

นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์ : ผลของฟลอร์เฟนิคอลในการยับยั้งเชื้อ vibrios ก่อโรคและการตรวจหาปริมาณฟลอร์เฟนิคอลเอมีนในเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำด้วยวิธีเอชพีแอลซี (INHIBITORY EFFICACY OF FLORFENICOL AGAINST SHRIMP PATHOGENIC VIBRIOS AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF FLORFENICOL-AMINE IN BLACK TIGER SHRIMP *PENAEUS MONODON* TISSUES BY HPLC) อ.ที่ปรึกษา : รศ.สพ.ญ.ดร.เจนนุช วงศ์ธวัชชัย  
อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.สพ.ญ.ดร.เบญจมาศ ปัทมาลัย; 81 หน้า. ISBN : 974-17-3900-1

ศึกษาประสิทธิภาพของ florfenicol (FF) เปรียบเทียบกับ chloramphenicol (CAP) ในการยับยั้งเชื้อ vibrios ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และผลของน้ำทะเลต่อประสิทธิภาพของยาโดยวิธี antimicrobial agar dilution susceptibility tests พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของ FF และ CAP ที่สามารถยับยั้งเชื้อ vibrios ที่ใช้ทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentrations; MICs) (จำนวน 102 isolates) เมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำกลั่นคือ 0.5-2 µg/ml และ 0.5-8 µg/ml ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมน้ำทะเลความเค็ม 5‰ พบว่า MICs ของ FF มีช่วงกว้างขึ้นเป็น 0.5-4 µg/ml และ MICs ของ CAP ไม่เปลี่ยนแปลง ค่า MICs แสดงว่ายาด้านจุลชีพทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ vibrios ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำป่วยเนื่องจาก FF เป็นยาด้านจุลชีพที่อนุญาตให้ใช้ในสัตว์เลี้ยงเพื่อการบริโภค จึงทดสอบการให้ยา FF ในกุ้งกุลาดำโดยการให้ยาผสมอาหารในขนาด 0.8 mg FF ต่อกรัมอาหาร ติดต่อกัน 5 วัน ให้อาหารวันละประมาณ 2.5% ของน้ำหนักตัวกุ้ง (น้ำหนักตัวเฉลี่ย 14-15.5 g) และแบ่งให้วันละ 3 มื้อ วิเคราะห์ปริมาณ florfenicol-amine (FFA) ตกค้างในเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำระหว่างการให้ยาและภายหลังการหยุดยาโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ผลการทดสอบวิธีวิเคราะห์แสดง Retention time ของ FFA ที่ 11.796-12.437 นาที จากการทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์โดยเติมสารละลายมาตรฐาน FFA 1 µg ต่อกรัมเนื้อเยื่อในกุ้งกุลาดำ มีอัตราการคืนกลับของสารเฉลี่ย 79.2% ในกล้ามเนื้อและ 80.7% ใน hepatopancreas ตามลำดับ กุ้งที่ได้รับยาตรวจพบความเข้มข้นเฉลี่ยสูงสุดของ FFA ( $C_{max}$ ) ใน hepatopancreas เท่ากับ 0.7 µg ต่อกรัมเนื้อเยื่อ ที่เวลา 1 ชั่วโมง ( $t_{max}$ ) และในกล้ามเนื้อเท่ากับ 0.05 µg ต่อกรัมเนื้อเยื่อ ( $C_{max}$ ) ที่เวลา 4 ชั่วโมง ( $t_{max}$ ) หลังจากได้รับยาครั้งแรก ความเข้มข้นเฉลี่ยของ FFA ในกล้ามเนื้อและ HP สม่าเสมอตลอดระยะเวลาของการให้ยา และค่อยๆ ลดลงหลังหยุดการให้ยาจนไม่สามารถตรวจพบได้ในวันที่ 7 หลังการหยุดยา พบว่าประมาณ 50% ของปริมาณยาที่ผสมในอาหารละลายออกสู่น้ำภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากอาหารผสมยาสัมผัสน้ำในระบบปิด ผลการวิเคราะห์แสดงว่าความเข้มข้นของ FFA ที่พบในเนื้อเยื่อกุ้งตลอดระยะเวลาให้ยาดต่ำกว่าค่า  $MIC_{50}$  ของ FF (1 µg/ml) ซึ่งอาจสัมพันธ์กับการสูญเสียยาที่ผสมในอาหารละลายออกสู่น้ำ

