ชุดผู้วิจัยและผู้ใช้ผลงานวิจัย ลำดับที่ ๖

โรคระบาดในปลาน้ำจืด

ชุดผู้วิจัยและผู้ใช้ผลงานวิจัย

ลำดับที่ 6

ประมวลประชุมวิชาการ

เรื่อง

โรคระบาดในปลาน้ำจืด : 2525–2526

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

23–24 มิถุนายน 2526

The Symposium On

Fresh Water Fishes Epidemic : 1982-1983

Chulalongkorn University

23–24 June 1983

โรคระบาดในปลาน้ำจืด : 2525–2526

พาลาภ สิงหเสนี
ระบิล รัตนพานี
จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

บรรณาธิการ

จัดพิมพ์โดย พิมพ์ 1
โครงการเผยแพร่ผลงานวิจัย
ฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
มกราคม 2530

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ครั้งที่ 1
มกราคม 2530
ลิขสิทธิ์เป็นของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฝ่ายวิจัย จุฬาฯ
มอบให้หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
18 / เม.ย. / 33

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

636.0896
ส 924

ปก : อัครพงษ์ อุษณานันท์
จัดการ : อัญชณี สิริเชี่ยวสกุล

27 มี.ค. 2534 พิมพ์ที่โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก 056817

คำนำ

โรคระบาดในปลาน้ำจืดได้ก่อให้เกิดปัญหากระทบกระเทือนอย่างหนักเมื่อปี พ.ศ. 2525 ที่ผ่านมา แม้ว่าจะเคยเกิดขึ้นในบ้านเรามาก่อนหน้านั้นบ้างก็ตามแต่ก็ไม่ได้รุนแรงมากมายนัก การเกิดโรคระบาดในปลาน้ำจืด ปี พ.ศ. 2525 นี้ ทำให้นักวิชาการที่เกี่ยวข้องได้เริ่มตื่นตัว และทำการศึกษาค้นคว้าหาสาเหตุของโรคระบาดปลากันอย่างจริงจัง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้ตระหนักถึงปัญหาเหล่านี้ จึงได้จัดตั้งคณะกรรมการเฉพาะกิจขึ้นชุดหนึ่งเรียกว่าคณะกรรมการเฉพาะกิจแก้ไขปัญหาโรคระบาดสัตว์น้ำเพื่อทำการศึกษาปัญหาเกี่ยวกับเรื่องนี้อย่างจริงจัง นอกจากนี้ยังได้จัดให้มีการประชุมวิชาการเรื่อง "โรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526" ขึ้น เมื่อวันที่ 23–24 มิถุนายน 2526 ณ ห้องประชุมสารนิเทศ หอประชุมจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้เชิญนักวิชาการที่เกี่ยวข้องจากหน่วยงานและสถาบันต่าง ๆ เข้าร่วมประชุมเป็นจำนวนมาก การประชุมในครั้งนี้มีการแลกเปลี่ยนความคิดเห็น และเสนอผลงานวิชาการที่ได้ทำการศึกษาวิจัยไว้รวม 36 หัวข้อ เช่น ปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักที่สะสมในดินดินตะกอนและแหล่งน้ำในประเทศไทย ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารพิษบางชนิดต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย สภาวะแวดล้อมบางประการในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ การหาปริมาณของยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช และโลหะหนักในปลาและน้ำ เป็นต้น

การประชุมวิชาการในครั้งนี้ช่วยให้สามารถมองปัญหาได้กว้างขวางมากขึ้น เพราะเป็นการรวบรวมความรู้เกี่ยวกับโรคระบาดในปลาน้ำจืดของประเทศไทย อันจะส่งผลดีต่อแวดวงวิชาการและผู้เลี้ยงสัตว์น้ำในที่สุด นอกจากนั้นหากความรู้เหล่านี้ได้เผยแพร่ออกไปอย่างกว้างขวางในหมู่นักวิชาการและผู้สนใจในเรื่องนี้ ก็จะทำให้การประชุมวิชาการในครั้งนี้ประสบผลสำเร็จมากยิ่งขึ้น จึงได้จัดพิมพ์เอกสารนี้ขึ้น

ในนามของมหาวิทยาลัย ขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้หนังสือเล่มนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ในที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเจ้าของผลงานวิชาการและบรรณาธิการที่กรุณาช่วยรวบรวมต้นฉบับต่าง ๆ ให้เป็นรูปเล่มเช่นที่ท่านกำลังถืออยู่นี้ หวังว่างานชิ้นนี้คงจะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจบ้างตามสมควร

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศลักษณ์ ทรรพนันทน์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิจัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำนำของบรรณาธิการ

การเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอาชีพที่ทำรายได้ให้กับเกษตรกรและประเทศได้บีละมาก ๆ และจะได้ผลผลิตมากยิ่ง ๆ ขึ้น ถ้าไม่ประสบปัญหากับโรคระบาด ในปัจจุบันนี้ เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาหรือสัตว์น้ำอื่น ๆ ให้ความสำคัญกับปัญหาโรคระบาดเป็นอย่างมาก แต่เกษตรกรส่วนใหญ่ยังขาดความชำนาญในด้านการรักษาและป้องกันโรค หน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้พยายามสร้างเสริมประสบการณ์ทางด้านนี้ให้กับเกษตรกร ซึ่งนับว่าเป็นเรื่องสำคัญและควรจะได้รับการสนับสนุนอย่างยิ่งจากหน่วยราชการที่เกี่ยวข้อง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ก็ได้ให้ความสำคัญทางด้านการประมงของประเทศ โดยให้ความสนับสนุนแก่คณะวิชาต่าง ๆ จัดตั้งและเปิดสอนวิชาการที่เกี่ยวกับการประมง รวมทั้งให้ความสนับสนุนแก่คณาจารย์ของมหาวิทยาลัยในด้านการเสริมสร้างความชำนาญเฉพาะทาง ทั้งนี้เพื่อช่วยให้การประมงของชาติมีความก้าวหน้ายิ่ง ๆ ขึ้น ดังเช่นปัญหาการเกิดโรคระบาดปลาในครั้งนี้ ผลงานวิจัยเรื่องต่าง ๆ ยังผลให้ช่วยลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจและการสาธารณสุขลงอย่างมาก และทำให้เกษตรกรมีความเข้าใจสภาวะการณ์ของโรคระบาดในปลาได้ดีขึ้น

หนังสือชุดผู้วิจัยและผู้ใช้ผลงานวิจัย ลำดับที่ 6 นี้ ได้รวบรวมผลงานวิจัยทั้งหมดที่เสนอในคราวประชุมทางวิชาการ เรื่อง *โรคระบาดในปลาน้ำจืด : 2525–2526* ซึ่งจัดขึ้นเมื่อวันที่ 23–24 มิถุนายน 2526 ณ ห้องประชุมสารนิเทศ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะผู้จัดทำจึงหวังว่า ผลงานวิจัยในเรื่องต่าง ๆ คงจะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ และหวังในความร่วมมือที่จะช่วยกันเผยแพร่ความรู้ต่าง ๆ ไปสู่เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

คณะผู้จัดทำต้องขอถือโอกาสนี้ ขออภัยต่อทุก ๆ ท่าน ในการที่จัดทำหนังสือนี้ล่าช้ากว่าที่ควรจะเป็น ทั้งนี้ เนื่องจากสาเหตุหลายประการนับตั้งแต่การรวบรวมเรื่องเต็ม จนกระทั่งการจัดพิมพ์ แต่อย่างไรก็ตาม หนังสือเล่มนี้ก็สำเร็จลุล่วงด้วยดี ด้วยความร่วมมือจากบุคคลต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องโดยเฉพาะจากฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านการพิมพ์ ซึ่งคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

กองบรรณาธิการ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

คำนำ *รองอธิการบดีฝ่ายวิจัย* จ

คำนำของบรรณาธิการ ช

คำกล่าวเปิดประชุมวิชาการ เรื่อง โรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526
ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เสม พริ้งพวงแก้ว 1

ปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักที่สะสมในดินตะกอนและแหล่งน้ำในประเทศไทย
ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ 12

ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษบางชนิดต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย
ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ 57

สภาวะแวดล้อมบางประการในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ 2525–2526
สุทธิชัย เตมียวณิชย์ 98

การหาปริมาณของยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืชและโลหะหนักในปลาและน้ำ
แม้น อมรสิทธิ์ เพริศพรรณ เกรียวสกุล และคณะ 135

การหาปริมาณของพาราควอตในปลาและในสภาวะแวดล้อมโดยวิธีทางสเปคโตรโฟโตเมตรี
รายชื่อผู้วิจัยเหมือนเรื่องก่อนหน้านี้ 153

การทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอตที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด
เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต พาลาภ สิงหเสนี และคณะ 179

การศึกษาเชื้อรา Achlya sp. จากปลาช่อนที่เป็นโรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า
สุมาลี พิชญางกูร วนิดา โพธารามิก 197

พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลาช่อนต่อเชื้อรา Achlya sp.
สุมาลี พิชญางกูร 206

การศึกษาเบื้องต้นของเชื้อไวรัสกับโรคระบาดของปลา 26
ระบิล รัตนพานี วัฒนา วัฒนวิจารณ์ และคณะ 212

แอร์โรโมแนส โซเบรีย : เชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของโรคในปลา
ศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง จุไรรัตน์ นิลกุล และคณะ 220

โรคระบาดในปลาน้ำจืด สาเหตุจากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่าในประเทศไทย
เกรียงศักดิ์ พูนสุข อรวรรณ นวีภาพ และคณะ 228

การศึกษาทางโลหิตวิทยาของปลาช่อน (Ophicephalus striatus) และปลาตะเพียน (Puntius spp.) ทั้งที่ปกติและป่วยในช่วงระหว่างเดือนมกราคม ถึง กุมภาพันธ์ 2526
จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ ธีรพงศ์ ธีรภัทรสกุล และคณะ 242

การเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อเยื่อของปลาน้ำจืดบางชนิดที่เป็นโรคระบาดระหว่างปี : 2525–2526
ชลอ ลิ้มสุวรรณ สุปราณี ชินบุตร 253

การศึกษาพยาธิสภาพของปลาป่วยจากโรคระบาดปลา พ.ศ. ๒๕๒๕
เทอด เทศประทีป ระบิล รัตนพานี และคณะ 255

สาเหตุต่าง ๆ ที่โน้มนำทำให้ปลาเป็นโรค
เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต 277

* ลักษณะของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า : เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืด มกราคม 2526

เกรียงศักดิ์ พูนสุข เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ 286

การศึกษานิเวศน์วิทยาของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เสตรน F–588

ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ วีระวุฒิ มหามนตรี และคณะ 294

การศึกษาสาเหตุโน้มนำของการเกิดโรคในปลาช่อนเนื่องจากเชื้อแอร์-โรโมนาส ไฮโดรพีล่า F–588

วีระวุฒิ มหามนตรี ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ และคณะ 310

ผลของ Casamino acid และ Paraquat ต่อการติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า F–588 ในปลาช่อน

ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ วีระวุฒิ มหามนตรี และคณะ 326

สภาวะทางธรรมชาติของเชื้อ Aeromonas hydrophila และสภาวะแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำต่อการระบาดของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อ A. hydrophila

ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ วีระวุฒิ มหามนตรี และคณะ 347

การผลิต Enterotoxin และ Hemolysin โดยเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า : เสตรนที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรค

ลัดดาวรรณ เลาห์วีรนิตย์ 359

การศึกษาสารพิษ (Cytotoxin) ของเชื้อ Aeromonas hydrophila ในสภาวะอุณหภูมิที่กำหนด

กรองแก้ว ศุภวัฒน์ ประภาวดี บุญเจริญ และคณะ 368

การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของปลาป่วยและเชื้อที่แยกได้จากปลาป่วยในสัตว์ทดลอง
เทอด เทศประทีป โสมทัต วงศ์สว่าง และคณะ 370

การศึกษาการก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายของเชื้อ Aeromonas hydrophila ที่แยกได้จากแผลปลาช่อน
สงคราม เหลืองทองคำ ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร และคณะ 377

ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ ไอโอดีน ต่อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า
อรุณศรี เตชัสหงษ์ เกรียงศักดิ์ สายธนู 386

ประสิทธิภาพของด่างทับทิมในการฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า
อรุณศรี เตชัสหงษ์ เกรียงศักดิ์ สายธนู 394

การใช้ด่างทับทิมในการรักษาโรคปลา
พิชัย โตวิวิชญ์ 403

พิษเฉียบพลันของ ไอโอดีน คลอรีน และมาลาไคท์กรีน ที่มีต่อปลา และการป้องกันรักษาปลาเป็นโรคด้วยไอโอดีน
สุทธิชัย เตมียวณิชย์ 415

การตรวจและรักษาโรคพยาธิภายนอกในปลาสลิดที่เป็นโรคช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2525–กุมภาพันธ์ 2526
จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ ธีรพงศ์ ธีรภัทรสกุล และคณะ 428

อัตราความไวของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ต่อยา 18 ชนิด : เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืด
เกรียงศักดิ์ พูนสุข เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ 436

การศึกษาเปรียบเทียบความไวของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ต่อยาปฏิชีวนะ

สมใจ เหรียญประยูร 449

การศึกษาเพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในปลาช่อน โดยใช้ยาต้านจุลชีพ

เกรียงศักดิ์ สายธนู เกรียงศักดิ์ พูนสุข 461

* โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในคน : ผลการศึกษา 2521–2526

ประสิทธิ์ อัศวโภคี 515

แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า สาเหตุของโรคอุจจาระร่วงของชาวบ้านหมู่ที่ 2 ตำบลบางเตย

สมใจ เหรียญประยูร สุดาลักษณ์ ฉันทรัชดา และคณะ 518

การตรวจพบเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในชาวบ้านบางเตยที่ไม่มีอาการ

สมใจ เหรียญประยูร กัญชลี เลิศโภคะสมบัติ และคณะ 534

* รายงานการตรวจพบเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า จากผู้ป่วย : เน้นรายงานผู้ป่วยระหว่างที่มีโรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526

ประวิทย์ ชุมเกษียร 547

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำกล่าวเปิดประชุมวิชาการ

เรื่อง โรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เสม พริ้งพวงแก้ว

ท่านอดีตรัฐมนตรีว่าการทบวงมหาวิทยาลัย ท่านประธานจัดงานสัมมนาคราวนี้ ท่านผู้ร่วมในการแก้ปัญหา เรื่อง โรคระบาดของปลาในประเทศไทย กระผมมีความรู้สึกยินดีและรู้สึกเป็นเกียรติอย่างยิ่งที่ได้มีโอกาสมาร่วมในพิธีเปิดสัมมนาในวันนี้ ด้วยเหตุผลที่สำคัญอยู่ 2 ประการ

ประการแรกชีวิตการเป็นแพทย์ของกระผมนั้นก็ได้มาจากสถาบันแห่งนี้ เจือจุนให้กระผมได้มีโอกาสเป็นแพทย์และได้รับใช้ประชาชน ท่านผู้มีเกียรติทั้งหลายคงจำได้ว่าล้นเกล้าล้นกระหม่อมรัชกาลที่ 6 ได้ทรงสร้างจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยขึ้น ในปี พ.ศ. 2460 และเป็นสถาบันแห่งแรกในประเทศไทย ซึ่งได้ให้การศึกษาในระดับสูงสุดของประเทศ เมื่อสถาบันแห่งนี้มีอายุครบ 12 ขวบ หรือ 12 ปี ณ ปี พ.ศ. 2472 กระผมได้มีโอกาสเข้ามาศึกษาในสถาบันแห่งนี้ จากผู้ที่ได้เข้ามาสอบคัดเลือก 600 คน ในสมัยนั้นก็มีอยู่ประมาณ 60 คน ที่ได้มีโอกาสเข้ามาศึกษาในคณะเตรียมแพทย์ในสถาบันแห่งนี้ ขณะนั้นมีตึกอยู่หลังเดียว คือ ตึกอยู่ทางซ้ายมือของท่านที่เห็นอยู่นี้ คือ ตึกอักษรศาสตร์ บริเวณรอบๆอาณาบริเวณที่นี่เต็มไปด้วยต้นจามจุรี สถาบันที่ท่านเห็นอยู่นี้เป็นป่าต้นจามจุรีมีน้ำแฉะ มีถนนสายเดียวที่จะเดินผ่านเข้ามาได้ และเราก็มีความภูมิใจเป็นอย่างยิ่งที่เราได้มีโอกาสเข้ามาศึกษาในสถาบันแห่งนี้

ความเปลี่ยนแปลงอันยิ่งใหญ่ประการหนึ่งของสถาบันแห่งนี้ ด้วยความอนุเคราะห์ของสมเด็จพระราชบิดา เจรจาติดต่อกับร้อกกี้เฟลเลอร์ ในการที่จะให้ความร่วมมือกับประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการศึกษาแพทยศาสตร์ ร้อกกี้เฟลเลอร์ได้ยืนยันว่าประเทศไทยนั้นถ้าจะต้องผลิตแพทย์แล้ว จะผลิตแพทย์ได้ประเภทเดียวเท่านั้น คือ แพทย์ที่ได้รับปริญญาจะผลิตที่ต่ำกว่าปริญญาไม่ได้ นี่เป็นข้อตกลงของร้อกกี้เฟลเลอร์ ที่มีกับประเทศไทยในขณะนั้น เพราะฉะนั้นแพทย์คนใดมีโอกาสได้เข้าทะเบียนไว้ในระบบทางราชการก็ถือว่า ผู้นั้นเป็นแพทย์ นับวันเกิดคำว่า แพทย์ เดือนนั้นมา แพทย์เดือนนั้นก็มีความเป็นมาของคณะแพทยศาสตร์ที่มีอยู่ในปัจจุบันในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในสมัยนั้น แล้วก็มาเป็นคณะที่ได้รับปริญญาคณะแรกในประเทศไทยโดยที่ร้อกกี้เฟลเลอร์เข้ามาช่วยเมื่อ พ.ศ. 2463 เป็นคณะแรกแล้วเราก็ได้มีปริญญาขึ้นมาในบ้านเรา ในปี พ.ศ. 2471 เป็นการตื่นเต้นที่เรามีปริญญาขึ้นมา ซึ่งตอนหลังก็ได้มีความเจริญก้าวหน้าดังที่ท่านเห็นกันทั่ว ประธานได้ชี้แจงเมื่อกี้นี้ว่า หัวใจสำคัญของมหาวิทยาลัยนั้นก็คือการที่จะผลิตผู้ที่จะเป็นบัณฑิตจะเป็นสมองของชาติของเราต่อไปข้างหน้า และอนุรักษ์วัฒนธรรมของเราและสิ่งแวดล้อมที่มีความสำคัญ นอกจากในการผลิตแล้วก็คือ การวิจัยซึ่งถือว่าเป็นเรื่องที่มีความสำคัญยิ่ง

เรื่องโรคระบาดของปลาในประเทศไทยนั้น ตามความเป็นจริงเมื่อกระผมได้รับราชการอยู่ในกระทรวงสาธารณสุขเรื่อยมาก็มาเป็นสมาชิกสภานิติบัญญัติบ้างเป็นรัฐมนตรี 2 สมัยบ้าง ก็ได้เน้นถึงการเปลี่ยนแปลงของสัตว์น้ำซึ่งมีลักษณะที่เป็นแผล

ในการเดินทางไปราชการไปตรวจราชการทางภาคใต้โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางจังหวัดนครศรีธรรมราชลงไป ปลาเขตบริเวณนั้นได้มีผู้รายงานว่ามีปลาตายเป็นบาดแผล ตอนนั้นเราก็ยังไม่ทราบว่าเป็นสาเหตุใด ถึงจะได้มีเหตุการณ์เช่นนั้น

เกิดขึ้น ก็ได้รับการชี้แจงว่าสาธารณสุขจังหวัดว่าอาจจะเนื่องจากมีการติดเชื้อ อาจจะเนื่องมาจากการใช้ยาฆ่าแมลงซึ่งเป็นที่นิยมกันมากในสมัยนั้น ในสมัยต่อมา ปี พ.ศ. 2519 เป็นอันดับแรกที่กระผมได้เขียนไว้ในบันทึกสมุดไดอารี่ของกระผม ว่า ได้ไปเห็นโรคปลาที่เราไม่เคยเห็นมาก่อน ปลาตายก็มีอยู่เสมอ แต่ปลาที่ตายเนื่องมาจากบาดแผลเหวอะหวะเรายังไม่เคยเห็นมาก่อนก็ได้บันทึกไว้ เรื่องการบันทึกนี้ท่านรัฐมนตรีทบวงมหาวิทยาลัยท่านคงจะจำได้ว่า เมื่อครั้งร่วมเป็นรัฐบาลด้วยกันนั้น หลังจากที่ได้มีวันมหาวิปโยคกระผมได้จดบันทึกลงไดอารี่อยู่ตลอดเวลาว่าได้พบอะไรเมื่อไหร่ ที่ใดบ้าง ? แล้วเราก็ไปเปิดดูว่าที่เราเขียนไว้เมื่อ 10 ปีก่อนมีอะไรที่จะศึกษาบ้างถึงเรื่องการระบาดของปลาที่เป็นแผลทางภาคใต้ ซึ่งในเรื่องนี้ยังไม่มีความรู้อะไรมากมายนัก จากสาธารณสุขจังหวัดนั้นมีพวกสารเคมีที่เข้าไปมีส่วนเกี่ยวข้องด้วย และมีการติดเชื้อด้วย ได้มีผู้เสนอแนะว่ามีเชื้อที่อยู่ในทะเลบางอย่างที่สามารถทำให้เกิดเป็นบาดแผลชนิดนี้ขึ้นมาได้ เราก็ไม่ได้บันทึกและให้ความสนใจไว้เป็นพิเศษ ทีนี้เมื่อเกิดเหตุการณ์ขึ้นเมื่อปีที่แล้ว พ.ศ. 2525 ในการเฉลิมฉลองกรุงเทพมหานคร ครบ 200 ปี นอกจากเราจะสนุกสนานกันในด้านของสังคมแล้วเรายังมีปรากฏการณ์อันเป็นพิเศษดังที่ท่านได้เห็นในเรื่องเกี่ยวกับปลาที่เราไม่เคยเห็นมาก่อนเลย สำหรับยาฆ่าแมลงกระทรวงสาธารณสุขได้มีความสนใจและมีความห่วงใยเป็นกรณีพิเศษอยู่ตลอดเวลา เราได้ให้ความห่วงใยเมื่อเราได้นำ ดีดีที. เข้ามาใช้ในประเทศไทย เมื่อปี พ.ศ. 2493 เราได้ไปศึกษา ดีดีที. พบ ดีดีที. ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 แล้ว แต่เนื่องจากพิษของภัยจาก ดีดีที. จึงได้ระงับการใช้ ดีดีที. ไว้จนกระทั่งมาถึงสงครามโลกครั้งที่ 2 เมื่อทางกิจกรรมในด้านเคมีอุตสาหกรรมหรือที่เราเรียกว่าปิโตรเคมิคอล ได้เจริญขึ้นมาแล้วก็ทางโรงงานทางภาคตะวันตกนั้นไม่สามารถจะหาวัตถุดิบได้เหมือนกับที่เรามีอยู่ในภาคตะวันออกจึงได้มีการสังเคราะห์เคมี

วัตถุขึ้นมาเพื่อใช้ในการแก้ไขปัญหาและเราได้นำ ดีดีที. โดยรัฐบาลอเมริกันในสมัยนั้นเสนอแนะให้เราใช้ว่ามีประโยชน์ทางควบคุมขึ้นในประเทศไทย หรือการควบคุมโรคไข้จับสั่นในประเทศไทย เราก็มีความยินดีอย่างยิ่ง เมื่อได้นำ ดีดีที. มาใช้ในประเทศไทยความชุกชุมของยุงก็ได้ลดลง กระผมเองในขณะที่ยังรับราชการเป็นผู้อำนวยการ โรงพยาบาลหญิงอยู่ในขณะนั้นมียุงชุกชุมมากก็ได้นำเอาหมอกควันของ ดีดีที. เข้ามาใช้ ก่อนจะนำเข้ามาใช้ก็ได้ศึกษาจำนวนยาต่อเนื้อที่ที่มากน้อยแค่ไหน เมื่อหาความหนาแน่นของยุงในบริเวณโรงพยาบาลหญิงและเมื่อเราได้พ่นหมอกควันเรียบร้อยแล้ว จำนวนยุงก็ได้ลดน้อยลงอย่างที่เราปรารถนาไว้ แต่ภายในเดือนที่ 1 หลังจากทำการพ่นยา ดีดีที. มา ปรากฏว่าจำนวนยุงที่เราได้ทำการทดลองหาปริมาณยุงนั้นปรากฏว่ามันเพิ่มขึ้นอีกหลายเท่าก็เลยมานึกคิดออกว่าเหมือนกับประชากรของเรา ถ้าเราไล่คนหนึ่งคนใดออกไปเสียจากอาณาบริเวณนั้นได้สำเร็จเราก็ดีใจ แต่ว่าถ้าเราไม่สามารถที่จะควบคุมประชากรได้แล้วและไหลกลับไปยังที่เดิมอีกมันก็จะไม่ได้ประโยชน์ กลับจะเป็นผลร้าย คือ จำนวนประชากรของเราเพิ่มขึ้นมากกว่าเก่า มันกลับทำให้เราเดือดร้อนมากขึ้นมองดูว่าเรากำลังทำอะไรอยู่ในขณะนั้น ทำสิ่งหนึ่งซึ่งเราจะชนะธรรมชาติให้ได้ คือ ทำลายยุงให้ได้และเราสามารถทำได้ แต่การกระทำของเรานั้นทำได้เพียงระยะหนึ่งเท่านั้นก็ได้นำความคิดนั้นมานึกคิดอยู่ตลอดเวลาและตั้งแต่ปี พ.ศ. 2493 จนถึงปัจจุบันนี้ก็เป็นเวลา 30 กว่าปีมาแล้ว การแก้ไขปัญหาเรื่องโรคไข้จับสั่นในไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่ง จำนวนประชากรของยุงนั้นเราก็ยังไม่สามารถกำจัดลงได้อย่างเด็ดขาด ทั้ง ๆ ที่รัฐบาลต่างประเทศและไทยเราก็ได้ลงทุนเป็นจำนวนมากเป็นเงินหลายสิบล้านบาทในการแก้ปัญหาเรื่องยุงการแก้ปัญหาเร่งด่วนนี้เราก็ไม่สามารถจะชนะได้ สวนจิตรลดาที่กระผมมีกิจกรรมที่กระผมต้องเข้าไปทุกวันเดี๋ยวนี้ก็ปรากฏว่าสิ่งที่กลัวที่สุดก็คือยุง ยุงนั้นไม่สามารถทราบว่าวัน

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นี้เป็นเขตพระราชฐานหรือเขตมหาวิทยาลัย และยุงที่มีอยู่ในต่างประเทศก็ไม่เคยมีพาสปอร์ตที่จะเดินทางเข้ามา ถ้าประเทศที่อยู่รอบบ้านเราไม่ได้สนใจอะไรเลย เราเพียงสนใจอยู่ประเทศเดียว เพราะฉะนั้นการแก้ไขเรื่องโรคไข้จับสั่นในประเทศเรา แก้ปัญหาโดยเอาเงินถมเท่าไหร่ก็ถมไม่เต็ม ที่กระผมกราบเรียนมานี้เพื่อเป็นเครื่องรำลึกของท่านทั้งหลายที่เป็นมันสมองของชาติว่า ในการแก้ปัญหาอย่างหนึ่งนั้นเราจะไปมองผลเลิศที่จะเกิดขึ้นได้ยากมาก เมื่อปี พ.ศ. 2497–98 ได้เกิดโรคระบาดขึ้นในเด็กในไทย ซึ่งไม่เคยมีมาก่อน โรคระบาดนี้เราเคยศึกษามาสมัยก่อนเป็นการศึกษาที่เราเห็นจากเด็กที่เป็นไข้ เราว่าโรคไข้หวัดใหญ่แล้วเราแก้ไขอาการไข้หวัดใหญ่ด้วยการให้กิน แอสไพลิน หรือ ซาลิซิเลต เด็กพวกนั้นบางรายมีอาการช็อคตัวเย็นและซีดมีเลือดออก แก้ไขไม่ได้สมใจจนกระทั่งมาถึง ปี พ.ศ. 2488–89 เกิดมีการระบาดขึ้นในประเทศไทยด้วยยังตอนนั้นกระผมได้เปิดโรงพยาบาลเด็กขึ้นและในปี 2497 ก็ยังไม่สามารถหาสาเหตุอะไรที่เป็นตัวการสำคัญและนึกว่า ซาลิซาเลตเป็นตัวสำคัญของการทำให้เกิดมีอาการเลือดออกได้ เราไม่นึกว่าอาการที่ให้ ซาลิซาเลต นั้นระบาดเกิดขึ้นมาใน กทม. ในขณะนั้นในที่สุดก็ต้องไปเชิญชาวต่างประเทศเข้ามาเพื่อมาศึกษา ก็พบว่าเป็นเชื้อไวรัสซึ่งเชื้อตัวนี้ก็พบที่อาฟริกา ซึ่งมันแปลกประหลาดและพิสดาร ชื่อ ชิชิกุลยา ในตอนแรกก็จำแล้วจำอีก ทำไมไข้เลือดออกจึงไม่ระบาดในปี พ.ศ. 2477–78 เป็นเพราะสาเหตุอะไร วันนี้ที่ท่านนักวิจัยจะต้องศึกษาวิจัยในเวลาเดียวกันเหตุการณ์ที่ระบาดในปลาคราวนี้ ทำไมคราวก่อนไม่เป็นแต่คราวนี้มาเป็นและคำตอบที่จะได้ก็คงไม่วายนึกว่าเป็นเพราะเหตุนั้นเพราะเหตุนี้อย่างเดียว พรุ่งนี้ที่โรงพยาบาลศิริราช กระผมจะพูดถึงเรื่องวันมหาวิปโยค ซึ่งกระผมกับท่านอดีตรัฐมนตรีว่าการทบวงฯ ได้ไปเป็นผู้แก้ไขปัญหาบ้านเมืองในตอนนั้นอยู่ ในการเกิดวันมหาวิปโยคไม่ใช่เกิดจากเด็ก 9 คน ถูกลบชื่อออกจากมหาวิทยาลัยรามคำแหง

ไม่ใช่เป็นเพราะเหตุ คุณธีรยุทธ และคณะไปนั่งอยู่ที่นั่นเพื่อเรียกร้องรัฐธรรมนูญ ความยุติธรรมเพื่อให้เกิดมีรัฐธรรมนูญ แต่ทุกอย่างมันค่อย ๆ สะสม จนกระทั่งถึงจุดที่ เราเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า "เป็นฟางชิ้นสุดท้ายที่ไปวางบนหลังอูฐตัวนั้นแล้วทำให้อูฐตัวนั้นหลังหัก" เพราะเราจะไปมองเอาว่าฟางชิ้นนั้นทำให้หลังอูฐหักไม่ได้เพราะมันจะต้องมีอีกหลายอย่างหลายประการ เพราะฉะนั้นในการระบาดโรคของปลาในครั้งนี้ ที่เราได้เห็นมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2519 ก็คงจะมีการสะสมกันอยู่ไม่น้อย สิ่งที่เราเห็นกันอยู่ก็คือว่า ได้มีการเปลี่ยนแปลงหลังจาก พ.ศ. 2493 มาจนกระทั่งถึงปัจจุบันนี้ การเปลี่ยนแปลงในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนในน้ำ ในแม่น้ำ น้ำตามลำคลอง และการตื่นตัวของเราในปี พ.ศ. 2500 ที่จะพยายามสร้างทิศทางคมนาคมของเราให้ดี ทำลายคลอง ถมคลองจนทำให้เกียรติภูมิของเราที่เคยได้รับเกียรติภูมิว่าเป็น "เวนิสตะวันออก" กลายเป็นคลองที่เหม็น คลองที่เน่าและที่เห็นเมื่อ 2–3 วันนี้บอกว่าอาจจะเนื่องมาจากผงซักฟอก คำตอบข้อนี้คงจะไม่ง่ายนัก แต่ว่าคงจะมีความสัมพันธ์อย่างแน่นอนเพราะเมื่อก่อนนี้น้ำในคลองต่าง ๆ ไม่เคยดำมะเมี่ยมเหมือนเดี๋ยวนี้ เดี๋ยวนี้เปลี่ยนแปลงไปมันเปลี่ยนแปลงไปเพราะน้ำมือของเรา มันเปลี่ยนแปลงความเจริญของเทคโนโลยีซึ่งเรามองแต่ด้านเดียวว่าสะดวกสบายต่อเรา เราซักผ้าได้รวดเร็วสะอาดถึงแม้มันสะอาดจนกระทั่งเราสามารถดมความสะอาดได้ เราก็ถูกล้างสมองให้เกิดความเชื่อในสิ่งที่เป็นไปไม่ได้ และเรายังเชื่อกันอยู่ในปัจจุบันนี้ ครั้นมาถึงปัจจุบันนี้เรามาตื่นตัวตื่นใจว่าเราไม่ควรจะใช้ แล้วใครเล่าจะกระโดดออกมาว่าเลิกใช้วันนี้

ในสมัยวัยเด็กขณะที่เข้ามาเรียนในมหาวิทยาลัยนี้สมัยนั้น สบู่ก็ยังไม่ค่อยจะมีเราก็ใช้น้ำด่างจากขี้เถ้า และใช้น้ำจากแม่น้ำลำคลองชำระล้างร่างกายของเรา และใช้น้ำด่างนี้แหละซักผ้าเราก็อยู่ได้ด้วยความเป็นสุขพอสมควร จนเดี๋ยวนี้

แม้แต่สบู่เราก็บอกว่าล้าสมัยจะต้องใช้สิ่งที่มีประสิทธิภาพสูงแล้วก็มีโฆษณาอยู่ทุกวัน แล้วก็คอยดูว่าเป็นภาษาอีสานบ้าง ภาษาเหนือบ้าง หมายถึงครอบคลุมไปถึงประชากรได้ทั้ง 50 ล้านคนไม่ว่าจะอยู่ที่ไหน จะต้องถูกล้างด้วยผงซักฟอกเหล่านี้ และท่านก็คงจะเห็นแล้วว่าผลเป็นอย่างไรบ้าง ฉะนั้นเมื่อวันที่ 8 ม.ค. ปีนี้ ตอนเย็น ท่านรัฐมนตรีช่วยเกษตรฯ ท่านก็โทรศัพท์ถึงผมว่าจะให้กระผมไปประชุมเกี่ยวกับปลาที่เกิดตายมากมายที่ท่านฝ่ายจัดการสัมมนาได้ชี้แจงมา กระผมก็ไปในฐานะที่ปลากับคนนี้มีความสัมพันธ์กัน ในน้ำมีปลาในนามีข้าว เรื่องที่สำคัญเกี่ยวกับมนุษย์ กระผมก็ไปในฐานะที่รับผิดชอบเกี่ยวกับมนุษย์ ไปที่นั่นก็ไปมุ่งดูแล้วเขาก็ เชิญ รัฐมนตรีอุตสาหกรรมมา รัฐมนตรีทบวงวิทยาศาสตร์มาด้วย มองไปมองมาเห็นผมมีอายุมากหน่อยจึงให้ผมเป็นประธาน ความจริงผมไม่ควรเป็น เรื่องปลาเรื่องอะไรต่างๆ ไม่ควรมาอยู่ที่ผมเมื่อเรื่องมาอยู่ในรูปนี้ผมจึงต้องตกกระไดพลอยโจนว่าเอาซิเป็นก็เป็น สิ่งที่ผมประทับใจมากในวันนั้นวันเสาร์ที่ 8 ม.ค. ในห้องประชุมของ ร.ม.ต. บุญเอื้อ ได้เชิญนักวิชาการหลายคนด้วยกันมานั่งอยู่ในห้องประชุม บางท่านก็เคยได้ยินชื่อแต่ในหนังสือพิมพ์ สิ่งที่ท่านแสดงออกต่อการที่อยากจะเข้ามาแก้ปัญหาด้วยความบริสุทธิ์ใจไม่หวังอะไรตอบแทนทั้งสิ้น เป็นนิมิตที่ดีที่ประทับใจผมมาก ผมประชดว่าถ้าไทยเราทั้งนักวิชาการและไม่ใช่นักวิชาการเกิดมีปัญหาแล้วเรามาร่วมจิตร่วมใจกันแก้ปัญหาด้วยความบริสุทธิ์ใจด้วยความไม่มีตัวตนอย่างนี้ และในวันที่ 8 มกราคม 2526 ชาติของเราจะไปรอดและไปได้สวยกว่าในปัจจุบัน ปัญหาของการมีหมู่ คณะ และตัวตน ปัญหาของการเป็นสถาบัน ทำให้การร่วมมือร่วมใจประสานงานต้องประสบความยุ่งยาก แต่ในบ่ายวันนั้นผมรู้สึกว่าประเทศไทยเรานั้นไม่อยู่ในสถาบันไหน ระดับไหนสามารถรวมใจกันแก้ปัญหาบ้านเมืองได้ โดยการแสดงความเห็นด้วยความบริสุทธิ์ใจ แม้ว่าบางครั้งจะไม่ได้รับการยอมรับจากอีกท่านหนึ่งซึ่งก็

เป็นเรื่องของปุถุชนธรรมดา ซึ่งน่าสรรเสริญในน้ำใจมีการให้อภัย มีการประนีประนอมคิดในการแก้ไขปัญหาในเรื่องนี้ด้วยความปรารถนาดีของทุกคน ผมขอยืนยันในความประทับใจและเป็นนิมิตอันดีของกรุงเทพ ฯ 200 ปีนี้ว่า อุดมการณ์อันนี้คงได้อยู่ในจิตใจของท่านนักวิชาการทั้งหลายและคงได้เสริมสร้างการแก้ปัญหาบ้านเมืองให้ลุล่วงไปด้วยดีอย่างแน่นอน

ในปัญหาเกี่ยวกับเรื่องปลาตายมีการแก้ปัญหาอย่างรีบด่วน อันดับแรกจำนวนปลาที่ตายอย่างมากมายเป็นจำนวนร้อย จำนวนพัน จำนวนหมื่น ควรนำปลานี้ไปทำลายเสีย เช่น การที่เราพบผู้ป่วยโรคระบาด หน้าที่ของเราก็คือการทำลายสิ่งที่หมดชีวิตซึ่งเป็นศูนย์ของการระบาด โดยมิได้คำนึงถึงว่าจะเป็นผลเสียหายหรือเป็นตัวอย่างที่ไม่ดีอย่างไร ผมได้ปรารภว่าควรนำปลาไปทำลายให้สิ้น ผมได้เห็นวิธีการที่ชาวบ่อเขาทำโดยนำปลาขึ้นมาได้เพียงไม่กี่ตัวผมเองก็เห็นใจชาวบ่อกับครอบครัวของเขา 5-6 คน มีปลาตายเป็นพัน ๆ หมื่น ๆ ใครจะมีน้ำใจลงไปจับมันมาทำลาย ทำเพื่ออะไร บางแห่งนำมันมาปล่อยให้แห้งมีหนอนขึ้นเต็มไปหมด น้ำที่เน่านั้นไหลไปสู่ลำคลองที่ใกล้เคียงเป็นการทำให้โรคระบาดยิ่งขึ้น ผมได้เสนอให้มีการทำลายในด้านของสาธารณสุข แต่ผู้ใหญ่ในขณะนั้นเห็นว่าจะเป็นตัวอย่างที่ไม่ดี เพราะทำไปถ้าวัวควายเกิดตาย รัฐบาลมิต้องโดดเข้าไปซื้อวัวควายมาหรือ ผมขอฝากความรู้สึกต่อท่านว่าเรากำลังจะไปซับน้ำตาพี่น้องประชาชนเหมือนกับคนที่ลอยอยู่ในแม่น้ำ ทะเล คนที่อยู่ในน้ำซึ่งว่ายน้ำไม่เป็นจะไขว่คว้าสิ่งสุดท้ายที่เขาเห็น ดังนั้นการซับน้ำตาแต่เพียงการพูดอย่างเดียวโดยไม่ปฏิบัติให้เห็นว่าสำนึกในความเสียหาย แม้ว่าจะไม่ใหญ่โตอย่างไรก็ตาม หรืออยู่ ๆ ได้เดินทางอยู่ที่ที่ไม่มีน้ำรับประทานเป็นเวลานาน ๆ การให้น้ำแม้เพียงหนึ่งอึกก็ตามจะทำให้เขารู้สึกประทับใจยิ่งกว่าสิ่งใดทั้งสิ้น ผมจึงสนใจในการทำลายปลานั้นจะเป็นเงินหลายแสนบาท ผมก็เห็นใจรัฐบาลว่าทำไม่ได้ แต่

ผมว่าจะต้องพยายามทำต้องทำเรื่องนี้ ถ้าไม่ได้ผมก็ทำงานของผมไม่ได้ แล้วก็ต่อรองกันไปมาจนได้เงินแปดแสนบาทเพื่อใช้ทำลายปลา มีปัญหาว่าปลาที่ตายนี้จะเป็นผลร้ายหรือไม่ ก็ออกไปดูกันในวันอาทิตย์ ได้มีการนำปลาไปทำน้ำปลา ปลาร้า ปลาส้ม โดยโรงงานจากชัยนาทไปรับซื้อราคาตก กก.ละ 3–4 บาท ผมเป็นห่วงว่าปลาที่นำไปจะมีผลร้ายต่อประชาชนอย่างไรหรือไม่ โดยเฉพาะพี่น้องภาคอีสาน เพราะการทำปลาร้าเป็นเรื่องสำคัญมาก ผมได้เดินทางไปกับคณะพวกเราที่ได้เดินทางไปกันตรงนั้นนั้น ผมไปถึงก็เห็นชาวบ้านขอดเกล็ดปลาอย่างว้าวุ่นเสร็จแล้วก็ใส่เกลือทำเป็นปลาร้าต่อไป ถามเขาบอกว่าเป็นอะไรบ้าง นำไปกินเขาก็บอกว่าไม่เห็นเป็นอะไร คุณหมออยากกินบ้างไหมล่ะ แล้วก็มีนักเลงดีกำลังนั่งกินเหล้ากัน เขาก็กินปลาให้เราดู ถามว่าคุณหมอเอาบ้างไหม ผมเองก็อยากลองบ้างแต่กลัวว่าถ้าเกิดเป็นอะไรไปจะมีปัญหาวุ่นไม่น้อย เหมือนกับตอนหลังที่มีการโฆษณาให้รับประทานปลาที่สวนจตุจักรก็เชิญผมไปและจับปลามาให้ผมกิน และมีการถ่ายรูปผมก็พยายามทำทุกสิ่งทุกอย่างเพื่อให้เกิดความเชื่อแก่ประชาชน แล้วลูกศิษย์ผมที่เทศบาลนครกรุงเทพฯ เข้ามากระซิบบอกผมว่าคณะกรรมการเขาเป็นห่วงกลัวว่าอาจารย์จะเป็นอะไรไป ผมถามว่าห่วงเรื่องอะไร เพราะอาจารย์อายุ 72 แล้ว ถ้าเกิดเป็นลมไปจะพาให้เขาขายปลาทั่วประเทศไม่ออกไปนานใน 10 ปีข้างหน้า เห็นว่าทำให้เกิดความรู้สึกของประชาชนขนาดไหนในระยะนั้นเราห่วงใยมาก เราไปดูว่าบ่อปลาตอนนั้นมีประชากรปลาตายมากมายเหลือเกิน ถ้ามีใครไปจุ่มมือขึ้นมาตลอดเวลาก็ยังมีอีกมากมาย ปัญหาสิ่งแวดล้อมเรื่องน้ำ ปัญหาเรื่องจำนวนประชากรของปลา มีผลเสียหายอะไรบ้าง ก็ถามชาวสวนชาวบ่อว่าทำไมต้องทำแบบนั้น

เขาก็คำนวณออกมาเลยว่าในบ่อหนึ่งนั้นราคาประมาณห้าแสนบาท เขาจะเอาตัวเงินห้าแสนบาทคูณด้วยจำนวนบ่อ จำนวนปลาซึ่งไม่ควรมีปลาเกินประมาณ

แปดถึงเก้าพันก็จะได้น้อย จึงพยายามใส่ให้ได้มากที่สุดที่จะมากได้โดยไม่คำนึงถึงว่าจะมีอะไรเกิดขึ้น ในการพิจารณากันคราวนั้นว่าสาเหตุที่สำคัญของโรคระบาดปลามีอะไรบ้าง อันที่หนึ่งก็คือตัวปลาเป็นสำคัญ อีกอันหนึ่ง คือ การต่อต้านโดยธรรมชาติของปลา (Natural resistance) ที่มีต่อสิ่งแวดล้อมหรือมลสารทั้งหลายแหล่ว่ามีอะไรบ้าง เราก็เข้าใจในเรื่องนี้เพื่อให้ได้เห็นโรค AIDS ซึ่งตื่นเต้นมากในประเทศตะวันตก จนมีการเดินขบวนให้รัฐวิจัยในเรื่องนี้โดยเฉพาะพวกเกย์ทั้งหลายที่นิยมเดินทางโดยไม่เป็นไปตามธรรมชาติ ธรรมชาติต้องการให้มีมนุษย์อยู่บนโลก แต่ถ้ามีการทำให้มันผิดแต่มีความสุขซึ่งเราก็ไม่ขัดข้อง ผลร้ายก็คือมีโรค AIDS ซึ่งร่างกายมีภูมิคุ้มโรคเสื่อมทรามลง เช่นเดียวกับในโรคปลาซึ่งก็คงเป็นเพราะภูมิคุ้มกันเสื่อมทรามลง เราก็ได้ไปดูความสะอาดของน้ำ ดูสารเป็นพิษต่าง ๆ ในขณะที่เรานำรถไป ระหว่างอยุธยา, สองพี่น้อง เราก็เห็นปลาที่ตายโดยธรรมชาติในลำคลอง ได้ฟังข่าวจากประชาชนว่าที่นี่มีปลาตายอยู่เยอะ ที่นั้นมีปลาตายอยู่เยอะ เราจะแก้ปัญหาอะไรได้บ้าง ในขณะเดียวกันได้เห็นการทำนาในจังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งมีการทำนาได้ 2 ครั้ง เพราะมีน้ำบริบูรณ์ มีการใช้ Insecticide อย่างฟุ่มเฟือยมาก ได้เห็นผู้ทำการสเปย์สาร Insecticide เนื่องจากไทยมีอากาศร้อนจึงไม่ใส่เสื้อ นุ่งกางเกงเพียงตัวเดียว และมีคำแนะนำให้หาอะไรบีดปาก บีดจมูก เขาก็บอกว่าที่นี่มันร้อนหายใจไม่สะดวก ก็ไม่จำเป็นต้องไปบีดมัน บีดทำไม ก็เป็นความรู้สึกของพี่น้องประชาชนเอง ในการนั้น อันนี้ที่เรามองเห็นความฟุ่มเฟือยในการใช้ซึ่งประเทศเรามีการใช้ยาฆ่าแมลงมากที่สุดประเทศอื่นเขาก็ไม่ใช้กันมากเท่าประเทศไทย อันนี้จึงทำให้ผมได้เกิดความสงสัยว่ายาฆ่าแมลงมีความสำคัญหรือไม่ ในการนี้จึงได้ทำการศึกษา และผลงานของท่านอาจารย์ทั้งหลายที่ได้รายงานให้ทราบ ก็เป็นที่ประทับใจ ทำให้บริษัทที่ผลิตวัตถุเคมีเหล่านั้นเดือดร้อน ทำจดหมายไปเวียนว่ายหาผมอยู่ตลอดเวลาว่าสารของ

เขาดีไม่มีพิษมีภัยไม่มีอันตรายใช้ได้ ทางนักวิชาการก็บอกว่ามันไม่ดีต้องแก้ไข สูตรนี้ทางประเทศอเมริกาเขาไม่ใช้กันแล้วทางยุโรปก็เลิกแล้ว ก็เหมือนในเรื่องยาฆ่าแมลงที่เขาเลิกใช้กันแล้วแต่เราก็ยังใช้กันอยู่ อันนี้เป็นสิ่งที่นักวิชาการทั้งหลายต้องช่วยกันศึกษาวิจัยคลี่คลายปัญหา เพื่อความสุขของประชาชนของเรา และเราผู้เป็นคนธรรมดาก็จะได้อาศัยสติปัญญาท่านทั้งหลายแก้ไขปัญหาทั้งหลายให้ลุล่วงไปได้ และขอสรรเสริญน้ำใจท่านทั้งหลายที่แสดงออกในบ่ายวันนั้นและวันต่อ ๆ มาที่เรามีการประชุมที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ท่านทั้งหลายได้แสดงด้วยความกระตือรือร้น ได้แสดงความปรารถนาดีได้ท้วงติงต่าง ๆ เพื่อให้ได้ประโยชน์อันแท้จริงขึ้นมา โดยมิได้คำนึงถึงตำแหน่งสถาบัน แต่เรามาร่วมใจกันเพื่อแก้ปัญหาสำคัญของบ้านเมือง ในวันนี้ท่านทั้งหลายยังได้อุตส่าห์ติดตามผลงานอันนี้ และจะมีการประชุมถึงผลงานที่พวกท่านได้ศึกษาวิจัยกันเพื่อให้รู้กับแก้ปัญหาให้ได้ จึงนับว่าท่านได้ทำหน้าที่อันน่าสรรเสริญเป็นอย่างยิ่ง ผมจึงแน่ใจว่าผลงานของท่านใน 2 วันนี้ จะมีผลต่อมนุษยชาติมิใช่เพียงแต่คนไทยเท่านั้น และน้ำใสใจจริงที่แสดงออกในวันนั้น คงจะได้แสดงออกใน 2 วันข้างหน้านี้ด้วย ผมแน่ใจว่าบรรยากาศและอุดมการณ์จะแผ่ซ่านไปในทุกขุมขนของท่าน ท่านจะได้นำความรู้สึกที่ไม่มีเขาไม่มีเรา ไม่มีสถาบันใด ๆ แต่เรื่องความผาสุกของมนุษยชาติ ผมจึงขออวยพรให้การสัมมนาครั้งนี้สำเร็จตามปรารถนาทุกประการ ให้ท่านเดินทางกลับไปยังสถาบันของท่านและมีกำลังใจโดยไม่หยุดยั้งโดยที่ทำการศึกษาวิจัย เราคงไม่ลงเอยง่าย ๆ ว่าด้วยมีสาเหตุ 1, 2, 3, 4, 5 เป็นสาเหตุ แต่คงมีสาเหตุอีกมากมาย ในการแก้ปัญหานั้นต้องนึกอยู่เสมอว่าจะต้องมีปัญหาใหม่เกิดขึ้นอย่างแน่นอน และท่านจะแก้ไขปัญหาใหม่อย่างไร ผมได้ย้ำว่าปัญหามิใช่สิ่งทำลาย แต่ปัญหาจะแฝงด้วยความสำเร็จ สำหรับท่านทั้งหลายในการแก้ปัญหาเพื่อให้ท่านชนะ เพื่อเกียรติภูมิของท่านเอง ผมขออวยพรให้การสัมมนาครั้งนี้จงสัมฤทธิผลทุกประการ ผมขอขอบคุณอย่างยิ่ง.

ปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักที่สะสมในดินตะกอนและแหล่งน้ำในประเทศไทย

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

รายงานนี้ได้รวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับปริมาณการสะสมของสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักในดินตะกอนและแหล่งน้ำในประเทศไทย ได้แก่ บริเวณแม่น้ำสายสำคัญต่าง ๆ บริเวณปากแม่น้ำและในทะเล ปริมาณสารพิษในมวลน้ำจะต่ำกว่าที่พบในดินตะกอน นอกจากนี้จากรายงานที่รวบรวมไว้ปรากฏว่าปริมาณสารมีพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่พบในน้ำส่วนใหญ่ยังต่ำกว่าค่ามาตรฐานมาก ส่วนปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในดินตะกอนสูงกว่าในน้ำมาก ส่วนปริมาณโลหะหนักที่พบตามแม่น้ำสายสำคัญต่าง ๆ บริเวณปากแม่น้ำและในทะเลส่วนมากยังต่ำกว่าค่ามาตรฐาน และปริมาณโลหะหนักในดินตะกอนมีอยู่สูงกว่าในน้ำมากเช่นเดียวกัน

Accumulation of Pesticide Residues And Tracemetal in Aquatic Environment in Thailand.

Nittharatana Paphavasit

Deparment of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

This report is the compilation of reviewed literatures on accumulation of pesticide residues and tracemetal in aquatic environment in Thailand including river, estuaries and marine environment. Most toxic substances tend to accumulate in lower concentrations in the water column than in the sediment. At present, pesticide residues in the water column are lower than the standard values. The sediment tend to accumulate high concentrations of pesticide residues as compared to the water column. Tracemetal concentrations in the rivers, estuaries and marine environment are lower than the standard values. Again the tracemetal concentrations in the sediment are higher than in the water column.

บทนำ

ปริมาณการสะสมของสารมีพิษในน้ำและในดินตะกอนตามแหล่งน้ำต่างๆ สามารถบอกได้ถึงแนวโน้มของปัญหามลภาวะที่เกิดขึ้นกับแหล่งน้ำหรือการเสื่อมคุณภาพของน้ำในแหล่งน้ำนั้น ๆ ตามปกติสารพิษที่สำคัญได้แก่สารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักนั้นจะอยู่ในน้ำในรูปของสารละลายและที่ติดกับตะกอน

แขวนลอยในน้ำ ปริมาณของสารพิษที่ตรวจพบในน้ำจะมีค่าต่ำกว่าปริมาณที่สะสมอยู่ในดินตะกอนและในตัวสิ่งมีชีวิต ดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำจะเป็นแหล่งสะสมของสารมีพิษเหล่านี้ได้เป็นอย่างดีเนื่องจากลักษณะของดินตะกอนที่ละเอียด ลักษณะการไหลเวียนตลอดจนกระแสน้ำในบริเวณนี้และกิจกรรมของสัตว์ที่อาศัยในบริเวณนี้ โดยเฉพาะพวกที่กรองอาหารจากน้ำ สารพิษเหล่านี้เมื่อเข้าสู่สิ่งแวดล้อมแล้วอาจมีการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างทางเคมีหรือทำปฏิกิริยากับสารอื่นทำให้ความเป็นพิษของสารเหล่านี้เปลี่ยนแปลงไปซึ่งอาจทำให้ความเป็นพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ดังนั้นการติดตามปริมาณและการเปลี่ยนแปลงของสารมีพิษในสิ่งแวดล้อมจึงมีความสำคัญมาก

ในปัจจุบันในประเทศไทยได้มีการกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดในประเทศไทยและมีการแบ่งระดับคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ ตารางที่ 1 เป็นมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย ส่วนตารางที่ 2 เป็นการแบ่งระดับคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ สำหรับในน้ำทะเลได้ยึดถือตามมาตรฐานสากลโลก นอกจากนี้ยังมีประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดคุณภาพน้ำทิ้งที่จะระบายจากโรงงานอุตสาหกรรมทุกประเภทตามตารางที่ 3 ข้อมูลที่เกี่ยวกับปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักในดินตะกอนและแหล่งน้ำต่าง ๆ ในประเทศไทยนั้นมีมากมายทั้งในแม่น้ำสายสำคัญต่าง ๆ เขื่อนเก็บน้ำ บริเวณปากแม่น้ำและในทะเล ในรายงานนี้ได้หาค่าเฉลี่ย (Average) และพิกัด (Range) ของปริมาณสารมีพิษในงานวิจัยแต่ละเรื่องไว้ ค่าที่ได้จากงานวิจัยแต่ละเรื่องนั้นจะมีค่าแตกต่างกันมากเนื่องจากวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารมีพิษเหล่านี้ ในกรณีนี้ที่ผู้เขียนได้พยายามสรุปว่าในแหล่งน้ำแต่ละแหล่งที่มีการศึกษานั้นมีปริมาณสารมีพิษสะสมอยู่ในปริมาณที่สูงหรือต่ำกว่าเกินมาตรฐานคุณภาพน้ำที่กำหนด *โดยตั้งสมมติฐานว่าค่าปริมาณสารพิษที่รายงานไว้ในงานวิจัยต่าง ๆ นั้นไม่มีความแตกต่างกันเนื่องจากวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารมีพิษ*

สารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่สะสมในดินตะกอน และแหล่งน้ำในประเทศไทย

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ ฯ (2516) ได้ออกเก็บตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำสำคัญแทบทุกสายและลำคลองขนาดใหญ่ที่ไหลผ่านพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกและมีทางติดต่อออกสู่แม่น้ำจากภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณวัตถุมีพิษตกค้างจากตัวอย่าง 150 ตัวอย่าง พบว่ามีวัตถุมีพิษตกค้างอยู่ในน้ำถึง 69 ตัวอย่าง และเป็นชนิด chlorinated hydrocarbon ทั้งสิ้นได้แก่ p-p-DDT, Dieldrin และ TDE พบว่าตัวอย่างน้ำที่เก็บจากคลองคำเนินสะดวก ราชบุรี ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการเพาะปลูกพืชผักหลายชนิดจำนวน 25 ตัว อย่างนั้น พบวัตถุมีพิษตกค้างใน 20 ตัวอย่างและพบปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดเกินกว่าที่พบในตัวอย่างจากแหล่งน้ำแห่งอื่น ๆ ปริมาณสารพิษตกค้างที่สะสมในน้ำมีดังนี้ คือ p,p-DDT 0.0001–0.0034 ppm, Dieldrin 0.0001–0.0041 ppm and TDE 0.0001–0.0008 ppm.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ ฯ (2517) ได้ทำการศึกษาต่อเนื่องโดยออกสำรวจเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำของภาคต่าง ๆ ทั่วประเทศ การสำรวจทุกภาคยกเว้นภาคใต้ได้กระทำอย่างสม่ำเสมอ คือ เฉลี่ยประมาณปีละ 2 ครั้งต่อภาค ตัวอย่างที่วิเคราะห์รวมทั้งสิ้น 126 ตัวอย่าง สารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่พบเป็นชนิด chlorinated hydrocarbon ทั้งสิ้นได้แก่ p,p-DDT, p,p-DDE, p,p-TDE และ Dieldrin ที่พบบ่อยที่สุดคือ p,p-DDT ซึ่งพบปริมาณสูงสุด คือ 0.0025 ppm ที่แหล่งน้ำจังหวัดนนทบุรี สำหรับ p,p-DDE พบสูงสุด 0.0006 ppm ที่แม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา p,p-TDE พบสูงสุด 0.0007 ppm ที่แม่น้ำสะแกกรัง จังหวัดอุทัยธานี และ Dieldrin พบ 0.0005 ppm ที่คลองคำเนินสะดวก จ. ราชบุรี เป็นที่น่าเกตว่า Dieldrin พบอยู่เป็นประจำในแถบ

คลองดำเนินสะดวก อาจเนื่องมาจากมีการใช้สารมีพิษชนิดนี้กันอย่างกว้างขวาง หรือเกิดจากการชะล้างของสารมีพิษจากพื้นดินลงสู่แหล่งน้ำ ผลการสำรวจในปี 2516–2517 นี้ใกล้เคียงกับผลการสำรวจในปี 2515–2516

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ ฯ (2518) ได้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและตัวอย่างตะกอนจากภาคต่าง ๆ ทั่วประเทศและจากแหล่งน้ำใหญ่ของสองภาค คือ แม่น้ำแม่กลอง และคลองดำเนินสะดวก ราชบุรี ในภาคกลางและแม่น้ำยม สุโขทัยในภาคเหนือ พบว่าสารมีพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงเป็นพวก chlorinated hydrocarbon ทั้งสิ้นได้แก่ DDT และ metabolites, Heptachlor Aldrin, Endrin และ Dieldrin ในปริมาณต่าง ๆ กัน ในตัวอย่างน้ำ พบ p,p–DDT, p,p–DDE, p,p–TDE, Dieldrin และ Heptachlor ในปริมาณ < 0.0001,–0.001, < 0.0001–0.0009, < 0.0001–0.0006, < 0.0001–0.0002 และ < 0.0001–0.0009 ppm ตามลำดับ ในตัวอย่างดินตะกอนพบสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในปริมาณสูงกว่าในตัวอย่างน้ำมาก เช่น พบ p,p–DDT ปริมาณสูงสุดในดินตะกอนซึ่งสูงกว่าในตัวอย่างน้ำเกือบ 100 เท่า ทั้งนี้เพราะสารมีพิษเหล่านี้ตามปกติละลายน้ำได้น้อยแต่แขวนตัวได้ในน้ำจะถูก absorb เข้ากับสารแขวนลอยอื่น ๆ ซึ่งในที่สุดจะตกตะกอนลงทำให้สะสมได้มากที่พื้นดิน การตกตะกอนของสารมีพิษจะก่อให้เกิดผลเสียระยะยาวโดยที่สารพิษเหล่านี้อาจมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีซึ่งสารพิษเหล่านี้อาจถูกปล่อยเข้าสู่มวลน้ำในภายหลังหรือความเป็นพิษอาจสูงมากขึ้น ปริมาณสารพิษตกค้างยาฆ่าแมลงที่พบในการศึกษาครั้งนี้ คือ p,p–DDT พบปริมาณตั้งแต่ < 0.001–0.097, o,p–DDT พบปริมาณตั้งแต่ <0.001–0.010, p,p–DDE พบปริมาณตั้งแต่ < 0.001–0.026, p,p–TDE พบปริมาณตั้งแต่ 0.001–0.043, Aldrin พบปริมาณตั้งแต่ < 0.001–0.005,

Dieldrin พบปริมาณตั้งแต่ < 0.001–0.013 ppm ส่วน Endrin ในตัวอย่างดินตะกอนพบค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.027 ppm.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะฯ (2519) ได้เก็บตัวอย่างน้ำและดินตะกอนจากแม่น้ำสำคัญและแหล่งน้ำธรรมชาติจากภาคเหนือ ภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือมาศึกษาเปรียบเทียบกับแม่น้ำสายสำคัญทางภาคกลาง คือ แม่น้ำแม่กลองและแม่น้ำท่าจีน ซึ่งไหลผ่านบริเวณที่ทำเกษตรกรรมเป็นหลัก ผลการวิเคราะห์ตรวจพบสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงชนิด Chlorinated hydrocarbons คือ DDT, DDE, TDE, Hepatachlor, Aldrin, Dieldrin and Lindane ตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงนี้คิดเป็น 44 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมดที่เก็บในครั้งนี้ การเปรียบเทียบปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในแหล่งน้ำต่าง ๆ พบว่าน้ำในแม่น้ำแม่กลองและท่าจีนมีปริมาณสารพิษในระดับต่ำเมื่อเทียบกับน้ำในแหล่งน้ำภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคใต้และภาคเหนือมาก ปริมาณสารพิษตกค้างในตะกอนดินจากแม่น้ำแม่กลอง และแม่น้ำท่าจีนสูงกว่าและมีจำนวนชนิดมากกว่าที่ตรวจพบในน้ำ ปริมาณดังกล่าวสูงกว่าในน้ำ 100–1,000 เท่า

นวลศรี ทยาพัชร และคณะฯ (2520) ได้ทำการศึกษาสำรวจสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในแหล่งน้ำสำคัญ เช่น แม่น้ำสำคัญทั่วประเทศประมาณ 15 สาย คลอง อ่างเก็บน้ำและแหล่งน้ำเพื่อประมวลรวบรวมตัวอย่างน้ำทั้งสิ้น 185 ตัวอย่าง ตรวจพบสารพิษเจือปนอยู่ใน 174 ตัวอย่างคิดเป็นประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างทั้งหมด สารพิษตกค้างที่พบส่วนใหญ่เป็น Dieldrin โดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.00013 ppm, DDE เฉลี่ยเท่ากับ 0.00001 ppm O,p–DDT เฉลี่ยเท่ากับ < 0.00005 ppm และ Heptachlor เฉลี่ยเท่ากับ < 0.00005 ppm ส่วนในดินตะกอนนั้นพบสารมีพิษทุกตัวอย่างส่วนมากเป็น DDT และสาร

derivatives ของ DDT พบ total DDT มีค่าสูงสุดกว่าทุกปีที่ผ่านมา คือ พบ 0.23 ppm ในแม่น้ำแม่กลองส่วน chlorinated hydrocarbons อื่น ๆ พบในปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่เคยสำรวจไว้แล้ว

วิภา พรพิพัฒน์และประยูร ดีมา (2522) ได้ศึกษาผลกระทบจากการก่อสร้างเขื่อนอุบลรัตน์ ซึ่งปิดกั้นลำน้ำพองและลำน้ำเขินตรงบริเวณช่องแคบระหว่างเทือกเขาภูพาน และภูพานคำที่ตำบลพองหนีบ อำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น จากการศึกษาพื้นที่บริเวณตอนบนของอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์นี้ประกอบด้วยป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมซึ่งมีการใช้สารมีพิษในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช พบว่าปริมาณสารพิษพวก DDT, Heptachlor และ Heptachlor epoxide และ Dieldrin ในน้ำที่ไหลลงสู่อ่างเก็บน้ำที่เขื่อนอุบลรัตน์เท่ากับ 0.000004 ppm (ค่าเฉลี่ย), 0.000006 ppm (ค่าเฉลี่ย) และ 0.000012–0.000455 ppm (ค่าพิกัด) ตามลำดับ ส่วนสารพิษตกค้างในน้ำภายในเขื่อนอุบลรัตน์ พบ DDT เฉลี่ยเท่ากับ 0.000002 ppm, Heptachlor และ Heptachlor epoxide ในพิกัด 0.000001–0.000017 ppm และปริมาณ Dieldrin ในพิกัด 0.000002–0.000655 ppm ในน้ำที่ไหลออกจากเขื่อนอุบลรัตน์มีค่า Heptachlor และ Heptachlor epoxide เฉลี่ยเท่ากับ 0.000004, DDT เฉลี่ยเท่ากับ 0.000025 ppm, Endrin เฉลี่ยเท่ากับ $<$ 0.000001 ppm ส่วน Dieldrin พบในระหว่าง 0.000021–0.000353 ppm สารมีพิษที่ตรวจพบในน้ำนั้นพบชนิดปริมาณน้อยกว่าในตัวอย่างดินตะกอน และปลา ปริมาณที่พบนั้นน้อยกว่าประมาณ 500–1,000 เท่า ในดินตะกอนพบค่าเฉลี่ยของสารพิษจำพวก α HBC, Lindance, Heptachlor และ Heptachlor epoxide, Aldrin, Dieldrin, และ DDT เท่ากับ $<$ 0.001, $<$ 0.001, $<$ 0.001, $<$ 0.001, $<$ 0.0015 และ 0.010 ppm. ส่วนปริมาณ Endrin ในดินตะกอนมีค่าระหว่าง $<$ 0.001–0.001 ppm.

เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต และคณะฯ (2524) ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำและปริมาณสารพิษตกค้างจากยาปราบศัตรูพืชในเขตชลประทานบ่าสักใต้ ตั้งแต่บริเวณเหนือเขตชลประทานเรื่อยลงมาจนนอกเขตพบสารพิษจำพวก chlorinated hydrocarbon ในทุกตัวอย่าง แต่ตรวจไม่พบสารพวก organo-phosphate เลย อย่างไรก็ดีปริมาณสารพิษตกค้างที่ตรวจพบนี้ยังไม่เกินค่ามาตรฐานน้ำดื่มที่ U.S. Environmental Protection Agency กำหนดไว้

บริเวณเอสทูรี่ หรือ บริเวณปากแม่น้ำโดยทั่วไปจะเป็นแหล่งเก็บกักปริมาณธาตุอาหารและสารพิษได้อย่างดีเนื่องจากลักษณะดินตะกอนในบริเวณนี้เป็นประการสำคัญ ดินตะกอนที่พบมักมีขนาดเล็กละเอียด มีส่วนผสมของดินโคลนเป็นจำนวนมากซึ่งสามารถดูดซึมพวกธาตุอาหารและพวกสารพิษเช่นโลหะหนักและยาฆ่าแมลงไว้ได้มาก ลักษณะมวลน้ำตลอดจนกระแสน้ำในเขตนี้ก็มีส่วนทำให้สารพิษตกสะสมในบริเวณนี้ได้มาก กิจกรรมของสัตว์ต่าง ๆ โดยเฉพาะพวกที่กรองอาหารจากน้ำก็จะช่วยดึงสารพิษต่าง ๆ ที่เกาะติดกับตะกอนแขวนลอยในน้ำมาอยู่ภายในตัวมันหรือสะสมในดินได้มาก การศึกษาปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในบริเวณเอสทรูรี่หรือปากแม่น้ำตลอดจนในบริเวณอ่าวไทยตอนบนนั้นมีมากพอสมควร

ชลีรัตน์ พยอมแย้ม (2519) ได้ทำการศึกษาการกระจายของ DDT ในบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาตอนล่างโดยเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในเดือน มกราคม พ.ศ. 2519 และในเดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2519 ตรวจพบปริมาณ DDT ในตัวอย่างน้ำในเดือน มกราคม สูงกว่าในตัวอย่างน้ำในเดือน พฤษภาคม ส่วนในตัวอย่างดินซึ่งพบปริมาณสารมีพิษสูงกว่าในน้ำมากไม่พบความแตกต่างในการเก็บตัวอย่างทั้ง 2 ครั้ง ในตัวอย่างน้ำพบปริมาณ DDT เท่ากับ 0.00001–0.00015 ppm ส่วนในตัวอย่างดินพบปริมาณ DDT, DDE และ TDE เท่ากับ

0.0075–0.0115 ppm, 0.0026–0.0026 ppm และ 0.0083–0.145 ppm ตามลำดับ

มนุวดี หังสพฤกษ์ และกัลยา วัฒยากร (2521) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ DDT ในน้ำ ดินตะกอนและสัตว์ทะเลในอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ผลการศึกษาพบว่าไม่พบ DDT ในตัวอย่างน้ำที่ผิวหน้าน้ำซึ่งอาจเนื่องมาจากวิธีการเก็บตัวอย่างที่ไม่เหมาะสม ส่วน DDT ที่พบในดินตะกอนบริเวณปากน้ำมีค่าตั้งแต่ 0.0011–0.0515 ppm ซึ่งสูงกว่าปริมาณที่พบในดินตะกอนบริเวณกลางอ่าวไทย ปริมาณ DDT โดยเฉลี่ยในอ่าวไทยสูงกว่าทางทะเลอันดามัน โดยที่ปริมาณ DDT ในอ่าวไทยมีค่าตั้งแต่ 0.0038–0.0172 ppm

วิไลลักษณ์ อึมอุดม (2523) ได้ทำการวิเคราะห์หายาฆ่าแมลงและ chlorinated hydrocarbon จากดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำในอ่าวไทย คือ ปากน้ำเจ้าพระยา แม่น้ำท่าจีนและแม่น้ำแม่กลอง สารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในปากแม่น้ำเจ้าพระยาคือ Dieldrin op–DDT และ pp–DDT มีค่าตั้งแต่ 0.04–0.16 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของดินตะกอนและ 0.02–0.06 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ของดินตะกอนตามลำดับ ส่วนบริเวณปากแม่น้ำท่าจีนพบปริมาณ HCH, Dieldrin, Endrin, op–DDT และ op–DDT และ DDE เท่ากับ 0.001–0.28 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 0.001–0.002 มิลลิกรัม/กิโลกรัม 0.001–0.004 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 23.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 0.004 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนบริเวณปากแม่น้ำแม่กลองพบปริมาณ HCH, Dieldrin และ Endrin เท่ากับ 0.001–0.194 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, 0.001–0.004 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 0.001–0.011 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ (2523) ได้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำจากน้ำในบริเวณปากแม่น้ำของแม่น้ำสำคัญ 4 สาย ของประเทศไทย คือ แม่น้ำ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เจ้าพระยา แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำบางปะกง และแม่น้ำแม่กลอง สารพิษที่พบมากที่สุด คือ Dieldrin ซึ่งพบปริมาณสูงสุดในตัวอย่างแม่น้ำเจ้าพระยาแถบคลองบางกอกน้อยเท่ากับ 0.000264 ppm ในการสำรวจครั้งนี้ ตรวจพบ Endrin ตกค้างอยู่สูงและพบแทบทุกตัวอย่างที่ได้ทำการวิเคราะห์ โดยพบสูงสุดเท่ากับ 0.000559 ppm จากคลองฮกเกี้ยน อำเภอดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ (2523) ได้สำรวจสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในตัวอย่างตะกอนจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 108 ตัวอย่าง พบว่ามีสารพิษตกค้างอยู่ถึง 104 ตัวอย่าง หรือ 96.3% สารมีพิษที่พบส่วนใหญ่เป็น Chlorinated hydrocarbons ในตัวอย่างตะกอนจากแม่น้ำเจ้าพระยา ท่าจีน บางปะกง และแม่กลองตลอดจนบริเวณอ่าวไทยตอนบนตรวจพบพวก Dieldrin DDT และ derivatives และ Endrin ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นจากปีที่แล้วมาก ในแม่น้ำบางปะกงพบ Dieldrin สูงถึง 0.58 ppm ในแม่น้ำเจ้าพระยาพบ Dieldrin สูงถึง 0.631 ppm ที่บริเวณสะพานพระรามหก นอกจากนี้ยังตรวจพบ Endrin ในปริมาณต่ำอีกด้วย

ทองต่อ แย้มประทุม และคณะ (2524) ได้ทำการศึกษามลพิษของน้ำและตะกอนในบริเวณป่าไม้ชายเลน จังหวัดชลบุรี พบว่าได้มีการสะสมของสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในปริมาณที่ค่อนข้างสูง พบ Dieldrin ในตะกอนทุกตัวอย่างทุกครั้งที่เก็บ เฉลี่ย 0.005–0.016 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นอกจากนี้ยังพบ DDT, Aldrin, Endrin และ Heptachlor ในปริมาณต่ำอีกด้วย

ตารางที่ 4 เป็นปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่พบในน้ำในแหล่งน้ำในประเทศไทย ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงในดินตะกอนจากแหล่งน้ำในประเทศไทย โดยสรุปแล้วถ้าเรายึดตามสมมติฐานที่กล่าวไว้ข้างต้นว่า ไม่มีความแตกต่างในปริมาณสารพิษเนื่องมาจากวิธีการ

วิเคราะห์ เราจะพบว่าปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่พบในแหล่งน้ำต่างๆ ในประเทศไทยนั้นยังอยู่ในระดับต่ำซึ่งปลอดภัย คือ อยู่ในระดับไม่เกิน 0.025 ppm ทั้งหมด (คิดจากค่าเฉลี่ยของรายงานต่าง ๆ ที่รวบรวมไว้ครั้งนี้) ต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีได้ไม่เกิน 0.05 ppm ในแหล่งน้ำจืด แต่ปริมาณสารพิษตกค้างในดินตะกอนจากแหล่งน้ำต่าง ๆ จะมีค่าสูงกว่าที่พบในน้ำมากซึ่งถ้ายึดตามค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้สำหรับแหล่งน้ำจืดพบว่าผลการวิเคราะห์จากรายงานต่าง ๆ จำนวน 61.36% ที่มีค่าระหว่าง 0-0.025 ppm อีก 15.91% พบว่ามีค่าระหว่าง > 0.025-0.05 ppm และที่มีปริมาณสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานในน้ำจืดมีทั้งสิ้น 27.73% สำหรับเกณฑ์มาตรฐานในประเทศไทยยังไม่ได้มีการกำหนดค่าละเอียดสำหรับสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงแต่ละชนิด เช่น DDT, Endrin และ Dieldrin เป็นต้น หากแต่เป็นการกำหนดเป็นกลุ่มสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลง นอกจากนี้ยังไม่มีการกำหนดค่ามาตรฐานสำหรับในดินตะกอนตลอดจนค่ามาตรฐานในน้ำทะเล

ปริมาณโลหะหนักที่สะสมในดินตะกอนและแหล่งน้ำในประเทศไทย

Polprasert, (1974) ได้ศึกษาการกระจายของโลหะหนักในบริเวณอ่างเก็บน้ำแควใหญ่ ผลการวิเคราะห์พบค่าเฉลี่ยของตะกั่วในน้ำที่แม่น้ำแควใหญ่ บ้านลาดหญ้า เขื่อนวชิราลงกรณ์ บ้านมองและแควใหญ่ จังหวัดกาญจนบุรี เท่ากับ 13.60, 11.25, 12.80, 9.4 และ 13.9 ppm ตามลำดับ ส่วนปริมาณแคดเมี่ยมที่บริเวณเดียวกันเท่ากับ 2, 2.25, 1.8, 0.6, และ 0.5 ppm ส่วนปริมาณทองแดงในน้ำเท่ากับ 3.05, 1.7, 1.75, 1.2 และ 1.0 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ได้หาระดับปริมาณโลหะหนักในน้ำบริเวณแม่น้ำลพบุรี จังหวัดอยุธยา เขื่อนสิริกิต และแม่น้ำท่าจีน จังหวัดนครปฐม พบปริมาณตะกั่วเฉลี่ยเท่ากับ 10.10, 8.17 และ 7 ppm ตามลำดับ ปริมาณแคดเมี่ยมเท่ากับ 0.76, 3.83 และ

3 ppm ส่วนทองแดงเท่ากับ 2.58, 1.57 และ 1.6 ppm ปริมาณโลหะหนักในดินตะกอนที่ห้วยกิตมีค่าเฉลี่ยของทองแดงที่ผิวดินเท่ากับ 25.12 ppm และในที่ลึกเท่ากับ 37 ppm ส่วนปริมาณสังกะสีในดินตะกอนเท่ากับ 37 ppm ที่ผิวดินและที่ลึกเท่ากับ 83.76 ppm

Dimzon (1977) ศึกษาปริมาณสารปรอทที่เป็นอนินทรีย์สารในดินตะกอนบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาในบริเวณจังหวัดปทุมธานี พบปริมาณปรอทในน้ำเท่ากับ 0.0026 pmm ปริมาณปรอทที่พบในดินตะกอนที่ต่างชนิดกันจะมีปริมาณที่ต่างกัน พบว่าในดินตะกอนที่เป็นทรายพบปรอทเท่ากับ 0.33 ppm ในดินที่มีอนินทรีย์สารสูงเท่ากับ 0.36 pmm และในดินเลนเท่ากับ 0.33 ppm ผลการวิจัยพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอินทรีย์สารในดินตะกอนกับความสามารถในการดูดซึมปรอทไว้ในดิน นอกจากนี้ความสามารถในการดูดซึมปรอทของดินตะกอนจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณปรอทในน้ำที่เพิ่มขึ้น

สุธน เสถียรยานนท์ (2520) ได้วิเคราะห์ธาตุที่เป็นพิษในน้ำส่วนบนในคลองแสนแสบโดยวิธีนิวตรอนแอคติเวชั่นโดยวิเคราะห์ทั้งในฤดูร้อนฤดูฝนและฤดูหนาว พบว่าปริมาณปรอทในฤดูร้อนและฤดูฝนใกล้เคียงกันเท่ากับ 0.01861 ppm และ 0.01811 ppm ตามลำดับ ส่วนปริมาณทองแดงในฤดูร้อนและฤดูหนาวเท่ากับ 0.01209 และ 0.00446 ppm

สมพร สุทธาโรจน์ (2520) สำรวจปริมาณสารปรอทในแหล่งน้ำประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2516–2520 สรุปได้ว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะพบปรอทมีค่าต่ำกว่า 0.0001 ppm ส่วนในแหล่งน้ำที่อยู่ในเขตอุตสาหกรรมที่รับน้ำทิ้งเจือปนจะมีปรอทสูงกว่า 0.005 ppm พบว่า แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำแม่กลอง และแม่น้ำปราณบุรี มีค่าปรอทสูงกว่า 0.005 ppm ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าที่ควรจะมีได้ในน้ำธรรมชาติ ตัวอย่างที่วิเคราะห์รวบรวมจากตัว-

อย่างน้ำจากแม่น้ำ 17 สาย อ่างเก็บน้ำ 4 แห่ง คลอง กว๊านและเขื่อน 3 แห่ง รวมทั้งสิ้น 1039 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณปรอทในแหล่งน้ำมีค่าระหว่าง nil–0.0377 ppm โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.00047 ppm.

Menasveta and Sawangwong, (1978) ศึกษาการกระจายของโลหะหนักในบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาโดยศึกษาทั้งส่วนที่ละลายในน้ำทะเลและที่เป็นตะกอนแขวนลอย พบทองแดง สังกะสี แคดเมี่ยม ตะกั่ว และปรอทมีค่าระหว่าง 0.00200–0.00790, 0.110–0.512, 0.00085–0.00244, 0.0143–0.00620 และ 0.000014–0.000707 ppm ตามลำดับ

กองอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทำการสำรวจปริมาณโลหะหนักในแม่น้ำสำคัญหลายสายทั่วประเทศ เช่น แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำแม่กลอง แม่น้ำเพชรบุรี แม่น้ำบางปะกง แม่น้ำปราณบุรี แม่น้ำตาปีและแม่น้ำปากพนัง ผลการสำรวจปริมาณโลหะหนักในแม่น้ำสายต่าง ๆ ในช่วงปี พ.ศ. 2521–2524 ได้สรุปค่าเฉลี่ยไว้ในตารางที่ 6

ส่วนการสะสมโลหะหนักในระบบนิเวศน์ทางทะเลนั้นมีผู้ทำการศึกษากันมากดังรายงานของ บริษัท SEATEC Consulting Engineers (1975) แสดงว่าดินตะกอนบริเวณอ่าวไผ่ ชลบุรี มีปริมาณปรอท สารหนู โครเมี่ยม ตะกั่ว และสังกะสีมีค่าระหว่าง 0.028–0.071, 0.17–2.11, 0–13.3, 3.82–63.8 และ 32.6–131 ppm ตามลำดับ

ทวีศักดิ์ บียะกาญจน์ และคณะ (2520) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุโลหะหนัก 3 ชนิด คือ ตะกั่ว ปรอท และ แคดเมี่ยม ที่ตรวจพบในน้ำและในดินตะกอนซึ่งเก็บจากอ่าวไทยตอนบนระหว่างปี พ.ศ. 2517–2519 การศึกษาพบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุโลหะหนักทั้ง 3 ชนิดนี้ มีลักษณะ

ที่แตกต่างกันคือปริมาณของตะกั่วทั้งในน้ำและในดินตะกอนตลอดระยะ 3 ปี ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ปริมาณของปรอทและแคดเมี่ยมตลอดเวลา 3 ปี มีค่าเปลี่ยนแปลงแสดงแนวโน้มว่าลดลง

อำไพ อิทธิเกษม (2521) ศึกษาผลวิเคราะห์โลหะหนักได้แก่เงิน แคดเมี่ยม โคบอลท์ ทองแดง ปรอท ตะกั่วและสังกะสีในน้ำทะเล 251 ตัวอย่างและดินตะกอน 253 ตัวอย่างซึ่งเก็บจากบริเวณน่านน้ำไทยตั้งแต่ พ.ศ. 2516–2520 พบว่าในช่วง พ.ศ. 2516–พ.ศ. 2517 ปริมาณของ เงิน แคดเมี่ยม ทองแดง และสังกะสีในน้ำทะเลอยู่ภายในค่าเฉลี่ยของปริมาณธาตุในน้ำทะเลทั่วโลก แต่ ปรอท ตะกั่วและโคบอลท์มีปริมาณสูงกว่าค่าเฉลี่ยในน้ำทะเลของโลก ในดินตะกอนพบว่าปริมาณของโคบอลท์ ทองแดง ตะกั่วและสังกะสีอยู่ภายในค่าเฉลี่ยของธาตุเหล่านี้ในดินตะกอนของโลกยกเว้นปรอทที่พบสูงบริเวณเกาะสมุย ปริมาณเงินพบมีค่าสูงบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาและกลางอ่าวไทย และปริมาณแคดเมี่ยมสูงที่บริเวณนอกผึ่งเพชรบุรี

พ.ศ. 2518–พ.ศ. 2519 พบว่าปริมาณโลหะหนักในน้ำทะเลและดินตะกอนลดลงมีปริมาณอยู่ภายในค่าเฉลี่ยของธาตุเหล่านี้ในน้ำทะเลและดินตะกอนของโลก แต่ผลการวิเคราะห์ ปี พ.ศ. 2520 พบว่าปริมาณของธาตุเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งมีปริมาณสูงกว่าค่าเฉลี่ยของธาตุในน้ำทะเลและดินตะกอนของโลก

ประวีณ ลิมปสายชล (2522) ศึกษาระดับของโลหะหนักได้แก่ ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว แคดเมี่ยมและโคบอลท์ ในบริเวณป่าชายเลน จังหวัดภูเก็ต ในช่วง ปี พ.ศ. 2518–2521 พบว่าโลหะหนักสะสมอยู่ในดินโคลนเป็นปริมาณค่อนข้างมากโดยเฉพาะในบริเวณป่าไม้ชายเลน อ่าวน้ำบ่อ จังหวัดภูเก็ตและพบว่าบริเวณชายผึ่งทะเลที่อยู่ใกล้ตัวเมืองภูเก็ตมีปริมาณสูงกว่าบริเวณอื่น

อำไพ อิทธิเกษม และคณะ (2524) ศึกษาผลวิเคราะห์โลหะหนักปริมาณน้อยได้แก่ เงิน แคดเมี่ยม โคบอลท์ ทองแดง ปรอท ตะกั่ว และสังกะสีในน้ำทะเล 193 ตัวอย่าง และในดินตะกอน 193 ตัวอย่างจากน่านน้ำไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2521–2524 ในปี พ.ศ. 2521 ปริมาณของโลหะเงิน แคดเมี่ยม โคบอลท์ ปรอทตะกั่วในน้ำทะเลสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลหะในน้ำทะเลของโลกทุกสถานี ปริมาณโลหะสังกะสีในน้ำทะเลอันดามันบางสถานีสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลหะสังกะสีในน้ำทะเลของโลก แต่ปริมาณในดินตะกอนพบโลหะตะกั่วสูงกว่าค่าเฉลี่ยโลหะในน้ำทะเลทุกสถานีในปี พ.ศ. 2522 พบปริมาณของโลหะสูงกว่าค่าเฉลี่ยโลหะในน้ำทะเลทุกสถานี นอกจากทองแดงและปริมาณสังกะสีสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลหะสังกะสีบางสถานี ในปี พ.ศ. 2523 ปริมาณของโลหะสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลหะในน้ำทะเลทุกสถานี นอกจากทองแดง ปริมาณปรอทและสังกะสีสูงกว่าค่าเฉลี่ยโลหะในน้ำทะเลบางสถานี แต่ในดินตะกอนพบปริมาณเงินสูงกว่าค่าเฉลี่ยในดินตะกอนทั่วโลกทุกสถานี ส่วนปี พ.ศ. 2524 พบว่าปริมาณของโลหะสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลหะในน้ำทะเลนอกจากทองแดงในอ่าวไทยตอนบน ส่วนปรอท ตะกั่วและสังกะสีส่วนใหญ่บางสถานีจะสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลหะในน้ำทะเล ส่วนปริมาณโลหะในดินตะกอนในบริเวณนี้จะสูงกว่าค่าเฉลี่ยโลหะหนักในดินตะกอนทั่วโลก

จากผลงานวิจัยทั้งหมดพอสรุปได้ว่าปริมาณโลหะหนักที่พบในแม่น้ำสายต่าง ๆ ที่สำคัญ ๆ บริเวณปากแม่น้ำจะมีปริมาณโลหะหนักโดยส่วนรวมต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ กล่าวคือ มีปริมาณโลหะหนักที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานอยู่ 68.75% อีก 5.11% เป็นปริมาณที่อยู่ในช่วงปานกลางของค่ามาตรฐาน ส่วนอีก 26.14% เป็นปริมาณที่สูงเกินกว่าค่ามาตรฐานที่ได้กำหนดไว้ และในปริมาณโลหะหนักเหล่านี้พบว่าพวกที่มีปริมาณสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานมากกว่า 50% ขึ้นไปได้แก่ นิเกิล (100%) ปรอท (62.5%) และแคดเมี่ยม (50.52%) สำหรับปริมาณโลหะ

หนักที่พบในน้ำทะเลในน่านน้ำไทยส่วนมากจะมีปริมาณต่ำกว่าค่ามาตรฐาน คือ มีปริมาณโลหะหนักที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานอยู่ 88.34% อีก 8.08% เป็นปริมาณโลหะหนักที่มีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ โลหะหนักในน้ำทะเลที่สูงเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ได้แก่ แคดเมี่ยม (15.79%) ตะกั่ว (12.0%) และปรอท (8.33%) ส่วนปริมาณโลหะหนักในดินตะกอนนั้นถ้ายึดตามค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้สำหรับในน้ำทะเล พบว่าในดินตะกอนมีปริมาณโลหะหนักสูงกว่าค่ามาตรฐาน 97.75% และอีก 2.25% เป็นปริมาณที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ แต่เกณฑ์มาตรฐานในประเทศไทยยังไม่ได้มีการกำหนดค่ามาตรฐานสำหรับปริมาณโลหะหนักในดินตะกอนสำหรับเปอร์เซ็นต์ของปริมาณโลหะหนักแต่ละชนิดที่พบในแม่น้ำสายสำคัญ ๆ บริเวณปากแม่น้ำ ในทะเล และในดินตะกอน ได้สรุปไว้ในตารางที่ 7 โดยสรุปแล้วปริมาณโลหะหนักที่สะสมในดินตะกอนและในแหล่งน้ำในประเทศไทย ในปัจจุบันมีแนวโน้มที่แสดงให้เห็นว่า อาจก่อให้เกิดปัญหามลภาวะหรือการเสื่อมคุณภาพของแหล่งน้ำได้มากกว่าปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนใคร่ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่มีผลงานซึ่งได้รวบรวมไว้ ณ ที่นี้ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์อย่างมาก นอกจากนี้ยังขอขอบคุณนิสิตปริญญาโท ซึ่งช่วยรวบรวมเอกสารอ้างอิงส่วนใหญ่ในรายงานฉบับนี้ คือ น.ส. อัจฉราภรณ์ อุดมกิจ, น.ส. ลัดดา แก้วประกาย และนายพรศิลป์ ผลพันธิน

ตารางที่ 1 มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดของประเทศไทย

ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	การแบ่งระดับคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์				
		1	2	3	4	5
สารหนู (As)	มก./ลิตร		0.01			
แคดเมี่ยม (Cd)	มก./ลิตร		0.005*			
			0.05**			
โครเมี่ยม (Cr)	มก./ลิตร		0.05			
ทองแดง (Cu)	มก./ลิตร		0.1			
ไซยาไนด์ (Cb)	มก./ลิตร		0.005			
ตะกั่ว (Pb)	มก./ลิตร		0.05			
แมงกานีส (Mn)	มก./ลิตร		1.0			
ปรอท (Hg)	มก./ลิตร		0.002			
นิเกิล (Ni)	มก./ลิตร		0.1			
สังกะสี (Zn)	มก./ลิตร		1.0			
ไนเตรท (NO_3)	มก./ลิตร		0.0			
พีนอล	มก./ลิตร		0.005			
ยากำจัดศัตรูพืช	มก./ลิตร		0.05			

* ในน้ำที่มีคุณภาพกระด้าง < 100 มก./ลิตร

** ในน้ำที่มีความกระด้าง > 100 มก./ลิตร

ระดับ 1 แหล่งน้ำสะอาดดีมาก
2 แหล่งน้ำสะอาดดี
3 แหล่งน้ำสะอาดปานกลาง
4 แหล่งน้ำสะอาดพอใช้
5 แหล่งน้ำที่ไม่มีอยู่ในระดับ 1–4 ใช้ประโยชน์เพื่อการคมนาคม

ตารางที่ 2 การแบ่งระดับคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์

ระดับ 1 แหล่งน้ำสะอาดดีมาก ใช้ประโยชน์เพื่อ

- การอุปโภคและบริโภค โดยอาจไม่จำเป็นต้องผ่านขบวนการบำบัดน้ำ นอกจากการฆ่าเชื้อโรคอย่างปกติ
- การอนุรักษ์ระบบนิเวศน์วิทยาของแหล่งน้ำ โดยให้สิ่งมีชีวิตระดับพื้นฐาน แพร่ขยายพันธุ์ตามธรรมชาติ

ระดับ 2 แหล่งน้ำสะอาดดี ใช้ประโยชน์เพื่อ

- การอุปโภคและบริโภค โดยผ่านขบวนการบำบัดโดยทั่วไปก่อนใช้
- การอนุรักษ์สัตว์น้ำทั่วไปให้มีชีวิตอยู่รอดและเอื้ออำนวยต่อการประมง
- การประมง
- การพักผ่อนหย่อนใจ

ระดับ 3 แหล่งน้ำสะอาดปานกลาง ใช้ประโยชน์เพื่อ

- การอุปโภคบริโภคโดยต้องผ่านขบวนการบำบัดน้ำโดยทั่วไป
- การเกษตรกรรม

ระดับ 4 แหล่งน้ำสะอาดพอใช้ เพื่อใช้ประโยชน์สำหรับ

- การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านขบวนการบำบัดน้ำเป็นพิเศษ
- การอุตสาหกรรม
- กิจกรรมอื่น ๆ

ระดับ 5 แหล่งน้ำที่ไม่อยู่ในระดับ 1–4 ใช้ประโยชน์สำหรับ

- การคมนาคม

ตารางที่ 3 การกำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งจาก โรงงานอุตสาหกรรม เฉพาะโลหะหนักมีค่าดังนี้

ชนิดของโลหะหนัก	ปริมาณของโลหะหนักที่กำหนดให้มีอยู่ได้ในน้ำทิ้ง
สังกะสี (Zinc)	ไม่มากกว่า 5 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
โครเมี่ยม (Chromium)	ไม่มากกว่า 0.5 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
อาร์เซนิค (Arsenic)	ไม่มากกว่า 0.25 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
ทองแดง (Copper)	ไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
ปรอท (Mercury)	ไม่มากกว่า 0.005 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
แคดเมี่ยม (Cadmium)	ไม่มากกว่า 0.03 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
บาเรี่ยม (Barium)	ไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
เซเลเนี่ยม (Selenium)	ไม่มากกว่า 0.02 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
ตะกั่ว (Lead)	ไม่มากกว่า 0.2 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
นิเกิล (Nickel)	ไม่มากกว่า 0.2 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร
แมงกานีส (Manganese)	ไม่มากกว่า 5 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร

ตารางที่ 4 ปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงที่พบในน้ำ ในแหล่งน้ำในประเทศไทย

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างที่ผิวน้ำ (ppm)		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิสัย (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
DDT	0.0010 - 0.0034		ภาคเหนือ, ภาคกลาง, ภาคตะวันออก	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ (2516)
	0.0001 - 0.0025		ทุกภาคของประเทศไทย	———————, 2517
	<0.0001 - 0.001		แม่น้ำทุกภาค	———————, 2518
		<0.00005	แม่น้ำ และแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	———————, 2520
		0.000004	น้ำเข้าเขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
		0.000025	น้ำออกจากเขื่อนอุบลรัตน์	
		0.000002	น้ำในเขื่อนอุบลรัตน์	
	0.0001545 - 0.0000109		เจ้าพระยาตอนล่าง	ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519
	0 - 0.00022		ปากพนัง	เบี่ยมศักดิ์ และคณะ, 2524
DDE	trace		เจ้าพระยาตอนล่าง	ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519
	0.0001 - 0.0006		ทุกภาคของประเทศไทย	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2517
	<0.0001 - 0.0009		แม่น้ำทุกภาค	———————, 2518
		0.00001	แม่น้ำ และแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	———————, 2520
			" ——————— "	———————, 2520
TDE	0.0001 - 0.0008		ภาคเหนือ, ภาคกลาง, ภาคตะวันออก	———————, 2516
	0.0001 - 0.0007		ทุกภาคของประเทศไทย	———————, 2517
	<0.0001 - 0.0006		แม่น้ำทุกภาค	———————, 2518
	trace		เจ้าพระยาตอนล่าง	ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างที่ผิวน้ำ (ppm)		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิสัย (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
Dieldrin	0.0001 - 0.0041		ภาคเหนือ, ภาคกลาง, ภาคตะวันออก	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2516
		0.0005	คลองด่าเนินสะดวก, ราชบุรี	_____, 2517
	<0.0001 - 0.0002		แม่น้ำทุกภาค	_____, 2518
		0.00013	แม่น้ำ และแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	_____, 2520
	0.000012 - 0.000455		น้ำเข้าเขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
	0.000021 - 0.000353		น้ำออกจากเขื่อนอุบลรัตน์	
	0.000002 - 0.000655		น้ำในเขื่อนอุบลรัตน์	
Endrin		0.000001	น้ำออกจากเขื่อนอุบลรัตน์	
Heptachlor	0 - 0.00017		ปากน้ำ	เปี่ยมศักดิ์ และคณะ, 2524
	<0.0001 - 0.0009		แม่น้ำทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518
		<0.00005	แม่น้ำ และแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	_____, 2520
Heptachlor epoxide	0 - 0.00077		ปากน้ำ	เปี่ยมศักดิ์ และคณะ, 2524
Heptachlor &		0.000006	น้ำเข้าเขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
Heptachlor epoxide		0.000004	น้ำออกจากเขื่อนอุบลรัตน์	
	0.000001 - 0.000017		น้ำในเขื่อนอุบลรัตน์	
α - BHC	0 - 0.00011		ปากน้ำ	เปี่ยมศักดิ์ และคณะ, 2524

ตารางที่ 5 ปริมาณสารพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงในดินตะกอนจากแหล่งน้ำในประเทศไทย

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างที่ผิวดิน (ppm)		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิสัย (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
DDT	<0.001 - 0.097		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518
	<0.001 - 0.010			
	0.005 - 0.070			———————, 2519
	0.005 - 0.020			
		0.06	แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	———————, 2520
		<0.005	" ——————— "	
		0.010	เขื่อนอุบลรัตน์	รัภา พรพิพัฒน์, 2522
	0.02 - 23.4		ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิโลลักษณ์ ยิ่มอุดม, 2523
	0.0075 - 0.0115		เจ้าพระยาตอนล่าง	ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519
	0.005 - 0.144		ป่าสักใต้	เนียมศักดิ์ และคณะ, 2524
	0.0011 - 0.0518		ปากแม่น้ำ	มนูวดี และกัลยา, 2521
	0.0038 - 0.0172		อ่าวไทย	
DDE	<0.001 - 0.026		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518
	0.005 - 0.030			———————, 2519
		<0.005	แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	———————, 2520
		0.004	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิโลลักษณ์ ยิ่มอุดม, 2523
	0.0029 - 0.0026		เจ้าพระยาตอนล่าง	ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างที่อยู่บนผิวดิน (ppm)		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิสัย (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
TDE	<0.001 - 0.043		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518
	0.005 - 0.014			_____, 2519
		<0.005	แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	_____, 2520
	0.0083 - 0.145		เจ้าพระยาตอนล่าง	ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519
Dieldrin	0.005 - 0.016		ป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี	ทองต่อ แย้มประทุม, 2524
	<0.001 - 0.013		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518
	0.005 - 0.010			_____, 2519
		<0.005	แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	_____, 2520
		0.0015	เขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
	0.001 - 0.160		ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม, 2523
Endrin		0.027	แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518
	0.005 - 0.04			_____, 2519
		<0.005	แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	_____, 2520
	<0.001 - 0.001		เขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
	0.001 - 0.011		ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม, 2523
Lindane		0.005	แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2519
		<0.001	เขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างที่อยู่บนผิวดิน (ppm)		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิสัย (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
Aldrin	<0.001 - 0.005		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี หยาพัชร และคณะ, 2518
	0.005 - 0.030			———————, 2519
		<0.005	แหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ	———————, 2520
		<0.001	เขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
		0.160	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิไลลักษณ์ ยิ้มอุดม, 2523
Heptachlor	0.005 - 0.010		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี หยาพัชร และคณะ, 2519
HCH	0.001 - 0.28		ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิไลลักษณ์ ยิ้มอุดม, 2523
Heptachlor epoxide	0.005 - 0.030		แม่น้ำสำคัญทุกภาค	นวลศรี หยาพัชร และคณะ, 2519
Hept.t Hept. epox.		0.001	เขื่อนอุบลรัตน์	วิภา พรพิพัฒน์, 2522
α - BHC		<0.001	" ——— "	
PCB	0.1 - 1.1		ปากแม่น้ำเจ้าพระยา,ท่าจีน,แม่กลอง	วิไลลักษณ์ ยิ้มอุดม, 2523

056817

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของปริมาณโลหะหนักที่พบในแม่น้ำสำคัญ ๆ ทั่วประเทศไทย

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm ค่าเฉลี่ย (Average)	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง		เอกสารอ้างอิง
เหล็ก	1.43	แม่น้ำเจ้าพระยา	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2522)
	1.19		22	
	0.76		24	
	1.80	แม่น้ำท่าจีน	21	
	1.77		22	
	1.02		24	
	0.79	แม่น้ำแม่กลอง	21	
	1.38		22	
	0.43		24	
	0.35	แม่น้ำเพชรบุรี	22	
	1.13		24	
	1.95	แม่น้ำบางปะกง	21	
	2.03		22	
	1.02		24	

เหล็ก	0.78	แม่น้ำปราณบุรี	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.57		22	
	0.68		24	
	0.75	แม่น้ำตาปี	23	
	1.20	แม่น้ำปากพนัง	24	
แคดเมี่ยม	nil	แม่น้ำเจ้าพระยา	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.005		22	
	0.062		23	
	nil	แม่น้ำท่าจีน	21	
	nil		22	
	0.054		23	
	nil	แม่น้ำเพชรบุรี	22	
	nil		23	
	nil	แม่น้ำปราณบุรี	21	
	nil		22	
	0.113		23	
	nil	แม่น้ำเจ้าพระยา	22	
	0.02		23	
	0.05		24	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm ค่าเฉลี่ย (Average)	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง		เอกสารอ้างอิง
แคดเมี่ยม	0.04	แม่น้ำท่าจีน	22	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.03		23	
	0.03		24	
	0.01	แม่น้ำแม่กลอง	21	
	nil		22	
	0.01		23	
	0.03		24	
	0.003	แม่น้ำเพชรบุรี	23	
	0.05		24	
	nil	แม่น้ำปราณบุรี	22	
	nil		23	
	0.04		24	
	0.02	แม่น้ำตาปี	24	
	0.03	แม่น้ำปากพนัง	24	
ทองแดง	0.01	แม่น้ำเจ้าพระยา	23	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

		0.03	แม่น้ำเจ้าพระยา	24	
		0.01	แม่น้ำท่าจีน	23	
		0.08		24	
		0.02	แม่น้ำแม่กลอง	20	
		0.03		24	
		0.04	แม่น้ำเพชรบุรี	23	
		0.07		24	
		nil	แม่น้ำบางปะกง	23	
		0.09		24	
		0.03	แม่น้ำปราณบุรี	23	
		0.08		24	
		0.05	แม่น้ำตาปี	24	
		0.06	แม่น้ำปากพนัง	24	
ปรอท		0.74	แม่น้ำเจ้าพระยา	23	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
		0.53		24	
		0.25	แม่น้ำท่าจีน	23	
		0.52		24	
		0.49	แม่น้ำเพชรบุรี	23	

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm ค่าเฉลี่ย (Average)	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง		เอกสารอ้างอิง
ปรอท	0.75	แม่น้ำเพชรบุรี	24	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.30	แม่น้ำบางปะกง	23	
	0.63		24	
	1.1	แม่น้ำปราณบุรี	23	
	0.53		24	
	nil	แม่น้ำตาปี	24	
	nil	แม่น้ำปากพนัง	24	
แมงกานีส	0.09	แม่น้ำเจ้าพระยา	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.15		22	
	0.22		23	
	0.14		24	
	0.26	แม่น้ำท่าจีน	21	
	0.15		22	
	0.29		23	
	0.12		24	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

	0.04	แม่น้ำแม่กลอง	21	
	0.14		22	
	0.36		23	
	0.03		24	
	0.11	แม่น้ำบางปะกง	21	
	0.26		22	
	0.21		23	
	0.16		24	
	0.14	แม่น้ำปราณบุรี	21	
	0.13		22	
	0.22		23	
	0.19		24	
	0.05	แม่น้ำตาปี	24	
	0.04	แม่น้ำปากพนัง	24	
ตะกั่ว	nil	แม่น้ำเจ้าพระยา	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.05		22	
	0.11		23	
	0.03		24	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm ค่าเฉลี่ย (Average)	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง		เอกสารอ้างอิง
ตะกั่ว	0.03	แม่น้ำท่าจีน	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.03		22	
			23	
	0.01		24	
	0.04	แม่น้ำแม่กลอง	21	
	0.04		22	
	nil		23	
	0.01		24	
	0.04	แม่น้ำเพชรบุรี	22	
	nil		23	
	0.01		24	
	0.02	แม่น้ำบางปะกง	21	
	0.06		22	
	0.05		24	
	0.04	แม่น้ำปราณบุรี	21	

	0.02	แม่น้ำปราณบุรี	22	
	nil		23	
	0.01		24	
สังกะสี	0.03	แม่น้ำเจ้าพระยา	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.08		22	
	0.09		23	
	0.11		24	
	0.14	แม่น้ำท่าจีน	21	
	0.10		22	
	0.11		23	
	0.09		24	
	0.04	แม่น้ำแม่กลอง	21	
	0.24		22	
	0.09		23	
	0.06		24	
	0.21	แม่น้ำเพชรบุรี	22	
	0.03		23	
	0.10		24	

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm ค่าเฉลี่ย (Average)	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง		เอกสารอ้างอิง
สังกะสี	0.05	แม่น้ำบางปะกง	21	กองอนามัย ส.ว.ล. (2524)
	0.10		22	
	0.08	แม่น้ำบางปะกง	23	
	0.10		24	
	0.10	แม่น้ำปราณบุรี	21	
	0.07		22	
	0.13		23	
	0.10		24	
	0.06	แม่น้ำตาปี	24	
	0.02	แม่น้ำปากพนัง	24	

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิกัด (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
ตะกั่ว	6.8–15.8	10.10	แม่น้ำลพบุรี อยุธยา	Polprasert 1974
	6.5–11.5	8.17	เขื่อนสิริกิติ์	หมายเหตุ ไม่บอกว่าเก็บน้ำ
		7	แม่น้ำท่าจีน นครปฐม	ที่ระดับไหน
	8.2–19.0	13.60	แม่น้ำแควใหญ่ กาญจนบุรี	
	10.5–12.0	11.25	บ้านลาดหญ้า	
	10.6–15.0	12.80	เขื่อนวชิราลงกรณ์	
		9.4	บ้านตอง	
		13.9	แควใหญ่ ที่บ้านลาดหญ้า	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิกัด (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
แคดเมียม	0.3–1.5	0.16	แม่น้ำลพบุรี อยุธยา	Polprasert (1974)
	3.4–4.2	3.83	เขื่อนสิริกิติ์	* ไม่ทราบระดับน้ำที่เก็บน้ำ
	3		แม่น้ำท่าจีน นครปฐม	
	1.1–2.9	2	แม่น้ำแควใหญ่ กาญจนบุรี	
	2.1–2.4	2.25	บ้านลาดหญ้า	
	1.8	1.8	เขื่อนวชิราลงกรณ์	
		0.6	บ้านตอง	
		0.3	แควใหญ่ บ้านลาดหญ้า	

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm		บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	พิกัด (Range)	ค่าเฉลี่ย (Average)		
ทองแดง	2.1–3.1	2.58	แม่น้ำลพบุรี อยุธยา	Polprasert (1974)
	0.4–2.3	1.57	เขื่อนสิริกิติ์	* ไม่บอกระดับที่เก็บน้ำ
		1.6	แม่น้ำท่าจีน นครปฐม	
	0.2–5.2	3.05	แม่น้ำแควใหญ่ กาญจนบุรี	
	1.6–1.8	1.7	บ้านลาดหญ้า	
	1.5–2.0	1.75	เขื่อนวชิราลงกรณ์	
		1.2	บ้านตอง	
		1.0	แควใหญ่ บ้านลาดหญ้า	

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ปริมาณสารพิษในตัวอย่างน้ำเป็น ppm ค่าเฉลี่ย (Average)	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
แคดเมี่ยม	0.004	Steel Plant	Cheng (1974)
	0.050	Electroplating Plant	
	0.020	Battery Factory	
	0.14	Factory B	
โครเมี่ยม	13.3	Electroplating Plant	
	0.075	Battery Factory	
	0.8**	Factory B	
ทองแดง	0.124	Steel Plant	
	0.40	Electroplating Plant	
	0.20	Battery Factory	
เหล็ก	190,000**	Factory B	
ตะกั่ว	0.052	Steel Plant	
	0.20	Electroplating Plant	
	6.60	Battery Factory	
นิเกิล	11.0	Electroplating Plant	

สังกะสี		0.036		Steel Plant	
		0.1		Electroplating Plant	
		0.72		Battery Factory	
ปรอท		0.00406		พระประแดง พ.ย. 2522	สุรพันธ์ (2523)
		0.00383		ธ.ค. 22	
		0.00424		ม.ค. 23	
		0.00432		ก.พ. 23	
		0.00411		มี.ค. 23	
		0.00418		เม.ย. 23	
	average		0.00412		
		6.812		Thai National	Sivadechathep (1981)
		0.090		Kim Huad	
		1.732		Tuasa	
		4.108		Eng Parm Chai	

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ของสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักที่พบในแม่น้ำและดินตะกอนที่เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

7.1 ปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในน้ำและดินตะกอน หน่วยเป็น ppm

ชนิดของสารพิษ	0-0.025	>0.025-0.05	>0.05
สารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในน้ำ	100%	0%	0%
สารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงในดินตะกอน	61.36%	15.91%	27.73%

7.2 ปริมาณโลหะหนักในแม่น้ำสายสำคัญ ๆ บริเวณปากน้ำ หน่วยเป็น ppm

ชนิดของโลหะหนัก	ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน	ช่วงปานกลาง	สูงกว่าค่ามาตรฐาน
แคดเมี่ยม	0-0.015 39.13%	>0.015-0.030 4.35%	>0.030 56.52%
โครเมี่ยม	0-0.25 95%	>0.25-0.50 0%	>0.50 5%
ทองแดง	0-0.50 68%	>0.50-1.0 4%	>1.0 28%
ปรอท	0-0.0025 12.5%	>0.0025-0.005 25.0%	>0.005 62.5%
แมงกานีส	0-2.5 100%	>2.5-5.0 0%	>5.0 0%

ชนิดของโลหะหนัก	ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน	ช่วงปานกลาง	สูงกว่าค่ามาตรฐาน
ตะกั่ว	0–0.10 69.70%	>0.10–0.20 0.03%	>0.20 27.27%
สังกะสี	0–2.50 100%	>2.50–5.0 0%	>5.0 0%
นิเกิล	0–0.10 0%	>0.10–0.20 0%	>0.20 100%
โลหะหนักทั้งหมด	68.75%	5.11%	26.14%

7.3 ปริมาณโลหะหนักในน้ำทะเลในน่านน้ำไทย หน่วยเป็น ppm

ชนิดของโลหะหนัก	ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน	ช่วงปานกลาง	สูงกว่าค่ามาตรฐาน
แคดเมี่ยม	0–0.015 84.21%	>0.015–0.030 0%	>0.030 15.79%
ทองแดง	0–0.50 100%	>0.50–1.0 0%	>1.0 0%
ปรอท	0–0.0025 66.67%	>0.0025–0.005 25.0%	>0.005 8.33%
ตะกั่ว	0–0.10 80%	>0.10–0.20 8%	>0.20 12%
สังกะสี	0–2.5 100%	>2.5–5.0 0%	>5.0 0%
โลหะหนักทั้งหมด	83.84%	8.08%	8.08%

7.4 ปริมาณโลหะหนักในดินตะกอน หน่วยเป็น ppm

ชนิดของโลหะหนัก	ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน	ช่วงปานกลาง	สูงกว่าค่ามาตรฐาน
ทองแดง	0–0.5 0%	0.5–1.0 0%	1.0 100%
สังกะสี	0–2.5 0%	2.5–5.0 0%	5.0 100%
แคดเมี่ยม	0–0.015 0%	0.015–0.030 0%	0.030 100%
ปรอท	0–0.0025 3.85%	0.0025–0.005 0%	0.005 96.15%
ตะกั่ว	0–0.10 5.26%	0.10–0.20 0%	0.20 94.74%
สารหนู	0–0.25 0%	0.25–0.50 0%	0.50 100%
โลหะหนักทั้งหมด	2.25%	0%	97.75%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

กองอนามัยสิ่งแวดล้อม, 2524. การสำรวจคุณภาพน้ำในย่านน้ำกร่อย, *การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย*, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ หน้า 88–100.

ชลีรัตน์ พยอมแย้ม, 2519. *การศึกษาการกระจายของ ดีดีที. และ พีซีจี. ในบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาตอนล่าง*, วิทยานิพนธ์, ภาควิชาชีววิทยา, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 26 หน้า.

ทองต่อ แย้มประทุม และคณะ, 2524. การศึกษามลพิษของน้ำและตะกอนในบริเวณป่าไม้ชายเลน จังหวัดชลบุรี, *การวิจัยสภาวะแวดล้อมในอ่าวไทยและภาคตะวันออก*, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน. หน้า 26–42.

ทวีศักดิ์ บียะกาญจน์, อำไพ อิทธิเกษม และ รวิวรรณ วัชรางกุล, 2520. *การเปลี่ยนแปลงของ* ปริมาณตะกั่ว ปรอท และแคดเมี่ยม ในน้ำและดินตะกอนในอ่าวไทยตอนบน, *รายงานการสัมมนาทางวิชาการ ปัญหามลภาวะของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย*, สถาบันวิจัย สภาวะแวดล้อม, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 146–161.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2516. *การศึกษาวิจัยวัตถุมีพิษตกค้างในน้ำและตะกอน*, รายงานผลการทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร. 3 หน้า.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2517. *ผลการศึกษาวิจัยวัตถุมีพิษตกค้างในน้ำและตะกอน*, รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร, 7 หน้า.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2518. *งานศึกษาวิจัยวัตถุมีพิษตกค้างในน้ำและตะกอน*, รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร. 11 หน้า.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2519. *การศึกษาวิจัยวัตถุมีพิษตกค้างในน้ำและตะกอน*, รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร. 18 หน้า.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2520. *การศึกษาวิจัยวัตถุมีพิษตกค้างในน้ำและตะกอน* รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร 20 หน้า.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2523. *สารมีพิษตกค้างในตะกอน* รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร, 13 หน้า.

นวลศรี ทยาพัชร และคณะ, 2523 ก. *สารมีพิษตกค้างในน้ำ*, รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร, 8 หน้า.

ประวีณ ลิมปสายชล, 2522. *ระดับโลหะหนักบางชนิดในบริเวณชายฝั่งทะเลและป่าไม้ชายเลน จังหวัดภูเก็ต*, รายงานผลการประชุมสัมมนาระบบนิเวศน์วิทยาป่าชายเลน ครั้งที่ 3, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่, หน้า 383–388.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, กรรณิการ์ ดิษยวงศ์ และ พรพิมล พงษ์กสิกิจ, 2524. *การตรวจสอบคุณภาพน้ำและปริมาณของยาปราบศัตรูพืชที่ตกค้างในบริเวณโครงการชลประทานป่าสักใต้*, วารสารวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, เล่มที่ 8 หน้า 90–111.

มนุวดี หังสพฤกษ์ และกัลยา วัฒยากร, 2521. *การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณดีดีที ในน้ำ*, ดินตะกอนและสัตว์ทะเล ในอ่าวไทยและทะเลอันดามัน.

สรุปผลซิมโปเซียม การสำรวจและวิจัยสภาวะน้ำเสียในน่านน้ำไทย, ศูนย์ชีววิทยาทางทะเลภูเก็ต หน้า 93–100.

วิภา พรพิพัฒน์ และ ประยูร ดีมา, 2522. *การศึกษาหาสารพิษตกค้างในปลา, น้ำ, ตะกอน บริเวณอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์,* รายงานผลการทดลองและวิจัย, กรมวิชาการเกษตร, 19 หน้า.

วิไลลักษณ์ อึมอุดม, 2523. *การวิเคราะห์หายาฆ่าแมลงและสารไฮโดรคาร์บอนอินทรีย์ที่มีคลอรีนจากดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำในอ่าวไทย,* วารสารเภสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย 34 (4), หน้า 217–226.

สมพร สุทธาโรจน์, 2520. *การสำรวจปริมาณสารปรอทในแหล่งน้ำประเทศไทย,* รายงานการสัมมนาทางวิชาการ ปัญหามลภาวะของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 87–106.

สุธน เสถียรยานนท์, 2520. *การวิเคราะห์หาธาตุที่เป็นพิษในน้ำส่วนบนในคลองแสนแสบโดยวิธีนิวตรอนแอคติเวชั่น,* รายงานการสัมมนาทางวิชาการ ปัญหามลภาวะของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย, สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 79–86.

อำไพ อิทธิเกษม, 2521. ผลการวิเคราะห์ธาตุปริมาณน้อยในน้ำทะเลและดินตะกอน สรุปผลซิมโปเซียม *การสำรวจและวิจัยสภาวะน้ำเสียในน่านน้ำไทย,* ศูนย์ชีววิทยาทางทะเล ภูเก็ต, หน้า 103–116.

อำไพ อิทธิเกษม และคณะ, 2524. ผลการวิเคราะห์โลหะหนักปริมาณน้อยในน้ำทะเลและดินตะกอน, *การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย,* สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. หน้า 165–179.

Dimzon, M.S. 1977. Inorganic mercury uptake by Chao Phya river bed sediments, Thesis, *Asian Institute of Technology*, Bangkok Thailand. 52. pp.

Menasaveta, P. and Sawangwong, P. 1978. *Distribution of heavy metals in the Chao Phya river estuary*, Asian Environment : 1 (2) p. 6–11.

Polprasert, C. 1974. Heavy metal contamination of the Quac Yai reservoir, Thesis, *Asian Institute of Technology*, Bangkok Thailand., 62 pp.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษบางชนิดต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

รายงานฉบับนี้ได้รวบรวมการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารพิษบางชนิดต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย โดยเน้นเฉพาะสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืช โลหะหนัก ซัลไฟด์และสารมีพิษชนิดอื่น เช่น แอมโมเนียม, คลอรีนและไนไตร์ท ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดระดับปลอดภัยของสารมีพิษ (Safe concentration) ในแหล่งน้ำ.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Acute Toxicity of Some Toxic Substances On Aquatic Organisms In Thailand.

Nittharatana Paphavasit.

Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract.

This report is the compilation of acute toxicity studies of some toxic substances on aquatic organisms that have been carried out in Thailand. Toxic substances emphasized in this report are pesticides, heavy metals, sulphides, and other chemicals such as ammonia, chlorines and nitrites. This is to serve as the guide line for establishing safe concentrations of toxic substances in the aquatic environment.

บทนำ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษต่อสัตว์น้ำในประเทศไทยนั้นมุ่งศึกษาความเป็นพิษที่มีต่อปลาโดยเฉพาะปลาน้ำจืด ส่วนการศึกษาความเป็นพิษของสารมีพิษต่อสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น กุ้ง หอย และปูนั้นมีน้อยมาก อย่างไรก็ตามโดยสรุปแล้วการศึกษาความเป็นพิษของสารมีพิษต่อสัตว์น้ำในประเทศไทยนั้นยังมีน้อยมาก การกำหนดระดับความเป็นพิษของสารมีพิษต่อสัตว์น้ำในแหล่งน้ำมักจะถือตามผลการทดลองหรือมาตรฐานซึ่งกำหนดในต่างประเทศ

ทั้งนี้เราควรคำนึงถึงความแตกต่างของชนิดของสัตว์ที่ใช้ในการทดลองตลอดจนสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิซึ่งอาจทำให้ระดับความเป็นพิษต่างกันมาก ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของสารมีพิษที่มีต่อสัตว์น้ำที่พบในประเทศไทยนั้นทำให้ทราบระดับปลอดภัยของสารมีพิษ (safe concentration) ในแหล่งน้ำที่ใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุด

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษต่อสัตว์น้ำนิยมใช้วิธีชีววิเคราะห์ (bioassay) ซึ่งมีได้หลายวิธี วิธีหนึ่งที่นิยมคือการวิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static toxicity test) วิธีนี้สามารถทำได้ง่ายโดยมีภาชนะใส่สารละลายของสารมีพิษที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน สารละลายที่ใช้ในการทดลองนี้จะถูกเปลี่ยนเป็นระยะตลอดการทดลองเพื่อให้ความเข้มข้นของสารละลายเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด การวิเคราะห์แบบน้ำไหลเวียน (flow-through toxicity test) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมโดยมีสารละลายที่มีความเข้มข้นที่กำหนดไหลผ่านภาชนะที่ทดลองในอัตราที่คงที่ตลอดการทดลอง นอกจากวิธีการทดลองที่แตกต่างกันแล้วเรายังพบว่าการกำหนดสภาพการทดลองยังแตกต่างกันอีกด้วย เช่น อุณหภูมิ ความเค็มของน้ำ และความเป็นกรดด่างของน้ำเป็นต้น อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาต่าง ๆ ที่รวบรวมมาเราพอที่จะประมาณระดับความปลอดภัยของสารมีพิษหรือกำหนดมาตรฐานคุณสมบัติของน้ำในแหล่งน้ำต่าง ๆ ในประเทศไทย

สารมีพิษที่ปรากฏในสภาพแวดล้อมอาจจำแนกออกได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ ได้แก่สารมีพิษที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ เช่น พวก Biotoxin และปรากฏการณ์การเกิด red tide กลุ่มที่สองเป็นสารพิษที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของมนุษย์ได้แก่ การกสิกรรมและการอุตสาหกรรม สารพิษในกลุ่มนี้ที่สำคัญได้แก่โลหะหนักและสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลง ประเทศไทยนั้นจัดว่าเป็นประเทศที่กำลังพัฒนาเกี่ยวกับด้านอุตสาหกรรมหลายประเภท โรงงานอุตสาหกรรมหลายแห่งได้มีการ

ปล่อยสารโลหะหนักเหล่านี้ออกมาสู่บรรยากาศและเจือปนในน้ำทั้งที่มีปริมาณโลหะหนักต่าง ๆ กันลงสู่แม่น้ำ เมื่อโลหะหนักเหล่านี้ในแหล่งน้ำต่าง ๆ ก็จะเกิดการแพร่กระจายในน้ำในดินและในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะพวกสัตว์ที่อาศัย แหล่งน้ำเป็นที่อยู่อาศัย ที่หาอาหาร ที่เจริญเติบโตและที่ทำการแพร่พันธุ์ ถึงแม้ว่าจะพบปริมาณสารโลหะหนักเจือปนอยู่ในน้ำเป็นปริมาณน้อยก็ตาม แต่ก็พบโลหะหนักสะสมในสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ อยู่ในปริมาณสูงตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณการสะสมของโลหะหนักในสิ่งมีชีวิตนั้นจะเพิ่มขึ้นสูงตามขั้น trophic level ในวงโซ่อาหาร ความเป็นพิษของโลหะหนักต่อสิ่งมีชีวิตนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณการสะสม ระยะเวลาและชนิดของสิ่งมีชีวิตตลอดจนปัจจัยอื่น ๆ ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันไปด้วย Menaveta, (1975) รายงานว่าพิษของปรอทจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม เช่น พบความเป็นพิษของปรอทเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็นต้น ปลาที่ถูกสารปรอทจะมีการกินอาหารน้อยลง ว่ายน้ำไม่ตรงมีอาการพลิกตัวไปมาและปล่อยตัวให้อยู่ในแนวดิ่งที่ก้นอ่าง นอกจากนี้ยังพบว่าสีของตัวจะคล้ำลง สารปรอทสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิดและสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ชนิดอื่นได้ บางกรณีพบว่าปริมาณปรอทในตัวของสิ่งมีชีวิตบางชนิดจะช่วยให้สิ่งนั้นสามารถปรับตัวให้ทนต่อความเป็นพิษของปรอทได้มากขึ้น

พิษของตะกั่วต่อสัตว์น้ำโดยเฉพาะปลานั้นจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง การทำงานของระบบต่าง ๆ เสื่อมลงและเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวบริเวณเหงือกจะถูกทำลาย ตะกั่วจะจับตัวกับเมือกและสะสมบริเวณเหงือกของปลาทำให้ความสามารถในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลงหากได้รับสารนี้เป็นเวลานานก็อาจทำให้ปลาตายได้ โลหะแคดเมี่ยมนั้นมักจะทำให้เกิดการจับตัวของเมือกที่บริเวณเหงือกของปลาทำให้ปลาขาดออกซิเจน นอกจากนี้ทำให้การเสียสมดุลของเกลือแร่ภายในตัว

ปลามีผลต่อการขับถ่ายของเสียด้วย โลหะแคดเมี่ยมที่มีความเข้มข้นสูงอาจทำลายเนื้อเยื่อบางส่วนตลอดจนอวัยวะต่าง ๆ ได้ อาจทำให้สูญเสียความสามารถในการสืบพันธุ์หรือทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง สำหรับโลหะทองแดงนั้นแม้จะเป็นธาตุที่จำเป็นแก่สัตว์น้ำหลายชนิด เช่น พวกหอยชนิดต่าง ๆ ปลาหมึกและพวก crustacean โดยเป็นส่วนประกอบของ haemocyanin ในเลือดก็ตาม พบว่าถ้ามีปริมาณทองแดงสูงเกินไปเล็กน้อยก็อาจเป็นพิษต่อสัตว์น้ำได้ ในหอยนางรมเมื่อสะสมโลหะทองแดงไว้มากจะทำให้เหงือกและเนื้อเยื่อส่วน mantle มีสีเขียวผิดปกติ ทองแดงในรูปของ $CuSo_4$ จะทำให้เกิดตะกอนกับสิ่งที่เหงือกปลาขับออกมาและมีผลทำให้ปลาตายได้เนื่องจากเกิดการแลกเปลี่ยนก๊าซที่ผิดปกติและสารดังกล่าวยังทำลายเซลล์ที่อยู่ตามเหงือกปลาอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีผลต่อตัวอ่อนของปลาด้วย โลหะสังกะสีแสดงความเป็นพิษที่คล้ายคลึงกับทองแดงคือทำลายเซลล์บริเวณซี่เหงือกของปลาและมีผลต่อการวางไข่และตัวอ่อนของปลา นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาทำให้การเจริญเติบโตช้าลง

ยาฆ่าแมลงโดยเฉพาะพวกยา Organochlorine เช่น DDT, Endrin, Dieldrin, BHC และ Heptachlor เป็นต้น จัดว่าเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการสะสมสารพิษขึ้นในสิ่งแวดล้อมเพราะสารในกลุ่มนี้จะแสดงอาการเป็นพิษโดยเฉียบพลันและรุนแรงมากกว่ายาปราบศัตรูพืชชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ตกค้างยาวนาน พิษของยาฆ่าแมลงนั้นจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ที่ได้รับสารนั้น ในพวก crustacean จะแสดงอาการตอบสนองต่อยากลุ่มนี้อย่างรวดเร็ว และรุนแรงเช่นเดียวกับแมลงปลาหลายชนิดอาจได้รับอันตรายทั้งชีวิตเนื่องมาจากพิษของยาฆ่าแมลง บางชนิดอาจเสียการทรงตัวไม่สามารถว่ายน้ำได้หรือสูญเสียความสามารถในการสืบพันธุ์เป็นหมัน นอกจากนี้ยังพบปลาบางชนิดที่ได้รับยาฆ่าแมลงเข้าไว้ในตัวไม่สามารถกินอาหารได้หรืออาจมีอาการตาบอดได้

ปริมาณซัลไฟด์โดยเฉพาะพวกสารประกอบ Hydrogen sulphide นั้นมักเป็นส่วนประกอบของตะกอนดินที่พบตามบริเวณชายฝั่งทะเล ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับสภาพการขาดปริมาณออกซิเจนในดิน การเกิดปริมาณซัลไฟด์ในดินนั้นมักมิใช่ปัญหาใหญ่ต่อสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ตามบริเวณพื้นท้องทะเล ความทนทานของสัตว์น้ำที่อาศัยตามพื้นท้องทะเลนั้นมักจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับลักษณะที่อยู่อาศัยของมันโดยเฉพาะลักษณะของตะกอนดินที่มันอาศัยอยู่ พวกสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ตามพื้นที่เป็นดินเลนหรือโคลนเหลวมักจะทนทานต่อสภาพการขาดออกซิเจนและปริมาณสารประกอบซัลไฟด์ปริมาณสูงมากกว่าพวกที่อาศัยอยู่ตามพื้นทราย นอกจากนี้พวกที่สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างรวดเร็วจะทนได้ต่อสภาพที่มีปริมาณซัลไฟด์สูงได้น้อยกว่าพวกที่ฝังตัวอยู่กับที่ ถึงแม้ว่าปริมาณซัลไฟด์ในดินอาจไม่แสดงความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำในบริเวณนั้นจนถึงตาย แต่การที่สัตว์น้ำนั้นต้องเผชิญกับสภาพที่มีปริมาณซัลไฟด์สูงเป็นเวลานานอาจทำให้สัตว์น้ำนั้นอ่อนแอลงได้ซึ่งอาจมีผลทำให้การกินอาหารลดลงและอัตราเมตาบอลิซึมลดลงจากปกติ ความทนทานของสัตว์น้ำต่อความเป็นพิษของสารประกอบซัลไฟด์จะขึ้นอยู่กับปัจจัย 4 ประการ คือ ลักษณะแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ ลักษณะเปลือกหรือผิวหนังที่ห่อหุ้มตัว ความสามารถในการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน และความสามารถในการกำจัดสารพิษออกจากตัวมันเอง

แอมโมเนียเป็นสารอนินทรีย์ที่เกิดจากการย่อยสลายของพวกอาหารที่เหลือตามบ่อเลี้ยงปลาหรือพวกของเสียที่สัตว์ขับถ่ายออกมา การที่สารนี้มีการสะสมอยู่มากทำให้เกิดความเสียหายต่อสัตว์น้ำได้ ในบ่อเลี้ยงปลาที่มีปลาเลี้ยงอยู่หนาแน่นจะมีแอมโมเนียสะสมจนถึงระดับที่เป็นพิษต่อปลาได้ ถ้าภายในบ่อมีความเป็นกรดด่างสูงจะยิ่งทำให้ความเป็นพิษของแอมโมเนียเพิ่มขึ้นมาก แอมโมเนียมักสลายเป็นสารประกอบพวกไนไตรท์ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเช่นกัน ถ้าในน้ำมีแอม-

โมเนียและไนไตรท์ปริมาณต่ำก็สามารถทำให้ปลาอ่อนแอไม่เจริญเติบโต ปลาจะติดโรคได้ง่าย แอมโมเนียจะมีผลต่อระบบหายใจของปลา ถ้าความเข้มข้นสูงมากจะทำให้การหายใจของปลาผิดปกติ ปลาอาจสลบและตายไปในที่สุด ส่วนสาเหตุที่ไนไตรท์เป็นพิษต่อสัตว์ก็เนื่องจากไนไตรท์มีคุณสมบัติเป็น oxidising agent มันจะไปออกซิไดร์สาร Haemoglobin ในเม็ดเลือดแดงให้กลายเป็น Methemoglobin ซึ่งจะไม่สามารถรับออกซิเจนไปส่งให้เซลล์ตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้ ทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน

ในโรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มักนำน้ำจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ในกิจการผลิตและในระบบหล่อเย็น (Cooling system) สำหรับป้องกันไม่ให้เครื่องจักรเกิดความร้อนสูง คลอรีนเป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กันในน้ำที่ผ่านระบบหล่อเย็นเพื่อกำจัดสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กโดยเฉพาะพวกสาหร่ายทะเลและตะไคร่น้ำที่เกาะอาศัยอยู่ตามท่อน้ำในระบบหล่อเย็น ดังกล่าวคลอรีนจะมีฤทธิ์ทำลายเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของสัตว์น้ำทำให้การแลกเปลี่ยนออกซิเจนเพื่อการหายใจลดลง สัตว์น้ำเมื่อสัมผัสกับคลอรีนมักจะมีการว่ายน้ำไปมาอย่างรวดเร็วและเสียการทรงตัว อัตราการหายใจจะเร็วขึ้นเพื่อพยายามรับเอาออกซิเจนให้เพียงพอกับความต้องการ ปลาที่ตายเนื่องจากพิษของคลอรีนมักจะมีกระพุ้งแก้มกางออก ปากอ้า ครีบกางคล้ายกับมีระบบการหายใจขัดข้อง นอกจากนี้เราพบว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อความเป็นพิษของคลอรีนโดยที่ความเป็นพิษของคลอรีนจะสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืช

อำนวย แท่นทอง (2508) ได้ทดลองพิษของยาฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อปลา ยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ยาเอ็นดริน ดีลเดร็กซ์ และมาลา-

ไธออน ส่วนปลาที่ใช้ในการทดลองได้แก่ปลา 5 ชนิด คือ ปลาไน ปลาช่อน ปลาดุก ปลาสลิด และปลาหมอไทย การทดลองเป็นแบบน้ำนิ่งผลปรากฏว่าปลาไม่ตายในเอ็นดริน ที่มีความเข้มข้น 0.0005 ppm ดีลเดร็กซ์ 0.1125 และมาลาไธออน 8.50 ppm ส่วนค่า LD_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารมีพิษที่ทำให้จำนวนปลาที่ใช้ทดลองตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่ายาเอ็นดรินมีความเข้มข้น 0.005 ppm ดีลเดร็กซ์ 0.225 ppm และมาลาไธออน 15.25 ppm ที่ความเข้มข้นสูงปลาจะตายหมดที่เอ็นดรินเข้มข้น 0.025 ppm ดีลเดร็กซ์ 0.450 ppm และมาลาไธออน 28.50 ppm.

