



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร کارประมง)

ปริญญา

วิทยาศาสตร کارประมง

ชีววิทยาประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิน และซัลฟาไคเม็ทโทกซินร่วมกับ  
ไตรเมโทพริมในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Residues of Oxytetracycline and Sulfadimethoxine Mix with Trimethoprim  
in Culture of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

นามผู้วิจัย นางสาวกอบทรัพย์ ผลเจริญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( รองศาสตราจารย์ชลอ ลิมสุวรรณ, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชรวิภา ภูริวิโรจน์กุล, ปร.ด. )

หัวหน้าภาควิชา

( รองศาสตราจารย์อนงค์ จิรภัทร์, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิน และซัลฟาไดเม็ททอกซีนร่วมกับไตรเมทโทพริมในการเลี้ยง  
กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Residues of Oxytetracycline and Sulfadimethoxine Mix with Trimethoprim in Culture of Pacific  
White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

โดย

นางสาวกอบทรัพย์ ผลเจริญ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)

พ.ศ. 2555

กอบทรัพย์ ผลเจริญ 2555: การตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิกลิน และซัลฟาไดเมททอกซิน ร่วมกับ ไตรเมโทพริมในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ปรินญาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชอล ลิ้มสุวรรณ, Ph.D. 95 หน้า

การศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราไซคลิกลิน และยาซัลฟาไดเมททอกซิน ร่วมกับ ไตรเมโทพริม ในอัตราส่วน 5:1 ต่อการยับยั้งการเจริญ และฆ่าเชื้อ *Vibrio* 8 isolate ได้แก่ *V. parahaemolyticus* (ABRCVP 01), *V. mimicus* (ABRCVM 01), *V. cholera* (ABRCVC 01), *V. algalolyticus* (ABRCVA 01), *V. vulnificus* (ABRCVV 01), *V. vulnificus* (ABRCVV 02), *V. fulvialis* (ABRCVF 01) และ *V. fulvialis* (ABRCVF 02) ที่แยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการ โรคจีขาว ทำการทดสอบโดยการหาค่ายาที่ต่ำที่สุดใน การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่ายาที่ต่ำที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) พบว่ายาออกซิเตตราไซคลิกลินมี ค่า MIC และค่า MBC ต่อเชื้อทั้ง 8 isolate เท่ากับ 2 และ 3 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ส่วนยาซัลฟาไดเมททอกซินร่วม กับไตรเมโทพริมมีค่า MIC และค่า MBC อยู่ในช่วง 91 – 139 และ 92 - 140 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

การศึกษาผลการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิกลิน และยาซัลฟาไดเมททอกซิน ร่วมกับ ไตรเมโท พริมในกุ้งขาวแวนนาไม โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 ไม่ผสมยาทั้งสองชนิด ในอาหารเป็นชุดควบคุมการทดลอง ชุดการทดลองที่ 2 ผสมยาทั้งสองชนิดกับอาหาร (5 กรัม ต่ออาหารหนึ่ง กิโลกรัม) แต่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วน และชุดการทดลองที่ 3 ผสมยาทั้งสองชนิดกับอาหาร (5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม) แต่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ ทดลองในกุ้งขาวน้ำหนัก 7 กรัม ให้อาหารวันละ 3 มื้อ โดยเว้นระยะหยุดยาอยู่ที่ 1, 5, 10, 15 และ 25 วัน นำกุ้งไปตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ผลของยาออกซิเตตรา ไซคลิกลิน พบว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้ผสมยาในอาหารนั้นไม่พบระดับการตกค้างของยา และชุดการทดลองที่ ผสมยาในอาหาร แต่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วน พบยาตกค้างในวันที่ 1 เท่ากับ 0.037, 0.004, 0.004, 0.003 และ 0.001 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ผสมยาในอาหารแต่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ พบระดับยา ตกค้างที่ 0.014, 0.014, 0.009, 0.008 และ 0.005 พีพีเอ็ม ในส่วนของผลยาซัลฟาไดเมททอกซินร่วมกับ ไตรเมโท พริมระดับยาตกค้างที่ 0.037, 0.004, 0.004, 0.003 และ 0.001 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ผสมยา ในอาหารแต่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ พบระดับยาตกค้างที่ 0.014, 0.014, 0.009, 0.008 และ 0.005 พีพีเอ็ม ตามลำดับ โดยจากผลการทดลองพบว่าปริมาณเฉลี่ยตกค้างมากที่สุดหลังจากหยุดให้ยาคือวันที่ 1 หลังจากนั้น ปริมาณค่อย ๆ ลดลง แต่ยังคงตรวจพบปริมาณยาตกค้างหลังจากหยุดให้ยาในวันที่ 25

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Kobsap Phonchareon 2012: Residues of Oxytetracycline and Sulfadimethoxine Mix with Trimethoprim in Culture of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Master of Science (Fisheries Science), Major Field: Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor: Associate Professor Chalor Limsuwan, Ph.D. 95 pages.

The aim of this study was to evaluate the efficacy of oxytetracycline and sulfadimethoxine mixed with trimethoprim at a ratio 5:1 for the inhibition and prevention of the disease in the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Eight isolates of bacteria, *V. parahaemolyticus* (ABRCVP 01), *V. mimicus* (ABRCVM 01), *V. cholera* (ABRCVC 01), *V. algalolyticus* (ABRCVA 01), *V. vulnificus* (ABRCVV 01), *V. vulnificus* (ABRCVV 02), *V. fulvialis* (ABRCVF 01) and *V. fulvialis* (ABRCVF 02) were isolated from the moribund shrimp that showed signs of white feces disease. It was found that 8 isolates responded to drugs applied by Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Results indicated that the MIC and the MBC value of Oxytetracycline to 8 isolates of *Vibrio* spp. were 2 ppm and 3 ppm, respectively. While Sulfadimethoxine mixed with Trimethoprim showed the MIC and the MBC value of 90 – 139 ppm and 92 - 140 ppm, respectively.

A feeding trial the shrimp of *Litopenaeus vannamei* was conducted to determine the residual effects of Oxytetracycline and Sulfadimethoxine mixed with Trimethoprim at a ratio 5:1. Both Oxytetracycline and Sulfadimethoxine mixed with Trimethoprim were administered in feed at the ratio of 5 gm. / 1 kg. of feed. The experiment was divided in 3 sets. Where the shrimp feed 3 times of set 1 received only commercial pelleted feed, but shrimp of second and third set of experiment received the feed mixed with the drug in above mentioned ratio with little (only superficial layer of water) and full water exchange respectively. The shrimp of experiment 2 to 3 were fed the mixed (with drug) diet for seven days consecutively after which they fed with commercial pelleted feed. And the sampling was done from all experimental set up after seven days of feeding on 1<sup>st</sup>, 5<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, and 25<sup>th</sup> day to observe the residual effects by analyzing the samples through HPLC. The control did not show any residual accumulation of drugs. The experimental set 2, treated with Sulfadimethoxine mixed with Trimethoprim with superficial exchange of water exhibited the residual accumulation 0.037, 0.004, 0.004, 0.003 and 0.001 ppm. respectively while the experimental set 3 with full water exchange showed the accumulation 0.014, 0.014, 0.009, 0.008 and 0.005 ppm. respectively. It is evident from the results that the residual accumulation of the drug remained after the cessations of drug treatment. However the amounts gradually decreased but still a detectable amount was found even after cessations of drug for 25 days.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ชลอ ลีมีสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิติ ชูเชิด และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรียา ภูรีวิโรจน์กุล  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ช่วยให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการทำการทดลอง ตลอดจน  
แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก สำนักงาน  
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

ขอขอบพระคุณจูริย์ฟาร์ม ที่สนับสนุนและเอื้อเฟื้อกิ่งข้าวแวนนาไมที่ใช้ในการทดลอง  
ขอขอบพระคุณเพื่อนปริญญาโท และพี่ปริญญาเอกทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้  
คำแนะนำต่าง ๆ เป็นอย่างดีในระหว่างทำการทดลอง

และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา รวมทั้งญาติพี่น้อง ที่ให้การสนับสนุน  
ทางด้านการศึกษา ตลอดจนเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

กอบทรัพย์ ผลเจริญ

พฤษภาคม 2555

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	37
ผลและวิจารณ์	47
สรุปผลการทดลอง	56
ข้อเสนอแนะ	57
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	58
ภาคผนวก	70
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	95

## สารบัญตาราง

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ตัวอย่างยาต้านจุลชีพ และขอบข่ายการออกฤทธิ์	12
2	กลไกของการออกฤทธิ์ และผลต่อเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ	14
3	ฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ	33
4	ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และ ค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของยาออกซิเตตรา - ซัยคลิน และยาซัลฟาไดเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม	47
5	ผลวิเคราะห์ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาว แวนนาไม โดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)	54
6	ผลวิเคราะห์ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม ตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม โดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)	55

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน	16
2	สูตรโครงสร้างของยาไตรเมทโทพริม	17
3	กลไกการออกฤทธิ์ของยาซัลฟาและไตรเมทโทพริม ออกฤทธิ์ในกระบวนการที่ต่อเนื่องกัน	18
4	กลไกการทำงานของยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริม	19
5	สูตรโครงสร้างของยาออกซิเตตราซัยคลิน	21
6	กระบวนการสร้างโปรตีน	23
7	การเคลื่อนตัวของยา และการกำจัดยาออกจากร่างกาย	26
8	อาหารในหลอดทดลองก่อนหาค่า MIC และ MBC	42
9	stock ยาออกซิเตตราซัยคลิน และยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม	42
10	การเตรียมยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม	43
11	อาหาร TCBS เพื่อใช้ในการยืนยันผล MIC และ MBC	43
12	หลอดทดลองที่ใส่เชื้อ <i>Vibrio sp.</i> และยาเพื่อ shaking	44
13	ผลของยาออกซิเตตราซัยคลิน และยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม	44
14	สถานที่ปฏิบัติการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	45
15	การเก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมเพื่อรอไปวิเคราะห์ยาค้าง	45
16	ตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมที่สุ่มได้เพื่อรอวิเคราะห์ยาค้าง	46
17	ตู้แช่ - 80 องศาเซลเซียสสำหรับเก็บตัวอย่างกุ้งเพื่อรอวิเคราะห์ยาค้าง	46
18	ค่า MIC และ MBC ของยาออกซิเตตราซัยคลิน ต่อแบคทีเรีย 8 สายพันธุ์ที่แยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการโรคสีข้าว	48
19	ค่า MIC และ MBC ของยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม ต่อแบคทีเรีย 8 สายพันธุ์ที่แยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการสีข้าว	48

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
1      ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลิน ในตัวอย่างเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม	72
2      ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาซัลฟาไดเมทที่ออกซิ่น และไตรเมทโทพริม ในตัวอย่างเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม	76
3      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	78
4      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	78
5      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	78
6      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	79
7      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	79
8      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	79
9      ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	80
10     ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	80
11     ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	80

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
12	ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	81
13	ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	81
14	ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	81
15	ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	82
16	ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	82
17	ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	82
18	สารละลายมาตรฐานของยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้าง ในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม	83
19	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	83
20	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	83
21	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	84
22	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	84

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
23	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	84
24	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	85
25	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	85
26	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	85
27	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	86
28	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	86
29	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	86
30	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	87
31	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	87
32	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	87
33	ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	88

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
34	สารละลายมาตรฐานของยาไตรเมทโทพริมดกค้ำง ในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม	88
35	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	89
36	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	89
37	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	89
38	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	90
39	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	90
40	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	91
41	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	91
42	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	91
43	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	92
44	ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินดกค้ำงในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำเพียงบางส่วนหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	92

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
45	ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน	93
46	ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน	93
47	ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน	93
48	ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน	94
49	ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน	94
50	สารละลายมาตรฐานของยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้าง ในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม	94

การตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิน และซัลฟาไดเมททอกซินร่วมกับไตรเมโทพริม  
ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Residues of Oxytetracycline and Sulfadimethoxine Mix with Trimethoprim  
in Culture of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

คำนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งได้มีการเปลี่ยนแปลงจากการเลี้ยงแบบธรรมชาติมาเป็นการเลี้ยงแบบพัฒนา ซึ่งได้มีการปล่อยลูกกุ้งเพิ่มขึ้น มีการจัดการควบคุมคุณภาพน้ำ และมีการให้อาหารสำเร็จรูปตลอดการเลี้ยง พร้อมกับมีเครื่องให้อากาศ โดยการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทยนั้น ในยุคแรก ๆ จะเป็นการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ได้มีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ผลผลิตมีมากในขณะที่ห้องเย็นมีการขยายตัวช้ากว่าทำให้ในปี พ.ศ. 2532 – 2533 กุ้งกุลาดำราคาตกเป็นครั้งแรก และต่อมาในปี พ.ศ. 2534 ได้เกิดปัญหาโรคไวรัสหัวเหลือง (Yellow Head Virus: YHV) ระบาดโดยทำความเสียหายในทุกพื้นที่การเลี้ยงกุ้ง และในปี พ.ศ. 2536 ได้เกิด โรคไวรัสดวงขาว (White Spot Syndrome Virus: WSSV) ซึ่งได้สร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งในขณะนั้นจำนวนมาก (ชลอ, 2543) นอกจากนี้ปัญหาเรื่องโรค แล้วในปี พ.ศ. 2545 ผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำแช่แข็งส่งออกจากประเทศไทยถูกตรวจพบยาตกค้าง ได้แก่ยาต้านจุลชีพในกลุ่มไนโตรฟูแรน และคลอแรมฟินิคอล ซึ่งเป็นยาที่ประเทศผู้รับซื้อกุ้ง ห้ามใช้กับสัตว์เลี้ยงเพื่อการบริโภค ทำให้ราคากุ้งตกต่ำลงขณะที่ ในช่วงเวลาดังกล่าวประเทศไทยได้ประสบปัญหากุ้งกุลาดำที่โตช้า ทำให้กรมประมงอนุญาต ให้นำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่ปลอดเชื้อ (Specific Pathogen Free, SPF) เข้ามาทดลองเลี้ยง เนื่องจากกุ้งขาวนั้นสามารถเลี้ยงได้ในอัตราความหนาแน่นสูงทำให้ผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในขณะที่ผลผลิตกุ้งกุลาดำลดลง (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

ที่ผ่านมาเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่ โดยเฉพาะหลังจากการเลี้ยงในรอบปี พ.ศ. 2552 ผลการเลี้ยงในภาพรวมอยู่ในระดับที่ดีมากทำให้ในปี พ.ศ. 2553 เกษตรกรได้ปล่อยกุ้งในอัตราความหนาแน่นมากขึ้น ในขณะที่สภาพภูมิอากาศที่ร้อน และแห้งแล้ง จากปรากฏการณ์เอลนีโญ (El Niño) ทำให้อุณหภูมิของน้ำสูงกว่าปกติ (28 – 30 องศาเซลเซียส) ถึงระดับ 32 – 33 องศาเซลเซียส

มีผลทำให้กุ้งกินอาหารเพิ่มประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามอุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มขึ้น (ชโล และคณะ, 2552) ส่งผลให้มีการสะสมของอาหารที่เหลือและสิ่งขับถ่ายจากกุ้งในปริมาณมากส่งผลให้แบคทีเรียสกุล *Vibrio* (*Vibrio* spp.) จึงได้เพิ่มปริมาณมากขึ้นกว่าปกติ (ชโล, 2543) โดยพบว่าในพื้นที่การเลี้ยงกุ้งทั่วประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 จนถึงประมาณเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2554 กุ้งมีปัญหาเกิดอาการซีขาว โตช้า ตัวหลวม และทยอยตายเป็นจำนวนมาก (Montagan *et al.*, 2012) เนื่องจากกุ้งป่วยที่มีอาการซีขาวจะสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* ได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นการแก้ไขปัญหาเบื้องต้นของเกษตรกรส่วนใหญ่ จะใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติก หรือใช้กรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดโปรปิโอนิก กรดซิตริก และกรดแลคติก ผสมอาหารแล้วนำไปให้กุ้งกินเพื่อช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย *Vibrio* ในตัวกุ้งแต่พบว่าการรักษาดังกล่าวได้ผลไม่ชัดเจน เกษตรกรบางส่วนจึงเริ่มกลับไปใช้ยาต้านจุลชีพในการแก้ปัญหาแทน ส่งผลให้ปัญหาขาดแคลนในกุ้งกลับมาเพิ่มขึ้นอีก ในขณะที่ปัญหาอาการซีขาวและกุ้งที่ป่วยติดเชื้อแบคทีเรียยังคงสร้างความเสียหายแก่เกษตรกรในทุกพื้นที่

ปัจจุบันคณะกรรมการอาหารและยาอนุญาตให้ใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มออกซิเตตราซัยคลิน และกลุ่มซัลฟา (ซัลฟาไดเมททอกซิน ไตรเมโทพริม และซัลฟาไดเมททอกซิน ออร์เมโทพริม) ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ แต่เกษตรกรต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมไม่ก่อให้เกิดปัญหาขาดแคลนที่กำหนดและเกษตรกรต้องมีระยะหยุดยาก่อนทำการจับกุ้งด้วย โดยที่ผ่านมามีการกำหนดระยะหยุดยาในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ สำหรับยาทั้งสองกลุ่มนี้ในการเลี้ยงกุ้งประมาณ 14 วัน (มาลินี, 2532) แต่เนื่องจากพฤติกรรมกุ้งขาวแวนนาไม่ชอบขุดคุ้ยตะกอนเลนพื้นบ่อเป็นอาหารจึงทำให้กุ้งที่เลี้ยงในบ่อที่มีการให้ยาปฏิชีวนะดังกล่าว มีโอกาสที่จะได้รับยาที่ถูกขับถ่ายออกมาแล้วสะสมอยู่บริเวณตะกอนเลนกลับเข้าไปในตัวกุ้งอีกครั้ง ส่งผลให้มีการตกค้างของยาทั้งสองกลุ่มนี้นานกว่า ระยะหยุดยาที่กำหนดไว้เดิมคือ 21 วัน (กรมประมง, 2554) จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงการตกค้างของยาที่อาจเกิดจากพฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไม่ชอบคุ้ยเหยื่ออาหารอาจจะทำให้ยาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดนี้กลับเข้าไปในตัวกุ้งขาวแวนนาไม่อีกครั้ง และอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกุ้งขาวแวนนาไม่

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราไซคลิน โดยการหาความเข้มข้นที่ต่ำสุดในการยับยั้ง (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) แบคทีเรีย *Vibrio* spp.

2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาซัลฟาไคเม็ทที่ออกซิน ร่วมกับไตรเมโทพริมในอัตราส่วน 5 : 1 โดยการหาความเข้มข้นที่ต่ำสุดในการยับยั้ง (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) แบคทีเรีย *Vibrio* spp.

3. เพื่อศึกษาการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิน และซัลฟาไคเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเมโทพริม ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

## การตรวจเอกสาร

### กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแปซิฟิก Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) หรือ White leg shrimp ที่เกษตรกรไทยมักเรียกกันว่ากุ้งขาวแวนนาไม พบทั่วไปบริเวณชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันออก จากตอนเหนือของประเทศเม็กซิโก จนถึงตอนเหนือของประเทศเปรู กุ้งชนิดนี้เลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในทวีปเอเชีย ได้มีการนำเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยได้วันปี พ.ศ. 2539 และต่อมาได้นำเข้าประเทศจีนในปี พ.ศ. 2541 สำหรับประเทศไทยได้มีการนำกุ้งขาวแวนนาไมมาเลี้ยงในปี พ.ศ. 2541 แต่ในการทดลองในครั้งนั้นไม่ประสบความสำเร็จมาก จนกระทั่งเดือนมีนาคม พ.ศ. 2545 กรมประมงได้อนุญาตให้นำพ่อแม่พันธุ์ที่ปลอดเชื้อจากต่างประเทศเข้ามาทดลองเลี้ยง การทดลองเลี้ยงกุ้งขาว ซึ่งส่วนใหญ่ให้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ทำให้เกษตรกรทำการเพาะเลี้ยงกันเพิ่มมากขึ้น (ชลอ, 2547)

### โรคที่พบในกุ้งขาวแวนนาไม

โรคเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งเกิดความเสียหาย ผลผลิตไม่ได้ตามเป้าหมาย จนถึงระดับที่ขาดทุนจนต้องเลิกเลี้ยงไปในที่สุด โรคสำคัญที่เกิดในกุ้งขาวแวนนาไมและทำความเสียหายส่วนใหญ่จากเชื้อไวรัส ที่มีรายงานในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทยได้แก่ไวรัสดวงขาว (White Spot Syndrome Virus: WSSV), ไวรัสทอรา (Taura Syndrome Virus: TSV), ไวรัสหัวเหลือง (Yellow Head Virus: YHV) และไวรัสตัวพิกการ (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus: IHHNV) โดยเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียอาจจะไม่มีความเสียหายมากเท่ากับโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส แต่แบคทีเรียก็สร้างความเสียหายอย่างต่อเนื่อง โดยแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งทะเลป่วยส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียสกุลอิวริโอ ได้แก่ *V. harveyi* ที่ทำให้กุ้งทะเลป่วยเป็นโรคแบคทีเรียเรืองแสง (ชลอ, 2543) ยังมีรายงานอีกหลายชนิดได้แก่ *V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* ที่ก่อให้เกิดโรคเสียน้ำ และโรคอิวริโอซิส ที่เด่นชัดคือพบการรวมตัวกันของเม็ดเลือดในกุ้งทะเลที่ป่วย โดยบางตัวแสดงให้เห็นเนื้อตาย และในบางกรณีพบปริมาณเม็ดเลือดลดลง จำนวนลง ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันในตัวกุ้ง สอดคล้องกับการศึกษาของ สถาพร และ

อุษณีย์ (2535) ที่รายงานว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ *V. parahaemolyticus* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้กุ้งกุลาดำป่วยเป็นโรคตัวแดง

สำหรับโรคที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดจากการจัดการสภาพแวดล้อมภายในบ่อเลี้ยงไม่เหมาะสม เช่น คุณภาพน้ำ และพื้นบ่อที่มีการสะสมสารอินทรีย์มาก จากการเลี้ยงที่ปล่อยลูกกุ้งที่หนาแน่น การให้อาหารที่มากเกินไป ในขณะที่มีเครื่องให้อากาศจำกัด ไม่เพียงพอที่จะรองรับปริมาณกุ้งในบ่อได้ หรือมาจากวัตถุดิบที่นำมาเป็นส่วนประกอบของอาหาร ไม่มีคุณภาพดีพอ ส่งผลให้มีของเสียสะสมในบ่อมากเกินไป สารอินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้แบคทีเรียเพิ่มปริมาณมากขึ้น ในขณะที่กุ้งอ่อนแอลง จนในที่สุดกุ้งป่วยและตาย (ลีลา และคณะ, 2540ค)

### แบคทีเรียสกุลวิบริโอ (*Vibrio* spp.)

แบคทีเรียสกุลวิบริโอ (*Vibrio* spp.) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobic อยู่ในวงศ์ Vibrionaceae (Buamann *et al.*, 1971) รูปร่างเป็นแท่งโค้ง (curved rods) หรือตรง มีขนาดความกว้าง 0.5 – 0.8 ไมโครเมตร ใช้ flagella ในการเคลื่อนที่ในอาหารเหลว (liquid media) ใช้ monotrichous flagella ในการเคลื่อนที่เมื่อเจริญในอาหารแข็ง สร้าง lateral flagella จำนวนมาก ไม่สร้าง endospore หรือ microcyst อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตระหว่าง 18 – 37 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียชนิด uly aerobic คือเมื่อร่างกายของสัตว์อ่อนแอ จะเข้าทำลายและจะทำให้เกิดโรคแบบ secondary infection (ลีลา และคณะ, 2540ค; Austin and Austin, 1987) สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปที่มีการเติมเกลือ (NaCl) 1.5 – 3.5 เปอร์เซ็นต์ (ชโล, 2528) แต่ลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น จะไม่แตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่น ซึ่งจะยากต่อการจำแนกชนิด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีอาหารจำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียสกุล (*Vibrio* spp.) คือ Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar หรือ Brothymol Blue Salt Teepol และ Muller Hinton Broth เมื่อเจริญจะให้โคโลนีของสีที่แตกต่างกันเช่นสีเหลือง และสีเขียว มีขนาดปานกลาง – ใหญ่ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการใช้น้ำตาลซูโครสของแต่ละสายพันธุ์ (Cowan, 1975)

Austin and Austin (1987) ได้กล่าวว่าจากการศึกษาพบว่ามีแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. อย่างน้อย 25 ชนิดดังนี้คือ *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbellii*, *V. carchariae*, *V. cholera*, *V. costecola*, *V. damsel*, *V. fischeri*, *V. fluvialis*, *V. gazogenes*, *V. harveyi*, *V. logei*, *V. mimicus*,

*V. natriegens*, *V. nereis*, *V. nigripulchritudo*, *V. ordalii*, *V. pelagius* 1, 2, *V. parahaemolyticus*, *V. proteolyticus*, *V. proteus*, *V. salmonicida*, *V. splendidus* 1, 2, *V. vulnificus* และ *Vibrio* spp.

### โรค Vibriosis ในกุ้ง

โรค Vibriosis มีสาเหตุจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นแท่งสั้น สำหรับเชื้อ *Vibrio* spp. ชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไม ได้แก่ *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* ABRCVV 01 *V. vulnificus* ABRCVV 02, *V. fulvialis* ABRCVF 01, *V. fulvialis* ABRCVF 02 (ปิยนุช, 2550) โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เป็นสาเหตุหนึ่งที่เกิดความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในโรงเพาะฟัก เมื่อเกิดการระบาดของลูกกุ้งจะติดเชื้อเกือบทั้งหมด (Brock and Nain, 1994; Hu and Tao, 2000)

โดย *Vibrio* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบโดยทั่วไปในการเลี้ยงกุ้ง สามารถพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในทางเดินอาหาร ตับและตับอ่อน (hepatopancreas) และในน้ำเลือดของกุ้งที่มีอาการปกติ (Gomez-Gill, 1998; Moss *et al.*, 2000) สาเหตุที่ทำให้กุ้งติดเชื้อส่วนใหญ่มาจากความเครียดอันเนื่องมาจากการเลี้ยงที่หนาแน่นเกินไป และการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เชื้อจะเข้าไปในร่างกายไปทำลายเนื้อเยื่อและแพร่กระจายไปในระบบต่าง ๆ ตามปกติเมื่อมีการติดเชื้อหรือมีสิ่งแปลกปลอมเข้าไปในร่างกาย กุ้งจะตอบสนองโดยระบบภูมิคุ้มกัน บริเวณที่มีแบคทีเรียจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ เรียกว่าโรคจุดดำหรือน้ำตาล (black or brown spot disease) นอกจากนี้พบว่าถ้ากุ้งได้รับเชื้อแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก อาจทำให้เกิดการตายถึง 70 เปอร์เซ็นต์ (ปิยนุช, 2550) อาการของกุ้งที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. เช่น กุ้งจะมีลำตัวสีแดง เหงือกแดงหรือน้ำตาล กินอาหารลดลง เชื่องซึม ลอยบริเวณผิวน้ำ มีอัตราการตายสูง โดยเฉพาะระยะ postlarvae และ juvenile พบได้ทั้งในบ่อดินและในโรงเพาะฟัก ลักษณะอื่นๆ ได้แก่ มีรอยแผลดำที่เปลือกหรือเนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อมีสีขาวขุ่น เป็นต้น (Lightner, 1988 ; Alday and Flegel, 1999) ช่วงอายุที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคและความเสี่ยงที่พบได้ในทุกช่วงเวลาของการเลี้ยง (Lightner, 1988; Pitogo *et al.*, 1990) ในระยะแรกมีรายงานการติดเชื้อ *Vibrio* spp. มากในโรงเพาะฟัก แต่หลังจากการเลี้ยงอย่างหนาแน่นในบ่อดินจะพบกุ้งป่วยเป็นโรคได้ทุกช่วงอายุ สำหรับความเสี่ยงของการเกิดโรคขึ้นอยู่กับความเครียดที่กุ้งได้รับ แต่ในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียมีความรุนแรง สามารถทำให้เกิดโรคได้ (Pitogo and Pena, 1998) ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน Lightner (1996) กุ้งในบ่อดินที่ติดเชื้อ *Vibrio* spp. จะเติบโตช้าและมีอัตรา

การตายสูง สำหรับกุ้งขาวแปซิฟิกที่เป็นโรค Vibriosis พบว่าอาการของโรคมิทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง โดยกุ้งจะแสดงลักษณะพฤติกรรมภายนอกผิดปกติ ได้แก่ กินอาหารลดน้อยลงจนถึงระดับไม่กินอาหาร ว่ายน้ำไร้ทิศทาง และมีกอยู่บริเวณผิวน้ำและขอบบ่อเนื่องจากกุ้งป่วยจะมีปริมาณออกซิเจนในเลือดต่ำ (hypoxia) กว่าปกติจึงมักจะพบบริเวณผิวน้ำและขอบบ่อ ซึ่งมีออกซิเจนละลายน้ำสูงกว่าบริเวณพื้นบ่อ กรณีการติดเชื้อ *Vibrio* spp. บริเวณทางเดินอาหาร ตับ และตับอ่อนจะมีไขมันที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานน้อยลง (Anderson *et al.*, 1998; Cuellar *et al.*, 1998)

### การควบคุมโรค Vibriosis

การป้องกันโรค Vibriosis สามารถทำได้โดยมีการเตรียมบ่อที่ดีก่อนการเลี้ยงกุ้ง และมีการจัดการที่ดีในระหว่างการเลี้ยงเพื่อป้องกันกุ้งเกิดอาการเครียด โดยการควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เพื่อการป้องกันการเกิดสาหร่ายหรือเชื้อแคดบริเวณพื้นบ่อ นอกจากนี้ในระหว่างการเลี้ยงจะต้องควบคุมการให้อาหารอย่าให้มีอาหารเหลือตกค้างภายในบ่อมากเพราะว่าอาหารที่เหลือในบ่อจะทำแบคทีเรียเพิ่มปริมาณมากขึ้น การเปลี่ยนถ่ายน้ำเพื่อลดจำนวนของสารอินทรีย์ภายในบ่อในระหว่างการเลี้ยงจะป้องกันการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียได้ แต่การป้องกันที่ดีควรจะมีการปล่อยกุ้งในระดับที่เหมาะสมกับศักยภาพของบ่อ และต้องมีการเตรียมบ่อที่ดีโดยการตากบ่อหลังการเลี้ยงในแต่ละรอบ และนำเลนที่รวมกันกลางบ่อออกจากบ่อ (ชลอ, 2543) และมีเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอที่สามารถรวมตะกอนเลนไว้ที่กลางบ่อได้ควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ให้อยู่ในระดับที่สูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง (ชลอ และพรเลิศ, 2547) การใช้ยาในการป้องกันและรักษาโรค ในระยะที่กุ้งเริ่มแสดงอาการผิดปกติแต่ยังไม่ป่วยมาก จำเป็นจะต้องทำควบคู่กับการปรับปรุงคุณภาพน้ำ และพื้นบ่อด้วยจึงจะได้ผล การใช้ยาในการป้องกัน และรักษาจะได้ผลน้อยถ้าหากไม่มีการควบคุมคุณภาพน้ำ และพื้นบ่อที่สะอาด (ชลอ, 2534) ส่วนยาต้านจุลชีพที่จะใช้ต้องเป็นยาที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยานุญาติให้ใช้เท่านั้น และจะต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของกรมประมง โดยเคร่งครัดเพื่อป้องกันปัญหาขาดค้าง (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

