การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสด และน้ำเชื้อแช่แข็งโค

รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล [1] ปาริฉัตร สุขโต [1] ศศิธร คณะรัตน [2]

บทคัดย่อ

ในการควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโค ต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพในการปฏิสนธิของตัวอสุจิและความสะอาดของน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ในการผสมเทียม น้ำเชื้อแช่แข็งควรมีปริมาณแบคทีเรียปนเปื้อนน้อยที่สุดเพื่อป้องกันการติดเชื้อในแม่โคที่ถูกต้อง ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสะอาดในการรีดเก็บน้ำเชื้อตลอดจนถึงความสะอาดในขบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานีจำนวน 241 ตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ย 753,112 ± 75,600 C. F. U./ml โดยมีค่าพิสัย 1,000 - 4,840,000 C. F. U./ml ส่วนปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็งโค จำนวน 145 ตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ย 40,972 ± 7,400 C. F. U./ml โดยมีค่าพิสัยต่ำกว่า 1,000 - 585,000 C. F. U./ml ค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็งดังกล่าว อยู่ในช่วงของค่าเฉลี่ยที่องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติรายงานไว้ในปี ค.ศ. 1981 และที่ O. I. E. (Office International de Epizooties) รายงานไว้ในปี ค.ศ. 1984 คือ 10,000 - 60,000 C. F. U./ml

คำสำคัญ : ปริมาณแบคทีเรีย น้ำเชื้อสดโค น้ำเชื้อแช่แข็งโค

[1] กองผสมเทียม กรมปศุสัตว์ ถนนพญาไท กทม. 10400

[2] กองสัตวแพทย์สาธารณสุข กรมปศุสัตว์ ถนนพญาไท กทม. 10400

บทนำ

การควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ผสมเทียม มีหลักเกณฑ์สำคัญ คือ การควบคุมคุณภาพด้านชีวภาพ (Biological control) ซึ่งหมายถึง การควบคุมคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งให้มีอัตราการผสมติดสูงสุด และการควบคุมคุณภาพด้านความสะอาดของน้ำเชื้อแช่แข็ง (Sanitary control)

โดยปกตินำเชื้อจาก vesicular glands จะปราศจากเชื้อแบคทีเรีย แต่ถูกปนเปื้อนโดยแบคทีเรียจากหนังหุ้มลึงค์ และท่อทางเดินปัสสาวะ (Nibart, 1977) จากผิวหนังบริเวณใกล้เคียง จากบริเวณที่มีการอักเสบของระบบสืบพันธุ์ เช่น การเกิดการอักเสบของต่อมในระบบสืบพันธุ์ เช่น seminal vesicles และ ampulla (Blom and Dam, 1964) จากอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้รีดเก็บหรือผลิตน้ำเชื้อ และจากบุคลากรผู้เกี่ยวข้อง โดยธรรมชาติปริมาณแบคทีเรียในมดลูกโคจะทวีจำนวนในช่วงของการเป็นสัด หรือเมื่อมีสิ่งกระตุ้นให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนหรือเพิ่มความรุนแรง (O. I. E., 1984) ในภาวะเหล่านี้ ถ้าทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง จะเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมดลูกอักเสบ

แบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำเชื้อ อาจมีทั้งชนิด pathogenic และ non-pathogenic ฉะนั้น พ่อโคที่จะนำมาเป็นพ่อพันธุ์ผลิตน้ำเชื้อ รวมทั้งสัตว์ที่ใช้เป็นตัวล่อ ต้องผ่านการตรวจสุขภาพและทดสอบโรคก่อนนำเข้ามาในศูนย์ผลิตน้ำเชื้อ เพื่อป้องกัน Pathogenic bacteria หรือมิให้เกิดการแพร่โรคติดต่อผ่านทางน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อจึงต้องปฏิบัติตามกฎข้อบังคับการควบคุมของศูนย์ฯ ที่รัฐบาลของแต่ละประเทศกำหนด สำหรับประเทศไทยมีระเบียบคือ "ร่างหลักเกณฑ์การพิจารณารับรองศูนย์ผลิตน้ำเชื้อสัตว์พ่อพันธุ์" ของกรมปศุสัตว์ เป็นมาตรการควบคุมการผลิตน้ำเชื้อสำหรับผสมเทียม

