บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องประกอบด้วยหัวข้อดังนี้

1. กุ้งแชบ๊วย
2. แบคทีเรียที่พบในกุ้ง
3. การปนเปื้อนแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการแช่เย็น-แช่แข็งน้ำเชื้อสัตว์น้ำ

1. กุ้งแชบ๊วย

1.1 ลักษณะอนุกรมวิธาน

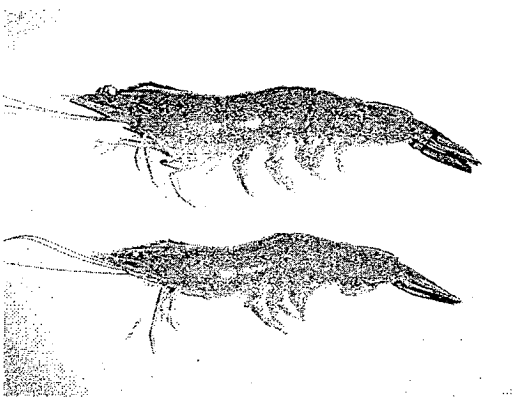
กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) มีชื่ออื่นว่า กุ้งแชบ๊วยขาว กุ้งหางแดง กุ้งหางดอก กุ้งกะทิ กุ้งขาว มีชื่อสามัญ คือ Banana prawn หรือ White prawn (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2544) มีอนุกรมวิธาน ดังนี้ (ประจวบ หลำอุบล, 2525)

Phylum Arthropoda
Class Crustacea
Subclass Malacostraca
Superorder Eucarida
Order Decapoda
Suborder Natantia
Section Penaeidea
Genus *Penaeus*
Species *merguiensis*

1.2 ลักษณะทางกายภาพ

ลักษณะของกุ้งแชบ๊วย คือ ลำตัวจะเป็นข้อปล้อง มีทั้งหมด 19 ปล้อง แต่ละปล้องจะมีรยางค์อยู่หนึ่งคู่ แต่ละคู่มีหน้าที่แตกต่างกันไป ลำตัวกุ้งแบ่งออกเป็น 3 ส่วนใหญ่ ๆ คือ หัว อกและส่วนท้อง (ภาพที่ 1) ส่วนหัวจะมี 5 ปล้อง แต่จะมีเปลือกหุ้มรวมเป็นปล้องเดียวกัน ที่ปล้องแรกหน้าสุดของเปลือกหุ้มจะมีฟันแหลมยื่นออกมา ที่เรียกว่า กรี (rostrum) (ไชยา อุ้ยสูงเนิน, 2532) โดยกรีมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม ปลายกรีจะยาวเลยปลายก้านหนวดคู่ที่ 1 เล็กน้อย (ในกุ้งขนาดเล็กกรีจะมีขนาดยาวมากและโค้งเรียว โคนกรีไม่ยกสูงขึ้นเป็นรูปสามเหลี่ยม) ขอบด้านบนมีฟัน 7-8 ซี่ ขอบด้านล่างมีฟัน 4-5 ซี่ สันและร่องข้างกรียาวไม่ถึงฟันกรีที่อยู่เหนือกระเพาะอาหาร ที่ใต้กรีจะมีตา 1 คู่ ทั้งกุ้งเพศผู้และเพศเมียจะมีความยาวของแดกทีลลัส (dactylus) ประมาณ 0.5-0.6 เท่าของโปรโตดัส (protodus) แต่ในกุ้งเพศผู้จะมีกลุ่มขนที่บริเวณโคนของแดกทีลลัส ส่วนอกมี 8 ปล้อง และส่วนลำตัวมี 6 ปล้อง ซึ่งลำตัวจะมีสีครีมปนเหลืองมีจุดสีน้ำตาล เขียวแก่และเขียวอ่อนกระจายอยู่ประปราย สันบนปล้องท้องและกรีมีสีน้ำตาลปนแดง หนวดคู่ที่ 1 มีสีน้ำตาล หนวดคู่ที่ 2 มีสีน้ำตาล

ไม่มีลาย ขาเดินและขาว่ายน้ำมีสีเหลืองบางครั้งมีสีน้ำตาลหรือสีชมพู แพนหางและรยางค์ว่ายน้ำมีสีแดง โดยทั่วไปกุ้งชนิดนี้เมื่อโตเต็มวัยจะมีความยาวลำตัวประมาณ 7.1-16.8 เซนติเมตร และกุ้งชนิดนี้มีอายุขัยประมาณ 3 ปี (มาโนช รุ่งราตรี, 2535)



ภาพที่ 1 กุ้งแชบ๊วย
(http://www.fisheries.go.th)

1.3 ลักษณะและความแตกต่างระหว่างเพศ

ลักษณะและความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมียของกุ้งแชบ๊วยสามารถดูได้จากอวัยวะเพศเหมือนกับกุ้งกุลาดำ คือเพศเมียมีอวัยวะที่เรียกว่า ทีไลกัม (thelycum) อยู่ระหว่างโคนขาคู่ที่ 5 และขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 ในเพศผู้มีอวัยวะที่เรียกว่า พีแทสมา (petasma) ลักษณะเป็นติ่งอยู่ระหว่างโคนขาเดินคู่ที่ 1 (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2544)

1.4 ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือสเปิร์ม

ลักษณะสเปิร์มของกุ้งแชบ๊วย คือ มีส่วนหัวขนาดใหญ่รูปร่างค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 ไมโครเมตร และส่วนหางมีลักษณะสั้นหนา

1.5 การผสมพันธุ์และวางไข่

ภายหลังจากที่กุ้งเพศผู้กับเพศเมียผสมพันธุ์แล้ว กุ้งเพศผู้จะสอดถุงเก็บน้ำเชื้อไปเก็บไว้ในอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศเมีย เมื่อกุ้งเพศเมียมีการพัฒนาการของรังไข่เต็มที่จะมีการวางไข่ พฤติกรรมการวางไข่ของกุ้งเพศเมียนั้นกุ้งจะว่ายวนไปรอบ ๆ บ่อเพาะฟักในระดับกลางน้ำ บางครั้งจะว่ายต่ำกว่าระดับผิวน้ำเล็กน้อย และว่ายไปอย่างช้า ๆ ก่อนที่จะวางไข่นั้นจะแสดงอาการกระวนกระวายหรือจะว่ายน้ำไปมาสักครู่จะวางไข่ ขณะที่กำลังวางไข่จะงอส่วนหางเข้าหาลำตัวทางด้านหน้าท้องจนกระทั่งถึงลำตัวปล้องที่ 4 ขาเดินทั้ง 5 คู่ จะงอและกดส่วนอกแน่น ในเวลาเดียวกันขาว่ายน้ำจะโบกไปข้างหน้าและหลังอย่างอย่างสม่ำเสมอ ส่วนปลายขาเดินคู่ 3 คู่หลัง จะเคลื่อนไหวไปทางซ้ายและขวาอย่างช้า ๆ น้ำจะเกิดการหมุนเวียนเนื่องจากการโบกของขาว่ายน้ำ ทำให้ไข่ถูกปล่อยออกมา

