อุบัติการณ์ของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

Occurrence of Total Heterotrophic Bacteria Isolated from *Litopenaeus vannamei* Sold in Chon Buri Province, Thailand

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*] วิจิตรา มุสิราช[1] และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[1]
Subuntith Nimrat[1*] Wigitra Musirach[1] and Verapong Vuthiphandchai[1]

Received: October 8, 2018; Revised: December 19, 2018; Accepted: December 25, 2018

บทคัดย่อ

จากการศึกษาปริมาณและการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดจากตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย จำนวน 40 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่าปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 3.13×10^4 ถึง 1.50×10^7 CFU/g และเมื่อทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด พบแบคทีเรียสกุล *Flavobacterium* spp. มากที่สุดของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และรองลงมาคือ *Aeromonas* spp., *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Moraxella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Pasteurella* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Yersinia* spp. และ *Shigella dysenteriae* ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของกุ้งขาวโดยกำหนดจากปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทปทั้งหมด พบว่าตัวอย่างกุ้งขาวส่วนใหญ่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์และญี่ปุ่น

คำสำคัญ : แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด; กุ้งขาว; จังหวัดชลบุรี; ประเทศไทย

[1] *คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี*
[1] *Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri*
[*] *Corresponding Author E - mail Address: subunti@buu.ac.th*

Abstract

A study regarding quantity and distribution of total heterotrophic bacteria isolated from 40 samples of *Litopenaeus vannamei* purchased in Chon Buri Province, Thailand was conducted. Results showed that total heterotrophic bacteria ranged from 3.13 x 10^4 to 1.50 x 10^7 CFU/g. The most predominant heterotrophic bacteria in this study were *Flavobacterium* spp. followed by the less extent numbers of *Aeromonas* spp., *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Moraxella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Pasteurella* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Yersinia* spp. and *Shigella dysenteriae*, respectively. Based on a microbiological standard of total heterotrophic bacteria, most of the tested shrimp samples in this study did not meet the microbiological quality of USA, Australia, New Zealand and Japan.

Keywords: Total Heterotrophic Bacteria; *Litopenaeus vannamei*; Chon Buri Province; Thailand

บทนำ

ในปัจจุบันโลกได้มีการพัฒนาไปอย่างกว้างไกลพร้อมทั้งมีประชากรเพิ่มมากขึ้น ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาที่สำคัญ คือ การขาดแคลนอาหาร แต่สำหรับประเทศไทยเป็นประเทศที่มีทรัพยากรธรรมชาติและมีความหลากหลายทางชีวภาพจึงได้มีการวางโครงการให้ประเทศไทยเป็นครัวของโลก เพราะประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและอุตสาหกรรม การส่งออกส่วนใหญ่เป็นการส่งออกสินค้าประเภทอาหารต่าง ๆ มากมาย รวมทั้งอาหารทะเล ซึ่งความต้องการอาหารทะเลเพิ่มสูงขึ้น แต่ในขณะเดียวกันปริมาณของสัตว์ทะเลตามธรรมชาติมีน้อยลง จึงทำให้เกิดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้งที่มีการเพาะเลี้ยงแพร่หลายในหลายประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับประเทศไทยมีสถิติการส่งออกกุ้งกุลาดำเป็นอันดับหนึ่งของโลก แต่ในปี พ.ศ. 2546 กุ้งกุลาดำประสบกับปัญหากุ้งโตช้า ขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์คุณภาพดี นอกจากนี้ยังประสบปัญหาเกี่ยวกับโรคไวรัสดวงขาว [1] จึงได้มีการหากุ้งขาวแวนนาไมเข้ามาแทนกุ้งกุลาดำที่มีอยู่เดิมเพื่อเป็นตัวเสริม แต่กุ้งขาวแวนนาไมมีการเพาะเลี้ยงกันมากทั้งในประเทศไทยและประเทศในแถบเอเชียอีกหลายประเทศ จึงเกิดการแข่งขันกันในเชิงผลผลิตและการแข่งขันทางตลาดจึงมีมากขึ้น

กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งทะเลขนาดกลาง ความยาวสูงสุด 23 เซนติเมตร พบทั่วไปในแถบชายฝั่งทะเลของมหาสมุทรแปซิฟิกตอนใต้ นิยมเลี้ยงกันในอเมริกากลางและใต้ มีวงจรชีวิตคล้ายกับกุ้งทะเลทั่วไป พื้นที่ที่มีการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยมีหลายจังหวัด ได้แก่ ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ฉะเชิงเทรา ประจวบคีรีขันธ์ และสมุทรสงคราม โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาว เช่น การติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ซึ่งกุ้งขาวที่ติดเชื้อมักจะมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อเหล่านี้มักเป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบการเลี้ยงกุ้ง การเพิ่มจำนวนของเชื้อที่สูงขึ้นจนทำให้มีจำนวนที่สามารถก่อโรคในกุ้งได้ มีสาเหตุมาจากระบบการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นสูง

ทำให้กุ้งมีสภาวะเครียด ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของสภาพในบ่อเลี้ยง เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน เป็นต้น [2]

นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากแหล่งน้ำที่กุ้งอาศัยอยู่ เครื่องมือที่ใช้ในการจับสัตว์น้ำ และน้ำที่ใช้ในการทำความสะอาด เป็นต้น โดยแบคทีเรียที่พบมากในกุ้ง ได้แก่ *Pseudomonas*, *Acinetobacter* และ *Moraxella* การเน่าเสียของกุ้งจะเกิดทันทีหลังกุ้งตายและมีการเน่าเสียอย่างรวดเร็วโดยเกิดจากแบคทีเรียที่ติดมากับเปลือกกุ้ง ได้แก่ *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Micrococcus* และ *Vibrio* [3] ซึ่งแบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่พบปนเปื้อนในกุ้งสามารถก่อโรคในมนุษย์ได้ เช่น *Vibrio parahaemolyticus* ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ *V. vulnificus* ก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด [4] ด้วยเหตุนี้การศึกษาครั้งนี้จึงมีความสนใจที่ศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียที่พบในกุ้งขาวซึ่งเป็นเรื่องที่มีความสำคัญทั้งในด้านการเพาะเลี้ยงและด้านสุขลักษณะของกุ้งขาวที่วางขายตามท้องตลาดทั่วไป ซึ่งจะมีผลต่อผู้บริโภค และเพื่อตรวจสอบคุณภาพของกุ้งให้มีมาตรฐานเป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. **การเก็บตัวอย่าง** สุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดในจังหวัดชลบุรี จำนวน 31 ร้าน รวมทั้งหมด 40 ตัวอย่าง ในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2548 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2549 โดยนำตัวอย่างกุ้งขาวมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการภายใน 6 - 8 ชั่วโมง

2. **การตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด โดยวิธีมาตรฐานตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual** [5] ชั่งตัวอย่างกุ้งขาว 25 กรัม ลงใน 0.85 % Normal saline 225 มิลลิลิตร ตีบดให้ละเอียดและเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องตีผสม (Stomacher) และเจือจางแบบ 10 เท่า ให้ได้ระดับความเจือจาง 10^{-1} - 10^{-8} ด้วย 0.85 % Normal Saline จากนั้นปิเปตตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar เพื่อนับจำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (โดยแต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำ) จากนั้นใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมที่ปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและทิ้งให้แห้ง จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและคำนวณโคโลนีทั้งหมดในหน่วย CFU/g จากนั้นนำโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันไปทดสอบสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology [6]

3. **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ** ข้อมูลที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วย Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่าง ๆ ภายในจังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง พบปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ดังตารางที่ 1 โดยพบว่าตัวอย่างที่ 11 มีปริมาณ

แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมากที่สุด คือ $1.50\pm0.07 \times 10^7$ CFU/g และตัวอย่างที่ 5 มีปริมาณแบคทีเรียที่น้อยที่สุด คือ $3.13\pm1.62 \times 10^4$ CFU/g เมื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดโดยใช้การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology และ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology พบแบคทีเรียสกุลต่าง ๆ ได้แก่ *Flavobacterium* spp. พบมากที่สุดจากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด รองลงมาคือ *Aeromonas* spp., *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Moraxella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Pasteurella* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Yersinia* spp. และ *Shigella dysenteriae* ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวที่จำหน่ายภายในจังหวัดชลบุรี

