รายงานวิจัย

เรื่อง

ผลของปฏิชีวนะบางชนิดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

Effects of some antibiotics in diluent on quality of boar semen

เลขหมู่ SF394.9 .M64 2543 ฉ.1
Bib Key 225293

โดย

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน

ทวีศักดิ์ นิยมบัณฑิต

ดวงกมล เจริญกุล

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

ดำเนินการสำรวจหาชนิดของแบคทีเรียในถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและในน้ำเชื้อพ่อสุกร 49 ตัว ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในภาคใต้ โดยเก็บตัวอย่างแล้วนำมาเพาะเชื้อ ผลปรากฏว่า ในถุงตันมีเชื้อที่พบดังต่อไปนี้ *Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus coagulase neggative, Corynebacteium spp., Providencia stuartii* และ *Acinetobactor junii* (63.3%; 42.9% 40.8%, 30.6%, 22.4%, 20.4%, 18.4% และ 12.2% ตามลำดับ) ส่วนในน้ำเชื้อพบ *Acinetobactor baumannii, Acinetobactor junii, Sphingobacterium spp., Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium spp.* และ *Staphylococcus coagulase negative* (44.9%, 36.7%, 28.6%, 28.6%, 16.3%, และ 14.3% ตามลำดับ)

เชื้อที่พบส่วนใหญ่มีความไวต่อเซพตาซิดีม, อีมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน เชื้อ *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis* และ *Providencia stuartii* มีความไวสูงต่อยาทุกชนิดที่ทดสอบ (อะมิกาซิน, เซพตาซิดีม, เจนต้ามัยซิน, อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน) โดยมีการตอบสนองร้อยละ 88.89-100.00 ซึ่งส่วนใหญ่จะมีความไวร้อยละ 100.00 ส่วนกลุ่มเชื้อที่มีความไวต่อยาบางชนิดสูงและบางชนิดต่ำได้แก่ *Acinetobactor baumannii, Acinetobactor junii, Pseudomonas aeruginosa* และ *Sphingobacterium spp.*

ในจำนวนปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบการควบคุมเชื้อบักเตรีในน้ำเชื้อและผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ พบว่า ทั้งซัลเพอราโซน, แวนโคมัยซิน และ อีมิเพเนม สามารถควบคุมเชื้อให้อยู่ในระดับต่ำได้ใน 3 วันที่ทดสอบการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีจำนวนบักเตรีเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บไว้

ซัลเพอราโซล สามารถลดจำนวนโคโลนีของบักเตรีลงจาก $154,850.84 \pm 56,877.24 \times 10^3$ ในกลุ่มควบคุม เป็น $17.80 \pm 5.15 \times 10^3$, $2.08 \pm 6.11 \times 10^3$ และ $16.02 \pm 5.53 \times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ในขนาดตั้งแต่ 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ ($p < 0.01$) ส่วนในแวนโคมัยซินพบว่าจำนวนบักเตรีในกลุ่มควบคุม ($2,180.28 \pm 1025.95 \times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) มีค่าสูงกว่าจำนวนบักเตรีที่ผสมแวนโคมัยซิน ($5.50 \pm 1.27 \times 10^3$, $9.57 \pm 3.99 \times 10^3$ และ $4.93 \pm 1.88 \times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ในตัวอย่างจำนวน 1, 2 และ 4 MIC ตามลำดับ, $p < 0.01$) และในน้ำเชื้อที่มีอีมิเพแนมในขนาด 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC มีปริมาณบักเตรี 3.97 ± 1.19, 3.66 ± 1.00 และ $2.06 \pm 0.62 \times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($130.56 \pm 40.34 \times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร, $p < 0.01$)

แวนโคมัยซิน และ อีมิเพเนม ไม่มีผลกระทบต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิสุกร ยกเว้นในซัลเพอราโซนซึ่งทำให้ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ (28.47 ± 2.60, 26.39 ± 2.63 และ 25.42 ± 3.00 ในกลุ่มที่ผสมซัลเพอราโซลในขนาดตั้งแต่ 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ) น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม (38.89 ± 1.35, $p < 0.01$) และค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่เก็บรักษา

รายงานการวิจัยนี้บ่งชี้ได้ว่า บักเตรีที่พบในน้ำเชื้อและในถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตสุกร มีความหลากหลายซึ่งอาจแตกต่างจากรายงานจากการสำรวจจากแหล่งอื่นๆ ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญในการตรวจสอบเชื้อและหาความไวของเชื้อต่อปฏิชีวนะ เพื่อสามารถเลือกใช้ปฏิชีวนะให้เหมาะสมได้ต่อไป

Abstract

Samples from prepuce and semen were collected from 49 boars in a private farm and submitted for bacterial culture. The results show that the bacteria found in prepuce were *Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus Coagulase negative, Corynebacteium spp., Providencia stuartii* and *Acinetobactor junii* (63.3%; 42.9% 40.8%, 30.6%, 22.4%, 20.4%, 18.4% and 12.2% respectively). The bacterias found in semen were *Acinetobactor baumannii, Acinetobactor junii, Sphingobacterium spp., Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium spp.* and *Staphylococcus coagulase negative* (44.9%, 36.7%, 28.6%, 28.6%, 16.3%, and 14.3%, respectively).

Most of the bacteria found were sensitive to ceptazidime, imepenem and sulperazone. The first group of bacteria, *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis* and *Providencia stuartii* was highly sensitive (ranged 99.89 to 100.00 %) to every antibiotics tested (amigacin, ceptazidime, gentamycin, imepenem and sulperazone). The other group (*Acinetobactor baumannii, Acinetobactor junii, Pseudomonas aeruginosa* and *Sphingobacterium spp.*) had variable response to the antibiotics.

The number of bacterial colony in semen samples supplemented with sulperazone, vancomycin or imepenem was low in every concentration tested. On the other hand, the number of bacterial colony in control group gradually increased with time.

The number of bacterial colony in semen samples in control group (154,850.84 $\pm$ 56,877.24 $\times$ 10^3 colony/ml) was significantly higher than those of supplemented with sulperazone (17.80 $\pm$ 5.15 $\times$ 10^3, 2.08 $\pm$ 6.11 $\times$ 10^3 and 16.02 $\pm$ 5.53 $\times$ 10^3 colony/ml in samples supplemented with 1, 2 and 4 MIC of sulperazone respectively, $p < 0.01$). Vancomycin reduced the number of bacterial colony from 2,180.28 $\pm$ 1025.95 $\times$ 10^3 colony/ml in control group to 5.50 $\pm$ 1.27 $\times$ 10^3, 9.57 $\pm$ 3.99 $\times$ 10^3 and 4.93 $\pm$ 1.88 $\times$ 10^3 colony/ml in samples supplemented with 1, 2 and 4 MIC of vancomycin respectively, $p < 0.01$). For imepenem, the number of bacterial colony in semen samples supplemented with 1, 2 and 4 MIC of imepenem (3.97 $\pm$ 1.19, 3.66 $\pm$ 1.00 and 2.06 $\pm$ 0.62 $\times 10^3$ colony/ml

respectively) was significantly lower than that of control (130.56 $\pm$ 40.34 $\times 10^3$ colony/ml, $p < 0.01$)

Both vancomycin and imipemen had no effect on sperm motility. Sulperazone, however, depressed sperm motility from 38.89 $\pm$ 1.35 in control group to 28.47 $\pm$ 2.60, 26.39 $\pm$ 2.63 and 25.42 $\pm$ 3.00 in semen samples supplemented with 1, 2 and 4 MIC of sulperazone ($p < 0.01$). There was a trend that sperm motility decreased with time of storage.

It was indicated that bacteria found in this report are slightly differ from other reports. This also indicates the importance of survey of bacterial distribution and sensitivity test may be needed before an antibiotic is recommended to be used in boar semen in a particular area.

สารบาญ

บทคัดย่อ I
ABSTRACT III
สารบาญ V
สารบาญตาราง VI
สารบาญรูป VII
บทนำ 1
อุปกรณ์และวิธีการ 3
น้ำเชื้อและการรีดเก็บน้ำเชื้อ 3
การตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ 3
การเพาะเชื้อ 4
การนับจำนวนบักเตรี 4
การเจือจางน้ำเชื้อ 5
การทดลองที่ 1 ชนิดของบักเตรีที่มีในหนังหุ้มองคชาตสุกร 5
การทดลองที่ 2 ผลของซัลเพอราโซนในสารเจือจางน้ำเชื้อ 5
การทดลองที่ 3 ผลของแวนโคมัยซินในสารเจือจางน้ำเชื้อ 6
การทดลองที่ 4 ผลของอีมิเพเนมในสารเจือจางน้ำเชื้อ 6
การวิเคราะห์ข้อมูล 6
ผลการทดลอง 7
การทดลองที่ 1 ชนิดของบักเตรีที่มีในหนังหุ้มองคชาตสุกร 7
การทดลองที่ 2 ผลของซัลเพอราโซนในสารเจือจางน้ำเชื้อ 15
การทดลองที่ 3 ผลของแวนโคมัยซินในสารเจือจางน้ำเชื้อ 17
การทดลองที่ 4 ผลของอีมิเพเนมในสารเจือจางน้ำเชื้อ 19
วิจารณ์ 21
กิตติกรรมประกาศ 23
บรรณานุกรม 24

สารบาญตาราง

ตารางที่ 1 อัตราการพบเชื้อในถุงตันที่หนังหุ้มองคชาต.....7

ตารางที่ 2 อัตราการพบเชื้อในน้ำเชื้อ.....8

ตารางที่ 3 อัตราการปนเปื้อนของเชื้อจากถุงตันมายังน้ำเชื้อ (พบเชื้อทั้งในถุงตันและในน้ำเชื้อ).....8

ตารางที่ 4 อัตราการลดการปนเปื้อนของเชื้อจากถุงตันมายังน้ำเชื้อ (พบเชื้อในถุงตันแต่ไม่พบในน้ำเชื้อ).....9

ตารางที่ 5 อัตราการพบเชื้อในน้ำเชื้อที่ปนเปื้อนมาจากส่วนอื่นๆ นอกจากถุงตัน (พบเชื้อในน้ำเชื้อแต่ไม่พบในถุงตัน).....9

ตารางที่ 6 จำนวนบักเตรี (10^3/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) ในน้ำเชื้อที่ผสมซัลเพอราโซลในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC.....16

ตารางที่ 7 จำนวนบักเตรี (10^3/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) ในน้ำเชื้อที่ผสมแวนโคมัยซิน ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC.....18

ตารางที่ 8 จำนวนบักเตรี (10^3/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) ในน้ำเชื้อที่ผสมอีมิเพเนม ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC.....20

สารบาญรูป

รูปที่ 1 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Acinetobactor baumannii* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=24) 11

รูปที่ 2 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Acinetobactor junii* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=25) 11

รูปที่ 3 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *E. coli* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=23) 12

รูปที่ 4 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=17) 12

รูปที่ 5 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=36) 13

รูปที่ 6 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Providencia stuartii* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=9) 13

รูปที่ 7 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=34) 14

รูปที่ 8 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Sphingobacterium spp.* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=39) 14

รูปที่ 9 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Staphylococcus coagulase negative* ต่อเซฟาโลธิน โคไตรม็อกซาโซล อีริโธรมัยซิน ออกซาซิลลิน และ แวนโคมัยซิน (n=18) 15

รูปที่ 10 ร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในน้ำเชื้อที่ผสมซัลเพอราโซล ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC 17

รูปที่ 11 ร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในน้ำเชื้อที่ผสมแวนโคมัยซิน ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC 18

ผลของปฏิชีวนะบางชนิดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

Effects of some antibiotics in diluent on quality of boar semen

บทนำ

ในปัจจุบันการผสมเทียมสุกรได้เข้ามามีบทบาทเป็นอย่างสูงในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร โดยพบว่าฟาร์มของบริษัทตั้งแต่ระดับกลางจนถึงระดับใหญ่ได้หันมาใช้การผสมเทียมสุกรเป็นหลัก แทนการผสมตามธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากให้ผลในการผสมดี ค่าใช้จ่ายถูกลง ใช้พ่อสุกรที่มีคุณสมบัติดีเลิศได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสะดวกในการจัดการ

การรีดเก็บน้ำเชื้อสามารถเกิดการปนเปื้อนของบักเตรีลงไปได้ง่าย ได้มีการตรวจพบบักเตรีหลายชนิดในน้ำเชื้อโค ซึ่งผู้ปฏิบัติสามารถช่วยลดการปนเปื้อนลงได้โดยการทำความสะอาดหนังหุ้มองคชาตก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อ (Bearden and Fuquay, 2000) อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการป้องกันบักเตรีที่อาจปนเปื้อนในน้ำเชื้อจึงเป็นที่นิยมในการเติมปฏิชีวนะลงในสารเจือจางน้ำเชื้อเสมอ

กรณีของสุกร การผสมเทียมมักใช้น้ำเชื้อสด (พีระศักดิ์, 2526) ซึ่งเก็บไว้ใช้ได้ในระยะเวลา 2-3 วัน (พีรศักดิ์, 2528) ในกระบวนการเตรียมน้ำเชื้อสดในสุกรนั้น การรีดเก็บน้ำเชื่อสุกรเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ เนื่องจากเป็นที่ทราบกันดีว่าสุกรมีถุงตันอยู่ที่หนังหุ้มองคชาต และถุงนี้เป็นที่สะสมของบักเตรีและสิ่งสกปรกจำนวนมาก และในกระบวนการรีดเก็บน้ำเชื้อสุกรโดยทั่วไปมักไม่มีการทำความสะอาดถุงหุ้มองคชาตก่อนการรีดเก็บ ในขณะเดียวกันได้มีการเติมปฏิชีวนะลงในสารเจือจางน้ำเชื้อโดยไม่ทราบว่ามีเชื้ออะไรที่อยู่ในถุงหุ้มองคชาต มีการปนเปื้อนในน้ำเชื้อมากน้อยเพียงใด และปฏิชีวนะที่เติมลงไปเหมาะสมกับการควบคุมบักเตรีหรือไม่ นอกจากนั้นยังมีข้อมูลของผลกระทบของปฏิชีวนะที่มีต่ออสุจิสุกรน้อยมาก

การใช้ปฏิชีวนะเติมลงในสารเจือจางน้ำเชื้อหากดำเนินการอย่างไม่เหมาะสมอาจไม่มีผลในการควบคุมเชื้อ ไม่เกิดประโยชน์ เป็นการสิ้นเปลือง อาจเกิดการดื้อยา และผลเสียอื่นๆ ตามมาได้

ในน้ำเชื้อสุกรที่ใช้ในการผสมเทียมนั้น อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อบักเตรีในขั้นตอนการรีดเก็บน้ำเชื้อ ซึ่งน้ำเชื้อที่ปนเปื้อนอาจทำให้มีอัตราการผสมติดลดต่ำลงและเกิดการติดเชื้อโรทางเดินระบบสืบพันธุ์ได้ ในประเทศไทยยังไม่มีการสำรวจถึงชนิดของเชื้อที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อสุกร จึงทำให้ไม่สามารถเลือกใช้ทั้งชนิดและปริมาณของปฏิชีวนะที่เหมาะสมในการผสมลงในสารเจือจางน้ำเชื้อสุกรได้

Sone *et al.* (1982) ได้ทำการศึกษาถึงผลของปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ในการควบคุมเชื้อบักเตรีในน้ำเชื้อสุกร ในประเทศญี่ปุ่น พบว่าชนิดของเชื้อบักเตรีที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อได้บ่อยๆ คือ *Pseudomonas spp., Micrococcus spp., Staphylococcus spp., Klebsiella spp.* และ *E. coli* ตามลำดับ และปฏิชีวนะที่ให้ผลดีในการควบคุมก็คือ ไดบีกาซิน, อะมิกาซิน และ เจนต้ามัยซิน

การใช้ปฏิชีวนะในสารเจือจางน้ำเชื้อสุกรนั้น ได้มีการแนะนำไว้กว้างๆ ว่าอาจใช้ เพนิซิลลิน, สเตรพโตมัยซิน หรือ เจนต้ามัยซิน (Gordon, 1997) แต่ยังไม่มีข้อมูลเชื้อบักเตรีที่ปรากฏในน้ำเชื้อของสุกรที่ใช้อยู่โดยทั่วไปในประเทศไทย ดังนั้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดเชื้อและการใช้ปฏิชีวนะเติมลงในสารเจือจางน้ำเชื้อในประเทศไทยจึงมีความสำคัญและจำเป็นต้องทราบก่อนที่จะมีการใช้ปฏิชีวนะได้อย่างถูกต้องและเป็นประโยชน์สูงสุด และสามารถนำมาใช้เพื่อการพัฒนาการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่เหมาะสมต่อไป

ในปัจจุบันการผสมเทียมสุกรได้เข้ามามีบทบาทเป็นอย่างสูงในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร โดยพบว่าฟาร์มของบริษัทตั้งแต่ระดับกลางจนถึงระดับใหญ่ ได้หันมาใช้การผสมเทียมสุกรเป็นหลัก แทนการผสมตามธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากให้ผลในการผสมดี ค่าใช้จ่ายถูกลง ใช้พ่อสุกรที่มีคุณสมบัติดีเลิศได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสะดวกในการจัดการ

การรีดเก็บน้ำเชื้อสามารถเกิดการปนเปื้อนของบักเตรีลงไปได้ง่าย ได้มีการตรวจพบบักเตรีหลายชนิดในน้ำเชื้อโค ซึ่งผู้ปฏิบัติสามารถช่วยลดการปนเปื้อนลงได้โดยการทำความสะอาดหนังหุ้มองคชาตก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อ (Bearden and Fuquay, 2000) อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการป้องกันบักเตรีที่อาจปนเปื้อนในน้ำเชื้อจึงเป็นที่นิยมในการเติมปฏิชีวนะลงในสารเจือจางน้ำเชื้อเสมอ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อ ก) เพื่อศึกษาชนิดของบักเตรีที่มีในหนังหุ้มองคชาตสุกร ข) เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ปฏิชีวนะผสมลงในสารเจือจางน้ำเชื้อสุกร ค) เพื่อศึกษาผลกระทบของการใช้ปฏิชีวนะที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

อุปกรณ์และวิธีการ

น้ำเชื้อและการรีดเก็บน้ำเชื้อ

การรีดเก็บน้ำเชื้อทำในสุกรโตเต็มวัยซึ่งได้รับการฝึกรีดเก็บน้ำเชื้อแล้ว และเป็นสุกรที่เลี้ยงอยู่ในฟาร์มเอกชนและที่เลี้ยงในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ทดลอง ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ การรีดเก็บทำในช่วงเช้าของแต่ละวันที่จะทำการทดลอง โดยใช้วิธีมือร่วมกับหุ่น (พีรศักดิ์, 2528) และใช้แก้วปากกว้างที่มีขีดวัดปริมาตรอย่างคร่าวๆ เป็นตัวรองรับน้ำเชื้อเพื่อสะดวกในการวัดปริมาตร ในกรณีที่ต้องการเก็บตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาต ให้บีบไล่ของเหลวออกจากถุงตันบริเวณหนังหุ้มองคชาตก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อ ทำการไล่ของเหลวจากถุงตันในหนังหุ้มองคชาตออกให้หมด แล้วดำเนินการทำความสะอาดบริเวณหนังหุ้มองคชาต ตัวองคชาต และมือของผู้รีดน้ำเชื้อ โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.7% ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู หลังจากนั้นทำการรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อสุกร เมื่อรีดเก็บได้แล้วนำน้ำเชื้อใส่ในกระติกควบคุมอุณหภูมิเพื่อนำมายังห้องปฏิบัติการ กรณีที่มีการรีดเก็บหลายตัวอย่าง ในทุกครั้งที่รีดเก็บได้ใช้เวลารวมกันไม่เกิน 45 นาที ตั้งแต่รีดเก็บจนนำน้ำเชื้อมาถึงห้องทดลอง

ในเบื้องต้นนำน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้มาหล่อเลี้ยงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37°เซลเซียส ทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น ได้แก่

1. **ปริมาตร** โดยดูจากขีดวัดปริมาตรที่หลอดเก็บน้ำเชื้อ
2. **การเคลื่อนที่** (motility) หยดน้ำเชื้อลงบนกระจกส่องกล้องจุลทรรศน์ โดยไม่ทำการปิดกระจกบางทับ ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 150 เท่า ประมาณการเคลื่อนที่ด้วยสายตาแบ่งออกเป็น 11 ระดับ ตั้งแต่ 0 จนถึง 10 โดยค่า 10 เป็นค่าที่ดีที่สุด และ 0 เป็นค่าที่ต่ำที่สุด
3. **ความเข้มข้น** (concentration) ตรวจความเข้มข้นโดยใช้วิธีนับโดยใช้เครื่องนับเม็ดเลือดแดง (พีรศักดิ์, 2528)

ทำการคัดเลือกเฉพาะน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดี โดยดูภาพรวมจากคุณภาพน้ำเชื้อข้างต้นเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

การตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่

การตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ในแต่ละการทดลอง เป็นการตรวจในสภาพที่น้ำเชื้อได้รับการเจือจางแล้ว ดังนั้นจึงทำการตรวจการเคลื่อนที่โดยใช้ปิเปทดูดน้ำเชื้อ 50 ไมโครลิตร หยดลงบนกระจก

ส่องกล้องจุลทรรศน์ ใช้กระจกบางขนาด 22X22 มม. ปิดทับ โดยใช้ความระมัดระวังให้กระจกบางปิดทับทุกส่วนของน้ำเชื้อและไม่มีฟองอากาศอยู่ภายใต้กระจกบางหลังจากที่ได้ทำการปิดทับแล้ว ทั้งนี้เพื่อให้มีความหนาของน้ำเชื้อในการส่องตรวจมีค่าคงที่และเพื่อลดความแปรปรวนในการประมาณค่าการเคลื่อนที่ การปฏิบัติดังกล่าวจะได้ความหนา (ความสูง) ของน้ำเชื้อที่ใช้ตรวจประมาณ 103 ไมครอน ซึ่งจะได้ค่าไม่ต่ำกว่า 60 ไมครอน เพื่อลดการรบกวนการว่ายในแนวตั้งของอสุจิตามที่ได้แนะนำไว้ (Rickmenspoel, 1962) อุปกรณ์ทุกชนิดที่ใช้เกี่ยวกับน้ำเชื้อได้ทำการอุ่นและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 37°เซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ หลังจากนั้นส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 150 เท่า ประมาณการเคลื่อนที่ด้วยสายตาแบ่งออกเป็น 0 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขั้นเพิ่มครั้งละ 10 เปอร์เซ็นต์ ได้ทำการบันทึกภาพเคลื่อนไหวด้วยเครื่องบันทึกภาพเคลื่อนไหวซึ่งต่อกับกล้องจุลทรรศน์เพื่อการตรวจซ้ำในกรณีที่ต้องการยืนยันผล