## โรคฉี่ขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

### ลักษณะอาการภายนอก

ลักษณะภายนอกของกุ้งป่วยจากบ่อที่มีฉี่ขาวลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ พบว่ากุ้งดังกล่าวตัวหลวม ลำตัวสทกปรก กุ้งป่วยบางตัวจะตัวนิ่มเปลือกไม่แข็งหลังจากการลอกคราบ เมื่อนำฉี่ขาวที่ลอยบริเวณผิวน้ำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่า มีไขมันจำนวนมาก และลักษณะฉี่ขาวดังกล่าวที่มองเห็นนั้นเป็นส่วนของผนังลำไส้ของกุ้งที่หลุดลอกออกมา กุ้งในบ่อที่มีอาการฉี่ขาวจะกินอาหารลดลง ถ้ามีฉี่ขาวเกิดขึ้นเป็นเวลานานจะมีกุ้งบางส่วนทยอยตาย (มณฑกานต์, 2552) แบคทีเรียที่พบกุ้งมีอาการฉี่ขาว เมื่อนำกุ้งขาวที่ป่วยและมีอาการฉี่ขาวมาเพาะเชื้อจากน้ำเลือดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (TCBS agar) และจำแนกชนิดด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป API 20 E พบแบคทีเรีย *Vibrio* spp. หลายชนิดได้แก่ *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. mimicus*, *V. cholerae* (non 01) and *V. damsela* (Montagan et al., 2012) สอดคล้องกับรัตติยากร (2549) ทำการศึกษาสาเหตุการเกิดอาการฉี่ขาวในกุ้งกุลาดำ ซึ่งพบว่ามีอาการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ได้แก่ *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *V. cholera* (non-1), และ *V. mimicus* โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ *V. parahaemolyticus* ที่พบในลำดับต่อมาคือ *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *V. cholera* (non-01) และ *V. mimicus* ตามลำดับ โดยแบคทีเรียดังกล่าวสามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ บ่อเลี้ยง และในทางเดินอาหาร ตับและตับอ่อน และน้ำเลือดของกุ้งปกติ แบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอส่วนใหญ่จะก่อให้เกิดโรคเมื่อกุ้งอ่อนแอกจากความเครียดเครียด เพราะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยโรคที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio* spp. ส่วนมากมักเป็นอาการที่ติดเชื้อจากภายใน มีความรุนแรงเฉพาะที่และจะเข้าสู่ระบบเลือด (septicemia) แต่ในสภาวะปกติที่กุ้งแข็งแรงกุ้งจะสามารถกำจัดแบคทีเรียเหล่านี้ได้ โดยอาศัยกลไกการป้องกันตัวเอง และแบคทีเรียชนิด *V. parahaemolyticus* เป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำหลายชนิด (Liston, 1990) การที่กุ้งขาวมีอาการฉี่ขาวเป็นตัวชี้วัดได้ว่ากุ้งส่วนใหญ่อยู่ในสภาพที่ไม่สมบูรณ์ แข็งแรง มาเป็นเวลานาน พอสมควรอาจจะเกิดจากคุณสมบัติของน้ำที่ไม่เหมาะสม เช่น ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำไม่เพียงพออยู่ในระดับที่ต่ำกว่าปกติ (มากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) พื้นบ่อไม่สะอาด มีเลนตะกอนกระจายไปทั่วบ่อหรือมีสาเหตุมาจากปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อคุณภาพน้ำโดยรวมที่ทำให้กุ้งอ่อนแอ จากรายงานของ ชลอ (2543) พบว่าสาเหตุของอาการฉี่ขาวอาจเกิดจากแบคทีเรีย และ โพรโทซัวบางชนิด เช่น กริการิน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ พรชัย (2546) และ รัตติยากร (2549) ที่พบ กริการินในลำไส้ของกุ้งกุลาดำที่มีอาการฉี่ขาว ในบางพื้นที่ของการเลี้ยงในประเทศไทย โดยกริการินจะ

เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดบาดแผลในลำไส้ของกุ้งขาว และเป็นเหตุโน้มนำให้เกิดการระบาดของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ (ปิยนุช, 2550) โดยเป็นที่ทราบกันว่า *Vibrio* sp. เป็นแบคทีเรียที่ฉวยโอกาสเมื่อร่างกายกุ้งอ่อนแอ *Vibrio* sp. จะเข้าทำลายได้โดยง่าย ซึ่งส่วนใหญ่จะติดเชื้อจากภายใน มีความรุนแรงเฉพาะที่ และจะเข้าสู่ระบบเลือด (septicemia) (รัตติยากร, 2549)

#### ลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

ปิยนุช (2550) ได้กล่าวว่าพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเมื่อพิจารณาบริเวณตับและตับอ่อน พบการตายของเซลล์เยื่อบุท่อตับ มีการตอบสนองของเซลล์เม็ดเลือดต่อเชื้อแบคทีเรียโดยมีการรวมตัวของเม็ดเลือดปริมาณมากในเซลล์ท่อตับ และตับอ่อนซึ่งเป็นลักษณะของการเกิดกระบวนการ encapsulation และ nodule formation ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นกลไกการตอบสนองต่อแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในตัวกุ้งโดยเม็ดเลือดจำนวนมากเคลื่อนที่เข้าไปในบริเวณที่พบการอักเสบ (hemocytic infiltration) ต่อจากนั้นจะเกิดกระบวนการ encapsulation โดยเม็ดเลือดขาวจะรวมกลุ่มกัน เพื่อล้อมรอบและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย (Siderman, 1990) แต่ในกรณีที่มีแบคทีเรีย หรือสิ่งแปลกปลอมเป็นจำนวนมาก หรือบริเวณที่มีการอักเสบเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้เกิดกระบวนการ nodule formation ซึ่งมีการรวมกลุ่มของเม็ดเลือดที่เรียงตัวหลายชั้นและต่อมาจะเกิดกระบวนการ melanization บริเวณนั้นจะเกิด melanin pigment หรือรงควัตถุสีน้ำตาลหรือดำ โดยปฏิกิริยาของ phenoloxidase enzyme จากการกระตุ้นโดยระบบ prophenoloxidase system (proPO) (Lightner and Redman, 1977)

#### ลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อส่วนลำไส้

รัตติยากร ( 2549) ได้รายงานว่าลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อลำไส้ของกุ้งกุลาดำจากการติดเชื้อแบคทีเรียไม่พบกริการิน แต่พบลักษณะการติดเชื้อภายในลำไส้ โดยมีการรวมตัวของเม็ดเลือดจำนวนมาก และในส่วนเยื่อบุผนังของลำไส้มีเซลล์บางส่วนนั้นพบการตาย (necrosis) ซึ่งจะสังเกตเห็นลักษณะของการเกิด pyknotic nuclei และ karyorrhexis เช่นเดียวกับลักษณะในกุ้งกุลาดำที่ได้รับการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. สายพันธุ์ *V. parahaemolyticus*, *V. fulvialis*, *V. mimicus*, *V. cholera* (non 01) และ *V. alginolyticus*

## โรค Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP)

โรค Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP) มีการพบครั้งแรก ในปี ค.ศ. 1985 ในกุ้ง *P. vannamei* ในรัฐเท็กซัส ประเทศสหรัฐอเมริกา ต่อมาพบโรค NHP แพร่กระจายทั้งชายฝั่ง มหาสมุทรแปซิฟิก และแอตแลนติก ได้แก่ ประเทศเปรู เอกวาดอร์ เวเนซุเอลา บราซิล ปานามา และคอสตาริกา เกิดจากแบคทีเรียแกรมลบที่มีขนาดเล็ก มีรูปร่างไม่แน่นอน (pleomorphic) พบอยู่ในเซลล์เท่านั้น มักพบในเซลล์ของตับและตับอ่อน โดยลักษณะของเชื้อโดยทั่วไปมี 2 แบบ คือ รูปแท่ง แกรมลบ คล้ายริคเก็ตเซีย มีขนาด  $0.3 \times 0.9$  ไมโครเมตร ไม่มีเส้น และรูปเกลียว (helical form) มีขนาด  $0.2 \times 2.6 - 2.9$  ไมโครเมตร มีเส้น 8 เส้นบริเวณปลายสุดของฐาน (Jory, 1987; Lightner *et al.*, 1997)

กุ้งที่ได้รับเชื้อจะมีอัตราการตาย ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Brock and Main, 1994) เมื่อกุ้งติดเชื้อแบคทีเรียจะกินอาหารน้อยลง เบื่ออาหาร (anorexia) การเจริญเติบโตลดลง เปลือกและลำตัวนิ่ม ตัวหลวม ตับและตับอ่อนฝ่อลงและมีสีซีด อ่อนแอ และตายในที่สุด (Jory, 1987)

## โรค Mycobacteriosis (shrimp tuberculosis)

โรค mycobacteriosis (shrimp tuberculosis) เกิดจากแบคทีเรีย *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium fortuitum* และ *Mycobacterium sp.* เป็นแบคทีเรียชนิดฉวยโอกาส โดยจะเข้าทำลาย กุ้งเมื่อกุ้งอยู่ในสภาวะที่อ่อนแอ โดยลักษณะอาการของกุ้งที่ได้รับเชื้อจะสร้างเมลานินออกมาจำนวนมาก ตามบริเวณอวัยวะต่าง ๆ เช่น กล้ามเนื้อ รังไข่ หัวใจ และเหงือก เป็นต้น (ปิยนุช, 2550)

## การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์น้ำ

ตามปกติในการเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างหนาแน่นมักจะมีปัญหาเรื่องโรคเช่นเดียวกับการเลี้ยงสัตว์อื่นทั่วไป ซึ่งอาจจะเกิดจากการติดเชื้อโรค (infectious disease) ได้แก่ การติดเชื้อ ไวรัส เชื้อรา แบคทีเรีย และ โพรโทซัว เป็นต้น และอีกสาเหตุคือโรคที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ (non - infectious disease) ได้แก่ การจัดการระบบการเลี้ยงที่ไม่ดี และการได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ เป็นต้น โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสจะไม่มีการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษา แต่ในกรณีที่มีการติดเชื้อแบคทีเรีย

ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ คือเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Mycobacterium* spp. และ *Streptococcus* spp. เป็นต้น และจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Vibrio* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* และ *Flexibacter columnaris* (กมลชัย, 2547 ; Reviere and Spoo, 1995) เมื่อมีการเกิดโรคจากการติดเชื้อแบคทีเรียจึงมีการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อรักษาโรสดังกล่าว ในการใช้ยาต้านจุลชีพถ้ามีการใช้อย่างไม่ถูกต้องนอกจากจะไม่ให้ผลในการรักษาแล้วยังจะทำให้เชื้อดื้อยาและมีปัญหาขาดคลังซึ่งส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออก

### เกณฑ์ของยาที่ดีที่ใช้ในสัตว์น้ำ

การใช้ยาในสัตว์น้ำนั้นจำเป็นต้องมีมาตรฐานกำหนดเพื่อให้การใช้ยาเหมาะสม และมีประสิทธิภาพ รวมทั้งป้องกันการก่อให้เกิดการดื้อยาที่ยากมากขึ้น โดยหลักเกณฑ์ในการใช้ยาต้านจุลชีพ ตามที่ Chinabut and Donyadol (1983) ได้กล่าวไว้คือ ชนิดของยานั้นต้องทำลายเชื้อแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว โดยที่ไม่มีผลเสียหรือเป็นอันตรายต่อสัตว์ซึ่งคุณสมบัติทั่วไปของยานั้นจะต้องมีการดูดซึมผ่านเนื้อเยื่อได้ดี เพื่อมีผลต่อแบคทีเรีย และถูกขับถ่ายออกจากตัวสัตว์น้ำอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาขาดคลังในเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของยาภายในตัวสัตว์น้ำ เมื่อถูกกำจัดออกมาจะไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ส่วนในกรณีที่มีการตกค้างในตัวสัตว์ เมื่อนำมาเป็นอาหารแก่นุ้ยจะไม่ก่อให้เกิดมะเร็งหรือเกิดความผิดปกติแก่ผู้บริโภค ยานั้น ๆ ต้องมีเสถียรภาพ ภายใต้สภาวะปกติที่มีการเก็บและการใช้โดยเฉพาะต้องผ่านการควบคุม คุณภาพในทุกขั้นตอนของการผลิต เพื่อหลีกเลี่ยงการดื้อยาที่จะเกิดขึ้น และควรใช้ยานั้นอย่างถูกต้อง

### ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ (Antimicrobial chemotherapeutic agent)

ยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agent) สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือยาต้านจุลชีพเคมีสังเคราะห์ (synthetic antimicrobial agent) หมายถึงยาซึ่งประกอบไปด้วยสารเคมีสังเคราะห์ ในปริมาณที่พอเหมาะจะสามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อ ตัวอย่างเช่น sulphadiazine, nitrofurazone และยาปฏิชีวนะ (antibiotic) หมายถึงยาซึ่งประกอบไปด้วยสารเคมีที่มีแหล่งกำเนิดผลิตมาจากสิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ พืช เป็นต้น แม้ในภายหลังจะมีการสังเคราะห์ขึ้น (กึ่งสังเคราะห์ หมายถึงการใช้สารเคมีร่วมกับวิธีการผลิตแบบธรรมชาติ) ในปริมาณที่พอเหมาะจะสามารถยับยั้งการเจริญหรือการทำลายเชื้อโรค ตัวอย่าง penicilin G, tetracycline ซึ่งยาต้านจุลชีพที่ใช้ในปัจจุบันมี

มากมายหลายชนิด ยาเหล่านี้มีขอบข่ายในการออกฤทธิ์แบบต่างๆ บางชนิดออกฤทธิ์เฉพาะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (microbistatic) เช่น oxytetracycline ขณะที่บางชนิดออกฤทธิ์ฆ่าทำลาย (microbicidal) เช่น penicillin G บางชนิดมีผลต่อเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเรียกว่ายาต้านแบคทีเรีย (antibacterial) เช่น penicillin G บางชนิดมีผลต่อเชื้อรา ซึ่งเรียกว่ายาต้านเชื้อรา (antifungal) เช่น nystain เป็นต้น บางชนิดมีผลต่อกลุ่มโปรโตซัว (antiprotozoal) เช่น metronidazole (มาลิน, 2540) ตัวอย่างชนิดของยาต้านจุลชีพและขอบข่ายการออกฤทธิ์แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างยาต้านจุลชีพและขอบข่ายการออกฤทธิ์

ยาต้านจุลชีพ	การออกฤทธิ์	ผลต่อจุลชีพ
Actinomycin D	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Amantidine	ยับยั้งการเจริญเติบโต	ไวรัส
Aminoglycosides	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Neomycin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Streptomycin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Bacitracin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Cephalosporins	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมบวก)
Cephalothin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมบวก,แกรมลบ)
Cephatrizine	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมบวก,แกรมลบ)
Gramicidins	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Gramicidin S	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Idoxuridin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	ไวรัส
Mitomycin C	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Porfiromycin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Nitrofurans	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมลบ)
Nitrofurantoin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (ไม่ใช้ออกซิเจน)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ยาด้านจุลชีพ	การออกฤทธิ์	ผลต่อจุลชีพ
Nitroimidazole	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย, โพรโทซัว
Metronidazole	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (ไม่ใช่ออกซิเจน)
Tinidazole	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	โพรโทซัว
Omidazole	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย, โพรโทซัว
Penicilins	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมลบ)
Penicillin G	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมลบ)
Ampicilin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย (แกรมลบ)
Polyenes	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
Nystain	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
Amphotericin B	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
Candicidin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
Pemarinin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
Filipin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา
Rifamycins	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Rifampicin	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Tetracycline	ยับยั้งการเจริญเติบโต	แบคทีเรียแกรมลบ
Oxytetracycline	ยับยั้งการเจริญเติบโต	แบคทีเรียแกรมลบ
Tyrocidins	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย
Tyrocidin A	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	แบคทีเรีย

ที่มา: มาลิน (2540)

ตารางที่ 2 กลไกของการออกฤทธิ์และผลต่อเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ	ขบวนการสร้างหรือ โครงสร้างที่ไปมีผล	ผลต่อเชื้อแบคทีเรีย
Penicillins	การสร้างผนังเซลล์	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Cephalosporins	การสร้างผนังเซลล์	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Vancomycin	การสร้างผนังเซลล์	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Ristocetin	การสร้างผนังเซลล์	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Bacitracin	การสร้างผนังเซลล์	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Polymyxins	ทำลายเซลล์เมมเบรน	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Novobiocin	การสร้าง nucleic acid	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Macrolides	การสร้างโปรตีน	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Lincosamides	การสร้างโปรตีน	ยับยั้งการเจริญเติบโต
Aminoglycosides	การสร้างโปรตีน	ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย
Chloramphenicol	การสร้างโปรตีน	ยับยั้งการเจริญเติบโต
Tetracycline	การสร้างโปรตีน	ยับยั้งการเจริญเติบโต

ที่มา: กมลชัย (2547)

### ยาด้านเชื้อแบคทีเรีย

ยาด้านเชื้อแบคทีเรียที่สังเคราะห์ได้เพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย โดย มาลิน (2540) สามารถแบ่งเป็นกลุ่มต่าง ๆ และชนิดที่สำคัญคือ

### ยากลุ่ม sulphonamides

ยากลุ่ม sulphonamides มีวิธีการออกฤทธิ์ด้วยการรบกวนการสังเคราะห์ dihydrofolic acid ของแบคทีเรีย เพราะสูตรโครงสร้างคล้ายกับ PABA (p – aminobenzoic acid) ยากลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อกว้าง มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดต่าง ๆ (ยกเว้น *Streptococcus faecalis*) แบคทีเรีย -

แกรมลบต่าง ๆ (ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* และ *Klebsiella* ชนิด indole - positive) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae* และ *Haemophilus influenzae* มีการตอบสนองต่อยากลุ่มนี้ในลักษณะที่ต่างกัน ยากลุ่ม sulphonamides มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ (bacteriostatic) ยากลุ่ม sulphonamides สามารถให้ทางปาก แต่เนื่องจากมีความสามารถในการละลาย การดูดซึม การขับถ่าย ตลอดจนการออกฤทธิ์ของยา จึงทำให้วัตถุประสงค์และวิธีการใช้ยาเหล่านี้แตกต่างกันออกไป โดย Edwards (1980) สามารถแบ่งออกได้ 2 รูปแบบคือ

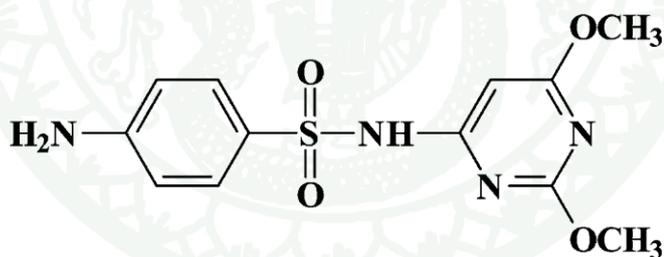
1. พวกดูดซึมได้ สามารถใช้เพื่อรักษาโรคติดเชื้อทั่วไปในร่างกาย พวกนี้ยังมีคุณลักษณะอีกหลายอย่างคือ (1) พวกออกฤทธิ์สั้น ด้วยจะถูกขับออกอย่างรวดเร็ว อย่างชนิดละลายได้ในปัสสาวะค่อนข้างต่ำคือ sulphadiazine ขณะที่บางชนิดละลายได้ปกติ เช่น sulphamidine หรือละลายได้สูงมาก (แม้ในสถานะที่เป็นกรด) sulphafurazole, sulphasomidine, sulphathizole ตัวอย่างยาที่ออกฤทธิ์สั้นอื่น ๆ คือ sulphamylamide, sulfacetamide, sulphapyridine, sulphathizole สำหรับยาชนิดที่ละลายได้ในทางเดินปัสสาวะ และให้ระดับยาในทางเดินปัสสาวะสูงใช้รักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้ (2) พวกที่ออกฤทธิ์ปานกลาง ด้วยจะถูกขับออกช้ากว่าพวก (1) การให้ด้วยทุก 12 ชั่วโมงจึงพอเพียง ตัวอย่างเช่น sulphamethoxazole (3) พวกที่ออกฤทธิ์ได้นาน ด้วยจะถูกขับออกช้ามากขึ้น จึงสามารถให้ยาเพียงวันละ 1 ครั้งได้ ตัวอย่างเช่น sulphamethoxypyridine, sulphadimethoxine, sulphasymazine และ (4) พวกที่ออกฤทธิ์ได้ระยะเวลานานมาก ด้วยจะถูกขับออกช้ามาก การให้ยาเพียงวันละ 1 ครั้งระดับตัวยาสสามารถอยู่ในร่างกายได้นาน 1 สัปดาห์ ตัวอย่างเช่น sulphadoxine และ sulphametopyrazine เป็นต้น

2. พวกที่ดูดซึมไม่ได้ หรือไม่ดี มักนำมารักษาโรคที่เกิดจากทางเดินอาหาร ตัวอย่างเช่น sulphaguanidine, sulphasuxidine และ sulphathalidine เป็นต้น สำหรับยาสองชนิดหลังจะค่อย ๆ แยกตัวเป็น sulphathiazole ในลำไส้จึงเหมาะนำมาใช้กำจัดเชื้อในลำไส้ก่อนการผ่าตัด

ในยากลุ่ม sulphonamides นั้นได้ทำการเลิกใช้ไปแล้ว เพราะเนื่องจากจะมีอาการข้างเคียงคือ ก่อให้เกิดผลึกตะกอนในไต ซึ่งอาจทำให้เกิดการอุดตันของท่อไต เมื่อใช้ยากลุ่มนี้จำเป็นจะต้องดื่มน้ำมาก ๆ เพื่อช่วยในการละลาย ส่วนในยากลุ่ม sulphonamides อาจนำมาผสมร่วมกับยาต้าน-จุลชีพกลุ่มอื่น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของยาเพื่อต้านเชื้อ ตัวอย่างที่นำมาผสมประกอบด้วย sulphamethoxazole และ trimethoprim ในอัตราส่วน 5:1

## ยาซัลฟาไคเม็ทท็อกซีน (sulfadimethoxine)

คุณสมบัติของยาซัลฟาไคเม็ทท็อกซีน คือ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีสูตรโมเลกุลเป็น  $C_{12}H_{14}N_4O_4S$  น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 310.33 ประกอบด้วย C 46%, H 4.55%, N 18.50%, O 20.62% และ S 10.33% มีการละลายได้น้อยมาก จะละลายได้ดีถ้า pH สูงขึ้น มีคุณสมบัติเป็น amphoteric และจะอยู่ในรูปของเกลือ (salts) ในสารละลายที่เป็นกรดแก่และด่างแก่ (strongly acidic or basic solution) และดูดซึมได้ดีแต่ขับถ่ายช้า คือออกฤทธิ์ได้ยาวนาน (long-acting) โดยปกติยากลุ่มซัลฟา มีคุณสมบัติการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียโดยไปยับยั้งการเจริญเติบโต และยับยั้งการแบ่งตัวของแบคทีเรีย โดยจะไปรบกวนเมตาบอลิซึม (metabolism) ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย และเป็นยาที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียปานกลาง ที่เรียกว่า medium หรือ wide spectrum คือออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีแต่ไม่มีผลต่อไวรัส ในการใช้สารต้านจุลชีพรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียให้ได้ผลดีนั้น ระดับของยาในเลือดจะต้องอยู่ในระดับที่สูงและนานพอที่จะให้ผลในการรักษา ถ้าหากระดับของยาในเลือดต่ำลงอย่างรวดเร็วการรักษาจะไม่ได้ผล (Touraki *et al.*, 1996)



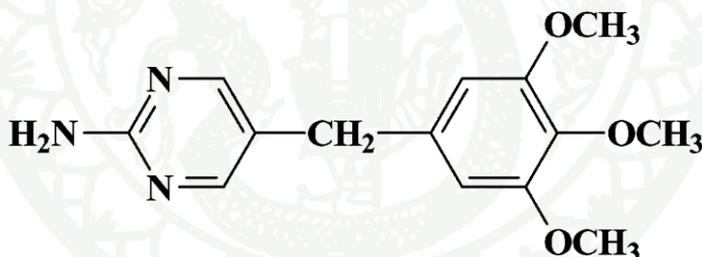
ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของยาซัลฟาไคเม็ทท็อกซีน

ยาซัลฟาจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียมากกว่าที่จะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal) เพราะมีการทดลองนำเชื้อแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตโดยยาซัลฟาไคเม็ทท็อกซีนไปใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ไม่มียานี้ผสมอยู่ พบว่าเซลล์แบคทีเรียจะแบ่งตัวได้อีก และการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจากยาซัลฟาจะไม่เกิดขึ้นอย่างทันทีทันใดหลังจากที่ได้รับยา จากการศึกษาพบว่าเมื่อผสมยาซัลฟาลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรียที่มีความไวต่อยา การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียยังคงเกิดขึ้นระยะหนึ่งก่อนที่ยาซัลฟาจะออกฤทธิ์ ระยะเวลาที่ต้อง

รอให้ยาฆ่าฟานี้ออกฤทธิ์นี้เรียกว่า lag phase และในระยะ lag phase นี้เองพบว่าเมตาบอลิท์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียถูกรบกวน เนื่องจากยาฆ่าฟามีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับกรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (p-aminobenzoic acid หรือ PABA) ซึ่งเป็นกรดที่จำเป็นต่อการสร้างกรดโฟลิก (folic acid) ยาฆ่าฟายับยั้งการสร้างกรดโฟลิก โดยมีฤทธิ์ไปแข่งขันกับ PABA ในการสังเคราะห์กรดไดไฮโดรโฟลิกของแบคทีเรีย (dihydrofolic acid synthetase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการสร้างกรดโฟลิกของแบคทีเรีย ผลคือการทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียถูกยับยั้ง (Chair *et al.*, 1996)

### ไตรเมทโทพริม (trimethoprim)

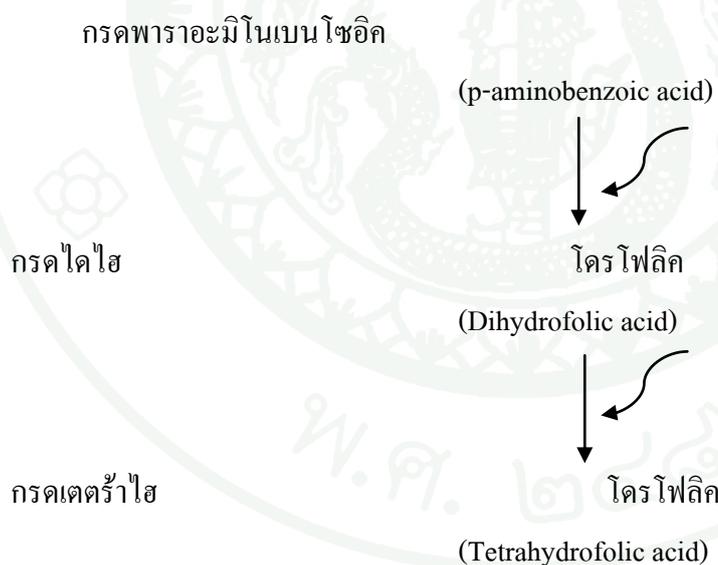
ไตรเมทโทพริม เป็นยาไดอะมิโนไพริมิดีน (DAP : 2,4-diaminopyrimidine) ที่ได้จากการสังเคราะห์ มีคุณสมบัติในการขัดขวางการสร้างกรดโฟลิกของแบคทีเรีย มีสูตรทางเคมีคือ 2,4-diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-pyrimidine



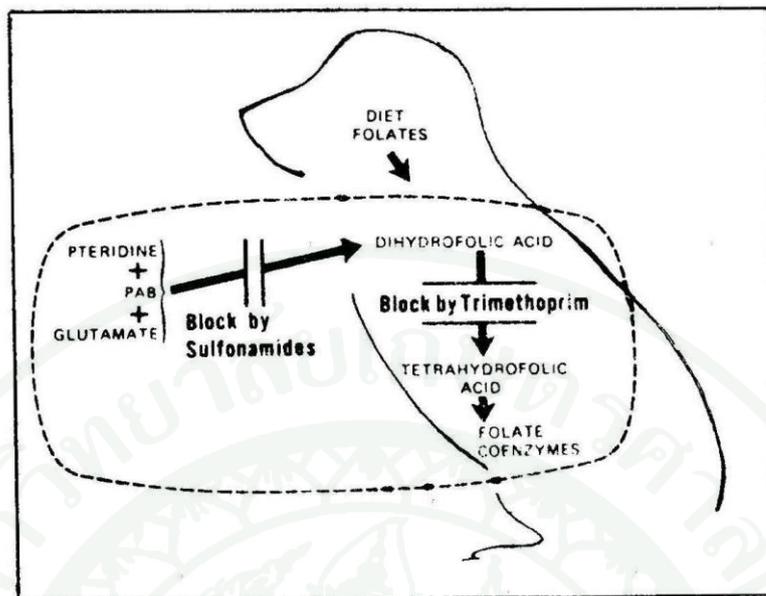
ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของยาไตรเมทโทพริม

ดังได้กล่าวแล้วข้างต้นว่า กรดโฟลิกเป็นสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียโดยที่กรดโฟลิกในรูปของกรดเตตราไฮดรอฟอลิก (tetrahydrofolic acid) ซึ่งเป็นรูปที่ออกฤทธิ์ (active form) ของกรดโฟลิก จะมีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์สารกลุ่มพิวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) ของแบคทีเรีย ในการเปลี่ยนกรดโฟลิกไปอยู่ในรูปที่ใช้ได้คือกรดเตตราไฮดรอฟอลิก จะต้องอาศัยเอนไซม์เตตราไฮดรอฟอลิครีดักเทส (tetrahydrofolic reductase) สารพวก DAP (2,4-diaminopyrimidine) บางชนิดเช่น ไตรเมทโทพริม และ ออร์เมทโทพริม (ormethoprim) มีคุณสมบัติในการขัดขวางเอนไซม์ดังกล่าว ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นที่มีการค้นพบสารที่มีฤทธิ์ต่อจุลชีพโดยออกฤทธิ์เสริมฤทธิ์กับยาในกลุ่มซัลฟา (Van Miert, 1994)

การเสริมฤทธิ์ยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกฤทธิ์ เมื่อให้ยาซัลฟาพร้อมกับไตรเม็ทโทพริม จะออกฤทธิ์เสริมกันในการยับยั้งการเจริญเติบโต โดยที่ยาไตรเม็ทโทพริม เป็นรูปที่ออกฤทธิ์ (active form) ของกรดโฟลิกจะมีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์ purine และ pyrimidine ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ DNA และ RNA การเกิด reduction ของ dihydrofolic acid จะกลายเป็น tetrahydrofolic acid จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์ dihydrofolate reductase โดยพบว่าอนุพันธ์ 2,4 dimonopyrimide (DAP) บางชนิด เช่น trimethoprim และ o-methoprim ขอบเกาะและยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์นี้ เมื่อใช้ยา trimethoprim ร่วมกับยา sulfadimethoxine จะออกฤทธิ์ที่เสริมกันในการยับยั้งหรือการแบ่งตัวของเซลล์แบคทีเรีย ยาซัลฟาจะออกฤทธิ์โดยไปขัดขวางการสร้างหรือยับยั้งการสร้างกรดโฟลิกในขณะเดียวกันไตรเม็ทโทพริมจะไปเสริมฤทธิ์ยาซัลฟา โดยไปขัดขวางการสร้างกรดเตตราไฮดรอฟลิกจากกรดโฟลิกจะเห็นได้ว่ายาซัลฟาและไตรเม็ทโทพริมออกฤทธิ์ในกระบวนการเดียวกันซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า sequential blockade effect (ภาพที่ 3) ดังนั้นการใช้ยาทั้ง 2 ตัวนี้ร่วมกันจะให้ผลดีกว่าการใช้ยาเพียงตัวใดตัวหนึ่ง เนื่องจากฤทธิ์ที่ได้นั้นจะสูงกว่าการใช้ยาเพียงตัวเดียวหลายเท่าตัว (Samuelsen *et al.*, 1997)



ภาพที่ 3 กลไกการออกฤทธิ์ของยาซัลฟาและไตรเม็ทโทพริมออกฤทธิ์ในกระบวนการที่ต่อเนื่องกัน



ภาพที่ 4 กลไกการทำงานของยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเม็ทโทพริม