สุธรรม อารีกุล และณิศ กีรติบุตร (2509) ได้ทำการทดลองหาพิษของยาฆ่าแมลงบางชนิดที่นิยมใช้กันในนาข้าว และ ลำน้ำจืดต่าง ๆ ว่าจะมีพิษต่อปลาที่อาศัยอยู่นั้นมากน้อยเพียงใด ยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้แก่ยาฟอเรท (phorate, Thimet) เฮพตาคลอ (heptachlor) คาร์บาริล (carbaryl, sevin) ยาแกมม่าบีเอชซี (gamma BHC) อาเบท (Abate, Experimental Insecticide 52160), ซอลวิเรกซ์ (Solvirex), ไดซีสทอน (Disyston) เอ็นดริน (endrin) อันเดน และไซโอเลน (Cyolane) ทำการทดลอง ผลของยาฆ่าแมลงในกระถางเพาะปลูกข้าวที่ปรับปรุงให้มีสภาพแวดล้อมคล้ายนาข้าว ปลาที่ใช้ในการทดลองได้แก่ปลาสลิด (*Trichogaster pectoralis*), ปลาไน (*Cyprinus carpio*) ปลาหมอเทศ (*Tilapia mossambica*) ปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) และปลาหมอไทย (*Anabus testudineus*) ผลการทดลองพบว่ายาฆ่าแมลงที่มีพิษสูงต่อปลาที่ทดลอง คือ ฟอเรท ซึ่งใช้ในอัตราเนื้อยาบริสุทธิ์ 180 กรัม ต่อไร่ทำให้ปลาสลิด ปลาไน และปลาหมอเทศ อายุ 1 เดือน ตายสูงกว่า 85% ขึ้นไปภายในเวลา 1–3 วัน และมักไม่เกิน 5 วัน ประเภทที่ทำให้ปลาตายสูงกว่า 50% ก็มีแกมมา บี เอช ซี, อาเบท และ ซอลวิเรกซ์ ในปริมาณการใช้เท่ากัน ยาฆ่า

แมลงที่ให้ผลค่อนข้างปลอดภัยกว่ายาฆ่าแมลงอื่น ๆ คือ เซพตาคลอ และ คาร์-บาริล ในบรรดาปลาที่ทดลองพบว่าปลาสลิดจะแพ้ฤทธิ์ยาฆ่าแมลงมากกว่าปลาอื่น ๆ

ปลาที่ได้รับพิษยาฆ่าแมลงเหล่านี้มีอาการแสดงให้เห็นออกมาภายนอกมีลักษณะคล้าย ๆ กันทั้งสิ้น กล่าวคือ ปลาจะมีอาการดิ้นทุรนทุรายในระยะแรกในการว่ายน้ำวนเวียนไปมาอย่างรวดเร็วไม่มีทิศทางที่แน่นอน มีการว่ายตะแคงตัวหรือว่ายพุ่งขึ้นสู่ผิวน้ำบ่อยครั้งซึ่งเป็นลักษณะที่ผิดธรรมดา อาการต่อมา คือ การว่ายน้ำจะช้าลงตามลำดับจนผลสุดท้ายเมื่อถึงแก่ความตายจะมีเลือดซึมไหลออกทางเหงือกและปาก อาการเหล่านี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งทำให้ปลาตายภายในเวลาไม่เกิน 5 วันหลังจากรับพิษยา

เทียนชัย ธงสินธุศักดิ์ และคณะ (2518) ได้ศึกษาถึงพิษของสารพิษ DDT, toxaphene และ methyl parathion เมื่อใช้เดี่ยว ๆ และรวมกันที่มีต่อปลาไน (*Cyprinus carpio* Linn) ในการทดลองครั้งนี้ได้ทดลองหาค่า LC_{50} โดยการทดลองแบบน้ำนิ่งที่อุณหภูมิน้ำเท่ากับ 26° ซ. และอุณหภูมิ 24° ซ. ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารพิษจะทำให้ปลาขับถ่ายมากขึ้นและมีลักษณะเป็นแท่ง ๆ ไม่เหมือนกับปลาในกลุ่ม control นอกจากนี้การขับถ่ายจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารมีพิษ อาการโดยทั่ว ๆ ไปของปลามักตกใจง่าย ว่ายไม่เป็นทิศทางและเกิด hyperexitability ค่า LC_{50} ที่ทดลองได้มีดังนี้คือ DDT มีความเข้มข้น 16.5 ppb, toxaphene เท่ากับ 20 ppb, methyl parathion เท่ากับ 13 ppb เมื่อใช้สารมีพิษร่วมกันค่า LC_{50} จะเปลี่ยนไปเป็นดังนี้ คือส่วนผสมของ toxaphene และ DDT ในอัตราส่วน 40 : 20 มีความเข้มข้นเท่ากับ 17 ppb และส่วนผสมของ toxaphene DDT และ methyl parathion ในอัตราส่วน 40 : 20 : 20 มีความเข้มข้นเท่ากับ 27.5 ppb เห็นได้ชัดจากการทดลองนี้ว่า methyl

parathion มีพิษมากกว่าสารมีพิษอื่นที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้การใช้สารมีพิษทั้งสามชนิดผสมกันจะมีแนวโน้มทำให้ความเป็นพิษลดลง

เทียนชัย ธงสินธุศักดิ์ และคณะ (2519) ได้ทำการทดลองเพื่อตรวจพิษตกค้างของ DDT, Toxaphene และ methyl parathion ในปลาไน (*Cyprinus carpio* Linn) หลังจากที่ทราบค่า LC_{50} ของสารมีพิษจากการทดลองครั้งก่อน โดยให้ปลาที่ทดลองอยู่ในน้ำที่มีปริมาณ DDT เท่ากับค่า LC_{50} ของมันคือ 16.5 ppb และของ methyl parathion เท่ากับ 13 ppb เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง แล้วนำไปตรวจหาปริมาณพิษตกค้างของสารมีพิษในปลา พบว่าปริมาณพิษตกค้างของ DDT ในปลาโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.08 ppm คิดเป็น 14.62% ของปริมาณ DDT ทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ยังตรวจพบ metabolite ของ DDT คือ DDE ที่ตกค้างในปลาโดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.95 ppm คิดเป็น 38.8% ของปริมาณสารมีพิษที่ใช้ในการทดลอง ส่วนปริมาณของ methyl parathion ที่พบสะสมในปลาเฉลี่ยเท่ากับ 0.148 ppm คิดเป็น 1.32% ปริมาณทั้งหมดจากการตรวจวิเคราะห์ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ methyl parathion ในตัวปลาแต่ DDT จะถูกเปลี่ยนไปเป็น DDE ในตัวปลาได้ซึ่งมีปริมาณมากกว่า DDT 2.4 เท่า

มัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ (2520) ศึกษาความเป็นพิษของสารมีพิษเมื่อใช้สองชนิดผสมกันที่มีผลต่อปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.) โดยทดลองหาความเป็นพิษของสารมีพิษแต่ละชนิดก่อนเพื่อทราบค่า LC_{50} ของสารมีพิษแต่ละชนิดแล้วนำสารมีพิษแต่ละอย่างมาผสมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน คือ LC_{50}, $\frac{1}{2}\ LC_{50}$, $\frac{1}{4}\ LC_{50}$ และ $\frac{1}{8}\ LC_{50}$ ผลการทดลองพบว่าค่า LC_{50} ของสารมีพิษแต่ละชนิดที่มีต่อปลานิลอายุโดยเฉลี่ย $1\frac{1}{2}$ เดือนเป็นดังนี้คือ

DDT มีความเข้มข้นเท่ากับ 85.5 ppb Endrin มีความเข้มข้นเท่ากับ 3.1 ppb Padan มีความเข้มข้นเท่ากับ 245 ppb และ Tamaron มีความเข้มข้น

เท่ากับ 46 ppm เมื่อนำสารมีพิษผสมกันระหว่าง DDT กับ Endrin และ Padan กับ Tamaron พบว่าเมื่อใช้ระดับเท่ากับ LC_{50} ของแต่ละชนิดจะทำให้ปลาทดลองตายหมด เมื่อใช้ปริมาณเท่ากับ $\frac{1}{2}$ LC_{50} ของแต่ละชนิดผสมกันทำให้ปลาเกิด 50% ของจำนวนปลาทั้งหมด แสดงว่า ความเป็นพิษนั้นเป็นแบบพิษเสริมในระดับต่ำหรือมีพิษรุนแรงขึ้นบ้าง ซึ่งในแหล่งน้ำธรรมชาติความเป็นพิษของสารมีพิษแต่ละชนิดอาจเสริมกันทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำรุนแรง

มัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ (2521) ได้ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษได้แก่ Lannate Tokuthion Carbaryl 2, 4–D (Hedonal) Paraquat (grammoxone) และ Tamaron ที่มีต่อปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.) พบว่าค่า LC_{50} ที่อุณหภูมิห้อง 28° ซ. ของ Lannate, Tokuthion, Carbaryl 2, 4–D Paraquat และ Tamaron มีค่าเท่ากับ 1.25, 24, 6.2, 15.1 และ 46 ppm ตามลำดับ Lannate มีความเป็นพิษสูงสุด รองลงมาคือ Carbaryl ส่วนสารที่มีพิษต่ำสุดคือ Tamaron

มัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ (2522) ศึกษาความเป็นพิษของสารมีพิษเมื่อใช้สองชนิดผสมกับที่มีผลต่อปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.) อายุ $1\frac{1}{2}$ เดือน สารมีพิษที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ Tokuthion Tamaron Lannate m–parathion Furadan Phosdrin และ 2, 4–D Sevin ค่า LC_{50} ภายใน 24 ชั่วโมงของสารมีพิษแต่ละชนิดเป็นดังนี้คือ Lannate เท่ากับ 1.25 ppm Tokuthion เท่ากับ 2.40 ppm Carbaryl เท่ากับ 6.20 ppm และ 2, 4–D, Sevin เท่ากับ 6.8 ppm ส่วนค่า LC_{50} สำหรับ Tamaron เท่ากับ 46.0 ppm m–parathion เท่ากับ 16.5 ppm Furadan เท่ากับ 48 ppb และ Phosdrin เท่ากับ 37 ppb เมื่อเอาสารมีพิษแต่ละอย่างมาผสมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ กันคือ LC_{50},

$\frac{1}{2}$ LC_{50}, $\frac{1}{4}$ LC_{50} และ $\frac{1}{8}$ LC_{50} พบว่าสารมีพิษผสมระหว่าง Tokuthion กับ Tamaron และ Lannate กับ Tamaron จะเกิดพิษเสริมอย่างเด่นชัด ส่วนที่ทำให้เกิดพิษเสริมเล็กน้อยคือส่วนผสมระหว่าง Lannate กับ m-parathion และ Furadan กับ Phosdrin ส่วนผสมของ 2, 4-D, Sevin กับ Carbaryl นั้นไม่เกิดพิษเสริมแต่อย่างใด ผลที่เกิดมีแนวโน้มที่จะเกิดพิษหักล้าง (cantagonism) แต่ก็ไม่เด่นชัดนัก

Khatikarn (1985) ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของ DDT methyl-parathion และ carbaryl ต่อลูกปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* (Blecker)) เขาได้ศึกษาหาค่า LC_{50} ภายใน 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงของสารพิษแต่ละชนิด พบว่า DDT เป็นยาฆ่าแมลงที่มีพิษสูงสุดโดยมีค่า LC_{50} ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 0.033, 0.031, 0.030 และ 0.029 ppm ตามลำดับ methyl parathion มีพิษน้อยที่สุดโดยที่ค่า LC_{50} ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 11.4810.72, 10.21 และ 9.77 ppm ตามลำดับ ส่วน Carbaryl นั้นพบว่าค่า LC_{50} ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 8.22, 6.50, 6.29 และ 6.29 ppm ตามลำดับ

ผะอบ ไชเย็น (2525) ศึกษาพิษเฉียบพลันของ Furadan และ 2, 4-D (Hedonal) ที่มีต่อลูกปลาดุกด้านขนาดความยาวประมาณ 2.1-3.0 เซนติเมตร และลูกปลาตะเพียนขาวขนาดความยาวประมาณ 2.2-2.5 เซนติเมตร โดยวิธีวิเคราะห์แบบน้ำนึ่ง พบว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยของ Furadan และ 2, 4-D (Hedonal) ที่มีต่อลูกปลาดุกด้านและลูกปลาตะเพียนขาวควรมีค่าไม่เกินกว่า 0.068 และ 60.0 ppm ตามลำดับ

จารุวรรณ สมศิริ (2525) ศึกษาพิษเฉียบพลันของยาปราบศัตรูพืช Paraquat หรือ Gramoxone ที่มีต่อปลาดุกด้าน (*Clavius batrachus*) โดยวิธี

ชีววิเคราะห์แบบน้ำนึ่งพบว่าค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงของ Paraquat ที่มีต่อปลาดุกด้านเท่ากับ 0.0082 ppm และระดับความปลอดภัยของสารนี้อยู่ระหว่าง 0.005–0.012 ppm.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต (2526) ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของสาร Paraquat ต่อปลาน้ำจืดสองชนิด คือ ปลาหางนกยูง และปลานิล ผลการวิจัยในระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า ปลาหางนกยูงมีความทนทานต่อสาร Paraquat น้อยกว่าปลานิล ค่า TLm (Median Tolerance Limit) ที่ 96 ชั่วโมง ของสาร Paraquat ต่อปลาหางนกยูงเท่ากับ 2.65 ppm และต่อปลานิลเท่ากับ 17.6 ppm

ตารางที่ 1 แสดงความเป็นพิษเฉียบพลันของสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืชที่มีต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย นอกจากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืชแล้วยังมีการศึกษาวิจัยความเป็นพิษเรื้อรัง (Chronic toxicity) หรือความเข้มข้นของสารมีพิษระดับต่ำที่ไม่ทำให้สัตว์ทดลองตาย (Sublethal effect) การศึกษาแบบนี้ต้องใช้การศึกษาเวลานานจึงจะวัดผลได้ เช่น ผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง ผลต่อการพัฒนาของไข่และตัวอ่อน ผลต่อขบวนการทางสรีรวิทยาตลอดจนผลต่อลักษณะเนื้อเยื่อต่าง ๆ วราภรณ์ กิจวิริยะ (2523) ได้ศึกษาความผิดปกติในเนื้อเยื่อของปลาหางนกยูง *(Gambusia affinis)* เนื่องจากการสะสมของยาฆ่าแมลง ยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้แก่ Diedrin ความเข้มข้น 2 และ 4 ppb สาร Endrin ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 ppb และ Lindance ความเข้มข้น และ 8 ppb ผลการวิเคราะห์ทางวิทยาฮีสโตพบว่าเนื้อเยื่อในอวัยวะของปลา เช่น สมอง เหงือก ทางเดินอาหาร ตับ ม้าม และไต แสดงลักษณะของเซลล์และเนื้อเยื่อผิดปกติ ความผิดปกติมีในลักษณะต่าง ๆ คือ มีการเปลี่ยนรูปร่างและขนาดของเซลล์ มีเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพิ่มมากขึ้น มีการเพิ่มปริมาณ

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืชต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm.)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
		pp.			24Hr-LC100					
Endrin	ปลาตุก	0.005	-	-	0.025					
	ปลาไน	-	-	-	0.025					
	ปลาช่อน	-	-	-	0.025	static	23.5-28	-	7.5-8.6	อำนวย แท่นทอง (2508)
	ปลาสลิด	-	-	-	0.025					
	ปลาหมอไทย	-	-	-	0.025					
Dieldex	ปลาตุก	-	-	-	0.45					
	ปลาไน	-	-	-	0.225					
	ปลาช่อน	-	-	-	0.225		23.5-28	-	7.5-8.6	อำนวย แท่นทอง (2508)
	ปลาสลิด	0.225	-	-	0.45					
	ปลาหมอไทย	-	-	-	0.45					

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
Malathion	ปลาตุก	-	-	-	28.50					
	ปลาไน	-	-	-	15.25					
	ปลาช่อน	-	-	-	15.25		23.5-28	-	7.5-8.6	อำนวย แท่นทอง (2508)
	ปลาสลิด	-	-	-	28.50					
	ปลาหมอไทย	15.25	-	-	28.50					
DDT	ปลาไน	-	-	0.0165	-		26			เทียนชัย ธงสินธุ-ศักดิ์และคณะฯ, (2519)
	ปลานิล	-	0.0855	-	-		26			มัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ (2520)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
	ปลาตะเพียนขาว	0.033	0.031	0.029	0.030					
	ปลาไน	-	-	0.0200	-		26			เทียนชัย ธงสินธุ-ศักดิ์และคณะ (2519)
Methyl Parathion	ปลาไน	-	-	0.0130	-		26			เทียนชัย ธงสินธุ-ศักดิ์และคณะ (2519)
	ปลานิล	16.5	-	-	-		28			มัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ (2522)
	ปลาตะเพียนขาว	11.48	10.72	9.77	10.21					Khatikarn(1982)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
	ปลานิล	-	0.245	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2522)
Tamaron	ปลานิล	-	46.0	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2520)
Lannate	ปลานิล	-	1.25	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2520)
Tokuthion	ปลานิล	-	24	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2521)
Carbaryl	ปลานิล	-	6.2	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2521)
	ปลาตะเพียนขาว	8.22	6.50	6.29	6.29					Khatikarn (1982)
2,4,D (Hedonal)	ปลานิล	-	6.8	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2521)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
	ปลาดุกด้าน	-	-	420-470	60.0					ละออ ใจเย็น (2525)
	ปลาตะเพียนขาว	-	-	1100	60.0					
Paraquat (Gramoxone)	ปลานิล	-	15.5	-	-		26			บัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ (2521)
	ปลาดุกด้าน	-	0.0082	-	-					จาวุวรรณ สมศิริ (2525)
	ปลาหางนกยูง	-	-	>2.65	-		26.5±1.0			เยี่ยมศักดิ์ เมนะ-เศวตและคณะ (2526)
	ปลานิล	-	-	>17.6	-					

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
	ปลานิล	-	0.048	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2522)
	ปลาตุก	1.7	-	-	-					ผะอบ ใจเย็น (2525)
	ปลาตะเพียนขาว	5.6	-	-	-					
	ปลานิล	-	0.037	-	-		26			มัณฑนา อนุตรกุล และคณะ (2522)
ส่วนผสมของ Toxaphen:DDT (40:20)	ปลาไน	-	-	0.0170	-		26			เทียนชัย ธงสินธุ-ศักดิ์และคณะ (2518)
ส่วนผสมของ Toxaphene:DDt :Methyl Para-thion (40:20:20)	ปลาไน	-	-	0.0275	-		26			" "

ของเม็ดเลือดขาว มีการพองตัวและเกิดช่องว่างในเนื้อเยื่อมากกว่าปกติ อวัยวะที่แสดงการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน คือ เหงือก ไต และอวัยวะของระบบทางเดินอาหาร ความผิดปกติของเนื้อเยื่อส่วนเหงือกและไตแสดงออกรวดเร็วมาก เห็นได้ภายในระยะ 3 วัน ส่วนความผิดปกติของเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหารแสดงออกช้ากว่าจะเห็นได้ชัดเจนมากหลังจาก 168 วันไปแล้ว การที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเหงือกและไตทำหน้าที่รักษาสมดุลของน้ำในตัวปลา (Osmoregulation) น้ำและสารมีพิษที่ละลายอยู่ต้องผ่านเข้าออกอยู่ตลอดเวลา อวัยวะทั้งสองจึงมีโอกาสสัมพันธ์กับสารมีพิษมากกว่าอวัยวะอื่น ๆ นอกจากนี้พบว่าความผิดปกติของอวัยวะทั้งสองสัมพันธ์กันโดยตรง คือ เมื่อเหงือกเสียหายมาก ไตก็เสียหายมากด้วย

Khatikarn, (1982) ได้ศึกษาพิษของยาฆ่าแมลงชนิด methyl parathion และ carbaryl ซึ่งยาฆ่าแมลงทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์เป็น anticholinesterase คือ เป็นตัวทำลาย Acetylcholinesterase ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับสารนำคลื่นประสาท Acetylcholine neuotransmitter ซึ่งมีผลให้มีสาร Acetylcholine มีจำนวนมากเกินพอสะสมอยู่ที่ recepter sites ของ cholinergic nerves ทำให้เส้นประสาทหรือเนื้อเยื่อของอวัยวะและต่อมต่าง ๆ ที่เส้นประสาทควบคุมอยู่นั้นถูกกระตุ้นให้ทำงานมากจนทำงานผิดปกติ ถ้าอาการพิษรุนแรงอาจทำให้ถึงแก่ความตายได้ เขาได้ทดลองเลี้ยงปลาตะเพียนขาวใน methyl parathion และ carbaryl ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 0.6 ppm ตามลำดับ พบว่าการทำงานของเอนไซม์จะลดลงอย่างมากในส่วนสมองและกล้ามเนื้อของปลาที่ใช้ทดลอง พบว่า methyl parathion มีฤทธิ์เป็นตัวทำลายเอนไซม์ Acetylcholinesterase ในสมองมากกว่า carbaryl แต่ผลจะตรงกันข้ามในกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลอง นอกจากนี้พบว่า methyl parathion ยังมีฤทธิ์ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ถึงแม้นำตัวปลา

ออกจากสารละลายของยาฆ่าแมลงแล้วก็ตาม แต่ถ้านำปลาออกจากสารละลายของ carbaryl พบว่าปลาสามารถฟื้นตัวได้ มีการทำงานของเอนไซม์ในเกณฑ์ปกติได้

ความเป็นพิษเฉียบพลันของโลหะหนัก

ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์ (2521) ศึกษาผลของโลหะหนักที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิดโดยวิธีวิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง ปลาที่ใช้ในการทดลองได้แก่ปลาตะเพียนขาว *(Putius gonionotus)* และปลาดุกด้าน *(clarias batrachus)* ค่า TL_{50} ภายใน 48 ชั่วโมง ของปลาตะเพียนขาวขนาด 3.0–5.0 เซนติเมตร และปลาดุกด้านขนาด 2.5–4.5 เซนติเมตร ต่อ ปรอท ทองแดง สังกะสี เหล็ก แคดเมี่ยม และตะกั่วที่ทดลองในน้ำประปาที่มีความกระด้าง 100–110 ppm มีค่าเท่ากับ 0.011, 0,235, 1.35, 26.0, 64.0 และ 340 ppm และ 0.041, 43,64, 200,95 และ 350 ppm ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของปลาตะเพียนขาวและปลาดุกด้านเพื่อเป็นดัชนีที่มีต่อสารทดลองแล้วพบว่าปลาตะเพียนขาวเป็นปลาทดลองที่ให้ผลดีกว่าเนื่องจากปลาตะเพียนขาวเป็นปลาประเภท "active fish" ซึ่งต้องใช้ปริมาณออกซิเจนในการหายใจสูงกว่าปลาดุกด้าน ปลาดุกด้านนั้นมีความทนทานต่อความเป็นพิษของโลหะหนักได้ดีมาก เนื่องจากมีอวัยวะช่วยหายใจที่เรียกว่า "dendrite" ทำให้สามารถอยู่พ้นน้ำได้เป็นเวลานานแล้วยังมีเมือก (mucus) มากกว่าปลาตะเพียนขาวช่วยให้ทนทานต่อความเป็นพิษของสารมีพิษได้ดีขึ้น ดังนั้นปลาตะเพียนขาวเป็น sensitive species มากกว่าปลาดุกด้านจึงเหมาะที่จะใช้เป็นดัชนีเพื่อหาค่าระดับปลอดภัยของสารโลหะหนัก นอกจากนี้ผู้วิจัยได้หาค่ามาตรฐานในการกำหนดคุณลักษณะของน้ำทิ้งได้อาศัยค่า 0.1 ของ TL_{50} ภายใน 48 ชั่วโมง ของปลาตะเพียนขาวเป็นสำคัญ ค่าที่ประเมินได้นั้นไม่ได้รวมค่า combined effect ค่าที่ควรอนุญาตให้น้ำทิ้งมีโลหะหนักที่คิดความเป็นพิษของแต่ละสารเจือปนอยู่คือปรอทเท่ากับ 0.001 ppm ทองแดงเท่ากับ

0.02 ppm สังกะสีเท่ากับ 0.13 ppm เหล็กเท่ากับ 2.6 ppm แคดเมี่ยมเท่ากับ 6.4 ppm และตะกั่วเท่ากับ 34.0 ppm และทั้งนี้น้ำในแหล่งที่รับน้ำทิ้งจะต้องมีค่าความกระด้างในเกณฑ์ 100–110 ppm (ในรูปของ $CaCO_3$) และหรือไม่ต่อกว่าค่านี้

ปรีชา สมมณี (2523) ศึกษาพิษของโลหะหนักที่มีต่อหอยเสียบ (*Donax faba* Chemnitz) พบว่าปรอทมีพิษต่อหอยเสียบมากที่สุด รองลงมาคือแคดเมี่ยมและทองแดงซึ่งมีพิษรุนแรงเท่า ๆ กัน ส่วนสังกะสีมีพิษต่อหอยเสียบน้อยที่สุด ค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ของโลหะหนักเหล่านี้มีค่า 0.16, 0.91, 0.93 และ 1.62 ppm สำหรับปรอท แคดเมี่ยม ทองแดง และสังกะสี ตามลำดับ ระดับเริ่มเป็นพิษ (Threshold level) ของ ปรอท แคดเมี่ยม ทองแดง และสังกะสีที่มีต่อหอยเสียบเท่ากับ 0.11, 0.815, 0.9 และ 0.9 ppm ตามลำดับ ค่าระดับปลอดภัยของปรอท แคดเมี่ยม ทองแดง และสังกะสีที่มีต่อหอยเสียบอยู่ในช่วงระหว่าง 0.0032–0.0080, 0.0184–0.0461, 0.0186–0.0465 และ 0.0336–0.084 ppm ตามลำดับ

ปรีชา สมมณี (2523) ได้ทดลองเกี่ยวกับความเป็นพิษของทองแดง แคดเมี่ยมและสังกะสีที่มีต่อกุ้งแชบ๊วย พบว่าทองแดงและแคดเมี่ยมแสดงความเป็นพิษต่อกุ้งแชบ๊วยมากกว่าสังกะสี ค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงของทองแดง แคดเมี่ยมและสังกะสีต่อกุ้งแชบ๊วยมีค่า 0.14, 0.46 และ 1.85 ppm ส่วนค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงสังกะสีมีค่าเท่ากับ 0.84 ppm ซึ่งใกล้เคียงกับระดับเริ่มเป็นพิษของสารนี้เท่ากับ 0.8 ppm ค่าระดับปลอดภัยของทองแดงแคดเมี่ยมและสังกะสี ต่อกุ้งแชบ๊วยมีค่าระหว่าง 0.0014–0.0035, 0.0046–0.0115 และ 0.0168–0.0420 ppm

วัฒนา ไวยนิยา (2523) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความเป็นพิษของโลหะหนัก 5 ชนิด คือ ปรอท ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว และแคดเมี่ยม ต่อการเจริญของเอมบริโอถึงตัวอ่อนระยะพูลเทียสของหอยเม่น *(Temnopleurus toreumaticus)* ผลปรากฏว่าที่อุณหภูมิ (28 องศาเซลเซียส) ความเป็นพิษเริ่มแรก (Theshold toxicity) ของปรอท ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว และแคดเมี่ยม มีค่า 0.31, 0.33, 0.35, 4.69 และ 24.11 ppm ตามลำดับ อุณหภูมิที่สูงกว่าปกติ (33 องศาเซลเซียส) มีผลทำให้ความเป็นพิษเริ่มแรกของโลหะหนักทั้ง 5 เพิ่มขึ้น และที่อุณหภูมิต่ำกว่าปกติ (23 องศาเซลเซียส) มีผลทำให้ความเป็นพิษเริ่มแรกของโลหะหนักทั้ง 5 ต่ำลง ความเป็นพิษของโลหะหนักต่อหอยเม่นนั้นเรียงจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ คือ ปรอท > ทองแดง > สังกะสี > ตะกั่ว > ทองแดง

สมถวิล เตชะพรหมพันธ์ และ สุชาดัน์ จันทโรจน์วงศ์ (2523) ทำการศึกษาความเป็นพิษของทองแดง แคดเมี่ยม และ สังกะสีที่มีผลต่อหอยลาย *(Paphia undulata)* และหอยแมลงภู่ *(Perna viridis)* โดยแบ่งการศึกษาเป็นสองลักษณะ คือ การศึกษาหอยที่มีชีวิตทั้งตัวและศึกษาจากเนื้อเยื่อส่วนเหงือกที่ตัดออกมาจากหอย ซึ่งการศึกษาทั้งสองลักษณะให้ผลสอดคล้องกัน พบว่าความเป็นพิษของโลหะหนักต่อหอยลายนับเรียงลำดับจากที่รุนแรงมากมาน้อย คือ ทองแดง แคดเมี่ยม และสังกะสี โดยค่า LC_{50} ภายใน 96 ชั่วโมงมีค่า 0.09, 0.496 และ 1.76 ppm ระดับความปลอดภัยมีค่าระหว่าง 0.0017–0.0043,0.0099–0.0248, 0.0352–0.08798 ppm ตามลำดับ สำหรับความเป็นพิษของโลหะหนักต่อหอยแมลงภู่นั้นเช่นเดียวกับในหอยลายโดยที่ค่า LC_{50} ภายใน 96 ชั่วโมง ของทองแดง แคดเมี่ยม และสังกะสีเท่ากับ 0.15, 0.496 และ 1.42 ppm ตามลำดับ ระดับความปลอดภัยมีค่าระหว่าง 0.0037–0.0092, 0.0099–0.0247 และ 0.0286–

0.0714 ppm ระดับเริ่มเป็นพิษของทองแดงและสังกะสีที่มีต่อหอยลายเท่ากับ 0.07 และ 0.98 ppm สำหรับแคดเมี่ยมนั้นไม่สามารถหาระดับเริ่มเป็นพิษต่อหอยลายได้ ระดับเริ่มเป็นพิษของทองแดงและแคดเมี่ยมต่อหอยแมลงภู่เท่ากับ 0.04 และ 0.42 ppm เมื่อเปรียบเทียบความทนทานของหอยลายและหอยแมลงภู่ที่มีต่อโลหะหนักทั้งสามชนิดพบว่าหอยแมลงภู่ทนต่อพิษของทองแดงได้มากกว่าหอยลาย สำหรับแคดเมี่ยมนั้นหอยลายและหอยแมลงภู่มีความทนทานพอ ๆ กัน ส่วนสังกะสีนั้นหอยลายทนได้มากกว่าหอยแมลงภู่ ผู้วิจัยได้สรุปว่าจากข้อมูลพื้นฐานของปริมาณโลหะหนักในบริเวณอ่าวไทยตอนบนพบว่าปริมาณโลหะหนักทั้งสามชนิดในอ่าวไทยตอนบนมีค่าต่ำกว่าระดับเริ่มเป็นพิษของโลหะหนักต่อหอยทั้งสองชนิดที่คำนวณได้

Sukhunanondh (1980) ศึกษาผลของแคดเมี่ยมที่มีต่อปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* Blecker) โดยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง เขาได้ทดลองตัวอย่างปลาระยะต่าง ๆ ตั้งแต่ไข่ ลูกปลาวัยอ่อน (fry) และลูกปลาขนาด fingerling พบว่าระยะที่เป็นไข่ปลานั้นจะทนต่อพิษของแคดเมี่ยมได้น้อยที่สุดโดยมีค่า LC_{50} ที่ 16 ชั่วโมง เท่ากับ 0.074 ppm ลูกปลาวัยอ่อนและลูกปลาขนาด fingerling จะมีความทนทานมากขึ้นโดยที่ค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 0.148 และ 6.01 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้ตรวจสอบการสะสมของโลหะแคดเมี่ยมในตัวปลาขนาด fingerling ซึ่งใส่ในสารละลายแคดเมี่ยมที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.3 ppm เป็นเวลานาน 8 อาทิตย์ พบว่าปริมาณการสะสมของแคดเมี่ยมในตัวปลาเพิ่มขึ้นถ้าเวลาที่สัมผัสสารละลายนั้นเพิ่มขึ้น บริเวณทางเดินอาหารจะเป็นที่สะสมของโลหะชนิดนี้มากที่สุด

Messuwana (1980) ศึกษาผลของ lead nitrate ที่มีต่อการพัฒนาของไข่ลูกปลาวัยอ่อนและลูกปลาระยะ fingerling ของปลาตะเพียนขาว (*Puntius*

gonionnotus Blecker) พบว่าลูกปลาวัยอ่อนจะทนต่อความเป็นพิษของ lead nitrate ได้น้อยที่สุด ในขณะที่ไข่ปลาจะทนต่อความเป็นพิษของสารนี้ได้มากที่สุด ค่า LC_{50} ที่ 10, 11, 12, และ 14 ชั่วโมงของไข่ปลาตะเพียนขาวเท่ากับ 198.08, 148.42, 135.54 และ 120.41 ppm ค่า LC_{50} ที่ 24, 48, 7– และ 96 ชั่วโมง สำหรับลูกปลาวัยอ่อนเท่ากับ 62.83, 51.21 45.31 และ 45.31 ppm ตามลำดับ ส่วนค่า LC_{50} ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ของลูกปลาระยะ fingerling เท่ากับ 123, 111.83, 107.17 และ 105.99 ppm เมื่อตรวจสอบปริมาณการสะสมของ lead fingerling ในปลาระยะ fingerling ที่ใส่ไว้ในสารละลายที่มีความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ppm เป็นเวลานาน 8 อาทิตย์ พบว่าปริมาณของตะกั่วที่สะสมในปลาจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นและเวลาที่สัมผัสกับสารนี้เพิ่มขึ้น

Vacharasanthrub, (1981) ศึกษาผลของปรอทที่มีต่อการพัฒนาของไข่ลูกปลาวัยอ่อน และ ลูกปลาระยะ fingerling ของปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* Blecker) พบว่าลูกปลาวัยอ่อนจะทนต่อความเป็นพิษของปรอทได้น้อยที่สุดโดยมีค่า LC_{50} ที่ 13, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 0.547, 0.504, 0.468, 0.447 และ 0.418 ppm ตามลำดับ ส่วนไข่ของปลาตะเพียนขาวจะทนต่อความเป็นพิษของปรอทมากที่สุดโดยมีค่า LC_{50} ที่ 6, 7, 10, 13 และ 14 ชั่วโมงเท่ากับ 0.702, 0.657, 0.554, 0.492 และ 0.491 ppm สำหรับค่า LC_{50} ที่ 13, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ของปรอทต่อลูกปลาระยะ fingerling เท่ากับ 0.629, 0.563, 0.504, 0.468 และ 0.438 ppm ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบปริมาณปรอทที่สะสมในปลาระยะ fingerling ที่ใส่ไว้ในสารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 0.003 และ 0.0015 ppm เป็นเวลานาน 8 อาทิตย์ พบว่าปริมาณปรอทที่สะสมในปลาจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาที่สัมผัสกับสารนี้เพิ่มขึ้น

จารุวรรณ สมศิริ (2525) ศึกษาพิษเฉียบพลันของสารปรอท ทองแดง และสังกะสีต่อปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.) ผลการทดลองแสดงว่าสารปรอทมีความเป็นพิษสูงสุดต่อปลานิลโดยที่ค่า LC_{50} ที่ 24, 48, และ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 3.98, 3.80 และ 3.71 ppm ส่วนทองแดงมีความเป็นพิษมากรองลงมาจากปรอทโดยที่ ค่า LC_{50} ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 73.40, 63.92 และ 58.30 ppm สังกะสีมีความเป็นพิษน้อยที่สุดโดยมีค่า LC_{50} ที่ 24, 43, และ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 86.41, 74.76, และ 65.55 ppm

ตารางที่ 2 แสดงความเป็นพิษเฉียบพลันของโลหะหนักต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย

ความเป็นพิษเฉียบพลันของซัลไฟด์

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของซัลไฟด์ต่อสัตว์น้ำในประเทศไทยยังมีอยู่น้อยมาก ชฎาภรณ์ คุณาภิญญา (2519) ได้ศึกษาผลของซัลไฟด์ที่ละลายในน้ำที่มีต่อไส้เดือนทะเลสองชนิด

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ (2524) ศึกษาผลของสารประกอบซัลไฟด์ (H_2S) ที่มีต่อสัตว์ทะเลหน้าดินที่ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิดโดยเปรียบเทียบสัตว์สองกลุ่มได้แก่ กลุ่มหอยสองฝา 4 ชนิด คือหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) หอยลาย (*Paphia undulata*) หอยแครง (*Anadara granosa*) และหอยนางรมฝาจีบ (*Crassotrea commercialis*) กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มของ decapod crustaccan ได้แก่กุ้งดีดขัน (*Alpheus euphrosyne De Man*) ปูหิน (*Petrolisthe terus* Melin) กุ้งแชบ๊วยขาว (*Penaeus merguiensis*) และกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii De Man*) พบว่ากุ้งก้ามกรามจะทนสารประกอบซัลไฟด์ได้มากที่สุดในบรรดาสัตว์ทดลองทั้งหมด โดยเฉลี่ยพวก

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษเฉียบพลันของโลหะหนักต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
ปรอท	ปลาตะเพียนขาว	-	0.011	-	0.001					ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์ (2521)
	ปลาทุกด้าน	-	0.041	-	0.001					
	หอยเสียบ	-	-	0.16	0.0037-0.0080		27-30			ปรีชา สมมณี (2522)
	หอยแมลง	-	-	-	0.31		28			วัลนา ไวนิยา (2523)
	ปลาตะเพียนขาวระยะไข่	-	-	-	0.074					
	ระยะลูกปลาวัยอ่อน	0.504	0.468	0.418	-			7.3-7.4		
	ระยะลูกปลาขนาด	0.563	0.504	0.438	-					
	ปลานิล	0.392	0.380	0.371	-		24			จารุวรรณ สมศิริ (2524)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
ทองแดง	ปลาตะเพียนขาว	-	0.235	-	0.02					ประมาณ พรหม-
	ปลาตุกด้าน	-	47	-	0.02					สุทธิรักษ์
	หอยเสียบ	-	-	0.93	0.0186-0.0465		27-30			(2521) ปรีชา สมมณี (2523)
	กุ้งแชบ๊วย	-	0.14	-	0.0014-0.0035					ปรีชา สมมณี (2523)
	หอยเม่น	-	-	-	0.33		28			วัฒนา ไวยนียา (2523)
	หอยลาย	-	-	0.09	0.0017-0.0043			30	6-8	สมถวิล เดชะ พรหมพันธุและคณะ (2523)
	หอยแมลงภู่	-	-	0.15	0.0099-0.0248					สุชารัตน์ จันท- โรจวงศ์ (2523)
	ปลานิล	73.40	63.92	58.30	-		24			จาวุวรรณ สมศิริ (2525)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (^{o}ซ)	ความเค็ม	pH	
สังกะสี	ปลาตะเพียนขาว	-	1.35	-	0.13					ประมาณ พรหม-สุทธิรักษ์ (2521)
	ปลาตุกด้าน	-	64	-	0.13					
	หอยเสียบ	-	-	1.62	0.0336-0.084		27-30			ปรีชา สมมณี (2522)
	กุ้งแชบ๊วย	-	1.85	0.84	0.0168-0.042		28			ปรีชา สมมณี (2523)
	หอยแม่น	-	-	-	0.35		28			วัฒนา ไวยนิยา (2523)
	หอยลาย	-	-	1.76	0.0352-0.0879			30	6-8	สมถวิล เตชะ-พรหมพันธุ์และสุธาวัฒน์ จันท-โรจวงศ์ (2523)
	หอยแมลงภู่	-	-	1.42	0.0286-0.0714					

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
สังกะสี	ปลานิล	86.41	74.76	65.55	-		24			จารุวรรณ สมศิริ (2524)
แคดเมี่ยม	ปลาตะเพียนขาว	-	64	-						ประมาณ พรหม-สุทธิรักษ์ (2521)
	ปลาดุกด้าน	-	95	-						
	หอยเสียบ			0.91	0.0184-0.046		27-30			ปรีชา สมมณี (2522)
	กุ้งแชบ๊วย		0.46		0.046-0.0115		28			ปรีชา สมมณี (2523)
	หอยเม่น				24.11		28			วัฒนา ไวยนิยา (2523)
	หอยลาย			0.496	0.0099-0.248		30	30	6-8	สมถวิล เตชะ-พรหมพันธ์และสุธารัตน์ จันท-โรจนวงศ์ (2523)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (°ซ)	ความเค็ม	pH	
แคดเมี่ยม	หอยแมลงภู่			0.496	0.0099-0.0247					สุธารัตน์ จันทโรจวงศ์(2523).
	ปลาตะเพียนขาว									
	ระยะไข่	-	-	-	0.074					
	ระยะลูกปลาวัยอ่อน	-	-	0.148						
	ระยะลูกปลาขนาด	-	-	6.01	-					
ตะกั่ว	ปลาตะเพียนขาว		340							ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์(2521)
	ปลาดุกด้าน		350							
	หอยเม่น				4.69		28			วัฒนา ไวยนิยา (2523)
	ปลาตะเพียนขาว									
	ระยะไข่	-	-	-	120.41					

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของสารพิษ	ชนิดของสัตว์ทดลอง	ระดับความเป็นพิษของสารพิษ-LC 50 (ppm)				สภาพการทดลอง				เอกสารอ้างอิง
		24 ชม.	48 ชม.	96 ชม.	อื่น ๆ (โปรดระบุ)	static / Flow	อุณหภูมิ (^{o}ซ)	ความเค็ม	pH	
คะถั่ว	ระยะลูกปลาวัยอ่อน	62.83	51.21	45.31	-					
	ระยะลูกปลาขนาด	12.3	111.83	105.99						
เหล็ก	ปลาตะเพียนขาว	-	26.0	-	26					ประมาณ พรหม-สุทธิรักษ์ (2521)
	ปลาทุกด้าน	-	200	-	2.6					

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

crustaccan จะมีความทนทานมากกว่าหอยสองฝา ยกเว้นในกุ้งดีดขันที่พบบริเวณหาดหินจะทนได้น้อยที่สุดค่า LC_{50} ภายใน 24 ชั่วโมงของหอยนางรม หอยลาย หอยแมลงภู่ และหอยแครงเท่ากับ 6.5, 6.5, 1.6 และ 2.6 mg S/L ส่วนค่า LC_{50} ภายใน 96 ชั่วโมง ของกุ้งก้ามกราม, กุ้งแชบ๊วยขาว และปูหินเท่ากับ 8.2, 1.9 และ 1.6 mg S/L ค่า LC_{50} 12 ชั่วโมงของกุ้งดีดขัน = 2.2 mg S/L ความทนทานของสัตว์ทดลองจะขึ้นอยู่กับปัจจัย 4 ประการคือลักษณะแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ ลักษณะของเปลือกหรือผิวหนังที่ห่อหุ้มตัวความสามารถในการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน และความสามารถในการกำจัดสารพิษออกจากตัวมันเอง

ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษอื่น

แอมโมเนีย

ช่วยชูศรี ศรีภูมั่น และ จารุวรรณ สมศิริ (2525) ศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนีย ที่มีต่อปลาดุกด้าน *(Clarias batrachus* Linn.) พบว่าอาการของปลาดุกด้านเมื่อสัมผัสกับแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูงจะผิดปกติทันที คือ ว่ายน้ำไปมาอย่างรวดเร็วโดยไม่มีทิศทางที่แน่นอน เสียการทรงตัวและจะโผล่ขึ้นมาเหนือผิวน้ำบ่อยครั้ง การปิดเปิดของช่องเหงือกเร็วกว่าปลาในกลุ่ม control อย่างเห็นได้ชัด อาการเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าระบบหายใจของปลาผิดปกติในที่สุดปลาจะสลบและตายไป ค่า LC_{50} ของแอมโมเนียต่อปลาดุกด้านเท่ากับ 15.78 mg S/L.

จารุวรรณ วิระวงษ์นุสร (2525) ศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียที่มีต่อกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนระยะต่าง ๆ โดยวิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง ในการทดลองใช้กุ้งก้ามกรามอายุ 5, 12, 23 และ 35 วันซึ่งเป็นกุ้งระยะว่าแล้ว พบว่าค่า

LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงของแอมโมเนียที่มีต่อกุ้งก้ามกรามอายุ 5, 12, 23 และ 35 วัน เท่ากับ 1.53, 1.85, 2.08 และ 1.77 ppm UIAN (Uian = Unionizer ammonia nitrogen) กุ้งก้ามกรามวัยก่อนคว่ำที่มีอายุมากกว่าจะมีความทนทานต่อพิษของแอมโมเนียได้สูงกว่ากุ้งก้ามกรามที่มีอายุน้อยกว่า ส่วนกุ้งก้ามกรามวัยคว่ำแล้วหรือกุ้งอายุ 35 วัน มีความทนทานต่อพิษของแอมโมเนียสำหรับกุ้งก้ามกราม อายุ 5, 12, 23 และ 45 วัน ไม่ควรมีค่าสูงเกินกว่า 0.1 ppm S/L.

คลอรีน

ประมวล โชคลือชัย และ ไมตรี ดวงสวัสดิ์ ได้ศึกษาพิษคลอรีนต่อปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch.) ขนาด 2–2.5 เซนติเมตร และต่อกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) ขนาด 2–3 เซนติเมตร พบว่ากุ้งก้ามกรามจะทนต่อความเป็นพิษของคลอรีนได้น้อยกว่าปลากะพงขาวที่อุณหภูมิเดียวกัน ที่อุณหภูมิสูงขึ้นพบว่าความเป็นพิษของคลอรีนจะเพิ่มขึ้นด้วย ค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงของคลอรีนต่อกุ้งก้ามกรามเท่ากับ 0.242, 0.227 และ 0.129 ppm ที่อุณหภูมิ 27°ซ., 32°ซ., และ 37°ซ. ตามลำดับ ส่วนค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงของคลอรีนต่อปลากะพงขาวเท่ากับ 0.592, 0.504 และ 0.278 ppm ที่อุณหภูมิ 21°ซ., 32°ซ. และ 37°ซ. ตามลำดับ

ไนไตรท์

ช่วยชูศรี ศรีภูมั่น และ จารุวรรณ สมศิริ (2525) ศึกษาพิษเฉียบพลันของไนไตรท์ต่อปลาดุกด้าน พบว่าปลาดุกด้านเมื่อถูกกับไนไตรท์ขั้นแรกจะไม่แสดงอาการผิดปกติ แต่ต่อมาปลาจะมีอาการพักตัวนิ่ง ๆ เป็นการปรับตัวให้ลดการใช้ออกซิเจน ปลาบางตัวก่อนจะตายจะชักกระตุก พิษเฉียบพลันของไนไตรท์อาจจะมาจาก unionized nitrite หรือกรดไนตรัส กรดทำให้ pH ของของเหลว

ในร่างกายของปลาลดลงจนถึงระดับที่เป็นอันตรายถึงตายได้เพราะกรดทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ โดยเฉพาะเหงือก เลือดของปลามีสีดำ และสีของเหงือกจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล ลำตัวจะมีสีซีดแตกต่างจากปลาในกลุ่ม control ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจาก Oxyhaemoglobin ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้เลือดเป็นสีแดงลดปริมาณลง จึงมีผลทำให้สีของเหงือกและของลำตัวผิดปกติไปด้วย ค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ของไนไตรท์ต่อปลาดุกด้านเท่ากับ 35.60 mg $No-_2N/L$.

สรุป

ข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษชนิดต่างๆ ต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย เท่าที่สำรวจมานี้จะเห็นว่ามีค่าที่ต่างกันมากถึงแม้ในบางกรณีจะใช้สัตว์ทดลองแบบเดียวกัน วิธีการที่วิเคราะห์ความเป็นพิษเฉียบพลันนิยมใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง ค่าความแตกต่างของความเป็นพิษเฉียบพลันนี้ขึ้นอยู่กับการกำหนดสภาพการทดลอง เช่น อุณหภูมิของน้ำ, อุณหภูมิห้อง, ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ, ความเค็มและความกระด้างของน้ำ เป็นต้น การทดลองหลายการทดลองที่แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของอุณหภูมิที่มีต่อความเป็นพิษของสารมีพิษตามปกติมักพบว่าถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ความเป็นพิษเพิ่มขึ้น เช่น จากการทดลองของวัฒนา ไวยนิยา (2523) แสดงให้เห็นว่าความเป็นพิษเริ่มแรกของโลหะหนักที่มีต่อการเจริญของตัวอ่อนหอยเม่น (*Temnopleurus toreumaticus*) ที่อุณหภูมิสูงกว่าปกติจะเพิ่มขึ้นและที่อุณหภูมิต่ำกว่าปกติมีผลทำให้ค่าความเป็นพิษเริ่มแรกของโลหะหนักต่อหอยเม่นลดต่ำลง ผลการทดลอง ประมวล โชคลือชัย และ ไมตรี ดวงสวัสดิ์ (2524) แสดงให้เห็นว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ความเป็นพิษของคลอรีนที่มีต่อปลากะพงขาวและกุ้งก้ามกรามเพิ่มมากขึ้น ความเป็นพิษของสารพิษที่มีต่อสัตว์ทดลองชนิดเดียวกันอาจแตกต่างกันเนื่องจากระยะเวลาในวงจรชีวิตต่างกันเช่นไข่ตัวอ่อนและตัวแก่ ตามปกติไข่และตัวอ่อนมัก

ทนต่อความเป็นพิษของสารมีพิษได้น้อยกว่าตัวแก่ ความทนทานของสัตว์น้ำต่างชนิดกันต่อพิษของสารพิษแตกต่างกันเนื่องมาจากสภาพทางสรีรวิทยาและการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมเพื่อการปรับตัวของแต่ละชนิด สัตว์น้ำบางชนิดจะมีความทนทานต่อความเป็นพิษของสารมีพิษน้อยกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่นจัดเป็น sensitive species เหมาะที่จะใช้เป็นดัชนีเพื่อหาค่าระดับปลอดภัยของสารมีพิษ

ในการหาค่าระดับปลอดภัยของสารมีพิษในแหล่งน้ำหรือการกำหนดมาตรฐานคุณสมบัติของน้ำให้เหมาะสมเพื่อให้สัตว์น้ำสามารถดำรงชีวิต เจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้เป็นปกตินั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายประการ ตามปกติในการประเมินหาค่าระดับปลอดภัยของสารมีพิษโดยวิธีชีววิเคราะห์นั้นนิยมใช้ค่า LC_{50} ที่ได้จากการทดลองซึ่งเป็นค่า LC_{50} ภายใน 48 ชั่วโมง หรือค่า LC_{50} ภายใน 96 ชั่วโมงคูณกับค่า application factor เท่ากับ 0.1 (Spraque, 1971) ส่วนค่า LC_{50} ที่เลือกมานั้นควรเป็นของสัตว์ทดลองที่จัดว่าเป็น sensitive species หรือชนิดที่อ่อนแอที่สุดเพื่อที่สัตว์น้ำชนิดอื่นที่ทนทานกว่าจะสามารถอยู่รอดได้ในระดับความเข้มข้นดังกล่าว ค่า LC_{50} ที่เรานำมาประเมินค่าระดับปลอดภัยนั้นน่าจะเป็นตัวแทนของสัตว์น้ำหลายไพลัมด้วยกัน ซึ่งในทางปฏิบัติแล้วทำได้ยากมาก ดังนั้นมักจะเลือกสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นส่วนใหญ่ เมื่อเลือกได้ตัวแทนสัตว์น้ำเพื่อจะหาความเป็นพิษเฉียบพลันได้แล้วเราจำเป็นต้องหาความทนทานของสัตว์ในช่วงอายุต่าง ๆ ในวงจรชีวิตด้วย นอกจากนี้การทำการทดลองชีววิเคราะห์นั้นทำในห้องปฏิบัติการเป็นส่วนใหญ่ ต้องคำนึงถึงการกำหนดสภาพการทดลองให้เลียนแบบหรือใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมที่สัตว์อยู่จริงในธรรมชาติมากที่สุด ปัญหาใหญ่ในการศึกษาความเป็นพิษของสารพิษต่อสัตว์น้ำชนิดใดชนิดหนึ่ง นั้นคือผลการทดลองจะบ่งถึงความเป็นพิษของสารพิษต่อสัตว์น้ำชนิดนั้นภายใต้สภาพการทดลองที่ผู้ทดลองกำหนดเท่านั้น ผลการทดลองดังกล่าวไม่

สามารถบอกเราให้ทราบถึงผลกระทบของสารมีพิษที่อาจมีต่อสัตว์น้ำชนิดอื่นที่สัมพันธ์กับสัตว์ที่เราทดลองในแง่การถ่ายทอดพลังงานและอาหารหรือบอกถึงผลกระทบของสารมีพิษต่ออาหารของสัตว์น้ำที่เราทดลอง เช่น ผลกระทบต่อแพลงค์ตอนที่เป็นอาหารของสัตว์น้ำ เป็นต้น คำตอบเหล่านี้จะหาได้จากการทำการทดลองอีกต่างหาก นอกจากนี้ในสภาพของธรรมชาติมักมีสารมีพิษหลายชนิดที่อาจเสริมความเป็นพิษซึ่งกันและกันหรืออาจมีผลหักล้างกันเองทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำลดลง เรื่องความเป็นพิษของสารมีพิษหลายชนิดที่กระทำร่วมกันต่อสัตว์น้ำนั้นก็เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงอย่างยิ่ง

การศึกษาความเป็นพิษของสารมีพิษต่อสัตว์น้ำจะไม่มีความสมบูรณ์หากมุ่งศึกษาเฉพาะความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษเท่านั้น การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง หรืออิทธิพลของสารมีพิษในระดับต่ำกว่าระดับที่ทำให้ตาย (Sublethal effect) มีความสำคัญมากเท่ากันเพราะความเป็นพิษแบบนี้อาจส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ พฤติกรรมและขบวนการทางสรีรวิทยาของสัตว์น้ำ ซึ่งจะส่งผลถึงความอยู่รอดของประชากรสัตว์น้ำทั้งหมดในระยะยาว

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนใคร่ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่มีผลงานซึ่งได้รวบรวมไว้ ณ ที่นี้ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์อย่างมาก นอกจากนี้ยังขอขอบคุณนิสิตปริญญาโท ซึ่งช่วยรวบรวมเอกสารอ้างอิงส่วนใหญ่ในรายงานฉบับนี้คือ น.ส. อัจราภรณ์ อุดมกิจ, น.ส. ลัดดา แก้วประกาย และนายพรศิลป์ ผลพันธิน.

เอกสารอ้างอิง

1. โกมล เพ็งศรีทอง 2502. พาราไธออน วารสารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 1 เล่มที่ 4. 268–296.
2. จารุวรรณ สมศิริ 2525. พิษเฉียบพลันของสารปรอท ทองแดงและสังกะสีต่อปลานิล. วารสารการประมง ปีที่ 35 เล่มที่ 3. 315–318.
3. ———————— 2525. พิษเฉียบพลันของยาปราบศัตรูพืชต่อลูกปลาดุกด้าน ข่าวสิ่งแวดล้อมประมง ธันวาคม 9–12.
4. จารุวรรณ วิระวงษ์นุสร 2525. พิษเฉียบพลันของแอมโมเนียที่มีต่อกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนระยะต่าง ๆ กัน ข่าวสิ่งแวดล้อมประมง ธันวาคม.
5. ช่วยชูศรี ศรีภูมั่น และจารุวรรณ สมศิริ 2525. พิษเฉียบพลันของแอมโมเนียและไนไตรท์ที่มีต่อปลาดุกด้าน วารสารการประมง ปีที่ 35 เล่ม 4. 373–378.
6. เทียนชัย ธงสินธุศักดิ์ และคณะ 2518. ศึกษาพิษของวัตถุมีพิษ DDT, Toxaphene and Methyl parathion เมื่อใช้เดี่ยว ๆ และรวมกันกับปลาไน (*Cyprinus carpio* Linn.) รายงานผลการทดลองและวิจัย กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2518.
7. ———————— 2519. การศึกษาพิษเฉียบพลันของ DDT, Toxaphene Methyl parathion และเมื่อผสมกับปลาไน (*Cyprinus carpio* Linn.)
8. ปรีชา สมมณี 2522. พิษของโลหะหนักที่มีต่อหอยเสียบ (*Donax Fabe*) วารสารการประมง ปีที่ 32 เล่มที่ 4. 391–398.
9. ———————— 2523. พิษของทองแดง แคดเมี่ยมและสังกะสีที่มีต่อแชบ้วย วารสารการประมง ปีที่ 33 เล่มที่ 1. 103–109.

10. ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์ 2521. ผลของโลหะหนักที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิดรายงานการสัมนาทางวิชาการเรื่อง บัญหามลภาวะของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยสถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 250–291.

11. ประมวล โชคลือชัย และไมตรี ดวงสวัสดิ์ 2524. พิษคลอรีนต่อปลากะพงขาวและกุ้งก้ามกราม วารสารการประมง ปีที่ 34 เล่ม 5. 493–498.

12. ประเสริฐ ธีรคุปต์ 2519. การจำแนกระดับอันตรายของสารเคมีฆ่าแมลง วิทยาศาสตร์ ปีที่ 30 เล่มที่ 1, 43–47.

13. เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต และคณะ 2524. การทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอท ที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เอกสารโรเนียว 13 หน้า.

14. มัณฑนา อนุตตรกุล และคณะ 2520. การศึกษาวิจัยความเป็นพิษของวัตถุมีพิษเมื่อใช้ผสมกันสองอย่างกับปลา รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย กรมวิชาการเกษตร ปี พ.ศ. 2520.

15. ———————— 2521. การศึกษาวิจัยความเป็นพิษของวัตถุมีพิษเมื่อใช้ผสมกันต่อปลา รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย กรมวิชาการเกษตร ปีที่ 2523.

16. ———————— 2522. การศึกษาวิจัยความเป็นพิษของวัตถุมีพิษเมื่อใช้ผสมกันต่อปลา รายงานผลการค้นคว้าทดลองและวิจัย กรมวิชาการเกษตร ปีที่ 2525.

17. ผะอบ ใจเย็น 2525. พิษเฉียบพลันของฟูราดานและ 2,4 ดี ที่มีต่อลูกปลาดุกด้านและลูกปลาตะเพียนขาว ข่าวสิ่งแวดล้อมประมง เดือนธันวาคม 3–4.

18. ลักษณา ลือประเสริฐ 2523. อันตรายจากยาฆ่าแมลงประเภท แอนติ-โคลีนเอสเตอเรส วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 24 ฉบับที่ 2.

19. วัฒนา ไวยนิยา 2523. ผลของอุณหภูมิและโลหะหนักบางชนิดที่มีต่อการเจริญของเอมบริโอถึงตัวอ่อนระยะพลูเทียสของหอยเม่น *(Tomnopleurus torcumaticus)* วิทยานิพนธ์ภาควิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

20. วราภรณ์ กิจวิริยะ 2523. ความผิดปกติในเนื้อเยื่อของปลาหางนกยูง *(Gambusia affinis)* เนื่องจากการสะสมของสารฆ่าแมลง วารสารการประมง ปีที่ 33 เล่มที่ 3, 309–319.

21. สุธรรม อารีกุล และ ณิศ กีรติบุตร 2509. พิษของยาฆ่าแมลงที่มีต่อปลาในนาข้าว วารสารการประมง ปีที่ 19 เล่มที่ 4, 473–479.

22. สมถวิล เดชะพรหมพันธุ์ และสุธารัตน์ จันทโรจวงศ์ 2523. พิษของทองแดง, แคดเมี่ยมสังกะสีที่มีหอยลาย *(Paphia undulata)* และหอยแมลงภู่ *(Mytilus smaragdinus,* Chemnitz) รายงานปัญหาพิเศษภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

23. อำนวย แท่นทอง 2508. พิษของยาฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อปลา วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

24. อำนาจ สิทธัตตระกูล 2520 ผลพิษอันเกิดจากโลหะบางชนิด วิทยาศาสตร์ ปีที่ 3 เล่มที่ 10, 29–40.

25. Khatikarn, K. 1982. Toxicities of some insecticides and cholinesterase inhibitions in the freshwater fish *Puntius gonionotus* (Bleeker) Master of Science Thesis, Environmental Biology, Mahidol University.

26. Messuwana, P. 1980. Effects of lead on developmental stage of the freshwater fish, *Puntius gonionotus* Bleeker Master of Science Thesis Environmental Biology, Mahidol University.

27. Paphavasit, N. 1981. Effects of Hydrogen Sulfide on selected marine invertebrates Chulalongkorn University Research Journal. Vol. 8 : 159-171.

28. Sukhuyanondh, P. 1980. Effected of Cadmium on developmental stages of the freshwater fish, *Puntius gonionotus*, Blecker Master of Science Thesis Environmental Biology, Mahidol University.

29. Vachavasanthrub, S. 1981. Effects of mercury on developmentals stages of the freshwater fish *Puntius gonionotus*, Blecker Master of Science Thesis Mahidol University.

สภาวะแวดล้อมบางประการในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ 2525–2526

สุทธิชัย เตมียวณิชย์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้รวบรวมข้อมูลทางสภาพแวดล้อมบางประการทั้งทางด้านฟิสิกส์ เคมี และชีววิทยาของแหล่งน้ำธรรมชาติในบ่อเลี้ยงปลา ระหว่างเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ เดือนธันวาคม 2525 ถึง กุมภาพันธ์ 2526 แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างอยู่จังหวัดในภาคกลาง และการศึกษาการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมต่อเนื่อง โดยเก็บข้อมูลทุก 6 ชั่วโมง ในบ่อเลี้ยงปลาช่อนและในแหล่งน้ำธรรมชาติที่ บางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี และที่กระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Environment and Epidemic Breakout in Fishes from December 1982 to February 1983.

Suthichai Tamiyavanich
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

This study complied environmental parameters including physical, chemical and biological data in aquatic environment and in various fish ponds during the epidemic breakout in fishes from December 1982 to February 1983. Sampling in aquatic environment carried out in the provinces in Central Thailand. Intensive studies were carried out in the catfish ponds aquatic environment at Bang Pra-Ma, Suphanburi Province and at Kratomb-ban, Samutsakorn Province. Environmental data were recorded continuously every six hours.

กิตติกรรมประกาศ

เนื่องจากการศึกษานี้กระทำอย่างกะทันหันและใช้ระยะเวลาอันสั้น รายงานฉบับนี้เกิดจากความร่วมมือของ อาจารย์ ข้าราชการ นิสิตทั้งระดับปริญาโทและตรี ดังมีรายนามต่อไปนี้

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. รศ. สุทธิชัย เตมียวณิชย์
2. รศ. ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธ์

3. รศ. อัปสรสุดา ศิริพงศ์
4. อ. สมเกียรติ บียะธิติวรกุล
5. อ. อานนท์ สนิทวงศ์ ณ อยุธยา
6. นาย ออมสิน อภิจิตร
7. นาย สมภพ รุ่งสุภา
8. น.ส. อัจรา มโนเวชพันธุ์
9. น.ส. มิ่งขวัญ พรประเสริฐสุข
10. น.ส. ภัทธิรา สวัสดิวร
11. น.ส. สมถวิล เดชะพรหมพันธุ์
12. น.ส. มารศรี นวนรเศรษฐ์
13. น.ส. วันดี ชูกิจรุ่งโรจน์
14. น.ส. สุชารัตน์ จันทร์โรจน์วงศ์
15. น.ส. อารีย์ ศรียาภัย
16. นาย สมชาย ศรีบัญญาวิชญ์
17. นาย พงศ์เอก เลิศทรัพย์เจริญ
18. น.ส. รัตนา ชินภักดี
19. นาย สมมาตร มั่นอนันต์ทรัพย์
20. นาย ประทวน อ่อนน้อมดี
21. นาย สมชาย เหมือนรักษา
22. นาย ธวัช สุวรรณพานิช

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. รศ. แม้น อมรสิทธิ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. อาจารย์ น.สพ.ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู

2. อาจารย์ น.สพ.ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

นอกจากนี้ผู้เขียนขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ บียะกาญจน์ หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล และผู้ที่มิได้กล่าวนามในที่นี้ที่มีส่วนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลงด้วยดี

คำนำ

การเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ ระหว่างปลายปี พ.ศ. 2525 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2526 ทำความเสียหายอย่างใหญ่หลวงแก่ผู้ประกอบอาชีพเลี้ยงปลาในบ่อรวมถึงปลาธรรมชาติ ปลาที่เลี้ยงส่วนใหญ่เป็นปลาช่อน การระบาดในช่วงเวลาดังกล่าวเกิดขึ้นเกือบทุกจังหวัดในภาคกลาง บางจังหวัดในภาคใต้ รวมแล้วไม่น้อยกว่า 45 จังหวัด การตายของปลานั้นเกิดจากแบคทีเรีย เรียกว่า แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า (Aeromonas hydrophila) สาเหตุของการเพิ่มเชื้อแบคทีเรียมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะการลดลงของอุณหภูมิ สาเหตุโน้มนำอื่น ๆ นั้นยังไม่สามารถสรุปได้ อย่างไรก็ตามจากหลักฐานต่าง ๆ อาจกล่าวได้ว่าสารเคมีตกค้างประเภทยาฆ่าแมลง ยาปราบศัตรูพืช และยาปราบวัชพืช และโลหะหนัก ไม่ใช่สาเหตุโน้มนำให้เกิดโรคระบาดสัตว์น้ำในครั้งนี้ ทั้งนี้จากการรวบรวมผลการวิจัยที่ผ่านมาโดย ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ (2526) พบว่าสารเคมีตกค้างและโลหะหนักต่าง ๆ อยู่ในเกณฑ์ปกติไม่เกินค่าความปลอดภัยที่กำหนดไว้โดยมาตรฐานต่างประเทศ รวมทั้งรายงานจากฝ่ายวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม กองอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย ซึ่งเก็บข้อมูลดังกล่าวตามแม่น้ำสายต่าง ๆ ทั่วประเทศในปี 2525 ไม่ได้แสดงค่าความผิดปกติ หรือ สูงขึ้นแต่อย่างใด

สภาพแวดล้อมที่น่าสนใจศึกษาและอาจเป็นสาเหตุของการระบาดของโรคกลุ่มหนึ่งได้แก่สารพวกอินทรีย์สารกลุ่มไนโตรเจน (Organic nitrogen) จากการทดลองของ วีรวุฒิ มหามนตรี ประกิตสิน สีหนนท์ และคณะ ในช่วงเวลาที่ผ่านมาพบว่ากลุ่มของสารดังกล่าวมีผลการเกิดโรคในปลาได้คล้ายกับการเกิดในธรรมชาติ

การศึกษานี้ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างสภาพแวดล้อมบางประการอย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาค้นคว้าและประกอบการอธิบายผลการวิจัยสาเหตุของโรคระบาด ในโครงการที่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ร่วมศึกษาอยู่ ข้อมูลที่ศึกษาได้รวบรวมจากแหล่งน้ำในธรรมชาติ ในบ่อปลาทั้งที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคในจังหวัดภาคกลาง ข้อมูลที่ศึกษามีความสำคัญและมีมาตรฐานในการพิจารณาดังต่อไปนี้

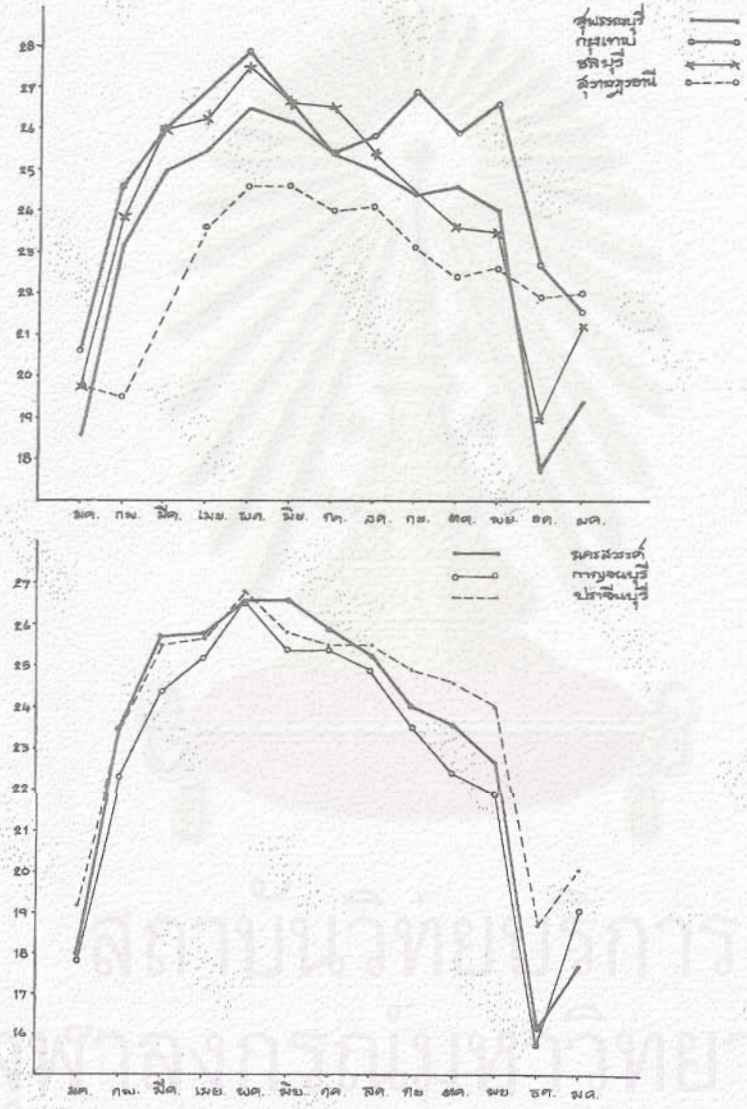
อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในธรรมชาติเพราะเป็นตัวการควบคุมขบวนการต่าง ๆ มากมาย นับตั้งแต่การสังเคราะห์แสง ซึ่งมีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ การลดลงของอุณหภูมิทำให้ระบบสรีรวิทยาของสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนไป โดยเฉพาะปลาซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็นเมื่ออุณหภูมิลดลงการกินอาหารจะลดลงถึง 30–70% ถ้าผู้เลี้ยงปลาในบ่อไม่ลดอาหารประจำวัน อาหารที่ให้จะเหลือซึ่งทำให้เกิดผลตามมาดังจะได้กล่าวต่อไป ในช่วงเวลาที่เกิดโรคระบาดตรงกับฤดูหนาวอุณหภูมิได้ลดลงและลดลงมากติดต่อกันนานกว่าทุก ๆ ปีที่ผ่านมา ดังข้อมูลที่ได้จาก กรมอุตุนิยม ที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 รูปที่ 1, 2 รวมทั้งการลดลงของปริมาณน้ำฝนและน้ำจืดรูปที่ 3, 4 ทำให้สิ่งที่ละลายในน้ำมีความเข้มข้นขึ้น

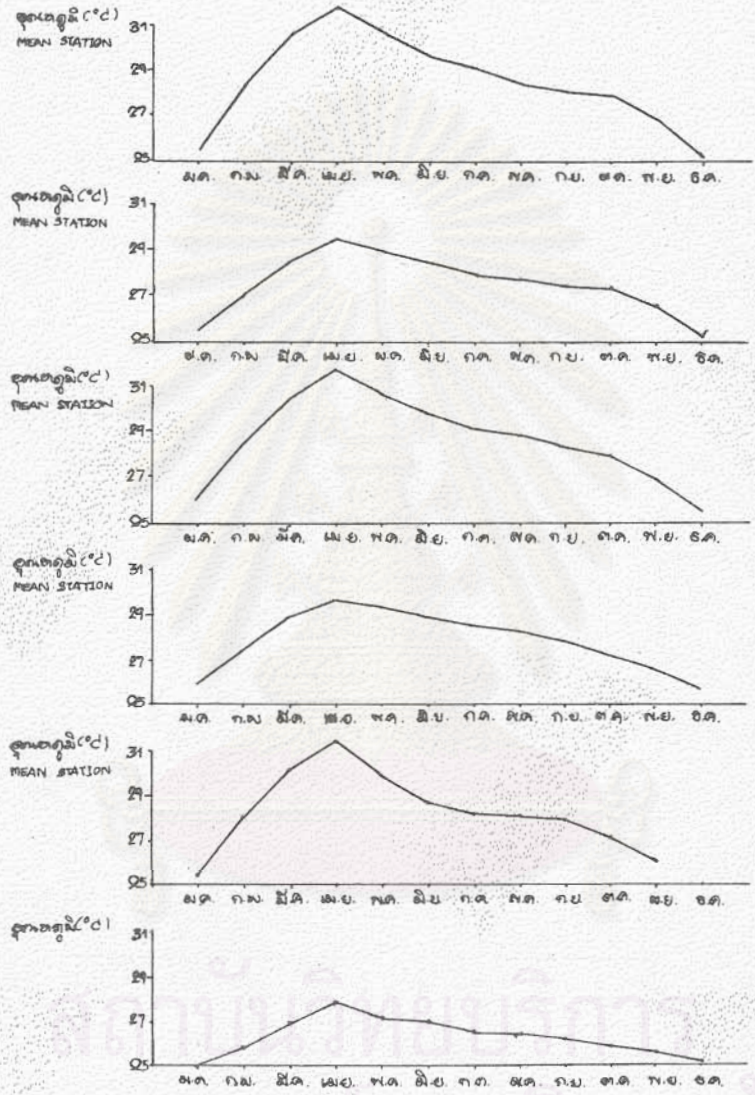
ตารางที่ 1 อุณหภูมิต่ำสุดของจังหวัดต่าง ๆ ตั้งแต่เดือน มกราคม 2525 ถึง มกราคม 2526

	อุณหภูมิเฉลี่ย °C						
จังหวัด / เดือน	นครสวรรค์	สุพรรณบุรี	กาญจนบุรี	กรุงเทพ	ปราจีนบุรี	ชลบุรี	สุราษฎร์ธานี
มกราคม	18.0	18.6	17.8	20.6	19.2	19.7	19.8
กุมภาพันธ์	23.5	23.2	22.3	24.6	23.5	23.8	19.5
มีนาคม	25.7	25.0	24.4	26.0	25.5	26.0	21.4
เมษายน	25.8	25.5	25.2	25.6	25.2	26.2	23.6
พฤษภาคม	26.6	26.5	26.6	27.9	26.3	27.5	24.6
มิถุนายน	26.6	26.2	25.4	26.6	25.8	26.6	24.6
กรกฎาคม	25.9	25.4	25.4	25.4	25.5	26.5	24.0
สิงหาคม	25.3	25.0	24.9	25.8	25.5	25.4	24.1
กันยายน	24.0	24.4	23.5	26.9	24.9	24.4	23.1
ตุลาคม	23.6	24.6	22.4	25.9	24.6	23.6	22.4
พฤศจิกายน	22.7	24.0	21.9	26.6	24.0	23.5	22.6
ธันวาคม	16.1	17.7	15.7	22.7	18.7	19.0	21.9
มกราคม	17.7	19.4	19.1	21.6	20.1	21.2	22.0

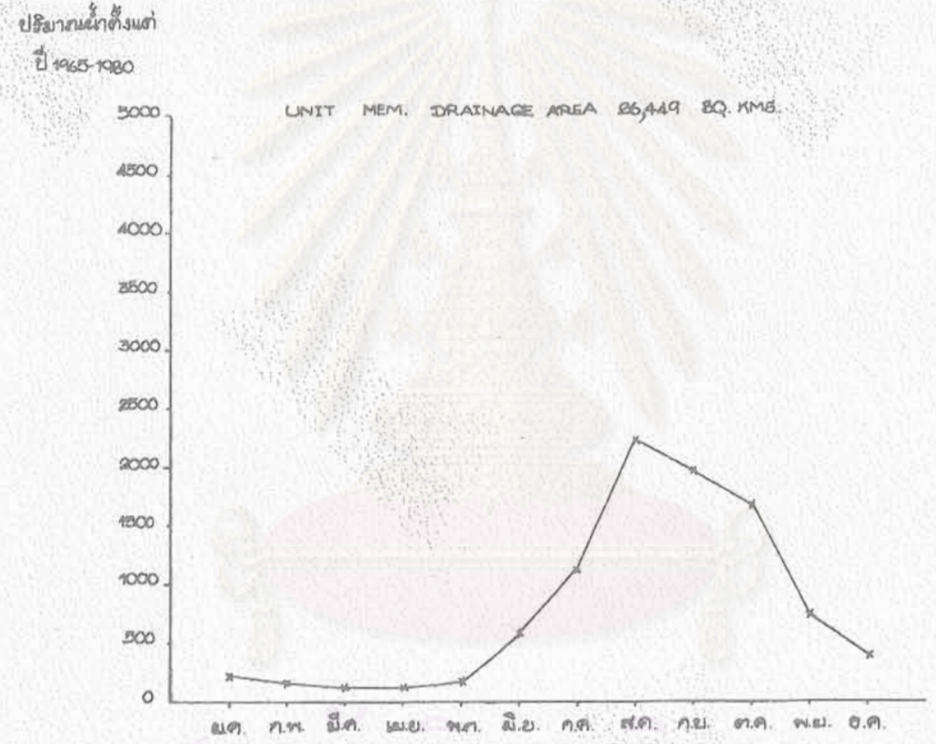
จากลักษณะอากาศและพยากรณ์อากาศประจำวัน กรมอุตุนิยมวิทยา



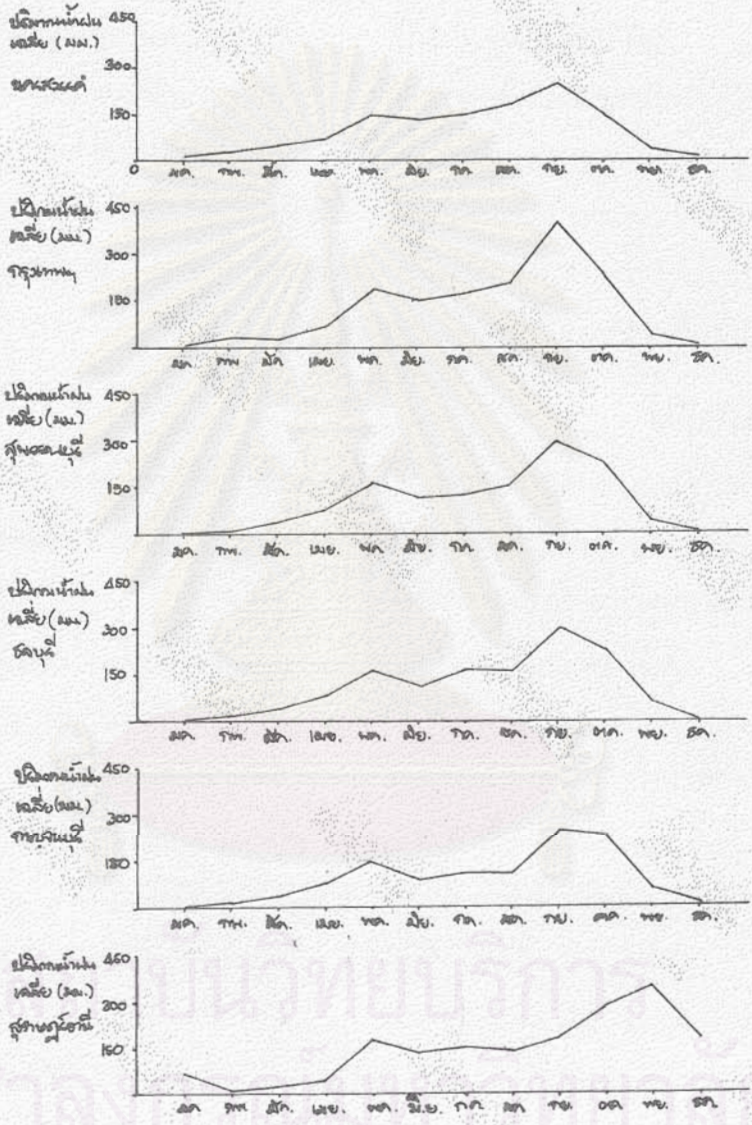
รูปที่ 1 อุณหภูมิต่ำสุดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือน มกราคม 2525 -2526



รูปที่ 2 อุณหภูมิเฉลี่ยในรอบปีของประเทศไทย



รูปที่ 8 ปริมาณน้ำจืดที่ไหลลงสู่แม่น้ำเจ้าพระยา เฉลี่ยในปีต่าง ๆ รายเดือน



รูปที่ 4 ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในรอบปีของประเทศไทย

ออกซิเจน

ออกซิเจนที่ละลายในน้ำได้จากการสังเคราะห์แสงของพืชเป็นส่วนใหญ่ถ้าแหล่งน้ำใดมีแพลงตอนพืช หรือ พืชน้ำมากในเวลากลางวันจะมีออกซิเจนละลายอยู่อย่างมากเกินพอ แต่ตอนกลางคืนแหล่งน้ำนั้นจะขาดออกซิเจน ดังนั้นในแหล่งน้ำจำเป็นต้องมีสภาพที่สมดุล สำหรับปริมาณออกซิเจนที่ควรจะมีอยู่ในน้ำแล้วไม่ทำอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำจืด Ellis, (1937) และ Brinkey (1944) กำหนดไว้ 5 มก./ล. หรือ 3.50 มล./ล.

แอมโมเนีย

สารประกอบในกลุ่มของ ไนโตรเจน ที่สำคัญมีอยู่ 5 ตัวได้แก่ Amino and amide group ammonium nitite และ nitrate สารทั้ง 5 ชนิดมีความสำคัญและเปลี่ยนรูปตามปฏิกิริยากล่าวคือ

Ammonium ion ได้จากขบวนการ proteinaceous organic matter and urea หรือ ขบวนการสังเคราะห์จากโรงงานอุตสาหกรรมและการจับไนโตรเจนจากอากาศ

Nitrate ion ได้มาจาก nitrate หรือ ammonium ion โดยขบวนการของจุลชีพเฉพาะที่อยู่ในดิน น้ำ ของเสีย และในทางเดินอาหาร

Nitrate ion ได้จากการออกซิเดชั่นอย่างสมบูรณ์ของ ammonium ion โดยขบวนการจุลชีพเช่นกัน

แอมโมเนียเป็นสารมีพิษซึ่งกำหนดไว้ให้มีค่าในน้ำที่อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำจืด 0.02 mg/1 (as un-ionized ammonia) ความเป็นพิษของแอมโมเนีย ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่าง ปัจจัยที่ควบคุมปริมาณของแอมโมเนีย คือ

1) อุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นความเป็นพิษจะเพิ่มขึ้น
2) ความเค็ม ความเค็มเพิ่มขึ้นความเป็นพิษน้อยลง
3) Ionic strength ถ้าเพิ่มขึ้นความเป็นพิษจะลดลง

จากการทดลองพิษของ แอมโมเนีย ของหลายสถาบันพบว่า ความเข้มข้นที่ทำให้ปลาหลายชนิดตายอยู่ในช่วง 0.2-2.0 mg/1 NH_3.

ไนไตรท์ ไนเตรท ฟอสเฟต

ทั้งไนไตรท์และไนเตรท ไม่มีพิษเฉียบพลันต่อสิ่งมีชีวิต แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแพลงตอนพืช ซึ่งมีผลต่อขบวนการ Eutrophication เช่นเดียวกับปริมาณฟอสเฟตในน้ำ ปริมาณที่องค์การรักษาสภาพแวดล้อมสหรัฐกำหนดไว้สำหรับน้ำดื่ม น้ำใช้ คือ 10 มก./ล. และ 50 ไมโครกรัม/ลิตร สำหรับปริมาณฟอสเฟตรวม

แพลงตอนพืช

แพลงตอนพืชเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในบ่อเลี้ยงปลาและในธรรมชาติ โดยปกติการศึกษาปริมาณกระทำโดยการวัดปริมาณ คลอโรฟิล เอ การศึกษาแพลงตอนพืชในบ่อปลาที่จัดอัลบามา โดย Boyd (1976 a) พบว่าปริมาณแพลงตอนพืชมิได้ขึ้นตรงกับความเข้มข้นของ แอมโมเนีย หรือ ไนเตรท แพลงตอนพืชต้องการใช้ไนโตรเจนมากกว่าฟอสฟอรัส ไนโตรเจนที่แพลงตอนใช้ได้มาจากพวก nitrogen fixing blue green algae (Boyd 1973 a)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) เป็นตัวสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ เพราะสาหร่ายพวกนี้เมื่อตายจะให้สาร geosmin ซึ่งมีกลิ่นที่อยู่คงทนเป็นอาทิตย์และปลาไม่ชอบ (Weete *et al*, 1979) สาหร่ายดังกล่าวถ้ามีจำนวนมากจะทำให้ในเวลากลางวันมีความเป็นกรดด่างสูง ก๊าซคาร์บอนได-

ออกไซด์ต่ำ และออกซิเจนละลายเกินจุดอิ่มตัว และในตอนกลางคืนทำให้ออกซิเจนต่ำ สภาพดังกล่าวจะทำให้สาหร่ายตายในเวลาต่อมาทำให้ออกซิเจนลดลงอย่างมาก

การเกิดแพลงตอนอย่างมาก (Bloom) ในแหล่งน้ำมีปัจจัยสำคัญอยู่ 3 ประการ คือ

1) มีความเข้มข้นของอินทรีย์สารสูง (Organic matter)

2) มีความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูง ในขณะที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต่ำ ความเป็นกรดด่างสูง

3) การปลอยสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่เกิดจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวบางชนิดไปกระตุ้นให้สาหร่ายเกิดจำนวนมาก

การป้องกันมิให้เกิดแพลงตอนพืชจำนวนมาก (bloom) นั้นนอกจากจะป้องกันมิให้เกิดกรณีทั้ง 3 ดังกล่าวแล้ว พวกพืชน้ำ (macrophiyte) ที่อยู่ที่ผิวน้ำหรือมีใบอยู่ใต้น้ำเป็นอีกพวกหนึ่งที่ช่วยป้องกันการเกิดแพลงตอนพืชอย่างมากได้ ดังนั้นการปลูกผักบุ้งหรือพืชอื่น ๆ ในบ่อเลี้ยงปลาจึงสมควรที่จะได้กระทำกัน

วัตถุประสงค์

เพื่อรวบรวมและศึกษาข้อมูลสิ่งแวดล้อมบางประการในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำเพื่อเป็นหลักฐานและเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาศึกษาสาเหตุ การป้องกันและแก้ไขโรคระบาดสัตว์น้ำต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สถานที่เก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างได้กระทำทั้งในบ่อเลี้ยงปลาเป็นโรค และไม่เป็นโรคในแหล่งน้ำธรรมชาติทั้งที่กระทำเป็นครั้งคราวและต่อเนื่องดังต่อไปนี้

1.1 การเก็บตัวอย่างเป็นครั้งคราว

ในแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อปลา

จังหวัด	รหัสที่ให้	วันที่
ชลบุรี, ฉะเชิงเทรา	St	6 มกราคม 2526
สุพรรณบุรี	A	เก็บต่อเนื่องและทุก ๆ 7, 10, 15 วัน ในเดือน ม.ค.–ก.พ. 2526
สมุทรปราการ	B	11, 12, 15 มกราคม 2526
นครปฐม	C	13 มกราคม 2526
กรุงเทพมหานคร	D	13 มกราคม 2526
ปทุมธานี	E	14 มกราคม 2526

1.2 เก็บต่อเนื่องทุก ๆ 6 ชั่วโมงในแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อปลา

1.2.1 คลองส่งน้ำและบ่อปลาช่อน ที่บางปลาม้า จ. สุพรรณบุรี ซึ่งเป็นบ่อปลาที่เป็นโรคและ ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ ได้ทำการทดลองใช้ยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ผสมกับอาหารปลาเพื่อหยุดยั้งการตายของปลา

– รหัส Ao เป็นคลองส่งน้ำธรรมชาติ

A_1–A_{28} เป็นบ่อเลี้ยงปลาช่อนที่เกิดโรคระบาด

– ระยะเวลาที่ศึกษา ระหว่างวันที่ 11–26 มกราคม 2526

1.2.2 บ่อปลาช่อนที่กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร เป็นบ่อปลาที่ทดลองใช้วิธีกำจัดโรคระบาดที่เกิดจากแบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า โดยใช้ไอโอดีน

– บ่อที่ 1 เป็นบ่อปลาที่เกิดโรคระบาด

– บ่อที่ 2 เป็นบ่อปลาไม่เป็นโรคใช้น้ำบาดาลเลี้ยงโดยตลอด

- บ่อที่ 3–6 เป็นบ่อปลาที่เป็นโรคเล็กน้อยและใช้น้ำบาดาลและน้ำจากแม่น้ำท่าจีนในการเลี้ยง
- เก็บตัวอย่างในแม่น้ำท่าจีนบริเวณหน้าบ่อเลี้ยงปลา 1 จุด
- ระยะเวลาการศึกษา ระหว่างวันที่ 11–18 กุมภาพันธ์ 2526

2. ข้อมูลและวิธีการศึกษา

ในแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อปลาที่เก็บเป็นครั้งคราวได้ศึกษาข้อมูลต่าง ๆ ทั้งในด้านเคมี ฟิสิกส์ และแบคทีเรียไปพร้อม ๆ กันดังผลงานที่ปรากฏอยู่ในรายงานเล่มนี้ สำหรับข้อมูลที่จะกล่าวถึงในที่นี้ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง วัดโดยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ วัดโดยเครื่องวัด YSI และเทียบมาตรฐานโดยการไตรเตรท ปริมาณไนไตรท์ ไนเตรท ฟอสเฟต วัดโดยการใช้เทียบสีโดยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

สำหรับการเก็บตัวอย่างต่อเนื่องที่ สุพรรณบุรี และ สมุทรสาคร ได้กระทำโดยการตรวจวัดทุก ๆ 6 ชั่วโมง และวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น ข้อมูลที่วิเคราะห์เพิ่มเติม คือ แอมโมเนีย แพลงตอนพืช และสัตว์ซึ่งใช้วิธีนับจำนวนต่อหน่วยปริมาตรน้ำ ข้อมูลที่แสดงเป็นข้อมูลเฉลี่ยที่เก็บจากจุดต่าง ๆ ในบ่อ 2 แห่ง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางแบคทีเรียโดย ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ ตลอดระยะเวลาการศึกษาอีกด้วย

ผลการศึกษา

1. สภาพแวดล้อมในแหล่งน้ำธรรมชาติ

ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทั่วไปในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำในจังหวัดภาคกลางแสดงไว้ในตารางที่ 2, 3, 7

ตารางที่ 2 สภาพแวดล้อมบางประการในแหล่งน้ำธรรมชาติขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ 2525–26

สถานที่	ระยะ	ออกซิเจน (มก./ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ (องศา)		แอม.โม เนีย มก./ล	ไนไตรท มก./ล	ไนเตรท มก./ล	ฟอสเฟต มก./ล	เวลา	วันที่		
		ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน								
ปทุมธานี	ST.2	2.0	0.6*	6.4*	–	29.0**	–	–	0.15**	0.47	0.61	13.00	6 มค. 26		
"	St.3	8.6**	6.4**	7.8	–	28.0	–	–	0.03	1.16**	0.51	13.30	6 มค. 26		
"	St.4	4.6	2.0	7.6	–	28.0	–	–	0.08	0.22	0.09	13.50	6 มค. 26		
"	St.5	2.2	0.8	7.2	–	28.0	–	–	0.03	0.01	0.08	14.30	6 มค. 26		
"	St.6	6.8	4.6	7.6	–	28.0	–	–	0*	0.13	0.06	14.45	6 มค. 26		
"	St.7	4.3	2.6	7.2	–	28.5	–	–	0.02	0*	0.07	15.00	6 มค. 26		
"	St.8	2.8	2.6	8.3	–	29.0**	–	–	0.10	0.17	0.01*	16.40	6 มค. 26		
สมุทรปราการ	B.3	1.9	1.2	7.0	–	28.0	–	–	0.08	0.16	0.24	18.30	11 มค. 26		
" "	B.4	1.4*	–	7.4	–	26.0	–	–	–	–	–	18.15	12 มค. 26		
นครปฐม	C 1/1	1.8	0.7	6.5	–	26.5	–	–	0.02	0.32	0.35	11.45	15 มค. 26		
" "	C 2	3.7	1.8	6.7	–	25.3	–	–	0.01	0.07	0.45*	12.00	15 มค. 26		
" "	C 4	2.2	1.6	10.0**	–	25.0	–	–	–	–	–	18.27	15 มค. 26		
ปทุมธานี	E 3	4.2	4.2	6.5	–	25.5	–	–	0*	0.12	0.27	12.45	14 มค. 26		
" "	E 4	3.0	2.4	6.4*	–	27.0	—	–	0*	0.14	1.98**	14.40	14 มค. 26		
หมายเหตุ * ต่ำสุด															
** สูงสุด															
–															

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการในบ่อเลี้ยงปลาขณะเกิดโรคระบาด 2525–26

สถานที่	ระบบ	ออกซิเจน (มก./ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ (°ซ)		แอมโมเนีย (มก./ล)	ไนไตรท (มก./ล)	ไนเตรท (มก./ล)	ฟอสเฟต (มก./ล)	เวลา	วันที่
		ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน						
ศูนย์	S1	-	-	-	-	-	-	-	0.05	0.17	0.38	15.30	6 มค.26
สมุทรปราการ	B1	5.4	-	9.5**	-	29.0**	-	-	0.04	0.06	0.22	18.00	11มค.26
	B2	0.9*	-	6.9	-	26.0	-	-	0.03	0*	0.16	18.30	11มค.26
นครปฐม	C1/2	1.8	0.7*	6.5*	-	26.5	-	-	-	-	-	11.45	15มค.26
	C1/2	3.7	1.8	6.7	-	25.3*	-	-	-	-	-	12.00	15มค.26
	C3	1.2	0.9	7.0	-	27.0	-	-	-	-	-	17.54	15มค.26
บุรีรัมย์	E1/1 ***	9.0**	6.6**	6.8	-	27.0	-	-	0.10**	0.05	0,16	11.30	14มค.26
	E1/2 ***	3.2	1.0	6.5*	-	27.0	-	-	0.08	0,12	0.37*	11.30	14มค.26
	E2	2.2	2.1	6.7	-	27.0	-	-	0,02*	0.24**	0.10**	12.30	14มค.26

หมายเหตุ * ค่าต่ำสุด

** ค่าสูงสุด

*** บ่อปลาที่ไม่เป็นโรค

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในคลองส่งน้ำเข้าบ่อเลี้ยงปลาที่บางปลาม้า จังหวัดสพรรณบุรี (Ao)

ออกซิเจน (มก/ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ (°ซ)		แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนไตรท (มก/ล)	ไนเตรท (มก/ล)	ฟอสเฟต (มก/ล)	แพลงตอนพืช เซล/ม^3 x^{03}	เวลา	วันที่
ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน							
4.6	4.6	6.91	-	28.0**	-	-	-	-	-	-	23.30	11 มค.26
4.7	4.1	7.12	-	25.0	-	-	0.03	0.10	0.33	-	08.20	12 มค.26
6.3	6.4	7.30	-	28.0**	-	-	-	-	-	-	13.10	12 มค.26
5.5	5.5	7.00	-	25.0	-	-	-	-	-	-	08.23	13 มค.26
10.1**	8.0**	7.20	-	28.0**	-	-	-	-	-	-	12.48	13 มค.26
7.1	6.2	7.15	-	27.0	-	-	-	-	-	-	18.22	13 มค.26
5.1	3.6	6.78*	-	25.0	-	-	-	-	-	32.0	01.27	14 มค.26
3.8	2.6	7.00	-	24.0	-	-	-	-	-	-	08.05	14 มค.26
4.5	3.7	7.46	-	26.0	-	-	-	-	-	-	15.15	14 มค.26
3.1*	2.7*	6.80	-	26.0	-	-	-	-	-	320.0	18.45	14 มค.26
5.2	4.2	6.97	-	24.0	-	-	-	-	-	-	24.40	14 มค.26
5.2	3.8	6.94	-	23.0	-	-	-	-	-	-	08.10	15 มค.26
6.5	6.5	7.40	-	26.0	-	-	-	-	-	-	12.32	15 มค.26
4.7	4.2	7.03	-	27.0	-	-	-	-	-	-	18.25	15 มค.26
9.6	7.1	7.47**	-	21.7*	21.3	-	0.04	0.26	0.04	-	14.00	26 มค.26

หมายเหตุ *ค่าต่ำสุด
**ค่าสูงสุด

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่อง ในบ่อเลี้ยงปลาที่บางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี (A_7)

ออกซิเจน (มก/ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ °ซ.		แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนไตรท (มก/ล)	ไนเตรท (มก/ล)	ฟอสเฟต (มก/ล)	แพลงตอน พีซี เซล/ม^3 x 10^9	เวลา	วันที่
ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน							
0.8	0.5	7.11	-	28.0	-	-	-	-	-	-	23.45	11 มค.26
1.7	1.1	6.77	-	25.0	-	-	0.01	0.02	0.29	-	07.20	12 มค.26
2.2	0.6	7.08	-	29.0**	-	-	-	-	-	-	11.24	12 มค.26
0.5*	0.05*	6.87	-	25.0	-	-	-	-	-	-	07.46	13 มค.26
12.0**	5.8**	7.16	-	27.0	-	-	-	-	-	-	11.29	13 มค.26
10.6	2.9	7.90**	-	28.0	-	-	-	-	-	-	17.18	13 มค.26
3.0	1.5	6.20*	-	25.0	-	-	-	-	-	32.00	00.29	14 มค.26
1.0	1.0	6.50	-	24.0	-	-	-	-	-	-	07.15	14 มค.26
4.5	1.9	7.50	-	29.0**	-	-	-	-	-	-	14.19	14 มค.26
3.8	1.1	7.3	-	27.0	-	-	-	-	-	8.4	17.51	14 มค.26
3.9	1.8	6.53	-	25.0	-	-	-	-	-	-	23.55	14 มค.26
2.7	1.1	6.57	-	23.0*	-	-	-	-	-	-	07.11	15 มค.26
4.5	4.0	7.03	-	25.0	-	-	-	-	-	-	11.47	15 มค.26
3.9	2.1	7.11	-	27.0	-	-	-	-	-	-	17.44	15 ม ค.26
6.8	4.2	7.26	-	20.7	20.0	-	0.21	0.16	0.10	-	15.50	26 มค.26

หมายเหตุ * ค่าต่ำสุด

** ค่าสูงสุด

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อนที่บางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี (A_{16})

ออกซิเจน (มก./ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ (°ซ)		แอมโมเนีย	ไนไตรท	ไนเตรท	ฟอสเฟต	แพลงตอนพืช เซล/ม^3 x 10^9	เวลา	วันที่
ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	(มก/ล)	(มก/ล)	(มก/ล)	(มก/ล)			
1.00	0.60	6.72	-	28.0	-	-	-	-	-	-	00.03	12 มค. 26
1.5	1.1	6.68	-	27.0	-	-	0	0.08	0.72	-	07.38	12 มค. 26
2.1	1.3	6.90	-	28.0	-	--	-	-	-	-	11.40	12 มค. 26
1.7	1.4	6.66	-	26.0	-	-	-	-	-	-	07.56	13 มค. 26
11.0**	7.0*	6.92	-	28.0	-	--	-	-	-	-	11.42	13 มค. 26
5.5	5.5	6.83	-	29.0*	-	-	-	-	-	-	17.40	13 มค. 26
3.0	2.2	6.40*	-	27.0	-	-	-	-	-	10.0	00.46	14 มค. 26
1.5	1.0	6.50	-	25.0	-	-	-	-	-	-	07.30	14 มค. 26
4.8	2.5	7.17	-	27.0	-	-	-	-	-	-	14.35	14 มค. 26
2.5	1.5	6.80	-	25.0	-	-	-	-	-	-	18.08	14 มค. 26
3.0	2.6	6.65	-	24.0	-	-	-	-	-	-	24.07	14 มค. 26
0.8*	0.7*	7.25**	-	23.0*	-	-	-	-	-	-	07.25	15 มค. 26
3.7	3.1	7.01	-	26.0	-	-	-	-	-	-	11.58	15 มค. 26
2.0	1.7	6.71	-	27.0	-	-	-	-	-	-	17.55	15 มค. 26
4.8	3.1	6.87	-	20.0	20.0	-	0.06	0.18	0.88	-	16.59	26 มค. 26

หมายเหตุ * ค่าต่ำสุด
** ค่าสูงสุด

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในแม่น้ำท่าจีน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาคร

ความโปร่งแสง (ซ.ม.)	ออกซิเจน		ความเป็นกรด		อุณหภูมิ (°C)		แอมโมเนีย มก./ล	ไนไตรท์ มก./ล	ไนเตรท มก./ล	ฟอสเฟต มก./ล	แพลงตอนสัตว์ ตัว/ม^3 x 10^3		แพลงตอนพืช เซล/ม^3 x 10^9		เวลา	วันที่
	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน					ผิวน้ำ	ผิวดิน	ผิวน้ำ	ผิวดิน		
-	14	1.2**	6.77*	6.85*	29	29	-	0.14**	0.04	0.49	-	-	-	-	14.00	16 กพ.26
-	0.1*	0.3*	8.32**	8.34**	28	28	-	0.03*	0.11**	1.81**	66.5	20.0	29.0	40.0	20.00	16 กพ.26
15**	0.5	0.8	6.82	6.94	30**	29	-	0.11	0.09	1.17	-	-	-	-	02.00	17 กพ.26
-	0.3	0.3*	-	-	28	28	-	0.07	0.06	0.20*	29.7	20.0	3.1	35.0	08.00	17 กพ.26
30	1.3	1.2	-	-	29	29	-	-	-	-	-	-	-	-	14.00	17 กพ.26
-	0.7	0.6	-	-	28	28	40.00**	0.08	0.04*	0.21	-	-	-	-	20.00	17 กพ.26
-	1.6**	0.3*	-	-	28	28	-	-	-	-	-	-	-	-	02.00	18 กพ.26
45**	0.6	0.6	-	-	28	28	0.60*	0.09	0.04*	0.33	-	-	-	-	08.00	18 กพ.26
หมายเหตุ	* ค่าต่ำสุด															
	** ค่าสูงสุด															

ตารางที่ 8 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาคร บ่อที่ 1 ปลาเป็นโรค และทดลองการใช้ไอโอดีน ในวันที่ 16 ก.พ. 26 เวลา 16.00 น.

ความโปร่งแสง (ซ.ม.)	ออกซิเจน (มก./ล.)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ (°ซ.)		แอมโมเนีย มก./ล.	ไนไตรท มก./ล.	ไนเตรท มก./ล.	ฟอสเฟต มก./ล.	แพลงตอนสัตว์ ตัว/ล. x 10^3		แพลงตอนพืช เซล/ล. x 10^3		เวลา	วันที่
	ชั้นน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ชั้นน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ชั้นน้ำ	ใกล้ผิวดิน										
-	1.0	-	5.24*	-	29.0	-	-	-	-	-	0.10*	-	4.2	-	20.00	13 กพ.26
-	1.2	-	6.85	-	28.0*	-	-	-	-	-	1.02	-	5.0	-	02.00	14 กพ.26
30	0.6	-	6.84	-	28.0*	-	-	0.13	0.05	1.67	-	-	3.9*	-	08.00	14 กพ.26
30	4.7	-	7.29	-	32.0	-	-	0.05	0.08	1.67	0.25	-	9.9	-	14.00	14 กพ.26
-	2.4	2.5	7.18	7.15	30.0	30.0	1.40	0.04	0.04	0.86	4.06	15.63	14.0	13.0	20.00	14 กพ.26
-	0.9	1.1	7.11	7.12	30.0	29.0*	2.20	-	-	-	10.31	13.00	34.0**	30.0	02.00	15 กพ.26
35	0.6	0.9	7.13	7.10	29.0	29.0*	1.90	0.12	0*	0.04**	206.3**	0.3*	19.0	2.4*	08.00	15 กพ.26
30	8.1**	5.0*	7.53**	7.34**	32.0**	31.0*	1.75	0.11	0*	0.56	0.19	-	11.0	7.5	14.00	15 กพ.26
-	7.6	4.8	7.30	-	32.0**	32.0**	-	-	-	-	-	-	-	-	16.20	15 กพ.26***
-	2.5	1.8	7.29	7.20	30.0	30.0	1.20	0.23**	0*	2.37**	1.26	138.1**	26.0	11.0	20.00	15 กพ.26
-	0.6	0.3	7.18	7.08	29.0	29.0*	1.50	0.14	0.01	0.75	11.88	17.5	25.0	44.0	02.00	16 กพ.26
25*	0.2*	0.2	7.10	7.12	29.0	29.0*	2.20	0.04	0.04	1.33	6.75	102.8	17.0	60.0	08.00	16 กพ.26
20*	2.0	0.2	7.20	7.19	31.0	32.0**	1.95	0.04	0.09**	0.60	4.02	100.8	9.8	12.0	14.00	16 กพ.26
-	0.4	0.1*	6.95	7.11	29.0	29.0*	-	0.01*	0.01	0.66	1.41	1.64	27.0	66.0**	20.00	16 กพ.26
-	0.2	0.1*	6.91	6.99*	31.0	31.0	-	0.04	0.01	0.70	-	-	-	-	02.00	17 กพ.26
20*	0.3	0.2	-	-	29.0	28.0	-	0.01*	0*	1.20	30.59	4.38	28.0	48.0	08.00	17 กพ.26
25	2.0	0.4	-	-	31.0	31.0	-	-	-	-	-	-	-	-	14.00	17 กพ.26
-	0.4	0.3	-	-	30.0	29.0*	1.00*	0.01	0*	1.20	-	-	-	-	20.00	17 กพ.26
-	0.3	0.2	-	-	29.0	29.0*	-	-	-	-	-	-	-	-	02.00	18 กพ.26
45*	0.4	0.2	-	-	29.0	29.0*	2.25**	0.16	0*	1.37	-	-	-	-	08.00	18 กพ.26

หมายเหตุ * ค่าต่ำสุด
** ค่าสูงสุด
*** [illegible]

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาคร บ่อที่ 2 ปลาไม่เป็นโรค ใช้น้ำบาดาลเลี้ยงโดยตลอด

ความโปร่งใส (ซ.ม.)	ออกซิเจน (มล/ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิน้ำ (°ซ)		แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนไตรท (มก/ล)	ไฮเดรท (มก/ล)	ฟอสเฟต (มก/ล)	แสงสลอนดิศร์ ดีบุก $\times 10^3$		แสงสลอนดิศร์ เซล/ม^3 $\times 10^9$		เวลา	วันที่
	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน					ผิวน้ำ	ผิวดิน	ผิวน้ำ	ผิวดิน		
-	0.5	-	5.32*	-	29*	-	-	-	-	-	2.31	-	5.7	-	20.00	13 กพ.26
-	0.6	-	7.06	-	30	-	-	-	-	-	1.45	-	5.9	-	02.00	14 กพ.26
10*	0.4	-	7.09	-	30	-	-	0.03	0*	2.99	32.20	-	4.6*	-	08.00	14 กพ.26
10*	2.8	-	7.26**	-	32**	-	-	-	-	-	0.72*	40.47	7.3	-	14.00	14 กพ.26
-	2.2	1.2	7.16	7.14	31	-	>2.5	0.02	0.01	2.28	73.05	-	22.0	31.0	20.00	14 กพ.26
-	0.6	1	7.09	7.12	30	30	>2.5	-	-	-	2.38	-	35.0	15.0*	02.00	15 กพ.26
15	1.2	0.6	7.18	7.15	30	30	>2.5	0.03	0.06	2.83	48.13	94.69	40.0	41.0	08.00	15 กพ.26
15	4.0**	2.8*	7.26**	7.25**	32**	32**	>2.5	0.03	0.06	1.30	21.30	126.5**	33.0	46.0**	14.00	15 กพ.26
-	0.6	0.3	7.11	7.17	30	30	5.15	0.07*	0.14**	2.17	38.75	25.67	34.0	23.0	20.00	15 กพ.26
-	0.4	0.3	6.79	7.10	30	30	7.50	0.05	0*	2.01	11.88	21.56	31.0	47.0	02.00	16 กพ.26
10*	0.3	0.2	7.04	7.02	30	30	20.00**	0.05	0*	4.02**	67.87	55.94	46.0	28.0	08.00	16 กพ.26
15	0.6	0.3	7.09	7.10	32**	32**	6.50	0.01*	0.01	1.25*	375.6**	17.81*	22.0	43.0	14.00	16 กพ.26
-	0.2*	0.1*	7.10	7.15	31	30	-	0.04	0*	2.19	26.25	-	63.0**	15.0*	20.00	16 กพ.26
-	0.2*	0.2	6.00	7.00*	31	31	-	0.04	0.01	2.35	26.56	100.0	-	-	02.00	17 กพ.26
15	0.3	0.2	-	-	29*	29*	-	0.03	0.01	3.02	-	-	26.0	29.0	08.00	17 กพ.26
20***	0.4	0.2	-	-	32**	31	-	-	-	-	-	-	-	-	14.00	17 กพ.26
-	0.2*	0.2	-	-	30	31	3.40*	0.03	0.01	2.92	-	-	-	-	20.00	17 กพ.26
-	0.3	0.2	-	-	30	30	-	-	-	-	-	-	-	-	02.00	18 กพ.26
15	0.4	0.2	-	-	29*	29*	25.00	0.02	0.01	2.91	-	-	-	-	08.00	18 กพ.26

หมายเหตุ * ต่ำต่ำสุด
** ค่าสูงสุด

ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมบางประการที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาคร บ่อที่ 6 ปลาเป็นโรคเล็กน้อย

ความโปร่งใส (ซ.ม)	ออกซิเจน (มก/ล)		ความเป็นกรดด่าง		อุณหภูมิ (°ซ)		แอมโมเนีย (มก/ล)	ไนไตรท (มก/ล)	ไนเตรท (มก/ล)	ฟอสเฟต (มก/ล)	แพลงก์ตอนสัตว์ ตัว/ม³		แพลงก์ตอนพืช เซล/ม³		เวลา	วันที่
	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน	ผิวน้ำ	ใกล้ผิวดิน					ผิวน้ำ	ผิวดิน	ผิวน้ำ	ผิวดิน		
-	1.1	-	6.98	-	30	-	-	-	↓	-	-	-	11.0	-	20.00	13 กพ.26
-	0.6	-	6.95	-	29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	02.00	14 กพ.26
35	0.6	-	7.09	-	29	-	-	0.05	0.05	1.28	9.10	-	-	-	08.00	14 กพ.26
35	3.2**	-	7.28**	-	31**	-	-	0.07	0.05	1.27	-	-	-	-	14.00	14 กพ.26
-	2.8	1.8	7.10	7.07	29	29	2.05	0.04	0.07	0.89	1.20*	-	-	16.0	20.00	14 กพ.26
-	1.5	2.3*	6.88	7.09	29	29	2.35	-	-	-	2.50	11.56	34.00**	22.0	02.00	15 กพ.26
13	1.2	1.2	6.99	6.98	29	29	> 2.5	0.07	0.09	1.00	113.8	8.75*	6.3	26.0	08.00	15 กพ.26
15	2	1.8	7.24	7.18	31**	31**	1.75	0.16**	0.03	0.76	153.4	6.25	8.7	6.3*	14.00	15 กพ.26
-	1.0	0.8	6.31*	6.34	30	29	1.35*	0.10	0.12	0.64	241.9**	38.1	16.0	34.0	20.00	15 กพ.26
-	1.1	0.4	6.81	6.91*	30	29	12.00**	0.08	0.16**	0.60*	35.31	46.25	6.9*	7.1	02.00	16 กพ.26
15	1.0	0.4	7.04	7.12	29	29	12.50	0.08	0.08	0.76	225.5	138.1**	8.0	46.0**	08.00	16 กพ.26
15	1.0	0.4	7.22	7.19*	31*	31**	2.50	0.10	0.05	1.24	18.12	32.5	7.1	13.0	14.00	16 กพ.26
-	0.2	0.3	6.82	7.11	29	29	-	0.02	0.10	1.20	-	-	-	-	20.00	16 กพ.26
-	0.6	0.2*	6.97	7.00	30	30	-	0.01*	0.05	1.94**	-	-	-	-	02.00	17 กพ.26
10*	0.3*	0.2*	-	-	28	28	-	-	-	-	-	-	-	-	08.00	17 กพ.26
15	0.6	0.2*	-	-	31**	30.5	-	-	-	-	-	-	-	-	14.00	17 กพ.26
-	1.1	0.4	-	-	30	29	4.15	0.08	0.04	1.37	-	-	-	-	20.00	17 กพ.26
-	1.2	0.4	-	-	29	28*	-	-	-	-	-	-	-	-	02.00	18 กพ.26
15	1.0	0.4	-	-	28*	28*	10.00	0.02	0.01	1.71	-	-	-	-	08.00	18 กพ.26

หมายเหตุ *ค่าต่ำสุด

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. สภาพแวดล้อมในบ่อปลา

ข้อมูลที่เก็บเป็นครั้งคราวในบ่อปลาเขตภาคกลางทั้งในบ่อปลาที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคแสดงไว้ในตารางที่ 2

3. สภาพแวดล้อมในบ่อปลาและในแหล่งน้ำธรรมชาติที่เก็บต่อเนื่อง

สภาพแวดล้อมที่เก็บต่อเนื่องในบ่อปลาและในแหล่งน้ำธรรมชาติที่จังหวัดสุพรรณบุรีแสดงไว้ใน ตารางที่ 2–6, ที่ 5–7 และที่ จังหวัดสมุทรสาครแสดงไว้ในตารางที่ 7–10 รูปที่ 8–10

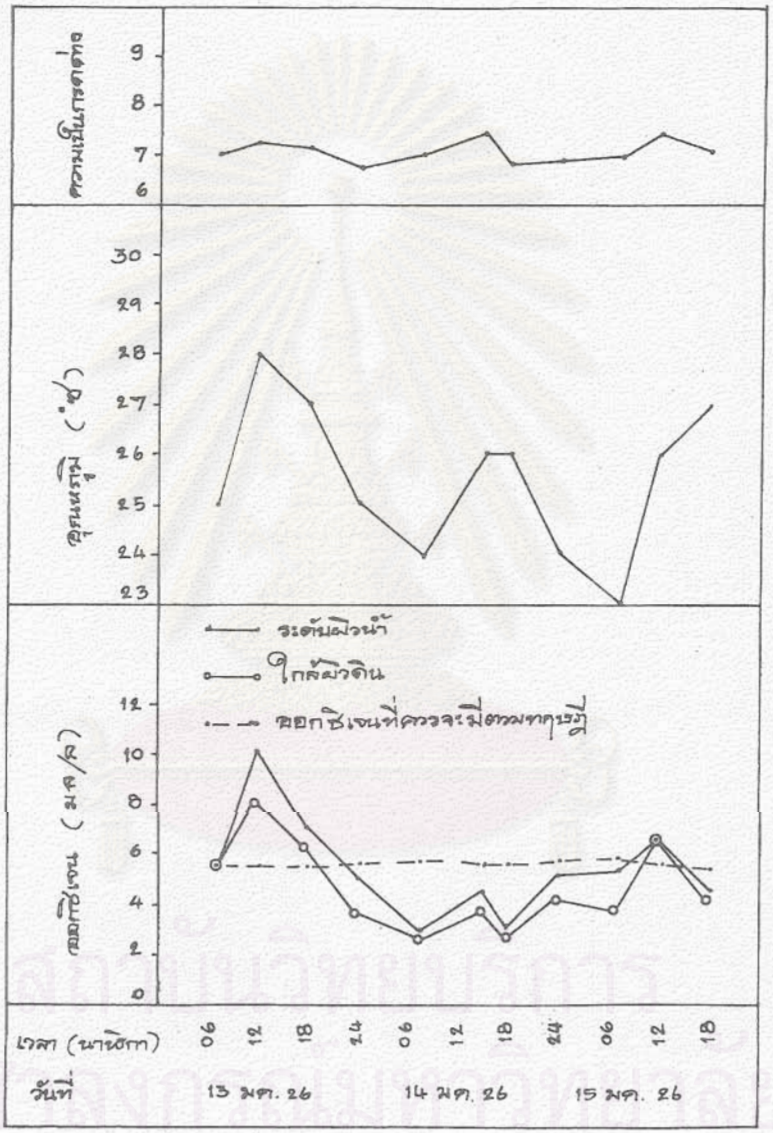
4. แพลงตอนพืชและ แพลงตอนสัตว์

ผลการนับปริมาณแพลงตอนพืชและสัตว์ในบ่อเลี้ยงปลาและในแหล่งน้ำธรรมชาติแสดงไว้ในตารางที่ 2–10 รูปที่ 5–10

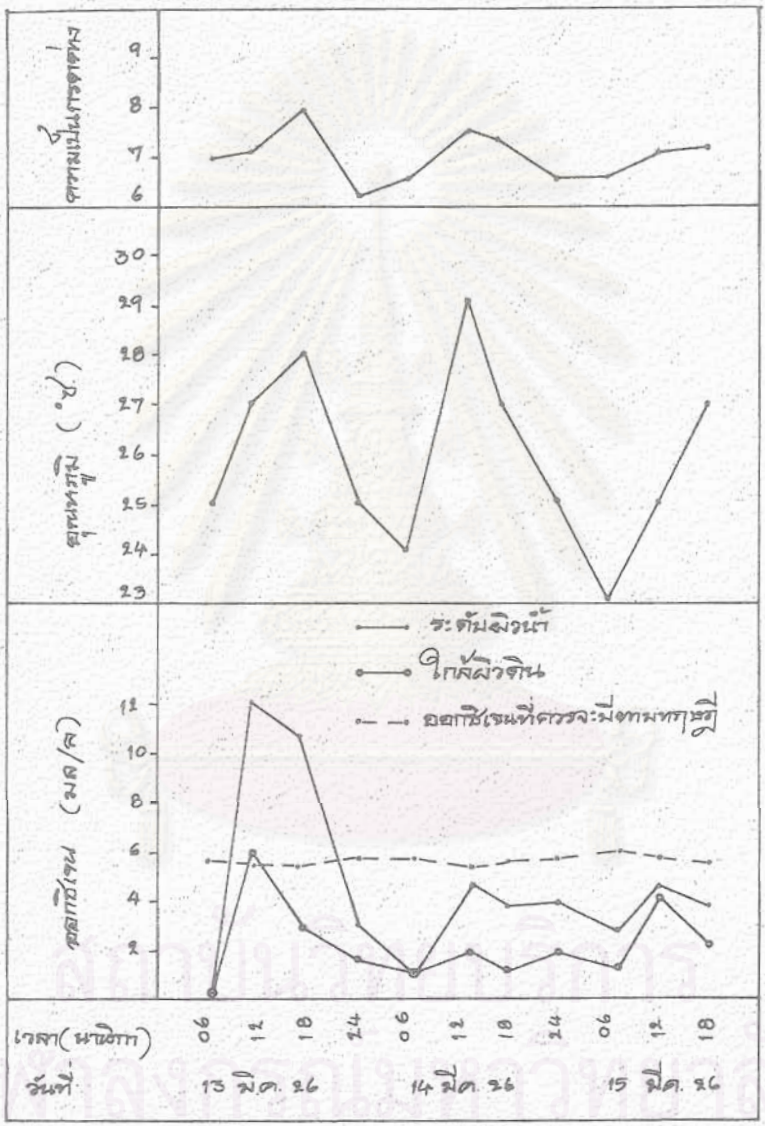
ในการเก็บตัวอย่างต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาที่ สุพรรณบุรี ได้กระทำทั้งหมด 23 บ่อ และที่สมุทรสาคร กระทำ 6 บ่อ แต่เนื่องจากได้วิเคราะห์ผลแล้วการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก ผลที่นำมาแสดงจึงนำผลการวิเคราะห์ในบ่อ เอ–7, เอ–15 ที่สุพรรณบุรี และบ่อที่ 1,2 และ 6 ที่สมุทรสาคร มาแสดงเท่านั้นรายละเอียดเพิ่มเติมนอกเหนือจากนี้ดูได้ที่ผู้เขียน

สรุปและวิจารณ์ผล

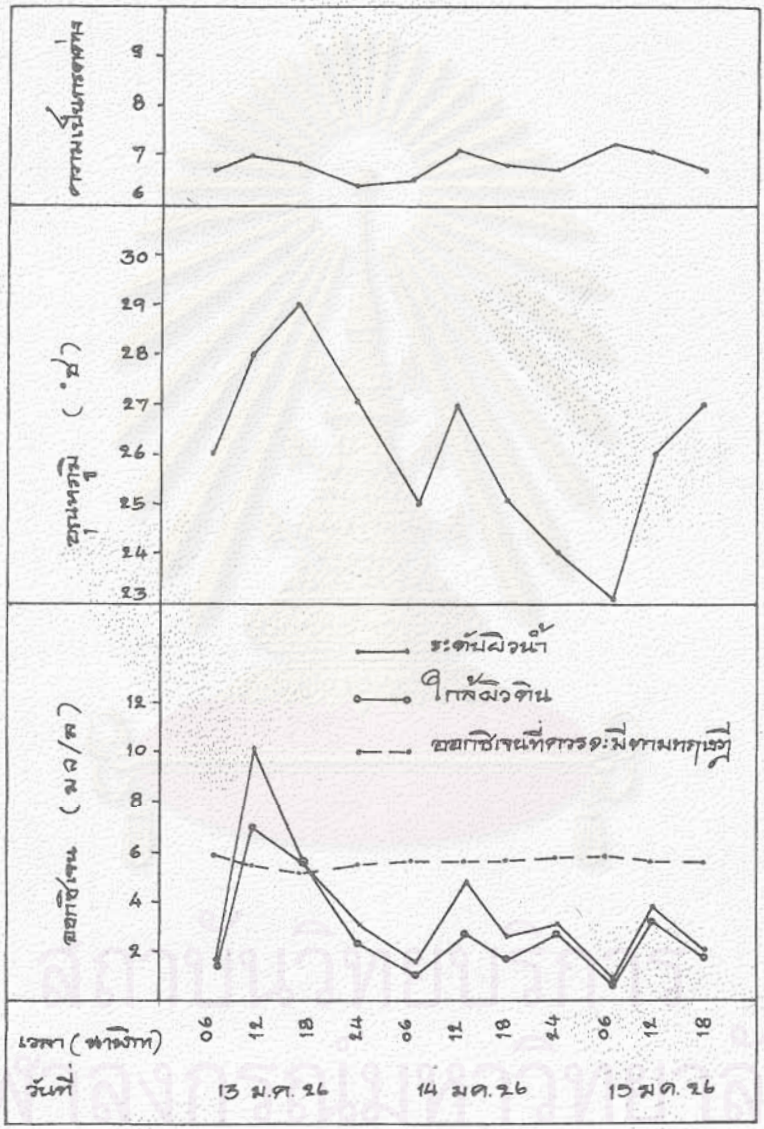
ดังได้กล่าวแล้วแต่ต้นว่าสภาพแวดล้อมที่สำคัญยิ่งที่เป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดโรคระบาดได้แก่ อุณหภูมิ ซึ่งเริ่มลดลงในเดือน ธันวาคม (ดูรูปที่ 1,2 ตารางที่ 1) ประกอบกับการลดปริมาณลงของน้ำจืดรวมทั้งน้ำฝนและน้ำจากเขื่อนชลประทาน (ดูรูปที่ 2–4) ทำให้สภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ทั้งองค์ประกอบทางด้านเคมี ฟิสิกส์ และชีววิทยา โดยมีผลให้องค์ประกอบเหล่านั้นมี



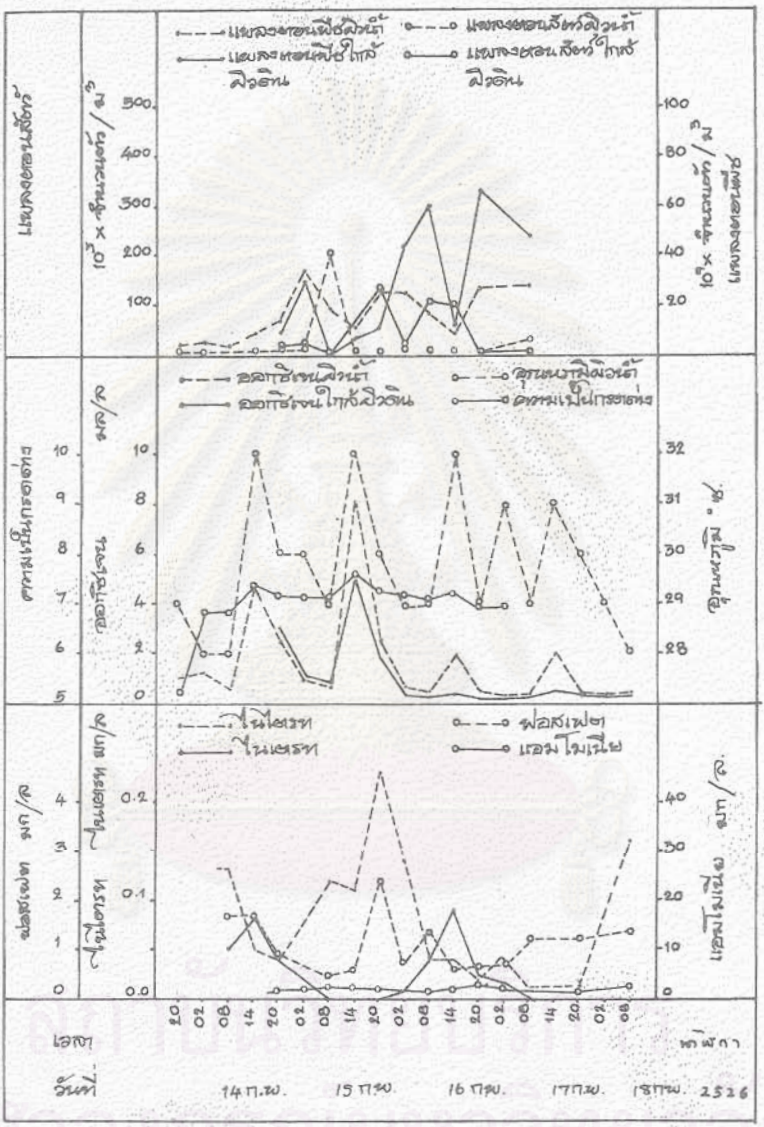
รูปที่ 6 สภาพแวดล้อมที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในคลองส่งน้ำเข้าบ่อเลี้ยงปลาช่อนที่บางปลาม้า สุพรรณบุรี (A0)



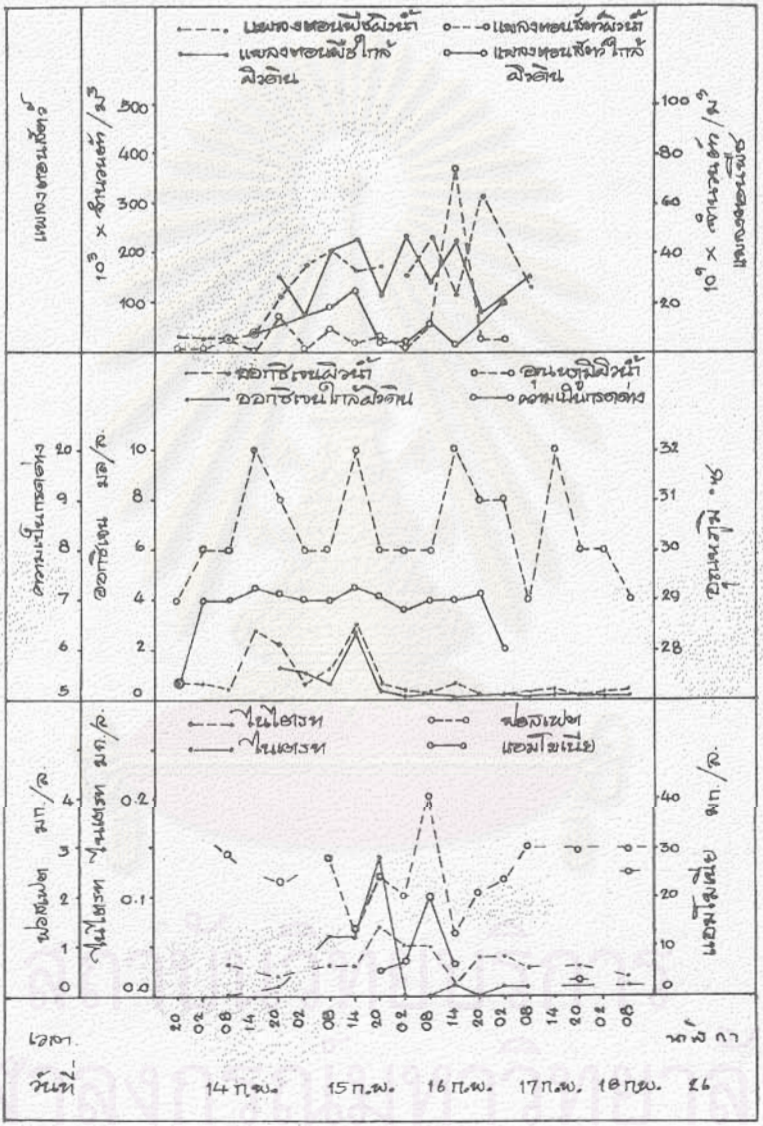
รูปที่ 6 สภาพแวดล้อมที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อนที่บางปลาม้า สุพรรณบุรี (A_7)



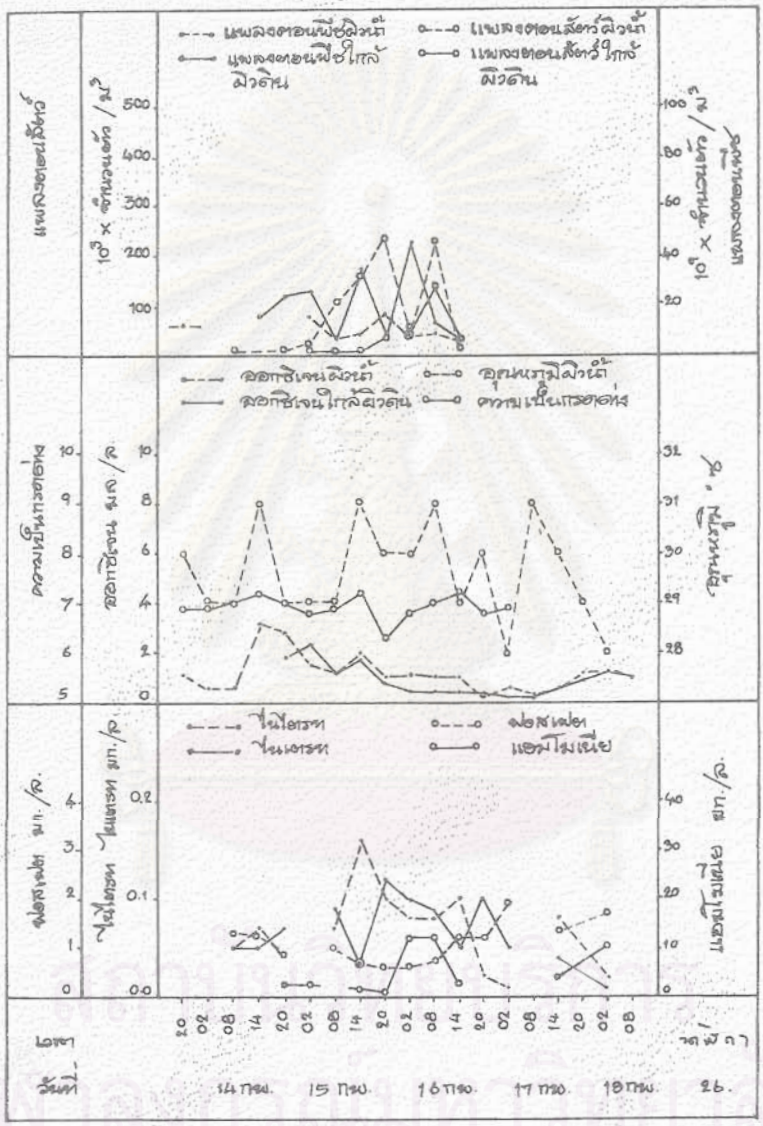
รูปที่ 7 สภาพแวดล้อมที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่บางปลาม้า สุพรรณบุรี (A_{15})



รูปที่ 8 สภาพแวดล้อมที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาคร บ่อที่ 1 ปลาเป็นโรค



รูปที่ 9 สภาพแวดล้อมที่เก็บข้อมูลต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาร บ่อที่ 2 ปลาไม่เป็นโรค



รูปที่ 10 สภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องในบ่อเลี้ยงปลาช่อน ที่กระทุ่มแบน สมุทรสาคร
บ่อที่ 6 ปลาเป็นโรคเล็กน้อย

ความเข้มข้นมากขึ้นจากการลดปริมาณของน้ำ สาเหตุโน้มนำที่แท้จริงที่ทำให้เกิดแบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ แต่อาจกล่าวได้ว่าสารเคมีตกค้างประเภทยาฆ่าแมลง วัชพืช ศัตรูพืช ไม่น่าที่จะเป็นสาเหตุที่สำคัญรวมทั้งปริมาณโลหะหนักต่าง ๆ ที่มีอยู่ในระดับปัจจุบัน สาเหตุอื่น ๆ ที่น่าจะพิจารณากันได้แก่สารพวกอินทรีย์สาร ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรท อมิโนแอซิด สารที่ประกอบด้วยไนโตรเจนและฟอสฟอรัสซึ่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ อีกหลายประการ จากการศึกษาเบื้องต้นอาจสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. อุณหภูมิ

อุณหภูมิของน้ำในบ่อเลี้ยงปลาและในแหล่งน้ำธรรมชาติในระหว่างที่เกิดโรคระบาดสัตว์น้ำครั้งนี้ อยู่ระหว่าง 23–29° ซ. ความแตกต่างในระหว่างเวลากลางวันและกลางคืนมีค่า 3° ซ. โดยอุณหภูมิจะสูงในตอนบ่ายและต่ำในเวลาก่อนสว่าง ดังรายละเอียดในรูปที่ 5–10

2. ความโปร่งใส

ในบ่อปลาสภาพโดยทั่วไปขุ่น และมีแพลงตอนหนาแน่น ระยะที่แสงสว่างส่องลงไปได้ไม่เกิน 45 เซนติเมตร ในขณะที่บ่อเลี้ยงโดยทั่วไปลึกไม่เกิน 2 เมตร

3. ความเป็นกรดด่าง

ทั้งในธรรมชาติและในบ่อปลาค่าของความเป็นกรดด่างกล่าวได้ว่าเป็นปกติอยู่ในระหว่าง 7 ± 1 การเปลี่ยนแปลงในรอบ 24 ชั่วโมง พบว่าค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้นตามลำดับในตอนกลางวันและลดลงในตอนกลางคืน และพบว่าความเป็นกรดด่างในบ่อเลี้ยงปลาที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคไม่แตกต่างกัน

4. ออกซิเจน

การเปลี่ยนแปลงออกซิเจนในบ่อเลี้ยงปลามีมากและอาจกล่าวได้ว่าตลอดเวลาอยู่ต่ำกว่ามาตรฐานที่ควรจะเป็น ซึ่งกำหนดไว้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ

ควรจะไม่ต่ำกว่า 5.0 มก./ล. หรือ 3.50 มล./ล. จากการศึกษาต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ทั้งที่จังหวัดสุพรรณบุรีและสมุทรสาครพบว่าค่าออกซิเจนอยู่ในเกณฑ์ต่ำโดยเฉพาะที่ใกล้ผิวดินซึ่งมีค่าต่ำกว่า 1 มล./ล. เกือบตลอดเวลา จากความแตกต่างของออกซิเจนในรอบ 24 ชั่วโมง ถึง 12 มล./ล. แสดงให้เห็นว่าสภาพของบ่อนั้นอยู่ในสภาพไม่สมดุลมีแพลงตอนพืชอยู่อย่างมาก ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อปลาได้ทุกโอกาส

อย่างไรก็ตามถึงแม้จะกำหนดว่า ออกซิเจน นั้นควรจะมีไม่ต่ำกว่า 3.50 มล./ล. นั้น อาจจะใช้ไม่ได้กับบ่อปลาในประเทศไทย เพราะพบว่าบ่อปลาที่สมุทรสาคร (บ่อที่ 1) ซึ่งเป็นบ่อปลาที่เป็นโรคกับบ่อปลาที่ไม่มีการตายของปลา (บ่อที่ 2–6) ค่าของ ออกซิเจนไม่แตกต่างกัน และมีค่าใกล้ 0 ในเวลากลางคืนโดยมีค่าสูงสุดไม่เกิน 1 มล./ล. ในเวลากลางวัน แต่ปลาก็ยังสามารถอยู่ได้อย่างปกติ และเป็นที่สังเกตว่าในบ่อปลาสภาพดังกล่าวถึงแม้จะให้อากาศโดยวางท่อก้นบ่อและเปิดเครื่องตลอดเวลา ปริมาณของออกซิเจนไม่สูงขึ้นเลย ดูรายละเอียด รูปที่ 5–10

จากการตรวจสภาพ ออกซิเจน ในแม่น้ำท่าจีนที่ สมุทรสาคร พบว่าค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่ผิวน้ำมีค่าสูงสุด 1.6 มล./ล. และที่ใกล้ผิวดินมีค่าสูงสุด 1.2 มล./ล. ส่วนใหญ่ตลอดเวลามีค่าไม่เกิน 1 มล./ล. (ตารางที่ 7)

5. แอมโมเนีย

แอมโมเนียในบ่อเลี้ยงปลาที่จังหวัดสมุทรสาคร มีค่าสูงมากบางครั้งสูงถึง 22 มก./ล. (รูปที่ 9) เกินกว่าค่าความปลอดภัยที่กำหนดไว้ไม่เกิน 2.0 มก./ล. ตลอดเวลาที่ศึกษาพบว่าในบ่อปลาที่เป็นโรค (บ่อที่ 1) มีแอมโมเนียอยู่ระหว่าง 1.00–2.20 มก./ล. ซึ่งน้อยกว่าในบ่อปลาที่ไม่เป็นโรค (บ่อที่ 2,6) ซึ่งพบว่ามีค่าสูงอยู่ระหว่าง 1.35–22.50 มก./ล. โดยค่าเฉลี่ยสูงกว่า 5 มก./ล.

ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในบ่อปลาที่เป็นโรคมีการใช้แอมโมเนียโดย แบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ซึ่งตรงกับรายงานของ วีรวุฒิ มหามนตรี, ประกิตสิน สีหนนท์ และคณะ ที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

ในแม่น้ำท่าจีน บริเวณสมุทรสาคร ตรวจพบปริมาณของแอมโมเนียสูงถึง 40 มก./ล. เช่นกัน จากผลของแอมโมเนียและสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่ตรวจพบในแม่น้ำท่าจีนซึ่งมีสภาพไม่ดี จึงไม่เป็นปัญหาเลยว่าบ่อปลาที่ปล่อยน้ำเข้าจะติดเชื้อทันทีด้วยเหตุผลดังกล่าว

6. ไนไตร์ท ไนเตรท และฟอสเฟต

จากมาตรฐานที่กำหนดไว้กว้างๆ และปริมาณของสารทั้ง 3 ตัวที่ตรวจพบมีค่าไม่สูงมากนัก จึงอาจกล่าวได้ว่าสารทั้ง 3 ตัว ไม่มีผลโดยตรงต่อการเกิดโรคระบาด แต่ปริมาณที่ตรวจพบอาจกล่าวได้ว่าเป็นเหตุชักนำให้เกิดแพลงตอนจำนวนมากและมีผลเสียเกิดตามมาดังได้กล่าวแล้วแต่ต้น ดังนั้นการควบคุมสภาพของบ่อปลาและในธรรมชาติมีความจำเป็นจะต้องควบคุมปริมาณของสารที่ประกอบด้วยไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส ให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมด้วย

7. แพลงตอน

จากการตรวจแพลงตอนสัตว์ในบ่อเลี้ยงปลาที่จังหวัดสมุทรสาครพบว่าแพลงตอนสัตว์ส่วนใหญ่เป็นพวกไรน้ำ (Copepod) เป็นส่วนใหญ่ ประมาณที่พบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.1×10^3 ถึง 375.6×10^3 ตัว/ม.^{3} โดยพบอยู่ที่ระดับผิวน้ำมากที่สุด ตลอดเวลาและปริมาณเพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นกับปริมาณของแพลงตอนพืช

สำหรับแพลงตอนพืช ส่วนใหญ่ตรวจพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) เกินกว่า 95% ในวันแรกที่ทำการศึกษามีอยู่ในปริมาณน้อยทั้งในบ่อปลาที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ต่อจากนั้นเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างมากในวัน

ที่ 2 ของการศึกษา (ดูรูปที่ 8–10) แพลงตอนพืชจะแพร่กระจายตามแนวดิ่ง โดยจะอยู่บริเวณผิวดินมากในเวลากลางคืนและขึ้นมาที่ผิวน้ำมากในเวลากลางวัน

จากปริมาณแพลงตอนที่ตรวจพบในปริมาณมากและส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว ซึ่งภายหลังการเกิดอย่างมากจะเป็นอันตรายต่อปลาดังเหตุผลที่กล่าวแล้วในบทนำ

การหาปริมาณแพลงตอนพืชโดยวิธีนับจำนวนมีโอกาสผิดพลาดได้มาก เพราะการนับจำนวนเซลล์หรือจำนวนตัวนั้นอาจไม่ถูกต้องเพราะโครงสร้างของแพลงตอนมีหลายชนิดบางชนิดอยู่เป็นสาย บางชนิดอยู่เดี่ยว ๆ ดังนั้นการประเมินค่าที่ถูกโดยทั่วไปจึงมักหาปริมาณคลอโรฟิลแทน อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการนับจำนวนครั้งนี้มีค่าอยู่ระหว่าง $2.4 \times 10^{9} - 66.0 \times 10^{9}$ เซลล์/ม.^{3}

จากผลการศึกษาสภาพแวดล้อมเบื้องต้นดังได้แสดงมาแล้ว อาจสรุปได้ว่าสาเหตุโน้มนำที่ทำให้เกิดโรคระบาดครั้งนี้มีอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญยิ่ง ปัจจัยอื่น ๆ ที่ประกอบอาจมีหลายอย่างโดยเฉพาะสารประกอบพวกอินทรีย์สาร (Organic matter) กลุ่มของสารที่ประกอบด้วยไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ส่วนปัจจัยอื่น ๆ น่าจะเป็นเพียงส่วนประกอบที่ไม่สู้สำคัญนัก จากข้อมูลที่ศึกษาในระยะเวลาอันจำกัดจึงอาจมีการผิดพลาดและความไม่สมบูรณ์ในการเสนอรายงานนี้อยู่บ้าง

ข้อเสนอแนะ

1. ปัญหาโรคระบาดสัตว์น้ำที่เกิดขึ้นในครั้งนี้ เป็นปัญหาที่สำคัญและใหญ่หลวงสร้างความเสียหายแก่ระบบเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมากถึงแม้ว่าได้เกิดขึ้นมาก่อนหน้านี้แล้วก็ตามแต่ไม่มีมาตรการที่จะป้องกันแก้ไขหรือแม้แต่การศึกษาหาสาเหตุที่แท้จริงจึงเป็นการสมควรอย่างยิ่งที่จะต้องมีโครงการศึกษาวิจัยกันต่อไป

2. การศึกษาวิจัยที่กระทำจะต้องตอบปัญหาต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ได้ คือ

- สาเหตุของการระบาดที่แท้จริง
- วิธีป้องกันที่ถูกต้อง
- วิธีรักษาแก้ไขที่ถูกต้อง

การศึกษาวิจัยควรจะมีกลุ่มของผู้เข้าใจปัญหาอย่างแท้จริงเป็นผู้กำหนดวิธีการและมาตรการ

3. การศึกษาควรจะกระทำอย่างต่อเนื่อง และให้เข้าใจถึงระบบการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทุกด้าน ทั้งในแหล่งน้ำธรรมชาติและในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

4. ข้อมูลและมาตรการต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคระบาดควรจะเป็นข้อมูลมีมาตรฐานเชื่อถือได้ไม่สร้างความสับสนแก่ประชาชนโดยทั่วไป และนักวิชาการควรจะเป็นผู้นำในทางปฏิบัติโดยใช้ความรู้ทางวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเข้าช่วย

เอกสารอ้างอิง

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2525 – 26. ลักษณะอากาศและพยากรณ์อากาศประจำวัน กรมอุตุนิยมวิทยา กระทรวงคมนาคม.

กองอนามัยสิ่งแวดล้อม. 2525. ผลการวิเคราะห์ยาปราบศัตรูพืชในแม่น้ำปี 2525 และ ผลการวิเคราะห์สารโลหะหนักในแม่น้ำ ปี 2525 ฝ่ายวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม กองอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอุตุนิยมวิทยา กระทรวงคมนาคม (ยังไม่ได้ตีพิมพ์)

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์. 2526. ปริมาณสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงและโลหะหนักที่สะสมในดินตะกอนและแหล่งน้ำในประเทศไทย (รายงานปรากฏในเล่มนี้)

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์. 2526. ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารมีพิษบางชนิดต่อสัตว์น้ำในประเทศไทย (รายงานปรากฏในเล่มนี้)

Boyd, C. E. 1973 a. Summer Algae Communities and Primary Productivity in Fish Ponds. Hydrobiologia, 41 : 357–390.

Boyd, C. E. 1976 a. Water Chemistry and Plankton in Unfertilized Ponds in Pastures and in Woods. Trans. Amer. Fish. Soc. 105 : 634–636.

Boyd, C. E. 1979. Water Quality in Warmwaterfish Ponds. Auburn University Agricultural Experiment Station. 385 pp.

Brinley, F. J. 1944. Biological Studies House Document 266 78th Congress, 1st. session ; part II, Supplement F. pp. 1275–1353.

Ellis, M. M. 1937. Detection and Measurement of stream pollution Bull. U. S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife 48 (22) ; 365–437.

Greenberg, A. E., J. J. Connors, D. Tembins. 1980. Standard Methods for the Examination of water and Wastewater 15th edition 1980. *American Public Health Association 1133 pp.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1976. Quality Criteria for water U. S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. 20460. pp. 255.

Weete, J. D., W. T. Blevins, G. R. Wilt and D. Durham. 1977. Chemical, Biological and Environmental Factors Responsible for the Earthy Order in the Auburn City Water Supply. Auburn Univ. (Ala) Agr. Exp. Sta. Bull. 490. pp. 48.

ทุนอุดหนุนจาก สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาปริมาณของยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช และโลหะหนักในปลาและน้ำ

แม้น อมรสิทธิ์ *เพริศพรรณ เกรียวสกุล* *พิชัย โควิวิชญ์*
ศิริ วโรทัย *นพ อุตราภิรมย์สุข* *วิรุฬ มังคละวิรัช*
สุชาดา จูอนุวัฒนกุล *ศุภวรรณ ตันตยานนท์* *สมชาย พิศลยบุตร*
ประไพพิศ แจ่มสุกใส

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ในการวิเคราะห์สารพิษพวกยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืช ตลอดจนโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ในน้ำและในตัวปลา เพื่อหาสาเหตุของการเกิดโรคระบาดปลาครั้งนี้ ปรากฏว่าผลการวิเคราะห์โดยใช้วิธีทาง gas chromatography หาปริมาณของยาฆ่าแมลงประเภทสารประกอบคลอรีนและสารประกอบฟอสเฟตในน้ำจำนวน 5 ตัวอย่างจากคลองส่งน้ำและบ่อปลาที่เป็นโรคในจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่ามีเพียง 1 ตัวอย่างที่มี ดีดีที ในปริมาณ 0.03 ไมโครกรัม/ลิตร ส่วนอีก 4 ตัวอย่าง ไม่พบ ดีดีที เลย สำหรับสารประกอบฟอสเฟตพบว่าไม่มีอยู่ในทั้ง 5 ตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์สารพิษในเนื้อปลาทั้งที่ได้จากปลาที่เป็นแผลและปลาที่ไม่เป็นแผลปรากฏว่าได้ผลใกล้เคียงกันมากในปลาทั้ง 2 ประเภทนี้ กล่าวคือในจำนวน 8 ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่พบสารประกอบฟอสเฟตเลยแม้แต่

ตัวอย่างเดียว ถึงแม้ว่าจะพบ ดีดีที และ เอ็นดริน ในตัวอย่างเนื้อปลาที่ใช้วิเคราะห์ แต่ก็มีปริมาณน้อยกว่า 0.01 มก./กก. ของเนื้อปลา ซึ่งนับว่าเป็นค่าที่น้อยมาก

ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณของโลหะหนัก ได้ทำการวิเคราะห์น้ำจากแหล่งต่าง ๆ ของ 6 จังหวัดภาคกลาง ทั้งจากแหล่งที่เป็นโรคปลาและไม่เป็นโรคปลาจำนวน 20 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทาง ICPS และ Atomic Absorption Spectrophotometry ที่เหมาะสม ปรากฏว่าปริมาณโลหะหนักมีน้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบโดยเครื่องมือที่ใช้บางธาตุที่พบคือ Fe, Zn, Mn, Cu ก็มีปริมาณต่ำไม่แตกต่างจากปริมาณที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่ายาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืช รวมทั้งโลหะหนักดังกล่าวมีปริมาณน้อยจนไม่น่าจะมีผลโดยตรงกับการเกิดโรคระบาดปลาครั้งนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The Determination of Pesticides and some Heavy metals residues in fish and water samples.

*M. Amorasit** *P. Krewsakul* *P. Tovivich*
S. Varothai *N. Utrapiromsuk* *V. Mongkalaviruch*
S. Chuanoowatanakul *S. Tontayanonta* *S. Pisalyaboot*
P. Chamsuksai

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

In order to find out the cause of the fish-epidermic in Thailand during 1982-1983, the quantitative and qualitative analysis of some herbicides, insecticides and heavy metals residues in fish, particulary Ophicephalus Striatus, and its habitats are considered first. Gas Chromatography is used to analyse chlorinated and phosphated insecticides. Trace of DDT is found (0.003 μg/l in one out of five samples) and none of phosphated ones are detected. There is no significant different of the chemicals in the meat of fish which compared between the normal and diseased ones since both (8 samples in total) show no residue of phosphated insecticides though the chlorinated one, namely, DDT and Aldrin are found still in minute amount (less than 0.01 mg/kg). For the analysis of some heavy metals in water resources from six provinces (20 samples in total) ICPS and Atomic Absorption Spectroscopy are used. Only trace of some metals are found, however, it is still in the safety concentration limit. In addition, Fe, Zn, Mn and Cu are found in the same scale as in the normal condition from the natural resources. In conclusion, the mensioned chemicals should not be one of the factors causing the mortality of fish directly in this incident.

บทนำ

ยาปราบวัชพืชและยาฆ่าแมลงเป็นสารเคมีที่เกษตรกรนำมาใช้ในการปราบศัตรูพืชในช่วงของฤดูการทำนา สารเคมีเหล่านั้นจัดว่าเป็นเคมีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งที่มีชีวิต ถ้าหากมีการใช้ที่ไม่ถูกต้อง เช่น ใช้ในปริมาณที่มากเกินกำหนด เพื่อต้องการให้ได้ผลอันรวดเร็ว สารพิษเหล่านี้อาจจะตกค้างอยู่และหลงเหลืออยู่ในน้ำ เมื่อปลาได้รับสารเหล่านี้เข้าไปถ้ามีปริมาณมากก็อาจถึงกับทำให้ตายได้ (เช่น ยาฆ่าแมลง หรือยาปราบวัชพืชซึ่งเป็นพวกสารประกอบที่มีคลอรีน (chlorinated compounds) ตัวอย่างเช่น DDT, Aldrin, Dieldrin, Endrin และอื่น ๆ เป็นต้น สารเหล่านี้มีโอกาสสะสมอยู่ในร่างกายของผู้ที่รับเข้าไปได้ (bioaccumulation potential) และเป็นสิ่งที่คาดคิดกันว่าอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งในคนได้ และยังพบอีกว่าสัตว์ที่ออกไข่ได้ เช่น เป็ด, ไก่ เป็นต้น ถ้าได้รับสารเหล่านี้มากจะมีผลทำให้เปลือกไข่มีลักษณะบางกว่าปกติ สำหรับสารพวก organo phosphates จะมีผลอย่างมากเกี่ยวกับ enzyme โดยเฉพาะ brain enzyme activity และ enzyme ที่ว่านี้ คือ Acetyl chlolinesterase (AChE) ซึ่งเป็นตัวสำคัญในการกระตุ้นประสาท ทำให้มีความไวมากเกินไป (hypersensitivity) และบางตัวยังทำให้เกิดการตกเลือด (hemorrhages) อีกด้วย ค่าความปลอดภัยของสารเหล่านี้ต่อสัตว์น้ำจะอยู่ในช่วง 0.01–0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องหาปริมาณของสารพิษเหล่านั้นว่ามีหรือไม่ และถ้ามีจะมีปริมาณมากน้อยเพียงใด พอจะทำอันตรายได้หรือไม่ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและปลาจากแหล่งต่าง ๆ กัน

1. การเก็บตัวอย่างน้ำและปลาจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ กันใส่ในขวดแก้วที่สะอาดสีน้ำตาลซึ่งมีความจุหนึ่งแกลลอน หรือจุประมาณ 4.5 ลิตรแล้วแช่ไว้ในถังน้ำแข็งให้เย็นตลอดเวลา (ดูผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 1)

สำหรับปลาตัวอย่างได้เก็บมาจากบ่อที่เกิดโรคทั้งปลาที่มีแผล และที่ไม่มีแผล เมื่อเก็บขึ้นมาจากบ่อแล้วล้างปลาให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ใส่ถุงพลาสติกแล้วแช่แข็งไว้ตลอดเวลาจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2. ผลการวิเคราะห์ หาปริมาณของยากำจัดแมลงและยาปราบวัชพืช

น้ำตัวอย่างและปลาตัวอย่างที่ได้ส่งไปให้กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ช่วยทำการวิเคราะห์ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

นอกจากนี้การทดลองของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เองซึ่งได้รายงานไว้เมื่อวันที่ 16 มกราคม 2526 โดยใช้เทคนิคทาง gas chromatography

ตารางที่ 1 * แสดงผลการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างและปลาตัวอย่างจากบ่อปลาจังหวัดสุพรรณบุรีซึ่งล้วนเป็นบ่อปลาที่เกิดโรค

ชนิดของสารตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ปริมาณของสารประกอบคลอรีน	ปริมาณของสารประกอบฟอสเฟต
น้ำ (คลองส่งน้ำ)	1	ไม่พบ	ไม่พบ
น้ำ (บ่อตัวอย่างกรมประมง)	1	ไม่พบ	ไม่พบ
น้ำ (บ่อใช้ยารักษา)	2	ไม่พบ	ไม่พบ
		ดีดีที 0.003 μg/1	ไม่พบ
น้ำ (บ่อที่ไม่รักษา)	1	ไม่พบ	ไม่พบ
เนื้อปลา (ไม่มีแผล)	5	ดีดีที < 0.01 มก./กก.	ไม่พบ
	3	เอ็นดริน < 0.01 มก./กก.	ไม่พบ
เนื้อปลา (มีแผล)	2	ดีดีที < 0.01 มก./กก.	ไม่พบ
	1	ดีดีที 0.01 มก./กก.	ไม่พบ

* ผลที่ได้จากการส่งตัวอย่างที่ให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขวิเคราะห์

จากตัวอย่างน้ำ 24 ตัวอย่างพบ ดีดีที 1 ตัวอย่าง

สารประกอบ พวกคาร์บาเมต ไม่พบ

สารประกอบ พวกฟอสเฟต ไม่พบ

จากตัวอย่างปลา พบสารประกอบคลอรีน เกือบทุกตัวอย่างแต่ไม่เกินค่ามาตรฐานความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคของสหรัฐอเมริกาและไม่พบสารประกอบพวกคาร์บาเมตและสารประกอบพวกฟอสเฟต

3. วิจารณ์และสรุปผลการวิเคราะห์

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณของสารพิษประเภทยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืช (ยกเว้นพาราควอต) ในน้ำและในปลาจากแหล่งที่เกิดโรคปลาจะเห็นว่าทั้งในน้ำและในปลาตรวจแล้วไม่พบสารประกอบพวกฟอสเฟตและสารประกอบพวกคาร์บาเมตเลย ส่วนสารประกอบพวกคลอรีนนั้นในตัวอย่างน้ำก็ตรวจไม่พบเกือบทุกตัวอย่างแต่ในเนื้อปลานั้นตรวจพบดีดีทีและเอ็นดรินซึ่งส่วนใหญ่มีปริมาณน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เนื่องจากดีดีทีและเอ็นดรินเป็นสารที่สะสมได้ในร่างกายของสัตว์ แต่จากปริมาณที่พบทั้งในปลาที่ไม่มีแผล และปลาที่มีแผลแล้วไม่ต่างกันเลย ทั้งยังมีปริมาณต่ำที่อยู่ในขั้นปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์น้ำในบ่อปลาที่เป็นโรค น้ำจากคลองส่งน้ำและน้ำจากบ่อปลาที่ได้รับการรักษาด้วยยาจากคณะวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยนั้นไม่แตกต่างกันเลย

ดังนั้นจากการวิเคราะห์นี้แสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่าสาเหตุของการเกิดโรคปลาครั้งนี้คงจะไม่เกี่ยวกับสารพิษดังกล่าวที่ค้างอยู่ในน้ำหรือในปลาเป็นแน่ ประกอบกับได้มีรายงานของกรมอนามัย กองอนามัยสิ่งแวดล้อม กระทรวงสาธารณสุขได้แสดงผลการวิเคราะห์ยาปราบวัชพืชและยาฆ่าแมลงประเภทต่าง ๆ

ทั้งในน้ำและจากตะกอนดินของแม่น้ำสายต่าง ๆ 30 สาย เมื่อปี 2525 พบว่ามีน้อยมากหรือไม่พบเลย จึงเป็นผลที่สนับสนุนได้อย่างดีว่าสารเหล่านี้ไม่ได้มีส่วนในการทำให้เกิดโรคปลาในครั้งนี้โดยตรง

4. การวิเคราะห์หาปริมาณของโลหะหนักที่ละลายอยู่ในน้ำจากแหล่งต่าง ๆ ที่เกิดโรคปลาและจากแหล่งที่ไม่เกิดโรคปลา

เพื่อศึกษาสภาพของน้ำโดยเฉพาะโลหะหนักที่ละลายอยู่ในน้ำซึ่งจัดว่าเป็นพิษเป็นภัยต่อสิ่งที่มีชีวิต พวกโลหะหนักทั้งหลายเมื่อเข้าไปสู่ร่างกายจะเป็นตัวไปทำลายโปรตีนและเชื่อกันว่าโลหะหนักบางตัว เช่น แคดเมียมและโครเมียม เป็นต้น สามารถทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ โลหะหนักบางตัวเช่นแคดเมียมและปรอทจะเป็นตัวหยุดยั้งการเจริญเติบโต โครเมียมโดยเฉพาะที่อยู่ในรูป Cr^{6+} จะเป็นตัวที่ทำให้เกิดการระคายเคืองและกัดกร่อน mucous membrane และผิวหนัง ได้เหล็กในรูปของ $Fe(OH)_3$ เป็นตัวทำลายเหงือกปลาได้ สังกะสีก็เช่นเดียวกัน สามารถทำลายเซลล์ของเหงือกปลาและทำให้เมือก (mucus) ไปเกาะจับที่เหงือก ทำให้ปลาหายใจได้ไม่ดี ตะกั่วสามารถทำให้ปลาเกิดการอ่อนแอและกินอาหารได้น้อยลง ความจริงพวกโลหะหนักเหล่านี้ก็เป็นพิษเป็นภัยต่อคนด้วย แม้แมงกานีสก็พบว่าทำให้เกิดโรคตับได้เช่นเดียวกับทองแดง ถ้าได้รับเข้าไปในปริมาณที่มากพอ ถ้าหากพบว่ามีปริมาณของโลหะหนักมากเกินปริมาณที่กำหนดไว้หรือสภาพปกติอย่างเห็นได้ชัดก็อาจนำไปสู่สาเหตุหรืออาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดโรคปลาได้ เช่น ทำให้ปลามีสภาพอ่อนแอลง ขาดความต้านทานต่อโรค เป็นต้น

4.1 วิธีดำเนินการวิเคราะห์ ปริมาณของพวกโลหะหนัก

4.1.1 สารละลายมาตรฐานต่าง ๆ เตรียมได้จาก standard solution for Atomic Absorption Spectroscopy ซึ่งมีความเข้มข้น 1 mg/cm^3 หรือ

1000 ppm จากบริษัท BDH Laboratory Reagents และจากบริษัท Fluka Chemische Fabrik โดยนำสารละลายดังกล่าวนี้ไปทำให้เจือจางลงอยู่ในช่วงที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันตามที่ต้องการด้วยน้ำกลั่นสองครั้ง (double distilled water) แล้วเก็บไว้ในขวด polyethylene

4.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นเครื่อง ICPS-50 ที่มี microcomputer และ recorder ของบริษัท Shimadzu

4.1.3 สารตัวอย่างที่วิเคราะห์ เป็นตัวอย่างน้ำที่เก็บจากแหล่งและจังหวัดต่าง ๆ กันทั้งที่มีโรคปลาและไม่มีโรคปลาโดยมีการ preserve ด้วยกรดไนตริกตามวิธีใน ASTM และเก็บไว้ในภาชนะที่เป็น polyethylene ก่อนวิเคราะห์ได้นำตัวอย่างน้ำเหล่านี้มากรองผ่านกระดาษกรองเสียก่อนเพื่อกำจัดสารที่แขวนลอยอยู่

4.1.4 วิธีวิเคราะห์

1. set up เครื่อง ICPS โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank และเลือก wavelength เพื่อวัด emission intensity ของแต่ละธาตุที่จะวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.2.1

2. เลือกความเข้มข้นของ *standard* ที่สามารถให้ *emission* intensity ครอบคลุมและใกล้เคียงกับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเพื่อทำ calibration curve จากข้อมูลที่เก็บไว้

3. นำสารละลายตัวอย่างไปวัด emission intensity

4. ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างจะถูกคำนวณและพิมพ์ออกมาเมื่อกดปุ่ม analysis

4.2 ผลของการทดลอง

ผลของการวิเคราะห์น้ำจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งที่เป็นโรคปลาแล้วและที่ยังไม่ได้เป็นโรคปลาของจังหวัดต่าง ๆ ที่ไปสำรวจ แสดงไว้ในตารางที่ 2-5

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณของโลหะหนักบางชนิดที่มีปริมาณน้อย ๆ ในตัวอย่างน้ำตาม 4.1.3

จากผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 2–5 จะเห็นได้ว่าปริมาณของธาตุแมงกานีสเหล็ก และธาตุสังกะสี สามารถหาได้อย่างดีโดยใช้เทคนิคทาง ICPS สำหรับธาตุโลหะหนักอย่างอื่นนั้นไม่สามารถหาได้โดยตรงเพราะความเข้มข้นของธาตุเหล่านี้ต่ำมากจนไม่สามารถตรวจได้ด้วยเครื่อง ICPS ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้วิธีเพิ่มความเข้มข้นขึ้นโดยอาศัยการทำให้เกิด chelation กับ APDC (ammonium pyrrolidine dithiocarbamate) แล้ว สกัดด้วยสารละลาย MIBK (methyl isobutyl ketone)

4.3.1 วิธีดำเนินการวิเคราะห์

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็น Analar grade ทั้งหมดยกเว้น APDC ซึ่งเป็น grade สำหรับ Atomic Absorption Spectroscopy

1. methyl isobutyl ketone (MIBK)
2. สารละลาย APDC ขัน 4% (นน./ปริมาตร) ซึ่งเตรียมได้ใหม่ ๆ
3. สารละลาย $KMnO_4$ ขัน 3.16 กรัม/ลิตร
4. สารละลาย NaOH และ HNO_3 เจือจาง

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. Atomic Absorption Spectrophotometer model AA–650 ของบริษัท Shimadzu
2. pH meter
3. Separating funnel ขนาด 250 cm^3

ตัวอย่างน้ำจากบ่อปลาจังหวัดสุพรรณบุรี

ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากบ่อปลาต่าง ๆ ของจังหวัดสุพรรณบุรีในระยะนี้ ได้เก็บจากบริเวณหัวบ่อและท้ายบ่อมาอย่างละ 1 แกลลอน ยกเว้นตัวอย่างจากคลองส่งน้ำและเก็บไว้ในขวด polyethylene ซึ่งได้มีการ preserve ด้วยกรดไนตริกเข้มข้นดังได้กล่าวมาแล้ว นำตัวอย่างน้ำที่เก็บจากหัวบ่อและท้ายบ่อผสมกันอย่างละเท่า ๆ กัน แล้วนำไปกรองเพื่อเอาสารที่แขวนลอยออกไป น้ำที่กรองได้นำไปวิเคราะห์ต่อไป

4.3.2 วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะต่าง ๆ ที่จะวิเคราะห์ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันและอยู่ในช่วงของสารละลายตัวอย่างไว้ 3 ตัวอย่าง

2. นำสารละลายมาตรฐานโลหะหนัก น้ำกลั่นและตัวอย่างน้ำมาอย่างละ 200 cm^3 ใส่ใน beaker ขนาด 250 cm^3

3. ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง 2.2–2.8 ด้วยสารละลาย HNO_3 และ NaOH เจือจาง

4. ถ่ายสารละลายเหล่านี้ลงในขวดแยกขนาด 250 cm^3 แล้วเติมสารละลาย APDC ขัน 4% ลงไป 2.0 cm^3 เขย่าให้เข้ากัน

5. เติมตัวทำละลาย MIBK ลงไป 20.0 cm^3 เขย่าอย่างแรงเป็นเวลาอย่างน้อย 1 นาที

6. ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกเป็น 2 ชั้น

7. ไขชั้นน้ำทิ้งไปแล้ว ไขชั้น MIBK ลงในขวด 25 cm^3 ปิดจุกให้แน่น

8. นำสารละลายที่ได้นี้ไปวิเคราะห์ด้วย Flameless Atomic Absorption Spectrophotometer

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์น้ำจากบ่อปลาที่เป็นโรคของจังหวัดสุพรรณบุรี

ธาตุที่วิเคราะห์	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่นที่วัด (^{o}A)	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (ppm)	ปริมาณที่พบในแม่น้ำต่าง ๆ (ppm)	น้ำทิ้งที่กระทรวงอุตสาหกรรมอนุญาต (ppm)	มาตรฐานน้ำประปาที่ยอมให้มี (ppm)	ปริมาณที่ยอมให้มีได้ (ppm)
แมงกานีส	10	2576.1	0.08-0.78	0.01-0.74	5.0	<0.30	<0.05
เหล็ก	10	2599.4	0.38-2.54	nil-9.48	ไม่มีข้อกำหนด	<0.50	<0.50
สังกะสี	10	2025.5	0.03-0.11	0.01-0.38	5.0	<15.0	<5.0
โครเมียม	10	2677.2	ตรวจไม่ได้เมื่อความเข้มข้นต่ำกว่าค่าต่ำสุดของเครื่องมือที่จะวัดได้ (non-detectable)	nil-0.07	0.5	<0.05	<0.05
นิกเกิล	10	2316.0		ไม่มีรายงาน	0.2	ไม่ได้กำหนด	ไม่ได้กำหนด
ตะกั่ว	10	2203.5		nil-0.38	0.2	<0.05	<0.10
ทองแดง	10	3247.5		nil-0.26	1.0	<1.0-3.0	<1.0
แคดเมียม	10	2265.0		nil-0.03	0.03	ไม่ได้กำหนด	<0.01
ปรอท	10	2535.0		nil-0.006	0.005	ไม่ได้กำหนด	<0.002
โคบอลต์	10	2286.2 2376.6		ไม่มีรายงาน	ไม่ได้กำหนด	ไม่ได้กำหนด	ไม่ได้กำหนด

หมายเหตุ

* รายงานผลการวิเคราะห์ค่าโลหะหนักในแม่น้ำสายต่าง ๆ ปี 2525 ฝ่ายวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม กองอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข

** ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมฉบับที่ 2 (พ.ศ.2513) และฉบับที่ 11 (พ.ศ.2522) ห้ามมิให้ระบายน้ำทิ้งออกจากโรงงาน เว้นแต่ได้ทำการอย่างใดอย่างหนึ่งให้มีลักษณะดังกล่าว

*** ประกาศของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์น้ำจากจังหวัดปทุมธานี–อยุธยา

ธาตุที่วิเคราะห์	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่นที่วัด (°A)	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (ppm)	ปริมาณที่พบในแม่น้ำต่าง ๆ (ppm)	*ปริมาณที่กระทรวงอุตสาหกรรมอนุญาตให้ทิ้ง (ppm)	มาตรฐานน้ำประปาที่ยอมให้มี (ppm)	**ปริมาณที่ยอมให้มีได้ (ppm)
แมงกานีส	5	ดูตารางที่ 4.2.1	0.07-0.76	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1
เหล็ก	5		0.71-6.11				
สังกะสี	5		0.02-0.03				
โครเมียม	5		← อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงอุตสาหกรรม →				
นิกเกิล	5						
ตะกั่ว	5						
ทองแดง	5						
แคดเมียม	5						
ปรอท	5						
โคบอลต์	5						

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงผลของการวิเคราะห์น้ำจากจังหวัดสมุทรปราการ (บางปะกง) ซึ่งพบว่าปลาเริ่มเป็นโรคแล้ว

ธาตุที่วิเคราะห์	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่นที่รัด (^{o}A)	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (ppm)	ปริมาณที่พบในแม่น้ำต่าง ๆ (ppm)	ปริมาณที่กระทรวงอุตสาหกรรมอนุญาตให้ทิ้ง (ppm)	มาตรฐานน้ำประปาที่ยอมให้มี (ppm)	ปริมาณที่ยอมให้มีได้ (ppm)
แมงกานีส	3	ดูตารางที่ 4.2.1	0.24-0.63	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1
เหล็ก	3		0.13-1.59				
สังกะสี	3		0.01-0.04				
นิกเกิล	3		ตรวจวัดไม่ได้เพราะความเข้มข้นต่ำกว่าความสามารถของเครื่องจะวัดได้ (non-detectable)				
ตะกั่ว	3						
ทองแดง	3						
แคดเมียม	3						
ปรอท	3						
โคบอลต์	3						
โครเมียม	3						

ตารางที่ 5 แสดงผลของการวิเคราะห์น้ำจากบริเวณอำเภอดุสิต ซึ่งเป็นน้ำที่พบว่าปลาไม่เป็นโรค

ธาตุที่วิเคราะห์	จำนวนตัวอย่าง	ความยาวคลื่นที่รัด (^{o}A)	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (ppm)	ปริมาณที่พบในแม่น้ำต่าง ๆ (ppm)	ปริมาณที่กระทรวงอุตสาหกรรมอนุญาตให้ทิ้ง (ppm)	มาตรฐานน้ำประปาที่ยอมให้มี (ppm)	ปริมาณที่ยอมให้มีได้ (ppm)
แมงกานีส	2	ดูตารางที่ 4.2.1	0.08-0.13	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1	ดูตารางที่ 4.2.1
เหล็ก	2		0.33-0.68				
สังกะสี	2		0.02				
โครเมียม	2		ตรวจรัดไม่ได้เพราะความเข้มข้นต่ำกว่าความสามารถของเครื่องจะรัดได้ (non-detectable)				
นิกเกิล	2						
ตะกั่ว	2						
ทองแดง	2						
แคดเมียม	2						
ปรอท	2						
โคบอลต์	2						

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของโครเมียมจำเป็นจะต้อง oxidized Cr^{3+} ให้เป็น Cr^{6+} เสียก่อนด้วยการเติมสารละลาย $KMnO_4$ ลงไปทีละหยดจนเป็นสีชมพูอย่างถาวรเมื่อต้มให้เดือดแล้วจึงนำไปสกัดโครเมียมตาม 4.3.2

การหาปริมาณของปรอทที่มีอยู่น้อย ๆ นั้นจำเป็นจะต้องใช้เทคนิคทาง Cold Vapor Technique AAS ซึ่งเป็นวิธีที่ sensitive โดยอาศัยความอนุเคราะห์จากกองวิเคราะห์น้ำบาดาล กรมทรัพยากรธรณี กระทรวงอุตสาหกรรม วิเคราะห์หาปริมาณของปรอทให้กับคณะวิจัย

การหาปริมาณของเหล็ก แมงกานีสและสังกะสี ได้ใช้เทคนิคทาง ICPS วิเคราะห์ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

4.4 ผลของการวิเคราะห์น้ำจากบ่อปลาต่าง ๆ ของจังหวัดสุพรรณบุรี แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลของการวิเคราะห์โลหะหนักในตัวอย่างน้ำ

ตัวอย่างน้ำ	จำนวนตัวอย่าง	ปริมาณของธาตุที่หาได้ (ppm)									
		Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Pb	Cr	Hg	Cd	Co
น้ำ (คลองส่งน้ำ)	1	0.03	0.17	0.01	0.001	nil	nil	nil	nil	nil	nil
น้ำ (จากบ่อปลา)	7	0.04	0.22	0.01	0.002	nil	nil	nil	nil	nil	nil
,,		0.58	1.11	0.02	0.006	nil	nil	nil	nil	nil	nil
,,		0.04	0.30	0.01	0.002	nil	nil	nil	nil	nil	nil
,,		0.71	1.83	0.05	0.006	nil	nil	nil	nil	nil	nil
,,		0.10	1.49	0.03	0.001	nil	nil	nil	nil	nil	nil
,,		0.59	0.76	0.03	0.010	nil	nil	nil	nil	nil	nil
,,		0.72	2.35	0.03	0.014	nil	nil	nil	nil	nil	nil

5. วิจารณ์และสรุปผลการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก

จากผลการวิเคราะห์น้ำจากแม่น้ำ คลองส่งน้ำและน้ำจากบ่อปลาทั้งที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แสดงอยู่ในตารางที่ 2–5 และตารางที่ 6 จะเห็นว่าจากแหล่งน้ำต่าง ๆ กัน ปริมาณของโลหะหนักที่พบไม่มีธาตุใดที่มีปริมาณสูงผิดปกติเลย และส่วนใหญ่ที่พบก็มีธาตุเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ส่วนธาตุอื่น ๆ นั้นตรวจไม่พบแม้จะได้เพิ่มความเข้มข้นถึง 100 เท่าแล้วก็ตาม และถ้านำปริมาณของธาตุที่พบในน้ำเปรียบเทียบกับปริมาณของโลหะหนักในแม่น้ำสายต่างๆ ซึ่งกองอนามัยสิ่งแวดล้อม กระทรวงสาธารณสุข ได้วิเคราะห์ไว้เมื่อปี 2525 ก่อนที่จะมีเหตุการณ์เกี่ยวกับโรคปลาจะเกิดขึ้น (ดูตารางที่ 2) จะเห็นได้ว่าปริมาณของโลหะหนักที่พบอยู่ในช่วงความเข้มข้นเท่า ๆ กัน ปริมาณดังกล่าวนี้จึงไม่น่าจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำเพราะปริมาณของธาตุบางชนิดที่กำหนดไว้เป็นมาตรฐานน้ำประปา กับน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทยังสูงกว่าน้ำในบ่อปลาเสียอีก

ดังนั้นจากการวิเคราะห์นี้จึงน่าจะสรุปได้ว่าปริมาณของโลหะหนักที่ละลายอยู่ในน้ำไม่น่าจะมีบทบาทหรือเป็นสาเหตุของการเกิดโรคปลาในครั้งนี้ แม้ปริมาณดังกล่าวมีอยู่ในน้ำหรือในปลาก็ตามถ้าคนดื่มหรือรับประทานปลาเข้าไปก็คิดว่าคงจะไม่เป็นอันตรายซึ่งจะดูได้จากระดับความเข้มข้นของโลหะที่ร่างกายจะทนได้ดังแสดงอยู่ในตารางที่ 7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7* แสดงปริมาณของธาตุต่าง ๆ ที่ร่างกายมนุษย์จะทนทานได้

ธาตุ	ระดับที่ร่างกายทนทานได้ (mg/70 Kg)
Mn	20
Fe	4100
Zn	2300
Cu	100
Ni	< 10
Pb	120
Cr	< 6
Hg	trace
Cd	30
Co	1

* Casarett, L. and J. Doull "*Toxicology The Basic Science of Poisons*" Macmillan Publishing Co., Inc., N.Y. 1975, p. 410

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Irving Sunshine, *Methodology for Analytical Toxicology* CRC Press Inc. 1975

2. *ASTM Part 23* 1973

3. Casarett and Doull, *Toxicology The Basic Science of Poisons.* Macmillan Publishing Co. Inc. N.Y. 1975

4. *Quality Criteria for Water*, US Environmental Protection Agency, Washington, D.C. 20460

5. *Proceeding of the second seminar on "The Water Quality and The Quality of Living Resources in Thai Waters"* 26-28 May 1981 at National Research Council of Thailand

6. *รายงานผลการวิจัยโรคระบาดในปลา* กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 16 มกราคม 2526

7. *รายงานผลการวิเคราะห์โลหะหนัก, ยาฆ่าแมลงและยาปราบวัชพืชในแม่น้ำสายต่าง ๆ ปี 2525* ฝ่ายวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม กองอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาปริมาณของพาราควอตในปลาและในสภาวะแวดล้อมโดยวิธีทางสเปคโตรโฟโตเมตรี

แม้น อมรสิทธิ์ *เพริศพรรณ เกรียวสกุล* *พิชัย โตวิวิชญ์*
ศิริ วโรทัย *วิรุฬ มังคละวิรัช* *นพ อุดราภิรมย์สุข*
ศุภวรรณ ตันตยานนท์ *สุชาดา จูอนุวัฒนกุล* *สมชาย พิศลยบุตร*
ประไพพิศ แจ่มสุกใส

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

เนื่องจากเกิดโรคปลาระบาดไปยังจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทยในช่วงปี 2525–2526 อันเป็นเหตุทำให้ปลาโดยเฉพาะปลาช่อนตายเป็นอันมาก ยาปราบวัชพืชที่มีชื่อว่า พาราควอต (Paraquat) ได้ถูกอ้างว่าเป็นสาเหตุของการทำให้เกิดโรคครั้งนี้ ปริมาณของพาราควอตตามแหล่งน้ำที่ปลาเป็นโรคจากจังหวัดต่างๆ และจังหวัดสุพรรณบุรี (22 ตัวอย่าง) จึงได้ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปคโตรโฟโตเมตรีพบว่าปริมาณของพาราควอตจากแหล่งน้ำธรรมชาติและจากบ่อเลี้ยงมีค่าไม่ต่างกัน ส่วนปริมาณพาราควอตในน้ำ ในส่วนต่าง ๆ ของปลาและในดินจากจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่าปริมาณของพาราควอตเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้

เครื่องใน > ดิน > เหงือก > เนื้อ > หนัง > น้ำ

ปริมาณพาราควอตที่พบสูงสุดในเครื่องในของปลาคือ 1.16 ppm ซึ่งความเข้มข้นขนาดนี้ไม่น่าเป็นอันตรายโดยตรงต่อปลาจนทำให้ปลาตาย ทั้งนี้เพราะว่า TLm ต่ำสุดที่เคยรายงานไว้ของพาราควอตในปลาเท่ากับ 2.1 ppm ด้วยเหตุนี้พาราควอตจึงไม่น่าจะเป็นสาเหตุโดยตรงที่สำคัญในการเกิดโรคระบาดปลาในครั้งนี้

Spectrophotometric determination of Paraquat in fish and environment residues.

M. Amorasit *P. Krewsakul* *P. Tovivich*
S. Varothai *V. Monkalaviruch* *N. Utrapiromsuk*
S. Tantayanonta *S. Chuanoowatanakul* *S. Pisalyaboot*
P. Chamsuksai

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

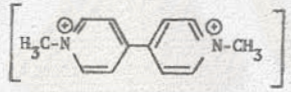
Since the outbreaks of the epidemic of fish in 1982-1983 of Thailand causing the great mortality of fishes, particulary Ophicephalus Striatus. A herbicide namely paraquat, is blamed of being the cause of this incident. As the consequence, the analytical experiments using spectrophotometric technique to determine the quantity of paraquat present in water samples, of which the fishes are diseased, collected from different provinces including Suphan Buri province (totally 22 samples). As the result, the amount of paraquat found in natural water in comparison to the ones found in farming pond are not significantly different. Furthermore, the amount of paraquat in water, in soil and in different parts of fish from Suphan Buri province, is found in decreasing order from internal organs of fish > soil > gill > meat > skin > water. The maximum amount of paraquat found, is 1.16 ppm which is from the internal organs of fish. Consequently it is not reasonable to state that the paraquat concentration of this level will give directly harmful effect to fishes leading to their mortalities since the minimum reported TLm value of paraquat for fish is 2.1 ppm. To a large extent, paraquat should not be the direct harmful cause to the mortality of fish in this incident.

บทนำ

การหาปริมาณยาปราบวัชพืชพาราควอต (Paraquat)

พาราควอตเป็นสารที่ถูกกล่าวหาว่าเป็นสารพิษที่เป็นสาเหตุโน้มนำทำให้ปลาเกิดเป็นโรคจนตายกันเป็นอันมากดังที่เป็นข่าวแล้วนั้นมีข้อเท็จจริงเพียงใดจึงควรที่จะได้มีการศึกษาและวิจัยหาปริมาณพาราควอตใน parameters ต่าง ๆ ที่จะอธิบายการเกิดโรคปลาครั้งนี้ได้ ก่อนอื่นใคร่ขอให้ข้อมูลโดยทั่ว ๆ ไปของพาราควอตเสียก่อนเพื่อจะได้เข้าใจในบางสิ่งบางอย่างดีขึ้น

พาราควอต (paraquat) เป็นชื่อสามัญของ 1, 1′–dimethyl–4, 4′–bipyridinium ion ซึ่งมีสูตรเคมีเป็น $\left[C_{12}H_{14}N_2\right]^{2+}$ หรือเขียนเป็นสูตรโครงสร้างได้ดังนี้



ionic weight = 186.3 (บางเอกสารรายงานไว้เป็น 187.2[1]) โดยทั่วไปอยู่ในรูป dichloride

1. คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของพาราควอต

1.1 จุดหลอมเหลว (melting point)

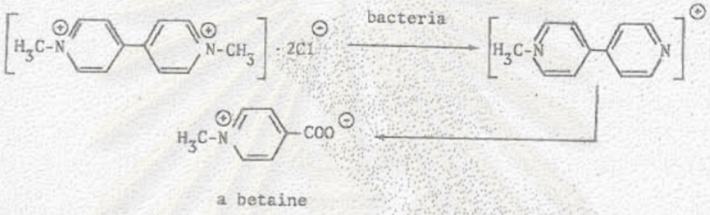
paraquat dichloride จะสลายตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า 230°C[1] (บางเอกสารรายงานไว้ว่ามีจุดหลอมเหลวที่ 175–180°C แต่ก็สลายตัว[2] ดังนั้นในสภาวะอุณหภูมิปกติจึงเป็นของแข็ง เป็นผงสีขาว

1.2 ความเสถียรของพาราควอต (stability)[2],[3],[4],[5]

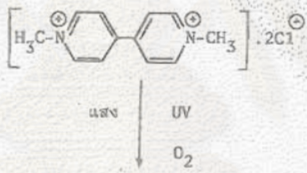
พาราควอตเสถียร (stable) ในสภาวะที่เป็นกรดและเป็นกลาง จะสลายตัวที่ pH สูงกว่า 12

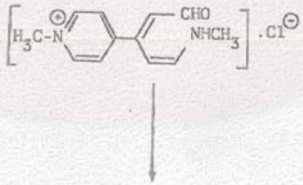
พาราควอตจะถูก inactivated ใน anionic surface–active agents (เช่นพวก surfactants) และในดิน

พาราควอตสลายตัว (decomposed หรือ degraded) ด้วยแสงและ bacteria ในดินจะได้สารพวก betaine



a betaine

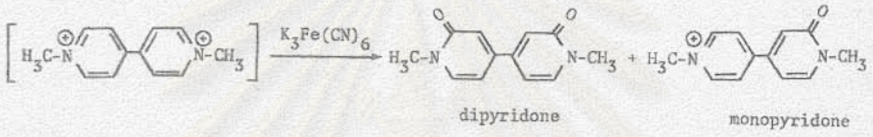




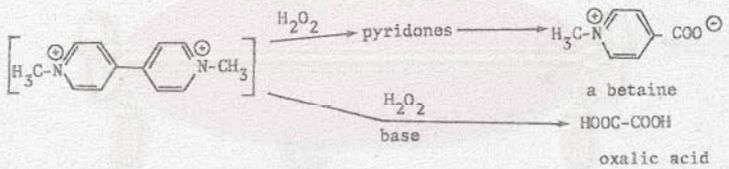
a betaine

และพบว่า photochemical degradation จากวัชพืชที่ได้รับการพ่นด้วยพาราควอต ให้ betaine เช่นกัน ด้วยเหตุนี้จึงควรเก็บสารนี้ไว้ในที่มืดหรือภาชนะสีชา

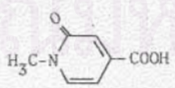
พาราควอตสามารถถูก oxidized ด้วย $K_3Fe(CN)_6$ (potassium ferricyanide) ให้ pyridones



พาราควอตถูก oxidized ด้วย H_2O_2 ให้ pyridones ดังกล่าวเช่นกันแล้วถูก oxidized ต่อไปจนได้ betaine ซึ่งเป็น major product ถ้าทำปฏิกิริยาในด่างจะให้ oxalic acid เป็นส่วนใหญ่



บางทีอาจมี pyridone พวก 4–carboxyl–1–methyl–2 pyridone เกิดขึ้นด้วย



4-carboxyl-1-methyl-2 pyridone

พาราควอตสามารถถูก reduced ได้ด้วย sodium dithionite $Na_2S_2O_8$ ใน ด่างให้สีน้ำเงิน การเกิดสีนั้นเนื่องมาจากมีการเพิ่ม electron เข้าไปหนึ่ง electron แล้วทำให้เกิด free radical ซึ่งละลายน้ำ ปฏิกิริยานี้เป็น reversible reaction

free radical

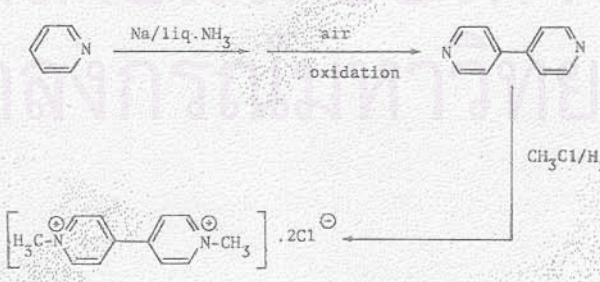
เมื่อ reduce ต่อไปจะไม่มีการเกิด reversible แต่ให้ dihydro derivative ก่อน และในที่สุดเป็น saturated compound พาราควอตสามารถถูก reduced ได้ด้วย $NaBH_4$ สีน้ำเงินที่ได้นั้นสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นที่ 600 nm และ 394 nm

1.3 การละลายของพาราควอต (solubility)[4]

ละลายได้ดีในน้ำ (70%w/v ที่ 20°C) ไม่ละลายในตัวทำลายอินทรีย์ (organic solvent) แต่ละลายได้เล็กน้อยใน alcohol

1.4 การเตรียมพาราควอต (synthesis)[2],[6]

ในปี 1959, I.C.I ได้เตรียมสารตัวนี้ [(U.S.Pat, 2,972,528 (1959)] เป็นรายแรกโดยทั่ว ๆ ไปมีขั้นตอนในการเตรียมดังต่อไปนี้



2. การนำมาใช้

พาราควอตเป็นยาปราบวัชพืช (herbicide)[3], [4] ใช้กำจัดได้ทั้งพืชน้ำและพืชบก (aquatic and terrestrial weeds) ปริมาณต่ำสุดที่ใช้กำจัดวัชพืชน้ำประมาณ 0.1 ppm และปริมาณสูงสุดที่ใช้คือ 1–1.5 ppm ในบ่อน้ำที่มีการใช้พาราควอต 1–1.5 ppm สำหรับการควบคุมวัชพืชน้ำ ภายหลังใช้แล้ว 2–3 วัน ปริมาณพาราควอตจะลดลงอย่างรวดเร็วเหลือประมาณ 0.1 ppm และภายหลัง 14 วันจะไม่สามารถตรวจพบพาราควอต ทั้งนี้เนื่องจากพาราควอตถูกดูดซึมและยึดแน่นอย่างดีกับพวกวัชพืช น้ำ ดิน และโคลน ส่วนแสงก็มีส่วนช่วยทำให้พาราควอตสลายตัวด้วยการจับของดินที่มีต่อพาราควอตนั้นแน่นมาก ถ้าต้องการแยกพาราควอตออกจากดินจะต้องใช้วิธี reflux กับกรดซัลฟูริคอย่างเข้มข้น ($18\,N\,H_2SO_4$) นานถึง 5 ชั่วโมง[7], [8]

3. Metabolism[2]

พบว่า herbicidal activity นั้นมักเกี่ยวข้องกับการเกิด free radical จาก one–electron reduction สารที่เป็นพวก herbicide นั้น ส่วนมากสามารถเกิด reduction ได้ พบว่าถ้าใช้พาราควอตฉีดฆ่าวัชพืช ในที่มืดจะไม่ได้ผลนัก แต่ถ้าใช้ในที่มีแสง วัชพืชจะตายทันที ดังนั้นพาราควอตจึงถูก reduced ด้วย illuminated fresh chloroplasts ซึ่งไปรบกวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) ของพืช แต่ก็ต้องมีอีกขบวนการหนึ่งที่ไปฆ่าพืชให้ตายทันที เชื่อกันว่าขบวนการนี้คือ reduced form ของพาราควอต ซึ่งสามารถถูก oxidized ด้วย oxygen molecule เป็นพาราควอตและตัว oxygen เองก็ถูก reduced เป็น hydrogen peroxide (H_2O_2) ในระหว่างเกิดขบวนการ oxidation นั้นเกิด radical intermediates และ H_2O_2 ซึ่งเป็น toxic agents กับพืชนั้น ๆ สำหรับ action ของพาราควอตกับพืชใหญ่นั้นยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัด

4. **ชื่อการค้า** (trade name)[6],[9],[10]

พาราควอตมีชื่อการค้ามากมายเช่น Crisquat, Dextrone–X, Dexuron, Esgram, Gramonal, Gramoxone, Gramuron, Para–Col, Pathclear, Terraklene, Tota–Col, Toxer Total, Weedal, PP 148, PD–910 และ Ruta เป็นต้น

5. **บริษัทที่เกี่ยวข้อง**[9]

Plant Protection Ltd; Chevron Chemical Co., Ortho Div. (U.S.A.); Crystal Chemical Inter–America (U.S.A.); Imperial Chemical Industries Ltd., Plant Protection Div. (Great Britain); Visplant–Export S.P.A. (Italy); Comlets Chemical Industrial Co., Ltd. (Taiwan); และ Yuen Fa Chemical Co., Ltd.

6. **ความเป็นพิษ** (toxicity)

6.1 ในกรณีที่เกี่ยวกับปลา[8] ถ้าปลาตายเป็นจำนวน 50% ภายในเวลา 24, 48 หรือ 96 ชั่วโมง นับว่าสภาวะนั้นเป็น toxic เรียก LD_{50} ความเป็นพิษของพาราควอตที่มีต่อปลาขึ้นอยู่กับปัจจัยดังนี้

– ชนิดของปลา

– ขนาดของปลา

– แหล่งที่มาของปลา

– ความกระด้างหรืออ่อนของน้ำ

เช่น ภายใน 24 ชั่วโมง Rainbow Trout มีค่า Tolerance Limit (TLm) เป็น 32 ppm Brown Trout มีค่า TLm มากกว่า 25 ppm และพบว่า TLm ของปลาภายใน 48 ชั่วโมงมีค่าตั้งแต่ 2.1 ppm (ปลา Pike) ถึง 125 ppm (ปลา Blue Gills)

6.2 ในกรณีเกี่ยวกับปศุสัตว์ (farm animals)[8],[6],[9],[10],[11],[12] ปรากฏว่าเลี้ยงวัวควาย (cattle) ด้วยอาหารที่ผสมด้วย 200–400 ppm พาราควอตทุก ๆ วันเป็นเวลา 1 เดือน ไม่พบอาการหรือแสดงว่าเจ็บป่วยในสัตว์เลย และไม่พบพาราควอตเหลือตกค้าง (residue) อยู่ในเนื้อหรือนมเลย แต่มีบางรายงานเขียนว่าปริมาณแค่ 20 ppm ของพาราควอตที่ให้แก่แกะเกิดการตายหมดภายใน 2 สัปดาห์ และผลนี้ก็ปรากฏในวัวควายเช่นเดียวกัน

ค่า LD_{50} ของสัตว์บางชนิดที่กินพาราควอตเข้าไปคือ

LD_{50} (rat) เป็น 150–203 mg/kg

LD_{50} (cat) เป็น 35 ,,

LD_{50} (hen) เป็น 362 ,,

6.3 ในกรณีเกี่ยวกับมนุษย์[4],[9],[10]

ถ้าได้รับ paraquat dichloride โดยการหายใจเข้าไปเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ค่า LD_{50} = 6.4 mg/m^3, Threshold Limit Value (TLV) เป็น 0.5 mg/m^3 และค่า Immediately Dangerous to Life or Health Concentration (IDLH) ในเวลา 30 นาที คือ 1.5 mg/m^3

ถ้าได้รับพาราควอตโดยการรับประทาน ค่า maximum Acceptable Dialy Intake (ADI) จาก FAO/WHO ปี 1973 มีค่าเป็น 0.002 mg/kg แต่ต่อมาในปี 1980 มีรายงาน[9] ให้ค่า ADI เป็น 0.0085 mg/kg/day lethal dose สำหรับมนุษย์มีค่าประมาณ 14 $cm.^3$ ของ 40% สารละลายพาราควอต

6.4 อวัยวะส่วนที่จะถูกทำลาย (point of attack) ได้แก่ ตา อวัยวะระบบหายใจ หัวใจ ตับ ไต และอวัยวะระบบทางเดินอาหาร

6.5 การสะสมไว้ในตัวสัตว์ ไม่พบหลักฐานแสดงถึงพาราควอตสะสมไว้ในตัวสัตว์แต่พบว่ามีอัตราการขับถ่ายออกสูงมาก[4] เช่น ถ้าให้ paraquat dichloride แก่หนูภายใน 48 ชั่วโมงพบว่ามี 94% ของพาราควอตในอุจจาระและ 6% ของพาราควอตในปัสสาวะ

7. **การกำจัด**[8]

พาราควอตจะถูกดูดซับและขจัดออกจากน้ำด้วย active carbon หรือ clay mineral และเนื่องจากพาราควอต inactive ในดินและ anionic surfactant จึงอาจกำจัดได้โดยการผสมน้ำที่มีผงซักฟอก

8. **วิธีดำเนินการวิเคราะห์**

8.1 การเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างทั้ง น้ำ ปลา และดินจากแหล่งน้ำเดียวกันด้วยวิธีการดังต่อไปนี้ คือ

ก. น้ำ เก็บตัวอย่างน้ำ 2 ตัวอย่างต่อสถานี โดยเก็บตัวอย่างน้ำตั้งแต่ระดับใต้ผิวน้ำประมาณ 30 ซม. ถึงผิวน้ำเป็นปริมาตร 2.5 ลิตรต่อตัวอย่าง ใส่ขวดแก้วสีน้ำตาลที่สะอาดและแช่เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0°C

ข. ปลา เก็บตัวอย่างปลา 2–6 ตัวต่อสถานี ล้างปลาด้วยน้ำกลั่น 2–3 ครั้ง และเก็บใส่ถุงพลาสติกแล้วใส่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0°C

ค. ดิน เก็บตัวอย่างดินที่ขอบของแหล่งน้ำในระดับใต้ผิวน้ำประมาณ 30 ซม. สถานีละ 2 ตัวอย่าง (ยกเว้นคลองส่งน้ำและบ่อตัวอย่าง)

8.2 การเตรียมตัวอย่าง ใช้สารเคมี analar grade และ reagent grade ตลอดการทดลอง

ก. การวิเคราะห์น้ำ

สารเคมี – H_2SO_4 อย่างเข้มข้น

อุปกรณ์พิเศษ – magnetic stirrer

วิธีทำ – แบ่งตัวอย่างน้ำที่เก็บมาจากสถานีเดียวกัน เป็นปริมาตร 1 ลิตรต่อตัวอย่าง กรองผ่านกระดาษกรอง น้ำที่กรองได้นำมาผสมกันด้วย magnetic stirrer นำน้ำที่ผสมอย่างดีแล้วมา 250.00 cm^3 ปรับ pH ของน้ำนี้ให้มี pH = 1 ด้วย H_2SO_4 อย่างเข้มข้น แล้วเก็บน้ำที่ปรับ pH แล้วไว้ในขวดแก้วสีน้ำตาล เพื่อนำไปผ่าน ion-exchange column ต่อไป

ข. การวิเคราะห์ปลา

สารเคมี – สารละลาย trichloroacetic acid

อุปกรณ์พิเศษ – homogenizer

– sintered glass crucible เบอร์ 4

วิธีทำ – นำตัวอย่างปลาที่เก็บจากสถานีเดียวกันมาขอดเกล็ดออก ล้างด้วยน้ำกลั่น แล่แยกส่วนเหงือก อวัยวะภายใน (เครื่องใน) หนัง และเนื้อออกจากกัน ล้างส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง แล้วผึ่งใส่ตะแกรงและใช้กระดาษกรองซับน้ำให้แห้ง ชั่งตัวอย่างปลาที่แห้งแต่ละส่วนให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 10 กรัม แล้วนำมา homogenize ในสารละลาย trichloroacetic acid ขัน 10% ใช้ปริมาตรเป็น 10 เท่าของตัวอย่างปลา ใช้เวลา 3 นาที[13] นำสารละลายที่ได้มากรองโดยใช้ sintered glass crucible เบอร์ 4 สารละลายที่กรองได้เก็บใส่ขวดแก้วสีน้ำตาล เพื่อนำไปผ่าน ion-exchange column ต่อไป

ค. การวิเคราะห์ดิน

สารเคมี – H_2SO_4 อย่างเข้มข้น

อุปกรณ์พิเศษ – ตะแกรงร่อนขนาด 2–3 มม.

– ตู้อบ (oven)

– ชุด reflux ซึ่งประกอบด้วยขวดแก้วก้นกลมขนาด 500 cm^3 condenser และ heating mantle

– sintered glass crucible เบอร์ 4

วิธีทำ – นำตัวอย่างดินมาเกลี่ยใส่ชามกระเบื้อง (porcelain basin) ที่สะอาดและอบดินที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 2 วัน ในตู้อบจนดินแห้ง แล้วนำดินมาบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2–3 มม.

ชั่งดินที่ร่อนผ่านตะแกรงแล้วมาให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 25 กรัม เทดินใส่ขวดแก้วก้นกลมขนาด 500 cm^3 เติมน้ำกลั่น 65.00 cm^3 และกรดซัลฟูริกอย่างเข้มข้น 35.00 cm^3 ใส่ boiling chip แล้ว reflux เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ล้าง reflux condenser ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 50.00 cm^3 น้ำที่ล้างนี้เทรวมใส่ในขวดแก้วก้นกลม[7] นำสารละลายที่ได้จากการทำ reflux มากรองโดยใช้ sintered glass crucible เบอร์ 4 สารละลายที่กรองได้เก็บใส่ขวดแก้วสีน้ำตาลเพื่อนำไปผ่าน ion–exchange column ต่อไป

8.3 การแยกพาราควอตออกจากตัวอย่าง

สารเคมี – สารละลาย HCl 2M

– สารละลาย NH_4Cl 2.5 %

– สารละลายอิ่มตัว NH_4Cl

– ผง NH_4Cl

– Dowex 50 W–X8 (H) analytical grade 100–200 mesh

อุปกรณ์พิเศษ – cation–exchange column ซึ่งเตรียมโดยใช้ 3 กรัม ของ Dowex 50W–X8(H) แช่ในน้ำกลั่นให้อืมตัว และ pack ใส่ column แก้ว

วิธีทำ[7,8,13] นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ในข้อ 8.2 มาผ่าน cation–exchange column ใช้อัตราเร็วไม่เกิน 5.00 cm^3 ต่อนาที แล้วล้าง column ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 25.00 cm^3 สารละลาย HCl 2M จำนวน 50.00 cm^3 น้ำกลั่นจำนวน 25.00 cm^3 สารละลาย NH_4Cl 2.5% จำนวน 25.00 cm^3 และน้ำกลั่นอีกเป็นจำนวน 25.00 cm^3 โดยใช้อัตราเร็ว 3.00 cm^3 ต่อนาที เติมผง NH_4Cl ใส่ใน column นี้ และ elute ด้วยสารละลายอืมตัว NH_4Cl โดยใช้อัตราเร็ว 1.00 cm^3 ต่อนาที เก็บ eluate 50.00 cm^3 แรก ใส่ขวดแก้วสีน้ำตาล เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอตด้วยวิธีทาง Spectrophotometry ต่อไป

8.4 การวิเคราะห์พาราควอตในสารตัวอย่าง

สารเคมี – สารละลายมาตรฐานพาราควอต 100.00 $\mu g/cm^3$ เตรียมโดยชั่ง paraquat dichloride ซึ่งอบแห้งที่ 100°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงเป็นจำนวน 0.0138 กรัม ละลายในสารละลายอืมตัว NH_4Cl แล้วทำให้ครบ 100.00 cm^3 ในขวดมาตรฐาน

– สารละลาย NaOH ข้น 1.0M

– สารละลาย 2% Sodium dithionite ใน 1.0M NaOH

– สารละลายอืมตัว NH_4Cl

อุปกรณ์พิเศษ – Spectrophotometer UV–240 และ graphic printer PR–1 ของบริษัท Shimadzu, 2 match quartz cells ขนาดกว้าง 10 มม.

วิธีทำ[7,8,13] บีเปตสารละลายในข้อ 8.3 มาจำนวน 10.00 cm^3 ใส่ในขวดมาตรฐานขนาด 25.00 cm^3 เติมสารละลายมาตรฐานพาราควอตให้มีความ

เข้มข้นเป็น 0.5 ppm เติม NH_4Cl อิ่มตัวแล้วเติมสารละลาย sodium dithionite ข้น 2% จำนวน 5.00 cm^3 แล้วทำให้สารละลายทั้งหมดมีปริมาตร 25.00 cm^3 ด้วยสารละลายอิ่มตัว NH_4Cl ผสมให้เข้ากันด้วย การคว่ำขวดสารละลายไปมาเบา ๆ 2 ครั้ง เพื่อป้องกันไม่ให้สีของสารละลายจางลงแล้วนำสารละลายนี้ไปวัด absorbance ที่ความยาวคลื่น 390, 395 และ 400 nm. ภายใน 5–10 นาที โดยใส่ในเซลล์กว้าง 10 มม. และใช้สารละลายผสมของ NH_4Cl ที่อิ่มตัวและสารละลาย sodium dithionite เป็นสารละลายเปรียบเทียบในการวัด absorbance ทำซ้ำดังที่กล่าวนี้โดยให้มีพาราควอตเข้มข้นเป็น 1.0, 1.5 ppm ตามลำดับ

การวิเคราะห์โดยวิธีนี้เรียกว่า internal standard addition method ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีปริมาณน้อย ๆ และสามารถแก้ปัญหาเนื่องจากสารตัวอย่างและสารมาตรฐานมีลักษณะแตกต่างกันได้ ลักษณะของ UV–Absorption spectra ของสารละลายมาตรฐานน้ำ ปลา และดิน เมื่อมีการเติมสารละลายมาตรฐานลงไปดังแสดงอยู่ในรูปที่ 1

จากค่า absorbance ของสารละลายมาตรฐานพาราควอต (ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.60 และ 1.00 ppm) ซึ่งวัดได้จากที่ความยาวคลื่นทั้งสามแล้วนำมาหาค่า correction factor จากสูตร

$$K = \frac{A_m^p}{2A_m^p - (A_h^p + A_l^p)} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (1)$$

เมื่อ A_m^p = ค่า absorbance ของสารละลายมาตรฐานที่สูงสุดวัดที่ความยาวคลื่น 395 nm.

A_h^p = ค่า absorbance ของสารละลายมาตรฐานวัดที่ความยาวคลื่น 400 nm.

A_l^p = ค่า absorbance ของสารละลายมาตรฐานวัดที่ความยาวคลื่น 390 nm.

จากการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยของค่า K ได้ 1.6628 ซึ่งนำมาหาค่า A_{corr} (corrected absorbance) โดยสมการ (2)

$$A_{corr} = K \left[2A_m - (A_h + A_l)\right] \quad \text{..... (2)}$$

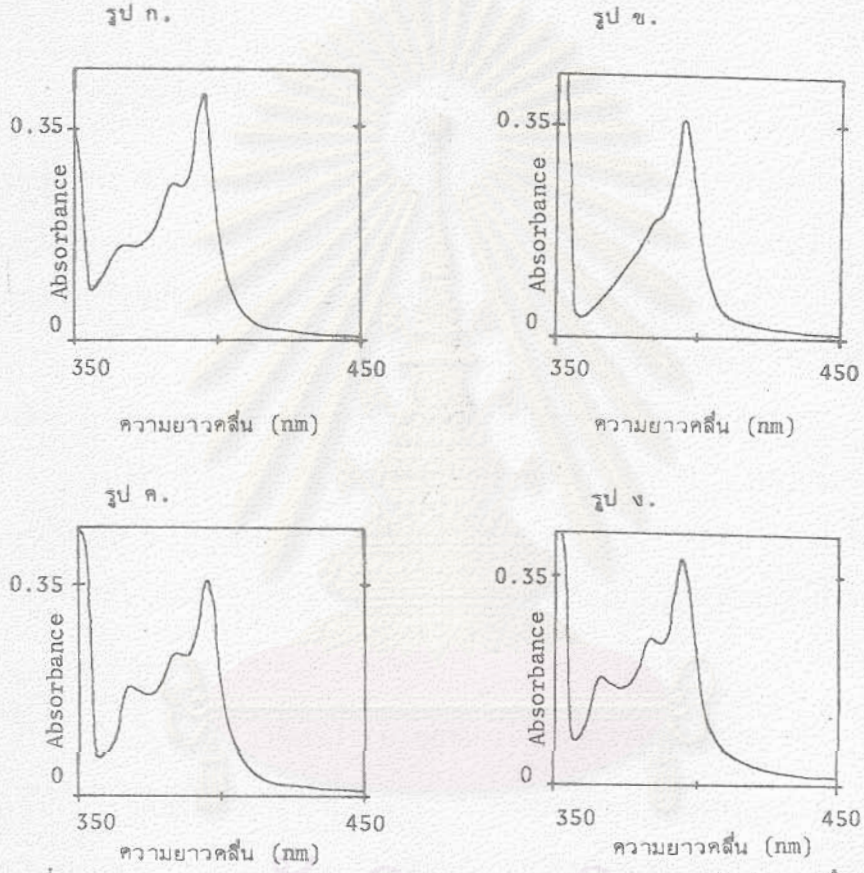
เมื่อ A_m, A_h และ A_l คือค่า absorbance ของสารตัวอย่างที่วัดได้ที่ความยาวคลื่นทั้งสาม นำค่า A_{corr} ที่คำนวณได้กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราควอตที่เติมลงไปในสารละลายตัวอย่างไปคำนวณด้วยเครื่อง microcomputer โดยใช้ least square fitting method for linear equation สำหรับหาค่าปริมาณของพาราควอตในสารตัวอย่าง

การตรวจสอบวิธีวิเคราะห์นี้ว่ามีความถูกต้อง (accuracy) มากน้อยเพียงไรและเป็นไปตาม Beer's law หรือไม่ ได้ทำโดยวิเคราะห์จากสารละลายมาตรฐานซึ่งมีความเข้มข้น 0.5, 1.0 1.5, 2.0 และ 2.50 ppm ปรากฏว่า calibration curve ที่ได้เป็นเส้นตรงและมีค่า correlation factor เท่ากับ 0.9996 ดังแสดงอยู่ในรูปที่ 2

9. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของพาราควอต

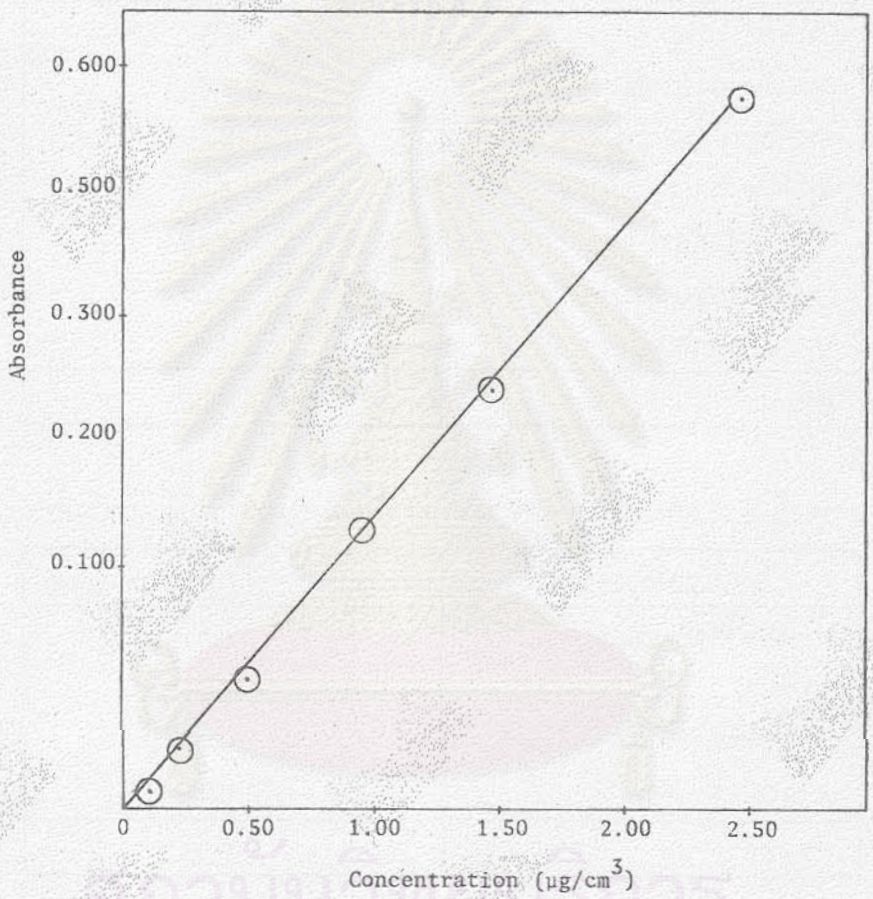
ผลของการวิเคราะห์ปริมาณพาราควอตในน้ำจากแหล่งน้ำต่าง ๆ กันในระยะแรก โดยนำตัวอย่างน้ำจากบ่อปลาที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค รวมทั้งน้ำในแม่น้ำและคลองส่งน้ำธรรมชาติจากจังหวัดต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 และตารางที่ 2

การวิเคราะห์ปริมาณพาราควอตในน้ำในส่วนต่าง ๆ ของปลา และในดิน ในระยะที่สองได้เก็บตัวอย่างจากบ่อปลาที่เป็นโรคของจังหวัดสุพรรณบุรีเท่านั้น ซึ่งในช่วงนี้ได้มีการใช้ด่างทับทิมและยาปฏิชีวนะรักษาโรคปลาด้วยแล้ว ผลการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 3 ถึง 5



รูปที่ 1 แสดง UV-Absorption spectra ของสารละลายจากตัวอย่างต่าง ๆ เมื่อทำวิธีการ Standard addition โดยให้ความเข้มข้นของพาราควอตที่เติมเป็น 1.50 ppm

ก. สารละลายมาตรฐานของพาราควอตข้น 0.05 ppm
ข. สารละลายที่ได้จากเครื่องในตัวอย่างปลา
ค. สารละลายที่ได้จากตัวอย่างดิน
และ ง. สารละลายที่ได้จากตัวอย่างน้ำ



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่าง absorbance กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราควอต (correlation factor = 0.9996)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณของพาราควอตที่พบจากแหล่งน้ำที่ปลาเป็นโรค

แหล่งของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณพาราควอต ($\mu g/cm^3$ (ppm)
จากจังหวัดสุพรรณบุรี	0.11
จากจังหวัดสุพรรณบุรี	0.08
จากจังหวัดสมุทรปราการ	0.08
จากจังหวัดสมุทรปราการ	0.08
จากจังหวัดนครปฐม	0.16
จากจังหวัดนนทบุรี บางมด	0.09
จากจังหวัดฉะเชิงเทรา	0.04
ค่าเฉลี่ย	0.08

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณของพาราควอตที่พบจากแหล่งน้ำที่ไม่เป็นโรคปลา

แหล่งของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณพาราควอต ($\mu g/cm^3$ (ppm)
จากจังหวัดอยุธยาและปทุมธานี	0.04
,, ,,	0.06
จากเขตดุสิต กทม.	0.08
จากเขตดุสิต กทม.	0.12
ค่าเฉลี่ย	0.08

10. วิจารณ์และสรุปผลการวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอต

เนื่องจากมีผู้อ้างว่าพาราควอตเป็นสารพิษซึ่งมีส่วนหรือมีบทบาทที่ทำให้ปลาเกิดการอ่อนแอแล้วทำให้เป็นโรคดังกล่าวแล้วนั้น คณะผู้วิจัยจึงต้องวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอตออกมาว่ามีมากน้อยเพียงใดและมีปริมาณแตกต่างกันอย่างไรระหว่างแหล่งต่าง ๆ ทั้งที่เกิดโรคปลาและไม่เกิดโรคปลา เพื่อจะได้มองภาพให้

เห็นชัดลงไป ดังนั้นในระยะแรกซึ่งปลากำลังเกิดโรคอย่างมาก ผลการวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอตในน้ำตัวอย่างที่เก็บได้จากจังหวัดต่าง ๆ ที่ไปสำรวจแสดงอยู่ในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าช่วงของปริมาณพาราควอตในน้ำตัวอย่างจากแหล่งปลาที่เกิดโรคกับน้ำตัวอย่างจากแหล่งที่ไม่มีโรคปลาเกิดขึ้นนั้นไม่แตกต่างกันเลย และค่าเฉลี่ยที่หาได้ก็เท่ากันคือ 0.08 ppm

ส่วนในช่วงหลังนั้นคณะผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของพาราควอตในตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำที่มีการรักษาโรคปลาด้วยยาปฏิชีวนะและที่ไม่มีการรักษาของจังหวัดสุพรรณบุรีเท่านั้นและยังได้วิเคราะห์น้ำจากคลองส่งน้ำและจากบ่อปลาตัวอย่างของกรมประมงด้วย ปรากฏว่าจากน้ำตัวอย่างทั้งหมด 10 ตัวตัวอย่าง พบพาราควอต 8 ตัวอย่าง และพบปริมาณพาราควอตน้อยมากอยู่ในช่วง 0.01–0.03 ppm และโดยเฉลี่ยจะมีค่า 0.02 ppm มีตัวอย่างน้ำที่ตรวจไม่พบพาราควอตโดยวิธีนี้ 2 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3

ในการหาปริมาณของพาราควอตทั้งในช่วงแรกและช่วงหลังจะเห็นว่ามีปริมาณของพาราควอตไม่สูงนัก (0.08 กับ 0.03 ppm ตามลำดับ) แต่ปริมาณของพาราควอตที่วิเคราะห์ได้ในช่วงแรกสูงกว่าในช่วงหลังราว 0.05 ppm โดยเทียบจากแหล่งน้ำของจังหวัดสุพรรณบุรีด้วยกัน ซึ่งระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างน้ำใน 2 ช่วงนั้นห่างกันประมาณ 1 เดือน ค่าที่แตกต่างกันนี้จึงสรุปได้ว่าเนื่องมาจาก

1. การสลายตัวของพาราควอตเองด้วยแสงแดด
2. การถูกดูดซึมด้วยดินและโคลนตลอดจนพืชน้ำและแพลงตอน
3. การสลายตัวของพาราควอตด้วยบักเตรี
4. การถ่ายเทน้ำหรือการเคลื่อนไหวของน้ำในบ่อซึ่งคล้ายกับมีการกวนน้ำเกิดขึ้น

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณของพาราควอตในน้ำซึ่งเป็นบ่อที่คณะสัตวแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไปทำการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะและจากบ่อที่ไม่มีการรักษา

แหล่งของตัวอย่างน้ำ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	ปริมาณพาราควอตที่วิเคราะห์ได้ $\mu g/cm^3$ (ppm)
น้ำจากคลองส่งน้ำ	1	0.03
น้ำจากบ่อตัวอย่างของกรมประมง	1	0.03
น้ำจากบ่อที่มีการรักษา	5	ไม่พบ
		0.02
		0.03
		0.04
		0.05
น้ำจากบ่อที่ไม่มีการรักษา	3	0.01
		0.03
		ไม่พบ

5. การลดปริมาณการใช้ของพาราควอตหรือไม่ใช้พาราควอตปราบวัชพืชในช่วงเวลานั้น

ความจริงแล้วปริมาณของพาราควอตที่วิเคราะห์ได้ทั้งสองช่วงนั้นก็น้อยมากอยู่แล้ว เมื่อเทียบกับ TLm ใน toxicity ของพาราควอตต่อสัตว์น้ำ (TLm ต่ำสุดที่เคยมีรายงานไว้เป็น 2.1 ppm ใน 48 ชั่วโมง) ยิ่งเมื่อเทียบกับค่า LD_{50} ในพวกปศุสัตว์และคนก็ยิ่งน้อยลงไปอีก (LD_{50} ต่ำสุดหายใจเข้าไป 4 ช.ม. เท่ากับ 6.4 mg/m^3 และ IDLH ภายใน 30 นาทีเท่ากับ 1.5 mg/m^3)

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณของพาราควอตที่วิเคราะห์ได้จากส่วนต่าง ๆ ของปลาที่มีแผลและปลาที่ไม่มีแผลจากบ่อปลาที่เป็นโรคปลาของจังหวัดสุพรรณบุรี

ชนิดของสารตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	ปริมาณของพาราควอตในปลาที่ไม่มีแผล(ppm)	ปริมาณของพาราควอตในปลาที่มีแผล (ppm)
เนื้อปลา	6	ไม่พบ 0.06 0.18	ไม่พบ 0.09 0.11
เหงือกปลา	5	ไม่พบ ไม่พบ ไม่พบ 0.24	0.16
หนังปลา	6	ไม่พบ 0.01 ไม่พบ	ไม่พบ ไม่พบ ไม่พบ
เครื่องในปลา	6	0.72 1.07 1.12 1.16	0.27 0.29

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณของพาราควอตที่วิเคราะห์จากดินตัวอย่างที่ได้จากบ่อปลาทั้งที่มีการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะและไม่มีการรักษา ตัวอย่างดินจากคลองส่งน้ำและจากบ่อตัวอย่างของกรมประมง

ชนิดของสารตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ปริมาณของพาราควอตที่วิเคราะห์ได้ (ppm)
ดิน (จากคลองส่งน้ำ)	1	0.45
ดิน (บ่อตัวอย่างของกรมประมง)	1	0.48
ดิน (บ่อปลาที่มีการรักษา)	2	ไม่พบ
		0.25
ดิน (บ่อปลาที่ไม่มีการรักษา)	1	0.68

ดังนั้นจากผลของการวิเคราะห์พาราควอตในน้ำครั้งนี้ปริมาณที่พบทั้งในบ่อปลาที่เป็นโรค บ่อปลาที่ไม่เป็นโรคและจากแหล่งน้ำธรรมชาติ นับได้ว่าไม่มีค่านัยสำคัญที่ทำให้เห็นความแตกต่างกันได้ ประกอบกับปริมาณพาราควอตยังลดลงตามกาลเวลาเนื่องจากแฟคเตอร์อื่น ๆ ด้วย ปริมาณที่พบจึงไม่น่าจะมีบทบาทในการทำอันตรายต่อสัตว์น้ำโดยทั่วไป

ผลของการวิเคราะห์หาปริมาณของพาราควอตในส่วนต่าง ๆ ของปลาที่มีแผลและไม่มีแผล ซึ่งได้จากบ่อที่มีการรักษาโรคปลาและไม่มีการรักษาโรคปลาด้วยยาปฏิชีวนะ ดังแสดงอยู่ในตารางที่ 4 พอสรุปได้ว่าปริมาณของพาราควอตที่ได้จากเนื้อปลาที่เป็นแผลและไม่เป็นแผลจำนวน 6 ตัวอย่าง มีน้อยมากจนตรวจไม่พบ 2 ตัวอย่างทั้งในเนื้อปลาที่มีแผลและไม่มีแผล ส่วนที่ตรวจพบก็มีปริมาณพอ ๆ กันจาก 0.09–0.18 ppm ในส่วนของเหงือกปลาตัวอย่างที่ได้มา

ส่วนมากเป็นปลาไม่มีแผล (4 ตัวอย่าง) เหงือกของปลามีแผลได้ผลเพียงหนึ่งตัวอย่างเท่านั้น พบว่าในปลาไม่มีแผลนั้นมีปริมาณของพาราควอตอยู่น้อยจนไม่สามารถตรวจพบได้ 3 ตัวอย่างจาก 5 ตัวอย่างที่พบว่ามีพาราควอตก็พบว่ามีอย่างสูง 0.24 ppm ในกรณีปลามีแผลพบ 0.16 ppm เพียงหนึ่งตัวอย่างเท่านั้น

ในส่วนของหนังปลาทั้งปลามีแผลและไม่มีแผลรวม 6 ตัวอย่าง ส่วนใหญ่มีน้อยมากจนตรวจไม่พบถึง 5 ตัวอย่าง ที่พบในปลาไม่มีแผลมี 0.01 ppm หนึ่งตัวอย่างเท่านั้น

การวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอตในเครื่องในปลาจากปลาตัวอย่างที่มีแผลกับไม่มีแผลรวม 6 ตัวอย่าง พบว่ามีพาราควอตทั้งหมด ในปลามีแผลมีปริมาณพาราควอตน้อยกว่าในปลาไม่มีแผล ซึ่งปลาไม่มีแผลพบตั้งแต่ 0.72–1.16 ppm แต่ปลามีแผลพบว่ามี 0.27 และ 0.29 ppm

จากสรุปผลการวิเคราะห์หาพาราควอตในส่วนต่าง ๆ ของปลานั้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณของพาราควอตที่พบในเนื้อและในหนังมีปริมาณน้อยที่สุด ส่วนในเหงือกและเครื่องในปลาพบมีปริมาณพาราควอตสูง ซึ่งก็คล้อยตามทฤษฎีของพาราควอต เพราะพาราควอตเป็นสารโพลาร์จึงไม่ละลายในสารพวก non–polar เช่นพวกเนื้อและหนังซึ่งเป็นพวกโปรตีนและสารอินทรีย์ชนิด non–polar ส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงพบว่ามีพาราควอตอยู่น้อย ส่วนในเหงือกและเครื่องในปลาพบว่ามีปริมาณพาราควอตสูงแม้ว่าเหงือกและเครื่องในปลาก็ประกอบด้วยโปรตีนและ non–polar compounds ส่วนมาก แต่ส่วนเหล่านี้เป็นส่วนที่สัมผัสโดยตรงกับพาราควอตจากขบวนการหายใจและขบวนการกินอาหาร แต่ถ้ามีการขับถ่ายปริมาณพาราควอตก็อาจลดลงได้ พาราควอตจะไม่มีการสะสมในสิ่งมีชีวิต ดังนั้นปริมาณของพาราควอตที่พบในเหงือกและเครื่องในปลาจะมากหรือน้อยก็ขึ้นอยู่

กับระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างและ activity ของปลา เช่น การเคลื่อนไหว การกินอาหาร การขับถ่าย เป็นต้น

มีข้อที่น่าสังเกตอยู่อย่างหนึ่งคือเหงือกของปลาที่มีแผลปรากฏให้เห็น ลักษณะของเหงือกตรงปลาย ๆ จะมีสีเหลือง ซึ่งปลาที่ไม่มีแผลเหงือกจะมีสีแดง และก็พบว่ามีปริมาณพาราควอตอยู่ด้วยกันทั้งคู่จึงสรุปได้ว่าพาราควอตนั้นไม่น่าจะไปทำให้เกิดการระคายเคืองแก่เหงือกปลาและตัวปลาได้ ซึ่งจะเห็นได้จากผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 4

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอตในดินแสดงอยู่ในตารางที่ 5 ซึ่งพบว่าจากตัวอย่างดินที่ทำการวิเคราะห์ 5 ตัวอย่างไม่พบพาราควอต 1 ตัวอย่าง และจะเห็นได้ว่าปริมาณของพาราควอตในดินจากบ่อที่ไม่มีการรักษาโรคปลามีปริมาณสูงกว่าเล็กน้อย จากคลองส่งน้ำและมีข้อที่น่าสังเกตก็คือปริมาณของพาราควอตในดินจากบ่อที่มีการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะจะน้อยกว่าในดินจากบ่อที่ไม่มีการรักษา ทั้งนี้อาจจะเป็นไปได้ว่า microorganism ในดินของบ่อที่มีการรักษามีมากกว่าในดินของบ่อที่ไม่มีการรักษา ซึ่งมักไม่มีการให้อาหารเช่นปลาเป็ดผสมอาหารหมู่อ่อนตามทฤษฎีว่า microorganism ในดินสามารถสลายพาราควอตได้

โดยสรุปแล้วในการวิเคราะห์หาปริมาณพาราควอตในน้ำ ปลา และดินนั้นไม่สามารถบอกถึงความสัมพันธ์ (correlation) กันได้โดยตรง ทั้งนี้เนื่องจากมีแฟคเตอร์ต่าง ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องมากด้วยกันซึ่งในสภาพธรรมชาติไม่มีการควบคุมที่ดีพอเหมือนในห้องทดลอง อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ครั้งนี้พบว่าปริมาณของพาราควอตในตัวอย่างต่าง ๆ เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้

เครื่องใน > ดิน > เหงือก > เนื้อ > หนัง > น้ำ

ซึ่งจะเห็นว่าคล้อยตามทฤษฎีทั่ว ๆ ไปของพาราควอต ส่วนที่จะพิจารณาว่าพาราควอตเป็นสาเหตุโน้มนำในการเกิดโรคปลาครั้งนี้หรือไม่นั้น จากผลของการ

วิเคราะห์ที่ได้กระทำมาไม่สามารถบอกได้อย่างแน่นอนลงไป แต่ถ้าเชื่อว่าพาราควอตเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาเกิดแผลขึ้นโดยคิดว่าพาราควอตไปทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง เมื่อพิจารณาแล้วก็จะสามารถบอกได้ทันทีว่าไม่น่าจะเป็นไปได้ เพราะดูจากเหงือกปลาที่ไม่มีแผลจะพบว่ามีปริมาณของพาราควอตสูงกว่าของเหงือกปลาที่มีแผล (เหงือกเป็นส่วนที่ควรจะไวต่อสารพิษและได้รับก่อนส่วนอื่น) อย่างไรก็ตามปริมาณของพาราควอตที่วิเคราะห์ได้ในเครื่องในปลาสูงสุด 1.16 ppm เมื่อเทียบกับค่า TLm ต่ำสุดของปลา = 2.1 ppm)[3] ซึ่งพิจารณาแล้วปริมาณของพาราควอตขนาดนี้ไม่น่าจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำเลย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Raw, G.R. (Ed.), *CIPAC Handbook* (Vol I) Hertfordshire : Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd., 1980, p. 547-9.
2. Mark, H.F. (Chairman of editorial board), Kirk-Othmer *Encyclopedia of Chemical Technology* (Ind ed.) New York : John Wiley & Sons, 1970, vol. 22, p. 207-210.
3. Calderbank, A. *Outlook on Agriculture*. 1972, 7 (No. 2), 51-54.
4. WHO/FAO "*Data Sheet on Pesticides and Paraquat, No. 4*," Jan. 1975.
5. เอกสารอ้างอิง 2. vol. 18. p. 537.
6. Sittig, M. (Ed.) *Pesticide Manufacturing and Toxic Materials Control Encyclopedia* Park Ridge : Noyes Data Corp., 1980, p. 581-4.
7. Bullock, D.J.W. "*The determination of Residue of Paraquat in Soil*" Plant Protection Division Residual Analytical Method No. 2A, Imperial Chemical Industries Ltd., November, 1980.
8. "*Analysis of Paraquat Residues*" Chevron Chemical Co., Method RM 8.8 July, 1976.
9. *Farm Chemical Handbook* Willoughby, O., Meister Pub. Col, 1979, p. D211.
10. Sittig, M. *Handbook of Toxic and Hazardous Chemical*. Park Ridge : Noyes Pub., 1981, p. 516-8.
11. Lawrence, F. *Chromatography of Environmental Hazards* Amsterdam : Elsevier Scientific Pub., 1975, vol. III, p. 401-6.
12. Hayes, W.J.Jr. *Toxicology of Pesticides*. Baltimore : Willians & Wilkins, 1975, p. 47, 136, 194-195, 317, 445-481.
13. "*The Colorimetric Determination of Paraquat in Biological Samples*", Industrial Hygiene Research Laboratories Tested Biochemical Method : TBM/3 Imperial Chemical Industries Ltd.

การทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอต ที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต

พาลาภ สิงหเสนี

อภิชัย ดาวราย

สมเกียรติ บียะธีรธิวรกุล

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ และ
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

พบว่าความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารพาราควอต เมื่อคิดเป็น median tolerance limit (TL_m) ที่ 96 ช.ม. ต่อปลาหางนกยูง *(Poecilia reticulata)*, ปลานิล *(Tilapia nilotica)*, และปลาช่อน *(Ophicephalus striatus)* มีค่า > 2.65 ppm, > 17.6 ppm, และ > 10 ppm ตามลำดับ.

Acute Toxicity of Paraquat to Some Species of Freshwater Fish.

By
P. Menasveta
P. Sinhasani
A. Dowrai
S. Piyatiratitivokul
Faculties of Science and Phamaceutical Science, Chulalongkorn University.

Abstract

It was found that the acute toxicity of paraquat, in term of 96 hrs. median tolerance limit (TL_m) to *Poecilia reticulata*, *Tilapia nilotica*, and *Ophicephalus striatus*, were > 2.65 ppm, > 17.6 ppm, and > 10 ppm, respectively.

บทนำ

ตามที่ได้มีประกาศของทางราชการ เรื่อง โรคระบาดในปลา ลงวันที่ 6 มกราคม 2526 ซึ่งข้อความตอนหนึ่งระบุว่า ได้ตรวจพบยากำจัดวัชพืชพาราควอต (paraquat) หรือกรัมม็อกโซนในน้ำมีปริมาณสูงระหว่าง 0.030–0.051 ppm และได้ระบุว่ายากำจัดวัชพืชในเกณฑ์นี้มีอันตรายต่อปลาโดยทำให้ปลาอ่อนแอ และมีบาดแผลซึ่งทำให้ติดเชื้อได้ง่ายนั้น เพื่อวิเคราะห์หาข้อเท็จจริงและความกระจ่างในเรื่องนี้ คณะทำงานของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยชุดนี้จึงได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของพาราควอตที่มีต่อปลาน้ำจืดสามชนิดคือ ปลาหาง

นกยูง (*Poecilia reticulata*) ปลานิล (*Tilapia nilotica*), และปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*) ทั้งนี้โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะหาค่า median tolerance limit (TL_m) ที่ 96 ชั่วโมง (ความเข้มข้นที่ทำให้ปลาอยู่รอดครึ่งหนึ่งของจำนวนที่ทดลองทั้งหมดในเวลา 96 ชั่วโมง) บันทึกผลด้านพฤติกรรมของปลาและสภาพภายนอกของปลาที่ความเข้มข้นของพาราควอตหลายระดับ รวมทั้งระดับที่พบในน้ำในบริเวณที่เกิดโรคระบาดของปลา

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การทดสอบความเป็นพิษของพาราควอตที่มีต่อปลาหางนกยูง

ใช้ตัวยากำจัดวัชพืชที่ขายในท้องตลาดทั่วไปที่มีชื่อการค้าว่า "กรัมม็อกโซน" จำหน่ายโดยบริษัทอีสเอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด ตัวยานี้มีพาราควอต (1,1'–dimethyl–4, 4'–bipyridylium ซึ่งอยู่ในรูปเกลือไดคลอไรด์) เป็น active ingredient อยู่ 24.4 % w/v

การทดสอบความเป็นพิษของพาราควอต ใช้ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0.00 (control), 0.03, 0.27, 0.88, 2.65 และ 26.50 ppm แต่ละระดับความเข้มข้นมี 4 ซ้ำการทดลอง และแต่ละซ้ำการทดลองใช้ปลาหางนกยูงขนาดความยาวระหว่าง 1–2 เซนติเมตร 10 ตัว การทดลองของทุกซ้ำใช้น้ำ 1.5 ลิตร ใส่ในโถแก้วทรงกระบอก ขนาดความจุน้ำ 2 ลิตร การทดลองครั้งนี้ใช้น้ำจากน้ำประปาที่ผ่านการไล่คลอรีนออกหมดแล้ว ตลอดการทดลองมีการให้อากาศอ่อน ๆ แก่ทุกหน่วยการทดลอง และงดให้อาหารปลาในช่วงการทดลอง 96 ชั่วโมงแรก อุณหภูมิตลอดการทดลอง 26.5 ± 1.0 °ซ.

การบันทึกผลเริ่มตั้งแต่เริ่มการทดลอง โดยดูพฤติกรรมของปลาที่ทดลองและดูสภาพภายนอกของตัวปลาทุก ๆ 6 ชั่วโมง เก็บข้อมูลการตายของปลาที่เวลาทดลอง 24 ชั่วโมง, 48 ชั่วโมง, 72 ชั่วโมง, 96 ชั่วโมง และ 14 วัน

2. การทดสอบความเป็นพิษของพาราควอตที่มีต่อปลานิล

ใช้ตัวยากำจัดวัชพืชจากสถาบันนิติเวช กรมตำรวจ เป็นยากำจัดวัชพืชที่มีชื่อการค้าว่า "RUTA" จำหน่ายโดยบริษัทไบเออร์ ไทย จำกัด ตัวยานี้มีพาราควอต (1,1'-dimethyl 1-4, 4'-bipyridylium อยู่ในรูปของเกลือซัลเฟต) เป็น active ingredient อยู่ 18.70 % w/v

การทดสอบความเป็นพิษของพาราควอต ใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.00 (control), 0.02, 0.18, 1.76 และ 17.60 ppm ในแต่ละระดับความเข้มข้นมีเพียงหนึ่งซ้ำการทดลองทั้งนี้เพราะสัตว์ทดลองมีจำนวนจำกัด อย่างไรก็ดีในหนึ่งซ้ำการทดลองมีจำนวนปลาที่ใช้ทดลอง 5 ตัว ขนาดของปลามีความยาวระหว่าง 3-5 เซนติเมตรในหนึ่งหน่วยการทดลอง ใช้น้ำประปาที่ผ่านการไล่คลอรีนออกแล้ว 15 ลิตร ในอ่างแก้วขนาดความจุ 25 ลิตร และมีการให้อากาศอ่อน ๆ แก่ทุกหน่วยการทดลอง และงดให้อาหารปลาตลอดการทดลอง 96 ชั่วโมงแรก อุณหภูมิตลอดการทดลอง 26.5 ± 1.0 °ซ.

การบันทึกผล เริ่มตั้งแต่เริ่มการทดลอง โดยดูพฤติกรรมของปลาที่ทดลอง และดูสภาพภายนอกของปลาทุก ๆ 6 ชั่วโมง เก็บข้อมูลการตายของปลาที่ 24 ชั่วโมง, 48 ชั่วโมง, 72 ชั่วโมง, 96 ชั่วโมง และ 14 วัน

3. การทดสอบความเป็นพิษของพาราควอตที่มีต่อปลาช่อน

ใช้ตัวยากำจัดวัชพืช "กรัมม็อกโซน" ชนิดเดียวกับที่ใช้ทดลองปลาหางนกยูง การทดสอบความเป็นพิษของพาราควอต ใช้ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 0.00 (control) 0.10, 1.00 และ 10.00 ppm แต่ละระดับความเข้มข้นมี 3 ซ้ำการทดลอง และแต่ละซ้ำการทดลองใช้ปลาช่อนที่มีขนาดความยาวระหว่าง 5.7 เซนติเมตรจำนวน 5 ตัว การทดลองทุกซ้ำใช้น้ำ 5 ลิตร ใส่ในโถแก้วทรง

กระบอก ขนาดความจุน้ำ 7 ลิตร โดยใช้น้ำประปาที่ผ่านการไล่คลอรีนออกหมดแล้ว และตลอดการทดลองไม่มีการให้อากาศทุกซ้ำการทดลอง มีการให้อาหารปลาทุก 2 วัน ด้วยหนอนแดง และเปลี่ยนน้ำที่ทดลองใหม่ด้วยความเข้มข้นของพาราควอตเท่าเดิม อุณหภูมิตลอดการทดลอง 26.5 ± 1.0 °ซ.

การบันทึกผลเริ่มตั้งแต่เริ่มการทดลอง โดยดูพฤติกรรมของปลาที่ทดลองและดูสภาพภายนอกของตัวปลาทุก ๆ 6 ชั่วโมง เก็บข้อมูลการตายของปลาที่เวลา 24 ชั่วโมง, 48 ชั่วโมง, 72 ชั่วโมง, 96 ชั่วโมง และ 14 วัน

ผลการวิจัย

1. ปลาหางนกยูง

ผลการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของพาราควอตที่มีต่อปลาหางนกยูงถูกแสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่า ที่ความเข้มข้นของพาราควอต 26.5 ppm สามารถฆ่าปลาหางนกยูงได้ทั้งหมดภายใน 24 ชั่วโมง สำหรับพาราควอตในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่านี้ปลามีอัตราการรอดตั้งแต่ 95–100 % การทดลองที่เวลา 96 ชั่วโมง การตายของปลาที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.03 ถึง 2.65 ppm ถือได้ว่าเป็นการตายโดยสาเหตุอื่น เช่น อาจเนื่องจากการบอบช้ำ ทั้งนี้เพราะ control ก็มีการตายในจำนวนที่เท่ากัน

เมื่อนำข้อมูลอัตรารอดที่ 24 ชั่วโมง ของระดับความเข้มข้นของพาราควอต 2.65 ppm และ 26.50 ppm มาวิเคราะห์หา TL_m 24 ชั่วโมง พบว่ามีค่า 14 ppm (รูปที่ 1) สำหรับค่า TL_m 96 ชั่วโมงนั้น เนื่องจากไม่มีการตายของปลาเกิดขึ้น จึงทำการวิเคราะห์ไม่ได้ แต่อนุมานได้ว่ามีค่ามากกว่า 2.65

การทดลองต่อมาถึงวันที่ 14 ของการทดลอง พบว่าจำนวนการตายของปลาในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่แตกต่างจาก control

เป็นที่น่าสังเกตว่าพาราควอตที่ระดับความเข้มข้น 26.5 ppm นั้น มีสภาพที่แตกต่างกับความเข้มข้นอื่น ๆ คือ น้ำมีฟองที่ผิวมาก คล้ายกับน้ำที่ผสมผงซักฟอกแล้วถูกตีให้เกิดฟองปลาที่ตายที่ระดับความเข้มข้น 26.5 ppm มีลักษณะเกร็ง ครีบกางคล้ายกับว่าขาดออกซิเจนแต่ไม่พบว่ามีบาดแผลเกิดขึ้น

ปลาหางนกยูงที่อยู่ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.03 ถึง 2.65 ppm มีพฤติกรรมและลักษณะภายนอกเป็นปกติเหมือนกับ control ทุกประการ กล่าวคือ สีตัวปลาไม่แตกต่างจาก control ปลาไม่แสดงอาการผิดปกติ เช่น การว่ายน้ำแบบลุกลี้ลุกลน ปลาไม่มีบาดแผลเกิดขึ้นอาการว่ายน้ำปกติเหมือน control ตลอดการทดลอง 14 วัน

2. ปลานิล

ผลการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของพาราควอตที่มีต่อปลานิลแสดงไว้ในตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาข้อมูล จะเห็นได้ว่าไม่มีการตายของปลาเกิดขึ้นเลยในทุกระดับของการทดสอบ ดังนั้นค่า TL_m 96 ชั่วโมง จึงอนุมานได้ว่ามีค่ามากกว่า 17.6 ppm การทดลองต่อมาถึง วันที่ 14 ก็ไม่พบการตายของปลาเกิดขึ้นเช่นกัน

จากการตรวจพฤติกรรมของปลาในทุกระดับความเข้มข้นพบว่า การทรงตัวของปลา, การว่ายน้ำ และการเคลื่อนไหวปกติ ปลาไม่แสดงอาการระคายเคืองหรือผิดปกติดังอาการของปลาที่จะแสดงตอบต่อสารพิษที่มีฤทธิ์กัด

จากการตรวจลักษณะภายนอกของปลาในทุกระดับความเข้มข้น ไม่พบแผลในบริเวณลำตัว สีของปลาปกติเหมือน control ทุกประการตลอดการทดลอง 14 วัน

3. ปลาช่อน

ผลการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของพาราควอตที่มีต่อปลาช่อน แสดงไว้ในตารางที่ 3 พบว่าเมื่อทดสอบได้ 72 ชั่วโมง มีปลาตาย 1 ตัว ในซ้ำที่ 2 ของความเข้มข้น 0.1 ppm และที่ 96 ชั่วโมง มีปลาตาย 1 ตัว ในซ้ำที่ 3 ของความเข้มข้น 1.0 ppm และเมื่อทดสอบถึงวันที่ 14 พบว่ามีการตายเพิ่มขึ้นในซ้ำที่ 2 ของความเข้มข้น 0.0 ppm (control) และซ้ำที่ 1 ของความเข้มข้น 0.1 ppm อีกอย่างละ 1 ตัว แต่ไม่พบการตายของปลาเกิดขึ้นในความเข้มข้นของพาราควอต 10.0 ppm

การตรวจสอบพฤติกรรมของปลาช่อนในทุกระดับความเข้มข้น พบว่าการทรงตัวของปลา การว่ายน้ำ และการเคลื่อนไหวต่าง ๆ ปกติ การล่าเหยื่อและการกินอาหารไม่แตกต่างกับกลุ่ม control และปลาไม่แสดงอาการระคายเคืองหรือผิดปกติ ดังอาการของปลาที่จะแสดงตอบต่อสารพิษที่มีฤทธิ์จัด

การตรวจลักษณะภายนอกของปลาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่พบแผลบนลำตัว และความผิดปกติของสีตัว ลักษณะภายนอกทั่วไปเหมือน control ทุกประการตลอดช่วงเวลาทดลอง 14 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละที่รอด ที่ 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง 96 ชั่วโมงและ 14 วัน ของปลาหางนกยูง ทดสอบในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของพาราควอต

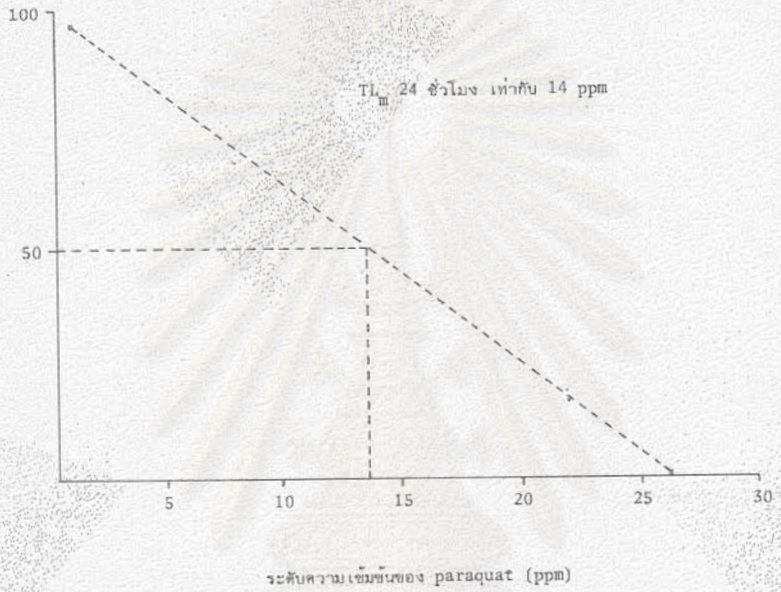
ระดับความเข้มข้น	ซ้ำที่	24 ชั่วโมง			48 ชั่วโมง			72 ชั่วโมง			96 ชั่วโมง			14 วัน		
		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	
0.0	1	0	100		0	100		0	100		0	100		2	80	
	2	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	1	90	เฉลี่ย
	3	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	97.5	1	90	87.5
	4	1	90		0	90		0	90		0	90		0	90	
0.03	1	0	100		0	100		0	100		0	100		1	90	
	2	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย
	3	1	90	97.5	0	90	97.5	0	90	97.5	0	90	97.5	0	90	95
	4	0	100		0	100		0	100		0	100		0	100	
0.27	1	1	90		0	90		0	90		0	90		0	90	
	2	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย
	3	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	95
	4	0	100		0	100		0	100		0	100		1	90	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ระดับความเข้มข้น	ซ้ำที่	24 ชั่วโมง			48 ชั่วโมง			72 ชั่วโมง			96 ชั่วโมง			14 วัน		
		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	
0.88	1	0	100		0	100		0	100		0	100		2	80	
	2	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	1	90	เฉลี่ย
	3	0	100	100	0	100	100	0	100	100	0	100	100	0	100	92.5
	4	0	100		0	100		0	100		0	100		0	100	
2.65	1	1	90		0	90		0	90		0	90		1	70	
	2	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย	0	100	เฉลี่ย
	3	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	97.5	0	100	95.0	0	100	92.5
	4	0	100		0	100		0	100		0	100		1	90	
26.50	1	10	0		-	-		-	-		-	-		-	-	
	2	10	0		-	-		-	-		-	-		-	-	
	3	10	0		-	-		-	-		-	-		-	-	
	4	10	0		-	-		-	-		-	-		-	-	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 แสดงวิธีการวิเคราะห์หาค่า TL_m 24 ชั่วโมง ของปลาหางนกยูง

วิจารณ์ผล

เมื่อพิจารณาผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่า ปลานิลมีความต้านทานต่อพิษของพาราควอตสูงกว่าปลาหางนกยูง อย่างไรก็ดี พาราควอตที่ใช้ทดลองในปลาสามชนิดนี้อยู่ในรูปที่ต่างกัน ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ความต้านทานต่อพิษในปลาแตกต่างกัน Sammers (1980) กล่าวว่าพาราควอตที่ละลายอยู่ใน wetting agent จะให้ผลความเป็นพิษที่สูงขึ้น อาจกล่าวได้ว่า wetting agent บางชนิดอาจมีบทบาทในการเสริมความเป็นพิษให้สูงขึ้น

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละที่รอดที่ 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง 96 ชั่วโมง และ 14 วัน ของปลานิลที่ทดสอบในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของพาราควอต

ระดับความเข้มข้น (ppm)	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง		72 ชั่วโมง		96 ชั่วโมง		14 วัน	
	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0.0 (control)	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
0.02	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
0.18	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
1.76	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
17.60	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนปลาที่ตายและจำนวนร้อยละที่รอดที่ 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง 96 ชั่วโมง และ 14 วัน ของปลาช่อนที่ทดสอบในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของพาราควอต

ระดับความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง		72 ชั่วโมง		96 ชั่วโมง		14 วัน	
		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0.00 (control)	1	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	1	80
	3	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
0.10	1	0	100	0	100	0	100	0	100	1	80
	2	0	100	0	100	1	80	0	80	0	80
	3	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
1.00	1	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	3	0	100	0	100	0	100	1	80	0	80
10.00	1	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	2	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
	3	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100

ในการกำจัดวัชพืชน้ำนั้น ความเข้มข้นของพาราควอตที่ใช้จะอยู่ในช่วง 0.80–1.20 ppm ซึ่งความเข้มข้นขนาดนี้นับว่าไม่เป็นอันตรายต่อปลา (Summers, 1980) จากการทดสอบความเป็นพิษของพาราควอตครั้งนี้ พบว่าที่ความเข้มข้น *0.88* หรือสูงกว่านี้ 3 เท่า ไม่ได้ทำให้ปลาหางนกยูงตาย หรือเกิดบาดแผลในเวลา 96 ชั่วโมง ส่วนปลานิลนั้น ในระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดลองสูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัดวัชพืชถึง 18 เท่า ไม่พบว่าทำให้ปลาตายหรือเกิดบาลแผลในเวลา 96 ชั่วโมงเช่นกัน เช่นเดียวกับปลาช่อนที่เป็นปลาที่เป็นโรคมากที่สุดในขณะนี้ ก็ไม่ได้แสดงการตายหรือการเกิดบาดแผล ในความเข้มข้นของพาราควอต 1.00 และ 10.00 ppm ที่แตกต่างไปจากกลุ่ม control

ระดับความเป็นพิษต่อปลาที่มีรายงานไว้ คือ TL_m 96 ชั่วโมง เท่ากับ 7.5 ppm ในปลา Zebra (Benijts–Claus และ Persoone, 1975 b) สำหรับในปลาหางนกยูงซึ่งพบในเขตร้อยและพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำของไทย มีรายงานว่า TL_m 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 11.5 ppm (Kam–wing และ Furtado, 1977) จากการเปรียบเทียบผลของการทดลองครั้งนี้กับการทดลองที่ได้ทำไว้ในต่างประเทศ พบว่าค่า TL_m ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ดี จากการตรวจสอบเอกสารของ Summers (1980) พบว่า สัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ เช่น กุ้ง หรือ ไรน้ำ มีความทนทานต่อความเป็นพิษของพาราควอตน้อยกว่าปลา และพาราควอตที่มีความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้หลายชนิด

ในการทดลองครั้งนี้ ใช้ระดับความเข้มข้นของพาราควอตสูงกว่าที่พบในแหล่งน้ำบริเวณที่เกิดโรคระบาดของปลาถึง 50 และ 300 เท่า ไม่พบว่าปลามีพฤติกรรมที่แตกต่างไปจาก control รวมทั้งไม่พบว่ามีบาดแผลใด ๆ เกิดขึ้น ซึ่ง

สิ่งเหล่านี้ตรงกับรายงานซึ่งทดลองกับปลา bluegill โดยใช้ความเข้มข้นของพาราควอต 1 ppm เป็นเวลา 8 วัน และไม่พบความผิดปกติทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อผิวหนัง หรือกล้ามเนื้อ ส่วน Muscarella และ Galofaro (1973) พบว่าบาดแผลอาจเกิดขึ้นได้เมื่อปลา *Carassius carassius* และ *Cobitis taenia* อยู่ในน้ำซึ่งมีพาราควอตถึง 250 ppm (5,000 เท่าของความเข้มข้นพาราควอตที่พบในแหล่งน้ำ)

เนื่องจากพาราควอตละลายได้ดีมากในน้ำ และไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นจึงไม่พบสารพาราควอตสะสมในเนื้อเยื่อไขมัน นอกจากนี้ Conning และคณะ (1969) รายงานว่าเมื่อทำ equilibium dialysis ในห้องทดลองพบว่า พาราควอต ไม่จับตัวกับพลาสมาโปรตีน หรือ tissue homogenates พาราควอตถูกดูดซึมได้น้อยและถูกกำจัดอย่างรวดเร็วออกจากร่างกาย แม้ว่าส่วนน้อยของพาราควอตอาจพบได้ในทางเดินอาหาร ผิวหนัง เหงือก ตับ และไตของปลาแต่ไม่พบในส่วนเนื้อ (Howe และ Wright, 1965) นอกจากนี้ยังมีผู้รายงานสนับสนุนการไม่สะสมพาราควอตในปลา เช่น Funderburk และ Bozarth 1967) รายงานว่า เมื่อปลาดุกได้รับพาราควอต 1 ppm จากบ่อเลี้ยงปลา ไม่พบสารนี้ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะใดเลยเมื่อทำการตรวจในเวลา 2 เดือน จนถึงปัจจุบันนี้ก็ยังไม่มีรายงานผลความเป็นพิษแบบเรื้อรังในปลาที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีพาราควอตในระดับต่ำกว่า 0.1 ppm (Brown, 1978) พาราควอตสามารถจับตัวอย่างเหนียวแน่นกับดินเนื่องจากเป็นสารที่มีประจุบวกสูงมาก จึงทำให้จับกับอนุภาคซึ่งมีประจุลบ พาราควอตจะเข้าแทนที่ดินโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับดินเหนียว (Hamaker และคณะ 1972) เมื่อพาราควอตจับตัวกับดินแล้วจะอยู่ในรูปซึ่งไม่มีพิษ (Conning และคณะ 1969)

จากการทดลองของ Coats et al. (1964) ซึ่งใช้บ่อพลาสติก พบว่าปริมาณของพาราควอตเริ่มต้น 0.5 ppm จะหมดไปใน 35 สัปดาห์ ถ้าภายใน

ตารางที่ 4 ความเป็นพิษของพาราควอตที่มีต่อปลา

ชนิดของปลา	Median Tolerance Limit (TL_m) ppm			เอกสารอ้างอิง
	24 ช.ม.	48 ช.ม.	96 ช.ม.	
Bluegill	400[d]	100[d]	–	Davis and Hughes (1963)
Brown trout	–	–	25	Quoted by Howe and Wright (1965)
Rasbora sp.	32–67[d]	23–38[d]		Quoted by Howe and Wright (1965)
Zebra fish	25[g]	25[g]	26[g]	Benijts Claus and Persoone (1975 a)
	43[h]	43[h]	40[h]	Benijts Claus and Persoone (1975 a)
	–	–	7.5[g]	Benijts Claus and Persoone (1975 b)
	–	–	48.5[h]	Benijts Claus and Persoone (1975 b)
ปลาหางนกยูง	–	–	15[g]	Benijts Claus and Persoone (1975 b)
	–	–	22[h]	Benijts Claus and Persoone (1975 b)
Roach	–	–	10	Quoted by Howe and Wright (1965)
Minnows			10	Quoted by Howe and Wright (1965)
ปลาหางนกยูง	16[g]	–	> 2.7[g]	การทดลองครั้งนี้ – (เบี่ยมศักดิ์ และคณะ)
ปลานิล	–	–	>17.6	การทดลองครั้งนี้ – (เบี่ยมศักดิ์ และคณะ)
ปลาช่อน	–	–	>10.0[g]	การทดลองครั้งนี้ – (เบี่ยมศักดิ์ และคณะ)

d = Paraquat di-cation, g = paraquat as gramoxone, h = Paraquat as commercial formulation without wetters

บ่อมีแต่เพียงน้ำอย่างเดียว และถ้าภายในบ่อมีดินอยู่ด้วย จะหมดไปใน 6–8 สัปดาห์ แต่ถ้ามีทั้งดินและพืชอยู่ด้วยปริมาณของพาราควอตจะหมดไปภายในเวลา 3–4 สัปดาห์

ในแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่าปริมาณตกค้างของพาราควอตในน้ำลดลงเร็วกว่าผลการทดลองที่กล่าวข้างต้น จากรายงานต่างๆ พบว่า เมื่อเริ่มต้นด้วยพาราควอตในปริมาณ 1–5 ppm ปริมาณตกค้างในน้ำจะลดลงถึงระดับที่ไม่สามารถจะตรวจพบได้ในระยะเวลาเพียง 8–27 วัน (Blackburn และ Weldon, 1964, Way และคณะ 1971) ความเข้มข้นของปริมาณตกค้างจะลดลงอย่างรวดเร็วในระยะ 2–3 วันแรก โดยทั่วๆ ไปจะลดลงจาก 1 ppm เหลือเพียง 0.1 ppm ในเวลาเพียง 4–8 วัน (Yeo, 1967 ; Calderbank, 1968)

มีรายงานยืนยันว่าพาราควอตในน้ำถูกซับโดยตะกอนและดิน รวมทั้งสารที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ (Selman และ Upchurch, 1963, Frank และ Comes, 1967) และยังถูกดูดเข้าไปในพืชน้ำและสาหร่าย (Newman และ Way, 1966, Calderbank, 1968) ในสภาพธรรมชาติเคยพบว่าวัชพืชน้ำมีพาราควอตอยู่ถึง 25–112 ppm จากน้ำที่มีพาราควอตเพียง 0.5–1 ppm (Calderbank, 1968) ดังนั้นจึงเป็นที่ยอมรับกันว่าการที่พาราควอตในแหล่งน้ำธรรมชาติลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากถูกดูดซับโดยพืชน้ำ และเกาะติดกับดินตะกอน หรือโคลนในแหล่งน้ำ

สรุปผล

คณะผู้วิจัยชุดนี้ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอตต่อปลาน้ำจืดสามชนิด คือ ปลาหางนกยูง ปลานิลและปลาช่อน ผลการวิจัยในระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าปลาหางนกยูง มีความทนทานต่อสารพาราควอตน้อยกว่าปลานิล

ในปลาหางนกยูง ที่ความเข้มข้นของสารพาราควอต 2.65 ppm ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นที่พบในน้ำในบริเวณที่เกิดโรคระบาดของปลาประมาณ 50 เท่า ไม่ได้ทำให้ปลาหางนกยูงตายมากกว่าปกติ รวมทั้งไม่พบอาการผิดปกติของปลาที่สังเกตได้ ปลาไม่แสดงอาการดังที่จะแสดงออกเมื่อได้รับสารที่ก่อให้เกิดความระคายเคือง ไม่พบบาดแผลใด ๆ ตามลำตัวของปลาในช่วงทดลอง 14 วัน

ในปลานิล ที่ความเข้มข้นของสารพาราควอต 17.6 ppm ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นที่พบในน้ำในบริเวณที่เกิดโรคระบาดของปลาประมาณ 300 เท่า ไม่ได้ทำให้ปลานิลตายแม้แต่ตัวเดียว รวมทั้งไม่พบอาการผิดปกติของปลาที่สังเกตได้ ปลาไม่แสดงอาการดังที่จะแสดงออกเมื่อได้รับสารที่ก่อให้เกิดความระคายเคืองและไม่พบบาดแผลใด ๆ ตามลำตัวของปลาในช่วงทดลอง 14 วัน

ในปลาช่อน พบว่าที่ความเข้มข้นของสารพาราควอต 10 ppm ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นที่พบในน้ำบริเวณที่เกิดโรคระบาดของปลาประมาณ 200 เท่า ไม่ได้ทำให้ปลาช่อนตายแม้แต่ตัวเดียว รวมทั้งไม่พบอาการผิดปกติของปลาทางพฤติกรรมและลักษณะภายนอก และปลาไม่แสดงอาการดังที่จะแสดงออกเมื่อได้รับสารที่ก่อให้เกิดความระคายเคือง ไม่พบบาดแผลใด ๆ ตามลำตัวตลอดช่วงเวลาทดลอง 14 วัน

จากผลการทดสอบดังกล่าวข้างต้น จึงทำให้เชื่อว่าการระบาดของเชื้อโรคในปลาในขณะนี้ไม่ได้เกิดขึ้นเนื่องจากบาดแผลของปลาอันผลเนื่องจากพิษเฉียบพลันของพาราควอต

กิตติกรรม

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ ที่ให้ปลานิลสำหรับใช้ในการทดลอง และ คุณสมนึก สถิตยสุนทร ที่ได้ช่วยในการปฏิบัติภารกิจวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Benijts-Claus, C. and Persoone, G. (1975 a). Trib Cebedeau, 28, 340.
2. ——— (1975 b). Meded. Fac. Lan Boouwwet. Fijksunit Gent-, 40, 1161.
3. Blackburn, R. D. and Weldon, L. W. (1964). Weeds, 12, 295.
4. Calderbank, A. (1968). In "Advance in Pest Control Research" (R.L. Metcalf, ed.) Vol. 8. pp. 127-235, Interscience, New York.
5. Coates, G. E., Funderburk, H. H., Lawrence, J. W. and Davis, D.E. (1964) Proc. Southern Weed Conf., 17, 308.
6. Conning, D. M., Fletcher, K. and Swan, A. A. B. (1969) Brit. Med. Bull., 25, 245.
7. Davis, J.T. and Hughes, J. S. (1963). Proc. S. Weed Sci. Soc. 16, 337.
8. Earnest, R.D. (1971). Progr. Fish Culturist, 33, 27.
9. Frank, P.A. and Comes, R.D. (1967). Weeds, 15, 210.
10. Funderburk, H.H. and Bozarth, G. A. (1967) J. Agr. Food Chem., 15, 563.
11. Hamaker, J.W. and Thompson (1972). Absorption in organic Chemicals in the Soil environment in Eds. C.A.I. Goring and J.W. Hamaker, Dekker, 15-143.
12. Howe, E. J. T. and Wright, N. (1965). Proc. N. Z. Weed Pest Contr. Conf. 18, 105.
13. Kam-Wing L. and Furtado, J. I. (1977). Hydrobiologia, 56, 49 Chem -Abstr. 88, 46293 (1978).
14. Muscarella, A. and Galofaro, V. (1973). Nuova Ber., 49, 211 Chem-Abstr. 81, 440 (1974).
15. Newman, J. F. and Wau, J. M. (1966). Proc. Br. Weed Contr. Cong. Bth 2, 582.
16. Selman, F. L. and Upchurch, R. P. (1963). Proc. Southern Weed Cong., 16, 392.
17. Summers, L. A. (1980). The Bipyridinium Herbicides. Academic Press, London. 447 p.
18. Way, J. M. Newman, J. F., Moore, N.W. and Knaggs, F.W. J. Appl. Ecol., 8, 509.
19. Yeo, R. R. (1967). Weeds, 15, 42.