การเพาะเชื้อ

ก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากถุงต้นในหนังหุ้มองคชาต จำนวน 3 มิลลิลิตร โดยใช้แรงดันที่หนังหุ้มองคชาตบีบไล่ให้ของเหลวในถุงต้นไหลออกมา และใช้ขวดเก็บตัวอย่างที่ปราศจากเชื้อรองรับของเหลว โดยใช้ความระมัดระวังมิให้เกิดการปนเปื้อนของบักเตรีลงในขวด ปิดฝาขวดให้แน่นและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4°เซลเซียส

สุ่มตัวอย่างน้ำเชื้อหลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อแล้ว โดยเขย่าขวดน้ำเชื้อเบาๆ แล้วสุ่มตัวอย่างน้ำเชื้อ 3 มิลลิลิตรใส่ในขวดเก็บตัวอย่างที่ปราศจากเชื้อ ปิดฝาขวดให้แน่น นำน้ำเชื้อและของเหลวจากถุงต้นที่หนังหุ้มองคชาต ที่เก็บได้ใส่ไว้ในกล่องโฟมที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4°เซลเซียส ก่อนที่จะนำมายังห้องปฏิบัติการเพาะเชื้อ และทำการเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ ที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์

การนับจำนวนบักเตรี

ในการทดลองที่ 2-5 ได้ทำการทำการเพาะเชื้อและนับบักเตรีในตัวอย่าง การสุ่มตัวอย่างเพื่อเพาะเชื้อได้กระทำดังที่อธิบายไว้ข้างต้น และนำตัวอย่างมาเพาะเชื้อและนับบักเตรีที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ด้วยวิธี spread plate ซึ่งมีวิธีการโดยย่อคือ นำตัวอย่างมาเจือจางหลายระดับ แล้วนำตัวอย่างจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ ทำการกระจายตัวอย่างบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่ว และนำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35°เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ขั้นตอนต่างๆ นี้ทำโดยกระบวนการปราศจากเชื้อ หลังจากที่ได้บ่มไว้ 24 ชั่วโมงแล้วทำการนับจำนวนโคโลนีที่เจริญขึ้น แล้วคำนวนกลับเป็นจำนวนโคโลนีที่พบต่อตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร

การเจือจางน้ำเชื้อ

ทำการเจือจางน้ำเชื้อสุกรที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว โดยใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร บีทีเอส (BTS) ซึ่งประกอบด้วย กลูโคส 37 กรัม, อีดีทีเอ 1.25 กรัม, โซเดียมซิเตรท 6 กรัม, โซเดียมไบคาร์บอเนท 1.25 กรัม, โปเทสเซียมคลอไรด์ 0.75 กรัม และ น้ำกลั่น 1 ลิตร (Pursel and Johnson, 1975)

ทำการเจือจางในอัตราส่วน 1:1 (น้ำเชื้อ:สารเจือจาง) ที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เมื่อต้องการเก็บน้ำเชื้อไว้ ให้ทำการลดอุณหภูมิลงมาที่ 18°เซลเซียส โดยใส่หลอดน้ำเชื้อในแก้วบรรจุน้ำอุ่น 37° เซลเซียส และนำไปลดอุณหภูมิในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18°เซลเซียส

การทดลองที่ 1 ชนิดของบักเตรีที่มีในหนังหุ้มองคชาตสุกร

การศึกษาทำในฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในภาคใต้ โดยคัดเลือกพ่อสุกรที่ได้รับการฝึกรีดเก็บน้ำเชื้อไว้แล้วและใช้ในงานการผสมเทียมเป็นประจำ ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากถุงต้นที่หนังหุ้มองคชาตและรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อสุกรพันธุ์ดูร็อคจำนวน 49 ตัว ตามที่ได้อธิบายไว้แล้ว โดยเริ่มทำการทดลองตั้งแต่เวลาประมาณ 6.00 น. ก่อนที่จะทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากถุงต้นที่หนังหุ้มองคชาต จำนวน 3 มิลลิลิตร โดยใช้แรงดันให้ของเหลวไหลออกมาและใช้ขวดปราศจากเชื้อรองรับของเหลวที่ออกมา โดยใช้ความระมัดระวังมิให้เกิดการปนเปื้อนของบักเตรีลงในขวดเก็บตัวอย่าง เสร็จแล้วปิดฝาขวดให้แน่น ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4°เซลเซียส และสุ่มตัวอย่างน้ำเชื้อตามที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น การรีดน้ำเชื้อ สุ่มตัวอย่างและเพาะเชื้อ ทำในสุกรวันละ 3-5 ตัว และนำไปเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ ทำจนได้ตัวอย่างของเหลวและน้ำเชื้ออย่างละ 49 ตัวอย่าง การเดินทางจากฟาร์มถึงห้องปฏิบัติการใช้เวลาประมาณ 45 นาที

การทดลองที่ 2 ผลของซัลเพอราโซนในสารเจือจางน้ำเชื้อ

การทดลองวางแผนโดยใช้น้ำเชื้อจากพ่อสุกรรวม 3 ชุด นำมาเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อบีทีเอสในอัตราส่วน 1:1 แบ่งน้ำเชื้อออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ซ้ำ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่ 2, 3 และ 4 มีซัลเพอราโซนผสมอยู่ที่ความเข้มข้น 1 เท่า, 2 เท่า และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ ซึ่งการคำนวณค่า MIC ใช้ความเข้มข้นซัลเพอราโซน 1 MIC มีค่า 128 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ทำการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อลงมาที่ 18°เซลเซียส โดยใส่หลอดน้ำเชื้อในแก้วบรรจุน้ำอุ่น 37° เซลเซียส และนำไปลดอุณหภูมิในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18°เซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที หลังจากลดอุณหภูมิแล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาอุ่นที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เพื่อทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อและเพาะเชื้อเพื่อตรวจนับปริมาณบักเตรีในวันที่ 0, 1 และ 3 ตามวิธีการที่ได้อธิบายไว้แล้ว

การทดลองที่ 3 ผลของแวนโคมัยซินในสารเจือจางน้ำเชื้อ

ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อสุกรรวม 3 ชุด นำน้ำเชื้อแต่ละชุดมาเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อบีทีเอสในอัตราส่วน 1:1 แบ่งน้ำเชื้อแต่ละชุดออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ซ้ำ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ 2, 3 และ 4 มีแวนโคมัยซินผสมอยู่ที่ความเข้มข้น 1 เท่า, 2 เท่า และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ (1 MIC ของแวนโคมัยซินมีค่า 4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ทำการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อลงมาที่ 18°เซลเซียส ตามการทดลองที่ 2 หลังจากลดอุณหภูมิแล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาอุ่นที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เพื่อทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อและเพาะเชื้อเพื่อตรวจนับปริมาณบักเตรีในวันที่ 0, 1 และ 3 ตามวิธีการที่ได้อธิบายไว้แล้ว

การทดลองที่ 4 ผลของอีมิเพเนมในสารเจือจางน้ำเชื้อ

นำน้ำเชื้อจากพ่อสุกรรวม 3 ชุด มาเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อบีทีเอสในอัตราส่วน 1:1 แบ่งน้ำเชื้อแต่ละชุดออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ซ้ำ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม, ส่วนในกลุ่มที่ 2, 3 และ 4 มีอีมิเพเนม ผสมอยู่ที่ความเข้มข้น 1 เท่า, 2 เท่า และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ โดยคำนวณค่า MIC จากค่าความเข้มข้นอีมิเพเนม 1 MIC เท่ากับ 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ลดอุณหภูมิน้ำเชื้อลงมาที่ 18°เซลเซียส โดยใส่หลอดน้ำเชื้อในแก้วบรรจุน้ำอุ่น 37°เซลเซียส และนำไปลดอุณหภูมิในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 18°เซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที หลังจากลดอุณหภูมิแล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาอุ่นที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เพื่อทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อและเพาะเชื้อเพื่อตรวจนับปริมาณบักเตรีในวันที่ 0, 1 และ 3 ตามวิธีการที่ได้อธิบายไว้แล้ว

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์อัตราการกระจายของเชื้อที่พบในถุงต้นของหนังหุ้มองคชาตและอัตราการปนเปื้อนจากถุงต้นลงมายังน้ำเชื้อ โดยแสดงเป็นค่าร้อยละของการพบเชื้อชนิดต่างๆ ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ และปริมาณบักเตรีในน้ำเชื้อและในถุงต้น นำมาทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดย Duncan's multiple range test (Steel and Torrie, 1980)

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ชนิดของบักเตรีที่มีในหนังหุ้มองคชาตสุกร

จากการสำรวจพบว่า ในถุงตันมีเชื้อ *Proteus mirabilis* มากที่สุด (31 ตัวอย่าง, 63.3%, ตารางที่ 1) เชื้อที่พบรองลงมาคือ *Pseudomonas aeruginosa* พบใน 21 ตัวอย่าง (42.9%), *E. coli* พบใน 20 ตัวอย่าง (40.8%), *Klebsiella pneumoniae* พบใน 15 ตัวอย่าง (30.6%), ส่วนเชื้ออื่นๆ พบน้อยลงตามลำดับคือ *Staphylococcus coagulase negative* (11 ตัวอย่าง, 22.4%), *Corynebacteium spp.* (10 ตัวอย่าง, 20.4%), *Providencia stuartii* (9 ตัวอย่าง, 18.4%) และ *Acinetobactor junii* (6 ตัวอย่าง, 12.2%)

ตารางที่ 1 อัตราการพบเชื้อในถุงตันที่หนังหุ้มองคชาต

เชื้อ	จำนวนตัวอย่าง	ร้อยละ
Proteus mirabilis	31	63.3
Pseudomonas aeruginosa	21	42.9
E. coli	20	40.8
Klebsiella pneumoniae	15	30.6
Stap. coagulase negative	11	22.4
Corynebacterium spp.	10	20.4
Providencia stuartii	9	18.4
Acinetobactor junii	6	12.2

ส่วนในน้ำเชื้อพบว่าเชื้อที่พบมากที่สุดคือ *Acinetobactor baumannii* พบจำนวน 22 ตัวอย่าง คิดเป็น 44.9% (ตารางที่ 2) รองลงมาคือ *Acinetobactor junii* พบจำนวน 18 ตัวอย่าง (44.9%) นอกจากนั้นพบเชื้ออื่นๆ คือ *Sphingobacterium spp.* (14 ตัวอย่าง, 28.6%), *Pseudomonas aeruginosa* (14 ตัวอย่าง, 28.6%), *Corynebacterium spp.* (8 ตัวอย่าง, 16.3%) และ *Staphylococcus coagulase negative* (14 ตัวอย่าง, 14.3%)

เมื่อพิจารณาถึงเชื้อที่พบทั้งในถุงตันและในน้ำเชื้อซึ่งแสดงว่า เชื้อสามารถผ่านจากถุงตันมายังน้ำเชื้อได้พบว่า *Pseudomonas aeruginosa* พบในน้ำเชื้อ 8 ตัวอย่าง จากที่พบเชื้อในถุงตัน 21 ตัวอย่าง (38.1%) หรือคิดเป็น 16.3% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 3) ในทำนองเดียวกันพบ *Proteus mirabilis* จำนวน 4 ตัวอย่าง จากที่พบเชื้อในถุงตัน 31 ตัวอย่าง (12.9%)

ตารางที่ 2 อัตราการพบเชื้อในน้ำเชื้อ

เชื้อ	จำนวนตัวอย่าง	ร้อยละ
Acinetobactor baumannii	22	44.9
Acinetobactor junii	18	36.7
Sphingobacterium spp.	14	28.6
Pseudomonas aeruginosa	14	28.6
Corynebacterium spp.	8	16.3
Stap. coagulase negative	7	14.3