#### การใช้ยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเม็ทโทพริมและการตกค้างของยา

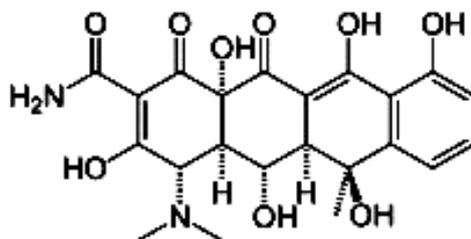
การศึกษาประสิทธิภาพของยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเม็ทโทพริม ได้มีการศึกษาอย่างต่อเนื่องและเป็นเวลานาน เพื่อใช้รักษาโรคที่ติดเชื้อจากแบคทีเรีย มีการใช้ร่วมกันของยาทั้งสองชนิดนี้เพื่อให้ได้ผลที่ดีกว่าใช้เพียงชนิดเดียว (กมลชัย, 2547) สอดคล้องกับ Bullock *et al.* (1974) ซึ่งผสมยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเม็ทโทพริม ในอัตราส่วน 5:1 ในการรักษาโรค Furunculosis ที่เกิดในปลาเทราท์ ในปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลาหนึ่งกิโลกรัม พบว่าให้ผลดีในด้านการรักษามากกว่าใช้ยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซิน เพียงตัวเดียวชื่อทางการค้าของยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซินและออร์เม็ทโทพริมที่ผสมร่วมกันมีชื่อเรียกว่าโรเมท 30 (Romet 30) ใช้ในการควบคุมโรค Furunculosis ในปลาเทราท์ และปลาแซลมอน ซึ่งยาชนิดนี้จะออกฤทธิ์ดีกับเชื้อ

*Aeromonas hydrophila*, *Chondrococcus columnaris*, *Vibrio anguillarum* และ *Yersinia ruckeri* (Schnick, 1988) การใช้ยากลุ่มซัลฟาในกึ่งกุลาดำ รายงานของ Limpoka *et al.* (1993) โดยให้ยาซัลฟาไดอะโซล ในกึ่งกุลาดำ วิธีการให้ยาหลายรูปแบบและให้หลายขนาด ควรกำหนดระยะเวลาหยุดยาอย่างน้อย 5 วัน การศึกษาของยาซัลฟาไดเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเม็ทโทพริม ในการเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่ายาที่ผสมอาหาร 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลาหนึ่งกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 1 และ 10 วัน ผลคือตรวจพบยาตกค้างในกล้ามเนื้อนาน 29 วัน และ 34 วันตามลำดับ สอดคล้องกับ

Salte and Leistol (1983) ที่ศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการสลายตัวของยาซัลฟาไดเมทที่ออกซินร่วมกับไตรเมทโทพริม โดยให้ด้วยวิธีผสมยากับอาหาร ในอัตราส่วน 30 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลาหนึ่งกิโลกรัม ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 10 วัน หลังจากหยุดให้ยา ผลการศึกษาพบว่าตรวจพบไตรเมทโทพริมในเนื้อเยื่อ ตัก้างในเนื้อเยื่อ 45 วันหลังจากหยุดให้ยา สอดคล้องกับการศึกษาปริมาณยาซัลฟาไดเมทและไตรเมทโทพริม ในกล้ามเนื้อของปลา rainbow trout พบว่าในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารผสมยาในขนาด 300 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลาหนึ่งกิโลกรัม โดยให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 10 วัน ตรวจพบยาในกล้ามเนื้อนาน 34 วัน และยาที่ได้รับยาในวันเดียวตรวจพบยาในกล้ามเนื้อนาน 29 วัน (McCracken *et al.*, 1976) มีรายงานเพิ่มเติมในต่อมาพบว่าระยะเวลาปลอดยาซัลฟาไดเมทและไตรเมทโทพริม ศึกษาโดยผสมยาในอาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 30 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวปลาหนึ่งกิโลกรัม กินติดต่อกันเป็นระยะเวลา 10 วัน จากการศึกษายังคงพบยาตัก้างในกล้ามเนื้อนาน 45 วัน หลังจากหยุดให้ยา (Salte and Leistol, 1983)

#### ยาออกซิเตตราซัยคลิน (oxytetracycline)

ออกซิเตตราซัยคลิน (oxytetracycline) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราซัยคลิน ที่สกัดได้มาจากเชื้อรา *Streptomyces rimosus* เมื่อปี ค.ศ. 1950 มีชื่อทางเคมีว่า 4 – (dimethylamino) – 1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12a-octahydro-3, 5, 6, 10, 12, 12a-hexahydroxy-6-methyl-1, 11-dioxo-2-naphthacene-carboxamide มีชื่อทางการค้าหลายอย่าง ได้แก่ Glomysin, Terrafungine, Riomitsin, Hydroxytetracycline, Berkmycen, Biostat, Lmperacin (tablets), Oxacycline, Oxatets, Oxystevacin, Terrajects, Terramycin, Tetramal, Tetrin, Vendarcin มีสูตรโครงสร้างเป็น polycyclic compound (มาลิน, 2540)



ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างของยาออกซิเตตราซัยคลิน

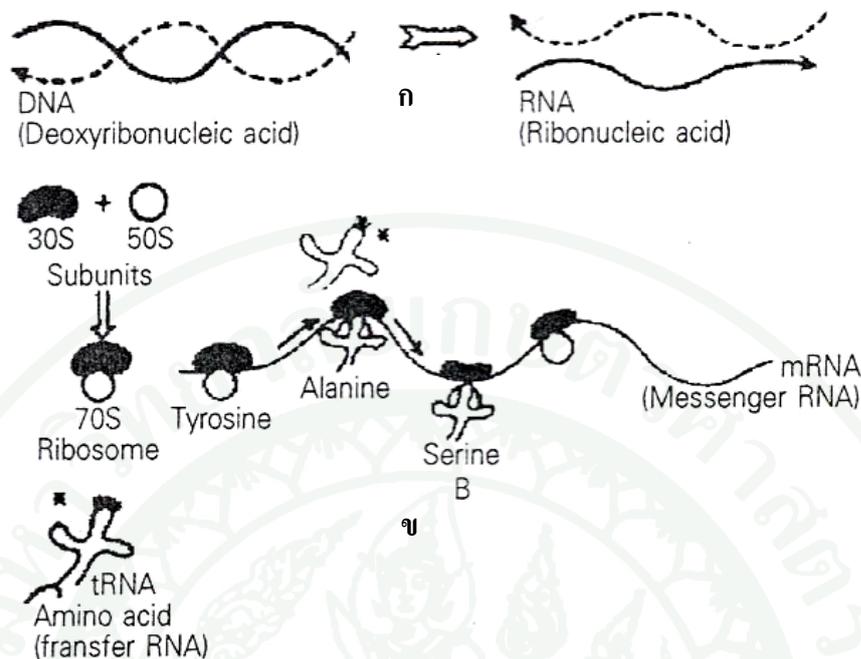
สารประกอบอนุพันธ์ (derivative compound) ของออกซิเตตราซัยคลิน เป็น sodium salt dihydrate ( $C_{22}H_{22}N_2Na_2O_2 \cdot 2H_2O$ ) เป็นผลึกสีเหลือง มีรสขม ไม่มีกลิ่น มีความไวต่อแสง ซึ่งจะทำให้ยาออกซิเตตราซัยคลินสลายตัวเกิดเป็นสีน้ำตาล ถ้าเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องจะสามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อย 2 ปี แต่ออกซิเตตราซัยคลินสามารถสลายตัวได้เร็วในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง และความเค็มสูงออกซิเตตราซัยคลิน มีคุณสมบัติละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่เมื่ออยู่ในรูปเกลือโซเดียม หรือไฮโดรคลอไรด์จะละลายน้ำได้ดี ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม อะซิโตน และอีเทอร์ ออกซิเตตราซัยคลินเป็นยาที่ออกฤทธิ์ได้ในขอบเขตที่กว้าง (broad spectrum) สามารถออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ในกลุ่ม *Streptococci*, *Staphylococci* (micrococci), *Anthracooids*, *Pasteurella*, *Brucella*, *Corynebacteria*, *Erysipelothrix*, กลุ่ม *Coliform* และ *Salmonella* นอกจากนี้แบคทีเรียแล้วยังสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Rickettsia* และ โปรโตซัวบางชนิด แต่ออกซิเตตราซัยคลินไม่มีผลต่อจุลชีพพวกยีสต์ ราเมือก (moulds) และเชื้อราอื่น ๆ ซึ่งยาชนิดนี้เป็นยาปฏิชีวนะที่จัดอยู่ในประเภทที่ไม่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยตรง แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ (bacteriostatic) (ทมยันต์, 2530) ยาประเภทนี้ออกฤทธิ์ต่อขบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้หรือเพิ่มได้ช้า โดยเซลล์แบคทีเรียจะสร้างโปรตีนต้องอาศัยทั้งเอนไซม์ ribosomes, messenger ribonucleic acid (m-RNA), transfer ribonucleic acid (t-RNA) และกรดอะมิโน (amino acids)

การสร้างโปรตีนของแบคทีเรียแบ่งเป็นขั้นตอนใหญ่ ๆ ได้ 2 ขั้นตอน คือ

1. Transcription เป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นในส่วนของนิวเคลียส โดยจะมีการถ่ายถอดลักษณะทางพันธุกรรมจากดีเอ็นเอ (DNA) มาให้เอ็มอาร์เอ็นเอ (m-RNA) เพื่อให้มีการสร้างโปรตีนในขั้นตอนต่อไป (ภาพที่ 6 ก) การ transcription เป็นการส่งข่าวสารจาก DNA ในนิวเคลียส ผ่านมากับ single-stranded ribonucleic acid ที่เรียกว่า m-RNA เพื่อให้มีการสร้างโปรตีนในส่วนไซโทพลาซึม

โดยที่ m-RNA จะเลียนแบบ (complementary copy) มาจากส่วนหนึ่งของสาย DNA จึงมีลำดับของนิวคลีโอไทด์ (nucleotides) เหมือนกับลำดับของ nucleotides ในสาย DNA ส่วนที่เลียนแบบมาแล้ว m-RNA นั้นจะผ่านออกมาอยู่ในไซโทพลาซึม เพื่อให้มีการสร้างโปรตีนในขั้นตอนต่อไป

2. Translation เป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นในส่วนไซโทพลาซึม โดยข่าวสารจาก m-RNA จะทำหน้าที่ให้มีการสร้างสายกรดอะมิโน เพื่อให้ได้โปรตีนเฉพาะตามที่ต้องการออกมา (ภาพที่ 6 ข) การ translation หรือการสร้างโปรตีนเกิดขึ้นในส่วนไซโทพลาซึมของเซลล์โดยอาศัย ribosomes เป็นหลัก ribosomes จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือส่วน 30S ribosome และส่วน 50S ribosome เมื่อมีการสร้างโปรตีน 30S ribosome และส่วน 50S ribosome จะรวมกันเป็นหน่วยเดียว คือ 70S ribosome ส่วน m-RNA จะไปเกาะกับ 30S ribosome ส่วน t-RNA จะนำกรดอะมิโน (เรียกรวมกันว่า aminoacyl t-RNA) มาเกาะกับ ribosome particle ที่มีส่วน m-RNA อยู่ด้วย โดยจะเกาะที่ส่วน 30S ribosome ของ ribosome ตรงบริเวณที่เรียกว่า acceptor (A) site ลำดับหรือตำแหน่งการเกาะของ aminoacyl t-RNA จะถูกกำหนดโดย nucleotide sequence (codon sequence) ใน m-RNA ที่เคลื่อนที่ไปตาม ribosomal particle และกรดอะมิโนจะยึดหรือติดกับกรดอะมิโนก่อนหน้านั้นของสาย peptide (ซึ่งอยู่ที่ donor (P) site ใน 30S ribosome) ด้วย peptide bond โดยอาศัยเอนไซม์ peptidyltransferase จากนั้นจะเคลื่อนไปที่ peptidyl site ผลสุดท้ายจะได้เป็นสาย polypeptide หรือโปรตีนตามต้องการ (มาลิน, 2540)



### ภาพที่ 6 กระบวนการสร้างโปรตีน

ก. การเกิด transcription ของ DNA มาเป็น m-RNA

ข. การเกิด translation ของ m-RNA เพื่อนำ กรดอะมิโนมาประกอบกันเป็น โปรตีน

(Boring, 1976)

กระบวนการต่างๆ ของการสร้างโปรตีนอาจถูกขัดขวางโดยยาปฏิชีวนะในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งดังนี้

1. ขัดขวางไม่ให้ aminoacyl t-RNA เกาะกับ ribosome
2. ขัดขวางการสร้าง peptide bond ระหว่าง aminoacyl t-RNA กับสาย peptide ที่กำลังสร้าง
3. ขัดขวางการรับทราบ (recognition) ระหว่าง aminoacyl t-RNA กับ codon เฉพาะของ มันบน m- RNA ยาออกซิเตตราซัยคลิน จะออกฤทธิ์โดยที่ยาจะไปเกาะกับส่วน 30S ribosome subunit ของ 70S ribosome จึงขัดขวางการเกาะของ aminoacyl t-RNA กับ ribosome

## การใช้ยาออกซิเตตราไซคลิกและการตกค้างของยา

ยาด้านจุลชีพในกลุ่มเตตราไซคลิก เป็นกลุ่มหนึ่งที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในการรักษาโรคที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่สาเหตุจะมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะ *Vibrio* spp. ซึ่งการใช้ยานั้นมีจุดประสงค์เพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

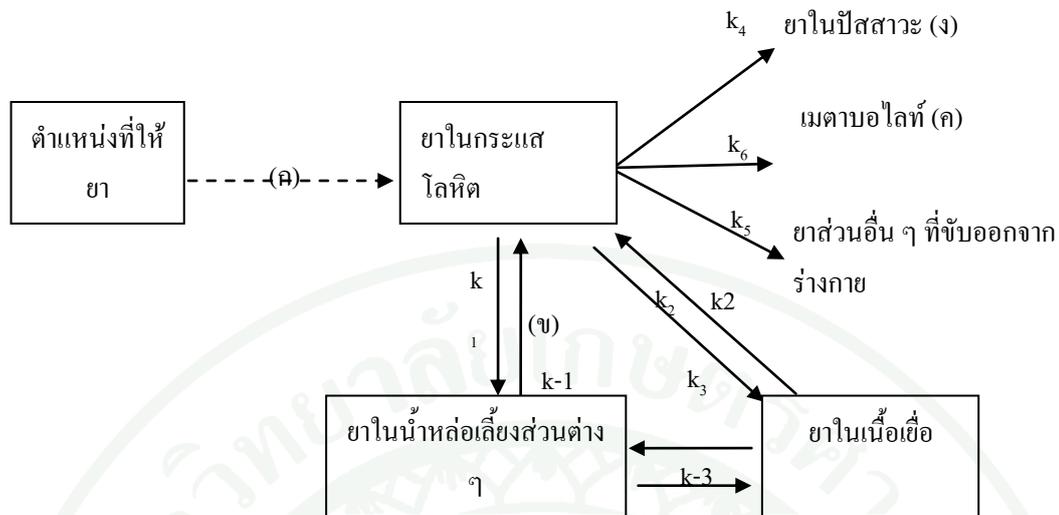
จากรายงานของ Julie *et al.* (2002) ได้อธิบายเกี่ยวกับการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิกในตะกอนดินที่อยู่ในบ่อ พบได้ว่าเมื่อให้อาหารที่ผสมกับยาออกซิเตตราไซคลิก 1.08 กิโลกรัม ต่อวัน ซึ่งในวันแรกที่มีการผสมยาให้อาหารนั้น ว่าในตะกอนดินนั้นมีการสะสมของยาออกซิเตตราไซคลิกถึง 710 ไมโครกรัม ต่อกรัม และมีการเพิ่มขึ้นโดยวันที่ 4 นั้น เพิ่มขึ้นจาก 710 ไมโครกรัม ต่อกรัม เป็น 2,060 ไมโครกรัม ต่อกรัม และปริมาณที่ตรวจพบจะลดลงหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน มีปริมาณยาลดลง 22 มิลลิกรัม ต่อกรัม และต่อมาในวันที่ 10 ลดลงเพิ่มอีก 4.8 มิลลิกรัม ต่อกรัม

การใช้ยาออกซิเตตราไซคลิกในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลนั้น Lightner (1977) ได้แนะนำวิธีการให้ยาสำหรับกุ้งทะเลคือ การฉีด และการผสมอาหาร ปริมาณที่ผสมอาหารเพื่อให้กุ้งทะเลเพื่อรักษาโรคที่ติดเชื้อจากแบคทีเรีย จะให้อัตรา 3-5 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม Corliss (1979) ได้ทำการศึกษาการใช้ยาออกซิเตตราไซคลิกในกุ้ง (*Penaeus setiferus*) ซึ่งปริมาณของยาออกซิเตตราไซคลิกที่เหมาะสมในการรักษาโรคอยู่ที่ 5 และ 10 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ Bayer and Daniel (1987) ได้แนะนำปริมาณของยาออกซิเตตราไซคลิกในการป้องกันโรค gaffkemia สาเหตุมาจากเชื้อ *Aerococcus viridians* ปริมาณที่เหมาะสมอยู่ที่ 2.2 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ลีลา (2534) ได้แนะนำว่าการใช้ยาปฏิชีวนะแต่ละครั้งนั้นควรให้ยาติดต่อกันนาน 5-7 วัน ถ้าให้ยาไม่ครบกำหนดจะทำให้การรักษาโรคนั้นไม่หายขาด

การศึกษาการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิกในเนื้อเยื่อ Leone *et al.* (1997) ศึกษาในกุ้ง *Penaeus stylirostris* ระยะ juvenile โดยให้ยาออกซิเตตราไซคลิกผสมอาหาร 1.5 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม หลังจากหยุดให้ยา 3 วัน พบปริมาณตกค้างในกล้ามเนื้อส่วนหาง 0.38 – 0.76 ไมโครกรัมต่อเนื้อเยื่อ 1 กรัม และหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน ไม่พบการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิกในเนื้อเยื่อ Corliss (1979) ได้ทำการศึกษาการตกค้างในเนื้อเยื่อ White shrimp โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณยาหลังจากหยุดให้ยาโดยวิธีการผสมอาหาร 1.0 และ 10.0 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ยาที่ผสมอาหาร 1.0 กรัม นั้นไม่สามารถตรวจพบได้

หลังจากหยุดให้ยา 3 วัน และยาที่ผสมอาหาร 10.0 กรัม ไม่สามารถตรวจพบได้หลังจากหยุดให้ยา 14 วัน Onkong *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลินในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์และบ่อดิน โดยปริมาณยาที่ผสมอาหาร 5 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม กินติดต่อกันเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่ามีการตกค้างของยาในเนื้อเยื่อกุ้งนาน 17 วัน ที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ และในบ่อดินยังพบว่างุ้งมีการตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้งที่ 14 วัน

ในการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลินนั้นอาจขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมและวิธีการให้ยาในการเลี้ยงด้วย สอดคล้องกับ Bayer and Daniel (1987) ได้ศึกษาหาปริมาณการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลินใน American lobster โดยให้ยา 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 10 วันพบว่า ปริมาณของยาที่ตกค้างเป็นระยะเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 15-19 องศาเซลเซียส และตกค้างนานถึง 28 วัน ที่อุณหภูมิ 14-15 องศาเซลเซียสกับ Limpoka *et al.* (1993) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิน ในกุ้งกุลาดำขนาด 30-40 กรัม โดยผสมอาหารในอัตรา 2.5 และ 5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม กินติดต่อกันเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่เลี้ยงภายในบ่อซีเมนต์ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส พบว่ามีการตกค้างนานถึง 4 และ 11 วัน อาสรา (2535) ได้ศึกษาการแพร่กระจายของยาออกซิเตตราไซคลิน โดยวิธีการให้ทางปากในอัตรา 40, 60 และ 80 กรัมต่อน้ำหนักกุ้งหนึ่งกิโลกรัม โดยน้ำหนักของกุ้งกุลาดำที่ทดลอง 8 กรัมที่ได้รับยาในอัตรา 40 และ 60 กรัม ต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม นั้นพบยาตกค้างเป็นระยะเวลา 15 วัน และในกุ้งที่มีน้ำหนัก 20 กรัม พบยาตกค้างมากที่สุดเป็นเวลา 43 วัน ในกล้ามเนื้อ ซึ่งการศึกษาพบว่ายาตกค้างตามเนื้อเยื่อ น้ำเลือด ตับและตับอ่อน มธูและคณะ (2547) ศึกษาปริมาณการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลินโดยการผสมอาหารและให้กิน อัตราที่ให้คือยา 2 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ให้กินติดต่อกันเป็นระยะเวลา 5 วัน หลังจากหยุดยา 5, 7, 10, 14 และ 21 วันนั้นยังพบว่าปริมาณการตกค้างของยาในกล้ามเนื้อเฉลี่ยอยู่ที่ 0.09 และ 0.02 พีพีเอ็ม ในวันที่ 5 และ 7 ภายหลังจากหยุดให้ยาตามลำดับ และตรวจไม่พบของปริมาณยาที่ตกค้างในกล้ามเนื้อในวันที่ 10, 14 และ 21 วันหลังจากหยุดยา



ภาพที่ 7 การเคลื่อนตัวของยา และการกำจัดยาออกจากร่างกาย (มาลิน, 2540)

กระบวนการหลังจากที่ยาเข้าสู่ร่างกายอธิบายได้จากแผนภูมิในภาพที่ 7 ยาที่มีการเคลื่อนตัวจากตำแหน่งยาที่เข้าสู่กระแสเลือด (ก) คือกระบวนการดูดของยา (ข) หลังจากนั้นยาจะผ่านกระบวนการกระจายตัวไปยังน้ำหล่อเลี้ยงร่างกายและเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ที่ยาไปออกฤทธิ์ (ค) ด้วยอัตราความเร็วโดยเฉพาะ ( $k_i$ ,  $i$  ความเร็วอีกอัตราหนึ่ง (ง) การกำจัดยาออกจากร่างกายอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของยาหรือมีการขับถ่ายออกจากร่างกายไปพร้อมกันด้วยอัตราความเร็วอีกอัตราหนึ่งเช่นเดียวกัน

ยาเมื่อเข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำมีการดูดซึมมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง เช่น ชนิดของยาหรือสารที่ให้ วิธีให้ยา ตลอดจนอัตราการซึมผ่านของยาเข้าสู่เยื่อชีวสารเพื่อเข้าสู่บริเวณที่ยาออกฤทธิ์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำด้วย การใช้ยาผสมอาหารให้สัตว์น้ำกินยานั้นสามารถละลายออกมาในน้ำได้ก่อนที่กุ้งจะกินอาหารนั้นเข้าไป (Inglis, 1991) และบางส่วนก็จะเหลืออยู่ที่บริเวณพื้นบ่อ ปลาไม่สามารถที่จะดูดซึมยาที่กินเข้าไปได้ทั้งหมดเนื่องจากยานั้นยังคงอยู่ในมูลของสัตว์น้ำชนิดนั้น ๆ สอดคล้องกับการศึกษา Samuelsen *et al.* (1994) และ Weston (1995) ยาถูกขับถ่ายออกมาพร้อมกับมูลถึง 60-85 เปอร์เซ็นต์ และจะไม่เปลี่ยนรูปแต่ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของยา สำหรับยาที่จดทะเบียนกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สหรัฐอเมริกา (USFDA) ในการรักษาโรคสัตว์น้ำได้แก่ ออกซิเตตราซัยคลิน และกลุ่มซัลฟาไคเมทที่ออกซินซึ่งมีคุณสมบัติและมีการศึกษาดังที่กล่าวไปแล้วในข้างต้น

## ปัญหาการใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์น้ำ

ปัจจุบันในประเทศไทยสามารถหาซื้อยาต้านจุลชีพได้ง่ายตามร้านขายยาหรืออาหารสัตว์ ซึ่งบางครั้งไม่จำเป็นต้องมีใบสั่งยาจากสัตวแพทย์ ทำให้ผู้เลี้ยงซื้อยามาใช้โดยไม่ค่อยคำนึงถึงการออกฤทธิ์ของยา และอันตรายของการใช้ยา บางครั้งอาจเลือกใช้ยาที่แพงที่สุด เนื่องจากคิดว่าจะได้ที่ดีที่สุด แต่ยาชนิดนั้นอาจจะก่อให้เกิดความเป็นพิษได้ ในส่วนของผู้เลี้ยงสัตว์น้ำควรจะมีการฝึกอบรมให้ความรู้ในเรื่องยาต้านจุลชีพ ซึ่งรวมถึงการออกฤทธิ์ หลักการใช้ วิธีการใช้ หรือควรปฏิบัติตามเอกสารกำกับยา จากที่กรมประมงออกให้ เพื่อไม่ให้ใช้เกินความจำเป็น นอกจากนี้ หากใช้เกินปริมาณที่กำหนด หรือว่าใช้เกินระยะเวลาอาจทำให้เกิดการดื้อยาค้างในเนื้อเยื่อ อาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้

### การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial susceptibility test)

การใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อรักษาโรคติดเชื้อนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับระดับของยาตรงบริเวณเนื้อเยื่อที่มีการติดเชื้อแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความไวของยาต่อเชื้อที่ต้านจุลชีพชนิดนั้น ความไวต่อยาของเชื้อแบคทีเรีย นั้น ตามที่ กมลชัย (2547) ได้กล่าวไว้ว่า สามารถทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพได้ 2 รูปแบบคือ dilution method และ diffusion method

#### 1. Dilution method

การทดสอบวิธีนี้จะทำให้ทราบถึงระดับของยาที่มีผลต่อเชื้อที่ทดสอบ ทำให้สามารถรู้และกำหนดขนาดของยาที่จะใช้ได้ โดยการทำละลายยาต้านจุลชีพแบบ two – fold dilution ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (broth) กำหนดปริมาณยาแล้วจึงใส่เชื้อแบคทีเรียที่คำนวณปริมาณเรียบร้อยแล้ว บางครั้งอาจจะเทียบกับค่า McFarland (กมลชัย, 2547) หรืออาจจะวัดโดยค่า O.D. ซึ่งการวัดรูปแบบนี้จำเป็นต้องทราบค่ามาตรฐานของเชื้อก่อนแล้ว จากนั้นนำไป shaking หรือนำไปใส่ตู้อบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 – 24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ โดยผลที่เกิดขึ้นค่าต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเรียกว่า Minimum Inhibitory Concentration หรือค่า MIC และผลที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้อีกเรียกว่าค่า MBC Minimum Bactericidal Concentration ในปัจจุบันมีการใช้วิธี dilution method เพื่อหาค่า MIC ของยา คือทำการเลี้ยงเชื้อ

แบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วทำการ shaking เป็นเวลา 12 – 24 ชั่วโมงจากนั้นนำมาตรวจเพื่อดูค่า MIC และค่า MBC

## 2. Diffusion method

การทดสอบวิธีนี้จะทำให้ทราบถึงว่ายาชนิดใดไวต่อเชื้อที่ทดสอบโดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์แล้ว (pure culture) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Agar) แล้วทำการวางกระดาษกรองวงกลมที่มียาต้านจุลชีพที่ต้องการทดสอบซึ่งรู้ถึงความเข้มข้นลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทำการอบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 12 – 24 ชั่วโมง โดยระยะเวลาขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ ปัจจุบันมีการประยุกต์วิธีนี้ในการใช้ทดสอบหาค่า MIC ของยาหรือเรียกว่า Etest ซึ่งเป็นแผ่นกระดาษที่มียาต้านจุลชีพที่ต้องการใช้ในการทดสอบโดยมีระดับความเข้มข้นต่าง ๆ อยู่ ซึ่งจะแตกต่างกับกระดาษกรองที่มียาต้านจุลชีพที่มีความเข้มข้นเดียวที่ใช้ในการทดสอบ จากนั้นวางแผ่น Etest ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปใส่ตู้อบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 12 – 24 ชั่วโมง โดยระยะเวลาขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่ใช้ทดสอบ

การใช้ยาต้านจุลชีพมีจุดประสงค์เพื่อรักษาหรือบำบัดโรคที่เกิดในสัตว์ โดยสอดคล้องกับปัจจุบันที่พบปัญหาในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยส่วนใหญ่แล้วเกิดจากแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ เชื้อรา ไวรัส และโพรโทซัวชนิดต่างๆ จึงจำเป็นที่จะต้องใช้อย่างหรือสารเคมีในการรักษาโรค และเนื่องจากการใช้สารโพรไบโอติกในการรักษาบางครั้งไม่เป็นผล การเลือกใช้อย่างและสารเคมีนั้นจึงเป็นที่นิยม และส่วนสำคัญของการรักษาโรค จำเป็นต้องเลือกยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาและมีความปลอดภัยต่อสัตว์ที่ใช้อย่าง และต้องคำนึงถึงปริมาณยาที่สามารถตกค้างในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์มาสู่ผู้บริโภค (เจนนุช, 2541)

การใช้ยาต้านจุลชีพและความล้มเหลวในการรักษาโรคในการผลิตสัตว์ จะกลายเป็นปัญหาใหญ่ที่จะเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมเกษตร โดยพบว่าปัญหาของการเกิดโรคนั้นไม่มีความแตกต่างกันในเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจากการรายงานในสภาพแวดล้อมของน้ำจืดและน้ำเค็ม จะมีความคล้ายคลึงกันของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (Miranda and Zemelman, 2001) โดยการใช้ยาต้าน - จุลชีพในสัตว์น้ำนั้นวิธีที่ให้อย่างแบบการผสมอาหาร การฉีด การละลายน้ำ หรือการให้อย่างเฉพาะที่นั้นเมื่อสัตว์ได้รับยาแล้วจะมีการดูดซึมของตัวยายเข้าสู่ระบบของร่างกาย โดยจะผ่านขบวนการเปลี่ยนแปลง เพื่อการออกฤทธิ์ของตัวยายโดยบางส่วนอาจถูกขับออกไปจากระบบ และอาจจะคงมี

บางส่วนซึ่งตกค้างอยู่ในระบบของร่างกายสัตว์ ซึ่งยาที่ตกค้างในร่างกายสัตว์นั้นอาจจะก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ เช่น โน้มนำไปให้เกิดโรคมะเร็ง ความผิดปกติของเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ เป็นต้น (เจนนุช และคณะ, 2547) ซึ่งระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นระบบอุตสาหกรรม โดยเร่งผลผลิตออกสู่ท้องตลาด และเพื่อตอบสนองต่อผู้บริโภคที่กำลังต้องการ ทำให้ผู้ผลิตส่วนใหญ่ไม่นำความสนใจต่อการจัดการที่ดี เมื่อเกิดปัญหาโรคระบาด ผู้ผลิตมักจะใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อยับยั้งหรือฆ่าเชื้อ อาจจะใช้โดยไม่คำนึงถึงปริมาณสารที่จะตกค้างในตัวสัตว์ที่อาจจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ด้วยเหตุนี้รัฐบาลของแต่ละประเทศจึงมีกฎหมายควบคุมชนิดของเภสัชเคมีภัณฑ์ ที่ใช้ในทางปศุสัตว์ และออกกฎหมายควบคุมปริมาณของเภสัชเคมีภัณฑ์ที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์ (Maximum Residues Limits, MRLs) ค่านี้หมายถึงปริมาณของสารตกค้างที่ให้มีได้ในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อการบริโภค โดยปริมาณที่พบนั้นจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยองค์การอนามัยโลกนั้นได้จัดตั้งหน่วยงาน The Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods (CCRVDF) โดยวางแนวทางป้องกันและแก้ไขปัญหาที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์ และได้ออกระเบียบมาควบคุมปริมาณปริมาณยาที่ตกค้าง และตั้งเป็นกฎข้อบังคับระหว่างประเทศในการซื้อขายผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อการบริโภค โดยค่านี้จะกำหนดแตกต่างกันตามชนิดของยาต้านจุลชีพนั้น ๆ โดยขึ้นอยู่กับความเป็นพิษจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคมากน้อยเพียงใด และเพื่อให้มั่นใจว่าการบริโภคสัตว์นั้น จะไม่เป็นอันตรายและมีความปลอดภัยต่อสุขภาพต่อผู้บริโภค (เจนนุช และคณะ, 2547)