ตัวอย่าง	แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/g)	ตัวอย่าง	แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/g)
1	$1.03\pm0.15 \times 10^{5\ h}$	21	$4.06\pm0.40 \times 10^{5\ gh}$
2	$1.32\pm0.19 \times 10^{5\ h}$	22	$1.09\pm0.12 \times 10^{6\ e}$
3	$3.93\pm0.77 \times 10^{4\ h}$	23	$2.17\pm0.32 \times 10^{6\ c}$
4	$6.87\pm1.40 \times 10^{4\ h}$	24	$1.09\pm0.03 \times 10^{5\ h}$
5	$3.13\pm1.62 \times 10^{4\ h}$	25	$5.56\pm0.20 \times 10^{5\ g}$
6	$1.27\pm0.11 \times 10^{5\ h}$	26	$1.64\pm0.19 \times 10^{5\ gh}$
7	$9.83\pm1.82 \times 10^{4\ h}$	27	$2.60\pm1.01 \times 10^{5\ gh}$
8	$2.90\pm0.6 \times 10^{5\ gh}$	28	$5.00\pm1.73 \times 10^{4\ h}$
9	$1.47\pm0.13 \times 10^{6\ d}$	29	$1.09\pm0.36 \times 10^{6\ e}$
10	$3.26\pm0.58 \times 10^{5\ gh}$	30	$5.73\pm0.56 \times 10^{5\ g}$
11	$1.50\pm0.07 \times 10^{7\ a}$	31	$7.50\pm0.92 \times 10^{4\ h}$
12	$3.20\pm0.28 \times 10^{5\ gh}$	32	$6.73\pm0.99 \times 10^{4\ h}$
13	$1.15\pm0.07 \times 10^{7\ b}$	33	$1.30\pm0.24 \times 10^{5\ h}$
14	$9.93\pm1.97 \times 10^{4\ h}$	34	$9.13\pm1.01 \times 10^{4\ h}$
15	$1.23\pm0.37 \times 10^{5\ h}$	35	$9.63\pm1.70 \times 10^{4\ h}$
16	$1.05\pm0.20 \times 10^{5\ h}$	36	$5.35\pm3.75 \times 10^{4\ h}$
17	$7.80\pm1.13 \times 10^{4\ h}$	37	$4.00\pm0.35 \times 10^{4\ h}$
18	$5.60\pm0.71 \times 10^{4\ h}$	38	$5.70\pm2.00 \times 10^{4\ h}$
19	$3.76\pm0.70 \times 10^{5\ gh}$	39	$8.95\pm0.91 \times 10^{5\ f}$
20	$3.90\pm0.35 \times 10^{5\ gh}$	40	$1.22\pm0.28 \times 10^{5\ h}$

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวที่จำหน่ายภายในจังหวัดชลบุรี

ตัวอย่าง	แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (%)																			
	***Acinetobacter* spp.**	***Aeromonas* spp.**	***Alcaligenes* spp.**	***Bacillus* spp.**	***Citrobacter* spp.**	***Corynebacterium* spp.**	***Enterobacter* spp.**	***Escherichia* spp.**	***Flavobacterium* spp.**	***Klebsiella* spp.**	***Moraxella* spp.**	***Pasteurella* spp.**	***Proteus* spp.**	***Pseudomonas* spp.**	***Serratia* spp.**	***Shigella dysenteriae***	***Staphylococcus* spp.**	***Vibrio* spp.**	***Yersinia* spp.**	**Unidentified bacteria**
1	-	10	-	40	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	40	-	-	-
2	-	11.36	-	-	-	-	28.78	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	45.45	9.85	-	-
3	-	33.46	-	-	-	-	-	-	28.20	-	-	-	-	-	-	-	38.46	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	37.68	-	-	-	-	-	-	-	-	47.83	14.49	-
5	-	25.81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45.16	-	3.22	25.81	-	-	-
6	-	-	-	-	-	17.32	58.27	-	-	-	-	-	-	24.41	-	-	-	-	-	-
7	-	38.78	-	45.92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.24	-	-	5.10
8	-	-	24.14	-	-	-	31.03	-	32.76	-	-	-	-	-	-	-	17.24	-	-	-
9	-	-	-	24.48	-	-	-	-	15.31	-	-	12.5	-	-	-	-	48.98	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	9.37	-	-	28.13	-	-	37.5	-	-	-
11	-	10.09	-	28	-	-	18	-	55.33	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	2
12	-	-	-	-	28.12	21.87	-	-	38.06	-	-	-	-	-	12.5	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	6.42	-	-	38.88	-	-	-	17.43	-	-	-	-	33.94	-	3.67
14	25.25	-	-	-	-	18.18	-	-	38.88	-	-	-	-	-	-	-	23.23	-	-	2.02
15	-	66.67	-	-	-	8.33	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-
16	-	-	-	47.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.92	10.38	-	-	24.53	-	-
17	-	32.05	-	28.21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39.74	-	-