ทางช่องเปิดซึ่งอยู่ทางช่องขาคู่ที่ 3 กระจัดกระจายเป็นสายออกไปทางด้านหลังและค่อยๆ จมลงสู่พื้นบ่อและมีการพัฒนาของคัพภะต่อไป (บุญชู จงอ่อน, 2548)

1.6 การประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อ

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อมีความสำคัญในระบบการเพาะเลี้ยง รวมทั้งกระบวนการแช่เย็นเป็นอย่างมาก เพราะการประเมินน้ำเชื้อนั้นจะทำให้คาดการณ์ได้ล่วงหน้าถึงความสามารถของน้ำเชื้อในการปฏิสนธิกับไข่ ซึ่งการแช่เย็นนั้นจะต้องทำการทดสอบน้ำเชื้อก่อนว่ามีคุณภาพหรือไม่ เพราะถ้าใช้น้ำเชื้อที่ไม่มีคุณภาพตั้งแต่เริ่มต้นแล้ว ผลการแช่เย็นน้ำเชื้อก็จะไม่ดีเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีความสำคัญเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการศึกษาวิจัยผลกระทบจากปัจจัยต่าง ๆ ต่อคุณภาพน้ำเชื้อ และเพื่อเป็นการหาข้อมูลสำหรับกำหนดอัตราการเจือจางน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางที่เหมาะสมให้น้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียมมีจำนวนสเปิร์มมากพอที่จะกระทบกระเทือนต่ออัตราการปฏิสนธิ (กฤษณ์ มงคลปัญญา, 2536) การประเมินน้ำเชื้อโดยส่วนใหญ่แล้วจะใช้วิธีการประเมินโดยดูการเคลื่อนที่ แต่พบว่าสเปิร์มของพวกครัสเตเชียนหลายชนิด เช่น กุ้ง และพวกเดคาปอต (decapod) อื่นๆ ไม่มีการเคลื่อนที่ทำให้การประเมินโดยใช้การเคลื่อนที่กับสัตว์เหล่านี้จึงไม่สามารถทำได้เลย (Lezcano, Granja and Salazar, 2004) เห็นได้ว่าการประเมินน้ำเชื้อโดยดูการเคลื่อนที่ไม่สามารถประเมินกับสัตว์ทุกชนิด อย่างไรก็ตามกุ้งทะเลหลายชนิดรวมทั้งกุ้งแชบ๊วยนั้นสเปิร์มจะไม่มีการเคลื่อนที่เมื่อปล่อยออกมานอกตัว จึงต้องใช้การประเมินด้วยวิธีอื่นซึ่งวิธีหนึ่ง คือ การย้อมสีเพื่อประเมินเปอร์เซ็นต์สเปิร์มที่มีชีวิต

การย้อมสีสเปิร์มเป็นการตรวจดูสเปิร์มที่มีชีวิตและสเปิร์มไม่มีชีวิต (live-dead stain) โดยวิธีการนี้มีหลักการ คือ สีพิเศษบางชนิดเมื่อนำมาย้อมแล้ว สเปิร์มตายจะดูดซับสี ในขณะที่สเปิร์มมีชีวิตจะไม่ติดสี อันเนื่องมาจากความสามารถของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีชีวิตซึ่งจะมีกลไกป้องกันไม่ให้สีผ่านเข้ามาในเยื่อหุ้มเซลล์ได้เซลล์ที่มีชีวิตจึงไม่ติดสีย้อม โดยสีย้อมที่ใช้กันมีอยู่หลายชนิด โดยทั่วๆ ไปนิยมใช้สี eosin-nigrosin นำมาใช้ได้ผลดีสำหรับน้ำเชื้อสด และน้ำเชื่อที่เจือจางด้วยน้ำยาที่ไม่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ สำหรับน้ำยาที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ เช่น มีไข่แดงหรือนมผง ไขมันในน้ำยาจะทำให้เกิดการติดสีไม่สม่ำเสมอทำให้การนับสเปิร์มที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตจะทำได้ไม่ถูกต้อง การย้อมสีสเปิร์มโดยใช้สี eosin-nigrosin สเปิร์มที่มีชีวิตจะไม่ติดสีเห็นเป็นสีขาว ส่วนสเปิร์มที่ตายแล้วจะติดสี (Fribourgh, 1966)

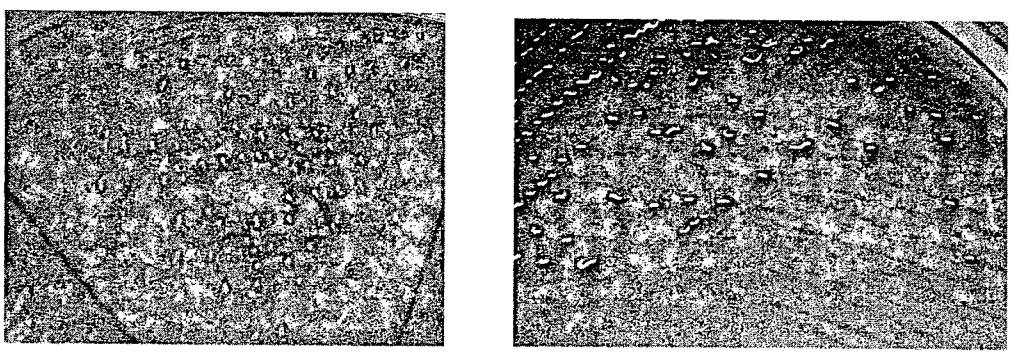
2. แบคทีเรียที่พบในสัตว์น้ำทะเล

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียนและปลาเป็นอาชีพหลักที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรและอุตสาหกรรมการส่งออกอาหารเป็นอย่างมาก แต่ในช่วง 2 – 3 ปีที่ผ่านมาปริมาณการส่งออกสัตว์น้ำเหล่านี้ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากมีการแพร่ระบาดของโรคในสัตว์น้ำเหล่านี้ โดยมีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย ไวรัส โพรโทซัวและปรสิตหลายชนิด โรคที่มักพบได้บ่อยและสร้างปัญหาให้กับผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ยกตัวอย่างเช่น โรควิบริโอซิส (Vibriosis) เกิดจากการติดเชื้อของแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio*) และโรคฟูรังคูโลซิส (Furunculosis) เกิดจากการติดเชื้อ *Aeromonas* sp. เป็นต้น แบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำส่วนใหญ่มีถิ่นอาศัยอยู่ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง

ดินในบ่อเพาะเลี้ยง (ในกรณีที่เป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อดิน) และแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากแหล่งอื่นแต่มีปริมาณไม่มากนัก เช่น ปนเปื้อนมาจากมูลนกพิราบ (Al-Harbi, 2003) โดยแบคทีเรียก่อโรคที่มีถิ่นอาศัยอยู่ในน้ำและดินในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยน้ำกร่อยหรือน้ำเค็ม ได้แก่

2.1 แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ

แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในการก่อโรคต่อสัตว์น้ำกลุ่มหนึ่ง แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอเป็นแบคทีเรียที่พบได้ในทะเล มหาสมุทรและบริเวณปากแม่น้ำที่มีรอยต่อระหว่างน้ำเค็มและน้ำจืด แบคทีเรียกลุ่มนี้มีลักษณะโคโลนี 2 สีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar ดังแสดงในภาพที่ 2



(a) (b)

ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar
(a) โคโลนีสีเหลือง (b) โคโลนีสีเขียว
(สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอมักพบปนเปื้อนอยู่ในสัตว์ทะเล ยกตัวอย่างเช่น กุ้ง หอย ปูและปลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์น้ำที่มีการกินอาหารด้วยวิธีการกรองและมีการเคลื่อนย้ายถิ่นไม่มากนัก เช่น หอยนางรม จึงทำให้มีการสะสมแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอมากกว่าสัตว์น้ำที่สามารถเคลื่อนที่ไปมา เช่น กุ้ง ปูและปลา (Hoeprich et al., 1994; Rippey, 1994; Collin et al., 1995; Ripabelli et al., 1999) นอกจากนั้น Wittman and Flick (1995) รายงานว่าแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้คนเกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบอย่างรุนแรงจากการรับประทานอาหารทะเลสด

แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอเป็นแบคทีเรียก่อโรค Vibriosis ในกุ้ง ปลา หอยและปูที่เพาะเลี้ยงในฟาร์ม (Rheinheimer, 1992; Meunpol et al., 2003) ประเทศฟิลิปปินส์มีการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำอย่างแพร่หลายตั้งแต่ทศวรรษที่ 1980 และเริ่มมีการเพาะเลี้ยงลดลงในช่วงกลางทศวรรษที่ 1990 เนื่องจากมีการระบาดของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (Tendencia and de la Peña, 2001) นอกจากนั้นแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอยังก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์อีกหลายโรคดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ, 2548)

แบคทีเรีย	โรคในคน	โรคในสัตว์
V. cholerae	โรคอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง (Wittman and Flick, 1995)	ก่อโรคในกุ้ง (Gopal et al., 2005)
V. parahaemolyticus	โรคอาหารเป็นพิษ (Wittman and Flick, 1995)	-
V. vulnificus	ติดเชื้อที่กระแสเลือด (Wittman and Flick, 1995)	ก่อให้เกิดโรคเสี้ยนดำ โรคจุดดำในกุ้งกุลาดำ
*V. alginolyticus**	โรคติดเชื้อที่บาดแผล หูและตาในผู้ที่มีประวัติสัมผัสกับน้ำทะเล (Braude et al., 1986)	ก่อโรคในกุ้ง (Costa et al., 1998)
V. carchariae	ก่อโรคในคน (Braude et al., 1986)	-
V. cincinnatiensis	ก่อโรคในคน (Braude et al., 1986)	-
V. damsela	ก่อโรคในคน (Braude et al., 1986)	-
V. fluvialis	โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบในคน (Braude et al., 1986)	-
V. furnissii	โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบในคน (Braude et al., 1986)	-
V. hollisae	ก่อโรคในคน (Braude et al., 1986)	-
V. metschnikovii	ก่อโรคในคน (Braude et al., 1986)	-
V. mimicus	ก่อโรคในคน (Braude et al., 1986)	-
V. anguillarum	-	ก่อโรคในปลา ตัวอ่อนของหอยพัด *Argopecten irradians* (Lu et al., 2007) และหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis midae*) (Coyne and Harding, 2007)
V. harveyi	-	ก่อให้เกิดโรคกุ้งเรืองแสง
V. splendidus	-	สัตว์น้ำหลายชนิดและหอยนางรม (*Crassotrea gigas*) ก่อให้เกิดโรค Summer syndrome (Le Roux et al., 2007)

ตารางที่ 1 แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ, 2548) (ต่อ)

แบคทีเรีย	โรคในคน	โรคในสัตว์
V. shiloi	-	ฟองน้ำทะเล (*Oculina patagonica*) เกิดโรคฟอกขาว**
V. caralliilyticus	-	ฟองน้ำทะเล (*Pocillopora damicornis*) เกิดโรคฟอกขาว

หมายเหตุ: * เป็นแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบได้มากที่สุดในหลายประเทศในทวีปยุโรปและทวีปอเมริกา (Matte et al., 1994; Sunen et al., 1995)

** หนอน fireworm (*Hermodice carunculata*) ซึ่งเป็นหนอนที่กินฟองน้ำชนิด *O. patagonica* เป็นพาหะของ *V. shiloi*

2.1.1 การแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในสัตว์ทะเลที่มาจากธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง

การแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในสัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่ในท้องทะเลหรือแหล่งน้ำเค็ม รวมทั้งสัตว์ที่มาจากการเพาะเลี้ยงได้มีการศึกษามานานเพื่อทำให้ทราบถึงแหล่งที่มาและปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้นจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ ยกตัวอย่างเช่น Ripabelli et al. (1999) ได้ศึกษาปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในหอยแมลงภู่ (*Mytilus galloprovincialis*) จากทะเล Adriatic ประเทศอิตาลี พบว่าหอยแมลงภู่จำนวน 62 ตัวอย่าง มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบในหอยแมลงภู่จากทะเล Adriatic ประเทศอิตาลี (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ	จำนวนตัวอย่างที่พบแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ	
	จำนวน	ร้อยละ
Vibrio spp.	30	48.4
V. alginolyticus	14	22.6
V. vulnificus	7	11.3
V. alginolyticus และ *V. vulnificus*	4	6.4
V. cincinnatiensis	2	3.2
V. parahaemolyticus และ *V. alginolyticus*	1	1.6
V. fluvialis และ *V. alginolyticus*	1	1.6
V. chloerae non-01	1	1.6