วิธีการที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพความเข้มข้นของยาต่อเชื้อแบคทีเรีย ส่วนมากจะใช้วิธี disk diffusion test หรือ dilution susceptibility test และรู้จักกันในค่า MIC และ MBC สำหรับการหาค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ยาเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Uhland and Robert (2006) โดยการทดสอบค่า MIC เป็นวิธีการทดสอบปริมาณที่ต่ำที่สุดในการยับยั้ง และฆ่าเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลอง โดยได้จากการเจือจางยาให้มีความเข้มข้นต่างกัน ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มีอาหารผสมกับเชื้อแบคทีเรีย MBC คือปริมาณยาที่ต่ำที่สุดเมื่อนำมากระจายบนอาหารที่ไม่มียาต้านจุลชีพ แล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อนั้นสามารถเจริญเติบโตได้ Carson *et al.* (1995) ให้ความหมายของค่า MIC ว่า คือความเข้มข้นของยาที่ต่ำที่สุด ที่สามารถรักษาหรือลดลงของเชื้อแบคทีเรีย Davidson and Parish (1989) อธิบายว่าการกำหนดค่า MIC จะเกี่ยวข้องกับขั้นตอนการทดสอบกึ่งเชิงปริมาณ ความเข้มข้นต่ำที่สุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยที่ผ่านมาวิธีการทดลอง คือใช้หลอดทดลองที่มีอาหารและเชื้อผสมอยู่ด้วยกัน เพื่อทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ แต่ในปัจจุบันนี้เรา

สามารถนำค่าระดับความเข้มข้นของยา ที่พบความขุ่นหรือไม่พบความขุ่นมายืนยันว่าเชื้อนั้นสามารถ และไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และมากำหนดเป็นค่า MIC ได้ทันที (Chand *et al.*, 1994) อย่างไรก็ตามค่า MIC และ ค่า MBC จะทราบได้โดยถ้าการทดลองในหลอดทดลองเชื้อที่ไม่เจริญเติบโตนั้นจะไม่มี ความขุ่น และเชื้อที่ยังคงสามารถเจริญเติบโตได้นั้นจะมีความขุ่น โดยระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่พบก็คือค่า MIC และ MBC (Manouet *et al.*, 1998) กมลชัยได้รายงานว่าค่า MIC และค่า MBC จะให้ผลของระดับความเข้มข้นของยานั้นจะต่างกัน ไม่เกินสี่เท่า กล่าวคือถ้าค่า MIC เท่ากับ 2 พีพีเอ็ม ส่วนค่า MBC จะไม่เกิน 8 พีพีเอ็มเป็นต้น

### การดื้อยาต้านจุลชีพ

การดื้อยานั้นพบครั้งแรกในการใช้ยา Penicillin G และเป็นปัญหาที่สำคัญในวงการแพทย์และสัตว์แพทย์ เพราะเมื่อเชื้อแบคทีเรียที่เคยไวต่อยาต้านจุลชีพเกิดดื้อยาคิดนั้นขึ้นมาจะทำให้ยาคิดนั้นไม่ได้ผลดี จำเป็นจะต้องเลือกใช้ยาคิดอื่นมาแทนตัวที่ดื้อยาเพื่อให้ได้ผลที่ดีต่อเชื้อแบคทีเรียนั้น หรือบางครั้งจำเป็นต้องใช้ยาที่มีพิษเพิ่มมากขึ้นอีก จึงก่อให้เกิดปัญหาในการใช้ยาต้านจุลชีพ การดื้อยาจุลชีพของแบคทีเรียนั้นเป็นกระบวนการทางชีวเคมี (biochemical method) ที่เกิดขึ้นได้หลายกลไก โดยกมลชัย (2547) ได้อธิบายถึงสาเหตุของการดื้อยามีคือ แบคทีเรียมีการสร้างเอนไซม์ (enzyme production) เพื่อให้ยาหมดฤทธิ์ ได้แก่ เอนไซม์ penicillinase ที่ทำให้ยากลุ่ม penicilins หมดฤทธิ์ลงแล้ว การดื้อยายังเกิดจากลดการซึมผ่านผนังเซลล์ยา (decreased cell wall permeability) และแบคทีเรียยังคงสามารถลดการซึมผ่านของยาผ่านผนังเซลล์เข้าไปในตัวทำให้ปริมาณยาไม่เพียงพอที่จะมีผลต่อเชื้อ และการดื้อยาของแบคทีเรียนั้นจะไปเพิ่มในขบวนการนำยาออกจากเซลล์แบคทีเรีย โดยวิธี active transport และการเปลี่ยนแปลงตัว receptor ของยา (alteration of the drug receptor) ทำให้ยานั้นไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ เช่นเปลี่ยนแปลงความชอบ (affinity) ของ receptor ที่จับกับยาน้อยลง ตัวอย่างได้แก่ ยาในกลุ่มซัลฟาไคเม็ทที่ออกซิมิน ของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถใช้กรด folic acid ที่มีอยู่แล้วในการดำรงชีวิต โดยแบคทีเรียจะเพิ่มปริมาณ metabolite ที่จำเป็น (increase the concentration of a metabolite) พบได้ในการสร้าง p - aminobenzoic acid ปริมาณมากที่เกิดขึ้นภายในเชื้อแบคทีเรีย เพื่อลบล้างฤทธิ์ของยาซัลฟาไคเม็ทที่ออกซิมิน

## การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย

การดื้อยาสามารถเกิดขึ้นได้โดยมีการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดื้อยาแต่กำเนิดไว้เรียกว่า constitutive resistance ขณะที่ใช้ยาต้านจุลชีพเชื้อแบคทีเรียที่ไวต่อยาจะถูกทำลาย แต่เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยายังคงมีชีวิตอยู่และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ที่สามารถพบได้คือในเชื้อ *Staphylococcus* sp. ที่สร้างเอนไซม์ penicillinase (Chand *et al.*, 1994) ซึ่งแบคทีเรียนี้สามารถดื้อยาได้ในระดับพันธุกรรม (genetical resistance) แบ่งออกได้เป็นหลายรูปแบบ คือ การดื้อยาที่เกิดขึ้นเฉพาะเซลล์แบคทีเรียที่ดื้อยา โดยที่ไม่มีการถ่ายทอดไปให้เซลล์อื่นที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน การดื้อยาแบบนี้มักจะเกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของโครโมโซมที่ผิดปกติไป เนื่องจากจะมีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้น กลายพันธุ์ไปเป็นเชื้อที่ดื้อยา และรูปแบบการดื้อยาที่จัดว่าเป็นปัญหาที่สำคัญมากในวงการแพทย์และสัตวแพทย์ เพราะเป็นการดื้อยาที่สามารถถ่ายทอดไปสู่เซลล์อื่น ๆ ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกันได้ (transferable drug resistance) โดยส่งผลเกิดการดื้อยาอย่างแพร่หลาย โดยเชื้อที่ดื้อยาจะมีโครโมโซมพิเศษ (extrachromosomal elements) อยู่ใน cytoplasm ซึ่งเป็น DNA ที่มีลักษณะเป็นวงแหวนเรียกว่า plasmid หรือ R factors ส่วน plasmid นี้จะแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนมากขึ้นและถ่ายทอดไปยังเซลล์อื่น ๆ โดยวิธีที่เรียกว่า conjugation พบมากในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบพวก Enterobacteria โดยเซลล์ที่ดื้อยาจะเกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ plasmid จากนั้นจะสร้าง pilus เพื่อใช้เกาะกับเชื้อแบคทีเรียที่ไวต่อยานั้น และจะถ่ายทอด plasmid ที่สร้างขึ้นใหม่ ทำให้เชื้อแบคทีเรียที่เคยไวต่อยาเกิดการดื้อยาขึ้น วิธีต่อมาที่เรียกว่า transduction พบได้น้อยในเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เป็นการดื้อยาที่ต้องอาศัยพาหะ (vector) เกิดขึ้นเนื่องจาก bacteriophage ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสนำส่วน plasmid ผ่านจากเซลล์หนึ่ง ไปยังอีกเซลล์หนึ่ง ทำให้เซลล์แบคทีเรียที่ได้รับ plasmid เกิดอาการดื้อยาด้วย และวิธีสุดท้ายที่พบคือ transformation จะพบได้น้อยมาก เกิดขึ้นจาก plasmid จากเชื้อที่ดื้อยาซึ่งถูกปล่อยออกมาหลังจากเซลล์ที่ดื้อยาเกิดการย่อยสลายเข้า เข้าไปอยู่ในเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียที่ไวต่อยา (มาลิน, 2540; Robert and Micheal, 2002)

## สาเหตุการดื้อยา

การให้ยาขนาดรักษาไม่ถูกต้องซึ่งจะพบได้ทั่วไปในกรณีที่สัตว์น้ำยังไม่แสดงอาการป่วย แต่เกษตรกรต้องการใช้เพื่อไม่แน่ใจว่าสัตว์น้ำอาจจะป่วย โดยใช้ในปริมาณต่ำกว่า ที่แนะนำให้ใช้เพื่อรักษา และกำจัดแบคทีเรียได้ ถ้าระยะเวลาของการรักษาไม่ถูกต้องตามปกติการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาจะต้องมีระยะเวลานานเพียงพอที่จะทำให้ระดับของยาในกระแสเลือดอยู่ในระดับที่

สูงพอที่จะกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ แต่เมื่อเกษตรกรใช้ในช่วงเวลาที่สัตว์น้ำยังไม่แสดงอาการป่วยที่ชัดเจน และใช้ในระยะเวลาที่สั้นกว่าที่แนะนำให้ใช้ มักจะพบในกรณีที่มีสภาวะแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงเกษตรกรจำนวนมากจะใช้อย่างผิดวิธีเพื่อป้องกันสัตว์น้ำป่วย แต่จะใช้ในปริมาณที่ต่ำกว่าระดับที่แนะนำ และมีการใช้ยากันอย่างพร่ำเพ้อ (Siwaporn, 2007)

### การใช้ยาต้านจุลชีพร่วมกัน (Combination of antimicrobial drug)

ในปัจจุบันพบว่ามีการใช้ยาร่วมกันเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะถ้าเกิดใช้ยาตัวใดตัวหนึ่งไม่ได้ผล แต่การใช้ยาร่วมกันจะไม่ให้ผลที่ดีถ้าชนิดนั้นไม่การเสริมฤทธิ์กัน หรือไปหักล้างกันเอง ตามปกติแล้วเมื่อให้ยาร่วมกันเพื่อรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย ตามที่ Ahrens (1996) ได้อธิบายการใช้ยาร่วมกันมี 3 แบบคือ

1. Additive ฤทธิ์ของยาต่อเชื้อแบคทีเรียเท่ากับฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพทั้ง 2 ชนิดรวมกันแล้วผลที่ออกฤทธิ์มีค่าเท่ากับผลของยาเดี่ยว เช่นการใช้ยาในกลุ่มซัลฟาไคเมท์ทอกซินร่วมกับกลุ่มออกซิเตต้าซัยคลิน เนื่องจากยาในกลุ่มซัลฟาไคเมท์ทอกซินจะไปออกฤทธิ์ขณะการแบ่งตัวของแบคทีเรียส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโตส่งผลเข้าไปขัดขวางขบวนการออกซิเตตราซัยคลิน
2. Synergism ฤทธิ์ของยาต่อเชื้อแบคทีเรียจะมีมากกว่าฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพทั้ง 2 ชนิดรวมกันแล้วให้ผลดีกว่าใช้ยาเพียงตัวเดียว เช่นการใช้ยาซัลฟาไคเมท์ทอกซินร่วมกับไตรเมโทพริม และยาเพนนิซิลินร่วมกับสเตปโตมัยซิน ซึ่งจะเข้าไปช่วยในการยับยั้งแต่ละขั้นตอนที่ต่างกันในขณะที่แบคทีเรียกำลังแบ่งตัว
3. Antagonism ฤทธิ์ของยาต่อเชื้อแบคทีเรียจะน้อยกว่าฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพทั้ง 2 ชนิดรวมกันคือเมื่อให้ยาทั้ง 2 ชนิดรวมกันจะเข้าไปหักล้างกันหรือเป็นพิษที่เกิดจากการใช้ยาทั้งสองชนิดรวมกัน ได้แก่การใช้ยาในกลุ่ม bacteriostatic และ bactericidal

### วัตถุประสงค์ของการใช้ยาร่วมกัน

ยาต้านจุลชีพบางกลุ่มจะออกฤทธิ์เมื่อมีการใช้ร่วมกัน ในวงที่กว้างขึ้นกล่าวคือสามารถเข้าไปยับยั้งได้ในขบวนการหลายขั้นตอนเช่นยาในกลุ่มซัลฟาไโดเมททอกซินผสมกับไตรเมทโทพริม (Samuelson, 1997) โดยยาที่ใช้ร่วมกันสามารถรักษาอาการป่วยติดเชื้อรุนแรงและระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยบางครั้งยาที่ออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียร่วมกันจะมีจุดประสงค์เพื่อใช้รักษาอาการติดเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากหลายสายพันธุ์ และยังเข้าไปช่วยขัดขวางการติดยาของแบคทีเรีย ทำให้เชื้อแบคทีเรียเกิดอาการคือยาต้านจุลชีพได้ช้าลง และประโยชน์เพื่อให้ยาทั้งสองชนิดเสริมฤทธิ์กัน โดยไปลดความรุนแรงรวมทั้งโอกาสที่จะเกิดอาการเป็นพิษ และปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ของยาโดยที่เชื้อจะไวต่อยาทั้งสอง แต่ตัวยาอาจจะเป็นพิษ ซึ่งตัวยาอีกตัวหนึ่งจะช่วยลดอาการเป็นพิษแต่อีกตัวหนึ่งยังคงทำการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

### ตารางที่ 3 ฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ	เชื้อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์
Penicillin G	แกรมบวก (cocci) ยกเว้น <i>Staphylococcus</i> แกรมลบ (cocci) แกรมลบ บางชนิด ได้แก่ <i>C. diphtheria</i> และ Spirochaetes
Ampicillin	แกรมลบ (rod)
Streptomycin	แกรมบวก (cocci)
Tetracycline	แกรมลบ (cocci) และ (rod) แกรมบวก (cocci) และ (rod) ริกเก็ตเซีย Spirochaetes
Sulfanamides และ Sulfadimethoxine ร่วมกับ Trimethoprim	แกรมบวก (cocci) และ (rod) แกรมลบ (cocci) และ (rod)

ที่มา: ดัดแปลงจาก กมลชัย (2547)

## ประโยชน์ของการใช้ยาต้านจุลชีพเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์

การใช้ยาต้านจุลชีพ เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตทำให้เกิดประโยชน์ตามที่ Shryock (2000) สรุปได้ 2 ประการคือ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหาร (improve feed efficiency) และเพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิต (improve productivity) โดยทำให้สัตว์เจริญเติบโตรวดเร็วขึ้น ไม่ติดเชื้อโรคได้ง่าย กลายเป็นพ่อแม่พันธุ์ที่ดี และมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นก่อนการส่งแปรรูป ทำให้มีผลกำไรต่อเกษตรกรผู้เลี้ยง

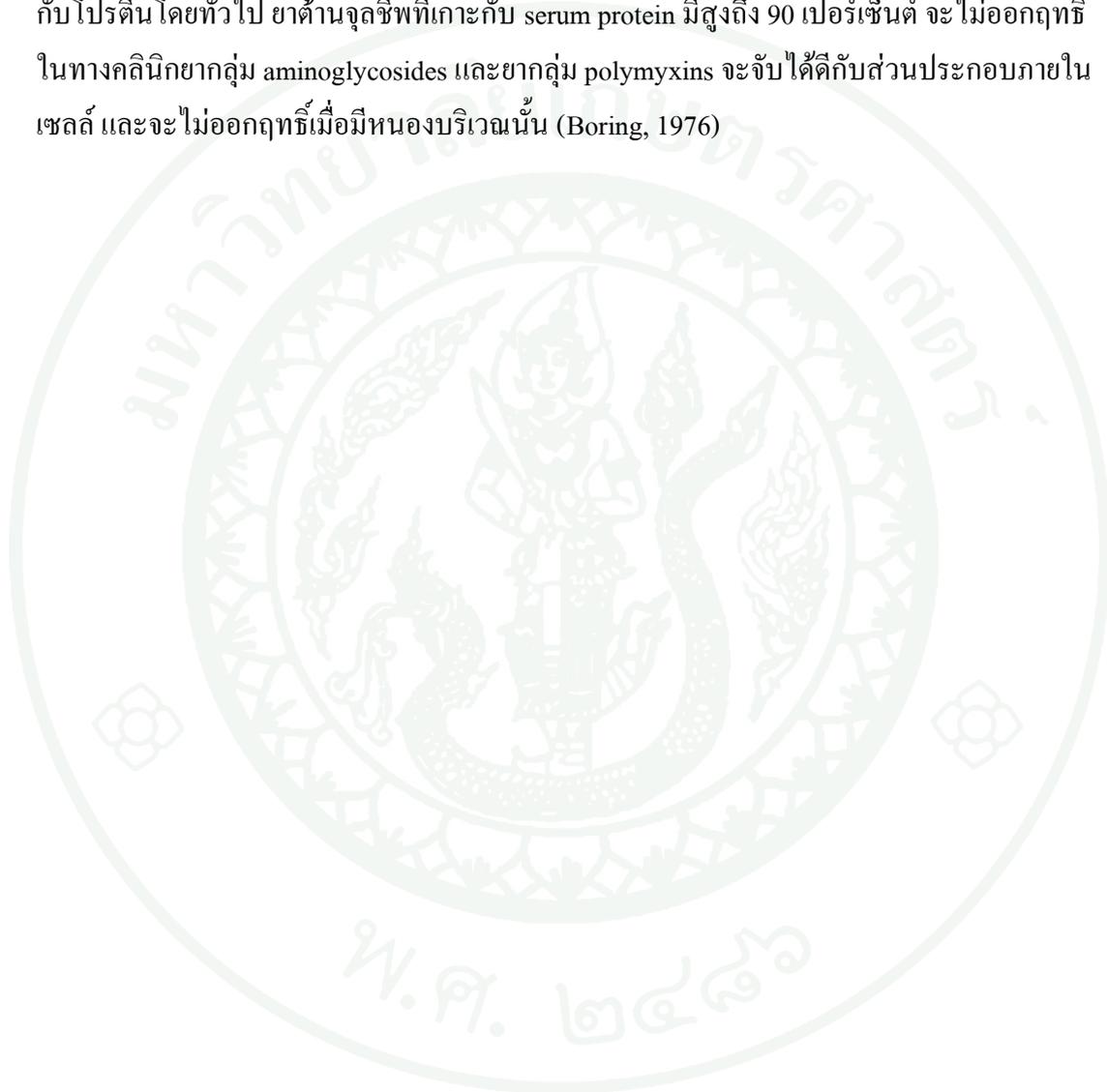
## ผลเสียของการใช้ยาต้านจุลชีพเป็นวัตถุเติมในอาหาร

การใช้ยาต้านจุลชีพเป็นวัตถุเติมในอาหารอาจจะมีผลดีในการช่วยเร่งการเจริญเติบโต ช่วยเพิ่มความแข็งแรง ลดการติดเชื้อและรักษาจากเชื้อโรค แต่ถ้าหากใช้โดยไม่ระมัดระวังอาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ได้ โดยปัญหาที่พบบ่อย ๆ ได้แก่ การตกค้างในเนื้อสัตว์ ซึ่งสาเหตุนี้อาจจะเกิดขึ้นจากไม่ได้หยุดยาตามระยะหยุดยาที่กำหนด หรือตามที่แนะนำไว้ในการประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดชื่อ ประเภท ชนิดหรือลักษณะของวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ที่ให้อใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์เพื่อขายตลอดจนอัตราส่วนหรือปริมาณที่ให้อใช้หรือห้ามมิให้อใช้วัตถุนั้นเกินกำหนด นอกจากนี้การตกค้างของยายังมีผลต่อการส่งออกของผลิตภัณฑ์ เพราะต่างประเทศที่เป็นตลาดสำคัญของประเทศไทยเช่น สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป (European Union) ญี่ปุ่น เป็นต้น ถ้าหากพบสารตกค้างจะไม่รับและตีกลับ พร้อมทั้งจะไม่สั่งซื้อผลิตภัณฑ์ จะทำให้เกษตรกรและประเทศขาดรายได้ และปัญหาการตกค้างอาจจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ และปัญหาในลำดับต่อมาคือการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย การใช้ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในขนาดต่ำเพื่อเร่งการเจริญเติบโตเป็นเวลานาน ๆ จะส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น *Salmonella*, *Campylobacter* และ *Enterococcus* โดยเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาจะมีการกระจายเพิ่มมากขึ้น จนอาจจะก่อให้เกิดปัญหาในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ทำให้ต้องเลือกซื้อยาที่มีราคาแพง และอาจจะส่งผลเป็นพิษสูงต่อสัตว์ โดยผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่อาจจะพบยาด้านจุลชีพบางชนิดที่ให้อใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต และการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจากการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย นอกจากนี้ อาจจะพบเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาปนเปื้อนออกมาในสิ่งแวดล้อมได้เช่นเดียวกัน (กมลชัย, 2547)

## ปัจจัยที่มีผลระดับของยาต่อเนื้อเยื่อสัตว์

ระดับยาที่ให้จะมีผลต่อเนื้อเยื่อของสัตว์ที่ได้รับยา ดังที่กล่าวมาในข้างต้นว่าควรจรรูระดับการหยุดยา และการที่ระดับยาในเนื้อเยื่อจะสูงหรือไม่สูงมีอิทธิพลมาจากขนาดยาที่ให้โดยขนาดยาที่ให้และระยะเวลาที่ยาจะให้จะมีผลต่อระดับของยาในเนื้อเยื่อ ขนาดยาที่ให้จะมีความสัมพันธ์กับเรื่องความเป็นพิษของยา กล่าวคือ ขนาดของยาที่ให้ต้องไม่มากเกินไปจนทำให้เกิดพิษ และทางด้านการระยะเวลาที่จะให้ยาจะให้ถูกกำหนดโดยค่าครึ่งชีวิตของยา (Ahrens, 1996) โดยระดับยาที่ให้จะให้จะต้องไม่เกินสองเท่าของค่าครึ่งชีวิตของยา แต่ถ้ามีการให้ยาซ้ำโดยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ หรือให้กินจะใช้ระยะเวลาในการตกค้างของยามากกว่า การให้ยาที่ระดับเลือด เช่นเดียวกันกับวิธีการให้ยา โดยสามารถให้ยาด้วยจุดชีพได้หลายวิธีการ เช่น ให้กิน ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ให้เฉพาะแห่ง เป็นต้น ซึ่งการให้ยาโดยวิธีการให้ยาในรูปแบบนี้จะมีผลต่อระดับในเนื้อเยื่อ เช่น การฉีดเข้าหลอดเลือดดำ โดยที่การฉีดเข้าหลอดเลือดดำทำให้มีระดับยาสูงสุดในซีรัมทันที แต่จะลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการแพร่กระจายของยา วิธีการให้ยาแบบนี้จะทำให้ยามีระดับสูงกว่าระดับยาที่ต่ำสุดที่ให้ผลในการรักษา (MIC) ต่อมาคือฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำทำให้มีระดับยาสูงสุดในซีรัมภายในเวลา 1-2 ชั่วโมงหลังจากการฉีดยา การให้ยาวิธีนี้จะให้ผลดีกว่าวิธีการให้ยาแบบชนิดอื่น ๆ แต่ยังสามารถให้ยาดำรับได้ออกฤทธิ์อย่างช้า ๆ ได้โดยไม่ต้องให้บ่อยและให้ซ้ำ (Edwards, 1980) โดยวิธีการให้ยาโดยการกินเป็นวิธีการที่ดี และได้ผลดีกับสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric) และลูกสัตว์เคี้ยวเอื้อง ต้องให้ยาบ่อยครั้งกว่าการฉีดเนื่องจากยากดูดซึมได้ไม่ดี จัดเป็นวิธีการที่ง่าย แต่จำเป็นจะต้องพิจารณาถึงคุณสมบัติในการดูดซึมยาด้วย เช่นยาด้านจุดชีพบางชนิดเช่น ampicillin, tetracycline และ lincomycin จะดูดซึมได้ไม่ดีเมื่อมีอาหารอยู่การให้ยาด้านจุดชีพผสมในน้ำ และยาบางชนิดเช่นยาในกลุ่ม penicillin G จะถูกทำลายโดยกรดในกระเพาะอาหาร (Boring, 1976) โดยแตกต่างกับการให้เฉพาะแห่ง ซึ่งการให้เฉพาะแห่งนั้นเป็นการให้ยาเพื่อรักษาตรงบริเวณที่ติดเชื้อ เช่นผิวหนัง การให้ยาในวิธีนี้มีข้อดีคือ ทำให้ยามีระดับสูงตรงบริเวณที่รักษาโดยไม่ทำให้เกิดเป็นพิษต่อร่างกาย ส่วนการให้ยาในระดับซีรัมนั้นต้องคำนึงถึงความเข้มข้นของยาในรูปอิสระ โดยยาในซีรัมจะแสดงถึงระดับของยาในเนื้อเยื่อทั้งนี้การซึมผ่านของยาเข้าไปในเนื้อเยื่อ จะมีการผ่านรูของผนังชั้นในของเลือดฝอย (Boring, 1976) สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือคุณสมบัติทางสรีระเคมีของยา โดยที่คุณสมบัติทางสรีระเคมีของยาจะมีผลต่อการแพร่กระจายของยา การซึมผ่านของยาเข้าไปในเนื้อเยื่อจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการแตกตัวเป็นไอออนของยา การละลายตัวในไขมัน น้ำหนักโมเลกุล และจำนวนของยาในรูปอิสระ ยาที่ละลายในไขมันและไม่แตกตัวเป็นไอออน เช่นยาในกลุ่ม choramphenicol จะแพร่กระจายได้ดี ทำให้ยามีระดับสูงใน

เนื้อเยื่อ และยากลุ่ม tetracycline จะมีค่ากึ่งชีวิตที่นาน ซึ่งส่วนใหญ่จะขับถ่ายออกทางตับ (Edwards, 1980) ในส่วนที่สำคัญที่สุดของการให้ยาคือกลไกการขับถ่ายยา กลไกนี้จะมีผลถึงระดับในอวัยวะที่ขับถ่ายยาออกมา ดังนั้นบางครั้งอาจพบระดับยาที่สูงในปัสสาวะ หรือน้ำดีถ้ายานั้นมีการขับถ่ายยาออกได้ดีขึ้นอยู่กับกลุ่มของยาเช่นยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน (Prescott, 1990) และการเกาะกับโปรตีนโดยทั่วไป ยาต้านจุลชีพที่เกาะกับ serum protein มีสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ จะไม่ออกฤทธิ์ในทางคลินิกยากลุ่ม aminoglycosides และยากลุ่ม polymyxins จะจับได้ดีกับส่วนประกอบภายในเซลล์ และจะไม่ออกฤทธิ์เมื่อมีหนองบริเวณนั้น (Boring, 1976)



## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราไซคลิน โดยหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentrations; MBC) แบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp.

ในการทดสอบประสิทธิภาพของยาครั้งนี้ใช้วิธี Antimicrobial Agar Dilution Susceptibility Tests (National Committee of Clinical Laboratory Standard, 2000)

### 1.1 การเตรียมสายละลายยาออกซิเตตราไซคลิน

ละลายยาออกซิเตตราไซคลิน (ความเข้มข้นของยาออกซิเตตราไซคลินที่ใช้ศึกษา เท่ากับ 100 %) ด้วย 0.1 N HCl โดยคำนวณจาก active standard ของยา โดยความเข้มข้นที่ได้เป็น stock solution ที่ 20 ส่วนในล้านส่วน (พีพีเอ็ม) และเก็บที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส และนำยามา คำนวณใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหาร Muller Hinton Broth (MHB) ผสมอยู่ และเจือจางยาให้ได้ ความเข้มข้น 6, 4, 3, 2, 1.5 และ 1 พีพีเอ็มตามลำดับ ดังภาพที่ 9

### 1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อ *Vibrio* spp. จากศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง การเตรียมเชื้อ *Vibrio* spp. 8 isolate ได้แก่ *V. mimicus* (ABRCVM 01), *V. cholera* non 01 (ABRCVC 01), *V. alginolyticus* (ABRCVA 01), *V. parahaemolyticus* (ABRCVP 01), *V. fulvialis* (ABRCVF 01), *V. fulvialis* (ABRCVF 02), *V. vulnificus* (ABRCVV 01), *V. vulnificus* (ABRCVV 02) ในอาหาร MHB ที่ผสม NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาปั่นแยกเซลล์ กับเครื่องหมุนเหวี่ยง (HERMLE รุ่น Z 300k) ที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที (rpm) นาน 20 นาที 4 องศาเซลเซียส และทำการล้างด้วยสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้ว 2 ครั้ง จากนั้นนำสารละลายเชื้อ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเตรียมเชื้อแบคทีเรียให้มีปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้น  $10^9$  CFU/มิลลิลิตร หลังจากนั้นเจือ

จางเชื้อแบคทีเรียด้วยสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ  $10^7$  CFU/มิลลิลิตร เพื่อนำไปทดสอบต่อไป ตามวิธีของ NCCLS (2000)

1.3 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ และฆ่าเชื้อไวรัสได้ (MIC) และ (MBC) ของยาออกซิเตตราไซคลิน ด้วยวิธี Broth dilution technique ดังภาพที่ 8

1.4 นำเชื้อที่เตรียมจากการทดลองในข้อที่ 1.2 ใส่ในหลอดทดลองที่เตรียมความเข้มข้นต่างๆ ของยาไว้แล้วในปริมาตร 25 ไมโครลิตรต่อหลอด นำมาเข้าเครื่องเขย่า (WiseShake® feedback Control Digital program Function รุ่น SHO-2D) เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดลองโดยดูจากความขุ่นของเชื้อ *Vibrio* spp. ถ้าอาหารในหลอดทดลองมีความขุ่นแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นั้นยังสามารถเจริญได้ และยาออกซิเตตราไซคลิน ไม่สามารถฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์นั้นได้ บันทึกค่าความเข้มข้นของยาในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส และยืนยันผลการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง ด้วยวิธี Agar technique โดยนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใสไม่มีความขุ่นไปกระจาย (spread) บนอาหาร TCBS agar เพื่อยืนยันการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย บันทึกผลการทดลอง

2. การทดสอบประสิทธิภาพของยาซัลฟาไดเมทท็อกซินร่วมกับไตรเมโทพริม (5:1) โดยหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) แบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp.