ตารางที่ 3 อัตราการปนเปื้อนของเชื้อจากถุงตันมายังน้ำเชื้อ (พบเชื้อทั้งในถุงตันและในน้ำเชื้อ)

เชื้อ	จำนวนตัวอย่างที่พบในน้ำเชื้อ	จำนวนตัวอย่างที่พบในถุงตัน	ร้อยละ	ร้อยละของ 49 ตัวอย่าง
Pseudomonas	8	21	38.1	16.3
Proteus mirabilis	4	31	12.9	8.2

อัตราการลดการปนเปื้อน (เชื้อที่พบในถุงตันแต่ไม่พบในน้ำเชื้อ) ในการทดลองพบว่าการรีดน้ำเชื้อด้วยวิธีดังกล่าวสามารถลดเชื้อที่ปนเปื้อนลงในน้ำเชื้อได้หลายชนิดตั้งแต่ 60-100% (ตารางที่ 4) เชื้อเหล่านี้ได้แก่ *Proteus mirabilis* ลดการปนเปื้อนลง 87.1% (27 ตัวอย่าง จากที่พบในถุงตัน 31 ตัวอย่าง) และเชื้ออื่นๆ คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus coagulase negative*, *Corynebacterium spp.* และ *Providencia stuartii*

ตารางที่ 4 อัตราการลดการปนเปื้อนของเชื้อจากถุงตันมายังน้ำเชื้อ (พบเชื้อในถุงตันแต่ไม่พบในน้ำเชื้อ)

เชื้อ	จำนวนตัวอย่างที่ไม่พบในน้ำเชื้อ	จำนวนตัวอย่างที่พบในถุงตัน	ร้อยละ	ร้อยละของ 49 ตัวอย่าง
Proteus mirabilis	27	31	87.1	55.1
E. coli	19	20	95.0	38.8
Klebsiella pneumoniae	14	15	93.3	28.6
Pseudomonas aeruginosa	13	21	61.9	26.5
Corynebacterium spp.	9	10	90.0	18.4
Providencia stuartii	9	9	100.0	18.4
Stap. coagulase negative	9	11	81.8	18.4

เชื้อที่ไม่พบในถุงตันแต่มาปรากฏในน้ำเชื้อมีหลายชนิดคือ *Acinetobactor baumannii* 22 ตัวอย่าง (44.9%), *Acinetobactor junii* 16 ตัวอย่าง (32.7%), *Sphingobacterium spp.* 13 ตัวอย่าง (26.5%), *Corynebacterium spp.* 7 ตัวอย่าง (14.3%), *Pseudomonas aeruginosa* 6 ตัวอย่าง (12.2%) และ *Staphylococcus coagulase negative* 5 ตัวอย่าง (10.2%) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 อัตราการพบเชื้อในน้ำเชื้อที่ปนเปื้อนมาจากส่วนอื่นๆ นอกจากถุงตัน (พบเชื้อในน้ำเชื้อแต่ไม่พบในถุงตัน)

เชื้อ	จำนวนตัวอย่างที่พบในน้ำเชื้อ	ร้อยละ
Acinetobactor baumannii	22	44.9
Acinetobactor junii	16	32.7
Sphingobacterium spp.	13	26.5
Corynebacterium spp.	7	14.3
Pseudomonas aeruginosa	6	12.2
Stap. coagulase negative	5	10.2

การทดสอบความไวเชื้อต่อปฏิชีวนะพบว่าเชื้อส่วนใหญ่มีความไวต่อปฏิชีวนะที่ทดสอบ เชื้อ *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis* และ *Providencia stuartii* มีความไวสูงต่อยาทุกชนิดที่ทดสอบ (อะมิกาซิน, เซพตาซิดีม, เจนต้ามัยซิน, อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน) โดยมีการตอบสนองร้อยละ 88.89-100.00 ซึ่งส่วนใหญ่จะมีความไวร้อยละ 100.00 ส่วนกลุ่มเชื้อที่มีความไวต่อยาบางชนิดสูงและบางชนิดต่ำได้แก่ *Acinetobactor baumannii, Acinetobactor junii, Pseudomonas aeruginosa* และ *Sphingobacterium spp.*

เชื้อ *Acinetobactor baumannii* มีความไวต่อเซพตาซิดีม อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน ร้อยละ 91.30, 95.65 และ 95.65 ตามลำดับ (รูปที่ 1) แต่มีความไวต่ออะมิกาซินและเจนต้ามัยซินน้อยมาก (ร้อยละ 20.83 และ 12.50 ตามลำดับ)

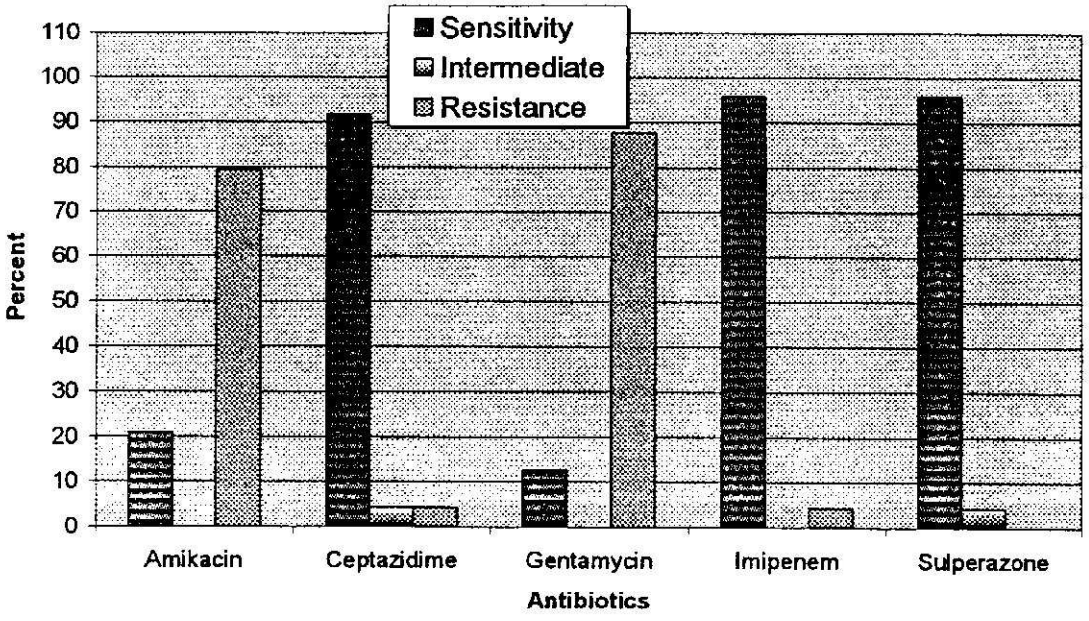
เชื้อ *Acinetobactor junii* มีความไวต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน (ร้อยละ 96.00, 92.00, 100.00 และ 96.00 ตามลำดับ) แต่ดื้อต่อเจนต้ามัยซิน (ความไวร้อยละ 48.00, รูปที่ 2) ส่วน *E. coli* มีความไวสูงมากต่อเซพตาซิดีม, เจนต้ามัยซิน, อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน (ร้อยละ 100.00) และมีความไวสูงต่ออะมิกาซิน (ร้อบละ 95.65, รูปที่ 3)

กรณีของ *Klebsiella pneumoniae* มีความไวสูงมากต่อ อะมิกาซิน, เซพตาซิดีม, อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน (ร้อยละ 100.00) และมีความไวสูงต่อเจนต้ามัยซิน (ร้อยละ 94.12, รูปที่ 4) ส่วน *Proteus mirabilis* ให้ผลในทำนองเดียวกับ *Klebsiella pneumoniae* คือ มีความไวสูงมากต่อ อะมิกาซิน, เซพตาซิดีม, อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน (ร้อยละ 100.00) และมีความไวสูงต่อเจนต้ามัยซิน (ร้อยละ 88.89, รูปที่ 5)

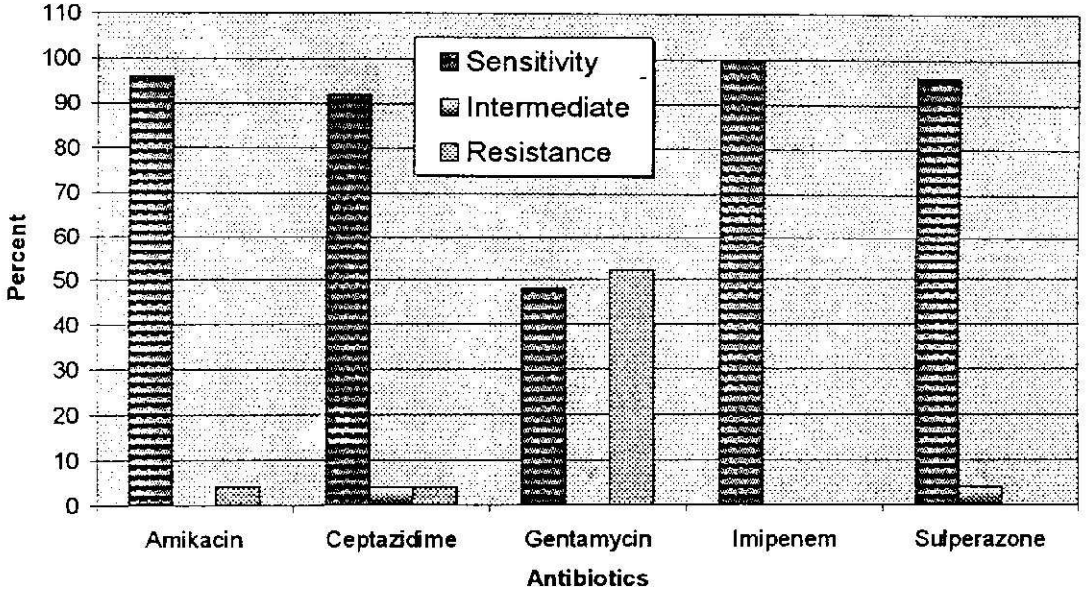
เชื้อ *Providencia stuartii* มีความไวสูงมากต่ออะมิกาซิน, เซพตาซิดีม, เจนต้ามัยซิน และอิมิเพเนม (ร้อยละ 100.00) และมีความไวสูงต่อซัลเพอราโซน (ร้อยละ 88.89, รูปที่ 6) ส่วนเชื้อ *Pseudomonas* มีความไวสูงมากต่ออะมิกาซิน, เซพตาซิดีม และ อิมิเพเนม (ร้อยละ 100.00) และมีความไวต่อเจนต้ามัยซิน และ ซัลเพอราโซน ร้อยละ 58.97 และ 97.44 ตามลำดับ (รูปที่ 7)

Sphingobacterium spp. ให้ผลคล้ายคลึงกับ *Acinetobactor baumannii* คือมีความไวต่อเซพตาซิดีม, อิมิเพเนม และ ซัลเพอราโซน ร้อยละ 90.00, 85.00 และ 90.00 ตามลำดับ แต่มีความไวต่ออะมิกาซินและเจนต้ามัยซินน้อยมาก (ร้อยละ 25.00 และ 30.00 ตามลำดับ, รูปที่ 8)

