KHON KAEN AGR. J. 48 (5): 1124-1133 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.100.

การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในประเทศไทย

Study on contamination of antimicrobial resistance in culture of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Thailand

สรวณีย์ วิริยะอัครเดชา[1], นิติ ชูเชิด[1*], พุทธรัตน์ เบ้าประเสริฐกุล[2], เบญจพร สัมฤทธิเวช[2], พงศ์เชฏฐ์ พิชิตกุล[3], อรุโณทัย คีตะนนท์[1] และวิษณุ ธรรมลิขิตกุล[4]

Sornwanee Wiriyaakaradecha[1], Niti Chuchird[1*], Puttharat Baoprasertkul[2], Benjaporn Somridhivej[2], Phongchate Pichitkul[3], Arunothai Keetanon[1] and Visanu Thamlikitkul[4]

บทคัดย่อ: การศึกษาในครั้งนี้ตรวจสอบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. ในกุ้งขาวแวนนาไม ดำเนินการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไม จากฟาร์มและน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งในจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดสงขลาในช่วงเดือนกันยายน ปี 2560 ถึง มีนาคม ปี 2561 การดื้อต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียทดสอบด้วยยา amoxicillin, ampicillin, ceftriaxone, ciprofloxacin, colistin และ oxytetracycline ด้วยวิธีการ disc diffusion ผลการทดสอบจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมพบเชื้อ *Vibrio* spp. จากทั้งตัวอย่างที่เก็บจาก 2 จังหวัด เป็นส่วนใหญ่ โดยเชื้อดังกล่าวแสดงการดื้อต่อยา amoxicillin, ampicillin, oxytetracycline, ceftriaxone และ colistin พบเชื้อ *Salmonella* spp. จากจังหวัดสงขลาดื้อต่อยา amoxicillin และ ampicillin ขณะที่พบเชื้อ *E. coli* จากจังหวัดสงขลาดื้อต่อยา amoxicillin, ampicillin, oxytetracycline และ ceftriaxone การศึกษาครั้งนี้ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* จากตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดจันทบุรี เพื่อการลดความเสี่ยงในการเกิดปัญหาเชื้อดื้อยาในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร จำเป็นจะต้องลดการใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์ที่เป็นอาหารให้น้อยที่สุด โดยใช้แนวทางการป้องกันโรคที่เหมาะสมมีการกำจัดเชื้อก่อโรคที่ดี และมีการจัดการการเลี้ยงที่ดี

คำสำคัญ: เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ และกุ้งขาวแวนนาไม

Received June 26, 2019

Accepted March 16, 2020

[1] ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Aquaculture Business Research Center (ABRC), Faculty of Fisheries, Kasetsart University

[2] กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง
Aquatic Animal Health Research and Development Division, Department of Fisheries

[3] ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

[4] ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โรงพยาบาลศิริราช
Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Siriraj Hospital

* Corresponding author: ffisntc@ku.ac.th

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 5: 1124-1133 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.100.

ABSTRACT: This study investigated antimicrobial resistance in *Escherichia coli, Salmonella* spp. and *Vibrio* spp. isolated from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Shrimp samples were collected from farms and their cultivation water in the Chanthaburi and Songkhla provinces from September 2017 to March 2018. The isolates were tested with amoxicillin, ampicillin, ceftriaxone, ciprofloxacin, colistin and oxytetracycline. Antimicrobial resistance was determined using disc diffusion method. The result showed that most of *Vibrio* spp. isolated from shrimp farms from both provinces were resistant to amoxicillin, ampicillin, oxytetracycline, ceftriaxone and colistin. *Salmonella* spp. isolated from shrimp from Songkhla were resistant to amoxicillin and ampicillin, while *E. coli* isolated from shrimp from Songkhla were resistant to amoxicillin, ampicillin, oxytetracycline and ceftriaxone. None of the *E. coli* isolated from shrimp from Chanthaburi was detected. The use of antibiotics in food animals should be minimize by improving animal health through suitable disease prevention, good hygiene and management practices to reduce the risk of antimicrobial resistant in food animals.