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวที่จำหน่ายภายในจังหวัดชลบุรี (ต่อ)

ตัวอย่าง	แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (%)																	
	Acinetobacter spp.	*Aeromonas* spp.	*Alcaligenes* spp.	*Bacillus* spp.	*Citrobacter* spp.	*Corynebacterium* spp.	*Enterobacter* spp.	*Escherichia* spp.	*Flavobacterium* spp.	*Klebsiella* spp.	*Moraxella* spp.	*Pasteurella* spp.	*Proteus* spp.	*Pseudomonas* spp.	*Serratia* spp.	*Shigella dysenteriae*	*Staphylococcus* spp.	*Vibrio* spp.	*Yersinia* spp.	Unidentified bacteria
18	51.78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-	-	23.22	-	-
19	-	13.51	-	-	-	-	47.03	-	-	-	-	-	-	40.54	-	-	-	-	-	-
20	-	-	17.95	-	-	-	-	-	-	-	41.03	-	-	-	-	-	33.33	-	-	7.69
21	-	-	-	37.5	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	42.5	-	-
22	-	17.43	-	-	-	-	-	-	35.32	-	-	-	-	11.93	-	-	-	32.11	-	-
23	-	-	-	42.86	-	-	19.05	-	57.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	41.28	-	39.45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.68	-	-	-	-	-	4.59
25	-	37.5	-	-	-	-	14.28	-	-	-	-	-	-	33.93	-	-	14.28	-	-	-
26	-	-	-	31.52	-	-	-	-	17.58	-	-	-	9.1	-	-	-	20	20.61	-	3.03
27	-	34.61	-	15.38	-	-	-	-	31.25	-	-	-	19.23	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	20	-	-	40	-	-	20	-	-	-	-	-	20	-	-
29	-	24.77	-	-	-	24.77	-	-	32.11	-	-	-	-	18.35	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	56.14	-	38.59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.26
31	-	-	-	-	-	-	-	-	57.33	-	22.27	-	-	-	16	-	-	-	-	4
32	-	-	-	-	-	25.37	-	-	43.28	-	-	-	31.34	-	-	-	-	-	-	-
33	-	16.92	-	29.23	-	-	-	-	30.77	-	-	-	-	17.69	-	-	-	-	-	5.38
34	-	38.46	-	-	-	-	-	-	40.66	-	20.80	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวที่จำหน่ายภายในจังหวัดชัยนาท (ต่อ)

ตัวอย่าง	แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (%)																	
	Acinetobacter spp.	*Aeromonas* spp.	*Alcaligenes* spp.	*Bacillus* spp.	*Citrobacter* spp.	*Corynebacterium* spp.	*Enterobacter* spp.	*Escherichia* spp.	*Flavobacterium* spp.	*Klebsiella* spp.	*Moraxella* spp.	*Pasteurella* spp.	*Proteus* spp.	*Pseudomonas* spp.	*Serratia* spp.	*Shigella dysenteriae*	*Staphylococcus* spp.	*Vibrio* spp.	*Yersinia* spp.	Unidentified bacteria
35	-	-	28.13	29.17	-	-	-	-	-	-	38.54	-	-	-	-	-	-	-	-	4.17
36	34.12	-	-	-	-	27.06	-	-	-	-	-	-	-	17.65	-	-	-	21.18	-	-
37	-	50	-	12.5	-	-	-	-	-	-	37.5	-	15.79	-	-	-	-	-	-	7.02
38	-	33.33	-	43.86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	19.10	5.62	-	43.82	-	-	-	-	-	-	31.46	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	26.23	-	40.98	-	-	0.82	-	-	-	-	-	27.86	-	4.1
รวมตัวอย่างที่พบ (ตัวอย่าง)	4	19	3	16	1	9	9	1	21	1	9	3	6	11	4	1	12	12	1	13