ภาควิชา สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชา สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต  
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนิสิต ..... นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษา ..... Jen Nu  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม ..... Benjamas

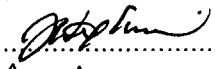
## 4675566031 : MAJOR VETERINARY PUBLIC HEALTH

KEYWORD : FLORFENICOL / FLORFENICOL-AMINE / *Penaeus monodon* / VIBRIOS / HPLC

NUTCHARNART TIPMONGKOLSILP : INHIBITORY EFFICACY OF FLORFENICOL AGAINST SHRIMP PATHOGENIC VIBRIOS AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF FLORFENICOL-AMINE IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* TISSUES BY HPLC. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.JANENUJ WONGTAVATCHAI, D.V.M., Ph.D THESIS COADVISOR : ASST.PROF.BENJAMAS PUTTAMALAI, D.V.M., Ph.D 81 PP. ISBN : 974-17-3900-1

Florfenicol (FF) and Chloramphenicol (CAP) were tested for *in vitro* antimicrobial activity against 102 clinical vibrio isolates. Agar dilution method as described by the National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS) was used to determine Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of each chemical against the isolated vibrios. MICs for both antimicrobials were  $\leq 8$   $\mu\text{g/ml}$  suggesting that all of the tested isolates were susceptible to both antimicrobials. The observed MICs range of FF (0.5-4.0  $\mu\text{g/ml}$ ) was more potent than that of CAP (0.5-8.0  $\mu\text{g/ml}$ ). The activity of both antimicrobials was not substantially influenced by an addition of 5‰ seawater to the test system. With respect to the type of antimicrobial for food producing animals and *in vitro* antivibrio activity, FF is a prospective antimicrobial for shrimp vibrio pathogens. A following *in vivo* study was conducted in 3 months old black tiger shrimp *Penaeus monodon* (average body weight 14-15.5 gm) fed for 5 days with FF medicated feed at 0.8 gm of FF per kilogram of feed and the feeding rate was approximately 2.5% of body weight/day. Florfenicol-amine (FFA), the marker residue of FF, in the hepatopancreas and muscle was measured using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and UV detection ( $\lambda = 220$  nm). The analytical method revealed peak of FFA at 11.79-12.437 min retention time and the recovery rate of FFA in shrimp tissues was 79.2% in muscle and 80.7% in hepatopancreas, when the control tissue was added with 1  $\mu\text{g}$  FFA standard/g tissue. Samples were taken 0.5, 1, 2, 4, 8.5, 12, 16.5, 24 and every 24 hours after first administration; and 1, 3, 5, 7, 9 days after the 5-day treatment. The FFA concentration in samples from control shrimp was not detected by this method. The maximum concentration of FFA ( $C_{\text{max}}$ ) detected in the hepatopancreas at 1 hour ( $t_{\text{max}}$ ) was 0.7  $\mu\text{g/g}$  tissue, and  $C_{\text{max}}$  in the muscle was 0.05  $\mu\text{g/g}$  tissue at 4 hour ( $t_{\text{max}}$ ) after the initial medication. Average concentration of FFA analyzed every 24 hours of the medication was 0.5-0.6  $\mu\text{g/g}$  in the hepatopancreas and 0.1-0.15  $\mu\text{g/g}$  in the muscle. By the seventh day, following the cessation of feeding the medicated feed, the drug residue in the shrimp hepatopancreas and muscle, was less than detectable limits for the method use. Up to 50% of FF added into the diet was found leached to water within 30 min of static assay. Data indicated amount of FFA in shrimp tissue was less than  $\text{MIC}_{50}$  of FF (1  $\mu\text{g/ml}$ ) observed in the previous study, these may suggest an inadequate bioavailability of FF consequently to leaching of the compound from the diet to water.

Department Veterinary Public Health  
Field of study Veterinary Public Health  
Academic year 2005

Student's signature NUTCHARNART TIPMONGKOLSILP  
Advisor's signature   
Co-advisor's signature Benjamas Puttamalai