Keywords: antimicrobial resistance, pacific white shrimp

บทนำ

ยาต้านจุลชีพ (antimicrobials) ถูกพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียและนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทุกภาคส่วน เช่น ทางการแพทย์เพื่อการรักษาโรคในมนุษย์ การปศุสัตว์ การประมง รวมทั้งอุตสาหกรรมอาหาร อย่างไรก็ดีในช่วงหลายปีที่ผ่านมาการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อการรักษาโรคเริ่มไม่ประสบความสำเร็จ อันเนื่องมาจากการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย ปัญหาดังกล่าวนี้ได้ทวีความรุนแรงมากขึ้นและถูกจัดเป็นปัญหาของมนุษย์ทั่วโลก (กระทรวงสาธารณสุข, 2560) ปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวนี้คือการใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่ถูกต้อง เช่น ใช้ยาเพื่อการป้องกันมากกว่าการรักษา ใช้ยามากเกินความจำเป็น ใช้ยาโดยไม่ทราบชนิดของเชื้อก่อโรค และการใช้ยาที่นอกเหนือจากที่ระบุในฉลาก ซึ่งทั้งหมดนี้เหนี่ยวนำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียอีกทั้งเป็นแหล่งแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา (มาลินี, 2532) ซึ่งอาจส่งผลต่อการขาดยาเพื่อการรักษาโรคในอนาคตจนไม่สามารถควบคุมวิกฤติของการระบาดโรคได้ การแก้ปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพจำเป็นต้องอาศัยความร่วมมือจากหลายภาคส่วนทั้งมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีบทบาทสำคัญเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นแหล่งที่ผลิตอาหารเพื่อทดแทนการจับสัตว์น้ำในธรรมชาติ โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นที่นิยมบริโภคในประเทศไทยและต่างประเทศ ส่งผลทำให้มีการเลี้ยงกุ้งชนิดนี้อย่างกว้างขวาง โดยแหล่งเพาะเลี้ยงสำคัญของกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดจันทบุรีและจังหวัดสงขลา ซึ่งกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง (2558) รายงานว่าผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมในปี พ.ศ. 2558 ของจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดสงขลา อยู่ที่ 33,731 ตัน และ 12,451 ตัน ตามลำดับ โดยกุ้งขาวแวนนาไมที่ผลิตได้จะจำหน่ายทั้งในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ สำหรับแนวทางการเลี้ยงกุ้งของเกษตรกรส่วนใหญ่จะปล่อยกุ้งเลี้ยงที่ความหนาแน่นสูงเพื่อให้ได้ผลผลิตมากที่สุด แนวปฏิบัตินี้ส่งผลให้กุ้งอ่อนแอเกิดโรคระบาดได้ง่าย สร้างความเสียหายต่อทั้งผลผลิต และรายได้ของเกษตรกร (ผจงจิตต์, 2559) เมื่อเกิดโรคระบาดผู้เลี้ยงบางรายจึงหาแนวทางแก้ปัญหาโรคโดยนำยาต้านจุลชีพมาใช้ในการรักษาโรค และมีการใช้ยาที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในสัตว์น้ำและในสิ่งแวดล้อมจากการเพาะเลี้ยงเกิดการดื้อต่อปฏิชีวนะได้ รวมทั้งอาจมีการตกค้างของยาต้านจุลชีพในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำอีกด้วย (Tello et al., 2010)

เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่สามารถพบได้ในแหล่งน้ำและสามารถก่อให้เกิดโรคที่มากับอาหาร (foodborne disease) ในมนุษย์ได้ เช่น โรคท้องร่วง ติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อในกระแสเลือด และแผลติดเชื้อบริเวณผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน ๆ เป็นต้น (อิสยาและวัชรินทร์ 2553; อรอนงค์, 2555; Kang, 2014) ที่ผ่านมามีการศึกษาของ พุทธรัตน์

และคณะ (2556) ได้ศึกษาการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล, กุ้งก้ามกราม และตะพาบน้ำ จาก 10 จังหวัดของภาคกลางในประเทศไทย พบว่าดื้อต่อยา sulfamethoxazole-trimethoprim 22.73%, norfloxacin 21.59%, oxytetracycline 39.77%, chloramphenicol 18%, amoxicillin 42.05% และ enrofloxacin 25% ในขณะที่ Banerjee et al. (2012) ได้ศึกษาการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Vibrio* spp. และ *Salmonella* spp. ที่แยกจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบเชื้อ *Salmonella* spp. ดื้อต่อยา erythromycin ในขณะที่เชื้อ *Vibrio* spp. ที่แยกได้ดื้อต่อยา ampicillin, tetracycline และ doxycycline การปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งสามชนิดในสินค้าเพื่อการบริโภคจึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความบกพร่องของสุขอนามัยขั้นพื้นฐานในแหล่งที่มาของสินค้านั้น ๆ หากเชื้อเหล่านี้เกิดการดื้อยา อาจส่งผลให้เกิดปัญหาในการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อการรักษาโรคของมนุษย์ได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ จะช่วยให้ทราบข้อมูลและสถานะของการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามชนิดที่ปนเปื้อนในกุ้งขาวแวนนาไม และสิ่งแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะนำไปสู่การหาแนวทางเพื่อการจัดการต่อเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้ถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ รวมถึงลดปัญหายาต้านจุลชีพตกค้างในสินค้ากุ้งขาวแวนนาไมในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. สถานที่ศึกษา