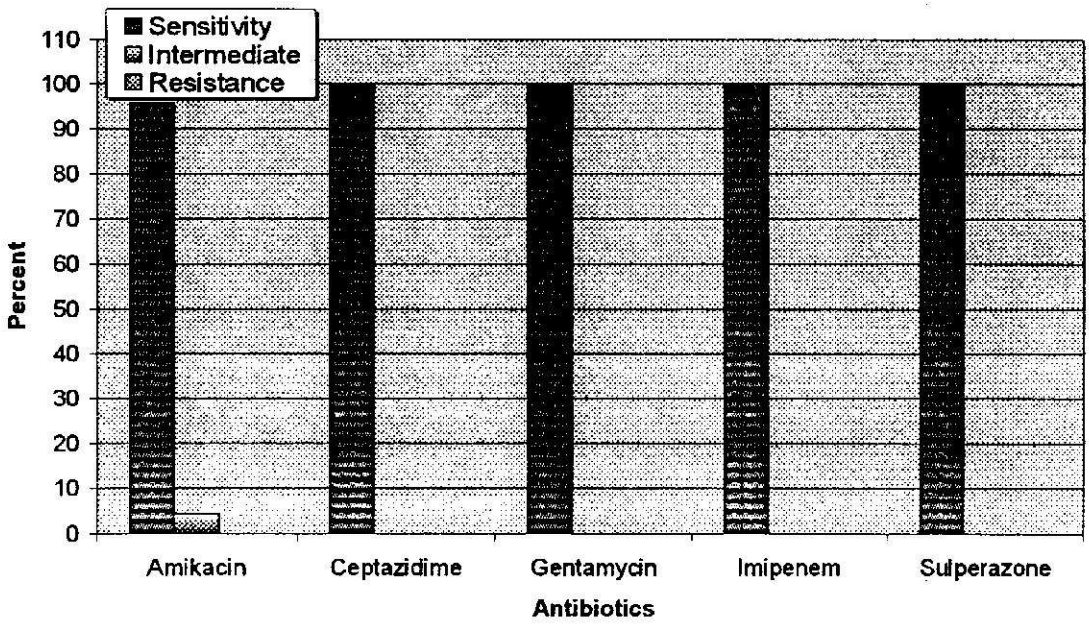
ผลการทดสอบความไวเชื้อ *Staphylococcus coagulase negative* ต่อยาเซฟาโลธิน, โคไตรม๊อกซาโซล, อีริโธรมัยซิน, ออกซาซิลิน และ แวนโคมัยซิน พบว่าเชื้อมีความไวสูงต่อเซฟาโลธินและแวนโคมัยซิน (ร้อยละ 94.44 และ 100.00 ตามลำดับ) และมีความไวต่ำต่อ โคไตรม๊อกซาโซล, อีริโธรมัยซิน และ ออกซาซิลิน (ร้อยละ 33.33, 0.00 และ 61.11 ตามลำดับ, รูปที่ 9)



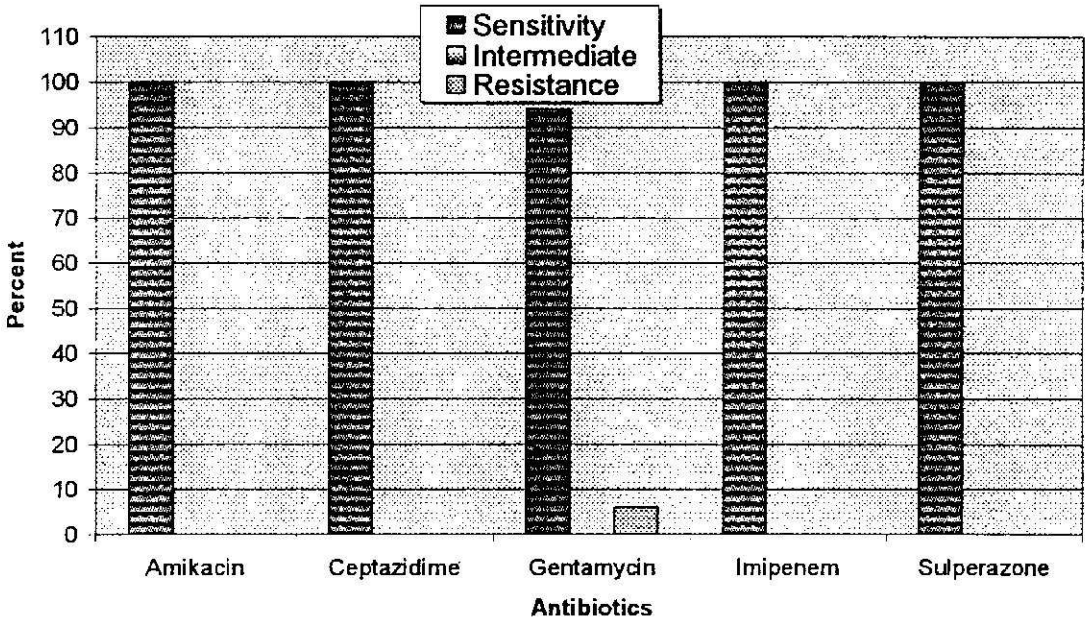
รูปที่ 1 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Acinetobactor baumannii* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=24)



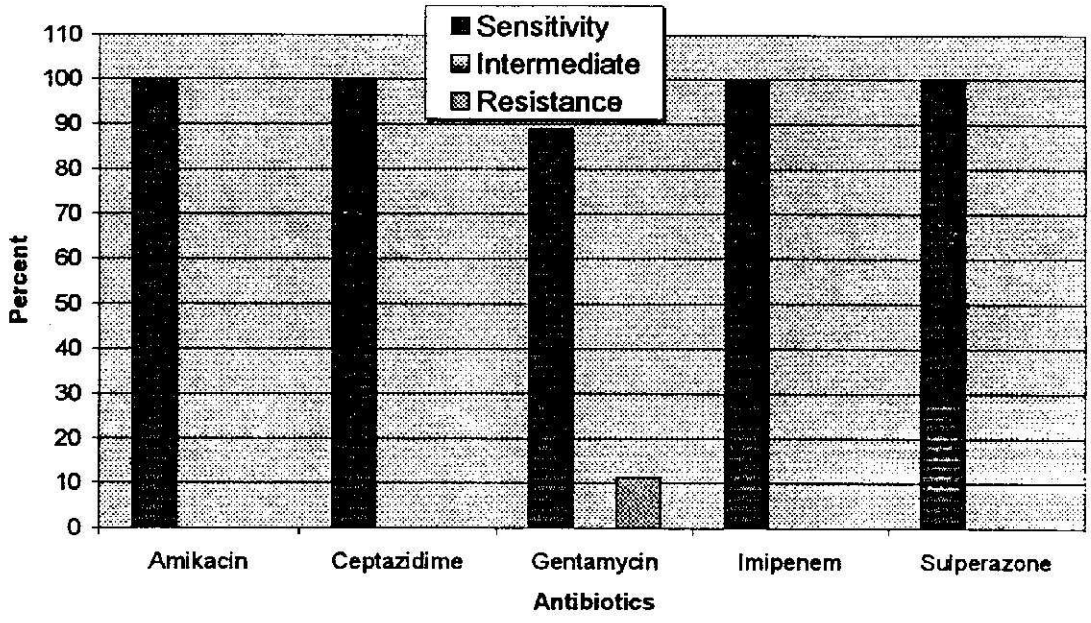
รูปที่ 2 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Acinetobactor junii* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=25)



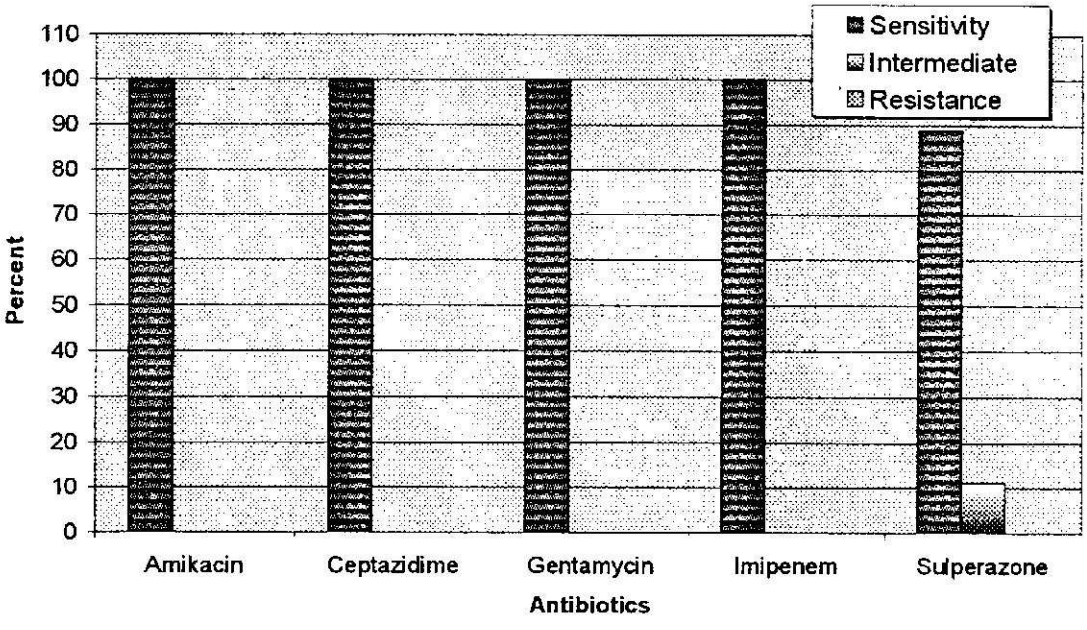
รูปที่ 3 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *E. coli* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=23)



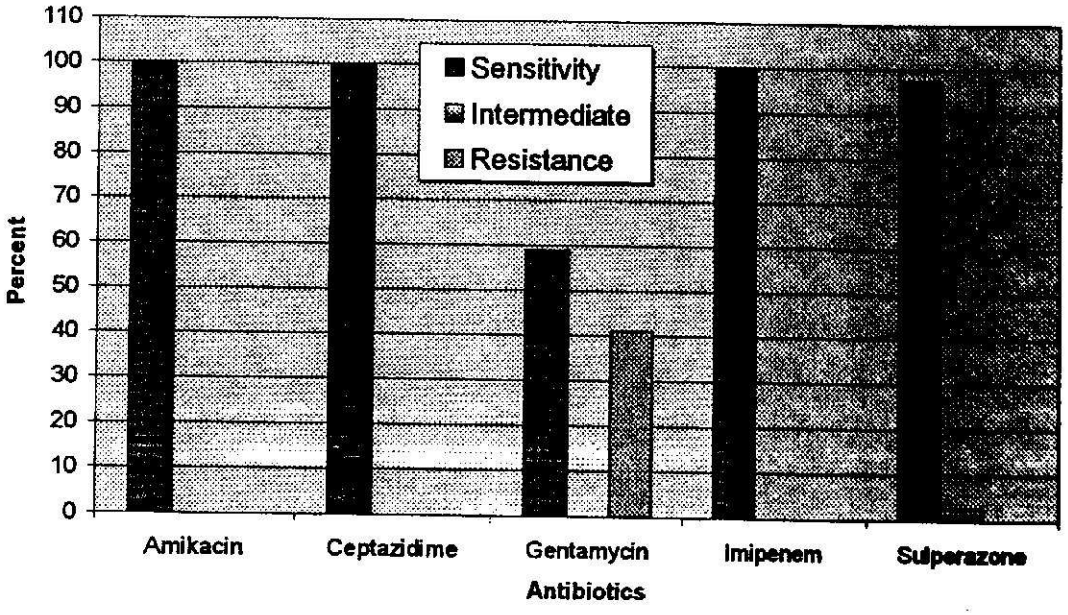
รูปที่ 4 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=17)