สรุปและอภิปรายผล

1. **ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในตัวอย่างกุ้งขาว**

จากการศึกษาปริมาณและการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในตัวอย่างกุ้งขาวจำนวน 40 ตัวอย่าง โดยทำการซื้อตัวอย่างกุ้งขาวมาจากร้านค้าภายในตลาดจังหวัดชลบุรี ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างกุ้งขาวมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง $3.13\pm1.62 \times 10^4$ ถึง $1.50\pm0.07 \times 10^7$ CFU/g โดยส่วนใหญ่ (62.5 เปอร์เซ็นต์) ของตัวอย่างกุ้งขาวจะพบปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมากกว่า 10^5 CFU/g ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hatha, A. A. M., et al. [7] กล่าวว่ากุ้งกุลาดำที่ปอกเปลือกแต่ยังมีหางอยู่พบแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมากกว่า 10^5 CFU/g เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในตัวอย่างกุ้งขาวจำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมีความแตกต่างและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับปริมาณและชนิดของแบคทีเรียที่พบแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากความแตกต่างกันของสถานที่ในการเพาะเลี้ยง น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง อุณหภูมิ ค่า pH ของน้ำ และความแตกต่างของสุขาภิบาลในแต่ละตลาด ซึ่งในแต่ละตลาดและแต่ละร้านที่จำหน่ายอาจมีสุขลักษณะของผู้ขายหรือภาชนะที่ใช้ ตลอดจนน้ำที่ใช้ทำความสะอาดมีความแตกต่างกัน

เมื่อนำมาจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า แบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงที่สุดเป็นลำดับที่ 1 คือ *Flavobacterium* spp. การปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุลนี้บ่งบอกถึงการปนเปื้อนมาจากธรรมชาติ เช่น ดินและน้ำ ซึ่งอาจเกิดจากสถานที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งหรือน้ำที่ใช้ทำความสะอาด *Flavobacterium* บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ [8] และเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่อาจก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ในเด็กและคนที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ จากรายงานของ Maclean, L. L., et al. [9] ที่กล่าวว่า *Flavobacterium* สามารถก่อให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบได้ ถ้าเกิดการสัมผัสเชื้ออาจก่อให้เกิดอันตรายได้ ดังนั้นควรล้างกุ้งให้สะอาดก่อนนำมาปรุงอาหารเพื่อลดจำนวนแบคทีเรีย และควรปรุงให้สุกก่อนรับประทาน แบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงเป็นลำดับที่ 2 คือ *Aeromonas* spp. การปนเปื้อน *Aeromonas* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนที่อาจมีสาเหตุมาจากสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ เนื่องจาก *Aeromonas* spp. เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอย่างอิสระในน้ำจืดหรือน้ำกร่อย [10] บางครั้งพบในปลา ในดินหรือในอาหาร และเป็นเชื้อฉวยโอกาส สามารถติดเชื้อในคนที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ อาจก่อให้เกิดโรคท้องร่วงอย่างรุนแรงในเด็ก [11] ดังนั้นควรแนะนำให้เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงระมัดระวังเพื่อป้องกันการติดเชื้อและป้องกันการระบาดของแบคทีเรียกลุ่มนี้ แบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงเป็นลำดับที่ 3 คือ *Bacillus* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจมาจากน้ำและดินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง หรือน้ำที่ใช้ในการทำความสะอาดกุ้ง รวมถึงเครื่องมือในการจับสัตว์น้ำ [3] *Bacillus* บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ [12] แบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงเป็นลำดับที่ 4 คือ *Vibrio* spp. และ *Staphylococcus* spp. ซึ่งการปนเปื้อนจาก *Vibrio* spp. บ่งบอกถึงอันตรายของการเกิดโรคในกุ้ง เนื่องจาก *Vibrio* จะก่อให้เกิดโรควิบริโอซิส (Vibriosis) [13] และอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคได้ [11] ส่วนการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus* spp. บ่งบอกถึงสุขลักษณะของผู้ที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงาน โดยอาจมีการสัมผัสจากผู้ขายหรือเกษตรกรที่เพาะเลี้ยง เนื่องจาก *Staphylococcus* spp. เป็นเชื้อที่พบบริเวณผิวหนังมนุษย์

แบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนสูงเป็นลำดับที่ 5 คือ *Pseudomonas* spp. ซึ่ง *Pseudomonas* เป็นเชื้อฉวยโอกาส อาจก่อให้เกิดโรคกับเด็กและผู้ที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ [10]

นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุลอื่น ๆ เช่น *Corynebacterium* spp., *Moraxella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. และ *Serratia* spp. โดย *Corynebacterium* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมและบางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรค [3], [14] สำหรับ *Moraxella* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบมากในกุ้ง [3] เป็นเชื้อฉวยโอกาส บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดการอักเสบของโพรงกระดูกที่กะโหลกศีรษะและโรคเยื่อบุหัวใจอักเสบ [15] สำหรับ *Enterobacter* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อม และเป็นเชื้อฉวยโอกาสอาจก่อให้เกิดโรคในคนได้ [16] ส่วนการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Proteus* spp. บ่งบอกถึงอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษากุ้งเพราะกุ้งที่เก็บในอุณหภูมิสูงประมาณ 16.7 - 22.2 องศาเซลเซียส มักเกิดการเน่าเสียโดยเชื้อกลุ่ม *Proteus* sp. [3] นอกจากนี้ *Proteus* sp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารฮีสตามีน [17] และแบคทีเรียสกุล *Serratia* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในธรรมชาติแพร่กระจายอยู่ในดิน เป็นเชื้อฉวยโอกาสทำให้ติดเชื้อในเด็กแรกเกิดหรือผู้ที่อ่อนแอได้ [10]

นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนจาก *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Pasteurella* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Yersinia* spp., และ *Shigella dysenteriae* สำหรับการปนเปื้อนจาก *Alcaligenes* spp. และ *Acinetobacter* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนมาจากสิ่งแวดล้อม แต่เป็นเชื้อฉวยโอกาสสามารถก่อโรคในคนได้ [16] ดังนั้นควรระมัดระวังในการสัมผัสกับสภาพแวดล้อมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อจากสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคได้ สำหรับ *Pasteurella* spp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ในเยื่อบุเมือกของสัตว์ป่าและสัตว์ที่เลี้ยงไว้ในครัวเรือน [18] สำหรับการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Pasteurella* spp. อาจเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้ามจากสัตว์เลี้ยงจากแหล่งที่ขายหรือแหล่งที่เพาะเลี้ยง *Citrobacter* spp. เป็นเชื้อที่พบในสิ่งแวดล้อมแต่เป็นเชื้อฉวยโอกาส บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรค Enteric Fever เป็นโรคที่ติดเชื้อทางกระแสเลือด สำหรับ *Klebsiella* spp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบในสิ่งแวดล้อม [10] แต่สามารถเป็นเชื้อฉวยโอกาสอาจก่อโรคในคนได้ สำหรับ *Yersinia* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบจากดิน น้ำ บางสายพันธุ์สามารถก่อโรค

Shigella dysenteriae พบในตัวอย่างที่ 5 สำหรับ *Shigella* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคบิด มีอาการปวดท้องรุนแรง และถ่ายอุจจาระเป็นมูกเลือด *Shigella dysenteriae* สามารถพบได้ในน้ำ อาหาร และแยกได้จากผู้ป่วย [19] นอกจากนี้การปนเปื้อนจาก *Shigella* อาจเนื่องมาจากการสัมผัสของผู้ที่มีสุขลักษณะส่วนบุคคลไม่ดีจึงทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ ซึ่ง *Shigella* จะสามารถรอดชีวิตในอาหารทะเลได้ และมีอัตราเสี่ยงในการเกิดโรค Shigellosis ได้ [20] โดยปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรคคือ 10^3 CFU/g แต่อย่างไรก็ตาม *Shigella* สามารถถูกยับยั้งโดยการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที [12] จากการทดลองสามารถพบแบคทีเรียสกุลต่าง ๆ เช่น *Pseudomonas* spp. *Alcaligenes* spp. *Acinetobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. สอดคล้องกับการรายงานของ Lakshmanan, R., et al. [21] รายงานว่า พบแบคทีเรียสกุล *Alcaligenes*, *Flavobacteria*, *Acinetobacter* และ *Pseudomonas* ในตัวอย่างปลาและกุ้งที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง และสามารถพบ *Aeromonas*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Vibrio* และ *Acinetobacter* ในปลาทูน่า [22] ดังนั้นก่อนการบริโภคผู้บริโภคควรล้างทำความสะอาดเพื่อลดปริมาณแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับตัวกุ้ง และควรปรุงให้สุกก่อนรับประทานเพื่อลดหรือทำลายแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค

2. มาตรฐานของตัวอย่างกุ้งขาว

จากการศึกษาปริมาณและการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดจากตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่าง ๆ ภายในจังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง เมื่อพิจารณาเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาของกุ้งขาวโดยพิจารณาเพียงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดจะสามารถแบ่งมาตรฐานออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มาตรฐานทางจุลชีววิทยาอาหารทะเลส่งออกของประเทศออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ [23] ที่กำหนดค่า Standard Plate Count (SPC) ต้องมีค่าไม่เกิน 5.0×10^6 CFU/g พบว่าตัวอย่างกุ้งขาวในการศึกษาครั้งนี้ 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่ผ่านเกณฑ์เนื่องจากมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดสูงเกินมาตรฐาน และกลุ่มที่ 2 คือ มาตรฐานทางจุลชีววิทยาอาหารทะเลส่งออกของประเทศญี่ปุ่นที่กำหนดค่า Standard Plate Count (SPC) ต้องมีค่าไม่เกิน 1.0×10^5 CFU/g จากผลการศึกษาพบว่ากุ้งขาวที่นำมาทดสอบเกินมาตรฐานกลุ่มที่ 2 สูงเกิน 62.5 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 กำหนดค่า Standard Plate Count (SPC) ต้องมีค่าไม่เกิน 1×10^6 CFU/g ตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาอาหารทะเลส่งออกของประเทศสหรัฐอเมริกา [24] พบตัวอย่างที่เกินมาตรฐาน 15 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดภายในจังหวัดชลบุรี เมื่อพิจารณาถึงเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาของกุ้งขาว พบว่าส่วนใหญ่ตัวอย่างกุ้งขาวที่นำมาวิเคราะห์ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานและไม่สามารถส่งออกไปยังประเทศต่าง ๆ คือ ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกาได้ นอกจากนั้นยังพบแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด ดังนั้นควรมีการพัฒนามาตรฐานกุ้งขาวให้ได้ตามมาตรฐานโดยอาจมีการแนะนำให้เกษตรกรรู้จักแนวทางป้องกันและการรักษาอาการการติดเชื้อแบคทีเรียของกุ้งขาว และควรปรับปรุงด้านสุขาภิบาลของสถานที่วางจำหน่ายกุ้งขาว เพื่อสามารถส่งออกและเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ทีมงานวิจัยขอขอบคุณแหล่งสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่มี รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ เป็นหัวหน้าทีมวิจัย และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ช่วยสนับสนุนอุปกรณ์และอำนวยความสะดวกในการศึกษาครั้งนี้

References

[1] Limsuwan, C. and Janratchakul, P. (2004). **Shrimp Farming Industry in Thailand**. Bangkok: National Research Council of Thailand

[2] Sudthonghong, C. (2018). **White Feces Syndrome in *Litopenaeus vannamei***. Coastal Aquaculture Research and Development Regional Center 2 (Samutsakhon). Access (20 April 2017). Available (https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20170421131716_file.pdf)

[3] Utarapichat, B. (2009). **Food Microbiology**. Songkhla: Thaksin University Book Center. (in Thai)

[4] Wittman, R. J. and Flick, G. J. (1995). Microbial Contamination of Shellfish: Prevalence, Risk to Human Health, and Control Strategies. **Annual Review of Public Health**. Vol. 16, pp. 123-140. DOI: 10.1146/annurev.pu.16.050195.001011

[5] FDA. Maturin, L. J. and Peeler, J. T. (1998). **Chapter 3: Aerobic Plate Count, Bacteriological Analytical Manual [BAM]**. Access (3 August 2011). Available (https://www.scribd.com/doc/61 521962/Bacteriological-Analytical-Manual-BAM-BAM-Aerobic-Plate-Count)

[6] Holt, J. G. and Bergey, D. H. (1994). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins

[7] Hatha, A. A. M., Maqbool, T. K., and Kumar, S. S. (2003). Microbial Quality of Shrimp Products of Export Trade Produced from Aquacultured Shrimp. **International Journal of Food Microbiology**. Vol. 82, pp. 213-221