สถานที่ศึกษาตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไม

เก็บตัวอย่างกุ้งขาวมีชีวิตและน้ำที่ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจาก 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดจันทบุรีและจังหวัดสงขลา จังหวัดละ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 จุดเก็บตัวอย่างที่ระดับความชุก 5% ในระหว่างเดือน กันยายน 2560–มีนาคม 2561 โดยเก็บตัวอย่างจากฟาร์มเลี้ยง 5 ฟาร์ม ของแต่ละจังหวัด ซึ่งเป็นฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมสำหรับจำหน่ายเพื่อการบริโภคทั้งหมด โดยฟาร์มเลี้ยงกุ้งที่ทำการศึกษาทั้งหมดเคยมีประวัติการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อรักษาโรคในระหว่างการเลี้ยงมาก่อนแต่รอบการเลี้ยงที่คณะผู้วิจัยดำเนินการเก็บตัวอย่างนั้นไม่มีการใช้ยาต้านจุลชีพใดๆ สำหรับรายละเอียดจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด **Table 1** เนื่องจากรอบการผลิตของกุ้งขาวแวนนาไมในแต่ละรอบใช้ระยะเวลา 2–4 เดือน การเก็บตัวอย่างทั้ง 2 ครั้ง จึงใช้สถานที่เดียวกันและบ่อเดียวกันในการเก็บตัวอย่าง

Table 1 Location of the collection samples in Chanthaburi and Songkhla provinces

Chanthaburi		Songkhla	
Station	Farm Location	Station	Farm Location
CB 1-1, CB 1-2	Na Yai Am	SK 1-1, SK 1-2	Ranot
CB 2-1, CB 2-2	Na Yai Am	SK 2-1, SK 2-2	Ranot
CB 3-1, CB 3-2	Laem Sing	SK 3-1, SK 3-2	Ranot
CB 4-1, CB 4-2	Laem Sing	SK 4-1, SK 4-2	Ranot
CB 5-1, CB 5-2	Laem Sing	SK 5-2, SK 5-2	Ranot

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 5: 1124-1133 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.100.

2. การเก็บตัวอย่าง

2.1 เพื่อตรวจหาเชื้อดื้อต่อยาต้านจุลชีพในกุ้งขาวแวนนาไม

สุ่มตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมมีชีวิตฟาร์มละ 55 ตัว ตามหลักการของ FAO และ NACA (Bondad-Reantaso et al., 2001) นำกุ้งขาวแวนนาไมมาสลบโดยใช้ สารสกัดกานพลู (eugenol) ที่ความเข้มข้น 95 มิลลิกรัม/ลิตร (ทิพย์ภาพร, 2554) ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวกุ้งแต่ละตัว จากนั้นผ่าหลังกุ้งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อนำลำไส้กุ้งจำนวน 30 ตัวรวมเป็น 1 ตัวอย่างรวม ตัดลำไส้กุ้งให้ละเอียด แล้วปรับอัตราส่วน ลำไส้:BPW ที่อัตราส่วน 1:9 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างใน BPW ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว ที่มี tryptic soya broth (TSB; Oxoid, UK) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจำแนกให้ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ต้องการศึกษา 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. ตามวิธีการของ US Food and Drug Administration- Bacteriological Analysis Manual (FDA-BAM, 2001) ต่อไป

2.2 เพื่อตรวจหาเชื้อดื้อต่อยาต้านจุลชีพในน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

ตัวอย่างน้ำจะสุ่มเก็บเฉพาะจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งโดยเก็บตัวอย่างฟาร์มละ 3 จุด ๆ ล ะ 1,000 มิลลิลิตร (เก็บตัวอย่างบริเวณน้ำเข้าบ่อ, บริเวณที่มีการให้อาหาร และบริเวณน้ำออก) โดยเก็บที่ความลึกจากผิวน้ำที่ 100 เซนติเมตร นำตัวอย่างน้ำจากทั้ง 3 จุด มาใส่รวมในขวดโพลิเอททิลีนปลอดเชื้อ ขนาด 5 ลิตร จากนั้นนำน้ำจากขวดดังกล่าวปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่มี BPW ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำขวดดังกล่าวไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างจากขวดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วที่มี TSB ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง แล้วจึงจำแนกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ต้องการศึกษา 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. ตามวิธีการของ US Food and Drug Administration - Bacteriological Analysis Manual (FDA-BAM, 2001)

3. การจำแนกเชื้อ

3.1 การจำแนกเชื้อ *E. coli*

นำตัวอย่างจากหลอด TSB จากข้อ 2 ข้างต้นมาเจือจางในน้ำกลั่นปลอดเชื้อครั้งละ 10 เท่า (Ten-fold dilution) ก่อนนำเชื้อแต่ละตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตรมาหยดลงบนแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ 3M Petrifilm™ (3M, USA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3.2 การจำแนกเชื้อ *Salmonella* spp.