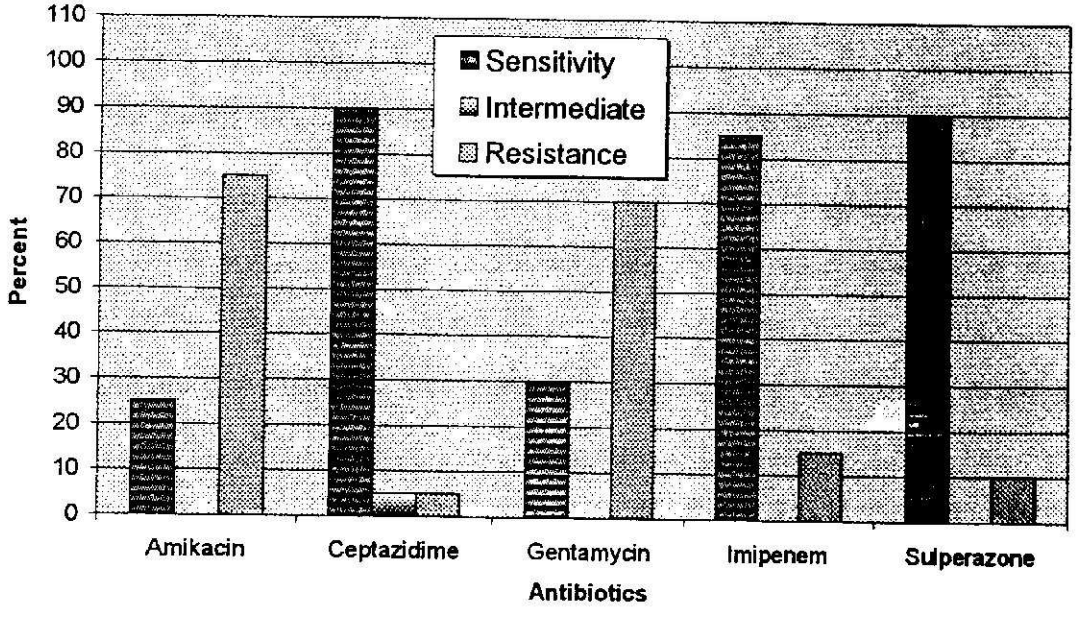
รูปที่ 5 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Proteus mirabilis* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=36)



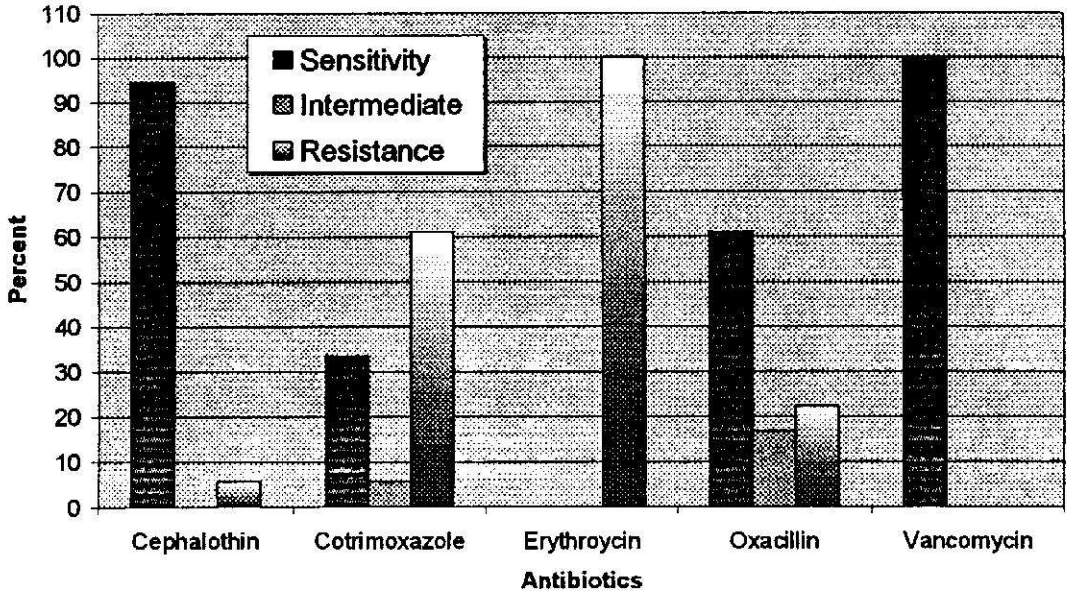
รูปที่ 6 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Providencia stuartii* ต่ออะมิกาซิน เซพตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=9)



รูปที่ 7 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ต่ออะมิกาซิน เซฟตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=34)



รูปที่ 8 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Sphingobacterium spp.* ต่ออะมิกาซิน เซฟตาซิดีม เจนต้ามัยซิน อิมิเพเนม และซัลเพอราโซน (n=39)



รูปที่ 9 ร้อยละของตัวอย่างของเหลวจากถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตและน้ำเชื้อที่มีความไวเชื้อ *Staphylococcus coagulase negative* ต่อเซฟาโลธิน โคไตรม็อกซาโซล อีริโธรมัยซิน ออกซาซิลลิน และ แวนโคมัยซิน (n=18)

การทดลองที่ 2 ผลของซัลเพอราโซนในสารเจือจางน้ำเชื้อ

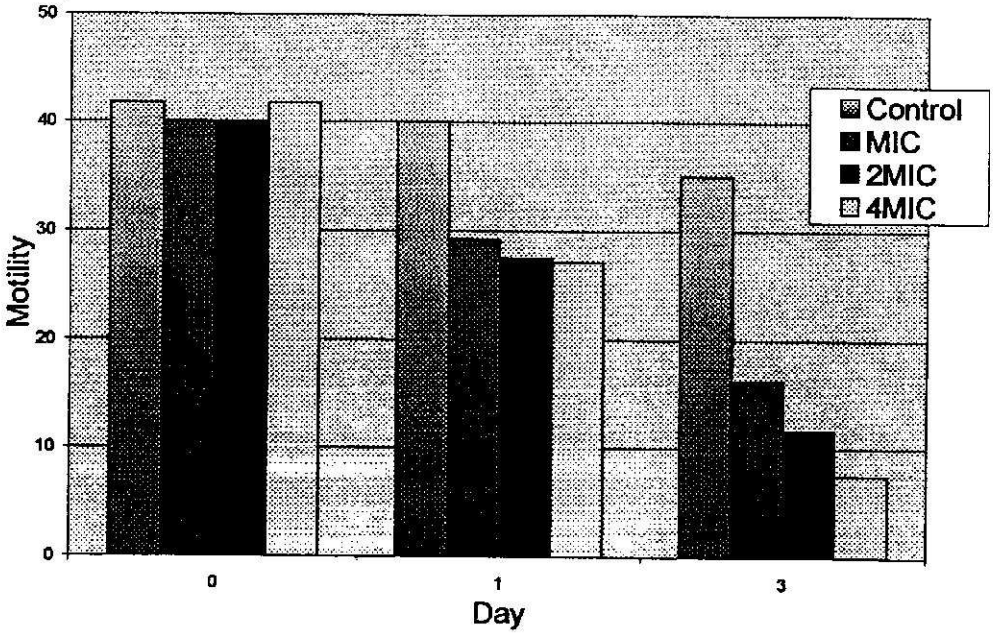
ซัลเพอราโซลในขนาดตั้งแต่ 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC มีผลในการยับยั้งเชื้อบักเตรีได้ดี และมีความสามารถในการควบคุมจำนวนบักเตรีให้อยู่ในระดับต่ำได้ตลอดการทดลอง (ตารางที่ 6) ในขณะที่จำนวนบักเตรีในกลุ่มควบคุมมีปริมาณมากขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บน้ำเชื้อ จาก 81.45 $\pm$ 20.78 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง ในวันแรก (วันที่ 0) เป็น 1,512.75 $\pm$ 653.07 $\times 10^3$ และ 462,958.33 $\pm$ 133,918.58 $\times 10^3$ ในวันที่ 1 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อตามลำดับ ($p < 0.01$) โดยภาพรวมการใส่ซัลเพอราโซล สามารถลดจำนวนโคโลนีของบักเตรีลงจาก 154,850.84 $\pm$ 56,877.24 $\times 10^3$ ในกลุ่มควบคุม เป็น 17.80 $\pm$ 5.15 $\times 10^3$, 2.08 $\pm$ 6.11 $\times 10^3$ และ 16.02 $\pm$ 5.53 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ในขนาดตั้งแต่ 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ ($p < 0.01$) ซัลเพอราโซลในขนาด 1 MIC สามารถลดปริมาณบักเตรีจาก 48.92 $\pm$ 10.89 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง ในวันแรก (วันที่ 0) เป็น 2.76 $\pm$ 0.35 $\times 10^3$ และ 1.70 $\pm$ 0.41 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อตามลำดับ ($p < 0.01$) ส่วนการผสมซัลเพอราโซลในขนาด 2 และ 4 MIC ให้ผลในทำนอง

เดียวกัน ขนาด 2 MIC สามารถลดปริมาณบักเตรีในวันเริ่มทดลอง จาก 57.50 ± 13.11 × 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง เป็น 3.19 ± 0.63 × 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 และ 1.65 ± 0.31 × 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($p < 0.01$) และ ขนาด 4 MIC สามารถลดปริมาณบักเตรีในวันเริ่มทดลอง จาก 46.02 ± 12.99 × 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร เป็น 0.98 ± × 0.18 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร และ 1.06 ± 0.20 × 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ตามลำดับ ($p < 0.01$)

ตารางที่ 6 จำนวนบักเตรี (10^3/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) ในน้ำเชื้อที่ผสมซัลเพอราโซลในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC

	ระยะเวลาเก็บรักษาน้ำเชื้อ (วัน)		
	0	1	3
ควบคุม	81.45 ± 20.78	1,512.75 ± 653.07	462,958.33 ± 133,918.58
1 MIC	48.92 ± 10.98	2.76 ± 0.35	1.70 ± 0.41
2 MIC	57.50 ± 13.11	3.19 ± 0.63	1.65 ± 0.31
4 MIC	46.02 ± 12.99	0.98 ± 0.18	1.06 ± 0.20

สำหรับค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิในกลุ่มควบคุม (38.89 ± 1.35) มีค่าสูงกว่าในทุกกลุ่มที่ผสมซัลเพอราโซล (28.47 ± 2.60, 26.39 ± 2.63 และ 25.42 ± 3.00 ในกลุ่มที่ผสมซัลเพอราโซลในขนาดตั้งแต่ 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC ตามลำดับ) การเคลื่อนที่ของอสุจิลดลงตามวันที่เก็บรักษาน้ำเชื้อ (รูปที่ 10) การเคลื่อนที่ของอสุจิในระยะเวลาการเก็บรักษาลดลงจาก 40.83 ± 1.22 ในวันที่เริ่มการทดลองมาเป็น 30.94 ± 2.21 และ 17.60 ± 1.84 ในวันที่ 1 และ ที่ 3 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ ($p < 0.01$)