อย่างไรก็ตามในน้ำเชื้อและหนังหุ้มลึงค์พ่อโคปกติ ก็สามารถพบ non-pathogenic bacteria ได้เช่น *Pseudomonas aeroginosa, Corynebacterium pyogenes, Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. และ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุดในน้ำเชื้อและหนังหุ้มลึงค์ของพ่อโคปกติที่มีสุขภาพสมบูรณ์ (FAO, 1981) ดังนั้น จึงต้องรักษาความสะอาดพ่อโคที่ใช้รีดเก็บน้ำเชื้อ และควบคุมกรรมวิธีผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียน้อยที่สุด วิธีการรีดเก็บน้ำเชื้อ การทำลายและการบรรจุในหลอดน้ำเชื้อ ฉะนั้น จึงมีการใส่ยาปฏิชีวนะในน้ำยาละลายน้ำเชื้อ ก่อนทำการแช่แข็ง ซึ่งลดปริมาณแบคทีเรียได้มาก ทำให้ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็งแตกต่างจากในน้ำเชื้อสดมาก

องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และ Office International des Epizooties (O. I. E.) ได้รวบรวมข้อมูลการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีผู้รายงานไว้จากประเทศต่าง ๆ ในยุโรป สำหรับประเทศไทยยังไม่มีการศึกษา และมาตรการการควบคุมที่ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สัตว์อยู่ในระยะเริ่มต้น จึงเป็นข้อน่าคิดว่า ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อโคที่ผลิตเป็นน้ำเชื้อแช่แข็งในประเทศไทย จะแตกต่างจากที่มีผู้ศึกษาไว้ในต่างประเทศหรือไม่ เนื่องจากประเทศไทยมีภูมิอากาศแตกต่างจากประเทศยุโรป คือ มีอากาศ ร้อนชื้นเหมาะแก่การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และเนื่องจากปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็ง เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในด้านความสะอาด ดังนั้น จึงทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง เพื่อเป็นข้อมูลในการควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งที่ผลิตในประเทศต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

รีดเก็บน้ำเชื้อ 241 ตัวอย่างจากพ่อโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานีจำนวน 40 ตัว ด้วย artificial vagina (AV) เดือนละ 2 ครั้ง ครั้งละประมาณ 8 ตัว เป็นเวลา 15 เดือน

1. **การเตรียมอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้รีดเก็บน้ำเชื้อ** ทำความสะอาด AV แล้วฆ่าเชื้อโรคในน้ำเดือดและเช็ดด้วย alcohol 70% บรรจุน้ำอุ่นอุณหภูมิ 45-50°C ปรับความดันน้ำใน AV ให้เหมาะสม เก็บในตู้อุณหภูมิ 50°C จนกว่าจะนำมาใช้ หลอดแก้วสำหรับบรรจุน้ำเชื้อต้องล้างให้สะอาดและล้างด้วยน้ำกลั่น ก่อนอบฆ่าเชื้อโรคใน hot air oven 125°C นานครึ่งชั่วโมง

2. **การรีดเก็บน้ำเชื้อ** ล้างบริเวณใต้ท้องและหนังหุ้มลึงค์ พ่อโคด้วยน้ำสะอาดแล้วเช็ดให้แห้ง รีดเก็บน้ำเชื้อด้วย AV ที่เตรียมไว้หล่อลื่นด้านใน AV ด้วย K-Y Jelly หุ้มหลอดแก้วบรรจุน้ำเชื้อด้วยถุงหุ้มกระบอกรีดเก็บน้ำเชื้อ เพื่อป้องกันตัวอสุจิจากแสงแดด ขณะทำการรีดเก็บน้ำเชื้อห้ามใช้มือสัมผัสกับลึงค์ของพ่อโค สวม AV เมื่อได้จังหวะ นำหลอดบรรจุน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้ออกจากถุงหุ้มกระบอกรีดเก็บน้ำเชื้อและส่งห้องปฏิบัติการน้ำเชื้อ