2.1 การเตรียมสารละลายยาซัลฟาไดเมทท็อกซิน และไตรเมโทพริม (5:1)

ละลายยาซัลฟาไดเมทท็อกซิน และไตรเมโทพริม ด้วย dimethylsulfoxide (DMSO) เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เตรียม stock solution ของยาที่ความเข้มข้น 400 พีพีเอ็ม เก็บที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดค่า pH ให้อยู่ระหว่างค่ากลางคือ 6.5 – 7.5 แล้วผสมยาลงในอาหาร MHB ที่ผสม NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 10 โดยให้มีความเข้มข้นของยาในช่วง 90 – 140 พีพีเอ็ม

## 2.2 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อ

นำเชื้อ *Vibrio* spp. จากศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง การเตรียมเชื้อ *Vibrio* spp. 8 isolate ได้แก่ *V. mimicus* (ABRCVM 01), *V. cholera* non 01 (ABRCVC 01), *V. alginolyticus* (ABRCVA 01), *V. parahaemolyticus* (ABRCVP 01), *V. fulvialis* (ABRCVF 01) , *V. fulvialis* (ABRCVF 02), *V. vulnificus* (ABRCVV 01) และ *V. vulnificus* (ABRCVV 02) ในอาหาร MHB ที่ผสม NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาปั่นแยกเซลล์กับเครื่องหมุนเหวี่ยง (HERMLE รุ่น Z 300k) ที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที (rpm) นาน 20 นาที 4 องศาเซลเซียส และทำการล้างด้วยสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง จากนั้นนำสารละลายเชื้อไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเตรียมเชื้อแบคทีเรียให้มีปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้น  $10^8$  CFU/มิลลิลิตร หลังจากนั้นเจือจางเชื้อแบคทีเรียด้วยสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ  $10^7$  CFU/มิลลิลิตร เพื่อนำไปทดสอบต่อไป ตามวิธีของ NCCLS (2000)

## 2.3 การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละ isolate

การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ และฆ่าเชื้อไวรัสได้ (MIC) และ(MBC) ของยาซัลฟา-ไดเมทที่ออกซิน และไตรเมทโทพริม (5:1) ด้วยวิธี broth dilution technique โดยนำเชื้อที่เตรียมจากการทดลองในข้อที่ 2.2 ใส่ในหลอดทดลองที่เตรียมความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาไว้แล้วในปริมาตร 25 ไมโครลิตรต่อหลอด นำมาเข้าเครื่องเขย่า (WiseShake® feedback Control Digital program Function รุ่น SHO-2D) เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ดังภาพที่ 12 ตรวจสอบผลการทดลองโดยดูจากความขุ่นของเชื้อ *Vibrio* spp. ถ้าอาหารในหลอดทดลองมีความขุ่น แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นั้นยังสามารถเจริญได้ และยาออกซิเตตราซัยคลิน ไม่สามารถฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์นั้นได้ บันทึกค่าความเข้มข้นของยาในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส และยืนยันผลการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง ด้วยวิธี Agar technique โดยนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใสไม่มีความขุ่นไปกระจาย (spread) บนอาหาร TCBS agar เพื่อยืนยันการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย บันทึกผลการทดลอง ดังภาพที่ 11 และ 13

### 3. การศึกษาการตกค้างของยาออกซิเตตราไซคลิน และซัลฟาไคเม็ททอกซีนร่วมกับไตรเมทโทพริม ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

นำกุ้งขาวแวนนาไมขนาดประมาณ 7 กรัมจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งเอกชนมาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 7 วัน

#### 3.1 การศึกษาออกซิเตตราไซคลิน

ใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 500 ลิตร จำนวน 27 ถัง เลี้ยงกุ้งจำนวน 60 ตัวต่อถัง แบ่งเป็นกลุ่มที่ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมยาออกซิเตตราไซคลิน 18 ถัง ส่วนบ่อควบคุม 9 ถัง ดังภาพที่ 14 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป 3 มื้อต่อวันแบ่งเป็นช่วงเช้า กลางวัน และเย็น โดยที่ในกลุ่มที่ผสมยาออกซิเตตราไซคลินแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 9 ถัง คือกลุ่มแรกมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำตามปกติและในกลุ่มที่สองคือมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนคือไม่ถ่ายตะกอนออก โดยใช้ยา 5 กรัม ต่ออาหารหนึ่ง กิโลกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วคลุกกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปให้ทั่ว ตากลมให้อาหารแห้ง แล้วใช้น้ำมันปลาหมักคลุกกับอาหารที่ตากลมแห้งแล้วเพื่อเคลือบให้ยาติดแน่นกับอาหารลดการสูญเสียจากการละลายน้ำเมื่อให้กุ้งกิน โดยให้กินติดต่อกันนาน 7 วัน

สุ่มเก็บตัวอย่างกุ้ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณยาตกค้าง หลังจากหยุดให้ยา

1, 5, 10, 15 และ 25 วัน จำนวนที่เก็บตัวอย่าง กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้ยาผสมอาหารถึงละ 1 ตัวอย่าง (จำนวนกุ้ง 9 ตัวต่อ 1 ตัวอย่าง) เก็บโดยใส่ถุงพลาสติกและแช่น้ำแข็งดังภาพที่ 15 และ 16 นำไปยังห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเก็บตัวอย่างกุ้งไว้ที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 17 จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณยาต่อไป ขั้นตอนการสกัดยาออกซิเตตราไซคลิน และการวิเคราะห์ปริมาณยาด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) แสดงไว้ในภาพผนวกที่ 1

### 3.2 การศึกษาปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริม

ใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 500 ลิตร จำนวน 27 ถัง เลี้ยงกุ้งจำนวน 60 ตัวต่อถัง แบ่งเป็นกลุ่มที่ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริม 18 ถัง ส่วนบ่อควบคุม 9 ถัง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป 3 มื้อต่อวันแบ่งเป็นช่วงเช้า กลางวัน และเย็น โดยที่ในกลุ่มที่ผสมยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริมแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำตามปกติ และในกลุ่มที่สองมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนคือไม่ถ่ายตะกอนออก โดยใช้ยา 5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วคลุกกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปให้ทั่ว ตากลมให้อาหารแห้ง แล้วใช้น้ำมันปลาห่อหุ้มคลุกกับอาหารที่ตากลมแห้งแล้วเพื่อเคลือบให้ยาคิดแน่นกับอาหารลดการสูญเสียจากการละลายน้ำเมื่อให้กุ้งกิน โดยกินติดต่อกันนาน 7 วัน การเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริมที่ตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเหมือนกับการศึกษาในหัวข้อการศึกษาออกซิเตตราไซคลิน แต่รายละเอียดขั้นตอนการสกัดยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริม แสดงการวิเคราะห์ปริมาณยาด้วยวิธี HPLC ไว้ในภาพผนวกที่ 2

#### สถานที่และระยะเวลาในการทำวิจัย

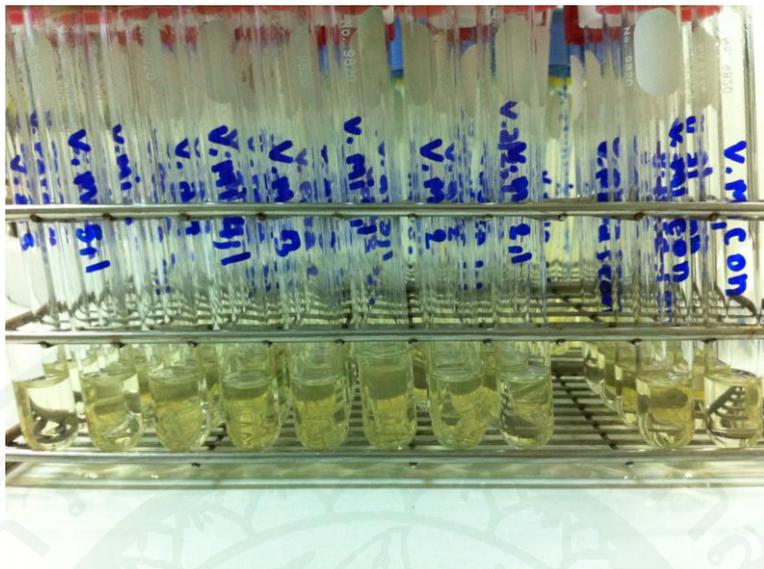
##### 1. สถานที่ทำการวิจัย

- อาคารปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง

##### 2. ระยะเวลาในการทำการวิจัย

ดำเนินการทดลองในระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2554

– มีนาคม พ.ศ. 2555



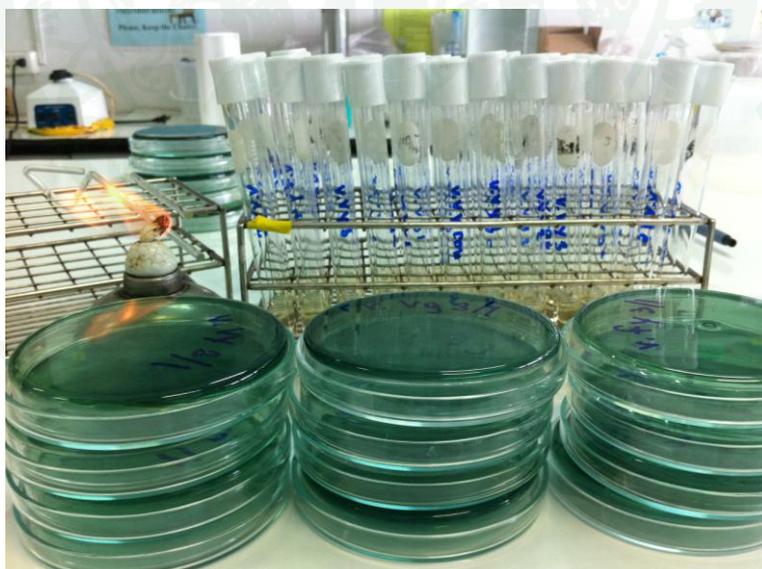
ภาพที่ 8 อาหารในหลอดทดลองก่อนหาค่า MIC และ MBC



ภาพที่ 9 stock ยาออกซิเตตราไซคลินและยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม



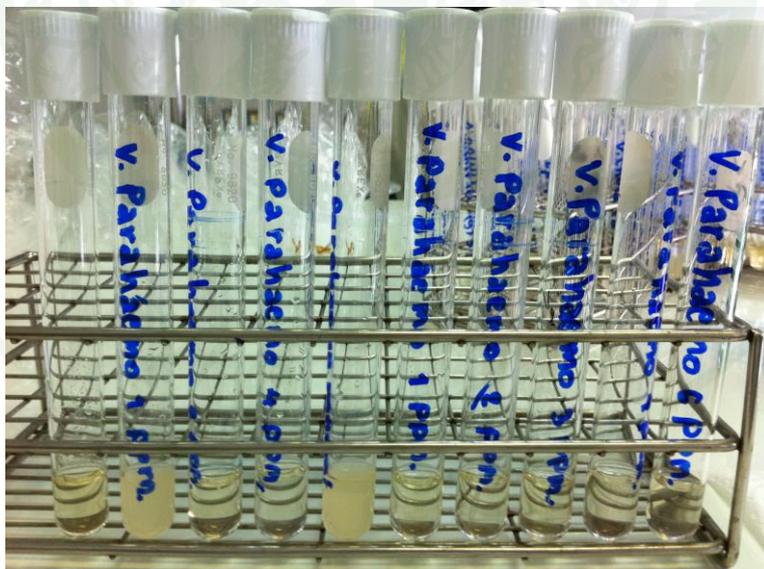
ภาพที่ 10 การเตรียมยาซัลฟาไดเมทาทอกซิน/ไตรเมทโทพริม



ภาพที่ 11 อาหาร TCBS เพื่อใช้ในการยืนยันผล MIC และ MBC



ภาพที่ 12 หลอดทดลองที่ใส่เชื้อ *Vibrio sp.* และยา เพื่อ shaking



ภาพที่ 13 ผลของยาออกซิเตอราซอกลิโนและ ยาซัลฟาไคเม็ททอกซีน/ไตรเมโทพริม



ภาพที่ 14 สถานที่ปฏิบัติการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม



ภาพที่ 15 การเก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมเพื่อรอไปวิเคราะห์ HPLC



ภาพที่ 16 ตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมที่สุ่มได้เพื่อวิเคราะห์ HPLC



ภาพที่ 17 ตู้แช่ - 80 องศาเซลเซียสสำหรับเก็บตัวอย่างกุ้งเพื่อวิเคราะห์

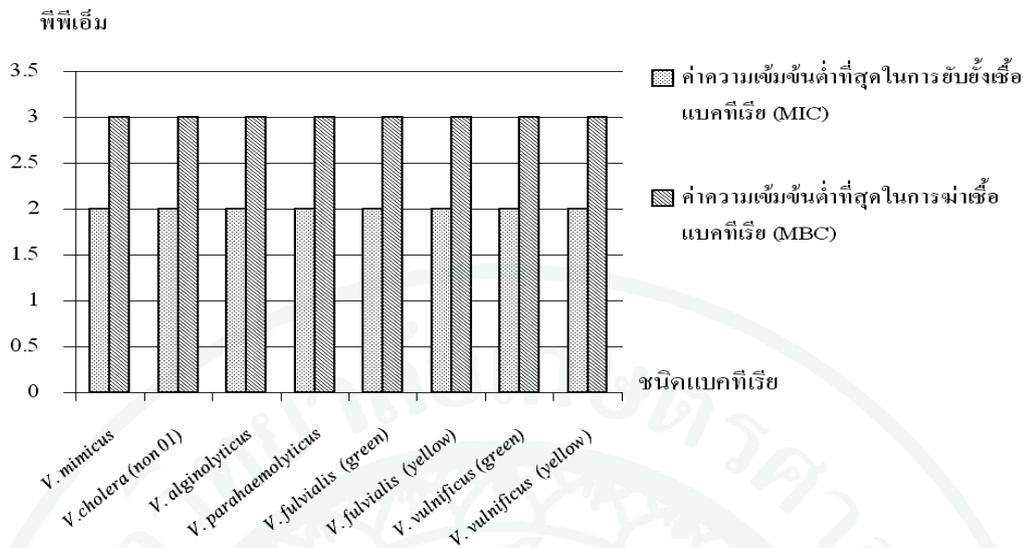
## ผลและวิจารณ์

การทดสอบประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราซัยคลิน และยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริมโดยหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (Minimum Inhibitory Concentrations; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimum Bactericidal Concentrations; MBC) แบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp.

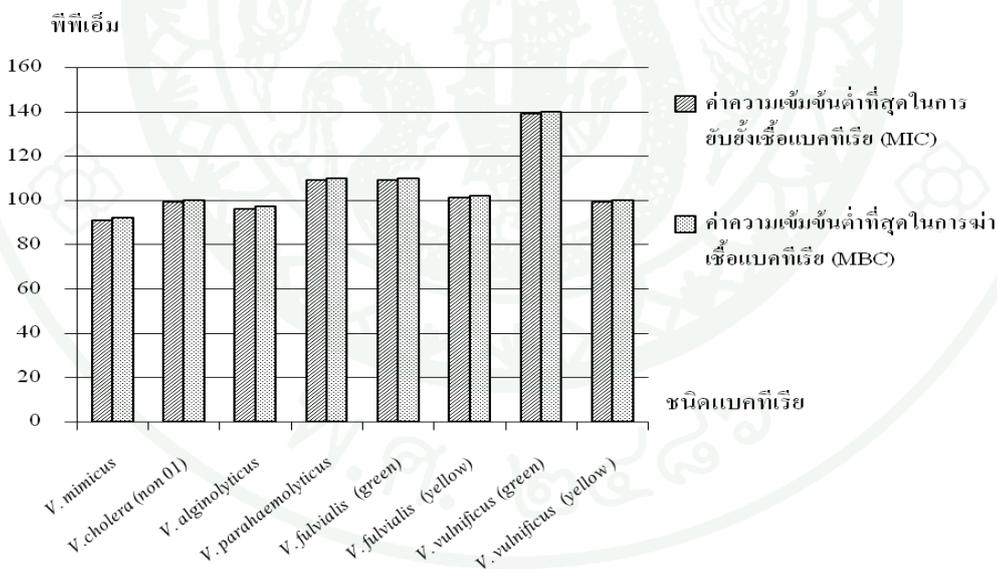
ผลจากการทดสอบความไวของเชื้อ *Vibrio* spp. ที่นำตัวอย่างเชื้อมาจากศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ต่อยาออกซิเตตราซัยคลิน และยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม แสดงค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) เท่ากับ 2 และ 3 พีพีเอ็ม และช่วง 91 – 139 และ 92 – 140 พีพีเอ็ม ตามลำดับ เมื่อทำการทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Broth โดยผลแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 18

**ตารางที่ 4** ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) และค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ของยาออกซิเตตราซัยคลิน และยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม

ชนิดแบคทีเรีย	ยาออกซิเตตราซัยคลิน (พีพีเอ็ม)		ยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ ไตรเมทโทพริม (พีพีเอ็ม)	
	ค่า MIC	ค่า MBC	ค่า MIC	ค่า MBC
<i>V. mimicus</i> (ABRCVM 01)	2	3	91	92
<i>V. cholera</i> (ABRCVC 01)	2	3	99	100
<i>V. alginolyticus</i> (ABRCVA01)	2	3	96	97
<i>V. parahaemolyticus</i> (ABRCVP 01)	2	3	109	110
<i>V. fulvialis</i> (ABRCVF 01)	2	3	109	110
<i>V. fulvialis</i> (ABRCVF 02)	2	3	101	102
<i>V. vulnificus</i> (ABRCVV 01)	2	3	139	140
<i>V. vulnificus</i> (ABRCVV 02)	2	3	99	100



ภาพที่ 18 ค่า MIC และ MBC ของยาออกซิเตตราไซคลินต่อแบคทีเรีย 8 isolate ที่แยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการโรคจีขาว



ภาพที่ 19 ค่า MIC และ MBC ของยาซัลฟาไดเมทท็อกซิน/ไตรเมทโทพริมต่อแบคทีเรีย 8 isolate ที่แยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการโรคจีขาว

จากการทดสอบประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราไซคลิน โดยความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้ง (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ในแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. โดยวิธี Broth dilution technique ทั้ง 8 สายพันธุ์ มีค่าเท่ากับ 2 และ 3 พีพีเอ็ม สอดคล้องกับการทดลองของ Uhlund and Robert (2006) รายงานว่ามีการใช้ยาออกซิเตตราไซคลินเพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas salmonicida* พบว่ามีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 1 พีพีเอ็ม และ 16 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการฆ่าแบคทีเรียที่พบในปลาแซลมอน และสำหรับในการศึกษาหาค่า MIC นั้นจะช่วยให้ทราบถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อที่ไวต่อยานั้น ๆ แต่ค่า MIC จะมีความแตกต่างกันค่อนข้างมากในการทดลองแต่ละครั้งทั้งนี้เชื้อแต่ละตัวอาจจะมีการสร้าง R-Plasmid (Ruangpan *et al.*, 1996) จากผลการศึกษาสอดคล้องกับ พรเลิศและคณะ (2538) พบว่าค่า MIC ของโรเมต-30 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. จำนวน 20 isolate มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5-2.0 พีพีเอ็ม และสอดคล้องกับพรเลิศ (2538) ที่แนะนำว่าควรใช้ยาออกซิเตตราไซคลินผสมกับอาหารเพื่อรักษาโรคติดเชื้อ *Vibrio* sp. ในกุ้งกุลาดำซึ่งเกษตรกรใช้ในอัตราส่วน 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของยาที่ได้ นั้นจะมีค่า MIC และ MBC เท่ากันในทุก isolate ซึ่งสอดคล้องกับ Alderman and Hastings (1988) รายงานว่าประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราไซคลิน ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.25 พีพีเอ็ม ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากปลาเรนโบว์เทราท์ โดยในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการทดลองในเชื้อที่แยกได้จาก กุ้งขาวแวนนาไมที่ป่วย ซึ่งสอดคล้องกับ Morten *et al.* (2003) ที่เป็นกุ้งในชนิดเดียวกันรายงานว่า ค่า MIC ของยาออกซิเตตราไซคลิน เท่ากับ 20 พีพีเอ็ม ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ซึ่งทำการทดลองในกุ้งชนิด *Litopenaeus setiferus* จากการศึกษาประสิทธิภาพของยารุ่นนี้สามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย (*Vibrio* spp.) จากกุ้งขาวแวนนาไมได้หลายชนิด ซึ่งสอดคล้องกับ ศุภชัย (2538) รายงานว่าได้ตรวจดินในบ่อที่เลี้ยงกุ้งพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ *V. harveyi* ตามด้วยเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* type I, *V. anguillarum*, *V. damsela* และ *V. cholera* รวมทั้งยังตรวจพบเชื้อ *Escherichia coli*, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. และ *Salmonella* spp. ด้วย โดยค่าของ Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ของ Oxolinic acid, Norfloxacin, Oxytetracycline, Chloramphenicol และ Kanamycin มีค่า 37.5, 75, > 100, 37.5 และ > 100 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ยาปฏิชีวนะในกลุ่มอื่นตัวอย่างเช่น ยาคลอแรมฟินิคอล จะมีความไวต่อเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากดิน น้ำ และ ตัวกุ้งมากกว่ายาในกลุ่มออกซิเตตราไซคลินเนื่องจากยาออกซิเตตราไซคลิน จะเสื่อมฤทธิ์เร็วกว่ายาคลอแรมฟินิคอลในน้ำทะเล แต่เนื่องจากปัจจุบันไม่มีการใช้ยาคลอแรมฟินิคอล ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเนื่องจาก คณะกรรมการอาหารและยาไม่อนุญาตให้ใช้ได้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์เพื่อ

การบริโภคน้ำ (สุวรรณ และคณะ, 2534; วารินทร์ และทวีชัย, 2539; สุวรรณ และ บริสุทธิ์, 2541) และจากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับ Ruangpan and Kitao (1992) รายงานว่า *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำมีค่า MIC ต่ำที่สุด ส่วน Miloxacin, Ciprofloxacin, Flumequine และ Oxolinic acid ค่าระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio* spp. ที่ความเข้มข้น 0.3-0.6 พีพีเอ็ม ส่วน Sulfamonomethoxine, FR1881, Cephalexin และ Streptomycin ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้

จากงานวิจัยข้างต้นพบว่ายาในกลุ่มออกซิเตตราซัยคลินนิยมใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยจะมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นสาเหตุหลักของโรค และพบว่ายาออกซิเตตราซัยคลินนั้นมีการใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกาหลังจากที่มีการศึกษาทดลองใช้ในสัตว์น้ำเป็นเวลากว่า 4 ปี และได้มีการขึ้นทะเบียนให้เป็นยาที่อนุญาตให้ใช้รักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียในสัตว์น้ำในสหรัฐอเมริกาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2513 เป็นต้นมาและพบว่ามีการอนุญาตให้ใช้ยาตัวนี้ในกลุ่มสหภาพยุโรป เนื่องจากประสิทธิภาพของยาสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างกว้างขวาง และมีความปลอดภัยต่อสัตว์น้ำ สิ่งแวดล้อม และผู้บริโภค จึงมีการแนะนำการใช้ยาดังกล่าวมาผสมอาหารให้สัตว์น้ำ โดยระดับยาที่ใช้สูงสุดคือ 4.5 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม (Bray *et al.*, 2004)

ประสิทธิภาพของ ยาซัลฟาไดเมทที่ออกซินร่วมกับ ไตรเมโทพริม ( 5:1) สำหรับยาชนิดนี้ มีค่า MIC อยู่ในช่วง 91– 139 พีพีเอ็ม และค่า MBC อยู่ในช่วง 92 - 140 พีพีเอ็ม ดังแสดงโดยผลแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 19 สอดคล้องกับการศึกษาของเจนนุช และคณะ (2547) พบว่ามีค่าเท่ากับ 80 – 304 พีพีเอ็ม และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับความเข้มข้นของยาซัลฟาไดเมทที่ออกซินกับไตรเมโทพริม ออกฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียสกุลเดียวกัน โดยแต่ละ isolate จะให้ค่า MIC และค่า MBC ที่แตกต่างกัน ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม และปัจจัยทางกายภาพของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งก็มีความสำคัญมากต่อการออกฤทธิ์ของยา และเมื่อนำมาผสมอาหารในปริมาณ 5 กรัมเพื่อศึกษาขนาดค้างอาจมีปริมาณไม่เท่ากันเนื่องจากเป็นปริมาณที่เกษตรกรใช้ และเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการอาจมีปัจจัยของอุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้องโดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของยาจะอยู่ที่ 25 และ 30 องศาเซลเซียส และความแตกต่างทางคุณสมบัติ เฉพาะตัวของแบคทีเรียแต่ละชนิดในการดูดซึมตัวยาก็มีส่วนด้วยเช่นกัน (Robert and Michael, 2002) นอกจากนี้การคือยายังเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้ค่า MIC และ MBC สูงขึ้นเช่นในการทดลองของ Bullock *et al.* (1974) รายงานว่าระดับของยาซัลฟาที่จะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อควรสูงกว่า 20 พีพีเอ็ม ในกรณีที่เชื้อเคยสัมผัสแล้วมีการพัฒนาตัวเองเพื่อต้านทานยาชนิดนั้น และจำเป็นต้องเพิ่มขนาดของยาสูงถึง 500

พีพีเอ็ม ถึงจะทำลายเชื้อได้ นอกจากนี้ยังมีการใช้ยาซัลฟาไคเม็ทที่ออกซินร่วมกับไตรเมทโทพริมในการรักษาโรค Vibriosis พบว่าระดับที่เหมาะสมมีค่า 3.44 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม (Wang *et al.*, 2004) จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราซัยคลินยังคงสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ตามข้อกำหนด แต่ยาซัลฟาไคเม็ทที่ออกซินผสมกับไตรเมทโทพริม นั้นประสิทธิภาพที่ได้ยังคงมีค่าที่แตกต่างกันอยู่อาจจะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น

## 2. การศึกษาการตกค้างของยาออกซิเตตราซัยคลินในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อในหอยนางรมในห้วงปฏิบัติการที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ และเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วน (ไม่นำตะกอนออก)

การศึกษาปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลิน ตกค้างในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อในหอยนางรมที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติคือนำตะกอนออก โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนคือไม่นำตะกอนออก พบว่ามีปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลิน ตกค้างในเนื้อเยื่อสูงสุดหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน ผลแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเมื่อเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนจะพบปริมาณการตกค้างของยามากกว่าถ่ายน้ำปกติ สอดคล้องกับการศึกษาของ เกศินี (2547) ที่พบตกค้างในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อดำที่เลี้ยงในบ่อ โดยอัตราการให้ยาอยู่ที่ 5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม พบยาตกค้างอยู่ปริมาณเฉลี่ยที่ 0.246 พีพีเอ็ม และจากการศึกษาหลังจากหยุดยาเป็นเวลา 5 วัน ยังพบว่ามียาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างสอดคล้องกับการศึกษาของ มธุ และคณะ (2547) พบว่ามีการตกค้างของยาออกซิเตตราซัยคลินในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อดำ หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน โดยอัตราการให้ยาอยู่ที่ 2 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม พบยาตกค้างอยู่ปริมาณเฉลี่ยที่ 0.090 พีพีเอ็ม โดยปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อดำในหอยนางรมหลังจากหยุดให้ยาเป็นเวลา 10 วัน เป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาของ Julie *et al.* (2001) รายงานว่าพบยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อเยื่อปลาเทราห์ หลังจากหยุดให้ยาเป็นเวลา 10 วัน โดยอัตราการให้ยาในปริมาณ 6.1 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม พบยาตกค้างอยู่ปริมาณเฉลี่ยที่ 0.330 พีพีเอ็ม ที่พบปริมาณน้อยกว่าเนื่องจากให้ยาเพียง 5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม และปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อดำในหอยนางรมหลังจากหยุดให้ยา เป็นเวลา 15 วัน ยังคงตรวจพบว่ามียาออกซิเตตราซัยคลินตกค้าง แต่พบว่ามีค่าตกค้างน้อยกว่า การศึกษาของ José *et al.* (1996) พบว่ามีการตกค้างของยาออกซิเตตราซัยคลินในเนื้อปลา *Sparus aurata* หลังจากหยุดให้ยา 14 วัน โดยอัตราการให้ยาในปริมาณ 7.5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม พบยาตกค้างอยู่ปริมาณเฉลี่ย 0.024 พีพีเอ็ม จากการศึกษาหลังจากหยุดให้ยาเป็นเวลา 25 วัน ยังพบว่ามียาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างสอดคล้องกับการศึกษาของ José *et al.* (1996) พบว่ามีการตกค้างของยาออกซิเตตราซัยคลินในเนื้อปลา *Sparus aurata* หลังจากหยุดให้ยา 21 วัน โดย

อัตราการใช้ยาในปริมาณ 7.5 กรัม ต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม พบยาตกค้างอยู่ปริมาณเฉลี่ย 0.004 พีพีเอ็ม ซึ่งการตกค้างของยาออกซิเตตราซัยคลินในเนื้อเยื่อของกึ่งกลางลำตัวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยา และระยะเวลาที่ได้รับ โดยถ้าได้รับยาในความเข้มข้นที่สูง และให้ติดต่อกันเป็นเวลานานก็ทำให้ปริมาณยาที่ตกค้างในเนื้อเยื่อมีปริมาณสูงขึ้น (ประพนธ์, 2535) เนื่องจากผลการศึกษาค้นคว้าพบว่าการที่ถ่ายน้ำเพียงบางส่วน และไม่ระบายตะกอนออกมีปริมาณการตกค้างของยามากกว่า ถ่ายน้ำ เป็นปกติโดยสอดคล้องกับสมมุติฐานที่ว่าพฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมนั้นจะมีการคุ้ยตะกอนหาอาหาร และมีการกินสิ่งขับถ่ายตัวเองกลับเข้าไปอีกครั้งหนึ่ง เมื่อเกษตรกรมีการให้ยาในการรักษาหรือป้องกันโรคอาจจะส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมนั้นมีปริมาณยาตกค้างอยู่ก่อนจับขาย และการศึกษาในครั้งนี้พบว่าหลังจากให้ยาออกซิเตตราซัยคลิน ผสมในอาหาร 5 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 7 วัน แต่ก็ยังพบปริมาณยาตกค้างในเนื้อเยื่อของกุ้งขาวแวนนาไมในปริมาณที่ 0.001 และ 0.005 พีพีเอ็ม ตามลำดับ โดยหลังจากหยุดให้ยาเป็นเวลา 21 วัน และยังคงพบปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินอยู่ซึ่ง กรมประมงกำหนดระยะเวลางดขายอย่างน้อย 21 วัน เป็นระยะปลอดยาก่อนการจับขายแต่ก็ยังคงตรวจพบปริมาณยาตกค้างอยู่ โดยที่ข้อกำหนดที่จะส่งออกกุ้งเพื่อการบริโภคไปขายยังประเทศญี่ปุ่นปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินต้องตกค้างไม่เกิน 0.2 พีพีเอ็ม (กรมประมง, 2554) แต่สำหรับประเทศสหรัฐอเมริกา หรือกลุ่มสหภาพยุโรป ถ้ามีการตรวจพบยาเพียงเล็กน้อยก็ไม่สามารถส่งออกจำหน่ายได้

### 3. การศึกษาการตกค้างของยาซัลฟาไดเมททอกซินร่วมกับไตรเมโทพริม ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

จากผลการศึกษาระดับปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซินร่วมกับไตรเมโทพริมตกค้างในเนื้อเยื่อของกุ้งขาวแวนนาไมจะแยกได้สองค่าคือปริมาณของยาซัลฟาไดเมททอกซิน และไตรเมโทพริม พบว่าเมื่อเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติคือในกลุ่มที่นำตะกอนออกมีการตกค้างของยาทั้งสองชนิดต่ำกว่า กลุ่มที่เปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนคือไม่นำตะกอนออก โดยหลังจากหยุดให้ยา 1 วันมีปริมาณการตกค้างของยาที่ 0.295, 0.005 และ 0.109, 0.004 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ซึ่งพบสูงสุดในวันแรก แล้วหลังจากนั้นค่อยลดปริมาณลงมาตามลำดับผลแสดงในตารางที่ 6 โดยค่าการตกค้างนั้นที่ได้้น้อยกว่าการศึกษาของ Kazuaki *et al.* (1993) ได้รายงานว่ามีการใช้ยาซัลฟาไดเมททอกซินและซัลฟาไดเมททอกโซลในปลาเรนโบว์เทราท์ ผสมอาหารเม็ดสำเร็จรูปปริมาณ 300 และ 200 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ตามลำดับให้โดยการป้อนติดต่อกันเป็นเวลา 1 วัน หลังจากหยุดให้ 2 วัน พบปริมาณยาตกค้างในกล้ามเนื้อที่ 2.95 พีพีเอ็ม จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC จากการศึกษาในครั้งนี้

ปริมาณยาตกค้างในกล้ามเนื้อน้อยกว่าอาจเกิดจากการให้ปริมาณยาที่น้อยกว่าเนื่องจาก สภาพการทดลองที่แตกต่างกันในการทดลองกับปลาเรนโบว์เทราท์ อุณหภูมิของน้ำจะต่ำกว่าในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งมีอุณหภูมิของน้ำประมาณ  $29 \pm 1$  องศาเซลเซียส การตกค้างในตัวกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งอยู่ในระดับต่ำกว่า เพราะกุ้งและปลาเป็นสัตว์เลือดเย็น อุณหภูมิของน้ำที่ต่ำการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายจะต่ำกว่าที่น้ำมีอุณหภูมิสูงกว่า

การศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับ Limpoka (2006) รายงานว่ามีการใช้ยาซัลฟาไคเม็ททอกซิน/ไตรเมทโทพริม ปริมาณยาอยู่ที่ 100 ไมโครกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม โดยที่ในกุ้งกุลาดำให้ยาโดยการฉีด ส่วนกุ้งขาวให้ยาโดยวิธีป้อนอาหารผสมยา ให้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 5 วัน วิเคราะห์สารตกค้างของยาด้วยวิธี HPLC ผลการทดลองพบว่า เมื่อให้ยาซัลฟาไคเม็ททอกซินร่วมกับไตรเมทโทพริมในกุ้งขาวมีการดูดซึมได้ดี แต่ขับถ่ายออกช้าหลังจากป้อนยา และตรวจไม่พบปริมาณการตกค้างหลังจากหยุดให้ยาผสมอาหารเป็นเวลา 28 - 42 วัน ซึ่งได้สอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ที่ยังคงพบระดับยาตกค้างที่ 0.0549 พีพีเอ็ม หลังจากหยุดให้ยาเป็นเวลา 25 วันซึ่งมีค่าตกค้างในปริมาณที่เท่ากับ การศึกษาในครั้งนี้ โดยที่ข้อกำหนดที่จะส่งออกกุ้งเพื่อการบริโภคไปขายยังกลุ่มประเทศยุโรป (EU) ปริมาณยาซัลฟาไคเม็ททอกซินและไตรเมทโทพริมต้องตกค้างรวมไม่เกิน 0.1 พีพีเอ็ม (กรมประมง, 2554)

ตารางที่ 5 ผลวิเคราะห์ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม โดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 1 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)		ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 5 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)	
	ตัวอย่าง		ตัวอย่าง
OTC 1	0.114	OTC 1	0.014
OTC 2	0.037	OTC 2	0.004
ควบคุม	ตรวจไม่พบ	ควบคุม	ตรวจไม่พบ

ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 10 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)		ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 15 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)		ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 25 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)	
	ตัวอย่าง		ตัวอย่าง		ตัวอย่าง
OTC 1	0.009	OTC 1	0.008	OTC 1	0.005
OTC 2	0.004	OTC 2	0.003	OTC 2	0.001
ควบคุม	ตรวจไม่พบ	ควบคุม	ตรวจไม่พบ	ควบคุม	ตรวจไม่พบ

หมายเหตุ OTC 1 = บ่อที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วน (ไม่ถ่ายตะกอนออก), OTC 2 = บ่อที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ (ถ่ายตะกอนออก)

**ตารางที่ 6** ผลวิเคราะห์ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซิน/ไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม โดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซิน/ไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 1 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)		ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซิน/ไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาว แวนนาไมหลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 5 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)			
	ตัวอย่าง		ตัวอย่าง		
SDM/TMP 1	0.295/0.005	SDM/TMP 1	0.077/0.003		
SDM/TMP 2	0.109/0.004	SDM/TMP 2	0.083/0.004		
ควบคุม	ตรวจไม่พบ	ควบคุม	ตรวจไม่พบ		
ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซิน/ไตรเมทโทพริมตกค้าง ในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากหยุดให้อาหาร ผสมยา 10 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)		ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซิน/ไตรเมทโทพริมตกค้าง ในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 15 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)		ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซิน/ไตรเมทโทพริมตกค้างใน เนื้อกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากหยุดให้อาหาร ผสมยา 25 วัน (หน่วย: พีพีเอ็ม)	
	ตัวอย่าง		ตัวอย่าง		ตัวอย่าง
SDM/TMP 1	0.081/0.003	SDM/TMP 1	0.042/0.002	SDM/TMP 1	0.045/0.002
SDM/TMP 2	0.067/0.003	SDM/TMP 2	0.074/0.002	SDM/TMP 2	0.054/0.002
ควบคุม	ตรวจไม่พบ	ควบคุม	ตรวจไม่พบ	ควบคุม	ตรวจไม่พบ

หมายเหตุ SDM/TMP 1 = บ่อที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วน (ไม่ถ่ายตะกอนออก), SDM/TMP 2 = บ่อที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ (ถ่ายตะกอนออก)

## สรุปผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพของยาออกซิเตตราซัยคลิน ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จาก กุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการเป็นโรคมะเร็งมีค่าเท่ากับ 2 และ 3 พีพีเอ็ม ตามลำดับ
2. ประสิทธิภาพของยาซัลฟาไดเมทท็อกซินร่วมกับไตรเมทโทพริม (5:1) ในการยับยั้งและ ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งขาวแวนนาไมที่มีอาการเป็น โรคมะเร็งมีค่าเท่ากับ 91 – 139 และ 92 – 140 พีพีเอ็ม ตามลำดับ
3. ยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากหยุดให้ยานาน 25 วัน กลุ่มการทดลองที่เปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วน (ไม่นำตะกอนและมูลกุ้งออก) และกลุ่มการทดลองที่ มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติ พบปริมาณระดับยาตกค้างที่ 0.005 และ 0.001 พีพีเอ็ม ตามลำดับ
4. การศึกษาปริมาณยาซัลฟาไดเมทท็อกซินร่วมกับไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้งขาว แวนนาไมที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปกติคือนำตะกอนออกมีปริมาณยาตกค้าง 0.045 และ 0.003 ส่วน กลุ่มที่เปลี่ยนถ่ายน้ำเพียงบางส่วนคือไม่นำตะกอนออก พบว่าปริมาณยาซัลฟาไดเมทท็อกซินร่วม กับไตรเมทโทพริมตกค้างสูงสุดหลังจากหยุดให้อาหารผสมยา 25 วัน มีปริมาณยาตกค้างที่ 0.054 และ 0.002 พีพีเอ็มตามลำดับ

## ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษา การตกค้างของยาปฏิชีวนะในกึ่งขาวแวนนาไม จากบ่อเลี้ยงทั้งบ่อดิน และบ่อที่ปูด้วยโพลีเอททิลีน ทั้งบ่อซึ่งอาจจะให้ผลแตกต่างกับการศึกษาในห้องปฏิบัติการ



## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมประมง. 2554. ประกาศ ระเบียบ/หลักเกณฑ์ เกี่ยวกับการตรวจรับรองและส่งออกปี 2554.  
แหล่งที่มา: [http://www.fisheries.go.th/fish/web1/link\\_section.htm](http://www.fisheries.go.th/fish/web1/link_section.htm) , 21 ธันวาคม 2554.
- กมลชัย ตรวงานิชนาม. 2547. การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์ พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ ฯ.
- เกศินี หลายสุทธิสาร. 2547. ผลของยาออกซิเตตราซัยคลิน และ ซัลฟาไดเมททอกซินไตรเมโท -  
พริมต่อการยับยั้งแบคทีเรียในเลือด และการตกค้างของยาในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ.  
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เจนนุช ว่องรัชชัย. 2541. การควบคุมยาสัตว์: กฎระเบียบข้อบังคับขององค์การค้าโลก วารสาร  
สถาบันอาหาร 1: 32 – 35.
- เจนนุช ว่องรัชชัย, ลีลา เรืองแป้น, ญาณิน ลิมปานนท์ และ นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์. 2547. การ  
ใช้ยาต้านจุลชีพชนิด Sulfonamide และ Trimethoprim ในกุ้งขาว, น. 164 -222. ใน  
รายงานฉบับสมบูรณ์ การวิจัยเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมกุ้งเพื่อการส่งออกอย่างยั่งยืน.
- ชลอ ลឹมสุวรรณ, 2528. โรคปลา. ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ชลอ ลឹมสุวรรณ. 2543. กุ้งไทย 2000 สู่อุตสาหกรรมและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม. โรงพิมพ์เจริญรัฐ  
การพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- ชลอ ลឹมสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกุล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.  
สนับสนุนการจัดการพิมพ์โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อเฉลิมพระเกียรติ  
พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชเนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิม  
พระชนมพรรษา 5 ธันวาคม พ.ศ. 2547. บริษัทเมจิก พับบลิเคชันจำกัด.

ชลอ ลิมสุวรรณ, นิตี ชูเชิด, สุธี วงศ์มณีประทีป, สาธิต ประเสริฐศรี, เกศินี หลายสุทธิสาร, ปัทมา วิริยพัฒนทรัพย์, จริยวดี สุริยพันธุ์ และ แก้วตา ลิมแสง. 2552. ผลของอุณหภูมิต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). น. 337-345 ใน **ประชุมวิชาการครั้งที่ 47 (สาขาประมง) 17-20 มีนาคม 2552.**

ทมยันต์ พฤษะรัตานนท์. 2530. ยาด้านจุลชีพ, น. 101 – 105. ใน **โรคกุ้งทะเลและการใช้สารเคมีภัณฑ์.** เอกสารประกอบการสัมมนาและการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ครั้งที่ 1. คณะประมง.

ประพนธ์ รักถิ่นเจริญศักดิ์. 2535. การตกค้างและผลของยาปฏิชีวนะชนิดออกซิเตตราไซคลินต่อการเจริญเติบโต และโรคในกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ปิยนุช พรหมภร. 2550. โรคสำคัญในการเลี้ยงกุ้งขาวแปซิฟิกในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรเลิศ จันทร์ชชชกุล. 2538. การใช้ยาและสารเคมีบางชนิดในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสาร **ข่าวโรคสัตว์น้ำ** 5: 14-16 น.

พรเลิศ จันทร์ชชชกุล, เจดिया โรจนศิริ, ชลอ ลิมสุวรรณ, K. Kurmaly และ G.F. Ci. 2538. ประสิทธิภาพของโรเมต-30 ในการป้องกันโรคในกุ้งกุลาดำ, น. 584 – 589. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการประจำปี 2538.** กรมประมง. กรุงเทพฯ.

มธุ บำรุงคุณากรณ์, พจนานพร กริชติทายาวุธ, พัลลภา ว่องเศรษฐชัย, ศิรินทร หยิบโชคอนันต์ และ เจนนุช ว่องรัชชัย. 2547. ปริมาณยาออกซิเตตราไซคลินที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กล้ามเนื้อ ตับ และตับอ่อนของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยการผสมยาลงในอาหาร. **เวชสารสัตวแพทย์** 34(2): 82-92.

มณฑกานต์ สมบูรณ์. 2552. ผลของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ชนิดต่าง ๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย *Vibrio* spp.) และคุณภาพน้ำในการอนุบาลลูกกุ้ง และการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มาลินี จุลศิริ. 2540. **ยาต้านจุลชีพ ความรู้พื้นฐานและการประยุกต์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์  
สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน.

มาลินี ลิ้มโกคา, พิบูล ไชยอนันต์, ฐิตยา แซ่ปึง, จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และ ดวงดาว วงศ์สมมาตร.  
2532. การศึกษาต้านจุลชีพและการตกค้างของยาในกึ่งกลาดำ, น. 37. ใน **รายงาน  
ผลการวิจัย. คณะสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.**

รัตติยากร อินทุโส. 2549. **การศึกษาสาเหตุการเกิดอาการไข้ในกึ่งกลาดำที่เลี้ยงด้วยน้ำความเค็ม  
ต่ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

ลิลลา เรืองแป้น. 2543. **วิธีการใช้ยาในการเพาะเลี้ยงกึ่งอย่างมีประสิทธิภาพ. วารสารการประมง 44  
(1): 27 – 29.**

\_\_\_\_\_, วารินทร์ ธนาสมหวัง และ กุลวรา แสงรุ่งเรือง. 2540ก. **แบคทีเรียในกึ่งกลาดำที่เลี้ยง  
ในบ่อระบบพัฒนา. วารสารสัตว์น้ำ 8 (91): 141 – 148.**

\_\_\_\_\_, วารินทร์ ธนาสมหวัง และ กุลวรา แสงรุ่งเรือง. 2540ข. **แบคทีเรียในกึ่งกลาดำที่เลี้ยง  
ในระบบพัฒนา, น. 3 – 10 ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่  
35, 3 – 5 กุมภาพันธ์ 2540.**

\_\_\_\_\_, วารินทร์ ธนาสมหวัง และ กุลวรา แสงรุ่งเรือง. 2540ค. **ความรู้เกี่ยวกับแบคทีเรีย  
และโรคกึ่ง, น. 91 – 96. ใน สุขชัย นิลวานิช (ผู้รวบรวม). กึ่งกลาดำทางเลือก ข ทางรอด  
สำนักพิมพ์มติชน, กรุงเทพฯ.**

วารินทร์ ธนาสมหวัง และ ทวีชัย สุไพรวณิชย์. 2539. **ความไวของแบคทีเรียที่แยกจากลูกกึ่งกลาดำ  
น้ำ และอาหารต่อสารต้านจุลชีพ 9 ชนิด. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 12/2539. ศูนย์พัฒนาการ  
เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สมุทรสาคร. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 14 น.**

ศุภชัย ประพัศพร. 2538. แบคทีเรียในดินบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำและการติดเชื้อ *Vibrio spp.* ต่อยาต้านจุลชีพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 74 น.

สถาพร ดิเรกบุษราคม และ อุษณีย์ เอกปนิธานพงศ์. 2535. การศึกษาเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่แยกจากโรคตัวแดงในกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 2/2535. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 9 น.

สุวรรณา เบญจธรรมนนท์, พิภูล จิรวาณิชไพศาล, พรเลิศ จันทร์รัชชกุล และ ชลอม ลิ้มสุวรรณ. 2534. การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของยาออกซิเตตราไซคลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดจากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค. น. 479 - 485. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29, 4-5 กุมภาพันธ์ 2534.

สุวรรณา วรสิงห์ และ บริสุทธิ์ คำรักษ์. 2541. ความไวต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียจากแม่น้ำจันทบุรี น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งและกุ้งกุลาดำที่เป็นโรคในจังหวัดจันทบุรี. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 16/2541. สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดตราด. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 20 น.

หน่วยวิจัยเพื่อความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพกุ้ง. 2547. รายงานสรุปผลการดำเนินงานโครงการฉบับสมบูรณ์ โครงการประเมินผลกระทบการนำกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) เข้าประเทศไทย. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อาสรา ใจเย็น. 2535. การศึกษาการแพร่กระจายของออกซิเตตราไซคลินในกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Alday de Graindorge, V. and T.W. Flegel. 1999. **Diagnosis of Shrimp Diseases with Emphasis on the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*).** 1<sup>st</sup> Edn., Multimedia Asia Co. Ltd., Bangkok, Thailand.

- Alderman, D.J. and T.S. Hastings. 1998. Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance – potential for consumer health risks. **Int Food Sci Technol** 33: 139 - 155.
- Anderson, I.G., M.N. Shamsudin and M. Shariff. 1988. Bacterial septicemia in juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*, cultured in Malaysian brackish water ponds. **Asian Fish Sci.** : 93 – 198.
- Ahrens, F.A. 1996. Antimicrobial drugs. p. 207 – 228. *In* F.A. Ahrens. **Pharmacology**. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. **Control of Bacterial Fish Disease**. Eills Horwood, Chicester.
- Baticados, M.C.L., C.L. Pitogo. 1990. Chlorination of seawater used for shrimp culture. **Israeli J Aquacult – Bamidgeh**. 42:128-130.
- Bayer, J.R. and P.C. Daniel. 1987. Safety and efficacy of oxytetracycline for control of gaffkemia in the American lobster (*Homarus americanus*). **Fish. Research**. 5: 71-81.
- Baumann, P., L. Baumann and M. Mandel. 1971. Taxonomy of marine bacteria : The Genus *Benekea*. **J. Bacteriol**. 107: 268 – 294.
- Bray, D.B., E.A. Ellis and N. Armijo. 2004. The institutional drivers of sustainable landscapes: a case study of the Mayan Zone *In Quintana Roo, Mexico*. 21(4): 333–346.
- Boring, J.R. 1976. Mechanisma of action of antibiotics. p. 354 – 358. *In* J.R. Di Palma **Basic Pharmacology in Medicine**, McGraw – Hill Publishing Company, New York.

- Brock, J.A. and K. Nain. 1994. **A Guide to the Common Problems and Disease of Cultured *Penaeus vannamei***. Published by the Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii, U.S.A.
- Bullock, G.L., H.M. Stuckey, D. Collis, R.L. Herman and G. Maestrone. 1974. *In vitro* and *vivo* efficacy of a potentiated sulfanilamide in control of furunculosis in salmonids. **J. Fish Res. Board. Can.** 31:75-81.
- Carson, D., S. Cromie, P. McGowan and J. Hill. 1995. **Marketing and entrepreneurship in SMEs**, An Innovative Approach, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Corliss, J.P. 1979. Accumulation and depletion of oxytetracycline in juvenile white shrimp (*Penaeus setiferus*). **Aquaculture** 16: 1-6.
- Cowan, S.T. 1975. **Cowan and Steel's Manual for Identification of Media Bacteria**. Cambridge Univ. Press, London.
- Chair, M., H.J. Nelis, P. Leger, P. Sorgeloos and A.P. De Leenheer. 1996. Accumulation of trimethoprim, sulfamethoxazole and *N*-Acetyl-sulfamethoxazole in fish and shrimp fed medicated *Artemia franciscana*. **Antimicrob. Agents Chemother.** 40 (7): 1649 – 1652.
- Chand, S., I. Luzunzi, D.A. Veal, L.R. William and P. Karuso. 1994. Rapid screening of the antimicrobial activity of extracts and natural products. **J. Antibiot.** 47: 1295 -1304.
- Chinabut, S. and Y. Donyadol. 1983. Thailand, p. 64 - 67. *In Fish Quarantine and Fish Disease in Southeast Asia, Report of a workshop held in Jakarta, Indonesia, 7 - 10 December 1982*, International Development Research Center, Ottawa.

- Cueller, A. J., J. A. Brock, J.A. Suarez and L.F. Aranguren. 1998. **A Survey of the Pathogens and Disease in Shrimp Farmed in Colombia.** World Aquacult. Soc., Baton Rouge, Louisiana, USA. 126 p.
- Davidson, P.M. and M.E. Parish. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. **Food Technol.** 43: 148-155.
- Edwards, D. 1980. **Antimicrobial Drug Action.** The Macmillan Press, London.
- FAO. 2004. **Fishery Information, Data and Statistics Unit (FIDI).** Fishery Statistical Collection. FIGIS Data Collection. FAO, Rome. Source: [www.fao.org/fi/website/FISearch.do?dom=culturespecies](http://www.fao.org/fi/website/FISearch.do?dom=culturespecies), 1 December 2011.
- Gomez – Gil, B.M.A. Herrera – Vega, F.A. Abreu and A. Roque. 1988. Bioencapsulation of two different *Vibrio* species in nauplii of the brine shrimp (*Artemis franciscans*). **Appl. Environ. Microbiol.** 64: 2318 – 2322.
- Hu, C. and B. Tao. 2000. Penaeid shrimp vibriosis and immune prevention: a review. **Trop. Oceanol. Redai Haiyang.** 19: 84 – 94.
- Inglis, V. 1991. The *in vitro* susceptibility of *Aeromonas salmonicida* and other fish-pathogenic bacteria to 29 antimicrobial agents. **J Fish Dis.** 14: 641–650.
- Jory, D.E. 1987. Necrotizing hepatopancreatitis and its management in shrimp ponds. **Aquacul. Mag.** 23: 98 – 101.
- Josè, M., R. Giorgia della, A. Paola and G. Giorgio. 1996. Tissue distribution and residue depletion of oxytetracycline in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus Labrax*) after oral administration. **Aquaculture** 147: 159 – 168.

- Julie, B.W., B. Granham and C.C. Mary. 2001. Oxytetracycline residues in a fresh water recirculation system. **Aquaculture** 205: 221 – 130.
- Kazuaki, U., A. Takahiko and U. Ryuji. 1993. Pharmacokinetics of sulphamonomethoxine and sulphadimethoxine following oral administration to cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 115: 209 – 219.
- Pitogo, L.C.R. and L.D. DeLa-Pena. 1998. Bacterial diseases in shrimp (*Penaeus monodon*) culture in the Philippines. **Fish Pathology** 33 (4): 405 - 411.
- Prescott, J. F. 1990. Antimicrobial chemotherapy, p. 56 -71. In E.L. Biberstein and Y.C. Zee. **Review of Veterinary Microbiology**, Blackwell Scientific Publications, Boston.
- Lavilla-Pitogo, C.R., M.C. L. Baticados, E.R. Cruz-Lacierda and L.D. De-la-Pena. 1990. Occurrence of luminous bacterial disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. **Aquaculture** 91: 1 - 13.
- Leone, L.M., R.R. Williams, T.A. Bell and D.V. Lightner. 1977. Residues of oxytetracycline in cultured juvenile blue shrimp, *Penaeus styrostris* (Crustacea: Decapod), fed medicated feed for 14 days. **Aquaculture** 149: 193 – 202.
- Lightner, D.V. 1977. Shrimp diseases, pp. 10 – 77. In **Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture**, Development in Aquaculture and Fisheries Science, Vol 6. Elsevier, New York.
- Lightner, D.V. 1988. Disease of culture penaeid shrimp and prawn, pp. 8 - 127. In **Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture**. 2<sup>nd</sup> ed., Elsevier, New York.

Lightner, D.V. 1996. **A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Penaeid Shrimp**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.

\_\_\_\_\_ and R.M. Redman. 1977. Histochemical demonstration of melanin in cellular inflammatory process of penaeid shrimp. **J. Invertebr. Pathol.** 30: 298 - 302

\_\_\_\_\_, R.M. Redman, B.T. Poulos, L.M. Nunan, J.L. Mari and K.W. Hasson. 1997. Risk of spread of penaeid shrimp viruses in the Americas by the international movement of live shrimp for aquaculture and frozen shrimp for commodity markets. **Rev Sci Tech Office Int Epizoot** 16:146 -160.

Limpoka, M. 2006. Disposition of sulfadimethoxine and ormetoprim after intramuscular and oral administration to tiger shrimp, *Penaeus monodon*. In **The 10th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, Italy**.

\_\_\_\_\_, P. Chai-Anun, S. Pangsakorn, S. phongvivat, C. Rongrodejarnarak, D. Wongsommart, T. Pung and U. Sittiphuprasert. 1993. Giant prawn (*Penaeus monodon*) and antimicrobial drugs: 4 deposition and residues of oxytetracycline after single intermuscular injection, oral administration and 5 day on medicated diet. **RD & E Project Final Report**, 16 p.

Limsuwan, C. 2003. The Taura syndrome virus situation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture in Thailand. **The AAHRI Newsletter**. 12 (2): 1 - 2.

Liston, J. 1990. Microbial hazards of seafood consumption. **Food Technol.** 44: 56 - 62.

Manou, L., L. Bouillard, M.J. Devleeschouwer and A.O. Barel. 1998. Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. **J. Appl. Microbiology.** 84: 368 - 376.

- Maria, T., N. Loannis and K. Costas. 1999. Bioaccumulation of trimethoprim, sulfamethoxazole and *N*-acetyl-sulfamethoxazole in *Artemia nauplii* and residual kinetics in seabass larvae after repeated oral dosing of medicated nauplii. **Aquaculture** 175: 15 – 30.
- McCracken, A., S. Fidgeon, J.J. O'Brien and D. Anderson. 1976. An investigation of antibiotic and drug residues in fish. **J. Appl. Bact.** 40: 61 – 66.
- Miranda, C.D. and R. Zemelman. 2001. Antibiotic resistant bacteria in fish from the Concepcion Bay, Chile. **Mar. Pollut. Bull.** 42: 1096 - 1102.
- Moss, S.M., B.R. LeaMaster and J.N. Sweeney. 2000. Relation abundance and species composition of gram negative, aerobic bacteria associated with the gut of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in oligotrophic well water and eutrophic pond water. **J World Aquac. Soc.** 31: 255 - 263.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. **Method for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.** Approved Standard – 5<sup>th</sup> Edition. Vol. 20(2): 26 pp.
- Onkong, S., A. Sermwatanakul and C. Tantikitti. 2000. Residues of oxytetracycline in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) reared in cement tank and earthen pond. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 22: 714 -724.
- Reviere, J. E. and J.W. Spoo. 1995. Chemical residues in tissues of food animal, p. 1148 – 1157. In H. R. Adms **Veterinary Pharmacology and Therapeutics 7<sup>th</sup> ed** , Iowa State University Press, Ames.
- Robert M. and H. Micheal. 2002. Corrigendum. **Drug Discovery Today.** 7 (17): 889.

- Ruangpan, L. 1998. Luminous bacteria associated with shrimp mortality. pp: 205 - 211. *In* T.W. Flegel. (Ed.). **Advances in Shrimp Biotechnology**, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- \_\_\_\_\_ and T. Kitao. 1992. Minimal inhibitory concentration of 19 chemotherapeutants against *Vibrio* bacteria of shrimp, *Penaeus monodon*, p. 135 -142. *In Diseases in Asian Aquaculture 1*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila. Philippines.
- Salte, R. and K. Liestol. 1983. Drug withdrawal from farmed fish. **Acta. Vet. Scand.** 24:148.
- Samuelsen, O.B., B.T. Lunestad., A. Ervik and S. Fjelde. 1994. Stability of antibacterial agents in an artificial marine aquaculture sediment studied under laboratory conditions. **Aquaculture** 1994 (126): 283 – 290.
- \_\_\_\_\_, B.T. Lunestad and A. Jelmert. 1997. Pharmacokinetic and efficacy studies on bath-administered potentiated sulfonamides in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. **J. Fish Dis.** 20: 287 - 296.
- Schnick, R.A. 1998. The impetus to register new therapeutics for aquaculture. **Progr. Fish Cult.** 50: 190.
- Shryock, T.J. 2000. Growth promotion and feed antibiotics, p. 735 - 743. *In* J.F. Prescott and J.D. Baggot. **Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine 3<sup>rd</sup> ed.** Iowa State University Press, Ames.
- Sindermann, C.J. 1990. **Principal Disease of Marine Fish and Shellfish, 2 ed.** Academic Press, London.

- Siwaporn, J., H. Juthamas and T. Kanitha. 2007. Chemical compositions, functional properties, and microstructure of defatted macadamia flours. **Aquaculture** 110: 23 – 30.
- Somboon, M., W. Purivirojkul., C. Limsuwan and N. Chuchird. 2012. Effect of *Vibrio* spp. in white feces infected shrimp in Chanthaburi, Thailand. **Fishery Bulletin**. 36(1): 7 -15.
- Touraki, M., S. Mourelatos, G.H. Karamanlidou, S. Kalaitzopoulou and C. Katritsis. 1996. Bioencapsulation of chemotherapeutics in *Artemia* as a means of prevention and treatment of infectious diseases of marine fishfry. **Aquaculture** 15(2): 33 - 147.
- Uhland, C.F. and R. Higgins. 2006. Evaluation of the susceptibility of *Aeromonas salmonicida* to oxytetracycline and tetracycline using antimicrobial disk diffusion and dilution susceptibility tests. **Aquaculture** 257: 111 - 117.
- Van Miert A. S. J. P. A. M. 1994. The sulfonamide – diaminopyrimidine story. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 17: 309 - 316
- Wang, Z., L. Hu, G. Yi, H. Xu, Y. Qi. and L. Yao. 2004. ORF390 of white spot syndrome virus genome is identified as a novel anti-apoptosis gene. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** (325): 899-907.
- Weston, D.P. 1995. Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in aquaculture. pp. 140 - 165. In D.J. Baird, M.C.M. Beveridge, L.A. Kelly, J.F. Muir. (Eds.), **Aquaculture and Water Resource Management**. Fishing News Books. Blackwell, Oxford.
- Weidner, D. and B. Rosenberry. 1992. World shrimp farming. pp. 1-21. In J. Wyban (Editor), **Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming**, 22-24 May 1992, Orlando, FL. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.



ภาคผนวก

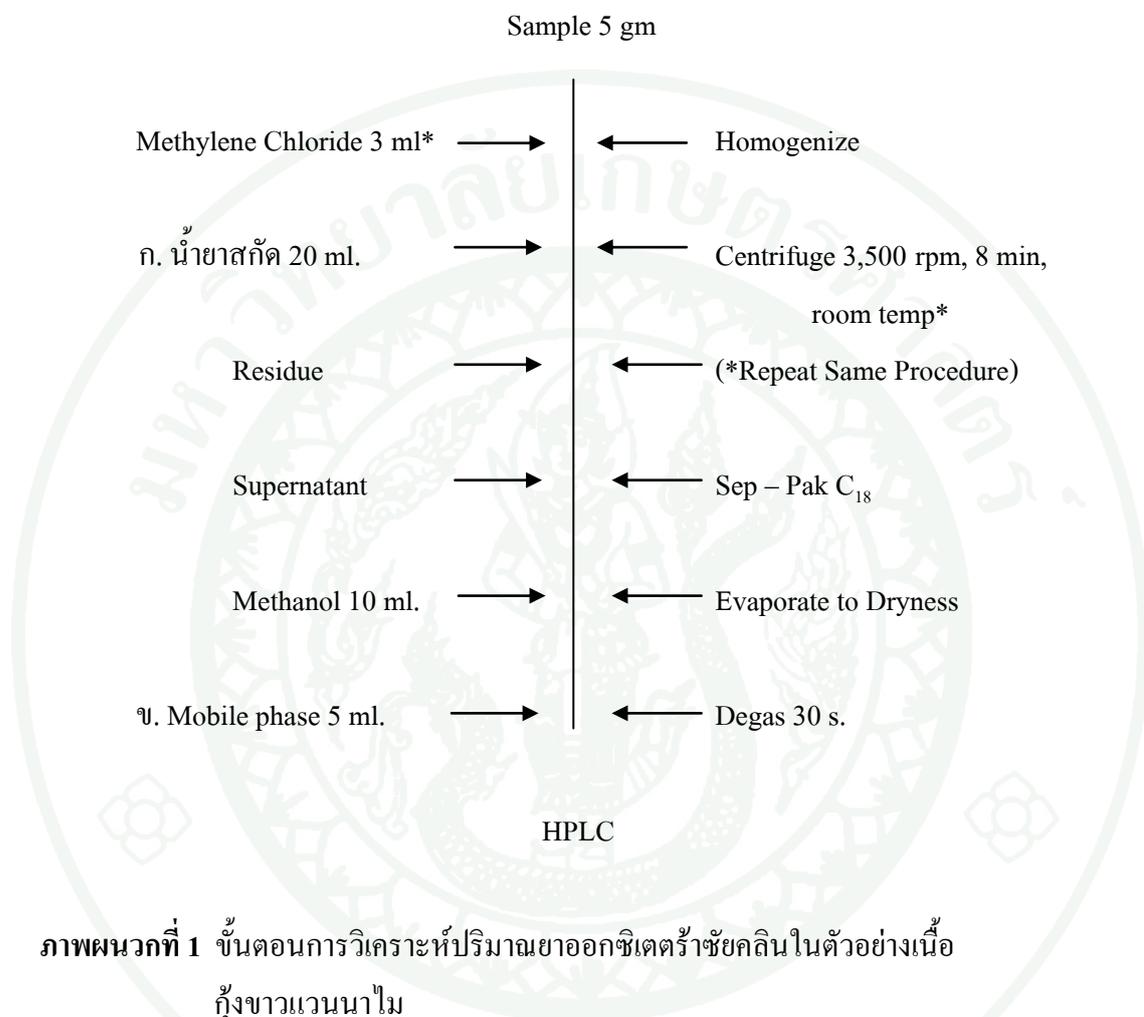
การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลิน โดยใช้ **Highper formance liquid chromatography (HPLC)** ตามวิธีที่กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมงใช้ในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเพื่อการส่งออก

**ก. ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินในตัวอย่างเนื้อกุ้ง**

1. นำตัวอย่างกุ้งแกะเปลือก (ไม่ใช้ส่วนหัว และเปลือก) บดละเอียด ชั่งตัวอย่างละ 5 กรัม
2. สำหรับตัวอย่างในการทำ spike เติม Standards ลงไป 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 20 นาที
3. เติม Methylene Chloride 5 มิลลิลิตร และ McIlvanine buffer pH 4 จำนวน 20 มิลลิลิตร แล้วปั่นละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Homogenize นาน 1 นาที และล้างหัวปั่นด้วย McIlvanine buffer pH 4
4. เข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว (Centrifuge) 3,500 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
5. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
6. เติม McIlvanine buffer pH 4 จำนวน 30 ml ลงในภาควัตถุที่เหลือ (สกัดครั้งที่ 2) ทำซ้ำข้อ 4 -5
7. นำสารละลายที่กรองได้ไปผ่าน Sep-Pak C<sub>18</sub> โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศปรับอัตราการไหลประมาณ 1 หยดต่อวินาที โดย Sep-Pak C<sub>18</sub> โดยปรับอัตราการไหลประมาณ 1 หยดต่อวินาที ขณะปรับสภาพต้องระวังอย่าให้ Sep-Pak C<sub>18</sub> แห้ง
8. ล้าง Sep-Pak C<sub>18</sub> ที่ตัวอย่างผ่านแล้วด้วย Methanol for HPLC 10 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น (Purified water) 10 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลม (Round bottom flask)
9. นำสารละลายใน Round bottom flask ไประเหยด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator ที่ควบคุมอุณหภูมิ 36 - 40 องศาเซลเซียส
10. ละลายตะกอนที่แห้งติดกันขวดด้วย Mobile phase 5 มิลลิลิตร ลงใน Round bottom flask
11. นำ ตัวอย่างไป Sonicate 30 วินาที
12. กรองสารละลายตัวอย่างด้วย nylon membrane syringe filter ขนาด 0.2 – 0.45 ไมโครเมตร
13. แบ่งสารละลายตัวอย่างที่ได้ใส่หลอดแก้ว (vial) ขนาด 1 มิลลิลิตร เพื่อไปฉีดเข้าเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) ที่ตั้งค่า wavelength 380 และ 520 นาโนเมตร

ใช้ Column ยี่ห้อ Symmethy C<sub>8</sub> 5 $\mu$ m 3.9 x 150 mm.