Davis et al. 2001) รายงานว่าบางประเทศในทวีปยุโรปพบการปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus* ในปลา ส่วน *V. damsela, V. alginolyticus* และ *V. fluvialis* จัดว่าเป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเลและกุ้ง (Hosseini et al., 2003) Jaksic et al. (2002) ได้ทำการศึกษาการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในปลาทะเล กุ้งและหอยจำนวน 117 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บจากตลาด 3 แห่ง (100 ตัวอย่าง) และโรงแรม 4 แห่ง (17 ตัวอย่าง) ที่ตั้งอยู่บริเวณทะเล Adriatic ประเทศอิตาลีสามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอได้ 3 ชนิด คือ *V. parahaemolyticus, V. vulnificus* และ *V. alginolyticus* โดยพบ *V. parahaemolyticus* 11 ตัวอย่าง จากการแยกจากตัวอย่างที่เก็บจากโรงแรม 4 ตัวอย่าง และตลาด 7 ตัวอย่าง พบ *V. vulnificus* 8 ตัวอย่าง จากการแยกจากตัวอย่างที่เก็บจากโรงแรม 1 ตัวอย่าง และตลาด 7 ตัวอย่าง และพบ *V. alginolyticus* 4 ตัวอย่าง จากตัวอย่างที่เก็บจากโรงแรม 1 ตัวอย่างและตลาด 3 ตัวอย่าง โดยผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบในตัวอย่างจากปลาทะเล กุ้ง และหอย (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ		โรงแรม (17 ตัวอย่าง)			ตลาด (100 ตัวอย่าง)		
		ปลาทะเล (n=10)	กุ้ง (n=3)	หอย (n=4)	ปลาทะเล (n=50)	กุ้ง (n=25)	หอย (n=25)
V. vulnificus	8	0	0	1	2	3	2
V. parahaemolyticus	11	1	1	2	3	1	3
V. alginolyticus	4	0	0	1	1	1	1

จากผลการศึกษาของ Jaksic et al. (2002) พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอได้ 23 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งหมด 117 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19.65 โดยแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบ คือ *V. parahaemolyticus* ร้อยละ 9.4 *V. vulnificus* ร้อยละ 6.84 และ *V. alginolyticus* ร้อยละ 3.42 ตัวอย่างที่เก็บจากโรงแรมพบแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอคิดเป็นร้อยละ 35.29 ส่วนตัวอย่างที่เก็บจากตลาดพบแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอร้อยละ 17 โดยแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอแต่ละชนิดสามารถพบได้ในสัตว์ทะเลทั้ง 3 ชนิด ต่อมา Vandenberghe et al. (2002) ได้ทำการศึกษาการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอจากตัวอย่างหอยที่ตายแล้ว กุ้งจากการเพาะเลี้ยง กุ้งทะเล ปลา อาหารสดและสาหร่ายทะเล ผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำเหล่านี้สามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอได้ทั้งหมด 1,473 ไอโซเลท และจัดจำแนกได้ 33 ชนิดดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่แยกได้จากสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ	ไอโซเลท	แหล่งที่แยกเชื้อได้
V. harveyi	364	กุ้งที่เป็นโรค หอย ปลา อาหารสดและน้ำทะเล
V. aestuarianus	5	กุ้งที่เป็นโรค หอย ปลา อาหารจากสิ่งมีชีวิตและน้ำทะเล
V. vulnificus	25	ปลาไหลและคนที่ติดเชื้อ
V. mediterranei	46	ตัวอ่อนของปลา turbot ปลาและหอยชนิดต่างๆ
V. campbellii	21	ปลาและอาหารสด
V. parahaemolyticus	35	กุ้งที่เป็นโรค
V. splendidus	21	ปลา กุ้งและหอย
V. neresis	2	ปลาชนิดต่างๆ
V. scophthalmi	6	-
V. mimicus	15	ปลาชนิดต่างๆ และกุ้งที่เป็นโรค
V. nigripulchritudo	5	-
V. orientalis	8	-
V. diazotrophicus	12	อาหารสด
V. gazogenes	4	-
V. mytili	3	-
V. ordalii	11	ปลาชนิดต่างๆ
V. tubiashii	6	-
V. alginolyticus	332	-
V. hollisae	7	-
V. proteolyticus	7	-
V. furnissii	5	-
V. flavialis	9	-
V. metschnikovii	6	-
V. logei	2	-
V. pectenicida	4	-
V. pelagia	3	-
V. halioticoli	2	-
V. fisheri	5	-
V. cholerae	3	-
V. anguillarum	214	-
V. costicola	6	-
V. ichthyoenteri / V. penaeicida	26	-
V. salmonicida	5	-
จำแนกชนิดไม่ได้	248	-

จากการศึกษาของ Vandenberghe et al. (2002) สามารถจัดจำแนกแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอได้ 33 ชนิด โดยชนิดที่พบมากที่สุด คือ *V. harveyi* รองลงมา คือ *V. alginolyticus* โดยตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์เก็บมาจากหลายทวีป ซึ่งแต่ละทวีปอาจจะมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันทำให้สามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอได้หลายชนิดแตกต่างกัน เพราะแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติและความเหมาะสมในการอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน (พิพัฒน์ และอรุณ-ลักษณ์, 2540)

Hosseini et al. (2003) ได้ศึกษาการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอจากตัวอย่างกุ้งสดที่ได้จากทะเลและฟาร์มเลี้ยงกุ้งในประเทศอิหร่าน เนื่องจากมีการรายงานจากองค์กรอนามัยโลก (WHO) ว่าเกิดโรคอหิวาตกโรคระบาดในประเทศอิหร่านในปี ค.ศ. 1990 ซึ่งตัวอย่างที่เก็บมาจากบริเวณต่างๆ ในประเทศอิหร่านจำนวน 770 ตัวอย่าง พบแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ 16 ตัวอย่าง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5