3. **การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสด** เจือจางน้ำเชื้อ 1 มล. ด้วย 0.1 % peptone saline solution ในอัตราส่วน 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10000, นำน้ำเชื้อจากอัตราการเจือจางสุดท้าย (1 : 10000) มา 1 มล. เพาะใน plate count agar โดยวิธี pour plate ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 ± 1°C นาน 72 ชั่วโมง (ISO/TR 8607, 1991 : E) ใน aerobic condition ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียและอ่านผลตามวิธีการที่กำหนดในเอกสาร ISO/TR 8607, 1991 : E

4. **การเจือจางและการบรรจุเป็นน้ำเชื้อแช่แข็ง** เจือจางน้ำเชื้อที่เหลือด้วยน้ำยาละลาย Egg Yolk Tris (Tris 30.28 กรัม, Citric acid 17.0 กรัม, Fructose 12.5 กรัม, Demineralised water 920 มล., Glycerol 80.0 มล., Egg Yolk 250 มล. ผสมยาปฏิชีวนะ Sodium Penicillin G 1,000,000 IU. และ Streptomycin Sulphate 1 กรัม ต่อน้ำยาละลาย Egg Yolk Tris 1,000 มล.) จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4-5°C นาน 4-6 ชั่วโมง (Equilibration) แล้วจึงบรรจุน้ำเชื้อในหลอดน้ำเชื้อขนาด 0.25 มล. (French ministraws) แช่แข็งในไอของไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -120°C นาน 10 นาที แล้วเก็บในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196°C

5. **การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็ง** นำหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งมาละลายในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 ± 1°C นาน 3 นาที นำน้ำเชื้อที่ละลายนี้มารวมให้ได้ปริมาตร 1 มล. มาเพาะเชื้อและตรวจนับจำนวนแบคทีเรียตามวิธีการในข้อ 3 และบันทึกผล

ผล

ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสด และน้ำเชื้อแช่แข็งโค แสดงไว้ในตารางที่ 1 ส่วนการแจกแจงความถี่ของจำนวนตัวอย่างน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งโคแสดงไว้ในตารางที่ 2 และตารางที่ 3 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแข็งโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานี

	จำนวนตัวอย่างน้ำเชื้อ	ค่าพิสัยปริมาณแบคทีเรีย C. F. U./ml*	ค่าเฉลี่ยปริมาณแบคทีเรีย C. F. U./ml*
น้ำเชื้อสด	241	1,000 - 4,840,000	753,112 ± 75,600
น้ำเชื้อแช่แข็ง	145	ต่ำกว่า 1,000 - 585,000	40,972 ± 7,400

* Colony Forming Unit / ml

ตารางที่ 2 การแจกแจงความถี่ (Frequency distribution) ของจำนวนตัวอย่างน้ำเชื้อสดโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานี จำนวน 241 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณแบคทีเรียอยู่ในค่าพิสัย 1,000-4,840,000 C. F. U./ml

ปริมาณแบคทีเรีย (C. F. U./ml)	ตัวอย่างน้ำเชื้อสด	เปอร์เซนต์ (%)
ต่ำกว่า 1,000 - 1,000	1	0.4
1,001 - 10,000	20	8.3
10,001 - 100,000	76	31.5
100,001 - 1,000,000	89	37.0
1,000,001 - 10,000,000	55	22.8
	241	100

ตารางที่ 3 การแจกแจงความถี่ (Frequency distribution) ของจำนวนตัวอย่างน้ำเชื้อแช่แข็งโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานี จำนวน 145 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณแบคทีเรียอยู่ในค่าพิสัยต่ำกว่า 1,000 ถึง 585,000 C. F. U./ml