14. อ่านค่าปริมาณยาที่ตรวจพบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินในตัวอย่างเนื้อ  
กุ้งขาวแวนนาไม

ข. ขั้นตอนการสกัดยาออกซิเตตราซัยคลินในเนื้อกุ้ง (ต่อ)

1. การเตรียมน้ำยาสกัด

1.1 ละลาย disodium hydrogen phosphate 17.2 กรัม ในน้ำ 600 มิลลิลิตร

1.2 ละลาย Citric acid 10.5 กรัม ในน้ำ 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.3 ผสมสารละลายในข้อ 1 และ 2 เข้าด้วยกัน และปรับ pH ให้ได้  $4 \pm 0.05$

1.4 เติม EDTA 40.95 กรัม ลงในสารละลายข้อ 1.3 ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

ก่อนนำมาใช้

## 2. การเตรียม Mobile phase for HPLC ประกอบด้วย

Imedasole 34.04 กรัม

Magnesium acetate 5.36 กรัม

Na<sub>2</sub>EDTA 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วย Acetic acid แล้วเติม methanol 149.35 มิลลิลิตร

## 3. การเตรียมสารละลายเข้มข้นออกซิเตตราไซคลิน 100 พีพีเอ็ม

ละลายออกซิเตตราไซคลิน 0.01 กรัม ด้วย 0.1 N HCl 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask เก็บไว้ในขวดสีชาแช่ตู้เย็น

4. เตรียม Standard solution ให้ได้ความเข้มข้น 0.00, 0.02, 0.04, 0.08, 0.1, 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม โดยการเจือจางสารละลายในข้อ ข 2. ด้วย Mobile phase นิดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อทำ Standard curve

5. กระตุ้น Sep- Pak C<sub>18</sub> โดยใช้ methanol 5 มิลลิลิตร ค่อย ๆ หยดทีละหยด จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

## ก. ขั้นตอนการเตรียม stock standards oxytetracycline solution (ต่อ)

### 1. ขั้นตอนการเตรียม stock standards oxytetracycline solution 100 พีพีเอ็ม

ชั่ง standards oxytetracyclin hydrochloride 0.1 กรัม ยี่ห้อ Sigma ละลายด้วยเมทานอล (MeOH) 10 มิลลิลิตร เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย 0.1 N ไฮโดรคลอริกแอซิด (HCl) เขย่าให้สารละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 – 8 องศาเซลเซียส

### 2. ขั้นตอนการเตรียม Intermediate standard solution 10 พีพีเอ็ม

นำสารละลายออกซิเตตราไซคลินที่ได้จากข้อ 1. ปิบเตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยแอซติก เมทานอล (acetic methanol) เขย่าสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมใหม่ทุกครั้ง

3. วิธีการเตรียม working standard solution มีความเข้มข้นที่ 0.00, 0.02, 0.04, 0.08, 0.1, 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

working standard solution 0.00 พีพีเอ็ม ใช้ Mobile phase ลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร

working standard solution 0.02 พีพีเอ็ม ปิเปต Intermediate standard จำนวน 10 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase

working standard solution 0.04 พีพีเอ็ม ปิเปต Intermediate standard จำนวน 20 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase

working standard solution 0.08 พีพีเอ็ม ปิเปต Intermediate standard จำนวน 40 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase

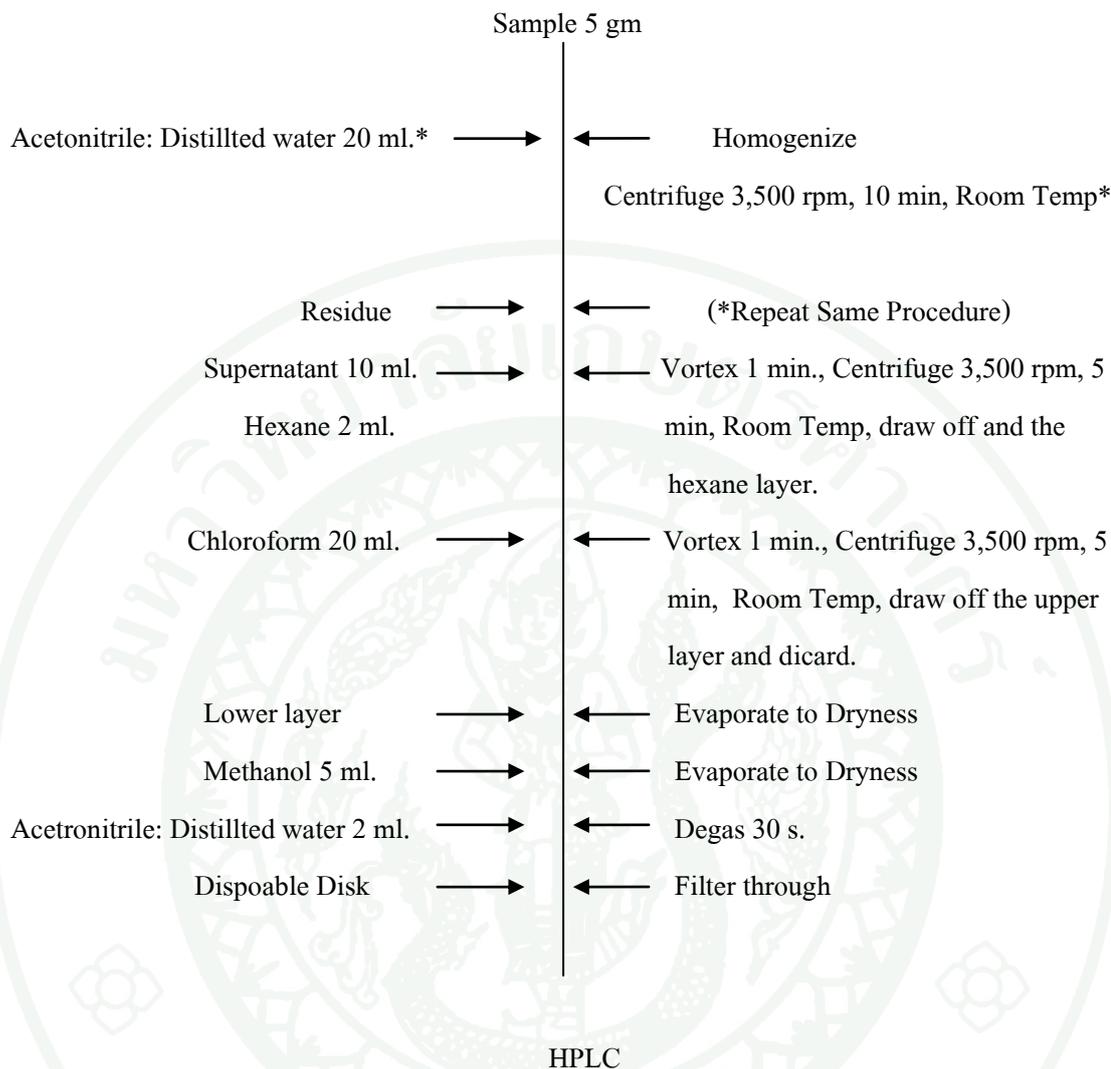
working standard solution 0.1 พีพีเอ็ม ปิเปต Intermediate standard จำนวน 50 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase

working standard solution 0.2 พีพีเอ็ม ปิเปต Intermediate standard จำนวน 100 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase

working standard solution 0.3 พีพีเอ็ม ปิเปต Intermediate standard จำนวน 150 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Mobile phase

### ขั้นตอนการสกัดยาฆ่าเชื้อฟิโคมัยทอกซิน/ไตรเมโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้ง

1. นำตัวอย่างกุ้งแกะเปลือก (ไม่ใช่ส่วนหัว) บดละเอียด ชั่งตัวอย่างละ 5 กรัม
2. ใส่สารสกัด Acetonitrile ต่อ น้ำกลั่นในอัตราส่วน 7:3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. เข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
4. เทส่วนใสลงในขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
5. นำตะกอนที่เหลือไปทำซ้ำตามข้อ 2-4 อีกครั้ง
6. นำสารละลายใสใน Volumetric flask ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรด้วยสารสกัด
7. นำสารละลายใสปริมาตร 10 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอด Centrifuge
8. เติม Hexane 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที แล้ว Centrifuge 3,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง
9. เติม Chloroform 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วย Vortex 1 นาที แล้ว Centrifuge 3,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง
10. เทตัวอย่างใส่ Round bottom flask ไประเหยด้วยเครื่อง Evaporator ที่ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากละลายตะกอนด้วย methanol (HPLC Solvent) 5 มิลลิลิตร
11. ระเหยด้วยเครื่อง Evaporator อีกครั้ง แล้วละลายตะกอนด้วย Acetonitrile ต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
12. นำ ไป degas 30 วินาที
13. กรองโดยใช้ Disposable filter (0.45 ไมครอน, 13 มิลลิเมตร) ใส่หลอดแก้ว (vial) ขนาด 1 มิลลิลิตร แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC (High- performance liquid chromatography) ที่ตั้งค่า wavelength 288 นาโนเมตร ใช้ Column Reverses phase C18
14. อ่านค่าปริมาณยาที่ตรวจพบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน



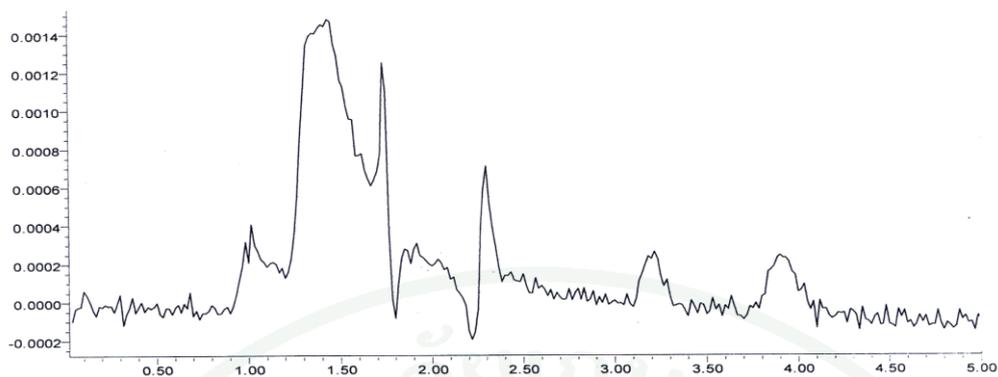
ภาพผนวกที่ 2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาไคเม็ทที่ออกจีน และไตรเม็ทที่ออกจีนในตัวอย่างเนื้อ  
กุ้งขาวแวนนาไม

**ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซีน/ไตรเมโทพริมในตัวอย่างเนื้อกุ้งขาว  
แวนนาไม (ต่อ)**

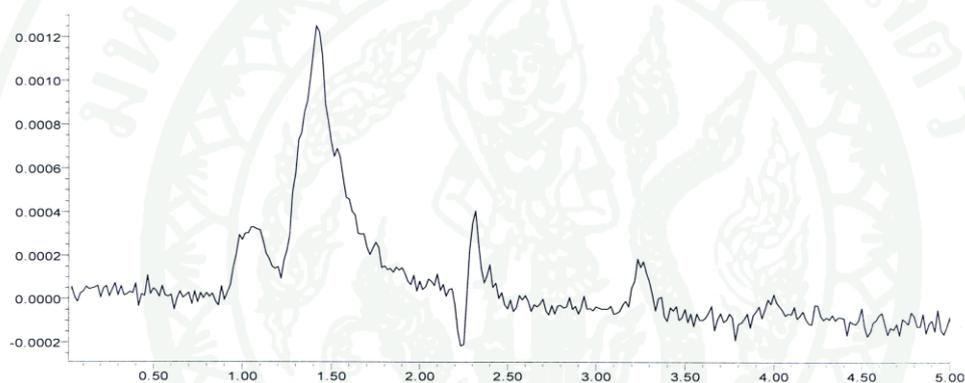
1. ชั่งสารซัลฟาไดเมททอกซีน 0.01 กรัมทำละลายด้วย Acetonitrile (HPLC Solvent) ปรับให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมีความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม
2. ชั่งไตรเมโทพริม 0.01 กรัมทำละลายด้วย Acetonitrile (HPLC Solvent) ปรับให้ได้ 100 มิลลิลิตรจะได้สารละลายมีความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม
3. เตรียม Standard solution ให้ได้ความเข้มข้น 10, 0.5, 0.2 และ 0.1 พีพีเอ็ม โดยการเจือจางสารละลายในข้อ 1. ด้วย Acetonitrile ต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 2 ฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อทำ Standard curve

**การเตรียม Mobile phase**

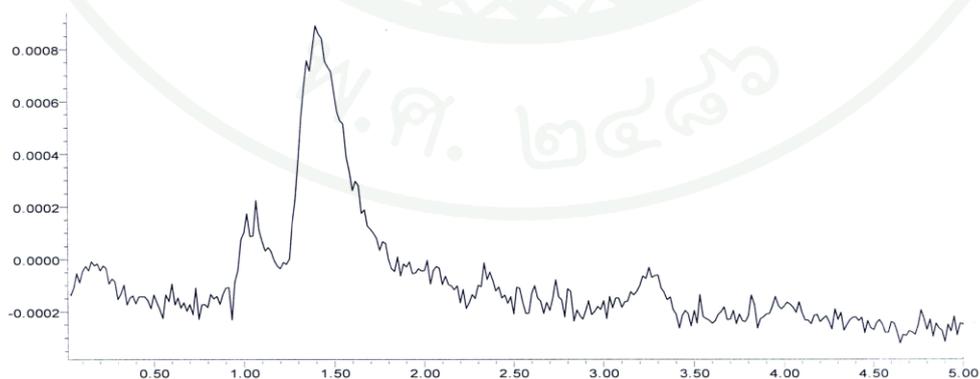
1. สำหรับ Pump A เตรียมน้ำกลั่นปริมาตร 1,200 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้น degas 10 นาที
2. สำหรับ Pump B เตรียม Trifluoroacetic acid ต่อ Acetonitrile (HPLC Solvent) ในอัตราส่วน 1:1,000 กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้น degas 10 นาที



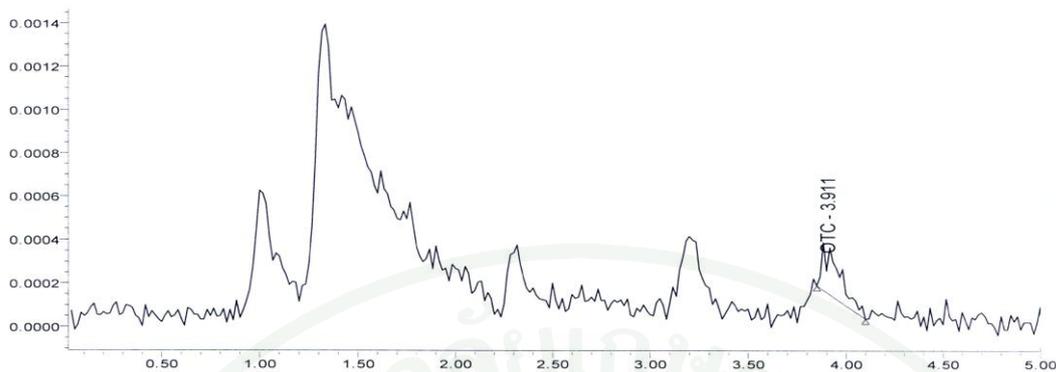
ภาพผนวกที่ 3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ a ในเนื้อกล้วยขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



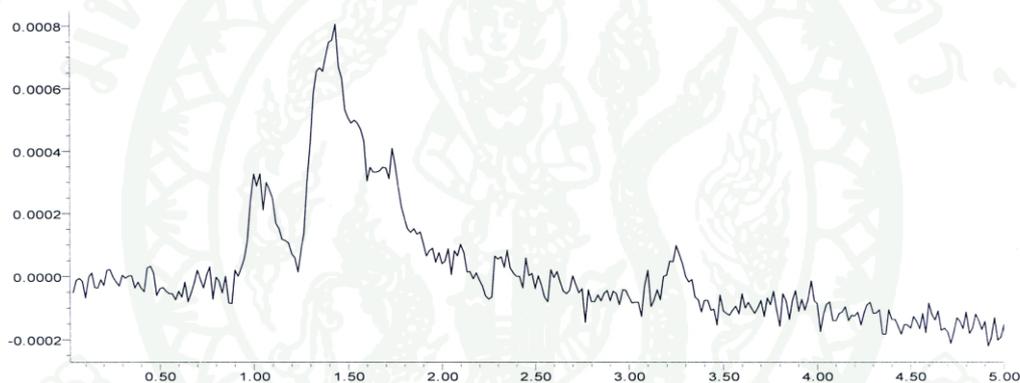
ภาพผนวกที่ 4 ปริมาณคลอโรฟิลล์ a ในเนื้อกล้วยขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



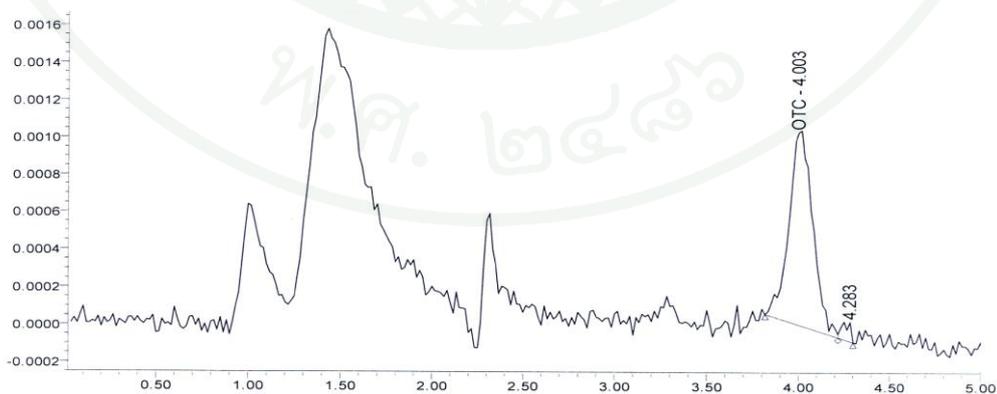
ภาพผนวกที่ 5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ a ในเนื้อกล้วยขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



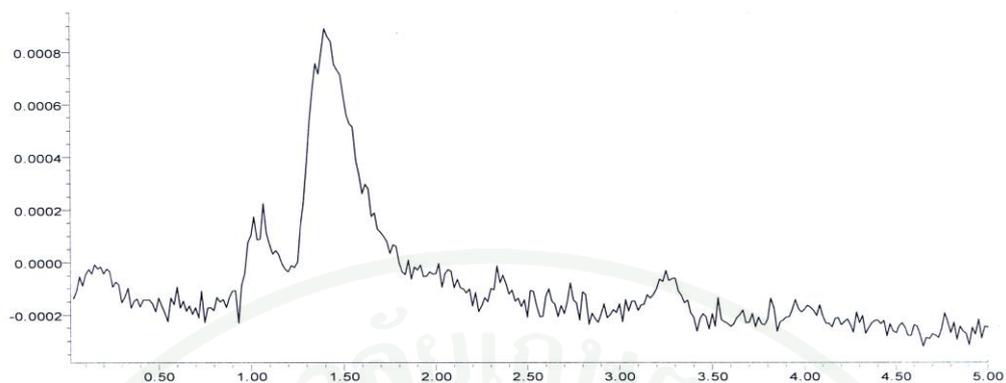
ภาพผนวกที่ 6 ปริมาณยาออกซิเตตราไซคลินตกค้างในเนื้อกิ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



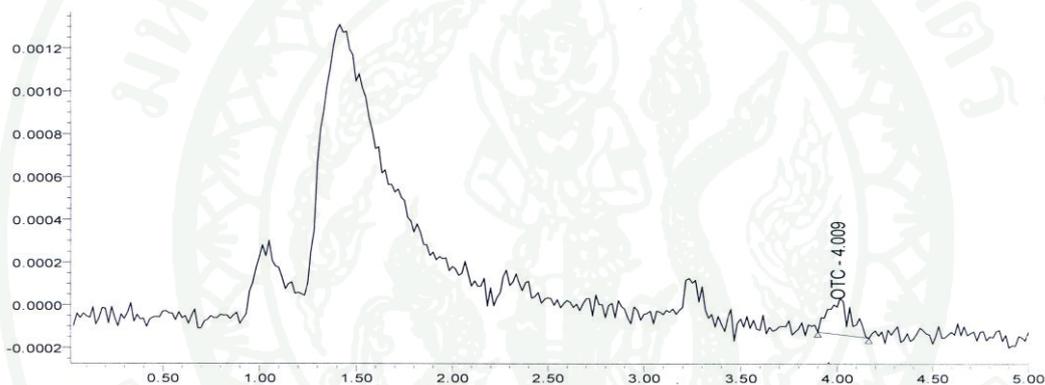
ภาพผนวกที่ 7 ปริมาณยาออกซิเตตราไซคลินตกค้างในเนื้อกิ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



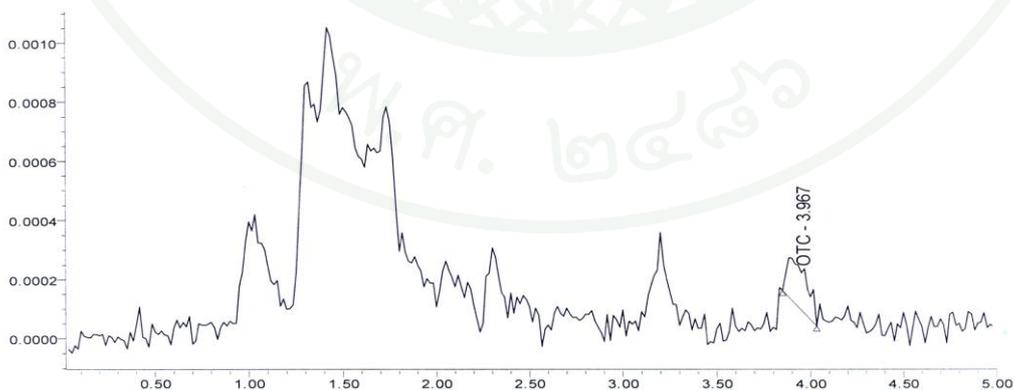
ภาพผนวกที่ 8 ปริมาณยาออกซิเตตราไซคลินตกค้างในเนื้อกิ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



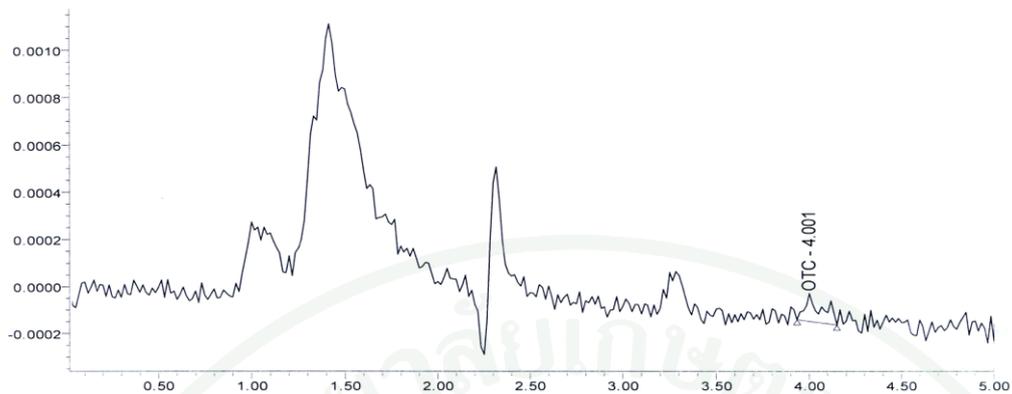
ภาพผนวกที่ 9 ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



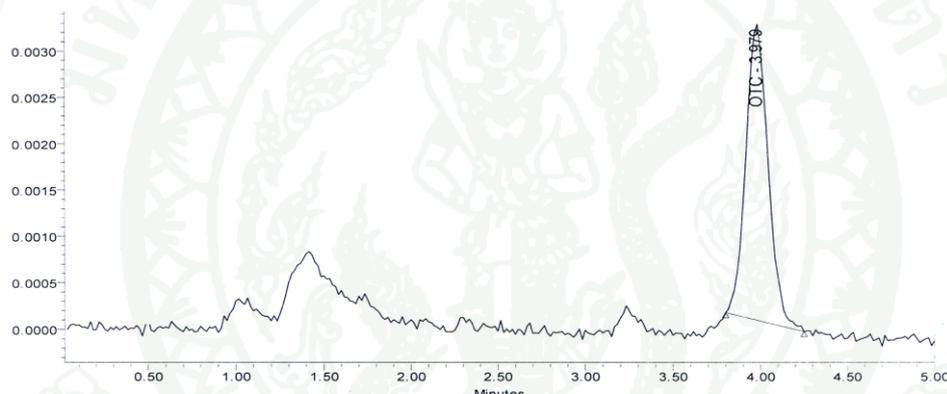
ภาพผนวกที่ 10 ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



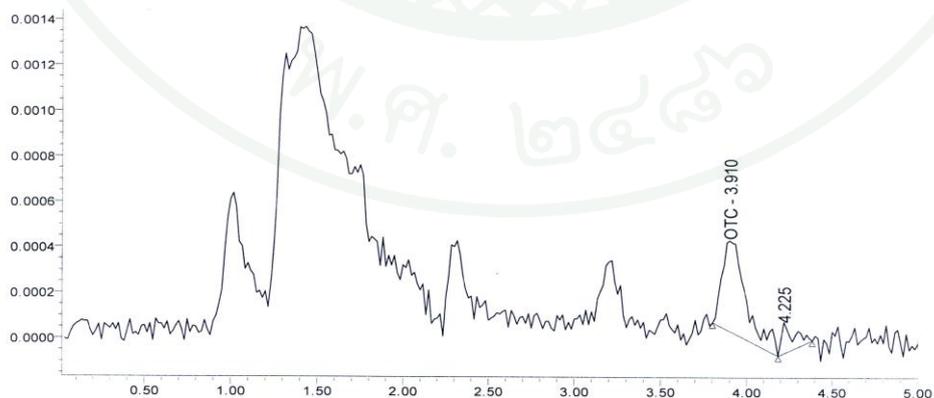
ภาพผนวกที่ 11 ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



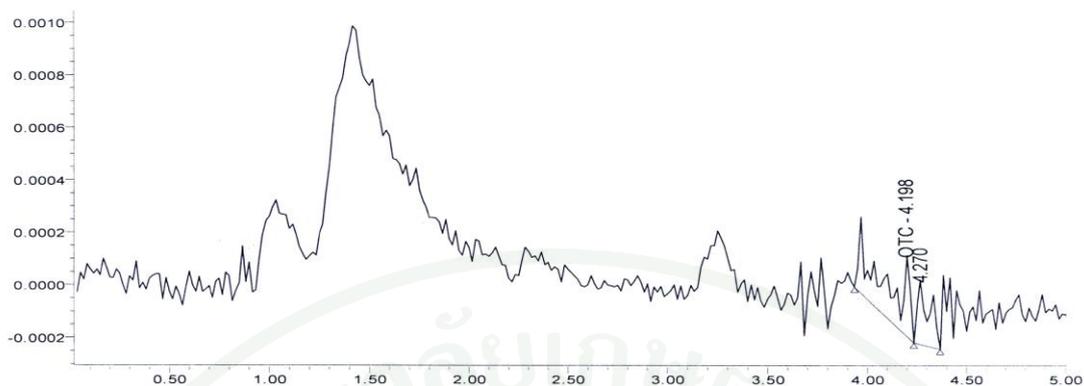
ภาพผนวกที่ 12 ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวเวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



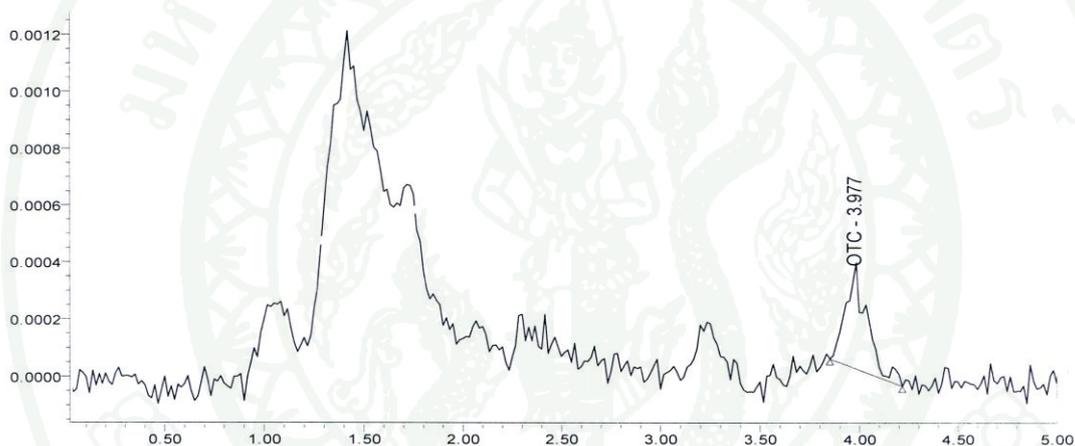
ภาพผนวกที่ 13 ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวเวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
ปกติ หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



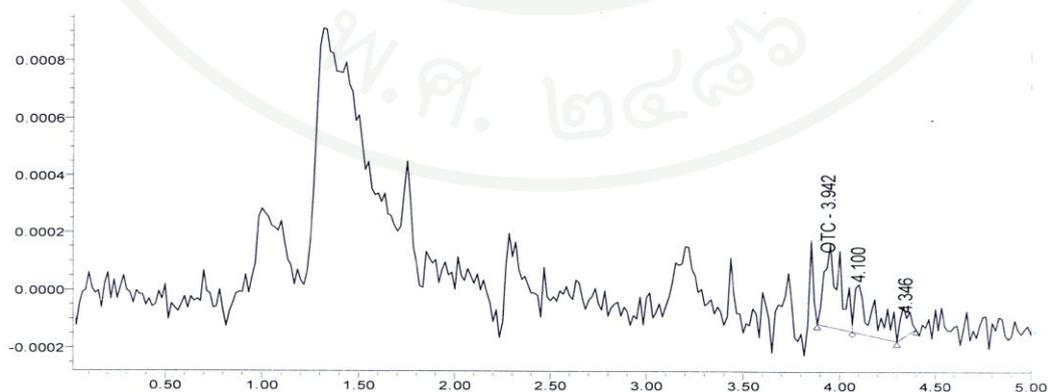
ภาพผนวกที่ 14 ปริมาณยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกึ่งขาวเวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
ปกติ หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