นำตัวอย่างจากหลอด TSB จากข้อ 2 ข้างต้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตรมาใส่ในหลอดแก้วที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ Rappaport-Vassiliadis soya peptone broth (RVS; Oxoid, UK) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างจากหลอด RVS ปริมาตร 20 ไมโครลิตรมาเกลี่ย (spread) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD (Oxoid, UK) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมงนำห่วงเขี่ยเชื้อแตะเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD มาเขี่ย (streak) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD อีกครั้ง แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง

3.3 การจำแนกเชื้อ *Vibrio* spp.

นำตัวอย่างจากหลอดTSB จากข้อ 2 ข้างต้น ปริมาตร 20 ไมโครลิตรมา spread ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS; Oxoid, UK) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง จากนั้นนำห่วงเขี่ยเชื้อแตะเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS มา streak บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS อีกครั้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง

นำโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะทางกายภาพจำเพาะตรงกับเชื้อข้างต้น (FDA-BAM, 2001) จากข้อ 3.1–3.3 มาเขี่ยบนจานอาหาร TSA โดยเขี่ย 1 เชื้อต่ออาหาร TSA 1 จานเพาะเชื้อ (plate) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18–24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาทดสอบลักษณะทางชีวเคมี (Bergey et al.,1984) จากนั้นเลือกเชื้อที่มีคุณลักษณะทางชีวเคมีที่ตรงกับเชื้อ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. นำมายืนยันเชื้อด้วยชุดทดสอบ API 20E (Biomerieux, France)

4. การทดสอบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพ

นำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่เจริญบนจานอาหาร

เลี้ยงเชื้อ TSA ละลายในน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 % ที่ปราศจากเชื้อให้ได้ความขุ่นเท่ากับ McFarland's standard No. 0.5 (หรือ 1.5×10^8 CFU/mL) หลังจากนั้นนำตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตรมาเกลี่ย ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton agar (MHA; Oxoid, UK) แผ่นยามาตรฐานได้แก่ amoxicillin (AML, 10 µg), ampicillin (AMP, 10 µg), ceftriaxone (CRO, 30 µg), ciprofloxacin (CIP, 5 µg), colistin (CT, 10 µg) และ oxytetracycline (OT, 30 µg) วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยมีเชื้อแบคทีเรียอ้างอิง ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922 (Biomedia (Thailand) Co., Ltd.) เป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มควบคุมในการศึกษาครั้งนี้ จากนั้นนำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณรอบวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น นำค่าที่ได้มาแปลผลโดยเปรียบเทียบตามตารางของ The Clinical and Laboratory Standards Institute Guidelines (CLSI, 2016)

ผลและวิจารณ์การศึกษา

เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp., *E.coli* และ *Salmonella* spp. เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและเคยมีรายงานการพบเชื้อเหล่านี้ในแหล่งน้ำที่มีการเลี้ยงกุ้งในหลายพื้นที่ (Bhaskar et al., 1998; Norhana et al., 2001) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้ กลับพบว่าเชื้อส่วนใหญ่ที่ตรวจพบในตัวอย่างที่สุ่มจากจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดสงขลาเป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างจากลำไส้กุ้งและน้ำจากทุกฟาร์มที่ทำการสุ่ม ขณะที่การสุ่มตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรีครั้งที่ 1 พบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Salmonella* spp. จำนวน 1 isolate จากลำไส้ของกุ้งจากฟาร์มใน อำเภอแหลมสิงห์ (CB 5-1) สำหรับจังหวัดสงขลาการสุ่มในครั้งที่ 1 พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* จำนวน 2 isolates จากลำไส้ของกุ้งจากฟาร์มในอำเภอระโนด (SK1-1 และ SK 5-1) และพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 3 isolates จากลำไส้ของกุ้งจากฟาร์มใน อำเภอระโนด (SK2-1) (**Table 2**) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *E. coli* และ *Salmonella* spp. ไม่ได้เป็นเชื้อทั่วไปที่พบเป็นประจำในแหล่งน้ำสำหรับการเลี้ยงกุ้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ Dalsgaard et al. (1995) ที่รายงานว่าไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในกุ้ง น้ำเลี้ยงกุ้ง และดินตะกอนในบ่อเลี้ยงกุ้งตลอดจนอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งในประเทศไทย ในขณะที่ Koonse et al. (2005) รายงานว่า เชื้อดังกล่าวไม่ได้เป็นเชื้อที่พบทั่วไปในบ่อเลี้ยงกุ้ง มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนต่ำแสดงให้เห็นถึงการจัดการฟาร์มที่ดีส่งผลต่อสู่ขอนามัยฟาร์มที่ดี แต่การปนเปื้อนของเชื้อเหล่านี้อาจเกิดจากการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่ายของคนและสัตว์จากชุมชนใกล้เคียงลงไปยังแหล่งน้ำที่ใช้สำหรับเลี้ยงกุ้ง เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *Salmonella* spp. ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เกษตรกรที่มีฟาร์มตั้งอยู่ในพื้นที่ซึ่งเสี่ยงต่อการปนเปื้อนดังกล่าวควรจะมีการพักน้ำในบ่อพักก่อนที่จะทำการบำบัดน้ำให้เหมาะสมก่อนที่จะนำน้ำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

สำหรับการศึกษาเชื้อดื้อยาในตัวอย่างกุ้งและน้ำจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งพบการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาอย่างน้อยหนึ่งเชื้อจากทุกฟาร์มที่ศึกษา ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา (2 รอบการเลี้ยง) โดยพบเชื้อดื้อยาในกลุ่ม amoxicillin และ ampicillin มากที่สุด ตามด้วยยา oxytetracycline, ceftriaxone และ colistin ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Banerjee et al. (2012) ซึ่งรายงาน การพบเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. ดื้อยาในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบเชื้อ *Salmonella* spp. ที่แยกได้มีการดื้อต่อยา Erythromycin ในขณะที่เชื้อ *Vibrio* spp. ที่แยกได้ดื้อต่อยา ampicillin, tetracycline และ doxycycline อีกทั้งการรายงานของ Akibowale et al. (2005) รายงานการพบเชื้อ *Vibrio* spp. จากแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำดื้อต่อยา ampicillin, amoxycillin, oxytetracycline, cephalexin, erythromycin, cephalothin และ tetracycline ในขณะที่การศึกษาของ Chakravarty et al. (2015) ได้รายงานการแยกเชื้อ *E. coli* จากเนื้อกุ้งพบว่าดื้อต่อยา penicillin, tetracycline, gentamicin, nitrofurantoin และ ampicillin นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา กลุ่ม *Vibrio* spp., *Salmonella* spp. ในอาหารทะเลสด ได้แก่ ปลากะพงขาว กุ้งทะเล หอยนางรม และหอยแครง ที่ขายในประเทศไทยพบว่าไม่มีเชื้อตัวไหนดื้อต่อยา azithromycin, ciprofloxacin และ neomycin แต่พบเชื้อ *Vibrio* spp. มีการดื้อต่อยา colistin (Woodring et al., 2012)

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 5: 1124-1133 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.100.

Table 2 Bacterial contamination and antimicrobial resistant in shrimp and water samples

Station	Type of sample	Type of bacteria-Isolate	Antimicrobial tested					
			AML	AMP	OT	CRO	CIP	CT
CB 1-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	S
	water	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	S
CB 1-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	R	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	R	S	I
CB 2-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	I
CB 2-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	S
CB 3-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	S
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	S
CB 3-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	I	R	S	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 2	S	S	S	S	S	R
	water	*Vibrio* spp. – 1	I	R	S	S	S	R
	water	*Vibrio* spp. – 2	R	R	S	S	S	S
CB 4-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	I	S	I	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	I	S	I	S	S	I
CB 4-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	R	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 2	R	R	R	S	S	I
CB 5-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	I	S	I	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	S	S	I	S	S	I
CB 5-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	R	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	I	R	R	S	S	S
SK 1-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	R	S	S
	water	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	R

Remark: R: resistance; I: Intermediate; S: susceptible

AML: amoxicillin; AMP: ampicillin; OT: oxytetracycline; CRO: ceftriaxone, CIP: ciprofloxacin; CT: colistin

Table 2 Bacterial contamination and antimicrobial resistant in shrimp and water samples (Cont.)

Station	Type of sample	Type of bacteria-Isolate	Antimicrobial tested					
			AML	AMP	OT	CRO	CIP	CT
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	I	S	S	S
SK 1-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 2	R	R	S	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	I
SK 2-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 2	R	R	S	S	S	S
	shrimp	*Vibrio* spp. – 3	R	R	R	R	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	I	I	S	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	S	S	I
SK 2-2	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	S	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 2	R	R	R	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	S	S	S	S	S	R
SK 3-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 2	R	R	R	R	I	R
	shrimp	*Vibrio* spp. – 3	R	R	R	R	S	R
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	S	S	S	S	R
SK 3-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	S	S	S
	water	*Vibrio* spp. – 1	I	I	R	S	S	S
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	S	I	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 2	I	S	S	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 3	R	R	R	R	S	R
SK 4-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 4	R	R	S	R	S	R
	shrimp	*Vibrio* spp. – 5	R	R	R	R	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 6	R	R	R	R	I	R
	water	*Vibrio* spp. – 1	I	R	S	S	S	S
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	I
SK 4-2	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	S
	water	*Vibrio* spp. – 2	S	S	S	S	S	S

Remark: R: resistance; I: Intermediate; S: susceptible

AML: amoxicillin; AMP: ampicillin; OT: oxytetracycline; CRO: ceftriaxone, CIP: ciprofloxacin; CT: colistin

Table 2 Bacterial contamination and antimicrobial resistant in shrimp and water samples (cont.)

Station	Type of sample	Type of bacteria-Isolate	Antimicrobial tested					
			AML	AMP	OT	CRO	CIP	CT
	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	I	S	S	I
	shrimp	*Vibrio* spp. – 2	R	R	R	R	S	R
SK 5-1	shrimp	*Vibrio* spp. – 3	R	R	R	R	S	S
	shrimp	*Vibrio* spp. – 4	R	R	R	R	S	I
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	R	R	S	I
SK 5-2	shrimp	*Vibrio* spp. – 1	R	R	I	S	S	R
	water	*Vibrio* spp. – 1	R	R	S	S	S	I
CB 5-1	shrimp	*Salmonella* spp. – 1	S	S	S	S	S	S
	shrimp	*Salmonella* spp. – 1	R	R	S	S	S	S
SK 2-1	shrimp	*Salmonella* spp. – 2	I	I	S	S	S	S
	shrimp	*Salmonella* spp. – 3	I	S	S	S	I	S
SK 1-1	shrimp	*E. coli* – 1	R	R	S	R	S	S
SK 5-1	shrimp	*E. coli* – 1	R	R	R	R	S	S

Remark: R: resistance; I: Intermediate; S: susceptible

AML: amoxicillin; AMP: ampicillin; OT: oxytetracycline; CRO: ceftriaxone, CIP: ciprofloxacin; CT: colistin

สำหรับสาเหตุที่พบเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิดในกุ้งและน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ทำการศึกษานั้นมีความเป็นไปได้หลายสาเหตุ ส่วนหนึ่งอาจมาจากการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียซึ่งอยู่ในบ่อเลี้ยงเอง เนื่องจากฟาร์มเลี้ยงทุกฟาร์มที่ทำการศึกษามีประวัติเคยใช้ยาต้านจุลชีพในการเลี้ยงกุ้งมาแล้ว ทำให้แบคทีเรียซึ่งดื้อต่อยาที่ใช้มีโอกาสถ่ายทอดยีนดื้อยาดังกล่าวไปยังเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ ที่อยู่ในบ่อเลี้ยงและอาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนเข้าไปยังกุ้งและน้ำเลี้ยงกุ้งที่ศึกษาได้ อีกสาเหตุหนึ่งที่น่าจะเป็นไปได้คือการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาผ่านทางสิ่งแวดล้อม เนื่องจากในพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างทั้งในจังหวัดจันทบุรี และสงขลามีการทำการเกษตรและปศุสัตว์หลายรูปแบบรอบแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง เช่นฟาร์มไก่ ฟาร์มวัวซึ่งอาจมีการใช้ยาต้านจุลชีพหลายชนิดในระหว่างการเลี้ยง นอกจากนี้ยังมีการนำเอาปุ๋ยหมักจากสิ่งขับถ่ายจากฟาร์มปศุสัตว์เหล่านี้ไปใช้ในสวนเกษตรอื่น ๆ จนอาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาดังกล่าวในแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง สำหรับการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 2 พบว่ามีการดื้อต่อยาต้านจุลชีพมากกว่าการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 อาจเนื่องมาจากในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2560 พื้นที่การเลี้ยงกุ้งในจังหวัดจันทบุรีมีฝนตก และเดือนมกราคม 2561 ในพื้นที่การเลี้ยงกุ้งในอ.ระโนด จังหวัดสงขลาประสบอุทกภัย ทำให้มีการชะล้างของน้ำและดินจากการเกษตร ภาคปศุสัตว์อื่น ๆ มายังบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม จึงอาจจะเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้พบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพมากขึ้นกว่าการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 1 สอดคล้องกับรายงานของ Singer and Hofacre (2006) ซึ่งรายงานว่ายาต้านจุลชีพ อนุพันธ์ของยาดังกล่าว ตลอดจนเชื้อแบคทีเรียดื้อยาสามารถแพร่กระจายจากฟาร์มปศุสัตว์ไปยังแหล่งน้ำธรรมชาติ ก่อให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในธรรมชาติได้ ดังนั้นเพื่อป้องกันปัญหาเชื้อดื้อยาในขบวนการผลิตสัตว์น้ำนั้น กรมประมงซึ่งเป็นหน่วยงานรับผิด

ชอบหลักต้องประชาสัมพันธ์ให้เกษตรกรลดการใช้ยาต้านจุลชีพในระหว่างการเลี้ยง โดยส่งเสริมให้มีการจัดการฟาร์มที่ดี ปล่อยสัตว์น้ำลงเลี้ยงโดยใช้อัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้สัตว์น้ำเครียดและอ่อนแอ พยายามลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคโดยจัดให้มีบ่อพักน้ำ และมีการบำบัดน้ำอย่างเหมาะสมก่อนนำมาใช้ เปลี่ยนถ่ายภายในฟาร์ม ต้องเข้มงวดในการควบคุมผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่นำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยมีมาตรการลงโทษร้านค้าตลอดจนตัวแทนขายยากลุ่มที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างชัดเจน ต้องมีการตรวจสอบการปนเปื้อนของยาต้านจุลชีพในเนื้อกุ้งก่อนจับกุ้ง ถ้าหากพบการปนเปื้อนของยาต้านจุลชีพต้องห้ามในเนื้อกุ้งต้องมีมาตรการลงโทษเกษตรกรที่ฝ่าฝืนอย่างเข้มงวด

สรุป

1. ผลการเก็บตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรีครั้งที่ 1 พบเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 10 isolates เชื้อดังกล่าวจำนวนจำนวน 2 isolates ดื้อต่อยา amoxicillin และ ampicillin ขณะที่มีแนวโน้มดื้อต่อยา amoxicillin จำนวน 3 isolates, ยา oxytetracycline จำนวน 4 isolates และยา colistin จำนวน 6 isolates และไวต่อยา amoxicillin จำนวน 5 isolates, ampicillin จำนวน 8 isolates, oxytetracycline จำนวน 6 isolates และยา colistin จำนวน 4 isolates ขณะที่ยา ceftriaxone และ ciprofloxacin ยังคงไวต่อเชื้อ *Vibrio* spp. อีกทั้งพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 1 isolated ไวต่อยาปฏิชีวนะที่ทำการทดสอบทั้งหมด ไม่พบเชื้อ *E. coli* ปนเปื้อนจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1

2. ผลการเก็บตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรีครั้งที่ 2 พบเชื้อ *Vibrio* spp. 13 isolates ดื้อต่อยา amoxicillin จำนวน 9 isolates, ampicillin จำนวน 12 isolates, oxytetracycline จำนวน 5 isolates, ceftriaxone จำนวน 4 isolates และ colistin 2 isolates ขณะที่มีแนวโน้มดื้อต่อยา amoxicillin จำนวน 3 isolates และ colistin จำนวน 8 isolates และไวต่อยา amoxicillin จำนวน 1 isolates, ampicillin จำนวน 1 isolates, oxytetracycline จำนวน 7 isolates และยา colistin จำนวน 2 isolates ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2

3. ผลการเก็บตัวอย่างตัวอย่างจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 1 พบเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 22 isolates ดื้อต่อยา amoxycillin จำนวน 16 isolates, ampicillin จำนวน 15 isolates, oxytetracycline จำนวน 11 isolates, ceftriaxone จำนวน 12 isolates และ colistin จำนวน 9 isolates ขณะที่มีแนวโน้มดื้อต่อยา amoxicillin จำนวน 3 isolates, ampicillin จำนวน 1 isolated, oxytetracycline จำนวน 2 isolates, ciprofloxacin 2 isolates และ colistin จำนวน 9 isolates และไวต่อยา amoxicillin จำนวน 3 isolates, ampicillin จำนวน 6 isolates, oxytetracycline จำนวน 9 isolates, ceftriaxone จำนวน 10 isolates, ciprofloxacin จำนวน 20 isolates และ colistin จำนวน 4 isolates อีกทั้งพบเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 3 isolates ดื้อต่อยา amoxicillin และ ampicillin จำนวน 1 isolates มีแนวโน้มดื้อต่อยา amoxicillin จำนวน 2 isolates, ampicillin จำนวน 1 isolated และ ciprofloxacin จำนวน 1 isolates พบเชื้อ *E. coli* จำนวน 2 isolates ดื้อต่อยา amoxicillin, ampicillin และ ceftriaxone ทั้ง 2 isolates ดื้อต่อยา oxytetracycline จำนวน 1 isolated

4. ผลการเก็บตัวอย่างจากจังหวัดสงขลาครั้งที่ 2 พบเชื้อ พบเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 13 isolates ดื้อต่อยา amoxycillin และ ampicillin จำนวน 11 isolates, oxytetracycline จำนวน 5 isolates และ colistin จำนวน 1 isolated ขณะที่มีแนวโน้มดื้อต่อยา amoxycillin และ ampicillin จำนวน 1 isolated, oxytetracycline จำนวน 2 isolates และ colistin จำนวน 7 isolates และไวต่อยา amoxicillin และ ampicillin จำนวน 1 isolated, oxytetracycline จำนวน 6 isolates และยา colistin จำนวน 5 isolates สำหรับการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 2 ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp.

5. สาเหตุของการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *Vibrio* spp. เป็นไปได้หลายสาเหตุ จากเชื้อแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีประวัติการใช้ยาต้านจุลชีพ หรือ จากการปนเปื้อนมาจากสิ่งแวดล้อมจากการเกษตร หรือ ปศุสัตว์

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2560. แผนยุทธศาสตร์การจัดการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560–2564. แหล่งข้อมูล: https://kb-phpp.nationalhealth.or.th/bitstream/handle/123456789/7525/01.pdf?sequence=1. ค้นเมื่อ 15 มีนาคม 2561.

กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง. 2558. สถิติผลผลิตการเลี้ยงกุ้งทะเลประจำปี 2558 เอกสารฉบับที่ 2/2560. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ทิพย์ภาพร หล่อสิงห์คำ. 2554. การประเมินประสิทธิภาพของสารไอโซยูจินอลเพื่อใช้เป็นยาสลบสำหรับกุ้งขาวแวนนาไม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

ผจงจิตต์ ทองศรี.2559.แนวทางการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus yannamei*) เพื่อลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย สายพันธุ์ก่อโรคอีเอ็มเอส. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

มาลินี จุลศิริ. 2532. ยาต้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและประยุกต์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์อักษรบัณฑิต, กรุงเทพฯ.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์. 2553. แบคทีเรียทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. 2555. จุลชีววิทยาทางการแพทย์: แบคทีเรียก่อโรค. จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

Akibowale, O.L., H. Peng and M.D. Barton. 2005. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. Appl. Microbiol. 100: 1103–1113.

Banerjee, S., M.C. Ooi, M. Shariff, and H. Khatoon. 2012.Antibiotic resistant Salmonella and Vibrio associated with farmed *Litopenaeus vannamei*. Sci. World J. (2012): 130–136.

Bhaskar, N., T.M. Setty, S. Modal, M.A. Joseph, C.V. Raju, B.S. Raghunath, and C.S. Anantha. 1998. Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*). Food Microbiol. 15 : 511–519.

Bergey, D.H., N.R. Krieg, and J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Edition. Springer, New York.

Bondad-Reantaso, M.G., S.E. McGlddery, I. East, and R.P. Subasinghe. 2001. Asia Diagnostic Guide to Aqautic Animal Diseases. FAO Fisheries Technical Paper, FAO, Rome.

Chakravarty M.S., P.R.C. Ganesh, D. Amaranth, B. S. Sydha, and M. Subhashini. 2015. *Escherichia coli* occurrence in the meat of shrimp fish chicken and mutton and its antibiotic resistance European. Exp. Biol. 5: 41–48.

Dalsgaard, A., H.H. Huss, A. H-Kittikun, and J.L. Larsen. 1995. Prevalence of *Vibrio cholerae* and *Salmonella* in a major shrimp production area in Thailand. Food Microbiol. 28 : 101–113.

Kang, C.H., Y.G. Kim, S.J. Oh, J.S. Mok, M.H. Cho, and J.S. So. 2014. Antibiotic Resistance of *Vibrio harveyi* Isolated from seawater in Korea. Marine Pollut. Bull. 86: 261–265.

Koonse, B., W. Burkhardt, S. Chirtel, and G.P. Hoskin. 2005. Salmonella and the sanitary quality of aquacultured shrimp. Adv. Exp. Med. Biol. 68: 2527–2532.

Norhana, M.W., M.Y. Johara, and A.M. Ramlah. 2001. occurrence of pathogens from major shrimp and oyster production areas in Penisular Malaysia. Malay. Fish. J. 2: 176-184.

Singer, R.S., and C.L. Hofacre. 2006. Potential impacts of antibiotic use in poultry production. Avian. Dis. 50 : 161–72.

Tello, A., A.R. Corner, and T.C. Telfer. 2010. How do land-based salmonid farms affect stream ecology. Environ. Pollut. 158: 1147–1158.

Woodring, J., A. Srijan, P. Puripunyakom, W. Oransathid, B. Wongstitwilairoong, and A. Mason. 2011. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Vibrio*, *Salmonella*, and *Aeromonas* isolates from various uncooked seafoods in Thailand. Adv. Exp. Med. Biol. 75: 41–47.