การศึกษาเชื้อรา *Achlya sp.* จากปลาช่อนที่เป็นโรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

สุมาลี พิชญางกูร
วนิดา โพธารามิก
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ปลาช่อน *(Ophicephalus striatus)* ตาย จำนวน 5 ตัว จากบ่อ อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี ได้นำมาตรวจพบเชื้อราจากแผลที่ผิวหนังทุกแผล เมื่อนำมาแยกได้เชื้อบริสุทธิ์ จำแนกกลุ่มพบว่าราน้ำมีคุณสมบัติและลักษณะต่าง ๆ ตามลักษณะของรา ในสกุล *Achlya sp.* และมีเพียงสกุลเดียวที่อยู่ในแผลของปลา ไม่พบสกุล *Saprolegnia sp.* หรือสกุลอื่นดังที่ได้เคยมีรายงานไว้แล้วว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคราในปลาช่อน.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The Study of *Achlya sp.* of Fishes Disease ; in *Ophicephalus striatus*

Sumalee Pichyangkura
Vanida Bodhalamik

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

Five dead fishes of snake head fish *(Ophicephalus striatus)* from Bang Prama distric, Supanburi province, were introduced to the laboratory for exploring. Each of skin lesion the infected tissue were taking and examined under the microscope for positive fungal infection. The baiting technique was adopted for fungal isolation. The pure isolates were obtained and identified according to their specific characteristics to be Genus Achlya, the only genus that was found in lesions. *Saprolegnia sp.* and other Genuses which has been recorded as a pathogenic form were not found to be involving in this event.

บทนำ

โรคปลาที่เกิดจากเชื้อราน้ำนั้น ได้มีรายงานเขียนไว้ตั้งแต่ปี 1939 โดย Tiffeney พบราที่มีนิเวศน์อยู่ในน้ำ เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ ได้ทั้งในเขตอบอุ่นและเขตร้อน โดยเฉพาะราที่อยู่ในวงศ์ Saprolegniaceae ซึ่งเรียกชื่อรวม ๆ ของโรคที่เกิดจากราในวงศ์นี้ว่า Saproleginiasis ราในวงศ์นี้มีทั้งหมด 17 สกุล (Sparrow 1960) ได้แก่ Saprolegnia, Achlya และ Aphanomyces เป็นต้น

Vishniac และ Nigrelli (1957) ได้รายงานการทดลองเติมเชื้อ *Saprolegnia parasitica* และ *S. ferax* เป็นเชื้อที่มีพิษสูงลงในบ่อปลา สามารถทำให้ปลาเป็นโรค และได้ทำการทดลองกับเชื้อต่าง ๆ หลายพันธุ์ สรุปได้ว่า ราน้ำในวงศ์นี้เป็นสาเหตุทำให้ปลาเกิดโรค ในสภาวะที่เหมาะสม และพบว่าการติดเชื้อของปลาไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับอายุและชนิดของปลา และการติดเชื้อของปลากับชนิดของรา มิได้มีความเฉพาะแต่อย่างใด Rebelin และ Migaki ได้พบว่าการเกิดโรคนี้ ขึ้นอยู่กับการที่เลี้ยงปลาเป็นจำนวนมาก หนาแน่นเกินไป หรือเป็นกับปลาที่มีแผล หรือในปลาที่กำลังวางไข่

การแยกเชื้อราเพื่อทำการศึกษา และจัดจำแนกกลุ่ม เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วทำตามวิธีของ Kock's postulation มีความสำคัญ Willoughby (1968) ได้ใช้อาหารวุ้น GYS–tellurite แยกรา Saprolegnia และเลี้ยงด้วยเมล็ดบ่านเป็นเหยื่อล่อ และใช้ข้าวโอ๊ตและอาหารผสมโคเรสเตอรอลเพื่อให้สร้างอวัยวะสืบพันธุ์ ตามรายงานของ เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ (2523) ได้พบโรคแสปโปรเลคเนียลิส ในปลาดุกด้าน และพบสายใยของราในตัวปลา บริเวณผิวหนัง แต่มิได้มีการจำแนกกลุ่มของราที่พบว่าเป็นชนิดใด

ในการวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากมีโรคระบาดเกิดขึ้นหลายจังหวัด ตรวจพบเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในบ่อปลาที่เป็นโรค และแผลที่เกิดกับปลามีขนาดใหญ่ตามบริเวณผิวหนัง น่าจะมีเชื้อราเกี่ยวข้องด้วย จึงได้ทำการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธาน

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างปลาช่อน 5 ตัว ได้มาจากบ่ออำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี บ่อนี้ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ เป็นเวลา 13 วัน ได้นำปลาช่อน *(Ophicephalus striatus)* 5 ตัว ที่ตาย มีความยาวของตัว 23, 19, 19, 17,

16 ซม. มีแผลตามลำตัวบริเวณผิวหนัง ครีบลำตัว ครีบหาง เหงือก ปากด้านบน ตา และหน้าผาก ตายนานประมาณ 12 ช.ม. แช่อยู่ในอุณหภูมิต่ำ

การตรวจพยาธิสภาพ

ก่อนที่จะแยกเชื้อ ได้ตรวจดูพยาธิสภาพของแผลทุกแห่ง ผิวหนัง ครีบ ตา และเหงือก โดยวิธีย้อมสีแบบเบี่ยก ตรวจหาสายใยของราในเนื้อเยื่อ ตัดผิวหนังของปลาบริเวณแผล ใช้ปากคีบแยกใส่น้ำยาแลคโตฟีนอลคอตตอนบูล ตรวจพบสายใยที่เป็นท่อกลวงไม่มีผนังกั้น และมีแขนง

การแยกเชื้อ

เมื่อตรวจเนื้อปลาและพบสายใยแล้ว ตัดเนื้อปลาในแผลที่พบสายใย ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อด้วยความร้อน 170 °C, 6 ช.ม. การแยกเชื้อใช้วิธีเหยื่อล่อ (Baiting technique) ของ Stevens (1974) ใช้น้ำบ่อผสมกับน้ำประปา อัตราส่วน 3 : 1 เป็นน้ำที่ใช้เลี้ยงตลอดการทดลอง ให้ชื่อ P–3 เติมน้ำ P–3 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ 30 มล. ใส่เมล็ดบ่าน และแมลงวันที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2–3 ชิ้น นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 30±2 °C และที่ 25 °C เป็นเวลา 24 ช.ม. ตรวจหาโคโลนีที่เกาะบนเหยื่อล่อ แยกโคโลนีของราด้วยอาหารวุ้น YpSs ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร YpSs

การจำแนกเชื้อ

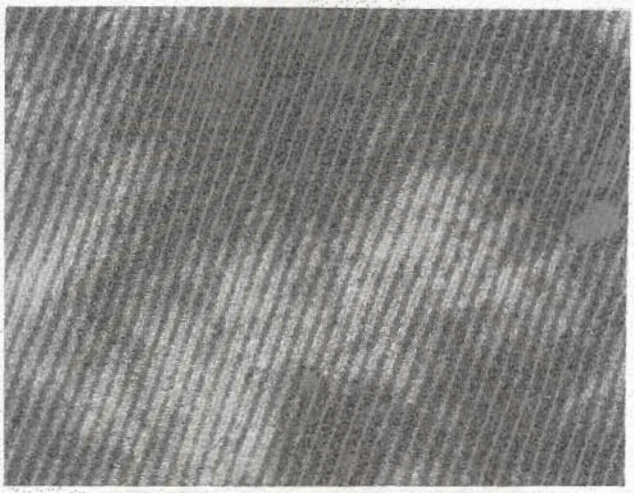
ตัดอาหารวุ้นที่มีเชื้อเจริญเต็มที่ เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 5 × 5 มม. ใช้เข็มเขี่ยลงในจานที่มีน้ำ P–3 เติมเมล็ดบ่านเม็ด เมื่อเชื้อเกาะเหยื่อแล้ว ศึกษาลักษณะการสร้างอับซูโอสปอร์ (Sporangium) ที่ปลายของสายใย และการปล่อยซูโอสปอร์ (Zoospore) ลักษณะและจำนวนหางของซูโอสปอร์ การ encyst ของซูโอสปอร์ ตามวิธีการจัดอนุกรมวิธาน ของ Sparrow (1960) และ Barkdale (1965)

ผลการทดลองและวิจารณ์

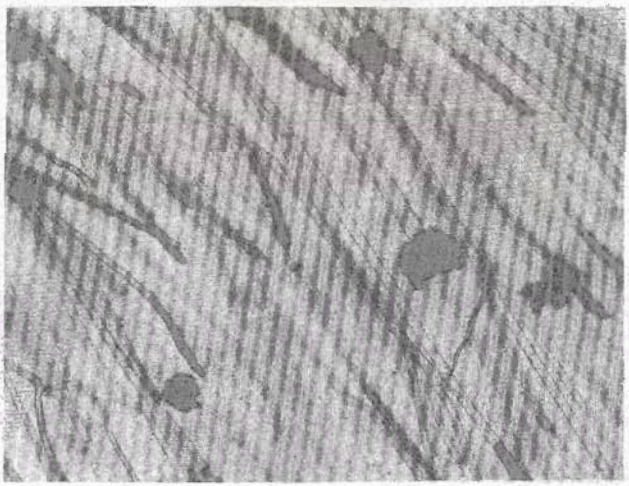
ปลาช่อนทั้ง 5 ตัว มีแผลส่วนใหญ่ที่บริเวณผิวหนัง และหัว เป็นแผลกว้าง ลึก มีเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย ได้ตัดบริเวณแผลไว้ศึกษาทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (Histopathology) ประกอบด้วย เนื้อเยื่อในแผลทุกแห่ง ตรวจพบสายใยขึ้นแทรกซ้อนอยู่ภายในเนื้อเยื่อปลา ดังแสดงในภาพที่ (1)

หลังจากแยกเชื้อบริสุทธิ์ พบเชื้อรา ลักษณะของโคโลนีสีขาวอมสีนวล ลักษณะเป็นปุยเกาะอยู่รอบ ๆ เม็ดบ่าน และแมลงวัน อับซูโอสปอร์มีลักษณะยาว ส่วนมากจะสร้างที่ปลายสายใยดังรูปที่ (2) ภายในมีซูโอสปอร์ ช่วงเวลาเจริญภายในอับจนกระทั่งปล่อยเป็นเวลา 7 ช.ม. ซูโอสปอร์ถูกปล่อยออกจากอับสปอร์มา encyst ที่ปากของอับสปอร์ ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการจัดจำแนกระดับสกุล (genus) Achlya ตามวิธีของ Sparrow (1960) ดังในภาพ 3,4 ลักษณะของซูโอสปอร์ ระดับ 2 (secondary zoospore) ของ Achlya จะเปลี่ยนมาจากซูโอสปอร์ระดับ 1 (primary zoospore) จะมีหาง 2 เส้นติดอยู่ทางด้านข้าง เห็นได้ชัดเจนขณะเคลื่อนไหวใต้กล้องจุลทรรศน์ (5) การสืบพันธุ์แบบมีเพศสร้าง oosphere ภายในมี oozospore จำนวน 4–12 อัน ที่พบ 2 สายพันธุ์ที่เป็น homothallic ไม่มีลักษณะที่เหมือนกับ *A. bisexualis, A. ambisexualis* และ *A. heterosexualis,* ตามรายงานของ Barkdale (1965) ดังภาพที่ (6.7) การจัดกลุ่มของสกุล Achlya sp. ควรจัดให้ถึงระดับชนิด (species) ยังต้องการเวลาและลักษณะบางอย่าง และเอกสารเพื่อใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการจำแนกชนิดของ Achlya ที่แยกได้ทุกสายพันธุ์

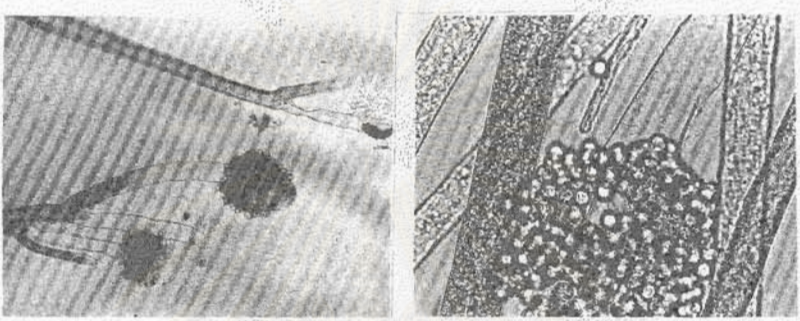
ราน้ำที่แยกได้ คือ สกุล *Achlya sp.* เพียงสกุลเดียวเท่านั้น ไม่พบราในสกุลอื่นขึ้นปะปนลักษณะของ ทุกสายพันธุ์ที่แยกได้ก็มีลักษณะแตกต่างกันภายในสกุล น่าจะมีมากกว่า 2 ชนิด (Species) อย่างไรก็ตามการเกิดโรคของปลาช่อน



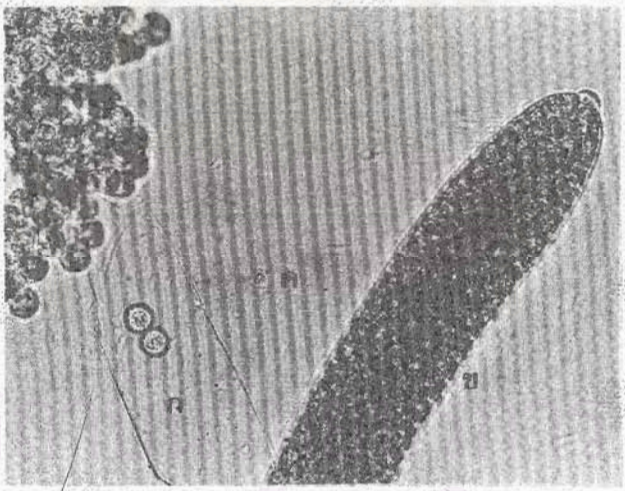
รูปที่ 1 (×100) เนื้อเยื่อแผลปลาช่อนที่ตรวจพบสายใยด้วยวิธี Direct mount



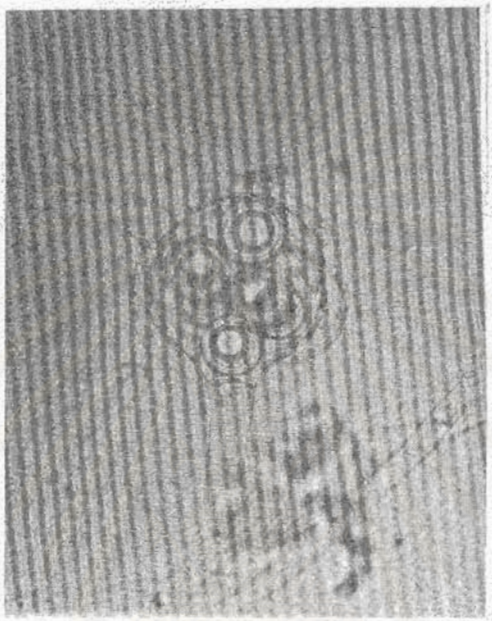
รูปที่ 2 (×40) อับซูโอสปอร์ (Zoosporangium)



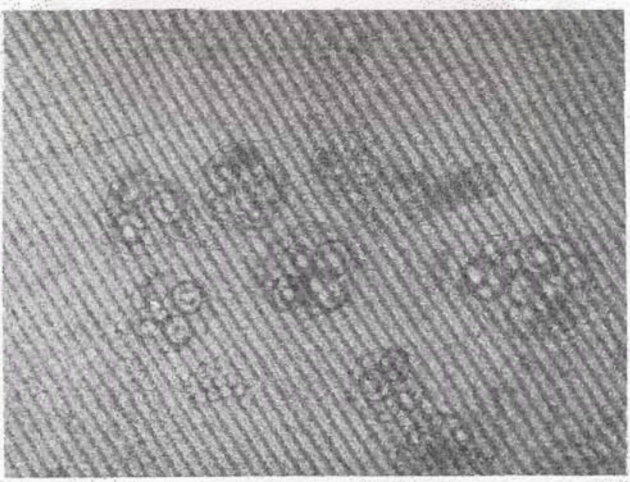
รูปที่ 3–4 (×100, ×400) (Primary zoospore) ซูโอสปอร์ถูกปล่อยจากอับสปอร์แล้ว encept ที่ปากของอับสปอร์



รูปที่ 5 (×400) ซูโอสปอร์ (Zoospore)
ก. อับสปอร์ที่ว่างเมื่อปล่อยซูโอสปอร์มา encyst ที่ปลาย
ข. Primary Zoospore ในอับสปอร์
ค. Secondary Zoospore



รูปที่ 6 (×100) โอโอโกเนีย ข้างในมี oospore และมีสาย แอนเทอริเดียมล้อมรอบ



รูปที่ 7 (×100) มีจำนวน โอโอสปอร์เกิดขึ้นไม่เท่ากัน 2–12 อัน

อาจเกิดจากเชื้อราสกุลนี้ หรือเกิดร่วมกับเชื้อบักเตรี *Aeromonas* เชื้อนี้มิใช่เชื้อ *Saprolegnia sp.* ดังที่ได้มีรายงานหลายฉบับได้เขียนไว้ และรายงานของต่างประเทศส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจาก Saprolegnia sp. เช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รศ. สุทธิชัย เตมีวณิชย์ รศ. ดร. เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต ที่ช่วยนำตัวอย่างปลามาให้ทำการทดลองในเวลาที่รวดเร็ว และสำเร็จลงด้วยดี ขอขอบคุณ รศ. ดร. รบิล รัตนพานี คณบดีคณะสัตวแพทย์ ที่กรุณาให้ยืมเอกสารโรคปลา

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ วารินทร์ ธนาสมหวัง 2521 โรคแสบโปรเล็กนิเอซิส ในปลาดุกด้าน วารสารชมรมโรคปลา 1 (1) : 7

เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2523 โรคเกล็ดปลาหลุด และโรคแผลในปลาช่อน วารสารชมรมโรคปลา 3 (1) : 1–7

Barkdale A. W., 1965. *Achlya ambisexualis* and a New Cross conjugating species of Achlya. Mycologia, col 57 : 493–450

Ribelin, W.E. and G. Migaki, 1975. The Pathology of Fishes. The Univ. of Wisconsin Press. 87–116

Sparrow. F.K., 1960 Aquatic Phycomycetes, 2nd The Univ. Mich. Press. Ann Arbor. 833–843

Stevens, R.B., Mycology Guidebook. Univ. Washington Press. 68–70

Tiffney, 1939, Invasion without any Obvious prior Injury Mycologia 31, 310–21

Vishniac, H.S. & R.F. Ni-grelli, 1957. The ability of the Saprolegniaceae to Parasilize Platyfish. Zoologica, 42 : 131–4

Willoughby L.G., 1968. Atlantic Salmon Disease Fungus. Nalure, 217 : 872–3

พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลาช่อนต่อเชื้อรา *Achlya sp.*

สุมาลี พิชญางกูร
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ผลการตรวจสอบพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ของเนื้อแผลปลาช่อนต่อเชื้อรา *Achlya sp.* นั้นพบว่า เชื้อรานี้ไม่สามารถทำให้เกิดโรคต่ออวัยวะภายในของปลา แต่มีความสามารถทำให้เกิดโรคที่กล้ามเนื้อผิวหนัง (integument) และเนื้อเยื่อหลังม่านตา ทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง พบปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อปลาต่อเชื้อรา แบบแกลนูโลมาเกิดขึ้น และพบสายใยของราภายในแผลจากการย้อมพิเศษด้วยสี PAS และ GMS

Histopathology of Serpent Head fungal Infection by *Achlya sp.*

Sumalee Pichyangkura

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

Histopathologic examination of the lesion taken from the skin ulcers which were caused by *Achlya sp.*, a pathogenic fungus, show evidences of chronic inflammatory reaction with occasional granulomatous reaction. Cross and longitudinal sections of the fungus were identified in the granulomas, which were confirmed by PAS and GMS stains.

บทนำ

Achlya sp. เป็นราที่อยู่ใน class Oomycetes และอยู่ในวงศ์ของ Saprolegniales โรคปลาที่เกิดจากราในวงศ์นี้มักจะรวมเรียกโรคว่า Saprolegniasis ซึ่งมีสาเหตุมาจากราสกุล Achlya sp. และ Saprolegnia เป็นส่วนใหญ่ แล้วยังมีสกุลอื่นที่อยู่ในวงศ์เดียวกันอีกด้วย (1) รากลุ่มนี้ยังไม่เคยมีรายงานว่าสามารถทำให้เกิดโรคได้ในคน (2) พบรายงานว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคพืช

ความรุนแรงของตัวเชื้อราต่อการทำให้เกิดโรคได้โดยตรง มีไม่มากชนิด เช่น *Saprolegnia parasitica* หลายสกุลมักจะเป็นตัวเชื้อโรคอันดับสองโดยเกิดพร้อมกับโรคอื่นทำให้โรคทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น และปลาจะตายในที่สุด (3,4) อย่างไรก็ตาม การเกิดพยาธิสภาพของเนื้อปลาต่อราวงศ์นี้ไม่มีความแตกต่างกันมากนักในแง่การรับสนองและการอักเสบของเนื้อปลา

อุปกรณ์และวิธีการ

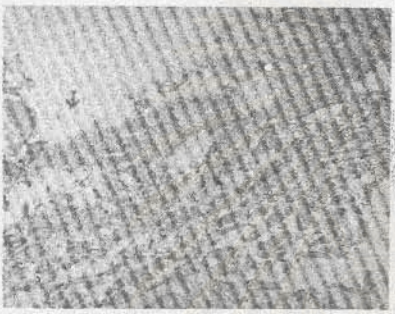
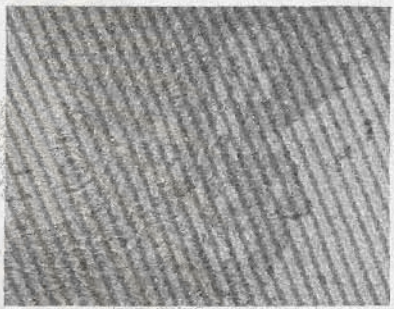
การตรวจหาพยาธิสภาพของปลาช่อน 5 ตัว พบแผลแบบเรื้อรัง และแผลเริ่มเป็นที่บริเวณผิวหนัง ครีบหางและลำตัว เนื้อใต้เกล็ด เหงือก หัว และตา จำนวน 19 แผล ได้ตัดชิ้นเนื้อเยื่อบริเวณแผลตรวจหาเส้นใยใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบแผลที่มีเชื้อราขึ้นอยู่แล้ว จึงตัดชิ้นเนื้อบริเวณแผลเดิมของแต่ละแผล และอวัยวะภายใน ตั้งแต่บริเวณช่องปากจนถึงทวาร นำทุกชิ้นส่วนดองในฟอร์มาลินและผ่านกระบวนการตัดย้อมสีธรรมดาและการย้อมสีพิเศษ GMS (Gomori methenamine Silvernitrate) และ PAS (Periodic rcid–Schiff stain) (2) เนื้อเยื่อหนา 3–6 μ ทำเป็นสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาพยาธิสภาพต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้ตรวจพบสายใยเป็นท่อกลวงไม่มีผนังกั้น และแยกได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี baiting technique จำแนกเชื้อเป็น *Achlya sp.* พยาธิสภาพของแผลเป็นชนิดเรื้อรัง เมื่อศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ พบการต่อต้านโรคเป็นแบบแกรนูโลม่า ดังภาพที่แสดงรูปที่ 1 ถึงรูปที่ 8

สรุปได้ว่าเชื้อนี้ทำให้เกิดโรคในปลา และมีการแสดงออกของเนื้อเยื่อปลาต่อเชื้อโรค เป็นแบบแกรนูโลม่าที่กล้ามเนื้อตามลำตัว กล้ามเนื้อหลังม่านตา จากผิวนอกเข้าด้านในไม่พบสายใยในบริเวณอวัยวะภายใน ไม่พบรายงานว่าราชนิดนี้สร้างสารพิษ (toxin) รากลุ่มนี้บางชนิดทำให้เกิดโรคปลา (3,4) แต่ยังไม่มีใครจำแนกว่าเป็นเชื้อ *Achlya sp.* มาก่อน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 1–2 1. แผลที่ผิวหนัง
(×40, ×40) 2. เนื้อเยื่อถลอกเสบของตา

รูปที่ 3–4 3. พบสายใยของราไม่มีผนังกั้นที่ผิวหนัง
(×100, ×100) 4. สายใยเชื้อราที่อยู่ในแกลนูโลม่าของเนื้อเยื่อตา

รูปที่ 5–6 5. แสดงแกลนูโลมาเบื่นรูปกลมและรี
(×100, ×400) 6. แสดงแกลนูโลมาที่ขยายใหญ่

รูปที่ 7–8 7. ย้อมสีพิเศษ GMS
(×100, ×400) 8. แสดงสายใยเจริญที่หลังนัยตา (ม่านตา)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายแพทย์ชาติ พิชญางกูร ที่กรุณาให้ความสะดวกในการทำสไลด์ถาวรพร้อมทั้งให้ความรู้ทางด้านพยาธิวิทยา และขอขอบคุณ สัตวแพทย์รบิล รัตนพานี ที่กรุณาให้ยืมหนังสือทางพยาธิวิทยาของปลา

เอกสารอ้างอิง

1. Alexopoulos, D. J. & C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology 3rd E.d., John Wiley & Sons, N.Y., p. 150-188
2. Beneke, E.S., & A. L. Rogers. 1980 Medical Mycology Manual 4th E.d., Burgess Publishing Comp. Minnesota, U.S.A., p. 130-145
3. Ribelin, W. E. and G. Migaki 1975. The Pathology of Fishes. The Univ. of Wisconsin Press., p. 87-116
4. Scott, W.W., 1964 Fungi Associated with Fish disease. Develop, Ind. Microbiol., 5: 109-118
5. Rippon, J. W. 1974. Medical Mycology the Pathogenic Fungi and Pathogenic Actinomycetes, W. B. Saunders Comp. London. p. 430-448

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาเบื้องต้นของเชื้อไวรัสกับโรคระบาดของปลา 26

*ระบิล รัตนพานี
*วัฒนา วัฒนวิจารณ์
*เทอด เทศประทีป
*สุมิตรา วัฒโนดร
**วราภรณ์ ศุกลพงษ์
**ศิริเพ็ญ เวชชการัณย์
**อัมพร อิ้งปกรณ์แก้ว

* คณะสัตวแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การตรวจพบเชื้อไวรัสในเซลล์ของตับปลาเป็นโรคระบาดด้วยกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอน ไม่สามารถจำแนกชนิดไวรัสได้ชัดเจน เชื้อไวรัสพบใน membrane–bound bodies ซึ่งมีขนาดและตำแหน่งใกล้เคียงกับ intracytoplasmic, acidophilic inclusions ความเกี่ยวข้องระหว่างเชื้อไวรัสกับโรคระบาดปลาเป็นเพียงข้อสมมติฐานยังจำเป็นต้องศึกษาทดลองต่อไป

Preliminary Report on Fish Virus in Snakehead Fish

Rabin Ruttanaphani
Wattana Wattanavijarn
Ted Tesprateep
Sumittra Wattanodorn
Varaporn Sukolapong
Siripen Vethchagarun
Amporn Eongprakornkean

Abstract

Electron microscopic study of the hepatic cells from snakehead fish *(Ophicephalus striatus)* that died during a recent epidemic in Thailand was carried out. Virus paticles within the membrane-bound body in the hepatic cytoplasm were observed. It can't be inculded in the known family of fish viruses.

บทนำ

ความรู้เกี่ยวกับเชื้อไวรัสในปลายังเป็นของใหม่ โดยเฉพาะในประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับเชื้อไวรัสที่เกิดจากเชื้อไวรัสในปลา ถึงแม้ในต่างประเทศก็มีนักวิชาการผู้รู้และผู้เล่นเกี่ยวกับไวรัสในปลาน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาเรื่องของเชื้อไวรัสในสัตว์และในคน Liversidge & Munro (1978) ได้จำแนกไวรัสที่ทำให้เกิดโรคในปลาตามลักษณะรูปร่างขนาดของไวรัส องค์ประกอบทางเคมี และตำแหน่งที่พบและการเพิ่มจำนวนของไวรัส มีไวรัสไม่กี่ชนิดที่สามารถจำแนกได้ การระบาดของโรคปลา '26 ระหว่างเดือน ธันวาคม 2525–

มกราคม 2526 ในประเทศไทย ซึ่งเป็นโรครุนแรงในปลาช่อนนั้น แม้ว่าการศึกษาทางการแยกเชื้อระบาดวิทยา และพยาธิวิทยา จะยืนยันแน่ชัดว่า เกิดจากโรคติดเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟีล่าก็ตาม เนื่องจากความรุนแรงของโรคไม่เคยปรากฏมาก่อน จึงจำเป็นต้องหาเชื้ออื่นๆ ทั้งทางแบคทีเรียและไวรัส ซึ่งอาจเป็นตัวทำให้เกิดโรคไปพร้อมๆกัน หรือเป็นตัวเสริมให้เชื้อแอโรโมนาส ไฮโดรฟีล่าเพิ่มความรุนแรงก็ได้ คณะผู้วิจัยจึงให้ความสนใจในการตรวจหาเชื้อไวรัส

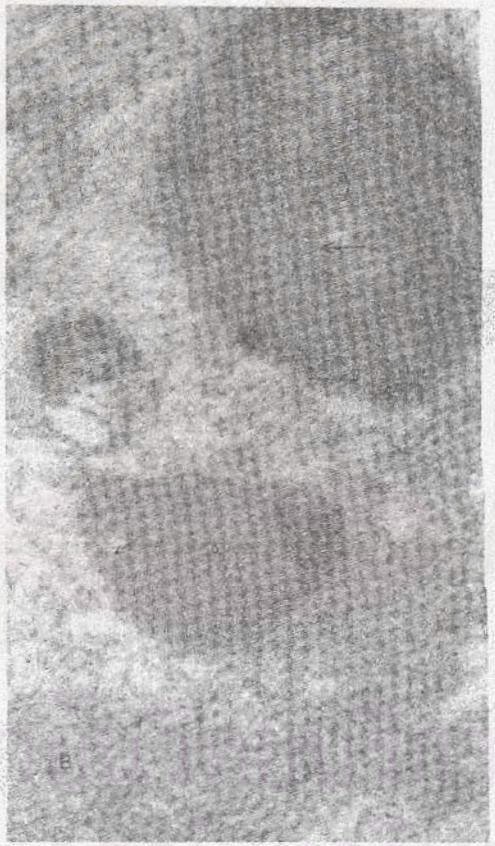
อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาป่วยซึ่งนำมาจากหลายแหล่ง เช่น สุพรรณบุรี สมุทรปราการ นำมาเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาทั้งในกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง โดยเก็บใน Buffer formalin และเตรียมเนื้อเยื่อโดยวิธีฝังพาราฟีน ส่วนการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอน เก็บชิ้นเนื้อใน glutaraldehyde และฝังใน Epon–aradite

การศึกษาความเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ โดยเฉพาะในระดับกล้องจุลทรรศน์ แสงสว่างได้แยกรายงานไว้ในวารสารวิจัยของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ฉบับโรคระบาดปลาในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาเชื้อไวรัส ได้ตรวจพบ intracytoplasmic inclusions ในเซลล์ hepatocytes ของตับ และ renal tubular cells ของไต inclusions ดังกล่าวมีลักษณะกลม ติดสีแดง (acidophilic) เมื่อย้อมด้วย H & E และติดสีแดงเมื่อย้อม Shorr's S_3 stain พบว่า inclusions มีหลายขนาด ตั้งแต่ 3–7 ไมครอน

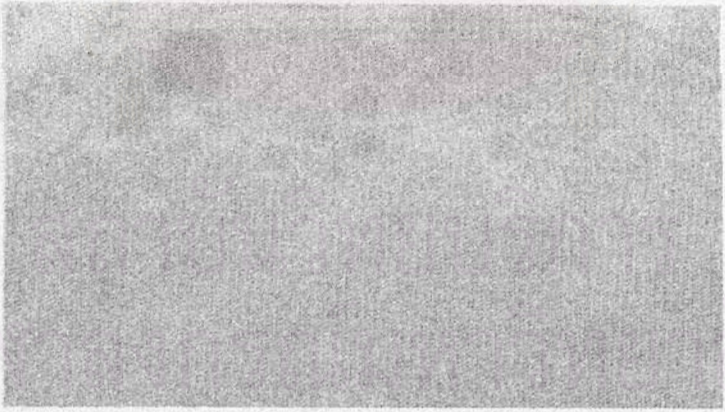
จากการศึกษาทางกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนในเซลล์ของตับ พบโครงสร้างบุหุ้มด้วยแผ่นผนัง 2 ชั้น โครงสร้างดังกล่าวพบอยู่ใน cytoplasm มีหลายขนาดและวัดได้ใกล้เคียงกับ inclusions ที่พบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างภายในโครงสร้าง membrane–bound bodies นี้จะประกอบด้วยสารซึ่งทึบด้วยอีเล็ก-

ตรอน นอกจากนั้นจะพบเชื้อไวรัสอยู่เป็นกลุ่มกระจายอยู่ทั่วไประหว่างสารทึบอีเล็กตรอนนั้น ไวรัสมีลักษณะกลม ขนาดของไวรัสโดยเฉลี่ย 75 nm. (มีตั้งแต่ 50–80 nm.) ในบางตำแหน่งผนังของโครงสร้าง membrane–bound body แตกออกจะพบเชื้อไวรัสออกไปด้วย

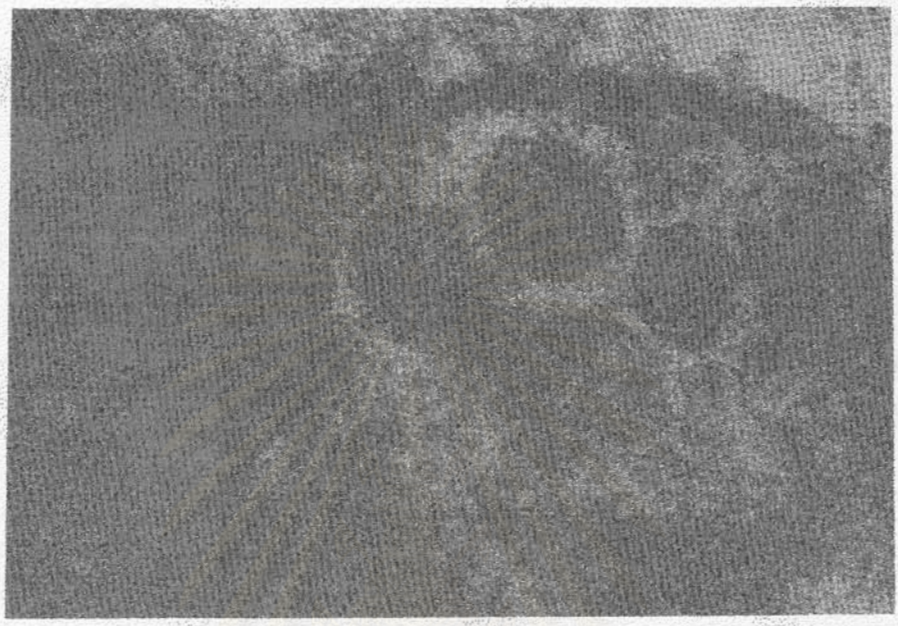


รูปที่ 1 ภาพจุลทรรศน์อีเล็กตรอนของเซลล์ตับปลาช่อนใน cytoplasm พบโครงสร้างทึบอีเล็กตรอนมีผนังหุ้ม (membrane–bound bodies) (A) ภายในจะพบกลุ่มของไวรัสกระจายอยู่ทั่วไป (ลูกศร) mitochondria มีลักษณะบวม cristae ถูกทำลายหมด (B) กำลังขยาย 40,000 ×

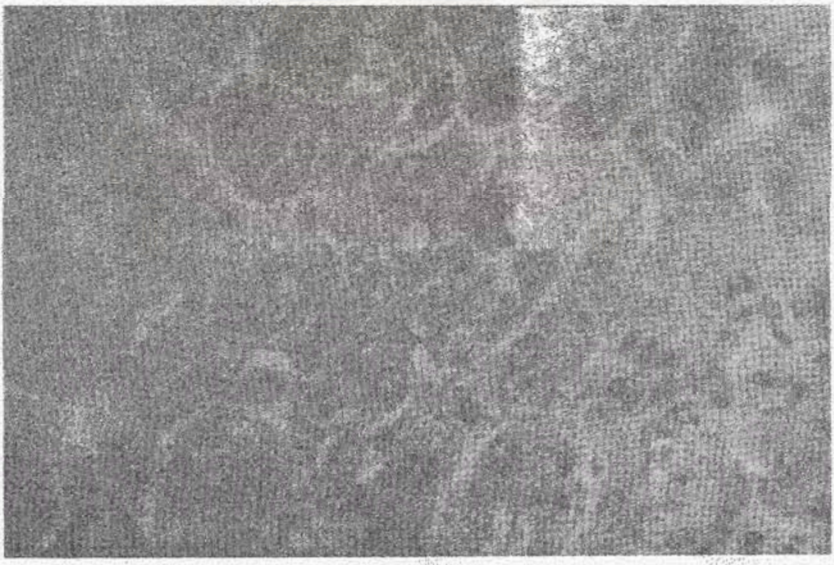
รูปที่ 2 ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงกลุ่มของไวรัสที่พบภายใน membrane-bound bodies กำลังขยาย 80,000 ×



รูปที่ 3 ภาพขยายของรูปที่ 2 กำลังขยาย 120,000 ×



รูปที่ 4 ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงรายละเอียดของไวรัส กำลังขยาย 400,000×



รูปที่ 5 ภาพจุลทรรศน์แสงสว่าง ตับปลาช่อน แสดง intracytoplasmic inclusions (ลูกศร)

วิจารณ์

การตรวจพบเชื้อไวรัสหรือ virus-like particles ทำให้เกิดปัญหาที่ต้องหาคำตอบมากมาย ประการแรก ชนิดของไวรัส โดยตำแหน่งและโครงสร้างของ particles น่าจะเป็น RNA virus, Wolke & Chang (1983) ให้ความเห็นว่าอาจเป็นไวรัสตัวใหม่ โดยใช้คำว่า "new disease" ซึ่งแสดงว่าเป็นไวรัสที่อาจไม่มีใครได้ศึกษาและรายงานไว้ ประการที่สอง Virus-like particles ที่ตรวจพบเป็นสาเหตุของโรคด้วยหรือไม่นั้นหมายความว่า โรคระบาดปลาคราวนี้อาจมีทั้งโรคจากเชื้อแบคทีเรียและไวรัสไปพร้อมกัน หรือเชื้อไวรัสเป็นแต่เพียงเสริมความรุนแรงของเชื้อแบคทีเรีย ปัญหาแรกเกี่ยวกับไวรัสเป็นเหตุแห่งโรค ยังไม่สามารถยืนยันได้ ขณะนี้ยังดำเนินการศึกษา โดยแยกเชื้อไวรัสแล้วนำไปทดลองในเซลล์ของไตปลาช่อน (primary kidney cell culture) ซึ่งขณะนี้สามารถเลี้ยงเซลล์ของไตได้แล้ว ส่วนประการหลัง ไวรัสจะช่วยเสริมความรุนแรงของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่านั้น โดยที่เชื้อน่าจะเป็น RNA virus หรือกระตุ้นการสร้าง RNA ภายในเซลล์มากขึ้น จึงเป็นตัวทำให้พิษของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เพิ่มความรุนแรงมากขึ้นหลายเท่าตัว, Olivier et al (1981) ได้กล่าวถึงการทดลองพิษของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า พบว่า Toxigenic activities (Hemolysin, dermatonecrotic factor, enterotoxin) จะเพิ่มความรุนแรงขึ้น 3-5 เท่า เมื่อเติม RNA หรือแอมโมเนียมซัลเฟต ประการที่สาม membrane-bound bodies เป็นอะไร และมีความสัมพันธ์กับ inclusions ที่เห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างอย่างไร ลักษณะโครงสร้างใน membrane-bound body นอกเหนือจากเชื้อไวรัสแล้วก็จะเป็นโปรตีนที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงจนไม่สามารถเห็นโครงสร้างปกติของ body เหลืออยู่เลย ความน่าจะเป็นไปได้ของโครงสร้างนี้อาจเป็น mitochondria ที่เปลี่ยนไป หรืออาจเป็น lysosome หรือ autophagosome ซึ่งจำเป็น

จะต้องพิสูจน์โดยตรวจหาความเปลี่ยนแปลงระยะเริ่มต้นต่อไป การที่โครงสร้าง membrane-bound bodies ตำแหน่งที่พบขนาดของโครงสร้างนี้ สอดคล้องกับ inclusion bodies ซึ่งตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง จึงน่าจะเชื่อได้ว่า membrane-bound bodies และ inclusion มีความสัมพันธ์กัน

References :

Liversidge. J. and Munro. A.L.S. (1978) The Virology of Teleosts in Fish Pathology. edited by Ronald J. Roberts. Bailliere Tindall, Lon. p. 114-143.

Olivier G., Lallier, R. and Lariviere S. (1981). A Toxigenic profile of Aeromonas hydrophila and Aeromonas sobria isolated from fish. Can. J. Microbid. Vol. 27 p. 330-333.

Wolke R.E., and Chang P.W. (1983). Personal communication. Fish Pathology & Fish Virology Sections. University of Rhode Island, U.S.A.

แอร์โรโมแนส โซเบรีย : เชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของโรคในปลา

ศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง
จุไรรัตน์ นิลกุล
ศรีสุรางค์ ตันติมาวานิช

ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ระหว่างเดือน ธันวาคม 2525 ถึงกุมภาพันธ์ 2526 ได้มีการระบาดโรคติดเชื้อในปลาอย่างกว้างขวาง ทั้งภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย ผู้วิจัยได้รับมอบหมายจากกระทรวงสาธารณสุขให้ศึกษาโอกาสการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากปลามาสู่คน จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบเชื้อที่แยกได้จากปลา และคนทางชีวเคมี แยก species, จำแนกกลุ่มและตรวจสอบ antibiogram พบว่าเชื้อที่แยกได้จากปลาเป็น *Aeromonas sobria* 39 จาก 50 (78 %) ส่วนที่เหลือเป็น *A. hydrophila* เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่แยกได้จากอุจจาระจากผู้ป่วย 61 ราย พบว่าเป็น *A. sobria* เพียง 19 ใน 61 หรือ 31 % แสดงว่าโอกาสการเกิด zoonosis จากการระบาดจากปลาครั้งนี้มีน้อย

Aeromonas sobria : A causative agent of fish infection

Samaniya Sukroongreung
Churairatana Nilakul
Srisurang Tantimavanich

Department of Clinical Microbiology Faculty of Medical Technology. Mahidol University.

Abstract

To evaluate the possibility of zoonosis spreading from the outbreak of fish injection in Thailand in 1982–1983, aeromonas were isolated from infected fish and human diarrhic slool. Thirty-nine out of 50 fish isolates, and 19 out of 61 human isolates were *Aeromonas sobria* (the rest was *A. hydrophila*). The results which are statistically significant difference reflect that the possibility of zoonosis was low.

จากปรากฏการณ์โรคระบาดในปลาปลายปี 2525 และต้นปี 2526 ทำให้ปลาน้ำจืดบริเวณภาคกลางและภาคใต้ตายเป็นจำนวนมหาศาล ซึ่งมีผู้พบว่าเชื้อที่แยกได้จากปลาเป็น *Aeromonas hydrophila* นอกจากนั้นการตรวจสอบทาง histopathology ก็สนับสนุนการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2526)

เนื่องจาก *A. hydrophila* เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งของโรคอุจจาระร่วง รวมทั้งก่อให้เกิดการติดเชื้อรุนแรงในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันโรคต่ำ การศึกษาครั้งนี้เพื่อตรวจสอบว่า เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในปลาจะมีโอกาสมากน้อยเพียงไรที่จะติดต่อไปยังคน ตามเจตนารมณ์ของกระทรวงสาธารณสุข (คณะกรรมการป้องกันโรคระบาดจากปลาสู่คน –2526)

อุปกรณ์และวิธีการ

แยกเชื้อ aeromonas จากแผลของปลาที่ติดโรค จากจังหวัดภาคกลาง จำนวน 50 เชื้อ และเชื้อจากอุจจาระผู้ป่วยที่เป็นโรคอุจจาระร่วง ระหว่างมกราคม–กุมภาพันธ์ 2526 มาศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยตรวจสอบปฏิกิริยาดังนี้ oxidase, TSI, IMVC (indol, methyl red, Voges–Proskauer, Simmon citrate) Lysine–, ornithine decarboxylase, arginine dehydrolase, phenylalanine deammonation, uterization of malonate, salicin fermentation, KCN, esculin hydrolysis, motile, gas formation และดูการเจริญใน peptone broth ที่ไม่มีเกลือ นอกจากนั้นยังทดสอบปฏิกิริยา agglutination กับ O group I *Vibrio* antisera

ปฏิกิริยาชีวเคมีทั้งหมดอบที่ 30° ซ. อ่านผลที่ 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 4 วัน

เชื้อที่วินิจฉัยว่าเป็น Aeromonas จะมีลักษณะดังนี้ ให้ผล oxidase บวก ย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสให้ผล ornithine decarboxylase ลบ เจริญได้ใน peptane ที่ไม่มีเกลือ เคลื่อนไหวได้ ให้ผลลบกับ O group I Vibrio antisera มี hemolysis บน blood agar สำหรับเชื้อการวินิจฉัย species ใช้ตามหลักของ Popoff และ Véron (1976) เชื้อที่ hydrolysed esculin ย่อยสลาย salicin และขึ้นบน KCN broth ได้ถือว่าเป็น *A. hydrophila* ส่วน *A. sobria* ให้ผลลบกับปฏิกิริยาดังกล่าวทั้งหมด

ได้ทำ antibiogram ของเชื้อที่แยกได้โดยวิธี agar diffussion เพื่อประโยชน์ในการศึกษาต่อไป

ผลการทดลอง

เชื้อจากปลา 39 จาก 50 เชื้อ เป็น *A. sobria* ส่วนจากอุจจาระคนจำนวน 61 เชื้อ เป็น *A. sobria* เพียง 19 เชื้อ ที่เหลือเป็น *A. hydrophila* ทั้งหมด ซึ่งความแตกต่างนี้มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เมื่อนำเชื้อมาแยก biogroup โดยใช้ปฏิกิริยา IMVC แยกเชื้อออกได้เป็น 11 กลุ่ม รูปที่ 1 พบว่าเชื้อทั้งที่แยกได้จากปลาและคนอยู่ใน biogroup 4 มากที่สุด นอกจากนั้นเชื้อที่แยกได้จากปลาจากทั้ง 13 จังหวัดก็มี biogroup กระจายทั่ว ๆ ไป รูปที่ 2

การตรวจสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่แยกได้จากคนและปลาไม่แตกต่างกันมากนัก ที่แตกต่างกันชัดเจน เป็นที่ species เชื้อ *A. hydrophila* ส่วนใหญ่ดื้อต่อ cephalothin และ erythromycin มากกว่า *A. sobria* (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงผล antibiograms ของเชื้อ *Aeromonas* คิดเป็น % ของเชื้อที่ไวต่อยา

ยาปฏิชีวนะ	A. hydrophila		A. sobria	
	ปลา (11)	คน (36)	ปลา (39)	คน (19)
Gentamicin	100	100	100	100
Amikacin	100	100	100	100
Tobramycin	100	97.2	96	89.5
Carbenicillin	0	27	12	21.1
Sulfamethoxazole + trimetoprim	100	91.7	98	100
Cephalothin	20	5.7	82	57.9
Streptomycin	86.7	80.5	80	94.7
Kanamycin	86.7	94.4	80	89.5
Neomycin	100	86.1	96	73.6
Colistin	26.7	30.5	42	57.9
Tetracycline	66.7	94.4	88	73.7
Chloramphenicol	100	97.2	98	84.2
Erythromycin	18.2	26.7	73.5	50

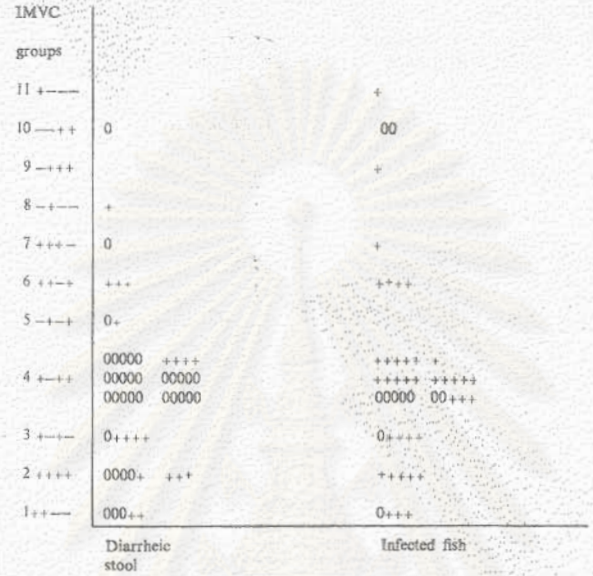
วิจารณ์และสรุป

การที่นำเอาการแยก species ของเชื้อ ของเชื้อ *Aeromonas* ตามวิธีของ Popoft และ Véron (1976) มาใช้ เนื่องจากมีหลักฐานที่น่าเชื่อถือ Shaw และ Hodder (1978) แสดงให้เห็นว่า core ของ lipopolysaccharides ของ *A. hydrophila* และ *A. sobria* มี carbohydrate moieties แตกต่างกัน ส่วน Oliver

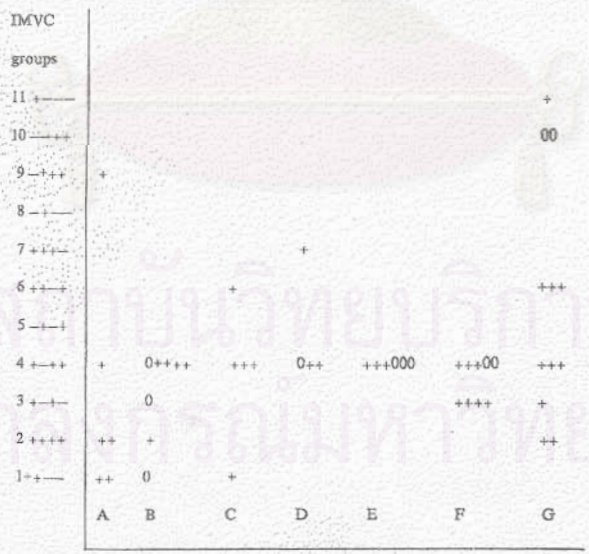
และคณะ (1981) พบว่าสอง species นี้มีสารพิษแตกต่างกัน เขาพบว่าเฉพาะเชื้อ *A. hydrophila* เท่านั้นที่สร้างสารที่มีพิษต่อผิวหนัง และสร้าง hemolysin (s) ที่อุณหภูมิ 10° ซ. และ 30° ซ. ส่วน *A. sobria* นอกจากจะไม่สร้างสารที่เป็นพิษต่อผิวหนัง แล้วยังสร้าง hemolysin เฉพาะที่ 30° ซ. เท่านั้น

จากผลการทดลองจะพบว่า เชื้อที่แยกได้จากปลาส่วนใหญ่เป็น *A. sobria* ส่วนที่แยกได้จากอุจจาระคนส่วนใหญ่เป็น *A. hydrophila* เชื้อแยกได้จากปลามี biogroup แตกต่างกันไปหลาย ๆ ชนิด เช่นเดียวกับที่แยกได้จากคน และส่วนใหญ่เชื้อที่น่าจะเป็นตัวก่อโรคเหล่านี้อยู่ใน IMVC biogroup 4 (+ − + +) ซึ่ง biogroup นี้อาจมีความเกี่ยวพันธ์กับการก่อโรคก็ได้ ผลการทดลองความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะก็สนับสนุนการทดลองตอนต้น เพราะเชื้อ 2 species นี้มี antibiogram ต่างกัน

สรุป species ของเชื้อที่แยกได้จากแผลที่ปลา แตกต่างจากที่แยกได้จากคนโดยมีนัยสำคัญทางสถิติ IMVC biogroup ของเชื้อที่แยกได้จากปลาตามจังหวัดต่าง ๆ กระจายอยู่ใน 11 กลุ่ม แสดงให้เห็นชัดเจนว่าการเกิดโรคระบาดติดเชื้อในปลาปี 2525–2526 ไม่ได้เกิดจากการระบาดของเชื้อเพียงชนิดเดียวแพร่กระจายออกไปเหมือนกับโรคติดเชื้อที่ระบาดในคน จึงน่าจะมีสาเหตุอื่น ๆ เป็นองค์ประกอบร่วมด้วย เช่นอุณหภูมิที่ลดต่ำเป็นพิเศษและเป็นระยะเวลานานในปี 2525 ต่อปี 2526 หรือความหนาแน่นของปลา ความหนาแน่นของอินทรีย์วัตถุ และจำนวนออกซิเจนในน้ำน่าจะเป็นสาเหตุร่วมด้วย โรคระบาดในปลาที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคในคน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคอุจจาระร่วง ดังนั้นโอกาสที่โรคติดเชื้อในปลาจะแพร่กระจายมายังคนจึงมีน้อยมาก



รูปที่ 1 การกระจายของ IMVC biogroup ของ *A. hydrophila* (o) และ *A sobria*(+)



รูปที่ 2 การกระจายของ IMVC group ของ *A. hydrophila* (o) และ *A. sobria* (+) ที่แยกได้จากปลา A = กรุงเทพฯ B = สุพรรณบุรี C = สมุทรสาคร D = นครสวรรค์ E = อ่างทอง F = เพชรบูรณ์และปราจีนบุรี G = ไม่ทราบแหล่งที่มา

เอกสารอ้างอิง

1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข รายงานการตรวจเรื่อง โรคระบาดในปลาในเดือนมกราคม พ.ศ. 2526 กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2526

2. Oliver G, Lallier, R. and Lariviere S. A toxigenic profile of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* isolated from fish. Can J Microbiol 27 : 330, 1981.

3. Popoff M., and Véron M. A taxonomy study of Aeromonas *hydrophila*–Aeromonas punctata group. J Gen Microbiol 94 : 11, 1976.

4. Shaw DH, and Hodder HJ. Lipopolysaccharides of motile Aeromonads; core oligosaccharide analysis as an aid to taxonomic classification. Can J Microbiol. 24 : 864, 1978.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรคระบาดในปลาน้ำจืด สาเหตุจากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในประเทศไทย

เกรียงศักดิ์ พูนสุข

อรวรรณ นวีภาพ

เยาวภา เจิงกลีนจันทร์

วัฒนา วัฒนวิจารณ์

เกรียงศักดิ์ สายธนู

โสมทัต วงศ์สว่าง

หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การระบาดของโรคในปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะปลาช่อนระหว่างปลายปี 2525 และต้นปี 2526 พบว่าเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดในครั้งนี้ เชื้อนี้สามารถแยกได้จากบริเวณแผลเหงือก ตับ และ เลือดของปลาช่อนป่วยโดยพบเป็นร้อยละ 96.7, 96.5, 87.5 และ 100 % ตามลำดับ

The Outbreak of Aeromonas hydrophila infection in fresh water fish in Thailand.

Kriengsak Poonsuk
Orawan Navephap
Jaowapa Jerngklinchan
Wattana Watanavijarn
Kriengsag Saitanu
Somatat Wongsawang

Devision of Microbiology, Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The bacteria Aeromonas hydrophila was found to be the etiologic agent in fish disease occurred in Thailand between late 1982 and early 1983. This organism could be demonstrated from diseased mud-fish (Opicephalus striatus) from necrotic skin, gill, liver and blood; 96.7%, 96.5%, 87.5%, and 100% respectively.

บทนำ

ตามที่ได้เกิดโรคระบาดอย่างรุนแรงในปลาน้ำจืดทั่วไปทั้งในบ่อเลี้ยงและตามลำน้ำธรรมชาติโดยเฉพาะในปลาช่อนนั้น เท่าที่ได้ติดตามมาตั้งแต่เดือนกันยายน 2525 จากปลาช่อนที่จับได้จากบริเวณคลองรังสิต จ. ปทุมธานี ซึ่งมีลักษณะเป็นแผลเน่าตายตามบริเวณลำตัวและโคนหาง ต่อมาพบว่าโรคที่มีลักษณะเช่นนี้ในบ่อเลี้ยงปลาที่ อำเภอบางปลาม้า จ. สุพรรณบุรี และตาม

แหล่งน้ำธรรมชาติ ที่จังหวัดอยุธยา อ่างทอง นครสวรรค์ นครปฐม ราชบุรี ฉะเชิงเทรา และสมุทรปราการ เป็นต้น การระบาดของโรคในครั้งนี้นับว่าได้ทำความเสียหายอย่างมาก ซึ่งไม่สามารถที่จะประเมินได้ นอกจากปลาช่อนแล้วยังพบว่าปลาชนิดอื่น ๆ ก็เป็นโรคในลักษณะเดียวกัน เช่น ปลาบู่ ปลาสวาย ปลากระดี่ ปลาไหล และปลากริม โรคแผลที่เกิดกับปลาช่อนนั้นได้เคยรายงานมาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์ 2523[n.]) กล่าวถึงโรคเกล็ดหลุดและแผลในปลาช่อนเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า โรคติดเชื้อซึ่งเกิดจากแบคทีเรียชนิดนี้ในสัตว์น้ำต่าง ๆ นั้นได้เคยมีผู้รายงานอยู่เสมอ ๆ เช่น ในปลาดุก (เกรียงศักดิ์ และคณะ ๆ, 2519), (พัชรี และคณะ ๆ, 2522), ในปลาสวาย (วารินทร์ และเกรียงศักดิ์, 2522), ในกบ (โสมทัต และคณะ ๆ, 2525) โดยปกติแล้ว แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า พบได้ทั่วไปในน้ำและเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคชนิดต่าง ๆ จากรายงานของต่างประเทศ (Newman, 1982, Hazen et al, 1978) ซึ่งเชื่อว่าการเพิ่มจำนวนของเชื้อในน้ำสูงขึ้นเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคในปลาได้ (Hazen and Fliermans, 1979)

จุดมุ่งหมายในการรายงานครั้งนี้เพื่อแสดงให้เห็นว่าในการระบาดของโรคในปลาน้ำจืดชาติเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เป็นสาเหตุสำคัญ

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาป่วย

ได้ทำการเก็บตัวอย่างปลาที่เป็นโรคทั้งที่ตายแล้วและยังมีชีวิตอยู่ จำนวน 58 ตัวอย่าง โดยเริ่มเก็บตั้งแต่วันที่ 3–12 มกราคม 2526 เป็นปลาต่าง ๆ ดังนี้ คือ ปลาช่อน ปลาสลิด ปลากระดี่ ปลาไหล ปลาบู่ และปลาหลด จำนวน 48, 1, 5, 1, 2, และ 1 ตัวอย่างตามลำดับ ปลาดังกล่าวทำการเก็บจากแหล่งต่าง ๆ ดังนี้ คือ จังหวัดฉะเชิงเทรา อำเภอพานทอง จ. ชลบุรี อ. บางปลาม้า

จ. สุพรรณบุรี อ. กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร จำนวน 12, 13, 26 และ 7 ตามลำดับ ตัวอย่างทั้งหมดถูกเก็บไว้ในถุงพลาสติกใช้ยางรัดให้แน่น และแช่เย็นในถังเก็บความเย็นซึ่งหล่อด้วยน้ำแข็งอุณหภูมิจะอยู่ระหว่าง 5–10°ซ. แล้วนำมายังห้องปฏิบัติการเพื่อทำการตรวจและเพาะแยกเชื้อทันที ในกรณีที่ไม่สามารถกระทำได้ในวันเดียวกัน ตัวอย่างจะถูกถ่ายไปเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5°ซ. เพื่อทำการแยกเชื้อในวันต่อไป ตัวอย่างทั้งหมดหลังจากเก็บมานานเกิน 48 ชม. จะไม่นำมาแยกเชื้อและจะทำลายทิ้งทันที

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้เพาะแยกเชื้อใช้ Blood agar (BA) ซึ่งทางหน่วยจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้เตรียมเองโดยผสม Nutrient agar (NA) จำนวน 200 มล. กับ Citrated sheep blood จำนวน 10 มล. ซึ่ง NA มีสูตรดังนี้ คือ Bacto Peptone (Difco) 10 g, Bacto Beef Extract (Difco) 5 g, Sodium Chloride 5 g, Bacto agar (Difco) 20 g, Distilled water 1 liter, เมื่อชั่งส่วนผสมต่าง ๆ ใส่ลงไปในน้ำกลั่นแล้วนำไปต้มและคนอย่างสม่ำเสมอจนกระทั่งวุ้นละลายดีแล้ว จึงนำไปปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ให้อยู่ในระหว่าง 7.2 ± 0.1 แบ่งใส่ขวด ๆ ละ 200 มล. Sterilized ที่ 121°ซ. นาน 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 45°ซ. ± 2 ใน water bath แล้วจึงเติมเลือดแกะ เทอาหารลงในจานแก้วสำหรับเพาะเชื้อ (pour plate) ตั้งทิ้งให้วุ้นแข็งตัวแล้วจึงนำไปทำให้ผิวหน้าแห้งที่ Oven อุณหภูมิ 50°ซ. นาน 10–15 นาที ก่อนนำมาใช้

วิธีการ

นำปลาที่จะทำการแยกเชื้อมาวางบนถาดอะลูมิเนียม แล้วใช้เหล็กแบนเผาไฟจนร้อนนาบลงไปบริเวณที่เป็นแผล เพื่อฆ่าเชื้อที่อาจจะปะปนมาตามผิว

นอกของแผล แล้วค่อย ๆ ใช้กรรไกรที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วตัดเอาเนื้อส่วนนอกของแผลทิ้งไป ตัดเอาส่วนเนื้อในของแผลแล้วใช้ปากคีบ ๆ ออกมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนต่อไปใช้ปากคีบเปิดส่วนของ Operculum ออกแล้วค่อย ๆ ใช้เข็มป้ายเชื้อ (inoculating loop) สอดเข้าไปป้ายเอาส่วนของเหงือกออกมาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นจึงใช้เหล็กที่เผาไฟให้ร้อนนาบลงไปบริเวณส่วนท้องของปลาให้ทั่ว แล้วใช้กรรไกรเปิดผ่าช่องท้องออกมาเพื่อเปิดหาส่วนของตับและหัวใจ ใช้กรรไกรตัดชิ้นส่วนของตับมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อและตัดเอาส่วนของหัวใจวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน แล้วจึงใช้เข็มป้ายเชื้อเกลี่ย (streak) ชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่แยกมาจากเนื้อแผล เหงือก ตับและหัวใจ แล้วนำไปอบเพาะที่ตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 37°ซ. ± 0.1 นาน 16–18 ชั่วโมง

หลังจากอบเพาะแล้วนำจานเพาะเชื้อที่เพาะแยกจากส่วนต่าง ๆ ดังกล่าวทำการตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียที่แสดงลักษณะ Haemolysis ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งที่จะบอกว่าเป็นเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ถ่ายเชื้อที่มีลักษณะดังกล่าวลงบน Blood agar ใหม่นำไปอบเพาะที่ 37°ซ. นาน 18–24 ชั่วโมง เพื่อทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (purified) และทำซ้ำอีกครั้งหนึ่งเพื่อให้เชื้อบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น

เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจึงนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อยืนยันการพิสูจน์เชื้อต่อไปตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523ข. เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ , 2526ข.)

ผลการศึกษา

ลักษณะของปลาที่เป็นโรคอย่างรุนแรงพบว่ามีแผลเปื่อยลักษณะเน่าตาย (necrotic ulceration) เป็นหย่อม อยู่ตามลำตัว โคนหาง บริเวณหัว บางราย

แผลลุกลามมากจนถึงกับให้ส่วนหางขาดหลุดออกไป ในบางรายอาจจะไม่พบลักษณะแผลเลย ซึ่งเข้าใจว่าโรคเกิดอย่างเฉียบพลันซึ่งพบกับปลาขนาดเล็กในบ่อเลี้ยง บางครั้งจะพบเฉพาะส่วนที่แสดงลักษณะผื่นแดง (Hyperemia) ตามเกล็ดและผิวหนัง และครีบหาง (caudal fin) ได้ขาดหายไป จากการผ่าซาก (autopsy) พบลักษณะผิดปกติบริเวณตับ และอวัยวะภายในอื่น ๆ โดยเฉพาะตับจะพบมีขนาดเล็กลง สีซีด และจุดเน้อตาย (necrotic foci) ทั่วไปในเน้อตับ

จากการเพาะเชื้อจากอวัยวะต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว (เน้อจากแผล ตับ เลือดจากหัวใจและเหงือก) จะพบว่ามีแบคทีเรียชนิดเดียว (pure culture) เกือบทุกตัวอย่าง นอกจากเหงือกเท่านั้นที่อาจพบแบคทีเรียชนิดอื่นปะปนมาบ้าง เช่น Proteus spp. (ซึ่งจะแสดงลักษณะ swarming บนอาหารเลี้ยงเชื้อ) พวก Haemolytic colony ที่มีลักษณะนูนเล็กน้อย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5–2 มม. พวกนี้หลังจากการพิสูจน์คุณสมบัติทางชีวเคมี (เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ, 2526 ข.) แล้วพบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

การแยกหาพวก Haemolytic Bacteria จากอวัยวะต่าง ๆ ของปลาทุกชนิด 58 ตัวอย่าง พบว่าในเน้อปลาตรวจหาเชื้อพบได้ถึง 40 ตัวอย่าง (68.9%) จากตับ 55 ตัวอย่าง พบเชื้อ 47 ตัวอย่าง (85.4%) จากเลือด 16 ตัวอย่าง พบเชื้อ 14 ตัวอย่าง (87.5%) และจากเหงือก 56 ตัวอย่าง พบเชื้อ 54 ตัวอย่าง (98.4%) ตารางที่ 1

การตรวจหาเชื้อจากเน้อปลาที่มีแผล และ ไม่มีแผลพบว่าจากเน้อปลาที่มีแผลชัดเจนทั้งหมด 41 ตัวอย่าง จะพบเชื้อ 36 ตัวอย่าง (87.8%) และจากเน้อปลาปกติ และ ที่แสดงลักษณะของ heperemia จำนวน 17 ตัวอย่าง พบเชื้อ 4 ตัวอย่าง (23.5%) ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า จากเนื้อ ตับ เลือด และเหงือกของปลาชนิดต่าง ๆ

อวัยวะ	จำนวนที่ตรวจพบ	คิดเป็นร้อยละ
เนื้อปลา (58)*	40	68.9
ตับ (55)	47	85.4
เลือด (16)	14	87.5
เหงือก (56)	54	98.4

( ) = จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ

* = จำนวนเนื้อปลาที่เป็นแผลและไม่เป็นแผลรวมกัน

ตารางที่ 2 ผลของการตรวจหาเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า จากเนื้อปลาทั้งหมดทั้งที่มีแผลและไม่มีแผล

ชนิดของตัวอย่าง	จำนวนที่ตรวจ	พบเชื้อ	คิดเป็นร้อยละ
เนื้อปลาจากบริเวณแผล	41	36	87.8
เนื้อปลาจากปลาที่ไม่มีแผล	17	4	23.5

ตารางที่ 3 ผลของการตรวจหาเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จากปลากระดี่ ปลาไหล ปลาบู่ ปลาสลิด และปลาหลด

อวัยวะที่ตรวจ	ปลากระดี่		ปลาไหล		ปลาบู่		ปลาสลิด		ปลาหลด	
	จำนวน	ตรวจพบ	จำนวน	ตรวจพบ	จำนวน	ตรวจพบ	จำนวน	ตรวจพบ	จำนวน	ตรวจพบ
เนื้อที่มีแผล	5	1	1	1	2	2	1	1	1	1
ตับ	5	5	1	1	2	2	1	1	1	1
เหงือก	5	5	1	1	2	2	1	1	1	1

ตารางที่ 4 ผลของการตรวจหาเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จากปลาช่อนที่มีแผลในอวัยวะต่าง ๆ

อวัยวะที่ตรวจ	จำนวนที่ตรวจพบ	คิดเป็นร้อยละ
เนื้อที่เป็นแผล (31)	30	96.7
ตับ (29)	28	96.5
เลือด (16)	14	87.5
เหงือก (29)	29	100

( ) = จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ

จากปลาช่อนทั้งหมด 31 ตัวอย่าง ที่มีแผลข้างตัว หรือบริเวณใดบริเวณหนึ่งชัดเจนสามารถตรวจพบเชื้อได้ถึง 30 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 31 (96.7%) จากตับปลาช่อน 29 ตัวอย่างพบเชื้อ 28 ตัวอย่าง (96.5%) จากเลือดปลา 16 ตัวอย่าง พบเชื้อ 14 ตัวอย่าง (87.5%) และจากเหงือก 29 ตัวอย่าง พบเชื้อทั้ง 29 ตัวอย่าง (100%) ตารางที่ 4 ส่วนผลการตรวจหาเชื้อจากปลาชนิดต่าง ๆ และอวัยวะต่าง ๆ นั้นได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

สรุปและวิจารณ์

ในตารางที่ 3 จากการแยกเชื้อจากแผลในปลากระดี่เข้าใจว่าขณะที่ทำการนาบความร้อนจากเหล็กจะไปทำลายเชื้อหมด จึงทำให้สามารถแยกเชื้อได้เพียง 1 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 5 ตัวอย่าง

เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อแบคทีเรียในตระกูล แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า พบได้ทั่วไปในน้ำและสามารถแยกได้จากสัตว์น้ำ (Newman, 1982, และ Hazen Fliermans, 1979) การระบาดของโรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในครั้งนี้นับว่ารุนแรงมาก ซึ่งเป็นไปทั้งในบ่อเลี้ยงและตามแหล่งน้ำธรรมชาติเกือบทั่วไปทั้งประเทศ ซึ่งแตกต่างจากที่เคยรายงานการระบาดมาแล้วในปลาดุก (เกรียงศักดิ์ และคณะฯ, 2519. และ เกรียงศักดิ์และเกรียงศักดิ์, 2522) โรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในปลาช่อนก็เคยมีรายงานมาแล้ว (เกรียงศักดิ์และเกรียงศักดิ์, 2523) แต่การระบาดของโรคจะจำกัดอยู่เฉพาะในบ่อเลี้ยง และ รอยโรคก็ไม่แสดงลักษณะรุนแรงเช่นการระบาดในครั้งนี้ ส่วนการระบาดในปลาและสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ก็มีแต่จำกัดอยู่เฉพาะบ่อเลี้ยงเช่นกัน หลังจากที่ได้มีโรคแผลข้างตัวระบาดขึ้นในบ่อเลี้ยงปลาดุกทั่วไปตั้งแต่ปี 2519 (เกรียงศักดิ์ และคณะฯ, 2519, พัชรี และคณะฯ, 2522) เป็นต้นมา ผู้เลี้ยงปลาในท้องที่จังหวัดภาคกลางจะหันไปเลี้ยงปลาช่อนกันเป็นส่วนใหญ่ ด้วยความเชื่อที่ว่าปลาช่อนเป็นปลาที่ทนต่อการเป็นโรคมากกว่าปลาดุกและเลี้ยงง่าย จึงทำให้พบว่าในทุก ๆ ฟาร์มจะพบบ่อเลี้ยงปลาช่อนมากกว่าปลาดุก มูลเหตุสำคัญซึ่งอาจจะพออธิบายได้ถึงสาเหตุของการเกิดโรคระบาดได้มีอยู่ 4 ประการ คือ

ประการที่ 1 เป็นที่ทราบกันดีว่าถ้าปริมาณของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่าในน้ำสูงจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อนี้ได้ง่าย (Hazen and Fliermans, 1979)

ประการที่ 2 ความนิยมในการเลี้ยงปลาทั่ว ๆ ไป ผู้เลี้ยงปลามักจะเพิ่มจำนวนปลาในบ่อเลี้ยงขึ้นเรื่อย ๆ ในแต่ละฤดูกาลเลี้ยง เช่นในครั้งแรก ปล่อยปลาได้ผลิตผล 5 ตัน ในครั้งต่อมาจะเพิ่มจำนวนปลาเพื่อให้ได้ผลิตผล 8–10 ตัน และเพิ่มอีกเรื่อย ๆ ในครั้งต่อ ๆ มาจึงทำให้ปลาเกิดการแออัดง่ายต่อการเป็นโรค

ประการที่ 3 ในการเลี้ยงปลาปัจจุบัน เมื่อปลาเกิดอาการเป็นโรคผู้เลี้ยงจะหันไปใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาหรือบางรายใช้ยาในการควบคุมโรค การใช้ยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ในเกือบทุก ๆ บ่อเลี้ยงจะพบว่าให้ยาไม่ได้สัดส่วนพอที่จะไปทำลายเชื้อได้หมดจึงทำให้เชื้อเกิดการดื้อยาโดยเปรียบเทียบ Pattern of Antimicrobial sensitivity เดิมซึ่งรายงานมาแล้ว เช่น คลอแรมเฟนิคอล, ซัลฟา-ไดอาซีน ซัลฟาไธอาโซล และ เตตราซัยคลิน, 100,100,100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (เกรียงศักดิ์และเกรียงศักดิ์, 2523 ก.) มาเป็น 57.8, 40.3, 45.6 และ 45.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในปัจจุบัน (เกรียงศักดิ์และคณะฯ, 2526 ค.) ซึ่งคล้ายกันกับที่เคยศึกษามาก่อนในระยะนี้ (เกรียงศักดิ์ และโสมทัต 2525) คือ อัตราความไวของคลอแรมเฟนิคอล เตตราซัยคลิน และซัลฟาไดอะซีน เป็น 0,0 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ประการที่ 4 บ่อเลี้ยงปลาต่าง ๆ อาจจะเป็นแหล่งสะสมแพร่เชื้อระหว่างกันและกันแล้วยังเป็นแหล่งที่แพร่เชื้อออกมายังแหล่งน้ำตามธรรมชาติด้วย

ประการที่ 5 จากการศึกษาโดย อีเล็กตรอนไมโครสโคป และการศึกษาทาง Histopathology (วัฒนา และคณะฯ, 2526) ได้พบลักษณะของ Viral–like particle ลักษณะ hexagonal และ pentagonal และที่มีลักษณะเป็นพวก Rhabdovirus พร้อมทั้งได้พบ inclusion bodies จากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาป่วยด้วย

ปลาที่เลี้ยงอย่างแออัดจะเกิดสภาวะเครียดและอ่อนแอ ทำให้ติดเชื้อได้ง่าย เมื่อมีการใช้ยาในการรักษาหรือป้องกันลักษณะยาผสมอาหาร ปริมาณของยาที่ใช้ไม่เพียงพอที่จะทำลายเชื้อได้หมด จึงทำให้เชื้อเกิดการต้านยาขึ้น ซึ่งบ่อเลี้ยงปลาดังกล่าวจะเป็นแหล่งสะสมจำนวนเชื้อไว้แล้วจึงแพร่กระจายไปยังบ่ออื่นๆ และตามแหล่งน้ำธรรมชาติ หรือเป็นไปได้ที่ไวรัสบางชนิดจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาเกิดโรค แล้วเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า จะเป็นตัวที่ทำให้โรครุนแรงขึ้น (Secondary invaders) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้ไม่มีผู้ใดในประเทศไทยที่ได้ศึกษาอย่างจริงจังว่ามีไวรัสชนิดใดบ้างที่ทำให้ปลาน้ำจืด โดยเฉพาะปลาดุก ปลาช่อน ฯลฯ เป็นโรคได้ ซึ่งจะเป็นการง่ายที่จะพิสูจน์โรคระบาดในปลาน้ำจืดครั้งนี้ได้ อย่างไรก็ตามสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายของปลา (exciting cause) ที่สามารถพิสูจน์ได้แน่นอนในครั้งนี้ก็คือ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เป็นตัวการสำคัญ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ นักการทุกคนในหน่วยจุลชีววิทยา และนิสิตชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยในงานครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้รวดเร็ว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ เกรียงศักดิ์ สายธนู, (2521). ระบาดวิทยาและการทดลองการใช้ยาปฏิชีวนะ 14 ชนิด ต่อเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า. การประชุมวิชาการ เรื่อง วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในการพัฒนาภาคเหนือ, 22–24 ธันวาคม 2521. ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, หน้า 190.
2. เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และสมชัย ตันตระวรศิลป์, (2519). โรคซึ่งเกิดจากการติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในการประชุมวิชาการสัตวแพทย์ครั้งที่ 4, ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า 35.
3. เกรียงศักดิ์ พูนสุข, เกรียงศักดิ์ สายธนู, อรวรรณ นวีภาพ, โสมทัต วงศ์สว่าง, (2526). อัตราการต้านยาของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ต่อยา 18 ชนิด เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืด. การประชุมวิชาการเรื่อง โรคระบาดในปลาน้ำจืด : 2525–2526 ณ ห้องประชุมสารนิเทศ จุฬาฯ. วันที่ 23–24 มิถุนายน 2526.
4. เกรียงศักดิ์ พูนสุข, อรวรรณ นวีภาพ, เกรียงศักดิ์ สายธนู, วัฒนา วัฒนวิจารณ์ และ โสมทัต วงศ์สว่าง, (2526). ลักษณะของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาระหว่างเดือนมกราคม 2526. การประชุมวิชาการเรื่องโรคระบาดในปลาน้ำจืด : 2525–2526. ณ ห้องประชุมสารนิเทศ จุฬาฯ. วันที่ 23–24 มิ.ย. 2526.
5. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และเกรียงศักดิ์ สายธนู, (2523). อัตราการต้านยาของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เสตรนจากปลาดุก. วารสารชมรมโรคปลา ปีที่ 3, ฉบับที่ 1, 9–14.
6. เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข, (2523). โรคเกล็ดหลุดและแผลในปลาช่อน. วารสารชมรมโรคปลา ปีที่ 3, ฉบับที่ 1, 1–7.

7. เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ วารินทร์ ธนาสมหวัง, (2522). โรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ในปลาบู่. วารสารชมรมโรคปลา ปีที่ 2, ฉบับที่ 15–21.

8. เกรียงศักดิ์ สายธนู และ โสมทัต วงศ์สว่าง, (2525). โรค Red–Sore ในปลาคาร์พ. วารสารโรคสัตว์น้ำ ปีที่ 5 ฉบับที่ 3, 79–86.

9. เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข, (2523). ลักษณะของเชื้อ แอร์-โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า. วารสารชมรมโรคปลา ปีที่ 3 ฉบับที่ 2, 71–87.

10. พัชรี สุนทรนันท์, สาวิตรี ลีมทอง, วิเชียร กิจปรีชาวณิช และ วิโรจน์ รัตนกุล, (2522). บักเตรีที่ทำให้เกิดโรคในปลาดุก. การประชุมวิชาการ เรื่องวิทยาศาสตร์ และ เทคโนโลยี ในการพัฒนาประเทศ, 21–23 ธันวาคม 2522, ณ มศว. บางแสน ชลบุรี หน้า 61.

11. วารินทร์ ธนาสมหวัง และ เกรียงศักดิ์ สายธนู, (2522). โรคแผลในปลาสวาย. วารสารชมรมโรคปลา ปีที่ 2, ฉบับที่ 3, 131–133.

12. โสมทัต วงศ์สว่าง, เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข, (2525). โรคขาแดงในกบนา. วารสารโรคสัตว์น้ำ ปีที่ 5 ฉบับที่ 2, 57–62.

13. อัคนี นวรัตน, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ เกรียงศักดิ์ สายธนู (2522). โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ในปลาไหลไทย. วารสารชมรมโรคปลา ปีที่ 2 ฉบับที่ 2, 67–74.

14. Hazen, T.C.,C.B. Fliermans, R.T. Hina and B. Esch. (1978); Prevalence and Distribution of Aeromonas hydrophila in the United States. Appl. Microbiol. 36 : 731–738.

15. Hazen, T.C. and C.B. Fliermans (1979); Distribution of Aeromonas hydrophila in Natural and Man made thermol effluents : Appl. and Environment. Microbiol. 38:166–168.

16. Newman, Strephen, G. (1982); Aeromonas hydrophila : A Review with emphasis on its role in fish Disease; Symposium International de Talloires. 10, 11, 12 May, 1982.

การศึกษาทางโลหิตวิทยาของปลาช่อน (Ophicephalus striatus) และปลาตะเพียน (Puntius spp.) ทั้งที่ปกติและป่วยในช่วงระหว่างเดือนมกราคม ถึง กุมภาพันธ์ 2526

* จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

** ธีรพงศ์ ธีรภัทรสกุล

*** เทอด เทศประทีป

* เบญจมาศ วงศ์สัตยนนท์

* หน่วยโรคสัตว์น้ำ
** หน่วยโรคปศุสัตว์
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** หน่วยพยาธิวิทยา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

จากการศึกษาทางโลหิตวิทยาของปลาช่อนที่ปกติและป่วยตลอดจนปลาตะเพียนที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ ในขนาดต่าง ๆ กันนั้นพบว่าค่าของ Hemoglobin, Hematocrit, Granulocyte, Lymphocyte, Neutrophil, Erythroblast, Granuloblast และ Thrombocyte มีการเปลี่ยนแปลงไปตามขนาด น้ำหนักของปลา ตลอดจนวิการที่เกิดบนตัวปลาในปลาขนาดเล็ก การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตจะมีมากกว่าปลาขนาดใหญ่

The Haematological study of normal and sick fish (Ophicephalus striatus and Puntius spp.) from January to February 1983.

* *Jirasak Tangtrongpiros*
** *Thirapong Thirapatsakun*
*** *Ted Tesprateep*
* *Benchamas Wongsattayanont*

* *Division of Aquatic Animal Medicine, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.*
** *Division of Farm Animal Medicine, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.*
*** *Division of Veterinary Pathology, Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.*

Abstract

The survey study of hematology of two species of fish was done. The hemoglobin, hematocrit, granulocyte, lymphocyte, neutrophil, erythroblast, granuloblast and thrombocyte were changed depend on the size, weight and the lesions of fish. The haematological change is prominent in small fish.

บทนำ

การศึกษาทางโลหิตวิทยาเป็นสิ่งสำคัญมากในทางการแพทย์และสัตวแพทย์เพราะการเปลี่ยนแปลงของเลือดทั้งปริมาณ และ องค์ประกอบของมันเป็นเครื่องบ่งชี้อย่างดีถึงสภาพทางสรีรวิทยาของสัตว์รวมทั้งปลาด้วย ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเลือดขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโรค สารเคมีที่ปลาได้รับ รวมทั้งการ

เปลี่ยนแปลงอันเกิดขึ้นจากอิทธิพลของสภาวะแวดล้อม (Watson, *et al*, 1956, Vuren & Hattingh, 1978, Matthiessen, 1981). Barham *et al*, (1980) พบว่าปลา Rainbow trout ที่ได้รับเชื้อ Aeromonas spp. และ Streptococcus spp. จะมีการเปลี่ยนแปลงของความเปราะและอัตราการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง อันเนื่องมาจาก hemolytic factor ของเชื้อทั้งสอง สำหรับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จะสร้าง hemolysin ที่ 10° ซ. ซึ่งเป็น enterotoxin ที่ทำให้มีการแตกของเม็ดเลือด (Olivier, *et al*, 1980). Vuren & Hattingh, (1978) ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของฤดูกาลต่อเลือดของปลา Yellow fish (Barbus holubi) ปลา Carp (*Cyprinus carpio*) และ mudfish (*Labeo umbratus* และ *Labeo capensis*) พบว่าการเปลี่ยนแปลงของเลือดไม่แตกต่างกันมากนักตามฤดูกาลที่เปลี่ยนไป แต่มีความแตกต่างกันมากในปลาแต่ละตัว

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ปลาบ่วยจากแหล่งน้ำในธรรมชาติและในบ่อเลี้ยงในเขตท้องที่ต่าง ๆ หลังจากรวบรวมปลาเหล่านั้นได้แล้วทำการเจาะเลือดทันทีในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 2 ml. และใช้เข็มเบอร์ 21 ทำการเจาะเลือดที่ dorsal aorta ตรงบริเวณระหว่าง anal fin และโคนครีบหาง โดยแทงเข็มจากด้านท้องไปหาด้านหลังนำเลือดที่ได้ใส่ลงในขวดเก็บเลือดที่มี di Sodium Ethylenediaminetetra Acetate (EDTA di Sodium Salt) ขณะเดียวกันใช้เลือดจำนวน 1 หยดแตะที่กระจกแล้ว smear รอจนแห้งแล้วทำให้อยู่ตัวด้วย methanol นาน 1–2 นาที หลังจากนั้นนำไปย้อมด้วยสี Giemsa นาน 5 นาที การหาค่า haematocrit โดยใช้เลือดที่ได้ใส่ลงในหลอด haematocrit แล้วปั่นที่ 3,500 rpm. นาน 5 นาที ส่วนค่าของ haemoglobin นั้นหาโดยวิธี Cyanmethemoglobin

ผล

ค่าของ Haemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Granulocyte (Gc), Lymphocyte (Lc), Neutrophil (N), Erythroblast (Eb), Granuloblast (Gb), และ Thrombocyte (Tc) ที่ได้จากปลาช่อนตามแหล่งน้ำธรรมชาติและจากบ่อเลี้ยงในขนาดต่าง ๆ กันจากหลาย ๆ สถานที่นำมาแจกแจงลงในตารางตามน้ำหนักของปลาปกติและปลาป่วยพร้อมทั้งวิการที่เกิดขึ้นบนตัวปลา แล้วหาค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Standard error of mean)

ตารางที่ 1 และที่ 2 แสดงให้เห็นค่าทางโลหิตวิทยาของปลาช่อนที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 500 กรัม ที่ไม่มีวิการและมีวิการเล็กน้อยจะเห็นว่าปลาทั้งสองกลุ่มนี้มีค่าของ Hb 12–13 gm% ส่วน Hct 45% สำหรับ Gc มีค่าประมาณ 31%, Lc มีค่าระหว่าง 6–14%, N มีค่า 39 และ 36%, Eb มีค่า 13 และ 5%, Gb มีค่าระหว่าง 9–12% และ Tc มีค่าระหว่าง 1.5–5% ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ถึง 5 จะเห็นว่าในปลาช่อนป่วยขนาดต่าง ๆ กันจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติมีค่าทางโลหิตต่าง ๆ กัน ในตารางที่ 3 ซึ่งเป็นปลาขนาด 80 กรัม มีค่าของ Hb และ Hct 8 gm% และ 29% ตามลำดับ ส่วนค่า Gc, Lc, N, Eb Gb และ Tc มีค่า 30%, 11%, 42%, 2%, 8% และ 5% ตามลำดับ

สำหรับปลาช่อนที่มีขนาดเฉลี่ย 260 กรัม (ตารางที่ 4) และเป็นปลาที่ป่วยซึ่งได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่า Hb และ Hct มีค่า 9 gm% และ 36% ส่วน Gc, Lc, N, Eb และ Tc มีค่า 18%, 5%, 32%, 0%, 9% และ 35% ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ซึ่งเป็นปลาที่มีขนาดใหญ่มีน้ำหนักเฉลี่ยถึง 720 กรัม และได้มาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติเช่นกันพบว่า Hb และ Hct มีค่า 10 gm% และ

36% ตามลำดับ ส่วน Gc, Lc N, Eb, Gb และ Tc มีค่า 16%, 6%, 29%, 1%, 5% และ 43% ตามลำดับ

สำหรับปลาช่อนป่วยจากบ่อเลี้ยง (ตารางที่ 6) จากการศึกษาในปลาขนาด 60 กรัม ได้ค่า Hb และ Hct 11 gm% และ 36% ตามลำดับ ส่วน Gc, Lc, N, Eb, Gb, และ Tc มีค่า 22%, 4%, 44%, 16%, 12% และ 0% ตามลำดับ

จากการศึกษาในปลาตะเพียนที่มีขนาด 30 กรัม (ตารางที่ 7) พบว่า Hb และ Hct มีค่า 2 gm% และ 3% ตามลำดับ ส่วน Gc, Lc, N, Eb, Gb และ Tc มีค่า 29%, 10%, 42%, 3%, 15% และ 1% ตามลำดับ

วิจารณ์

ด้วยจำนวนตัวอย่างของปลาที่ทำการศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างกันในกลุ่ม จึงมิได้เปรียบเทียบทางสถิติทั้งนี้เนื่องจากเป็นการรวบรวมปลาเท่าที่มีอยู่ในทุกครั้งที่ออกสำรวจและอีกประการหนึ่งการเก็บตัวอย่างโลหิตในบางครั้งกระทำได้ยาก เนื่องจากปลามีขนาดเล็กจำนวนโลหิตที่ได้มีจำนวนน้อยซึ่งค่าต่าง ๆ ที่ได้นี้เป็นเพียงแสดงให้ทราบจำนวนของเม็ดเลือดในปลาปกติและปลาป่วยขนาดต่าง ๆ กันเท่านั้นทั้งนี้เนื่องจากเป็นการยากที่จะชี้ให้เห็นว่าถ้าปลาป่วยด้วยวิการเช่นนี้แล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดอย่างไรเพราะยังขาดข้อมูลอีกมากโดยเฉพาะปลาที่เลี้ยงในประเทศไทยซึ่งน่าจะต้องทำการศึกษากันต่อไปว่าปลาชนิดต่าง ๆ และขนาดต่าง ๆ กันที่เลี้ยงกันอยู่นั้นมีค่าต่าง ๆ ทางโลหิตวิทยามากน้อยอย่างไร แต่จากการศึกษาในครั้งนี้สิ่งที่แสดงให้เห็นเด่นชัด คือ การเปลี่ยนแปลงของ Hb และ Hct ซึ่งเป็นเครื่องชี้ให้เห็นว่าปลานั้นอยู่ในสภาพโลหิตจางหรือไม่ จากตารางที่ 1 และที่ 2 จะเห็นค่าของ Hb และ Hct มีค่าสูงอยู่ในระดับปกติเมื่อเทียบกับปลาสกุลอื่น Grizzle and Rogers (1976) พบว่า Channel catfish ที่มีขนาดลำตัวยาว 10 ถึง 15 เซนติเมตรที่อุณหภูมิ 28° ซ. มีค่า Hct 46 % สำหรับในปลา

Salmon (Oncorhynchus kisutch) ขนาด 10 กรัม Morillon (1979) พบว่ามีค่า Hct 32.3 %, Lc 64.4 %, Tc 23.1 % และ Gc 6.4 %

สำหรับปลาช่อนที่บ่วยทั้งจากแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อเลี้ยง (ตารางที่ 3 ถึงที่ 6) นั้น Hb และ Hct มีค่าอยู่ระหว่าง 8–10 gm.% และ 29–36 % ตามลำดับ ส่วนปลาตะเพียนนั้นมีค่า Hb และ Hct เพียง 2 gm % และ 3 % เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากปลาที่บ่วยเหล่านี้อาจจะได้รับ Toxin หรือมีการถูกทำลายของเม็ดเลือดจากเชื้อโรคอื่น ๆ หรือสารพิษบางอย่างจึงทำให้ปลาเหล่านี้อยู่ในสภาพค่อนข้างจะโลหิตจาง Joshi and Dabral (1981) แสดงให้เห็นว่า freshwater catfish (Heteropneustes fossilis) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย Trypanosoma magusi Hb จะมีค่า 9.6 gm % ในรายที่ได้รับเชื้อน้อย 7.8 gm % ในรายที่ได้รับเชื้อมาก เมื่อเทียบกับปลาปกติที่มีค่า Hb 13.8 gm % ใน brook trout (Salvelinus fontinalis) ที่ได้รับเชื้อ Aeromonas salmonicida นั้น Hb จะมีค่า 6.02 gm % เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีค่า Hb 9.11 gm % (Shieh and Maclean 1976)

ค่าของ Hb และ Hct ที่ได้นี้จะเห็นว่าในปลาช่อนขนาด 80 กรัม (ตารางที่ 3) มีค่าน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับปลาช่อนกลุ่มอื่น ๆ ที่บ่วย ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากปลาช่อนขนาดนี้มีความไวต่อการเป็นโรค หรือ การสร้างภูมิคุ้มกันได้น้อยกว่าปลาขนาดที่โตกว่า สำหรับปลาช่อนขนาด 60 กรัม (ตารางที่ 6) ซึ่งมีค่า Hb และ Hct สูงกว่าปลาขนาด 80 กรัม นั้นอาจจะเนื่องมาจากการได้รับอาหารที่มีคุณค่าดีกว่า

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปลาช่อนขนาดต่าง ๆ กันนั้น การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาจะเกิดขึ้นได้ทุกระยะของการเป็นโรค และการเปลี่ยนแปลงนี้ในปลาแต่ละตัวจะมีค่าแตกต่างกันไปอย่างมาก จากการเกิดโรคระบาดในครั้งนั้นซึ่งเข้าใจกันว่าการตายของปลานั้นเกิดจากเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

ตารางที่ 1 ค่าของเลือดในปลาช่อนปกติซึ่งได้จากท่าขึ้นปลาที่บริเวณคลองสำโรง

วัน เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง จ.ชลบุรี	ไม่มีแผล	11.8	47	30	4	31	23	10	2
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	ไม่มีแผล	11.9	44	32	8	47	4	8	1
เฉลี่ย					11.85 ± 0.05	45.5 ± 1.5	31 ± 1	6 ± 2.01	39 ± 8.02	13.5 ± 9.5	9 ± 1	1.5 ± 0.5

ตารางที่ 2 ค่าของเลือดในปลาช่อนซึ่งมีจุดเลือดออกเล็กน้อยตามลำตัว ได้มาจากท่าขึ้นปลาหน้าที่ว่าการอำเภอบางปะกง

วัน เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	จุดเลือดออก	14.6	47	10	11	48	0	26	5
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	"	12.4	41	30	27	26	7	6	4
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	"	13.2	45	21	12	52	2	9	4
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	"	13.3	41	55	3	26	20	11	5
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	"	12.4	45	24	8	29	8	20	12
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	"	13.1	50	31	20	45	0	4	0
6 ม.ค. 26	ช่อน	500	บางปะกง	"	15.1	47	43	17	28	0	7	5
เฉลี่ย					13.4 ± 0.29	45.14 ± 1.24	30.57 ± 5.6	14.0 ± 3.02	36.29 ± 4.34	5.29 ± 2.76	11.86 ± 3.06	5 ± 1.34

ตารางที่ 3 ค่าของเลือดในปลาช่อนป่วยขนาดเฉลี่ย 80 กรัม ซึ่งมีแผลตามลำตัวจากสถานที่ต่าง ๆ

วัน เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
6 ม.ค. 26	ช่อน	80	ต.บางสมัน จ.ฉะเชิงเทรา	แผล	8.4	33	26	5	65	0	1	2
6 ม.ค. 26	ช่อน	80	"	"	8.7	29	21	11	43	0	21	4
6 ม.ค. 26	ช่อน	80	"	"	9.3	32	27	29	39	0	5	0
6 ม.ค. 26	ช่อน	80	ต.บางนาง	"	6.7	23	56	6	6	10	12	10
6 ม.ค. 26	ช่อน	80	"	"	-	-	24	4	58	0	3	11
เฉลี่ย					8.28 ± 0.56	29.25 ± 2.25	30.8 ± 6.38	11 ± 4.66	42.2 ± 10.22	2 ± 2	8.4 ± 3.66	5.4 ± 2.18

ตารางที่ 4 ค่าของเลือดในปลาช่อนป่วยขนาดเฉลี่ย 260 กรัม และมีแผลตามลำตัวจากสถานที่ต่าง ๆ

วัน เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
6 ก.พ. 26	ช่อน	200	ท่าสะอ้าน	แผล	9.3	34	58	5	23	0	3	12
6 ก.พ. 26	ช่อน	250	บางปะกง	แผล	6.6	26	23	7	22	0	9	39
9 ก.พ. 26	ช่อน	250	มีนบุรี	แผล	10.2	44	5	5	44	0	4	42
9 ก.พ. 26	ช่อน	200	"	แผล	10.4	43	1	4	55	0	1	39
9 ก.พ. 26	ช่อน	400	"	แผล	8.1	32	2	4	18	0	30	46
เฉลี่ย					8.92 ± 0.7	35.8 ± 3.4	17.8 ± 10.8	5 ± 0.5	32.4 ± 7.2	0	9.4 ± 5.3	35.4 ± 6.25

ตารางที่ 5 ค่าของเลือดในปลาช่อนบ่วยขนาดเฉลี่ย 720 กรัม ซึ่งมีแผลตามลำตัวจากสถานที่ต่าง ๆ

วัน เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
13 ม.ค. 26	ช่อน	800	อ.ราชบุรณะ	แผล	8.7	45	36	5	30	3	1	25
13 ม.ค. 26	ช่อน	500	กทม.	แผล	6	18	20	8	25	2	23	22
3 ก.พ. 26	ช่อน	700	ต.บางรัว	แผล	11	31	5	14	22	0	0	59
6 ก.พ. 26	ช่อน	800	ต.ท่าสะอ้าน	แผล	11.8	47	12	3	32	0	0	53
6 ก.พ. 26	ช่อน	800	บางปะกง	แผล	10.2	40	7	2	37	0	0	54
เฉลี่ย					9.54 ± 4.3	36.2 ± 5.3	16 ± 5.6	6.4 ± 2.2	29.2 ± 2.6	1 ± 0.6	4.8 ± 4.5	42.6 ± 7.9

ตารางที่ 6 ค่าของเลือดในปลาช่อนบ่วยจากบ่อเลี้ยงขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 60 กรัม

วัน,เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
28 ม.ค. 26	ช่อน	60	กระทุ่มแบน	แผล	12.8	43	26	7	47	10	10	0
28 ม.ค. 26	ช่อน	60	กระทุ่มแบน	แผล	9	30	19	2	42	22	15	0
เฉลี่ย					10.9 ± 1.9	36.5 ± 6.5	22.5 ± 3.5	4.5 ± 2.5	44.5 ± 2.5	16 ± 6.02	12.5 ± 2.5	0

ตารางที่ 7 ค่าของเลือดปลาตะเพียนจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

วัน เดือน ปี	ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	สถานที่	อาการ	Hb gm %	Hct %	Gc %	Lc %	N %	Eb %	Gb %	Tc %
13 ม.ค.26	ตะเพียน	30	อ.ราชบุรณะ	แผล	2.4	3	29	10	42	3	15	1
เฉลี่ย					2.4	3	29	10	42	3	15	1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ซึ่งน่าจะได้ทำการศึกษากันต่อไปว่าถ้าปลาได้รับเชื้อตัวนี้แล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาอย่างไรบ้าง ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุที่แท้จริงหรือสาเหตุที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคนั้นยังไม่ปรากฏแน่ชัดว่าเกิดจากอะไร

เอกสารอ้างอิง

Barham, W.T.; Smith, G.L. and Schoonbee, H.J. 1980. The effect of bacterial infection on erythrocyte fragility and sedimentation rate of rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. J. Fish Biol. 16 : 177–180.

Grizzle, J.M. and Rogers, W.A. 1976. Anatomy and histology of the Channel catfish. Auburn Printing Inc. Auburn, Alabama. 94 p.

Joshi, B.D. and Dabral, R. 1981. Some haematological changes in a freshwater catfish Heteropneustes fossilis, infected with the trypanosome, Trypanosoma maguri, Proc. Indian Acad. Sci, (Anim. Sci.) Vol. 90, No.3 : 295–301.

Matthiessen, P. 1981. Haematological changes in fish following aerial spraying with endosulfan insecticide for tsetse fly control in Botswana. J. Fish. Biol. 18 : 461–469.

Morillon, B. 1979. Numeration globulaire et formule leucocytairedes poissons : Essais de quelgues techniques. Memoire pour obtenir le diplome d' etudes approfondies d' oceangraphil biologique. Faculte' des Sciences Pierre et Marie Curie Universite de Paris VI, 33 p.

Olivier, G; Lallier, R. and Lariviere, s. 1980 : A. toxigenic profile of Aeromonas hydrophila and Aeromonas Sobria isolated from fish Can. J. Microbiol. 27 : 330–333.

Shieh, H.S. and Maclean, J.R. 1976. Blood changes in brook trout induced by infection with Aeromonas salmonicida. Journal of Wildlife Diseases. Vol. 12, No. 1 : 77–81.

Vuren Van J.H.J. and Hattinggh, J. 1978. A seasonal study of the haematology of wild freshwater fish. J. Fish Biol. 13 : 305–313.

Watson, M.E. Guenther, R.W. and Royee, R.D. 1956. Hematology of healthy and virus diseased Sockeye Salmon, Onchorhynchus nerka. Zoologica 41 (5) : 27–37.

การเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อเยื่อของปลาน้ำจืดบางชนิดที่เป็นโรคระบาดระหว่างปี : 2525–2526

* *ชลอ ล้ำสุวรรณ*

** *สุปราณี ชินบุตร*

* ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

** สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ

บทคัดย่อ

เนื่องจากเกิดการระบาดของโรคปลาทั้งจากแหล่งน้ำธรรมชาติ และปลาจากบ่อเลี้ยงขึ้น ในประเทศไทยอย่างรุนแรง ในระหว่างเดือนธันวาคม 2525 ถึงเดือนมกราคม 2526 ปลาช่อนเป็นปลาที่เป็นโรคมากกว่าปลาชนิดอื่น ๆ ลักษณะของโรคดูจากภายนอกจะเห็นแผลเน่าเปื่อยตามลำตัว หัว และขากรรไกรล่าง พบพาราสิตภายนอกหลายชนิดทั้งที่บริเวณแผลและซี่เหงือก เช่น *Trichodina, Epistylis, Costia,* ปลิงใส และ *Saprolegnia* และพบแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* จากอวัยวะภายในและแผลของปลาที่มีอาการหนักมาก จากการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อ พบว่าอวัยวะภายใน เช่น ตับ ไต และม้าม ของปลาเป็นโรคแต่อาการยังไม่หนัก ไม่พบอาการใดที่ชี้ให้เห็นว่าอวัยวะเหล่านี้ถูกทำลายโดยแบคทีเรีย จากกล้ามเนื้อบริเวณแผลพบว่ามีการตายของกล้ามเนื้อ และมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิด fibrous มาแทนที่การเปลี่ยนแปลงนี้เนื่องมาจากเชื้อราที่ยังไม่สามารถแยกชนิดได้ที่พบแทรกอยู่ระหว่างเซลล์กล้ามเนื้อ แต่ทั้งพาราสิตและแบคทีเรียดังกล่าวข้างต้นแล้วนั้นไม่น่าจะเป็นสาเหตุที่แท้จริง

Histological Changes of some Freshwater Fishes During 1982–1983 Disease Outbreak.

* *Chalor Limsuwan*

** *Supranee Chinabut*

* *Department of Fishery Biology, Faculty of fisheries, Kasetsart University.*

** *National Inland Fishery Institute.*

Abstract

The most serious outbreak of fish disease in Thailand occurred during the period of December 1982 to January 1983. Several wild fresh water fish species and cultured fishes were affected. Snakehead was the most seriously affected commercial fish species. Clinical signs of the disease were common to all outbreaks both in wild fish and on the farms with affected fish showing large external erosive lesions on various parts of the body, lower jaw and skull. External parasites such as *Trichodina*, *Epistylis*, monogeneaus and *Saprolegnia* fungi were obtained from such lesions, but these were considered typical secondary invading organisms, and *Aeromonas hydrophila* was also frequently isolated from moribund fish. Histological examination of the internal organs such as liver, spleen and kidney did not reveal any evidence for bacterial infection. However the lesions themselves showed evidence of severe chronic granulomatous mycosis which in many cases extended throughout the skeletal musculature resulting in significant fibrosis and replacement of myofibrillar tissue by collagenous fibrous tissue. Thus it would appear the condition resulted from a mycotic ulceration associated with an as yet unidentified fungus which was then suggested to secondary invasion by the many species of opportunistic secondary pathogens readily available in the water.

การศึกษาพยาธิสภาพของปลาป่วย จากโรคระบาดปลา พ.ศ. 2525

* เทอด เทศประทีป
** ระบิล รัตนพานี
* โสมทัต วงศ์สว่าง
* วัฒนา วัฒนวิจารณ์
* เล็ก อัศวพลังชัย
*** จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์
* เกรียงศักดิ์ สายธนู

* ภาควิชาพยาธิวิทยา
** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ } คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
*** ภาควิชาอายุรศาสตร์

บทคัดย่อ

การศึกษาพยาธิสภาพของปลาป่วยซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ทั้งในระดับที่เห็นด้วยตาเปล่าและระดับกล้องจุลทรรศน์พบลักษณะแสดงถึงการทำลายเนื้อเยื่อด้วยพิษของเชื้อแบคทีเรีย แผลหลุมที่เห็นจากภายนอกลึกเข้าไปในกล้ามเนื้อ ผิวหนังและกล้ามเนื้อแสดงลักษณะการตายของเซลล์และเนื้อเยื่อ เหงือกมีการอักเสบในระดับต่าง ๆ กัน พบหย่อมเนื้อตายที่ตับ และมีธรอมโบซีสในหลอดเลือดและพบอินคลูชั่นบอดีในเซลล์ตับ เซลล์บุหลอดฝอยไตถูกทำลายพร้อมทั้งมีการตายของเซลล์สร้างเม็ดเลือดในไต ม้ามมีเลือดคั่งและเนื้อเยื่อถูกทำลาย มีธรอมโบซีสของหลอดเลือดในม้าม กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ และมีเยื่อเมือกลอกหลุด ผลทางโลหิตวิทยาบ่งถึงสภาพการทำลายเม็ดเลือดแดงและการสูญเสียเลือด

Pathology of the diseased fish with reference to the recent epidemic in Thailand in 1982

* *Ted Tesprateep*

** *Rabin Rattanaphani*

* *Somatat Wongsawang*

* *Wattana Wattanawijarn*

* *Lek Ousawaplangchai*

*** *Jirasak Tangtrongpiros*

* *Kriengsak Saitanu*

* *Department of Pathology*
** *Department of Anatomy*
*** *Department of Veterinary Medicine*
} *Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.*

Abstract

Pathological study of the diseased fish, which died during the recent outbreak of Aeromonas hydrophila infection was carried out. The lesions are suggestive to be the systemic effect due to the bacterial toxins. The histopathological changes which occur during the course of disease include, extensive necrosis and myositis of the skeletal muscle, ulceration of the skin, inflammed gills with telangiectasis of the secondary lamellae, multifocal necrosis and presence of large eosinophilic inclusion bodies in the cytoplasm of hepatic cells, necrosis of the renal tubular cells and renal hemopoietic tissue splenic hyperemia and focal lymphoid necrosis, myositis and catarrhal gastro enteritis. Variable degrees of anemia in diseased fish are present in connection with destruction of red blood cells extra-and intravascularly.

บทนำ

การที่ปลาชนิดต่าง ๆ เกิดเป็นโรคระบาดและตายเป็นจำนวนมาก จากอุบัติการที่มีการระบาดของโรคปลาขึ้นในปลาชนิดต่าง ๆ ทั้งปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อเลี้ยงในเขตท้องที่หลายจังหวัด โดยเฉพาะในภาคกลางของประเทศไทย ในช่วงระยะเดือนธันวาคม 2525 ซึ่งทำให้บ่อเลี้ยงปลาช่อนจังหวัดสุพรรณบุรี อันเป็นแหล่งเลี้ยงปลาแหล่งใหญ่ของประเทศ ได้รับความเสียหายมากที่สุด นอกจากปลาช่อนแล้วปลาชนิดอื่น ๆ ที่เป็นโรคระบาดนี้ด้วย คือ ปลาหมอ ปลานิล ปลาตะเพียน ปลาแก้มช้ำ ปลาสลิด ปลาซิว ปลาสวาย ปลากระดี่ ปลาดุก ปลาหลด ปลากระทิง ปลาไหล ปลาเข็ม ปลากระทุงเหว โดยแสดงลักษณะอาการที่เด่นชัด คือ เกิดแผลขึ้นตามลำตัวโดยตลอด ในการระบาดครั้งนี้ตรวจสอบตัวปลาทางจุลชีววิทยาจากอวัยวะต่าง ๆ คือแผลที่ตัว ตับ เหงือก และเลือดในปลาช่อนและปลากระดี่ (เกรียงศักดิ์ 2526) พบเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ คือ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

โรคปลาที่เกิดจาก แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ทำให้เกิดอาการ และวิการแบบ hemorrhagic septicemia ซึ่งรายงานโดย Schaperclaus (1930, 1954), Spiczakow (1933), Amlacher (1961), Gaines (1972), Wolke (1975), Bach และคณะ (1978), Huizinga และคณะ (1979), Snieszko และ Axelrod (1971) ได้จำแนกอาการและวิการโรคในปลาที่เกิดจาก แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ไว้ 4 ชนิด คือ

1. แบบเฉียบพลันที่มีลักษณะท้องมาน บวมน้ำ เป็นแผลพุพองและแผลตื้นมีเอ็กซูเดทตามลำตัว

2. แบบเฉียบพลันที่มีอาการป่วยและตายอย่างรวดเร็วด้วยภาวะโลหิตเป็นพิษ

3. แบบแผลเรื้อรังตามตัวที่พบลักษณะแผลหลุมและมีเอ็กซูเดทเน่าตายปกคลุมแผล

4. แบบไม่แสดงอาการ (Latent form)

ในแบบเฉียบพลันของการระบาดมักจะพบวิการที่เห็นภายนอก อวัยวะภายในพบแต่ลักษณะเลือดคั่ง และหย่อมเลือดที่เยื่อบุผนังช่องท้องและลำไส้ Snieszko และคณะ (1971) ได้รายงานว่าการระบาดที่รุนแรงที่พบบ่อย ๆ เกิดจากสภาวะที่ปลาเครียดจากสภาพอุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มขึ้นในฤดูใบไม้ผลิ หลังจากฤดูหนาวที่ยาวนาน ปลาคาร์พ (Carp) ที่ป่วยจะพบลักษณะท้องมาน และมีการเสื่อมของอวัยวะภายใน เช่น ตับ ม้าม และลำไส้

ในรายปลาป่วยเรื้อรังจะพบแผลหลุมขนาดตั้งแต่เล็กไปจนใหญ่ตามผิวหนังของลำตัวปลาป่วยที่แผลหายคืนสภาพจะพบแผลเป็นสีคล้ำ (Huizinga และคณะ 1979), Huizinga และคณะ (1979) ได้จำแนกวิการแผลไว้ 3 ชนิด ดังนี้ คือ

	วิการที่เห็นด้วยตาเปล่า	วิการทางกล้องจุลทรรศน์
1. แผลเริ่มแรก	เลือดคั่ง, บวมน้ำที่เกล็ด พบเป็น 1–2 เกล็ด	เนื้อตายที่หนังกำพร้า บวมน้ำและหย่อมอักเสบใต้หนัง
2. แผลเฉียบพลัน	เป็นแผลที่ผิวหนังสีขาวเหลืองบริเวณกว้างขึ้น (อาจมากถึง 30 เกล็ด) มีหย่อมเนื้อตายและเลือดตรงกลางมีเอ็กซูเดท	Fibroblast เพิ่มจำนวนในชั้น dermis พบ granulocyte และ mononuclear cells ในชั้น dermis ลุกลามเข้าไปชั้นกล้ามเนื้อ

	วิการที่เห็นด้วยตาเปล่า	วิการทางกล้องจุลทรรศน์
3. แผลเรื้อรัง	พบลักษณะหลุมแผลใหญ่ขอบแผลนูน มองเห็นกล้ามเนื้อที่ตาย	ชั้นผิวหนังถูกทำลายจนชั้นกล้ามเนื้อเกิดเนื้อตายกว้างขวาง มีเซลล์ของการอักเสบแทรกอยู่มาก เซลล์หนังกำพร้าที่ขอบแผลเพิ่มจำนวนมาก ระยะนี้มักพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะตามระบบ

จุดประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อจะดูพยาธิสภาพของปลาป่วยจากอวัยวะตามระบบทั้งทาง gross และ histopathology รวมทั้งยังศึกษาถึงข้อมูลบางประการทางโลหิตวิทยา อันจะเป็นแนวทางให้ทราบถึงพยาธิกำเนิดของโรคระบาดครั้งนี้ในปลาป่วย

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาป่วยที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ส่วนใหญ่เป็นปลาช่อนที่เลี้ยงในบ่อเลี้ยงซึ่งเป็นแบบอุตสาหกรรมในตำบลมะขามล้ม อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี นอกจากนี้มีตัวอย่างปลาป่วยจากแหล่งน้ำธรรมชาติและที่เลี้ยงในกระชังตามแม่น้ำได้แก่ ปลาช่อน ปลาสลิด ปลากระดี่ ปลาตะเพียน ปลาหลด และปลาบู่

จำนวนปลาป่วยที่นำมาศึกษาทางพยาธิวิทยาจากแหล่งต่าง ๆ

ชนิดปลา	จำนวน (ตัว)	แหล่งที่มา
ปลาช่อน	35	บ่อเลี้ยงปลา จ. สุพรรณบุรี
ปลาช่อน	5	แหล่งน้ำธรรมชาติ สุพรรณ-
ปลาสลิด	2	บุรี สมุทรสาคร อยุธยา
ปลากระดี่	2	ปทุมธานี นครปฐม
ปลาตะเพียน	1	
ปลาหลด	3	
ปลาบู่	3	

การศึกษาทางพยาธิวิทยา

นำปลาป่วยที่ได้มาทำการชันสูตรซาก บันทึกวิการที่มองเห็นทั้งภายนอกและภายใน นำชิ้นเนื้อจากผิวหนัง แผล กล้ามเนื้อ เหงือก ตับ กระเพาะลำไส้ ไต ม้าม ตับอ่อน และไขสันหลัง มาเก็บรักษา 24 ชั่วโมง ใน 10% buffer–formalin แล้วนำชิ้นเนื้อผ่านกรรมวิธีทาง ฮีสโตเทคนิค ย้อมสีด้วย ฮีมาท้อกซิลิน และ อีโอซิน เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา นอกจากนั้นบางสไลด์ได้ทำการย้อมสีพิเศษ Brown & Brenn's, PAS's เพื่อตรวจดูแบคทีเรียและเชื้อราในชิ้นเนื้อ

การศึกษาทางโลหิตวิทยา

ได้ทำการเจาะเลือดปลาช่อนป่วยด้วยโรคนี้ เพื่อหาค่าปริมาณ ฮีโมโกลบิน และ ฮีมาโตคริต ของเลือดปลาช่อน จากปลาช่อนที่ศึกษา 14 ตัว (ดูตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงค่า ฮีโมโกลบิน (Hb.) และค่า ฮีมาโตคริต (Ht.) ปลาช่อน

	Hb. (gm%)	Ht. (%)	จำนวนปลา
ปลาช่อนปกติ	11.8	45.5 (44–47)	2
ปลาช่อนป่วย (มีวิการเฉียบพลัน)	12.8 (8.5–15.1)	45.4 (41–50)	8
ปลาช่อนป่วย (มีวิการเรื้อรัง)	8.3 (6.7 – 8.4)	29.3 (23–33)	4

ตารางที่ 2 สรุปลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของปลาที่ป่วย

Skin/Muscle	: 1.	Ulcerative Furuncles
	2.	Inflammatory edema in hypodermis and muscular layer, Zenker's necrosis of muscle fibers.
	3.	Epidermal hyperplasia.
	4.	Fibrocytic proliferation in necrotised muscular layer.
Gill	: 1.	Edema with a few inflammatory foci.
	2.	Necrosis & distortion of secondary lamellae.
	3.	Secondary lamellar telangiectasis.
Liver	: 1.	Thrombosis in hepatic portal veins with hepatopancreatic necrosis.
	2.	Multifocal liver cell degeneration & necrosis, Pressence of eosinophilic inclusion bodies in cytoplasm of hepatic cells.

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Liver	3.	Increased number of ceroid-containing macrophages.
Kidney	: 1.	Tubular cell degeneration.
	2.	Focal hemopoietic cell necrosis.
Spleen	: 1.	Thrombosis in splenic blood vessel and focal necrosis of lymphoid tissue,
Heart	: 1.	Focal myocarditis.
Stomach and Intestines	: 1.	Catarrhal inflammation.
Testis	: 1.	Testicular degeneration.

ผลการศึกษา

พยาธิสภาพที่เห็นด้วยตาเปล่า (Gross-pathology)

ปลาช่อน

พบหย่อมเลือดคั่ง และจุดเลือดออกตามบริเวณไรเกล็ด โคนครีบ โคนหาง บางตัวตรวจไม่พบแผล

ปลาป่วยที่ลอยตัวขึ้นมาที่ผิวน้ำจะเห็นเป็นจ้ำด่างสีขาว ลักษณะกลมเหลี่ยมหรือยาวไม่แน่นอนตามตัว เมื่อตรวจดูพบลักษณะแผลเน้อตายเป็นหลุมลึกลงไปในกล้ามเนื้อบางตัวเนื้อตายขยายกว้างและลึกลงไปในกล้ามเนื้อจนทำให้ลำตัวเกือบขาด แผลมีขอบหนา และมักจะมีเมือกสีขาวปนกับเศษเนื้อตายที่ลอกหลุดมาคลุมแผล แผลพบได้ข้างตัวตั้งแต่หัว ปาก รอบ ๆ ตา จนทำให้ตาขุ่นมัว ตามหลัง ข้างตัว ใต้ท้องและโคนหาง ปลาที่ขนาดเล็กลงมาพบว่าแผลทำให้หางขาดได้มากกว่าปลาโต เมื่อเปิดผ่าดู เหงือกพบลักษณะเลือดคั่งและครีบเหงือกหดสั้นลง มักพบเลือดคั่งตามอวัยวะภายใน และอาจพบจุดเลือดออกตามไขมันอวัยวะช่องท้องและถุงลมได้

ปลาตะเพียน

พบแผลเกล็ดหลุดตามตัว แผลไม่กินลึกไปถึงชั้นกล้ามเนื้อ บางตัวเกล็ดตั้ง กดดูตามตัวมีน้ำเอ็กซูเดทสีขาวขุ่นไหลออกมา

ปลาสลิด, ปลากระดี่, ปลาหลด

พบแผลขนาดเล็กได้ตามตัว ขอบแผลมีสีคล้ำ

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology) (ตารางที่ 2)

ผิวหนังและกล้ามเนื้อ

วิการแผลที่ผิวหนังพบได้ทั้งจุดเลือดออกเล็ก ๆ ร่วมไปกับการมีเลือดคั่ง มี granulocytes แทรกกระจายอยู่ใน subcutis epidermis และ dermis ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงมาก ยกเว้นชั้น Stratum spongiosum มีลักษณะบวมน้ำ (oedema) และมีเซลล์ granulocytes และ เม็ดเลือดแดงแทรกอยู่ โดยเฉพาะ Stratum compactum ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในรายที่มีวิการรุนแรงมากขึ้น จะมีการทำลายชั้นผิวหนังเป็นแผลหลุมลึกและต่อเนื่องลงไปยังชั้นกล้ามเนื้อ ที่บริเวณแผลหลุมดังกล่าวจะมีการทำลายของเนื้อเยื่ออย่างรุนแรงเป็นลักษณะเนื้อตาย ในรายที่แผลเรื้อรัง บริเวณแผลหลุมโดยเฉพาะตามผิวอาจมีเชื้อราร่วมด้วย นอกจากเซลล์เม็ดเลือดขาว mononuclear cells, granulocytes และจุดเลือดออกและเลือดคั่งแล้ว เซลล์ส่วนใหญ่จะเป็น macrophages ซึ่งจะแทรกลึกลงไปในชั้น hypodermis และชั้นกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อลายจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรง เส้นใยของกล้ามเนื้อบวมขยายใหญ่ขนาดแตกต่างกันไป และลักษณะการติดสีไม่เท่ากัน โปรตีนของกล้ามเนื้อจะจับตัวเป็นก้อนและมี hyalinization ภายในเส้นใยของกล้ามเนื้อนั้นจะมี mononuclear cells แทรกอยู่ ในที่สุดเซลล์ของกล้ามเนื้อจะสลาย ทำให้ก้อน

โปรตีนถูกจับไว้ด้วย macrophages และบริเวณดังกล่าวจะถูกแทนที่ด้วย fibroblast และ macrophages และในรายที่มี healing จะมี fibroblastic proliferation ระหว่างของเส้นใยกล้ามเนื้อที่ตาย จะมีเส้นใยที่ยังคงมีลายแทรกอยู่ทั่วไป บริเวณเนื้อตายโดยเฉพาะที่เริ่มจะเป็นจะพบ gram–negative bacteria จะพบได้น้อยหรือไม่พบเลยในรายที่เรื้อรังมาก ๆ

เหงือก

ปลาช่อนป่วยจากบ่อเลี้ยงไม่พบ parasites แต่ปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติพบ gill parasite (Dactylogyrus spp.) ได้บ้าง การเปลี่ยนแปลงที่เหงือกจะพบลักษณะเลือดคั่งในหลอดเลือดฝอย และ บางแห่งจะพบลักษณะ telangiectasia ที่ปลายของ secondary lamellae ในเนื้อเหงือกจะพบลักษณะบวมน้ำ และ มีเม็ดเลือดขาวชนิด granulocytes และเม็ดเลือดแดงแทรกกระจายหนาแน่น เยื่อบุเหงือกของ secondary lamellae จะพบ necrosis และมี granulocytes มากในบางรายจะลอกหลุดออกมาจากเหงือกในรายที่รุนแรงจะพบว่า secondary lamellae ถูกทำลายตายไป คงเหลือไว้แต่ primary lamellae

ตับ

ปลาป่วยทุกตัวพบเลือดคั่งในตับ portal vein จะขยายใหญ่และบางรายจะพบ thrombosis ทั้งแบบที่อุดตันหลอดเลือดอย่างสมบูรณ์ และ อุดตันบางส่วน intrahepatic pancreas ซึ่งอยู่รอบ ๆ หลอดเลือดเกิด necrosis เนื้อตับจะพบ liver cell degeneration เป็นหย่อม ๆ ในรายที่เป็น acute จะพบ bacterial emboli ทั้งในหลอดเลือดของ portal area และใน sinussoid ในปลาช่อนขนาดใหญ่ (~ 700–1100 กรัม) ที่ป่วยมักจะพบมี fatty degeneration ของเซลล์ตับและบางรายพบลักษณะ inclusion bodies ขนาดกลมสีเหลือบแดงอยู่ภายใน cytoplasm ของเซลล์ตับได้ทั่ว ๆ ไปตรงบริเวณเซลล์ตับที่เกิดเนื้อตาย

ไต

พบ Tubular cell degeneration ในระดับต่าง ๆ เริ่มตั้งแต่ cloudy swelling, vacuolation และ hyaline droplets ใน tubular epithelial cells, และพบลักษณะ renal hemopoietic necrosis เป็นหย่อม ๆ โดยจะพบ karyopyknosis และ karyorrhexis ของ hemopoietic cells ที่อยู่ระหว่าง renal tubules

ม้าม

พบลักษณะเลือดคั่งอย่างรุนแรง splenic corpuscles จะไม่ค่อยมี lymphoid cells คงเหลือหย่อมของ reticuloendothelial cells ให้เห็นเด่นชัดขึ้น ในบางตัวจะพบ thrombosis ใน splenic blood vessels และหย่อมเน็อตายอยู่โดยรอบ

กระเพาะอาหารและลำไส้

เยื่อเมือกกระเพาะอาหารและลำไส้จะแสดงการอักเสบแบบ catarrhal gastritis และ enteritis อย่างรุนแรง ปลาบ่วยทุกตัวจะมีการทำลายและลอกหลุดของ surface epithelium พบมี granulocytes และ mononuclear cells แทรกใน laminar และใน submucosa จะพบ eosinophilic granule containing cells กระจายอยู่ทั่วไป

หัวใจ

ปลาบ่วยบางตัวพบ focal inflammation ใน subepicardium และ pyocardium โดยจะพบ granulocytes และ mononuclear cells แทรกกระจายอยู่ myocardial necrosis ในปลาบ่วยทุกตัว พบว่า Bulbus alteriosis มีการอักเสบอย่างรุนแรง พบ granulocyte และ mononuclear cells แทรกอยู่ทั่วไปตาม fibers ของ smooth muscles

วิจารณ์

โรค แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า (Aeromonas hydrophila) ในประเทศไทยพบว่ามักจะเป็นระบาดในบ่อเลี้ยงปลาดุก[1] ซึ่งทำให้เกิดแผลตามตัวทั่วไป ในการระบาดครั้งนี้พบว่าเป็นกับปลาช่อนเป็นส่วนใหญ่ ลักษณะวิการที่พบส่วนใหญ่จะเป็น chronic form ตามที่ Huizinga และคณะ (1979) ได้กล่าวไว้ ลักษณะแผลเฉียบพลันจากการศึกษาครั้งนี้ พบลักษณะเกล็ดหลุดและจุดเลือดตามไรเกล็ดได้ในบางตัว วิการลักษณะท้องมาน (Ascites) ที่รายงานโดย Shieszko และคณะ (1971) ไม่พบในปลาช่อนป่วยที่ศึกษา แต่พบ 1 ราย ในปลาบู่ซึ่งพบมีน้ำอยู่ในช่องท้องเป็นปริมาณเล็กน้อย

ลักษณะเฉพาะที่พบในการศึกษาครั้งนี้ คือ Vascular thrombosis ตามอวัยวะภายในช่องท้อง คือ ตับ และม้าม ลักษณะวิการเช่นนี้น่าจะเกิดจาก toxin ของ Aeromonas sp. เช่นเดียวกับ gram–negative bacteria ตัวอื่น ๆ ที่ทำให้เกิด Disseminated Intravascular Coagulopathy (DIC) ในโรคติดเชื้อในคนและสัตว์ อย่างไรก็ตามคำตอบที่แน่นอนสำหรับเรื่องนี้น่าจะได้ศึกษาต่อไป

ลักษณะเนื้อตายที่พบที่ตับ ไต ม้าม และ pancreas ตรงกับรายงานของ Robert (1978) ซึ่งเป็นผลมาจาก systemic effect ของ Aeromonads toxin

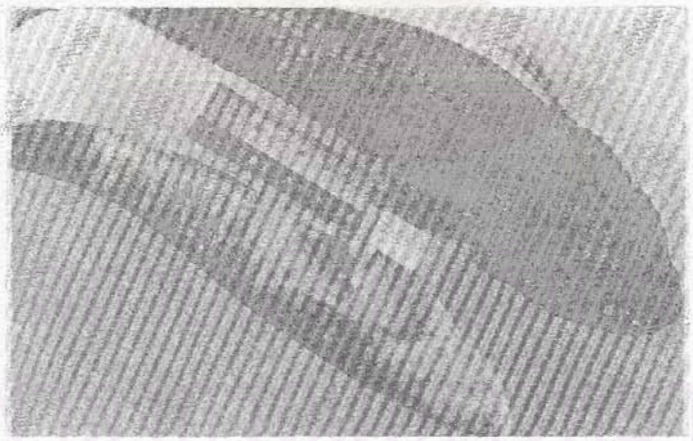
จากการระบาดในปลาครั้งนี้ พบว่า วิการแผลที่ผิวหนังและชั้นใต้หนังไปจนถึงชั้นกล้ามเนื้อมีการทำลายของเนื้อเยื่อค่อนข้างรุนแรง Olivier และคณะ (1981) ได้ตรวจคุณสมบัติของ toxin จาก แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า พบว่ามี "Dermonecrotic factor" enterotoxin และ hemolysin ตรงกับการศึกษาทางพยาธิวิทยาในปลาป่วยครั้งนี้ ซึ่งพบว่านอกจากมีการทำลายผิวหนังและกล้ามเนื้อ

แล้ว ที่ผนังกระเพาะและลำไส้ยังพบมีการอักเสบเกิดเน้อตาย และมีการลอกหลุดของผนังลำไส้ และจากผลของ hemolysin ที่สร้างมาจาก แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เมื่อดูจากตารางแสดงค่า ฮีโมโกลบิน จะเห็นว่าปลาช่อนป่วยแบบเฉียบพลันจะเริ่มมีแนวโน้มมีค่าฮีโมโกลบินลดลง เมื่อเทียบกับปลาที่ป่วยแบบเรื้อรังซึ่งมีค่าฮีโมโกลบินลดลงอย่างเห็นได้ชัด ลักษณะเช่นนี้ก็น่าจะเป็นผลจากภาวะที่เกิด intravascular hemolysis อันเกิดจาก hemolysin ที่สร้างจากแบคทีเรียโดยตรง นอกจากนั้นแล้วแนวโน้มที่มีค่าฮีโมโกลบินลดลงน่าจะเป็นผลเนื่องมาจาก การเสียเลือดโดยตรงจากแผลตามตัว (Blood loss) และอีกประการหนึ่งอาจเกิดร่วมกับภาวะที่มีการทำลาย (Hemopoietic tissue) ในไตและม้ามทำให้การสร้างเม็ดเลือดถูกรบกวน Thune และคณะ (1982) ได้สาธิตปริมาณ heat labile และ heat stable protease จาก crude extracellular extract ของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ซึ่งน่าจะเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดเน้อตายที่กล้ามเน้ออย่างกว้างขวาง รวมทั้งจากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าแม้แต่ Osseous Tissue โดยเฉพาะกระดูกบริเวณหัว และกระดูกแกนกลางบริเวณหางในปลาช่อนยังมีการถูกทำลาย

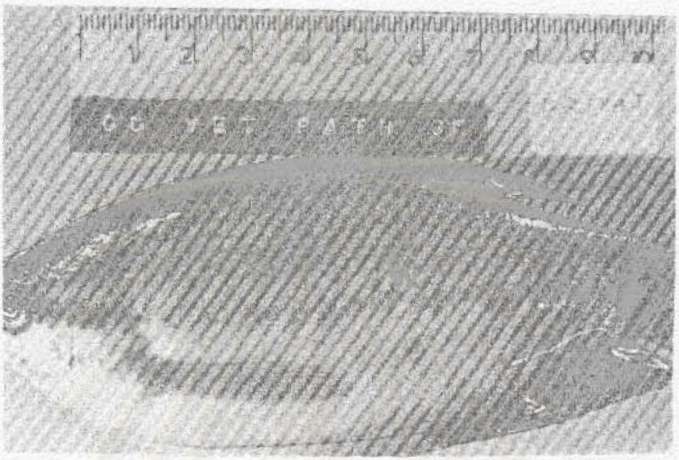
สำหรับ gill parasite (Dactylogyrus spp.) พบได้ในปลาช่อนตามแหล่งน้ำธรรมชาติได้บ้าง ส่วนปลาช่อนในบ่อเลี้ยงจะไม่ค่อยพบ เนื่องจากทางเจ้าของบ่อปลาใส่ยาฆ่าพยาธิลงในบ่อเป็นประจำอยู่แล้ว

จากลักษณะวิการโรคที่พบครั้งนี้มีความรุนแรงของวิการมากกว่าที่รายงานไว้ในปลาดุกและปลาชนิดอื่น ๆ สาเหตุแท้จริงของโรคที่พบในปลาป่วยคือเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ส่วนสาเหตุโน้มนำอะไรก็ตามที่ทำให้การระบาดครั้งนี้รุนแรงน่าจะได้มีการศึกษากันอย่างจริงจังโดยละเอียดต่อไป

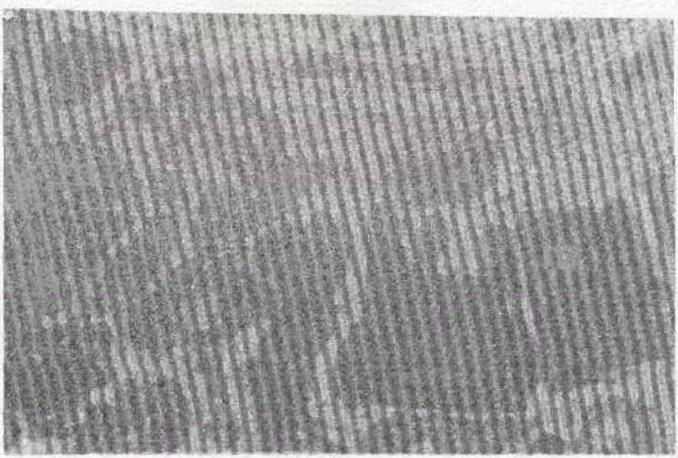
รูปที่ 1 ปลาช่อนจากบ่อเลี้ยงที่มีแผลตามตัว (b) หัว (h) และหาง (t)



รูปที่ 2 ปลาบู่เลี้ยงกระชัง สังเกตแผลข้างตัวและหลัง (w)

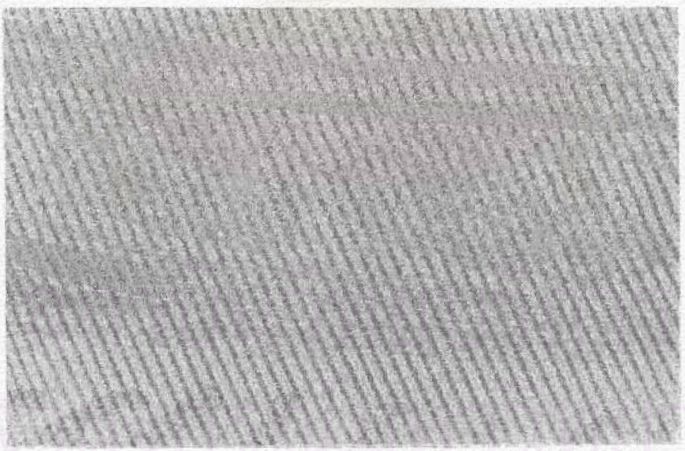


รูปที่ 3 ปลาสลิดจากแหล่งน้ำธรรมชาติ และแผลที่ข้างตัว (w)



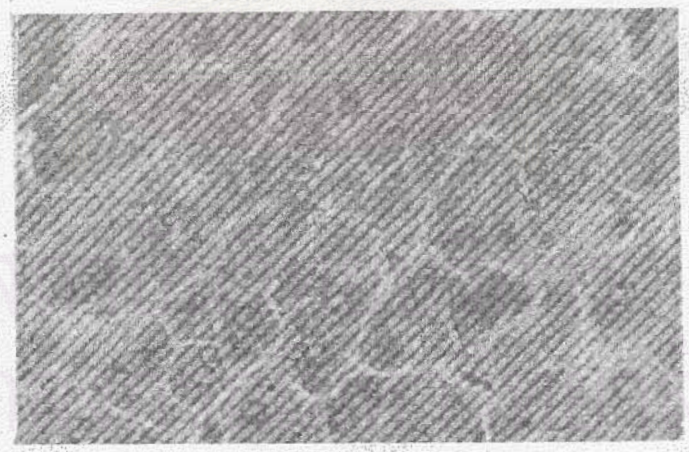
รูปที่ 4 กล้ามเนื้อใต้ผิวหนังปลาช่อนแสดงการแทรกของเม็ดเลือดขาว (l) และใยกล้ามเนื้อเสื่อมและบวมโต (m) (100 × ย้อม H & E)

รูปที่ 5 ภาพจุลทรรศน์ของเหงือกปลาช่อน แสดงตัวพยาธิ Dactylogyrus sp. (d) ที่เกาะอยู่ที่เหงือก (200 ×)



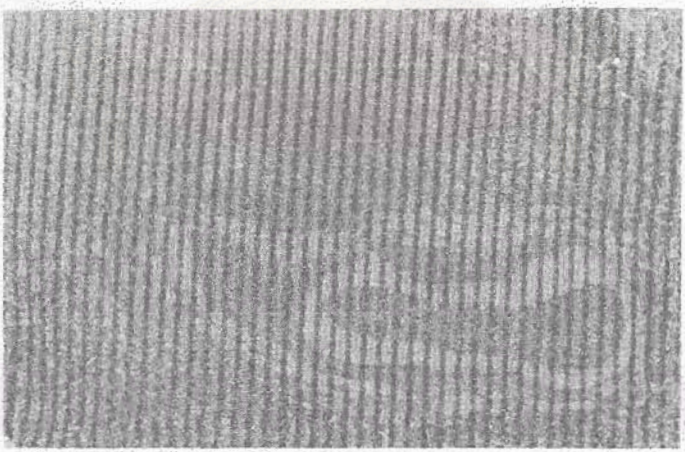
รูปที่ 6 ภาพจุลทรรศน์ของเหงือกปลาช่อนแสดงอาการอักเสบของ secondary lamellae หย่อมเนื้อตายและการอักเสบ (n) (100 ×)

รูปที่ 7 ภาพจุลทรรศน์ตับปลาช่อนแสดงก้อนธรอมบัสในหลอดเลือด (t) และเนื้อตายของตับอ่อน ที่อยู่รอบ ๆ (p) (100 ×)



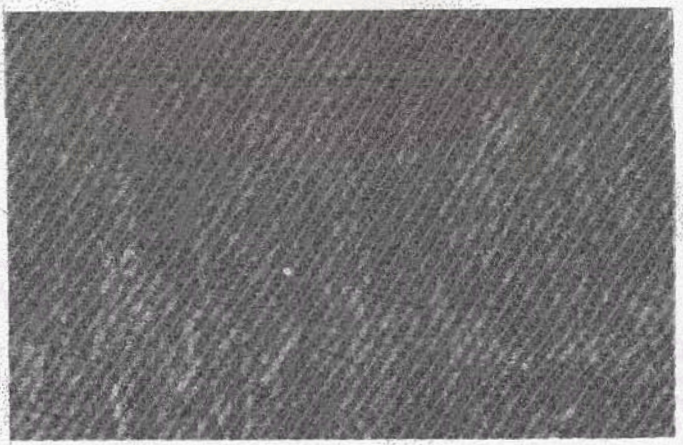
รูปที่ 8 ภาพจุลทรรศน์ตับปลาช่อน แสดง fatty degeneration (f) และ inclusion bodies ในเซลล์ตับ (i) (400 ×)

รูปที่ 9 ภาพจุลทรรศน์ของไตปลาช่อนแสดง tubular cell degeneration (d) และ hemopoietic cell degeneration (h) (400 ×)



รูปที่ 10 ภาพจุลทรรศน์ของม้ามปลาช่อนแสดงก้อนธรอมบัสในหลอดเลือด (t) (200 ×)

รูปที่ 11 ภาพจุลทรรศน์ลำไส้ปลาช่อน แสดงการอักเสบและลอกหลุดของเยื่อเมือก (s) (100 ×)



รูปที่ 12 ภาพจุลทรรศน์ของหัวใจปลาช่อนมีเซลล์อักเสบ (i) แทรกอยู่ใน bulbus arteriosus (100 ×)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณกานดา บ่อเลี้ยงปลา ต.มะขามล้ม อ.บางปลาม้า จ.สุพรรณบุรี ที่ให้ความร่วมมือในการศึกษาครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง คุณโสภณ วุธรา คุณพรพิมล มีใย นักวิทยาศาสตร์หน่วยพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุนเพื่อวิจัยปัญหาการระบาดของโรคปลาครั้งนี้อย่างเต็มที่และคุณนิมิตร สุวรรณาศรัย ที่ได้ช่วยพิมพ์ต้นฉบับให้เสร็จด้วยความเรียบร้อย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Amlacher, E. (1961) : Taschenbuch der Fishkrakheiten. Gustaf Fischer Verlag Jena 286 p.
2. Bach, R., P.K. Chen and G.B. Chapman. (1978) : Changes in the spleen of the channel catfish *ictalurus punctatus*. Rafinesque induced with *Aeromonas hydrophila*. J. Fish Diseases, 1. 205-217.
3. Gaines, J. L. Jr. (1972) : Pathology of experimental infection of *Aeromonas hydrophila* (Chester) Stanier (Bacteria : Pseudomonadales) in channel catfish *ictalurus punctatus* (Rafinesque) Ph.D. Thesis, Auburn University, Auburn Ala.
4. Huizinga, H.W. Esch and T.C. Hazen. (1979). Histopathology of red-sore disease (Aeromonas hydrophila) in naturally and experimentally infected large-month bass *Micropterus salmoides* (Lecepede) J. Fish Diseases 2 : 263-277.
5. Olivier, G.,R. Lallier and S. Larivier (1981) : A toxigenic profile of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* isolated from fish. Can J. Microbiol. 27 : 330-333.
6. Robert, R.J. (1978) : Fish Pathology. Bailliere, Tindall. London.
7. Schäperclaus, W. (1930) : *Pseudomonas puntata* als. Krankheitserreger bei Fischen. Untersuchungen uber Susswassercealrotseuche des Karpfens und Fleckenseuche der Weissfische. Z. Fischerei. 28 : 289-370.
8. Schäperclaus, W. (1954) : Fischkrankheiten. Akademic Verlag. Berlin 708 p.
9. Sniezko, S.F., and H.R. Axelrod eds. (1971) : Disease of Fisches. Book 2A Bacterial disease of Fishes. T.F.H. Publications.
10. Spiczakow, T. (1933) : Posocznica karpi (Septisemia haemorrhagica Cyprinorum). Przeglad Rybacki VI. 253-265.