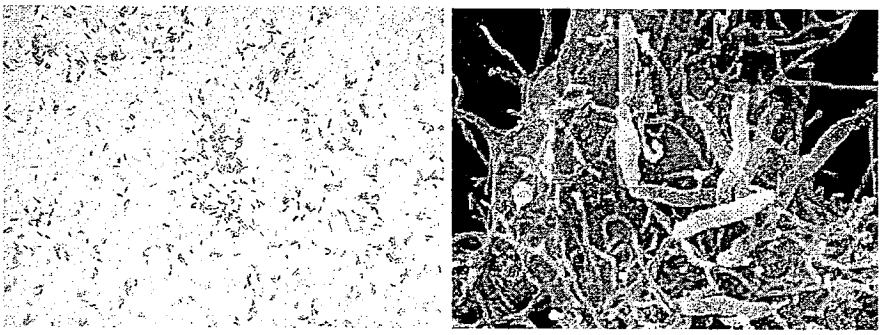
ตารางที่ 5 แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่แยกได้จากตัวอย่างกุ้งในประเทศอิหร่าน (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ	พื้นที่ศึกษา	แหล่งที่มาของกุ้ง
V. parahaemolyticus	Helleh	การเพาะเลี้ยง
V. parahaemolyticus	Delvar	การเพาะเลี้ยง
V. parahaemolyticus	Tiab	การเพาะเลี้ยง
V. parahaemolyticus	Kolahi	การเพาะเลี้ยง
V. damsela	Jofreh	ทะเล
V. alginolyticus	Helleh	การเพาะเลี้ยง
V. alginolyticus	Delvar	การเพาะเลี้ยง
V. alginolyticus	Bandarabbas	ทะเล
V. fluvialis	Choebdeh	ทะเล
V. fluvialis	Bohsher	การเพาะเลี้ยงและทะเล

จากผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอได้ 16 ตัวอย่าง จากตัวอย่างกุ้งทั้งหมด 770 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.1 และแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบ ได้แก่ *V. parahaemolyticus*, *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus* โดยไม่พบ *V. cholerae*

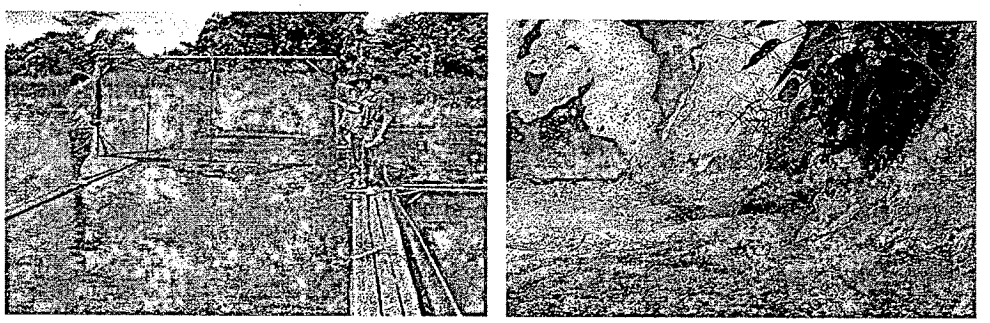
2.2 แบคทีเรียกลุ่มแอโรโมแนส (*Aeromonas* spp.)

แอโรโมแนสเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน (ภาพที่ 3) พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น แม่น้ำ ลำคลอง น้ำเสีย (ภาพที่ 4) โดยมีคุณสมบัติทางชีวเคมีแสดงดังตารางที่ 6 แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถก่อโรคในคน เช่น โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กอักเสบ โรคอาหารเป็นพิษและติดเชื้อที่ผิวหนัง (ภาพที่ 5) เป็นต้น



(a) (b)

ภาพที่ 3 ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มแอโรโมแนส
(a) การติดสีแกรมของแบคทีเรียกลุ่มแอโรโมแนส
(b) รูปร่างของแบคทีเรียกลุ่มแอโรโมแนส
(สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)



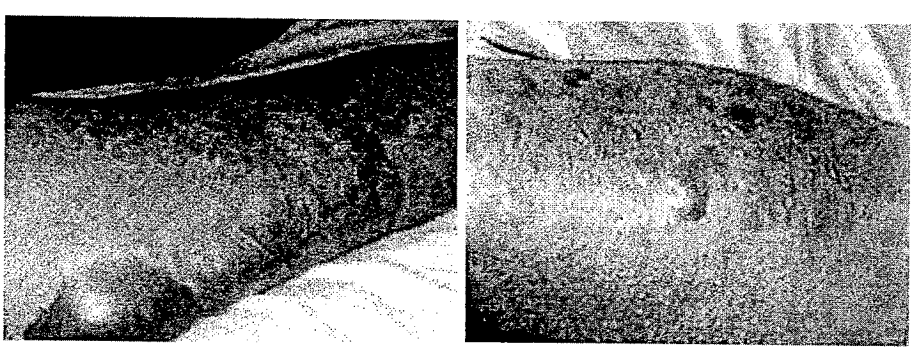
(a) (b)

ภาพที่ 4 แหล่งที่พบแบคทีเรียกลุ่มแอโรโมแนส
(a) แม่น้ำ
(b) น้ำเสีย
(สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแอโรโมแนส (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

การทดสอบ	*A. hydrophila*	*A. caviae*	*A. sobria*
Cytochrome oxidase test	+	+	+
D-glucose fermentation test	+	+	+
Arginine dihydrolase test	+	+	-
Ornithine decarboxylase test	-	-	-
Lysine decarboxylase test	+	-	+, weak
H_2S from cysteine test	+	+	ND
Gas from glucose	+	+	+
Indole production test	+	+	+
Esculin hydrolysis test	+	+	-

หมายเหตุ weak ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ช้า
ND ไม่มีข้อมูล



ภาพที่ 5 อาการติดเชื้อจาก *A. hydrophila* ที่บริเวณผิวหนัง (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

แบคทีเรียกลุ่มแอโรโมแนสสามารถก่อโรคในสัตว์ เช่น ปลาและกบ เป็นต้น โดยชนิดที่สามารถก่อโรคในสัตว์ ได้แก่ *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. sobria*, *A. caviae* และ *A. veronii* (Noga, 2000; Soo et al., 2007)