ปริมาณแบคทีเรีย (C. F. U./ml)	ตัวอย่างน้ำเชื้อสด	เปอร์เซนต์ (%)
ต่ำกว่า 1,000 - 1,000	22	15.2
1,001 - 10,000	42	29.0
10,001 - 100,000	68	46.9
100,001 - 1,000,000	13	8.9
	145	100

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้พบปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสด จากพ่อโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานี มีค่าเฉลี่ย 753,112 ± 75,600 C. F. U./ml (ตารางที่ 1) โดยมีค่าสูงสุด 4,840,000 C. F. U./ml และค่าต่ำสุด 1,000 C. F. U./ml ต่ำกว่าค่าที่มีผู้ให้ไว้ในช่วงปี ค.ศ. 1953 - 1966 คือ 10-170x10^6 C. F. U./ml (Woloskow's, 1953) 1.2-60.2x10^6 C. F. U./ml (Marinow et al., 1966) แต่สูงกว่าค่าเฉลี่ยที่มีผู้รายงานไว้ในระยะหลัง คือ 563,779 C. F. U./ml (Nowakoski and Wierzbowski, 1980) ค่าเฉลี่ยที่ได้นี้ 753,112 ± 75,600 C. F. U./ml ใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ย คือ 650,000 C. F. U./ml โดย Wierzbowski (1981) ส่วนน้ำเชื้อสดจากพ่อโคของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานี พบว่า 55 ตัวอย่าง หรือ 22.8% ของตัวอย่างที่ศึกษานี้ มีปริมาณแบคทีเรียเกิน 1,000,000 C. F. U./ml และจำนวนตัวอย่างที่เหลือรวมทั้งสิ้น 186 ตัวอย่าง หรือ 77.2% ของตัวอย่างน้ำเชื้อสดพ่อโคที่ศึกษา มีปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1,000,000 C. F. U./ml (ตารางที่ 2) ปริมาณแบคทีเรียนี้จะลดลงเมื่อนำน้ำเชื้อไปผ่านขบวนการแช่แข็ง ซึ่งต้องผสมยาปฏิชีวนะในน้ำยาละลายน้ำเชื้อสำหรับแช่แข็ง เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดโค มีแนวโน้มต่ำลงในระยะหลัง ดังเช่น ในปี ค.ศ. 1980 Nowakowski and Wierzbowski รายงานไว้ว่าจากพ่อโค 54 ตัวที่ตรวจ พบค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย 563,779 C. F. U./ml โดยมีค่าแตกต่างกันมาก จากตัวอย่างน้ำเชื้อที่เก็บจะไม่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรีย จนถึง 3 x 10^6 C. F. U./ml และในปี ค.ศ. 1984, O. I. E. รายงานค่าเฉลี่ยไว้ 650,000 C. F. U./ml ทั้งนี้เนื่องจากศูนย์ผสมเทียมต่าง ๆ คำนึงถึงการแพร่โรคติดต่อทางน้ำเชื้อและการเสี่ยงต่อการติดเชื้อในแม่โคหลังผสมเทียม เช่น การเกิดมดลูกอักเสบ เป็นต้น ปัจจัยต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการทำให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้อที่รีดเก็บ มากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับการเอาใจใส่ดูแลรักษาความสะอาดบริเวณคอกพ่อโค การทำความสะอาดตัวพ่อโค โดยเฉพาะบริเวณใต้ท้องก่อนทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ การตัดขนบริเวณรอบช่องเปิดของหนังหุ้มลึงค์ (preputial orifice) ให้สั้นพอควร เพื่อลดการสะสมของแบคทีเรีย การอาบน้ำทำความสะอาดตัวล่อก่อนรีดเก็บน้ำเชื้อ การรักษาความสะอาดและฆ่าเชื้ออุปกรณ์รีดเก็บน้ำเชื้อ เช่น AV และหลอดเก็บน้ำเชื้อ เทคนิคการรีดเก็บน้ำเชื้อ เช่น การไม่สัมผัสโดยตรงกับลึงค์พ่อโคขณะรีดเก็บน้ำเชื้อ การเปลี่ยน AV เมื่อรีดเก็บน้ำเชื้อซ้ำ การสวมถุงมือขณะทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ ประการสุดท้าย วัสดุสำหรับรองพื้นบริเวณรีดเก็บน้ำเชื้อ ซึ่งถ้าเป็นวัสดุที่ทำให้เกิดฝุ่นกระจายจะทำให้เกิดโอกาสของการปนเปื้อนแบคทีเรียในน้ำเชื้อพ่อโคมากยิ่งขึ้น