11. Thune, R.L., T.E. Graham, L.M. Riddle and R.L. Amborski, (1982) : Effects of *Aeromonas hydrophila* extracellular products and endotoxin in age-O channel catfish. Cited from Newman S.G. (1982). *Aeromonas hydrophila* : A review with emphasis on its role in fish disease symposium international de Talloires 10, 11, 12 May 1982.

12. Wolke R.E. (1975) : Pathology of bacterial and fungal diseases of affecting fish in the pathology of Fishes, edited by W.E. Ribelin and G. Migaki. University of Wisconsin Press, Medison, Wisconsin, p. 33-116.

13. เกรียงศักดิ์ พูนสุข, อรวรรณ นวีภาพ, เยาวภา เจิงกลิ่นจันทร์, วัฒนา วัฒนวิจารณ์, เกรียงศักดิ์ สายธนู และโสมทัต วงศ์สว่าง 2526 (1983) โรคระบาดปลาน้ำจืดสาเหตุจากเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ในประเทศไทย. ประชุมวิชาการโรคระบาดปลาน้ำจืด 2525-2526, 23-24 มิถุนายน 2526 ศูนย์สารนิเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาเหตุต่าง ๆ ที่โน้มนำทำให้ปลาเป็นโรค

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลและตรวจสอบทางเอกสารอาจสรุปได้ว่า การระบาดของโรคปลาในช่วงปลายปี พ.ศ. 2525 และต้นปี พ.ศ. 2526 นั้น มีสาเหตุโน้มนำจากการที่น้ำมีอุณหภูมิลดต่ำลงผิดปกติ รวมทั้งการเลี้ยงปลาอย่างหนาแน่นมากเกินไป

พิพิธภัณฑ์วิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Predisposing Causes of the Fish Disease

Piamsak Menasveta

Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

Analyses of data and literature review revealed that the predisposing causes of the fish disease during the late 1982 and early 1983 were the combination abnormally low temperature and the over crowding effect.

บทนำ

เป็นที่ทราบแน่ชัดว่า การที่ปลาเป็นโรคโดยการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ก็ต่อเมื่อปลาอยู่ในภาวะเครียด (stress) และอ่อนแอลงจนทำให้กำลังต้านทานโรคลดลง (Newman, 1982)

สาเหตุที่ทำให้ปลาเครียดมีอยู่หลายประการด้วยกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และความเป็นกรดหรือด่างอย่างกะทันหัน น้ำมีสารอินทรีย์เจือปนมาก ที่อยู่แออัด ปริมาณออกซิเจนต่ำ น้ำมีสารพิษเจือปนอยู่มาก และการที่อาหารไม่เพียงพอหรือขาดธาตุอาหารบางอย่างที่ปลาต้องการ (Snieszko, 1974)

นอกจากสภาวะเครียดที่ทำให้ปลาอ่อนแอลงจนติดเชื้อโรคได้ง่ายแล้ว สภาวะทางกรรมพันธุ์ที่เสวลงของปลาก็อาจเป็นสาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้ปลา

อ่อนแอและติดเชื้อโรคได้ง่าย สภาวะดังกล่าวอาจเกิดขึ้นได้ถ้าพันธุ์ปลาที่นำมาเลี้ยงหรือปล่อยลงในแหล่งน้ำตามธรรมชาติไม่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์หรือคัดพันธุ์ให้มีความสามารถต้านทานโรคได้สูง

สาเหตุจากสารพิษชนิดต่าง ๆ

ในเรื่องสารพิษโดยเฉพาะอย่างยิ่งยาฆ่าวัชพืชพาราควอต (paraquat) ซึ่งกรมประมงประกาศเมื่อวันที่ 6 มกราคม 2526 ว่า "มียากำจัดวัชพืชพาราควอตหรือกรัมม็อกโซน ในปริมาณสูงอยู่ในระหว่าง 0.030–0.051 ppm. ซึ่งยากำจัดวัชพืชนี้มีปริมาณที่อยู่ในเกณฑ์ที่มีอันตรายต่อปลาได้โดยจะทำให้ปลาอ่อนแอและมีบาดแผลที่จะทำให้ติดเชื้อได้ง่าย" คณะทำงานของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้ทำการวิจัยเพื่อวิเคราะห์หาข้อเท็จจริงในเรื่องนี้ โดยทำการทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอตต่อปลาน้ำจืด 3 ชนิด (ปลาหางนกยูง ปลานิล และปลาช่อน) (เบี่ยมศักดิ์ และคณะ, 2526) พบว่า เมื่อเลี้ยงปลาทั้งสามชนิดในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารพาราควอตสูงกว่าที่ตรวจพบในแหล่งน้ำปัจจุบัน 50 เท่า เป็นเวลา 14 วัน ไม่ได้ทำให้ปลาตาย รวมทั้งไม่พบอาการผิดปกติของปลาที่สังเกตได้ ปลาไม่แสดงอาการระคายเคืองหรือผิดปกติดังอาการของปลาที่จะแสดงตอบต่อสารพิษที่มีฤทธิ์กัด รวมทั้งไม่พบบาดแผลในบริเวณลำตัวปลา เมื่อได้พิจารณาผลดังกล่าวนี้ร่วมกับผลการวิเคราะห์น้ำ ซึ่งพบว่าบ่อปลาที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคมีปริมาณสารพาราควอตเท่ากัน (จุฬาวิจัย, 2526) และผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ซึ่งรายงานว่าตรวจพบสารพาราควอตในน้ำในระดับต่ำมาก (.002 ppm.) ในตัวอย่างน้ำ 2 ใน 23 ตัวอย่าง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2526) จึงทำให้สรุปได้ว่าการระบาดของโรคปลาในครั้งนี้ไม่ได้เกิดเนื่องมาจากพิษเฉียบพลันของพาราควอต นอกจากนี้ยังมีข้อมูลอีกหลายแห่งที่สนับสนุนข้อสรุปดังกล่าว เช่นผลการทดสอบความเป็นพิษในครั้งนี้ใกล้เคียงกับผลการทดสอบในต่างประเทศหลายแห่ง FAO/WHO จัด

สารพาราควอตว่าเป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อปลา นอกจากนี้สารชนิดนี้ยังอาจถูกใช้ในการป้องกัน และรักษาโรคปลาบางชนิดได้(Sarig,1971; Herwig et. al., 1979) สำหรับพิษแบบสะสมของพาราควอตก็อาจเกิดขึ้นได้ยาก เพราะมีผู้รายงานว่าสารพาราควอตไม่สะสมในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของปลา Conning et al. (1969) รายงานว่าเมื่อทำ equilibrium dialysis ในห้องทดลอง พบว่าพาราควอตไม่จับตัวกับพลาสม่าโปรตีนหรือ tissue homogenates พาราควอตถูกดูดซึมได้น้อย และถูกกำจัดอย่างรวดเร็วออกจากร่างกาย แม้ว่าส่วนน้อยของพาราควอตอาจพบได้ในทางเดินอาหาร ผิวหนัง เหงือก ตับ และไตของปลา แต่จะไม่พบในส่วนเนื้อ (Howe & Wright, 1965)

ในเรื่องยาฆ่าแมลงนั้น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2526) ได้ทำการวิจัยในเรื่องนี้โดยวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ปลา และอาหารปลา 127 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บในระหว่างวันที่ 5–13 มกราคม 2526 และรายงานว่า "ตรวจพบสารพิษกำจัดแมลงประเภทสารประกอบคลอรีน (ดีดีที) ในปลาเกือบทุกตัวอย่าง แต่ปริมาณไม่เกินค่ามาตรฐานปลอดภัยสำหรับบริโภคของสหรัฐอเมริกาและกระทรวงสาธารณสุข พบดีดีทีในน้ำ 1 จาก 24 ตัวอย่าง ไม่พบสารพิษประเภทคาร์บาเมทและสารประกอบฟอสเฟตในปลาและน้ำ"

ในเรื่องโลหะหนัก ทางจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหลายตัวอย่างแต่ไม่พบว่าสูงเกินมาตรฐานความปลอดภัย ในทุกตัวอย่าง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ทำการตรวจสารปรอทในตัวอย่างน้ำ และรายงานว่าสูงกว่ามาตรฐานของ USEPA อย่างไรก็ดีเมื่อเปรียบเทียบผลที่วิเคราะห์ได้ ในครั้งนี้กับที่ตรวจพบในน้ำของแม่น้ำเจ้าพระยา เมื่อ 5–6 ปีที่แล้ว (Menasveta, 1978) ปรากฏว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน ในการวิเคราะห์สารปรอทในน้ำถ้ามีการแยกส่วนที่ติดอยู่กับตะกอนออกจากส่วนที่ละลายอยู่ในน้ำแล้วจะพบว่าปริมาณที่

ละลายอยู่ในน้ำจะมีค่าน้อยมาก (Menasveta, 1978) และคงไม่เกินค่ามาตรฐานความปลอดภัย

จากการพิจารณาข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจึงอาจสรุปได้ว่า ประเด็นที่ว่าสารพิษจะเป็นสาเหตุโน้มนำที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคปลาในครั้งนี้จึงมีความเป็นไปได้น้อยมาก Snieszko (1974) ได้ทำการสืบประวัติการระบาดของโรคปลาทั่วโลกก่อนปี 1973 พบว่ายังไม่เคยมีรายงานการระบาดของโรคปลาซึ่งมียาปราบศัตรูพืชเป็นสาเหตุโน้มนำ

สาเหตุอื่น ๆ

ประเด็นอื่นที่ควรถูกพิจารณาในเรื่องสาเหตุโน้มนำได้แก่สาเหตุอื่น ๆ ที่ทำให้ปลาเครียด ซึ่งอาจสรุปเป็นประเด็นใหญ่ ๆ ได้สองประเด็น กล่าวคือ (1) การเลี้ยงปลาโดยไม่ถูกหลักทางวิชาการและ (2) การที่บางส่วนของพันธุ์ปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติมีสภาวะทางกรรมพันธุ์ที่อ่อนแอลง

ในเรื่องที่เกี่ยวกับประเด็นแรกนั้น จะเห็นได้ว่าในระยะเวลา 10 กว่าปีที่ผ่านมานี้การเลี้ยงปลาได้ขยายตัวอย่างรวดเร็วในบางพื้นที่ เช่น การเลี้ยงปลาบู่ในกระชังในลำน้ำน่าน และการเลี้ยงปลาช่อน และปลาดุกที่สุพรรณบุรี ในระยะหลังนี้การเลี้ยงปลาบู่ในกระชังที่แม่น้ำน่านมีความหนาแน่นมาก นับจำนวนกระชังได้ไม่ต่ำกว่า 1,000 กระชัง (ตัวเลขจากการสำรวจของโครงการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเงินกู้ของ ADB) ก่อนที่เขื่อนเหนือแม่น้ำนี้จะเริ่มดำเนินการเก็บกักน้ำ ปัญหาเรื่องปลาเป็นโรคก็พอมีบ้างประปราย (สมปอง, 2523) หลังจากเขื่อนเริ่มเก็บกักน้ำแล้ว น้ำที่เคยไหลแรงก็ไหลช้าลง ความขุ่นของน้ำต่ำลง ทำให้ปลาเครียดและไม่กินเหยื่อ เมื่อปลาอ่อนแอลงโรคระบาดปลาจึงทวีความรุนแรงขึ้น การระบาดของโรคจึงเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเพราะน้ำไหลช้าและมีการเลี้ยงปลาอยู่อย่างหนาแน่น น้ำที่มีเชื้อโรคปลาถูกถ่ายเทลงสู่แม่น้ำเจ้าพระยาและแม่น้ำท่าจีนในเวลาต่อมา เมื่อน้ำไหลถึงเขื่อนเจ้าพระยาก็จะถูกนำไปหล่อ

เลี้ยงในพื้นที่ทำการเกษตรทั้งทางฝั่งซ้ายและฝั่งขวาของแม่น้ำหลายแห่ง ซึ่งอยู่ในจังหวัด สิงห์บุรี อ่างทอง อยุธยา สุพรรณบุรี ปทุมธานี นครนายก ฯลฯ เมื่อน้ำที่มีเชื้อโรคเหล่านี้ได้ไหลไปในพื้นที่ ๆ มีการเลี้ยงปลาอย่างหนาแน่น เช่น ในจังหวัดสุพรรณบุรีจึงอาจทำให้เกิดการระบาดของเชื้อโรคขึ้นได้

การเลี้ยงปลาช่อนที่สุพรรณบุรีนั้น นับว่ามีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเมื่อมีการขยายตัวถึงจุด ๆ หนึ่งแล้วปริมาณน้ำอาจไม่เพียงพอในบางฤดูกาล นอกจากนี้แล้วจำนวนปลาในแต่ละบ่อก็มีความหนาแน่นมากจนเกิดความแออัด ผู้ประกอบการเลี้ยงปลาต้องการผลผลิตปลาประมาณ 15 ตันต่อเนื้อที่เพียงครึ่งไร่ ดังนั้นเมื่อน้ำมีไม่เพียงพอบัญหามลภาวะภายในบ่อจึงเกิดขึ้นได้ง่าย บ่อปลาอาจมีปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำสูงขึ้น ปริมาณออกซิเจนเปลี่ยนแปลงมากในรอบหนึ่งวัน มีการเปลี่ยนแปลงสภาพความเป็นกรดและด่างรวดเร็วในรอบหนึ่งวัน สิ่งเหล่านี้ล้วนแล้วแต่เป็นสิ่งที่โน้มนำทำให้ปลาอ่อนแอ และติดเชื้อโรคได้ง่าย Snieszko (1974) ได้อธิบายว่าการเลี้ยงปลาที่มีความแออัดมากเกินไปทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียและน้ำมีความต้องการออกซิเจนทางชีวภาพสูงขึ้น โรคที่เกิดจากการเลี้ยงปลาหนาแน่นมากเกินไปได้แก่ fin rot, columnaris และโรคเลือดเป็นพิษซึ่งเกิดจากเชื้อ *Aeromonas*

ในปี 2525 อุณหภูมิในตอนปลายปีลดต่ำลงมากเป็นพิเศษและคงอยู่เช่นนั้นเป็นเวลานาน เหตุการณ์ดังกล่าวทำให้ปลาเครียดและอ่อนแอลงได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงกว่าปกติประชากรของ *Aeromonas hydrophila* จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Hazen, 1979) เหตุการณ์ดังกล่าวข้างต้นนี้จึงอำนวยโอกาสให้มีการระบาดของโรคปลาได้ง่ายขึ้น

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลาในปัจจุบันก็อาจมีส่วนโน้มนำทำให้ปลาเป็นโรค ทั้งนี้เพราะเรายังไม่มีมาตรการควบคุมคุณภาพอาหารซึ่งผลิตโดยบริษัทต่าง ๆ ที่ดี

พอ อาหารดังกล่าวขาดธาตุอาหารบางอย่างที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตของปลา เช่น ไวตามินซี เป็นต้น นอกจากนี้ การให้อาหารปลาที่เตรียมขึ้นเองโดยผู้เลี้ยงก็อาจไม่ถูกหลักวิชาการ บ่อปลาส่วนใหญ่ใช้ปลาเป็ดผสมรำเลี้ยงปลา ปลาเป็ดที่ใช้ในบางครั้งไม่สดและมีการเน่าเสียบางส่วน บางรายอาจมีการเสริมไวตามินและแร่ธาตุ แต่บางรายก็ไม่ยอมเสริม สิ่งเหล่านี้จึงเป็นเหตุที่โน้มนำทำให้ปลาอ่อนแอลงได้ Snieszko (1972) อธิบายว่ามีโรคปลาหลายชนิดที่เกิดขึ้น เนื่องจากปลาได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบไม่ครบตามที่ปลาต้องการ

สาเหตุโน้มนำอีกประการหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ ได้แก่การที่บางส่วนของพันธุ์ปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติมีสภาวะทางกรรมพันธุ์ที่อ่อนแอ จะเห็นได้ว่าในระยะ 2–3 ปี ที่ผ่านมานี้ ทางการได้มีโครงการประชาอาสา โดยชักชวนให้มีการปล่อยพันธุ์ปลาลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ ว่าที่จริงแล้วโครงการนี้เป็นโครงการที่มีความริเริ่มดี แต่ถ้าจัดการอย่างไม่ถูกต้องตามหลักวิชาแล้วก็อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อปลาต่างๆ ในธรรมชาติได้ ตามทฤษฎีนั้นปลาที่ถูกเพาะขึ้นในโรงเพาะเลี้ยงมักจะมีความแข็งแกร่งน้อยกว่าปลาที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ (Everhart, et al., 1975) ปลาที่เกิดเองในธรรมชาตินั้นธรรมชาติจะเป็นกลไกที่คัดพันธุ์ ตัวที่แข็งแรงเท่านั้นจึงมีโอกาสรอด อัตรารอดในธรรมชาติจึงต่ำ ในบางชนิดอาจต่ำถึง 0.01 % ส่วนปลาที่ถูกเพาะขึ้นในโรงเพาะเลี้ยงนั้นได้รับการประคับประคองตลอดเวลา มีการเลี้ยงอาหารตลอดเมื่อเกิดโรคก็มีการรักษาด้วยยา ดังนั้นเมื่อการปล่อยลงในธรรมชาติแล้วก็มักจะช่วยตัวเองไม่ได้ มีกำลังต้านทานโรคต่ำ ฉะนั้นเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะทางธรรมชาติอย่างกะทันหัน เช่น อุณหภูมิลดลงมากและรวดเร็ว ปลาก็จะเครียดและอ่อนแอลงจนในที่สุดการระบาดของโรคก็เกิดขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2526. รายงานผลการวิจัยโรคระบาดในปลา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พิมพ์อัดสำเนา – 7 หน้า

จุฬาวิจัย, 2526. ปลาเป็นโรค (สรุปรายงานความก้าวหน้าของคณะกรรมการเฉพาะกิจศึกษาและวิจัยโรคระบาดปลา ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีที่ 2 ฉบับที่ 2

สมปอง หิรัญวัฒน์, 2523. การเลี้ยงปลาบู่ในกระชังเริ่มมีอุปสรรค วารสารการประมง ปีที่ 33 เล่มที่ 6 : 717–724

เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, พาลาภ สิงหเสนี, อภิชัย ดาวราย และ สมเกียรติ ปียะธีระธิติวรกุล 2526. การทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอตที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด ในรายงานการวิจัยเรื่องโรคระบาดปลา ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Conning, D.M., Fletcher, K., and Swan, A.A.B. 1969. Brit. Med. Bull. 25 : 245

Everhart, W.H., Eipper, A.W., and W.D. Youngs. 1975. Principle of Fishery Science. Cornell Univ. Press, London : 288 p.

FAO/WHO, 1975. Data sheets on pesticides No. 4, Paraquat. Technical Paper No. VBC/DS/75.4, FAO/WHO : 11 p.

Hazen, T.C. 1979. Ecology of *Aeromonas hydrophila* in a South Carolina coding resevior. Microbial Ecology 5 : 179–195.

Herwig, N., Garibaldi, L., and Wolke, R.E. 1979. Handbook of drugs and chemicals used in the treatment of fish diseases. Charles C. Thomas Publishers Illinois, U.S.A. : 272 p.

Howe, D.J.T. and Wright, N. 1965. Proc. N. 2. Weed Pest Contr. Conf. 18 : 105

Menasveta, P. 1978. Distribution of heavy metals in the Chao Phraya river estuary. In Water Pollution Control in Developing Countries, Lohani, B.N. and Thanh, N.C., eds. Asian Institute of Technology, Bangkok : 129–145

Newman, S.G. 1982. *Aeromonas hydrophila :* A review with emphasis on its role in fish diseases. A paper prepared for Symposium International de Talloires. 15p. (mimeographed)

Sarig, S. 1971. Prevention and treatment of diseases of warmwater fishes under subtropical condition, with emphasis on intensive fish farming. In snieszko, S.F. and Axelrod, H.R. (eds.), Book 3, Disease of Fishes. Nepture, New Jersey, T.F.H. Publication.

Snieszko, S.F. 1972. Nutritional fish diseases. In Fish Nutrition (Ed. Halver, J.E.) p. 403–437, New York. Academic Press.

Snieszko, S.F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. J. Fish Biol. 6 : 197–208.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลักษณะของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า : เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืด มกราคม 2526

เกรียงศักดิ์ พูนสุข
เกรียงศักดิ์ สายธนู
โสมทัต วงศ์สว่าง
อรวรรณ นวีภาพ
วัฒนา วัฒนวิจารณ์

หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะของเชื้อ Haemolytic Bacteria ที่แยกได้จากการระบาดของโรคในปลาน้ำจืดซึ่งลักษณะสำคัญทำให้เกิดโรคแผลข้างลำตัวโดยเฉพาะในปลาช่อน ซึ่ง เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ, 2526 ได้ทำการแยกไว้จำนวน 103 เสตรน พบว่าเสตรนที่แยกได้ส่วนใหญ่ 94 เสตรน เป็น แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า โดยทำการศึกษาลักษณะที่สำคัญ 20 ลักษณะพบว่า เป็นพวก วิบริโอ เป็นส่วนน้อย (9 เสตรน) การศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้ลักษณะของ Arginine และความต้านทานต่อ 0/129 เป็นลักษณะสำคัญที่จะแยกกลุ่มของ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ออกจากพวก วิบริโอ จึงพิสูจน์ได้ว่า แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดครั้งนี้

Characteristics a Aeromonas hydrophila Strains : Isolated from Diseased Fishes

Kriengsag Poonsuk
Kriengsak Saitanu
Somatat Wongsawang
Orawan Nevephap
Wattana Watanavijarn

Division of Microbiology, Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The 103 strains of hemolytic bacteria were isolated from diseased fishes. All of them were tested and confirmed by 20 biochemical characters. The differentiation between Aeromonas hydrophila and Vibrio depended on the Arginine test and 0/129 resist. The results showed that 94 strains were Aeromonas hydrophila and 9 strains were vibrios.

บทนำ

เชื้อแบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ซึ่งพบได้ทั่วไปในน้ำ ในสัตว์น้ำทั่วไปมักจะเป็นสาเหตุสำคัญในการที่จะทำให้เกิดโรคในปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ (Hazen และคณะ1978, Hazen และ Fliermans,1979) เชื้อนี้พบว่าทำให้เกิดโรคระบาดในสัตว์น้ำหลายชนิดในประเทศไทย (เกรียงศักดิ์ และคณะ ๆ, 2519, เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2521, วารินทร์ และ เกรียงศักดิ์, 2522,

อัคนี และคณะ 2522, โสมทัต และคณะ, 2525, เกรียงศักดิ์ และ โสมทัต, 2525). การระบาดเท่าที่เคยได้มีผู้รายงานมาแล้วมักจะเป็นการระบาดจำกัดอยู่เฉพาะที่บ่อเลี้ยงปลาเท่านั้น แต่ในการระบาดครั้งนี้ (ตั้งแต่ปลายปี 2525 ถึง ต้นปี 2526) เป็นการระบาดอย่างรุนแรงทั้งในบ่อเลี้ยงปลาและแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งสาเหตุในการระบาดครั้งนี้พบว่า เชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เป็นสาเหตุสำคัญ (เกรียงศักดิ์และ คณะ ฯ, 2526 ก.) การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า นั้นยังไม่มีผู้ใดสามารถบอกได้แน่ชัดถึงความแตกต่างของแต่ละเสตรนที่แยกได้จากสัตว์แต่ละชนิด ซึ่ง Bergey's Manual of Determinative Bacteria (1974), ก็ยังพูดถึงการแบ่งเชื้อในกลุ่มนี้ออกเป็น 4 สายสกุล ต่อมาได้มีผู้ศึกษาลักษณะต่าง ๆ ทางชีวเคมี รูปร่างและพันธุกรรม (genetic) ของเชื้อนี้ (Porpoff and Veron, 1976), ได้พบว่า แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า กับ แอร์โรโมนาส พังตาต้า นั้นมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก สำหรับในประเทศไทยนั้นได้มีผู้ศึกษาลักษณะต่าง ๆ ทางรูปร่างและชีวเคมี 70 ลักษณะของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ที่แยกได้จากโรคระบาดสัตว์น้ำ 94 เสตรน (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์ 2523 ข.) พบว่าเสตรนที่แยกได้จากประเทศไทยมีลักษณะส่วนใหญ่คล้ายกันกับ Type strain และเสตรนที่ได้จากยุโรป ซึ่งเหมือนกับรายงานจากต่างประเทศที่ว่าลักษณะบางอย่างที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยไม่มีผลที่จะเรียกชื่อเป็นอย่างอื่น (Gilardi และคณะ ฯ, 1970, Ojala, 1968). จึงสรุปได้ว่าเสตรนที่ศึกษาโดย เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์ (2523 ข.) เป็น แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

สำหรับในการพิสูจน์เชื้อให้ได้รวดเร็วในการระบาดของโรคครั้งนี้ทางคณะผู้วิจัยจึงได้กำหนดลักษณะต่าง ๆ ที่ให้ผลถูกต้องตรงตามลักษณะของ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ที่ศึกษาไว้แล้ว (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523 ข.) ซึ่งให้ผลอยู่ในระหว่าง 80–100% ใหม่สำหรับใช้กับเสตรนที่จะต้องทดสอบครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

เสตรนที่จะทดสอบ

เป็นเชื้อที่แยกได้จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ จำนวน 103 เสตรน โดยเริ่มทำการแยกตั้งแต่วันที่ 3–12 มกราคม 2526, (เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ 2526 ก.) เสตรนเหล่านี้จะถูกเก็บไว้ใน Sugar free agar เพื่อรวบรวมไว้รอทำการศึกษาพร้อม ๆ กัน ก่อนที่จะทำการศึกษาจะนำมาเพาะเลี้ยงบน Blood agar อีกครั้งหนึ่งเพื่อดูความบริสุทธิ์ของเชื้อ เสตรนที่จะศึกษาทั้งหมดเป็นเสตรนที่แยกมาจากปลาดังนี้ คือ จากปลาช่อน ปลากระดี่ ปลาฉลาด ปลาบู่และปลาหลด จำนวน 87, 7, 3, 3 และ 3 เสตรนตามลำดับ

ลักษณะต่าง ๆ

ลักษณะต่าง ๆ ที่จะทดสอบนั้นได้เลือกเฉพาะลักษณะเด่น ๆ ที่ให้ผลตรงกัน ทั้ง Type strain, strain จากยุโรปและเสตรนที่แยกได้ในประเทศไทยซึ่งได้ทำการศึกษามาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และเกรียงศักดิ์, 2523 ข.) ในครั้งนี้ทำการทดสอบ Gram staining, Catalase, Oxidase, Motility, Oxidative/Fermentive, Growth at 37°C, Growth in ; 0% NaCl, 2% NaCl, 4% NaCl and 8% NaCl, Starch hydrolysis, Gelatin liequefaction, Decarboxylation of Arginine, Indol, Oxidation of gluconate, Acid production from ; Mannitol, Galactose and lactose, Sensitive to 0/129 (2,4–diamino 6,7–di–isopropyl pteridine) and Haemolysis รวมทั้งหมด 20 ลักษณะ

วิธีการ

การทดสอบทางชีวเคมีทุกครั้งจะทำการอบเพาะเชื้อที่ 37°ซ. และอ่านผลหลังจากอบเพาะเชื้อแล้ว 18–24 ชั่วโมง ยกเว้นในกรณีการทดสอบผลของ Arginine dihydrolase ซึ่งในกรณีที่ให้ผล negative จะต้องอบเพาะต่ออีกจนครบ

72 ชั่วโมง การทดสอบ catalase และ oxidase ทำตามวิธีที่อธิบายไว้โดย Cowan & Steel (1974), Oxidative Fermentative test ทำตามวิธีของ Hugh & Liefson (1953) และ สังเกต motility ด้วยในขณะเดียวกันในกรณีที่ไม่สามารถดูได้ก็ให้ทำ Hanging drop preparation ความสามารถเจริญได้ของเชื้อในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ ทำโดยเพาะเชื้อลงไปใน Nutrient Broth ที่มีเกลือผสมอยู่ 0, 2, 4, และ 8% ตามลำดับ ถ้ามีเชื้อเจริญได้ (ขุ่น) ก็แสดงว่าเชื้อสามารถเจริญได้ในเกลือที่มีความเข้มข้นดังกล่าว ขบวนการ Decarboxylation ของ Amino acid (Arginine) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อของ Falkaw ตามสูตรและวิธีอธิบายโดย Cowan & Steel, (1974), การสร้าง Indol, และการ Oxidized gluconate ทำตามวิธีที่อธิบายโดย Macfadins (1976) ส่วน Sugar fermentation นั้นทำการเพาะเชื้อลงใน Broth Sugars (Cowan & Steel, 1974) ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำตาลที่จะต้องการทดสอบต่อไป 1% ส่วนการ Haemolyse เม็ดเลือดสังเกตจากการเพาะเชื้อบน Blood Agar และ Sensitive to 0/129 โดยการเพาะเชื้อบน Mueller Hinton Agar (BBL) แล้วจึงวาง 0/129 disc ลงไปหลังจากอบเพาะแล้วถ้าไม่มีเชื้อขึ้นรอบ ๆ disc แสดงว่าเชื้อ Sensitive ต่อ 0/129 (Cowan & Stell, 1974)

ผล

จากการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี 20 ลักษณะพบว่าเสตรนส่วนใหญ่ที่แยกได้จากการระบาดในครั้งนี้ให้ผลทางชีวเคมีทุกชนิดที่ใช้ทดสอบเหมือนกับที่เคยศึกษามาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523 ข.) ตารางที่ 1 โดยเชื้อเหล่านี้จำนวน 94 เสตรน จะแสดงลักษณะแน่ชัดว่าเป็นเชื้อ Aeromonas hydrophila

ตารางที่ 1 ผลของการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของเสตรนที่แยกได้จากโรคระบาดปลาน้ำจืดระหว่าง มกราคม 2526, จำนวน 103 เสตรน

	Number of Strain test	Number of Positive	Percent of Positive	A.hydrophila** (Percent Pos.)
Gram straining (Negative)	103	103	100	80-100
Catalase	103	103	100	80-100
Oxidase	103	103	100	80-100
Mortility	103	103	100	80-100
Fermentative (Hugh & Lifeson)	103	103	100	80-100
Growth at 37°C.	103	103	100	80-100
Growth in;				
0% NaCl	103	101	98	80-100
2% NaCl	103	103	100	N
4% NaCl	103	102	99	N
8% NaCl	103	0	0	N
Starch hydrolysis	103	103	100	80-100
Gelatin licquefaction	103	103	100	80-100
Arginine	103	94	91.2	80-100
Indol production	103	92	89.3	80-100
Gluconate	103	68	66.0	80-100
Acid From;				
Mannitol	103	100	97	80-100
Galactose	103	102	99	80-100
Lactose	70	3	4	0-20
Sensitive to 0/129	123	9	8.8	N
Haemolysis	103	103	100	0-100

** = ลักษณะของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ที่ศึกษาโดย เกรียงศักดิ์และเกรียงศักดิ์ (2523 ข).

N = Not test

สรุปและวิจารณ์

เนื่องมาจากเสตรนที่แยกได้ในประเทศไทย จากสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ได้เคยทำการศึกษามาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523 ข.) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงไม่ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติเปรียบเทียบกับ Type strain หรือ strain ที่เคยได้ศึกษามาแล้ว จากการศึกษาลักษณะเชื้อครั้งก่อน ๆ ได้กำหนดลักษณะที่สำคัญที่จะพิสูจน์เชื้อไว้ 12 ลักษณะ (Fermentative, Motility, Catalase, Oxidase, Growth at 37°C, Indol production, Growth at Present 0% and 3% NaCl, TSI (H_2S production) Acid production from Glucose, Maltose and Mannitol จากการศึกษาครั้งนี้ได้กำหนดลักษณะต่าง ๆ เพิ่มเติม คือ Decarboxylation of Arginine and Sensitivity to 0/129 ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่จะแยกกลุ่มของ แอร์โรโมนาส ออกจากกลุ่มของ Vibrios เมื่อ Arginine ให้ผล negative และ Sensitive ต่อ 0/129 ก็จะเป็นพวก Vibrios ดังนั้นในการพิสูจน์ครั้งนี้ถ้าหากว่า Arginine ให้ผล positive และ Resist ต่อ 0/129 ก็จะดูผลการทดสอบอย่างอื่น เช่น Lactose, Mannitol และ Gluconate เป็นต้น ประกอบในการพิสูจน์เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จะพบว่าผลของ Arginine และ 0/129 จะให้ผลตรงกันในทุก ๆ เสตรนที่เราแยกออกมาว่าเป็นพวก แอร์โรโมนาส นอกจากนี้ผลของการทดสอบลักษณะอื่น ๆ อีก 19 ลักษณะ ก็ตรงตามที่เคยศึกษามาแล้ว (ตารางที่ 2)

การที่เราพบเสตรนต่าง ๆ ถึง 9 เสตรน ซึ่งเป็นพวก Vibrios นั้น เนื่องจากในการแยกเชื้อครั้งแรก (Primary Plating) ซึ่งได้อธิบายมาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และ คณะ ๆ 2526 ก.) ใช้ Blood Agar เป็น Primary plate, แล้วเลือกเอาเฉพาะพวก Haemolytic colony มาเก็บเป็นเสตรนที่จะศึกษา ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้พวก Vibrios ส่วนใหญ่จะให้โคโลนี Complete Haemolysis,

ลักษณะและขนาดเหมือนกับ แอร์โรโมนาส ซึ่งพวก Vibrios เองก็พบได้ทั่ว ๆ ไปในน้ำธรรมชาติ (สงคราม และคณะ ฯ กำลังรวบรวมผลเพื่อตีพิมพ์), อนึ่ง จากตัวอย่างปลา 1 ตัว ก็จะทำการแยกเชื้อจากอวัยวะต่าง ๆ ดังได้กล่าวมาแล้ว (เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ 2526 ก.) เมื่อมาดูผลจากจำนวน เสตรน 94 เสตรนที่ Arginine positive และ Resist ต่อ 0/129, ลักษณะอื่น ๆ จะเหมือนกับ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ทุกประการ จึงสรุปได้ว่าในการระบาด แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า เป็น exciting cause ของการระบาดทำให้มีปลาตายเป็นจำนวนมาก ในครั้งนี้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ทุกคนในหน่วยจุลชีววิทยา และนิสิตชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยในงานครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ในเวลารวดเร็ว

การศึกษานิเวศวิทยาของเชื้อ

Aeromonas hydrophila strain F 588

ประกิตติ์สิน สีหนนทน์

วีระวุฒิ มหามนตรี

วนิดา โพธารามิก

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ศึกษาความเป็นกรดและด่าง อุณหภูมิ โซเดียมคลอไรด์และยาปราบวัชพืชพาราควอตในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* F 588 พบว่า *A. hydrophila* F 588 สามารถเจริญได้ในช่วง pH ที่กว้าง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 5–11.5 ppm. ที่สูงหรือต่ำกว่าช่วงนี้ มีผลทำให้การเจริญของ *A. hydrophila* F 588 ลดลง และจะหยุดการเจริญที่ pH 4.0 โซเดียมคลอไรด์ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0–3 % จะไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อนี้ การเจริญจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 3 % และจะหยุดการเจริญเมื่อมีระดับความเข้มของโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงกว่า 6 % อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *A. hydrophila* F 588 คือที่ 30 °ซ. เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ อัตราการเจริญจะลดลง และไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 8 °ซ. ผลการทดสอบ

ยาปราบวัชพืชพาราควอตที่ระดับความเข้มต่าง ๆ เมื่อบ่มเชื้อ *A. hydrophila* F 588 ที่ 30° ซ. ไว้ในที่มืดและที่มีแสงสว่างไม่แสดงความแตกต่างกัน พาราควอตระดับความเข้มตั้งแต่ 0—10 ppm. ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อนี้ เมื่อความเข้มของพาราควอตสูงเกินระดับ 10 ppm. จะมีผลให้การเจริญลดลง และหยุดการเจริญที่ความเข้ม 200 ppm. การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. hydrophila* F 588 สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่กว้างมาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

An Ecological Study on *Aeromonas hydrophila*, strain F 588.

Prakitsin Sihanonth

Veravudh Mahamontri

Vanida Bodharamik

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The effects of pH, temperature, sodium chloride and a herbicide, paraquat, at various concentrations on the growth of the bacteria *Aeromonas hydrophila* strain F 588 were studied. The results showed that *A. hydrophila* F 588 could grow in a wide range of pH where as the optimal pH for the cell growth was between pH 5 to 11.5. The growth of *A. hydrophila* F 588 decreased at the pH 5 or higher than 11.5, moreover, the cell growth was completely stopped at pH 4.0. Sodium chloride concentrations from 0 to 3 percent had no effect on the growth of this organism. The cell growth was severely inhibited when cultivated in a nutrient broth containing sodium chloride higher than 6 percent. The optimal temperature for the growth of *A. hydrophila* F 588 was at 30°C. *A. hydrophila* F 588 could not grow at 8°C. and 45°C. The effects of paraquat at various concentrations on the growth of *A. hydrophila* F 588 showed no difference when the culture was incubated at 30°C in the absence or in the present of light. Paraquat at the concentration levels from 0 to 10 ppm. had no effect on the growth of this bacteria. However, the growth of bacteria decreased at the concentrations of paraquat higher than 10 ppm. and completely stopped at 200 ppm. These experiments showed that *A. hydrophila* F 588 could grow in the very wide range environmental conditions.

บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* เป็นเชื้อก่อโรคในคนและสัตว์ต่าง ๆ เป็นตัวการที่สำคัญทำให้เกิดการระบาดของโรคในปลา (1, 3, 5, 10, 12) *A. hydrophila* มีลักษณะเป็นรูปแท่งและเป็นแบคทีเรียแกรมลบไม่สร้างสปอร์ ส่วนมากจะเคลื่อนที่ได้โดยมีแส้ (flagellum) อยู่ที่บริเวณปลายของเซลล์ ให้ oxidase positive มีปริมาณ GC (mole % guanine และ cytosine) อยู่ระหว่าง 57–63 % เป็นแบคทีเรียพวก facultative anaerobic จึงเจริญได้ทั้ง ๆ ในที่ ๆ มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน การแพร่กระจายของ *A. hydrophila* ที่อยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะในแหล่งน้ำที่มีอินทรีย์สารละลายอยู่มากจะยิ่งมีปริมาณของแบคทีเรียชนิดนี้มาก นอกจากนี้ *A. hydrophila* ยังสามารถดำรงชีวิตและอยู่รอดในสภาวะแวดล้อมที่เลวร้าย ไม่เหมาะสมกับการเจริญเป็นอย่างมาก Eddy และ Kitchill (2) สามารถแยก *Aeromonas* sp. ได้จากเนื้อสัตว์ที่แช่แข็ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียนี้ยังมีชีวิตอยู่ได้ที่อุณหภูมิเยือกแข็ง จึงมีความสำคัญและเป็นปัญหาต่ออุตสาหกรรมการผลิตอาหาร ด้วยเหตุที่ *A. hydrophila* มีความสามารถที่จะดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมกว้างมากเช่นนี้ ในรายงานนี้จึงได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาผลของความเป็นกรดและด่าง (pH) อุณหภูมิ, เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และยาปราบวัชพืช พาราควอต ในระดับความเข้มต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* F 588 ซึ่งแยกได้จากปลาช่อนที่เป็นโรคเนื่องจากการระบาดของโรคในปลาช่อนและปลาน้ำจืดหลายชนิดในประเทศไทยเมื่อต้นปี พ.ศ. 2526

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

เชื้อ *A. hydrophila* strain F 588 ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นเชื้อที่แยกได้จากปลาช่อนที่เป็นโรคโดยคณะวิจัยโรคปลา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬา-

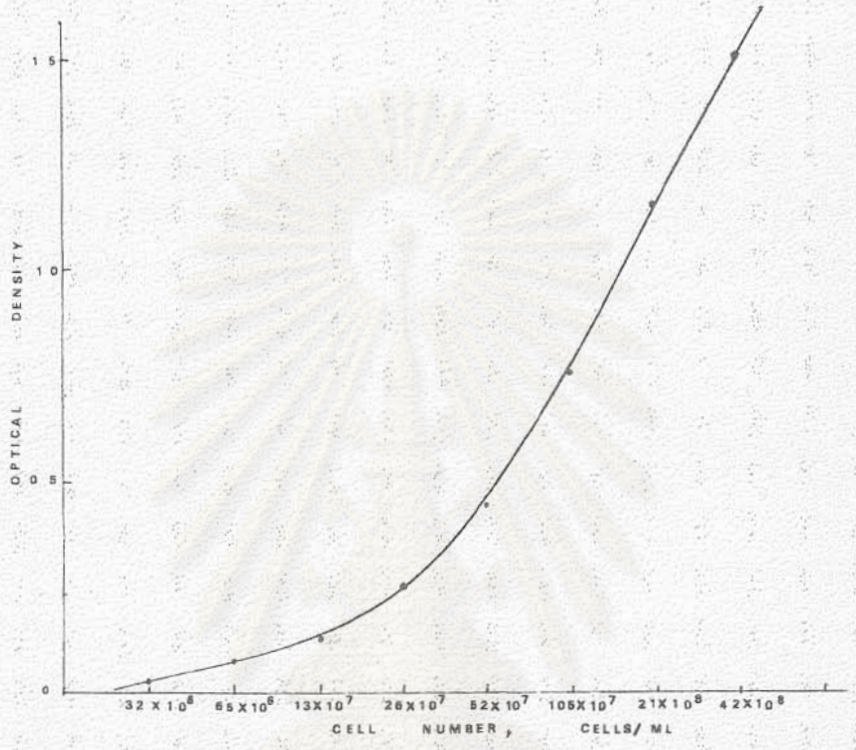
ลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำเชื้อนี้มาศึกษาความทนต่อสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ และผลของโซเดียมคลอไรด์ ยาปราบวัชพืชพาราควอตในระดับความเข้มต่าง ๆ

– การเตรียมเชื้อ *A. hydrophila* F 588 เพื่อใช้เป็น inoculum

นำแบคทีเรีย *A. hydrophila* F 588 มาเลี้ยงบน blood agar โดยวิธี streak plate บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ โคโลนีที่ขึ้นอยู่บน blood agar แสดงให้เห็นความสามารถของเชื้อนี้ในการสร้างเอนไซม์ hemolysin ทำลายเม็ดเลือดแดง โดยปรากฏเป็นบริเวณใสรวมโคโลนีจากนั้นถ่ายเชื้อลงใน 200 มล. nutrient broth ที่ปราศจากเชื้อ บ่มเชื้อนี้ที่อุณหภูมิ 30°ซ. ภายใน incubator shaker ที่ควบคุมอุณหภูมิเขย่าด้วยอัตรา 250 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจะให้จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียประมาณ 10^9 เซลล์/มล. จากการทำ dilution plate count และวัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectronic 20 (Baush & Lomb) ที่ความยาวของคลื่นแสง 550 nm. (รูปที่ 1)

– การทดสอบผลของความเป็นกรดด่าง (pH) ที่มีต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588

นำเชื้อ inoculum ของ *A. hydrophila* F 588 ปริมาณ 1 มล. อายุ 24 ชั่วโมงใส่ลงใน 200 มล. nutrient broth ที่ปรับ pH ระดับต่าง ๆ คือ 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 11.5 และ 12.0 บ่มเชื้อไว้ใน incubator shaker ที่มีอัตราเขย่า 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบอัตราการเจริญของ *A. hydrophila* F 588 โดยวัด optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 (Baush & Lomb) ที่ความยาวคลื่นแสงขนาด 550 nm.



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง optical density ที่ความยาวคลื่น 500 nm. กับจำนวนเซลล์/มล.

– การทดสอบผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588

นำเชื้อ inoculum 1 มล. ของ *A. hydrophila* F 588 อายุ 24 ชม. ที่เตรียมไว้ล่วงหน้า ใส่ลงไปใน 200 มล. nutrient broth บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กันคือที่ 8°ซ., 30°ซ., 35°ซ. และ 45°ซ. เปรียบเทียบอัตราการเจริญของ *A. hydrophila* F 588 โดยวัด optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 ที่ความยาวของคลื่นแสง 550 nm.

– การทดสอบความเข้มต่าง ๆ ของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่มีต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588

นำเชื้อ inoculum 1 มล. ของ *A. hydrophila* F 588 อายุ 24 ชั่วโมงใส่ลงไปใน 200 มล. nutrient broth ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มต่าง ๆ คือ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7% ตามลำดับ แล้วบ่มเชื้อนี้ไว้ใน incubator shaker ที่มีอัตราการเขย่า 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบอัตราการเจริญของ *A. hydrophila* F 588 โดยวัด optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm.

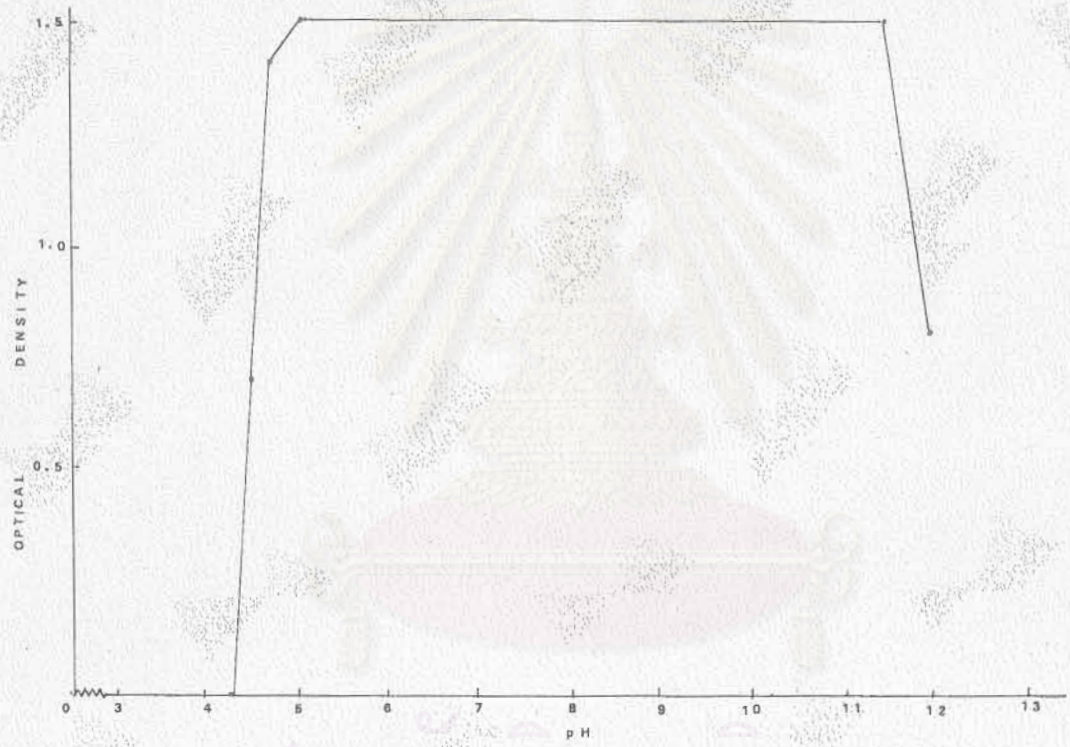
– การทดสอบผลของพาราควอตระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588

นำเชื้อ inoculum 1 มล. ของ *A. hydrophila* F 588 ที่เตรียมไว้ล่วงหน้าใส่ลงไปใน 200 มล. nutrient broth ซึ่งเติมพาราควอต (ที่มีชื่อการค้าว่า gramoxone จากบริษัท อีสเอเชียติก ซึ่งมี active ingradient อยู่ประมาณ 24.4% w/v) ให้ความเข้ม 0, 0.1, 1, 10, 25, 50, 75, 100, 150 และ 200 ppm. ตามลำดับ พาราควอตที่ใช้ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยเครื่อง membrane filter ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรู 0.45 ไมครอน และผสมกับ nutrient broth ที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave และทิ้งไว้ให้เย็นโดยเติมให้มีระดับความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้น และทำการทดลองแยกเป็น 2 ชุด โดยชุดหนึ่งบ่มเชื้อใน incubator shaker โดยไม่เปิดแสง (ที่มืด) มีอัตราการเขย่า 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนอีกชุดหนึ่งทำการบ่มเชื้อเช่นเดียวกับชุดแรกต่างกันที่เปิดไฟให้แสงสว่างตลอดระยะเวลาการทดลอง เปรียบเทียบอัตราการเจริญของ *A. hydrophila* F 588 โดยวัด optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm.

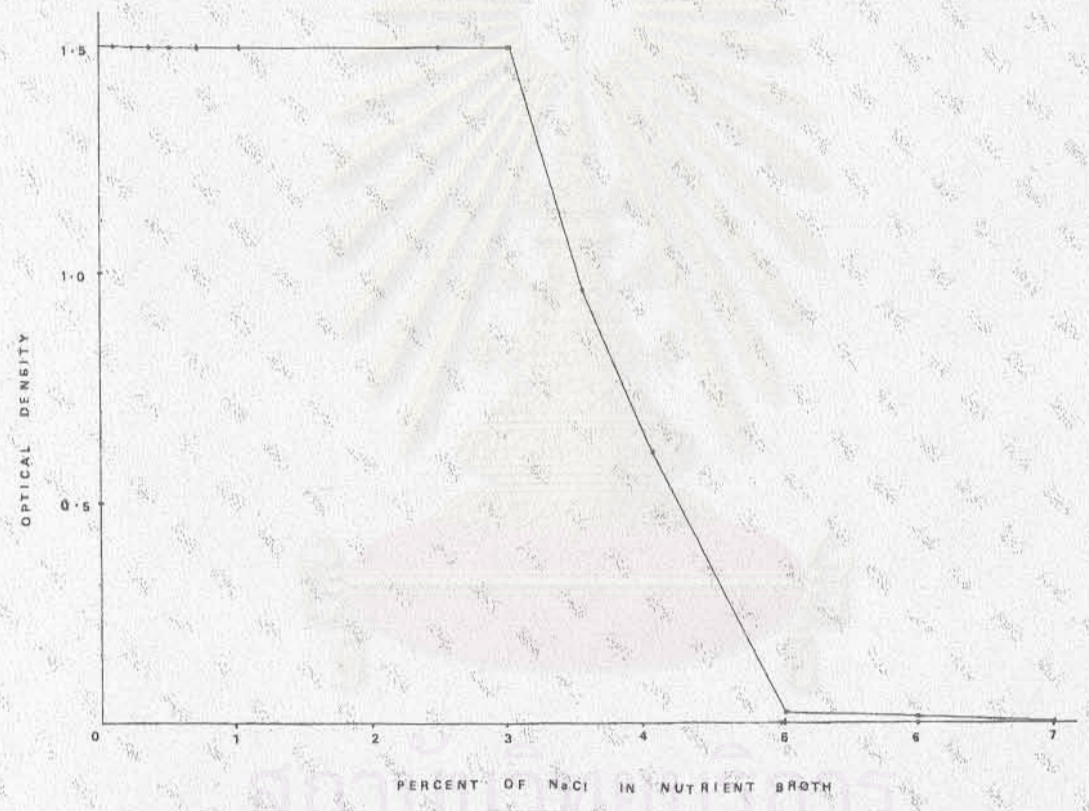
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลจากการทดลองพบว่าเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่กว้างมาก ผลของ pH ที่มีต่อการเจริญของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 แสดงให้เห็นว่า pH ที่เหมาะสม (Optimum pH) สำหรับการเจริญกว้างมากคืออยู่ในช่วงระหว่าง pH 5–11.5 (รูปที่ 2) เมื่อ pH ต่ำกว่า 5 หรือ สูงกว่า 11.5 การเจริญจะลดน้อยลง และจะไม่มีการเจริญที่ pH4 แสดงว่า pH ของน้ำไม่มีผลต่อการแพร่กระจายของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ในธรรมชาติ ผลการทดลองที่ได้นี้เป็นการสนับสนุนผลงานของ Hazen และคณะ (6) ซึ่งได้สำรวจ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วสหรัฐและรายงานว่า *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* มีการกระจายในแหล่งน้ำต่าง ๆ ที่มี pH แตกต่างกันมาก.

แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เอฟ–588 สามารถทนต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ระดับต่าง ๆ ในช่วงที่กว้างมาก ผลการทดลองพบว่าเชื้อนี้เจริญได้ดีในโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มตั้งแต่ 0–3% แต่เมื่อความเข้มของโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 3% อัตราการเจริญจะลดน้อยลง และพบว่าที่ความเข้มข้น 6% ของโซเดียมคลอไรด์ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 จะไม่มีการเจริญ (รูปที่ 3) โดยทั่วไป *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ไม่จัดว่าเป็นแบคทีเรียในน้ำเค็ม (4) แต่สามารถเจริญได้ในน้ำกร่อย (9) จากการทดลองนี้แสดงว่า *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 สามารถจะแพร่กระจายได้ในน้ำจืดจนกระทั่งถึงน้ำกร่อย ซึ่งตรงกับข้อเท็จจริงที่เกิดขึ้นจากการระบาดของโรคปลาที่เกิดในต้นปี พ.ศ. 2526 ในประเทศของเราที่พบปลาเป็นโรคได้ทั้งในแหล่งน้ำจืดและบริเวณน้ำกร่อยตอนใกล้ปากแม่น้ำแม่กลอง.



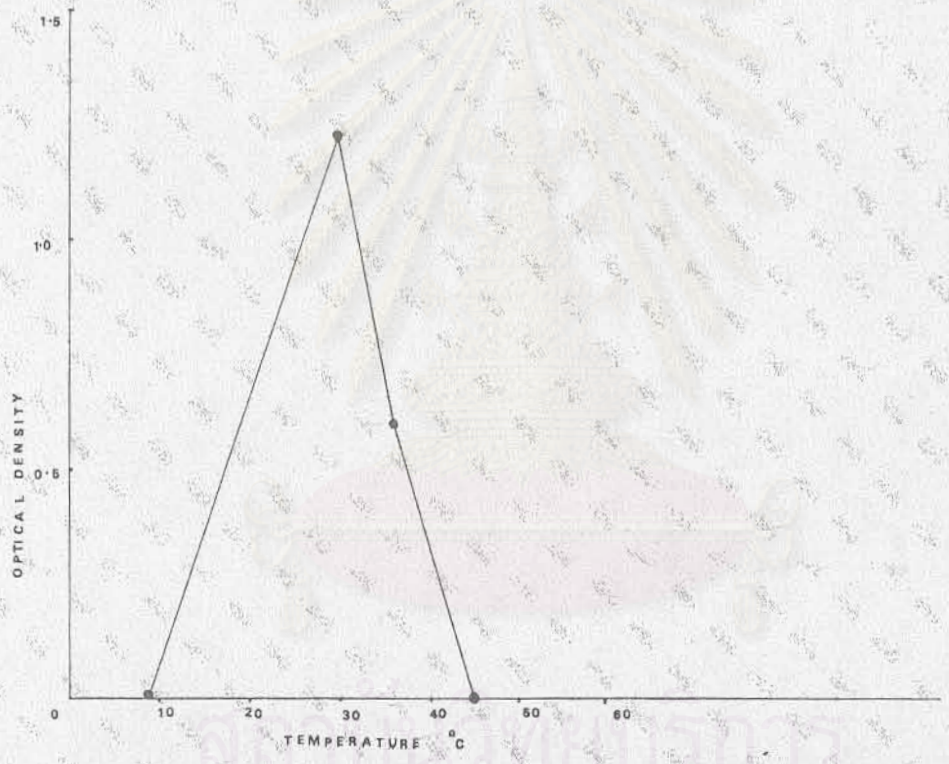
รูปที่ 2 ผลของ pH ต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588



รูปที่ 8 ผลของ NaCl ต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ-588 คือที่ 30°ซ. เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการเจริญลดลง ที่อุณหภูมิ 45°ซ. จะไม่มีการเจริญของเชื้อนี้ ส่วนที่อุณหภูมิ 8°ซ. (รูปที่ 4) จะไม่มีการเจริญเช่นเดียวกัน จากการทดลองของ Rouf และ Rigney (8) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมกับ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* นั้นแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (strain) ของเชื้อแบคทีเรียนี้ สำหรับช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญจะอยู่ระหว่าง 15°-30°ซ. อุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 0°-15°ซ. และอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 40°-45°ซ. และแบ่งแยก *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ออกเป็น 2 กลุ่มโดยอาศัยความสามารถในการเจริญเติบโตที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน คือ กลุ่ม psychrophile เจริญที่อุณหภูมิต่ำ และ mesophile ซึ่งเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง สำหรับ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ-588 นี้อาจจัดอยู่ในกลุ่ม mesophile การที่เชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ-588 ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 8°ซ. ได้นั้นอาจเป็นเพราะในช่วงอุณหภูมิต่ำระดับ 8°ซ. *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* มีกิจกรรมทางเมตาโบลิซึมต่ำมากทำให้ความสามารถในการใช้อาหารลดน้อยลงมาก (1) แต่อุณภูมิสูงกว่า 45°ซ. จะทำให้ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ตายได้ จากการทดลองของ Ross และ Smith (7) พบว่าอัตราการตายของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ที่อยู่ในแม่น้ำจะสูงขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น จากการทดลองนี้แสดงว่าอุณหภูมิอาจเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการแพร่กระจายของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงหรือต่ำจนเกินไป

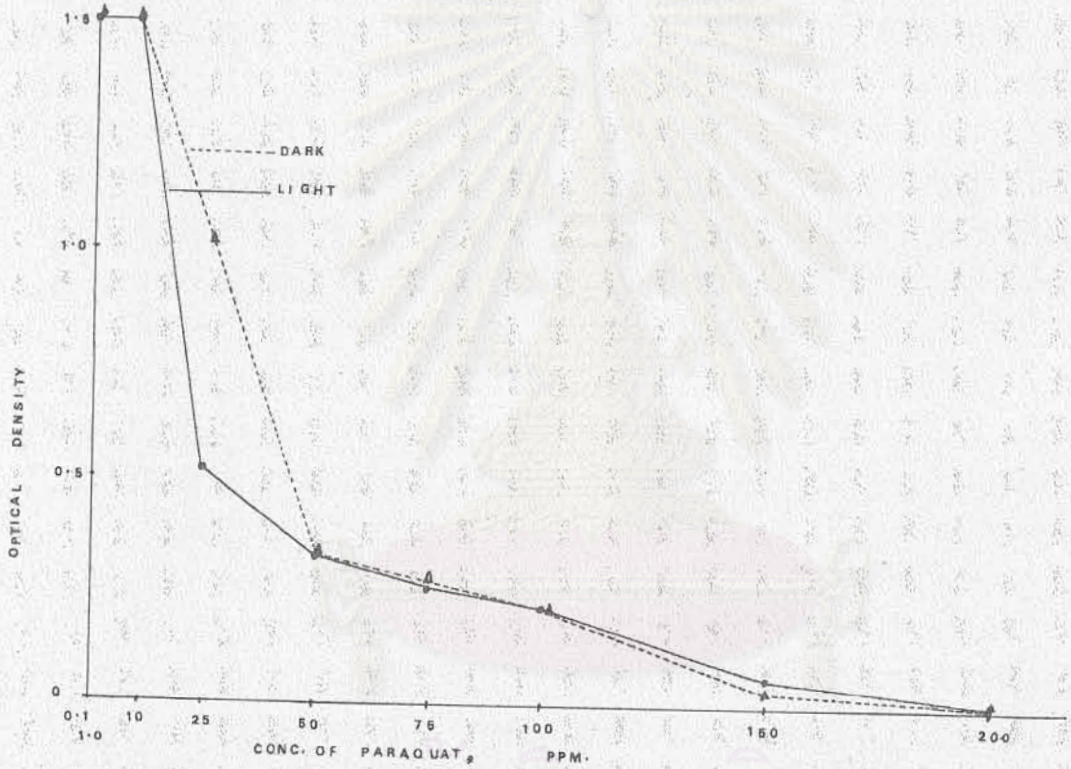
เนื่องจาก กรมประมง ได้เคยมีประกาศว่า สาเหตุที่โน้มนำให้เกิดโรคระบาดของปลาในประเทศไทยเมื่อต้นปี พ.ศ. 2526 นี้ เนื่องจากผลของการใช้ยาปราบศัตรูพืช จำพวกพาราควอต ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษา



รูปที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588

ผลของ พาราควอต ที่มีต่อ แบคทีเรีย *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ 588 ที่แยกได้จากปลาช่อนที่เป็นโรค การทดสอบนี้ได้แบ่งการทดลองทำเป็นสองชุด โดย ชุดหนึ่งบ่มเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม พาราควอต ระดับความเข้มต่าง ๆ ไว้ในที่มืด และอีกชุดหนึ่งบ่มเชื้อไว้ในที่มีแสงสว่าง ทั้งนี้เนื่องจาก พาราควอต อาจจะเกิดการสลายตัวเมื่อถูกแสง จากการทดลองพบว่าอัตราการเจริญของเชื้อเมื่อบ่มไว้ในที่มีแสงและในที่ไม่มีแสง ไม่แสดงความแตกต่างกัน (รูปที่ 5) ที่ความเข้มข้นของ พาราควอต ตั้งแต่ 0–10 ppm. จะไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของ พาราควอต สูงขึ้นอัตราการเจริญจะลดลง และที่ความเข้ม 200 ppm. ของ พาราควอต จะไม่มีการเพิ่มจำนวนของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ 588 แต่อย่างไรก็ตามในระดับความเข้มของพาราควอตสูงถึง 200 ppm. นี้ไม่น่าจะมีโอกาสที่จะเป็นไปได้ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติเนื่องจากมีรายงานว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีความเข้มของพาราควอต อยู่ประมาณ 0.1 ppm. และในการกำจัดวัชพืชนั้นระดับความเข้มข้นของพาราควอตที่ใช้จะอยู่ในช่วง 0.80–1.2 ppm. (11) ผลจากการทดลองนี้จึงชี้ว่าปริมาณ พาราควอต ในแหล่งน้ำไม่น่าจะมีผลกระทบต่อการเจริญของ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ 588 ผลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองนี้บ่งว่า *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ 588 สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในสภาพแวดล้อมอันเลวร้ายที่ไม่น่าจะเหมาะสมกับการเจริญได้กว้างมาก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 ผลของ PARAQUAT ต่อการเจริญของ *A. hydrophila* F 588 ในที่มีแสง (●) และในที่มืด (△)

เอกสารอ้างอิง

1. Caveri, B.Z., Allen, D.A. and Colwell, R.R. 1981. Effect of temperature on growth and activity of *Aeromonas* spp. andmixed bacterial populations in the Anacostia river. Appl. Eviron. Microbial. 41 : 1052-1054.
2. Eddy, B.P. and Kitchell, A.J. 1959. Cold-tolerant fermentative gram negative organisms from meat and other sources. J. Appl. Bacteriol. 22 : 57-63.
3. Esch, G.W., and Hazen, T.C. 1978. Thermal ecology and stress: a case history of red-sore disease in large mouth bass *(Micropterus salmoides)*. In : J.H. Thrope and J.W. Gibbons (eds) : Energy and Environmental Stress in Aquatic Systems. pp. 331-363. DOE Symposium Series (CONF-771114)
4. Gibson, D.M., Hendrie, M.S., Honston, N.C. and Hobbs, G. 1977 the identification of some gram negative heterotrophic aquatic bacteria. p. 135-159. In F.A. Skinner and J.M. Shewan (ed.) Aquatic Microbiology. Academic Press Inc. New York.
5. Harley, R.S., Davis, P. and Hyde J.M. 1967. Environmental Stress and *Aeromonas liquefaciens* in American and threadfin shad mortalities. Prog. Fish-Cult. 29 : 193.
6. Hazen, T.C., Fliermans, C.B., Hirsch, R.P. and Esch, G.W. 1978. Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. Appl. Environ. Microbiol. 36 : 731-738.
7. Ross, A.J. and Smith, C.A. 1974. Effect of Temperature on survival of *Aeromonas liquefaciens*, *Aeromonas salmonicida*. *Chondrococcus columnaris* and *Psudomonas fluorescens*. Prog. Fish-Cult. 36 : 51-52.
8. Rouf, M.A and Rigney, M.M. 1971. Growth Temperature and temperature characteristics of *Aeromonas* Appl. Microbiol. 22 : 503-506.
9. Sayler, G.S., Nelson, Jr. J.D., Justice, A. and Colwell, R.R. 1975. Distribution and significant of fecal indicator organisms in the upper Chesapeake bay Appl. Microbiol. 30 : 625-638.

10. Shotts, E. B., Jr., Gaines, J. L., Martin C. and Prestwood A.K. 1972. Aeromonas-induced deaths among fish and reptiles in eutrophic lake. J. Am. Vet. Med. Ass. 161 : 603-607.

11. Summer, L. A. 1980. The bipyridinium herbicides. Academic Press, London.

12. Thrope, J. E. and Roberts R. J. 1972. An aeromonas epidemic in brown trout. J. Fish Biol. 4 : 441-451.

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้โอกาสและใช้สถานที่สำหรับการทำงานวิจัย ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. โสมทัต วงศ์สว่าง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเฟื้อให้เชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ-588 เพื่อใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาสาเหตุโน้มนำของการเกิดโรคในปลาช่อน เนื่องจากเชื้อ Aeromonas hydrophila F588

*วีระวุฒิ มหามนตรี
*ประกิตติ์สิน สีหนนทน์
*วนิดา โพธารามิก
**เปียมศักดิ์ เมนะเศวต
**สมเกียรติ บียะธีรธิติวรกุล

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
**ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาผลของการใช้อาหารปลาเบ็ด Casamino acid และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* F588 ในลูกปลาช่อน ผลการวิจัยพบว่า อุณหภูมิต่ำ (22°ซ.) ในระยะแรก (0–96 ชม.) มีผลทำให้ปลามีอัตราการติดเชื้อ และเป็นโรคตายเร็วกว่าปลาที่อยู่ในอุณหภูมิห้อง (29°ซ.) การให้อาหารปลาเบ็ด Casamino acid และเชื้อ *A. hydrophila* F588 ในตอนเริ่มการทดลอง (ที่ 0 ชม.) มีผลทำให้ปลาติดเชื้อและเป็นโรคตายมากกว่าการเติมสิ่งเหล่านี้ในระยะหลัง (ที่ 96 ชม.) ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำและปริมาณแอมโมเนียในน้ำสูงมากเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปลาเครียดและอ่อนแอจนติดเชื้อได้ง่าย

A Study on the Predisposing Cause of *Aeromonas hydrophila* F588 infection in snake-head fish (*Ophicephalus striatus*)

* *Veravudh Mahamontri*
* *Prakittisin Sihanonth*
* *Vanida Bodharamik*
** *Peamsakdi Menasveta*
** *Somkiat Piyatiratitivokul*

* *Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University*

** *Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University*

Abstract

A study was undertaken to determine the effects of trast fish feeding, casamino acid, and temperature changes on the infection rates of *Aeromonas hydrophila* F588 in snake-head fish. It was found that the low temperature (22°C.) at the beginning period (0-96 hours) resulted in the faster infection rate and higher fish death than the group of fish which was tested at the room temperature (29°C.). Inoculation of *A. hydrophila* together with trash fish feeding and adding casamino acid at the beginning (at 0 hour) resulted in faster and higher disease infection than those that were treated at the later stage (at 96 hours). Low dissolved oxygen and high amonia contents in water might be other factors which cause the fish stress and weakness.

บทนำ

เนื่องจากได้เกิดโรคระบาดในปลาน้ำจืดขึ้นในประเทศไทยหลายครั้งต่อเนื่องกันมา (1,2,4) โดยเฉพาะในครั้งหลังสุดที่มีการระบาดของโรคอย่างรุนแรงและกว้างขวางในต้นปี พ.ศ. 2526 ทำความเสียหายให้แก่ผู้เลี้ยงปลาและส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก โรคดังกล่าวนี้เป็นโรคติดเชื้อที่ทำให้เกิดแผลข้างลำตัวในปลาน้ำจืดและทำให้ปลาตาย ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* เชื้อนี้นอกจากจะทำให้เกิดโรคในปลา (8, 11, 17, 19) แล้วยังเป็นเชื้อก่อโรคในคน (5, 6, 9, 10) และสัตว์อื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น กบ งู เต่า หอย จระเข้และอื่น ๆ (7, 12, 13, 14, 15, 17, 20) *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติตั้งแต่น้ำจืดจนถึงน้ำกร่อย สามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้กว้างขวาง เป็นที่ทราบกันดีว่า *A. hydrophila* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคระบาดในปลา แต่สิ่งที่ยังไม่ทราบกันแน่ชัดก็คือ อะไรเป็นสาเหตุที่โน้มนำให้เกิดการติดเชื้อนี้ในปลาจนเกิดการระบาดของโรค

ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ และคณะ (3) ได้ทำการทดลองหาสาเหตุที่โน้มนำให้มีการเพิ่มปริมาณของเชื้อ *A. hydrophila* ในน้ำที่เลี้ยงปลาช่อนและสามารถทำให้ปลาช่อนที่เลี้ยงเกิดการติดเชื้อและเป็นโรคได้ ผลจากการทดลองพบว่าเมื่อเติม casamino acid ในระดับความเข้มข้นที่ 0.05% ลงไปในอ่างเลี้ยงปลาช่อนจะทำให้ปลาช่อนเป็นโรคและตาย นอกจากนี้สาเหตุสำคัญอีกอย่างหนึ่ง คือ ภาวะเครียดที่เกิดขึ้นในปลาก็เป็นปัจจัยร่วมที่สำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในปลา (11) ซึ่งภาวะเครียดนี้อาจเนื่องมาจากการที่มีสารบางอย่างอยู่ในน้ำ การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความหนาแน่นของประชากรของปลา เป็นต้น คณะผู้วิจัยกลุ่มนี้จึงมุ่งที่จะทำการทดลองเพื่อศึกษาถึงสภาวะแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำต่อการติดเชื้อในปลาที่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* F588 ที่แยกได้จากปลาช่อนที่เป็นโรค

โดยทดสอบผลของการใช้ปลาเบ็ดเป็นอาหารเลี้ยงปลาช่อน เลี้ยงปลาที่อุณหภูมิสลับ (96 ชม. ที่ 22°ซ. แล้วเพิ่มเป็น 29° ซ.) การเติม casamino acid อาหารปลาเบ็ด และเชื้อลงไปในน้ำที่เลี้ยงปลาในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน รวมทั้งการตรวจหาปริมาณของออกซิเจน และ แอมโมเนีย ที่มีอยู่ในน้ำที่เลี้ยงปลานั้นด้วย

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ใช้ *A. hydrophila* F588 ที่คณะผู้วิจัยโรคปลา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แยกได้จากปลาช่อนที่เป็นโรค

1. การทดสอบผลของอาหารปลาเบ็ดที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *A. hydrophila* F588 และการโน้มนำให้เกิดการติดเชื้อในปลาช่อน

การทดลองเลี้ยงลูกปลาช่อนที่ไม่ฆ่าเชื้อโดย ฟอร์มาลิน ก่อนการทดลอง ขนาดความยาวลำตัวระหว่าง 3–4 เซนติเมตร 10 ตัว เลี้ยงไว้ในโถแก้วรูปทรงกระบอกขนาดความจุ 2 ลิตรที่บรรจุน้ำอยู่ 1 ลิตร โดยใช้น้ำประปาที่ผ่านการไล่คลอรีนออกหมดแล้ว เริ่มให้อาหารปลาเบ็ดโถละ 5 กรัม ทันทีเมื่อเริ่มต้นการทดลองและให้อาหารปลาเบ็ดในอัตรานี้ทุก ๆ วันตลอดการทดลอง การทดลองนี้ทำแยกเป็น 2 พวก พวกหนึ่งไม่เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 อีกพวกหนึ่งเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ลงไปให้มีปริมาณอยู่ในน้ำเป็น 10^6 เซลล์/มล. ใช้ตาข่ายพลาสติกปิดไว้บนโถแก้วเพื่อป้องกันปลากระโดดออกจากโถ การทดลองแต่ละชุดมี 2 ซ้ำการทดลอง อุณหภูมิตลอดการทดลอง คือ อุณหภูมิห้องซึ่งอยู่ระหว่าง 29 ± 3°ซ.

การบันทึกผลเริ่มตั้งแต่การทดลอง โดยดูพฤติกรรมของปลาที่ทดลอง ดูสภาพภายนอกของปลา เก็บข้อมูลการตายของปลาทุก 24 ชั่วโมง วัดการเจริญของ *A. hydrophila* F588 โดยวัด Optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 (Baush & Lomb) ที่ความยาวคลื่นของแสง 550 nm.

2. การทดสอบผลของ 0.01 % casamino acid ที่เติมลงไปในน้ำเลี้ยงปลาโดยเลี้ยงปลาที่อุณหภูมิสลับ (22°ซ.) เป็นเวลา 96 ชม. แล้วเพิ่มเป็น 29°ซ.

วิธีทำการทดลองเป็นแบบเดียวกับข้อ 1. ยกเว้นไม่ให้อาหารปลาเม็ด แต่เติม casamino acid ลงไปในโถเลี้ยงปลาให้มีปริมาณของ casamino acid อยู่ในน้ำมีความเข้มข้น 0.01 แบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เลี้ยงปลาโดยไม่เติมเชื้อ *Aeromonas* และเลี้ยงสลับอุณหภูมิ กลุ่มที่ 2 เลี้ยงปลาโดยเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ลงไปให้มีปริมาณอยู่ในน้ำ 10^6 เซลล์/มล. และเลี้ยงสลับอุณหภูมิ กลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 4 เลี้ยงปลาโดยไม่เติมเชื้อ และเติมเชื้อให้มีปริมาณ 10^6 เซลล์/มล. ตามลำดับ แต่เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยตลอดเพื่อใช้เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 2

การบันทึกผล เช่นเดียวกับข้อ 1

3. ทดสอบผลของการเลี้ยงปลาช่อนสลับอุณหภูมิ เมื่อเติม casamino acid หรือเติมอาหารปลาเม็ดปริมาณน้อยและเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ในช่วงเวลาต่างกัน

วิธีทดลองโดยเลี้ยงปลาช่อนขนาดเดียวกับการทดลองข้างต้นในโถแก้วรูปทรงกระบอกขนาดความจุ 2 ลิตร ที่บรรจุน้ำ 1 ลิตร การทดลองแต่ละชุดมี 2 ซ้ำการทดลอง เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 22°ซ. เป็นเวลา 96 ชม. แล้วเพิ่มเป็นอุณหภูมิห้อง 29°ซ. แบ่งการทดลองเป็นชุดต่าง ๆ ดังนี้

ชุดที่ 1. เป็น control

ชุดที่ 2. ให้อาหารปลาเม็ด 2 กรัมต่อโถ ตอนเริ่มต้นการทดลอง

ชุดที่ 3. ให้อาหารปลาเม็ด 2 กรัมต่อโถ และเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ในชั่วโมงที่ 96

ชุดที่ 4. เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ตอนเริ่มต้นการทดลอง

ชุดที่ 5. เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ตอนเริ่มต้นการทดลอง และเติม casamino acid ให้มีความเข้มข้น 0.01 % ในชั่วโมงที่ 96

ชุดที่ 6. เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ในชั่วโมงที่ 96

ชุดที่ 7. เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 และ casamino acid ให้มีความเข้มข้น 0.01 % ในชั่วโมงที่ 96

การบันทึกผลเริ่มตั้งแต่การทดลอง โดยดูพฤติกรรมของปลาที่ทดลอง ดูสภาพปลาภายนอก เก็บข้อมูลการตายของปลาทุก 24 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง

ผลการทดลอง

1. ผลของอาหารปลาเบ็ดที่มีต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *A. hydrophila* F588 และการโน้มทำให้เกิดการติดเชื้อในปลาช่อน

อาหารปลาเบ็ดที่ใส่ลงไปโดยเฉพาะส่วนที่เหลือหลังจากปลากินจะเพิ่มปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ในน้ำที่เลี้ยงปลา เป็นผลทำให้เชื้อ *A. hydrophila* F588 เพิ่มจำนวนสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในชุดที่เติมเชื้อ ส่วนชุดที่ไม่เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ก็มีการเจริญของแบคทีเรียที่ติดมากับตัวปลา (ใช้ปลาที่ไม่แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลอง) สูงมากเช่นกัน ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำที่วัดออกมาในรูปของ Optical density แสดงไว้ในรูปที่ 1 การตายของปลาในชุดที่เติมเชื้อเริ่มเกิดขึ้นก่อนในวันที่ 3 และตายหมดทุกตัวในวันที่ 4 ส่วนชุดที่ไม่เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 การตายของปลาเริ่มขึ้นในวันที่ 4 โดยมีเปอร์เซ็นต์ที่รอด 65±5 และไม่มีการตายเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (ตารางที่ 1)

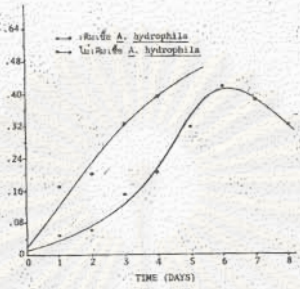
2. ผลของ 0.01 % casamino acid ที่เติมลงไปในน้ำที่เลี้ยงปลาเมื่อสลับอุณหภูมิ (96 ชม. ที่ 22°ซ.) แล้วเพิ่มเป็นอุณหภูมิห้อง (29°ซ.) เปรียบเทียบกับชุดที่เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างเดียว

ปรากฏว่า optical density ที่ความยาวคลื่น 550 nm. ของชุดที่เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 สูงกว่าชุดที่ไม่เติมเชื้อและพวกที่อยู่ในสภาพสลับอุณหภูมิมีจุดสูงสุดของการเจริญสูงกว่าพวกที่เลี้ยงในอุณหภูมิห้อง (รูปที่ 2 และ 3) และผลของการเปลี่ยนอุณหภูมิสลับกันระหว่าง 22°ซ. กับอุณหภูมิห้อง เป็นเหตุทำให้ปลาเป็นโรคและตายในระดับความเข้มข้นของ casamino acid 0.01 % ในขณะที่พวกที่อยู่ที่อุณหภูมิห้องตลอดเวลาไม่มีการตาย (ตารางที่ 2)

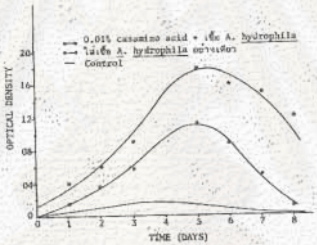
3. ผลการเลี้ยงปลาช่อนที่อุณหภูมิสลับ เมื่อเติม casamino acid หรือเติมอาหารปลาเบ็ดปริมาณน้อย และเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ในช่วงเวลาต่างกัน

การเติม casamino acid 0.01 % หรือให้อาหารปลาเบ็ด และเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ในตอนเริ่มต้นการทดลองจะมีโอกาสทำให้ปลาตายมากกว่าการเติม casamino acid หรืออาหารปลาเบ็ดเพียงอย่างเดียวโดยไม่เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 หรือการเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 โดยไม่เติม casamino acid หรืออาหารปลาเบ็ดในตอนเริ่มต้นก็มีผลทำนองเดียวกัน ผลของจำนวนปลาที่ตายและร้อยละของปลาที่รอดในการทดสอบผลของ *casamino acid* อาหารปลาเบ็ดและการเติมเชื้อ *H. hydrophila* F588 ในช่วงเวลาต่างกันได้แสดงรายละเอียดไว้ในตารางที่ 3

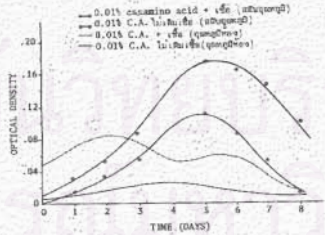
4. ผลการตรวจหาปริมาณอ๊อกซิเจนและแอมโมเนียมที่อยู่ในน้ำที่เลี้ยงปลา พบว่าปริมาณอ๊อกซิเจนแปรผันอยู่ในระดับต่ำในทุกหน่วยทดลอง (0.5–1.5 ppm.) ที่อยู่ในอุณหภูมิห้อง (29°ซ.) สำหรับหน่วยทดลองที่อยู่ในอุณหภูมิ 22°ซ. ที่ 96 ชม. มีการแปรผันของอ๊อกซิเจนในระดับที่สูงกว่า (1.0–3.0 ppm.) ระดับของแอมโมเนียจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ จากตอนต้นของการทดลอง และมีความเข้มข้นสูงสุดมากกว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองในทุกหน่วยของการทดลองที่มีการเติมปลาเบ็ดใน



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียในรูป Optical density ที่ 550 nm. กับเวลาเมื่อเติมอาหารปลาเบ็ดลงในน้ำที่เลี้ยงลูกปลาช่อนที่ไม่ได้แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลอง



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียในรูปของ Opical density ที่ 550 nm. กับเวลาเมื่อเติม casamino acid 0.01 % ลงในน้ำที่เลี้ยงปลา ณ อุณหภูมิห้อง สลับกับอุณหภูมิ 22° ซ.



รูปที่ 3 เปรียบเทียบผลของ 0.01 % casamino acid ที่มีต่อการเจริญของแบคทีเรียในน้ำที่เลี้ยงลูกปลาช่อนที่ไม่ได้แช่ฟอร์มาลินมาก่อนการทดลอง เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิห้องสลับกับอุณหภูมิ 22° ซ.

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และ จำนวนร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อน ทดสอบผลของอาหารปลาเบ็ด 10 กรัมต่อโล ใช้ลูกปลาช่อนที่ไม่ฆ่าเชื้อโดยฟอร์มาลินก่อนการทดลอง

	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
	จำนวนที่ตาย	จำนวนที่รอด	% ที่ตาย	จำนวนที่รอด	% ที่ตาย	จำนวนที่รอด	% ที่ตาย	จำนวนที่รอด	% ที่ตาย	จำนวนที่รอด	% ที่ตาย	จำนวนที่รอด	% ที่ตาย	จำนวนที่รอด
ไม่มีเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เอฟ 588.	0	100	0	100	0	100	7	65±5	0	65±5	0	65±5	0	65±5
มีเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เอฟ 588. อยู่ในน้ำ 10^6 เซลล์/มล.	0	100	1	100	0	95±5	19	0±0	-	-	-	-	-	-

อุณหภูมิที่เลี้ยงปลา	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
อุณหภูมิห้อง ($29±3^{\circ}$ซ.)	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
อุณหภูมิสลับ	0	100	9	55±7	6	25±7	2	15±7	0	15±7	0	15±7	0	15±7

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และ ร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อนที่เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิสลับ (22°ซ. เป็นเวลา 96 ชั่วโมง แล้วเพิ่มเป็นอุณหภูมิห้องหรือ 29 ± 3°ซ.)

	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
Control	0	100	0	100	1	95±5	0	95±5	0	95±5	0	95±5	0	95±5
ให้อาหารปลาเป็ด 2 กรัมต่อไก่ ตอนเริ่มต้น	0	100	0	100	1	95±5	0	95±5	0	95±5	0	95±5	0	95±5
ให้อาหารปลาเป็ด 2 กรัมต่อไก่ และเติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ตอนเริ่มต้น	0	100	0	100	0	100	1	95±5	2	85±7	2	75±5	0	75±7
ให้อาหารปลาเป็ด 2 กรัมต่อไก่ และเติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ในชั่วโมงที่ 96	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
เติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ตอนเริ่มต้น	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
เติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า และ casamino acid .01% ตอนเริ่มต้น	0	100	9	55±7	6	25±7	2	15±7	0	15±7	0	15±7	0	15±7
เติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ตอนเริ่มต้นและเติม casamino acid .01% ในชั่วโมงที่ 96	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
เติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ในชั่วโมงที่ 96	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
เติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ในชั่วโมงที่ 96	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
เติมเชื้อ แอโรโมนาส ไฮโดรฟิล่า casamino acid .01% ในชั่วโมงที่ 96	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100

ปริมาณมาก (5 กรัม/โถ) ส่วนหน่วยทดลองที่มีการเติม casamino acid และปลาเบ็ดปริมาณน้อย (2 กรัม/โถ) จะมีความแปรผันของแอมโมเนียต่ำกว่า (2.0–10.0 ppm)

วิจารณ์ผลการทดลอง

อาหารปลาเบ็ดที่เติมลงไปในน้ำที่เลี้ยงปลาเมื่อมีเหลือตกค้างอยู่ในน้ำจะทำให้มีอินทรีย์สารในรูปของ ไนโตรเจนอินทรีย์ ซึ่งบางส่วนจะถูกย่อยสลายให้เป็น peptide หรือกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ เป็นผลให้มีการเพิ่มจำนวนของ *A. hydrophila* F 588 ในอัตราที่สูงมากทำนองเดียวกันกับผลของการใช้ casamino acid ที่รายงานโดย ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ และคณะ (3) นอกจากนี้อาหารปลาเบ็ดยังมีผลโน้มนำให้เกิดโรคและตายเช่นเดียวกันด้วย สำหรับการตายของปลาช่อนกลุ่มที่ไม่ได้เติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ลงไปด้วยนั้น น่าจะเป็นผลที่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* ในธรรมชาติที่ติดมากับปลาเพราะลักษณะของปลาที่ตายมีลักษณะของการเกิดแผลตามลำตัว และเหงือกซีดขาวแบบเดียวกัน แต่อัตราการตายต่ำกว่า เนื่องจากปริมาณของเชื้อ *A. hydrophila* ที่เติมให้มีมากกว่าเชื้อจากธรรมชาติที่ติดมากับตัวปลา

ผลของ 0.01% casamino acid ที่เติมลงไปในน้ำเลี้ยงปลาเมื่อเลี้ยงสลับอุณหภูมิและเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ด้วย เริ่มทำให้ปลาตายในวันที่ 2 และมีจำนวนที่ตายเพิ่มขึ้นจนทำให้เปอร์เซ็นต์ของปลาที่รอดต่ำสุดในวันที่ 3 เป็น 257 ± เมื่อเปรียบเทียบกับผลของ 0.01% casamino acid ในชุดที่เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลาของการทดลองซึ่งปรากฏว่าไม่มีปลาตายเลย ย่อมชี้ให้เห็นถึงโอกาสที่เป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีผลโน้มนำทำให้ปลาติดเชื้อและเป็นโรค ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะอุณหภูมิต่ำหรือการเปลี่ยนอุณหภูมิจากอุณหภูมิ

ห้องไปเป็น 22° ซ. แล้วกลับมาเป็นอุณหภูมิห้องอีกเป็นสาเหตุทำให้ปลาที่ทดลองเกิดภาวะเครียด เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำปลาจะกินอาหารลดน้อยลง มีภูมิต้านทานต่อเชื้อลดน้อยลงด้วย จึงทำให้มีการติดเชื้อได้ง่าย (18)

การเติม casamino acid หรือการให้อาหารปลาเบ็ด และมีการเติมเชื้อ *A. hydrophila* F588 ลงไปพร้อมกันในตอนเริ่มต้นการทดลอง รวมทั้งภาวะที่เลี้ยงปลาไว้ในสภาพที่มีการเปลี่ยนสลับอุณหภูมิ ล้วนมีผลส่งเสริมให้ปลาติดเชื้อและเป็นโรคได้ เหตุผลก็เนื่องมาจากผลของการเติม casamino acid และการให้อาหารปลาเบ็ดจะช่วยส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *A. hydrophila* F588 ประกอบกับผลของการเปลี่ยนอุณหภูมิอาจจะทำให้ปลาเกิดภาวะเครียดและอ่อนแอลง สำหรับกรณีของการเติม casamino acid หรือให้อาหารปลาลงไปก่อนในตอนต้นการทดลอง แล้วจึงเติมเชื้อ *A. hydrophila* ลงไปในชั่วโมงที่ 96 หรือมีการเติมเชื้อ *A. hydrophila* ลงไปตอนเริ่มต้นแล้วจึงเติม casamino acid หรือให้อาหารปลาเบ็ดในภายหลังเมื่อถึงชั่วโมงที่ 96 นั้น ไม่ปรากฏว่ามีปลาตายเลย แสดงถึงไนโตรเจนอินทรีย์มีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนของ *A. hydrophila* F588 และอาจมีผลโน้มนำให้ปลาเป็นโรค

ปริมาณของอ๊อกซิเจน และแอมโมเนียในน้ำที่เลี้ยงปลาอาจมีผลต่อการติดเชื้อของปลาเพราะอาจมีส่วนทำให้ปลาเกิดภาวะเครียดและอ่อนแอลง นอกจากนั้นการที่มีปริมาณของแอมโมเนียในน้ำสูงอาจเป็นสิ่งที่ชี้ให้เห็นว่าสภาพของน้ำนั้นไม่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของปลา เพราะแอมโมเนียอาจเป็นผลมาจากการมีแอมโมเนียซัลเฟต ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อปลา หรืออาจเปลี่ยนแปลงมาจากปฏิกิริยาชีวเคมีที่มีการย่อยสลายโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนแล้วเกิด oxidative deamination ของกรดอะมิโน เป็นผลให้มีแอมโมเนียออกมาแล้วจึงละลายอยู่ในน้ำ

ผลของการทดลองที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่ ไนโตรเจนอินทรีย์สาร การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิปริมาณอ๊อกซิเจนและแอมโมเนียที่อยู่ในน้ำที่เลี้ยงปลาอาจมีผลโน้มนำต่อการเกิดโรคในปลาช่อนเนื่องมาจากการติดเชื้อ *A. hydrophila* F 588 ซึ่งสอดคล้องกับสภาวะที่เกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงปลาในการระบาดของโรคปลาครั้งใหญ่เมื่อต้นปี พ.ศ. 2526 นั่นคือการที่มีเชื้อ *A. hydrophila* อยู่ในแหล่งน้ำทั่วไป และพบแม้ในปลาที่ไม่เป็นโรค เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิไปจากเดิมมากเนื่องจากฤดูหนาวในตอนช่วงปลาย ปี 2525 ต่อกับต้นปี 2526 นี้ อุณหภูมิค่อนข้างต่ำกว่าปีก่อน ๆ อาจเป็นเหตุให้ปลาที่เลี้ยงเกิดภาวะเครียด อ่อนแอลง กินอาหารน้อยลง เมื่อให้อาหารปลาลงไปในบ่อที่เลี้ยงจะเป็นเหตุให้มีปริมาณของไนโตรเจนอินทรีย์สารสูงขึ้นจะทำให้เชื้อ *A. hydrophila* เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วปลาบางส่วนจะติดเชื้อเป็นโรคตายลง ปลาที่ตายอยู่ในบ่อจะมีส่วนช่วยเพิ่มไนโตรเจนอินทรีย์สารและเสริมเกิดภาวะเครียดในปลายิ่งขึ้น การติดเชื้อและเป็นโรคตายจึงเพิ่มทวีมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการป้องกันหรือลดปัจจัยที่มีส่วนโน้มนำให้ปลาติดเชื้อจึงเป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงซึ่งได้แก่การไม่เลี้ยงปลาจนแน่นบ่อมากเกินไป การให้อาหารปลาในปริมาณที่พอเหมาะโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูหนาวควรลดปริมาณอาหารปลาให้มาก หมั่นตรวจดูสภาพของน้ำในบ่อปลา และถ้ามีปลาตายควรแยกออกโดยเร็ว

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล และ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้โอกาสและสถานที่ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. โสมทัต วงศ์สว่าง หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเฟื้อให้เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เอฟ–588 และเลือดแกะสำหรับใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ สมชัย ตันตระวรศิลป์. 2519 โรคซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า การประชุมวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 4, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หน้า 135.
2. เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2523. โรคเกล็ดหลุดและโรคแผลในปลาช่อน. วารสารชมรมโรคปลา 3 (1) 1–7.
3. ประกิตติ์สิน สีหนนทน์, วีระวุฒิ มหามนตรี, วนิดา โพธารามิก, สมเกียรติ บียะธีรธิติวรกุล, เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. 2526. ผลของ casamino acid ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อและเป็นโรคในปลาช่อน เนื่องจากเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า* เอฟ–588 (อยู่ในระหว่างการตีพิมพ์).
4. สุเมท ขวัญภูมิ. 2525. โรคปลาดุกที่ระยองปี 23/24. วารสารการประมง 35 (6). 627–657.

5. Davis, W.A., Kane J.G. & Garaquri, V. G. 1978. Human *Aeromonas infections:* a review of the literature and a case report of endocarditis. Medicine. 57, 267–277.

6. Dean, H. M. & Post, R. M. 1967. Fatal infection with *Aeromonas hydrophila* in a patient with acute myelogenous leukemia. Annals of internal Medicine 66, 1177–1179.

7. Emerson, H. and Norris, C. 1905. "Red leg" an infectious disease of frogs. J. Exp. Med. 7, 32–60.

8. Esch, G. W., and Hazen, T. C. 1978. Thermal ecology and stress: a case history of red-sore disease inlarge month bass *(Micropterus salmoides).* In: J.H. Thrope and J. W. Gibbons (eds.) Energy and Environmental Stress in Aquatic Systems. pp. 331–363. DOE Symposium Series.

9. Feaster, F. T. Nisbet, R. M. & Barber, J. C. 1978. *Aeromonas hydrophila* corneal ulcer. Am. J. Ophthalmology. 85, 114-117.

10. Fulghum, D. D., Linton Jr. W. R. & Taplin, D. 1978. Fatal *Aeromonas hydrophila* infection of the skin. South Med. S., 71, 737–741.

11. Harley, R. S., Davis, P. and Hyde, J. M. 1967. Environmental stress and *Aeromonas liquefaciens* in American and threadfin shad mortalities. Prog. Fish–Cult. 29 : 193.

12. Hird, D. W., et al. 1981. *Aeromonas hydrophila* in wild–caught frogs and tadpoles *(Rana pipens)* in Minisota. Lab. Anim. Sci. 31, 166.

13. Mc Coy, R. H. & Seidler, R. J. 1973. Potential pathogens in the environment; isolation, enumeration and identification of seven genera of intestinal bacteria associated with small green pet turtles. Appl. Microbiol. 25, 534–538.

14. Mead, A. R. 1969. *Aeromonas liquefaciens* in the leukodermia syndrome of *Achatina fulica.* Malacologia. 9, 43.

15. Paningrahy, B., et al. 1981. Unusual disease conditions in pet and aviary birds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 172, 394.

16. Richards. R.H. & Roberts, R. J. 1978. The Bacteriology of Teleasts. In Roberts, R. J. I ed). Rish pathology. Bailliere Tindale London.

17. Shotls, E.B., Jr., Gaines, J. L., Martin C. and Prestwood A. K. 1972. Aeromonas-induced death among fish and reptiles in eutrophic lake. J. Am. Vet. Med. Ass. 161 : 603-607.

18. Sneizko, S. F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. J. Fish Biol. 6, 197-208.

19. Thrope, J. E. and Roberts, R. T. 1972. Aeromonas epidermic in brown trout. J. Fish Biol. 4 : 441-451.

20. Wohlgemuth, K., Pierce, R. L. & Kirkbride, C. A. 1972. Bovine abortion associated with *Aeromonas hydrophila*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 160, 1001-1002.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลของ Casamino acid และ Paraquat ต่อการติดเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ-588 ในปลาช่อน

*ประกิตติ์สิน สีหนนทน์

*วีระวุฒิ มหามนตรี

*วนิดา โพธารามิก

**สมเกียรติ บัยะธีรธิติวรกุล

**เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต

*ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

Casamino acid เป็นสารอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่ง *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* สามารถใช้เป็นอาหารได้ดี ทำให้ปริมาณของแบคทีเรียตัวนี้เพิ่มสูงขึ้นในน้ำ การทดลองในครั้งนี้ได้เติม casamino acid ลงไปในน้ำที่ใช้เลี้ยงลูกปลาช่อนในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันโดยเปรียบเทียบกันระหว่างพวกที่เติมเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ-588 และไม่เติมเชื้อ พบว่า casamino acid ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 % ทำให้ปลาตายหมดในเวลา 2-4 วัน กลุ่มปลาที่เติมเชื้อตายเร็วกว่าพวกที่ไม่ได้เติมเชื้อ casamino acid ที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ

การเติมเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 มีผลทำให้ปลาตายเร็วกว่าและมากกว่าปลาที่อยู่ในน้ำซึ่งมี casamino acid ในระดับเดียวกันแต่ไม่ได้เติมเชื้อ ปลาที่ตายในกลุ่มที่ได้รับการเติมเชื้อมีบาดแผลเกิดขึ้นตามลำตัวและได้ตรวจพบเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ปริมาณของแอมโมเนีย ซึ่งอยู่ในระดับสูงและปริมาณออกซิเจนที่ต่ำมากอาจมีผลทำให้ปลาอยู่ในภาวะเครียดและโน้มนำทำให้ปลาเป็นโรค ในการทดลองเติมสารพาราควอต ลงไปด้วยไม่ได้มีผลทำให้อัตราการตายและการติดเชื้อของปลาสูงกว่าปกติ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effect of casamino acid and paraquat on the infection rates of *Aeromonas hydrophila* F-588 in snake-head fish (*Ophicephalus striatus*).

* *Prakittisin Sihanonth*
* *Veeravudh Mahamontri*
* *Vanida Bodharamik*
** *Somkiat Piyatiratitivokul*
** *Peamsakdi Menasveta*

* *Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University.*

** *Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.*

Abstract

Casamino acid is the organic nitrogen which is a nutrient for *Aeromonas hydrophila*. The presence of this chemical in water could enhance the growth of this bacteria. This experiment was carried out in different concentrations of casamino acid in waters containing young snake-head fish. A comparison were made between the groups of fish inoculated with *A. hydrophila* and those without the inoculation. It was 2-4 days. The treatment of 0.05 % casamino acid plus the inoculation of *A. hydrophila* F-588 resulted in facter infection and higher fish death than the group without the inoculation. Furancles and ulcers were observed on the dead fish bodies and *A. hydrophila* could be isolated from these ulcers. High ammonia content and low dissolved oxygen might cause the fish stress and weakness. The weak fish were eventually infected by *A. hydrophila*. It was also found in another experiment and paraquat was not the predisposing cause for the infection of this fish disease.

บทนำ

Aeromonas hydrophila เป็นแบคทีเรียที่มีการแพร่กระจายอยู่ในแหล่งน้ำจืดและน้ำกร่อยตามธรรมชาติ พบว่าสามารถแยก *A. hydrophila* นี้ได้จากแหล่งน้ำทั้งที่เกิดมลภาวะและไม่เกิดมลภาวะทั่วโลก (6) และพบได้เสมอในปลาทั้งที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค นอกจากนี้ยังอาจพบในสัตว์น้ำประเภทอื่น ๆ และพืชน้ำ (7,9) ได้มีผู้ศึกษาพบว่า *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคระบาดในปลา กบและสัตว์เลื้อยคลานบางชนิด (1) และอาจทำให้เกิดโรคในคนได้ด้วย (3,5) ในการทำให้เกิดโรคในปลานั้น จะเกิดในปลาที่อยู่ในสภาวะเครียด (8) ปัจจัยสำคัญในการที่ทำให้เกิดภาวะเครียดในปลาได้แก่ อุณหภูมิ การขาดออกซิเจน และมีไนโตรเจนมากเกินความต้องการ eutrophication น้ำเสีย การสะสมของสารที่เกิดจากการเมตาโบลิซึมของปลา มลพิษจากโรงงานอุตสาหกรรม และสารเคมีพวกยาปราบศัตรูพืช เนื่องจากมีงานวิจัยค่อนข้างน้อยมากที่แสดงถึงภาวะเครียดซึ่งเกิดจากการละลายของสารในน้ำเพิ่มมากขึ้นแล้วทำให้เกิดโรคปลา ในรายงานนี้จะได้แสดงถึงผลของสาร casamino acid ที่อาจมีผลต่อการทำให้เกิดโรคในปลาได้

วิธีดำเนินงานวิจัย

การทดสอบผลของ casamino acid (Difco) ที่มีผลต่อการทำให้เกิดโรคในปลาโดยใช้ความเข้มข้นของ casamino acid 6 ระดับ คือ 0 (Control) .0001, .001, .01, .05 และ 0.1 % การทดลองในแต่ละระดับความเข้มข้นแบ่งเป็น 3 treatments โดยแต่ละ treatment จะมีการทดลอง 2 ซ้ำ แต่ละหน่วยการทดลองใช้ลูกปลาช่อนขนาดความยาวลำตัว 3–4 ซม. 10 ตัว ใน treatment ที่ 1 ปลาที่ใช้ในการทดลองไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อที่ตัวปลาแต่อย่างใดเลย และในน้ำที่ใช้เลี้ยงก็ไม่ได้เติมเชื้อ แอร์โรโมนาส โฮโดรฟีล่าใน treatment ที่ 2 ปลา

ที่ใช้ทดลองจะได้รับการฆ่าเชื้อรอบ ๆ ตัวปลาก่อน โดยแช่ลูกปลาในน้ำยาฟอร์-มาลินที่มีความเข้มข้น 250 ppm. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทดลองเลี้ยงในน้ำที่ไม่ได้เติมอะไรลงไปอีกเลย สำหรับ treatment ที่ 3 ทดลองเลี้ยงปลาที่ได้รับการฆ่าเชื้อโดยแช่ในน้ำยาฟอร์มาลินเช่นเดียวกับ treatment ที่สองแต่ในน้ำที่ใช้เลี้ยงจะเติมเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เอฟ–588 (ได้จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth ที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเติมให้มีปริมาณเชื้อในน้ำประมาณ 10^6 เซลล์/มล. ในแต่ละหน่วยการทดลองที่ใช้เป็นโถแก้วขนาดความจุ 2 ลิตร ใส่น้ำประปาที่ได้ผ่านการใส่คลอรีนออกแล้ว 1 ลิตร อุณหภูมิตลอดการทดลองอยู่ในระดับ 26.5 ± 1° ซ. บันทึกผลตั้งแต่เริ่มการทดลองโดยวัดการเจริญของแบคทีเรียในน้ำโดยการวัด optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 (Baush & Lomb) ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm. พร้อมบันทึกอัตราการตายของปลาตลอดการทดลองทุกวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

นอกจากการทดลองผลของ casamino acid เพียงอย่างเดียวแล้วยังได้ทำการทดลองผลของ casamino acid ร่วมกับสาร paraquat ซึ่งเป็นยาปราบวัชพืชที่อาจมีผลต่อการเกิดโรคของปลาโดยใช้ความเข้มข้นของ paraquat 2 ระดับ คือ 0.1 และ 10 ppm. แต่ละความเข้มข้นของ paraquat จะใส่ casamino acid ที่มีความเข้มข้นแบ่งเป็น 3 ระดับ ในน้ำที่มีสารทั้ง 2 ชนิดนี้แต่ละชุดจะแบ่งเป็น 2 treatment คือ treatment แรก เลี้ยงปลาที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่เติมเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า treatment ที่ 2 เลี้ยงปลาที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยเติมเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เอฟ–588 ซึ่งได้เตรียมเช่นเดียวกับในการทดลองอันแรกลงไปในน้ำให้มีปริมาณเชื้อ 10^6 เซลล์/มล. การทดลองแต่ละ treatment จะทำ 2 ซ้ำ และแต่ละซ้ำการทดลองใช้ลูกปลาช่อน

ขนาดความยาว 3–4 ซม. 10 ตัว หลังการทดลอง 1 วัน เริ่มบันทึกผลการเจริญของแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงปลาโดยวัด optical density ด้วยเครื่อง spectronic 20 (Baush & Lomb) ที่ ความยาวคลื่นแสง 550 nm. บันทึกอัตราการตายของปลาตลอดเวลาการทดลองทุกวันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการทดสอบความเป็นพิษของ casamino acid ที่มีต่อลูกปลาช่อนได้แสดงไว้ในตารางที่ 1, 2 และ 3 ในการทดสอบที่เลี้ยงปลาที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และไม่ได้ใส่เชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 (ตารางที่ 1) ที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.1% ลูกปลาที่เลี้ยงไว้จะตายหมดภายใน 2 วัน และที่ความเข้มข้นของ casamino acid .05% ลูกปลาจะเริ่มตายในวันที่ 5 โดยมีอัตราการอยู่รอด 70% และในวันที่ 6 และ 7 จะมีอัตราการอยู่รอดลดลงเหลือ 40% ส่วนที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0, .0001, .001 และ .01% จะไม่มีผลทำให้ปลาตาย เมื่อตรวจดูการเจริญของแบคทีเรียในน้ำโดยวัดค่า optical density ของน้ำเลี้ยงปลา (รูปที่ 1) พบว่าการเจริญของแบคทีเรียในน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.1% คือมีค่า optical density สูงสุดในวันแรก ที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.05% ค่า optical density จะเริ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 2 และ 3 และเริ่มลดลงหลังวันที่ 3 ส่วนที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0, .0001, .001 และ .01% จะมีค่า optical density สูงในช่วงของวันที่ 2 และ 3 เช่นกันแต่ไม่สูงเท่ากับพวกที่มีความเข้มข้นของ casamino acid .05% และ .1% และหลังจากวันที่ 3 ค่า optical density จะลดลงเช่นกัน

ในการที่เลี้ยงปลาที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลินมาก่อนโดยไม่ได้ใส่เชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 (ตารางที่ 2) ที่ความเข้มข้นของ casamino

acid 0.1% จะทำให้ลูกปลาช่อนตายหมดภายใน 4 วัน และที่ความเข้มข้นของ casamino acid .05% จะเริ่มมีผลทำให้ปลาตายในวันที่ 5 อัตราการอยู่รอด 85% และในวันที่ 6 และ 7 อัตราการอยู่รอดลดลงเหลือ 60% ส่วนที่ความเข้มข้นของ casamino acid .0001, .001 และ .01% จะไม่มีผลทำให้ปลาตาย เมื่อตรวจดูความเจริญของเชื้อแบคทีเรียในน้ำโดยวัดค่า optical density ของน้ำที่เลี้ยงปลา (รูปที่ 2) พบว่า การเจริญของเชื้อแบคทีเรียในน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.1% คือ มีค่า optical density สูงสุดในวันแรกและที่ความเข้มข้นของ casamino acid .05% ค่า optical density จะเริ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 2 และ 3 และจะเริ่มลดลงหลังจากวันที่ 3 ส่วนที่ความเข้มข้นของ casamino acid .0001, .001 และ .01% ค่า optical density จะสูงขึ้นในช่วงวันที่ 2 แต่ไม่สูงเท่ากับความเข้มข้นของ casamino acid 0.05 และ 0.1% และหลังจากนั้นค่าจะลดลง

ใน treatment ที่ 3 ที่เลี้ยงปลาที่ได้รับการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลินมาก่อนและใส่เชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ลงไปในน้ำเลี้ยงปลาให้มีปริมาณ 10^6 เซลล์/มล. (ตารางที่ 3) พบว่า ที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.1% จะทำให้ลูกปลาช่อนตายหมดภายใน 2 วัน และที่ความเข้มข้นของ casamino acid .05% ปลาจะเริ่มตายในวันที่ 2 โดยมีอัตราการอยู่รอด 80% และอัตราการตายจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งในวันที่ 6 จะมีอัตราการตาย 100% ส่วนที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.0001, .001 และ .01% ไม่มีผลทำให้ปลาตายเมื่อตรวจดูการเจริญของแบคทีเรียในน้ำโดยการวัด optical density ของน้ำที่เลี้ยงปลา (รูปที่ 3) พบว่า การเจริญของแบคทีเรียในน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0.1% คือ มีค่า optical density สูงสุดในวันแรกและที่ความเข้มข้นของ casamino acid .05% ค่า optical density จะเริ่มสูงขึ้น

ในวันที่ 2 และหลังจากนี้แล้วจะลดลง ส่วนที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0, .0001, .001 และ .01% ค่า optical density จะสูงขึ้นในช่วงของวันที่ 2 แต่ไม่สูงเท่าในพวกที่มีความเข้มข้นของ casamino acid .05 และ 0.1% และหลังจากวันที่ 2 แล้วค่า optical density จะลดลงเช่นกัน

จากการตรวจดูลูกปลาที่ตายในกลุ่มที่มีการเติมเชื้อพบว่า มีแผลเกิดขึ้นตามลำตัวด้านข้างเช่นเดียวกับปลาที่เกิดโรคระบาดในบ่อเลี้ยงปลา (รูปที่ 4) เหงือกจะมีลักษณะขาวซีด และก่อนตายลำตัวจะมีสีคล้ำลง เมื่อนำปลาที่ตายมาตรวจแยกเชื้อพบว่ามีเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในตัวปลาเมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของปลาทั้ง 3 treatments พบว่าอัตราการตายของปลาที่เลี้ยงใน 0.1% casamino acid มีอัตราการตาย 100% ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันใน treatment พวกที่หนึ่ง สอง และ สาม คือ 2 วัน, 4 วัน และ 2 วัน ตามลำดับ การที่พวกที่สองมีอัตราการตาย 100% ช้ากว่าพวกที่ 1 และ 3 เนื่องจากในพวกที่สองมีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่า เพราะปลาได้ผ่านการฆ่าเชื้อรอบ ๆ ตัวโดยแช่ในน้ำยาฟอร์มาลิน 250 ppm. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แต่การแช่ในน้ำยาฟอร์มาลินไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้หมด 100% เพียงแต่เป็นการลดปริมาณของแบคทีเรียลงได้มากเท่านั้น จึงทำให้การติดเชื้อในปลาช้าลง ส่วนในพวกแรกและพวกที่สามมีอัตราการตาย 100% เร็วกว่า เนื่องจากในพวกแรกมีแบคทีเรียที่ติดมากับตัวปลาโดยธรรมชาติซึ่งโดยปกติแบคทีเรียพวก *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* จะมีอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำ (2) และในปลาที่เป็นโรคอยู่แล้ว (3,4,10) ส่วนในพวกที่สามซึ่งเป็นปลาที่ได้รับการฆ่าเชื้อโดยฟอร์มาลินมาก่อนแต่ก็ได้เติม *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ลงไปในน้ำที่ใช้เลี้ยง ดังนั้นจึงทำให้ปลามีอัตราการตายเร็วกว่าในพวกที่สอง

ข้อมูลที่น่าสนใจและสามารถบ่งชี้ได้ว่าการตายของปลานั้นเกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ได้แก่ treatment ที่มี casamino acid

ที่ระดับความเข้มข้น 0.05% กลุ่มปลาที่ได้รับการเติมเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดร-ฟีล่า* เอฟ–588 จะมีอัตราการตายที่สูงกว่าและเร็วกว่ากลุ่มอื่น ๆ ที่ไม่ได้รับการเติมเชื้ออย่างเห็นได้ชัด (เร็วกว่า 3 วัน) ปลาที่ตายมีบาดแผลตามลำตัวและตรวจพบเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า*

จากการที่มีรายงานพบว่าสารอินทรีย์ที่ละลายสะสมอยู่ในน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ทำให้ปลาเครียดและทำให้เกิดโรคระบาดในปลาได้นั้น casamino acid ก็จัดเป็น organic nitrogen ชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากการ hydrolyze ของ protein พวก casein จนมีขนาดโมเลกุลเล็กลง คือ เป็น a.a. หรือ peptide ที่มีขนาดสั้นพอที่แบคทีเรียพวก *แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า* สามารถนำไปใช้เป็นอาหารทำให้เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และถ้าในน้ำมี organic nitrogen สูงถึงระดับหนึ่งจะทำให้ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า* เพิ่มจำนวนมากขึ้นจนทำให้เกิดโรคในปลา จากการวัดหาปริมาณแอมโมเนียและออกซิเจนในน้ำเลี้ยงปลาในการทดลองนี้ พบว่าในทุก treatments ที่มี casamino acid ตั้งแต่ 0.05% ลงมาจะมีปริมาณแอมโมเนียอยู่สูงกว่า 5.0 ppm. และปริมาณออกซิเจนในน้ำได้ลดต่ำลงอยู่ในช่วงระหว่าง 0.2–2.0 ppm. อย่างไรก็ดีการที่มีปริมาณของแอมโมเนียสูงขึ้น และ ปริมาณออกซิเจนลดลงนี้ยังอยู่ในช่วงที่ปลายังมีชีวิตอยู่ได้ และไม่น่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาตายได้ เพราะปลาที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มี casamino acid หรือมีค่อนข้างต่ำ (0, .0001, .001 และ .01 %) ก็พบว่ามีปริมาณแอมโมเนียสูงและ ออกซิเจนต่ำเท่ากับกลุ่มปลาที่อยู่ในน้ำซึ่งมี casamino acid 0.05% แต่ปลาไม่เกิดโรคหรือตาย ปริมาณแอมโมเนียที่สูงขึ้นและปริมาณออกซิเจนที่ต่ำมากอาจมีผลทำให้ปลาอยู่ในภาวะเครียด เมื่อมีปริมาณ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า* สูงขึ้นเนื่องจาก casamino acid (0.5%) จึงทำให้เกิดการติดเชื้อและเกิดโรค ในบ่อเลี้ยงปลาทั่ว ๆ ไปก็จะมีการตกค้างของอาหารปลาอยู่บ้างและอาหารปลาเหล่านี้ก็มี

สารพวกโปรตีนซึ่งจะกลายเป็นแหล่งอาหารสำหรับการเจริญของแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะแบคทีเรียพวก *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีอินทรีย์สารพวกไนโตรเจน จึงทำให้มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดโรคในปลาได้

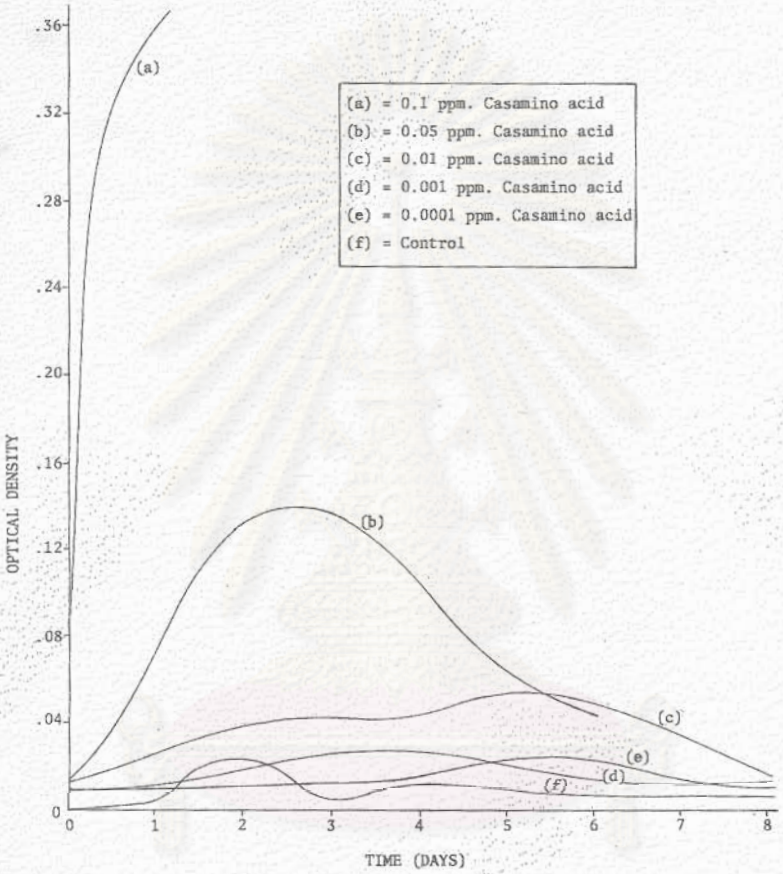
การทดสอบผลของ paraquat ร่วมกับ casamino acid ที่มีต่อการทำให้เกิดโรคในปลาช่อน พบว่า การทดลองในพวกที่หนึ่ง ลูกปลาช่อนที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลินมาก่อนเลี้ยงในน้ำที่ไม่ได้เติม *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ที่ระดับความเข้มข้นของ paraquat 0.1 ppm. และ casamino acid ระดับต่าง ๆ กัน คือ 0, .001 และ .01% (ตารางที่ 4) ไม่ได้มีผลทำให้ปลาตายได้เลย ส่วนที่ความเข้มข้นของ paraquat 10 ppm. และ casamino acid ระดับ 0 และ .01% ไม่มีผลทำให้ปลาตาย แต่ที่มี casamino acid เข้มข้น 0.1% ปลาจะมีอัตราการตาย 100% ในวันที่ 3 ของการทดลอง เมื่อตรวจดูการเจริญของแบคทีเรียในน้ำโดยการวัด optical density (รูปที่ 4) พบว่า การเจริญของแบคทีเรียในน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ที่ความเข้มข้น 10 ppm. paraquat และ 0.1% casamino acid จะมีค่า optical density สูงสุดในวันที่สอง แต่ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm. paraquat และ 0, .001 และ .01% casamino acid ค่า optical density จะสูงขึ้นในช่วงระหว่างวันที่ 4 และ 5 แต่ความสูงของ peak ไม่เท่ากับในความเข้มข้น 10 ppm. paraquat และ 0.1% casamino acid สำหรับในพวกที่สองที่เลี้ยงลูกปลาที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อในฟอร์มาลินเช่นกัน แต่เติมเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ลงไปให้มีปริมาณ 10^6 เซลล์/มล. ในน้ำเลี้ยงปลา พบว่า ในพวกที่มีความเข้มข้นของ paraquat 1% และมีความเข้มข้นของ casamino acid ระดับต่าง ๆ คือ 0, .001 และ .01% (ตารางที่ 5) ล้วนแต่ไม่มีผลทำให้ปลาตายได้เลย ส่วนที่เลี้ยงในระดับความเข้มข้นของ Para-

quat 10 ppm. จะเริ่มมีผลต่างกันที่ต่างระดับความเข้มข้นของ casamino acid กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของ casamino acid 0 และ .01% ไม่มีผลทำให้ปลาตาย แต่ที่ระดับความเข้มข้น 0.1% casamino acid ปลาจะมีอัตราการตาย 100% หลังจากการทดลอง 3 วัน เมื่อตรวจดูความเจริญของแบคทีเรียโดยวัดค่า optical density ของน้ำเลี้ยงปลา (รูปที่ 4) พบว่าการเจริญของแบคทีเรียในน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ที่ความเข้มข้น 10 ppm. paraquat และ 0.1% casamino acid ค่า optical density จะสูงสุดในวันที่ 2 และที่ความเข้มข้น .1 ppm. paraquat และ 0, .001 และ .01% casamino acid ค่า optical density จะสูงขึ้นในช่วงวันที่ 4 และ 5 แต่ความสูงของ peak ไม่เท่ากันในความเข้มข้น 10 ppm. paraquat รวมกับ 0.1% casamino acid จากการตรวจลูกปลาช่อนที่ตายพบว่ามีแผลข้างลำตัว และเหงือกขาวซีดลักษณะอาการคล้ายกับปลาที่เป็นโรคระบาด เมื่อนำมาแยกเชื้อก็พบ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เช่นกัน

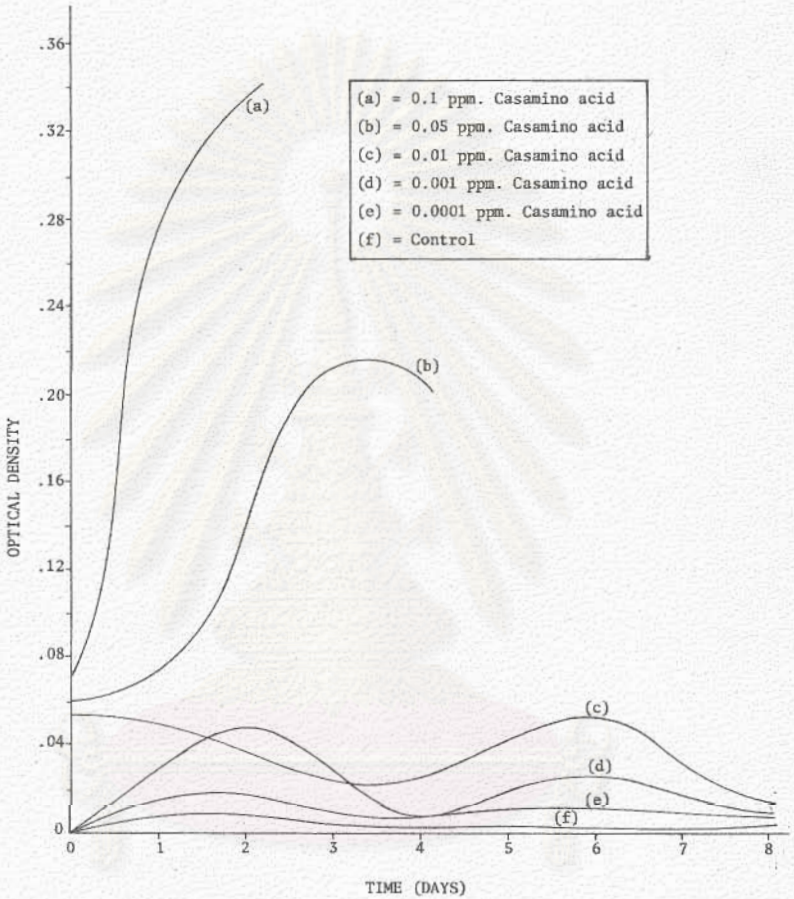
การทดลองนี้สรุปได้ว่า ลูกปลาช่อนที่ไม่ได้รับการฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฟอร์มาลินเมื่อนำมาเลี้ยงโดยไม่ใส่แบคทีเรีย *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ลงไปในน้ำที่มีความเข้มข้นของ paraquat 0.1 ppm. และ casamino acid 0, .001 และ .01% และในน้ำที่มี paraquat 10 ppm. กับ casamino acid 0, 01 และ 0.1% กับลูกปลาช่อนที่ไม่ได้รับการฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฟอร์มาลิน แต่เลี้ยงโดยเติมเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เอฟ–588 ลงไปในน้ำให้มีปริมาณเชื้อ 10^6 เซลล์/มล. นั้นจะพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากลูกปลาช่อนในบ่อธรรมชาติทั่ว ๆ ไป ก็จะมีเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ติดมากับตัวปลาอยู่แล้ว ด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้จะเห็นได้ว่า paraquat ไม่ว่าจะมีความเข้มข้น 0.1 หรือ 10 ppm. ต่างก็ไม่มีผลทำให้ปลาตาย และเป็นโรคเนื่องจากแบคทีเรียพวก *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* และยังไม่มีผลต่อการลดปริมาณของแบคทีเรีย *แอร์โร-*

โมนาส ไฮโดรฟีล่า แต่อย่างใด สาเหตุของการเป็นโรค และทำให้ปลาตายโดย แบคทีเรีย *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* น่าจะมีสาเหตุมาจากการที่ในน้ำมีปริมาณ ของ casamino acid และปริมาณของ casamino acid นี้จะต้องมีมากถึงระดับ หนึ่งจึงทำให้จำนวนแบคทีเรีย *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* เพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว และทำให้ปลาเป็นโรคตายได้

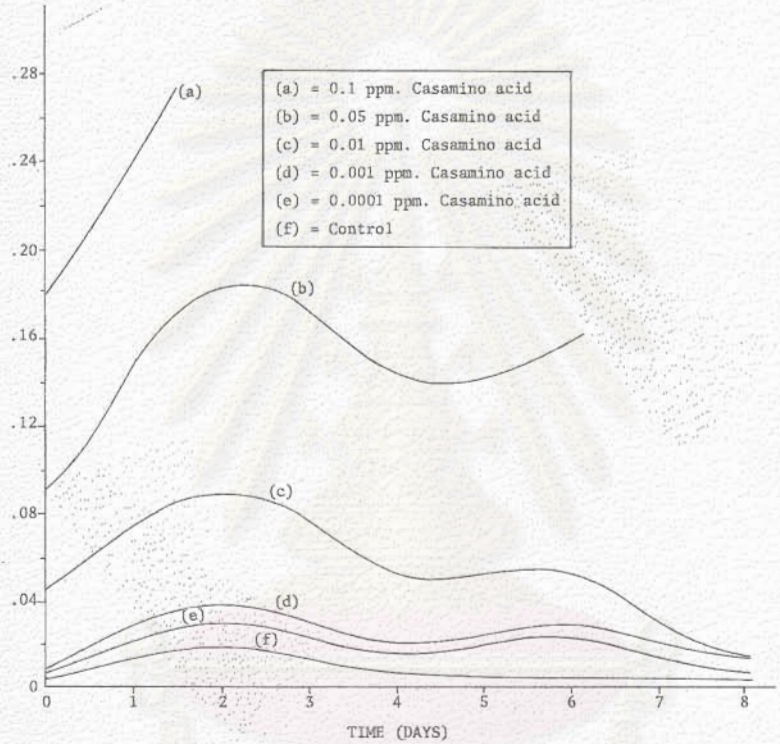
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



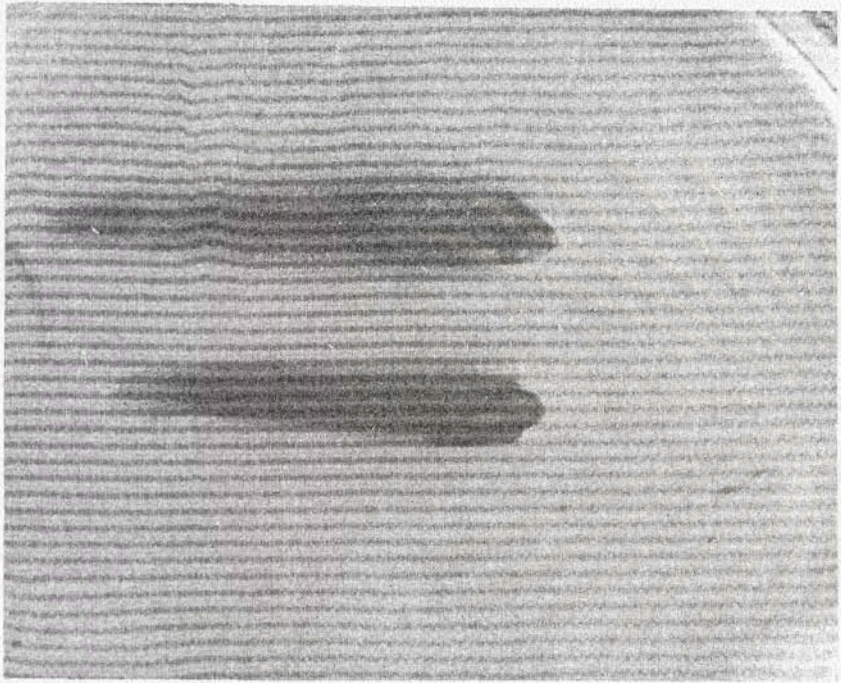
รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียในรูป optical density ที่ 550 nm. กับเวลาเมื่อเติม casamino acid ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในน้ำที่เลี้ยงลูกปลาช่อนที่ไม่ได้แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลองและไม่ได้ใส่เชื้อ *Aeromonas hydrophila* strain F 588



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียในรูปของ optical density ที่ 550 nm. กับเวลาเมื่อเติม casamino acid ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในน้ำเลี้ยงลูกปลาช่อนที่แช่ในฟอร์มาลิน 1 ชั่วโมงก่อนการทดลอง และไม่ได้ใส่เชื้อ *Aeromonas hydrophila* strain F 588

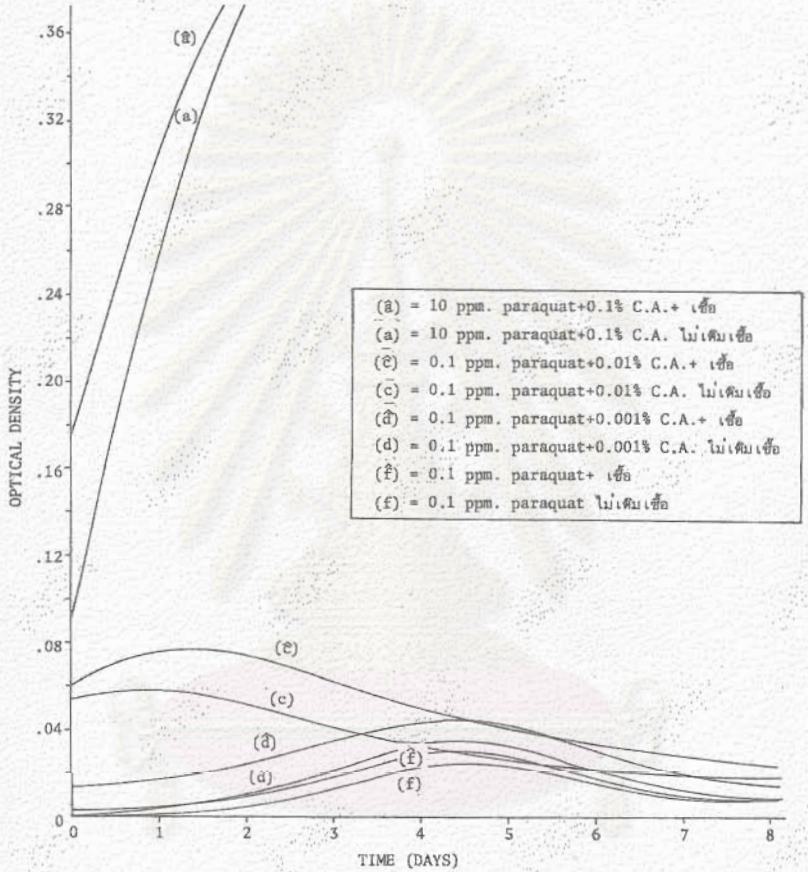


รูปที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียในรูปของ optical density ที่ 550 nm. กับเวลาเมื่อเติม casamino acid 250 ppm. ฟอร์มาลิน 1 ชั่วโมงก่อนการทดลอง และเติมเชื้อ *Aeromonas hydrophila* strain F 588 ในปริมาณ 10^6 Cells/ml



รูปที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบปลาที่เป็นโรคเนื่องจาก *Aeromonas hydrophila* และปลาปกติ ปลาตัวบน เป็นปลาที่เป็นโรค สังเกตเห็นแผลได้ตามลำตัว แผลจะเกิดขึ้นในบริเวณที่มีการหลุดของเกล็ดปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรียกับเวลาในรูป optical density ที่ 650 nm. กับเวลา เมื่อเติม Casamino acid ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในน้ำเลี้ยงลูกปลาช่อนที่มี 0.1 ppm. และ 10 ppm. paraquat ใช้ลูกปลาช่อนที่ไม่ได้แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อน ทดสอบในระดับความเข้มต่าง ๆ ของ casamino acid ใช้ลูกปลาช่อนที่ไม่แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลอง และไม่เติมเชื้อ Aeromonas hydrophila F 588

ระดับความเข้มข้น %	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.0001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.05	0	100	0	100	0	100	0	100	6	70±14	6	40±14	0	40±14
.1	0	100	20	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อนทดสอบในระดับความเข้มต่าง ๆ ของ casamino acid ใช้ลูกปลาช่อนที่แช่ฟอร์มาลิน 250 ppm 1 ชั่วโมงก่อนทดลอง และไม่เติมเชื้อ *Aeromonas hydraphila* F 588

ระดับความเข้มข้น %	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.0001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.05	0	100	0	100	0	100	0	100	3	85±7	5	60±14	0	60±14
.1	0	100	0	100	16	20	4	0	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อนทดสอบในระดับความเข้มต่าง ๆ ของ casamino acid ใช้ลูกปลาช่อนที่แช่ฟอร์มาลิน 250 ppm 1 ชั่วโมง ก่อนทดลองและเติมเชื้อ *Aeromonas hydrophila* F 588 ให้มีปริมาณ 10^6 cell/ml. ในน้ำที่เลี้ยงปลา

ระดับความเข้มข้น %	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.0001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
.05	0	100	4	80±28	5	55±35	3	40±0	5	15±6	1	10±0	0	10±0
.1	4	80	16	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อนทดสอบในระดับความเข้มต่าง ๆ ของพาราควอตและ casamino acid ใช้ลูกปลาช่อนที่แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลองและไม่เติมเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

ระดับความเข้มของพาราควอต ppm	ระดับความเข้มของ *casamino acid* %	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0.1	0	0	100	0	100	1	95±5	0	95±5	0	95±5	0	95±5	0	95±5
0.1	.001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
0.1	.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
10	0	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
10	.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
10	.1	0	100	18	10±10	2	0±0	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนปลาที่ตาย และจำนวนร้อยละของปลาที่รอดที่ระยะเวลาต่าง ๆ ของลูกปลาช่อนทดสอบในระดับความเข้มต่าง ๆ ของพาราควอต และ casamino acid ใช้ลูกปลาช่อนที่ไม่แช่ฟอร์มาลินก่อนการทดลอง และเติมเชื้อ *Aeromonas hydrophila* strain F 588 ให้มีปริมาณ 10^6 cell/ml ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา

ระดับความเข้มของพาราควอต ppm	ระดับความเข้มของ casamino acid %	1 วัน		2 วัน		3 วัน		4 วัน		5 วัน		6 วัน		7 วัน	
		จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด	จำนวนที่ตาย	% ที่รอด
0.1	0	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
0.1	.001	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
0.1	.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
10	0	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
10	.01	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
10	.1	0	100	19	5±5	1	0±0	-	-	-	-	-	-	-	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Bullock, G.L. 1964. Pseudomonadales as fish pathogens. Dev. Ind. Microbiol. 5 : 101-108.
2. Hazen, T.C., Fliermans, C.B., Hirsch, R.P. and Esch, G.W. 1978. Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. Appl. Environ. Microbiol. 36 : 731-738.
3. Ketover, B.P. Young, L.S. and Armstrong D. 1973. Septicemia due to *Aeromonas hydrophila* ; Clinical and immunological Aspects J. Infect. Dis. 127 : 284-290.
4. Ojala, O. 1968. Observations on the Occurance of *Aeromonas hydrophila* and *A. punctata* in fish. Bull. of. Int. Epiz. 69 : 1107-1123.
5. Rosner, R. 1964. *Aeromonas hydrophila* as the etiological agent in a case of severe gastroenteritis. Am. J. Clin. Pathol. 42 : 402-404.
6. Schubert, R.H.W. 1974. Genus Aeromonas Kluyver and van Niel. In Bergey's manual of Determinative Bacteriology 8 th edn, ed. Buchnam, R.E. and Gibbons, N.E. pp. 345-348. Baltimore: The Williams and Wilkins Co.
7. Simides, U. Ashino, K. and Kaneko, E. 1971. Bacterial flora of phyto and zooplankton in the inshore water of Japan. Can. J. of Micro. 17 : 1157-1160.
8. Snieszko, S.F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious disease of fishes. J. Fish Biol. 6 : 199-208.
9. Trust, I.J. and Sparrow, R.A.H. 1974. The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. Can. J. of Micro. 20 : 1219-1228.
10. Venzina, R. and Desrochers, R. 1971. Influence d' *Aeromonas hydrophila* Chez. la perche. *Perca flavescens* Mitchell. Can. J. Microbiol. 20 : 1219-1228.

สภาวะทางธรรมชาติของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และสภาวะแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำต่อการระบาดของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อ *A. hydrophila*

ประกิตติ์สิน สีหนนท์

วีระวุฒิ มหามนตรี

วนิดา โพธารามิก

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

บทความนี้เป็นการสอบสวนเอกสารเกี่ยวกับแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ซึ่งเป็นสาเหตุโน้มนำทำให้เกิดโรคระบาดอย่างรุนแรงของสัตว์ชนิดต่าง ๆ โดยกล่าวถึงคุณสมบัติทั่วไปของเชื้อ *A. hydrophila* และสภาพแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำทำให้เกิดโรค

The Relation of Environmental Factors And the Outbreak of *Aeromonas hydrophila* Infection.

Prakitsin Sihanonth

Veravudh Mahamontri

Vanida Bodharamik

Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

This article is the literature review concerned with the bacteria *Aeromonas hydrophila* which is the cause of severe outbreak disease in various kinds of animal. We emphasize on the general characteristics of *A. hydrophila* and the environmental stress which may be influence on outbreaks of infections diseases.

บทนำ

A. hydrophila เป็นแบคทีเรียที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาวะของการเกิดมลพิษ และเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค สามารถทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง มีการแพร่กระจายอยู่ในแหล่งน้ำทั่วไปทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อย รวมทั้งมีขอบเขตการเจริญได้กว้างขวาง ยิ่งไปกว่านั้นแบคทีเรียนี้ยังเป็นเชื้อก่อโรคที่

ทำให้เกิดโรคระบาดในปลาน้ำจืดในประเทศไทยต่อเนื่องกันมาเป็นเวลานาน โดยเฉพาะครั้งหลังสุดในกรณีที่มีการระบาดของโรคมากที่สุดคือทำให้เกิดโรคแผลข้างตัวในปลาน้ำจืดของประเทศไทย เมื่อต้นปี พ.ศ. 2526 ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผู้เลี้ยงปลาภายในประเทศ และมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก ดังนั้นเรื่องราวของ *A. hydrophila* ในแง่ของสภาวะธรรมชาติรวมทั้งสภาพแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำต่อการระบาดของโรคจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจควรแก่การศึกษา เพื่อหาทางควบคุมและป้องกันโรคระบาดที่เกิดจากเชื้อนี้ ในรายงานฉบับนี้ยังเป็นการรวบรวมเอกสารที่เกี่ยวข้องกับ *A. hydrophila* ในแง่คุณสมบัติทั่วไปและสาเหตุของการระบาดของโรคในปลาที่เกิดจากเชื้อนี้

คุณสมบัติของเชื้อ Aeromonas hydrophila

A. hydrophila พบครั้งแรกโดย Sanarelli ในปี ค.ศ. 1891 (33) ซึ่งเขาเรียกแบคทีเรียชนิดนี้ว่า *Bacillus hydrophilus fuscus* แต่เดิม *A. hydrophila* ถูกจัดไว้อยู่ในกลุ่ม aeromonads ซึ่งมีอยู่ 3 ชนิดคือ *Aeromonas punctata, A. hydrophila* และ *A. liquefaciens* ใน Bergey's Manual ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 8 (1974) ได้แบ่ง *A. hydrophila* ออกเป็น 2 subspecies คือ *A. hydrophila* subspecies *anaerogenes* ซึ่งเป็นพวกที่ไม่ให้แก๊สจากการใช้กลูโคสหรือไกลโคเจน กับ *A. hydrophila subspecies proteolytica*

A. hydrophila เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์มีคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายแบคทีเรียบางชนิดใน Order Pseudomonadales, Family Enterobacteraceae มีลักษณะเป็นรูปแท่ง ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้เนื่องจากมีแส้ (flagellum) อยู่ที่ปลายด้านหนึ่งของเซลล์แต่มีบางชนิดเคลื่อนที่ไม่ได้ โคโลนีที่ขึ้นอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะมีลักษณะกลม โค้งนูน และผิวเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลาง 2–3 มม *A. hydro-*

phila เป็น facultative anaerobe จึงสามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เป็น chemoorganotroph จึงเจริญได้ดีในที่ ๆ มีสารอินทรีย์ เมื่อ ferment น้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตจะให้กรดแต่เพียงอย่างเดียวหรือให้ทั้งกรดและแก๊ซ นอกจากนี้ยังสร้างเอนไซม์ oxidase และเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้และแยกเชื้อ *A. hydrophila*

Shotts และ Rimler (36) ได้ค้นพบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้แยกเชื้อ *A. hydrophila* ในธรรมชาติออกจากแบคทีเรียพวก enterobacteria ได้ เรียกอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ว่า Rimler–Shotts medium อาหารเลี้ยงเชื้อนี้ประกอบด้วยกรดอะมิโนบางชนิด และเติมยาปฏิชีวนะโนโวไบโอซิน (novobiocin) ลงไปด้วยเพื่อช่วยให้สามารถแยกเชื้อ *A. hydrophila* ออกจากแบคทีเรียพวกอื่น ๆ ได้ง่ายขึ้น โดยโคโลนีของ *A. hydrophila* ที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อนี้จะมีสีเหลือง ซึ่งเป็นผลจากการที่แบคทีเรียนี้ ferment น้ำตาล maltose ได้ เมื่อบ่มเชื้อนี้ไว้ที่อุณหภูมิ 37° ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง Rimler–Shotts medium นี้สามารถให้ผลถูกต้องแม่นยำประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากไม่สามารถแยกแบคทีเรีย *Citrobacter* spp. ซึ่งเป็น H_2S–variable ออกได้ และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ไม่สามารถแยกเชื้อ *A. hydrophila* ชนิดที่ไวต่อยาปฏิชีวนะโนโวไบโอซิน และให้เอนไซม์ lysine carboxylase ได้ นอกจากนี้ยังไม่สามารถแยกให้เห็นความแตกต่างระหว่าง *A. hydrophila* กับ *Vibrio* ที่จัดอยู่ใน group F หรือ EF6 ซึ่งแบคทีเรียพวก *Vibrio* นี้ส่วนใหญ่จะแพร่กระจายอยู่ในน้ำทะเลและน้ำกร่อย ต่อมา Kaper และคณะ (15) ได้พัฒนาและคิดค้นหาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ *A. hydrophila* ชนิดใหม่ เรียก AH medium เพื่อเป็นการช่วยวิเคราะห์และแยกแบคทีเรียอย่างรวดเร็วแบบ presumtive AH medium นี้สามารถแยกความแตกต่างของ

A. hydrophila ออกจากแบคทีเรียชนิดอื่นที่ขึ้นบน Rimler–Shotts medium เช่นเดียวกับ *A. hydrophila* ได้

สิ่งมีชีวิตที่สามารถติดเชื้อ A. hydrophila

เชื้อ *A. hydrophila* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในสัตว์หลายประเภทได้แก่

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น วัว (42) และคน (5, 6, 10, 11, 18, 19, 28, 31, 32, 41)

สัตว์ปีก เช่น นก (27) และค้างคาว (25)

สัตว์เลื้อยคลาน เช่น งู (9) และจระเข้ (21, 37)

สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ เช่น เต่า (22) กบ (7, 14, 30) โดยทำให้เกิดโรค "Red leg" ในกบ

สัตว์น้ำ เช่น หอย (23) และปลา (1, 2, 8, 12, 24, 26, 34, 35, 37, 39, 40) ทำให้เกิดโรค Red–sore ในปลา

การแพร่กระจายและปริมาณของ *A. hydrophila* ในธรรมชาติ

แหล่งน้ำธรรมชาติทั่ว ๆ ไป ซึ่งมีสารอินทรีย์สูงมากจะเป็นแหล่งที่อยู่ของ *A. hydrophila* จากหลักฐานในประเทศญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกาพบว่าจะมี *A. hydrophila* ในลำไส้ของปลาที่เป็นโรคและปลาที่ไม่เป็นโรค แหล่งน้ำที่พบเชื้อ *A. hydrophila* มีอยู่หลายประเภทได้แก่

น้ำกร่อย จากการศึกษาการแพร่กระจายของ *A. hydrophila* ในน้ำของอ่าว Chesapeake และดินตะกอนใต้น้ำ พบว่าปริมาณของ *A. hydrophila* อยู่ระหว่างต่ำกว่า 0.3 เซลล์/ล. ถึง 5×10^3 เซลล์/มล. และ 4.6×10^2 เซลล์/กรัมของดินตะกอนตามลำดับ (16)

น้ำดื่ม Kaznowski (17) สามารถแยกเชื้อ *A. hydrophila* ได้จากน้ำดื่ม น้ำจืด จากการศึกษาของ Cavari และคณะ (3) พบว่าน้ำและตะกอนใต้น้ำของแม่น้ำ Anacostia จะมี *Aeromonas* spp. ประมาณ 5.5×10^2 เซลล์/มล. ในช่วงฤดูหนาวและ 2.3×10^5 เซลล์/มล. ในช่วงฤดูอื่น

สภาวะแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำต่อการระบาดของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อ *A. hydrophila*

เป็นที่เชื่อกันว่าการที่ *A. hydrophila* เป็นสาเหตุของการระบาดของโรคนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจนเกิดเป็นภาวะเครียด (29) Hibbs และคณะ (13) ทดลองพบว่า *A. hydrophila* จะไม่สามารถทำให้กระต่ายเป็นโรคได้จนกว่าจะทำให้กระต่ายนั้นเกิดภาวะเครียดขึ้นมาก่อน Wohlgemuth และคณะ (42) พบว่าการแท้งลูกในวัวซึ่งเกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* นั้นเนื่องจากแม่วัวเกิดภาวะเครียดในระหว่างที่ตั้งท้อง ต่อมา Snieszko (38) ได้สรุปถึงปัจจัยสำคัญในการที่ทำให้เกิดภาวะเครียดดังนี้ คือ

1. อุณหภูมิ มีผลต่ออัตราของเมตาโบลิซึม การสร้างภูมิคุ้มกันโรค ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ B.O.D. ความเป็นพิษของสารมลพิษ การเจริญเติบโตของปลา เชื้อโรค และพาราไซต์

2. การขาดออกซิเจนและการที่มีปริมาณไนโตรเจนมากเกินไป ออกซิเจนเป็นสิ่งจำเป็นต่อการหายใจ ส่วนไนโตรเจนเป็นตัวลดขบวนการทางชีวภาพทั้งออกซิเจนและไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมีผลกระทบทำให้เกิดโรคปลาได้ ถ้ามีปริมาณความเข้มข้นต่ำ หรือสูงเกินไป

3. Eutrophication ในแหล่งน้ำที่เป็น eutrophic จะมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ และ pH อย่างกว้างขวางและรวดเร็ว

นอกจากนี้การเกิด eutrophication ยังเป็นการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในน้ำอีกด้วย

4. น้ำเสีย ในน้ำเสียจะประกอบด้วยของเสียจากบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรม ดังนั้นน้ำเหล่านี้จึงมีส่วนประกอบของสารอินทรีย์อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้จะเป็นแหล่งอาหารสำหรับแบคทีเรียได้อย่างดี

5. ของเสียที่เกิดจาก เมตาโบลิซึมของปลา ในบ่อเลี้ยงปลาที่มีปลาอยู่กันอย่างหนาแน่นจะมีโอกาสเกิดการระบาดของโรคได้มาก อัตราการระบาดของโรคนี้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของปลาที่เลี้ยง การที่มีประชากรของปลาอยู่กันอย่างหนาแน่นย่อมทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียและเพิ่มความต้องการออกซิเจนมากขึ้น Meyer และ Bullock (24) พบว่า โรคปลาบางอย่าง เช่น โรคครีบเน่า โรคเหงือก ซึ่งเกิดจากการเลี้ยงปลาหนาแน่นมากนั้นสาเหตุเนื่องมาจากเชื้อ *Aeromonas* ในน้ำจืด และ *Vibrio* ในน้ำเค็ม

6. มลพิษจากโรงงานอุตสาหกรรม มลพิษหรือของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีสารที่แบคทีเรียสามารถใช้เป็นอาหารได้อย่างอุดมสมบูรณ์ และก่อให้เกิด eutrophication และช่วยเพิ่มประชากรของแบคทีเรียและสาหร่าย เมื่อปริมาณของออกซิเจนในน้ำลดลงไปถึงระดับหนึ่งจะทำให้ปลาตายได้ หรือทำให้โอกาสของการติดเชื้อและเป็นโรคสูงขึ้น Shotts และคณะ (37) พบว่าการระบาดของโรคปลาในทะเลสาบ Apopka ในรัฐฟลอริดา เกิดเนื่องจากน้ำโสโครกจากโรงงานทำน้ำส้มเป็นต้นเหตุ ทำให้มีการเพิ่มจำนวนและแพร่กระจายของ *Aeromonas* spp.

7. ยาปราบศัตรูพืช (Pesticide) Couch (4) พบว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของปลา *Leiostomus xanthurus* (Lacipede) มีครีบเน่าเนื่องจากถูกสารเคมีจำพวก Arochlor และ polychlorinated biphenyls เป็นระยะเวลา 30 วัน อาการ

ครีบเน่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับโรคครีบเน่าที่เกิดจากการติดเชื้อ จากการสังเกตของ Mahoney และคณะ(20) ในอ่าวนิวยอร์คพบว่า ในปลาที่ไม่ถูกสารเคมีจำพวกเหล่านี้จะไม่มีอาการของโรคครีบเน่า แต่เขาไม่ได้ตรวจทางด้านจุลชีววิทยา และเมื่อรักษาปลาที่เป็นโรคด้วย sulfamerazine และ aureomycin ก็ไม่ได้ผล จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารเคมีเหล่านี้เป็นสาเหตุที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของตัวปลา

เอกสารอ้างอิง

1. Boulanger, Y., Lallier, R. & Consinean G. (1977). Isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish. Can. J. Microbiol. 23, 1161–1164.
2. Bullock, G. L. (1964). Pseudomonadales as fish pathogen. Dev. Ind. Microbiol. 5, 101–108.
3. Cavari, B. Z., Allen, D.A. & Colwell, R. R. (1981). Effect of temperature on growth and activity of Aeromonas spp. and mixed bacterial populations in the Anacostia river. 41, 1052–1054.
4. Couch, J.A. (1974) Histopathologic effects of pesticides and related chemicals on the livers of fishes. In Ribeiln, W.E. & Migaki, G. (eds.) Symposium on fish pathology. Madison: University of Wilconsin Press.
5. Davis, W. A., Kane J. G. & Garagusi, V. G. (1978). Human *Aeromonas infections:* a review of the literature and a case report of endocarditis. Medicine 57, 267–277.
6. Dean H.M. & Post R. M. (1967). Fatal infection with *Aeromonas hydrophila* in a patient with acute myelogenous lukemia. Annals of Internal Medicine, 66, 117–179.
7. Emerson, H. and Norris, C. (1905). "Redleg" an infections disease of frogs. J. Exp. Med. 7, 32–60.

8. Esch, G. W. & Hazen, T. C. (1978). Thermal ecology and stress a case history for red sore disease in large mouth bass *(Microgterus salmoides)* In. J. H. Thorpe and J. W. Gibbons (ed.) Energy and Environmental stress in aquatic systems. Department of Energy symposium series no. CONF-771114. National Technical Information Service, Springfield, Va.

9. Esterabadi, A. H., Entessar, F. & Khan, M. A. (1973). Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* from an outbreak of haemorrhagic septicemia in snakes Can. J. Comp. Med. 37, 418-420.

10. Feaster, F. T., Nisbet, R. M. & Barber J. C. (1978). *Aeromonas hydrophila* corneal ulcer. Am. J. Ophthalmol. 85, 114-117.

11. Fulghum, D. D., Linton Jr. W. R. & Taplin D. (1978). Fatal *Aeromonas hydrophila* infection of the skin. South. Med. S. 71, 739-741.

12. Hazen, T. C., Esch, G. W., Glassman, A. B. & Gibbons, J. W. (1978). Relationship of season, thermol loading and red-sore disease with rarious haematilogical parameters in *Micropterus salmoides*. Fish Biol. 12, 491-498.

13. Hibbs, C. M., et. al. (1971). Experimental *Aeromonas hydrophila* infections in rabbits. Cornell Vet. 61, 380-386.

14. Hird, D. W., et. al. (1981). *Aeromonas hydrophila* in wild-caught frogs and tadpoles *(Rana pipens)* in Minnesota. Lab. Anim. Sci. 31, 166.

15. Kaper, J., Seidler, R. J., Lochman, H. & Colwell, R. R. (1979). Medium for the presumptive identification of *Aeromonas hydrophila* end *Enterobacteriacea* Appl. Environ. Microbiol. 38, 1023-1026.

16. Kaper, J. B., Lockman, H. & Colwill, R. R. (1981). Aeromonas hydrophila : Ecology and Toxigenicity of isolates from an estuary. J. App. Bact. 50, 359-377.

17. Kaznowski, A., et. al. (1980). Biochemical properties and differentiation of Vibrionaceae isolated from water and water-oil emulsion Med. Dosw. Mikrobiol. (Pol.), 32, 281.

18. Ketover, B. P., Young; L. S. & Amstrong, D. (1973). Septicemia due to *Aeromonas hydrophila* clinical and immunological aspects. J. Infect. Dis. 127, 284-290.

19. Ljumgh, A., Popoff, M. & Wadstrom T. (1977). *Aeromonas hydrophila* in acute diarrheal disease: detection of enterotoxin and biotyping of strain. J. Clin. Microbiol 6, 96–100.
20. Mahoney, J. B., Midlige, F. H. & Denel, D. G. (1973). A fin rot disease of marine and enrygaline fishes in the New York Bight. Trans. Am. Fish. Soc. 102, 596–605.
21. Marcus, L. C. (1971). Infectious diseases of reptiles. Am. Vet. Med. Assoc. 159, 1626–1631.
22. Mccoy, R. H. & Seidler, R. J. (1973). Potential pathogens in the environment; isolation, enumeration and identification of seven genera of intestinal bacteria associated with small green pet turtles. Appl. Microbiol. 25, 534–538.
23. Mead, A. R. (1969). *Aeromonas liguefaciens* in the lenkodermia syndrome of *Achatina fulica*. Malacologia 9, 43.
24. Meyer, F. P. & Bullock, G. L. (1973). A new pathogen of channel catfish *(Ictalurus punctatus)*. Appl. Microbiol. 25, 155–156.
25. Muller, H. E., et. al, (1980) *Aeromonas hydrophila* as a normal Intestinal bacterium of the vampire bat *(Desmodus rotundus)*. Zentralbl Veterinarmed B. 27, 419.
26. Ojala, O. (1968). Observations on the occurance of *Aeromonas hydrophila* and *A. punctata* in fish. Bull. Off. Int. Epiz 69, 1107–1123.
27. Pani grahy, B., et. al, (1981). Unusual disease conditions in pet and aviary birds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 178, 394.
28. Quadri, S. M. H., Gordon, L. P. Wende, R. D. & Williams, R. P. (1976). Meningitis due to *Aeromonas hydrophila*. J. of Clinical Microbiol. 3, 102–104.
29. Richards, R. H. & Roberts, R. J. (1978). The bacteriology of Teleosts. In Roberts, R. J. (ed.) Fish pathology. Bailliere Tindal. London.
30. Rigney, M. M., Zilinsky, J. W. & Rouf, M., (1978). Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* in red–leg disease in frogs. Current Microbiology 1, 175–179.
31. Rosenthal, S. G., Bernhardt, H. E. & Phillips J. A. (1974). *Aeromonas hydrophila* wound infection. Plast. Reconstr. Surh. 53, 77–79.

32. Rosner, R. (1964). *Aeromonas hydrophila* as the etiological agent in a case of severe gastroenteritis. Am. J. Clin. Pathol. 42, 402–404.

33. Sanarelli, G. (1981). Ueber cinen neunen Mikroorganismus des Wassers, welcher fur Thiere nit veranderlicher and konstanter Temperature Pathogen ist. Zentbl. Bakt. Parasit Kde, 9, 193–199.

34. Schaperclaus, W. (1965). Etiology of infections carp dropsy. Ann. N.Y. Acad. Sci. 126, 587–597.

35. Shimizu, T. (1969). Studies on pathogenic properties of *Aeromonas liguefaciens* –1. Production of toxic substance to Eel. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 35, 55–63.

36. Shotts, E. B. & Rimler, R. B. (1973). Medium for the isloation of *Aeromonas hydrophila*. Appl. Microbiol. 26, 550–553.

37. Shotts, E. B., gaines, J. L., Martin, L. & Prestwood, A.K. (1972). Aeromonas–induced death among fish and reptiles in eutrophic inland lake. J. Am. Vet. med. Ass. 161, 603–607.

38. Snieszko, S. E. (1974) The effects of environmental stress on outbreaks of infections diseases of fishes. J. Fish Biol. 6, 197–208.

39. Trust, T. J. & Spaerow, R. A. H. (1974). The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fish. Can. J. Microbiol. 20, 1219–1228.

40. Venzina, R. & Desrochers, R. (1971). Influence d' *Aeromonas hydrophila* Chez la perche, *Perca flavescens* Mitchell. Can. J. Microbiol. 17, 1101–1103.

41. Von Graevennitz, A. & Mensch, A. H. (1968). The genus *Aeromonas* in human bacteriology. Report of 30 cases and review of the literature. N. Engl. J. Med. 278, 245–249.

42. Wohlgemuth, K., Pierce, R. L. & Kirkbrude, C. A. (1972). Bovine abortion associated with *Aeromonas hydrophila*, J. Am. Vet. Med. Assoc. 160, 1001–1002.

บทความนี้เป็นการสอบสวนเอกสารเกี่ยวกับแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ซึ่งเป็นสาเหตุโน้มนำทำให้เกิดโรคระบาดอย่างรุนแรงของสัตว์

ชนิดต่าง ๆ โดยกล่าวถึงคุณสมบัติทั่วไปของเชื้อ *A. hydrophila* และสภาพแวดล้อมที่อาจมีผลโน้มนำทำให้เกิดโรค

This article is the literature review concerned with the bacteria *Aeromonas hydrophila* which is the cause of severe outbreak disease in various kinds of animal. We emphasize on the general characteristics of *A. hydrophila* and the environmental stress which may be influence on outbreaks of infections diseases.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การผลิต Enterotoxin และ Hemolysin โดยเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า : เสตรนที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรค

ลัดดาวรรณ เลาห์วีรนิตย์

ภาควิชาโภชนศาสตร์เขตร้อนและวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาพบว่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรคสามารถผลิต Enterotoxins, Hemolysin และ Proteinase ได้

Enzyme และ Toxins ดังกล่าวข้างบน ผู้วิจัยสามารถแยกได้จากเนื้อของปลาช่อนที่เป็นแผลทุกตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Enterotoxin and Hemolysin Produced by *Aeromonas hydrophila*, Strains from Diseased snakehead fish *(Ophicephalus striatus)*.

Laddavan Laohaviranit

Department of Tropical Nutrition and Food Science, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University.

Abstract

The resultant from the laboratory studies shown that *Aeromonas hydrophila*, strains isolated from diseased snakehead fish *(Ophicephalus striatus)*, produced enterotoxin, hemolysin and proteinase. The toxins and enzyme could either discovered from all infected snakehead fishes.

Introduction

Aeromonas hydrophila is distributed in aquatic and terestrial environments. Although *A. hydrophila* has been reported as part of the normal flora of fish, (Von Graevenitz, 1968), it also has been associated with epizootic incidents among aquatic fauna (Shotts et al., 1972; Miller and Chapman, 1976). Its role as a human pathogen has become increasingly evident over the past years (Von Graevenitz and Zinterhofer, 1970; Davis et al., 1978; Trust and Chipman, 1979). The outbreaks are difficult to control. Various strains of *A. hydrophila* have been recognized as producing a similar variety of extracellular products, including enzymes (Nord et al., 1975; Rigney et al., 1978), hemolysin (Nord et al., 1975; Wretlind, 1971; Wadstrom et al., 1976), enterotoxin Wadström et al., 1976; Boulanger et al., 1977;

Ljungh et al., 1977, Cumberbatch et al., 1979) and cytotoxic protein (Wadström et al., 1976; Cumberbatch et al., 1979). The extracellular enzymes, including gelatinase (s), caseinase (s), elastase (s), lipase (s), lecithinase (s), deoxyribonuclease and ribonuclease, may be virulent factors and possibly virulent determinants (Nord et al., 1975). The potential contribution of these factors are not clear and warrant further studies.

During December 1982 and January 1983, there was a severe outbreak of fish disease in Thailand which cuased ulcerative skin lesions, septicemia and massive mortality to fish. This study was therefore undertaken to determine the safety of consuming the diseased fish or the fermented fish product. Of particular interest were the following objectives: (1) to determine whether *A. hydrophila* isolated from the disease fish possessed proteolytic, hemolytic and cytotoxic activities and (2) to determine the effect on the activities of heating process, concentrations of salt and gastric pH.

Materials and Methods

Source of fish and water Infected snakehead fish *(Ophicephalus striatus)* and pond water samples in Sampran area, Nakornpatom were used in this study. Clinical symptoms of the fish were common to the outbreak throughout Thailand. Most fish showed large external erosive lesions on various parts of the body, lower jaw and skull. Some showed dark-red spots. Temperature and pH of the water at time of collection were recorded. The fish and water samples were refrigerated during transportation to the laboratory for analyses.

Source of organism Aeromonas hydrophila F-588 was isolated from a diseased snakehead fish *(Ophicephalus striatus)* in a pond in Supanburi which died during the recent outbreak (Poonsuk et al., 1983). The organism was the most virulent strain (Poonsuk et al., 1983). It was stored at $14 \pm 2^{\circ}$ C on trypticase soy agar slant.

Swab test of the wounded areas and viscera of the diseased fish was carried out. Direct Gram-staining of the samples was performed. Subsequently, the surface of the fish was cleaned with

sterile normal saline to prevent surface contamination. The wounded areas and viscera of the fish were separately homogenized. Total bacterial count of the homogenates was performed. The organisms were identified. Aliquots of the fish homogenates and *A. hydrophila* F-588 cell suspension were tested for proteolytic, hemolytic and cytotoxic activities.

Assay for proteolytic activity

Each sample was assayed for proteolytic activity using the LL modified casein agar diffusion method (Laohaviranit, 1982) and the LL modified azocasein method (Laohaviranit, 1982).

Assay for hemolytic activity

Hemolytic activity was detected in a 10 ml blood plate agar containing 5% human erythrocytes. Ten microliters of the sample were added into a 4 mm-diameter hole. The plate was incubated far 18 heat 37° C. Diameter of each hemolytic zone was measured to the nearest 0.5 mm.

Assay for cytotoxic activity

Cytotoxic activity of the sample was assayed in the Y-1 mouse adrenal tumor (MAT) cell system. Rounding of the cells of greater than 70% was considered positive.

Results & Discussion

Direct Gram-staining Various types of organisms were found from the swabbed samples of the surface of the wounded areas (Table 1). The organisms were identified as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp., *Aeromonas* sp., Vibrio-like bacteria, Enterobacteriaceae, Gram-negative curve rods, Gram-positive rods, and molds (Table 2).

Table 1. Type of organisms isolated from wounded areas of the diseased fish.

Type	Morphological characteristic
1	Gram-negative straight rods
2	Gram-negative curve rods
3	Gram-negative endosporeforming rods
4	Spirillum
5	Gram-positive rods

Table 2. Identification of the organisms isolated from the swabbed samples.

Number	Identification
1	*Staphylococcus aureus*
2	*Staphylococcus* sp.
3	*Aeromonas* sp.
4	Vibrio-like bacteria
5	Enterobacteriaceae
6	Gram-negative curve rods
7	Gram-positive rods
8	Molds

Total bacterial count

Total bacterial count of the fish homogenates from the wounded areas was higher than that from the viscera. Total bacteria count of the fish homogenates was in the range from 10^6 to 10^{10} organisms/mg fish, with the average value of 10^8 organisms/mg fish (Table 3). The count was sufficiently high to cause the disease and mortality to the fish. Tesprateep et al. (1983a) recently found that albino mice died within 24 h. after feeding *A. hydrophila* F-588 1.7×10^8 and 5×10^8 cells. Total bacterial count of the water samples ranged from 10^4 to 10^6 with the average value of 10^5 organisms-/ml. The count of the water samples was approximately 1,000 times less than that of the fish.

Table 3. pH and total bacterial count of homogenized fish samples.

Sample	pH	Total count[1]
Big fish, wounds	6.10	10
Big fish, viscera	6.20	4
Medium fish, wounds	6.50	79
Medium fish, viscera	6.50	17
Small fish	6.65	4,286
Small fish	6.70	2,200

[1]Total bacterial count $\times 10^6$ per milligram fish, after incubation for 24 h. at 35°

Table 4. pH and total bacterial count of water samples.

Sample	pH	Total count[1]
Pond with small diseased fish sarface # 1	7.10	3.90
Water before flowing into fish pond # 2	7.00	0.20
Fresh underground water for snakehead fish	7.70	0.10
Pond with healthy catfish sarface # 2	7.50	0.70
Pond with healthy catfish, Bottom # 4	7.45	0.10
Tarjeen river	7.00	0.01

Identification

Organisms isolated from the homogenized fish samples are shown in Table 5. *A. hydrophila* was the predonimant organism of all fish samples as reported by Poonsuk et al. (1983). It was found mixed with Entero-bacteriaceae (Table 5).

Table 5 Organisms isolated from the homogenized fish samples.

Oraganism	Identification
A1	*Aeromonas hydrophila*
A2	*Aeromonas hydrophila*
A3	*Acinetobacter calcoaceticus* var. lwoffi
A4	*Pseudomonas pseudoalcaligenes*
A5	*Klebsiella oxytoca*
A6	*Aeromonas hydrophila*
A7	*Aeromonas hydrophila*
A8	*Pseudomonas acidovorans*
A9	*Enterobacter agglomerans*
A10	*Aeromonas hydrophila*
A11	*Aeromonas hydrophila*
A12	*Aeromonas hydrophila*
A13	*Aeromonas hydrophila*
A14	*Enterobacter cloacae*
A15	*Enterobacter* sp.

[1] Total bacterial count × 10^6 per milliliter water, after incubation for 24 h. at 35° C

Proteolytic activity

All homogenized fish samples and *A. hydrophila* F-588 cell suspension possessed caseinolytic activity. No detectable proteolytic activity was found in the fish homogenates or *A. hydrophila* cell suspension after heating at 100° C for 10 min or autoclaving at 121°C for 15 min, 15 lb/in.^{2}

Cytotoxic activity

Cytotoxin was found in all fish homogenates and in *A. hydrophila* F-588 cell suspension. No cytotoxin could be detected in the samples after heating at 100 C for 10 min or autoclaving at 121 C for 15 min, 15 lb/in^2.

Hemolytic activity

All fish homogenates and *A. hydrophila* F-588 cell suspension possessed hemolytic activity. This was consistent with the results reported by other investigators. Tangtrongpiroj et al. (1983) found a 35% decrease in hematocrit in the diseased fish as compared to the controls. Tesprateep et al. (1983b) recently reported histopathological changes in the diseased fish including necrosis and myositis of the skeletal muscle, ulceration of the skin and lamillae, necrosis of the renal hemopoietic tissues, lymphoid necrosis and gastroenteritis. They suggested that hematological findings were the result of destruction of red blood cells extra-and intravascularly. They further suggested the lesions of the diseased fish to be the systemic effect due to bacterial toxins.

No detectable hemolytic activity was found in the fish homogenates or *A. hydrophila* F-588 cell suspension after heating at 100° C for 10 min or autoclaving at 121° C for 15 min, 15 lb/in.^{2} This agreed well with the results reported by Bernheimer et al. (1974) who found loss in hemolytic activity of the purified heat-labile hemolysin after heating at 50° C for 1 h at pH 7.0. Similar results were recently reported by Tesprateep et al. (1983a). They found death in albino mice after feeding for 24 h. the infected fish, *A. hydrophila* cells, *A. hydrophila* cell-free filtrate, and 1 and 15 day pra-ra made from the diseased fish, However, no death or illness was observed after feeding the 5 min-boiled samples of *A. hydrophila*, *A. hydrophila*, cell-free filtrate, the infected fish or the fermented fish.

References

Bernheimer, A.W., and L.S. Avigad, 1974. Patial characterization of aerolysin, a lytic exotoxin from *Aeromonas hydrophila*. Infect. Immun. 9 : 1016–1021.

Boulanger, Y., R. Lallier, and G. Consineau, 1977, Isolation of an enterotoxigenic *Aeromonas* from fish, Can. J. Microbiol. 23 : 1161–1164.

Cumberbatch, N., M. J. Gurwith, C. Langston, R. B. Sack, and J. L. Brunton. 1979. Cytotoxic enterotoxin produced by *Aeromonas hydrophila*. Relationship of toxigenic isolates to diarrheal disease. Infect. Immun. 23 : 829–837.

Davis, W. A., J. G. Kane, and V. G. Garaguis. 1978. Human *Aeromonas* infections : A Review of the literature and a case report of endocarditis. Medicine. 57 : 267–277.

Laohaviranit, L. 1982. Interaction of protease preparation from *Pseudomonas fluorescens* W 11 with bovine milk xanthine oxidase. Ph. D. Dissertation. University of Missouri, Columbia. U. S. A.

Miller, R. M., and W. R. Chapman. 1976. Epistylis and *Aeromonas hydrophila* infections in fishes from North Carolina reservoirs. Progressive Fish–Culturist 39 : 165–168.

Nord, C. E., L. Sjöberg, T. Wadström, and B. Wretlind. 1975. Characterization of three aeromonads and nine pseudomonads species by extracellular enzymes and hemolysins. Med. Microbiol Immunol., 161 : 79–87.

Poonsuk, K., O. Navephap, J. Jerngklinchan, W. Watanavijarn, K. Saitanu, and S. Wongsawang 1983. The outbreak of *Aeromonas hydrophila* infection in freshwater fish in Thailand. Symposium on Fresh Water Fish Epidemic : 1982–1983. Bangkok, Thailand. Abst. : 31.

Rigney, M. M., J. W. Zilinsky, and M. A. Rouf. 1978. Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* in red leg disease in frogs. Curr. Microbiol. 1 : 175–179.

Shotts, E. B., Jr., J. L. Gaines, L. Matin, and A. K. Prestwood. 1972. Aeromonas-induced deaths among fish and reptiles in eutrophic inland lake. J. Am. Vet. Med. Assoc. 161: 603-607.

Tangtrongpiroj, J., B. Wongsattayanont, T. Thirapatsakun, and T. Tesprateep. 1983. The haematological study of normal and sick fish *(Ophicephalus striatus* and *Puntius* spp.) from January to February 1983. Symposium on Fresh Water Fish Epidemic: 1982-1983. Bangkok, Thailand, Abst.: 33.

Tesprateep, T., S. Wongsawang, and K. Poonsuk. 1983a. *Aeromonas hydrophila*, toxin, pra-ra and diseased fish: An acute toxicity test in mice. Symposium on Fresh Water Fish Epidemic: 1982-1983. Bangkok, Thailand. Abst.: 55.

Tesprateep, T., S. Wongsawang, L. Ouswaplangchai, W. Wattanavijarn, K. Saitanu, R. Rattanaphani, and J. Tangtrongpairoj, 1983 b. Pathology of *A. hydrophila* infection in fish with reference to the recent epidemic. Symposium on Fresh Water Fish Epidemic: 1982-1983. Bangkok, Thailand. Abst.: 37.

Trust, T. J., and D. C. Chipman. 1979. Clinical involvement of *Aeromonas hydrophila*. Can. Med. Assoc. J. 120: 942-946.

Von Graevenitz, A., and A. H. Mensch. 1968. The genus aeromonas in human bacteriology. Report of 30 cases and review of the literature. N. Engl. J. Med. 278: 245-249.

Von Graevenitz, A., and L. Zinterhyfer. 1970. The detection of *Aeromonas hydrophila* in stool specimens. Health Lab. Sci. 7: 124-127.

Wadstom, T., A. Ljungh, and B. Wretlind. 1976. Enterotoxin, hemolysin and cytotoxic protein in *Aeromonas hydrophila* from human infections. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 284: 112-114.

Wretlind, B., R. Mollby, and T. Wadström. 1971. Separation of two hemolysins from *Aeromonas hydrophila* by isoelectric focusing. Infect. Immun. 4: 503-505.

การศึกษาสารพิษ (Cytotoxin) ของเชื้อ (*Aeromonas hydrophila*) ในสภาวะอุณหภูมิที่กำหนด

กรองแก้ว ศุภวัฒน์
ประภาวดี บุญเจริญ
ม.ล. รัตนสุดา พันธุ์อุไร

งานบัคเตรีวิทยา กองพยาธิวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โทร. 2231671 ต่อ 225.
บีเตอร์ อีเซเวอร์เรีย ศูนย์วิจัยการแพทย์ทหาร ถนนโยธี กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

เนื่องจากในระหว่างเดือนธันวาคม 2525 ถึงเดือนมกราคม 2526 ปลาน้ำจืดในบ่อเลี้ยงปลาหลายจังหวัดโดยเฉพาะที่จังหวัดสุพรรณบุรี เกิดเป็นโรคระบาดมีบาดแผลตามผิวหนังและตายเป็นจำนวนมาก เมื่อนำปลาและน้ำจากบ่อปลาจาก 18 จังหวัด มาตรวจแยกเชื้อ ปรากฏว่าพบเชื้อ (*Aeromonas hydrophila*) ซึ่งเป็นสาเหตุแท้จริงของการระบาด จึงได้ทำการศึกษาความสามารถของเชื้อ *A. hydrophila* ในการสร้าง cytotoxin ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน จำนวนทั้งหมด 118 เชื้อ โดยทดสอบกับ Y-1 Adrenal Tumor cells สรุปได้ว่า 90.5% (67/74) ของเชื้อ *A. hydrophila* สร้าง cytotoxin ได้ทั้งที่ 25°ซ. และ 37°ซ. ขณะที่ 93.3% (28/30) และ 90% (27/30) ของเชื้อ *A. hydrophila* จากคนสร้าง cytotoxin ได้ที่ 25°ซ. และ 37°ซ. ตามลำดับ จากการศึกษาเชื้อ *A. hydrophila* 14 เชื้อ จากน้ำพบว่าสร้าง cytotoxin ที่ 25°ซ. ได้ดีกว่าที่ 37°ซ. คือ 92.9% (13/14) ที่ 25°ซ. และ 78.6% (11/14) ที่ 37°ซ.

A Study of Cytotoxin of *Aeromonas hydrophila* at Different Temperatures.

Krongkaew Supawat
Prapawadee Booncharoen
M.L. Ratanasuda Phan-Urai

Bacteriology Section, Division of Clinical Pathology, Department of Medical Sciences.

Peter Echeverria
Military Science Research Center.

Abstract

During December 1982-January 1983, there was a severe outbreak of furunculosis of freshwater fish in many provinces especially Suphan-Buri, which caused skin lesions and mortality. Infected fish and pond collected from 18 provinces were examined and bacterial isolation and identification were carried out. It could be shown that *Aeromonas hydrophila* was the cause of this outbreak. A total of 118 strains of *A. hydrophila* were studied about the ability to produce cytotoxin at different temperatures by using Y-1 Adrenal Tumor Cells. It could be concluded that 90.5% (67/74) of *A. hydrophila* isolated from fish produced cytotoxin at both 25° and 37°C, whereas 93.3% (28/30) and 90% (27/30) of human isolates produced cytotoxin at 25° and 37°C. respectively. Finally, the study of 14 strains isolated from water showed that the production of cytotoxin at 25°C was better than at 37°C, i.e. 92.9% (13/14) at 25°C, and 78.6% (11/14) at 37°C.

การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของปลาป่วยและเชื้อที่แยกได้จากปลาป่วยในสัตว์ทดลอง

เทอด เทศประทีป
โสมทัต วงศ์สว่าง
เกรียงศักดิ์ พูนสุข
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การทดลองความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของปลาป่วย เชื้อและพิษของเชื้อที่แยกจากปลาป่วยซึ่งทดลองป้อนให้กินในหนูขาวและสังเกตอาการในระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าหนูขาวซึ่งได้รับการป้อนเนื้อปลาที่เป็นโรค เนื้อปลาที่เป็นโรคต้มเดือด 5 นาที เนื้อปลาร้าจากปลาช่อนที่เป็นโรคซึ่งหมักนาน 1 และ 15 วัน เชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า และพิษของเชื้อนี้ต้มเดือด 5 นาที ไม่แสดงอาการผิดปกติ หรือ ตายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง หลังป้อนให้กิน หนูขาวซึ่งได้รับการป้อนเชื้อแอร์โรโมนาส จำนวน 1.7×10^8 เซลล์/ตัว 5×10^8 เซลล์/ตัว และพิษสดของเชื้อนี้พบอัตราการตาย 20% (1/5). 40% (2/5) และ 20% (1/5) ตามลำดับ หลังป้อนให้กิน 24 ชั่วโมงหนูขาวที่เหลือรอดทั้งหมดไม่แสดงอาการผิดปกติตลอดการทดลอง

Aeromonas hydrophila, toxin, Pra–ra and diseased fish : An acute toxicity test in mice.

Ted Tesprateep
Somatat Wongsawang
Kriengsak Poonsuk

Department of Veterinary Pathology,
Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The acute toxicity test from fresh and heat-treated diseased fish, 1 and 15 day old Pra-ra from diseased fish, fresh and heat-treated *Aeromonas hydrophila* toxin were performed by feeding into mice fed with fresh and heat-treated diseased fish, 1 and 15 day old Pra-ra, heat-treated *Aeromonas hydrophila* and heat-treated toxin showed no sign of illness. 20% (1/5), 40% (2/5), and 20% (1/5) mice fed with 1.7×10^8, 5×10^8 *Aeromonas hydrophila*/mouse and fresh *Aeromonas hydrophila* toxin respectively were died in 24 hours after feeding.

บทนำ

โรคระบาดปลาที่เกิดขึ้นในขณะนั้น (ธันวาคม 2525–มกราคม 2526) ได้ทำความเสียหายอย่างร้ายแรงแก่ปลาตามลำน้ำธรรมชาติ และปลาในบ่อเลี้ยงทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยมีการระบาดอย่างหนักที่แหล่งเลี้ยงปลาขนาดใหญ่ในภาคกลาง ปลาที่เป็นโรคส่วนมากเป็นปลาช่อน(*Ophicephalus striatus*) สาเหตุของโรคในครั้งนี้ได้พิสูจน์แล้วว่าอย่างน้อยที่สุดเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย แอร์โร-

โมนาส ไฮโดรพีล่า (*Aeromonas hydrophila*) (เกรียงศักดิ์ พูนสุข และคณะ 2526) เชื้อนี้สามารถติดต่อโดยการกิน ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในมนุษย์ได้ (Ljungh et al. 1977, Rosner, R. 1964) ปลาที่ป่วยและไม่ป่วยได้ถูกนำมาประกอบอาหาร และหรือทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยเฉพาะปลาร้าหมัก อันตรายจากเชื้อนี้เมื่อมีการบริโภคปลาที่เป็นโรคยังเป็นที่ข้องใจและหวั่นเกรงแก่ผู้บริโภคเป็นอย่างมาก ซึ่งจะเห็นได้จากการค้าปลาน้ำจืดเกือบทั่วประเทศหยุดชะงักในทันทีที่มีการระบาดของโรคอันเป็นการเสียหายอย่างร้ายแรงต่อเศรษฐกิจของประเทศ

เพื่อที่จะพิสูจน์ในด้านความปลอดภัยในการบริโภคนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการทดลองเร่งด่วนเพื่อพิสูจน์ว่าปลาที่โรค ผลิตภัณฑ์จากปลาที่เป็นโรค เชื้อและพิษของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ที่แยกได้จากปลาที่เป็นโรค จะเป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อสัตว์ทดลองโดยการให้กินอย่างไรหรือไม่ ผลของการทดลองนี้จะเป็นข้อมูลที่จะบ่งชี้ถึงความปลอดภัยในการบริโภค ซึ่งจะเกี่ยวโยงไปถึงการแก้ปัญหาการค้าปลาน้ำจืดที่กำลังหยุดชะงักนี้ได้

วัสดุและวิธีการ

1. ปลาป่วยและผลิตภัณฑ์จากปลาป่วย

ปลาป่วยเป็นปลาช่อนขนาดน้ำหนัก ประมาณ 250 กรัม มีแผลบริเวณลำตัวผลิตภัณฑ์จากปลาป่วยเป็นปลาร้าหมัก (ปลาช่อน) นาน 1 และ 15 วัน ตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ได้มาจากบ่อเลี้ยงปลาตำบลมะขามล้ม อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี

ตัดเนื้อปลาโดยเฉพาะบริเวณแผล หนัก 25 กรัม จากปลาสด ปลาร้าหมัก 1 วัน ปลาร้าหมัก 15 วัน และเนื้อปลาสดอีกส่วนหนึ่งมาต้มในน้ำเดือด 5 นาที นำแต่ละส่วนมาปั่นด้วย homogenizer โดยมี PDS (phosphate dextrose

saline) 50 ml. เป็นตัวละลาย แบ่ง homogenate แต่ละชนิดออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำไปป้อนให้หนูทดลองกิน และส่วนที่สองนำมาทำ bacterial count เพื่อหาปริมาณของเชื้อ Aeromonas โดยวิธีนับบน blood agar

2. เชื้อ Aeromonas hydrophila.

เชื้อ Aeromonas hydrophila strain 551 ที่แยกได้จากปลาช่อนป่วย จาก อ. พานทอง จ. ชลบุรี เชื้อนี้ได้พิสูจน์ยืนยันและทำให้บริสุทธิ์โดย หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นำเชื้อที่ได้มาเลี้ยงใน Nutrient Broth อบไว้ที่ 37° ซ. นาน 24 ชม. ปั่นแยกเชื้อด้วยเครื่องปั่นแยกความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แยกตะกอนเชื้อนำมาปั่นล้างด้วย steriled saline 2 ครั้ง แล้วเตรียมเชื้อในขนาดความเข้มข้น 1.7×10^{8} และ 5×10^{8} เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

ส่วนใสที่ได้จากการปั่นแยกเชื้อออก นำมากรองผ่านเครื่องกรองแบคทีเรีย (Millipore filter) cell–free filtrate ที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนหนึ่งจะถูกต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที

3. หนูทดลอง

หนูขาวอายุประมาณ 8 อาทิตย์ น้ำหนักตัว 20–25 กรัม แบ่งออกเป็น 11 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว โดยป้อนให้กินทาง stomach tube

กลุ่มที่ 1 เนื้อปลาสด
2 เนื้อปลาร้าหมัก 1 วัน
3 เนื้อปลาร้าหมัก 15 วัน
4 เนื้อปลาสดต้มเดือด 5 นาที
5 Phosphate–dextrose saline (PDS) (กลุ่มเปรียบเทียบ)

กลุ่มที่ 6 แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า 1.7×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร

7 แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า 5×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร

8 Cell–free filtrate

9 แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า 5×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร ต้มเดือด 5 นาที

10 Cell–free filtrate ต้มเดือด 5 นาที

11 Nutrient broth (กลุ่มเปรียบเทียบ)

หนูกลุ่มที่ 1–4 ได้รับเนื้อปลาในขนาด 2 กรัม โดยแบ่งป้อน 2 ครั้ง ห่างกัน 24 ชั่วโมง หนูกลุ่มที่ 5 ได้รับ PDS ปริมาณ 1 ml. หนูกลุ่มที่ 6–11 ได้รับเชื้อและ cell–free filtrate ในขนาด 1 มิลลิลิตร ครั้งเดียว

สังเกตอาการผิดปกติของหนูทุกกลุ่มในเวลา 6, 24, 30, 48, 54 และ 72 ชม. หลังป้อนให้กิน ทำลายหนูทุกกลุ่มหลัง 72 ชั่วโมง

ผล

1. การนับเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

จากตัวอย่างปลาป่วยและปลาร้า (จำนวนเชื้อ ต่อ เนื้อปลา 1 กรัม)

ตัวอย่างเนื้อปลาสด 5×10^7

ตัวอย่างเนื้อปลาร้าหมัก 1 วัน น้อยกว่า 10^3

ตัวอย่างเนื้อปลาร้าหมัก 15 วัน ไม่พบเชื้อ

ตัวอย่างเนื้อปลาสดต้ม 5 นาที ไม่พบเชื้อ

2. ผลการให้หนูทดลองกินตัวอย่างปลาป่วยและปลาร้า

หนูทุกกลุ่ม (1–5) ตลอดการทดลองไม่แสดงอาการผิดปกติ นอกจากมีอาการซึมในวันแรกหลังป้อนปลา (โดยเฉพาะกลุ่ม 1 และ 2)

3. ผลการให้หนูทดลองกินเชื้อและ Cell–free filtrate

หนูทุกกลุ่มแสดงอาการซึมหลังป้อน พบหนูตาย

กลุ่มที่ 6 ตาย 1 ตัว (1/5) ใน 24 ชั่วโมงหลังป้อนเชื้อ

กลุ่มที่ 7 ตาย 2 ตัว (2/5) ใน 24 ชั่วโมงหลังป้อนเชื้อ

กลุ่มที่ 8 ตาย 1 ตัว (1/5) ใน 25 ชั่วโมงหลังป้อนเชื้อ

หนูที่เหลือทั้งหมดแสดงอาการปกติตลอดการทดลอง

จากการผ่าซากหนูที่ตายทุกกลุ่มพบมีหย่อมเลือดที่ปอดและพบลำไส้อักเสบทั้งหมดหนูที่รอดตายไม่พบรอยโรคที่ผิดปกติ

สรุปผลและวิจารณ์

จากผลของการทดลองครั้งนี้แสดงว่า เนื้อปลาที่เป็นโรค ปลาร้าหมักในระยะเวลาต่าง ๆ กัน และเนื้อปลาที่เป็นโรคหลังต้มให้เดือดนาน 5 นาที ไม่ทำให้หนูทดลองตายเมื่อให้กินในขนาดปริมาณค่อนข้างมาก (1 : 10 ของน้ำหนักตัว) และเชื้อแอร์โรโมนาสไฮโดรฟีล่า ที่หนูได้รับจากเนื้อปลาป่วย (5×10^7) ในแต่ละครั้งก็มีปริมาณไม่พอที่จะทำให้หนูตายหรือป่วยได้ และเมื่อให้หนูได้รับเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในปริมาณค่อนข้างมากครั้งเดียว ($> 1.7 \times 10^8$) เชื้อนี้ก็สามารถทำให้หนูตายได้ และหนูที่ได้รับ cell–free filtrate ซึ่งไม่ได้ถูกทำลายด้วยความร้อน มีอาการผิดปกติและตาย แสดงว่าพิษที่ได้จากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า นี้สามารถที่จะทำอันตรายให้แก่หนูทดลองได้และพิษนี้รวมทั้งตัวเชื้อเองถูกทำลายได้อย่างง่ายดายที่ อุณหภูมิ 100° ซ. นาน 5 นาที ซึ่งจะแสดงได้จากกลุ่มหนูทดลองที่ยังคงเป็นปกติหลังป้อนพิษและเชื้อนี้ที่ต้มแล้ว ดังนั้นความปลอดภัยในการบริโภคเนื้อปลาป่วยจากเชื้อนี้ก็คือการต้มให้เดือดนาน 5 นาที ซึ่งจะทำลายได้ทั้งตัวเชื้อและพิษจากตัวเชื้อทั้งหมด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาเภสัชวิทยา ที่กรุณาให้หนูขาวในการทดลองครั้งนี้ และนิสิตชั้นปีที่ 5 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยสังเกตและบันทึกอาการของหนูขาวขณะทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. เกรียงศักดิ์ พูนสุข, อรวรรณ นวีภาพ, เยาวภา เจิงกลิ่นจันทร์, วัฒนา วัฒนวิจารณ์, เกรียงศักดิ์ สายธนู และโสมทัต วงศ์สว่าง (2526) โรคระบาดในปลาน้ำจืดสาเหตุจากเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า : รายงานผลคณะกรรมการเฉพาะกิจเพื่อหาสาเหตุของปลาตาย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. Ljungh, A.; Popoff, M. and Wadström, T. (1977). Aeromonas hydrophila in acute diarrheal disease : Detection of enterotoxin and biotyping of strains J. Clin.Microbiol 6 : 96-100.

3. Rosner, R. (1964). Aeromonas hydrophila as the etiologic agent in a case of severe gastro-enteritis. Amer. J Clin. Path. 42 : 402-404.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาการก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายของเชื้อ Aeromonas hydrophila ที่แยกได้จากแผลปลาช่อน

*สงคราม เหลืองทองคำ
***ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร
**โสมทัต วงศ์สว่าง
*ธงชัย เฉลิมชัยกิจ
**เล็ก อัศวพลังชัย
**วัฒนา วัฒนวิจารณ์

*ภาควิชาอายุศาสตร์
**ภาควิชาพยาธิวิทยา
***ภาควิชาสรีรวิทยา
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

เชื้อ Aeromonas hydrophila ที่แยกได้จากแผลปลาช่อนสองสเตรน (F-551 และ F-588) ที่ใช้ทดสอบการก่อโรคที่ลำไส้กระต่าย (enteropathogenicity test) พบว่าทั้ง cell-free toxin และ washed-cell suspensions 5×10^{8} cells/ml. สามารถก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายได้ แต่ถ้านำ cell-free toxin และ washed-cell suspensions ไปต้มในน้ำเดือดนานห้านาทีจะไม่สามารถก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายได้เลย

The Study of Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila Isolated from Aeromonas Wound Infection in Mud Fish (Ophicephalus striatus.)

* *Songkram Luangtongkum*
*** *Narongsak Chaiyabutr*
** *Somatat Wongsawang*
* *Tongchai Chalermchaikit*
** *Lek Ousawaplangchai*
** *Watana Wattanavijarn*

* *Department of Veterinary Medicine*
** *Department of Pathology*
*** *Department of Physiology*
} *Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University*

Abstract

In early 1983, there was the epidemic Aeromonas infection in fishes in Thailand. Two strains of Aeromonas hydrophila (F-551 and F-588) were isolated from Aeromonas wound infection in the mud fish. These strains were tested for their enteropathogenicity in the rabbit ileal loop. It was found that both cell-free toxin and washed-cell suspensions (5×10^8 cells/ml.) of these two strains showed positive ileal loop test with distinct reactivity, while the heat treatment (five minutes in boiling water) cell-free toxin and washed-cell suspensions (5×10^8 cells/ml.) did not show any reactivity in the rabbit ileal loop.

The result indicates that these two strains of A. hydrophila produce heat-labile enterotoxin which do not tolerate in boiling water for five minutes.

คำนำ

เชื้อ Aeromonas hydrophila เป็นเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคในคน ทั้งการติดเชื้อเฉพาะที่ (Bulger & Sherris, 1966) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) (Shilkin et al, 1968) และการติดเชื้อในทางเดินอาหาร ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในทางเดินอาหารนั้น Lautrop ได้รายงานการตรวจพบเชื้อนี้ในอุจจาระซึ่งรวมทั้งอุจจาระผู้ป่วยด้วยโรคทางเดินอาหารตั้งแต่ ค.ศ. 1961 และต่อมาได้มีรายงานว่าเชื้อนี้เป็นสาเหตุของการเกิด severe gastro-enteritis (Rosner, 1964) หลังจากนั้นยังคงมีรายงานการตรวจพบเชื้อนี้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันอีก (Ljungh et al, 1977) สำหรับในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2525 ที่ผ่านมามีการตรวจพบเชื้อ A. hydrophila จากผู้ป่วยจำนวนมาก เฉพาะโรงพยาบาลของรัฐ จำนวน 13 แห่งในกรุงเทพมหานคร ตรวจพบเชื้อนี้ถึง 464 ราย ส่วนในต่างจังหวัดมีการตรวจพบเชื้อนี้ในผู้ป่วยที่จังหวัดสุพรรณบุรี 1 ราย และจังหวัดปทุมธานี 2 ราย (กระทรวงสาธารณสุข 2526) จากการศึกษาติดตามผู้ป่วยที่เป็นโรคท้องร่วงเฉียบพลันในปัจจุบันพบว่าบางรายมีประวัติแน่ชัดเกี่ยวกับการรับประทานปลาในช่วงที่ปลาเป็นโรคระบาดตาย (สมใจ เหรียญประยูร 2526) คณะทำงานของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ชุดนี้จึงทำการศึกษาความสามารถในการก่อโรคที่ลำไส้กระต่าย (enteropathogenicity) ของเชื้อ A. hydrophila ที่แยกได้จากแผลปลาช่อนซึ่งกำลังเป็นโรคระบาดที่จังหวัดชลบุรี และ จังหวัดสุพรรณบุรี การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทดสอบว่า toxin ที่เชื้อสร้างขึ้นและตัวเชื้อ (washed-cell suspensions) มีความสามารถในการก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายได้หรือไม่ และเมื่อนำ toxin ที่เชื้อสร้างขึ้นและตัวเชื้อไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที จะยังคงสามารถก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายได้อีกหรือไม่ ผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นแนวทางชี้แนะเกี่ยวกับความปลอดภัยในการบริโภคปลาที่เป็นโรคในส่วนที่เกี่ยวกับ toxin และตัวเชื้อ A. hydrophila

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียม toxin จากเชื้อและตัวเชื้อสำหรับการทดลอง

1. เชื้อที่ใช้ในการทดสอบใช้ strain F–551 ที่แยกได้จากแผลปลาช่อนป่วยที่ จังหวัดชลบุรี และ strain F–588 ที่แยกได้จากปลาช่อนป่วยที่จังหวัดสุพรรณบุรี เชื้อทั้งสองสเตรนนี้ได้แยกให้บริสุทธิ์และทดสอบคุณสมบัติแล้ว (เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ 2526)

2. เพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสองสเตรนดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (nutrient broth) อบเลี้ยงเชื้อที่ 37° ซ. เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง

3. ปั่นแยก broth culture ที่ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เก็บแยก culture supernates และ cell sediments ออกจากกัน

4. นำ culture supernates กรองผ่าน sterile membrane filter ขนาด 0.45 μm (Millipore Corp., Bedford, Mass.)

5. Culture filtrates (cell–free toxin) ที่ได้แบ่งเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งเก็บไว้ฉีดทดลองเลย อีกส่วนหนึ่งนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที

6. Cell sediments นำมาปั่นล้างในน้ำเกลือ (0.85% normal physiological saline) รวม 3 ครั้ง แล้วทำให้แขวนลอยในน้ำเกลือให้มีความหนาแน่นของ cells 5×10^{8} cells/ml.

7. Cell suspensions แบ่งเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งเก็บไว้เป็น viable cells สำหรับฉีด อีกส่วนหนึ่งนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เช่นเดียวกับการเตรียม culture filtrates.

การเตรียมเชื้อควบคุมการทดลอง

Positive control ใช้เชื้อ Vibrio cholera strain VC 3 ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เตรียมโดย modified method ของ Formal et al. (1961) โดยใช้ความหนาแน่นของ cells ขนาด 5×10^{7} cells/ml.

Negative control ใช้ nutrient broth ที่เตรียมขึ้นครั้งเดียวกับที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อ A. hydrophila ในการทดลองครั้งนี้ นอกจากนี้ได้ใช้ 0.85% normal physiological saline และเปลาะลำไส้ที่ไม่ได้ฉีดสิ่งใดไว้เป็น negative control ด้วย

การเตรียม Rabbit Ileal Loop สำหรับการทดลองใช้กระต่ายโตน้ำหนักตัวระหว่าง 2–3 กก. จำนวน 8 ตัว อดน้ำและอาหารล่วงหน้าก่อนการทดลอง 24 ชม. กระต่ายหมายเลข 1–3 ฉีด toxin และตัวเชื้อ A. hydrophila strain F–551 กระต่ายหมายเลข 4–8 ฉีด toxin และตัวเชื้อ A. hydrophila strain F–588

เมื่ออดอาหารกระต่ายแล้วทำการเปิดผ่าหน้าท้องโดยไม่ให้ติดเชื้อ แล้วผูกลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) เป็นเปลาะ ๆ เปลาะหนึ่งยาว 6–10 ซม. กระต่ายตัวหนึ่งผูกไม่เกิน 8 เปลาะ แล้วใช้ 1 ml. ของแต่ละ test preparation ฉีดเข้าไปในแต่ละเปลาะของลำไส้ในกระต่ายแต่ละตัวตามแผนภูมิที่กำหนดไว้ รวมทั้งการสลับเปลาะลำไส้ฉีด positive และ negative control ด้วย เมื่อฉีด test preparations แล้วทำการเย็บปิดหน้าท้องเลี้ยงกระต่ายไว้ต่อไปอีก 24 ชม. โดยไม่ให้น้ำและอาหาร หลังจากนั้นจึงนำมาเปิดผ่าตรวจสภาพการก่อโรคของ test preparations ที่ลำไส้เล็กเปลาะต่าง ๆ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาด้วย กระต่ายที่ตายก่อนการอ่านผล (24 ชม. หลังการฉีด test preparations) จะไม่นำมาวิเคราะห์ผล

ผลการทดลอง

กระต่ายหมายเลข 1 ตายก่อนการอ่านผลจึงเหลือกระต่ายที่ใช้อ่านผลจำนวน 7 ตัว พบว่าเชื้อ A. hydrophila strain F–551 และ F–588 ที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ทั้ง cell–free toxin และ cell suspensions ของทั้งสองสเตรน

ก่อโรคชัดเจนที่ลำไส้เล็กส่วนปลายของกระต่าย (positive ileal-loop reactivity) โดยทำให้ลำไส้เล็กเปลาะนั้น ๆ แสดงการอักเสบรุนแรงและโป่งพองด้วย content ภายใน บางเปลาะพบลักษณะเลือดออก (hemorrhage) และหย่อมเนื้อตาย (necrosis) ด้วย (ภาพที่ 1) ลักษณะการก่อโรคเช่นนี้เหมือนกับลักษณะการก่อโรคของเชื้ออหิวาต์ที่ใช้ควบคุมการอ่านผลทุกประการผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของลำไส้เปลาะที่มีปฏิกิริยาก่อโรคไม่ว่าจะเกิดจาก cell-free toxin หรือ cell suspensions จะพบการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกัน โดยทุกเปลาะของลำไส้จะมี edema ของชั้น submucosa และมี neutrophil infiltration ในผนังทุกชั้นของลำไส้เปลาะที่มีการอักเสบ (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ลำไส้เปลาะที่เห็นลักษณะ hemorrhage และ necrosis ด้วยตาเปล่านั้นจะพบลักษณะของ hemorrhage และ necrosis ทั้งที่ชั้น mucosa, submucosa และ serosa (ภาพที่ 3)

ส่วน cell-free toxin และ cell suspensions ของเชื้อทั้งสองสเตรนเมื่อนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที จะไม่มีปฏิกิริยาก่อโรคที่ลำไส้ในทุกเปลาะที่ฉีด ผลการเกิด reactivity ต่อจำนวนเปลาะของลำไส้กระต่ายที่ฉีด test preparations reactivity แต่ละชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายของเชื้อ A. hydrophila

Inoculum	No. of Reactivity/No. of Tests.
A. hydrophila, cell-free toxin	3/3
A. hydrophila, cell-free toxin (boiled)	0/4
A. hydrophila, cell-suspension	2/4
A. hydrophila, cell-suspension (boiled)	0/2
V. cholera (Positive Control)	6/7

วิจารณ์

ความสามารถในการก่อโรคที่ลำไส้ (enteropathogenicity) ของเชื้อ A. hydrophila นั้น Sanyal และคณะ (1975) รายงานว่าเชื้อ A. hydrophila ที่แยกได้จากอุจจาระผู้ป่วย 12 สเตรน จาก 14 สเตรน ให้ปฏิกิริยาก่อโรคที่ลำไส้เล็กกระต่าย สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อ A. hydrophila ที่แยกได้จากแผลปลาช่อนทั้งสองสเตรนให้ปฏิกิริยาก่อโรคที่ลำไส้เล็กกระต่ายโดย cell-free toxin ให้ปฏิกิริยาก่อโรคอย่างรุนแรงในกระต่ายทั้งสามตัว (กระต่ายหมายเลข 2, 6 และ 7) ส่วน cell-free toxin จากเชื้อ A. hydrophila ทั้งสองสเตรนเมื่อนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที ไม่ให้ปฏิกิริยาก่อโรคที่ลำไส้เล็กกระต่ายในกระต่ายทดลองทั้งสามตัว (กระต่ายหมายเลข 2, 6 และ 7)

สำหรับ cell suspensions นั้น Sanyal et al (1975) รายงานว่า gut reaction สามารถทำให้เกิดขึ้นได้เมื่อใช้ viable cells เพียง 10^4 cells แต่จากการทดลองครั้งนี้พบว่า cells suspensions ของเชื้อทั้งสองสเตรนที่ฉีดเข้าไปในเปลาะลำไส้กระต่าย 4 ตัว (กระต่ายหมายเลข 3, 4, 5 และ 8) โดยใช้ viable-cells จำนวนถึง 5×10^8 cells/ml. มีอัตราการก่อโรคต่ำกว่า cell-free toxin โดยไม่พบ reactivity ที่เปลาะของลำไส้ในกระต่าย 2 ใน 4 ตัว (กระต่ายหมายเลข 4 และ 8) ทำให้จำนวนเปลาะลำไส้ที่แสดง reactivity ต่อจำนวนเปลาะลำไส้ที่ทดสอบต่ำลงชัดเจน (ตารางที่ 1)

สรุป

ผลจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า

1. เชื้อ A. hydrophila ที่แยกได้จากแผลของปลาช่อนทั้งสเตรน F-551 และ F-588 มี toxin ที่ก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายได้อย่างรุนแรง

2. Cell suspensions ของเชื้อ A. hydrophila ทั้งสองสเตรนในจำนวน 5×10^8 cells/ml. ทำให้เกิดการก่อโรคที่ลำไส้กระต่ายได้

3. Toxin และ cell suspensions ของเชื้อ A. hydrophila ทั้งสองสเตรนเมื่อนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ไม่สามารถก่อโรคที่ลำไส้กระต่าย ซึ่งแสดงถึงความไม่คงทนต่อความร้อนของทั้ง toxin และตัวเชื้อ A. hydrophila ที่ความร้อนระดับนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข (2526) : สรุปรายงานเรื่องโรคระบาดปลามาสู่คน ฉบับที่ 3 2526.

2. เกรียงศักดิ์ พูนสุข (2526) รศ.น.สพ. หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ติดต่อส่วนตัว.

3. สมใจ เหรียญประยูร (2526) ผศ.พญ., ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ติดต่อส่วนตัว.

4. Bulger, R.J. and Sherris, J.C. (1966). The clinical significance of Aeromonas hydrophila. Report of two cases. Arch. Intern. Med. 118 : 562–564.

5. Formal, S–B. ; Kundel, D ; Schneider, H ; Kunev, N. and Sprinz. H. (1961). Studies with Vibrio cholera in the ligated loop of the rabbit intestine. Brit. J. Exp. Pathol. 42 : 504–510.

6. Lautrop, H. (1961). Aeromonas hydrophila isolated from human faeces and its possible pathological significance. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 51 (Supple. 114) : 299–301.

7. Ljungh, A. ; Popoff, M. and Wadstrom, T. (1977). Aeromonas hydrophila in acute disarrhoeal disease : Detection of enterotoxin and biotyping of strains. J. Clin. Microbiol. 6 : 96–100.

8. Rosner, R. (1964). Aeromonas hydrophila as the etiologic agent in a case of severe gastro-enteritis. Amer. J. Clin. Path. 42 : 402-404.

9. Sanyal, S.C.; Singh, S.L. and Sen, P.C. (1975). Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas shigelloides. J. Med. Microbiol. 8 : 195-198.

10. Shilkin, K. B.; Annear, D. I. and Rowett, L. R. (1968). Infection due to Aeromonas hydrophila. Med. J. Aust. 1 : 351-353.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ ไอโอดีน ต่อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

*อรุณศรี เตชัสหงษ์
**เกรียงศักดิ์ สายธนู

*ภาควิชาพยาบาลศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
**หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ผลจากการศึกษาประสิทธิภาพของ ไอโอดีน ในการฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า พบว่าจากการทดลองในสภาพสะอาด (น้ำบริสุทธิ์) ไอโอดีนความเข้มข้น 25, 12.5 และ 6.25 ppm สามารถฆ่าเชื้อจำนวน 2×10^7 เซลล์/มล. ได้หมดภายใน 1 นาที ความเข้มข้น 1 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อได้ 4 log unit ภายใน 1 นาที สำหรับที่ความเข้มข้น 0.1 ppm ไอโอดีนจะไม่ทำลายเชื้อเลย

จากการทดลองในสภาพสกปรก (น้ำจากบ่อเลี้ยงปลาช่อน) ไอโอดีนความเข้มข้น 25, 12.5, 10 และ 8 ppm สามารถฆ่าเชื้อจำนวน 4×10^7 เซลล์/มล. ได้หมดภายใน 1 นาที แต่ความเข้มข้น 6.25, 1 และ 0.1 จะไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้เลย ยกเว้น 6.25 ppm ที่ไอโอดีน ลดจำนวนเชื้อลงได้ประมาณ 1 log unit ภายใน 1 นาที และหลังจากนั้นจำนวนเชื้อจะคงที่

The Inactivation of *Aeromonas hydrophila* by Iodine

* *Arunsri Tachushong*
** *Kriengsak Saitanu*
* *Nursing Department, Ramathibodi Hospital, Mahidol University.*
** *Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinaly Science, Chulalongkorn University.*

Abstract

A study on the rate of bactericidal by iodine of *Aeromonas hydrophila* was carried out using different concentrations, at pH 7 under and dirty condition. Under clean condition, iodine at concentration 25, 12,5 and 6.25 ppm could killed 2×10^7 cells/ml of *A. hydrophila* within 1 minute. However, 1 ppm of iodine reduced the titer of bacteria by 4 log unit in 1 min. The lowest concentration tested, 0.1 ppm could not killed the organisms.

Under dirty condition, it was found that 25, 12.5, 10 and 8 ppm could killed 4×10^7 cells/ml of organisms with in 1 minute. But the lower concentrations, 6.25, 1 and 0.1 ppm could not reduced the number of tested bacteria, except only 6.25 ppm reduced the titer of bacteria by 1 log unit in 1 minutes.

บทนำ

ไอโอดีน เป็นสารพวก Halogen ที่เป็นสารแข็งสามารถกลายเป็นไอระเหยได้โดยไม่ต้องกลายเป็นของเหลวก่อน ไอโอดีน เป็นยาฆ่าเชื้อที่สามารถทำลายเชื้อ แบคทีเรีย ไวรัส ราและโปรโตซัว Knaysi (1932) และ Gershenfeld et al (1954) ได้รายงานว่า ไอโอดีน 1 : 5,000 และ 0.0025 % สามารถฆ่าเชื้อวัณโรคได้ในเวลา 15 นาที และภายในครึ่งนาทีตามลำดับ การใช้ไอโอดีน เพื่อฆ่าเชื้อกระทำกันอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้ฆ่าเชื้อบาดแผล แช่เครื่องมือการแพทย์ หรือแม้กระทั่งผสมน้ำดื่ม สำหรับในสระว่ายน้ำก็มีผู้รายงานว่า ปริมาณ ไอโอดีน

0.2 ppm ก็เพียงพอที่จะควบคุมปริมาณของแบคทีเรียได้อย่างดี ในปี 1962 The United States Public Health Service ได้ประกาศว่าการใช้ ไอโอดีน ในสระว่ายน้ำ จะต้องไม่เกิน 5 ppm (Block 1977)

สำหรับการใช้ ไอโอดีน ในบ่อเลี้ยงปลาเพื่อจุดประสงค์ควบคุมปริมาณและฆ่าเชื้อบางชนิด ยังไม่มีรายงานโดยเฉพาะการใช้เพื่อฆ่าเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* โดยทั่วๆ ไปแล้วการใช้ ไอโอดีน ในกิจกรรมเกี่ยวกับสัตว์น้ำมักจะใช้แบบ Short bath เช่นใช้ 50–200 ppm นาน 10–15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อโรคที่เกาะติดไข่ปลา เป็นต้น (Herwinet al 1979) เนื่องจาก ในปี 2525–2526 ได้เกิดโรคระบาดในปลาน้ำจืดทั่วไป สาเหตุจากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ดังนั้นการที่จะควบคุมโรคระบาดได้จะต้องใช้ยาและสารเคมีหลายชนิดประกอบกันเพื่อยับยั้งการระบาดของโรค ด้วยเหตุนี้เองจุดประสงค์ของรายงานฉบับนี้ก็เพื่อจะศึกษาว่าการใช้ ไอโอดีน เพื่อทำลายเชื้อ จะต้องใช้ความเข้มข้นเท่าไร นอกจากนี้ยังต้องการศึกษาว่าสภาพของน้ำที่สะอาดปราศจากสารอินทรีย์และน้ำจากบ่อเลี้ยงปลาจะลดประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้หรือไม่

วัสดุและวิธีการ

เชื้อ เชื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เสตรน* F–588 ซึ่งแยกได้จากแผลของปลาช่อนป่วยเป็นโรคแผล ก่อนการทดลองเตรียม suspension ของเชื้อด้วยน้ำเกลือปกติและปรับความขุ่นของเชื้อให้มี OD=0.45 ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ Wave length 525 nm แล้วเจือจาง suspension ของเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วให้เป็น 1:100 ด้วยน้ำเกลือ suspension นี้จะมีปริมาณของเชื้อประมาณ 10^{6}–10^{7} เซลล์/มล.

น้ำสกปรก

เป็นน้ำที่เก็บจากบ่อเลี้ยงปลาช่อนแห่งหนึ่งใน จังหวัดสุพรรณบุรี ฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ความร้อน 121°ซ. นาน 15 นาที วัดความขุ่นด้วยเครื่อง

Spectrophotometer โดยเปรียบเทียบกับน้ำบริสุทธิ์ ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้างบน ปรากฏว่าน้ำนั้นมี OD = 0.34 เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 5°ซ. ก่อนการทดลองปรับ pH ให้เป็น 7

สารละลาย ไอโอดีน

เตรียม Stock solution ของไอโอดีน ให้มีความเข้มข้น 5% (W/V) หรือ 50,000 ppm ดังนี้คือ

ไอโอดีน	5	กรัม
โปรแตสเซี่ยมไอโอไดด์	10	กรัม
น้ำบริสุทธิ์ที่ฆ่าเชื้อแล้ว	100	มล.

ละลายโปแตสเซี่ยม ไอโอไดด์ ในน้ำ 10 ซีซี เสร็จแล้วจึงเติมไอโอดีนลงไปเขย่าให้ละลาย เติมน้ำให้ครบ 100 มล. เก็บไว้ในหลอดแก้วฝาเกลียว และก่อนใช้เจือจางให้เป็น 250, 125, 100, 80, 62.5, 10 และ 1 ppm

วิธีการทดลอง

การทดลองในน้ำสะอาด (น้ำบริสุทธิ์)

ความเข้มข้นของ ไอโอดีน ที่ใช้ทดลอง คือ 25, 12.5,6.25, 1 และ 0.1 ppm ที่อุณหภูมิ 25° ± 1° ซ. (ห้องปรับอากาศ)

ใช้ไปเปต 2 มล. ดูดเชื้อที่เตรียมไว้ 2 มล. ใส่ลงไปในน้ำบริสุทธิ์ที่ปรับ pH เป็นจำนวน 16 มล. เติมสารละลายไอโอดีน 250 ppm ลงไป 2 มล. ความเข้มข้นของไอโอดีน จะเป็น 25 ppm เขย่าให้เข้ากันดีทิ้งไว้นาน 1,5,15,30, 60 และ 120 นาที ในห้องทดลองอุณหภูมิ 25° ± 1°ซ. หลังจากที่เชื้อสัมผัสกับไอโอดีน ตามเวลาที่กำหนดไว้ข้างบนใช้ไปเปต 1 มล. ดูดส่วนผสมออกมาครั้งละ 1 มล. ทำ 10 fold dilution ด้วยน้ำเกลือทำ dilution จนถึง 10^{-6}

ตรวจนับเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่โดยใช้วิธี pour plate method โดยเริ่มนับเชื้อจาก 10^{0} จนถึง 10^{-6} ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) นำไปเพาะไว้ในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 30°ซ. นาน 18–24 ชม. นับจำนวนโคโลนีและคำนวณหาปริมาณของเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่เป็น เซลล์/มล.

สำหรับการทดลอง ไอโอดีน ความเข้มข้น 12.5, 6.25, 1 และ 0.1 ppm จะปฏิบัติเช่นเดียวกับข้างบนทุกประการยกเว้นจะใช้สารละลายไอโอดีนกับความเข้มข้น 12.5, 62.5, 10 และ 1 ppm แทน 250 ppm เพื่อเติมให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการตามลำดับ

การทำ Control เชื้อในน้ำบริสุทธิ์

ใช้ไปเปต 1 มล. ดูดเชื้อที่เตรียมไว้มา 1 มล. ใส่ลงไปในน้ำบริสุทธิ์ pH 7 จำนวน 9 มล. นับจำนวนเชื้อทุกระยะเหมือนข้างบน แต่การนับจะกระทำตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6}

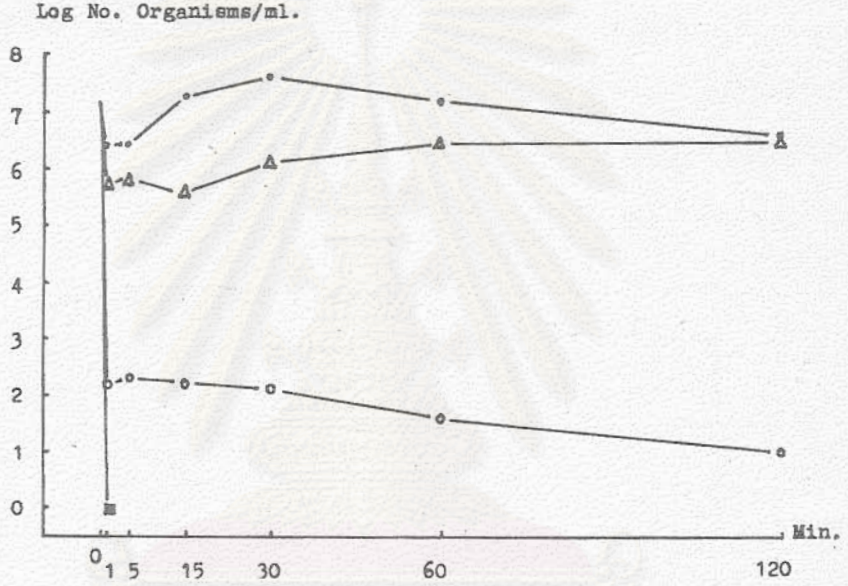
การทดลองในน้ำสกปรก (น้ำจากบ่อเลี้ยงปลาช่อน)

ความเข้มข้นของสารละลายไอโอดีน ที่ใช้ทดลอง คือ 25, 12.5, 10,8, 6.25, 1 และ 0.1 ppm จะปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองไอโอดีนในน้ำบริสุทธิ์ทุกประการ

ผลการทดลอง

ในสภาพสะอาด ไอโอดีนความเข้มข้น 25,12.5, และ 6.25 ppm สามารถทำลายเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จำนวน 10^{6}–10^{7} เซลล์/มล. ได้หมดภายใน 1 นาที ไอโอดีนความเข้มข้น 1 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อลงเหลือ 2×10^{2} เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที หลังจากนั้นจนถึง 120 นาที ยังคงเหลือเชื้ออยู่ 5×10^{2}, 2×10^{2}, 1×10^{2}, 6×10 และ 10 เซลล์/มล. ภายใน 5,15,

30,60 และ 120 นาที ตามลำดับ และไอโอดีนความเข้มข้น 0.1 ppm สามารถทำลายเชื้อนี้ลงเหลือ 7×10^{5} เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที หลังจากนั้นยังคงเหลือเชื้ออยู่ 8×10^{5}, 6×10^{5}, 1×10^{6}, และ 5×10^{6} เซลล์/มล. ภายใน 5, 15,60 และ 120 นาที ตามลำดับ (รูปที่ 1)



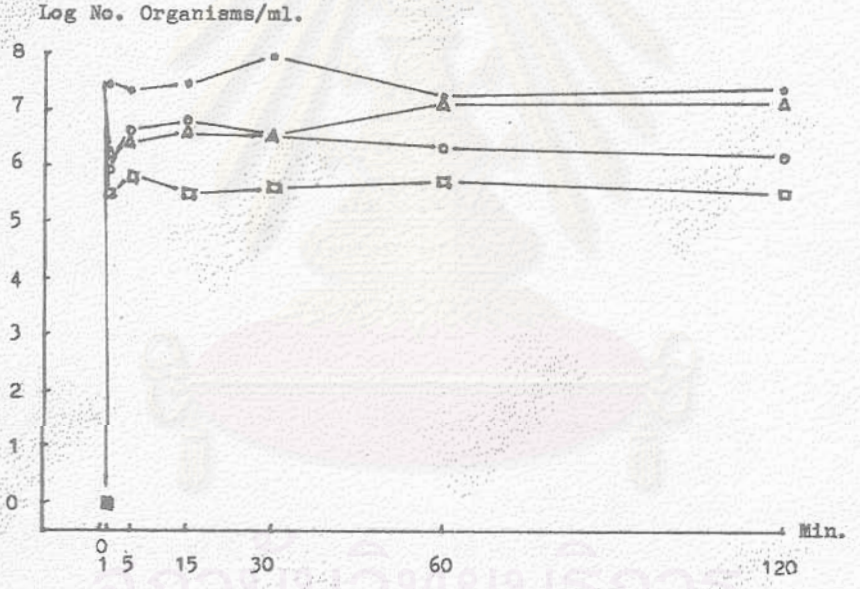
รูปที่ 1 ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของไอโอดีนต่อเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่าในสภาพน้ำสะอาด pH 7

● ——— ● Control, ○ ——— ○ 1 ppm,

△ ——— △ 0.1 ppm, ■ ——— ■ 25,12.5 และ 6.25 ppm

ในสภาพสกปรก ไอโอดีน ความเข้มข้น 25 และ 12.5 ppm สามารถทำลายเชื้อ*แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* จำนวน 10^{6}–10^{7} เซลล์/มล. ได้หมดภายในเวลา 1 นาที และไอโอดีนความเข้มข้น 10 ppm และ 8 ppm สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายในเวลา 1 นาที เช่นเดียวกัน แต่ถ้าความเข้มข้นของ

ไอโอดีนลดลงเหลือ 6.25,1 และ 0.1 แล้ว พบว่าไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมด ภายใน 120 นาที โดยที่ไอโอดีน ความเข้มข้น 6.25 ppm สามารถทำลายเชื้อนี้ลงเหลือ 5×10^{5} เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที หลังจากนั้นจนถึง 120 นาทีเชื้อยังคงเหลืออยู่ 8×10^{5}, 5×10^{5}, 6×10^{5}, และ 5×10^{5} เซลล์/มล. ภายใน 5,15,50,60 และ 120 นาทีตามลำดับ ไอโอดีนความเข้มข้น 1 และ 0.1 ppm ไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้เลยภายในเวลา 120 นาที โดยจำนวนเชื้อที่นับได้ยังคงมีจำนวนใกล้เคียงกับ control คือ ประมาณ $10^{6}-10^{7}$ เซลล์/มล. (รูปที่ 2).



รูปที่ 2 ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของไอโอดีน ต่อเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในสภาพน้ำสกปรก p H 7

● ——— ● Control, △ ——— △ 0.1 ppm,

○ ——— ○ 1 ppm, □ ——— □ 6.25 ppm,

■ ——— ■ 25, 12.5, 10 และ 8 ppm

วิจารณ์

ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าคุณภาพน้ำจะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า โดยจะเห็นว่าในสภาพน้ำสะอาด ไอโอดีนความเข้ม 1 ppm. ขึ้นไปสามารถฆ่าเชื้อนี้ได้ แต่ในสภาพน้ำสกปรกความเข้มข้นที่จะฆ่าเชื้อนี้ได้คือตั้งแต่ 8 ppm. ขึ้นไป ปกติแล้วการใช้ ไอโอดีนในปลามักจะใช้กันน้อยมากเช่นทาแผล หรือแช่ระยะสั้น เช่น 100 ppm. แช่นาน 10 นาทีในตู้เลี้ยงปลา เป็นต้น ส่วนการใช้ในบ่อเลี้ยงปลาขนาดใหญ่ เช่น พื้นที่ครึ่งถึงหนึ่งไร่ยังไม่ควรทดลองใช้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากจะต้องใช้ไอโอดีนจำนวนมาก ซึ่งเมื่อคิดค่าใช้จ่ายแล้วจะตกประมาณหนึ่งหมื่นบาทต่อบ่อหนึ่งไร่ และผลได้ที่ตามมาก็ไม่แน่นอนทั้งนี้เพราะว่าเชื้อที่อยู่ในดินจะไม่ถูกทำลาย และก็จะเจริญเติบโตต่อไป แต่อย่างไรก็ตามน่าจะมีการทดลองใช้ในสภาพบ่อปลา ว่าหลังจากการใช้ไอโอดีนแล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นอย่างไรเพราะในกรณีที่ว่าเป็นจริง ๆ อาจนำไอโอดีนมาใช้ได้ และนอกจากนี้ควรมีการวิจัยประสิทธิภาพของยาต่อเชื้อชนิดอื่นที่มีราคาถูกและไม่มีความเป็นพิษต่อปลาหรือถ้ามีความเป็นพิษต่อปลาก็ควรจะอยู่ในระดับสูงกว่า bactericidal level มาก ๆ และนอกจากนี้สารเคมีหรือยาฆ่าเชื้อนั้นก็ไม่ควรจะมีผลตกค้างที่อาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

1. Block, S.S. 1977. Disinfection, Sterilization and Preservation. 2nd. edition. Henry Kimpton Publishers, London, Great Britain.
2. Gershenfeld, L., W.B. Flagg and B. Witlin. 1954. Iodine as a Tuberculocidal Agent. Milit Surg. 114,172–183.
3. Herwing, N. 1979. Handbook of drugs and Chemicals used in the treatment of fish diseases. Charles C. Thomas Publisher, Springfield U.S.A.
4. Knaysi, G. 1943. The Toxicity of Iodine for the Cells of Mycobac terium tuberculosis. I. Inf. Dis 50,255–260.

ประสิทธิภาพของด่างทับทิม ในการฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

*อรุณศรี เตชัสหงษ์
**เกรียงศักดิ์ สายธนู

*ภาควิชาพยาบาลศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
**หน่วยจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ด่างทับทิมความเข้มข้น 5 ppm. ในสภาพน้ำสกปรก (น้ำจากบ่อเลี้ยงปลา) ไม่สามารถฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า สำหรับที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ppm. จะฆ่าเชื้อจำนวน 6×10^5 เซลล์/มล. ได้หมดภายใน 15 นาที และ 5 นาทีตามลำดับ และจะฆ่าเชื้อจำนวนนี้ได้ภายใน 1 นาที เมื่อความเข้มข้นของด่างทับทิมเป็น 1,000 ppm. สำหรับประสิทธิภาพของด่างทับทิมในสภาพน้ำสะอาด (น้ำบริสุทธิ์) ความเข้มข้น 2.5 ppm. ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ ความเข้มข้น 5 ppm. จะฆ่าเชื้อจำนวนดังกล่าวได้หมดภายใน 120 นาที และที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ppm. จะฆ่าเชื้อได้หมดภายใน 15 และ 1 นาที ตามลำดับ

The Inactivation of *Aeromonas hydrophila* by Potassium Permanganate

* *Arunsri Tachushong*
** *Kriengsak Saitanu*

* *Nursing Department, Ramathibodi Hospital, Mahidol University.*
** *Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.*

Abstract

The inactivation of *Aeromonas hydrophila* by potassium permanganate was studies using different concentration, at pH 7 under clean (purified water) and dirty (water from a fish pond) condition. Under clean condition, 2.5 ppm. of potassium permanganate could not kill the organism. However, at 5, 50 and 100 ppm. of potassium permangante inactivated 6×10^6 cells/ml. of *Aeromonas hydrophila* within 120, 15 and 1 minutes respectively. Under dirty condition, 5 ppm. of potassium permanganate could not kill the tested organism. The bactericidal activity of potassium permanganate was observed at the higher concentration. The exposing time for killing 6×10^6 cells/ml. of *A. hydrophila* were 15 and 5 minutes for 50 and 100 ppm. 1 minute for 1,000 ppm.

คำนำ

ด่างทับทิม (Potassium permanganate) เป็นสารเคมีลักษณะเป็นผลึกสีม่วงมีเหลือบ เมื่อละลายในน้ำจะให้สีชมพูถึงสีม่วง ทั้งนี้แล้วแต่ความเข้มข้น ด่างทับทิมเป็น oxidising, astrogen และสามารถฆ่าจุลชีพ เช่น ไวรัส และแบคทีเรียได้ แต่คุณสมบัติดังกล่าวจะลดลงเมื่อสัมผัสกับสารเคมีบางชนิด เช่น bro-

mides, iodies เกลือของ mercurous ด่านและสารอินทรีย์ เป็นต้น (Wade 1977, DiPalma 1965, Windholz 1976.) ด่างทับทิมมีผู้นิยมใช้ในการทำความสะอาดผักก่อนบริโภคและใช้ล้างแผลมีวัตถุประสงค์เพื่อฆ่าเชื้อโรค สำหรับการใช้ด่างทับทิมในวงการเลี้ยงสัตว์น้ำมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดพยาธิภายนอก เชื้อรา โปรโตซัวและแบคทีเรียตามผิวหนัง (Herwing 1979) การใช้ด่างทับทิมในปลาต้องกระทำด้วยความระมัดระวัง ทั้งนี้เพื่อไม่ให้เกิดผลเสียโดยเฉพาะความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันต่อปลา

เนื่องจากประสิทธิภาพของด่างทับทิมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นที่ใช้ และการที่มีสารอินทรีย์ปะปนอยู่ในน้ำที่จะใช้ เป็นต้น จุดประสงค์ของรายงานฉบับนี้จึงต้องการที่จะศึกษาว่าด่างทับทิมความเข้มข้นเท่าใดจึงจะสามารถฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน คือ ในน้ำสกปรก (น้ำจากบ่อเลี้ยง) และในน้ำสะอาด (น้ำบริสุทธิ์)

วัสดุและวิธีการ

เชื้อที่ใช้ในการวิจัย

เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า (*Aeromonas hydrophila*) เสตรน F–588 เป็นเชื้อที่แยกได้จากแผลของปลาช่อนป่วยเป็นแผล เชื้อนี้เก็บไว้ใน Sugar free agar ในหลอดแก้วปิดฝาสนิทด้วยจุกไม้ก๊อกฉาบพาราฟินแข็ง ก่อนการทดลองจะเพาะเชื้อดังกล่าวบน Blood agar นานประมาณ 18 ชม. ในตู้เพาะเชื้อ 30° ซ. แล้วเตรียม suspension ของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 % (W/V) โดยปรับความขุ่นของเชื้อให้มี OD = 0.45 ที่ Wave length 525 nm. ด้วยเครื่อง Spectrophotometer แล้วเจือจาง suspension ของเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วลง 1 : 100 ด้วยน้ำเกลือ suspension นี้จะมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^6–10^7 เซลล์/มล. สำหรับการทำ suspension ของเชื้อจะต้องเตรียมจาก fresh culture ทุกครั้ง

น้ำสกปรก

เป็นน้ำที่เก็บจากบ่อเลี้ยงปลาช่อนแห่งหนึ่งในจังหวัดสุพรรณบุรี นำมาทำการฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ความร้อน 121°ซ. นาน 15 นาที วัดความขุ่นโดยเปรียบเทียบกับน้ำบริสุทธิ์โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการเตรียม suspension ของเชื้อ ปรากฏว่าน้ำที่มี OD = 0.34 แบ่งเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5°ซ. และใช้ตลอดการทดลอง ก่อนใช้ปรับ pH ให้เป็น 7 น้ำบริสุทธิ์ที่กรองด้วยเครื่องกรองเป็นน้ำฆ่าเชื้อแล้วและปรับ pH ให้เป็น 7

ด่างทับทิม

เป็นสารเคมีขององค์การเภสัชกรรม กระทรวงสาธารณสุข เตรียมให้มีความเข้มข้น 10,000 ppm. ดังนี้คือ ละลายด่างทับทิม 1 กรัมในน้ำบริสุทธิ์ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 100 มล. จาก stock solution นี้นำมาเจือจางในน้ำบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้น 1,000, 500, 50 และ 25 ppm. เก็บไว้ในหลอดแก้วปิดฝาเกลียว

วิธีการทดลอง

การทดลองในน้ำสะอาด (น้ำบริสุทธิ์) ความเข้มข้นของด่างทับทิมที่ใช้ทดสอบคือ 100, 50, 5 และ 2.5 ppm. ใช้ไปเปต 2 มล. ดูดเชื้อที่เตรียมไว้ 2 มล. ใส่ลงไปในน้ำบริสุทธิ์ที่ปรับ pH เป็น 7 จำนวน 16 มล. เติมด่างทับทิมความเข้มข้น 1,000 ppm. ลงไป 2 มล. ความเข้มข้นของด่างทับทิมจะเป็น 100 ppm แบ่งให้เข้ากันดีด้วยเครื่อง vortex mixer หลังจากที่เชื้อสัมผัสกับยาฆ่าเชื้อนาน 1, 5, 15, 30, 60 และ 120 นาที ในห้องทดลองอุณหภูมิ 25 ± 1°ซ. ใช้ไปเปต 1 มล. ดูดส่วนผสมออกมาครั้งละ 1 มล. ทำ 10 fold dilution ด้วยน้ำเกลือ ทำ dilution จนถึง 10^{-6} ตรวจนับเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่ด้วยวิธี pour plate method โดยนับเชื้อจาก stock mixer จนถึง 10^{-6} อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate

count agar (PCA) นำไปเพาะไว้ในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 30°ซ. นาน 18–24 ชม. นับจำนวน โคโลนีแล้วคำนวณหาปริมาณของเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่

สำหรับการทดลองที่ความเข้มข้น 50, 5 และ 2.5 ppm. จะปฏิบัติเช่นเดียวกันกับข้างบนทุกประการยกเว้นจะใช้ด่างทับทิมความเข้มข้น 500, 50 และ 25 ppm. แทน 1,000 ppm. เมื่อเติมให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการตามลำดับ

การทำ Control เชื้อในน้ำสะอาด

ใช้ไปเปต 1 มล. ดูดเชื้อที่เตรียมไว้มา 1 มล. ใส่ไปในน้ำบริสุทธิ์ pH 7 จำนวน 9 มล. แล้วนับจำนวนเชื้อทุกระยะเวลาเหมือนข้างบนแต่การนับจะทำตั้งแต่ dilution 10^{-1} ถึง 10^{-6}

การทดลองในน้ำสกปรก (น้ำจากบ่อเลี้ยงปลาช่อน) ความเข้มข้นของด่างทับทิมที่ใช้ในการทดสอบ คือ 1,000, 100, 50 และ 5 ppm.

ทำการทดสอบโดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองในสภาพสะอาดทุกประการยกเว้นใช้น้ำจากบ่อเลี้ยงปลาช่อนที่ปรับ pH เป็น 7 และฆ่าเชื้อแล้วแทนน้ำกลั่น ด่างทับทิมที่จะเติมลงไปให้ใช้ความเข้มข้นตามที่ต้องการจะทดลอง คือ 10,000, 1,000, 100 และ 50 ppm. ตามลำดับ

ผลการทดลอง

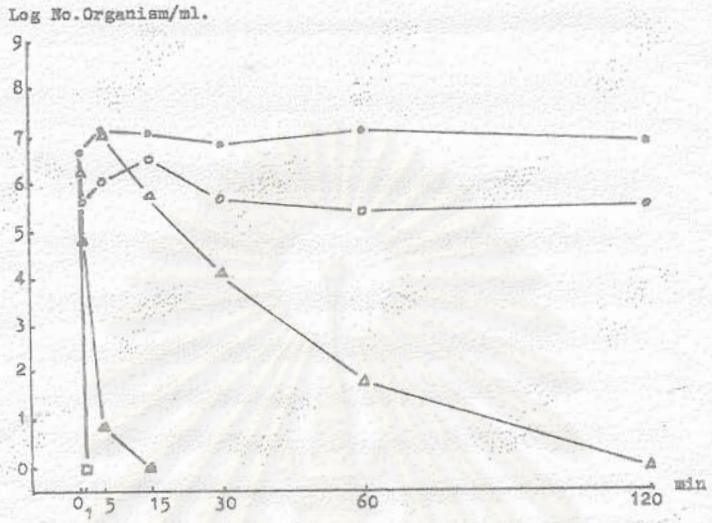
ในสภาพสะอาดด่างทับทิมความเข้มข้น 100 ppm. สามารถทำลายเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จำนวน 10^{6}–10^{7} เซลล์/มล. ได้หมดภายใน 1 นาที ด่างทับทิมความเข้มข้น 50 ppm. สามารถทำลายเชื้อนี้ลงเหลือ 8×10^{4} และ 9×10 เซลล์/มล. ภายใน 1 และ 5 นาที ตามลำดับและสามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายใน 15 นาที ส่วนด่างทับทิมความเข้มข้น 5 ppm. สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายใน 120 นาที โดยสามารถทำลายเชื้อนี้ลงเหลือ 3×10^{6},

1×10^7, 7×10^5, 1×10^4 และ 8 × 10 เซลล์/มล. ภายใน 1, 5, 15, 50 และ 60 นาที ตามลำดับแต่ด่างทับทิมความเข้มข้น 2.5 ppm. ไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายใน 120 นาที โดยสามารถทำลายเชื้อคงเหลือ 6×10^5 เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที แต่หลังจากนั้นจนถึง 120 นาที ยังคงเหลือเชื้ออยู่ 1×10^6, 5×10^6, 6×10^5, 4×10^5 และ 5×10^5 เซลล์/มล. ภายใน 5, 15, 30, 60 และ 120 นาทีตามลำดับ (รูปที่ 1)

ในสภาพสกปรก ด่างทับทิมความเข้มข้น 1,000 ppm. สามารถทำลายเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า จำนวน 10^6–10^7 เซลล์/มล. ได้หมดภายใน 1 นาที ด่างทับทิมที่ความเข้มข้น 100 ppm. สามารถทำลายเชื้อนี้ลงเหลือ 2 เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที และสามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายใน 5 นาที และด่างทับทิมความเข้มข้น 50 ppm. สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายใน 5 นาที โดยสามารถทำลายเชื้อลงเหลือ 1×10^3 และ 10 เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที และ 5 นาที ตามลำดับแต่ด่างทับทิมความเข้มข้น 5 ppm. ไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมดภายใน 120 นาที โดยสามารถทำลายเชื้อลงเหลือ 3×10^5 เซลล์/มล. ภายใน 1 นาที แต่หลังจากนั้นจนถึง 120 นาที ยังคงเหลือเชื้ออยู่ 5×10^5, 4×10^5, 6×10^5, 4×10^5 และ 6×10^5 เซลล์/มล. ภายใน 5,15,30,60 และ 120 นาที ตามลำดับ (รูปที่ 2)

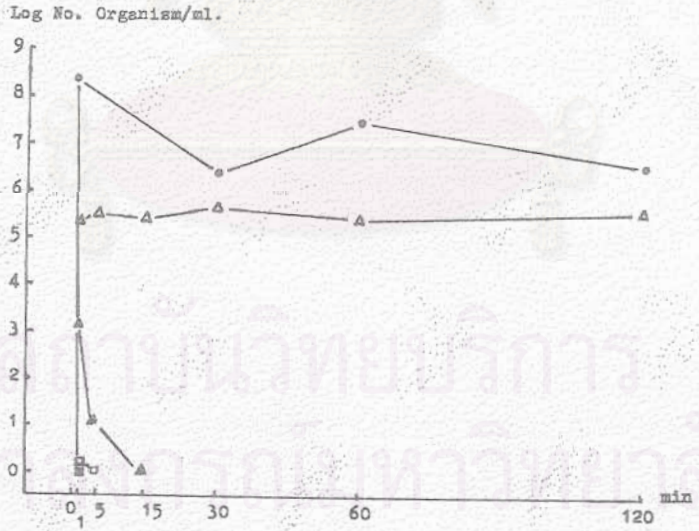
วิจารณ์

ผลจากการทดลองปรากฏว่าในสภาพน้ำสกปรกความเข้มข้น 5 ppm. ของด่างทับทิม ไม่สามารถฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ได้ แต่จะทำลายเชื้อนี้ได้หมดในน้ำสะอาดภายใน 120 นาที โดยในน้ำสะอาดด่างทับทิม 5 ppm. จะลดจำนวนเชื้อได้จาก 3×10^6 ลงเหลือ 3 × 10 เซลล์/มล. ภายใน 60 นาที เพราะฉะนั้นถ้าต้องการจะฆ่าเชื้อในบ่อเลี้ยงปลาจะต้องเพิ่มความเข้มข้นให้สูงกว่า



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ของด่างทับทิมในสภาพสะอาด pH 7

● ——— ● Control, ○ ——— ○ 2.5 ppm,
△ ——— △ 5 ppm, ▲ ——— ▲ 50 ppm, □ ——— □ 100 ppm



รูปที่ 2 ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ของด่างทับทิมในสภาพสกปรก pH 7

● ——— ● Control, △ ——— △ 5 ppm,
▲ ——— ▲ 50 ppm, □ ——— □ 100 ppm, ■ ——— ■ 1,000 ppm

5 ppm. หรือจะต้องทำน้ำให้ปราศจากสารอินทรีย์เสียก่อนในกรณีที่ไม่สามารถใช้ด่างทับทิมให้มีความเข้มข้นกว่านี้ทั้งนี้เพราะถ้าใช้ด่างทับทิมมากเกินไปก็จะเป็นพิษต่อปลาได้ Herwing, (1979) ได้รวบรวมรายงานปริมาณความเป็นพิษของด่างทับทิมในปลาต่าง ๆ ไว้ถ้ามีถึง 11.8 ppm. จะเป็นพิษต่อปลาไหล (*Anquilla sp.*) ภายใน 8 ชม. 6–10 ppm. (LC_{100}) จะเป็นพิษต่อปลาเงิน ปลาทอง (*Carassium auratus*) ภายใน 18 ชม., 3 ppm. = LC_{100} ในปลา *Lopomis macrochines*, 4 ppm. = LC_{100} ในปลา *Micropterus salmoides*, 6.25 ppm. จะเป็นพิษต่อปลาเทราส์ ภายใน 24 ชม. สำหรับในปลาดุกฝรั่ง (*Ictalurus punctatus*) ด่างทับทิม 9.1 ppm. จะไม่เป็นพิษภายใน 1 ชม. ที่ 25° ซ. 3.2 ppm. จะไม่เป็นพิษภายใน 24 ชม. ดังนั้นการใช้ด่างทับทิมในการกำจัดเชื้อโรคต่าง ๆ ในการเลี้ยงปลาต้องกระทำด้วยความระมัดระวัง ทั้งนี้เพราะว่าสภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาทั่ว ๆ ไปจะมีสารอินทรีย์มาก และจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าในสภาพน้ำของบ่อเลี้ยงปลา ความเข้มข้นของด่างทับทิมที่จะสามารถฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ได้ต้องสูงกว่า 5 ppm. ซึ่งความเข้มข้นของด่างทับทิมที่สูงกว่า 5 ppm. ก็จะสามารถทำลายปลาได้เช่นกัน ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่อาจจะสามารถนำไปประกอบคำแนะนำในการใช้ด่างทับทิมในบ่อเลี้ยงปลาควรมีการทดสอบประสิทธิภาพของด่างทับทิมให้ละเอียด คือ ระหว่าง 5 ppm.–50 ppm. โดยเฉพาะใน 5–10 ppm อย่างไรก็ตามการใช้ด่างทับทิมในระยะสั้น (Short bath) ในปลาตู้ก็สามารถกระทำให้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เพราะสามารถใช้ด่างทับทิมความเข้มข้นสูง เช่น ใช้ 20 ppm. ภายใน 1 ชม. 100 ppm. ภายใน 5–10 วินาที หรือ 5–10 ppm. ภายใน 1–2 ชม. เป็นต้น

จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ด่างทับทิมเพื่อฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในบ่อเลี้ยงปลาทั่ว ๆ ไปในความเข้มข้น 5 ppm. และต่ำกว่านี้จะไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้เลย.

เอกสารอ้างอิง

1. Di Palma, J.R. 1965 : Drill' s Pharmacology in Medicine. 3 ed. Mc. Graw-Hill Book Inc.
2. Herwing, N. 1979. Handbook of drugs and chemicals used in the treatment of fish diseases. Charles C. Thomas. Illinois U.S.A.
3. Windholz, M. 1976 : The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals and drugs. Merck & CO., Inc. Rahway, N.J. U.S.A.
4. Wade. A. 19 : Martindale. The Extra Pharmacopia. Janold and Sans Ltd. Norwich 27 ed. I Lanbeth High Sheet SE.1 England.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การใช้ด่างทับทิมในการรักษาโรคปลา

พิชัย โตวิวิชญ์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

บทความนี้ได้กล่าวถึงคุณสมบัติทางเคมี ปฏิกิริยาของด่างทับทิมที่สามารถเกิดขึ้นได้ในสภาพแตกต่างกัน และได้กล่าวถึงการใช้สารเคมีนี้ในการฆ่าเชื้อโรค การรักษาโรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่าในปลาช่อน และผลเสียเนื่องจากสารพิษที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีของด่างทับทิม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Potassium Permanganate : A Chemotherapeutant for *Aeromonas hydrophila* Infection in Snakehead Fish (*Ophicephalus striatus*)

Phichai Tovivich

Faculty of Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The article gave a brief review of the chemical properties of potassium permanganate. Several examples of the chemical reaction were clasified. The usage of potassium permanganate in *Aeromonas hydrophila* infection in snakehead fish, and its residue, the toxic substant, were discussed.