[8] Dalsgaard, I. (2001). Selection of Media for Antimicrobial Susceptibility Testing of Fish Pathogenic Bacteria. **Aquaculture**. Vol. 196, No. 3-4, pp. 267-275

[9] Maclean, L. L., Vinogradov, E., Crump, E. M., Perry, M. B., and Kay, W. W. (2001). The Structure of the Lipopolysaccharide O-antigen Produced by *Flavobacterium psychrophilum* (259-93). **European Journal of Biochemistry**. Vol. 268, Issue 9, pp. 2710-2716. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2001.02163.x

[10] Baron, E. J., Peterson, L. R., and Finegold, S. M. (1994). **Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology**. St. Louis: Mosby-Year Book

[11] Suwanphinid, N. (2004). **Bacteria Associated with the Disease**. Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University. Bangkok: Nobel Print. (in Thai)

[12] Food and Drug Administration. (2000). **Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies**. Access (22 April 2006). Available (http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift-over.html)

[13] Nimrat, S., Sakanuchaichan, K., Chuersuwan, N., and Vuthiphandchai, V. (2005). Prevalence of *Vibrio* spp. in Aquatic Organisms Collected from Natural Environments and Aquaculture Systems. **Burapha Science Journal**. Vol. 10, No. 1-2, pp. 83-91

[14] Suwanphinid, N. and Suwanphinid, P. (2001). **General Microbiology**. (3rd ed.). Bangkok: Chulalongkorn University Printing House.

[15] Koneman, W. E., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., and Winn, W. C. (1997). **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. Philadelphia: Lippincott

[16] Suphawed, S. and Wonchid, M. (1993). **Basic Bacteria**. Bangkok: Siriyod Printing.

[17] Kalamaki, M., Price, R. J., and Fung, D. Y. C. (1997). Rapid Methods for Identifying Seafood Microbial Pathogens and Toxins. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**. Vol. 5, Issue 2. pp. 87-137. DOI: 10.1111/j.1745-4581.1997.tb00155.x

[18] Gautier, A. L., Dubois, D., Escande, F. O., Avril, J. L., Cuot, P. T., and Gaillot, O. (2005). Rapid and Accurate Identification of Human Isolate of *Pasteurella* and Related Species by Sequencing the sodA Gene. **Journal of Clinical Microbiology**. Vol. 43, No. 5, pp. 2307-2314. DOI: 10.1128/JCM.43.5.2307-2314.2005

[19] Faruque, S. M., Khan, R., Kamruzzaman, M., Yamasaki, S., Ahmad, Q. S., Azim, T., Nair, G. B., Takeda, Y., and Sack, D. A. (2002). Isolation of *Shigella dysenteriae* Type 1 and *S. flexneri* Strains from Surface Waters in Bangladesh: Comparative Molecular Analysis of Environmental *Shigella* Isolates versus Clinical Strains. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 68, No. 8, pp. 3908-3913. DOI: 10.1128/aem.68.8.3908-3913.2002

[20] Huss. H. H., Reilly, A., and Embarek, P. K. B. (2000). Prevention and Control of Hazards in Seafood. **Food Control**. Vol. 11, No. 2, pp. 149-156

[21] Lakshmanan, R., Shakila, R. J., and Jeyasekaran, G. (2002). Survival of Amine-Forming Bacteria During the Ice Storage of Fish and Shrimp. **Food Microbiology**. Vol. 19, Issue 6, pp. 617-625. DOI: 10.1006/fmic.2002.0481

[22] Middlebrooks, B. L., Toom, P. M., Douglas, W. L., Harrison, R. E., and McDowell, S. (1998). Effects of Storage Time and Temperature on the Microflora and Amine-Development in Spanish Mackerel (*Scomberomorus maculatus*). **Journal of Food Science**. Vol. 53, Issue 4, pp. 1024-1029. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb13522.x

[23] Fish Inspection and Quality Control Division Department of Fisheries. (2009). **Microbiological Standards of the Product**. Access (8 August 2018). Available (https://www.fisheries.go.th/quality/Std%20micro.php)

[24] ICMSF. (1986). **Microorganisms in Foods 2 - Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications**. Toronto, Ontario, Canada, University of Toronto Press (second edition). Access (29 March 2006). Available (http://seafood.ucdavis.edu/haccp/compendium/chapt09.htm)