ส่วนปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็ง ของศูนย์ผสมเทียมปทุมธานีที่ศึกษานี้ มีค่าเฉลี่ย 40,972 ± 7,400 C. F. U./ml โดยมีค่าสูงสุด คือ 585,000 C. F. U./ml และค่าต่ำสุด มีค่าน้อยกว่า 1,000 C. F. U./ml จากการศึกษาครั้งนี้ พบตัวอย่างน้ำเชื้อแช่แข็งที่ตรวจไม่พบแบคทีเรีย ในอัตราส่วนการเจือจาง 1 : 10,000 ตามวิธีของ ISO/TR 8607 (1991 : E) จำนวน 22 ตัวอย่าง ซึ่งหมายความว่ามีปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่า 1,000 C. F. U./ml ส่วนการที่ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็ง ต่ำกว่าในน้ำเชื้อสดมาก เนื่องจากน้ำยาละลาย Egg Yolk Tris ที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อสดก่อนแช่แข็งนั้น มียาปฏิชีวนะผสมอยู่ คือ Sodium Penicillin G และ Streptomycin Sulphate นอกจากนี้ การลดอุณหภูมิเมื่อแช่แข็งน้ำเชื้อด้วยไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิ -196°C ทำให้แบคทีเรียบางชนิดตาย ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแข็งจึงต่ำกว่าในน้ำเชื้อสด

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า 15.2% (22/145 ตัวอย่าง) ของจำนวนตัวอย่างน้ำเชื้อแช่แข็งที่ตรวจมีปริมาณ

แบคทีเรียอยู่ในค่าพิสัยต่ำกว่า 1,000 - 1,000 C. F. U./ml และน้ำเชื้อแช่แข็งที่ตรวจ 8.9% (13/145 ตัวอย่าง) มีปริมาณแบคทีเรียมากกว่า 100,000 C. F. U./ml (ตารางที่ 3) ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการศึกษานี้ ไม่สูงเกินกว่าค่าเฉลี่ยที่รายงานไว้ในเอกสารของ FAO (1981) และ O. I. E. (1984) คือ 10,000-60,000 C. F. U./ml

ด้วยเหตุที่ยังไม่เคยมีรายงานที่บ่งบอกว่า ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็ง มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อในด้านการผสมติด (Fertilizing ability) จึงไม่มีการกำหนดปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นมาตรฐานสากล ซึ่ง O. I. E. (1984) ได้รายงานว่า การค้าน้ำเชื้อแช่แข็งระหว่างประเทศนั้น ขึ้นอยู่กับประเทศผู้ซื้อ ว่าจะยอมรับมาตรฐานของน้ำเชื้อที่จะซื้อหรือไม่ การที่จะกำหนดคุณภาพน้ำเชื้อ ในด้านปริมาณแบคทีเรียให้เป็นมาตรฐานสากล สำหรับการค้าน้ำเชื้อระหว่างประเทศนั้น ต้องมีการกำหนดมาตรฐานของสถานที่ผลิต ตลอดจนมาตรการในการควบคุมศูนย์ผลิตน้ำเชื้อในแต่ละประเทศให้สอดคล้องกัน นอกจากนี้ ประเทศในกลุ่ม EC (European Communities) ได้ร่างมาตรการเกี่ยวกับการค้าน้ำเชื้อแช่แข็งโคในระหว่างประเทศสมาชิก เพื่อป้องกันการแพร่โรคติดต่อโดยผ่านทางน้ำเชื้อแช่แข็ง คือ Council Directive of 14 June 1988 laying down the animal health requirements applicable to intra-Community trade in and imports of deep-frozen semen of domestic animals of the bovine species (Council directive, 1988) ซึ่งเป็นการควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยกำหนดมาตรการควบคุมสุขภาพพ่อพันธุ์ของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อ และควบคุมการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยกำหนดมาตรการควบคุมสุขภาพพ่อพันธุ์ของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อ และควบคุมการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง แต่ก็ไม่ได้กำหนดมาตรฐานของปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็งไว้เช่นกัน

ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพยายามลดปริมาณแบคทีเรียในน้ำเชื้อแช่แข็งให้เหลือน้อยที่สุด เช่น การกำหนดมาตรการรักษาความสะอาดของการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง การเปลี่ยนชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ผสมน้ำยาละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้ ยาปฏิชีวนะที่ใช้ผสมน้ำยาละลายก่อนทำการแช่แข็งน้ำเชื้อ คือ Sodium Penicillin G และ Streptomycin Sulphate ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้มาตั้งแต่เริ่มมีการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งเมื่อ 40 ปีที่แล้ว เชื้อบางชนิดอาจมีการต้านยา (Foote and Braton, 1950; Almquist, 1951; Myers and Almquist, 1951; Ahmad and Foote, 1986; Ahmad et al., 1987) จากรายงานในระยะหลัง มีการทดลองใช้ยาปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ เช่น Lincomycin, Spectinomycin, Gentamycin เป็นต้น เพื่อทำลายเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่ Penicillin และ Streptomycin ไม่สามารถทำลายได้ เช่น Ureaplasma และ Mycoplasma (Ahmad and Foote, 1986; Ahmad et al., 1987) ดังนั้น การศึกษาเพิ่มเติม เพื่อแสวงหายาปฏิชีวนะที่ผสมในน้ำยาละลายน้ำเชื้อก่อนทำการแช่แข็ง ที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้มากขึ้น จะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดปริมาณแบคทีเรีย และเป็นการพัฒนาคุณภาพน้ำเชื้อในด้านความสะอาดได้ดียิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณวิสุทธิ์ ก๊กเจริญทรัพย์ ที่ช่วยในการจัดเตรียมเครื่องมือในการเพาะเชื้อแบคทีเรีย คุณสมชาย มาดหมาย และคุณวิชัย เมืองสมบูรณ์กุล ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อพ่อโค คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ รวมทั้งผู้ที่ไม่สามารถเอ่ยนามมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, K. and Foote, R. H. 1986. Posthaw survival and fertility of frozen bull spermatozoa treated with antibiotics and detergent. J. Dairy Sci. 69 : 535-541.

Ahmad, K., Foote, R. H. and Kaproth, M. 1987. Antibiotics for bull semen frozen in milk and egg yolk extender. J. Dairy Sci. 70 : 2439-2443.

Almquist, J. O. 1951. A comparison of penicillin, streptomycin and sulfanilamide for improving the fertility of semen from bulls of low fertility. J. Dairy Sci. 34 : 819.

Blom, E. and Dam, A. 1964. In : Animal Production and Health Paper. Disease Control in Semen and Embryos. Report of the expert consultation on animal disease control in international movement of semen and embryos. Held at FAO Headquarters, Rome. 23-27 February, 1981. 23 : 21-25.

Council Directive of June 1988. Laying down the animal health requirements applicable to intra-Cummunity trade in and imports of deep-frozen semen of domestic animals of the bovine species (88/407/EEC). Official Journal of the European Communities 22.7.88. No L 194/10-23.