บทนำ

อนุสนธิจากข่าวเกี่ยวกับการแนะนำให้ "ใช้ด่างทับทิมเพื่อฆ่าเชื้อโรคและปรับปรุงคุณสมบัติน้ำให้ดีขึ้น ในอัตราส่วน 2–4 กรัมต่อปริมาตรน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร (หรือประมาณ 5 กิโลกรัมต่อบ่อขนาด 1 ไร่ ซึ่งมีความลึกเฉลี่ย 1 เมตร)" ในการแก้ปัญหาโรคระบาดปลาที่เกิดขึ้น ตามประกาศของกรมประมง ลงวันที่ 7 มกราคม 2526 ทำให้ผู้เขียนเกิดความฉงนสนเท่ห์เป็นอย่างมาก จึง

ได้ทำการศึกษาค้นคว้าตลอดจนสอบถามท่านผู้รู้เกี่ยวกับเรื่องนี้โดยเฉพาะ และใคร่ขอนำมาเล่าสู่กันฟังตามความรู้ที่ได้รับมาดังต่อไปนี้

หลักเกณฑ์เกี่ยวกับการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรคของสารเคมี

ตามปกติสารเคมีที่จะนำมาใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรคหรือเป็นยาแก้โรคอะไรก็ตาม มักจะต้องมีปฏิกิริยาเคมีที่พอเหมาะ[1] ไม่รุนแรงมากไป และไม่อ่อนจนเกินไป ทั้งนี้เพราะถ้าสารเคมีนั้นมีปฏิกิริยารุนแรงมากเกินไป ก็จะทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ ได้มากมายจนในที่สุดไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ตามที่ต้องการ ส่วนสารเคมีที่มีปฏิกิริยาทางเคมีอ่อนเกินไป ก็จะไม่เกิดฤทธิ์ยาเช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่าการที่ยาซึ่งที่แท้ก็เป็นสารเคมีนั่นเองจะออกฤทธิ์ยาได้ดีหรือไม่นั้น มีความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาทางเคมีอย่างใกล้ชิด

คุณสมบัติทางเคมีของด่างทับทิม

ด่างทับทิมมีชื่อทางเคมีว่า โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต (potas ium permanganate) เป็นสาร "เติมออกซิเจน" หรือออกซิไดซิงเอเจนต์ (oxidizing agent) ที่รุนแรงมาก สามารถรับอิเล็กตรอนจากสารอื่นทั้งในสภาพที่เป็นกรด เป็นด่าง หรือเป็นกลางดังนี้[2]

ในสภาพที่เป็นกรดมันจะเปลี่ยนแปลงเป็นเกลือแมงกานีสดังสมการ (1):

(1).....$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- = Mn^{2+} + 4H_2O$ $E^O = + 1.51$ V

แต่เนื่องจากเปอร์แมงกาเนต (MnO_4^-) สามารถ ออกซิไดซ์เกลือแมงกานีส (Mn^{2+}) ต่อไปได้อีก ดังสมการ (2):

(2)..... $2MnO_4^- + 3Mn^{+2} + 2H_2O = 5\ MnO_2$ (ตะกอน) $+ 4H^+$

$E^O = + 0.46$ V

เพราะฉะนั้นถ้ามีปริมาณของด่างทับทิมมาก ผลสุดท้ายที่ได้ในที่นี้ก็จะเป็นตะกอนของแมงกานีสไดออกไซด์ (MnO_2) ในสภาพที่เป็นด่างหรือเป็นกลาง เราจะได้ตะกอนของแมงกานีสไดออกไซด์เช่นเดียวกัน ดังสมการ (3) :

(3).....$MnO_4^- + 2H_2O + 3\bar{e} = MnO_2$ (ตะกอน) $+ 4OH^-$

$E^o = + 1.23$ V

ถ้าอยู่ในสภาพที่เป็นด่างแก่มาก ๆ เราจะได้เกลือแมงกาเนต ดังสมการ (4): (4).....$MnO_4^- + \bar{e} = MnO_4^{-2}$ $E^o = + 0.56$ V

โดยเหตุที่ด่างทับทิมเป็นสารออกซิไดซิงเอเจนต์ (oxidizing agent) ที่รุนแรงมาก ดังได้กล่าวมาข้างต้น มันจึงสามารถทำปฏิกิริยาทางเคมีได้กับสารหลายชนิด ทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ หลายชนิดจากการเปลี่ยนแปลงของด่างทับทิม

ด่างทับทิมกับการให้ออกซิเจน

ถึงแม้ว่าด่างทับทิมจะได้ชื่อว่าเป็น "ตัวเติมออกซิเจน" แต่ก็มิได้หมายความว่าปฏิกิริยาที่เกิดจากด่างทับทิมจะให้ก๊าซออกซิเจนเสมอไป

ความหมายของคำว่า "ตัวเติมออกซิเจน" หรือออกซิไดซิงเอเจนต์ (oxidizing agent) ในสมัยนี้หมายถึงสารที่สามารถรับอิเล็กตรอนจากสารอื่น ทำให้ตัวเองมีออกซิเดชันนัมเบอร์ (oxidation number) ลดลง ยกตัวอย่างเช่น สมการ (1) ที่กล่าวมาข้างต้น ออกซิเดชันนัมเบอร์ (oxidation number) ของแมงกานีส (Mn) เปลี่ยนจาก +7 ในเปอร์แมงกาเนต (MnO_4^-) ไปเป็น +2 ในเกลือแมงกานีส (Mn^{2+}) ออกซิเดชันนัมเบอร์ (oxidation number) ของแมงกานีสในที่นี้จึงลดลง 5 หน่วย

ปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างด่างทับทิมกับสารอื่น ๆ แล้ว ไม่ให้ก๊าซออกซิเจนมีอยู่มากมายยกตัวอย่างพอเป็นสังเขปได้ดังต่อไปนี้ [3]

(5).....$2KMnO_4 + 4H_2S = 2MnS + S + K_2SO_4 + 4H_2O$

(6).....$2KMnO_4 + 10KI + 8H_2SO_4 = 6K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 5I_2 + 8H_2O$

(7).....$2KMnO_4 + 10\ FeSO_4 + 8H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 5Fe_2(SO_4)_3 + 8H_2O$

(8).....$2KMnO_4 + 5C_2H_2O_4 + 3H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 10CO_2 + 8H_2O$

(9).....$2KMnO_4 + 5SO_2 + 2H_2O = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 2H_2SO_4$

อย่างไรก็ตามมีปฏิกิริยาบางอย่างที่เกิดจากด่างทับทิมแล้วให้ก๊าซออกซิเจนออกมาซึ่งอาจจะได้จากการเผาด่างทับทิมโดยตรงที่ 500–700°ซ. ดังสมการ (10)–(12) ดังนี้

(10).....$2KMnO_4 = K_2MnO_4 + MnO_2 + O_2$

(11).....$3K_2MnO_4 = 2K_3MnO_4 + MnO_2 + O_2$

(12).....$2K_2MnO_4 = 2K_2MnO_3 + O_2$

หรือให้ด่างทับทิมไปทำปฏิกิริยากับด่าง เช่น โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ดังสมการที่ (13)

(13).....$4KMnO_4 + 4\ KOH = 4K_2MnO_4 + 2H_2O + O_2$

อนึ่ง ถ้าจะพิจารณาความสามารถในการให้ออกซิเจนของด่างทับทิม ไม่ว่าจะออกมาในลักษณะที่เป็นก๊าซออกซิเจนหรือไม่ก็ตาม เราจะคำนวณได้ดังต่อไปนี้

ในกรณีที่ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ ซึ่งส่วนมากมักจะเกิดขึ้นในสภาพที่เป็นด่าง เราจะได้ออกซิเจน 3 อะตอม จากด่างทับทิม 2 โมเลกุล ดังสมการที่ (14)

(14).....$2KMnO_4 + H_2O = 2MnO_2 + 2KOH + 3O$

สำหรับในกรณีที่เป็นสารอนินทรีย์ซึ่งโดยมากมักจะให้เกิดปฏิกิริยาในสภาพที่เป็นกรด เราจะได้ออกซิเจน 5 อะตอม จากด่างทับทิม 2 โมเลกุล ดังสมการที่ (15)

(15).....$2KMnO_4 + 3H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 3H_2O + 5O$

หมายความว่าด่างทับทิม 316 กรัม จะให้ออกซิเจน 48 กรัม ในกรณีที่เป็นด่าง หรือ 80 กรัม ในกรณีที่เป็นกรด ซึ่งออกซิเจนจำนวนนี้ ไม่จำเป็นจะต้องกลายเป็นก๊าซออกซิเจนเสมอไปดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

สมมติว่า ออกซิเจนที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะกลายเป็นก๊าซออกซิเจนอย่างสมบูรณ์โดยไม่มีการสูญสลายหรือทำปฏิกิริยากับสารใดให้กลายเป็นอย่างอื่น ๆ ซึ่งเป็นเรื่องที่เป็นไปได้ยากมาก การที่จะให้ได้ก๊าซออกซิเจนละลายในน้ำ (DO = Dissolved Oxygen) เพิ่มขึ้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร (ppm.) ยังคงต้องใช้ด่างทับทิมถึง 6.58 มิลลิกรัม/ลิตร (ppm.) ในสภาวะที่เป็นด่างหรือกลาง ซึ่งเป็นสภาวะที่เกิดขึ้นโดยทั่ว ๆ ไป ความเข้มข้นของด่างทับทิมขนาดนี้ อาจเป็นอันตราย จนทำให้ปลาบางชนิดตายได้[5]

นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้ด่างทับทิม ที่มีผลต่อปริมาณของออกซิเจนในน้ำ (DO) ปรากฏว่า ถ้าใช้ด่างทับทิม 4 และ 8 มิลลิกรัม/ลิตร (ppm.) จะไม่ทำให้ปริมาณของออกซิเจนในน้ำ (DO) เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด ในตอนเช้าตรู่ และบ่อที่ใส่ด่างทับทิมจะมีปริมาณออกซิเจนในน้ำ (DO) เพิ่มขึ้นช้ากว่าบ่อที่ไม่ได้ใส่ด่างทับทิม ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อทำการวัดปริมาณของออกซิเจนในน้ำ (DO) ในวันรุ่งขึ้น ปรากฏว่าบ่อที่ใส่ด่างทับทิมมีค่าน้อยกว่า บ่อที่ไม่ได้ใส่ด่างทับทิม เหตุที่เป็นเช่นนี้ เข้าใจว่าเป็นเพราะผลของด่างทับทิมที่ใส่ลงไปในบ่อได้ก่อให้เกิดพิษต่อพืชเล็ก ๆ ที่เรียกว่าไฟโตแพลงตัน (phytoplankton) และสาหร่ายในบ่อนั้น ทำให้ก๊าซออกซิเจนที่เกิดจากการสังเคราะห์แสงของพืชเหล่านี้

ลดน้อยลง ซ้ำยังทำให้แบคทีเรียต้องใช้ออกซิเจนมากขึ้น เพื่อย่อยพืชที่ตายไปแล้วอีกด้วย

จากผลงานของ Tucker และ Boyd ในปี 1977 ได้ชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการใช้ด่างทับทิมเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำ (DO) เป็นเรื่องที่ไร้คุณค่า เพราะนอกจากด่างทับทิมจะมีราคาแพงแล้ว ยังทำให้เพิ่มปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพของน้ำมากขึ้นอีกด้วย[5]

ด่างทับทิมกับการฆ่าเชื้อโรค

เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าด่างทับทิมมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรคได้โดยการให้ออกซิเจนระหว่างเกิด (nascent oxygen) ซึ่งสามารถทำลายเซลของจุลชีพได้หลายชนิด นับตั้งแต่แบคทีเรียไปจนกระทั่งพาราสิต อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าเสียดายที่ฤทธิ์ของด่างทับทิมมักจะคงอยู่ได้ไม่นานในน้ำ อันเนื่องจากการเสื่อมสลายด้วยตัวของมันเองเมื่อถูกแสงแดดและจากการทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ ทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ได้ดีมากดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงนับว่าเป็นการยากที่จะคาดคะเนขนาดของฤทธิ์ด่างทับทิมให้ถูกต้องกับเชื้อโรคในบ่อปลาได้

ฤทธิ์ของด่างทับทิมในการฆ่าเชื้อโรคขึ้นอยู่กับปริมาณของออกซิเจนระหว่างเกิด ซึ่งเกี่ยวข้องกับสภาพความเป็นกรด ด่าง ของน้ำในบ่อปลา ในกรณีที่น้ำในบ่อปลาเป็นกลางหรือเป็นด่าง จะเกิดตะกอนของแมงกานีสไดออกไซด์ ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อเหงือกของปลา จึงไม่ค่อยนิยมใช้ด่างทับทิมในการฆ่าเชื้อโรคในบ่อปลา นอกจากว่าไม่มีทางอื่นที่ดีกว่านี้อีกแล้วเท่านั้น[6]

อนึ่งจากผลการทดลองของ ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู นักจุลชีววิทยาแห่งคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เกี่ยวกับผลของด่างทับทิมต่อเชื้อแอร์โรโมนาส (Aeromonas) ซึ่งเป็นเชื้อโรคที่ทำให้ปลาตายในครั้งนี้ (ราย

ละเอียดดูได้จากรายงานผลงานวิจัยของ ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู เกี่ยวกับเรื่องนี้) พบว่าปริมาณของด่างทับทิม 6 ส่วนในล้านส่วนยังไม่มีผลในการฆ่าเชื้อโรคดังกล่าวได้แต่อย่างใด เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของด่างทับทิมตามที่กรมประมงได้แนะนำไว้คือ 2–4 กรัมต่อปริมาตรน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งเทียบเท่ากับ 2–4 ส่วนในล้านส่วน จึงไม่น่าเพียงพอที่จะนำมาใช้ฆ่าเชื้อโรคดังกล่าวนั้นได้ หรือแม้แต่เชื้อโรคพวกพาราสิต ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าก็มีรายงานว่าการใช้ด่างทับทิม ไม่มีผลต่อการทำลายพาราสิตที่เกาะอยู่ตามผิวหนังของปลา (skin parasites) ยกตัวอย่างเช่น เชื้อ Oodinium pillularis และได้มีการแนะนำให้ใช้น้ำยาฟอร์มาลินหรือสารเคมีตัวอื่น ๆ แทนด่างทับทิม ทั้งนี้เพราะประสิทธิภาพของด่างทับทิมในการฆ่าเชื้อโรค ถ้าจะให้ได้ผลดีจริง ๆ แล้วจะต้องใช้ความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูงซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อตัวปลาที่เลี้ยงในบ่อ ซ้ำยังก่อให้เกิดปัญหาอื่น ๆ อีกมากมาย[6]

ด่างทับทิมกับความเป็นพิษ

สารเคมีโดยทั่วไปถ้าใช้ไม่ถูกต้องและเหมาะสมแล้วก็จะก่อให้เกิดอันตรายได้เสมอสำหรับด่างทับทิมก็เช่นเดียวกัน ถ้าใช้ปริมาณมากเกินไปก็จะเป็นอันตรายต่อตัวปลา ต่อสิ่งแวดล้อมและต่อมนุษย์ได้ในที่สุด

ปริมาณของด่างทับทิมที่จะมีผลจนทำให้ปลาตายนั้นแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา[6] ยกตัวอย่างเช่น

ชนิดของปลา	ปริมาณด่างทับทิมที่ทำให้ตาย
Bleak (Alburnus lucidus)	40 มิลลิกรัม/ลิตร
Gudgeon (Gobio gobio)	62 ,, ,,
Minnow (Phoxinus phoxinus)	62 ,, ,,
Black Paradise (Macropodus Opercularis concolor)	22 ,, ,,

อย่างไรก็ตาม มีรายงานเกี่ยวกับพิษของด่างทับทิมว่าความเข้มข้นขนาด 2.2–4.1 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถทำให้ปลาตายได้ในเวลา 8–18 ชั่วโมง[7] ถึงแม้ว่าด่างทับทิมจะไม่ค่อยอยู่ตัว เพราะความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ ก็ตาม

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของด่างทับทิมจะเห็นได้ว่ามีโลหะหนักที่อาจเป็นพิษต่อร่างกาย ถ้ามีมากเกินไป ได้แก่ โลหะแมงกานีส ซึ่งในสหรัฐอเมริกายอมให้มีโลหะหนักตัวนี้ ในน้ำประปาได้ไม่เกิน 50 ไมโครกรัม/ลิตร ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาณของตะกั่ว เงิน และโครเมียม ในน้ำประปาเช่นเดียวกัน[8]

นอกจากนี้ผลิตผลที่เกิดจากปฏิกิริยาของด่างทับทิม โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมงกานีสไดออกไซด์ ซึ่งเป็นตะกอนที่ไม่ละลายน้ำ จะตกค้างอยู่ในบ่อปลาที่ใช้ด่างทับทิม สารตัวนี้ใช้เป็นส่วนประกอบชนิดหนึ่งในการผลิตถ่านไฟฉาย และเป็นอันตรายมาก ถ้าอยู่ในสภาพที่เป็นฝุ่นเพราะเมื่อหายใจเข้าไปแล้วจะทำให้เป็นอันตรายต่อปอด ปริมาณที่ทำให้กระต่ายถึงตายได้เท่ากับ 45 มิลลิกรัม/กิโลกรัม[9]

รายงานผลการใช้ด่างทับทิมในบ่อปลาจากกรมประมง

สืบเนื่องจากสาขาเคมีสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ได้แสดงความห่วงใยในผลที่จะเกิดขึ้นจากการใช้ด่างทับทิมเพื่อฆ่าเชื้อโรค และปรับปรุงคุณสมบัติน้ำให้ดีขึ้น โดยเกรงว่าจะเป็นการสูญเปล่า ซ้ำยังอาจจะก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารเคมีที่เกิดจากปฏิกิริยาของด่างทับทิมจึงได้ยื่นหนังสือทักท้วงการใช้ด่างทับทิม[10] ไปยังรัฐมนตรีว่าการ และรัฐมนตรีช่วยว่าการกระทรวงที่เกี่ยวข้อง พร้อมทั้งได้ออกอากาศทางวิทยุเมื่อกลางเดือน มกราคม 2526 ตลอดจนได้มีการลงข่าวในหน้าหนังสือพิมพ์ต่าง ๆ ปรากฏว่ากรมประมงได้มีหนังสือที่ กส. 0501 (1)/1814 ลงวันที่ 18 กุมภาพันธ์ 2526 ชี้แจงข้อทักท้วงดังกล่าว พอสรุปได้ว่า

"การใช้ด่างทับทิมแก้ปัญหาโรคระบาดครั้งนี้ เป็นที่น่าพอใจมาก คือ หลังจากการใช้ 2–3 ครั้ง ช่วยให้ปลาที่มีลักษณะอาการเพลียลอยตัวที่ผิวน้ำ ว่ายน้ำเชื่องช้า เริ่มจมตัวลงและปราดเปรียวขึ้น แผลตามลำตัวเริ่มดีขึ้นพร้อมกับเริ่มกินอาหารเพิ่มขึ้นเป็นผลให้ปลาชนิดที่เลี้ยงโดยวิธีให้อาหารสามารถรับยาปฏิชีวนะที่ผสมในอาหารตามอัตราส่วนและระยะเวลาที่ได้แนะนำไว้" พร้อมกันนั้นได้แนบรายงานการใช้ด่างทับทิมในจังหวัดสมุทรสงคราม สมุทรปราการ และสุพรรณบุรีมาด้วย

เมื่อพิจารณารายงานจากกรมประมงฉบับดังกล่าวมาข้างต้นแล้วมีข้อที่น่าสังเกตดังต่อไปนี้

1. ในคำชี้แจงข้อทักท้วงดังกล่าวมาข้างต้น กรมประมงได้ขีดเส้นใต้ที่ตั้งสำนักงานของสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยฯ "ซึ่งมีสำนักงานอยู่ที่คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย" ผู้เขียนไม่เข้าใจว่ากรมประมงมีความนึกคิดในเรื่องนี้เป็นอย่างไร จึงต้อง *ขีดเส้นใต้* ให้เด่นชัดขึ้นมาเช่นนี้ ถึงแม้ว่าสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยฯ จะมีสำนักงานตั้งอยู่ในคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แต่การทำงานของหน่วยงานทั้ง 2 ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องหรือผูกพันต่อกันแต่อย่างใดทั้งสิ้น

2. ผลการทดลองใช้ด่างทับทิมใน 3 จังหวัดที่ได้แนบรายงานมานั้น ปรากฏว่าไม่มีรายการไหนที่ใช้ด่างทับทิมแล้วไม่ได้ผล ซึ่งนับว่าเป็นผลการทดลองที่มหัศจรรย์มาก

3. ในบรรดาบ่อปลาต่าง ๆ ที่ใช้ด่างทับทิมแล้วได้ผลดีทั้งหมดนั้น มีบ่อปลาเป็นจำนวนมากที่ได้มีการรักษาและแก้ปัญหาโรคระบาดปลาโดยวิธีอื่นอยู่แล้ว แต่ในรายงานของกรมประมงระบุแต่ว่า เป็นผลที่เกิดจากการใช้ด่างทับทิมแต่เพียงอย่างเดียว ผลที่ได้นั้นจึงไม่แน่ใจว่าเกิดจากด่างทับทิมแต่เพียงอย่างเดียวหรือเป็นเพราะสาเหตุอื่น หรือหลายอย่างประกอบกัน

4. รายงานจากจังหวัดสมุทรสงครามตอนหนึ่งได้เขียนเอาไว้ว่า "ได้ทำการตรวจคุณสมบัติของน้ำปรากฏว่าในบ่อเลี้ยงปลาช่อนก่อนใส่ด่างทับทิมมีออกซิเจน 0.3 ppm. และหลังจากใส่ด่างทับทิมตามอัตราส่วนที่แนะนำแล้วตรวจน้ำปรากฏว่ามีออกซิเจน 4.3 ppm." หมายความว่าในน้ำมีออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นถึง 4 ppm. จากการใช้ด่างทับทิมในอัตราส่วนที่แนะนำ ซึ่งนับว่าเป็นเรื่องที่ยิ่งกว่ามหัศจรรย์

ท้ายบท

ก่อนที่จะจบบทความเรื่องนี้ ผู้เขียนใคร่ขอชี้แจงและทำความเข้าใจกับท่านผู้อ่านเอาไว้สักนิดว่าการแสวงหาความรู้และประสบการณ์เพื่อประโยชน์ในการผลิตบัณฑิตและบริการทางวิชาการแก่สังคม รวมทั้งการให้ความรู้และประสบการณ์ที่เป็นประโยชน์แก่สังคมเป็นหน้าที่ของผู้เขียน ในฐานะที่เป็นอาจารย์คนหนึ่งในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผู้เขียนมีความสำนึกและตระหนักเป็นอย่างดีอยู่เสมอว่าการที่ผู้เขียนดำรงชีวิตอยู่ได้ทุกวันนี้ ส่วนหนึ่งและส่วนใหญ่เป็นเพราะเงินภาษีอากรของสังคมนั่นเอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. A. Korolkovas; "Essentials of Molecular Pharmacology" John Wiley & Sons, Inc.; New York, USA, 1970, pp. 43
2. Cotton and Wilkinson; "Basic Inorganic Chemistry" Wiley International Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, 1976, pp. 398
3. J.R. Partington; "A Text-Book of Inorganic Chemistry" 6th. Ed., Macmillan & Co. Ltd., London, Great Britain, 1961, pp. 908
4. E. de. Barry Barnett and C.L. Wilson "Inorganic Chemistry" 2nd. Ed., Longmans Green & Co. Ltd., London, Great Britain, 1962, pp. 215
5. C.E. Boyd., "Water Quality in Warmwater Fish ponds." Craftmaster Printers, Inc., Alabama, USA., 1979, pp. 169-174
6. C. van Duijn Jur. "Diseases of Fishes" 3rd. Ed. Iliffe Books, Lonbon, 1973
7. "Quality Criteria for Water", U.S. Environmental Protection Agency, U.S. Government Printing Office, Washington D.C. 1976
8. H. Stephen Stoker and Spencer L. Seager "Environmental Chemistry : Air and Water Pollution" 2nd. Ed., Scott, Foresman and Co., Illinois, 1976, pp. 195
9. M. Windholz S. Budavari, L.Y. Stroumtsos, and M.N. Fertig "The Merck Index" 9th. Ed., Merck & Co. Ltd., Rahway, N.J., USA., 1976
10. รศ. ดร. พิชัย โตวิวิชญ์ "นักเคมีทักท้วงการใช้ด่างทับทิมในบ่อเลี้ยงปลา" บทความประชาสัมพันธ์ สาขาเคมี สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ มกราคม 2526

พิษเฉียบพลันของไอโอดีน, คลอรีนและมาลาไคท์กรีน ที่มีต่อปลาและการป้องกันรักษาปลาเป็นโรคด้วยไอโอดีน

สุทธิชัย เตมียวณิชย์

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาค่าความเข้มข้นของไอโอดีน คลอรีน Malachite green ที่ทำให้ปลาช่อน ปลาดุกและปลาสลิดตาย 50% ในเวลาตั้งแต่ 24–144 ชั่วโมง (24–144 hr. LC_{50}) และนำความเข้มข้นของไอโอดีน 12.5 มก./ล. ซึ่งเป็นค่าที่ไม่ทำอันตรายต่อปลาช่อนโดยเฉียบพลัน แต่ฆ่าเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ทดลองในบ่อเลี้ยงปลาช่อนที่เป็นโรคพร้อมทั้งรวบรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน ผลจากการทดลองพบว่าปลาที่เป็นโรคและกินยาปฏิชีวนะพร้อมกับการใช้ไอโอดีน ถึงแม้ว่าปลาที่เป็นโรคจะไม่หายโดยสมบูรณ์แต่ก็ยังคงมีปลารอดจากการตายได้ในที่สุด.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Acute Toxicity of Iodine, Chlorine and Malachite green on three fresh water fishes and its treatment on Snake-head fish pond

Suthichai Temeyavanich

Abstract

Acute toxicity studies of iodine, chlorine and malachite green expressed as LC_{50} dosages on striped snake-head fish *(Ophicephalus striatus)* catfish *(Prophagorus nieukopi)* and snake-skin gourami *(Trichogaster pectoralis)* were carried out in 24-144 hours period. Results showed that iodine concentration of 12.5 mg/L was not toxic to catfish but it was strong enough to kill bacterial strain of *Aeromonas hydrophila*. Experiments in treating diseased snake-head fish with antibiotics along with iodine treatment were carried out in the field for 5 days. Environmental parameters in the fish pond were recorded throughout the experimental period. Diseased fishes receiving both antibiotics and iodine treatments showed sign of recovery and survival through the results did not assured the total recovery or survival.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยนี้มีผู้ร่วมงานในโครงการศึกษาดังนี้

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. รองศาสตราจารย์ สุทธิชัย เตมียวณิชย์
2. นาย ยอมสิน อภิจัตร
3. นาย สมภพ รุ่งสุภา
4. นาย สมชาย เหมือนรักษา
5. นาย ธวัช สุวรรณพานิช
6. นาย พงษ์เอก เลิศทรัพย์เจริญ
7. นาย สมชาย ศรีบัญญาวิชญ์
8. นาย สะโอด อ่วมนุช
9. น.ส. วัฒนา ชินภักดี
10. นาย นาม ประยูรศักดิ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู
2. ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

ผู้เขียนขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ บียะกาญจน์ หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาฯ และผู้ที่ช่วยเหลือแต่มิได้กล่าวนามในที่นี้

คำนำ

ในระหว่างเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำเมื่อเดือน ธันวาคม 2525 ถึง กุมภาพันธ์ 2526 ผู้ประกอบอาชีพเลี้ยงปลาในบ่อปลาตลอดจนทางราชการได้นำวิธีการต่าง ๆ ใช้ในการรักษาหรือป้องกันโรคระบาดปลาอันเกิดจากแบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า การป้องกันรักษามีทั้งใช้ยาปฏิชีวนะผสมอาหารให้ปลากิน การใช้สารเคมี เช่น ด่างทับทิม การใช้ถ่านดูดสารพิษ การใช้เกลือ ปูนขาว ฯลฯ การใช้วิธีการต่าง ๆ ดังกล่าวได้ผลบ้างไม่ได้ผลบ้างแล้วแต่สภาพแวดล้อมในบ่อปลาและแหล่งน้ำธรรมชาติ

จากการติดตามผลของโรคระบาดปลาครั้งนี้ พบว่าปลาในบ่อที่เหลือรอดอยู่เป็นปลาที่ได้รับการรักษาโดยใช้ยาปฏิชีวนะเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ การใช้สารเคมีและวิธีการต่าง ๆ อาจกล่าวว่าไม่ได้ผล หรือได้ผลน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากสภาพแวดล้อมในบ่อปลาอยู่ในสภาพไม่ดี ดังเช่นรายงานการศึกษาสภาพแวดล้อมบางประการในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ 2525–26 โดย สุทธิชัย เตมียวณิชย์ ซึ่งพบว่าในบ่อปลามีแอมโมเนียสูงสารอินทรีย์มีจำนวนมาก ออกซิเจนต่ำมากถึงแม้ว่าจะได้มีการเพิ่มออกซิเจนด้วยการพ่นอากาศรวมทั้งมีแพลงตอนพืชมาก ดังนั้นวิธีการป้องกันรักษาจึงจำเป็นจะต้องเข้าใจสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในบ่อปลาโดยถ่องแท้เสียก่อน ว่าอะไรเป็นปัญหาและจะกำจัดได้อย่างไร มิฉะนั้นมาตรการต่าง ๆ ที่ใช้จะไร้ประโยชน์

การลดลงของออกซิเจนอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะการมีแพลงตอนพืชมากนั้น มีวิธีกำจัดได้หลายอย่าง เช่น

1) วิธีการทางเคมี

ใช้จุนสี (Copper sulphate $CuSo_4 . 5H_2O$) ทองแดงในสภาพ Cu^{2+} จะช่วยหยุดยั้งการหายใจและการสังเคราะห์แสงของแพลงตอนพืช การใช้จุนสีที่มี

ความเข้มข้น 0.50–2.0 มก./ลิตร จะหยุดอัตราการหายใจของแพลงตอนพืชได้ 13–53% (Bartletl et al, 1974) จุนสี $CuSO_4 . 5H_2O$ เป็นพิษต่อปลาความเข้มข้นที่เป็นพิษเริ่มจาก 0.002–200 มก./ล. แล้วแต่ชนิดของปลาและสภาพแวดล้อม ในปลาส่วนใหญ่จะทนต่อความเข้มข้นได้ในช่วง 0.14–2.0 มก./ล. (Makee and Wolf, 1963) การใช้จุนสีในการกำจัดแพลงตอนพืชใช้ในอัตรา 2 มก./ล. (Sohacki et al, 1969).

2) วิธีทางชีววิทยา

กระทำโดยการเลี้ยงปลากินแพลงตอน หรือใช้พืชน้ำ (Macrophites) บางชนิดปลูกไว้ในบ่อปลานั้น ๆ เป็นต้น

การควบคุมคุณภาพน้ำ

การควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาเพื่อกำจัดปุ๋ยหรืออินทรีย์สาร ยาปราบศัตรูพืช และยาฆ่าแมลง แบคทีเรียมีวิธีการควบคุมหลายอย่าง ขอยกตัวอย่างการใช้สารเคมีบางชนิดดังนี้

1) การใช้ด่างทับทิม ($KMnO_4$)

ใช้เพื่อออกซิไดซ์ อินทรีย์สาร อนินทรีย์สาร และเพื่อทำลายแบคทีเรีย อัตราส่วนที่ใช้กันโดยทั่ว ๆ ไป 2–6 มก./ล.

2) ฟอร์มาลิน (Formalin)

ฟอร์มาลินเป็นสารที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการเลี้ยงปลา โดยฟอร์มาลินจะเป็นตัวควบคุมฟังกัส (Fungi) ที่เกิดบนไข่ปลาและปรสิตภายนอกบนตัวปลา ปริมาณที่ใช้กันมีความเข้มข้นระหว่าง 1,103–2,206 มก./ลิตร เป็นเวลา 15 นาที 184–276 มก./ลิตร เป็นเวลา 1 ช.ม. หรือ 16.5–27.6 มก./ลิตร ในระยะยาวในบ่อปลา (Schnick, 1973) นอกจากนี้ฟอร์มาลินยังใช้กำจัดแพลงตอนพืชโดยใช้ในความเข้มข้น 15 มก./ลิตร (Allison, 1962).

3) มาลาไคท์กรีน (Malachite Green)

มีคุณสมบัติในการใช้เช่นเดียวกับฟอร์มาลินโดยใช้ทำลาย Fungi ที่ติดกับไข่ปลา โปรโตซัวตามตัวปลารวมทั้งแบคทีเรีย สารตัวนี้เป็นพิษอย่างมากต่อปลา ความเข้มข้นที่เป็นอันตรายต่อปลา คือ 0.1 มก./ลิตร

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาค่าความปลอดภัยของสารเคมีบางชนิดที่อาจนำไปใช้ในการรักษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาน้ำจืด

2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในบ่อปลาที่ใช้ไอโอดีนในการกำจัดและรักษาโรคระบาดปลาที่เกิดจากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การศึกษานี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาทางชีววิเคราะห์ถึงผลของไอโอดีน และสารเคมีอื่น ๆ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำลายแบคทีเรียแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ศึกษาโดย ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ ที่คณะสัตวแพทย์ จุฬา ฯ ภายหลังได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้วนำไปทดลองทางชีววิเคราะห์ที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเล อ่างศิลากับปลา 3 ชนิด คือ ปลาช่อน ปลาดุก และปลาสลิด เพื่อให้แน่ใจว่าความเข้มข้นของไอโอดีน และสารเคมีดังกล่าวไม่เป็นอันตรายต่อปลา ต่อจากนั้นได้ใช้ความเข้มข้นของไอโอดีนที่พิสูจน์แล้วไปทดลองกับบ่อปลาที่กระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร พร้อมทั้งการศึกษาการสลายตัวของไอโอดีน และการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ในบ่อทดลองกับบ่อที่มิได้ทำการทดลองใช้ไอโอดีน

การดำเนินการทดลองได้กระทำตามขั้นตอนดังนี้

1) ทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไอโอดีน และสารเคมีอื่น ๆ ที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย (โดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬา ฯ)

2) ทดลองความเข้มข้นของไอโอดีน คลอรีน และมาลาไคท์กรีน (Malachite green) กับปลาช่อนที่มีขนาดความยาวประมาณ 2.5–3 ซม. อายุประมาณ 20 วัน ปลาดุกที่มีความยาวประมาณ 15 ซม. ขึ้นไป อายุประมาณ 5 เดือน และปลาสลิดที่มีขนาด 10 ซม. ขึ้นไปอายุประมาณ 7 เดือน เพื่อหาค่าความปลอดภัยโดยดูจากความเข้มข้นของสารดังกล่าวที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50})

3) นำค่าความปลอดภัยของไอโอดีนที่ได้จากข้อ 2) ไปทดลองในบ่อปลาที่เลี้ยงปลาช่อนซึ่งกำลังเป็นโรค ที่กระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร โดยการระบายน้ำออกจากบ่อครึ่งหนึ่ง ใส่ไอโอดีนลงไปโดยทั่วบ่อ ทิ้งระยะเวลาไว้ 3 ชั่วโมง เติมน้ำบาดาลลงไปจนระดับน้ำสู่สภาพปกติ

4) หาความเข้มข้นของไอโอดีนในบ่อปลาทุก ๆ 6 ชั่วโมง และศึกษาสภาพแวดล้อมทุก 6 ชั่วโมง ก่อนใช้ไอโอดีน 2 วัน และหลังใส่ไอโอดีนติดต่อกัน 3 วัน

5) ศึกษาปริมาณแบคทีเรียในน้ำ ดินและปลา ก่อนการใส่ไอโอดีนและภายหลังใส่ไอโอดีนตามระยะเวลาในข้อ 4) (โดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬา ฯ)

6) ติดตามอัตราการตายของปลาช่อนในบ่อตลอดเวลาที่ศึกษา

7) ในขณะทดลองได้ใช้ปฏิชีวนะผสมอาหารให้ปลากินต่อเนื่องกันทั้งก่อนการทดลองใช้ไอโอดีนและภายหลังใช้ไอโอดีน

ผลการศึกษา

1) ผลการศึกษาความเข้มข้นของไอโอดีน และสารเคมีอื่นๆ ที่สามารถทำลายแบคทีเรีย แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ได้แสดงไว้ในรายงานของ ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของไอโอดีนที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ คือ

ในน้ำสะอาด 6.25 ส่วนในล้านในเวลา 1 นาที

ในน้ำบ่อปลา 12.5 ส่วนในล้านในเวลา 1 นาที

2) ความเข้มข้นของไอโอดีนที่ทำให้ปลา 3 ชนิด ตายครึ่งหนึ่งในเวลาต่าง ๆ และความเข้มข้นของคลอรีน และมาลาไคท์กรีน ที่ทำให้ปลา 3 ชนิด ตายครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นคิดเป็นส่วนในพัน (ppm.) ของไอโอดีน คลอรีน มาลาไคท์กรีน ต่อปลาช่อน ปลาดุก และปลาสลิด

		ปลาช่อน	ปลาดุก	ปลาสลิด
Iodine	24hr LC50	> 100	-	-
	36hr LC50	75	-	> 100
	48hr LC50	55	> 100	88
	72hr LC50	48	79	72
	96hr LC50	42	-	65
	120hr LC50	5	-	-
	144hr LC50	-	-	-
Chlorine	24hr LC50	0.0455	-	-
	36hr LC50	0.0300	-	> 0.1000
	48hr LC50	0.0100	> 0.100	0.0455
	72hr LC50	0.0080	0.040	0.0350
	96hr LC50	0.0065	0.005	0.0280
	120hr LC50	0.0025	-	-
	144hr LC50	-	-	-
Malachite green	24hr LC50	0.07	2.10	0.60
	36hr LC50	0.07	1.00	0.55
	48hr LC50	0.06	0.50	0.50
	72hr LC50	0.06	< 0.10	0.45
	96hr LC50	0.05	< 0.10	0.35
	120hr LC50	0.05	-	0.25
	144hr LC50	-	-	-

3) ผลการทดลองใช้ ไอโอดีน ในบ่อปลาช่อนที่เป็นโรค

บ่อเลี้ยงปลาช่อนในขณะที่ปลาเป็นโรคที่ กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร ปลายังมีขนาดเล็กความยาวประมาณ 15 ซม. ขึ้นไป ก่อนทดลองใช้ไอโอดีน มีอัตราการตายประจำวันละประมาณ 50–100 ตัว และมีการให้ยาปฏิชีวนะติดต่อกันมาโดยตลอด และก่อนให้ไอโอดีนได้มีการใช้ด่างทับทิม ($KMnO_4$) ไป 2 ครั้ง แต่อัตราการตายก็ยังคงมีอยู่อย่างเดิม

เริ่มการใช้ ไอโอดีน วันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2526 ในความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณ 25 ส่วนในล้าน ภายหลัง 3 ชั่วโมงเติมน้ำบาดาลลงไปเพื่อให้ความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณ 12.5 ส่วนในล้าน ผลการหาความเข้มข้นของไอโอดีน โดยการเก็บน้ำในระดับผิวน้ำใกล้ผิวดิน 3 จุด ทั่วบ่อทุก ๆ 6 ชั่วโมง ได้ผลดังนี้

วันที่	เวลา (น.)	ความเข้มข้นเฉลี่ยของไอโอดีน (มก./ล.)
16 กุมภาพันธ์ 2526	16.30	6.00
,,	22.30	4.65
17 ,,	04.30	4.23
,,	10.00	2.62
,,	20.00	2.45
18 ,,	08.00	1.66

อัตราการตายของปลาภายหลังใช้ไอโอดีน

ภายหลังการใช้ไอโอดีน 1 วัน พบว่าแผลที่เกิดตามลำตัวของปลาสะอาดขึ้น แต่อัตราการตายของปลายังอยู่ในสภาพปกติเหมือนกับก่อนระยะทดลอง กล่าวคือปลาตัวที่เป็นแผลอยู่แล้วก็คงตายตามปกติ แต่ปลาตัวที่ยังไม่แสดงอาการก็ยังคงมีชีวิตอยู่รอดต่อไป โดยลดอัตราการตายและไม่ตายในที่สุด

4) ผลการตรวจสภาพแวดล้อม

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทุก ๆ 6 ชั่วโมง ตลอด 5 วัน ทั้งก่อนการใส่ไอโอดีน 2 วัน ภายหลังใส่ไอโอดีน 3 วัน พบว่าสภาพแวดล้อมไม่มีความแตกต่างกัน และไม่มีความแตกต่างกันกับบ่อปลาที่ไม่เป็นโรคข้างเคียงด้วย นอกจากปริมาณแอมโมเนียในบ่อปลาเป็นโรคต่ำกว่าในบ่อปลาไม่เป็นโรคซึ่งปรากฏก่อนการทดลองแล้ว ดังรายละเอียดในเรื่อง "สภาพแวดล้อมบางประการในขณะเกิดโรคระบาดสัตว์น้ำ 2525-2526" โดย สุทธิชัย เตมียวณิชย์

5) การเปลี่ยนแปลงแบคทีเรีย

จากการศึกษาของ ดร.เกรียงศักดิ์ สายธนู และคณะ พบว่าแบคทีเรียแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ภายหลังการใช้ไอโอดีน

สรุปและวิจารณ์

1. เนื่องจากการศึกษานี้มีระยะเวลาและงบประมาณจำกัด ทำให้ไม่สามารถดำเนินการทดลองได้สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามผลการใช้ไอโอดีนที่มีความเข้มข้นจากการวิเคราะห์ภายหลังใส่เสร็จใหม่ ๆ ได้ค่า 6.00 มก./ล. ไม่สามารถหยุดยั้งอัตราการตายของปลาช่อนที่เป็นโรคได้อย่างฉับพลัน และไม่ทำให้สภาพแวดล้อมอื่น ๆ เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เนื่องมาจากในบ่อเลี้ยงปลามีสารอินทรีย์ต่าง ๆ มากมายทำให้ค่าความเข้มข้นของไอโอดีนที่ใส่ลงไปจากการคำนวณ 12.5 มก./ล. ลดลงเหลือเพียง 6.00 มก./ล. ซึ่งไม่สามารถฆ่าเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่าได้ตามที่ทดลองในห้องปฏิบัติการ ผลที่ได้จากการใช้ไอโอดีนในบ่อเลี้ยงปลาอาจกล่าวได้ว่าเหมือนกับการใช้สารอื่น ๆ บางชนิดดังได้กล่าวมาแล้ว และเนื่องจากไอโอดีนมีราคาแพงจึงไม่สมควรที่จะใช้ในกรณีเกิดโรคระบาดเช่นนี้ หากจะใช้จะต้องมีวิธีการที่ดีกว่า เช่น การทำให้น้ำสะอาดดีพอสมควรก่อน แต่อย่างไรก็ตามการใช้ไอโอดีน ก็มีส่วนดีอยู่หลายประการ เช่น

1) ไม่มีพิษตกค้างซึ่งปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคปลาที่ได้รับไอโอดีนจากการรักษา และไม่มีอันตรายใด ๆ ต่อสภาพแวดล้อมเหมือนสารเคมีชนิดอื่น ๆ

2) จากการทดลองความทนทานของปลาดุกต่อ ไอโอดีน ในห้องปฏิบัติการพบว่า ไอโอดีน ที่มีความเข้มข้น 50 มก./ล. ขึ้นไปไม่ทำให้ปลาดุกตายภายใน 48 ชั่วโมง และยังไม่ทำให้เกิดแผลตามร่างกายอีกด้วย ซึ่งปกติถ้าเลี้ยงปลาดุกด้วยกันมาก ๆ จะเกิดแผลสีเหลี่ยมตามผิวหนังภายใน 12 ชั่วโมง ดังนั้นการขนส่งปลาดุกจึงมักใส่ยาซัลฟาเพื่อป้องกันการเกิดแผล เมื่อพิจารณาถึงผลเสียของการใส่ยาซัลฟาแล้ว อาจกล่าวได้ว่าการใช้ไอโอดีนจะมีผลดีและประหยัดกว่า อย่างไรก็ตามหากจะนำผลการใช้ไอโอดีนไปใช้ในกรณีนี้ จะต้องมีการศึกษาทดลองให้แน่ชัดอีกครั้งหนึ่ง

2. การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีอื่น ๆ เช่น คลอรีน ซึ่งจากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าระดับความปลอดภัยของคลอรีนต่อปลาช่อน ปลาดุก และปลาสลิดค่อนข้างต่ำ ต่ำกว่า 0.1 ส่วนในล้านลงไปซึ่งตรงกับรายงานอื่น ๆ เช่น Helfer (1936) รายงานว่าพิษของคลอรีนที่ทำให้ปลาตายมีค่า 0.11–0.13 ส่วนในล้าน สำหรับค่าที่เป็นอันตรายต่อแพลงตอนพืช คือ 0.32 ส่วนในล้าน (Brook & Baker, 1972) และความเข้มข้นที่เป็นอันตรายต่อแพลงตอนสัตว์บางชนิด เช่น *Daphnia magna* มีค่า 0.5 ส่วนในล้าน โดยทำให้ตายในเวลา 72 ชั่วโมง Ellis, (1937) ถึงแม้ว่าคลอรีนจะสลายตัวได้ดีและเร็วในธรรมชาติก็ตาม การใช้คลอรีนในบ่อปลาจะต้องระมัดระวังมิให้เกิดการผิดพลาดในอัตราส่วนความเข้มข้นที่ใช้ขึ้นได้

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการเลี้ยงปลาในบ่อเลี้ยงยังกระทำไม่ถูกต้อง ขาดระบบการทำน้ำให้สะอาดก่อนนำไปเลี้ยงและที่สำคัญยิ่ง คือ น้ำที่ปล่อยออกซึ่ง

สกปรกมากถูกปล่อยออกสู่ลำคลอง แม่น้ำ โดยตรงทำให้สภาพแวดล้อมเสียอย่างมากและเร็ว หากมีการศึกษาออกแบบบ่อปลาอย่างถูกต้องแล้ว คลอรีนก็น่าจะเป็นสารตัวหนึ่งที่นำมาใช้ขจัดน้ำเสีย เพราะราคาถูกและสลายตัวได้ง่ายดังที่ใช้กันในขบวนการทำน้ำสะอาดแม้แต่ในสระว่ายน้ำและน้ำประปา

ข้อเสนอแนะ

1. การเลี้ยงปลาในบ่อจะต้องมีการปรับปรุงให้มีระบบขจัดน้ำเสียได้ทั้งก่อนนำเข้าเลี้ยงและภายหลังการเลี้ยง เพราะถ้าปล่อยให้เกิดโรคระบาดขึ้นแล้วจะไม่สามารถกำจัดรักษาได้อย่างได้ผลไม่ว่าจะใช้ยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีอื่นใด

2. ควรมีการศึกษาให้เข้าใจอย่างถ่องแท้ถึงระบบนิเวศน์วิทยาของบ่อปลาและแหล่งน้ำธรรมชาติที่ใช้เลี้ยงปลา เพื่อเป็นมาตรการป้องกันกำจัดโรคระบาด และช่วยเร่งผลผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3. ควรมีการศึกษาวิจัยวิธีป้องกันกำจัดโรคที่จะเกิดขึ้นแก่สัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจทุกชนิดทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย เพื่อเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาที่จะเกิดขึ้นในโอกาสต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Allison, R. 1962. The Effects of Formalin and Other Parasiticides upon oxygen concentrations in ponds Proc. Annual Conf.S.E. Association Game and Fish Comm., 16:446-449.
2. Bartletl, L., F. W. Rabe, and W.H. Funk. 1974. Effects of Copper, Zinc and Cadmium on **Selenastrum Capricornutam**. Water Res., 8:1979-1985.
3. Brock, A.J. and A.L. Baker. 1972. Chlorination at power plants: Impact on Phytoplankton productivity. Science 176 (4042): 1414-1415.
4. Ellis, M.M. 1937. Detection and Measurement of stream pollution. Bull U.S. Bur. Fisheries 48 : 365-437; Reprint in : Biology of Water Pollution, FWCA, pp. 129-185 (1967).
5. Helfer, H. 1936. The action of poisons of fish; its investigation by experiment and the value of results. KI. Mitt. Ver. Wasser-, Boden-,U. Lufthy 12, 32 (In German); Water Pollut. Abst. 9: 1220-(1936).
6. Mckee, J.E. and H.W. Wolf, (eds) 1963. Water Quality Criteria, 2nd Ed. State of Calif., State Water Quality Control Board, Publ. No. 3-A Sacramento. 548 pp.
7. Schnick, R.A. 1973. Formalin as a Therapeutant in Fish Culture. U.S. Fish and Wildl. Ser., Rep. No. FWS-L-R-74-09.131 pp.
8. Sohaski, L.P., R.C. Ball, and F.F. Hooper 1969. Some Zoological Changes in Ponds from Sodium Arsenite and Copper sulfate. Michigan. Academic Sci., 1 : 149-162.

การตรวจและรักษาโรคพยาธิภายนอกในปลาสลิดที่เป็นโรคในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2525–กุมภาพันธ์ 2526

* จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

** ธีรพงศ์ ธีรภัทรสกุล

* เบญจมาศ วงศ์สัตยนนท์

* หน่วยโรคสัตว์น้ำ
** หน่วยโรคปศุสัตว์
} ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

จากการตรวจพยาธิภายนอกของพ่อ – แม่พันธุ์ปลาสลิดที่บ่วยในท้องที่อำเภอบางพลี บางพ่าร์มพบว่าปลาที่บ่วยส่วนมากมีพยาธิ Trichodina spp. ตามลำตัวและบริเวณแผล ส่วนที่เหงือกปลาพบพยาธิ Dactylogyrus spp. บ้าง ปลาที่บ่วยส่วนใหญ่แสดงอาการเป็นแผลมากน้อยตามลำตัว จากข้อมูลที่มีจำกัด การรักษาโดยใช้มาลาไคท์กรีน ขนาด 0.1 ส่วนในล้านส่วนพ่นลงไปในบ่อ 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3 วัน ช่วยให้ปลามีอัตราการตายลดลง

The Examination and treatment of ectoparasites in *Trichogaster pectoralis* affected from an epidemic during December 1982 to February 1983.

Jirasak Tangtrongpiroj *
Thirapong Thirapatsakun **
Benchamas Wongsattayanont *

Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University,

Abstract

A number of Snake Skin Gourami *(Trichogaster pectoralis)* fishes affected from an epidemic were examined for ectoparasites. Trichodina spp. were found on skin and the dermo-necrotic lesions Dactylogyrus spp. were found on gills. Most of the diseased fishes showed dermonecrotic lesions.

Although the data were not conclusive, treatment by spraying with malachite green at 0.1 ppm. concentration thrice, once every day 3 days appeared to reduce the mortality.

บทนำ

พยาธิเป็นศัตรูที่สำคัญต่อสัตว์บกและสัตว์น้ำ เพราะจะทำให้สุขภาพของสัตว์อ่อนแอลง และหรือมีโรคอื่นแทรกซ้อนทำให้สัตว์ตายลงได้ถ้าไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกวิธี ในปัจจุบันนี้พบว่ามีพยาธิหลายสกุลทั้ง protozoa และ metazoa ที่อาศัยปลาเป็นทั้งที่อยู่ชั่วคราวหรือถาวร (Chacko, J.A. 1979)

สำหรับในประเทศไทยนั้นได้มีการศึกษาชนิดของพยาธิภายนอกในปลาชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาดุกด้าน พยาธิที่พบด้วยกันหลายชนิด คือ Trichodina complex, Gyrodactylus spp., Dactylogyrus spp. Henneguya spp. Myxosoma, Myxobolus, Scyphidia complex, Chilodonella spp. (Anonym, 1981) ส่วนในปลาสลิดนั้น ปรีดา กรรณสูตร และ ธน ศีตะจิตต์ (2521) ได้กล่าวว่า ปลาสลิดทั้งในแหล่งน้ำธรรมชาติ และในบ่อเลี้ยงนั้นไม่เคยปรากฏว่ามีโรคระบาด นอกจากมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เช่น มีปริมาณของออกซิเจนในน้ำต่ำและในฤดูร้อนอาจพบพยาธิตัวเห็บน้ำ (Water louse) ที่ตัวปลาซึ่งทำความเสียหายต่อสุขภาพของปลา ในช่วงที่เกิดโรคระบาดในปลาครั้งใหญ่ในประเทศไทย ระหว่างปลายเดือน ธันวาคม 2525 และต้นเดือนกุมภาพันธ์ 2526 การระบาดได้แพร่ไปถึงปลาสลิดในท้องที่จังหวัดสมุทรปราการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตอำเภอบางพลี ปลาสลิดเป็นจำนวนมากซึ่งส่วนใหญ่เป็นพ่อ-แม่พันธุ์ ได้ป่วยและตายด้วยอาการมีแผลตามลำตัวเช่นเดียวกับปลาชนิดอื่น ๆ ในช่วงเวลาดังกล่าว จากการตรวจดูปลาป่วยในชั้นต้น พบว่ามีพยาธิภายนอกอยู่ 2 ชนิดได้แก่ Trichodina และ Dactylogyrus

สำหรับการรักษาพยาธิภายนอกในปลานั้น นิยมใช้วิธีการใส่ยาลงไปในบ่อ (bath) หรือการนำปลาจุ่มลงในยา (dip) ทั้งนี้เพื่อยาหรือสารเคมีนั้น ๆ จะได้สัมผัสโดยตรงกับตัวพยาธิ Herwig (1979) ได้สรุปถึงสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการรักษาโรคพยาธิในปลาตลอดจนขนาดของยา สำหรับมาลาไคท์กรีน ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อรา และการควบคุมโปรโตซัวภายนอกในปลามานานกว่า 40 ปี Bills and Hunn (1976) พบว่ายาชนิดนี้ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดปลาแซลมอน (Coho Salmon) แต่ทำให้ระดับโปตัสเซี่ยมในพลาสมาเพิ่มขึ้น แต่สารเคมีชนิดอื่น ๆ เช่น จุนสี ขนาด 0.5 ppm.

และฟอร์มาลิน ขนาด 200 ppm. มีผลทำให้คุณสมบัติทางเคมีของเลือดในปลาเทร้า (Rainbow Traut) มีการเปลี่ยนแปลง (Williams and Wootten, 1981) Willomitzer (1980) ได้ทดลองใช้ด่างทับทิม, ฟอร์มาลิน และเกลือแกง ในการรักษาโรคพยาธิที่เกิดจาก Chilodonella, Trichodina และ Dactylogyrus ในปลาเฉาฮื้อ (Grass carp) โดยวิธีการจุ่มระยะสั้นและยาวพบว่ามีผลทำให้จำนวนพยาธิดังกล่าวลดลง สำหรับในการรักษาปลาสลิดที่ป่วยในครั้งนี้เพื่อดูประสิทธิภาพของมาลาไคท์กรีน ว่าจะมีผลทำให้อัตราการตายของปลาดังกล่าวลดลงอย่างไรหรือไม่

ประวัติฟาร์มเลี้ยงปลาสลิดและประวัติปลาป่วย

ลักษณะของปลาสลิดในท้องที่อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการส่วนใหญ่เป็นทุ่งนาที่ยกคันบ่อให้สูง ซึ่งเรียกว่า แปลงนาปลาสลิด ในแต่ละแปลงนามีขนาดต่าง ๆ กัน บางรายมีขนาดเนื้อที่มากกว่า 50 ไร่ ความลึกของแปลงนาปลาสลิดดังกล่าวเฉลี่ยประมาณ 1 เมตร ภายในแปลงนาจะมีต้นหญ้าและพืชน้ำชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ปลาขยายพันธุ์และเป็นแหล่งอาหารของปลา

การปล่อยปลาสลิดลงไปในแปลงนานั้น มีจำนวนต่าง ๆ กันไม่มีมาตรฐานที่แน่นอนเพราะเกษตรกรบางรายจะปล่อยพ่อ–แม่พันธุ์ ลงไปในแปลงนาเพื่อให้ขยายพันธุ์ตั้งแต่เดือนเมษายนเป็นต้นไป ส่วนบางรายจะซื้อลูกปลาสลิดมาเลี้ยงซึ่งจะใช้ระยะเวลาการเลี้ยงประมาณ 8 เดือน สำหรับการถ่ายเทน้ำแปลงนาปลาสลิดส่วนใหญ่ไม่มีทางระบายน้ำออก นอกจากการเติมน้ำเข้าเป็นครั้งคราวเมื่อน้ำในแปลงนาลดลง

ในช่วงระหว่างปลายเดือนธันวาคม 2525 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2526 ปลาสลิดของ คุณฉลอง คำทองสุข, คุณบุญช่วย แย้มเบี่ยม, คุณบุญโสด บั้นทอง, คุณชู นาคสุข, คุณจุ่น ศรีอ่อน ในเขตท้องที่ ตำบลบางปลา อำเภอบางพลี

จังหวัดสมุทรปราการ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นปลาที่เก็บไว้สำหรับทำเป็นพ่อ-แม่พันธุ์ ได้ป่วยและตายเป็นจำนวนมากด้วยอาการมีแผลตามลำตัว (ดังรูป)

รูปแสดง ปลาสลิด พ่อ-แม่พันธุ์ ที่ป่วยด้วยอาการมีแผลตามตัว

แผลของปลาที่ตายส่วนใหญ่ จะเป็นแผลเน่าเปื่อย (Chronic wound) ส่วนในรายที่เป็นยังไม่รุนแรงมากนัก ปลาที่ป่วยเหล่านี้จะลอยตัวอยู่บนผิวน้ำ ปลาส่วนใหญ่จะตายในเวลากลางคืน ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณออกซิเจนละลายอยู่ในน้ำน้อย ประกอบกับปลาที่ป่วยมีสุขภาพอ่อนแออยู่แล้ว

ผลการตรวจและรักษา

จากการตรวจพบว่า ภายนอกของตัวปลาส่วนใหญ่มีสีซีดกว่าปกติ ได้ทำการขูดเอาเมือกที่บริเวณขอบแผลและตามลำตัวตลอดจนเหงือกปลาบางส่วนมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4 คูณ 10 และ 10 คูณ 10 เท่า พบว่าที่

บริเวณลำตัวพบโปรโตซัวชนิด Trichodina spp. และที่บริเวณเหงือกปลาพบพยาธิ Dactylogynes spp. สำหรับอวัยวะภายในเมื่อเปิดช่องท้องออกพบว่าอวัยวะต่าง ๆ อยู่ในสภาพปกติยกเว้นภายในกระเพาะอาหารและลำไส้ไม่มีอาหารเหลืออยู่เลย

ในด้านการรักษา ทำการคำนวณดูปริมาตรของน้ำในแปลงนาแต่ละรายเพื่อจะได้กำหนดจำนวนของมาลาไคท์กรีน โดยใช้มาลาไคท์กรีนในขนาด 0.1 ส่วนในล้านส่วน นำมาลาไคท์กรีนละลายในน้ำแล้วใส่ลงในถังพ่นยาฆ่าแมลงที่ล้างสะอาดแล้ว ทำการพ่นลงบนผิวน้ำให้ทั่วทั้งแปลงนา โดยให้มาลาไคท์กรีน 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3 วัน หลังจากนั้นให้เจ้าของบ่อแต่ละรายบันทึกจำนวนปลาที่ตายในแต่ละวัน เป็นที่น่าเสียดายที่ตัวเลขจากการบันทึกดังกล่าวนี้ไม่สามารถแสดงรายละเอียดได้ ทั้งนี้เนื่องจากการขาดการรวบรวมปลาที่ตายในบางวัน และในบางครั้งจำนวนปลาที่ตายก็เป็นค่าโดยประมาณ แต่อย่างไรก็ตามเกษตรกรทุกรายให้ความพอใจต่อการรักษาเพราะสังเกตเห็นว่ามีปลาตายลดลงหลังจากให้ยา

วิจารณ์

ปลาสลิดเป็นปลาที่มีความต้านทานต่อโรคสูง แต่จากการที่มีปลาดังกล่าวป่วยและตายเป็นจำนวนมากนั้น อาจจะเนื่องจากสาเหตุหลาย ๆ ประการ เช่น สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมทำให้ปลามีความเครียดมาก ความต้านทานโรคลดลงเป็นช่องทางให้เชื้อโรคเข้าทำอันตรายต่อปลาได้ (Snieszko, 1974) ในการตรวจปลาสลิดที่ป่วยครั้งนี้และพบพยาธิทั้งสองชนิดดังกล่าวที่ภายนอกตัวปลาเป็นจำนวนมาก ก็เป็นเครื่องยืนยันได้ว่าปลาอาจจะเป็นโรคเนื่องจากพยาธิทั้งสองและเนื่องจากในช่วงระยะเวลาดังกล่าวอุณหภูมิของน้ำมีความเหมาะต่อการเจริญเติบโตของพยาธิ (Hoffman, 1964, 1976) แต่อย่างไรก็ตามการเกิดโรคในปลา

สลิดครั้งนี้ อาจจะมีเชื้อโรคตัวอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา ดังเช่นเกิดกับปลาช่อนซึ่งเกิดโรคระบาดขึ้นในช่วงระยะเวลาเดียวกัน

ดังนั้นในการที่จะชี้ให้แน่ชัดว่าเชื้อโรคตัวใดเป็นสาเหตุที่แท้จริงจำเป็นจะต้องทำการศึกษากันต่อไป

สำหรับในด้านการรักษานั้น เป็นที่น่าเสียดายที่ไม่สามารถรวบรวมข้อมูลแสดงให้เห็นชัด ทั้งนี้เนื่องจากเจ้าของปลาไม่สามารถให้ตัวเลขที่แน่นอนต่อจำนวนปลาที่ตายในแต่ละวัน ประกอบกับในภาคสนามนั้นเป็นการยากที่จะหากลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้ยาเลย เพราะในช่วงระยะเวลาดังกล่าวเกษตรกรบริเวณที่กล่าวต้องการความช่วยเหลืออย่างมาก แต่อย่างไรก็ตาม มาลาไคท์กรีน ซึ่งเป็นสารเคมีที่นิยมใช้กันมาก ในการรักษาโรคที่เกิดจากพยาธิและเชื้อราในปลา (Gerard, 1981) น่าจะมีผลทำให้จำนวนของพยาธิดังกล่าวลดลง จากการที่คณะผู้ปฏิบัติงานได้ไปสังเกตและสอบถามจากเจ้าของปลาทุกรายให้ความพอใจต่อการรักษาในครั้งนี้ เนื่องจากมีปลาตายลดลง คณะผู้ปฏิบัติงานมีความตระหนักดีเสมอว่าการที่โรคในปลาสลิดสงบลงนั้น อาจจะเนื่องจากยาที่ให้ หรือ อาจจะเนื่องจากตัวปลาเองสร้างความต้านทานต่อตัวเชื้อโรค หรือ อาจจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมเพราะได้มีการระบายน้ำจากเหนือบริเวณดังกล่าวมายังบริเวณนี้มากขึ้น ฉะนั้นจำเป็นต้องมีการทดลองในห้องปฏิบัติการหรือในภาคสนามที่มากกว่านี้เพื่อหาข้อมูลยืนยันถึงการปฏิบัติงานในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ปรีดา กรรณสูต และ ธน ศีตะจิตต์ 2521. คำแนะนำการเลี้ยงปลาสลิด เอกสารคำแนะนำ กรมประมง 15 หน้า.

Anonym, 1981. Infectious disease. In : A handbook of diseases of cultured Clarias (Pra Duk) in Thailand. National Inland Fisheries Institute, Freshwater Fisheries Division, Department of Fisheries pp. 6–15.

Bills, T. D. and Hunn, J. B. 1976. Changes in the blood chemistry of Coho Salmon exposed to malachite green. The Progressive Fish–Culturist. Vol. 38, No. 4 pp. 214–216.

Chacko, J. A. 1979. Parasites causing diseases in fish. In Fish health management. II concepts and methods of fish disease epidemiology. Edi. by George W. Klontz, University of Idaho, Moscow, Idaho. pp. 46–70.

Gerard, J. P. 1981. Le vert de malachite en therapeutique piscicole. Traitements en Pisciculture : Note Technique No. 4 bis Bulletin Franzais de Pisciculture pp. 8–9.

Herwig, N. 1979. Handbook of drugs and chemicals used in the treatment of fish diseases.

Hoffman, G. L, 1964. Studies on Gyrodactylus *macrochirin sp. (Trematoda* : Monogenea) from Lepomis macrochirus–Proc. Helminthol. Soc. Wash. 31 (1) pp. 76–82.

Hoffman, G. L. 1976. Fish diseases and parasites in relation to the environment. Fish Pathology 10(2) pp. 123–128.

Snieszko, S. F. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. J. Fish. Biol. No. 6 pp. 197–208.

Williams, H. A. and Wootten, R. 1981. Some effects of therapeutic levels of formalin and copper sulphate on blood parameters in Rainbow Trout. Agnaculture, 24. pp. 341–353.

Willomitzer, J. 1980. Therapy of major ectoparasitoses in grass carp *(Ctenopharyngodon idella)* fry and fingering. ACTA Vet. BRNO, 49, pp. 279–282.

อัตราความไวของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ต่อยา 18 ชนิด : เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืด

เกรียงศักดิ์ พูนสุข
เกรียงศักดิ์ สายธนู
อรวรรณ นวีภาพ
โสมทัต วงศ์สว่าง

หน่วยวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

เชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จำนวน 140 เสตรน ซึ่งแยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืดระหว่างปลายปี 2525 และต้นปี 2526 ได้นำมาทดสอบหาอัตราความไวของเชื้อต่อยา 18 ชนิด โดยวิธี Single disc diffusion ผลปรากฏว่าเสตรนส่วนใหญ่จะมีความไวต่อยาต่อไปนี้ คือ นาลิดิซิค แอซิด เจนตามัยซิน ไนโตรฟิวแรนตอย ไตรเมทโธพริม + ซัลฟาเมทธอกซาโซล คลอแรมเฟนิคอล เตตราซัยคลิน และนีโอมัยซิน 100, 99, 96, 96, 81, 74 และ 74 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เสตรนที่ได้จากท้องที่จังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งแยกได้จากปลาในบ่อเลี้ยงจะแสดงให้เห็นถึงอัตราการต้านยาที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดต่อยา 4 ชนิดคือ คลอแรมเฟนนิคอล ซัลฟาไดอาซิน ซัลฟาไธอะโซล และเตตราซัยคลิน ซึ่งเป็นยาที่นิยมใช้ในการรักษาโรคปลามานาน เมื่อเปรียบเทียบกับเสตรนที่แยกได้จากจังหวัดชลบุรี ฉะเชิงเทรา และ จังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งเป็นเสตรนที่ได้จากปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติ

Antimicrobial Susceptibility Testing of *Aeromonas hydrophila*: Strain Isolated from Fresh Water fish Infection.

Kriengsak Poonsuk
Kriengsag Saitanu
Orawan Navephap
Somatat Wongsawang

Division of Microbiology, Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The 140 strains of *Aeromonas hydrophila* isolated from infected fishes were tested for antimicrobial susceptibility. The single disc diffusion method was performed and these stains were test with 18 different antibiogrames. The result showed that these strains sensitive to Nalidixic acid, Gentamycin, Nitrofurantoin, Trimethoprim sulfamethoxazole, Chlorampenicol, Tetracyclin and Neomycin were 100, 99 96, 96, 81, 74, and 74 percent respectivcly. The strains isolated form fisn farms in Suparnburi when compared with the strains isolated from natural fishes in Cholburi, Chachoengsao, and Samuthsakorn were resisted significantly with Chloramphenicol, Sulfadiazine, Sulfathiazole and Tetracyclin.

บทนำ

นับตั้งแต่ได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียจนถึงปัจจุบันพบว่า ได้มีการใช้ยากันอย่างกว้างขวางและแพร่หลายทั้งในการรักษาโรคติดเชื้อในคนและในสัตว์ ซึ่งยาปฏิชีวนะชุดแรก ๆ ที่ถูกแนะนำใช้จะให้ผลดีมากในการรักษาแต่เมื่อใช้นาน ๆ ก็จะพบว่า

เชื้อจะเกิดการต้านยาเมื่อเชื้อเกิดการต้านยาขึ้นก็จะมีการค้นคว้าเพื่อหายาตัวใหม่มาทดแทนตัวเก่า ดังนั้นในปัจจุบันจะพบว่ายาปฏิชีวนะมากมายหลายชนิดถูกผลิตออกมาเพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ การที่เชื้อต่าง ๆ เกิดการต้านยานั้นเนื่องมาจากแบคทีเรียหลายชนิดสามารถสร้าง R–factor (Watanabe, และคณะ ฯ), (1971) ซึ่ง R–factor นี้สามารถที่จะถ่ายทอดซึ่งกันและกันได้ และยังสามารถถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียตระกูลอื่น ๆ ได้

การทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยานับว่ามีความสำคัญมากในการรักษาโรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ ทั้งในคนและในสัตว์ เนื่องมาจากเหตุผลของการเกิดการต้านยาดังที่ได้กล่าวมาแล้ว การที่จะใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาให้ได้ผลจึงจำเป็นต้องทำการทดสอบเสียก่อนจริงอยู่ที่การทดสอบไม่ว่าจะเป็นวิธี เอ็ม. ไอ. ซี. (Minimal Inhibition Concentration), Disc Diffusion method และ Broth Disc method ก็ยังเป็นวิธีที่มีข้อจำกัดในตัวไม่สามารถให้ผลได้แม่นยำและถูกต้องสมบูรณ์ที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการที่ดำเนินขึ้นเพื่อหาแนวทางประเมินผลทางอ้อมเท่านั้น (Artificial measurement) จากสภาพปัจจุบันในประเทศไทยจะพบว่ายาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ได้มีการโฆษณา และวางขายกันอย่างเสรีทั้งในรูปยาที่ใช้กับคนและใช้กับสัตว์ ดังนั้นจึงเป็นการง่ายมากที่เชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ จะเกิดการต้านยาขึ้นในเวลารวดเร็ว การที่เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า ทำให้เกิดโรคระบาดทั่วไปในสัตว์น้ำ ได้มีผู้ศึกษาลักษณะของเชื้อ (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523 ข.) และศึกษาหาอัตราความไวของเชื้อต่อยา (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2521, อัคนี และ คณะ ฯ 2522, เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์ 2523 ก, เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ 2522, โสมทัต และคณะ, 2525)

การทดสอบเพื่อหาอัตราความไวของเชื้อต่อยา (Antimicrobial susceptibility testing) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่ามีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมและดำเนินการ

ใช้ในการทดสอบได้แก่วิธี Single disc diffusion (Bauer & Kirby, 1966) ซึ่งวิธีนี้ก็มีข้อเสียเหมือนกันที่จะต้องใช้เวลาในการอ่านผลนานเกินไป แต่ก็ได้มีผู้พยายามหาวิธีที่จะอ่านผลให้เร็วยิ่งขึ้นก็ไม่เป็นที่นิยมมากนัก (Boyle และคณะ ฯ, 1973) สำหรับพวก Anaerobic bacteria นั้นได้มีการคิดหาวิธีที่เหมาะสมในการทดสอบ (Wilkin's & Thai, 1973) เรียกว่า Broth disc method ซึ่งต่อมาได้ดัดแปลงมาใช้กับพวก Rapid growing bacteria เช่น *Aeromonas hydrophila* และ *Pseudomonas aeruginosa* (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523 ค.) พบว่าสามารถแปลผลของความไวของเชื้อต่อยาได้ภายในเวลา 3 ชั่วโมง สำหรับเชื้อทั้ง 2 ชนิดนั้น แต่วิธีนี้ใช้ทดสอบกับตัวยาในกลุ่มของพวกซัลฟาไม่ได้ผล

ในการศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะทดสอบหาอัตราความไวของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืดครั้งนี้ต่อยา 18 ชนิด เพื่อนำไปประกอบในการใช้ยารักษาเปรียบเทียบผลกับความไวของเชื้อเสตรนต่าง ๆ ที่เคยศึกษามาแล้ว

วัสดุและวิธีการ

เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จำนวน 140 เสตรนเป็นเสตรนที่แยกมาจากปลาที่ป่วยและตายในครั้งนี้ (เกรียงศักดิ์ และคณะ ฯ 2526 ก.) และได้ทำการพิสูจน์ลักษณะแล้ว (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2526 ข.) เป็นเสตรนที่แยกจากปลาช่อน ปลากระดี่ ปลาไหล ปลาบู่ ปลาสลิด และปลาหลด จะถูกเก็บไว้ใน Sugar free agar ปิดด้วยจุกไม้ก๊อกฉาบด้วยพาราฟินแข็ง เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องก่อนนำมาทดสอบจะทำการเพาะลงบน Blood agar อีกครั้งหนึ่งเพื่อเพิ่มจำนวนและตรวจดูความบริสุทธิ์ของเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้ในการละลายเชื้อ (Suspension) ใช้ Tryptic Soya broth (TSB difco) ส่วนอาหารที่ใช้ในการทดสอบใช้ Mueller Hinton Agar (MHA,

difco) อุณหภูมิที่ใช้อบเพาะเชื้อใช้ที่ 37°ซ. นาน 18–24 ชั่วโมง จึงทำการอ่านผล

กระดาษยา

ใช้กระดาษยา (Sensitivity disc) ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับของ B.D.H. (Bacton, Dickinson & Co. Cockeyville, MD 21020, U.S.A.) นอกจาก Sulfamonothoxy เพียงชนิดเดียวเท่านั้นซึ่งเป็น disc ได้รับมาจาก บ. กรุงเทพเวทดรัก ชนิดของ disc ที่ใช้ 18 ชนิด ได้แก่ Amphicillin, Bacitracin, Carbenicillin, Chloramphenicol, Erythromycin, Gentamycin, Kanamycin, Lincomycin, Neomycin, Nitrofurantoin, Polymyxin B, Streptomycin, Sulfadiazine, Sulfamonomethoxy, Sulfathiazole, Tetracylin, Trimethoprim + Sulfamethoxazole และ Nalidixic acid, จำนวนความเข้มข้นตามมาตรฐานที่ใช้ทดสอบของกระดาษยาที่ได้ระบุไว้ตามฉลากนั้น ได้เขียนไว้ในตารางที่ 1

วิธีการ

ใช้วิธี Single disc diffusion method (Bauer, และคณะ ฯ 1966) ซึ่งวิธีการได้อธิบายไว้อย่างละเอียด (Bailey & Scott, 1974).

ผลการศึกษา

การศึกษาหาอัตราความไวของเชื้อต่อยา 18 ชนิดของเชื้อแอร์โรโมนาสไฮโดรฟีล่าจำนวน 140 เสตรน โดยแบ่งเป็นเสตรนที่ได้จากท้องที่ ต. มะขามล้ม อ. บางปลาม้า จ. สุพรรณบุรี (เสตรนจากบ่อเลี้ยง) จำนวน 57 เสตรน และเสตรนจากอีก 2 แห่ง (เสตรนจากแหล่งน้ำธรรมชาติ) ที่ท้องที่ อ. บ้านโพธิ์ จ. ฉะเชิงเทรา รวมกับท้องที่ อ. พานทอง จ. ชลบุรี จำนวน 61 เสตรน และจาก อ. กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร จำนวน 22 เสตรน ผลของการศึกษาพบว่า

เสตรนส่วนใหญ่จะไวต่อยาดังนี้คือ Nalidixic acid, Gentamycin, Nitrofuran toin, Trimethoprim + Sulfamethoxazole, Chloramphenicol, Tetracyclin และ Neomycin โดยมีอัตราความไวคิดเป็น 100, 99, 96, 96, 81, 74 และ 74 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

เมื่อเปรียบเทียบอัตราความไวของเชื้อต่อยาของเสตรนที่แยกได้จาก สุพรรณบุรี ฉะเชิงเทรา กับชลบุรี และสมุทรสาครแล้ว จะพบว่าอัตราของความไวของเชื้อต่อยาจะต่างกันโดยที่เสตรนจากสุพรรณบุรีจะมีความไวต่อ Nalidixic acid, Gentamycin, Nitrofurantoin, Trimethoprim + Sulfmethoxazole และ Neomycin คิดเป็น 100, 100, 93, 89 และ 84% ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนเสตรนที่แยกได้จากฉะเชิงเทรากับชลบุรีจะไวต่อยาดังนี้คือ Chloramphenicol, Gentamycin, Nalidixic acid, Nitrofurantoin, Trimethoprim + Sulfamethoxazole, Streptomycin, Tetracyclin, Sulfadiazine Sulfathiazole และ Neomycin คิดเป็น 100, 100, 100, 100, 100, 95, 92, 85, และ 84% ตามลำดับ ซึ่งได้ผลคล้ายกับเสตรนที่แยกจากจังหวัดสมุทรสาคร คือ Nalidixic acid, Trimethoprim + Sulfamethoxazole, Tetracyclin, Chloramphenicol, Gentamycin, Sulfadiazine, Sulfathiazole, Nitrofurantoin, Polymiyxin B, และ Sulfamonomethoxy คิดเป็นร้อยละ 100, 100, 100, 95, 95, 95, 91, 91 และ 86 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากการเปรียบเทียบอัตราความไวของเชื้อต่อยา 4 ชนิด ซึ่งได้แก่ Chloramphenicol, Sulfadiazine, Sulfathiazole และ Tetracyclin ยาเหล่านี้เป็นยาที่ผู้เลี้ยงคุ้นเคยและใช้รักษาโรคมานาน จะพบว่าเสตรนต่าง ๆ ที่แยกจากสุพรรณบุรี จะมีอัตราการต้านยาสูงกว่าเสตรนที่แยกจากฉะเชิงเทรากับชลบุรีและสมุทรสาคร (รูปที่ 1,2 และ 3)

ตารางที่ 1 อัตราความไวของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า (140 เสตรน) ต่อยา 18 ชนิด

ชนิดของยา	ความเข้มข้นที่ระบุบนฉลาก (ไมโครแกรม)	จำนวนเชื้อที่ใช้ทดสอบ	จำนวนของเชื้อที่เซนซิทีฟ	คิดเป็นร้อยละ
แอมพิซิลลิน	10	140	17	12
บาซิเตรซิน	0.04*	140	0	0
คาร์เบนิซิลิน	100	140	3	2
คลอแรมเฟนิคอล	30	140	113	81
เจนตามัยซิน	10	140	139	99
อิริโธรมัยซิน	15	140	85	61
คานามัยซิน	30	140	100	71
ลินโคมัยซิน	2	140	0	0
นีโอมัยซิน	30	140	104	74
ไนโตรฟิวแรนทอย	300	140	134	96
โพลีมิกซิน-บี	300	140	99	71
เสตรปโตมัยซิน	10	140	77	55
ซัลฟาไดอะซีน	0.25*	140	97	69
ซัลฟาไมโนเมทอกซี	-	52	31	60
ซัลฟาไอโซโซล	0.25*	140	99	71
เตตราซัยคลีน	30	140	104	74
ไตรเมทโธพริม+ซัลฟาเมทอกซาโซล	1.25+23.75**	140	134	96
นาลิดิซิค แอซิด	30	140	140	100

- = ไม่ทราบความเข้มข้น

+ = International Unit.

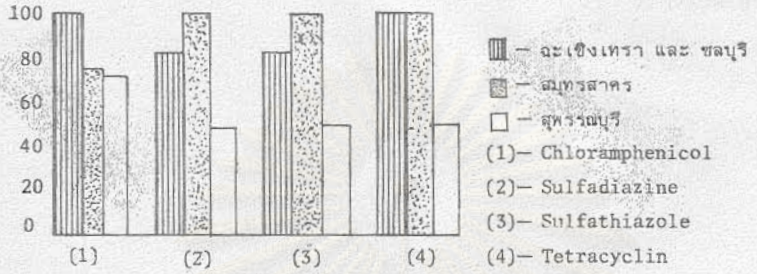
** = มิลลิแกรม

ตารางที่ 2 อัตราความไวของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่าต่อยา 18 ชนิด เปรียบเทียบเสตรนจากฉะเชิงเทรา–ชลบุรี กับเสตนจากสุพรรณบุรี และสมุทรสาคร

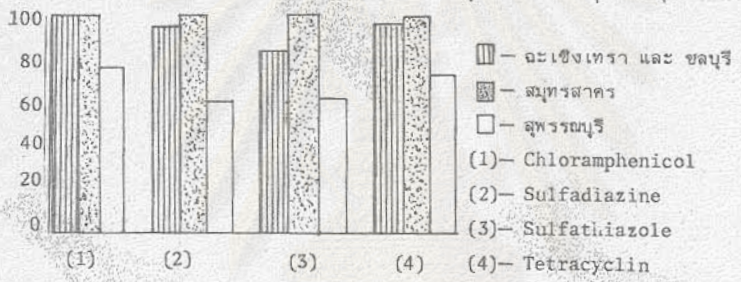
ชนิดของยา	ฉะเชิงเทรา+ชลบุรี (61)		สุพรรณบุรี (57)		สมุทรสาคร (22)	
	จำนวนของเชื้อที่ไวต่อยา	คิดเป็นร้อยละ	จำนวนของเชื้อที่ไวต่อยา	คิดเป็นร้อยละ	จำนวนของเชื้อที่ไวต่อยา	คิดเป็นร้อยละ
แอมพิซิลลิน	9	15	5	9	2	9
บาซิเตรซิน	0	0	0	0	0	0
คาร์เบนิซิลลิน	1	1.6	2	3.5	0	0
คลอแรมเฟนิคอล	61	100	33	58	21	95
อีริโทรมัยซิน	40	65.5	38	67	8	36
เจนตามัยซิน	61	100	57	100	21	95
คานามัยซิน	41	67	44	77	7	32
ลินโคมัยซิน	0	0	0	0	0	0
นีโอมัยซิน	51	84	48	84	5	23
ไนโตรฟิวแรนดอย	61	100	53	93	20	91
โพลีมิกซิน-บี	38	62	41	72	20	91
เสตร์ปโตมัยซิน	58	95	19	33	0	0
ซัลฟาไดอะซีน	52	85	23	40	21	95
ซัลฟาไบโนเมทธอกซิน	N	N	12*	40	19	86
ซัลฟาไธอะโซล	52	85	26	46	21	95
เตตราซัยคลิน	56	92	26	46	22	100
ไตร์เมทโธพริม+ ซัลฟาเมทธอกซาโซล	61	100	51	89	22	100
นาลิดิซิค แอซิด	61	100	57	100	22	100

* = จำนวนที่นำมาทดสอบ 30 เสตรน

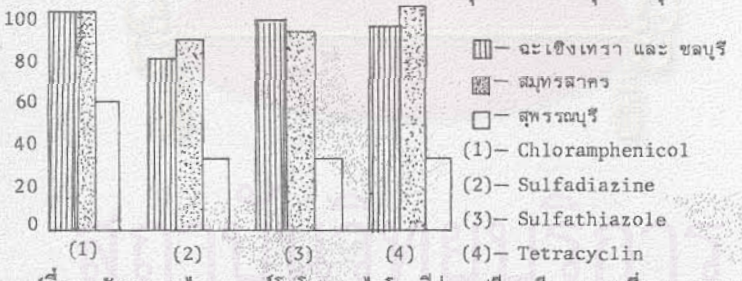
N = ไม่ได้ทดสอบ



รูปที่ 1 อัตราความไวของแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า : เปรียบเทียบเสตรนที่แยกได้มาจากแผลของปลาจากท้องที่ฉะเชิงเทรา สมุทรสาคร และสุพรรณบุรี



รูปที่ 2 อัตราความไวของแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า : เปรียบเทียบเสตรนที่แยกได้มาจากตับของปลา จากท้องที่ฉะเชิงเทรา สมุทรสาคร และสุพรรณบุรี



รูปที่ 3 อัตราความไวของแอร์โนโมนาส ไฮโดรฟีล่า : เปรียบเทียบเสตรนที่แยกได้จากเหงือกของปลาจากท้องที่ฉะเชิงเทรา สมุทรสาคร และสุพรรณบุรี

สรุปและวิจารณ์

ผลจากการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาของ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในครั้งนี้แตกต่างจากที่เคยศึกษามาแล้วจากเสตรนที่แยกได้จากปลาดุก (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2522) ซึ่งพบว่าเสตรนต่าง ๆ ที่ศึกษาในครั้งนั้นจะมีความไวต่อยา Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, Nitrofurantoin, Polymyxin B. และ Tetracyclin มากกว่า 80 % และเสตรนที่แยกได้จากปลาช่อน (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523) ซึ่งเชื้อที่ศึกษามีความไวต่อยา Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, Nitrofurantoin, Polymyxin B ถึง 100 % ยกเว้น Polymyxin B ที่มีความไวต่อยาเพียง 83 % เมื่อมาเปรียบเทียบกับเสตรนที่แยกจากสุพรรณบุรี ในการระบาดของโรคครั้งนี้ซึ่งเสตรนส่วนใหญ่ได้มาจากปลาช่อน (ตารางที่ 2) จะพบว่าเชื้อจะมีความไวต่อยา Chloramphenicol, Erythromycin, Kanamycin, Neomycin, Nitrofurantoin, Polymyxin B และ Tetracyclin คิดเป็น 57.8, 66.6, 52.6, 84.2, 92.9, 71.9, 45.6 % ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนถึงอัตราการต้านยาของเชื้อนี้เมื่อศึกษาเปรียบเทียบกับเสตรนที่แยกได้จากครั้งก่อน ๆ (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์, 2523) เมื่อดูจากรูปที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งเป็นเสตรนที่แยกมาจากแผล ตับและเหงือก จะเห็นได้ชัดถึงอัตราการต้านยาของเสตรนที่ได้จากสุพรรณบุรี ซึ่งจากประวัติการใช้ยาในขณะควบคุมโรคของเจ้าของบ่อทำให้เสตรนเหล่านี้ได้รับการสัมผัสกับยา 4 ชนิดนี้เป็นประจำ จึงทำให้เกิดการต้านยาขึ้น เป็นเครื่องชี้ให้เห็นถึงการที่ผู้เลี้ยงปลามีความรู้ในการใช้ยาไม่ดีพอ ซึ่งพบได้บ่อย ๆ ที่อัตราส่วนการใช้ยาไม่เพียงพอในการรักษา นอกจากนี้ผู้ที่จะให้คำแนะนำควรจะเป็นผู้ที่มีความรู้เรื่องยาอย่างละเอียดเพื่อป้องกันการเกิดการต้านยาขึ้นดังที่เห็นอยู่ขณะนี้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกคนของหน่วยจุลชีววิทยา และนิสิตสัตวแพทย์ ชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยในการวิเคราะห์ผล เพื่อให้งานนี้สำเร็จในเวลารวดเร็ว

เอกสารอ้างอิง

1. เกรียงศักดิ์ พูนสุข, อรวรรณ นวีภาพ, เยาวภา เจิงกลีนจันทร์, วัฒนา วัฒนวิจารณ์, เกรียงศักดิ์ สายธนู และ โสมทัต วงศ์สว่าง, (2526). ประชุมวิชาการ เรื่อง โรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526 โดย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ณ ห้องประชุมสารนิเทศ 23–24 มิถุนายน 2526.
2. เกรียงศักดิ์ พูนสุข, อรวรรณ นวีภาพ, เกรียงศักดิ์ สายธนู, โสมทัต วงศ์สว่าง และ วัฒนา วัฒนวิจารณ์ (2526). ลักษณะของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า: เสตรนที่แยกได้จากการระบาดในปลาน้ำจืด, มกราคม 2526, ประชุมวิชาการ เรื่อง โรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526 ณ ห้องประชุมสารนิเทศ จุฬา ฯ.
3. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ เกรียงศักดิ์ สายธนู (2521). ระบาดวิทยาและการทดลองการใช้ยาปฏิชีวนะ 14 ชนิด ต่อเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดร-พีล่า: การประชุมวิชาการ เรื่อง วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในการพัฒนาภาคเหนือ 22–24 ธันวาคม 2521 ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

4. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และเกรียงศักดิ์ สายธนู (2522). อัตราการต้านยาของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า: เสตรนจากปลาดุก, วารสารชมรมโรคปลาบีที่ 3 ฉบับที่ 1. 9–14.

5. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และเกรียงศักดิ์ สายธนู (2523). เปรียบเทียบ disk diffusion method และ modified broth disk method ในการหาความไวของแบคทีเรียต่อยา: จุฬาลงกรณ์เวชสาร บีที่ 24. 567–572.

6. เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ วารินทร์ ธนาสมหวัง. (2522). โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในปลาบู่. วารสารชมรมโรคปลา บีที่ 2, ฉบับที่ 1, 15–21.

7. เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข (2523). ลักษณะของเชื้อแอร์โรโมนาสไฮโดรฟีล่า, วารสารชมรมโรคปลา บีที่ 3 ฉบับที่ 2, 71–87.

8. เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข (2523). โรคเกล็ดหลุดและแผลในปลาช่อนวารสารชมรมโรคปลา บีที่ 3, ฉบับที่ 1, 1–7.

9. โสมทัต วงศ์สว่าง, เกรียงศักดิ์ สายธนู และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข (2525). โรคขาแดงในกบนา. วารสารโรคสัตว์น้ำ บีที่ 5 ฉบับที่ 3, 79–86.

10. อัคนี นวรัตน, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ เกรียงศักดิ์ สายธนู (2522). โรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในปลาไหลไทย. วารสารชมรมโรคปลา บีที่ 2 ฉบับที่ 2, 67–74.

11. Bailey, Robert. W. and Elvyn G. Scott (1974). Diagnostic Microbiology A textbook for isolation and identification of pathogenic Microorganisms. Fourth Edition.

12. Bauer, A. W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris and M. Turk (1966). Antibiotic susceptibility testing by a single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493–496.

13. Boyle, V. James, Marilyn E. Fancher and Richard W. Russ Jr. (1973). Rapid, Modified Kirby-Bauer Susceptibility Test with single hight concentration. Antimicrobial disc: Antimicrobial agent and Chemotherapy. 3: 418-424.

14. Watanabe, T. T. Aoki, Y. Ogata and S. E. Guso (1971). R-factor related to fish culturing. Ann. New York. Academic Sci. 182: 383-410.

15. Wilkins, T. D., and T. Thiel (1973). Modified broth-disc method for testing the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria: Antimicrob. Agents chemother. 3: 350-356.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาเปรียบเทียบความไวของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ต่อยาปฏิชีวนะ

สมใจ เหรียญประยูร
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

เป็นการศึกษาถึงความไวต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ของเชื้อ *A. hydrophila* ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ เช่น ผู้ป่วยโรงพยาบาล ผู้ป่วยตามชนบท ผู้เป็นพาหะของโรค ปลาที่ตายตามแหล่งน้ำธรรมชาติ และปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้ ผลของการศึกษาพบว่า เชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทั้งปี พ.ศ. 2524 และปี พ.ศ. 2525 มีความไวต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ค่อนข้างต่ำ คือ ต่อ Co-trimoxazole ร้อยละ 59.3 และร้อยละ 50 ตามลำดับ Chloramphenicol ร้อยละ 66.7 และ 74.2 Ampicillin ร้อยละ 11.8 และ 0 Kanamycin sulfate ร้อยละ 25.0 และ 61.3 และสำหรับเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยมีอาการที่ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และจากปลาที่ตายตามแหล่งน้ำธรรมชาติ มีความไวต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ค่อนข้างสูง เช่น Co-trimoxazole ร้อยละ 86 และ 94 ต่อ Chloramphenicol ร้อยละ 93 และ 100 Kanamycin sulfate ร้อยละ 93 และ 100

และเชื้อที่แยกได้จากปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้ ก็มีความไวต่อยาปฏิชีวนะลดลงเช่นเดียวกันกับเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยตามโรงพยาบาลเช่นกัน คือ ต่อยา Chloramphenicol มีความไวร้อยละ 87.5 Kanamycin sulfate ร้อยละ 69

The susceptibility of *Aeromonas hydrophila* to Antimicrobial agents

Somjai Reinprayoon

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Abstract

The sensitivity of various strains of *Aeromonas hydrophila* to antibiotics was determined by the method of Kirby Bauer. There were four sources of *Aeromonas hydrophila* strain namely, the hospital patient between 1981–1982, the Bang–Toi patient, the fish at the natural habitat and that in the fish farm. The result indicated the high and low susceptible groups to antibiotics. The high group were strains that isolated from the patient and the fish of Bang–Toi. They were sensitive to chloramphenicol (93–100%), kanamycin (93–100%) Co–trimoxazole (86–94%). The less sensitive groups were strains that isolated from admitted patients of Chulalongkorn Hospital and fish farm. The later were sensitive to chloramphenicol (66.7–74.2%), kanamycin sulfate (25.0–61.3%) Co–trimoxazole (59.3–50%) and ampicillin (11.8–0%).

ในระยะปลายปี พ.ศ. 2525 จนถึงต้นปี พ.ศ. 2526 คือ ระหว่างเดือนกันยายน 2525 ถึงเดือนมกราคม 2526 เกษตรกรในภาคกลางซึ่งมีอาชีพเลี้ยงปลาน้ำจืดขาย ได้ประสบปัญหาเกี่ยวกับปลาที่เลี้ยงไว้มีอาการเป็นแผลตามตัว และตายเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาของคณะวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยพบว่า ปลาเป็นโรคระบาด Furunculosis ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งตามปกติอาศัยอยู่ในน้ำแต่มีจำนวนน้อยมาก ในระยะที่ปลาเป็นโรคระบาดพบว่าจำนวนเชื้อนี้มีเพิ่มมากขึ้น ทั้งในบ่อเลี้ยงปลาและแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น

แม่น้ำ ลำคลอง บ่อ และปรากฏว่าปลาตามแหล่งน้ำดังกล่าวที่ตายลอยขึ้นมาเหนือน้ำ ด้วยลักษณะเป็นแผลตามตัว และสามารถแยกเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้จากปลาเหล่านั้นด้วย

เมื่อปลาเป็นแผลตามตัว และลอยขึ้นผิวน้ำ เกษตรกรเจ้าของบ่อเข้าใจทันทีว่าปลาเป็นโรคจึงพยายามรักษา จะโดยวิธีใดก็ตามเพื่อรักษาปลาในบ่อนั้นๆ การใช้ยาโดยไม่ได้มีการควบคุม และการแนะนำให้ถูกวิธี ย่อมจะก่อให้เกิดผลเสียมากกว่าผลดี คือ ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อนั้นต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ และจะเป็นอันตรายอย่างยิ่ง ถ้าเกษตรกรเกิดติดเชื้อซึ่งดื้อยานั้น ทำให้การรักษามีปัญหามากและอาจจะเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตได้

การศึกษาในเรื่องนี้ เป็นการศึกษาเปรียบเทียบความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ เช่น ผู้ป่วยของโรงพยาบาล คนที่มีสภาพเป็นพาหะของโรค ผู้ป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อนี้ และที่รักษาเองตามชนบท จากน้ำตามแม่น้ำลำคลอง และจากปลาที่ตายตามแม่น้ำ ลำคลองและจากเชื้อที่แยกได้จากปลาในบ่อที่เลี้ยงไว้

ผลของการศึกษาในเรื่องนี้ ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะความไวของเชื้อต่อยาในรูปแบบต่าง ๆ กัน และเป็นข้อสังวรณ์การใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกต้องและถูกวิธี อันจะก่อให้เกิดปัญหาในเรื่องของการดื้อยาของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ และในที่สุดอันตรายอย่างใหญ่หลวง ก็คือเมื่อคนเกิดการติดเชื้อนี้แล้วอาจจะเสียชีวิตได้

วัสดุและวิธีการ

เชื้อ *Aeromonas hydrophila* แยกได้จากสิ่งต่อไปนี้

ก. เลือด หนอง และอุจจาระของผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ข. อุจจาระของผู้ที่มีอาการและไม่มีอาการ ที่อาศัยอยู่ในแหล่งที่มีปลาเป็นโรคระบาดตามแม่น้ำ ลำคลอง

ค. จากแผลตามตัวปลาที่เลี้ยงไว้ในบ่อ และจากน้ำในบ่อเลี้ยงปลา

ดังนั้น แต่ละสายพันธุ์ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จึงมีประวัติการถูกสัมผัสด้วยยาต่างกัน คือ

กลุ่ม ก. เป็นสายพันธุ์ซึ่งอาจจะได้รับการใช้ยาชนิดต่าง ๆ มาบ้างแล้ว เพราะเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยตามโรงพยาบาล

กลุ่ม ข. สายพันธุ์ที่แยกได้จากคนที่อาศัยอยู่ตามชนบทที่มีแหล่งน้ำตามธรรมชาติเสีย ปลาเป็นโรคระบาดตาย สายพันธุ์นี้โดยเฉพาะที่แยกได้จากคนที่ไม่มีอาการแสดงของโรค เชื้อย่อมไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ

กลุ่ม ค. สายพันธุ์ที่แยกได้จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ เช่น แม่น้ำ ลำคลอง และจากแผลของปลาที่ตายตามแม่น้ำ ย่อมเป็นสายพันธุ์ของ*Aeromonas hydrophila* ที่ไม่เคยถูกสัมผัสโดยยาปฏิชีวนะมาก่อนเลย เมื่อเทียบกับกลุ่ม ก. และ ข.

กลุ่ม ง. สายพันธุ์ที่แยกได้จากปลาที่เลี้ยงไว้ในบ่อปลาของเกษตรกร ซึ่งเชื้อกลุ่มนี้จะได้รับยาปฏิชีวนะมาแล้ว

วิธีการ

เชื้อ *Aeromonas hydrophila* แต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ ถูกนำมาเลี้ยงไว้ใน Trypticase soy broth นาน 4 ชั่วโมง แล้วเทียบความขุ่นกับความขุ่นมาตรฐาน ซึ่งประมาณว่ามีเชื้อ 10^5/มล. จากนั้นเชื้อจะถูกนำมาเพาะ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar ซึ่งมีความหนาจากก้นจาน 4 มม. โดยการใช้ swab จุ่มลงใน inoculum Broth แล้วเกลี่ยให้กระจายเต็มจาน เพื่อให้เชื้อเจริญเติบโตได้สม่ำเสมอ Discs ซึ่งอิมตัวด้วยยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้นมาตรฐาน (B.B.L. หรือ Difco) ถูกนำมาวางให้สัมผัสกับหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

เว้นระยะให้ห่างกันพอสมควร ประมาณ 10 discs ต่อหนึ่งจาน อบไว้ที่ 37°ซ. นาน 18–24 ชั่วโมง จึงอ่านผลการทดสอบ โดยดูขนาดของ Inhibition zone แล้วเปรียบเทียบกับขนาดที่ได้กำหนดไว้เป็นมาตรฐานแล้วจึงแปรผลการทดสอบว่าเชื้อไวต่อยาหรือดื้อต่อยา ขั้นตอนการทำ Sensitivity test นี้ทำตามวิธี Standard paper disc method โดย Kirby Bauer

ผลการทดสอบ

ตารางที่ 1 ความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ปี พ.ศ. 2524

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยา Disc/mcg	จำนวนสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดสอบคิดเป็นเปอร์เซ็นต์	
			ได้ผล	ไม่ได้ผล
Ampicillin	10	17	11.8	88.2
Cephalothin sod.	30	16	6.3	93.7
Co–trimoxazole	23.75 : 1.25	27	59.3	40.7
Chloramphenicol	30	21	66.7	33.3
Streptomycin	10	22	9.1	90.9
Kanamycin sulfate	30	8	25.0	75.0
Gentamycin	10	22	72.3	27.7
Colistin	10	21	38.1	61.9
Kanamycin–B	10	19	57.9	42.1

ตารางที่ 2 ความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ปี พ.ศ. 2525

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยา Disc/mcg	จำนวนพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดสอบคิดเป็นเปอร์เซ็นต์	
			ได้ผล	ไม่ได้ผล
Ampicillin	10	12	–	100
Cephalothin sod.	30	19	36.8	63.2
Cefamendol	30	22	54.5	45.5
Cefuroxime	30	23	60.8	39.2
Cefotaxime	30	19	68.4	32.6
Mecillinam	25	21	47.6	52.4
Co–trimoxazole	23.75 : 1.25	28	50.0	50.0
Chloramphenicol	30	31	74.2	25.8
Kanamycin sulfate	30	31	61.3	38.7
Gentamycin	10	33	87.9	12.1
Colistin	10	31	83.9	16.1
Tobramycin	10	34	73.5	26.5
Sissomicin	10	30	73.3	26.7
Kanamycin A	30	13	92.3	7.7

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากผู้มีอาการและไม่มีอาการ ที่อาศัยอยู่ที่ หมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม–กุมภาพันธ์ 2526

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยา Disc/mcg	จำนวนสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดสอบคิดเป็นเปอร์เซ็นต์	
			ได้ผล	ไม่ได้ผล
Pen G sod.	10 unit	14	–	100
Ampicillin	10	14	–	100
Cefotaxime	30	14	100	–
Vibramycin		14	100	–
Kanamycin A	30	14	100	–
Chloramphenicol	30	14	93	7
Co–trimoxazole	23.75:1.25	14	86	14
Tobramycin	10	14	100	–
Kanamycin sulfate	30	14	93	7
Kanamycin B	30	14	100	–
Gentamycin	10	14	86	14
Colistin	10	14	86	14
Nalidixic acid	30	14	100	–
Nitrofurantoin	300	14	93	7
Sisomycin	30	14	100	–

ตารางที่ 4 ความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากน้ำ และปลาที่พบตามแม่น้ำท่าจีน (บริเวณวัดไร่ขิง) คลองบางเตย จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม–กุมภาพันธ์ 2526

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยา Disc/mcg	จำนวนสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดสอบคิดเป็นเปอร์เซ็นต์	
			ได้ผล	ไม่ได้ผล
Pen G sod.	10 unit	16	–	100
Ampicillin	10	16	–	100
Oxacillin	1	16	–	100
Mecillinam	24	16	94	6
Cefotaxime	30	16	100	–
Kanamycin A	30	16	100	–
Vibramycin	30	16	100	–
Erythromycin	15	16	100	–
Sisomycin	10	16	94	6
Colistin	10	16	100	–
Gentamycin	10	16	100	–
Kanamycin B	10	16	87	13
Kanamycin sulfate	30	16	100	–
Chloramphenicol	30	16	100	–
Co–trimoxazole	23.75:1.25	16	94	6
Tobramycin	10	16	100	–

ตารางที่ 5 ความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้เป็นโรคระบาดตาย 88 สายพันธุ์ (จากรายงานของสัตวแพทย์) ม.ค.–ก.พ. 2526

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยา Disc/mcg	จำนวนสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดสอบคิดเป็นเปอร์เซ็นต์	
			ได้ผล	ไม่ได้ผล
Ampicillin	10	88	–	100
Bacitracin	0.4 unit	88	–	100
Carbenicillin	100	88	0.03	99.97
Chloramphenicol	30	88	87.5	12.5
Erythromycin	15	88	67	33
Gentamycin	10	88	100	–
Kanamycin	30	88	69	31
Lincomycin	2	88	–	100
Neomycin	30	88	88.6	11.4
Nitrofurantoin	300	88	95.4	4.6
Polymyxin B	300 unit	88	61	3.9
Streptomycin	10	88	86	14
S. diazine	0.25	88	77.9	22.1
S. thiazole	0.25	88	73.8	26.2
Tetracycline	30	88	75	25
S. methoxazole + Trimethoprim	23.75:1.25	85	98.8	1.2

บทวิจารณ์

ผลการทดสอบจากตารางที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย ซึ่งได้แก่ เลือด หนองและอุจจาระของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในปี พ.ศ. 2524 และ พ.ศ. 2525 ปรากฏว่าเชื้อดื้อยาพอสมควร เช่น Chloramphenicol ใช้ได้ผลเพียง 66.7% ในปี พ.ศ. 2524 และได้ผลเพียง 74.2% ในปี พ.ศ. 2525 Ampicillin ได้ผลเพียง 11.8% ในปี พ.ศ. 2524 และไม่ได้ผลในปี พ.ศ. 2525 Cephalothin sodium ก็ใช้ได้ผลน้อยคือ 6.3% ในปี พ.ศ. 2524 และเพียง 36.8% ในปี พ.ศ. 2525 สำหรับยาอื่น ๆ ก็มีรูปแบบการดื้อยาตามตารางดังกล่าว ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะมาก่อนโดยซื้อยารับประทานเอง หรือจากแพทย์ตามคลินิค ขนาดของยาอาจจะไม่เพียงพอที่จะใช้ทำลายเชื้อ หรือการให้ยาอาจจะไม่นานพอ ทำให้ไม่หายจากโรคจึงมาโรงพยาบาล เชื้อที่แยกได้จึงให้ลักษณะของความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะเป็นแบบนี้

จากตารางที่ 3 เป็นเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากผู้อาศัยในพื้นที่ที่ปลาเป็นโรคระบาดตาย และเป็นกลุ่มผู้ที่มีโอกาสติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติได้มาก อาจจะติดเชื้อโดยไม่มีอาการแสดงของโรค จะเห็นได้ว่าเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในกลุ่มนี้ จะมีความไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นส่วนมาก เช่น Chloramphenicol ก็ใช้ได้ถึง 93% Co-trimoxazole ใช้ได้ 86% เช่นกัน ถ้าเทียบกับสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยจากโรงพยาบาลแล้วจะเห็นว่ามีความแตกต่างกันในเรื่องความไวของเชื้อต่อยาเหล่านี้มาก ทั้งนี้เนื่องจากผลการใช้ยาไม่เหมาะสม และถูกต้องตามขนาดของยาที่ใช้ของผู้ป่วยก่อนมาโรงพยาบาลนั่นเอง จึงทำให้เชื้อมีความไวต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ลดลง

ตารางที่ 4 แสดงความไวของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ คือ แม่น้ำท่าจีนและคลองบางเตย และได้จากแผลจากปลาที่ตายตามแม่น้ำ ปรากฏว่า

เชื้อมีความไวต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ มาก Chloramphenicol ใช้ได้ผล 100% Co–trimoxazole ใช้ได้ 94% ซึ่งเป็นข้อแตกต่างจากสายพันธุ์ที่แยกได้จากกลุ่มคนที่อาศัยอยู่ที่ตำบลบางเตย อ. สามพราน ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากตัวยา Chloramphenicol และ Co–trimoxazole เป็นยาที่หาซื้อได้ง่าย จึงมักใช้บ่อย ๆ ในกรณีที่กลุ่มคนเหล่านี้ไม่สบายด้วยโรคอื่น ๆ ทำให้เชื้อบัคเตรีอื่น ๆ ในตัวเกิดการดื้อยา แล้วถ่ายทอดการดื้อยานี้ให้เชื้อ *Aeromonas hydrophila*

ตารางที่ 5 เป็นผลการทดสอบความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกได้จากบ่อปลาของเกษตรกร (รายงานของหน่วยจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) พบว่าเชื้อที่แยกได้จากปลาที่เป็นแผล และน้ำในบ่อเลี้ยงปลา มีความไวต่อยาปฏิชีวนะแตกต่างไปจากตารางที่ 4 ที่เป็นเชื้อที่แยกได้จากปลาและน้ำตามธรรมชาติ จะเห็นได้ว่า เชื้อไวต่อยา Chloramphenicol 87.5% ต่อ Erythromycin 67% Kanamycin 69% Neomycin 88.6% S. diazine 77.9% S. thiazole 73.8% etc. จากรูปแบบความไวของเชื้อต่อยาที่แตกต่างไปในทางที่ใช้ไม่ได้ผลเพิ่มขึ้น ทำให้เข้าใจว่าอาจจะมีการใช้ยาปฏิชีวนะของเกษตรกรต่อปลาที่เลี้ยงไว้ไม่ถูกต้อง ไม่เหมาะสม จึงเกิดมีปัญหาเรื่องดื้อยาเกิดขึ้น เมื่อเทียบกับเชื้อที่ไม่ได้รับยามาก่อนตามตารางที่ 4

สรุป

จากการศึกษารูปแบบของความไวของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* สายพันธุ์ที่แยกได้จากธรรมชาติ จากกลุ่มคนที่ไม่มีอาการ จากผู้ป่วยตามโรงพยาบาล และจากบ่อเลี้ยงปลาของเกษตรกรที่มีโรคปลาระบาด พบว่ามีความแตกต่างกันในเรื่องความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ เชื้อที่แยกได้ตามแหล่งธรรมชาติจะมีความไวของเชื้อต่อยามากกว่าสายพันธุ์ที่แยกได้จากคนที่ไม่มีอาการ

และพบว่าเชื้อที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาของเกษตรกรมีความไวต่อยาปฏิชีวนะลดลงเช่นเดียวกับความไวของเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยตามโรงพยาบาล

ซึ่งผลของการศึกษาในเรื่องนี้ พอจะได้ข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาโรคติดเชื้อต่าง ๆ รวมทั้งโรคติดเชื้อจาก *Aeromonas hydrophila* ด้วยว่า ต้องใช้ยาปฏิชีวนะให้ถูกต้อง เหมาะสม และถูกวิธีไม่ว่าผู้ใช้นั้นจะเป็นบุคคลทางการแพทย์ แพทย์ หรือเกษตรกร ก็ตาม มิฉะนั้นจะพบว่าความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ จะลดลง และเชื้อจะดื้อยาถึงที่สุด ซึ่งจะเป็นปัญหาต่อไปเกี่ยวกับการรักษาโรค และการควบคุมโรคไม่ให้ระบาด

เอกสารอ้างอิง

1. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., and Turck M. (1966) Antibiotic Susceptibility Testing by Standardized Single Disk Method. Am. J. Clin. Pathol., 53, 149.

2. รายงานผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยา โดยรองศาสตราจารย์นายสัตวแพทย์เกรียงศักดิ์ พูนสุข หน่วยจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาเพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในปลาช่อน โดย ใช้ยาต้านจุลชีพ

เกรียงศักดิ์ สายธนู

เกรียงศักดิ์ พูนสุข

หน่วยวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ผลการศึกษาเพื่อป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในปลาช่อน โดยใช้ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agents) 6 ชนิด คือ คลอแรมเฟนนิคอล นีโอมัยซิน เตตราซัยคลิน อีริโทรมัยซิน ไนโตรฟูแรนโตอิน และ พีวลาโซลิโดน ยาที่ทดลองทุกสูตรได้ผสมกับวิตามินและสารเร่งการเจริญเติบโต (U.G.F.) สูตรยาที่ผสมแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มี 6 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วยยาต้านจุลชีพ 1 ชนิด กลุ่มที่ 2 มี 5 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วยยาต้านจุลชีพ 2 ชนิด และ กลุ่มที่ 3 มี 4 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วยยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด ปรากฏว่ายาทุกสูตร ยกเว้นสูตรยาที่มีคลอแรมเฟนนิคอลชนิดเดียวสามารถป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อนี้ได้ โดยประสิทธิภาพของสูตรยากลุ่มที่ 3 จะดีที่สุด รองลงไปคือสูตรยากลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 1 ตามลำดับ

ความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพปรากฏว่า กลุ่มเริ่มการศึกษาทดลองยาเชื้อจะต้านยาค่อนข้างมากโดยเฉพาะในกลุ่มซัลฟา หลังการทดลองยาปรากฏว่า

เชื้อที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรคจะต้านยาเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่เชื้อที่แยกได้จากน้ำและดินจะต้านยาน้อยกว่าเชื้อจากปลาช่อนทั้งก่อนและหลังการทดลองยา

ปริมาณของเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในน้ำและดินในบ่อปลาที่เป็นโรคจะมีปริมาณของเชื้อมากกว่าในคลองชลประทาน สำหรับรายละเอียดต่าง ๆ ได้แสดงและวิเคราะห์ไว้ในรายงานฉบับนี้แล้ว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The Prophylactic and Therapeutic Studies of Antimicrobial Agents to the *Aeromonas hydrophila* Infection in Snakehead Fish (*Ophicephalus striatus*)

Kriengsag Saitanu
Kriengsak Poonsuk

Division of Microbiology, Department of Veterinary Pathology
Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

Abstract

The prophylactic and treatment trials of six antimicrobial agents :- chloramphenicol, neomycin, tetracyclin, erythromycin, nitrofurantoin and furazalidone, to the *Aeromonas hydrophila* infection in snakehead fish (*Ophicephalus striatus*) were studied. The tested drugs were specifically prepared, mixed with vitamin premix and unidentified growth factory. They were divided into 3 main groups. The first group, 6 formulae, was composed of single antimicrobial agent. While the second and third groups, 5 and 4 formulae in each group, were two and three agents combined respectively.

The results indicated that all tested drugs except the single chloramphenicol formula were effective. The three combined drugs formulae in the third group were more effective than the second and first group.

The isolated strains of *Aeromonas hydrophila* from infected fishes before the experiment were highly resistance to the antimicrobial agents especially to sulfas. After the termination of the experiment, the drug resistant of the organisms from fishes were slighly increased. Contradictory, the strains isolated from water and mud of the fish ponds were more sensitive to the chemical agents than those strains isolated from infected fishes before and after the experiment.

The results of the enumeration of *Aeromonas hydrophila* in the diseased fish ponds and in the irrigation canals were slightly different. The details were illustrated and discussed in the report.

คำนำ

เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในน้ำตามธรรมชาติทั่วไป (Fliermans et al 1977, Hanson et al 1977, Hazen et al 1978, Seidler et al 1980) สัตว์น้ำบางชนิดอาจมีเชื้อนี้ตามลำไส้ของผิวหนังโดยไม่ทำให้เกิดโรค (Trust 1975, Trust and Sparrow 1974) เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อนี้ทำให้เกิดโรคในปลา กบ และงู เป็นต้น (Bullock et al 1970, Esterabadi et al 1973, Hird et al 1981, Larson and Jensen 1977, Plum 1975, Shotts et at 1972)

อุบัติการการเกิดโรคซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อนี้ในสัตว์ในประเทศไทยมีรายงานครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2519 (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2519) โดยพบว่าเชื้อนี้ทำให้เกิดโรคในสุกร ชะนี และปลาดุก โดยเฉพาะในปลาดุกมีอัตราการตายสูงถึง 20% หลังจากนั้นก็มีรายงานการเกิดโรคในปลาชนิดต่าง ๆ เช่น ปลาช่อน ปลาไหล ปลาคาร์บ และกบ เป็นต้น (เกรียงศักดิ์ และคณะ 2522, 2525, เกรียงศักดิ์ และเกรียงศักดิ์ 2523,[n] เกรียงศักดิ์ และ โสมทัต 2525, วารินทร์ และ เกรียงศักดิ์ 2522, โสมทัต และคณะ 2525, อัคนี และคณะ 2522) เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า จัดเป็นพวก Opportunistic pathogen โดยจะพบในคนป่วยที่เป็นโรคเรื้อรังหรือระบบสร้างภูมิคุ้มกันเสียอยู่ก่อนแล้ว (Davis et al 1978, Ketover et al 1973, Slotnick 1970, Von Graevenitz and Mensch 1968, Washington 1972) แต่อย่างไรก็ตามรายงานเกี่ยวกับการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อนี้เป็นสาเหตุแรก (Primary pathogen) ก็มีเป็นจำนวนมากเช่นโรคติดเชื้อที่แผล ตา อุจจาระร่วง เป็นต้น (Feaster et al 1978, Hanson et al 1977, Joseph et al 1979, Sanyal et al 1975) สำหรับในประเทศไทยมีรายงานเกี่ยวกับโรคติดเชื้อมีหลายราย เช่น Septicemia และการติดเชื้ออีกหลายแบบ (อมร และคณะ 2522, วิษณุ

และ สมหวัง 2524, ประสิทธิ์ และคณะ 2526) โดยเฉพาะทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง ซึ่งในระยะ 2–3 ปีที่ผ่านมานี้พบคนป่วยมากขึ้นอย่างน่าสังเกต (สันติสุข และคณะ 2525, Kalnauwakul and Rulanargsa 1983, Mansuwan et al 1983, Nilakul et al 1983, Supavej et al 1983, Sutra et al 1983)

ในระยะเวลาระหว่างกลางปี 2525 ถึงต้นปี 2526 ได้เกิดโรคระบาดติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในปลาน้ำจืดเกือบทั่วประเทศ ปลาที่พบว่าเป็นมีหลายชนิด เช่น ปลาช่อน ปลาชะโด ปลาบู่ ปลาตะเพียน ปลาสลิด ปลานิล ปลาไหล ปลากะดี่ ปลากราย ปลาดุก และปลาหลด นอกจากนี้ ยังมีปลาทะเลบางชนิด เช่น ปลากระบอกก็เป็นโรคติดเชื้อนี้ด้วย โดยปลาที่เป็นโรคจะพบได้ทั่วไปทั้งในบ่อเลี้ยง คลองชลประทาน แม่น้ำ ลำคลอง และเป็นที่น่าสังเกตว่าปลาช่อนจะเป็นโรครุนแรงที่สุด โดยลักษณะของโรค คือ จะเป็นแผลตามตัว บางตัวโรครุนแรงมากจะพบว่าปลาช่อน จะเป็นแผลจนหางขาดหรือแม้กระทั่งบริเวณหัวบางส่วนถูกทำลาย และตายในที่สุด

จังหวัดสุพรรณบุรี เป็น จังหวัดที่ได้รับความเสียหายมากที่สุดทั้งนี้เพราะมีการเลี้ยงปลาช่อนจำนวนมากซึ่งประมาณกันว่าไม่ต่ำกว่า 200 บ่อ คิดเป็นพื้นที่กว่า 150 ไร่ ช่วงระยะที่โรครุนแรงที่สุดในจังหวัดนี้ คือ ในเดือน ธันวาคม 2525 และ มกราคม 2526 โดยปรากฏว่ามีปลาช่อนที่เลี้ยงตายไปประมาณ 100 บ่อ จากการระบาดของโรคครั้งนี้มีข้อที่น่าสังเกตหลายประการ คือ

1. ในบริเวณที่มีการเลี้ยงปลาดุกและปลาช่อนใกล้ ๆ กัน ปรากฏว่าปลาช่อนจะเป็นโรคอย่างรุนแรง ส่วนปลาดุกจะเป็นโรคน้อยมาก บางแห่งไม่เป็นเลย ในขณะที่ปลาช่อนเป็นโรคและตายเป็นจำนวนมาก

2. อัตราการตายและอัตราการติดเชื้อจะสูงและรวดเร็วมากในจังหวัดสุพรรณบุรี ปรากฏว่าปลาช่อนที่เลี้ยงประมาณ 200 บ่อ จะเป็นโรคภายใน 1

เดือน ในระยะแรกของการระบาดบางบ่อปลาจะตายเกือบ 100% ภายใน 15 วัน และบางรายเพียง 3–7 วันเท่านั้น

3. จากประสบการณ์ของผู้รายงานและข้อมูลจากผู้เลี้ยงปลาซึ่งกล่าวถึงอัตราการเป็นโรคของปลา สรุปได้ว่าในบ่อปลาช่อนที่เป็นโรค ถ้าเห็นว่ามีปลาเป็นโรคลอยตัวขึ้นมาพอสังเกตเห็นได้และมีจำนวนไม่เกิน 50 ตัว โดยยังไม่มีปลาตายอัตราการเป็นโรคของปลาจะประมาณ 30–50% แต่ถ้ามีปลาเป็นโรคลอยตัวมากกว่า 50 ตัวและมีการตาย อัตราการเป็นโรคจะประมาณ 80–90%

4. บ่อปลาช่อนที่มีการระบายน้ำตลอดเวลาจะปรากฏว่าปลาเป็นโรคและตายเร็วกว่าบ่อปลาช่อนที่ปิดไม่ให้น้ำจากภายนอกเข้า

5. เจ้าของบ่อปลาได้ใช้สารเคมีและยาเป็นจำนวนมาก เช่น เกลือ ปูนขาว gentian violet, Malachite green, Diptherex กำมะถัน ใส่ไปในบ่อปลาและใช้ยาปฏิชีวนะต่อไปนี้ คือ คลอแรมเฟนนิคอล เตตราซัยคลิน พีวราโซลิโดน และซัลฟาผสมอาหารให้ปลากิน แต่ปรากฏว่าไม่สามารถยับยั้งการตายของปลาช่อนได้

เมื่อต้นเดือนมกราคม 2526 เกษตรกรเจ้าของบ่อปลาจาก จ. สุพรรณบุรี ได้มาติดต่อเพื่อขอคำแนะจากผู้วิจัย หลังจากที่ได้สอบประวัติการระบาดของโรคในบริเวณดังกล่าว ผู้วิจัยได้วิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดจากเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในระยะเวลาดังกล่าวและจากประสบการณ์ของผู้วิจัย จึงพอที่จะสรุปเพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยได้ว่า การระบาดของโรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ครั้งนี้จะต้องมีสาเหตุโน้มนำหลายประการ เช่น คุณภาพของน้ำเปลี่ยนแปลงไปในทางที่เหมาะสม ทำให้เชื้อเกิดการเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เพราะจากการตรวจนับจำนวนเชื้อนี้ปรากฏว่าพบเชื้อนี้เป็นจำนวนมาก บางตัวอย่างมีจำนวนเชื้อถึง 10^6 เซลล์/มล. (เกรียงศักดิ์ และคณะ กำลังเตรียมรายงาน) นอกจากนี้

อาจมีมลภาวะบางประการที่มีผลโดยตรงต่อการทำให้ปลาเกิดภาวะเครียด ซึ่งบางท่านก็กล่าวกันว่าสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลงหรือยาฆ่าวัชพืชอาจเป็นสาเหตุโน้มนำประการหนึ่งได้ แต่จากรายงานหลายฉบับอ้างว่าสารพิษดังกล่าวโดยเฉพาะพาราควอตไม่น่าจะเป็นสาเหตุโน้มนำทำให้เกิดโรคได้ (ประกิตติ์สิน และคณะ 2526, เบี่ยมศักดิ์ และคณะ 2526) และมีรายงานอีกว่าสารอินทรีย์พวกไนโตรเจนอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเชื้อและมีการติดโรคได้ง่าย (ประกิตติ์สิน และคณะ 2526, วีรวุฒิ และคณะ 2526)

จากข้อมูลที่ได้ในระยะเริ่มแรกของการวิจัย (มกราคม 2526) และจากประสบการณ์ของผู้วิจัยจึงมีความเชื่อมั่นว่าในระยะเร่งด่วนจะต้องหาวิธียับยั้งการตายของปลาช่อนในบ่อเลี้ยงก่อน และเห็นว่าการใช้ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agents) ผสมในอาหารให้ได้ระดับยาที่ถูกต้องและระยะการให้ยาเป็นเวลาพอสมควร ประกอบกับการติดตามดูผลอย่างใกล้ชิดจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด ที่จะควบคุมโรคและในขณะเดียวกันก็จะได้ข้อมูลอันจะเป็นประโยชน์อย่างมหาศาลในการที่จะใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อควบคุมโรคติดเชื้อนี้ในปลาต่อไป นอกจากนี้แผนงานดังกล่าวนี้จะช่วยให้ผู้เลี้ยงปลาที่กำลังประสบปัญหามีความอบอุ่นและกำลังใจด้วยเหตุที่ปัญหานี้เป็นปัญหาใหญ่ระดับชาติและต้องใช้งบประมาณจำนวนมาก ผู้วิจัยจึงได้พยายามติดต่อเพื่อของบสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ และก็เป็นโชคดีของเกษตรกรที่โครงการได้รับการสนับสนุน

เนื่องจากการระบาดของโรครวดเร็วและรุนแรงและมีอัตราการตายสูงดังที่ได้กล่าวมาแล้วประกอบกับจะต้องใช้เวลา 2–3 วัน เพื่อผสมสูตรยาทดลองตลอดจนการติดต่อซื้อยาต่าง ๆ ดังนั้นการจะทำการพิสูจน์ว่าเชื้อจะไวต่อยาอะไรก่อนลงมือปฏิบัติการจึงไม่สามารถกระทำได้ เพราะเวลาแต่ละชั่วโมงในระยะเวลาดังกล่าวมีความสำคัญต่อเกษตรกรเจ้าของบ่อปลามาก โดยปกติแล้วเชื้อแอร์โร-

โมนาส ไฮโดรฟีล่า จะไวต่อยาต้านจุลชีพมาก (สมใจ 2526, เกรียงศักดิ์ และเกรียงศักดิ์ 2521, Ketover et al 1973, Scotnick 1970) แต่ความไวของเชื้อที่แยกได้จากปลาเป็นโรค เช่น ปลาดุกด้าน ปลาไหล ปลาช่อน และปลาบู่ เป็นต้น ในประเทศไทย ปรากฏว่ามีการต้านยาค่อนข้างสูงและอัตราการต้านยาก็จะแตกต่างกันไปตามท้องที่และชนิดของปลาที่เป็นโรค (เกรียงศักดิ์ และเกรียงศักดิ์ 2521, 2523, เกรียงศักดิ์และคณะ 2522 เกรียงศักดิ์ และเกรียงศักดิ์ 2523) และจากรายงานของผู้วิจัยเองเมื่อเร็ว ๆ นี้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อที่แยกได้จากปลาบ่วย ในบ่อเดียวกันและแม้แต่เชื้อที่แยกได้จากปลาตัวเดียวกันแต่แยกได้จากอวัยวะต่าง ๆ กันก็จะมีการต้านยาแตกต่างกัน (เกรียงศักดิ์ และ โสมทัต 2525) ในต่างประเทศก็มีรายงานถึงผลของการใช้ยาปฏิชีวนะในบ่อเลี้ยงปลาโดยปรากฏว่าจะพบอัตราการต้านยาของเชื้อเพิ่มขึ้นและอาจพบว่าเชื้อที่ต้านยามี R– factor ด้วย (Aoki and Watanabe 1973, Watanabe et al 1971, 1972) ดังนั้นในการวิจัยผู้วิจัยจึงได้เลือกยาต้านจุลชีพที่มีการใช้น้อยและมีประสิทธิภาพดี ทั้งนี้โดยใช้ข้อมูลต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วเป็นแนวทางในการผสมยาทดลองครั้งนี้ โดยยาทดลองจะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ใช้ยาต้านจุลชีพชนิดเดียว

กลุ่มที่ 2 ใช้ยาต้านจุลชีพร่วมกันสองชนิด

กลุ่มที่ 3 ใช้ยาต้านจุลชีพสามชนิด

โดยยาทุกสูตรจะผสมวิตามินและสารเร่งการเจริญเติบโต

จุดประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อ

1. ศึกษาว่ายาต้านจุลชีพชนิดใดบ้างที่จะสามารถใช้รักษาและป้องกันโรคติดเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า

2. ศึกษาพฤติกรรมต่าง ๆ ของปลาช่อนที่ได้รับยา
3. ศึกษาวิธีการใช้ยาต้านจุลชีพผสมอาหารและระยะเวลาที่ควรใช้ยา
4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ
5. ศึกษาถึงจำนวนเชื้อในบ่อปลาว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่ทดลอง

การทดลองป้องกันและรักษาโรคแผลในปลาช่อน ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ครั้งนี้ได้กระทำที่ จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวนบ่อปลาช่อนที่ทดลอง 53 บ่อ แต่ละบ่อมีพื้นที่ประมาณ 20 × 40 เมตร และลึก 2–3 เมตร คิดเป็นน้ำหนักปลาทั้งหมดประมาณ 289.5 ตัน รายละเอียดของขนาดปลาที่ทดลองได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 1 ซึ่งแบ่งกลุ่มของปลาช่อนออกเป็น 3 ขนาด คือ ปลาช่อนขนาดใหญ่ (1–5 ตัว/กก.) ปลาช่อนขนาดกลาง (6–10 ตัว/กก.) และปลาช่อนขนาดเล็ก (มากกว่า 11 ตัว/กก.) บ่อปลาทั้ง 53 บ่อนี้มีเกษตรกรเป็นเจ้าของ 19 ราย ซึ่งบางรายอาจมีบ่อปลาซึ่งมีปลาขนาดเดียวก็ได้ รายละเอียดที่แสดงถึงจำนวนบ่อปลาตามขนาดต่าง ๆ ของปลาช่อนที่เกษตรกรครอบครองได้แสดงอย่างละเอียดใน ตารางที่ 2 ปรากฏว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ (10 ราย) จะมีบ่อปลาซึ่งมีปลาช่อนขนาดกลาง (32 บ่อ) ซึ่งคิดเป็นน้ำหนักปลาถึง 132 ตัน

ตารางที่ 1 จำนวนบ่อปลาช่อนจำแนกตามขนาดของปลา

	ปลาขนาดใหญ่	ปลาขนาดกลาง	ปลาขนาดเล็ก	รวม
จำนวนบ่อปลา	16	32	5	53
น้ำหนักปลา (ตัน)	141	132	16.5	289.5

ตารางที่ 2 รายละเอียดเกี่ยวกับจำนวนบ่อปลาของแต่ละเจ้าของ

จำนวนบ่อ / จำนวนเจ้าของ	ใหญ่[1]	กลาง[2]	เล็ก[3]	1+2	1+3	2+3	1+2+3
2	3	–	–	–	–	–	–
10	–	18	–	–	–	–	–
1	–	–	2	–	–	–	–
3	–	–	–	16	–	–	–
1	–	–	–	–	4	–	–
1	–	–	–	–	–	5	–
1	–	–	–	–	–	–	5
รวมเจ้าของ 19 ราย	รวมจำนวน 53 บ่อ						

1 = ปลาช่อนขนาดใหญ่ (1–5 ตัว/กก.)

2 = ปลาช่อนขนาดกลาง (6–10 ตัว/กก.)

3 = ปลาช่อนขนาดเล็ก (มากกว่า 11 ตัว/กก.)

การเลือกบ่อปลาทดลอง

ตารางที่ 3 ได้แสดงถึงการจำแนกบ่อปลาทดลองออกตามความรุนแรงของโรคโดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 เป็นปลาปกติ

กลุ่มที่ 2 ปลาเริ่มเป็นโรคโดยจะสังเกตเห็นว่ามีปลาเป็นโรคไม่เกิน 10 ตัวต่อวัน และยังไม่มีปลาตาย

กลุ่มที่ 3 ปลาเป็นโรครุนแรงปานกลาง เป็นบ่อปลาที่มีปลาเป็นโรคให้เห็นวันละไม่เกิน 50 ตัวและตายไม่เกิน 10 ตัวต่อวัน

กลุ่มที่ 4 ปลาเป็นโรครุนแรงมาก จะเป็นบ่อปลาที่มีปลาเป็นโรคลอยตัวให้เห็นจำนวนมากกว่า 50 ตัว และตายวันละไม่ต่ำกว่า 50 ตัว

ในการเลือกปลาทดลองผู้วิจัยตั้งใจว่าบ่อปลากลุ่มที่ 4 จะไม่ทดลองทั้งนี้เพราะปลาส่วนใหญ่จะเป็นโรคและไม่กินเหยื่อ การใช้ยาก็จะไม่ได้ผลเท่าที่ควร แต่เนื่องจากว่าเจ้าของบ่อปลาดังกล่าว ได้ขอร้องและอ้อนวอนด้วยความเชื่อว่าการทดลองจะได้ผลอยู่บ้างและเขาเหล่านั้นได้กล่าวว่าการทดลองของผู้วิจัยเป็นความหวังสุดท้าย ประกอบด้วยความสำนึกทางมนุษยธรรมและจริยธรรมของผู้วิจัยจึงจำเป็นต้องรวมเอาบ่อปลาในกลุ่มที่สี่เข้ามาทดลองด้วย ซึ่งมีถึง 20 บ่อ แต่ทั้งนี้ก่อนการทดลองผู้วิจัยได้พยากรณ์และชี้แจงให้เจ้าของบ่อปลาดังกล่าวได้ทราบแล้วว่าผลการทดลองในกลุ่มบ่อปลาดังกล่าวนี้มีความหวังน้อยมาก

ตารางที่ 3 จำแนกความรุนแรงของโรคในบ่อปลาช่อน

ความรุนแรงของโรค / ขนาดปลา	ปกติ	เริ่มเป็น	รุนแรงปานกลาง	รุนแรงมาก	รวม
ปลาขนาดเล็ก	–	1	2	2	5
ปลาขนาดกลาง	2	10	10	10	32
ปลาขนาดใหญ่	–	6	2	8	16
รวมบ่อปลาทดลอง	2	17	14	20	53

ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agents) ที่ใช้ทดลองและวิธีการผสมยาก่อนนำไปใช้

ยาต้านจุลชีพที่ทดลองครั้งนี้มี 6 ชนิด คือ คลอแรมเฟนนิคอล นีโอมัยซิน เตตราซัยคลิน อีริโทรมัยซิน ไนโตรฟูแรนโตอิน และพีวลาโซลิโดน ซึ่งก่อนนำไปใช้จะผสมกับ Vitamin Premix, Vitamin C. U.G.F. (Unidentified growth factor) รำข้าวละเอียดและหินแป้งขาว (Calcium carbonate)

Vitamin Premix	1	กก. ประกอบด้วย
Vitamin A.	160,000,000	I.U.
Vitamin B_1	75	gm.
Vitamin B_2	135	gm.
Vitamin B_{12}	0.27	gm.
Vitamin D_3	24,000,000	I.U.
Vitamin E	105	gm.
Vitamin K_3	15	gm.
Biotin	22.50	mg.
Calcium–D–Pantonate	207	gm.
Folic acid	12	gm.
Niacid	408	gm.

วิธีผสมยาก่อนนำไปใช้

จะผสมยาต้านจุลชีพข้างบน เป็นยาสูตรต่าง ๆ 15 สูตร โดยแบ่งเป็นกลุ่มและวิธีผสมดังนี้

ยากลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยยาต้านจุลชีพหนึ่งชนิดมี 6 สูตร

ยาสูตรที่ 1 ยา 1 กก. ประกอบด้วย

คลอแรมเฟนนิคอล	50 กรัม
วิตามิน พรีมิกซ์	5 กรัม

	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียดเติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 2	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	นีโอมัยซิน ซัลเฟต (60%)	77	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	หินแป้งขาว	26.67	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 3	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	อีริโทรมัยซิน (80%)	63	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 4	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	ไนโตรฟูแรนโตอิน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.

ยาสูตรที่ 5 ยา 1 กก. ประกอบด้วย

เตตราซัยคลิน	50	กรัม
วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
วิตามิน ซี	1.07	กรัม
U.G.F.	0.5	กก.
รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.

ยาสูตรที่ 6 ยา 1 กก. ประกอบด้วย

พีวลาโซนิโดน	50	กรัม
วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
วิตามิน ซี	1.07	กรัม
U.G.F.	0.5	กก.
รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.

ยากลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยยาต้านจุลชีพ 2 ชนิด มี 5 สูตร

ยาสูตรที่ 7 ยา 1 กก. ประกอบด้วย

คลอแรมเฟนนิคอล	50	กรัม
พีวลาโซลิโดน	50	กรัม
วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
วิตามิน ซี	1.07	กรัม
U.G.F.	0.5	กก.
รำข้าวละเอียดเติมเป็น	1	กก.

ยาสูตรที่ 8 ยา 1 กก. ประกอบด้วย

คลอแรมเฟนนิคอล	50	กรัม
อีริโทรมัยซิน (80 %)	63	กรัม

	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 9	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	นีโอมัยซิน ซัลเฟต (60 %)	77	กรัม
	เตตราซัยคลิน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	หินแป้งขาว	26.67	กรัม
	U.G.F.	0.5	กรัม
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 10	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	พีวลาโซลิโดน	50	กรัม
	ไนโตร ฟูแรนโตอิน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 11	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	อีริโทรมัยซิน (80 %)	63	กรัม
	เตราซัยคลิน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม

	U.G.F	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.

ยากลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยยาต้านจุลชีพ 3 ชนิดมี 4 สูตร

ยาสูตรที่ 12	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	คลอแรมเฟนนิคอล	50	กรัม
	อิรีโทรมัยซิน (80 %)	63	กรัม
	พีวลาโซลิโดน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 13	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	อีริโทรมัยซิน (80 %)	63	กรัม
	พีวลาโซลิโดน	50	กรัม
	เตตราซัยคลิน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 14	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	พีวลาโซลิโดน	50	กรัม
	นิโอมัยซิน ซัลเฟต (60%)	77	กรัม
	เตตราซัยคลิน	50	กรัม

	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	หินแป้งขาว	26.67	กรัม
	U.G.F	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.
ยาสูตรที่ 15	ยา 1 กก. ประกอบด้วย		
	อีริโทรมัยซิน (80 %)	63	กรัม
	ไนโตรฟูแรนโตอิน	50	กรัม
	เตตราซัยคลิน	50	กรัม
	วิตามิน พรีมิกซ์	5	กรัม
	วิตามิน ซี	1.07	กรัม
	หินแป้งขาว	26.67	กรัม
	U.G.F.	0.5	กก.
	รำข้าวละเอียด เติมเป็น	1	กก.

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดในเครื่องผสม พรีมิกซ์ ชนิดลูกเต๋า โดยผสมครั้งละ 200 กก. เดินเครื่องประมาณ 30 นาที เสร็จแล้วชั่งใส่ถุงพลาสติกถุงละ 5 กก. ซึ่งยาจำนวนนี้จะผสมกับอาหารให้แก่ปลาช่อนทดลอง จำนวน 5 ตัน

วิธีให้ยา

ก่อนอื่นต้องคำนวณหาน้ำหนักปลาช่อนที่มีอยู่ก่อน โดยใช้หลักการดังนี้ คือ

ต้องทราบว่าก่อนปลาเป็นโรคให้อาหารครั้งละกี่ กก. แล้วคำนวณจำนวนปลาว่าจะมีเท่าไหร่ โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

ปลาขนาดใหญ่ จะกินอาหารประมาณ 4–5 %

ปลาขนาดกลาง จะกินอาหารประมาณ 6–7 %

ปลาขนาดเล็ก จะกินอาหารประมาณ 8–10 %

เมื่อได้น้ำหนักปลาทั้งหมดที่มีอยู่ก่อนปลาเป็นโรคแล้ว จึงหักออกด้วยจำนวนปลาที่ตายไป ก็จะเป็นน้ำหนักปลาที่ยังมีอยู่ในบ่อ ชั่งปลาเบ็ด (ปลาชนิดต่าง ๆ ขนาดเล็กจากทะเล) ให้ได้น้ำหนักตามต้องการ ผสมยา (จำนวนที่ได้คำนวณไว้แล้ว) และรำข้าวละเอียด (ให้ได้ประมาณ 10 %) ในปลาเบ็ดให้ดีเสร็จแล้วนำไปโม่ให้ละเอียด แล้วจึงนำไปให้ปลากิน

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมติว่าบ่อปลามีปลาช่อนขนาดใหญ่ ก่อนเป็นโรคให้อาหารครั้งละ 400 กก.

∴ ปริมาณปลาที่มีอยู่ $= \frac{100}{5} \times 400 = 8{,}000$ กก. (8 ตัน)

ปลาเป็นโรคแผลและตายไปแล้ว ประมาณ 1,000 กก.

∴ ปริมาณปลาที่ยังมีชีวิตอยู่จริง $= 8{,}000 - 1{,}000 = 7{,}000$ กก.

สูตรยาทดลองจำนวน 5 กก. จะให้แก่ปลาช่อนทดลองจำนวน 5 ตัน

∴ จะต้องให้ยาทั้งหมด $= 7$ กก.