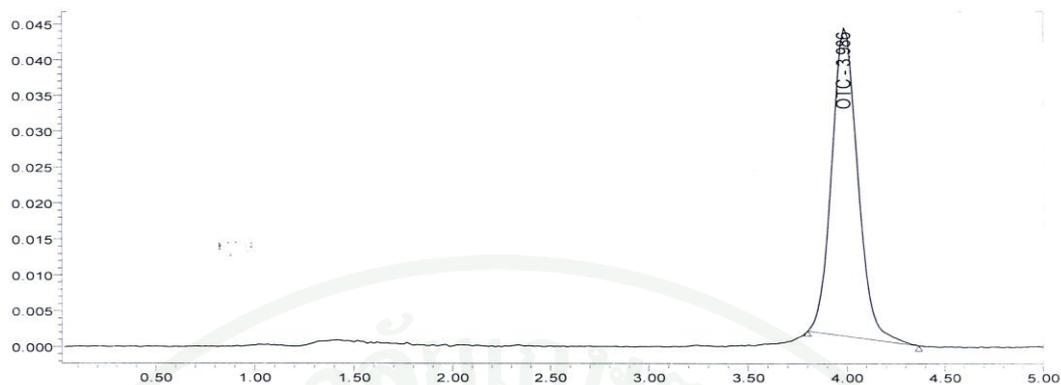
ภาพผนวกที่ 15 ปริมาณออกซิเดตริ้ชชัคลินตคั้งในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
ปกติ หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



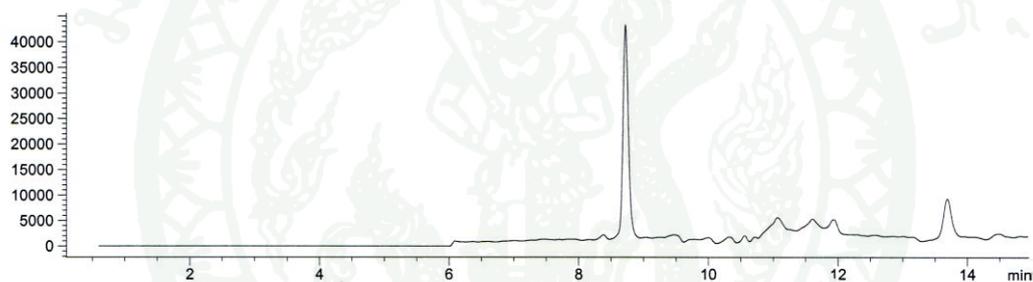
ภาพผนวกที่ 16 ปริมาณออกซิเดตริ้ชชัคลินตคั้งในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
ปกติ หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



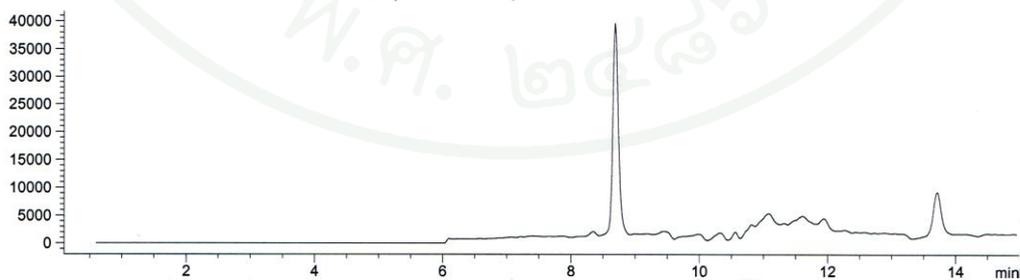
ภาพผนวกที่ 17 ปริมาณออกซิเดตริ้ชชัคลินตคั้งในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในถ่ายกลุ่มน้ำ  
ปกติ หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



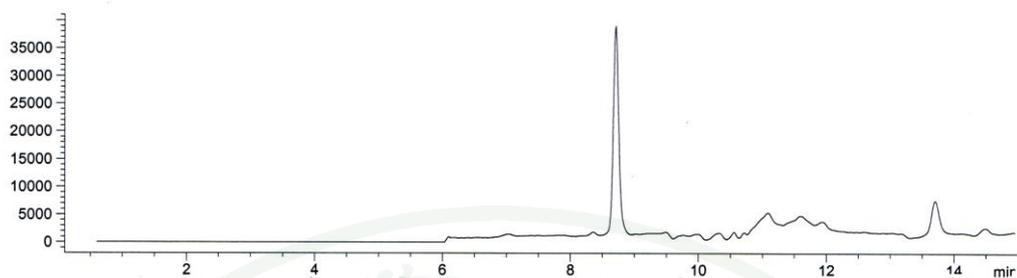
ภาพผนวกที่ 18 สารละลายมาตรฐานของยาออกซิเตตราซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม  
1.616 พีพีเอ็ม



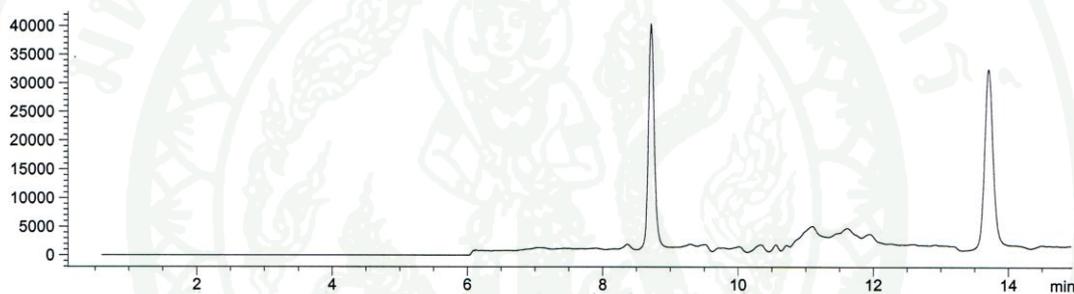
ภาพผนวกที่ 19 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม  
หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



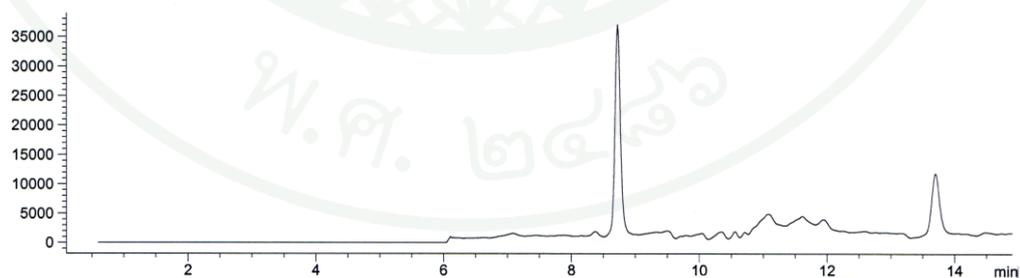
ภาพผนวกที่ 20 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม  
หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



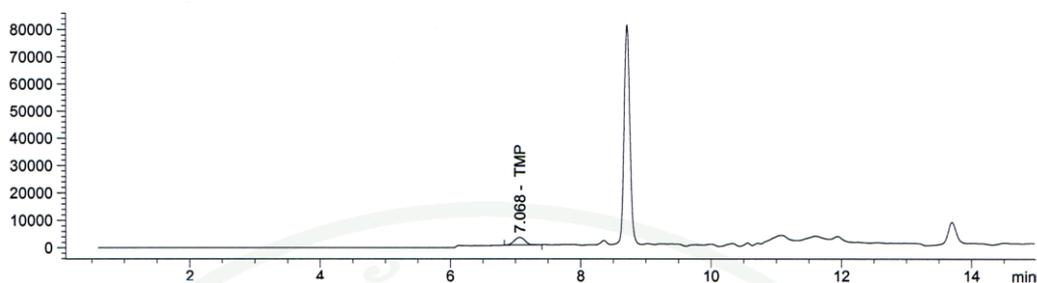
ภาพผนวกที่ 21 ปริมาณยาไตรเมทิลโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



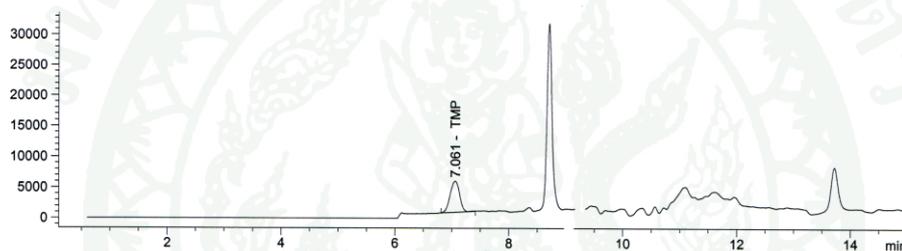
ภาพผนวกที่ 22 ปริมาณยาไตรเมทิลโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



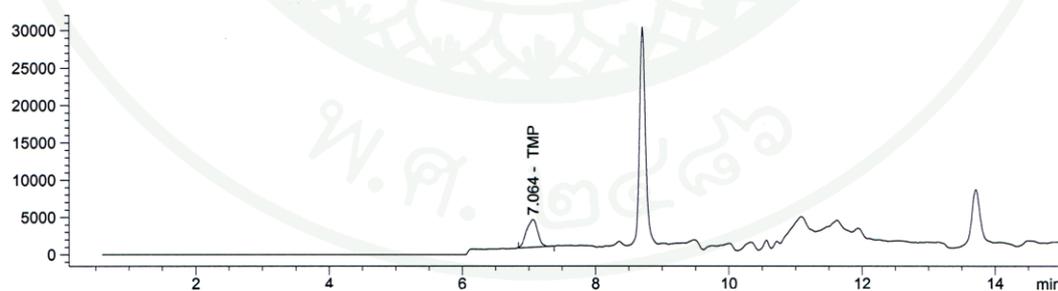
ภาพผนวกที่ 23 ปริมาณยาไตรเมทิลโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มควบคุม หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



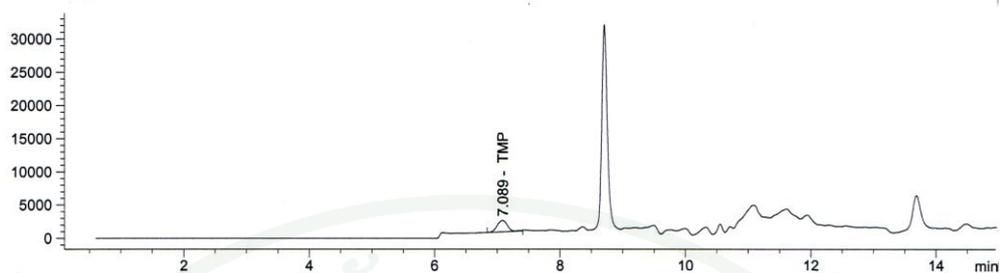
ภาพผนวกที่ 24 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



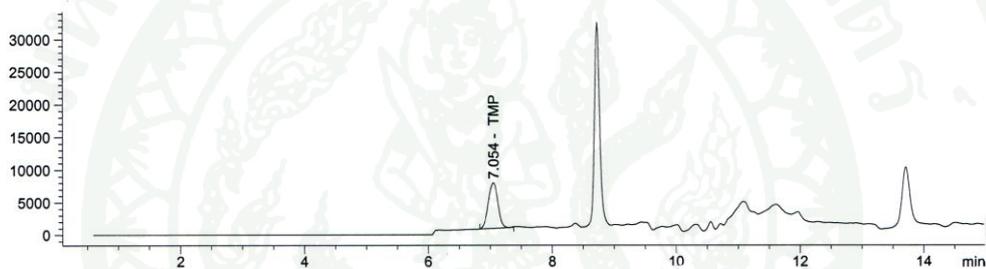
ภาพผนวกที่ 25 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



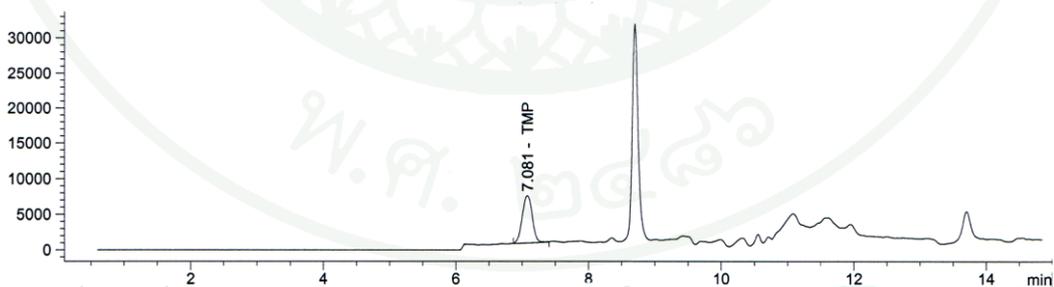
ภาพผนวกที่ 26 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



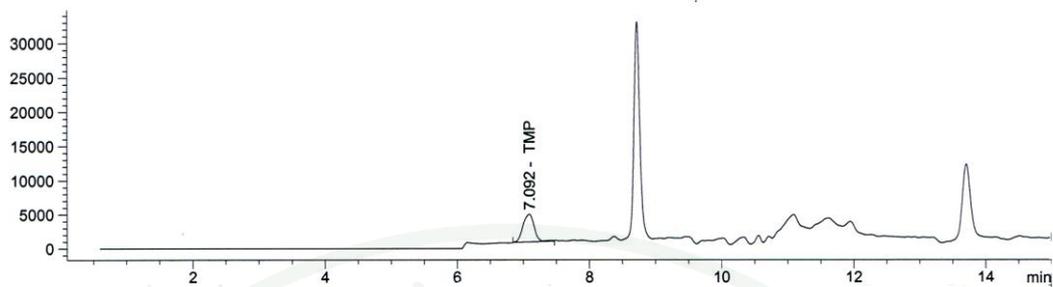
ภาพผนวกที่ 27 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



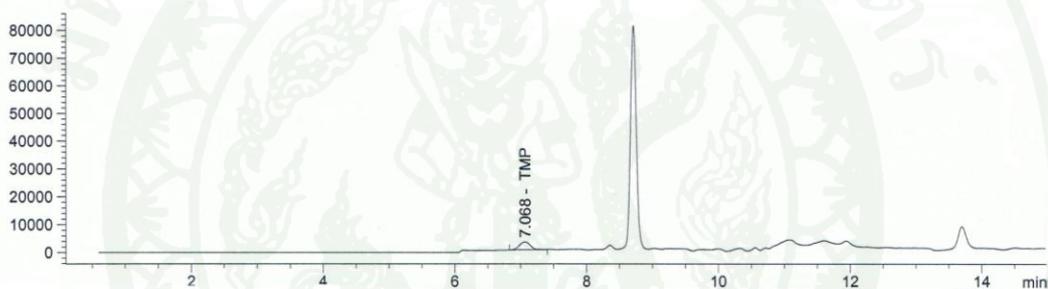
ภาพผนวกที่ 28 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
เพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



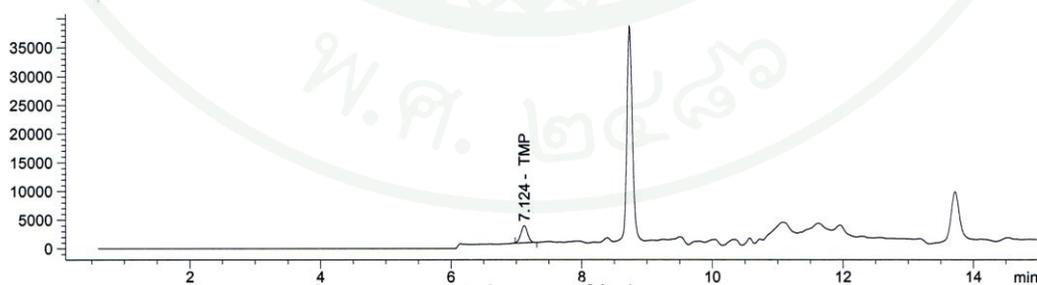
ภาพผนวกที่ 29 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำ  
ปกติ หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



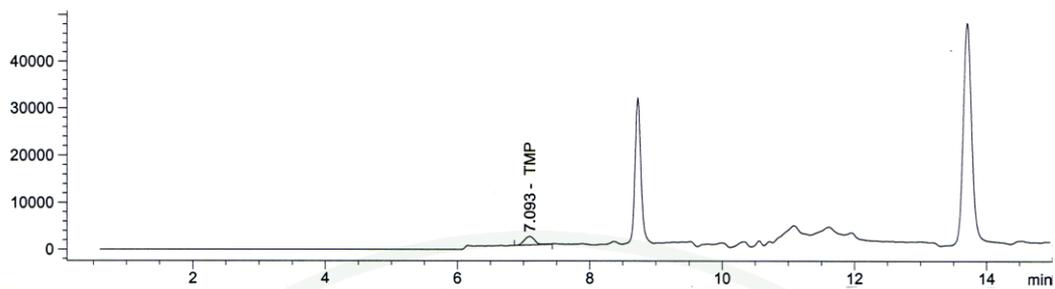
ภาพผนวกที่ 30 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



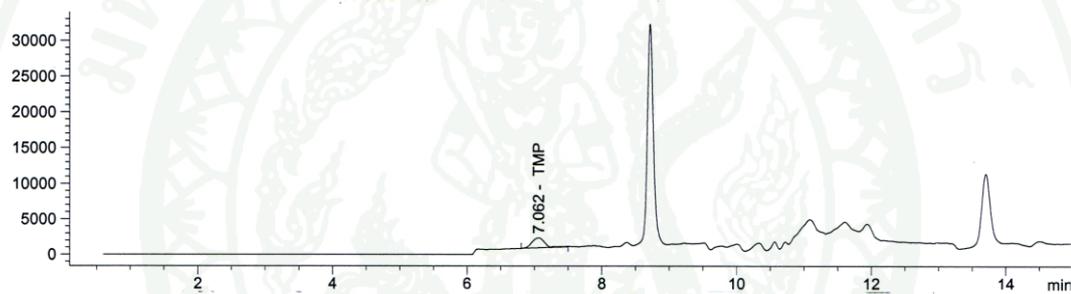
ภาพผนวกที่ 31 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



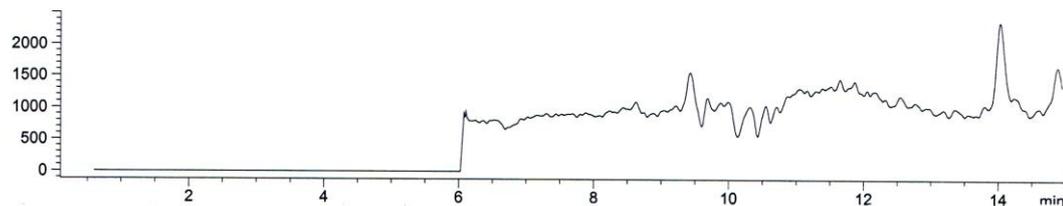
ภาพผนวกที่ 32 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกึ่งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



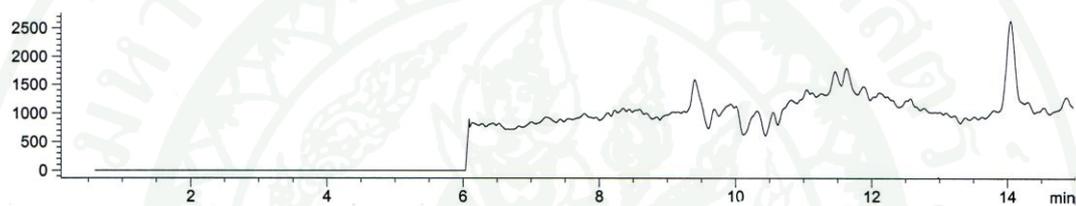
ภาพผนวกที่ 33 ปริมาณยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ้ำน้ำปกติ  
หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



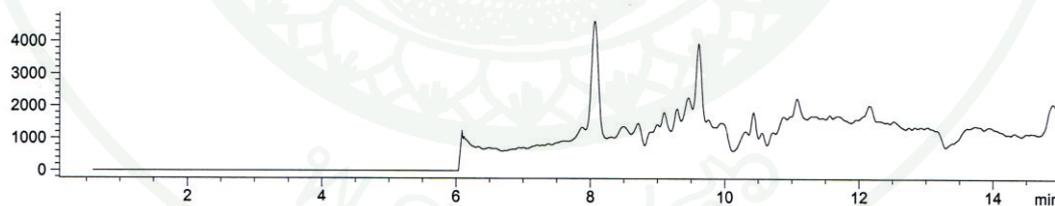
ภาพผนวกที่ 34 สารละลายมาตรฐานของยาไตรเมทโทพริมตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม  
2.33 พีพีเอ็ม



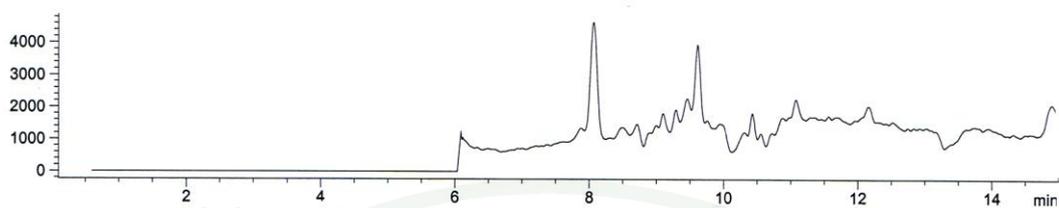
ภาพผนวกที่ 35 ปริมาณคลอโรฟิลล์ฟาไคเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่ม  
ควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



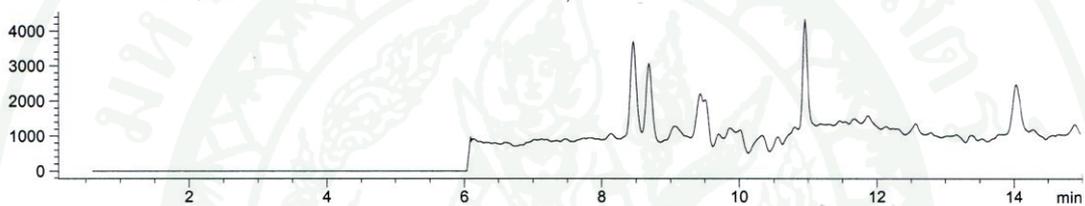
ภาพผนวกที่ 36 ปริมาณคลอโรฟิลล์ฟาไคเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่ม  
ควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



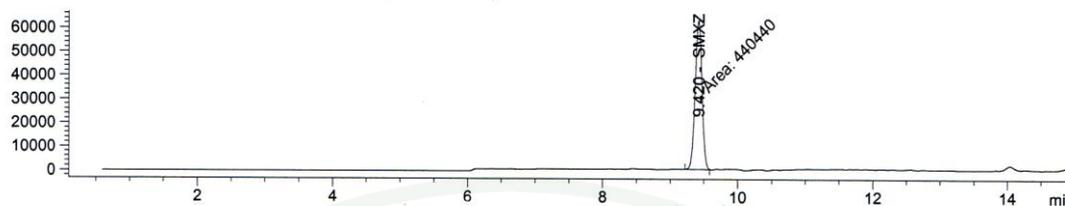
ภาพผนวกที่ 37 ปริมาณคลอโรฟิลล์ฟาไคเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่ม  
ควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



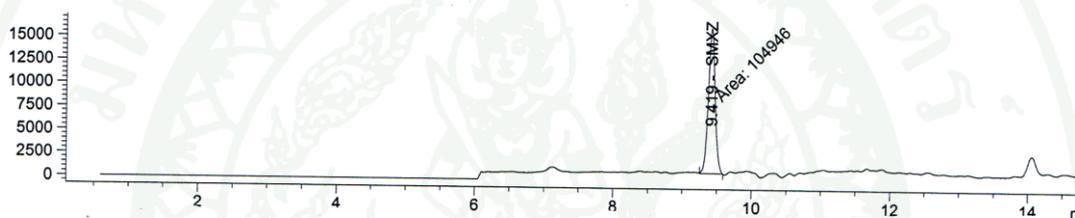
ภาพผนวกที่ 38 ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่ม  
ควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



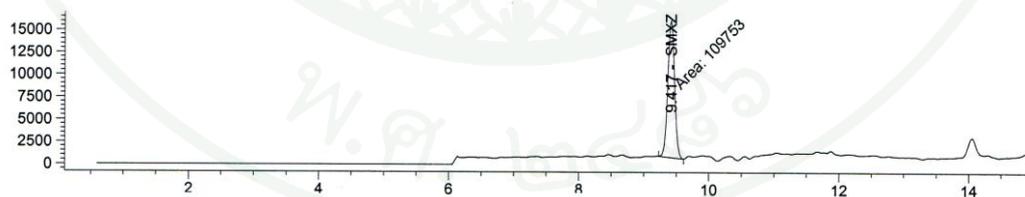
ภาพผนวกที่ 39 ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่ม  
ควบคุมหลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



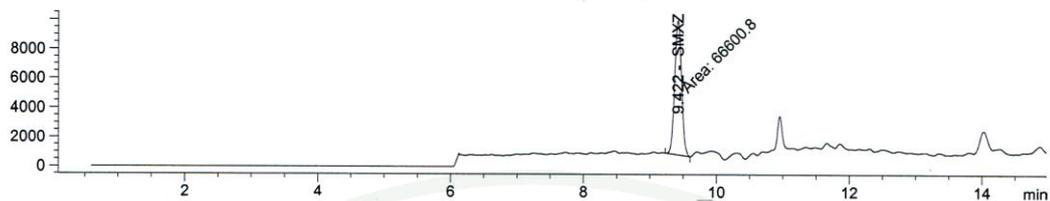
ภาพผนวกที่ 40 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่าย  
น้ำเพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



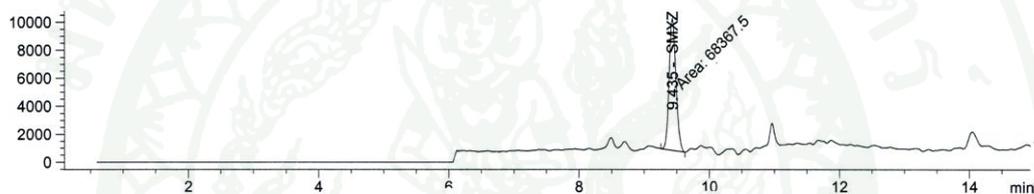
ภาพผนวกที่ 41 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่าย  
น้ำเพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



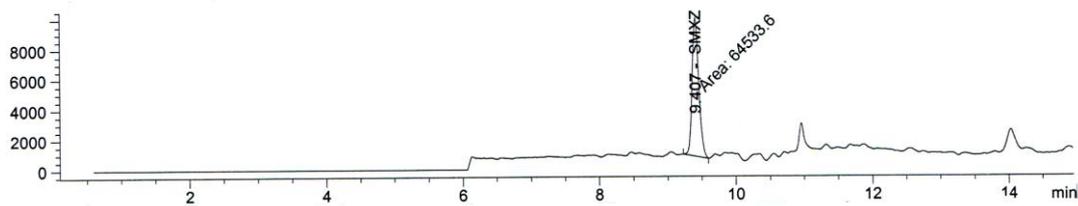
ภาพผนวกที่ 42 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่าย  
น้ำเพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



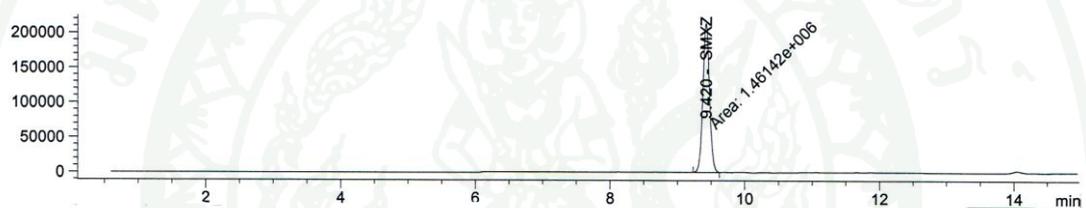
ภาพผนวกที่ 43 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่าย  
น้ำเพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



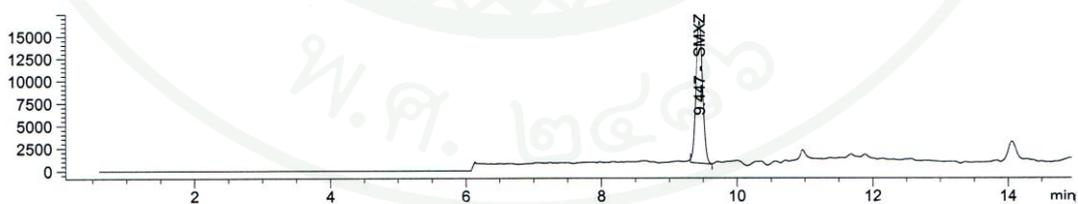
ภาพผนวกที่ 44 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่าย  
น้ำเพียงบางส่วน หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



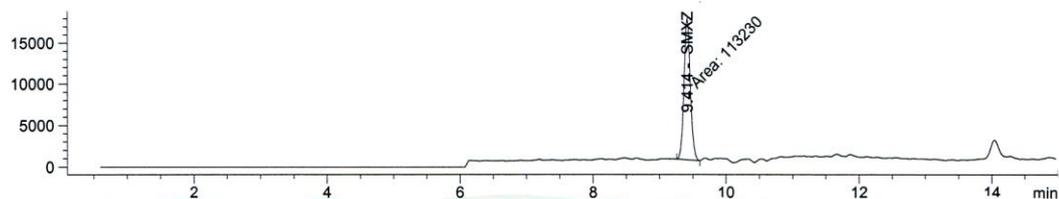
ภาพผนวกที่ 45 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 1 วัน



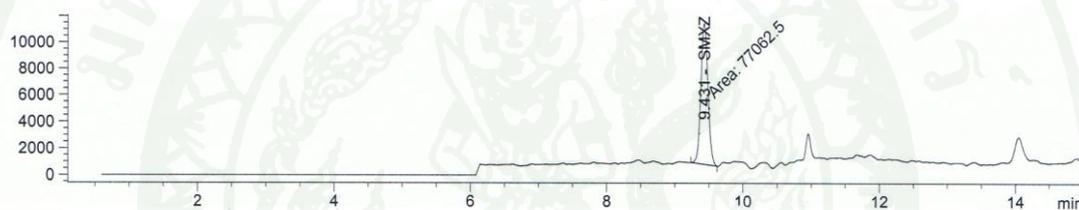
ภาพผนวกที่ 46 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 5 วัน



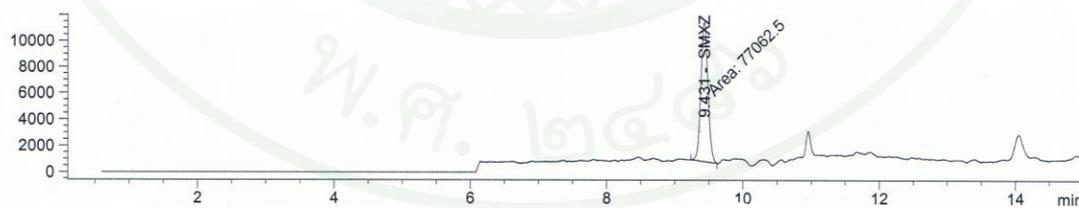
ภาพผนวกที่ 47 ปริมาณยาซัลฟาไดเม็ททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 10 วัน



ภาพผนวกที่ 48 ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 15 วัน



ภาพผนวกที่ 49 ปริมาณยาซัลฟาไดเมททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม ในกลุ่มถ่ายน้ำปกติ หลังจากหยุดให้ยา 25 วัน



ภาพผนวกที่ 50 สารละลายมาตรฐานของยาซัลฟาไดเมททอกซินตกค้างในเนื้อกุ้งขาวแวนนาไม 2.40 พีพีเอ็ม

## ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวกอบทรัพย์ ผลเจริญ
เกิดวันที่	30 ธันวาคม 2530
สถานที่เกิด	อำเภอเมืองระยอง จังหวัดระยอง
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ธัญบุรี
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-