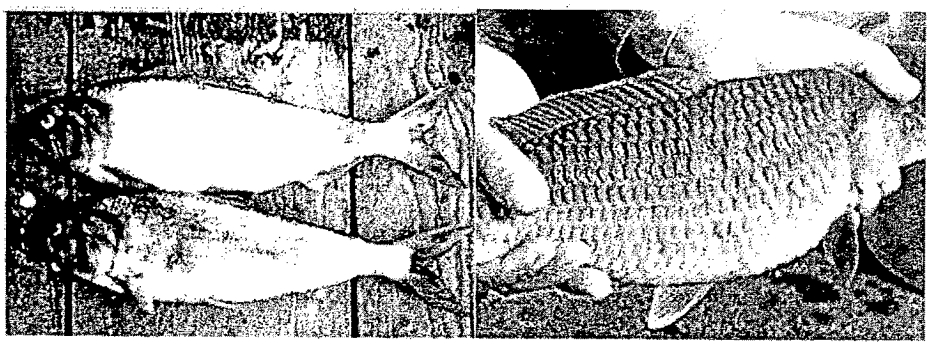
2.2.1 *A. hydrophila*

A. hydrophila เป็นแบคทีเรียก่อโรคในปลา กบและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาน้ำจืด โรคที่เกิดจากแบคทีเรียชนิดนี้ เรียกว่า Motile aeromonad disease (MAD) ซึ่งทำให้เกิดอาการติดเชื้อในกระแสเลือดที่เรียกว่า Motile aeromonad septicemia (MAS; Noga, 2000) แบคทีเรียเหล่านี้แพร่กระจายได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและจัดเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส สามารถก่อโรคได้หากปลาอยู่ในสภาวะเครียดและระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอ เช่น ขาดสารอาหาร อุณหภูมิสูงเกินไป อาศัยอยู่ในระบบเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่น รวมทั้งการเคลื่อนย้ายจากที่หนึ่งสู่ที่หนึ่งก็สามารถทำให้ปลาติดเชื้อได้เช่นกัน เมื่อเกิดการติดเชื้อปลาจะมีอาการติดเชื้อในกระแสเลือด เลือดออกบริเวณผิวหนัง ท้องบวม ตาโปน หลอดเลือดบริเวณเหงือกเกิดการโป่งพอง ผิวหนังหรือเกล็ดหลุดลอก ดังภาพที่ 6 ส่งผลให้อวัยวะภายใน ได้แก่ ท่อทางเดินอาหาร ไต กล้ามเนื้อและม้ามเกิดการอักเสบและถูกทำลาย (Lewbart, 2001)

การวินิจฉัยโรค MAD กระทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากตัวอย่างปลามักปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียชนิดอื่น อวัยวะที่เหมะสมต่อการนำมาวินิจฉัยโรค คือ ไต ซึ่งการวินิจฉัยต้องใช้การเพาะเชื้อร่วมกับการสังเกตอาการของปลาที่เป็นโรคจึงจะทำให้รักษาเป็นไปอย่างถูกต้องและแม่นยำ ปลาที่ติดเชื้อในระยะแรกอาจจะตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะและการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงได้ดี ช่วงเริ่มต้นการรักษาควรใช้ยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์รักษากว้าง (Broad spectrum) และไม่ควรปล่อยไว้นานยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม ได้แก่ Enrofloxacin, Trimethoprin-sulfamethoxazole และ Amikacin ในกรณีที่บ่อเพาะเลี้ยงมีปลาเป็นจำนวนมากเมื่อปลาแสดงอาการที่น่าสงสัยควรรีบแยกปลาที่แสดงอาการนั้นออกจากปลาตัวอื่นเพื่อนำไปเลี้ยงตามลำพัง

การป้องกันโรค MAD ที่ดีที่สุด คือ การแยกหรือการกักกันบริเวณแพร่เชื้อ เช่น การเลี้ยงปลาในบ่อปลาควรเลี้ยงปลาที่เป็นโรคแยกจากปลาปกติอย่างน้อย 1 เดือน นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันได้ด้วยการรักษาคุณภาพน้ำให้ดีอยู่เสมอ โดยเปลี่ยนน้ำอย่างน้อยร้อยละ 25 ของบ่อทุกเดือน การไม่เลี้ยงปลาแบบหนาแน่น การรักษาอุณหภูมิให้เหมาะสมและการเติมอากาศอย่างเพียงพอ (Lewbart, 2001)

(a)



(b) (c)

ภาพที่ 6 ลักษณะของปลาที่เป็นโรค MAD
(a) อาการท้องบวม
(b) เลือดออกบริเวณเหงือกและผิวหนัง
(c) ผิวหนังและเกล็ดหลุดออก
(สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

2.2.2 *A. salmonicida*

A. salmonicida เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนสั้นจนถึงกลมหรือรี มีความกว้างของเซลล์ประมาณ 1 ไมโครเมตร ยาว 1.7 – 2 ไมโครเมตร บางสายพันธุ์จะมีรูปร่างกลมหรือรี เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีโคโลนีกลม ขอบเรียบ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างแคปซูลและไม่เคลื่อนที่ ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 22-25 องศา-เซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและเป็นแบคทีเรียก่อโรคในปลาน้ำจืดและปลาทะเล โดยเป็นสาเหตุของโรค Furunculosis ซึ่งพบการก่อโรคครั้งแรกในปลาเทราต์ในทวีปยุโรปในปี ค.ศ. 1890 ซึ่งมักจะระบาดในช่วงฤดูใบไม้ผลิและฤดูใบไม้ร่วง การก่อโรคเกิดจากแบคทีเรียผลิตสารพิษที่เรียกว่า “Leucocidin” (Elliott and Shotts, 1980; Shotts and Talkington, 1980; Popoff, 1984; Munn, 2004) ในช่วงทศวรรษที่ 1980 เกิดการระบาดของโรค Furunculosis ครั้งใหญ่ในประเทศสกอตแลนด์และนอร์เวย์ ทำให้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาเทราต์ต้องประสบกับปัญหาการตายของปลากว่าร้อยละ 50 (Munn, 2004)

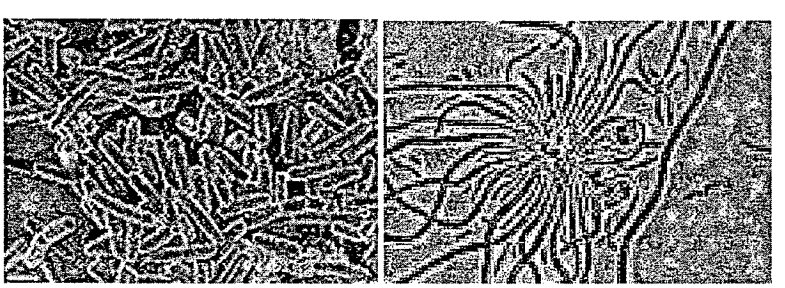
ปลาที่เป็นโรค Furunculosis จะเชื่องช้าโดยเฉพาะเมื่ออาการของโรครุนแรงขึ้น ปลาที่ติดเชื้อจะมารวมกันแน่นบริเวณขอบบ่อหรือผิวน้ำ ลำตัวมีสีเข้มขึ้น เบื่ออาหาร ถ้าปลามีอาการหนักจะไม่กินอาหาร อาการภายนอกพบว่าบริเวณโคนครีบและในปากมีสีแดง เกิดแผลเปื่อยบริเวณ

