周圍水中。因為這些病原菌受到糞便物質及羽毛的保護或者是屠體溫度未達可以殺死病原菌的程度而能在此步驟活存下來(Henry et al., 2012)，當燙毛槽中的水並非攪動的或者是其水溫不足以殺死病原菌，此時病原菌可能在此步驟經屠體間的碰觸而散播出去，因此此步驟操作不當時，有可能變成顯著的交叉污染來源(ESR, 2011; Finstad et al., 2012; FSANZ, 2005; Russell, 2012)。一般而言，當此步驟操作得當，是可以降低屠體上的病原菌(FAO/WHO, 2007)及衛生指標菌(Zweifel, Althaus, & Stephan, 2015)之程度。例如，Byrd and McKee (2005)的研究顯示屠體上的彎曲桿菌(*Campylobacter*)數量經適當的燙毛後可降低 2-3  $\log_{10}$ ；而 Geornaras, Jesus, Zyl, and Holy (1997)的研究也顯示經適當的燙毛後屠體上沙門氏菌的陽性率降低 38%；另外 Dan et al. (2013)的研究也呈現出以 56-60°C 的水溫燙毛 3 分鐘，可分別降低總生菌數 0.75  $\log_{10}$  cfu/g、大腸桿菌數 1.05  $\log_{10}$  cfu/g 及李斯特菌數 0.67  $\log_{10}$  cfu/g。

燙毛的溫度是一個決定病原菌是否能夠於此步驟存活的重要因素，一般認為，高溫燙毛是可以有效的降低細菌的數量(FSANZ, 2005)。Yang, Li, and Johnson (2001)將 *Salmonella* Typhimurium and *Campylobacter jejuni* 接種在燙毛水中及雞隻屠體上藉以測試不同溫度對於降低細菌數量的效果，結果顯示以 50°C 燙毛，可分別降低 *C. jejuni* 在水中數量 1.5  $\log_{10}$  cfu/mL 及屠體上數量少於 1  $\log_{10}$  cfu/cm<sup>2</sup> 及降低 *S. Typhimurium* 在水中數量少於 0.5  $\log_{10}$  cfu/ml

及屠體上數量少於  $0.5 \log_{10} \text{ cfu/cm}^2$ ，但若改用  $60^\circ\text{C}$  燙毛，可分別降低 *C. jejuni* 在水中數量  $6.2 \log_{10} \text{ cfu/ml}$  及屠體上數量多於  $2 \log_{10} \text{ cfu/cm}^2$  及降低 *S. Typhimurium* 在水中數量少於  $5.5 \log_{10} \text{ cfu/mL}$  及屠體上數量多於  $2 \log_{10} \text{ cfu/cm}^2$ 。此外，Byrd and McKee (2005) 建議燙毛溫度介於  $58-60^\circ\text{C}$  對於降低 *Salmonella* 及 *Campylobacter* 的數量會有最好的效果。

然而，雖然高溫燙毛可以降低燙毛階段的細菌污染程度，但也會造成屠體皮膚的撕裂及表皮的缺損，導致屠體賣相不佳(ESR, 2011; FSANZ, 2005; Löhren, 2012; Zweifel et al., 2015)。Kim, Slavik, Griffis, and Walker (1993) 以雞隻皮膚的微觀形貌學(microtopography)評估可達控制屠體上沙門氏菌數量且又可維持良好的屠體賣相的燙毛溫度試驗，發現以  $52$  及  $56^\circ\text{C}$  燙毛可保持表皮的完整，但若燙毛溫度達  $60^\circ\text{C}$  在燙毛階段即開始破壞表皮層，並於脫毛階段將真皮層暴露出來。該實驗也透過電子顯微鏡的掃描發現經由  $60^\circ\text{C}$  燙毛處理的屠體其最終產品上的沙門氏菌量高於經由  $52$  及  $56^\circ\text{C}$  燙毛處理的菌量約  $1.1-1.3 \log$ s。此外，雞隻脂肪屬於不飽和狀態，於  $54.5^\circ\text{C}$  的溫度下燙毛 2 分鐘，可使皮下脂肪液化，而這些液化的脂肪會隨著屠體在後續的屠宰過程移動時而流失，尤其是在屠體進入預冷槽時，也因如此，經由高溫燙毛步驟後，預冷槽中將會有高含量的脂肪，這些有機物質會降低預冷槽加氯對屠體消毒的效果，可能於預冷階段造成屠體的交叉污染增加(Russell, 2012)。本實驗以單一變項分析結果顯示以大於等於  $62^\circ\text{C}$  燙毛處理的屠體其最終產品上的沙門氏菌盛行率高於經由小於  $62^\circ\text{C}$  燙毛處理的屠體( $p < 0.001$ )即可應證這個論點。

除燙毛溫度外，燙毛時間也會影響燙毛的效果及微生物於燙毛階段活存的程度。依據本實驗的調查，台灣地區雞隻屠宰場通常使用的燙毛時間為 20-140 秒，一般而言，使用高溫燙毛會搭配短時間，反之，低溫燙毛會將時間拉長。Fries (2002)彙整多篇研究報告並結合相關研究數據，建立於燙毛時可使沙門氏菌不活化的時間與溫度的組合，結果顯示要降低約  $1 \log$  的沙門氏菌菌量於  $65.7^\circ\text{C}$  燙毛溫度下需時 12 秒； $60.4^\circ\text{C}$  需時 120 秒； $55.1^\circ\text{C}$  需時 1200 秒。而 Yang et al.

(2001)的研究報告也指出使用同樣燙毛溫度但將時間拉長可殺死更多細菌。而本實驗經第二階段的多變項邏輯迴歸分析後，確認屠體沙門氏菌污染率與燙毛時間有關( $p < 0.001$ )，結果顯示屠體燙毛時間小於等於 90 秒者其批次屠體沙門氏菌污染率高於大於 90 秒者，應證燙毛時間較長者可降低屠體沙門氏菌污染率。且經第二階段的多變項邏輯迴歸分析後，溫度高低因素則被認為是混擾因子，對屠體沙門氏菌污染率影響不大。

在台灣地區，最常食用的雞隻種別為白肉雞跟有色雞，根據農委會之 2013 年統計年報資料顯示，白肉雞年屠宰量約為 186 百萬隻，有色雞為 103 百萬隻(COA, 2014a)。經過本實驗的分析確認另一個會影響屠體沙門氏菌污染率的危險因子為雞隻種別，結果顯示有色雞之批次屠體沙門氏菌污染率高於白肉雞( $p < 0.001$ )。然而，白肉雞及有色雞隻生產及屠宰等條件有些差異，諸如上市雞齡、屠宰時同批雞隻體重標準化程度及掏內臟方式等，如要釐清其背後主要影響因素，則需於未來之研究進一步探索。就雞齡而言，Arsenault et al. (2007)評估屠宰雞隻盲腸內容物之沙門氏菌及彎曲桿菌盛行率與危險因子發現，雞齡愈大其盲腸攜帶該二種細菌的盛行率愈高，作者認為這或許與雞齡愈大之雞隻因飼養時間較長所以暴露風險因而升高有關或者是因雞群中已有被感染之雞隻存在而其他未感染的雞隻與其相處的時間拉長會增加被感染的機會有關。在台灣白肉雞的上市雞齡為 5-6 週齡，而有色雞為 12-15 週齡(COA, 2014a)，本實驗結果顯示有色雞之批次屠體沙門氏菌污染率高於白肉雞，若以雞齡(有色雞高於白肉雞)的角度來比較屠體沙門氏菌污染率高低差異，結果是一致的，也符合 Arsenault et al. (2007)的研究推論，但歐盟的研究報告(EFSA, 2010)分析結果顯示雞齡大小與屠體沙門氏菌污染率高低差異無關。另外，Nunes (2013)的研究報告認為當屠宰雞群之體型沒有標準化(即大小不一致)，採用自動化機器掏內臟時將會增加屠體被糞便及膽汁污染的程度，白肉雞飼養期間較短，且其品種多已經過篩選及標準化，所以在本實驗中觀察到送至屠宰場之白肉雞體型較一至，反觀，有色雞屠宰時的雞齡為 12 至 15 週齡，本實驗中時常發現同一批的屠宰雞隻其體型大小差異很大，依

Nunes (2013)的研究觀點，這或許也是造成有色雞之批次屠體沙門氏菌污染率高於白肉雞隻原因之一。

## 2. 台灣家禽屠宰場環境及屠體沙門氏桿菌交叉污染之調查

### 2.1 材料及方法

#### 2.1.1 屠宰場之選擇

於 2014 年，經行防檢局核可之 84 家家禽屠宰場總共屠宰約 281 百萬隻雞隻，該等雞隻主要分成兩大類，白肉雞(上市日齡為 35-40 天)佔 196 百萬隻，有色雞(上市日齡為 80-110 天)佔 75 百萬隻(BAPHIQ, 2015)。本實驗係從全台 84 家家禽屠宰場中依不同的屠宰雞種、屠宰速度、屠宰能量、掏內臟方法及地理位置挑選出 6 家屠宰場進行實地採樣，該等屠宰場之基本資料請詳見表 2.1。家禽屠宰場主要屠宰步驟依序包含雞隻繫留、屠前檢查、取雞與掛雞、致昏、割喉放血、燙毛與脫毛、開肛與掏內臟、屠後檢查、屠體清洗與預冷、包裝及黏貼合格標誌。各場之屠宰設備及作業都必須符合防檢局所制定屠宰有關之衛生、安全及動物福利之規定。這 6 家屠宰場其每年各別屠宰量介於 15 萬隻至 21 百萬隻，總和年屠宰量為 46 百萬隻，約佔全台雞隻年屠宰量的 16% (BAPHIQ, 2015)，該等屠宰場之地理位置請詳見圖 2.1。

表 2.1 Information on the six abattoirs sampled

Abattoir	Broiler type	Location in Taiwan	Evisceration type	Chlorination in chilling tank	Slaughter speed (heads/ hr)	Annual production
A	White	Northern	Automated	Yes	6,300	17,000,000
B	White	Southern	Automated	Yes	8,400	21,000,000
C	White	Southern	Automated	Yes	4,000	4,500,000
D	Colored	Central	Automated	Yes	2,000	2,000,000
E	Colored	Central	Manual	No	2,000	1,500,000
F	Colored	Central	Manual	No	50	150,000

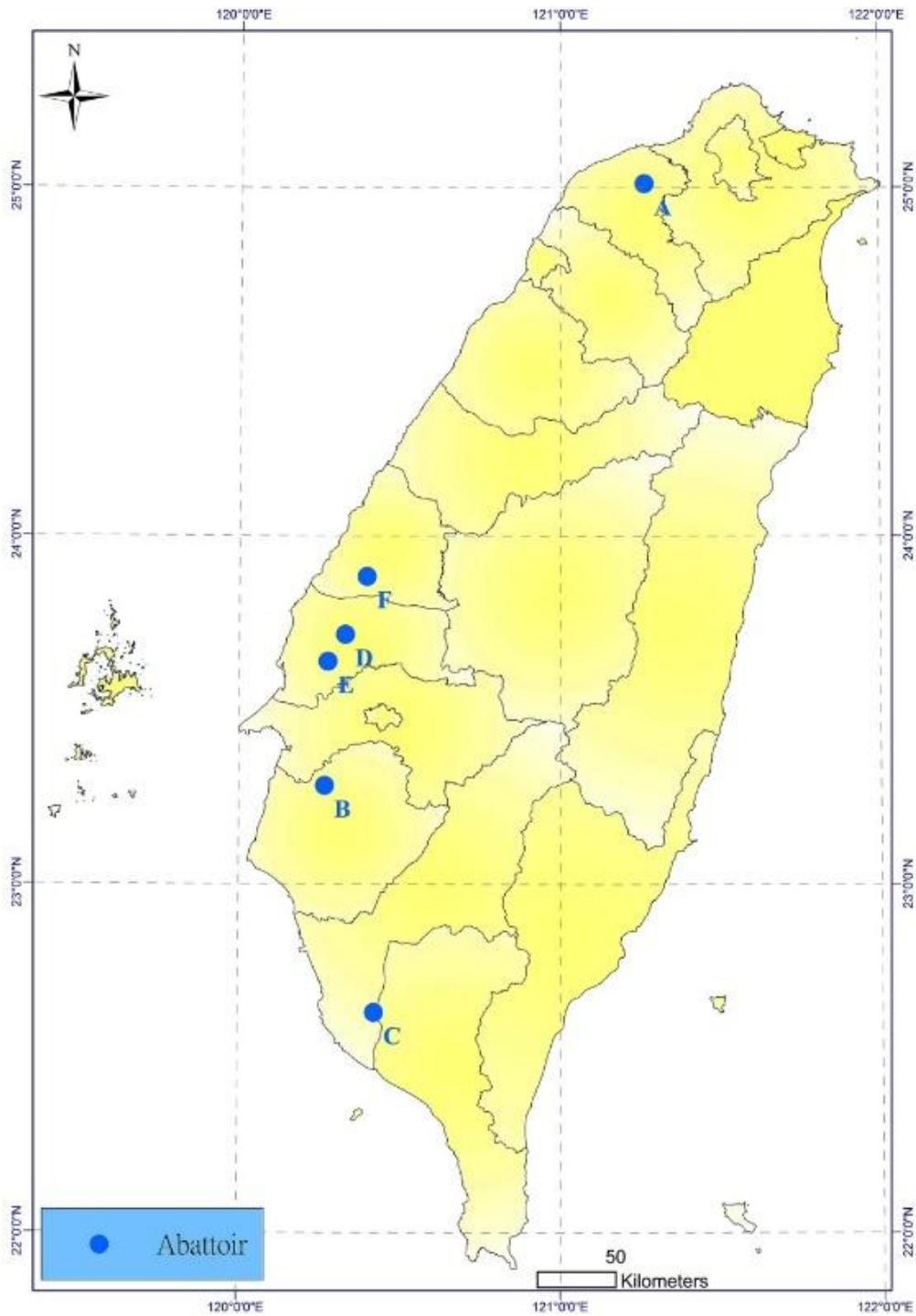


圖 2.1 Location of the six abattoirs

### 2.1.2 樣品及資料收集

所有樣品係由防檢局派駐各屠宰場之屠宰衛生檢查獸醫師於 2014 年 7 至 8 月間執行採樣及收集，每一屠宰場進行一次訪視及採樣，樣品採自屠宰前及屠宰後之屠宰場環境表面、預冷槽冷卻水、屠體浸洗液及糞便。屠宰前的環境樣品係