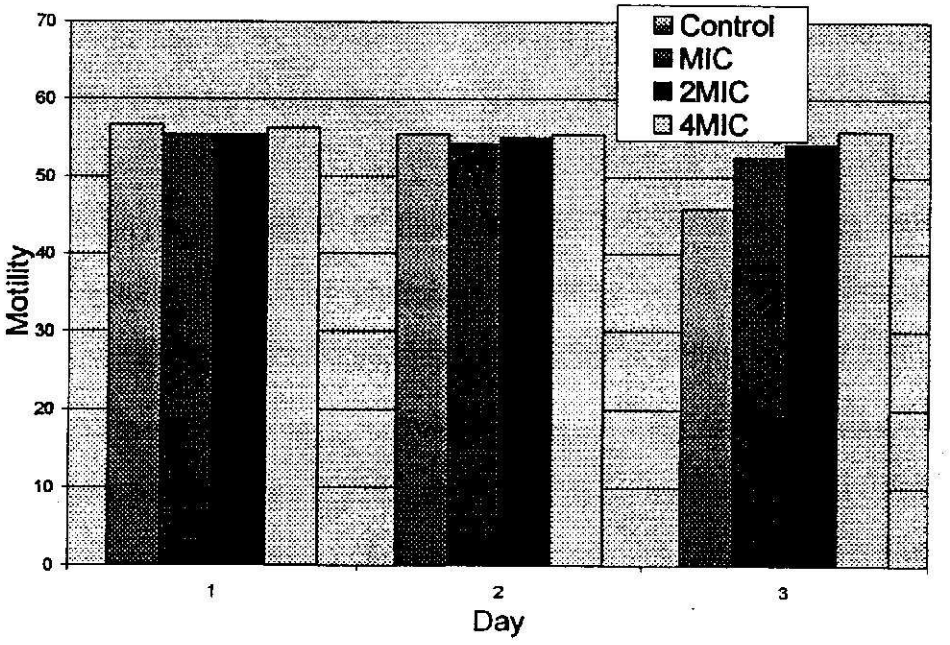
รูปที่ 10 ร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิในน้ำเชื้อที่ผสมซัลเพอราโซล ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC

การทดลองที่ 3 ผลของแวนโคมัยซินในสารเจือจางน้ำเชื้อ

แวนโคมัยซินในขนาดตั้งแต่ 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC ให้ผลดีในทำนองเดียวกับซัลเพอราโซล และสามารถควบคุมจำนวนบักเตรีให้อยู่ในระดับต่ำได้ตลอดการทดลอง (ตารางที่ 7) จำนวนบักเตรีในกลุ่มควบคุมเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ซึ่งเพิ่มขึ้นจาก 28.02 $\pm$ 9.94 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง ในวันแรก (วันที่ 0) เป็น 116.58 $\pm$ 50.69 $\times 10^3$ และ 6,396.25 $\pm$ 2,760.51 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ในวันที่ 1 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อตามลำดับ ($p < 0.01$) จำนวนบักเตรีที่อยู่ในน้ำเชื้อที่ผสมด้วยแวนโคมัยซินในทุกความเข้มข้นถูกจำกัดให้อยู่ในระดับ 0.36 $\times 10^3$ - 1.77 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง ในวันที่ 1 และ 3 ของการเก็บรักษา ในขณะที่จำนวนบักเตรีในวันแรกที่เริ่มผสมแวนโคมัยซินมีค่าระหว่าง 13.51 $\times 10^3$ - 26.85 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง ค่ารวมของทุกวันที่เก็บรักษาน้ำเชื้อบ่งชี้ว่า จำนวนบักเตรีในกลุ่มควบคุม (2,180.28 $\pm$ 1025.95 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) มีค่าสูงกว่าจำนวนบักเตรีที่ผสมแวนโคมัยซิน (5.50 $\pm$ 1.27 $\times 10^3$, 9.57 $\pm$ 3.99 $\times 10^3$ และ 4.93 $\pm$ 1.88 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ในตัวอย่างในปริมาณ 1, 2 และ 4 MIC ตามลำดับ, $p < 0.01$)

ระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อและความเข้มข้นของแวนโคมัยซินในน้ำเชื้อ ไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ แม้ว่าการเคลื่อนที่จะมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาของการเก็บรักษาก็ตาม ร้อยละของการเคลื่อนที่ในกลุ่มที่มีความเข้มข้นของแวนโคมัยซินต่างกันมีค่าอยู่ระหว่าง 52.64 - 55.83 ส่วน

ค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิในระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกันมีค่าอยู่ระหว่าง 52.08 - 55.94 (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 ร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในน้ำเชื้อที่ผสมแวนโคมัยซิน ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC

ตารางที่ 7 จำนวนบักเตรี (10^3/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) ในน้ำเชื้อที่ผสมแวนโคมัยซิน ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC

	ระยะเวลาเก็บรักษาน้ำเชื้อ (วัน)		
	0	1	3
ควบคุม	14.01 ± 4.97	58.29 ± 25.34	3,198.12 ± 1,380.26
1 MIC	6.75 ± 1.25	0.88 ± 0.23	0.61 ± 0.19
2 MIC	13.42 ± 5.27	0.69 ± 0.22	0.25 ± 0.11
4 MIC	6.82 ± 2.41	0.39 ± 0.17	0.18 ± 0.08

การทดลองที่ 4 ผลของอีมิเพเนมในสารเจือจางน้ำเชื้อ

อีมิเพเนมทุกขนาดความเข้มข้นสามารถควบคุมปริมาณบักเตรีในน้ำเชื้อ ให้อยู่ในระดับต่ำตลอดการทดลองได้เป็นอย่างดี ในน้ำเชื้อที่มีอีมิเพแนมในขนาด 1, 2 และ 4 เท่าของ MIC มีปริมาณบักเตรี 3.97 $\pm$ 1.19, 3.66 $\pm$ 1.00 และ 2.06 $\pm$ 0.62 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (130.56 $\pm$ 40.34 $\times 10^3$ โคโลนี/มิลลิลิตร, $p < 0.01$) จำนวนบักเตรีในกลุ่มควบคุมเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ 3 วัน โดยจำนวนบักเตรี ในวันแรก (วันที่ 0) มีค่า 16.92 $\pm$ 3.50 $\times$ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง และในวันที่ 1 มีค่า 15.95 $\pm$ 4.85 $\times$ 10^3 ($p > 0.05$) และเพิ่มเป็น 72.33 $\pm$ 32.00 $\times$ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ตัวอย่าง ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($p < 0.05$)

ในกลุ่มควบคุมพบว่าจำนวนบักเตรีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ โดยพบว่าจำนวนบักเตรีในวันที่ 0 (39.77 $\pm$ 11.55 $\times$ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร) มีค่าไม่แตกต่างกับวันที่ 1 (62.92 $\pm$ 11.58 $\times$ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร, $p > 0.05$) แต่จำนวนสูงขึ้นในวันที่ 3 (289.00 $\pm$ 108.69 $\times$ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร, $p < 0.05$)

ในกลุ่มที่ผสมอีมิเพแนมในขนาด 1 MIC พบว่าปริมาณบักเตรีลดลงจาก 11.37 $\pm$ 2.45 $\times$ 10^3 เป็น 0.42 $\pm$ 0.11 $\times$ 10^3 ($p > 0.01$) และ 0.12 $\pm$ 0.02 $\times$ 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร ($p > 0.01$) ในวันที่ 1 และ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อตามลำดับ (ตารางที่ 8)

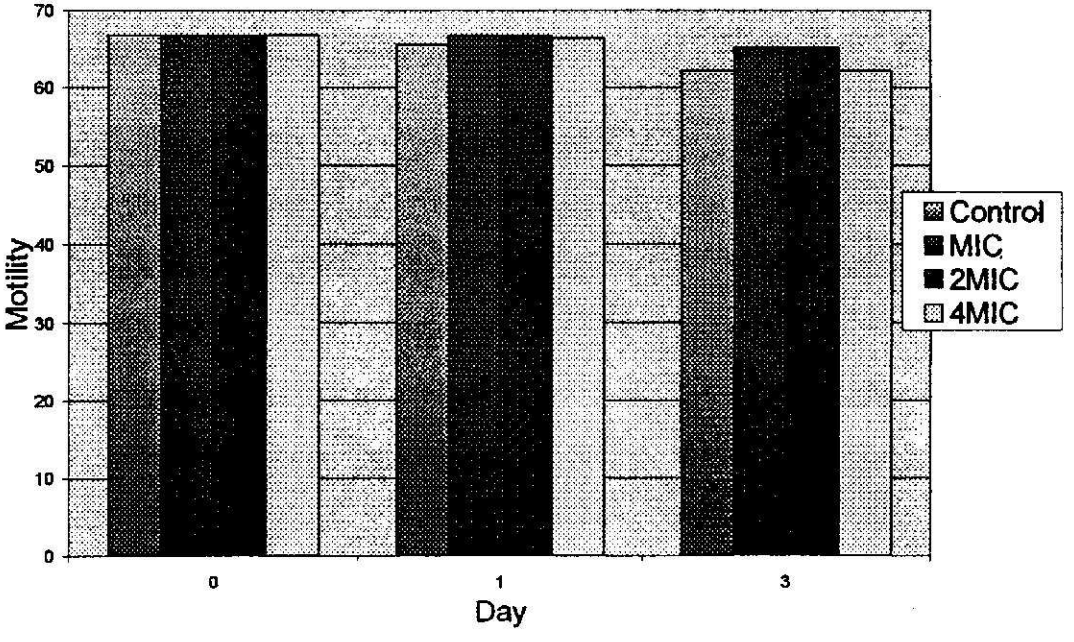
ส่วนในกลุ่มที่ผสมอีมิเพแนมในขนาด 2 และ 4 MIC ให้ผลในทำนองเดียวกับกลุ่ม 1 MIC คือ ปริมาณบักเตรีลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในวันที่ 1 และ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ

ระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอีมิเพเนมในน้ำเชื้อ ไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ การเคลื่อนที่ในกลุ่มที่มีความเข้มข้นของอีมิเพเนม ต่างกันมีค่าอยู่ระหว่าง 64.72 – 66.11 ส่วนค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิในระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกันมีค่าอยู่ระหว่าง 63.54 – 66.76 (รูปที่ 12)

Central Library
Prince of Songkla University

ตารางที่ 8 จำนวนบักเตรี (10^3/มิลลิลิตร ตัวอย่าง) ในน้ำเชื้อที่ผสมอีมิเพเนม ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC

	ระยะเวลาเก็บรักษาน้ำเชื้อ (วัน)		
	0	1	3
ควบคุม	39.77 ± 11.55	62.92 ± 11.58	289.00 ± 108.69
1 MIC	11.37 ± 2.45	0.42 ± 0.11	0.12 ± 0.02
2 MIC	10.57 ± 1.76	0.32 ± 0.10	0.10 ± 0.02
4 MIC	5.96 ± 1.28	0.13 ± 0.02	0.09 ± 0.01



รูปที่ 12 ร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในน้ำเชื้อที่ผสมอีมิเพเนม ในขนาด 0, 1, 2 และ 4 MIC

วิจารณ์

เป็นที่ทราบกันดีว่าในน้ำเชื้อสุกรนั้น สามารถมีบักเตรีปนเปื้อนลงไปได้มากกว่าน้ำเชื้อของสัตว์ชนิดอื่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากการรีดเก็บน้ำเชื้อสุกรมีกระบวนการซึ่งรักษาความสะอาดได้ค่อนข้างน้อยกว่าในสัตว์อื่น ในขณะที่การรีดเก็บน้ำเชื้อโคใช้ช่องคลอดประดิษฐ์เป็นหลักและสามารถควบคุมการปนเปื้อนของบักเตรีได้เป็นอย่างดี (พีรศักดิ์, 2528) แต่การรีดเก็บน้ำเชื้อสุกรมักใช้วิธีมือร่วมกับหุ่น (พีระศักดิ์, 2526) ซึ่งทำให้โอกาสในการปนเปื้อนมีมากกว่าสัตว์ชนิดอื่น นอกจากนั้นสุกรยังมีถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตซึ่งสะสมสิ่งสกปรกไว้มากมาย สิ่งสกปรกเหล่านี้สามารถปนเปื้อนลงมายังน้ำเชื้อในขณะรีดเก็บน้ำเชื้อได้ง่าย