ผิวหนังหรือเกล็ด ตาโปน มีอาการห้อเลือดและท้องบวม อวัยวะภายใน เช่น เนื้อเยื่อไขมัน รังไข่ ผนังกระเพาะอาหาร เยื่อหุ้มหัวใจและกล้ามเนื้อจะมีเลือด รวมทั้งอาจพบฝีในตับ ไต ม้ามและกล้ามเนื้อ ปลาที่มีอาการขั้นเรื้อรังอาจเกิดเป็นแถบสีเทาในตับและไต ซึ่งเกิดจากเนื้อเยื่อถูกทำลาย เมื่อปลาอ่อนแอลงจะทำให้จุลินทรีย์อื่นฉวยโอกาสก่อโรค เช่น แบคทีเรียชนิดอื่น เชื้อรา โพรโตซัว ไวรัส เป็นต้น ปลาไม่ได้รับการรักษาจะตายในที่สุด (ชลอ, 2528; Wiklund and Dalsgaard, 1998; Lewbert, 2001)

2.3 แบคทีเรียกลุ่มอื่น ๆ

นอกจากแบคทีเรียก่อโรคกลุ่มวิบริโอและแอโรโมแนสแล้ว ยังพบแบคทีเรียชนิดอื่นที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ ยกตัวอย่าง เช่น *Pseudomonas* sp. และ *Leucothrix* sp. โดย *Pseudomonas* sp. (ภาพที่ 7a) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน เคลื่อนที่ได้ พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและในคน เป็นแบคทีเรียฉวยโอกาสก่อโรคได้ในคน รวมไปถึงพืชและสัตว์ (Pelczar et al., 1986) สำหรับกุ้งนั้นเมื่อกุ้งติดเชื้อ *Pseudomonas* อาการที่พบ คือ มีลักษณะลำตัวสีขาวขุ่น ลูกกุ้งจะไม่ค่อยกินอาหาร ภูมิคุ้มกันอ่อนแอและตายไปในที่สุด (สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 13, 2540) ส่วน *Leucothrix* เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นเส้นสายแสดงดังภาพที่ 7b

แบคทีเรียสกุล *Edwardsiella* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น แม่น้ำ น้ำเสีย เป็นต้น เป็นแบคทีเรียก่อโรคในปลาโดยจะทำให้เกิดโรค Edwardsiellosis เมื่อปลาติดเชื้อจะมีอาการติดเชื้อในกระแสเลือดอย่างรุนแรง เชื่องช้า เบื่ออาหาร เป็นแผลเปื่อยบริเวณผิวหนังหรือเกล็ดหลุดและหายใจติดขัด โรคนี้จะทำให้ปลามีอัตราการตายสูงมาก (Lewbart, 2001) มีรายงานว่า *E. tarda* เป็นสาเหตุที่ทำให้ปลา Turbot (*Scophthamus maximus* L.) เกิดโรค (Zhaolan et al., 2007) และ *E. ictaluri* จะทำให้ปลาดุก ปลา Green knife fish (*Eigenmannia virescens*) และปลา Danios (*Danio devario*) เป็นโรค (Lewbart, 2001; Kent and Lyons, 1982; Blazer et al., 1985) นอกจากนี้ *E. tarda* ยังก่อโรคในคน โดยทำให้เกิดอาการลำไส้อักเสบและอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง (Vandepitte et al., 1983; Humphrey et al., 1986)



(a) (b)

ภาพที่ 7 (a) ลักษณะรูปร่างของ *Pseudomonas* spp.
(b) ลักษณะรูปร่างของ *Leucothrix* spp.
(สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

แบคทีเรียก่อโรคมักจะปนเปื้อนมากับน้ำ ดินพื้นบ่อและอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ และแบคทีเรียก่อโรคยังสามารถปนเปื้อนมาทางอากาศ นั่นคือ มูลนกจากนกที่บินผ่านบ่อเพาะเลี้ยงนั่นเอง ดังการศึกษาของ Al-Harbi (2003) พบว่าแบคทีเรียฟีคัลโคลิฟอร์มที่ตรวจพบในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิลลูกผสมและทางเดินอาหารของปลานิลลูกผสม (Red tilapia; *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) ในประเทศซาอุดิอาระเบียมีการปนเปื้อนมาจากมูลนกพิราบที่อาศัยในบริเวณดังกล่าว.

จุลินทรีย์ที่ก่อโรคในกุ้งนอกจากแบคทีเรียแล้วนั้น จุลินทรีย์กลุ่มอื่นก็สามารถก่อโรคได้เช่นกัน อันได้แก่ โพรโทซัว เช่น *Zoothamnium* sp., *Epistylis* sp., *Vorticella* sp., *Acienta* sp., *Tokophrya* sp. เชื้อรา เช่น *Leginidium* sp., *Fusarium* sp. และไวรัส เช่น Murine leukemia virus (MBV), Baculovirus penaei (BP) และ Brome mosaic virus (BMN; สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, 2548) รวมถึงไวรัสชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานการพบในประเทศไทยมาก่อนเรียกกันว่า Infectious Myonecrosis Virus หรือเรียกย่อว่า IMNV ซึ่งเป็นไวรัสชนิดที่เป็นอาร์เอ็นเอสายคู่ (Double stand RNA) สามารถก่อโรคในกุ้งโดยจะสังเกตพบกล้ามเนื้ออักเสบเป็นสีขาวขุ่นบริเวณปลายหาง แพนหางและลำตัวตอนท้าย กุ้งจะอ่อนแอมีการดีดตัวน้อยลง ว่ายลอยตัวอยู่ที่ผิวน้ำหรือเกาะที่ขอบบ่อ แต่จะมีการกินอาหารปกติ จนเมื่ออาการมากขึ้นจะพบกุ้งลอยตัวที่ผิวน้ำหรือเกาะที่ขอบบ่อมากขึ้น เริ่มมีกล้ามเนื้อบริเวณลำตัวขุ่นขาวร่วมด้วย แต่ไม่มีลักษณะขุ่นขาวแบบต่อเนื่องจากส่วนหาง (สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา, ม.ป.ป.)