F. A. O. 1981. Animal Production and Health Paper : Disease Control in Semen and Embryos. Report of the expert consultation on animal disease control in international movement of semen and embryos. Held at FAO Headquarters, Rome. 23-27 February, 1981. 23 : 21-25.

Foote, R. H. and Braton, R. H. 1950. The fertility of bovine semen in extenders containing sulfanilamide, penicilin, streptomycin and polymixin. J. Dairy Sci. 33 : 544.

I. S. O./TR 8607; 1991 : E. International Organization for Standardization. Artificial Insemination of Animals-Frozen Semen of Breeding Bulls-Enumeration of Living Aerobic Micro-organisms. Technical Report 1 st Ed. 1991-05-01.

Marinov, P., Balchow, M. and Zagorski, D. 1966. In : FAO Animal Production and Health Paper. Disease control in semen and embryos. Report of the expert consultation on animal disease control in international movement of semen and embryos. FAO headquarters, Rome 23-27 February, 1981 : 22.

Myers, R. M. and Almquist, J. O. 1951. a comparison of the effects of aureomycin, penicillin and streptomycin upon spermatozoa livability and control of bacteria in bovine semen. J. Anim. Sci. 10 : 322.

Nibart, M. 1977. In : Office International des Epizooties : Aujeszky's Disease; Genital Disease of Cattle. London recommendations Zoo-sanitary situation. 11th Conference of the O. I. E. Regional Commission for Europe, Vienna, 25-28 September 1984 Agenda item II Genital Disease of Cattle : 190-196.

Nowakowski, W., Wierzbowski, S. 1980. In : FAO Animal Production and Health Paper. Disease control in semen and embryos. Report of the expert consultation on animal disease control in international movement of semen and embryos. FAO headquarters, Rome 23-27 February, 1981.

O. I. E. 1984. Office International des Epizooties : Aujeszky's Disease; Genital disease of Cattle. London recommendations Zoo-sanitary situation. 11th Conference of the O. I. E. Regional Commission for Europe, Vienna, 25-28 September 1984 Agenda item II Genital Disease of Cattle, p. 190-196.

Wierzbowski, S. 1981. In : Office International des Epizooties : Aujeszky's Disease; Genital Disease of Cattle. London recommendations Zoo-sanitary situat[illegible] Conference of the O. I. E. Regional commission for Europe, Vienna, 25-28 Septe[illegible]984 Agenda item II Genital Disease of Cattle.

Wierzbowski, S. and D. Szmyd. 1976. In : FAO Animal Production and Health Paper. Disease control in semen and embryos. Report of the expert consultation onanimal disease control in international movement of semen and embryos. FAO headquarters, Rome 23-27 February, 1981 : 22.

Woloskow, P. A. 1953. In : FAO animal Production and Health Paper. Disease control in semen and embryos. Report of the expert consultation onanimal disease control in international movement of semen and embryos. FAO headquarters, Rome 23-27 February, 1981 : 22.

Study on the Numbers of Bacteria in Undiluted and Frozen Bull Semen

Rapiphan Uavechanichkul [1] Parishat Sukhato [1] Sasitorn Kanarat [2]

Abstract

Semen from AI bulls in Pathumthani Artificial Insemination Centre were studied for the numbers of bacteria found in the ejaculates. The average bacterial numbers found in the undiluted semen of 241 ejaculates was 753,112 ± 75,600 C. F. U./ml ranging from 1,000-4,840,000 C. F. U./ml. The average bacterial numbers found in the 145 samples of deep frozen semen was 40,972 ± 7,400 C. F. U./ml ranging from less than 1,000-585,000 C. F. U./ml. The average numbers of the deep frozen semen studied is in the range of 10,000-60,000 C. F. U./ml reported by the FAO in 1981 and by the O. I. E. (Office International de Epizooties) in 1984.

Key words : bacterial numbers, undiluted bull semen, frozen bull semen.

[1] Artificial Insemination Division. Department of Livestock Development, Phyathai Bangkok 10400
[2] Veterinary Public Health Division. Department of Livestock Development; Phyathai Bangkok 10400