ถุงตันที่หนังหุ้มองคชาตสุกรมีสารต่างๆ หลายชนิดซึ่งทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวสำหรับสุกร (Gordon, 1997) รวมถึงบักเตรีต่างๆ แม้ว่าการปนเปื้อนของบักเตรีลงในน้ำเชื้อของสัตว์อื่น เช่น โค แพะ และม้า จะมีน้อยกว่าในสุกกร แต่ก็ยังมีข้อแนะนำให้ปฏิบัติเป็นประจำในการเติมปฏิชีวนะลงในน้ำเชื้อของสัตว์ดังกล่าว และเมื่อไม่นานมานี้ Varner *et al.* (1998) ก็ได้ทดสอบปฏิชีวนะหลายชนิดที่มีผลต่อการควบคุมบักเตรีในน้ำเชื้อม้าซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำคัญที่ต้องตรวจสอบการใช้ปฏิชีวนะในน้ำเชื้อ

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จึงเป็นหลักการโดยทั่วไปที่ได้แนะนำให้ใช้ปฏิชีวนะในสารเจือจางน้ำเชื้อของสัตว์หลายชนิดเมื่อนำมาเก็บรักษาไว้ก่อนการผสมเทียม (Paquignon, 1984) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะมีการใช้ปฏิชีวนะกันอย่างแพร่หลายแต่มีคำแนะนำเกี่ยวกับวิธีการใช้ ชนิดยาและขนาดยา อยู่น้อยมาก

ในรายงานฉบับนี้พบว่าเชื้อที่พบมากที่สุด 3 อันดับแรก ในน้ำเชื้อคือ *Acinetobactor baumannii*, *Acinetobactor junii*, *Sphingobacterium spp.* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งจากรายงานของ Sone *et al.* (1982) ซึ่งพบว่าเชื้อบักเตรีที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อได้บ่อยๆ คือ *Pseudomonas spp.*, *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella spp.* และ *E. coli* ซึ่งมีความแตกต่างกันอยู่บ้าง ส่วน Althouse *et al.* (2000) รายงานเชื้อที่พบบ่อยในน้ำเชื้อสุกรที่อเมริการเหนือคือ *Alcaligenes xylosoxydans*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Serratia marcescens* และ *Stenotrophomonas maltophilia* ทั้งนี้การรีดเก็บน้ำเชื้อของในรายงานนี้และของ Sone et al. (1982) มีวิธีการคล้ายกันคือ มีการทำความสะอาดองคชาตและมือของผู้รีด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากถุงตัน รายงานความหลากหลายของเชื้อในที่ต่างกันชี้ให้เห็นความสำคัญของการสำรวจเชื้อและความไวต่อยาที่ใช้ เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ยาอย่างเหมาะสมต่อไป

การปนเปื้อนของเชื้อจากถุงตันมายังน้ำเชื้อจากรายงานนี้แสดงให้เห็นว่า อย่างน้อยที่สุดก็พบได้ในภาคใต้ของประเทศไทยว่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อที่ปนเปื้อนมาได้มากที่สุด และพบ *Proteus mirabilis* ปนเปื้อนรองลงมา ยังไม่พบการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆ ซึ่งแสดงว่าการรีดเก็บน้ำเชื้อและการทำความสะอาดก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อโดยวิธีการล้าง ยังคงมีเชื้อปนเปื้อนลงมาได้

อย่างไรก็ตามจากตัวเลขอัตราการลดการปนเปื้อน (เชื้อที่พบในถุงตันแต่ไม่พบในน้ำเชื้อ) แสดงให้เห็นว่าวิธีการดังกล่าวสามารถลดเชื้อที่ปนเปื้อนลงในน้ำเชื้อได้หลายชนิด เช่น ลดการปนเปื้อน *Proteus mirabilis* ลง 87.1% เป็นต้น นอกจากนั้นยังสามารถลดการปนเปื้อนเชื้ออื่นๆ อีกหลายชนิดคือ *Pseudomonas aeruginosa, E. coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus coagulase negative, Corynebacterium spp.* และ *Providencia stuartii*

ส่วนที่พึงสังเกตคือเชื้อที่ไม่พบในถุงตันแต่มาปรากฏในน้ำเชื้อซึ่งแสดงถึงการปนเปื้อนที่มีจากส่วนอื่นๆ ที่มิใช่จากถุงตัน เชื้อเหล่านี้อาจปนเปื้อนมาจาก เครื่องมือที่ใช้ สภาพแวดล้อมในบริเวณที่รีดเก็บ รวมไปถึงผู้รีดเก็บน้ำเชื้อเองด้วย เชื้อเหล่านี้ที่พึงระวังมีหลายชนิดคือ *Acinetobactor baumannii, Acinetobactor junii, Sphingobacterium spp., Corynebacterium spp., Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus coagulase negative*

ในการทดลองนี้พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ที่พบมีความไวต่อปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่ ปฏิชีวนะที่ให้ผลดีสำหรับเชื้อส่วนใหญ่คือ เซพตาซิดีม อีมิเพเนมและซัลเพอราโซล ในรายงานของ Althouse *et al.*, 2000 ได้ทดสอบปฏิชีวนะและพบว่าเชื้อในน้ำเชื้อดื้อยาเจนต้ามัยซินซึ่งเป็นยาที่ใช้กันอยู่แพร่หลาย อย่างไรก็ตาม ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ใช่เจนต้ามัยซินจึงไม่สามารถเปรียบเทียบกับงานของ Althouse *et al.*, 2000 ได้

รายงานนี้บ่งชี้ว่าเชื้อสามารถปนเปื้อนลงในน้ำเชื้อสุกรได้ทั้งจากถุงตันและจากส่วนอื่นๆ ดังนั้นการใช้ปฏิชีวนะในสารเจือจางน้ำเชื้อจึงอาจยังคงมีความจำเป็นอยู่ และได้มีการแนะนำการใช้ปฏิชีวนะในน้ำเชื้อที่จะนำมาเก็บรักษาไว้เพื่อใช้ในการผสมเทียม (Watson, 1979) นอกจากนั้นยังมีการศึกษาการใช้ปฏิชีวนะในน้ำเชื้อของสัตว์หลายชนิดด้วยกัน เช่น ม้า (Varner *et al.*, 1998) โค (Bousseau *et al.*, 1998; Visser *et al.*, 1999) เป็นต้น

และมีการแนะนำเสมอว่าในการรีดเก็บน้ำเชื้อสุกร ควรทำความสะอาดบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์และระมัดระวังการปนเปื้อนของเชื้อ โดยเฉพาะจากถุงตัน แต่การทำความสะอาดยังทำได้ไม่ถึงระดับที่ป้องกันการปนเปื้อนได้ทั้งหมด ดังแสดงจากผลการทดลองข้างต้น นอกจากนั้นยังมีเชื้ออีกบางส่วนที่ปนเปื้อนในกระบวนการรีดเก็บน้ำเชื้อหรือจากเครื่องมือที่ใช้ ดังนั้นหากต้องการลดการปนเปื้อนให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น จะต้องมีความจำเป็นที่จะต้องรักษาระดับของความสะอาดและวิธีการรีดเก็บน้ำเชื้อ

อย่างเข้มงวดมากขึ้น อย่างไรก็ตาม วิธีการดังกล่าวก็สามารถลดการปนเปื้อนจากถุงตันได้ในปริมาณที่เป็นที่น่าพอใจ

ในการทดสอบปฏิชีวนะคือ ซัลเพอราโซน, แวนโคมัยซิน และอีมิเพเนม ได้พบว่าปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิดสามารถควบคุมบักเตรีได้ดี ซึ่งการเลือกใช้ยากลุ่มดังกล่าวมีพื้นฐานมาจากข้อมูลการทดสอบความไวต่อเชื้อของเชื้อที่พบในน้ำเชื้อและในถุงตันที่หนังหุ้มองคชาติ ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่า หากมีการเลือกใช้ปฏิชีวนะที่เหมาะสม โดยอ้างอิงจากข้อมูลปัจจุบันที่พบในพื้นที่ก็จะสามารถควบคุมบักแตรีได้อย่างมีประสิทธิภาพ และการใช้ปฏิชีวนะที่แนะนำจากแหล่งอ้างอิงที่ได้ข้อมูลจากพื้นที่อื่นๆ อาจไม่สามารถควบคุมเชื้อได้เท่าที่ควร

โดยรวมแล้ว การทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นของการสำรวจเชื้อที่พบในฟาร์มที่แตกต่างกันก่อนที่จะสามารถเลือกใช้ปฏิชีวนะได้อย่างเหมาะสม อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลอีกหลายส่วนที่น่าจะได้ทำการศึกษาต่อไป เช่น ปฏิชีวนะที่ใช้กันโดยทั่วสามารถควบคุมเชื้อได้หรือไม่ นอกจากนั้นยังควรศึกษาผลกระทบของปฏิชีวนะว่ามีผลเพียงใดต่อความสมบูรณ์พันธุ์และอัตราการผสมติดในสุกร

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการ 'ผลของปฏิชีวนะบางชนิดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร' (NAT43106) ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน

โครงการวิจัยได้รับความร่วมมือเป็นอย่างดีจากห้องปฏิบัติการการสืบพันธุ์ของสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ตลอดจนบุคลากรภาควิชาสัตวศาสตร์ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร และห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่ได้ให้ความอนุเคราะห์การเพาะเชื้อในการทดลองครั้งนี้เป็นอย่าดี

บรรณานุกรม

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2528. การผสมเทียม. ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, ม. สงขลานครินทร์, หาดใหญ่.

พีระศักดิ์ จันทรประทีป. 2526. การผสมเทียมในหมู. ภาควิชาสูติศาสตร์-เธนุวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์, คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพ.

Althouse, G.C., Kuster, C.E., Clark, S.G. and Weisiger, R.M. 2000. Field investigations of bacterial contaminations and their effects on extended porcine semen. Theriogenology, 53: 1167-1176.

Bousseau, S., Brillard, J.P., Marquant-Le Guienne, B., Guerin, B., Camus, A. and Lechat, M. 1998. Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin based diluents. Theriogenology, 50:699-706.

Bearden, H.J. and Fuquay, W. 2000. Applied Animal Reproduction. Prentice-Hall, Inc., New Jersey.

Gordon, I. 1997. Control Reproduction in Pigs. CAB International, New York.

Paquignon, M. 1984. Semen technology in the pigs. In 'The Male in Farm Animal Reproduction' , Courot, M. (ed), Martinus Nijhoff Publisher, Boston, pp. 202-218.

Sone, M., Ohumura, K. and Bamba, K. 1982. Effects of various antibiotics on the control of bacteria in boar semen. Veterinary Record, 111:11-14.

Pursel, V.G. and Johnson, L.A. 1975. Freezing of baor spermatozoa: Fertilizing capacity with the concentrated semen and a new thawing procedure. J.Anim.Sci., 40: 99-102.

Rickmenspoel, R. 1962. Biophysical approaches to the measurement of sperm motility. In D.W. Bishop (Ed.) "sperm motility". American Association for the Advancement of Acience, Washington DC, pp. 31-54.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. MaGraw-Hill, Singapore. 633 pp.

Varner, D.D., Scanlan, C.M., Thompson, J.A., Brumbaugh, G.W., Blanchard, T.L., Carlton, C.M. and Johnson, L. 1998. Bacteriology of preserved stallion semen and antibiotics in semen extenders. Theriogenology, 50: 559-573.

Visser, I.J.R., terLaak, E.A. and Jansen, H.B. 1999. Failure of antibiotics gentamycin, tylosin, lincomycin nad spectomycin to eliminate *Mycoplasma bovis* in artificially infected frozen bovine semen. Theriogenology, 51: 689-697.

Watson, P.F. 1979. The preservation of semen in mammals. In Oxford Reviews of Reproductive Biology. Ed C.A. Finn. Claredon Press, Oxford, pp. 283-250.