於開始屠宰前一小時即採集完畢。屠宰中的各種樣品係於各屠宰場當日第一批屠宰雞隻屠宰期間內完成收集。樣品採集時，操作人員均戴無菌手套，並於採集下個樣品時更換新的無菌手套。所有樣品，包含屠宰場環境表面擦拭海綿、預冷槽冷卻水、屠體浸洗液及糞便，採樣後會以 4°C 的方式儲存並於 24 小時內運送至財團法人農業科技研究院(農科院)實驗室進行微生物檢測。各屠宰場於不同階段採集不同樣品之數量請詳見表 2.2。

#### 2.1.2.1 環境樣品

環境樣品採自屠宰前與屠宰中沿著屠宰線不同階段的設施及設備表面，包含了脫毛機、掏內臟機或檯面、屠體修整員之手套、預冷前屠體吊架或輸送帶以及預冷槽。環境樣品的採樣方法參照美國農業部食品安全與檢查署( Food Safety Inspection Service ; USDA/FSIS)之規定，先以 10 cm<sup>2</sup> ×10 cm<sup>2</sup> 大小的模板放置擬採集之設備表面，再用含有 10 ml 0.1% 消化蛋白液(buffered peptone water, BPW, United States Biological)無菌的海綿塊(Whirl-Pak Speci-Sponge, NASCO, Fort Atkinson, Wis.)以垂直方向與水平方向各十次的方式擦拭上述設備之表面，再將擦拭後的海綿塊放回無菌採樣袋內，封緊袋口後於冷藏溫度下，於 24 小時內運送回實驗室進行微生物檢測。另採集屠宰前及屠宰中預冷槽中之冷卻水 500 ml 裝入無菌瓶中，採集冷卻水之同時以數位測量計(Pocket Colorimeter™ II, Hach, Loveland, Colorado)記錄該樣品之溫度及自由餘氯的濃度。

#### 2.1.2.2 糞便樣品

糞便樣品也是採無菌的方式於掏內臟後縫機選取已掏出之泄殖腔並採集大約 1 克的糞便放入無菌收集管內保存。

#### 2.1.2.3 屠體浸洗液樣品

沿著屠宰程序之四個步驟，包含脫毛後、掏內臟後，預冷槽中及預冷後，隨機選取整隻屠體並用無菌採樣方式將屠體放入一個 3.5 公升的 Stomacher-type 採樣袋內。倒入 400 mL 0.1% BPW 溶液做為浸洗液後，將採樣袋口轉緊後做 30 次(約一分鐘)的振搖以沖洗屠體內外。隨後取出屠體留下浸洗液做為檢測原液並到入無菌收集瓶中，採樣完的屠體可再放入冷卻槽中(沖洗液為無菌、無害的)。依標準採樣程序完成採樣後的浸洗液樣品應於 4°C 冰箱保存，並於採樣當天以宅配冷藏寄回實驗室。檢測人員需確保樣品在採樣後 24 小時之內完成檢測。

### 2.1.2 沙門氏菌分離及血清學鑑定

本部分實驗之沙門氏菌分離及血清學鑑定方法與 1.1.3 相同。惟本部分實驗係以個別樣品為單位計算沙門氏菌盛行率。

### 2.1.3 利用脈衝電泳方法進行沙門氏菌分子型別分析

經培養出來之沙門氏菌株即再進一步依據 PulseNet 所提供的腸內菌之 PFGE 標準操作流程(PulseNet PFGE of *E. coli* O157:H7, *E. coli* Non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*) 進行沙門氏菌分子型別分析(CDC, 2013)。其操作流程簡述如下：挑取單一菌落接種於胰化酪蛋白大豆培養基 (Trypticase soy agar, TSA)，37°C 培養 14 至 18 小時後以拋棄式接種環刮取菌體，懸浮於 Cell Suspension Buffer (100 mM Tris:100 mM EDTA, pH 8.0)，以分光光度計測量波長 610 nm 之吸光值調整菌液濃度使其 OD<sub>610</sub> 值為 0.8–1.0。取 400  $\mu$ l 菌液至 1.5 ml 微量離心管，加入 20  $\mu$ l 蛋白酶 K(20 mg/ml) 並混合，再加入 400  $\mu$ l 融化後回溫至 56°C 的 1% SeaKem® Gold agarose，快速混合均勻後注入模具中，放置於室溫 15 分鐘或 4°C 5 分鐘使其凝固形成膠片。將膠片自模具中推入 5 ml Cell Lysis Buffer (50 mM Tris; 50 mM EDTA, pH 8.0; 1% Sarcosine; 0.1 mg/ml proteinase K)，置於 56°C 水浴



槽中行裂解作用 1.5 至 2 小時；膠片經酵素處理後，倒除 lysis buffer，以預熱至 56°C 的滅菌純水清洗二次，再以預熱至 56°C 的 TE buffer (10 mM Tris: 1 mM EDTA, pH 8.0) 清洗四次，完成清洗步驟後的膠片保存於含有 TE buffer 的微量離心管中，置於 4°C 保存備用。

膠片切割成寬約 2 mm 之薄片(slice)，放入 200  $\mu$ l 的 1 倍限制酶(restriction enzyme)緩衝液中，靜置於室溫下平衡 5 分鐘，去除緩衝液，再加入含有 20 unit *Xba*I 限制酶之 1 倍限制酶緩衝液，於 37°C 作用反應 1.5-2 小時。鑄電泳膠前，移除限制酶緩衝液，再注入 200  $\mu$ l 的 0.5X TBE buffer，室溫靜置 5 分鐘後，將膠薄片取出並儘量吸乾多於水分，再將膠薄片依序平貼於孔梳(comb)上，15 孔膠片的第 1、5、10、15 孔位置，放置以 *Xba*I 切割之 *Salmonella* Braendrap H9812 基因體 DNA 片斷做為標準量測標誌(reference size markers)，之後將孔梳放置於鑄膠台上，倒入融化回溫至 56°C 的 1% SeaKem® Gold agarose，放置室溫 20-30 分鐘，待膠體完全凝固後，即可進行電泳。將膠片放置於已倒入 2 公升 0.5 倍 TBE buffer，並降溫至 14°C 的脈衝電泳儀中，電泳條件設定為初始開鍵時間(Initial switch time)2.2 秒，最終開鍵時間(Final switch time)63.8 sec，角度(angle)120 度，電壓 6.0 volts/cm，電泳時間共 18 小時。電泳完成後，膠片以 1  $\mu$ g/ml 的 ethidium bromide 染色 20 分鐘，再以 ddH<sub>2</sub>O 退染 1 小時(過程更換水 2-3 次)，退染後置於紫外光下拍照存檔。所得之 DNA 圖譜影像再以 Bionumerics software (Applied Maths, Kortrijk, Belgium) 利用 UPGMA (unweighted pair-group method with an arithmetic mean) 方式進行 PFGE 型態比對，該比對方式係以分享的 DNA 片段之呈現或缺損來判定各菌株 PFGE 型態的之關係，如在同一屠宰場內的樣品中所分離到的沙門氏菌株間具有相同的 PFGE 型態者，則判定為源自相同的菌株。

**表 2.2 Results of the samples collected at different processing stages and the frequency of detection of *Salmonella* spp. in six abattoirs**

Sample stages	Number of samples (+ve/total samples)						Number positive/total collected (%; 95% CI)
	A	B	C	D	E	F	
<b>Environment-before processing</b>							<b>22/125 (17.6; 11.4-25.4)</b>
Plucking machine	3/3	2/3	0/3	1/3	2/3	3/3	11/18 (61.1; 35.7-82.7)
Evisceration machine/table	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3	2/18 (11.1; 1.4-34.7)
Gloves of a carcass trimmer	0/3	0/3	0/3	2/3	1/2	0/3	3/17 (17.6; 3.8-43.4)
Shackles/conveyer belt	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	3/3	4/18 22.2; 6.4-47.6)
Chilling tank inside surface	0/0	0/9	0/3	1/6	0/3	0/3	1/24 (4.2; 0.1-21.1)
Chilling tank water	0/3	1/12	0/3	0/6	0/3	0/3	1/30 (3.3; 0.1-17.2)
<b>Environment-during processing</b>							<b>41/131 (31.3; 23.5-40.0)</b>
Plucking machine	2/3	0/3	1/3	3/3	1/3	0/3	7/18 (38.9; 17.3-64.3)
Evisceration machine/table	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	3/18 (16.7; 3.6-41.4)
Gloves of a carcass trimmer	1/2	1/3	0/3	2/3	0/3	3/3	7/17 (41.2; 18.4-67.1)
Shackles/conveyer belt	2/3	3/3	0/3	3/3	0/3	3/3	11/18 (61.1; 35.7-82.7)
Chilling tank inside surface	0/0	1/9	0/3	1/6	0/3	1/3	3/24 (12.5; 2.7-32.4)
Chilling tank water	0/9	3/9	0/6	4/6	2/3	1/3	10/36 (27.8; 14.2-45.2)
<b>Carcass</b>							<b>86/246 (35.0; 29.0-41.3)</b>
After plucking	0/5	4/5	1/5	5/5	5/5	4/5	19/30 (63.3; 43.9-80.1)
After evisceration	0/10	5/5	1/5	9/10	2/5	1/5	18/40 (45.0; 29.3-61.5)
In chilling tank	0/5	2/16	0/10	5/5	5/10	7/10	19/56 (33.9; 21.8-47.8)
After chilling tank	0/20	0/20	0/20	15/20	7/20	8/20	30/120 (25.0; 17.5-33.7)
<b>Feces</b>							<b>7/120 (5.8; 2.4-11.6)</b>
Cloacal fecal swabs	0/20	0/20	2/20	0/20	0/20	5/20	7/120 (5.8; 2.4-11.6)
<b>Number positive/total collected (%; 95% CI)</b>	<b>8/95 (8.4; 3.7-15.9)</b>	<b>22/129 (17.1; 11.0-24.7)</b>	<b>5/99 (5.1; 1.7-11.4)</b>	<b>53/108 (49.1; 39.3-58.9)</b>	<b>26/95 (27.4; 18.7-37.5)</b>	<b>42/96 (43.8; 33.6-54.3)</b>	<b>156/622 (25.1 21.7-28.7)</b>

#### 2.1.4 統計學分析

本實驗係以個別樣品為單位，結果所得的沙門氏菌盛行率會以各屠宰場之間及各屠宰步驟之間來做比較，該等比較以卡方測試來做獨立性檢定(當以 2 X 2 表格做比較，若有任一數值小於 5 時，則以 Fisher' s exact test 做檢定)，如  $p$  值小於 0.05 者，則認為該比較具有顯著性之差異。

### 2.2 結果

#### 2.2.1 沙門氏菌盛行率

整體而言，本實驗從此 6 家屠宰場中共採集 622 件樣品，其中 156 件(25.1%; 95% CI: 21.7-28.7)為沙門氏菌陽性。各屠宰場所採的樣品之沙門氏菌盛行率分別為 A 場 8.4% (3.7-15.9)，B 場 17.1% (11.0-24.7)，C 場 5.1% (1.7-11.4)，D 場 49.1% (39.3-58.9)，E 場 27.4% (18.7-37.5)，F 場 43.8% (33.6-54.3)。屠宰場間之沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2=90.8$ , df: 5,  $p<0.0001$ )(表 2.2)。所有樣品以不同型態區分，沙門氏菌盛行率依高低順序分別為糞便樣品 5.8% (2.4-11.6)，屠宰前環境樣品 17.6% (11.4-25.4)，屠宰中環境樣品 31.3% (23.5-40.0)，屠體浸洗液樣品 35.5% (29.0-41.3)。不同型態樣品之間其沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2=42.9$ , df: 3,  $p<0.0001$ )(表 2.2)。