การให้อาหารผสมยาทดลองระหว่างปลาเป็นโรค จะลดปริมาณอาหารลงจากปกติ ประมาณ 35% และให้กินวันละ 1 ครั้ง

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนบ่อปลาที่ทดลองยาแต่ละสูตรให้แก่บ่อทดลอง หลังจากให้ยา จะติดตามดูผลอย่างใกล้ชิดภายใน 7 วัน โดยสังเกตพฤติกรรมต่อไปนี้เป็นข้อมูลตัดสินว่าปลาจะตอบสนองต่อยาหรือไม่

1. สังเกตปริมาณปลาเป็นโรคว่าเพิ่มขึ้นหรือไม่
2. จำนวนปลาตายว่าคงที่หรือลดลง
3. สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของปลาว่ามีเพิ่มขึ้นหรือไม่
4. สอบถามความพอใจจากผู้เลี้ยงปลาและเจ้าของบ่อปลา

ในกรณีที่ปลาไม่ตอบสนองต่อการทดลองจะเปลี่ยนยาหลังจากเริ่มทดลอง 5 วัน

ระยะการให้ยา

ผสมยาในอาหารให้ปลากินติดต่อกัน 15 วัน (โดยปกติแล้วการให้ยาเพื่อรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลามักจะให้กินยาประมาณ 5–15 วัน หรือจนกว่าปลาจะหายเป็นปกติ (Robert 1978, Wolf and Snieszko 1963) เมื่อครบ 15 วัน ต้องหยุดให้ยา 5 วันเนื่องจากติดขัดเรื่องงบประมาณ หลังจากนั้นจึงเริ่มให้ยาอีกครั้งโดยใช้ยาสูตรที่ 4 และ 7 ซึ่งรายละเอียดได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 โดยให้ยาติดต่อกัน 10 วัน

การตรวจหาเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า

ปลาช่อน

เก็บตัวอย่างปลาเป็นโรคแผลบ่อละ 3–8 ตัว ก่อนการทดลองยาและในวันที่ 11, 27, 38, 53, และ 65 หลังเริ่มทดลองยาใส่ถุงพลาสติกแล้วเก็บในถังแสตนเลสกันความร้อนภายในบรรจุน้ำแข็ง นำส่งห้องปฏิบัติการและทำการแยกเชื้อภายใน 24 ชั่วโมง ตัวอย่างปลาที่เป็นโรคจากแต่ละบ่อจะนำมาแยกเชื้อจำนวน 2 ตัว โดยแยกเชื้อจากแผล เลือดที่หัวใจ ตับ ม้ามและเหงือก วิธีการแยกเชื้อต้องปฏิบัติแบบ Sterile technique เพาะเชื้อบน Blood agar (B.A.) อบไว้ที่ 30°ซ. นาน 18 ชั่วโมง นำมาอ่านผลและแยกเอา colony ที่เป็น

ตารางที่ 4 จำนวนบ่อปลาที่ทดลองยาสูตรต่าง ๆ

สูตรยาเบอร์ / ขนาดของปลา	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	รวม	
																บ่อ	น้ำหนัก
ปลาขนาดเล็ก	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5	16.5
ปลาขนาดกลาง	2	1	2	2	2	-	2	2	1	1	1	5	7	1	3	32	132
ปลาขนาดใหญ่	1	-	-	-	-	-	3	2	-	2	-	2	2	3	1	16	141
รวมจำนวนบ่อปลา	4	1	2	2	3	-	5	4	1	3	1	7	9	4	7	53	
รวมน้ำหนักปลา(ตัน)	19.5	3.5	5	6.5	14.5	-	35	37.5	3	17.5	2.5	32.5	47	29	36.5	289.5	

ตารางที่ 5 รายละเอียดการเปลี่ยนแปลงยาสูตรต่าง ๆ หลังเริ่มทดลอง 15 วัน

ขนาดปลาทดลอง / เปลี่ยนเป็นสูตรยาที่ / จำนวนบ่อที่ทดลอง / สูตรยาที่เริ่มทดลอง		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	รวม
		4	1	2	2	3*	-	5	4*	1	3*	1	7	9*	4	7	53
ปลาขนาดเล็ก	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
	7	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
ปลาขนาดกลาง	4	1	1	-	2	-	-	-	1	1	-	-	4	3	1	1	15
	7	1	-	2	-	1	-	2	1	-	-	1	-	4	-	2	15
ปลาขนาดใหญ่	4	1	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	1	1	1	-	7
	7	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	1	-	2	1	7
รวม**	4	2	1	-	2	-	-	2	1	1	1	-	4	4	2	4	25
	7	2	-	2	-	2	-	3	2	-	1	1	2	4	2	3	24

* จำนวนบ่อปลาที่ทดลองด้วยสูตรยาเหล่านี้ หยุดการทดลอง 1 บ่อ

** จำนวนบ่อปลาที่เปลี่ยนสูตรยาทั้งหมดจำนวน 49 บ่อ

A. hydrophila มาทำให้บริสุทธิ์บน B.A. ลักษณะโคโลนีของเชื้อนี้บน B.A. จะเป็นลักษณะเฉพาะมาก คือ จะฮีโมลัยส์เม็ดเลือดแดง โคโลนี จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1–3 มม. กลมขอบเรียบ นูนและใส หลังจากที่ทำให้เชื้อบริสุทธิ์ก็จะทำการพิสูจน์ว่าเป็นแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า หรือไม่ โดยใช้วิธีของเกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์ (2523 ข.) Cowan (1974) และ Nygaard et al (1970)

น้ำและดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำและดินจากบ่อปลาช่อนที่ทดลองยา จำนวน 4 บ่อ คือบ่อเบอร์ เอ.–2, เอ.–4, เอ.–7, เอ.–9 และ เอ.–21 ซึ่งทดลองยาเบอร์ 15, 14, 12, 13 และ 13 ตามลำดับ และเก็บตัวอย่างน้ำและดินจากคลองชลประทานหนึ่งแห่ง การเก็บตัวอย่างจะเก็บในวันที่ 0, 1, 3, 5, 10, 15, 23, 37, 52, และ 65 วัน หลังเริ่มทดลองยา น้ำจะเก็บใส่ขวดสีชาขนาด 5 ลิตร เก็บน้ำใต้ผิวน้ำประมาณ 30 ซม. ริมบ่อ ดินจะเก็บบริเวณเดียวกันใส่ขวดสีขาวจุ 500 มล. ภาชนะทั้งสองที่ใช้เก็บตัวอย่างน้ำและดินจะทำการฆ่าเชื้อก่อนโดยใช้ autoclave อุณหภูมิ 121°ซ. นาน 15 นาที ขวดที่เก็บตัวอย่างแล้วจะเก็บไว้ในถังสแตนเลสกันความร้อน ภายในบรรจุน้ำแข็ง แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการและจะทำการตรวจหาเชื้อภายใน 24 ชั่วโมง

การตรวจนับและแยกเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในน้ำปฏิบัติดังนี้ เจือจางน้ำโดยวิธี 10 fold dilution ด้วยน้ำเกลือปกติให้ได้ถึง 10^{-4} เสร็จแล้วใช้พาสเตอร์ไปเปต 1 ml ดูดหลอดที่เจือจาง 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} มาหลอดละ 0.1 มล. Spread บน B.A. นำไปอบในตู้เพาะเชื้อ 30°ซ. นาน 18 ชั่วโมง อ่านผลโดยนับจำนวนโคโลนีที่เป็นแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า แล้ว Subculture

โคโลนีที่สงสัยมา 2 โคโลนีทำการพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อนี้จริง โดยปฏิบัติดังข้างบน หลังจากนั้นจะคำนวณว่ามีเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่าอยู่ในตัวอย่างเท่าไร

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเชื้อ

นับจำนวน โคโลนี ที่สงสัยว่าเป็น แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ได้ 8 โคโลนีใน dilution 10^{-3} และหลังจากที่ได้พิสูจน์เชื้อจำนวน 2 โคโลนี ปรากฏว่าเป็นเชื้อนี้ทั้ง 2 โคโลนี ดังนั้นในน้ำตัวอย่างจะมีเชื้อนี้ 8×10^4 เซลล์/มล. แต่ถ้าผลการพิสูจน์พบว่าเชื้อนี้เป็น 1 โคโลนี ก็จะรายงานผลว่ามีเชื้อนี้ในตัวอย่าง 4×10^4 เซลล์/มล. และถ้าพิสูจน์ว่าทั้งสองโคโลนีไม่ใช่เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ก็จะรายงานว่าไม่พบเชื้อนี้

สำหรับการตรวจนับและแยกเชื้อจากดิน จะปฏิบัติเช่นเดียวกันกับการตรวจน้ำทุกประการ ยกเว้นการเตรียม 10^{-1} ของตัวอย่างดินซึ่งปฏิบัติดังนี้ ชั่งดินมา 10 กรัม ใส่ลงไปในขวดที่มีน้ำเกลือปกติ 90 มล. เขย่าให้เข้ากันให้ดีแล้วจึงทำเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3}

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพต่าง ๆ

เชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรค ซึ่งแยกได้ก่อนการทดลองยาและในวันที่ 11, 27, 49, และ 65 หลังเริ่มทดลองยา น้ำและดินบางเสตรน จะทำการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 19 ชนิด ต่อไปนี้ คือ Ampicillin, Bacitracin, Carbenicillin, Chloramphenicol, Erythromycin, Gentamycin, Kanamycin, Lincomycin, Nalidixic acid, Neomycin, Nitrofurantoin, Polymyxin B, Piromidic acid, Streptomycin, Sulfadiazin, Sulfamonomethoxine, Sulfathiazole, Tetracyclin และ Trimethroprim + Sulfamethoxazole. โดยทำตามวิธี agar diffusion (Bauer et al 1966)

ผลการศึกษา

ในวันที่สองหลังเริ่มทดลองยา หยุดให้ยาในบ่อปลาซึ่งมีปลาช่อนขนาดใหญ่ จำนวน 2 บ่อ ทั้งนี้เพราะปลาเป็นโรคและตายเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ในระหว่างการทดลองยาในวันที่ 12–14 หลังเริ่มให้ยา อุณหภูมิของอากาศและน้ำในบ่อปลาลดลงมาก ปลาจะกินเหยื่อน้อยลง และอัตราการเป็นโรคเพิ่มขึ้น ตารางที่ 6 แสดงรายละเอียดของอัตราการตายของปลาช่อนที่ได้รับการรักษาและป้องกัน โดยจะเห็นว่าหลัง 7 วัน ที่เริ่มให้ยาทดลอง ปรากฏว่าอัตราการตายลดลงอย่างเห็นได้ชัด ยกเว้นในปลาช่อนขนาดใหญ่และเมื่อให้ยาไปได้ 15 วัน ต้องหยุดให้ยาทุกบ่อเป็นเวลา 5 วัน ทั้งนี้เนื่องจากอุปสรรคด้านงบประมาณ หลังจากนั้นจึงเริ่มให้ยาใหม่โดยเปลี่ยนเป็นยาเบอร์ 4 และ 7 ซึ่งรายละเอียดการเปลี่ยนแปลงยาได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 และให้ยาชุดหลังนี้ติดต่อกัน 10 วัน สำหรับผลการทดลองได้แสดงไว้อย่างละเอียดในตารางที่ 6 เพื่อวิเคราะห์ผลการให้ยาได้ผลดังนี้ คือ

ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงปริมาณปลาตายทั้งหมดก่อนการให้ยา

1. หลังเริ่มให้ยา 7 วัน อัตราการตายลดลงมาก

2. จากจำนวนบ่อที่ทดลองให้ยาปรากฏว่าปลาเป็นโรครุนแรงมาก 1 บ่อ หยุดให้ยา เจ้าของจับปลาในบ่อนั้นขาย

3. จากจำนวนบ่อที่ทดลอง 2 บ่อ เป็นปลาที่ไม่เป็นโรคหนึ่งและตลอดการใช้ยาปลาในบ่อนี้ไม่ตาย

4. หยุดให้ยา 1 บ่อ เพราะปลาเป็นโรคมาก ปริมาณปลาตายในบ่อนี้ในสัปดาห์ต่อไปไม่ได้นำมาแสดง

5. เนื่องจากเจ้าของบ่อปลาให้ยาเพียงครั้งหนึ่งที่กำหนด ดังนั้นการใช้ยารักษาในปลาบ่อหนึ่งจึงไม่ได้ผลจึงหยุดให้ยา และเจ้าของจับปลาขายหมด

ตารางที่ 6 แสดงอัตราการตายของปลาช่อนบ่วยระหว่างและหลังจากการทดลองรักษาและป้องกันด้วยยาต้านจุลชีพ

สูตรยาเบอร์	ปลาช่อนทดลอง			ปริมาณปลาตาย (ก.ก.) หลังจากทดลองยา (สัปดาห์)									รวม
	ขนาดปลา	จำนวนบ่อ	น้ำหนัก (ตัน)	1	2	3	4	6	8	10	12	14	
1	ขนาดเล็ก	1	2.5	200 (1,000)	120[1]	225	120	140	40	10	0	0	855
	ขนาดกลาง	2	9	(20)[9]	4	20	105	2[2]	0	0	0	0	140
	ขนาดใหญ่	1	8	105 (250)	20[1]	2,250	2,000	1,500	500	50	0	0	6,425
2	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	1	2.5	80 (200)	300	550	200	50	10	0	0	0	1,190
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	2	5	150[3] (500)	200	100	100	150	100	0	0	0	800
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	2	6.5	550 (1500)	550	650	1,100[4]	50	25	0	0	0	2,925
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สูตรยาเบอร์	ปลาข่อนทดลอง			ปริมาณปลาตาย (ก.ก.) หลังจากทดลองยา (สัปดาห์)									รวม
	ขนาดปลา	จำนวนบ่อ	น้ำหนัก (ตัน)	1	2	3	4	6	8	10	12	14	
5	ขนาดเล็ก	1	4	60 (120)	0	750	550	1,000	400	20	5	0	2,785
	ขนาดกลาง	2	10.5	356 (202)	3^{5}	1	0	0	0	0	0	0	360
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	2	7	355 (800)	350	1,250	400	250	120	100	0	0	2,825
	ขนาดใหญ่	3	28	207 (505)	107	110	10^{4}	20	20	0	0	0	464
8	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	2	7.5	600 (2500)	350	150	120^{4}	0	0	0	0	0	1,220
	ขนาดใหญ่	2	30	70 (250)	35	1,200	650	2,000	1800	100	50	0	5,905

^{6}

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สูตรยาเบอร์	ปลาข่อนทดลอง			ปริมาณปลาตาย (ก.ก.) หลังจากทดลองยา (สัปดาห์)									รวม
	ขนาดปลา	จำนวนบ่อ	น้ำหนัก (ตัน)	1	2	3	4	6	8	10	12	14	
9	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ขนาดกลาง	1	3	13 (12)	10	30	10	5	0	0	0	0	58
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	1	3.5	350 (800)	1,000[5]	-	-	-	-	-	-	-	1,350
	ขนาดใหญ่	2	14	507 (2512)	1,007[2]	5	5	5	0	0	0	0	1,529
11	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	1	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ขนาดใหญ่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	5	19.5	2,656 (2301)	652[7]	651	601	700	435	100	0	0	5,795
	ขนาดใหญ่	2	13	435 (800)	310	2,250	2,000[4]	1,500	50	10	0	0	6,555

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สูตรยา เบอร์	ปลาซ่อนทดลอง			ปริมาณปลาตาย (ก.ก.) หลังจากทดลองยา (สัปดาห์)									รวม
	ขนาดปลา	จำนวนบ่อ	น้ำหนัก (ตัน)	1	2	3	4	6	8	10	12	14	
13	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	7	31	1,617 (6,110)	954	1,380	765	1,195	500	105	50	0	6,566
	ขนาดใหญ่	2	16	590 (100)	500	500	200	200	200	50	50	0	2,290
14	ขนาดเล็ก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ขนาดกลาง	1	5	150 (200)	150	200	200	200	100	100	50	0	1,150
	ขนาดใหญ่	3	24	72 (370)	95	80	40	40	30	30	0	0	387
15	ขนาดเล็ก	3	10	87 (233)	162	140	140	170	170	30	20	0	919
	ขนาดกลาง	3	18.5	365 (2,006)	106	32	21	10	10	10	0	0	574
	ขนาดใหญ่	1	8	105 (300)	50[1]	2500	1500	1000	500	150	50	0	5855
รวม	ขนาดเล็ก	5	16.5	347 (1353)	282	1,115	810	310	610	60	25	0	3,559
	ขนาดกลาง	32	132	7,251 (17151)	4,629	5034	3622	2612	1300	415	100	0	24963
	ขนาดใหญ่	16	141	2091 (5087)	2124	8845	6405	6255	3090	440	100	0	29410
รวมปริมาณปลาทั้งหมด		53	289.5	9689 (23591)	7035	15044	10837	10187	5,000	865	275	0	58932

6. แสดงปริมาณปลาตาย 1 บ่อ เพราะบ่อที่เหลือปลาเป็นโรคมาก เมื่อให้ยาไปได้ 2 วัน ก็หยุดให้ยาและจับปลาขาย

7. แสดงปริมาณปลาตาย 4 บ่อ บ่อที่เหลือหยุดให้ยาและจับปลาขาย

ยาสูตรที่ 1 คลอแรมเฟนนิคอล

หลังจากการเริ่มให้ยาไป 5 วัน ปรากฏว่ามีบ่อปลา 3 บ่อ ซึ่งเป็นบ่อปลาที่มีขนาดใหญ่ 1 บ่อ ปลาขนาดกลาง 1 บ่อ และปลาขนาดเล็ก 1 บ่อ ไม่แสดงอาการดีขึ้นโดยปริมาณปลาตายยังเท่าเดิม พฤติกรรมการกินอาหารและการดำรงชีพเหมือนเดิม เจ้าของบ่อปลาได้ขอร้องให้เปลี่ยนเป็นยาสูตรอื่น ผู้วิจัยจึงได้ให้ยาสูตรที่ 9 (นีโอมัยซิน + เตตราซัยคลิน) ซึ่งปรากฏว่าอาการดีขึ้น หลังจากที่หยุดยา 5 วัน และเริ่มให้ยาเบอร์ 4 และ 7 ปรากฏว่าในระยะแรกปลาป่วยและตายเพิ่มขึ้นอีก และในสัปดาห์ที่ 6 หยุดการทดลองในปลาขนาดกลาง 1 บ่อ และเจ้าของได้จับปลาในบ่อนี้ขายทั้งหมด ได้ปลาจำนวนประมาณ 2,000 กก. โดยปลาจะแสดงอาการเป็นโรคถึง 100 % ในสัปดาห์ที่ 12 หลังเริ่มให้ยา ปรากฏว่าไม่มีปลาเป็นโรคเลย ปริมาณปลาตายทั้งหมดระหว่างการทดลองยา จำนวน 7,420 กก.

ยาสูตรที่ 2 นีโอมัยซิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 1 บ่อ อัตราการตายไม่ลดลงตลอดการทดลอง แต่หลังจากเปลี่ยนเป็นยาสูตรที่ 4 ปรากฏว่าอัตราการตายลดลงและหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 9 ปริมาณปลาตายทั้งหมดจำนวน 1,190 กก.

ยาสูตรที่ 3 อีริโทรมัยซิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 2 บ่อ โดยเป็นการทดลองเพื่อป้องกัน 1 บ่อ ปรากฏว่าบ่อที่ทดลองเพื่อป้องกันโรค ไม่มีปลาเป็นโรคเกิดอีกเลย สำหรับ

บ่อที่เป็นโรคอัตราการตายในสัปดาห์ที่ 2 เพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 3 ซึ่งเริ่มเปลี่ยนยาสูตรที่ 7 ทั้งสองบ่อ หายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 9 ปริมาณปลาตายทั้งหมดจำนวน 800 กก.

ยาสูตรที่ 4 ไนโตรฟูแรนโตอิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 2 บ่อ และทั้ง 2 บ่อนี้ปลาเป็นโรครุนแรงมากโดยปรากฏว่าปลาทดลอง 1 บ่อ อัตราการตายเพิ่มขึ้น และหยุดให้ยาในสัปดาห์ที่ 4 ส่วนอีก 1 บ่อ อัตราการตายลดลงเรื่อยๆ และหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 9 ปริมาณปลาตายทั้งหมดจำนวน 2,925 กก.

ยาสูตรที่ 5 เตตราซัยคลิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดเล็ก 1 บ่อ ปลาช่อนขนาดกลาง 2 บ่อ ปรากฏว่าได้ผลดีมากโดย ในปลาขนาดเล็ก ในสัปดาห์ที่ 2 จะไม่มีการตายเลย แต่หลังจากที่ให้ยาครบ 15 วัน และหยุดให้ยา 5 วัน ปรากฏว่าปลาเป็นโรคและตายเป็นจำนวนมากทันที หลังจากเปลี่ยนเป็นใช้ยา เบอร์ 7 อัตราการตายไม่ลดลงเลยสำหรับการทดลองในปลาช่อนขนาดกลางไม่ได้ผล 1 บ่อ ทั้งนี้เพราะใช้ยาไม่ถึงขนาดกล่าวคือ ใช้ขนาดยาเพียงครึ่งหนึ่งของขนาดยาที่แนะนำ เจ้าของจึงหยุดให้ยาในสัปดาห์ที่ 2 และจับปลาขายหมด ส่วนปลาทดลองขนาดกลางอีก 1 บ่อ ก็ได้ผลดีมาก โดยลดอัตราการตายจาก 356 กก. ในสัปดาห์ที่ 1 มาเหลือเพียง 3 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 และในสัปดาห์ที่ 3 ซึ่งเปลี่ยนมาเป็นใช้ยาเบอร์ 7 ก็ตายเพียง 1 กก. และหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 4 รวมปริมาณปลาที่ตายทั้งหมด 3,145 กก.

ยาสูตรที่ 7 คลอแรมเฟนนิคอล + พีวลาโซลิโดน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 2 บ่อ ปลาช่อนขนาดใหญ่ 3 บ่อ ปรากฏว่าในปลาขนาดกลางได้ผลดี 1 บ่อ โดยอัตราการตายลดลงจาก 250 กก. ในสัปดาห์แรก เหลือเป็น 100 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 แต่หลังจากเริ่มให้ยาสูตรเก่า

ครั้งที่ 2 ปรากฏว่าอัตราการตายลดลงเล็กน้อยและหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 11 ส่วนการทดลองในปลาขนาดเดียวกันอีก 1 บ่อ ปรากฏว่าอัตราการตายเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 หายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 9 สำหรับการทดลองในปลาช่อนขนาดใหญ่ เป็นการป้องกันโรค 1 บ่อ ปรากฏว่าปลาไม่เป็นโรคตลอดการทดลอง ส่วนบ่อที่ 2 ปลาเพิ่งเป็นโรคปรากฏว่าได้ผลดีเช่นกัน ปลาหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 9 ทั้งสองบ่อนี้ใช้ยาเบอร์ 7 ตลอดการศึกษา ส่วนบ่อที่ 3 หลังจากเปลี่ยนเป็นยาสูตรเบอร์ 4 ก็หยุดยาในสัปดาห์ที่ 4 โดยปรากฏว่าอัตราการตายลดลงจาก 200 กก. ในสัปดาห์แรกเหลือเป็น 100 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 และหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 9 รวมปริมาณปลาตายทั้งหมด 3,289 กก.

ยาสูตรที่ 8 คลอแรมเฟนนิคอล + อีริโทรมัยซิน

ผลการทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 2 บ่อ ปรากฏว่าได้ผลดีมาก 1 บ่อ โดยลดอัตราการตายจาก 350 ในสัปดาห์ที่ 1 ลงเหลือ 100 ในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากให้ยาครั้งที่สอง โดยใช้ยาสูตรที่ 7 ปรากฏว่าปลาไม่ตายหรือเป็นโรค ในสัปดาห์ที่ 5 ส่วนการทดลองในปลาช่อนขนาดเดียวกันนี้อีกบ่อหนึ่งซึ่งปลาเป็นโรครุนแรงมาก ปรากฏว่าไม่ได้ผล ทั้งนี้เพราะอัตราการตายไม่ลดลง เมื่อให้ยาครั้งที่ 2 คือ ยาสูตรที่ 4 อัตราการตายก็ไม่ค่อยจะเปลี่ยนแปลงจึงงดยาในวันที่ 7 หลังเริ่มให้ยาครั้งที่ 2

สำหรับการทดลองในปลาช่อนขนาดใหญ่ จำนวน 2 บ่อ หยุดให้ยาในวันที่ 2 แล้วเริ่มให้ยา จำนวน 1 บ่อ ทั้งนี้เพราะปลาเป็นโรคจำนวนมาก ส่วนบ่อที่เหลือปรากฏว่าในสัปดาห์ที่ 2 อัตราการตายลดลง แต่จะตายเพิ่มขึ้นอย่างมากในสัปดาห์ที่ 3 และเมื่อเริ่มให้ยาครั้งที่ 2 คือ ยาเบอร์ 7 อัตราการตายยิ่งเพิ่มขึ้น และจะหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 13 รวมจำนวนปลาตายระหว่างการทดลอง 7,125 กก.

ยาสูตรที่ 9 นีโอมัยซิน + เตตราซัยคลิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง จำนวน 1 บ่อ ความรุนแรงของโรคปานกลางหลังจากให้ยาหนึ่งสัปดาห์ อัตราการตายจะลดลงจาก 13 กก. ในสัปดาห์แรกเหลือเป็น 10 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากหยุดยา 5 วัน ปรากฏว่าปลาป่วยและตายเพิ่มขึ้น 30 กก. ในสัปดาห์ที่ 3 เมื่อให้ยาครั้งที่ 2 คือยาสูตรที่ 4 ครบ 10 อัตรา การตายลดลงและปลาหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 7 จำนวนปลาตายทั้งหมด 68 กก.

ยาสูตรที่ 10 พีวลาโซลิโดน + ไนโตรฟูแรนโตอิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 1 บ่อ และปลาช่อนขนาดใหญ่ 2 บ่อ ความรุนแรงของโรคในปลาช่อนขนาดกลางรุนแรงมาก ปลาเป็นโรคมาก่อนที่จะรักษา 16 วันปริมาณปลาตาย 800 กก. หลังจากที่ให้ยาไป 1 สัปดาห์ ปลาตาย 350 กก. และตายเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 มีปริมาณปลาตายถึง 1,000 กก. เจ้าของจึงหยุดให้ยาและขายปลาที่เหลือไปทั้งหมด การให้ยาทดลองในบ่อดังกล่าวนี้ปรากฏว่าเจ้าของให้ยาไม่ถึงขนาด กล่าวคือให้ยาต่ำกว่าปริมาณที่กำหนดไว้ถึงเศษหนึ่งส่วนสอง สำหรับผลการทดลองในปลาช่อนขนาดใหญ่ ปรากฏว่าปลาช่อนที่เป็นโรคปานกลางได้ผลดี โดยในสัปดาห์ที่ 7 หลังเริ่มให้ยาปลาจะหายเป็นปกติ ส่วนอีก 1 บ่อ ปลาเป็นโรครุนแรงมากโดยในสัปดาห์แรกของการให้ยามีอัตราการตายถึง 500 กก. และในสัปดาห์ที่ 2 ตาย 1,000 กก. เจ้าของจึงหยุดให้ยาและขายปลาในบ่อนี้ทั้งหมด

ยาสูตรที่ 11 อีริโทรมัยซิน + เตตราซัยคลิน

ทดลองในบ่อปลาช่อนขนาดกลาง 1 บ่อ ปลายังไม่เป็นโรคปรากฏว่าตลอดการทดลองปลาไม่เป็นโรคเลย

ยาสูตรที่ 12 คลอแรมเฟนนิคอล + อีริโทรมัยซิน + พีวลาโซลิโดน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 5 บ่อ และในปลาช่อนขนาดใหญ่ 2 บ่อ ความรุนแรงของโรคในปลาช่อนขนาดกลาง รุนแรงมาก 4 บ่อ และรุนแรงปานกลาง 1 บ่อ ผลการทดลองปรากฏว่าต้องหยุดการให้ยาในสัปดาห์ที่ 2 1 บ่อ เพราะปลาเป็นโรคและตายมาก เจ้าของได้ขายปลาในบ่อนั้นทั้งหมด ส่วนการทดลองที่เหลือ 4 บ่อ ในสัปดาห์แรกของการให้ยามีปลาตาย 1,656 กก. และลดลงเหลือ 652 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากให้ยาครั้งที่ 2 ซึ่งให้ยาสูตรเบอร์ 4 ทั้งหมด อัตราการตายไม่เปลี่ยนแปลงในระหว่างให้ยา หลังจากหยุดยาในสัปดาห์ที่ 5 อัตราการตายจะลดลงและไม่มีการตายเลยในสัปดาห์ที่ 11 รวมปริมาณปลาตายทั้งหมดในการทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 5,795 กก. สำหรับผลการทดลองในปลาช่อนขนาดใหญ่ 2 บ่อ ปรากฏว่าลดอัตราการตายจาก 435 กก. ในสัปดาห์ที่ 1 ของการให้ยา เหลือ 310 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากหยุดยาไป 5 วัน และเริ่มให้ยาครั้งที่ 2 คือ สูตรที่ 4 และ 7 ปรากฏว่าปลาเป็นโรคมากขึ้นและอัตราการตายเพิ่มเป็น 2,250 กก. ในสัปดาห์ที่ 3 และ 2,000 กก. ในสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งในสัปดาห์ที่บ่อปลาที่ให้ยาเบอร์ 4 ในการให้ยาครั้งที่ 2 ก็จะหยุดการให้ยาและเจ้าของงดให้อาหารแก่ปลาด้วย ส่วนบ่อที่ยังให้ยาอัตราการตายจะลดลงและหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 11 รวมปริมาณปลาช่อนขนาดใหญ่ตาย 6,555 กก.

ยาสูตรที่ 13 อีริโทรมัยซิน + พีวลาโซลิโดน + เตตราซัยคลิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 7 บ่อ และปลาช่อนขนาดใหญ่ 2 บ่อ การเป็นโรคในปลาช่อนขนาดกลางจะเป็นโรครุนแรงมาก จำนวน 4 บ่อ และเป็นโรครุนแรงปานกลาง 3 บ่อ ผลการทดลองปรากฏว่าลดอัตราการตายจาก 1,617 กก. ในสัปดาห์ที่ 1 ของการให้ยา เหลือเพียง 454 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 แต่หลังจากหยุดยา 5 วัน อัตราการตายจะเพิ่มขึ้นทันที เป็น 1,380 กก. ใน

สัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มให้ยาใหม่ครั้งที่ 2 โดยให้ยาสูตรที่ 4 จำนวน 3 บ่อ และยาสูตรที่ 7 จำนวน 4 บ่อ อัตราการตายจะลดลงและหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 13 รวมปริมาณปลาตาย 6,566 กก. ส่วนผลการทดลองในปลาช่อนขนาดใหญ่ ปรากฏว่าต้องหยุดให้ยาในวันที่ 3 จำนวน 1 บ่อ และเจ้าของได้จับปลาขายทั้งหมด ส่วนบ่อที่เหลือปลาเป็นโรครุนแรงมากเมื่อให้ยาปรากฏว่าอัตราการตายไม่เพิ่มขึ้นเมื่อให้ยาครบทั้งสองครั้ง และปลาหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 13 รวมปริมาณปลาตายในบ่อนี้ 2,290 กก.

ยาสูตรที่ 14 พีวลาโซลิโดน + นีโอมัยซิน + เตตราซัยคลิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดกลาง 1 บ่อ และปลาช่อนขนาดใหญ่ 3 บ่อ โดยปลาช่อนขนาดกลางเป็นโรครุนแรงมาก หลังจากให้ยาในสัปดาห์ที่ 1 ปรากฏว่าอัตราการตายไม่เปลี่ยนแปลงอาการทั่ว ๆ ไปดีขึ้น หลังจากหยุดให้ยาปลาจะเป็นโรคและตายเพิ่มขึ้นทันทีและเมื่อให้ยาครั้งที่ 2 คือ ยาสูตรที่ 4 ในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ปริมาณปลาตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย หลังจากนั้นปริมาณปลาตายจะลดลงและหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 13 สำหรับผลการทดลองในปลาช่อนขนาดใหญ่ 3 บ่อ ซึ่งความรุนแรงของโรคปานกลางปรากฏว่าอัตราการตายไม่เพิ่มขึ้น และในสัปดาห์ที่ 11 ไม่มีปลาตาย รวมปริมาณปลาตายทั้งหมด 1,537 กก.

ยาสูตรที่ 15 อีริโทรมัยซิน + ไนโตรฟูแรนโตอิน + เตตราซัยคลิน

ทดลองในปลาช่อนขนาดเล็ก 3 บ่อ ปลาช่อนขนาดกลาง 3 บ่อ และปลาช่อนขนาดใหญ่ 1 บ่อ ความรุนแรงของโรคในปลาช่อนขนาดเล็กจะเป็นโรครุนแรงมาก 1 บ่อ และเป็นโรครุนแรงปานกลาง 2 บ่อ ผลการทดลองปรากฏว่าบ่อที่มีปลาเป็นโรครุนแรงมากอัตราการตายไม่ลดลงเลย ยกเว้นในสัปดาห์แรกที่อัตราการตายลดลงและพฤติกรรมของปลาทั่ว ๆ ไปบ่งว่าดีขึ้น แต่ผลให้ยาในสัปดาห์ที่ 2 ปรากฏว่าปลาเป็นโรคและตายเพิ่มขึ้น ส่วนปลาเล็กอีก 2 บ่อ ได้

ผลดีมาก ในสัปดาห์ที่ 13 พบว่าปลาหายเป็นปกติ ผลการทดลองในปลาช่อนขนาดกลางพบว่า สามารถลดอัตราการตายจาก 365 กก. ในสัปดาห์แรกเป็น 106 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 และหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 11 สำหรับผลการทดลองในปลาใหญ่ ปรากฏว่าลดการตายของปลาจาก 105 กก. ในสัปดาห์ที่ 1 ลงเหลือ 50 กก. ในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากหยุดให้ยาและเริ่มให้ยาใหม่ครั้งที่ 2 คือ ยาสูตรที่ 7 ปรากฏว่าปลาเป็นโรคและตายเพิ่มขึ้นอย่างมากโดยสัปดาห์ที่ 3 และ 4 มีปลาตาย 2,500 และ 1,500 กก. ตามลำดับหลังจากนั้นอัตราการตายจะลดลงและหายเป็นปกติในสัปดาห์ที่ 13 รวมปริมาณปลาตายทั้งหมด 7,348 กก.

ตารางที่ 7 ได้แสดงผลสรุปการทดลองยาหลังเริ่มการให้ยา 15 วัน (ให้ยาครั้งที่ 1 รวม 14 สูตร) และ 30 วัน (ให้ยาครั้งที่ 2 โดยใช้ยาสูตรที่ 4 และ 7 ในวันที่ 20–30 หลังเริ่มการให้ยาครั้งแรก) โดยต้องหยุดการให้ยาใน 15 วัน หลังเริ่มให้ยาจำนวน 6 บ่อ เป็นปลาช่อนขนาดกลาง 3 บ่อ ปลาช่อนขนาดใหญ่ 3 บ่อ และระหว่าง 15–30 วัน หลังเริ่มให้ยา จำนวน 1 บ่อ เป็นปลาขนาดกลาง ทั้ง 7 บ่อนี้เจ้าของได้ขายปลาไปทั้งหมด นอกจากนี้หยุดให้ยาระหว่าง 15–30 วัน หลังเริ่มให้ยาครั้งแรก (อยู่ระหว่างการให้ยาครั้งที่ 2) จำนวน 4 บ่อ เป็นปลาช่อนขนาดกลาง 3 บ่อ ปลาช่อนขนาดใหญ่ 1 บ่อ ทั้ง 4 บ่อนี้งดให้อาหารด้วย

ผลการตรวจหาเชื้อจากอวัยวะต่าง ๆ ของปลาช่อนเป็นโรคแผล ซึ่งเก็บตัวอย่างหลังเริ่มทดลองยา 11–65 วัน จำนวน 5 ครั้ง ได้แสดงไว้ในตารางที่ 8 ปรากฏว่าพบเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่าในแผลมากที่สุดคือ 94 % (ยกเว้นเหงือกซึ่งทำการแยกเชื้อจากปลาช่อนเป็นโรค 5 ตัว และพบเชื้อนี้ทั้ง 5 ตัวอย่าง) รองลงไป คือ ที่ตับ เลือดที่หัวใจ และม้าม โดยพบจำนวน 82, 66 และ 43 % ตามลำดับ ปริมาณของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ซึ่งเก็บตัวอย่างก่อนการทดลองยา 1 ครั้ง และหลังการทดลองยา 9 ครั้ง จากคลองชลประทาน

(A–O) และบ่อปลาช่อนที่เป็นโรคแผล (A–2, A–4, A–7, A–9 และ A–21) พบว่าปริมาณเชื้อนี้ในน้ำจะมีน้อยกว่าในดิน และเชื้อในคลองชลประทานส่วนใหญ่พบน้อยกว่าในบ่อปลา ปริมาณเชื้อที่พบในน้ำคลองชลประทานสูงสุดคือ 7×10^{6} เซลล์/มล. ในดิน 2×10^{6} เซลล์/กรัม ในบ่อปลาช่อนเป็นโรค ปริมาณเชื้อสูงสุดในน้ำคือ 7×10^{6} เซลล์/มล. ในบ่อปลา A–2 และ A–4 ในดินพบเชื้อสูงสุดคือ 3×10^{6} ในบ่อปลา A–21 รายละเอียดการตรวจหาปริมาณเชื้อในน้ำและดินได้แสดงไว้ในตารางที่ 9

ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 19 ชนิด ของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ซึ่งแยกได้จากปลาช่อนเป็นโรคแผลก่อนการทดลองยา 57 เสตรน หลังการทดลองยา 11–65 วัน จำนวน 75 เสตรน และเชื้อจากน้ำและดินในบ่อปลาที่มีการทดลองยา จำนวน 56 เสตรน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 10 ซึ่งปรากฏว่าเชื้อทั้งหมดจะต้านต่อยา Ampicillin, Bactracin, Carbenicillin และ Lincemycin เชื้อที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรคแผลก่อนการทดลองยา หลังการทดลองยา 11–65 วัน และเชื้อจากบ่อปลาช่อนเป็นโรคแผล (น้ำและดิน) อะไรต่อ Chloramphenicol 58, 43 และ 79 % ตามลำดับ ไวต่ออีริโทรมัยซิน 67,60 และ 59 % ตามลำดับ ไวต่อเจนตามัยซิน 100 % ทั้งหมด ไวต่อ กานามัยซิน 77, 92 และ 93 % ตามลำดับ ไวต่อนาลิดิซิค เอซิด 100, 96 และ 98 % ตามลำดับ ไวต่อ นีโอมัยซิน 84, 83 และ 88 % ตามลำดับ ไวต่อไนโตรฟูแรนโตอิน 93, 85 และ 91 % ตามลำดับ ไวต่อโปลีมิคซิน บี 72, 93 และ 80 % ตามลำดับ ไวต่อ เสตรฟโตมัยซิน 33, 60 และ 32 % ตามลำดับ ไวต่อซัลฟาคัยอาซีน 40, 44 และ 68 % ตามลำดับ ไวต่อซัลฟาโมโนเมทธ๊อกซีน 40, 40 และ 74 % ตามลำดับ ไวต่อซัลฟาทัยอาโซล 46, 7 และ 20 % ตามลำดับ ไวต่อเตตราซัยคลิน 46, 40 และ 71 % ตามลำดับ ไวต่อซัลฟาเมทธ๊อกซาโซล +

ตารางที่ 7 สรุปผลการทดลองยาหลังเริ่มให้ยา 15 และ 30 วัน

ผลการทดลอง		ปลาขนาดเล็ก (5)		ปลาขนาดกลาง (32)		ปลาขนาดใหญ่ (16)	
		15	30	15	30	15	30
ดีขึ้น	หายเป็นปกติ	2	–	6	2	2	1
	มาก	1	1	6	12	1	2
	ปานกลาง	–	2	4	2	2	–
	เล็กน้อย	–	–	3	3	3	4
ไม่เปลี่ยนแปลง		–	–	3	1	2	1
เลวลง	มาก	–	2	3	4	3	2
	ปานกลาง	1	–	3	3	–	3
	เล็กน้อย	1	–	1	1	–	2
หยุดให้ยาก่อนครบกำหนด		–	–	–	3	–	1
หยุดการทดลองและจับปลาขายหมด		–	–	3	1	3	–
รวมจำนวนบ่อปลา		5	5	32	32	16	16

ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงจำนวนบ่อปลาที่ทดลอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ผลการตรวจหาเชื้อ **แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า** จากปลาช่อนเป็นโรคหลังจากเริ่มทดลองยา

วันที่หลังเริ่มทดลองยา	จำนวนปลา	แผล	เลือดจากหัวใจ	ตับ	ม้าม	เหงือก
11	8	6[1] (75)	6 (75)	7 (88)	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ
27	36	35 (97)	30 (83)	26/29 (90)	4/7 (57)	ไม่ได้ทำ
38	13	10/11[2] (91)	5 (33)	4/6 (67)	3/8 (38)	2/2 (100)
53	18	17 (94)	11 (61)	9/11 (82)	1/5 (20)	2/2 (100)
65	22	21 (95)	12 (55)	8/12 (67)	4/8 (50)	1/1 (100)
รวม	97	89/95 (94)	64 (66)	54/66 (82)	12/28 (43)	5/5 (100)

ตัวเลขในวงเล็บหมายถึง เปอร์เซ็นต์ ที่พบเชื้อ

1 = จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อจากตัวอย่างที่บ่งไว้ในช่องจำนวนปลา

2 = เศษหมายถึงจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ, ส่วนหมายถึงจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 ปริมาณของ **แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า** จากคลองชลประทานและบ่อปลาช่อนที่เป็นโรค

บ่อปลาช่อน / วันที่หลังจากการเริ่มทดลองยา		0	1	3	5	10	15	23	37	52	65
A-0	น้ำ	$1x10^2$	$7x10^6$	$7x10^3$	$2x10^2$	$1x10^2$	$3x10^2$	$5x10^2$	$2x10^2$	0	$2x10^2$
(คลองชลประทาน)	ดิน	$2x10^6$	$3x10^5$	$2x10^4$	0	$5x10^3$	$3x10^4$	$5x10^3$	$1x10^3$	$2x10^3$	$1x10^6$
A-2	น้ำ	$7x10^6$	$1x10^4$	$7x10^3$	$3x10^4$	$4x10^4$	$1x10^3$	$7x10^2$	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ
	ดิน	$5x10^5$	$5x10^3$	$1x10^4$	$6x10^3$	$5x10^4$	$2x10^4$	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ
A-4	น้ำ	$7x10^6$	$2x10^2$	$5x10^4$	$2x10^6$	$3x10^4$	$1x10^4$	$1x10^3$	$3x10^3$	$2x10^4$	$2x10^3$
	ดิน	$4x10^5$	$2x10^5$	$2x10^5$	$3x10^4$	$1x10^3$	$8x10^3$	$1x10^2$	$4x10^3$	$2x10^4$	$9x10^4$
A-7	น้ำ	$7x10^2$	$5x10^5$	$5x10^6$	$3x10^4$	$1x10^4$	ไม่ได้ทำ	$7x10^2$	$1x10^2$	$3x10^2$	$2x10^2$
	ดิน	$2x10^4$	$1x10^6$	$3x10^4$	$3x10^2$	$2x10^3$	ไม่ได้ทำ	$3x10^4$	$3x10^4$	$5x10^3$	$4x10^3$
A-9	น้ำ	$6x10^6$	$2x10^2$	$5x10^5$	$8x10^4$	$1x10^5$	$2x10^3$	$4x10^3$	$3x10^4$	$4x10^3$	$5x10^3$
	ดิน	$1x10^4$	$3x10^4$	0	$1x10^2$	5x10	$1x10^4$	$6x10^4$	$6x10^4$	$1x10^4$	0
A-21	น้ำ	$6x10^5$	$5x10^6$	$1x10^2$	$8x10^2$	$5x10^3$	ไม่ได้ทำ	$1x10^3$	$7x10^3$	$6x10^2$	$1x10^4$
	ดิน	$2x10^4$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^3$	$3x10^3$	ไม่ได้ทำ	$4x10^3$	$1x10^2$	$1x10^3$	$3x10^6$

ตารางที่ 10 ความไวต่อยาต้านจุลชีพของ **แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟิล่า** ที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรคแผล, น้ำและดิน หลังเริ่มการทดลองยา 11–65 วัน เปรียบเทียบกับเชื้อก่อนการทดลองยา

ยาต้านจุลชีพ	ความเข้มข้น	ก่อนการทดลอง 57	หลังเริ่มการทดลอง 10 - 65 วัน	
			เชื้อจากปลาช่อนเป็นโรค 75 เสตรน	เชื้อจากน้ำ และ ดิน 56 เสตรน
Ampicillin	10 mcg	5 (9)	0 (0)	0 (0)
Bacitracin	0.04 u	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Carbenicillin	100 mcg	2 (4)	0 (0)	0 (0)
Chloramphenicol	30 "	33 (58)	32 (43)	44 (79)
Erythromycin	15 "	38 (67)	45 (60)	33 (59)
Gentamycin	10 "	57 (100)	75 (100)	56 (100)
Kanamycin	30 "	30 (53)	69 (92)	52 (93)
Lincomycin	2 "	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Nalidixic acid	30 "	57 (100)	72 (96)	55 (98)
Neomycin	30 "	48 (84)	62 (83)	49 (88)
Nitrofurantoin	300 "	53 (93)	64 (85)	51 (91)
Polymyxin B	300 u	41 (72)	13/14 (93)	4/5 (80)
Piromidic acid	2,4 และ 10 mg	-	56/58 (97)	55 (98)
Streptromycin	10 mcg	19 (33)	45 (60)	18 (32)
Sulfadiazin	0.25 "	23 (40)	33 (44)	38 (68)
Sulfamonomethoxine	-	12 (40)	18/45 (40)	29/39 (74)
Sulfathiazole	0.25 "	26 (46)	1/14 (7)	1/5 (20)
Tetracycline	30 "	26 (46)	30 (40)	40 (71)
SXT	1.25 + 23.75 mcg	51 (89)	59 (79)	50 (89)

ไตรเมทโทรปริม 89, 79 และ 89 % ตามลำดับ สำหรับเชื้อที่แยกได้จากปลาช่อนหลังการทดลองยา และ เชื้อจากบ่อปลาช่อนจะไวต่อพัยโรมิดิค เอซิด 97 และ 98 % ตามลำดับ

วิจารณ์ผล

การควบคุมและรักษาโรคในปลามีวิธีการต่าง ๆ มากมาย Herman (1970) ได้สรุปไว้ว่า วิธีการต่อไปนี้สามารถนำไปใช้เพื่อจุดประสงค์ดังกล่าวได้ คือ

1. ป้องกันไม่ให้ปลาสัมผัสกับเชื้อโรค
2. เพิ่มความต้านทานต่อโรคในปลาให้สูงขึ้นทางกรรมพันธุ์
3. โดยการเพิ่มภูมิต้านทาน
4. ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับปลา
5. ป้องกันโดยการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดโรค และประการสุดท้าย คือ
6. การรักษาเมื่อปลาเป็นโรคแล้ว

ในการรักษาโรคโดยการใช้ยาปฏิชีวนะและซัลฟาเป็นที่นิยมกันทั่วไป สำหรับเทคนิคในการเลือกชนิดของยานั้น จะต้องอาศัยองค์ประกอบหลายประการ เช่น คุณสมบัติการซึมซาบของยาที่ไม่เหมือนกัน การออกฤทธิ์ในระบบต่าง ๆ ของร่างกายที่ไม่เหมือนกัน ยกตัวอย่างเช่น กานามัยซินจะไม่ถูกดูดซึมทางลำไส้ เพราะฉะนั้นการใช้ยานี้จะต้องให้โดยการฉีดหรือผสมน้ำแช่เท่านั้น (Gilmartin et al 1976, Conroy 1963) นอกจากนี้องค์ประกอบที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ ยาที่ใช้นั้นจะต้องไวต่อเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค การรักษาจึงจะได้ผลดี.

สำหรับผลการทดลองป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในปลาช่อนซึ่งแสดงอาการเป็นแผลตามบริเวณต่าง ๆ ทั่วทั้งตัวด้วยยาต้านจุลชีพ 6 ชนิด ครั้งนี้ ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจในเชิงวิชาการเป็นอย่างมาก

โดยปรากฏว่าสูตรยาทั้งหมด ยกเว้น คลอแรมเฟนนิคอล สามารถที่จะยับยั้งควบคุมการระบาดของโรคได้พอสมควร สำหรับผลการวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถชี้ชัดโดยทางสถิติได้ว่ายาสูตรไหนดีที่สุด ทั้งนี้เพราะมีองค์ประกอบสำคัญหลายประการที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น

1. การทดลองยาแต่ละสูตรไม่สามารถทดลองกับปลาในสภาพเดียวกันได้
2. ปริมาณปลาที่เป็นโรคในแต่ละบ่อไม่สามารถแสดงเป็นตัวเลขที่แน่นอนได้
3. ปลาที่เป็นโรคในแต่ละบ่อมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกันมาก
4. ขนาดของปลาที่เป็นโรคก็ไม่เท่ากัน
5. ความไวของเชื้อต่อยาในแต่ละบ่อก่อนเริ่มทดลองยาไม่ได้ทดสอบก่อนว่าจะต้องใช้ยาชนิดใดจึงจะถูกต้อง

อย่างไรก็ตามการวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า คลอแรมเฟนนิคอล มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด โดยจะเห็นว่าต้องเปลี่ยนยาในการทดลองถึง 2 บ่อ จากที่ทดลองยานี้ 4 บ่อ สำหรับสูตรยาที่มียาต้านจุลชีพ 1 ชนิด สูตรอื่นให้ผลดีกว่าคลอแรมเฟนนิคอล โดยเฉพาะ เตตราซัยคลิน มีข้อมูลที่น่าจะเชื่อว่ามีประสิทธิภาพดีกว่ายาสูตรอื่น ๆ ที่มียาต้านจุลชีพ 1 ชนิด ทั้งนี้จะเห็นว่าจากจำนวนบ่อทดลอง 3 บ่อ ปรากฏว่าสามารถควบคุมโรคได้ 2 บ่อ ส่วนบ่อที่ 3 เนื่องจากปลาเป็นโรครุนแรงมากซึ่งประมาณว่ามีปลาเป็นโรคแล้ว 80–90 % และประกอบด้วยความเข้าใจผิดของเจ้าของบ่อปลาจึงใช้ยานี้เพียงเศษหนึ่งส่วนสองของปริมาณยาที่กำหนดให้ ดังนั้นการรักษาปลาในบ่อนี้จึงไม่ได้ผล

สำหรับผลของการทดลองยาสูตร กลุ่มที่ 2 ซึ่งมียาต้านจุลชีพ 2 ชนิด ปรากฏว่ายาทุกสูตรจะลดอัตราการตายได้รวดเร็ว และ พฤติกรรมของปลาดี

ขึ้นมากเมื่อครบ 7 วัน เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราการตายตลอดจนองค์-ประกอบต่าง ๆ ที่จะมีผลต่อการทดลองเช่นความรุนแรงของโรค ขนาดของปลา เป็นต้นพอที่จะสรุปว่าสูตรยาต่าง ๆ ในกลุ่มที่ 2 นี้จะมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันยกเว้นสูตรยา เบอร์ 11 ซึ่งมียาต้านจุลชีพ อีริโทรมัยซิน และ เตตราซัยคลิน ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบได้ ทั้งนี้ เพราะได้ทดลองในปลาเพียงบ่อเดียวและปลายังไม่เป็นโรคด้วย ซึ่งผลการทดลองปรากฏว่า ปลาในบ่อนี้ไม่เป็นโรคเลยตลอดการศึกษาและเนื่องจากสูตรยา เบอร์ 7 ซึ่งประกอบด้วยยาต้านจุลชีพ คลอแรมเฟนนิคอล และ พีวลาโซลิโดน เป็นสูตรยาราคาถูกที่สุดในกลุ่มนี้ และประสิทธิภาพดีพอสมควรจึงได้นำยาสูตรนี้ไปใช้ในระยะที่ 2 ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

สำหรับยาสูตรกลุ่มที่ 3 ซึ่งมียาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ผลการทดลองจะปรากฏว่าได้ผลดีมากทุกสูตร ทุกบ่อที่ให้ยาในกลุ่มนี้หลัง 3 วัน พฤติกรรมของปลาจะดีขึ้นอย่างชัดเจน โดยปลาจะเริ่มกินอาหารมากขึ้น มีการเคลื่อนไหวและกระโดดขึ้นเหนือน้ำมากกว่าก่อนการให้ยา ปลาจะตอบสนองต่อการกระตุ้นมากขึ้น และที่สำคัญที่สุด คือ อัตราการตายลดลง ดังนั้นจึงพอสรุปได้ว่ายากลุ่มที่ 3 มีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ดีที่สุด รองลงไป คือ ยาในกลุ่มที่ 2 และยาในกลุ่มที่ 1 ตามลำดับ

ในระหว่างการทดลองยาอยู่นั้น เกิดสภาพอากาศเย็นลงอย่างมากในวันที่ 12–14 หลังเริ่มให้ยาทำให้ปลากินอาหารน้อยลง จะสังเกตเห็นว่าปลาเป็นโรคเพิ่มขึ้นทันที และเมื่อให้ยาครบ 15 วัน ต้องหยุดให้ยาอีก 5 วัน ก็ปรากฏว่าปลาในบ่อทดลองเกือบทุกบ่อจะเป็นโรคและตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (ดูตารางที่ 6 และ 7) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ยาทดลองมีประสิทธิภาพในการควบคุมป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อนี้ได้ เมื่อหยุดให้ยา Blood level ของยาจะลดลงอย่างรวดเร็วและจะไม่สามารถควบคุมและป้องกันโรคได้ดังเช่นรายงานของ Mc Crac-

ken et al (1976) ที่ได้รายงานว่ายาต้านจุลชีพ คลอแรมเฟนนิคอล อ๊อกซิเตตรา-ซัยคลิน และ ซัลฟาไดอาซินร่วมกับไตรเมทโทรปริมและ ฟรามัยซีติน จะถูกขับออกจากร่างกายของปลา Rainbow trout อย่างรวดเร็วจนต่ำกว่าระดับที่จะควบคุมโรคได้ภายใน 4 วัน

ดังนั้นผลจากการทดลองครั้งนี้จึงสอดคล้องกับรายงานดังกล่าว กล่าวคือ เมื่อหยุดการให้ยาครั้งที่ 1 นานถึง 5 วัน แล้วเริ่มให้ยาชนิดใหม่อีกครั้ง ปริมาณยาของยาทดลองครั้งแรกจะลดต่ำลง เป็นเหตุให้ปลาเป็นโรคเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เหตุผลที่ต้องให้ยาครั้งที่ 2 เป็นยาสูตรเบอร์ 4 (ไนโตรฟูแรนโตอิน) และยาสูตร 7 (คลอแรมเฟนนิคอล และ พีวลาโซลิโดน) เพราะว่าหลังจากหยุดยาที่ให้ครั้งแรกนั้น ยังมียาต้านจุลชีพทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวอยู่จำนวนหนึ่ง ประกอบด้วยงบประมาณที่คาดว่าจะได้รับระยะนั้นเป็นจำนวนไม่มากนัก จึงไม่สามารถให้ยาสูตรเก่าติดต่อไปจนปลาหายเป็นปกติได้ นอกจากนั้นราคาของยาทั้ง 3 ชนิด ค่อนข้างราคาถูกเมื่อเทียบกับชนิดอื่น และ ประสิทธิภาพหลังจากวิเคราะห์การให้ยาครั้งแรกแล้วก็เชื่อว่าน่าจะได้ผลดี

เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบผลของการใช้ยาทดลองรักษาและป้องกันโรคติดเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในปลาช่อนครั้งนี้กับการรักษาโรคแผลซึ่งเกิดจากเชื้อชนิดเดียวกันนี้ในปลาดุกด้านในอดีตที่ผ่านมา (ข้อมูลของผู้เขียนซึ่งไม่ได้รายงาน) จะพบว่าการทดลองครั้งนี้ ได้ผลช้าและต่ำกว่าการรักษาโรคติดเชื้อในปลาดุกด้านมาก ซึ่งโดยปกติแล้วการใช้ยาต้านจุลชีพในปลาดุกด้านเพื่อการรักษาโรคแผล มักจะได้ผลภายในไม่เกิน 5 วัน ในกรณีที่ยาชนิดนั้นไวต่อเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค

สาเหตุที่การใช้ยาได้ผลไม่เหมือนกันกับการรักษาโรคแผลในปลาดุกด้าน พอที่จะอธิบายได้ดังนี้ คือ ความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นในปลาช่อนครั้งนี้จะ

รุนแรงและรวดเร็วมาก พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในปลาที่เป็นโรคบ่งว่าปลาอยู่ในสภาพที่ยากต่อการรักษา ทั้งนี้จะเห็นว่าปลาที่เป็นโรครุนแรงจะโลหิตจาง มีการทำลายเม็ดเลือดแดงมากและการสร้างเม็ดเลือดทดแทนดังกล่าว (จิรศักดิ์ และคณะ 2526) นอกจากนี้อวัยวะสำคัญต่าง ๆ เช่น ตับ ม้าม และ ไต ส่วนใหญ่จะถูกทำลาย (เทอด และคณะ 2526) ดังนั้นในปลาที่เกิดพยาธิสภาพดังกล่าวจึงเชื่อว่าจะหายจากโลกได้ยากมาก และนอกจากนี้สาเหตุโน้มนำที่ทำให้เกิดโรคในปลาช่อนครั้งนี้ยังไม่สามารถพิสูจน์ได้แน่ชัด ผู้วิจัยเชื่อว่าสาเหตุที่สำคัญที่สุดที่ทำให้การทดลองยาครั้งนี้ไม่ได้ผลเหมือนการรักษาโรคแผลในปลาดุก ดังที่ได้กล่าวมาแล้วก็คือ สาเหตุโน้มนำที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งบางท่านเชื่อว่าเป็นเพราะอากาศเย็น เลี้ยงปลาแน่นเกินไป (เปี่ยมศักดิ์ 2526) หรือบางหน่วยงานเชื่อว่าเกิดจากสารพิษ โดยเฉพาะพาราควอต (ประกาศของ กรมประมง เรื่อง โรคระบาดในปลา–6 มกราคม 2526) แต่อย่างไรก็ตามสมมติฐานหรือความเชื่อดังกล่าวโดยเฉพาะที่เกี่ยวกับ พาราควอต ก็มีผู้พิสูจน์แล้วว่าในปริมาณความเข้มข้นที่พบในน้ำตามธรรมชาติ ไม่ทำให้เกิดพิษต่อปลาได้ (ประกิตติ์สิน และคณะ 2526, เปี่ยมศักดิ์ และคณะ 2526) สำหรับอุณหภูมิที่ต่ำกว่าปกติอาจเป็นสาเหตุโน้มนำประการหนึ่งได้ (วีรวุฒิ และคณะ 2526) แต่มีข้อมูลอีกบางประการที่น่าจะเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคครั้งนี้ เช่น การพบ virus like particle ในอวัยวะต่าง ๆ ของปลาช่อนเป็นโรค (ระบิล และคณะ 2526) ในเบื้องต้นนี้เชื่อว่าน่าจะเป็น RNA virus และการตรวจพบว่าในน้ำทั่ว ๆ ไปมีปริมาณแอมโมเนีย สูงกว่าปกติซึ่งข้อมูลทั้งสองประการนี้อาจเกี่ยวข้องโดยตรงกับการระบาดของโรค และทำให้การทดลองยาไม่ได้ผลดีเหมือนการรักษาโรคแผลในปลาดุกได้ ทั้งนี้เพราะมีผู้รายงานว่า RNA จะกระตุ้นให้เชื้อ แอร์โรโมนาส สร้าง Toxins ได้มากขึ้นซึ่งเป็นการเพิ่มความรุนแรงของเชื้อ (Olivier et al 1981) และในขณะเดียวกันสารเคมีพวก

แอมโมเนียม ซัลเฟต Casamino acid และเศษอาหารที่ให้แก่ปลาซึ่งเป็นต้นกำเนิดของแอมโมเนียสามารถเพิ่มความรุนแรง และทำให้ปลาเกิดโรคติดเชื้อได้ง่ายเช่นกัน (ประกิตติ์สิน และคณะ 2526, วีรวุฒิ และคณะ 2526, Olivier, et al 1981) ด้วยเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้กล่าวไว้ว่าการทดลองครั้งนี้ได้ผลดีเชิงวิชาการเป็นอย่างมาก

เป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ที่แยกได้จากปลาช่อนเป็นโรค ก่อนการทดลองยาจาก จังหวัดสุพรรณบุรี จะต้านต่อยาจุลชีพเป็นจำนวนมาก (ดูตารางที่ 10) แต่อย่างไรก็ตามเป็นการยากที่จะกล่าวว่า การต้านยาดังกล่าวเกิดจากการที่เกษตรกรได้ให้ยาแก่ปลาในระหว่างที่เกิดโรค ทั้งนี้เพราะมีรายงานหลายฉบับที่กล่าวว่า เชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ในประเทศไทยจะต้านยามาก (เกรียงศักดิ์ และ เกรียงศักดิ์ 2521, 2523, เกรียงศักดิ์ และโสมทัต 2525) ดังนั้นการต้านยาดังกล่าวอาจมีบางเสตรนที่ต้านยาอยู่ก่อนแล้ว ประกอบกับการให้ยาอย่างไม่ถูกต้องในระยะการเกิดโรค จึงทำให้อัตราการต้านยาของเชื้อมากกว่าปกติ โดยเฉพาะการต้านต่อยาพวก ซัลฟา แต่อย่างไรก็ตามการพบเชื้อที่ต้านต่อยา อีริโทรมัยซิน และนีโอมัยซินที่ต้านต่อยา อีริโทรมัยซิน และ นีโอมัยซิน ก่อนการทดลองยาเป็นจำนวนถึง 33 และ 16% ตามลำดับ เป็นเรื่องที่น่าสนใจมากเชื้อต้านยาดังกล่าวได้อย่างไร ทั้งนี้เพราะยาทั้ง 2 ชนิดนี้ยังไม่เคยมีการใช้ในปลามาก่อน หลังจากการทดลองยาของผู้วิจัยพบว่าปริมาณการต้านยาของเชื้อที่แยกได้จากปลาจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่เชื้อที่แยกได้จากน้ำและดินในบ่อปลาดังกล่าวกลับไวต่อยามากขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ยาผสมอาหารให้ปลากินอย่างถูกวิธีการ ไม่น่าจะมีผลต่อนิเวศน์วิทยาอย่างใด การพบเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* ที่ต้านยาในบ่อปลาน่าจะเกิดจากเชื้อที่ต้านยา ในตัวปลาหลุดลอยออกมาอยู่ในสิ่งแวดล้อมดังกล่าวมากกว่าการเกิดการต้านยาของเชื้อ เพราะสัมผัสกับยาที่อาจ

ละลายลงไปในบ่อปลา ทั้งนี้เพราะอาหารปลาส่วนใหญ่จะถูกปลากินหมด อย่างไรก็ตามการใช้ยารักษาและป้องกันโรคติดเชื้อก็จะต้องใช้อย่างระมัดระวัง ทั้งนี้เพราะจะเกิดปัญหาการต้านยาดังที่ปรากฏมาแล้ว โดยเฉพาะการเกิด R factor (Aoki 1975, Aoki et al 1981) สำหรับปริมาณของเชื้อที่พบในบ่อปลาและคลองชลประทานจะไม่แตกต่างกัน และเชื้อในอวัยวะต่าง ๆ ของปลาเป็นโรคจะพบน้อยที่สุดในม้าม สูงสุดที่เหงือกและแผล ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณของเชื้อในน้ำใบบ่อปลาระยะที่ปลาเป็นโรครุนแรงจะมีปริมาณมาก $10^{4}-10^{6}$ เซลล์/มล. หลังจากปลาเริ่มหายปริมาณเชื้อในน้ำจะลดลงเหลือประมาณ $10^{2}-10^{3}$ เซลล์/มล. เท่านั้น ทำให้น่าคิดว่าปริมาณเชื้อในน้ำอาจเกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคในปลาได้ จากข้อมูลของผู้วิจัยในเดือน กันยายน 2525 ก่อนที่จะเกิดการระบาดของโรคอย่างรุนแรง พบว่า ปริมาณของเชื้อนี้ในน้ำบริเวณคลองธรรมชาติแห่งหนึ่งที่ จังหวัดปทุมธานี มีเชื้ออยู่ถึง 8×10^{5} เซลล์/มล. ซึ่งพบว่าปลาช่อนในคลองดังกล่าวเป็นโรคแผลจำนวนมาก ปริมาณเชื้อดังกล่าวนี้มากกว่าที่เคยมีรายงานมา (Seidler et al 1980) Hanson et al (1977) ได้รายงานว่าปริมาณของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในทะเลสาบซึ่งเป็นบริเวณที่นักประดาน้ำประสบอุบัติเหตุเกิดบาดแผลและติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า มีปริมาณเชื้อนี้เพียง 5 เซลล์/มล.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะรัฐมนตรี ที่ได้อนุมัติงบประมาณวิจัยให้แก่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งงบประมาณดังกล่าวประมาณ 58% ได้ใช้ไปสำหรับการวิจัยที่รายงานมานี้ ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณเจ้าของบ่อปลาทั้งหลายที่ได้ให้ความร่วมมืออย่างดี ทั้ง ๆ ที่มีอุปสรรคและแรงกดดันจากภายนอกและสุดท้ายขอขอบคุณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะกรรมการเฉพาะกิจของ จุฬาลงกรณ์มหา-

วิทยาลัย และเพื่อนร่วมงานที่ได้ร่วมมือประสานงานกันอย่างจริงจัง ทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนบริษัท ห้างร้านที่ได้กรุณาให้สินเชื่อเคมีภัณฑ์และวัสดุวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

1. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ เกรียงศักดิ์ สายธนู 2521. ระบาดวิทยาและการทดลองใช้ยา 14 ชนิดต่อเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า. การประชุมวิชาการ 2521 เรื่องวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เพื่อพัฒนาภาคเหนือ 22–24 ธันวาคม 2521 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
2. เกรียงศักดิ์ พูนสุข และเกรียงศักดิ์ สายธนู 2523. อัตราการต้านยาของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เสตรนจากปลาดุก. วารสารชมรมโรคปลา. 3, 9–14.
3. เกรียงศักดิ์ สายธนู และเกรียงศักดิ์ พูนสุข 2523 ก. โรคเกล็ดหลุดและแผลในปลาช่อน. วารสารชมรมโรคปลา. 3, 1–7.
4. เกรียงศักดิ์ สายธนู และเกรียงศักดิ์ พูนสุข 2523 ข. ลักษณะของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า. วารสารชมรมโรคปลา. 3, 71–87.
5. เกรียงศักดิ์ สายธนู และโสมทัต วงศ์สว่าง 2525. โรค Red–Sor ในปลาคาร์พ. วารสารโรคสัตว์น้ำ. 5, 79–86.
6. เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และสมชัย ตันตระวรศิลป์. 2519. โรคซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า. การประชุมวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 4. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์.

7. เกรียงศักดิ์ สายธนู, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ วารินทร์ ธนาสมหวัง 2522. โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ในปลาบู่ วารสารชมรมโรคปลา 2, 15–21.

8. เกรียงศักดิ์ สายธนู, โสมทัต วงศ์สว่าง และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2525. แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เชื้อร้ายแรงของปลาตู้. การประชุมวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 9. 2–3 ธันวาคม 2525. ณ โรงแรมบางกอกพาเลสกทม.

9. เทอด เทศประทีป, ระบิล รัตนพานี, จีรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, โสมทัต วงศ์สว่าง, เล็ก อัศวพลังชัย และ วัฒนา วัฒนวิจารณ์ 2526. การศึกษาพยาธิสภาพของปลาป่วยจากโรคระบาดปลา พ.ศ. 2525–2526. ประชุมวิชาการเรื่องโรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526. ณ ห้องประชุมสารนิเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 23–24 มิถุนายน 2526.

10. ประกิตติ์สิน สีหนนท์, วีรวุฒิ มหามนตรี, วนิดา โพธารามิก, สมเกียรติ บียะธีรธิติวรกุล, เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต 2526. ผลของ Casamino acid และ paraquat ต่อการติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เอฟ–588 ในปลาช่อน (Ophicephalus striatus). วารสารโรคสัตว์น้ำ 6, 3, 127–143.

11. ประสิทธิ์ อัศวโภคี, อมร ลีลารัศมี และสุรพล กอบวรรธนะกุล 2526. โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ในคน. แพทยสภาสาร 12, 57–62.

12. เบี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, พาลาภ สิงหเสนี, อภิชัย ดาวราย และสมเกียรติ บียะธีรธิติวรกุล 2526. การทดสอบความเป็นพิษของสารพาราควอตที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิด ประชุมวิชาการเรื่องโรคระบาดในปลาน้ำจืด : 2525–2526. ณ. ห้องประชุมสารนิเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 23–24 มิถุนายน 2525.

13. วิษณุ ธรรมลิขิตกุล และสมหวัง ด่านชัยวิจิตร 2524. beromonas Infection, clinical analysis of 31 adults patients in Siriraj Hospital วารสารอายุรศาสตร์ 1, 162–166.

14. วารินทร์ ธนาสมหวัง และเกรียงศักดิ์ สายธนู 2522. โรคแผลในปลาสวาย. วารสารชมรมโรคปลา 2, 131–133.

15. วีรวุฒิ มหามนตรี, เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, ประกิตติ์สิน สีหนนทน์, สมเกียรติ บียะธีรธิติวรกุล และ วนิดา โพธารามิก 2526. การศึกษาสาเหตุโน้นนำของการเกิดโรคในปลาช่อนเนื่องจากเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า เอฟ–588. วารสารโรคสัตว์น้ำ 6, 3, 145–161.

16. ระบิล รัตนพานี. วัฒนา วัฒนวิจารณ์, เทอด เทศประทีป, สุมิตรา วัฒโนคร, วรภรณ์ ศุกลพงษ์, ศิริเพ็ญ เวชชการรัณย์ และอัมพร อิ้งปกรณ์แก้ว 2526. การศึกษาเบื้องต้นของเชื้อไวรัส กับโรคระบาดของปลา 26. เวชสารสัตวแพทย์ 13, 44–50.

17. สมใจ เหรียญประยูร 2526. การศึกษาเปรียบเทียบความไวของเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรพีล่า ต่อยาปฏิชีวนะ. ประชุมวิชาการเรื่องโรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525–2526. ณ. ห้องประชุมสารนิเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 23–24 มิถุนายน 2526.

18. สันติสุข วิบูลบัณฑิตยกิจ, บุญช่วย เอี่ยมโภคลาภ และสมศักดิ์ โล่ห์เลขา 2525. แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน. รามาธิบดีเวชชสาร 5, 128–135.

19. โสมทัต วงศ์สว่าง, เกรียงศักดิ์ สายธนู และเกรียงศักดิ์ พูนสุข 2525. โรคขาแดงในกบนา วารสารโรคสัตว์น้ำ 5, 57–62.

20. อมร ลีลารัศมี, อพัญญา เมืองงามสมบูรณ์ หวานจิตต์ เกรันพงษ์ และโสภณ คงสำราญ 2522. แอร์โรโมนาส เสพติคีเมีย สารศิริราช, 31, 1230–1238.

21. ม.ล. อัคนี นวรัตน, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และเกรียงศักดิ์ สายธนู 2522. โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในปลาไหลไทย. วารสารชมรมโรคปลา 2, 67–73.

22. Aoki T. 1975. Effects of chemotherapeutics on bacterial ecology in the water of pounds and the intestinal tracts of cultured fish, ayer (Plecoglossus altwelis). Japan. J. Microbiol. 19, 7–12.

23. Aoki, T. and T. Watanabe. 1973. Studies of drug-resistant isolated from cel-pound water and intestinal tract of the cel (Anguilla japonica and Anguilla anguilla). Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 39, 121–130.

24. Aoki, T., T. Kitao and K. Kawano. 1981. Change and drug resistance of Vibrio anguillarum in cultured ayer, Plecoglossus altwelis Temminck and Schlegel in Japan J. Fish Dis. 4, 223–230.

25. Bauer, A.W., W.M. Kirby, J.C. Scherris and M. Truck 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardzed single disc method Amer. J. Clin. Pathol. 45, 495–496.

26. Bullock, G.L. and J.J.A. McLanghlin 1970. Advance in knowledge Concerning Bacterial Pathogenic to Fishes (1954–1968). A Symposium on diseases of fishes and shellfishes. Ed. by S.F. Snieszko. American Fisheries Society, Wash D.C. Special Publication No. 5, 231–242.

27. Conroy, D.N. 1963. A note on the in vivo action of kanamycin upon bacterial fish pathogens. Lab. Pract. 12, 900–901.

28. Cowan. S.T. 1974. Maual for the identification of medical bacteria University Printing House. Cambridge. England.

29. Davis, W.A., J.G. Kane and V.F. Garagusi. 1978. Human Aeromonas infections: A review of the literature and a case report of endocarditis. Medicine, 57, 267–277.

30. Esterabadi, A.H., F. Entensor and M.A. Khan. 1973. Isolation and identification of Aeromonas hydrophila from an outbreak of hemorrhagic septicemia in snakes Can. J. Comp. Med. 37, 418–420.

31. Feaster, F.T., R.M. Nisbet and J.C. Barber. 1978. Aeromonas hydrophila corneal ulcer. Amer. J. Ophth. 85, 114–117.

32. Fliermans, C.B., R.W. Gordon, T.C. Hazen and G.W. Esch. 1977. Aeromonas distribution and survival in a thermally altered lake. Appl. Environ. Microbiol. 33, 112–114.

33. Gilmartin, W.G., B.J. Camp and D.H. Lewis 1976. Baht treatment of Channel catfish with three broad-spectrum antibiotics J. Wildlife Dis. 12, 555–559.

34. Hanson, P.G., J. Standridge, F. Jarett and D.G. Maki 1977. Freshwater wound infection due to Aeromonas hydrophila. J. Am. Med. Assoc. 238, 1053–1054.

35. Hanzen, T.C., C.B. Fliermanns, R.F. Hirsch and G.W. Esch 1978. Prevalence and distribution of Aeromonas hydrophila in the United States. Appl. Environ. Microbiol. 36, 731–738.

36. Herman, R.L. 1970. Prevention and control of fish diseases in hatcheries A Synposium on Diseases of Fishes and Shellfishes. Edited by S.F. Sniesqko. Special Publication No. 5. American Fisheries Society. Washington D.C., U.S.A.

37. Hird, D.W., S.L. Diesch, E.G. Mc Rinnell, E. Gorhom, F.B. Martin, S.W. Kurtz and C. Dubrovolny 1981, Aeromonas hydrophila in wild caught frogs and tadpoles (Rana pipiens) in Minnesota. Lab. Animal Sc. 31, 166–199.

38. Joseph, S.W., O.P. Daily, W.S. Hunt, R.J. Seidler, D.A. Allen and R.R. Colwell 1979. Aeromonas primary wound infection of a diver in polluted waters J. Clin. Microbiol. 10, 46–49.

39. Kalnauwakul, S. and A Rutanarugsa. 1983. Bacteria etiology of diarrhea at Songklanakarin Hospital. Diarrheal Disease Research Abstract Mahidol Univ. and Publ. Hlth. Workshop March 7–10 1983, Bangkok, Thailand.

40. Ketover, B.P., L.S. Young and D. Armstrong 1973. Septicemia due to Aeromonas hydrophila: Clinical and Immunological Aspects J. Inf. Dis. 127, 284–290.

41. Larsen, J.L, and N.J. Jensen 1977. An Aeromonas species implicated in ulcer-disease of the cod. Nord. Vet. Med. 29, 199–221.

42. Mansuwan, P., U. Lexomboon. P. Sunakorn and S. Harikul 1983. Epidemiology of diarrheal diseases in children in rural of Thailand. Diarrheal Disease Research Abstract Mahidol Univ. and Min. Publ. Hlth. Workshop March 7–10. Bangkok, Thailand.

43. Mc. Cracken, A.S. Fidgeon, J.J. O' Brien and D Anderson 1976. An investigation of antibiotic and drug resisdues in fish J. Appl. Bact. 40, 61–66.

44. Nilakul, C.S. Tuntimavanich and P. Leangphibul, 1983. Isolation of Aeromonas hydrophila from diarrheal stool. Diarrheal disease Research Abstract. Mahidol Univ. and Min. Publ. Hlth. Workshop March 710, 1980. Bangkok, Thailand.

45. Nygaad, G.S., M.L. Bissett and R.M. Wood 1970. Laboratory identification of Aeromonas from man and other animals. Appl. Microbiol. 19, 618–620.

46. Olivier, G., R Lallier and S. Lariviere. 1981. A Toxigenic profile of Aeromonas hydrophila and Aeromonas sodria isolated from fish. Can. J. Microbiol. 27, 330–333.

47. Plumb. J.A. 1975. An 11 year summary of fish diseases cases at the southeastern cooperative fish disease laboratory. Proceeding of the 9th Anual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissions. 254–260.

48. Roberts, R.J. 1978. Fish Pathology. University Press. Abardeen Great Britain.

49. Supavej, S., O Chityothin, U. Laxomboon, S. Siamasathien P. Boonthai, A. Sabsharoen, S. Wankijcharoen 1983. Clinical and bacteriological aspects of Campylobacter anteritis in children. Diarrheal Disease Research Abstract. Mahidol Univ. and Min. Publ. Hlth. Workshop March 7–10, 1983. Bangkok, Thailand.

50. Sanyal, S.C., S.J. Singh P.C. Sen 1974. Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas shigelloides. J. med. Microbiol. 8, 195–198.

51. Seidler, R.J., D.A. Allen, H. Lockman, R.R. Colwell, S.W. Joseph and O.P. Daily 1980. Isolation, Enumeration, and characterization of Aeromonas from Polluted Waters Encountered in Diving Operations. Appl. Environm. Microbiol. 39, 1010–1018.

52. Shotts, E.B., Jr., J.L. Gaines, Jr., L. Martin and A.K. Prestwood 1972. Aeromonas induced deaths among fish and reptiles in an extrophic inland lake. J.A.V.M.A. 161, 603–607.

53. Slotnick, I.J, 1970. Aeromonas species isolates., Ann. N.Y. Acad. Sci. 174, 503–510.

54. Sutra, S.W. Kaewkes, U. Tattawasatr, U. Kositanont and A. Chirawatkul 1983. Acute diarrhea: Correlation between fecal leucocyte and causative bacteria. Diarrheal Disease Research Abstract Mahidol Univ. and Minn. Publ. Hlth. Workshop, March 7–10 1983. Bangkok, Thailand.

55. Trust, T.J. 1975. Bacteria associated with the gills of salmonid fishes in freshwater, J. Appl. Bacteriol. 38, 225–233.

56. Trust, T.J. and R.A.H. Sparrow. 1974. The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salomonid fishes. Can. J. Microbiol. 20, 1219–1288.

57. Von Graevenitz, A. and A.H. Mensch 1968. The genus Aeromonas in human bacteriology. Report of 30 cases and review of the literature. The New England J. Med. 278, 245–249.

58. Washington, J.A. 1972. Aeromonas hydrophila in clinical bacteriologic specimens. Am Intern. Med. 76, 611–614.

59. Watanabe, T., T. Aoki, Y. Ogata and S. Egusa 1971. R-factors *related to fish culturing. Ann. N.Y. acad. Sci. 182, 383–410.*

60. Watanabe, T., T. Aoki, C. Yada, Y. Ogata, K. Sugawara, T. Saito and S. Egusa 1972. Fish culturing and R-factors. Proc. 1st. Int. Symp. Infection Antibiotics. Bacterial plasmids and Antibiotics resistance. Smolenice. Czechoslovakia.

61. Wolf, K. and S.F. Snieszky. 1963. Uses of antibiotics and other antimicrobials in therapy of diseases of fishes. Antimicrob. Ag. Chemoth. 1. 597–603.

โรคติดเชื้อ แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ในคน : ผลการศึกษา 2521–2526

ประสิทธิ์ อัศวโภคี

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาในภาควิชาอายุรศาสตร์ศิริราชพยาบาล โดยทำการศึกษาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2521 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2526 ในระยะเวลา 5 ½ ปี พบผู้ป่วยที่เกิดโรคติดเชื้อจากเชื้อ Aeromonas ทั้งหมด 41 ราย เป็นชาย 33 หญิง 8 ราย อายุโดยเฉลี่ย 37 ปี 39 ราย จาก 41 รายเป็นผู้ป่วยที่มี underlying diseases ร้อยละ 31.7 เป็น cirrhosis ร้อยละ 29.3 เป็น leukemia และ ร้อยละ 14.6 เป็น aplastic anemia ที่เหลือร้อยละ 24.4 มี underlying disease อื่น ๆ ลักษณะทางคลินิคที่ผู้ป่วยมารับการรักษาในโรงพยาบาล เป็นไข้ 37 ราย มีประวัติอุจจาระร่วง 11 ราย, 7 รายมาอยู่ในภาวะ shock และทั้ง 7 รายมีลักษณะทางผิวหนังเป็น ecchymosis ร่วมกับ hemorrhagic bleb, เป็น primary peritonitis 2 ราย subcutaneous abscess 2 ราย Intra–abdominal abscess 2 ราย นอกจากนั้นมีอาการทางคลินิคเป็น arthritis, pyomyositis ecthyma gangrenosum, endophthalmitis, necrosis of bowel อย่างละ 1 ราย ไม่แสดงอาการ 1 ราย ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่าร้อยละ 75.6 มีภาวะซีดประมาณ

1/9 ของผู้ป่วยทั้งหมดมีจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำกว่า 1,000 ตัว/ลบ.ซม. 1/3 ของผู้ป่วยมี polymorphonuclear cell ต่ำกว่า 500 ตัว ผลการเพาะเชื้อพบว่าเพาะเชื้อจากเลือดได้ร้อยละ 100, จากถุงน้ำเลือด 5 ราย จากบริเวณที่อักเสบและแสดงออกทางผิวหนัง 3 ราย น้ำในช่องท้อง 2 ราย หนองจากตับ 1 ราย น้ำไขสันหลัง 1 ราย พบว่าประมาณร้อยละ 20 เกิดติดเชื้อจากโรงพยาบาลเป็น hospital acquired infection ผลของการรักษาพบอัตราการตายค่อนข้างสูงถึงแม้จะสามารถวินิจฉัยโรคได้อย่างรวดเร็วและให้ยาต้านจุลชีพอย่างถูกต้อง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Aeromonas Infection in Man : A Study in 1978–1983

Prasit Ousawaphoki

Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University.

Abstract

Fourty one cases of *Aeromonas sp.* infection were reported. The study was undertook in the Department of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University over 5 ½ years, from 1978–1983. The patients, 33 man and 8 female, were hospitalized under different conditions. The detail of all cases were discussed.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า สาเหตุของโรคอุจจาระร่วงของชาวบ้าน หมู่ที่ 2 ตำบลบางเตย

สมใจ เหรียญประยูร
สุดาลักษณ์ ฉันทรัชดา
กัญชลี เลิศโภคะสมบัติ
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน ในช่วงเดือนมกราคม–กุมภาพันธ์ 2526 หมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ผู้ป่วย 21 ราย อายุระหว่าง 1–83 ปี ชาย 9 คน หญิง 12 คน ผลการศึกษาปรากฏว่าไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง 38.1% พบเชื้อ 61.9% ในกลุ่มที่พบเชื้อนี้ 47.6% เป็นเชื้อ *A. hydrophila* 33.3%, เชื้อ *A. hydrophila* และ NAG Heiberg gr. II, 9.5%, A. hydrophila และเชื้อ shigella gr. B 4.8% ที่เหลืออีก 14.3% เป็นเชื้อ *V. parahemolyticus*, Vibrio *fluvialis* และ Vibrio *alginolyticus*.

Aeromonas hydrophila as the etiologic agent in the case of Acute diarrhea at Bang–Toi

Somjai Reinprayoon
Sudaluck Chantaratchada
Kanchalee Lertpokasombat

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Abstract

During January to February 1983, many people of Bang–Toi suffered from gastroenteritis. The bacterial study from 21 cases of acute diarrhea showed Aeromonas hydrophila as the main etiologic agent. The positive stool culture was 47.5 percent. *Aeromonas hydrophila* alone was isolated 33.3 percent, *Aeromonas hydrophila* with NAG Heiberg gr. II and with shigella group B were 9.5 percent and 4.8 percent respectively. The rest 14.3 percent were those of vibrio group.

บทนำ

เชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า เป็นบักเตรีในตระกูล Vibrionaceae มีรูปร่างเป็นแท่งติดสีแกรมลบ การวิเคราะห์เชื้ออาศัยคุณสมบัติทางชีวเคมี และแฟลคเจลลา[1] เชื้อนี้พบได้ตามที่เปียก ชื้น ดิน และน้ำ เชื้อนี้ทำให้เกิดโรคในสัตว์ เช่น ปลา กบ งู และสัตว์เลื้อยคลานอื่น ๆ สำหรับคนเข้าใจว่าเชื้อนี้เป็น Oppotunistic pathogen ต่อมามีรายงานจากที่ต่าง ๆ ว่าเชื้อนี้ทำให้เกิดโรคได้[2,3,4,5,6,7] อาการแสดงทางคลีนิคที่พบได้บ่อย ๆ คือ อุจจาระร่วง ผิวหนังอักเสบ ส่วนโลหิตเป็นพิษพบไม่บ่อยมักจะเกิดเป็นอาการแทรกซ้อนจากโรคเรื้อรังอื่น ๆ โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับตับและถุงน้ำดี และมะเร็งเม็ดเลือด

สถานที่ศึกษาอยู่ที่หมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ซึ่งห่างจากกรุงเทพไปทางใต้ประมาณ 30 กิโลเมตร ประกอบด้วย 135 หลังคาเรือน ชาวบ้านมีอาชีพ ทำสวน ค้าขาย และเลี้ยงปลา ประมาณปลายปี พ.ศ. 2525 ถึงต้นปี พ.ศ. 2526 ชาวบ้านหมู่นี้มีปัญหาเกี่ยวกับน้ำคลองที่ใช้เป็นประจำ ซึ่งเป็นผลจากโรงงานกระดาษแข็ง โรงงานย้อมผ้า และโรงงานสุราปล่อยน้ำเสียลงสู่แม่น้ำท่าจีน ทำให้น้ำตามลำคลองมีสีดำ และมีกลิ่นเหม็น และพบว่าปลาตามแม่น้ำลำคลองเป็นแผลตามตัว และตายเป็นจำนวนมากจากผลงานวิจัยของคณะกรรมการเฉพาะกิจ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สามารถแยกเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ได้จากแผลปลาที่ตาย และพบว่ามีเชื้อแอร์โรโมนาสในน้ำคลองมากขึ้นกว่าปกติด้วย และในระยะนี้ปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้ก็ป่วยเป็นโรคด้วย

จากการศึกษาข้อมูลที่ได้จากสถานีอนามัยชั้น 2 ตำบลบางเตยนี้ พบว่ามีผู้ป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วงเพิ่มขึ้น คือ เดือนพฤศจิกายน 2525 มีผู้ป่วย 26 ราย ธันวาคม 2525 13 ราย มกราคม 2526 14 ราย กุมภาพันธ์ 2526 23 ราย

คณะผู้วิจัยเลือกหมู่ 2 ตำบลบางเตย จังหวัดนครปฐม เป็นสถานที่ ๆ จะศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ต่อสุขภาพของชาวชนบท ก็เพราะว่าสภาพแวดล้อมของหมู่ 2 นี้ได้รับมลภาวะที่เป็นพิษจากโรงงานต่าง ๆ ทางแม่น้ำและลำคลอง ชาวบ้านไม่มีน้ำสะอาดใช้ อุบัติการณ์ของโรคอุจจาระร่วงเพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะที่พบปลาเป็นโรคตาย และชาวบ้านให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีซึ่งความมุ่งหมายของการศึกษาในเรื่องนี้ เพื่อจะให้ได้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกันระหว่างโรคอุจจาระร่วงและเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่าว่าในอุจจาระของผู้ป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันของชาวชนบทจะพบเชื้อนี้มากน้อยเท่าใด เพื่อจะได้เป็นแนวทางในการป้องกันโรคติดเชื้อนี้

ขั้นตอนและการดำเนินงาน

การดำเนินงาน แบ่งออกเป็นดังนี้

1. การสำรวจผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง ด้วยการเยี่ยมบ้าน
2. ตรวจร่างกายผู้ป่วยโรคท้องเสีย
3. เก็บอุจจาระผู้มีอาการโรคท้องเสีย โดยเก็บไว้ในภาชนะที่สะอาด หรือเก็บไว้ใน Cary Blair หรือ Stuart's media เพื่อให้เชื้อโรคเจริญได้ดี เก็บอุจจาระ 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7–10 วัน
4. แยกและวิเคราะห์เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง เช่น *Enteropathogenic E. coli, Salmonella, Shigella, Vibrio cholerae,* NAG group ต่าง ๆ *Pleisiomonas Shigeloides* และ *Aeromonas hydrophila*

ขั้นตอนการแยกและวิเคราะห์เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงทำตาม Edward P.R. และ Ewing W.H.[8] และเพื่อให้ได้เชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ได้เพิ่ม Blood agar ในการเพาะเชื้อครั้งแรก เพื่อดูลักษณะ colonies ของเชื้อนี้ ซึ่งจะให้ลักษณะ colonies ใหญ่ แบน มีสีเหลืองคล้ำ ๆ มี zone of hemolysis ใหญ่ เห็นได้ชัดเจน เชื้อจะถูกนำมาเพาะบน T.S.I. เพื่อวิเคราะห์ต่อไปโดยใช้คุณสมบัติทางชีวเคมี[9]

ผลการศึกษาผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง

ผู้ป่วยรายที่ 1

ชายไทยอายุ 57 ปี อาชีพทำสวน ปกติเป็นคนแข็งแรง วันที่ 11 มกราคม 2526 มีอาการท้องเดินประมาณวันละ 10 ครั้ง อุจจาระเป็นน้ำปนมูก กลิ่นเหม็น ปวดท้อง มีไข้ หนาวสั่น กินยาอนามัยไม่ดีขึ้น ตรวจร่างกาย ความดันโลหิต 110/60 mm.Hg. ไข้ 38°C ผู้ป่วยผอม มีภาวะแห้งน้ำ ตรวจพบว่ามีการบีบตัวของลำไส้มาก

ได้ทำการเพาะเชื้อจากอุจจาระของผู้ป่วย 3 ครั้ง 2 ครั้งแยกเชื้อ Aeromonas hydrophila ได้

รายที่ 2

ชายไทยอายุ 79 ปี อาชีพทำสวน สุขภาพโดยทั่ว ๆ ไป ปกติ วันที่ 2 มกราคม 2526 ได้รับประทานปลาแรดนึ่งขนมจีนน้ำยาทำจากปลาช่อน หลังจากนี้ประมาณ 2 วัน มีอาการถ่ายท้องประมาณวันละ 10 ครั้ง อุจจาระเป็นน้ำปนมูกเหม็นคาว มีไข้ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน เพลียมาก จนต้องตามหมอมาให้น้ำเกลือ ได้ตรวจร่ายกายผู้ป่วยหลังจากหายแล้ว พบว่าสุขภาพทั่วไปปกติ ความดันโลหิต 120/80 mm.Hg. B.T. 37°C การบีบตัวของลำไส้เป็นปกติ

ได้นำอุจจาระของผู้ป่วยมาเพาะเชื้อ 3 ครั้ง ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงทั้ง 3 ครั้ง

รายที่ 3

หญิงไทยอายุ 71 ปี อาชีพแม่บ้าน สุขภาพโดยทั่วไปสมบูรณ์แข็งแรง วันที่ 2 มกราคม 2526 รับประทานขนมจีนน้ำยาซึ่งทำจากปลาช่อน และปลาแรดนึ่ง หลังจากนั้นประมาณ 10 ชั่วโมง ถ่ายท้องอุจจาระเป็นน้ำดำ ๆ มีมูก เหม็น ถ่ายประมาณ 10 ครั้งต่อวัน มีไข้ หนาว ปวดท้องมาก อาเจียน หน้ามืด ญาติต้องไปตามแพทย์มาให้น้ำเกลือ ผู้ป่วยไม่สบายอยู่ 5 วัน ตรวจร่างกายหลังผู้ป่วยมีอาการได้ 72 ชั่วโมง B.P. 110/60 mm.Hg. B.T. 37°C P.R. 88/min. สุขภาพโดยทั่ว ๆ ไปอ่อนเพลีย ลำไส้มีการบีบตัวมาก นอกนั้นปกติ

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระทั้ง 3 ครั้ง ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง

รายที่ 4

ชายจีนอายุ 83 ปี อาชีพทำสวน สุขภาพโดยทั่ว ๆ ไปผอม แต่แข็งแรงทำงานได้ มีอาการท้องเสีย ถ่ายเหลวเป็นน้ำ มีมูก เหม็นคาว ประมาณวันละ

5–6 ครั้ง ปวดท้อง รับประทานอาหารที่บ้าน ตรวจร่างกายผู้ป่วยหลังมีอาการได้ 48 ชั่วโมง B.P. 170/100 mm.Hg. B.T. 37°C สุขภาพโดยทั่วไปผอม ค่อนข้างจะขาดน้ำ เพลีย

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 3 ครั้ง ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง

รายที่ 5

หญิงไทยอายุ 38 ปี อาชีพทำสวน แข็งแรง ถ่ายท้องประมาณวันละ 10 ครั้ง อุจจาระเป็นน้ำ ปวดท้องมาก คลื่นไส้ ซื้อยาชุดมารับประทานอาการค่อยทุเลา ได้ตรวจอาการผู้ป่วยหลังจากมีอาการได้ 3–4 วัน ไม่พบความผิดปกติอะไร

ผลการตรวจอุจจาระ 3 ครั้ง พบเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ทั้ง 3 ครั้ง

รายที่ 6

หญิงไทยอายุ 43 ปี อาชีพทำสวน แข็งแรง เริ่มถ่ายเหลวประมาณวันละ 5 ครั้ง หลังไปรับประทานอาหารที่ปรุงด้วยปลา ประมาณ 10 ชั่วโมง ไม่มีไข้ ปวดท้องบ้างเล็กน้อย ไม่ได้รับประทานยา ตรวจร่างกายหลังมีอาการได้ 72 ชั่วโมง พบว่าผู้ป่วยมีสุขภาพแข็งแรง

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 3 ครั้ง พบเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ทั้ง 3 ครั้ง

รายที่ 7

ชายไทยอายุ 66 ปี อาชีพรับจ้าง ปกติแข็งแรง เริ่มถ่ายเหลวหลังจากรับประทานปลาแรดนึ่งประมาณ 24 ชั่วโมง ถ่ายประมาณวันละ 4 ครั้ง ปวดท้องเล็กน้อย ไม่มีไข้ ไปรับการรักษาที่อนามัย อาการดีขึ้น ถ่ายเป็นปกติอยู่ 2–3 วัน หลังจากนั้นถ่ายเหลวอีก ปวดท้องมาก ไม่มีไข้ ตรวจร่างกายโดยทั่ว ๆไป ปกติ

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ ครั้งแรกไม่พบเชื้อ หลังจากนั้นประมาณ 10 วัน เพาะเชื้อจากอุจจาระของผู้ป่วยอีกครั้งที่สองพบเชื้อ *A. hydrophila* และครั้งที่สามพบ NAG Heiberg gr. II กับเชื้อ *A. hydrophila*

รายที่ 8

เด็กหญิงอายุ 10 ปี นักเรียน สุขภาพทั่ว ๆ ไปแข็งแรง ชอบเล่นน้ำคลอง ป่วยโรคอุจจาระร่วงอยู่ประมาณ 2–3 วัน ถ่ายเหลววันละ 4–5 ครั้ง อุจจาระเหลวปนมูก ไม่มีไข้ ไม่ปวดท้อง ขณะที่ไม่สบายเด็กยังไปโรงเรียนตามปกติ (ไม่ได้ตรวจร่างกายผู้ป่วยรายนี้)

ผลการเพาะเชื้อ ซึ่งทำ 4 ครั้ง

ครั้งแรกแยกได้เชื้อ Shigella B และ *Aeromonas hydrophila*

ครั้งที่สองและสาม ไม่พบเชื้อ

ครั้งที่สี่ พบเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

รายที่ 9

หญิงไทยอายุ 65 ปี อาชีพทำสวน ป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน อุจจาระเป็นน้ำมากกว่า 6 ครั้งต่อหนึ่งวัน ปวดท้อง ไม่มีไข้ ป่วยอยู่ 2 วัน รับประทานยาของอนามัย อาการทุเลา รับประทานอาหารที่ปรุงเอง ผลการตรวจร่างกาย B.P. 130/80 mm.Hg. B.T. 37°C สุขภาพโดยทั่ว ๆ ไปแข็งแรงดี (ตรวจร่างกายเมื่อผู้ป่วยไม่มีอาการแล้ว)

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระซึ่งทำครั้งเดียว ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง

รายที่ 10

หญิงไทยอายุ 40 ปี อาชีพค้าขาย ปกติแข็งแรง ท้องผูกเป็นประจำ ถ่ายอุจจาระเหลวผิดปกติ ประมาณวันละ 3–4 ครั้ง หลังไปรับประทานอาหารที่

ปรุงด้วยปลาช่อน และปลาแรดประมาณ 12 ชั่วโมง ไม่มีไข้ หรือปวดท้อง ตรวจร่างกาย B.P. 110/60 mm.Hg. B.T. 36.8°C ปกติ

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 2 ครั้ง ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง

รายที่ 11

หญิงไทยอายุ 41 ปี อาชีพแม่บ้านและทำสวน สุขภาพโดยทั่ว ๆ ไป สมบูรณ์ แข็งแรง มีโรคประจำตัว คือ โรคปวดหัว มีความดันสูง (รักษากับแพทย์คลินิค) ถ่ายอุจจาระเหลวประมาณวันละ 3–4 ครั้ง ประมาณ 10 ชั่วโมง หลังรับประทานอาหารที่ปรุงด้วยปลาช่อน อาการมีอยู่ประมาณ 2–3 วันก็หายไป ผลการตรวจร่างกายโดยทั่ว ๆ ไปสมบูรณ์ B.P. 180/100 mm.Hg. P.R. 100/min. B.T. 37.2°C

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 3 ครั้ง พบเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

รายที่ 12

ผู้ป่วยหญิงไทยอายุ 45 ปี อาชีพค้าขายทำสวน สุขภาพโดยทั่ว ๆ ไป ผอมแต่แข็งแรง ทำอาหารด้วยปลาแรด และน้ำยาทำจากปลาช่อน โดยเลือกเอาตัวไม่มีแผล ภาชนะที่ใช้เกี่ยวกับการหุงต้มล้างด้วยน้ำคลอง ประมาณวันที่ 10 มกราคม 2526 ผู้ป่วยท้องเดินกะทันหัน ถ่ายเป็นน้ำ เหม็นคาว ประมาณวันละ 6–7 ครั้ง เป็นอยู่ประมาณ 1 วัน ก็หายโดยไม่ได้รับประทานยาต่อมาอีก 10 วัน ผู้ป่วยมีอาการปวดท้อง อุจจาระเป็นน้ำอีก ไม่มีอาเจียน ลักษณะอุจจาระคล้ายครั้งแรก ได้รับการรักษาจากแพทย์ตามคลินิค อาการค่อยทุเลา ตรวจร่างกายพบว่ามี B.P. 100/60 mm.Hg. B.T. 37.1°C ร่างกายโดยทั่วๆ ไป ผอมแต่แข็งแรง

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระซึ่งทำ 3 ครั้ง ปรากฏว่า

ครั้งแรกพบ *A. hydrophila*

ครั้งที่สอง ไม่พบเชื้อ

ครั้งที่สาม พบ *A. hydrophila* และ NAG Heiberg gr. II.

รายที่ 13

ผู้ป่วยเป็นเด็กชายอายุ 1 ขวบ ยังไม่อดนม ยายเป็นคนดูแล เริ่มป่วยเป็นคนแรกในบ้าน มีอาการถ่ายอุจจาระเหลว 4–5 ครั้ง/วัน เป็นอยู่ 4–5 วัน อาการดีขึ้น โดยยายซื้อยามาให้รับประทาน

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 2 ครั้ง ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง

รายที่ 14

เด็กหญิงอายุ 2 ขวบ มีไข้ ถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำ มีมูก เหม็น ถ่ายวันละ 4–5 ครั้ง ไม่สบายอยู่ 4 วัน ยายซื้อยาชุดมาให้รับประทาน

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 2 ครั้ง พบเชื้อ *A. hydrophila* ทั้ง 2 ครั้ง

รายที่ 15

ผู้ป่วยชายไทยอายุ 47 ปี อาชีพรับจ้างทั่ว ๆ ไป ป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงพร้อมกับผู้ป่วยรายที่ 13 และ 14 อุจจาระเหลวเป็นน้ำ ถ่ายวันละ 6–7 ครั้ง ปวดท้องมาก คลื่นไส้ เป็นอยู่ 3 วัน ซื้อยาชุดมากินเอง อาการดีขึ้น

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 2 ครั้ง พบเชื้อ *A. hydrophila* ทั้ง 2 ครั้ง

รายที่ 16

เด็กชายไทย อายุ 12 ปี เป็นนักเรียน ถ่ายท้องประมาณ 4–5 ครั้ง ไม่มีไข้ อาการไม่มากไปโรงเรียนได้ขณะเป็นโรคท้องเดิน

ผลการเพาะเชื้ออุจจาระ พบเชื้อจากอุจจาระ พบเชื้อ Vibrioalginolyticus ทั้ง 2 ครั้ง

รายที่ 17

ผู้ป่วยหญิงไทย อายุ 42 ปี อาชีพแม่บ้าน เลี้ยงหลานผู้ป่วยรายที่ 13 และ 14 ปกติเป็นคนท้องผูก เริ่มถ่ายอุจจาระเหลวประมาณกลางเดือนมกราคม

พร้อม ๆ กับผู้ป่วยรายที่ 13 และ 14 มีอาการไม่ปวดท้อง ไม่มีไข้ เป็นอยู่ 2–3 วันก็หายไปเอง โดยไม่ได้รักษา

ผลการเพาะเชื้อ

ครั้งแรกไม่พบเชื้อที่เป็นเหตุของโรคท้องร่วง

ครั้งที่สองพบเชื้อ *Vibrio parahemolyticus*

รายที่ 18

เด็กหญิง อายุ 14 ปี ถ่ายอุจจาระเหลว ประมาณวันละ 3–4 ครั้ง ไม่มีไข้ ไม่ปวดท้องขณะท้องเสีย ผู้ป่วยยังไปทำงานได้

ผลการเพาะเชื้อ ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง ทั้ง 2 ครั้ง

รายที่ 19

หญิงไทยอายุ 17 ปี ถ่ายอุจจาระเหลว ไม่มีไข้ ไม่ปวดท้อง มีอาการเกิดขึ้นพร้อม ๆ ผู้ป่วยรายที่ 13

ผลการเพาะเชื้อจากอุจจาระ 2 ครั้ง ครั้งแรกไม่พบเชื้อ ครั้งที่สองพบเชื้อ A.hydrophila

รายที่ 20

เด็กชาย อายุ 13 ปี ป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วง ถ่ายเหลว หลายครั้ง ไม่มีไข้ เป็นอยู่ 2 วันอาการก็หายเองโดยไม่ได้รับการรักษา

ผลการเพาะเชื้อ ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง

รายที่ 21

เด็กชาย อายุ 6 ขวบ ถ่ายเหลววันละ 4–5 ครั้ง ไม่มีคลื่นไส้ หรืออาเจียน ไม่มีไข้ตรวจอุจจาระ 2 ครั้ง ครั้งแรกไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง แต่ครั้งที่สองพบเชื้อ Vibrio fluvialis.

ผล (Result)

ตารางที่ 1 อายุ เพศ ลักษณะอุจจาระและจำนวนครั้งที่ถ่ายโดยประมาณต่อหนึ่งวันของผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐมในระยะเดือนมกราคม–กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2526

ผู้ป่วยรายที่	อายุ	เพศ	จำนวนครั้ง/วัน	ลักษณะอุจจาระ
1	57	ชาย	> 10	น้ำ + มูก
2	79	ชาย	> 10	น้ำ + มูก
3	71	หญิง	10	น้ำ
4	83	ชาย	5–6	น้ำ + มูก
5	38	หญิง	10–20	น้ำ
6	43	หญิง	> 5	น้ำ
7	66	ชาย	4–5	น้ำ
8	10	หญิง	4–5	น้ำ + มูก
9	55	หญิง	> 5	เหลว
10	40	หญิง	3	เหลว
11	41	หญิง	3–4	เหลว
12	45	หญิง	10	น้ำ + มูก
13	1	ชาย	4–5	น้ำ
14	2	หญิง	4–5	เหลว + มูก
15	47	ชาย	6–7	น้ำ + มูก
16	12	ชาย	4–5	เหลว
17	42	หญิง	3–4	เหลว
18	17	หญิง	3–4	เหลว
19	14	หญิง	3–4	เหลว
20	13	ชาย	3	เหลว
21	6	ชาย	4–5	เหลว

ตารางที่ 2 อาการและอาการแสดงของผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง ชาวบ้านหมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระยะเดือนมกราคม ถึง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2526

อาการและอาการแสดง	จำนวนผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง				เชื้ออื่น ๆ	จำนวนวนผู้ป่วย
	ตรวจไม่พบเชื้อ	ตรวจพบเชื้อ				
		A.H.	A.H. + NAG	A.H. + $SHIG_B$		
ไข้	2	2	–	–	–	4
ภาวะแห้งน้ำ	2	1	–	–	–	3
คลื่นไส้	1	2	–	–	–	3
อาเจียน	2	–	–	–	–	2
ปวดท้อง	5	5	2	–	1	13
ลักษณะอุจจาระ น้ำ + มูก	3	5	2	1	–	11
เหลว	5	2	–	–	–	7
จำนวนผู้ป่วย	8	7	2	1	3	21
	21					

A.H. = AEROMONAS HYDROPHILA
NAG = NON AGGLUTINABLE VIBRIO
SHIG B = SHIGELLA GROUP B.

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงของชาวบ้านหมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระยะเดือนมกราคม ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2526

จำนวนผู้ป่วย	ผลการตรวจอุจจาระ(ร้อยละ)		จุลชีพที่พบในอุจจาระ (ร้อยละ)			เชื้ออื่น ๆ
	ไม่พบเชื้อ	พบเชื้อ	A.H.	A.H.+ NAG gr II	A.H. Shigella$_B$	
21	8 (38.1%)	13 (61.9%)	7 (33.3%) ←	2 (9.5%) (47.6%)	1 (4.8%) →	3 (14.3%)

ตารางที่ 4 จำแนกชนิดจุลชีพที่แยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง ในระยะเดือนมกราคม ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2526 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

จุลชีพ	จำนวนที่พบ (ร้อยละ)	
	จำนวน	%
Aeromonas hydrophila	7	53.8 %
Aeromonas hydrophila และ NAG Heiberg gr. II	2	15.4 %
Aeromonas hydrophila และ Shigella gr.B	1	7.7 %
Vibrio alginolyticus	1	7.7 %
Vibrio fluvialis	1	7.7 %
Vibrio parahemolyticus	1	7.7 %
	13	100.00

วิจารณ์และเสนอแนะ

ผลที่ได้จากการศึกษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ พบว่าระยะฟักตัวของโรคไม่แน่นอน ผู้ป่วยมีอาการของโรคประมาณ 3-4 วัน มีอาการมากในผู้ป่วยสูงอายุ หรือผู้มีสุขภาพเดิมอ่อนแอ เช่น ผู้ป่วยรายที่ 1, 2, 3 และ 4 อาการของโรคเป็นอาการของโรคท้องเสียธรรมดา ๆ ให้ลักษณะอุจจาระเป็น 2 แบบ ถ่ายเป็นน้ำปนมูก และถ่ายเหลว (ตารางที่ 1) ไม่ค่อยมีไข้ ปวดท้องมาก (ตารางที่ 2) ซึ่งจากประวัติ, ตรวจร่างกาย และอาการแสดงของผู้ป่วยกลุ่มนี้อาจจะติดเชื้ออะไรก็ได้เช่น Vibrio cholerae, NAG กลุ่มต่าง ๆ Salmonella etc. ซึ่งอาการของโรคเป็นผลจาก enterotoxin ของเชื้อเหล่านี้มากกว่าเป็นผลการอักเสบของลำไส้จากตัวบักเตรีเอง เชื้อที่พบได้บ่อย ๆ ในระยะนี้ก็คือเชื้อ *Vibrio cholerae* ซึ่งมักจะพบอุบัติการณ์การติดเชื้อนี้สูงในหน้าแล้ง อาการของโรคก็คล้ายโรคติดเชื้อนี้ด้วย

ผลจากการเพาะเชื้อจากอุจจาระของผู้ป่วยกลุ่มนี้ พบว่าสามารถแยกเชื้อได้ถึง 13 ราย คิดเป็นร้อยละ 61.9 และในกลุ่มที่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงนี้ 7 ราย (33.3%) พบแต่เชื้อ *A. hydrophila* และอีก 3 ราย พบ *A. hydrophila* กับเชื้ออื่น ๆ (ตารางที่ 3) และชนิดของจุลชีพที่พบจากอุจจาระของผู้มีอาการเหล่านี้ พบเชื้อ *A. hydrophila* 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 53.8 ของเชื้อ ที่แยกได้ทั้งหมด (ตารางที่ 4) เมื่อเทียบกับรายงานจากโรงพยาบาลบำราศนราดูร ซึ่งเป็นโรงพยาบาลที่รับแต่โรคอุจจาระร่วงโดยตรง พบเชื้อ A. hydrophila จากอุจจาระของผู้ป่วยตลอดปี พ.ศ. 2525 ถึง 2526 เพียงร้อยละ 1.2 และ 2.0 ตามลำดับ

ดังนั้นในระยะที่ชาวชนบทมีปัญหาเรื่องน้ำเสีย ปลาเป็นโรคตาย เชื้อ *A. hydrophila* ก็เป็นเชื้อจุลชีพอีกชนิดหนึ่งทำให้คนป่วยเป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารได้เช่นเดียวกับเชื้ออื่น ๆ ซึ่งให้อาการรุนแรงและอาจจะเสียชีวิตได้ ถ้าผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้อง

ข้อมูลที่ได้จากศึกษาในเรื่องนี้ ย่อมมีประโยชน์ เพราะเห็นได้ชัดว่าชาวชนบทมีโอกาสติดเชื้อ *A. hydrophila* ได้ง่าย โดยทางน้ำและอาหารในช่วงระยะที่สิ่งแวดล้อมเอื้ออำนวยต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อนี้ ซึ่งวิธีที่จะป้องกันคือบริการน้ำที่สะอาดต่อชาวชนบท ให้ความรู้ทางด้านสุขศึกษา หรืออาจจะใช้วัคซีนป้องกันโรค

เนื่องจากการศึกษาเรื่องนี้ ทำในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ประมาณ 8–10 อาทิตย์เท่านั้น ดังนั้นจำนวนผู้ป่วยอาจจะน้อย ซึ่งมีความสำคัญน้อยทางสถิติ ดังนั้นควรจะได้ศึกษาเรื่องนี้อีก และทำในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้ได้จำนวนผู้ป่วยมาก ๆ อาจจะศึกษาโรคอุจจาระร่วงของชาวบ้านหมู่ 2 นี้ ในระยะ 1 ปี หรือมากกว่านั้น เพื่อดูอุบัติการณ์ของโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ*A.hydrophila* นี้ว่ามีมากน้อยเท่าใด ในช่วงระยะต่าง ๆ เป็นแนวทางการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อนี้

และอีกประการหนึ่ง เชื้อ *A. hydrophila* ที่แยกได้ ควรนำมาศึกษาหา enterotoxin ด้วยเพื่อจะได้หาความเกี่ยวข้องระหว่างเชื้อที่มี enterotoxin และอาการแสดงของโรคเพราะจากการศึกษาผู้ป่วยในกลุ่มนี้อาการแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ท้องเสียธรรมดา อาการไม่มาก แยกได้เชื้อ *A. hydrophila* และกลุ่มที่มีอาการมาก ถ่ายเป็นน้ำ แยกได้เชื้อ *A. hydrophila* ด้วย จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงพยาธิกำเนิดของเชื้อนี้ให้ละเอียดต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Lennette EH, Balows, Hausier, and Traunt JP. Aeromonas and pleisiomonas : Mannual of clinical microbiology, 3nd ed. Washington D.C. : American Society for microbiology, 1980 : 240-4.
2. Washington JA. Aeromonas hydrophila in clinical bacteriogic specimens Ann. Interm Med. 1972 ; 76 : 611-4.
3. Rosner R. Aeromonas hydrophila as the Etiologic Agent in a case of severe gastroenteritis. Am J. clin. pathol. 1964 ; 42 : 402-4.
4. Chatterjee. BD, Neogy. KN. Studies on Aeromonas and plesiomonas species isolated from cases of choleraic diarrhea INDIAN J. Med. Res. 1972 : 60 : 520-4.
5. Ljungh A., Popoff M., Wadstrom T. Aeromonas hydrophila in acute diarrheal disease : detection of enterotoxin and biotyping of strains. J clin Microbial 1977 Aug ; 6 (2) : 96-100
6. อมร ; อนัญญา : แอร์โรโมนาส เสพติคเมีย สารศิริราช 2522, 31 : 1230-1238.
7. วิษณุ & สมหวัง : Aeromonas infection clinical analysis of 31 adult patient in Siriraj hospital. Thai J. intern Med. 1981, 4 : 162-6.
8. Ewing WH, Martin WJ : Enterobacteriaceae. Lennette EH, Spaulding EH Truant JP. : Mannual of Clinical microbiology, 2nd ed. Washington, American Society for microbiology ; 1974 p. 109
9. Ewing WH, Hugh R : Aeromonas. Lennette EH, Spaulding EH, Truant JP. : Mannual of clinical microbiology, 2nd ed. Washington. American Society for microbiology, 1974 p. 230.

การตรวจพบเชื้อแอร์โรโมแนส ไฮโดรฟีลล่า ในชาวบ้านบางเตย ที่ไม่มีอาการ

สมใจ เหรียญประยูร
กัญชลี เลิศโภคะสมบัติ
สุดาลักษณ์ ฉันทรัชดา
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ได้สำรวจโดยการเพาะเชื้อจากอุจจาระของผู้ไม่มีอาการของโรคอุจจาระร่วง อาศัยอยู่ที่หมู่ที่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระยะเดือนมกราคม–มีนาคม พ.ศ. 2526 จำนวน 257 คน มีอายุตั้งแต่ 1 ปี ถึง 79 ปี ชาย 128 คน หญิง 129 คน ผลของการเพาะเชื้อ พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงทางแบคเตรี ร้อยละ 23.3 และในจำนวนเชื้อที่พบนี้เป็นแอร์โรโมแนส ไฮโดรฟีลล่า ร้อยละ 15.95 เชื้อแอร์โรโมแนส ปนกับเชื้อ NAG. Heiberg gr. II ร้อยละ 0.77 และเป็นเชื้ออื่น ๆ ร้อยละ 6.6

The Incidence of Aeromonas hydrophila in asymptomatic people at Bang–Toi

Somjai Reinprayoon

Kanchalee Lertpocasombat

Sudaluck Chantaratchada

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Abstract

During the outbreak of furanculosis the villagers of Bang–Toi were subjects for the study of carrier rate of *Aeromonas hydrophila* infection. From 257 asymptomatic subjects, 128 were male and the rest were female. The positive stool culture for bacteria which cause diarrhea were 23.3 percent. Among the positive, *Aeromonas hydrophila* alone, Aeromonas hydrophila with NAG Heiberg group II and other enteric bacteria were identified 15.95, 0.77 and 6.6 respectively. The finding indicates quite high incidence carrier rate of *Aeromonas hydrophila.*

บทนำ

เชื้อแอร์โรโมแนส ไฮโดรฟีลล่า เป็นแบคเตรีที่มีรูปร่างเป็นแท่งย้อมติดสีแกรมลบ[1] พบได้ตามธรรมชาติ ในน้ำ ดิน และที่ชั้นแฉะ เชื้อนี้ก่อให้เกิดโรคในสัตว์หลายชนิด เช่น ปลา กบ งู และสัตว์เลื้อยคลานอื่น ๆ สมัยก่อนในคนพบเชื้อนี้น้อย ต่อมาพบมากขึ้น[2,3,4] และพบว่าเชื้อนี้เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง[5,6] ผิวหนังอักเสบ[7,8] และเข้ากระแสโลหิตทำให้เป็นอันตราย[9,10] ถึงตายได้

ตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ. 2525 เป็นต้นมา มีการระบาดของโรคปลาซึ่งรุนแรงและกว้างขวางกว่าที่เคยปรากฏมา ผลของการศึกษาวิจัยของกรรมการเฉพาะกิจ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่าสาเหตุของโรคเกิดจากการติดเชื้อแอร์โรโมแนส ไฮโดรพีลลา (*Aeromonas hydrophila*)[11] ซึ่งตามปกติเชื้อนี้มีอยู่ตามแหล่งน้ำทั่ว ๆ ไป แต่ด้วยเหตุเสริมหลายประการ เช่น อุณหภูมิของน้ำ อากาศและสภาพของน้ำ ทำให้เชื้อนี้ทวีจำนวนมากขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้เกิดโรคในปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้ รวมทั้งปลาตามแหล่งน้ำธรรมชาติตายเป็นจำนวนมาก ดังเป็นข่าวปรากฏอยู่ทั่วไป

หมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ซึ่งอยู่ห่างจากกรุงเทพประมาณ 30 กิโลเมตร ประกอบด้วย 135 หลังคาเรือน มีประชาชนอาศัยอยู่ประมาณ 1,061 คน ชาวบ้านมีอาชีพรับจ้าง ทำสวน ค้าขาย รับราชการ และเลี้ยงปลา เช่นเดียวกับชาวชนบททั่ว ๆ ไป คือ การสุขาภิบาล สิ่งแวดล้อมของชาวบ้านหมู่นี้ยังไม่ได้มาตรฐานที่ดี ต้องอาศัยน้ำจากแม่น้ำ ลำคลอง และบ่อในการอาบ กิน และชำระสิ่งต่าง ๆ ซึ่งหลายครั้งที่ต้องประสบปัญหาน้ำคลองหรือแม่น้ำ มีสภาพไม่เหมาะสมที่จะใช้อาบ กิน เนื่องจากโรงงานกระดาษ โรงงานสุรา โรงงานย้อมผ้า ซึ่งตั้งอยู่ริมฝั่งแม่น้ำท่าจีน ปล่อยน้ำเสียจากโรงงานลงสู่แม่น้ำและคลองต่าง ๆ รวมทั้งคลองบางเตยด้วย ในช่วงระยะปลายปี พ.ศ. 2525 จนถึงต้นปี พ.ศ. 2526 ชาวบ้านพบว่าปลาที่เลี้ยงไว้และปลาตามแม่น้ำลำคลองตายเป็นจำนวนมากโดยตามตัวปลาจะมีแผลเน่า เช่นเดียวกับที่เป็นโรคตายในจังหวัดอื่น ๆ ในระยะนี้ชาวบ้านจะเลือกบริโภคปลาที่ไม่มีแผล และปรุงให้สุก บางคนก็หลีกเลี่ยงไม่รับประทานปลาเลย แต่ยังใช้น้ำคลองในการชำระล้างสิ่งต่าง ๆ และใช้บริโภคด้วย โดยการแกว่งสารส้มหรือกำมะถันเพื่อให้น้ำใสเสียก่อน

ข้อมูลที่ได้จากอนามัยบางเตย พบว่ามีผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงเพิ่มขึ้นทุกปี อาการของโรคเป็นแบบเฉียบพลัน อุจจาระเป็นน้ำ วันละ 5–10 ครั้ง ปวดท้องมาก ไม่มีไข้ บางคนมีภาวะแห้งน้ำเกิดขึ้น ต้องให้น้ำเกลือ แต่ไม่มีผู้ใดเสียชีวิต

ปัญหาโรคติดเชื้อทางเดินอาหารเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของชาวไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งชาวชนบท ซึ่งมีโอกาสติดเชื้อ *Salmonella,Shigella. Vibrio cholerae, Vibrio parahemolyticus, Aeromonas hydrophila* และเชื้ออื่น ๆ ได้ง่าย เพราะเหตุที่การสุขาภิบาลยังไม่ดีพอ โดยที่เชื้อจะเข้าไปกับอาหารน้ำ เพราะชาวบ้านต้องอาศัยน้ำจากแม่น้ำ ลำคลอง บ่อ ในการบริโภคและชำระล้างสิ่งต่าง ๆ โอกาสติดเชื้อจึงมีง่ายกว่าชาวกรุงที่มีน้ำสะอาดใช้และอีกประการหนึ่ง ชาวบ้านไม่เห็นความสำคัญของการป้องกันโรค เมื่อมีอาการก็จะซื้อยามารับประทานเอง การรักษาที่ไม่ถูกต้องทำให้เชื้อถูกทำลายไม่หมด เชื้อยังอยู่ในผู้ป่วยนั้นทำให้กลายเป็นพาหะของโรคไปโดยไม่รู้ตัว เมื่อสุขภาพของผู้นั้นทรุดโทรมอาการของโรคก็จะปรากฏขึ้น และแพร่เชื้อนี้ ทำให้เกิดมีปัญหาในการควบคุมโรคซึ่งเป็นภัยต่อสุขภาพอนามัยของชุมชนนั้น ๆ เป็นอย่างมาก

วัตถุประสงค์

การศึกษาในเรื่องนี้ เป็นการสำรวจเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เกี่ยวกับเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อทางเดินอาหารที่สำคัญอีกเชื้อหนึ่ง คือ แอร์โรโมนาสไฮโดรฟีล่า *(Aeromonas hydrophila)* ว่ามีอยู่ในอุจจาระของผู้ไม่มีอาการแสดงของโรคมากน้อยเท่าใด

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ ย่อมแสดงถึงพาหะของโรคติดเชื้อ Aeromonas hydrophila ที่พบในทางเดินอาหารของชาวชนบท มีประโยชน์ในการป้องกันการระบาดของโรคนี้ได้โดยการขจัดสภาพพาหะของโรคนี้ให้หมดไป

แผนดำเนินงาน :–

- สำรวจสถานที่ ๆ จะทำการศึกษา โดยอาศัยความร่วมมือของชาวบ้าน สภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการติดเชื้อทางเดินอาหาร มีปัญหาน้ำเสีย ปลาเป็นโรคระบาดตายอยู่ใกล้กรุงเทพด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้ หมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม จึงเป็นหมู่บ้านที่ทำการสำรวจ
- คณะผู้วิจัยได้เยี่ยมบ้าน โรงเรียนบางเตย สถานีอนามัย
- ขณะเยี่ยมบ้านได้ให้ความรู้เกี่ยวกับโรคอุจจาระร่วง ชี้แนะให้เห็นประโยชน์ของการเพาะเชื้อจากอุจจาระ ขอความร่วมมือในการเก็บอุจจาระเพื่อแยกและวิเคราะห์เชื้ออย่างน้อยคนละ 2 ครั้ง
- แจกอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อใส่อุจจาระ โดยใช้ Cary Blair หรือ Stuart media
- เก็บรวบรวมตัวอย่างอุจจาระเพื่อส่งห้องปฏิบัติการทางแบคเตรี ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- แยกและวิเคราะห์เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงทางแบคเตรี อาทิ เช่น *Vibrio–cholerae, NAG, Vibrio parahemolyticus, Salmonella* ชนิดต่าง ๆ *Shigella, Entropathogenic E. coli* (เฉพาะ *serotype*) *Plesiomonas Shigelloides* และ *Aeromonas*

hydrophila ซึ่งทำตามขั้นตอนการแยกและวิเคราะห์เชื้อ *pathogenic enterobacteria* ของ *Edward PR, Ewing WH*[12] และเมื่อแยกได้เชื้อแล้ว นำไปทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะต่าง ๆ โดยวิธี *disc method*

ผล

ตารางที่ 1 อายุ เพศ ของผู้ที่ได้รับการตรวจอุจจาระ ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม จำนวน 257 ราย ระยะเดือนมกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2526

อายุ	เพศ		จำนวน
	ชาย	หญิง	
0–10	47	36	83
11–20	43	33	76
21–30	17	17	34
31–40	6	12	18
41–50	9	20	29
51–60	4	6	10
61–70	–	5	5
71–80	2	0	2
1–79	128	129	257

ตารางที่ 2 ผลการตรวจอุจจาระของชาวบ้านบางเตย 257 คน ในระยะเดือนมกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2526

อายุ	เพศ	จำนวน	ผลการเพาะเชื้อ (ร้อยละ)	
			ไม่พบเชื้อ	พบเชื้อ
> 14 ปี (ผู้ใหญ่)	ชาย	60	43 (71.66)	17 (28.3)
	หญิง	68	52 (76.5)	16 (23.5)
		128	95 (74.3)	33 (25.7)
< 14 ปี (เด็ก)	ชาย	68	56 (82.3)	12 (17.7)
	หญิง	61	46 (75.4)	15 (24.6)
		129	102 (79.1)	27 (20.9)
1 ปี–79 ปี		257	197 (76.7)	60 (23.3)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงถึงจุลชีพที่แยกได้ 60 รายจากการสำรวจอุจจาระทั้งหมด 257 ราย ระยะเดือนมกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2526

อายุ	เพศ	จำนวน	ชนิดจุลชีพ (ร้อยละ)		
			A.H.	A.H. และเชื้ออื่น ๆ	เชื้ออื่น ๆ
> 14 ปี	ชาย	60	11 (18.3)	–	6 (10.0)
	หญิง	68	15 (22.1)	–	1 (1.5)
14 ปี–79 ปี		128	26 (20.3)	–	7 (5.5)
< 14 ปี	ชาย	68	7 (10.3)	1 (1.5)	4 (5.9)
	หญิง	61	8 (13.1)	1 (1.6)	6 (9.8)
1 ปี–14 ปี		129	15 (11.6)	2 (1.5)	10 (7.7)
1 ปี–79 ปี		257	41 (15.95)	2 (0.77)	17 (6.6)

A.H. = *Aeromonas hydrophila*

ตารางที่ 4 จุลชีพที่พบในอุจจาระ 60 คน เป็นเด็ก 27 คน และผู้ใหญ่ 33 คน มีดังนี้

จุลชีพ	จำนวน	ร้อยละ
Aeromonas hydrophila	41	68.3
Plesiomonas shigelloides	5	8.3
Salmonella		
Sal. lexington	2	3.2
Sal. anatum	1	1.7
Sal. panama	1	1.7
Vibrio Fluvialis	4	6.4
Vibrio parahemolyticus	3	4.8
A.H.+Vibrio parahemolyticus	1	1.7
Vibrio parahemolyticus+V. anguillamum	1	1.7
NAG Heiberg gr. II	1	1.7

A.H. = *Aeromonas hydrophila*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความไวของเชื้อ A. hydrophila ที่แยกได้จากอุจจาระผู้ไม่มีอาการ ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระยะเดือนมกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2526

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้นของยาใน Disc	จำนวนเชื้อ	ผลการทดสอบ (ร้อยละ)	
			ได้ผล	ไม่ได้ผล
Pen G Sod	10 unit	37	–	100
Ampicillin	10	37	24.3	75.7
Cefotaxime	30	37	62.1	37.9
Vibramycin	30	25	80	20
Tetracycline	30	13	76.9	23.1
Chloramphenicol	30	37	100	–
CO–trimoxazole	23.75:1.25	37	94.6	5.4
Kanamycin A	30	37	94.5	5.5
Tobramycin	10	37	97.3	2.7
Kanamycin Sulfate	30	37	67.5	32.5
Kanamycin B	30	37	100	–
Gentamycin	10	35	97.1	2.9
Colistin	10	37	81	19
Nalidixic Ac.	30	27	96.3	3.7
Nitrofuranatoin	300	29	93.1	6.9
Sisomicin	30	37	100	–

ผลของการศึกษา

เนื่องจากการไปสำรวจทำในเวลาที่ประชาชนส่วนใหญ่ไปทำงานตามปกติ จึงพบแต่เด็กก่อนเข้าโรงเรียน และผู้หญิง และผู้สูงอายุเป็นส่วนใหญ่ เก็บตัวอย่างอุจจาระได้ 257 คน ประมาณครึ่งหนึ่งของจำนวนนี้ ได้ตัวอย่างอุจจาระคนละ 2–3 ครั้ง อายุมีตั้งแต่ 1 ปี ถึง 79 ปี ชาย 128 คน และหญิง 129 คน อายุเฉลี่ยจะหนาแน่นในช่วงอายุ 1–20 ปี ทั้งนี้ได้รับความร่วมมือจากครูโรงเรียนบ้านบางเตยเป็นอย่างดี (ตารางที่ 1) อายุสูงขึ้นมามีจำนวนน้อย อาจจะเป็นเพราะไม่สะดวกในการเก็บอุจจาระเพราะต้องไปทำงานตามโรงงาน รับราชการหรือค้าขาย

ผลการเพาะเชื้อ 257 คน พบว่าร้อยละ 76.7 ไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงทางแบคเตรี ร้อยละ 23.3 พบเชื้อทางแบคเตรีที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง (ตารางที่ 2)

ในกลุ่มที่พบเชื้อนี้ ร้อยละ 15.95 เป็นเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่าแต่อย่างเดียว ร้อยละ 0.77 เป็นเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่ากับเชื้ออื่น ๆ และที่เหลือร้อยละ 6.6 เป็นเชื้ออื่น ๆ ที่ทำให้เป็นโรคอุจจาระร่วง (ตารางที่ 3)

ชนิดของจุลชีพที่แยกได้จากเด็ก 27 คน และผู้ใหญ่ 33 คนนั้น พบว่าเป็นเชื้อแอร์โรโมนาสมากที่สุดถึงร้อยละ 68.3 นอกนั้นเป็น Plesiomonas shigelloides, salmonella และ marine Vibrio ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ความไวของเชื้อแอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า ที่แยกได้ต่อยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อนี้ไวต่อยา Chloramphenicol, Kanamycin B, Sisomicin, Gentamycin, Tobramycin, Nalidixic acid, Nitrofurantoin และ Co–trimoxazole (ตารางที่ 5)

สรุป

ผลของการสำรวจหาสภาพพาหะของโรคติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในทางเดินอาหารของชาวบ้านหมู่ 2 ตำบลบางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ในช่วงระยะเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2526 พบว่าชุมชนกลุ่มนี้มีสภาพเป็นพาหะของเชื้อนี้ถึงร้อยละ 15.95 และเป็นเชื้อนี้กับเชื้ออื่น ๆ อีกร้อยละ 0.77

วิจารณ์และข้อเสนอแนะ

ผลของการสำรวจทำในระยะเวลาอันจำกัด คือ ประมาณ 10–12 อาทิตย์ (ในช่วงที่ปลาเป็นโรคตายเป็นจำนวนมาก) ทำให้เก็บอุจจาระมาตรวจได้น้อย คิดเป็นร้อยละ 24.2 ของชาวบ้านทั้งหมด อีกร้อยละ 75.8 ยังไม่ได้ถูกสำรวจ จึงทำให้ผลออกมาค่อนข้างจะสูง ซึ่งควรจะได้ทำการสำรวจอีก ให้ได้ตัวอย่างอุจจาระมากกว่านี้ และควรจะศึกษาในช่วงระยะต่าง ๆ อีกด้วย คือ อาจจะทำตลอดทั้งปีหรือทำเป็นช่วงระยะที่ไม่มีปัญหาเรื่องน้ำเสียและปลาไม่เป็นโรค เพื่อเปรียบเทียบกับระยะที่มีปัญหา ว่ามีความแตกต่างกันอย่างไร ถ้าจะให้ผลการสำรวจสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ควรจะสำรวจชุมชนอื่น ๆ เปรียบเทียบกับชุมชนนี้ด้วย ก็จะให้ข้อมูลที่มีประโยชน์มากขึ้น

References

1. Ewing WH., Huge R., Aeromonas. Lernnette. EH., Spauding E.H., Truat JP. et. Mannual of Clinical Microbiology 2nd. Washington D.C. : American society for microbiology ; 1974 : 230–7
2. Von GRAEVENITZ A., MENSCH AH. : The geuns aeromonas in human bacteriology report of 30 Cases and review of the literature. N. Engl. J med. 1968 ; 278 : 245–9
3. Washington JA. *Aeromonas hydrophila* in Clinical bacteriologic specimens. Ann Intern med 1972 ; 76 : 611–4
4. Davis WA, Kane JG, Garagus VF. Human Aeromonas infections : A review of the literature and a case report of endocarditis. Medicine 1978 ; 57 : 267–77
5. Rosner R. : *Aeromonas hydrophila* as the etiologic agent in a case of severe gastroenteritis. Am, J Clin. Pathol 1964 ; 42 : 402–4
6. Chatterjee BD. Neogy KN. Studies on Aeromonas and Plesiomonas species isolated from cases of choleraic diarrhea. Indian J Med Res 1972 ; 60 : 520–4
7. Hanson P.G., J standridge, F. Jarret, et al : Fresh wound Infection due to *Aeromonas hydrophila* JAMA 1977 ; 238 : 1053
8. Rosenthal SG, Bernhardt HE, Phillips JA. : *Aeromonas hydrophila* wound infection. Plast Reconstr Surg 1974 ; 53 : 77–9
9. Ketover BP, Young LS, Armstrong D : Septicaemia due to Aeromanas hydrophila : Clinical and Immunologic Aspects. J. Infect Dis 1973 ; 127 : 284–90.
10. Pearson TA, Mitchell CA, Hughes WT. Aeromonas hydrophila septicaemia. Am J. dis child 1972 ; 123 : 579–82
11. (ติดต่อส่วนตัว) ผลงานของคณะกรรมการเฉพาะกิจ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
12. Edward PR, Ewing WH : Identification of enterobacteriaceae 3rd ed. Minneapolis, Burgess. Pub Co 1972.
13. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC et al : Antibiotic susceptibility testing by standardize single disc method. Amer J. Clin Path 1966 ; 45 : 493 : 496.

รายงานการตรวจพบเชื้อ *แอร์โรโมนาส ไฮโดรฟีล่า* จากผู้ป่วย : เน้นรายงานผู้ป่วยระหว่างที่มีโรคระบาดในปลาน้ำจืด 2525-2526

ประวิทย์ ชุมเกษียร

กองระบาดวิทยา สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข

บทคัดย่อ

ในโรงพยาบาลของรัฐในเขตกรุงเทพมหานคร ปี พ.ศ. 2525 สอบถามไป 13 แห่ง ที่ตรวจพบเชื้อนี้มี 7 แห่ง มีผู้ป่วยรวม 466 คน คือ

โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 34 คน โรงพยาบาลศิริราช 162 คน

คณะเทคนิคการแพทย์ จำนวน 33 คน โรงพยาบาลบำราศนราดูร 166 คน

โรงพยาบาลกลาง จำนวน 10 คน โรงพยาบาลเด็กจำนวน 5 คน

ในโรงพยาบาลของรัฐในต่างจังหวัด ปี พ.ศ. 2525 สอบถามไป 40 จังหวัด ที่ตรวจพบเชื้อนี้มี 6 จังหวัด พบเชื้อรวม 24 คน คือ

จังหวัดปทุมธานี จำนวน 2 คน จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 4 คน

จังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 13 คน จังหวัดชัยนาท จำนวน 1 คน

จังหวัดลพบุรี จำนวน 2 คน จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 2 คน

สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข ได้มีหนังสือสั่งการไปยังจังหวัดต่างๆ ที่เกิดการระบาดโรคปลา ให้คอยติดตามผลการตรวจพบเชื้อทุกชนิดรวมทั้ง *A. hydrophila* จากผู้ป่วยของห้องปฏิบัติการทุกแห่ง แล้วรายงานให้กองระบาดวิทยา สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข ทุกสัปดาห์ ตั้งแต่ 1 มกราคม 2526 จนถึง 31 มีนาคม 2526 จังหวัดสุพรรณบุรีซึ่งพบว่ามีโรคระบาดมากที่สุดได้ตรวจพบเชื้อ *A. hydrophila* ในผู้ป่วยอุจจาระร่วงรวม 66 คน จังหวัดสิงห์บุรีพบเชื้อ *A. hydrophila* 3 คน และ *A. shigelloides* 2 คน และจังหวัดสมุทรสาครพบเชื้อ *A. hydrophila* 1 คน จังหวัดอื่นไม่มีรายงานการตรวจพบเชื้อนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Aeromonas hydrophila Infection in Man Special Reference to the Diarrheal cases During the Fish Water Fish Epidemic : 1982–1983

Pravit Chumkasien

The Division of Epidemiology Ministry of Public Health.

Abstract

According to the fish epidemic during the late of the year 1982 and the begining of the year 1983. The division of epidemiology, Ministry of Public Health, was also involved in the study to prevent this disease transmitted to man. We had informed 13 goverment hospitals in Bangkok and 40 provincial hospitals which the fish epizootic occured. There were abcases in Bangkok and 24 cases in provincial hospitals that found *A. hydrophila* from man in 1982. The cases were markly increased from January 1 to March 31, in 1983. There were 71 cases of *A. hydrophila* isolated in man especially 66 cases in Suphan-Buri Province that got the heaviest fish epizootic.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย