

ประสิทธิภาพของยาต้านจุลชีพบางชนิดต่อการยับยั้ง การเพิ่มจำนวนของเชื้อแอโรโมนาสในปลาอุกด้าน¹

Inhibition Effect of Antimicrobial Drugs on Growth of
Aeromonas hydrophila in Pla Duk Dan (*Clarias batrachus* Linn.)

กิติ ศรีสุภาพ, องอาจ เลหาวินิจ, มალიณี ลัมโปคา, สมุทร สิริเวชพันธุ์,
รุ่งเจริญ กาญจโนมัย และ พิบูล ไชยอนันต์²

Kiti Srisuparbh, Ong-ard Lawhavinij, Malinee Limpoka, Samutra Sirivejpandu,
Rungcharoen Kanchanomai and Pibul Chai-anan

ABSTRACT

This experiment was designed to study the inhibiting effect of chloramphenicol, sulfamonomethoxine, doxycycline and furazolidone on growth of *Aeromonas hydrophila* in Pla Duk Dan (*Clarias batrachus* Linn.).

It was found that a single intramuscular administration of chloramphenicol and sulfamonomethoxine at concentrations of 50 and 200 milligrams per kilogram of fish body weight, would respectively give very good suppression effect on multiplication of the bacteria. The number of bacteria in blood circulation dropped rapidly when compared between drugs and non-drugs administered groups of fish starting at 1 hour and remained in relative low number for twelve hours after drugs administration. Results from the same experiments also indicated that there was a better effect of sulfamonomethoxine than chloramphenicol on the bacterial growth inhibition.

Chloramphenicol and sulfamonomethoxine were both less effective on bacterial growth inhibition when they were given orally using the same doses with the intramuscular route. The better effect, however, would be attained when the second dose was given at eight hours after the first administration.

Results obtained from oral administration of furazolidone and doxycycline at concentrations of 10 and 40 milligrams per fish body weight respectively indicated the fairly good suppression effect on growth of bacteria though it took longer lag period and shorter inhibiting duration than those of sulfamonomethoxine and chloramphenicol.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษา
ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อแอโร-
โมนาสในปลาอุกด้านของยาคลอแรมเฟนิคอล ซัลฟา-

โมโนเม็ทโทกซีน ไดออกซีซัยคลิน และฟิวราโซลิโดน
โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อและการให้กินโดยป้อนยา
ทางปาก

ผลจากการฉีดยาคลอแรมเฟนิคอลในปริมาณ

1 ผลงานวิจัยซึ่งได้รับทุนอุดหนุนจากคณะกรรมการเฉพาะกิจแก้ไขปัญหาระบาดสัตว์น้ำจืด ปีงบประมาณ 2526

2 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และยาซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน ขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เข้ากลัมนื้อ จะสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อแอโรโมนาสในตัวปลาได้เป็นอย่างดี โดยเริ่มจากชั่วโมงที่ 1 หลังการฉีดเชื้อ จำนวนเชื้อในเลือดของปลากลุ่มที่ได้รับยาจะมีจำนวนน้อยกว่าในปลากลุ่มที่ไม่ได้รับยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.01$) ความแตกต่างนี้จะอยู่จนถึงชั่วโมงที่ 12 หลังการฉีดเชื้อ หลังจากนั้นแล้วจำนวนเชื้อแอโรโมนาสในปลากลุ่มที่ไม่ได้รับยาและกลุ่มที่ได้รับยาจะมีจำนวนใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อระหว่างยาสองชนิดนี้ พบว่ายาซัลฟาโมโนเม็ททอกซีนจะมีสมรรถภาพในการยับยั้งเชื้อแอโรโมนาสได้ดีกว่ายาคลอแรมฟินิคอล โดยเฉพาะในระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 12 หลังการฉีดเชื้อ กลุ่มปลาที่ฉีดซัลฟาโมโนเม็ททอกซีนจะมีจำนวนเชื้อต่ำกว่ากลุ่มปลาที่ฉีดด้วยคลอแรมฟินิคอล

ผลจากการป้อนยาฟิวราโซลิโดนและด็อกซี-มัคลินให้กินด้วยขนาด 10 และ 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักปลา ตามลำดับ พบว่ายาทั้งสองจะสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อแอโรโมนาสในปลาดุกด้านได้ดีเช่นกัน แต่ความสามารถในการยับยั้งจะช้ากว่า และระยะเวลาที่สามารถยับยั้งได้จะสั้นกว่าผลของคลอแรมฟินิคอลและซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน คือ จำนวนเชื้อจะลดลงในชั่วโมงที่ 6 หลังจากฉีดเชื้อ และฤทธิ์ของยาจะอยู่จนถึงแค่ชั่วโมงที่ 10 หลังจากนั้นจำนวนเชื้อจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น จนกระทั่งมีจำนวนใกล้เคียงกับปลากลุ่มที่ไม่ได้ให้ยา ยาด็อกซี-มัคลินจะมีประสิทธิภาพดีกว่ายาฟิวราโซลิโดนในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อ

จากการทดลองป้อนยาคลอแรมฟินิคอลและซัลฟาโมโนเม็ททอกซีนให้กินเพียงครั้งเดียวในขนาดที่ให้โดยการฉีด พบว่ายาทั้งสองชนิดจะมีผลในการยับยั้งเชื้อได้น้อยมาก แต่ถ้าให้กินย้าเป็นครั้งที่ 2 หลังจากให้กินครั้งแรก 8 ชั่วโมง ในขนาดเท่าเดิม พบว่ายาทั้งสองชนิดจะให้ผลในการลดจำนวนเชื้อได้มากขึ้น จึงเป็นข้อชี้แนะว่าถ้าจะให้ยาโดยการกิน น่าที่จะให้ 2 ครั้งใน 24 ชั่วโมง

กานำ

การระบาดของโรคในปลาน้ำจืดในประเทศไทยในระยะ 2-3 ปีที่ผ่านมา ได้ทำความสูญเสียให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาและเศรษฐกิจของประเทศเป็นส่วนรวมเป็นอย่างมาก เพราะการเกิดโรคเกิดทั้งในปลาที่เลี้ยงในบ่อแบบอุตสาหกรรม และปลาในแม่น้ำลำธารธรรมชาติในจังหวัดต่าง ๆ มากกว่าหกสิบจังหวัดในทุกภาคของประเทศ กลไกผู้เลี้ยงปลาต้องประสบกับการขาดทุน และประชาชนทั่วไปที่เคยอาศัยการจับปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อเพิ่มรายได้และเป็นอาหารประจำวันของครอบครัวต้องประสบกับปัญหาที่ปลามีจำนวนลดน้อยลง เนื่องจากการเกิดโรคและตายเป็นจำนวนมาก

ลักษณะของโรคที่เกิดในปลาน้ำจืดนั้น จะมีลักษณะเป็นแผลคัน ๆ ปากแผลกว้าง (ulceration) ตามลำตัวทั่ว ๆ ไป เช่น บริเวณข้างตัว หลัง หัว ครีบต่าง ๆ เหงือก ตา และปลายหาง เป็นต้น ในปลาตัวที่เป็นมากทางจะขาด เหงือกเน่า ตามบอดและเน่า ปากแหว่ง และผลที่สุดก็จะตาย อาการดังกล่าวเกิดขึ้นในปลาน้ำจืดแทบทุกชนิด (สิทธิ บุญยรัตผลิน และคณะ, 2526)

การศึกษาเพื่อสรุปสาเหตุของการเกิดโรคลักษณะดังกล่าวนี้ ในตอนแรกได้มุ่งให้ความสำคัญของเชื้อแบคทีเรียแอโรโมนาส (*Aeromonas* sp.) เป็นอย่างมาก เพราะเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้เคยมีผู้รายงานไว้ว่าสามารถทำให้เกิดโรคในลักษณะดังกล่าวได้มานานแล้ว (Plum, A.J. *et al.*, 1976; Shatis, Junior *et al.* 1972) และในการระบาดในระยะปัจจุบันนี้ก็ยังมีรายงานการแยกเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จากทั้งแผลและอวัยวะภายในที่สำคัญของปลาที่เกิดโรคเป็นประจำ อย่างไรก็ตาม กลไกของการเกิดโรคเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้ยังไม่ทราบ (เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ, 2522; พชร สุทธนันท์ และคณะ, 2524; สิทธิ บุญยรัตผลิน และคณะ, 2523)

ในการที่จะแก้ไขปัญหของโรคระบาดในปลาน้ำจืด ก็ต้องมีมาตรการที่กำหนดขึ้นหลายประการ โดยมุ่งประเด็นการแก้ไขปัญหาคูณภาพของน้ำ การรักษาปลาที่เกิดโรคและป้องกันปลาที่ยังไม่เกิดโรค

ด้วยยาด้านจุลชีพชนิดต่าง ๆ ในการเลือกใช้อายาด้านจุลชีพเพื่อรักษาและป้องกันโรครบาดในปลานั้น มักจะยึดผลจากการทดสอบฤทธิ์ของยาต่อเชื้อแอโรโมนาสที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการเป็นหลัก ซึ่งก็พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถที่จะถูกยับยั้งการเพิ่มจำนวนได้ด้วยยาปฏิชีวนะและยาฆ่าหลายชนิด (สิทธิ บุญยรัตพลิน, และคณะ, 2526) อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้อมูลของการใช้ยาชนิดต่าง ๆ เหล่านี้ในปลายังมีไม่มากนัก ทำให้นักวิชาการเกิดความสนใจที่จะศึกษาการใช้ยาเหล่านี้ในปลาในแง่ต่าง ๆ เช่น พฤติกรรมของยาในแง่ของการดูดซึม และการกระจายของยาในเลือด ตลอดจนการตกค้าง เป็นต้น (มาลินี ลิ้มโกคา และคณะ, 2526) ผลของการศึกษานี้ว่าเป็นสิ่งที่ประโชชน์ทางวิชาการในเรื่องของการใช้ยาในปลาเป็นอย่างมาก และในการศึกษาฤทธิ์ของยาเหล่านี้ต่อเชื้อแบคทีเรียภายในตัวปลา ก็จะเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่น่าสนใจ และจะเป็นประโยชน์เป็นอย่างมากต่อการใช้อายากลุ่มด้านจุลชีพในการป้องกันและรักษาโรคในปลา

การศึกษานี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาถึงความสามารถของยาด้านจุลชีพบางชนิดในการที่จะหยุดยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อแอโรโมนาสในตัวปลาดุก

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาดุกที่ใช้ในการศึกษา

ปลาดุกที่ใช้ในการศึกษานี้สั่งซื้อจากตลาดขายปลาในบริเวณใกล้เคียงกับสถานที่วิจัย โดยคัดเอาเฉพาะที่มีขนาดใกล้เคียงกัน คือ น้ำหนักโดยเฉลี่ยตัวละประมาณ 0.3 กิโลกรัม และที่มีลักษณะแข็งแรงครั้งละ 40-60 ตัว ในการทดลองแต่ละครั้ง นำมาเลี้ยงไว้ในบ่อซีเมนต์ขนาดปากบ่อประมาณ 2.5 ฟุต บ่อละ 8-10 ตัว โดยนำมาเลี้ยงไว้นาน 24-72 ชั่วโมง เพื่อเป็นการพักปลาก่อนการทดลอง

เชื้อแอโรโมนาส

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง คือ เชื้อ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งแยกได้จากบาดแผลปลาที่เกิดโรคในห้องปฏิบัติการชั้นสูงโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งเป็นเชื้อที่มีลักษณะเดียวกันกับเชื้อที่แยกได้เป็นประจำ และผ่านการทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ แล้ว นำเชื้อมาเพาะเลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ วัณผสมเลือด (Blood agar) และใน Brain Heart Infusion (Difco Comp.) ก่อนที่จะไปเพาะเชื้อเพื่อนับจำนวนและฉีดเข้าปลา ปรับปริมาณเชื้อให้เท่า ๆ กันในทุกการทดลอง คือ ประมาณ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และฉีดเข้าตัวปลาตัวละ 1 มิลลิลิตร โดยฉีดเข้าเส้นเลือด (Caudal blood vessels)

ยาที่ใช้ในการทดลอง

หลังจากที่ฉีดเชื้อให้ปลาแล้วประมาณ 10-20 นาที กลุ่มปลาแต่ละกลุ่มจำนวน 8-10 ตัว จะให้อายากลุ่มละ 1 ชนิด คือ อาจจะเป็นคลอแรมฟินิคอล (Chloramphenicol)¹ ไดออกซี่ซัยคลิน² หรือซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน³ และฟิวราโซลิโดน⁴ โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือโดยการป้อนให้กินยาทางปาก โดยขนาดและปริมาณยาต่าง ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ : กลุ่มที่ฉีดคลอแรมฟินิคอล และซัลฟาโมโนเม็ททอกซีนในขนาด 50 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณส่วนกลางของลำตัว

กลุ่มที่ให้กิน : กลุ่มที่ป้อนด้วยยาคลอแรมฟินิคอล ไดออกซี่ซัยคลิน ซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน และฟิวราโซลิโดน ด้วยขนาด 50, 40, 10 และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ โดยการป้อนด้วยสายยางใสเล็ก ๆ ต่อเข้ากับเข็มฉีดยาหลอดฉีดยา สอดสายยางลึกจนถึงกระเพาะของปลา