##### 2.2.1.1 環境樣品

於屠宰之前，本實驗從 6 家屠宰場中共採集 125 件環境樣品，其中 22 件 (17.6%; 95% CI: 11.4-25.4)為沙門氏菌陽性(表 2.2)。各屠宰場屠宰前所採的環境樣品之沙門氏菌盛行率分別為 A 場 20.0% (4.3-48.1)，B 場 9.1% (1.9-24.3)，C 場 0% (0-18.5)，D 場 25.0% (9.8-46.7)，E 場 23.5% (6.8-49.9)，F 場 33.3% (13.3-59.0)。屠宰場間之沙門氏菌盛行率不具有顯著性差異( $\chi^2: 9.9$ , df: 5,  $p = 0.0769$ )。所有屠宰前所採的環境樣品以不同屠宰步驟區分，沙門氏菌盛行率依屠宰步驟先後分別為脫毛機 61.1% (35.7-82.7)，掏內臟機或桌 11.1%

(1.4-34.7)，屠體修整員之手套 17.6% (3.8-43.4)，屠體掛架或輸送帶 22.2% (6.4-47.6)，預冷槽內面 4.2% (0.1-21.1)，預冷槽之冷卻水 3.3% (0.1-17.2)。不同屠宰步驟環境樣品之間其沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2=31.5$ , df: 5,  $p<0.0001$ )。

於屠宰中，本實驗從 6 家屠宰場中共採集 131 件環境樣品，其中 41 件(31.1%; 95% CI: 23.5-40.0)為沙門氏菌陽性(表 2.2)。各屠宰場屠宰中所採的環境樣品之沙門氏菌盛行率分別為 A 場 25.0% (8.7-49.1)，B 場 26.7% (12.3-45.9)，C 場 4.8% (0.1-23.8)，D 場 54.2% (32.8-74.4)，E 場 16.7% (3.6-41.4)，F 場 61.1% (35.7-82.7)。屠宰場間之沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2$ : 22.6, df: 5,  $p = 0.0004$ )。所有屠宰中所採的環境樣品以不同屠宰步驟區分，沙門氏菌盛行率依屠宰步驟先後分別為脫毛機 38.9% (17.3-64.3)，掏內臟機或桌 16.7% (3.6-41.1)，屠體修整員之手套 41.2% (3.6-41.1)，屠體掛架或輸送帶 61.1% (35.7-82.7)，預冷槽內面 12.5% (2.7-32.4)，預冷槽之冷卻水 27.8% (14.2-45.2)。不同屠宰步驟環境樣品之間其沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2=14.6$ , df: 5,  $p = 0.0120$ )。此外，屠宰中的環境樣品之沙門氏菌盛行率顯著高於屠宰前的環境樣品( $\chi^2=6.5$ , df: 1,  $p = 0.0110$ )。

#### 2.2.1.2 屠體浸洗液樣品

於屠宰中，本實驗從 6 家屠宰場中共採集 246 件屠體浸洗液樣品，其中 86 件(35.0%; 95% CI: 29.0-41.3)為沙門氏菌陽性(表 2.2)。各屠宰場屠宰中所採的屠體浸洗液樣品之沙門氏菌盛行率分別為 A 場 0% (0-8.8)，B 場 23.9% (12.6-38.8)，C 場 5.0% (0.6-16.9)，D 場 85.0% (70.2-94.3)，E 場 47.5% (31.5-63.9)，F 場 50.0% (33.8-66.2)。屠宰場間之沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2$ : 90.6, df: 5,  $p<0.0001$ )。所有屠宰中所採的屠體浸洗液樣品以不同屠宰步驟區分，沙門氏菌盛行率依屠宰步驟先後分別為脫毛後 63.3% (34.9-80.1)，掏內臟後 45.0% (29.3-61.5)，預冷槽中 33.9% (21.8-47.8)，預

冷槽後 25.0% (17.5-33.7)。不同屠宰步驟屠體浸洗液樣品之間其沙門氏菌盛行率具有顯著性差異( $\chi^2=17.7$ , df: 5,  $p = 0.0005$ )，且該等盛行率依屠宰步驟先後順序依序遞減。

另以單一屠宰步驟前後之屠體浸洗液樣品之沙門氏菌盛行率做比較，結果發現掏內臟前的盛行率為 63.3% (43.9-80.1)，掏內臟後的盛行率為 45% (29.3-61.5)，兩者之間無明顯差異( $\chi^2=2.3$ , df: 1,  $p=0.1284$ )。然而，若以預冷前後做比較，發現預冷前(包含脫毛後及掏內臟後)的盛行率為 52.9% (40.6-64.9)，預冷後的盛行率為 25.0% (17.5-33.7)，兩者之間有明顯差異( $\chi^2=15.0$ , df: 1,  $p=0.0001$ )。

此外，由屠體浸洗液樣品之沙門氏菌分離結果發現，於白肉雞屠宰場(A、B及C)其預冷後之屠體浸洗液樣品均為沙門氏菌陰性，而於有色雞屠宰場(D、E及F)其預冷後之屠體浸洗液樣品沙門氏菌之陽性率高達 50.0% (36.8-63.2.)，白肉雞與有色雞預冷後之屠體浸洗液樣品沙門氏菌之陽性率呈現顯著性差異( $\chi^2=28.6$ , df: 1,  $p<0.0001$ )。

最後，結果發現，所有屠體浸洗液樣品之沙門氏菌盛行率(35.0%; 29.0-41.3)顯著高於屠宰前的環境樣品之沙門氏菌盛行率(17.6%; 11.4-25.4)( $\chi^2=12.1$ , df: 1,  $p = 0.0005$ )，但與屠宰中的環境樣品之沙門氏菌盛行率(31.1%; 23.5-40.0)並無顯著性差異( $\chi^2=0.5$ , df: 1,  $p = 0.4738$ )。

### 2.2.1.3 糞便樣品

於內臟掏出後，本實驗從 6 家屠宰場中共採集 120 件泄殖腔內糞便樣品，其中 7 件(5.8%; 95% CI: 2.4-11.6)為沙門氏菌陽性(表 2.2)。各屠宰場屠宰中所採的糞便樣品僅 C 場(10.0%; 1.2-31.7)及 F 場(25.0%; 8.7-49.1)有分離到沙門氏菌，其餘 A、B、D 及 E 之樣品均呈陰性(此 4 場之盛行率均為 0%; 0-16.8)，其中 C 場與 4 家陰性場間之糞便樣品沙門氏菌盛行率並無顯著性差異( $\chi^2: 2.1$ , df: 1,  $p = 0.2436$ )，且與 F 場亦無顯著性差異( $\chi^2: 1.7$ , df: 1,  $p = 0.2037$ )；

但 F 場之糞便樣品沙門氏菌盛行率則明顯高於 4 家陰性場 ( $\chi^2$ : 5.7, df: 1,  $p = 0.0236$ )。

另外，糞便樣品以白肉雞(3.3%; 0.4-11.5)與有色雞(8.3%; 2.8-18.4)來區分，兩者之沙門氏菌盛行率並無顯著差異( $\chi^2=1.4$ , df: 1,  $p=0.2195$ )。此外，結果發現，所有糞便樣品之沙門氏菌盛行率(5.8%; 2.4-11.6)顯著低於所有屠體浸洗液樣品之沙門氏菌盛行率(35.0%; 29.0-41.3) ( $\chi^2=36.1$ , df: 1,  $p<0.0001$ ) 及屠宰中的環境樣品之沙門氏菌盛行率(31.1%; 23.5-40.0) ( $\chi^2=26.3$ , df: 1,  $p<0.0001$ )。

### 2.2.2 沙門氏菌之血清型及 PFGE 之型態分布

本實驗從所有樣品中分離出 156 株沙門氏菌，並鑑定該等菌株分別屬於 15 種血清型，其中最常見的 4 種血清型依序分別為 *S. Albany* (41.7%; 33.8-49.8)、*S. Schwarzengrund* (20.5%; 14.5-27.7)、*S. Kentucky* (12.8%; 8.0-19.1) 及 *S. Tennessee* (5.1%; 2.2-9.9)，詳見表 2.3。另外，實驗結果發現，所有 6 家屠宰場均有分離出 *S. Schwarzengrund*，而 *S. Albany* 出現在其中 4 家，其他血清型的沙門氏菌僅出現於 1 或 2 家屠宰場。以單一屠宰場觀察，*S. Albany* 在 A、D 及 F 場為最常見的血清型，而 B 場最常見的為 *S. Kentucky*，C 場為 *S. Schwarzengrund*，E 場為 *S. Tennessee*。所鑑定之 15 種血清型中，糞便樣品只發現其中兩種(*S. Albany* 及 *S. Schwarzengrund*)，而屠宰前的環境樣品中只出現其中 6 種(*S. Albany*、*S. Hadar*、*S. Livingstone* var. 014+、*S. Muenster*、*S. Newport* 及 *S. Schwarzengrund*)。相對的，屠宰中的環境樣品及屠體浸洗液樣品則分別驗出 12 及 13 種血清型。

表 2.3 The serotypes of *Salmonella* isolates in all six abattoirs

Serotype	Count (n=156)	% isolates	Abattoir
Albany	65	41.7	A,D,E,F
Schwarzengrund	32	20.5	A,B,C,D,E,F

Kentucky	20	12.8	B,D
Tennessee	8	5.1	E
Livingstone var. O14+	5	3.2	F
Muenster	5	3.2	A,B
Newport	5	3.2	A,E
Haardt	3	1.9	D
Lindenburg	3	1.9	B
Enteritidis	2	1.3	D
Montevideo	2	1.3	D
Typhimurium	2	1.3	C,D
Livingstone	2	1.3	D
Hadar	1	0.6	A
Havana	1	0.6	E

本實驗所分離到的 156 株沙門氏菌經脈衝電泳方法進行分子型別分析後，發現有 24 株(B 場的 14 株 *S. Kentucky* 及 3 株 *S. Lindenburg*，D 場的 2 株 *S. Livingstone* 以及 F 場的 5 株 *S. Livingstone* var. O14+) 無法鑑別出其 PFGE 型態，剩於 132 株分屬 50 種 PFGE 型態，其分布詳見表 2.4。由各菌株之 PFGE 型態分布發現，*S. Schwarzengrund* S-4-D 型態的菌株及 *S. Albany* A-1-F 型態的菌株是最常見的(各有 14 株分離菌株)，也是分布最廣的(分別於 8 及 9 處採樣點發現)。另外，於屠體浸洗液樣品及屠宰中的環境樣品發現有 8 種 PFGE 型態也出現於屠宰前的環境樣品。同樣的，*S. Schwarzengrund* S-1-C 型態的菌株及 *S. Albany* A-5-F 型態的菌株分別發現於 C 場及 F 場之糞便樣品，也分別出現於同場後續的環境及屠體浸洗液之樣品。此外，7 種 PFGE 型態(A-1-A, A-6-D, K-1-D, S-3-D, Te-1-E, N-1-E 及 A-3-F)的菌株並沒有出現於屠宰前的環境樣品及糞便樣品卻出現於兩個階段以上的屠宰中之環境樣品或屠體浸洗液樣品。再者，有 14 種 PFGE 型態的菌株被發現於屠體浸洗液樣品中且該等菌株可被溯源至屠宰前或屠宰中之環境樣品。另外，於 D 場屠宰前及屠宰中的預冷槽內面表面均採集到 *S. Albany* A-3-D 型態的菌株，類似的情形也出現於 D 場屠宰前及屠宰中之脫毛機表面，均採集到 *S. Schwarzengrund* S-4-D 型態的菌株。實驗結果也發現，5

種 PFGE 型態(A-3-D, Te-1-E, A-1-F, A-3-F 及 A-5-F)的菌株出現於預冷槽中的屠體、預冷後的屠體及預冷槽的冷卻水樣品。另外，某些型態的菌株(11 種)只出現於最後階段即預冷後的屠體樣品。

## 2.3 討論

### 2.3.1 沙門氏菌盛行率

所有參與此次實驗的 6 家屠宰場，於採樣當天開始第一批雞隻屠宰作業之前，均於上一次屠宰作業之後完成屠宰設備之清洗及消毒工作。這個清潔及消毒作業的目的是要除去之前屠宰所遺留之髒污以避免污染後續屠宰的雞隻。然而，本次實驗發現 6 家屠宰場中有 5 家於屠宰前的環境樣品中檢測出沙門氏菌，即使這 5 家屠宰場於採樣前已完成環境的清潔及消毒工作，這顯示其清潔及消毒並不足以清除先前沙門氏菌的污染，而每天都於已被污染的環境中開始其屠宰作業。而這些屠宰前的環境污染，在本實驗中也證實會造成後續屠宰雞隻及其他環境的交叉污染。這樣的結果與 Kudirkienė, Bunevičienė, Brøndsted, and Ingmer (2011)的報告相似，該等作者認為這樣清潔及消毒工作未達預期效果的原因，可能是在使用相關清潔劑或消毒劑時，使用低於說明書上建議之濃度或作用時間而導致效果不佳。

本實驗發現，於不同階段的屠宰前的環境樣品中，脫毛機被驗出最高的沙門氏菌盛行率(61.1%)，這與 Rasschaert et al. (2007)及 Olsen, Brown, Madsen, and Bisgaard (2003)的報告結果相似。這也許與脫毛機上的橡膠手指之結構有關，因為這種橡膠手指於長時間使用後會使其表面因磨損而變的粗糙，這樣易使羽毛或有機物質等殘留於其表面，即使清潔後也難以完全清除。本實驗在現場採樣時就觀察到於屠宰前之脫毛機即使於清潔過後，仍殘留有上次屠宰遺留之羽毛，而這些殘留的羽毛或有機物質會增加沙門氏菌於清潔過程中之存活能力 (Kudirkienė et al., 2011)。已有數篇研究報告進一步指出，橡膠手指於長時間使用後會使其表面因磨損而變的粗糙，允許細菌於表面裂隙中存活並增殖。如



果未經妥當的消毒，這會導致這些細菌於下次脫毛時經由橡膠手指轉移到屠體而造成污染(ESR, 2011; Fries, 2002; FSANZ, 2005)。

此外，本實驗發現不同階段的屠體樣品中，於脫毛後之屠體測得最高的沙門氏菌盛行率(63.3%)，這顯示造成家禽屠體污染之最重要的步驟即發生於脫毛階段。這樣的結果受到數篇的研究報告支持，該等報告認為脫毛是造成屠體交叉污染的主要階段(Byrd & McKee, 2005; ESR, 2011; FAO/WHO, 2009; FSANZ, 2005; Hänninen, 2010; Morar et al., 2014)。這樣的發現也呼應了本實驗於屠宰前的環境樣品中脫毛機被驗出最高的沙門氏菌盛行率之結果，而這樣的結果可能導至於脫毛階段與屠體的交叉污染。

於脫毛階段發生的交叉污染或許可以 Rigby et al. (1980)所發現的結果來解釋，該等作者觀察到某些數量的細菌經過了燙毛後仍能殘留並存活於羽毛上，而這些受污染的羽毛可能是於脫毛階段將細菌導入的重要來源。再者，皮膚上的羽毛濾泡在脫毛階段呈現張開的狀態，而此階段的橡膠手指與屠體的接觸可以驅使微生物進入皮膚組織或羽毛濾泡內，因而降低脫毛過程中大量清水對於屠體表面清洗的效果(Byrd & McKee, 2005; Hänninen, 2010; Sofos et al., 2013)。

除了脫毛階段外，掏內臟也是造成交叉污染的主要階段之一(Byrd & McKee, 2005)。本實驗發現於掏內臟後的屠體有 45%受到沙門氏菌污染的結果也支持該論點。而 Brizio and Prentice (2015)進一步指出家禽屠宰過程中造成屠體交叉污染的最大問題就是於掏內臟時造成已受病原菌感染之雞隻其嗉囊及腸內容物的漏出。這樣的漏出不僅會造成該批雞隻的污染，也會污染屠宰設備而延伸交叉污染至後續屠宰的雞群(Russell, 2012; Sofos et al., 2013; Van Immerseel et al., 2009)。這樣的論點或許可以解釋本實驗於 F 場在屠宰前的掏內臟桌上所採集的環境樣品並無發現沙門氏菌存在，但於屠宰中的掏內臟桌上所採集的 3 個環境樣品均呈現沙門氏菌陽性。本實驗觀察到屠體樣品之沙門氏菌盛行率於掏內臟前的 63.3% (43.9-80.1)到了掏內臟後的階段則降為 45%(29.3-61.5)，但兩者之間並無顯著性差異。這樣的結果與一份美國的研究報告(Morris & Wells,

1970)顯示掏內臟步驟對屠體之沙門氏菌盛行率只有些微的影響的結果類似。此外，值得注意的是D場係為有色雞屠宰場並使用自動化機器掏內臟，實驗結果發現於掏內臟後的階段10件屠體樣品有9件(90%; 55.5-99.7)是呈現沙門氏菌陽性，相較於同樣是有色雞屠宰場但使用人工掏內臟的E及F場，該二場於掏內臟後的階段10件屠體樣品僅有3件(30%; 6.7-65.2)是呈現沙門氏菌陽性。於本實驗中發現有色雞屠宰時的雞齡為12至15週齡，同一批的屠宰雞隻其體型大小差異很大。這樣的結果與Nunes (2013)的研究報告建議一致，該作者的報告指出相較於自動化機器掏內臟，屠體使用人工掏內臟比較不會被污染，而且作者認為當屠宰雞群之體型沒有標準化(即大小不一致)，採用自動化機器掏內臟時將會增加屠體被糞便及膽汁污染的程度。同樣的，Brizio and Prentice (2015)進一步指出如果同一批雞隻之體行經過標準化後，再加上適當時間的屠宰前禁食則可以降低掏內臟的污染程度。

本實驗也發現屠體樣品的沙門氏菌盛行率有隨著屠宰程序依序遞減的趨勢，而且預冷後的屠體樣品的沙門氏菌盛行率顯著低於預冷前所採屠體樣品。Bilgili, Waldroup, Zelenka, and Marion (2002) 及 Demirok et al. (2013) 認為這樣的沙門氏菌盛行率降低可能來自浸泡式預冷槽對於屠體的清洗效果，而本實驗6家屠宰場於預冷槽中使用逆向水流、持續性溢流或空氣震盪等措施或許有加強對屠體的清洗效果。此外，兩篇先前的研究報告(Demirok et al., 2013; Lillard, 1990)顯示這樣沙門氏菌盛行率的降低可能跟預冷槽中冷卻水加氯消毒有關。本實驗中有4家屠宰場(A、B、C及D)之預冷槽中冷卻水有加氯消毒，而實驗結果顯示屠體預冷前之沙門氏菌盛行率為50.0%(35.5-64.5)，而屠體預冷後為18.8%(10.9-29.0)，屠體預冷前後之沙門氏菌盛行率呈顯著差異( $\chi^2$ : 14.1, df: 1,  $p = 0.0002$ )，支持這樣的觀點。

本實驗從6家屠宰場採集預冷後之屠體樣品並測得整體之沙門氏菌盛行率為25%，若將該等屠體區分為白肉雞(A、B及C場)及有色雞(D、E及F場)，則其盛行率分別為白肉雞為0% (0-6.0)，而有色雞為50% (36.8-63.2)。本實驗預

冷後白肉雞之沙門氏菌盛行率與紐西蘭 (2%) (ESR, 2004)，歐盟國家(範圍介於 0-22.7%) (EFSA, 2014)以及美國(3.9%) (FSIS, 2015)相似，並且低於泰國(9%) (Padungtod & Kaneene, 2006)及韓國(42.7%) (Bae et al., 2013)。然而，當比較不同研究得結果時，必須注意到不同的採樣方式及細菌分離方法也可能影響最後結果。另外，因為有色雞在其他國家並非主要的食用雞種，相關研究資料闕如，無法找到相關食原性病原菌的資料做比較。

最後，本實驗於屠宰中採集的環境樣品之沙門氏菌盛行率顯著高於屠宰前的環境樣品，這表示屠宰過程中環境的污染有增加。再者，本實驗也觀察到屠體浸洗液樣品之沙門氏菌盛行率顯著高於屠宰前的環境樣品及糞便樣品，這與多篇研究(Chotinun et al., 2014; Goksoy et al., 2004; Rasschaert et al., 2007; Rasschaert et al., 2008; Zutter et al., 2005)之觀察一致，這顯示屠宰過程中有發生屠體的交叉污染。

### 2.3.2 沙門氏菌之血清型及 PFGE 之型態分布

本實驗所分離到最常見的沙門氏菌血清型為 *S. Albany* 及 *S. Schwarzengrund*。這結果與 Lin et al. (2008)從台灣地區肉雞的肝臟、膽囊及泄殖腔的內容物中分離所得的沙門氏菌之最常見的血清型之結果一致。此外，本實驗所分離到 156 株沙門氏菌中，其中 *S. Enteritidis* 及 *S. Typhimurium* 僅各 2 株(分別佔 1.3%)，然而此兩種血清型已被認為是在台灣地區人類感染沙門氏菌症中最常見的血清型別(Chu et al., 2009; Lauderdale et al., 2006; Torpdahl et al., 2013)，這樣的結果顯示，在台灣地區家禽屠宰場中所發現的沙門氏菌血清型分布與人類感染的血清型並不一致，這或許說明家禽產品並非台灣地區人類感染沙門氏菌症主要食物媒介。此外，根據本實驗之血清型分析的結果鑑別出所分離到的沙門氏菌分屬 15 種血清型，但只有 6 種血清型(*Albany*, *Hadar*, *Livingstone var. 014+*, *Muenster*, *Newport*, 及 *Schwarzengrund*)的菌株存在於屠宰前(經過前一次屠宰後的清潔及消毒)的環境樣品中，相較於屠宰中的環境

及屠體樣品則發現有超過 10 種血清型存在，這顯示某些血清型的沙門氏菌即使經過清潔及消毒程序依然能夠存活，並且在環境中具有活力。

根據本實驗沙門氏菌之 PFGE 型態分析的結果，發現 8 種 PFGE 型態之菌株不僅存在於屠宰前的環境樣品，也被發現存於屠宰中的環境樣品及屠體浸洗液樣品，這或許指出這些屠宰過程中的環境及屠體之沙門氏菌污染源自於屠宰前的環境。另外，從 C 場及 F 場糞便樣品分離到的兩種 PFGE 型態的菌株(S-1-C 及 A-5-F)也分別被發現存在於同場後續的屠宰環境及屠體樣品上，這個結果凸顯屠宰已被沙門氏菌感染的雞隻可以造成後續屠體的污染。這樣的發現與多篇相關的研究報告(Corry, Allen, Hudson, Breslin, & Davies, 2002; Nógrády et al., 2008; Olsen et al., 2003)類似，顯現沙門氏菌感染的雞群是屠宰階段一個重要的污染源。為了解決屠宰已被沙門氏菌感染的雞隻造成後續屠體污染的問題，邏輯性屠宰(logistic slaughtering)已被認為是一個可以降低該種污染的措施(Evers, 2004; Van Immerseel et al., 2009)，其方法就是所有要屠宰的雞群，於屠宰前在牧場端就先做沙門氏菌檢驗，屠宰場於每日屠宰不同批次的雞群時，須先屠宰沙門氏菌陰性的雞群，而陽性雞群留待最後屠宰，根據荷蘭於 2000 年實施邏輯性屠宰的經驗，經評估可降低屠宰後雞群受到沙門氏菌污染的盛行率達 9% (Van Immerseel et al., 2009)。

本實驗也發現 7 種 PFGE 型態之菌株不存在於屠宰前的環境樣品或糞便樣品，卻被發現存於兩個階段以上之屠宰中的環境樣品及屠體浸洗液樣品，這樣的發現指出屠宰過程中的不同階段有發生沙門氏菌之交叉污染。此外，有 14 種 PFGE 型態之菌株存在於屠體浸洗液樣品，並可以追溯源自屠宰前或屠宰中的環境樣品，這樣的發現與其他研究結果(Corry et al., 2002; Lillard, 1990; Olsen et al., 2003; Rasschaert et al., 2007; Rasschaert et al., 2008; Rigby et al., 1980; Rigby et al., 1982; Zutter et al., 2005)均顯現屠宰設施設備於屠宰過程可以成為污染來源。有些 PFGE 型態之菌株在同一設備上分別於屠宰前及屠宰後均被分離(如從 D 場預冷槽分離到的 A-3-D 型態菌株及脫毛機上分離到的 S-4-D 型

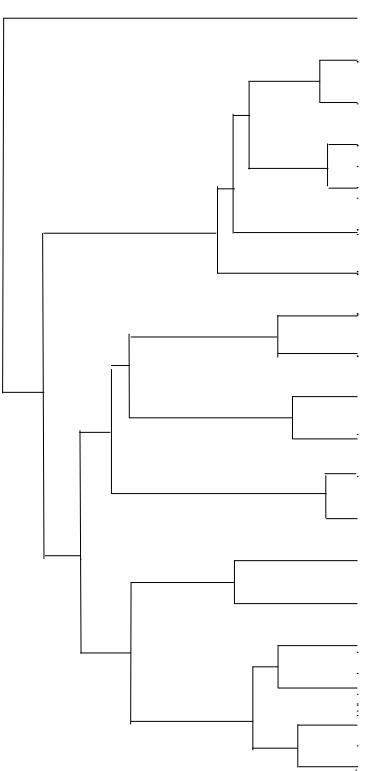
態菌株)，表示這些菌株在相關設備經清潔消毒過後仍有潛力存活。另外，本實驗發現有 4 種 PFGE 型態之菌株(A-3-D, A-6-D, Te-1-E 及 A-1-F)存在於預冷槽中及預冷後之屠體浸洗液樣品，同時也在預冷槽中的冷卻水樣品被驗出，這樣的發現與其他研究結果(Lillard, 1990; Lopes et al., 2007) 均呈現透過冷卻水或預冷時屠體間直接的碰觸都可能造成屠體的交叉污染。

表 2.4 The PFGE patterns of *Salmonella* isolates at each processing stage

<i>Xba</i> I	Abattoir	PFGE pattern <sup>s</sup> (number of isolates)	Number of <i>Salmonella</i> isolates at each sample stage																
			Before processing						During processing										
			PM	EM	GT	SC	CTW	CT	FS	PM	CAP	EM	CAE	GT	SC	CTW	CICT	CT	CACT
	A	N-1-A (1)	1																
	A	Mu-1-A (1)							1										
	A	A-1-A (3)							1				1	1					
	A	A-2-A (1)												1					
	A	Had-1-A (1)	1																
	A	S-1-A (1)	1																
	B	Mu-1-B (4)	2										1						1
	B	S-1-B (1)					1												
	C	Ty-1-C (1)																	
	C	S-1-C (3)							1	1			1						
	C	S-2-C (1)							1										

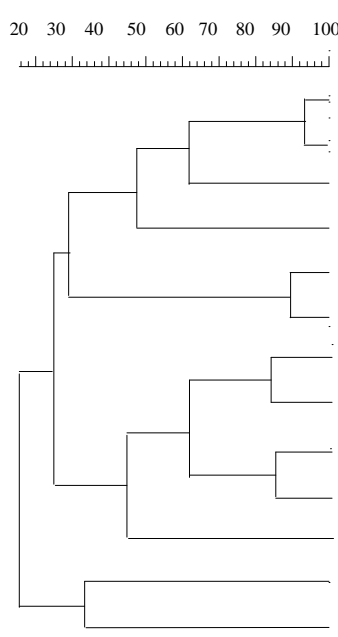
Continued on following page

表 2.4 The PFGE patterns of *Salmonella* isolates at each processing stage (Continued)

<i>Xba</i> I	Abattoir	PFGE pattern <sup>s</sup> (number of isolates)	Number of <i>Salmonella</i> isolates at each sample stage																
			Before processing						During processing										
			PM	EM	GT	SC	CTW	CT	FS	PM	CAP	EM	CAE	GT	SC	CTW	CICT	CT	CACT
	D	Ty-1-D (1)								1									
	D	A-1-D (1)												1					
	D	A-2-D (1)																	1
	D	A-3-D (9)				1		1				1			1	4	1		
	D	A-4-D (1)																	1
	D	A-5-D (2)			1							1							
	D	A-6-D (5)											1		1				3
	D	K-1-D (5)							1	1		2							1
	D	K-2-D (1)											1						
	D	E-1-D (1)															1		
	D	E-2-D (1)													1				
	D	Haa-1-D (2)																	2
	D	Haa-2-D (1)													1				
	D	Mo-1-D (1)																	1
	D	Mo-2-D (1)																	1
	D	S-1-D (1)									1								
	D	S-2-D (1)																	1
	D	S-3-D (2)									1	1							
	D	S-4-D (14)	1	1	1				1	1		3		2					4

Continued on following page

表 2.4 The PFGE patterns of *Salmonella* isolates at each processing stage (Continued)

<i>Xba</i> I	Abattoir	PFGE pattern <sup>s</sup> (number of isolates)	Number of <i>Salmonella</i> isolates at each sample stage															
			Before processing						During processing									
			PM	EM	GT	SC	CTW	CT	FS	PM	CAP	EM	CAE	GT	SC	CTW	CICT	CT
	E	A-1-E (4)	2	1														1
	E	A-2-E (1)							1									
	E	A-3-E (1)							1									
	E	A-4-E (1)																1
	E	Te-1-E (4)												2				2
	E	Te-2-E (4)													4			
	E	S-1-E (1)			1													
	E	S-2-E (1)																1
	E	S-3-E (3)								3								
	E	S-4-E (1)																1
	E	Hav-1-E (1)																1
	E	N-1-E (3)								1			2					
	E	N-2-E(1)														1		

Continued on following page



表 2.4 The PFGE patterns of *Salmonella* isolates at each processing stage (Continued)

XbaI	Abattoir	PFGE pattern <sup>§</sup> (number of isolates)	Number of <i>Salmonella</i> isolates at each sample stage																		
			Before processing						During processing												
			PM	EM	GT	SC	CTW	CT	FS	PM	CAP	EM	CAE	GT	SC	CTW	CICT	CT	CACT		
	F	A-1-F (14)	1									2	2		1	1	1	2	1	3	
	F	A-2-F (1)																			1
	F	A-3-F (9)										1		1	1			2			3
	F	A-4-F (2)				1								1							
	F	A-5-F (8)							5				1						1		1
	F	A-6-F (1)																	1		
	F	S-1-F (2)	1									1									
	B	K-UT <sup>#</sup> -B (14)										4		3	1	1	3	2			
	B	Lin-UT-B (3)												1		2					
	D	Liv-UT-D (2)										1			1						
	F	Liv14-UT-F (5)	1			2										1			1		

<sup>§</sup>PFGE patterns were indicated by numerical and abattoir sampled suffixes after a capital letter indicating the name of the serotype (e.g., Hav-1-E refers to the serotype Havana collected from abattoir E).

<sup>#</sup>UT, PFGE typing non-typed.

PFGE pattern detected in isolates from this stage.

PM: Plucking machine; EM: Evisceration machine/table; GT: Gloves of a carcass trimmer SC: Shackles/conveyer belt; CTW: Chilling tank water; CT: Chilling tank inside surface; FS: Fecal swabs; CAP: Carcass rinse samples after plucking; CAE: Carcass rinse sample after evisceration; CICT: Carcass rinse samples in chilling tank; CACT: Carcass rinse sample after the chilling tank.

## 參、 研究心得(研究發現)

### 1. 台灣地區屠宰雞隻沙門氏菌污染盛行率及危險因子之調查

- (1)鑒於以往國內所執行之屠體微生物監控計畫囿於經費、人才及有限知識的限制，所得結果未能充分加以分析及妥善運用於產業界，未來執行相關全國性監測計畫時，可透過派駐各屠宰場之屠宰衛生檢查人員採集樣品之餘，亦能比照此部分研究之模式請其協助收集各樣品之背景資料，最後再將此背景資料與所得微生物結果結合分析，即可獲得很多以科學為基礎及極具參考價值之資料，未來若可充分運用於這些之資料，不僅可分析相關危險因子俾施以有效重點管制，亦可作為未來擬定屠體污染管控對策之參考以強化肉品衛生管理體系。
- (2)此部分研究提供了第一份台灣地區全國性屠宰雞隻沙門氏菌污染盛行率及危險因子之調查，實驗結果顯示對批次屠體受沙門氏菌污染有影響之四個危險因子，包含採樣季節(夏秋兩季即六月至十一月高於春冬兩季即十二月至隔年五月)、屠宰場所屬於之防檢局轄區分局(基隆新竹轄區高於台中高雄轄區)、雞隻燙毛時間(燙毛低於90秒者高於燙毛大於90秒者)及雞隻種類(有色雞高於白肉雞)。
- (3)此部分研究分析結果顯示位於防檢局不同分局轄區對批次屠體受沙門氏菌污染有影響，其真正原因未明，雖需進一步調查分析，但目前各分局對於轄內屠宰場的清潔衛生查核係以查核人員之主觀認定為主。然而，每個查核人員對於屠宰場的環境是否符合清潔衛生的定義及觀感並不一致，所以可能造成對於屠宰場的督導強度有落差，而此差異結果可能就以屠體沙門氏菌污染率高低來呈現。為了解決這個潛在的管理差異問題，未來可參考有科學資料為基礎的客觀標準及整合專家與各查核人員之意見，將屠宰場清潔衛生查核項目及內容標準化，以求查核強度一致性。另訂定相關查核指導手冊，並在該手冊以圖片或說明詳述各種可能造成家禽屠體污染之情況及相關可能的矯正

措施，此舉不僅可讓查核人員有所依據，也可提供屠宰業者做好場區清潔衛生管理之參考，以降低屠體沙門氏菌污染率。

- (4)此部分研究分析結果顯示在台灣地區家禽屠宰場中所發現的沙門氏菌血清型分布與人類感染的血清型並不一致，這或許說明家禽產品並非台灣地區人類感染沙門氏菌症主要食物媒介。不過，人醫界仍有人認為人類感染食媒性疾病之病原及其所具之抗藥性問題主要係因動物於飼養端用藥及屠宰端污染所造成。為釐清此爭議，可收集從屠體分離之沙門氏菌菌株並做全基因定序，藉以比對台灣地區病患菌株，即可以科學證據明確釐清食媒病原與來源之關係，以減少不必要之揣測。
- (5)此部分研究分析結果顯示有色雞之批次屠體沙門氏菌污染率高於白肉雞，然白肉雞及有色雞隻生產及屠宰等條件有些差異，諸如上市雞齡、屠宰時同批雞隻體重標準化程度及掏內臟方式等，如要釐清其背後主要影響因素，則需於未來之研究進一步探索。此外，未來可比照此部分研究針對有色雞屠宰場之整體背景資料做食品衛生安全指標菌污染之危險因子調查，以擬定屠體污染管控之對策。

## 2. 台灣家禽屠宰場環境及屠體沙門氏桿菌交叉污染之調查

- (1)此部分研究提供了第一份台灣地區屠宰雞隻於屠宰場內有關屠體沙門氏菌交叉污染及其污染源之調查資訊，實驗結果顯示部分屠宰場屠宰前及屠宰中的環境以及屠體樣品均有高度的沙門氏菌污染。
- (2)此部分研究所分離到的沙門氏菌菌株經由脈衝電泳方法進行分子型別分析後，依照各菌株 PFGE 型態的特性進行比對，發現存在環境中以及糞便中的沙門氏菌會經由屠宰過程污染後續的屠體。
- (3)此部分研究顯示屠宰前的環境汙染，會導致後續屠宰過程中的交叉污染，為避免此現象發生，應要求屠宰場於每天屠宰最後一批動物後需立即執行全場環境之清潔衛生，此外派駐各屠宰場之屠宰衛生檢查人員應落實每天的開工

前檢查，確認場區之設施設備均呈現乾淨狀態，始得同意業者開始當日屠宰作業。

- (4)此部分研究顯示屠宰前以帶菌的雞隻，經屠宰後會導致後續屠宰過程中的交叉污染，為減少屠宰端的污染，宜於飼養階段就得控制沙門氏菌感染情形，或參照歐洲國家實施邏輯性屠宰，即雞隻在上市前一星期先於牧場端做批次沙門氏菌檢驗並取得陰陽性結果；而在屠宰場端，每日均先屠宰檢驗結果為陰性之批次雞隻，而陽性批次雞隻則留待最後屠宰，以避免交叉污染發生。為此方式是否適合台灣雞隻產業運銷型態，宜再進一步了解。
- (5)此部分研究呈現各家屠宰場所發生之交叉污染模式不盡相同，因微生物污染無法由肉眼直接察覺，多須由專業採樣、培養及分析始能解讀各場之污染模式，所需人力與預算所費不貲。為運用有限資源，如能針對高風險族群(如有色雞屠宰場或嚴重污染之場家)，做重點式分析，並依結果建議業者改善，此長期下來應有助於降低全國性的沙門氏菌屠體污染盛行率，減少消費者因吃肉品而罹患食媒性疾病。
- (6)此部分研究呈現的家禽屠體已發生或潛在之污染資料可以增加人們對肉品安全存在相關風險的警覺，而這些資料也可以提供相關主管機關及屠宰場參考以發展出於屠宰過程中防範相關污染之措施，以生產更衛生的肉品供消費者食用。

#### **肆、建議事項（具體政策建議）**

1. 未來執行相關全國性屠體病原菌監測計畫時，可透過屠宰場及屠宰衛生檢查人員收集各樣品相關之背景資料並加以分析相關危險因子，不僅可讓屠宰場及查核人員施以有效重點管制，亦可作為未來場方及官方擬定屠體污染管控對策之參考以強化肉品衛生管理體系。
2. 屠宰衛生檢查規則第 26-1 條規定屠宰衛生檢查人員遇有屠宰作業有導致其產

品對消費者健康產生危害之虞者，得停止屠宰衛生檢查工作。本研究顯示屠宰前的環境汙染會導致後續屠宰過程中的交叉汙染，爰此，派駐各屠宰場之屠宰衛生檢查人員應落實每天之開工前檢查，確認場區之設施設備均呈現乾淨狀態，始得同意業者開始當日屠宰作業，以減少環境中可能之微生物汙染源，降低屠體被汙染之風險。

3. 參考每年全國性屠體病原菌監測計畫所得平均盛行率結果訂定及調整各種病原菌汙染示警標準，當透過監控計畫發現有屠宰場超過示警標準時，宜啟動官方查核及輔導措施，要求業者限期改善，並針對高風險之屠宰場加強查核頻率，以達重點管理之效。
4. 為了解決潛在的區域管理差異問題，未來可參考有科學資料為基礎的客觀標準及整合專家與各查核人員之意見，將屠宰場清潔衛生查核項目及內容標準化，以求查核強度一致性。
5. 制訂屠宰場微生物管控指導手冊，並在該手冊以圖片或說明詳述各種可能造成家禽屠體汙染之情況及相關可能的矯正措施，此舉不僅可讓查核人員有所依據，也可提供屠宰業者做好場區清潔衛生管理之參考，以降低屠體沙門氏菌汙染率。

## 伍、參考文獻

- Andrews, W. H. (1998). Microbiological methods. In P. Cunniff (Ed.), *Official methods of analysis of AOAC International* (16 th ed., Vol. 1, pp. 1-122). Gaithersburg, Md.: AOAC International.
- Ansari-Lari, M., Shekarforoush, S., Mehrshad, S., & Safari, H. (2014). Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. colonization in broiler flocks in Shiraz, southern Iran. *Veterinary research forum : an international quarterly journal*, 5(1).
- Arsenault, J., Letellier, A., Quessy, S., Normand, V., & Boulianne, M. (2007). Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec,

- Canada. *Prev Vet Med*, 81(4), 250-264. doi:10.1016/j.prevetmed.2007.04.016
- Ayaz, N. D., Ormeci, E., & Oz, B. (2010). Prevalence and seasonal distribution of *Salmonella* spp. in frozen raw meats. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 21(1), 1-4.
- Bae, D. H., Dessie, H. K., Baek, H. J., Kim, S. G., Lee, H. S., & Lee, Y. J. (2013). Prevalence and characteristics of *Salmonella* spp. isolated from poultry slaughterhouses in Korea. *JOURNAL OF VETERINARY MEDICAL SCIENCE*, 75(9), 1193-1200. doi:10.1292/jvms.13-0093
- BAPHIQ. (2015). *Statistics yearbook 2014 of animal and health inspection and quarantine of the Republic of China*. Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine (BAPHIQ), Council of Agriculture (COA), Executive Yuan, Taiwan
- Retrieved from  
<http://meatoa.baphiq.gov.tw/baphiqOA/gipadmin/default.jsp;jsessionid=94668BE33C99CD2872B37A63225AFECE>.
- Bilgili, S. F., Waldroup, A. L., Zelenka, D., & Marion, J. E. (2002). Visible ingesta on prechill carcasses does not affect the microbiological quality of broiler carcasses after immersion chilling. *The Journal of Applied Poultry Research*, 11(3), 233-238. doi:10.1093/japr/11.3.233
- Brizio, A. P. D. R., & Prentice, C. (2015). Chilled broiler carcasses: a study on the prevalence of *Salmonella*, *Listeria* and *Campylobacter*. *International Food Research Journal*, 22(1).
- Byrd, J. A., & McKee, S. R. (2005). Improving slaughter and processing technologies. In G. C. Mead (Ed.), *Food Safety Control in the Poultry Industry* (pp. 310-332). Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- CDC. (2013). Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*: CDC (Centers for Disease Control and Prevention).
- CDC. (2014, November 12, 2014). Cost Estimates of Foodborne Illnesses. Retrieved from  
<http://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx#48446>
- CDC. (2015, March 9, 2015). What is Salmonellosis? Retrieved from  
<http://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>
- Chen, P. L., Li, C. Y., Hsieh, T. H., Chang, C. M., Lee, H. C., Lee, N. Y., . . . Ko, W. C. (2012). Epidemiology, disease spectrum and economic burden of non-typhoidal *Salmonella* infections in Taiwan, 2006-2008. *Epidemiol Infect*,

- 140(12), 2256-2263. doi:<http://dx.doi.org/10.1017/S0950268812000088>
- Chen, S.-P., Tsai, C.-E., Lin, J.-S., Dong, H.-D., Du, S.-J., & Yeh, K.-S. (2004). A survey on microorganisms isolated from the rinse fluid samples of chicken carcasses in slaughterhouses in Taiwan from 2000 to 2002. *Taiwan Veterinary Journal*, 30(3), 212-220.
- Chotinun, S., Rojanasthien, S., Unger, F., Tadee, P., & Patchanee, P. (2014). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from carcasses, processing facilities and the environment surrounding small scale poultry slaughterhouses in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 45(6), 1392-1400.
- Chu, C., Wong, D.-W., Wang, M.-H., Lin, H.-H., Chen, Y.-S., Tien, N., . . . Chiu, C.-H. (2009). Genotyping, Plasmid Analysis, and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis Isolates from Humans and Chickens in Central Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association*, 108(10), 765-771.
- COA. (2014a). *Agricultural statistics yearbook 2013*. Agricultural statistics yearbook 2013.
- COA. (2014b). *Food supply and utilization yearbook yearbook of the Republic of China 2013*. Council of Agriculture (COA), Executive Yuan, Taiwan.
- Cohen, N., Ennaji, H., Bouchrif, B., Hassar, M., & Karib, H. (2007). Comparative study of microbiological quality of raw poultry meat at various seasons and for different slaughtering processes in Casablanca (Morocco). *Journal of Applied Poultry Research*, 16(4), 502-508. doi:10.3382/japr.2006-00061
- Corry, J. E. L., Allen, V. M., Hudson, W. R., Breslin, M. F., & Davies, R. H. (2002). Sources of salmonella on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. *Journal of Applied Microbiology*, 92(3), 424-432. doi:10.1046/j.1365-2672.2002.01543.x
- Dan, S. D., Platon, S., Mihaiu, M., Jecan, C., Cordea, D., Cordis, I. V., & Lapusan, A. (2013). Microbial risk assessment in the main steps of poultry slaughter. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 70(2).
- Demirok, E., Veluz, G., Stuyvenberg, W. V., Castaneda, M. P., Byrd, A., & Alvarado, C. Z. (2013). Quality and safety of broiler meat in various chilling systems. *Poult Sci*, 92(4), 1117-1126. doi:10.3382/ps.2012-02493
- Dohoo, I. R., Ducrot, C., Fourichon, C., Donald, A., & Hurnik, D. (1996). An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Preventive Veterinary Medicine*, 29(3), 221-239. doi:10.1016/s0167-5877(96)01074-4

- EFSA. (2010). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008 - Part B: Analysis of factors associated with *Salmonella* contamination of broiler carcasses. *EFSA Journal*, 8(8), 1522-Article 1522.
- EFSA. (2014). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal*, 12(2).
- Ellermeier, C., & Slauch, J. (2006). The Genus *Salmonella*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Eds.), *The Prokaryotes* (pp. 123-158): Springer New York.
- ESR. (2004). *Risk profile: Salmonella (non typhoid) in poultry (whole and pieces)*. Retrieved from
- ESR. (2010). *Risk profile: Salmonella (non typhoidal) in pork and pork products*. Retrieved from [http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Salmonella Typhoidal-Science\\_Research.pdf](http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Salmonella_Typhoidal-Science_Research.pdf)
- ESR. (2011). *Risk profile: Salmonella (non typhoid) in poultry (whole and pieces)*. Retrieved from <https://mpi.govt.nz/document-vault/6256>
- Evers, E. G. (2004). Predicted quantitative effect of logistic slaughter on microbial prevalence. *Preventive Veterinary Medicine*, 65(1–2), 31-46.  
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.06.008>
- FAO/WHO. (2007). *Food safety risk profile for Salmonella species in broiler (young) chicken*. Retrieved from [http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Food\\_Safety\\_Risk-Compiled\\_Ccfh.pdf](http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Food_Safety_Risk-Compiled_Ccfh.pdf)
- FAO/WHO. (2009). *Benefits and Risks of the Use of Chlorine-containing Disinfectants in Food Production and Food Processing*. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/012/i1357e/i1357e.pdf>
- Finstad, S., O'Bryan, C. A., Marcy, J. A., & Crandall, P. G. (2012). *Salmonella* and broiler processing in the United States: Relationship to foodborne salmonellosis. *Food Research International*, 45(2), 789-794.  
doi:10.1016/j.foodres.2011.03.057
- Fries, R. (2002). Reducing *Salmonella* transfer during industrial poultry meat production. *Worlds Poultry Science Journal*, 58(4), 527-540.  
doi:10.1079/wps20020038
- FSANZ. (2005). *Scientific assessment of the public health and safety of poultry meat in Australia. Attachment 3: Draft assessment report: Proposal P282 Primary production & processing standard for poultry meat*. Retrieved from



- [http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/Documents/P282\\_Poultry%20%20DAR%20Attach3.pdf](http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/Documents/P282_Poultry%20%20DAR%20Attach3.pdf)
- FSIS. (2011). Salmonella sampling of broiler and turkey carcasses. Retrieved from [http://askfsis.custhelp.com/app/answers/detail/a\\_id/1631/~salmonella-sampling-of-broiler-and-turkey-carcasses](http://askfsis.custhelp.com/app/answers/detail/a_id/1631/~salmonella-sampling-of-broiler-and-turkey-carcasses)
- FSIS. (2014, June 29, 2014). Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and catfish products and carcass and environmental sponges. *Microbiology Laboratory Guidebook*. Retrieved from <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/700c05fe-06a2-492a-a6e1-3357f7701f52/MLG-4.pdf?MOD=AJPERES>
- FSIS. (2015). *Progress report on Salmonella and Campylobacter testing of raw meat and poultry products, 1998-2014*. Retrieved from <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7b9ba8cd-de00-4d8d-8cf7-7cfbe24236f7/Progress-Report-Salmonella-Campylobacter-CY2014.pdf?MOD=AJPERES>
- Geornaras, I., Jesus, A. E. d., Zyl, E. v., & Holy, A. v. (1997). Bacterial populations of different sample types from carcasses in the dirty area of a South African poultry abattoir. *J Food Prot*, *60*(5), 551-554.
- Goksoy, E. O., Kirkan, S., & Kok, F. (2004). Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey. *Poult Sci*, *83*(8), 1427-1432.
- Grimont, P. A. D., & Weill, F.-X. (2007). *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. Paris: World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur Retrieved from <https://www.pasteur.fr/ip/portal/action/WebdriveActionEvent/oid/01s-000036-089>.
- Hänninen, M. L. (2010). Campylobacter in Poultry Processing *Handbook of Poultry Science and Technology: Volume 2* (Vol. 2, pp. 495-506).
- Henry, I., Granier, S., Courtillon, C., Lalande, F., Chemaly, M., Salvat, G., & Cardinale, E. (2012). Salmonella enterica subsp. enterica isolated from chicken carcasses and environment at slaughter in Reunion Island: prevalence, genetic characterization and antibiotic susceptibility. *Tropical animal health and production*, *45*(1), 317-326. doi:10.1007/s11250-012-0221-2
- Hosmer, D. W., Lemeshow, S., & Ebooks, C. (2000). *Applied logistic regression* (Vol. 2nd). New York: Wiley.
- Huang, J. L., Zong, Q., Zhao, F., Zhu, J. Q., & Jiao, X. A. (2016). Quantitative surveys of Salmonella and Campylobacter on retail raw chicken in Yangzhou, China. *Food Control*, *59*, 68-73. doi:10.1016/j.foodcont.2015.05.009

- Kim, J. W., Slavik, M. F., Griffis, C. L., & Walker, J. T. (1993). Attachment of Salmonella-Typhimurium to Skins of Chicken Scalded at Various Temperatures. *J Food Prot*, 56(8), 661-+.
- Kudirkienė, E., Bunevičienė, J., Brøndsted, L., & Ingmer, H. (2011). Evidence of broiler meat contamination with post-disinfection strains of *Campylobacter jejuni* from slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology*, 145, S116-S120. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.024
- Löhren, U. (2012). *Overview on current practices of poultry slaughtering and poultry meat inspection*. Retrieved from [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/298e.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/298e.pdf)
- Lauderdale, T.-L., Aarestrup, F. M., Chen, P.-C., Lai, J.-F., Wang, H.-Y., Shiau, Y.-R., . . . Hung, C.-L. (2006). Multidrug resistance among different serotypes of clinical Salmonella isolates in Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 55(2), 149-155. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.01.002>
- Lillard, H. S. (1990). The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. *J Food Prot*, 53(3), 202-207.
- Lin, C.-C., Guo, J.-W., Chang, C.-C., Wang, Y.-C., Shien, J.-H., Yeh, K.-S., & Chen, T.-H. (2008). *Salmonella* serovars isolated from marketing broilers and simulated native chickens: Prevalence and drug resistance. *Taiwan Veterinary Journal*, 34 (4), 217-225.
- Lopes, M., Galhardo, J. A., de Oliveira, J. T., Tamanini, R., Sanches, S. F., & Muller, E. E. (2007). Research of *Salmonella* spp. and indicators microorganisms in poultry carcasses and chilling tanks water in poultry slaughterhouse. *Semina-Ciencias Agrarias*, 28(3), 465-475.
- Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., . . . Studies, f. t. I. C. o. E. D. B. o. I. (2010). The Global Burden of Nontyphoidal Salmonella Gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, 50(6), 882-889. doi:10.1086/650733
- Mead, G., Lammerding, A. M., Cox, N., Doyle, M. P., Humbert, F., Kulikovskiy, A., . . . Wierup, M. (2010). Scientific and technical factors affecting the setting of *Salmonella* criteria for raw poultry: A global perspective. *J Food Prot*, 73(8), 1566-1590.
- Mickey, R. M., & Greenland, S. (1987). A study of the impact of confounder-selection criteria on effect estimation. *American Journal of Epidemiology*, 126(4), 737-737.

- Morar, A., Imre, K., Nichita, I., Colibar, O., & Sala, C. (2014). Overview of foodborne pathogens in meat and meat products: trend in EU. *Lucrari Stiintifice - Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, 47(2).
- Morris, G. K., & Wells, J. G. (1970). Salmonella Contamination in a Poultry-Processing Plant. *Applied Microbiology*, 19(5), 795-&.
- Nógrády, N., Kardos, G., Bistyák, A., Turcsányi, I., Mészáros, J., Galántai, Z., . . . Kiss, I. (2008). Prevalence and characterization of *Salmonella* infantis isolates originating from different points of the broiler chicken–human food chain in Hungary. *International Journal of Food Microbiology*, 127(1–2), 162-167. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.005>
- Nunes, F. G. (2013). Tackling carcass contamination at the source. *World Poultry*, 29(2).
- Olsen, J. E., Brown, D. J., Madsen, M., & Bisgaard, M. (2003). Cross-contamination with *Salmonella* on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5), 826-835. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01911.x
- Padungtod, P., & Kaneene, J. B. (2006). *Salmonella* in food animals and humans in northern Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 108(3), 346-354. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.020>
- Pan, T. M., Wang, T. K., Lee, C. L., Chien, S. W., & Horng, C. B. (1997). Food-borne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995. *J Clin Microbiol*, 35(5), 1260-1262.
- Rasschaert, G., Houf, K., & De Zutter, L. (2007). Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. *Journal of Applied Microbiology*, 103(2), 333-341. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.03248.x
- Rasschaert, G., Houf, K., Godard, C., Wildemauwe, C., Pastuszczak-Frak, M., & De Zutter, L. (2008). Contamination of carcasses with *Salmonella* during poultry slaughter. *J Food Prot*, 71(1), 146-152.
- Rigby, C. E., Pettit, J. R., Baker, M. F., Bentley, A. H., Salomons, M. O., & Lior, H. (1980). Sources of salmonellae in an uninfected commercially-processed broiler flock. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 44(3), 267-274.
- Rigby, C. E., Pettit, J. R., Bentley, A. H., Spencer, J. L., Salomons, M. O., & Lior, H. (1982). The relationships of salmonellae from infected broiler flocks, transport crates or processing plants to contamination of eviscerated carcasses. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 46(3), 272-278.
- Russell, S. M. (2012). *Controlling Salmonella in poultry production and processing*.

- Boca Raton: CRS Press/Taylor & Francis.
- Sofos, J. N., Flick, G., Nychas, G.-J., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., & Crandall, P. G. (2013). Meat, Poultry, and Seafood *Food microbiology : fundamentals and frontiers* (4 ed., pp. 111-167): ASM Press.
- Torpdahl, M., Lauderdale, T.-L., Liang, S.-Y., Li, I., Wei, S.-H., & Chiou, C.-S. (2013). Human isolates of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from Taiwan displayed significantly higher levels of antimicrobial resistance than those from Denmark. *International Journal of Food Microbiology*, *161*(2), 69-75. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.022>
- Van Immerseel, F., De Zutter, L., Houf, K., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2009). Strategies to control Salmonella in the broiler production chain. *World's poultry science journal*, *65*(3), 367-392. doi:10.1017/S0043933909000270
- WHO. (2013, August 2013). Salmonella (non-typhoidal). Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>
- Williams, M. S., Ebel, E. D., Golden, N. J., & Schlosser, W. D. (2014). Temporal patterns in the occurrence of Salmonella in raw meat and poultry products and their relationship to human illnesses in the United States. *Food Control*, *35*(1), 267-273. doi:10.1016/j.foodcont.2013.07.016
- Wilson, I. G. (2002). Salmonella and campylobacter contamination of raw retail chickens from different producers: a six year survey. *Epidemiol Infect*, *129*(3), 635-645. doi:10.1017/S0950268802007665
- Yang, H., Li, Y. B., & Johnson, M. G. (2001). Survival and death of *Salmonella* Typhimurium and *Campylobacter jejuni* in processing water and on chicken skin during poultry scalding and chilling. *J Food Prot*, *64*(6), 770-776.
- Zdragas, A., Mazaraki, K., Vafeas, G., Giantzi, V., Papadopoulos, T., & Ekateriniadou, L. (2012). Prevalence, seasonal occurrence and antimicrobial resistance of Salmonella in poultry retail products in Greece. *Letters in Applied Microbiology*, *55*(4), 308-313. doi:10.1111/j.1472-765X.2012.03298.x
- Zutter, L. d., Herman, L., & Heyndrickx, M. (2005). Logistic slaughter still allows carcass contamination. *World Poultry*, *21*(Special).
- Zweifel, C., Althaus, D., & Stephan, R. (2015). Effects of slaughter operations on the microbiological contamination of broiler carcasses in three abattoirs. *Food Control*, *51*, 37-42. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.002>



# 陸、附錄(研討會論文發表及相關剪影)

## 1. 2014 年澳洲梅鐸大學獸醫暨生命科學學院舉辦之學術壁報展中展出之壁報

### Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination at poultry slaughterhouses in Taiwan

Chih-Hsien Lin<sup>1,2</sup>, Zeng-Weng Chen<sup>3</sup>, Yu-Fen Sun<sup>3</sup>, Jiunn-Hong Lin<sup>3</sup>, Peter J Adams<sup>1</sup>, Ian Robertson<sup>1</sup>

<sup>1</sup> College of Veterinary Medicine, School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, Western Australia  
<sup>2</sup> Division of Meat Inspection, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Taipei, Taiwan  
<sup>3</sup> Division of Animal Medicine, Animal Technology Laboratories, Agricultural Technology Research Institute, Maoli, Taiwan

---

#### Introduction

Poultry are an important source of meat for Taiwanese. White (marketing age: 35-40 days old) and colored broilers (80-110 days old) predominate the poultry meat industry with approximately 300 million chickens slaughtered each year. Chicken carcasses can be contaminated with pathogenic bacteria during slaughtering and processing potentially leading to food-borne diseases in humans.

#### Objectives of the Study

- To investigate the prevalence of *Salmonella* spp. on the surface of broiler chickens and in the slaughterhouse environment.
- To determine risk factors for *Salmonella* spp. contamination of broiler chicken carcasses and the environment at slaughterhouses in Taiwan.

#### Materials and methodology

- Samples collection**  
Six slaughterhouses with different types of broiler and slaughter systems were selected, and each slaughterhouse was sampled once during June to August 2014 (Figure 1 & 2).

#### Preliminary Results

- The prevalence of *Salmonella* on carcasses and surfaces at different slaughterhouse were significantly different (Table 1).
- More than 13 serotypes of *Salmonella* spp. were detected, with *S. Albany* and *S. Schwarzengrund* being most prevalent (Table 2).

---

**Figure 1.** Location of the six slaughterhouses and their poultry source farms.

**Figure 2.** Number and type of samples

**Table 1.** The prevalence of *Salmonella* at all six slaughterhouses

Slaughterhouse	Sample (n)	Percent +ve (% 95% CI)	Odds ratio (95% CI)
D	108	49.07 (39.33, 58.87)	18.12 (6.83, 46.06)*
F	96	43.75 (33.64, 54.25)	14.62 (5.46, 39.19)*
E	95	27.37 (18.72, 37.48)	7.08 (2.59, 19.38)*
B	129	17.05 (11.01, 24.67)	3.87 (1.41, 10.61)*
A	95	8.42 (3.71, 15.30)	1.73 (0.94, 3.40)
C	99	1.51 (1.05, 11.29)	1.00†
<b>Total</b>	<b>622</b>	<b>25.68 (21.72, 28.48)</b>	

†The prevalence of *Salmonella* on carcasses and environment at slaughterhouse B, D, E, F were significantly different with A, P value: <0.0001.

---

**Figure 3.** The procedures of *Salmonella* isolation.

**Table 2.** The distribution of *Salmonella* spp. in the six slaughterhouses

Serotype	Count (n=156)	% isolates	Slaughterhouse
Albany	65	41.67	A,D,E,F
Schwarzengrund	31	19.87	A,C,D,E,F
Tennessee	8	5.13	E
Livingstone var. O14+	5	3.21	F
Muenster	5	3.21	A,B
Ormeau	4	2.56	A,E
Hawaii	3	1.92	D
Enteritidis	2	1.28	D
Motilucida	2	1.28	D
Typhimurum	2	1.28	C,D
Hadar	1	0.64	A
Havana	1	0.64	E
London	1	0.64	E
Unltypable	26	16.67	B,D

---

- Univariable analysis:** There were significant differences in the prevalence of *Salmonella* on carcasses and the environment between slaughterhouses (Table 3).

**Table 3.** Univariable analysis: Association between exposure variables and the prevalence of *Salmonella* on carcasses and the environment of the six slaughterhouses

Variable	Category (slaughterhouses involved)	Number of samples	Salmonella Percent +ve (% 95% CI)	Odds ratio (95% CI)	P value:
Slaughterhouse location	Northern(A)	95	25.62 (3.71, 15.52)	0.14 (0.06, 0.29)	<0.0001
	Southern(B+C)	228	11.84 (7.95, 16.76)	0.20 (0.12, 0.31)	
	Central(D+E+F)	299	40.47 (33.59, 47.64)	1.00	
Source farm location	Northern(A+B)	237	13.64 (8.94, 19.61)	0.12 (0.07, 0.21)	<0.0001
	Central(C+E+F)	84	26.58 (21.07, 32.65)	0.29 (0.17, 0.48)	
	Southern(D)	176	55.95 (44.70, 66.78)	1.00	
Type of broiler	White broiler(A+B+C)	323	10.84 (7.66, 14.75)	0.18 (0.12, 0.27)	<0.0001
	Colored broiler(D+E+F)	299	40.47 (34.88, 46.27)	1.00	
Age of broiler (days)	≥ 100 days(E+F)	156	37.18 (29.58, 45.27)	4.65 (2.81, 7.71)	<0.0001
	80 days(D)	84	55.95 (44.70, 66.78)	9.99 (6.50, 17.81)	
	≤ 40 days(A+B+C)	257	11.28 (7.69, 15.80)	1.00	
Body weight of broiler (kg)	≥ 3 kgw(E+F)	156	37.18 (29.58, 45.27)	4.65 (2.81, 7.71)	<0.0001
	2.3 kgw (D)	84	55.95 (44.70, 66.78)	9.99 (6.50, 17.81)	
	≤ 2 kgw(A+B+C)	257	11.28 (7.69, 15.80)	1.00	
Number of birds slaughtered per month	<100,000 (F)	96	43.75 (33.64, 54.25)	5.03 (2.88, 8.78)	<0.0001
	100,000-1,000,000 (C+E+D)	302	27.81 (22.84, 33.24)	2.49 (1.57, 3.95)	
	>1,000,000 (A+B)	224	13.39 (9.22, 18.56)	1.00	
Number of birds slaughtered of the first batch	<1,000 (F)	78	46.15 (34.79, 57.82)	6.74 (3.74, 12.15)	<0.0001
	1,000-10,000 (E+D)	152	42.59 (34.87, 50.59)	5.83 (3.59, 9.58)	
	>10,000 (A+B+C)	257	11.28 (7.69, 15.80)	1.00	
Type of evisceration	Automatic(A+B+C+D)	431	20.42 (16.71, 24.54)	0.46 (0.32, 0.68)	0.0001
	Manual(E+F)	191	35.60 (28.82, 42.84)	1.00	
Salmonella state of environment before processing	Salmonella positive (A+B+D+E+F)	316	39.24 (33.82, 44.86)	12.49 (8.83, 40.73)	<0.0001
	Salmonella negative (C)	61	4.92 (1.03, 13.71)	1.00	
Areas of slaughterhouse*	Dirty zone	66	54.55 (41.81, 66.86)	3.94 (2.27, 6.86)	<0.0001
	Pre-clean zone	136	31.62 (23.92, 40.14)	1.52 (0.97, 2.38)	
	Clean zone	300	23.33 (18.66, 28.54)	1.00	

\*Dirty zone included large, hanging, stunning, bleeding, scalding, and plucking areas. Pre-clean zone included evisceration, meat inspection, viscera and carcass trimming areas. Clean zone included carcass washing and chilling, and package areas.

---

- Salmonella spp. serotyping:** All the *Salmonella* isolates were serotyped according to the Kauffmann-White scheme of a previously published protocol<sup>1</sup>.

**Reference**  
1. Ewing, W. H. 1986. Genus *Salmonella*, p. 181-245. In P. R. Edwards and W. H. Ewing (ed.), Identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.  
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2004. One-Day (24-28 h) Standardized Laboratory Protocol for Molecular Subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, non-typhoidal *Salmonella* serotypes, and *Shigella sonnei* by Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE).

#### Conclusions

- Positive samples were more likely from:
  - Smaller slaughterhouses
  - Older (larger) birds
  - Smaller batches of birds
  - Slaughterhouses in the south
  - Slaughterhouses with manual evisceration
- In Taiwan, small poultry slaughterhouses are characterized by slaughtering small batches of colored (older and larger) chickens using a manual evisceration process. This may result in a higher risk of *Salmonella* contamination in processed birds from these slaughterhouses.

---

**Future investigations**

All the *Salmonella* isolates will be typed by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)<sup>2</sup> to identify source of original contamination within slaughterhouse and the slaughter process.



2. 2015 年澳洲梅鐸大學獸醫暨生命科學學院舉辦之學術壁報展中展出之壁報

## Salmonella cross-contamination in colored broiler chicken abattoirs in Taiwan



Chih-Hsien Lin<sup>1,2</sup>, Zeng-Weng Chen<sup>3</sup>, Yu-Fen Sun<sup>3</sup>, Jiunn-Hong Lin<sup>3</sup>, Peter J Adams<sup>1</sup>, Ian Robertson<sup>1</sup>

<sup>1</sup> College of Veterinary Medicine, School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, Western Australia  
<sup>2</sup> Division of Meat Inspection, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Taipei, Taiwan  
<sup>3</sup> Division of Animal Medicine, Animal Technology Laboratories, Agricultural Technology Research Institute, MiaoLi, Taiwan



### Introduction

*Salmonella*-contaminated chicken meat is recognized as the major food source of human salmonellosis. Carcass cross-contamination mainly occurs during the slaughter process. More than 119 million colored chickens (native chickens or native chicken and white broiler hybrids, Figure 1.) are slaughtered per year in Taiwan; however, most studies only focus on white broilers. As such, little is known about the contamination of carcasses and the abattoir environment in relation to *Salmonella* prevalence on colored chickens.



Figure 1. Two main kinds of colored broiler

### Objectives of the study

- Investigate the sources of *Salmonella* contamination in colored broiler chicken abattoirs.
- Investigate when and where *Salmonella* cross-contamination occurs in colored broiler chicken abattoirs.

### Materials and methodology

- Sample collection: three registered colored broiler abattoirs in Taiwan were selected, and each abattoir was sampled once during June to August 2014 (Figure 2).



95 environmental sponge samples (facility surfaces, 10x10 cm<sup>2</sup>) and 24 water samples (chilling tanks, 500 ml) before and during processing.

60 cloaca fecal swabs (1g / per swab) from the first batch flock.

120 carcass rinsing samples (400 ml) during processing.

299 samples

Figure 2. The abattoir environmental samples were collected from the different stages before and during processing. The fecal swab samples from the birds processed and the carcass rinsing samples from the different stages were also collected.

- Salmonella* isolation: all samples were processed for *Salmonella* isolation according to the methods described in the USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook<sup>1</sup> and recommended by the AOAC International<sup>2</sup>.
- Salmonella* spp. serotyping: *Salmonella* isolates were serotyped according to the Kauffmann-White scheme as per standard industry practice<sup>3</sup>.
- Pulse-field gel electrophoresis (PFGE): *Salmonella* isolates were subtyped by PFGE according to the "Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *E. coli* O157:H7, *E. coli* Non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*"<sup>4</sup>. Isolates with the same PFGE pattern from the same abattoir were considered to be the same strain/type.

### Results and discussion

- In total, 121 of 299 samples (40.5%; 95% CI: 34.9-46.3) were *Salmonella*-positive. Twelve serotypes of *Salmonella* spp. were detected, with *S. Albany* and *S. Schwarzengrund* being most prevalent (Table 1).
- Characterizing the isolates by PFGE resulted in 37 patterns being identified (7 isolates were non-typeable, Table 2).

Table 1. The distribution of *Salmonella* spp. in the three abattoirs

Serotype	Count (n=121)	% Isolates	Abattoir
Albany	61	50.4	A, B, C
Schwarzengrund	26	21.5	A, B, C
Tennessee	8	6.6	B
Kentucky	6	5.0	A
Livingstone var. O14+	5	4.1	C
Newport	4	3.3	B
Haardt	3	2.5	A
Enteritidis	2	1.7	A
Livingstone	2	1.7	A
Montevideo	2	1.7	A
Havana	1	0.8	B
Typhimurium	1	0.8	A

Table 2. The PFGE patterns of *Salmonella* isolates at each processing stage



- Seven types (red) collected from the carcasses and the environment during slaughtering contained the same types as those detected before processing. This indicates *Salmonella* contamination originated from the abattoir environment prior to processing.
- Type A-5-C (green) derived from the fecal samples was found subsequently in environmental and carcass samples. This highlights that chickens from *Salmonella*-infected flocks can cause subsequent contamination of carcasses and the abattoir environment (Figure 3).
- Six types (purple) were only present in environmental or carcass samples at two or more stages during processing but not found in the environment before processing or from fecal samples. These findings indicate the occurrence of cross-contamination at different stages during processing (Figure 4).




Figure 3. Fecal contamination



Figure 4. Cross-contamination during processing. A: on the evisceration table. B: in the chilling tank. C: after chilling.

### Conclusions

- Colored broilers processed in Taiwan had a high level of *Salmonella* contamination.
- The abattoir environment and feces of chickens were important sources of cross-contamination in colored broiler chicken abattoirs.
- Cross-contamination with *Salmonella* occurred at various stages during processing such as plucking, evisceration, chilling and post-chilling.

Reference

- FSIS. (2014). Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and catfish products and carcass and environmental sponges. Microbiology Laboratory Guidebook.
- Andrews, W. H. (1998). Microbiological methods. In P. Cunniff (Ed.), Official methods of analysis of AOAC International (16th ed., Vol. 1, pp. 1-122). Gaithersburg, Md.: AOAC International.
- Grimont, P. A. D., et al. (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. Paris: World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur.
- CDC. (2013). Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. CDC (Centers for Disease Control and Prevention).



此壁報榮獲當年年最佳研究壁報獎



### 3. 2015 年度澳洲梅鐸大學獸醫暨生命科學學院最佳研究壁報獎獎狀及信函



接受獸醫學院院長 Peter Irwin 頒獎



與指導教授 Ian Robertson 在得獎作品前合影

4. 2015 年 9 月參加在馬來西亞舉行的第二屆熱帶醫學及傳染病國際研討會發表部分論文



於馬來西亞發表論文之剪影



# 2ND INTERNATIONAL CONFERENCE ON TROPICAL MEDICINE & INFECTIOUS DISEASES

## DISEASES WITHOUT BORDERS: CHALLENGES AND PREPAREDNESS



29TH SEPTEMBER - 1ST OCTOBER 2015

#### Advisor

Professor Dr. Usman bin Ali

#### Chairman, Organizing Committee

Assoc. Prof. Dr. Cheah Tong Soon

#### Co-Chairman

Professor Dr. B. Shihah

Assoc. Prof. Dr. W. Gopalakrishnan

#### Secretary

Assoc. Prof. Dr. Javinder Singh

Dr Saravanan Sugathan

#### Treasurer

M<sup>r</sup> Mohd Arif bin Roslan

M<sup>s</sup> Nur Amalina Mohamed Hassan

#### Scientific Programme and Publication

Assoc. Prof. Dr. Abdul Karim Rusli

Assoc. Prof. Dr. Nylir Myint Soe

#### Publicity and Social Events

Dr Sabariah Ismail

M<sup>s</sup> Niki Amura Zaital Abidin

M<sup>r</sup> Qamarul Fahn

#### Registration

Assoc. Prof. Dr. V. Gopalakrishnan

M<sup>s</sup> Pakki Amum Zaita Abidin

De Jin Maslidaiah DAP Broedon

#### Trade Exhibition

Assoc. Prof. Dr. V. Gopalakrishnan

Puan Khalifah Hamzah

M<sup>s</sup> Chai Pui See

#### Protocol and Facilities

Latin Maslidaiah Baharudin

M<sup>s</sup> Nur Azzah Riah Mohd Said

M<sup>s</sup> Zaharah Abdulah Sami

M<sup>s</sup> Niki Amura Zaital Agkilla

#### Technical Committee IT

M<sup>r</sup> Abu Bakar Abdullah

Dr Sabariah Ismail

M<sup>s</sup> Ayu Heralisa Awap

M<sup>r</sup> Ahmad Hishwan

#### Logistic

M<sup>r</sup> Osman Fahmi

Mr Zulhijri Talva

Date: 24<sup>th</sup> July 2015

### Confirmation of Registration

Dear Mr Lin

We are pleased to inform you that we have received your registration for the **2<sup>nd</sup> International Conference on Tropical Medicine and Infectious Diseases: 'Disease without Borders: Challenges & Preparedness'**, 29<sup>th</sup> September - 1<sup>st</sup> October in Ipoh, Perak, Malaysia.

We look forward to seeing you at the conference

Yours sincerely

Assoc. Prof. Dr. Cheah Tong Soon

Organising Chairman

2<sup>nd</sup> International Conference on Tropical Medicine and Infectious Diseases

UNIKL Royal College of Medicine Perak  
No. 3 Jalan Greentown, 30450 IPOH, PERAK,  
MALAYSIA

UNIVERSITI KUALA LUMPUR ROYAL COLLEGE OF MEDICINE PERAK

IPOH, PERAK, MALAYSIA H/P 006-0195735358 (AP Dr Cheah) 006-0129660924 (AP Dr V Gopal)

馬來西亞第二屆熱帶醫學及傳染病國際研討會邀請函

2nd International Conference on Tropical Medicine and Infectious Diseases:  
'Disease Without Borders: Challenges and Preparedness'

29<sup>th</sup> September – 1<sup>st</sup> October 2015

Syeun Hotel Ipoh, Perak ,Malaysia

ABSTRACT DETAILS

Lin, Chih-Hsien <sup>a, b, \*</sup>; Chen, Zeng-Weng <sup>c</sup>; Sun, Yu-Fen <sup>c</sup>; Adams, Peter J. <sup>a</sup>; Lin, Jiunn-Horng <sup>c</sup>; Robertson, Ian D <sup>a</sup>

<sup>a</sup> College of Veterinary Medicine, School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, Western Australia, Australia

<sup>b</sup> Division of Meat Inspection, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Taipei, Taiwan

<sup>c</sup> Division of Animal Medicine, Animal Technology Laboratories, Agricultural Technology Research Institute, Miaoli, Taiwan

**Title:** Contamination of carcasses and the environment with *Salmonella* during the slaughter of colored broiler chickens in Taiwan

**Introduction:** *Salmonella*-contaminated chicken meat is recognized as the major food source of human salmonellosis. Contamination has been demonstrated to mainly occur during the slaughter of chickens. A total of 119 million colored broilers (native chickens) are annually slaughtered in Taiwan; however little is known about the contamination of the carcasses and the environment with *Salmonella* during the slaughter process.

**Objective:** This study provides the data on: the sources of *Salmonella* contamination in colored chickens in Taiwan; cross-contamination of carcasses; and potential risk indicators for contamination.

**Methodology:** *Salmonella* were isolated from samples collected at three commercial slaughterhouses in Taiwan and subtyped by serotyping and pulse-field gel electrophoresis (PFGE). The risk indicators for the contamination of carcasses and the environment with *Salmonella* spp. were identified using the chi-square test and odds ratios.

**Results and discussion:** In total, 121 of 299 samples (40.5%; 95% CI: 34.9-46.3) were *Salmonella*-positive. The overall proportion of *Salmonella*-positive samples varied ( $p < 0.0001$ ) between sample sites with 60.8, 8.3, 27.1 and 45.0% of carcass rinse fluid, fecal swabs, environmental samples before processing and environmental samples during processing positive, respectively. Twelve serotypes were identified from the 121 *Salmonella* isolates. The most prevalent serovars isolated were *S. Albany* (50.4%) followed by *S. Schwarzengrund* (21.5%) and *S. Tennessee* (6.6%). Characterizing the isolates by PFGE resulted in 37 patterns being identified (7 isolates were non-typeable). PFGE typing of isolates confirmed that the potential sources of cross-contamination in the slaughterhouses included the environment and the feces of the processed birds. Three potential risk indicators (type of evisceration process, the average age and weight of broiler, and the temperature and time of scalding) were found to be significantly associated with *Salmonella* contamination (all  $p < 0.03$ ).

第二屆熱帶醫學及傳染病國際研討會中所發表之部分論文摘要內容