3. การปนเปื้อนแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการแช่เย็น-แช่แข็งน้ำเชื้อสัตว์น้ำ

ปัญหาหนึ่งที่อาจเกิดในระหว่างเก็บเซลล์แบบแช่เย็นและแช่แข็ง คือการเจริญของแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนมาในระหว่างขั้นตอนการรวบรวมถุงน้ำเชื้อ อันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่อยู่บนผิวตัวกุ้ง หรืออาจมีแบคทีเรียปนอยู่ในถุงน้ำเชื้อตั้งแต่แรกขณะที่กุ้งอยู่ในน้ำ หรือสิ่งแวดล้อมภายนอก ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีการเก็บถุงน้ำเชื้อแช่เย็นและแช่แข็งจึงต้องควบคุมไม่ให้แบคทีเรียเจริญในระหว่างที่ถุงน้ำเชื้อได้ถูกแช่เย็นและแช่แข็งเอาไว้ เพราะแบคทีเรียจะทำให้คุณภาพสเปิร์มลดลงอย่างรวดเร็ว (Nimrat and Vuthiphandchai, 2008) โดยทั่วไปแบคทีเรียเจริญได้ดีในสภาวะที่มีเลือด หรือมีอาหารโดยเฉพาะน้ำหล่อเลี้ยงสเปิร์ม (seminal plasma) ซึ่งมีธาตุอาหารหลายชนิดที่แบคทีเรียชอบ ทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดี ดังนั้นการศึกษาการควบคุมเจริญของแบคทีเรียขณะแช่เย็นและแช่แข็งถุงน้ำเชื้อด้วยการใช้สารปฏิชีวนะชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องพัฒนาเทคโนโลยีควบคู่กับการพัฒนา protocols แช่เย็นและแช่แข็งของถุงน้ำเชื้อกุ้งแชบ๊วย

โดยทั่วไปการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้อ/ถุงน้ำเชื้อสัตว์น้ำระหว่างการเก็บรักษาแช่เย็นมีผลต่อคุณภาพสเปิร์ม การเคลื่อนที่หรือการมีชีวิตของสเปิร์ม และระยะเวลาเก็บรักษา (Jenkins and Tiersch, 1997; Nimrat et al., 2005, Nimrat et al., 2006) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบในระหว่างการแช่เย็นน้ำเชื้อของสัตว์บกเช่นกัน (Shin et al., 1988; Jasko et al., 1993) นอกจากนี้มีรายงานแสดงให้เห็นว่าน้ำเชื้อสัตว์น้ำที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนมีผลทำให้อัตราการปฏิสนธิกับไข่ลดต่ำลงเมื่อนำมาผสมเทียมกับไข่ (Stoss and Refstie, 1983; Saad et al., 1988) จึงได้มีการนำเอาสาร

ปฏิชีวนะมาใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย และทำให้ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อ/ถุงน้ำเชื้อที่แช่เย็นได้นานขึ้น อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารปฏิชีวนะสามารถยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียได้ แต่ก็มีกลไกการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารปฏิชีวนะ เช่น penicillin สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยการทำหน้าที่เป็น cell wall synthesis inhibitor ในขณะที่ oxytetracycline และ gentamycin ทำหน้าที่เป็น protein synthesis inhibitor หรือ enrofloxacin ทำหน้าที่เป็น nucleic acid synthesis inhibitor เป็นต้น (Walsh, 2000; Todar, 2003) ดังนั้นการใช้สารปฏิชีวนะจึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในน้ำเชื้อที่เก็บแช่เย็นได้

งานวิจัยที่ได้ศึกษาการประยุกต์ใช่สารปฏิชีวนะในการเก็บรักษาเซลล์สืบพันธุ์ ยกตัวอย่างเช่น

Holcomb et al. (2005) ได้ทำการศึกษายาปฏิชีวนะกลุ่ม penicillin-streptomycin ที่ความเข้มข้น 0.1 % สามารถลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph ในไข่ปลา rainbow trout ที่แช่เย็นในอุณหภูมิ 0 และ 10 องศาเซลเซียส ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมยาปฏิชีวนะดังกล่าว รวมทั้งยังพบว่ายา gentamicin สามารถลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph ในไข่ปลา rainbow trout ที่แช่เย็นในอุณหภูมิ 0 และ 10 องศาเซลเซียสได้ดีกว่าชุดควบคุมเช่นกัน

Nimrat et al. (2005) ได้รายงานการแช่เย็นถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ต่างชนิดกัน ปรากฏว่า mineral oil เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมที่สุดในการแช่เย็นถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำ และไม่พบแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ในถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส โดยแบคทีเรียที่พบคือ *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp. และ *Pseudomonas aeruginosa* อย่างไรก็ตามการใช้ยาปฏิชีวนะ penicillin-streptomycin ความเข้มข้น 0.1, 1, 2 และ 3% ในการแช่เย็นถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำต่างก็ไม่มีผลต่อเปอร์เซนต์สเปิร์มที่มีชีวิต แต่มีผลทำให้แบคทีเรียทั้ง 3 กลุ่มนั้นมีปริมาณลดลงสู่ undetectable level ภายใน 14 วัน หลังการแช่เย็น และถุงน้ำเชื้อกุ้งกุลาดำที่แช่เย็นยังคงมีคุณภาพสูง สามารถปฏิสนธิได้กับไข่เช่นเดียวกับถุงน้ำเชื้อสดที่รีดออกมาใหม่ๆ

Nimrat et al. (2006) ได้ทำการศึกษาการเก็บรักษาถุงน้ำเชื้อของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) แบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส ซึ่งแบคทีเรียที่พบเป็นส่วนใหญ่ในถุงน้ำเชื้อกุ้งขาวระหว่างการเก็บรักษาประกอบด้วย *Bacillus circulans*, *Staphylococcus hominis*, *S. lugdunensis*, *S. sciuri*, *S. xylosus* และ *Micrococcus* spp. ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้สามารถควบคุมให้มีค่าเป็น undetectable level ในระหว่างการแช่เย็นถุงน้ำเชื้อกุ้งขาวด้วยการใส่ยาปฏิชีวนะสมทบเพิ่มเข้าไป