1 Chloramphenicol Sodium succinate; Kemicetine succinate; Farmitalia Carlo Erba S.p.A. Montedison Group, Italy.

2 Doxycycline Soluble powder 5% (base), VBRAVET, PFIZER INC., Bangkok.

3 Daimeton; Sulfamonomethoxine 20% solution. Chareon Pokphand Enterprise Co., Ltd. Thailand.

4 Furazolidone solution; Local Purchased.

กลุ่มเปรียบเทียบ : ในทุกการทดลอง จะมีกลุ่มปลาที่ไม่ได้รับยาแต่รับเชื้อแบคทีเรียอย่างเดียวกันในปริมาณเท่ากับกลุ่มอื่น ๆ เพื่อใช้เป็น control

วิธีการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย

ทำการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนฉีดเข้าปลา และที่ฉีดเข้าปลาแล้ว โดยการเจาะเลือดจากปลาทาง caudal blood vessels เป็นระยะ ๆ ตามกำหนดเวลา กลุ่มละ 3-4 ตัว ๆ ละ 0.5 มิลลิลิตร โดยการจับปลาแบบสุมตัวอย่าง ป้องกันการแข็งตัวของเลือดด้วย 0.1 มิลลิลิตร 1% Heparin in saline solution

ถ่ายเลือดที่เจาะได้ลงไปหลอดที่มี 0.85% Normal saline 4.5 มิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางเชื้อในอัตราส่วน 1 : 10 ไปจนถึงระดับเจือจางที่เห็นว่าจำเป็น หลังจากการทำเจือจางตัวอย่างเลือดทุกตัวอย่างแล้ว ก็นำเลือดที่ทำเจือจางแล้วมา 1.0 มิลลิลิตร เพื่อทำการเพาะเชื้อเพื่อหาปริมาณ โดยเลือกเพาะจากระดับการเจือจางที่เหมาะสม และในแต่ละระดับการเจือจางจะเพาะ 2 จานเลี้ยงเชื้อเพื่อหาค่าเฉลี่ย ทำการเพาะเชื้อโดยผสมตัวอย่างเลือด 1 มิลลิลิตร กับวุ้นเหลว (Nutrient agar : Difco) ซึ่งแช่อุ่นไว้ที่ 48°C ปริมาณ 12-15 มิลลิลิตร หลังจากผสมให้เข้ากันดีแล้วก็นำไปอบเพาะเชื้อที่ 37°C ในตู้อบ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

ผลและวิจารณ์

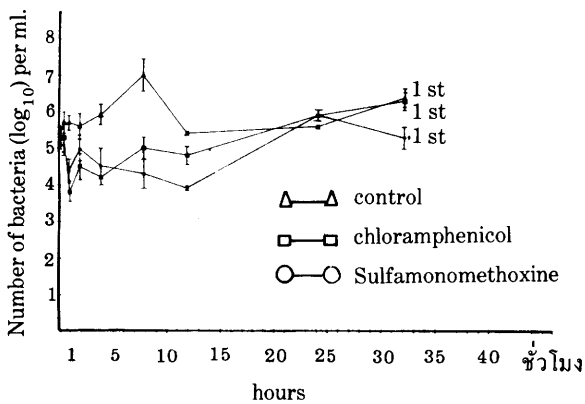
จากการเปรียบเทียบผลของการยับยั้งจำนวนเชื้อแอโรโมนาสภายในตัวปลาดุกด้านของยาคลอแรม-ฟีนีคอล และยาซัลฟาโมโนเมททอกซิน โดยการฉีดยาทั้งสองชนิดเข้าทางกล้ามเนื้อในขนาดของยา 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะพบว่ายาทั้งสองชนิดนี้จะสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อได้เป็นอย่างดีเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มปลาที่ไม่ได้รับยา ปลาในกลุ่มที่ไม่ได้ฉีดยานี้พบว่า เชื้อจะเพิ่มจำนวนขึ้นในตัวปลาอย่างรวดเร็ว โดยภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากฉีดเชื้อ เชื้อจะเพิ่มจำนวนขึ้นจาก 2×10^5 เซลล์/มิลลิกรัม เป็น 6×10^5 เซลล์/มิลลิกรัม (ตารางที่ 1) หลังจากนั้นแล้วเชื้อจะยังคงเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ ค่อยไปจนถึงชั่วโมงที่ 8 เป็น 1.0×10^7 เซลล์/มิลลิกรัม จากนั้นไปเชื้อก็จะมีจำนวนค่อนข้างคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 24 จะกลับเพิ่มจำนวนขึ้นอีกเล็กน้อย

ในปลากลุ่มที่ฉีดยาทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวนี้ ในการทดลองเดียวกันจะพบจำนวนเชื้อแบคทีเรียในระดับที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ฉีดยาเป็นอย่างมาก โดยเชื้อจะเริ่มลดจำนวนลงอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 1 คือ ลดจากจำนวนประมาณ 2×10^5 เซลล์/มิลลิกรัม เป็น 2.5×10^4 เซลล์/มิลลิกรัม หลังจากนั้นจำนวนเชื้อของทั้งสองกลุ่มจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยใน

ตารางที่ 1 จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือดปลาดุกด้านในระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากฉีดยาคลอแรมฟีนีคอล และซัลฟาโมโนเมททอกซินเข้ากล้ามเนื้อ

การทดลอง	ระยะเวลา (ชั่วโมง)									
	1/10	1/2	1	2	4	8	12	24	32	
1. ไม่ได้ฉีดยา	5.3 ± 0.3 ①	5.7 ± 0.6	5.7 ± 0.4	5.6 ± 0.7	5.9 ± 0.6	7.0 ± 0.9	5.4 ± 0.1	5.6 ± 0.1	6.4 ± 0.5	
2. คลอแรมฟีนีคอล ②	5.3 ± 0.6	5.3 ± 0.8	3.8 ± 0.5	4.5 ± 0.7	4.2 ± 0.1	5.0 ± 0.6	4.8 ± 0.5	5.9 ± 0.3	6.3 ± 0.5	
3. ซัลฟาโมโนเมททอกซิน ③	5.1 ± 0.1	5.1 ± 0.6	4.4 ± 0.6	5.0 ± 0.7	4.5 ± 1.0	4.3 ± 0.8	3.9 ± 0.1	5.9 ± 0.3	5.3 ± 0.6	

หมายเหตุ ① = จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือด 1 ซีซี. ($\log_{10} \pm S.D.$)
 ② = ฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 50 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม
 ③ = ฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 20 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

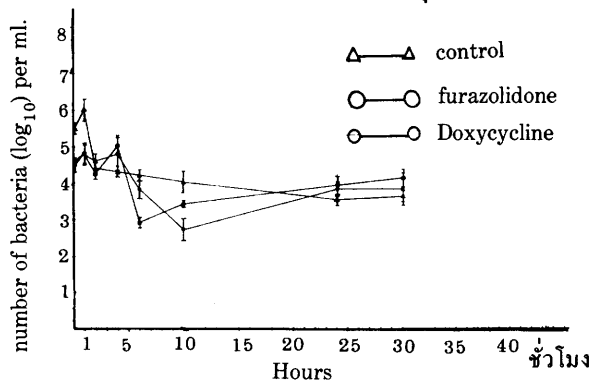


รูปที่ 1 จำนวนเชื้อแอรโมนาสในเลือดปลาอุกด้านในกำหนดระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากฉีดยาคลอแรมเฟนิคอลและซัลฟาโมโนเมททอกซินเข้ากล้ามเนื้อ

ชั่วโมงที่ 2 ต่อจากนี้จำนวนเชื้อก็จะลดลงไปเรื่อย ๆ จนถึงชั่วโมงที่ 12 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของยาทั้งสองชนิดในช่วงนี้จะพบว่า ยาซัลฟาโมโนเมททอกซินจะให้ผลยับยั้งได้ดีกว่า เพราะพบว่ากลุ่มที่ฉีดยานี้จะพบเชื้อที่ลดลงตลอดเวลา จากชั่วโมงที่ 1 ถึงชั่วโมงที่ 12 ส่วนยาคลอแรมเฟนิคอล ความสามารถในการยับยั้งจะมีมากเพียงภายใน 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะพบว่าเชื้อจะค่อย ๆ เพิ่มจำนวนขึ้นอีก หลังจากชั่วโมงที่ 12 แล้วเชื้อในปลาที่ฉีดยาทั้งสองกลุ่มจะค่อย ๆ เพิ่มจำนวนขึ้นจนมีจำนวนที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้ฉีดยา (รูปที่ 1)

ผลของยาฟิวราโซลิโดนและด็อกซีซัยคลิน

ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อแอรโมนาสในปลาอุกด้านพบว่า จะให้ผลยับยั้งช้ากว่ายาคลอแรมเฟนิคอลและซัลฟาโมโนเมททอกซิน คือ ปลาอุกกลุ่มที่ให้กินฟิวราโซลิโดนและด็อกซีซัยคลินโดยการป้อนในขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 40 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ จะพบการลดลงของเชื้อในช่วงที่ 4 (ตารางที่ 2) โดยเฉพาะผลของยาฟิวราโซลิโดนจะทำให้เชื้อลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วมากในช่วงนี้ จนถึงชั่วโมงที่ 6 (รูปที่ 2) หลังจากนั้นเชื้อก็จะเริ่มเพิ่มจำนวนขึ้นอีกอย่างช้า ๆ ผลของยาด็อกซีซัยคลินในช่วงดังกล่าวนี้จะสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อในระยะเวลาที่นานกว่า คือ เชื้อจะลดลงโดยเริ่มจากชั่วโมงที่ 4 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 10 หลังจากชั่วโมงที่ 10 ไปแล้วจะพบว่า จำนวนเชื้อในกลุ่มปลาที่ฉีดยา



รูปที่ 2 จำนวนเชื้อแอรโมนาสในเลือดปลาอุกด้านในกำหนดระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากป้อนให้กินยาฟิวราโซลิโดนและด็อกซีซัยคลิน

ตารางที่ 2 จำนวนเชื้อแอรโมนาสในเลือดปลาอุกด้านในระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากให้ยาด็อกซีซัยคลินและฟิวราโซลิโดนทางปาก

การทดลอง	ระยะเวลา (ชั่วโมง)							
	1/10	1	2	4	6	10	24	30
1. ไม่ได้ให้ยา	5.5 ± 0.3 ^①	6.0 ± 0.6	4.4 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.2 ± 0.3	4.0 ± 0.6	3.5 ± 0.3	3.6 ± 0.3
2. ด็อกซีซัยคลิน ^②	4.5 ± 0.4	4.8 ± 0.6	4.6 ± 0.4	4.8 ± 1.0	3.8 ± 0.5	2.7 ± 0.6	3.8 ± 0.4	3.8 ± 0.9
3. ฟิวราโซลิโดน ^③	4.6 ± 0.2	4.8 ± 0.5	4.3 ± 0.3	5.0 ± 0.4	2.9 ± 0.3	3.4 ± 0.2	3.9 ± 0.5	4.1 ± 0.5

หมายเหตุ ① = จำนวนเชื้อแอรโมนาสในเลือด 1 ซีซี. (log₁₀ ± S.D.)

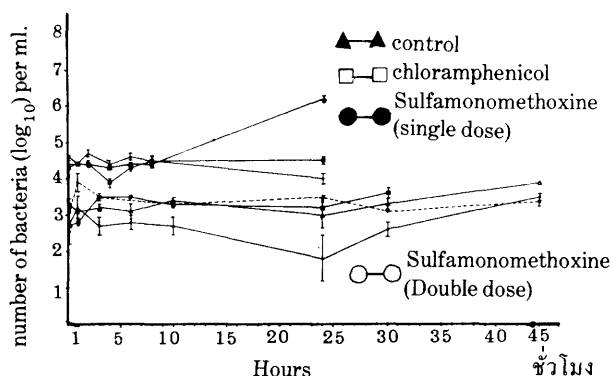
② = ให้ยาทางปากในขนาด 40 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

③ = ให้ยาทางปากในขนาด 10 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 3 จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือดปลาอุกด้านในระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากให้ยาคลอแรมฟินิคอลและซัลฟาโมโนเม็ททอกซีนทางปาก

การทดลอง	ระยะเวลา (ชั่วโมง)						
	1/10	1	2	4	6	8	24
1. ไม่ได้ให้ยา	4.6 ± 0.13 ①	4.4 ± 0.12	4.4 ± 0.20	4.3 ± 0.09	4.4 ± 0.13	4.4 ± 0.20	6.2 ± 0.23
2. คลอแรมฟินิคอล②	4.3 ± 0.08	4.4 ± 0.11	4.4 ± 0	3.9 ± 0.19	4.3 ± 0.24	4.5 ± 0.28	4.5 ± 0.15
3. ซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน③	4.4 ± 0.33	4.4 ± 0.05	4.7 ± 0.16	4.4 ± 0.16	4.6 ± 0.16	4.5 ± 0.16	4.0 ± 0.32

หมายเหตุ ① = จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือด 1 ซีซี. ($\log_{10} \pm S.D.$)
 ② = ให้ยาทางปากในขนาด 50 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม
 ③ = ให้ยาทางปากในขนาด 20 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม



รูปที่ 3 จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือดปลาอุกด้านในกำหนดระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากป้อนให้กินยาคลอแรมฟินิคอลและซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน

ทั้งสองชนิดจะค่อย ๆ เพิ่มจำนวนขึ้นจนถึงประมาณ ชั่วโมงที่ 18-20 จะพบเชื้อในจำนวนที่เท่า ๆ กัน ทั้งในปลาที่ฉีดและไม่ได้ฉีดยา (ตารางที่ 2, รูปที่ 2)

ผลของการทดลองความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อแอโรโมนาสของยาคลอแรมฟินิคอล ซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน และด็อกซีซัยคลิน เมื่อฉีดยาทั้งสามชนิดเข้าทางกล้ามเนื้อนั้น จะมีความสัมพันธ์กับผลการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมของยาทั้ง 3 ชนิดนี้เมื่อฉีดเข้าตัวปลาเป็นอย่างดี (มาลินี ลิ้มโกคา และคณะ, 2526) ในการศึกษาดังกล่าวพบว่า ในการฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อในปลาอุกด้าน

ตารางที่ 4 จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือดปลาอุกด้านในระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากให้ยาคลอแรมฟินิคอลและซัลฟาโมโนเม็ททอกซีนทางปาก

การทดลอง	ระยะเวลา (ชั่วโมง)							
	1/10	1	3	6	10	24	30	48
1. ไม่ได้ให้ยา	3.3 ± 0.3 ①	3.1 ± 0.1	3.2 ± 0.2	3.1 ± 0.4	3.4 ± 0.2	3.0 ± 0.7	3.3 ± 0.3	3.9 ± 0
2. คลอแรมฟินิคอล②	2.7 ± 1.0	2.8 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.4	3.6 ± 0.3	-
3. ซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน③	2.7 ± 0.3	3.2 ± 0.7	2.7 ± 0.5	2.8 ± 0.4	2.7 ± 0.5	1.8 ± 1.3	2.6 ± 0.4	3.5 ± 0.2
4. ซัลฟาโมโนเม็ททอกซีน④	3.1 ± 0.1	3.9 ± 0.5	3.5 ± 0.2	-	3.3 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.1 ± 0	3.4 ± 0.3

หมายเหตุ ① = จำนวนเชื้อแอโรโมนาสในเลือด 1 ซีซี. ($\log_{10} \pm S.D.$)
 ② = ให้ยาทางปากในขนาด 50 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม
 ③ = ให้ยาทางปากในขนาด 20 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม
 ④ = ให้ยาทางปากในขนาด 20 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม 2 ครั้ง ครั้งที่ 2 ให้ยาหลังจากให้ครั้งแรกแล้ว 1 ชั่วโมง

นี้ ยาทั้ง 3 ชนิดจะสามารถดูดซึมจากจุดที่ฉีดเข้ากระแสโลหิตได้อย่างรวดเร็ว คือ ระดับของยาจะพบในปริมาณที่สูงพอที่จะทำให้ยาเชื่อได้ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากฉีดยา และปริมาณยาทั้งสามชนิดจะคงอยู่ในกระแสเลือดในระดับ minimum effective concentration (MEC) นานกว่า 12-48 ชั่วโมงเป็นส่วนใหญ่

จากการทดลองเพื่อศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อแอโรโมนาสในปลาอุกค้ำของยาคลอแรมฟินิคอลและซัลฟาโมเน็ททอกซินโดยการป้อนยาให้กินโดยตรงในปริมาณเท่ากับที่ใช้ฉีด ในการทดลองที่ให้กินครั้งเดียวเทียบกับกลุ่มปลาที่ไม่ได้ให้ยาเลย พบว่ายาทั้งสองชนิดจะยับยั้งจำนวนเชื้อได้น้อยมาก (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตาม ยาทั้งสองก็สามารถที่จะหยุดการเพิ่มจำนวนของเชื้อได้ในระหว่างชั่วโมงที่ 1 ถึงชั่วโมงที่ 24 หลังจากฉีดเชื้อ ส่วนปลากลุ่มที่ไม่ได้ให้กินยาจำนวนเชื้อจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นโดยเริ่มจากประมาณในชั่วโมงที่ 8 (รูปที่ 3)

เป็นที่น่าสังเกตว่า ในการป้อนยาซัลฟาโมเน็ททอกซินซ้ำเป็นครั้งที่สองในขนาดเท่าเดิมในชั่วโมงที่ 8 หลังจากให้ยาครั้งแรก จะสามารถลดจำนวนเชื้อลงไปได้มาก โดยจะเริ่มลดในชั่วโมงที่ 10 เป็นต้นไปจนถึงชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นเชื้อจะเริ่มเพิ่มจำนวนขึ้นอีก (ตารางที่ 4) จากข้อมูลนี้จะเป็นการชี้แนะว่า ในการใช้ยาทั้งสองชนิดนี้ หากจะให้โดยการให้กินน้ำที่จะต้องให้ยา 2 ครั้งใน 1 วัน จึงจะให้ผลในการยับยั้งเชื้อแอโรโมนาสได้ดี (รูปที่ 3)

ข้อมูลที่ได้นี้เป็นการแสดงว่า ยาทั้งสองชนิดนี้จะดูดซึมจากกระเพาะอาหารและลำไส้ปลาอุกค้ำได้ไม่ด้นัก ซึ่งจะสอดคล้องกับผลจากการศึกษาพฤติกรรมของยาทั้ง 2 ชนิดในปลาอุกค้ำที่ได้ทำการทดลองและรายงานไว้แล้วใน (มาลินี ลิ้มโกคา และคณะ 2528) ว่า ทั้งยาซัลฟาโมเน็ททอกซินและยาคลอแรมฟินิคอลในขนาดเท่ากับที่ใช้ในการทดลองนี้ พบระดับของยาทั้ง 2 ชนิดในเลือดในระดับที่ต่ำมาก และไม่อยู่ในระดับต่ำสุดที่จะให้ผลต่อเชื้อเป็นส่วนใหญ่

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ก็นับว่าจะเป็แนวทางให้การนำยาปฏิชีวนะและซัลฟาบางชนิดไปใช้ในการป้องกันและรักษาโรคในปลาอุกค้ำและปลาอื่น ๆ ให้ได้ประโยชน์มากที่สุด อันจะไม่ใช่เป็นการทำให้เกิดการสูญเสียค่าใช้จ่ายเหล่านี้ในปลา ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษากันมาก่อนเลย

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการดำเนินการแก้ไขปัญหาโรคระบาดในปลาน้ำจืดที่ได้จัดสรรทุนอุดหนุนในการวิจัยนี้

และขอขอบคุณ น.ส. ปิยวรรณ สุธรรมภินันท์ น.ส. สุวรรณา สิริสัมพันธ์ และ น.ส. ดวงเนตร เอี่ยมมยุรา ที่ได้ให้ความร่วมมือช่วยเหลืองานวิจัยนี้จนเสร็จสิ้นไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ วารินทร์ ธนาสมหวัง. 2522. โรคติดเชื้อแอโรโมนาสไฮโดรฟีลาในปลา. วารสารชมรมโรคปลา. 2(1):15-21.
- มาลินี ลิ้มโกคา, พินุล ไชยอนันต์, สมุทร สิริเวชพันธุ์, รุ่งเจริญ กาญจนมัย, กิติ ศรีสุภาพ และ องอาจ เลหาวิจิ. 2528. การศึกษาพฤติกรรมของยากลุ่มต้านจุลชีพในปลาที่ใช้บริโภค รายงานที่ 1-6. รายงานผลการวิจัยเสนอต่อคณะกรรมการดำเนินงาน แก้ไขปัญหาโรคระบาดสัตว์น้ำ ระยะสั้นและระยะยาว.
- พัชรี สุนทรนันท์, สาวิตรี ลิ้มทอง, วิโรจน์ วัฒนกุล และ วิเชียร กิจปรีชาวนิช. 2524. บั๊กเตรีที่ทำให้เกิดโรคของปลาน้ำจืดบางชนิด. รายงานวิจัยประจำปี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สิทธิ บุญยรัตผลิน และ จิราพร เกษรจันทร์. 2523. การทดสอบต่อความไวต่อยาปฏิชีวนะ 9 ชนิดของเชื้อแอโรโมนาสไฮโดรฟีลาเสตรนจากปลาอุกค้ำ. รายงานประจำปี. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

สิทธิ บุญยรัตผลิน, ฮาวารีเยห์ เรืองปราชญ์, กิจการ
ศุภมาตย์, จิราพร เกษรจันทร์, มานพ
คุณสุวรรณค์ และ จำรัส สดวกดี. 2526. ชนิด
แหล่งที่มา และลักษณะอาการของสัตว์น้ำ
ที่เป็นโรค. วารสารการประมง. 36:(3)
239-245.

สิทธิ บุญยรัตผลิน, ฮาวารีเยห์ เรืองปราชญ์, สถาพร
ดิเรกบุษราคม, จิราพร เกษรจันทร์ และ
กิจการ ศุภมาตย์. 2526. ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย
ที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ. วารสารการ
ประมง. 36(3):247-249.

ฮาวารีเยห์ เรืองปราชญ์ และ จิราพร เกษรจันทร์.
2526. การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดต่าง ๆ ที่พบในการเกิดโรคระบาด
สัตว์น้ำปี 2525-2526 ต่อยาปฏิชีวนะและ
ยาฆ่าพยาธิบางชนิด. วารสารการประมง.
36(3):265-267.

Plum, J.A., J.M. Grizzle and J. Defigueiredo.
1976. Necrosis and bacterial infection
in channel catfish following hypoxia.
J. Wild. Dis. 12:247-253.

Shatis, Jr, B. Emmett, J.L. Gaines, L. Martin
and A.K. Prestwood. 1972. Aeromonas
induced deaths among fish and reptile
in Eutrophic Inland Lake. J.A.V.M.A.
161:603-607.