

# บทที่ 1

## บทนำ



### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ตั้งแต่ปี 2529 เป็นต้นมา การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำของประเทศไทยได้เข้าสู่ระบบการเลี้ยงแบบพัฒนา เกษตรกรมีการเลี้ยงกุ้งอย่างหนาแน่นเพื่อเพิ่มผลผลิต ลักษณะการเลี้ยงกุ้งดังกล่าวเป็นการโน้มทำให้เกิดปัญหาในระหว่างการเลี้ยง เช่น ปัญหาการจัดการคุณภาพน้ำ ปัญหาการเกิดโรคติดเชื้อ เป็นต้น ปัญหาหนึ่งที่มีความสำคัญและอาจทำให้กุ้งตายในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้เป็นจำนวนมาก คือ การติดเชื้อแบคทีเรีย แบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำมีหลายกลุ่ม แต่มีเพียงสองกลุ่มที่ก่อให้เกิดความสูญเสียเป็นจำนวนมาก คือ กลุ่ม filamentous bacteria และกลุ่ม vibrios bacteria เชื้อ vibrios ทำให้เกิดโรคได้รุนแรงและมีอัตราการตายสูง เนื่องจากเชื้อ vibrios ก่อโรคได้ทั้งแบบ external และ internal infection (Lavilla-Pitogo, 1995) เชื้อ vibrios เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ปกติทั่วไปในน้ำทะเลและเป็นเชื้อฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) การเกิดโรค vibriosis ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสูญเสียของผลผลิตกุ้งในฟาร์ม โดยกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อมีอัตราการตายตั้งแต่เล็กน้อยจนถึง 100% โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่การจัดการไม่เหมาะสมหรือสภาวะที่ทำให้กุ้งเครียด กินอาหารลดลง (Jiravanichpaisal et al., 1994)

อาการของกุ้งป่วยด้วยโรค vibriosis ได้แก่ ไม่มีแรงว่ายน้ำ กุ้งมักลอยอยู่บริเวณผิวน้ำหรืออนึ่งบริเวณก้นบ่อ ไม่มีการติดตัวหนีเมื่อมีสิ่งรบกวน มีเพรียงหรือสาหร่ายเกาะบริเวณเหงือกและเปลือกทางเดินอาหารว่างเปล่า hepatopancreas หดตัวมีขนาดเล็กลงและมีสีเข้ม ในกุ้งโตจะพบความรุนแรงน้อยกว่า โดยมักพบรอยดลอกร่วมกับการเกิดสีน้ำตาลเข้มตามแพนหางและขอบเปลือก ในบางครั้งอาจพบ nodules สีดำในอวัยวะภายใน (Jiravanichpaisal et al., 1995)

เชื้อ vibrios ที่พบว่าก่อโรคในกุ้งกุลาดำที่เพาะเลี้ยงในเอเชีย ได้แก่ *Vibrio alginolyticus* *V. anguillarum* *V. cholera* (non-01) *V. damsela* *V. fluvialis* *V. harveyi* *V. neresis* *V. parahaemolyticus* *V. splendidus* *V. tubiashii* และ *V. vulnificus* (Lavilla-Pitogo, 1995) ส่วนเชื้อ vibrios ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำป่วยในเขตการเลี้ยงแถบต่างๆ ของประเทศไทย ได้แก่ *V. alginolyticus* *V. cholera* *V. damsela* *V. fluvialis* *V. harveyi* *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* (นิธาวินและคณะ, 2546)

Nash และคณะ (1992) ได้ให้ข้อคิดเห็นไว้ว่า การรักษาการติดเชื้อ vibrios ในกุ้งกุลาดำจะให้ผลดีที่สุดเมื่อเริ่มรักษาตั้งแต่การติดเชื้อระยะแรก อย่างไรก็ตามแนวทางการรักษาดังกล่าวทำได้ยากในทาง

ปฏิบัติเนื่องจากเชื้อ vibrios ชนิดก่อโรคสามารถเข้าสู่ระบบเลือดโดยที่กุ้งไม่แสดงอาการป่วยให้เห็น ทำให้เกษตรกรมีการใช้ยาปฏิชีวนะและ/หรือสารเคมีหลายๆ ชนิด เพื่อการป้องกันและรักษาโรคโดยขาดการควบคุมและเข้าใจในการใช้อย่างถูกต้อง ดังการศึกษาของ Katrin และคณะ (2003) ซึ่งรายงานว่า 74% ของฟาร์มเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในขั้นตอนการเลี้ยง และมีการใช้ยาปฏิชีวนะแตกต่างกันหลายชนิด เช่น ยาในกลุ่มคลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) กลุ่มเตตราไซคลิน (tetracycline) กลุ่มควิโนโลน (quinolones) กลุ่มซัลโฟนาไมด์ (sulphonamide) และกลุ่มอื่นๆ

การศึกษาของณิธาวันและคณะ (2546) ทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ vibrios ก่อโรคของกุ้งกุลาดำโดยวิธี Antimicrobial Agar Dilution Susceptibility Tests ผลการทดสอบยาปฏิชีวนะ 10 ชนิด ได้แก่ amoxicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, enrofloxacin, erythromycin, kanamycin, nalidixic acid, norfloxacin, tetracycline, และ trimethoprim/sulfamethoxazole พบว่า chloramphenicol มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อ vibrios ที่ใช้ทดสอบจำนวน 197 isolates (Minimum Inhibitory Concentration; MIC<sub>90</sub> = 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) อย่างไรก็ตาม การใช้ chloramphenicol ในสัตว์ที่นำมาบริโภคเป็นการใช้ยาสัตว์อย่างไม่ถูกต้องและผิดกฎหมายในหลายๆ ประเทศ นอกจากนี้องค์การอนามัยโลกยังมีรายงานว่า chloramphenicol ที่ตกค้างในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ได้รับยาอาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น ปัญหาการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ (antimicrobial resistance) หรือการโน้มนำให้เกิด aplastic anemia โดยไม่ขึ้นกับปริมาณ chloramphenicol ที่ได้รับ (non-dose related) (Wongtawatchai *et al.*, in press; Spoo and Riviere, 1995) สถาบันวิจัยมะเร็งนานาชาติ (International Agency of Research on Cancer; IARC) กำหนดให้ chloramphenicol เป็นสารก่อมะเร็งสำหรับมนุษย์กลุ่มที่ 2A (Group 2A: the agent is probably carcinogenic to humans)(IARC, 1987) ด้วยเหตุนี้องค์การอนามัยโลกและรัฐบาลของหลายๆ ประเทศ จึงห้ามใช้ chloramphenicol ในสัตว์ทุกชนิดที่เลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารของมนุษย์ ดังนั้นจึงรวมถึงการห้ามใช้ chloramphenicol ในกุ้งกุลาดำด้วย

การห้ามใช้ chloramphenicol ในสัตว์ที่เลี้ยงเพื่อการบริโภคในประเทศไทยได้กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ 678/2531 เรื่อง เพิกถอนทะเบียนตำรับยา chloramphenicol สำหรับสัตว์ที่นำมาใช้บริโภค (กระทรวงสาธารณสุข, 2531) แต่จากข้อมูลรายงานการเฝ้าระวังยาต้านจุลชีพตกค้างตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 จนถึงปี พ.ศ. 2543 บ่งบอกว่ายังคงมีการใช้ chloramphenicol ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยและประเทศอื่นในเอเชียอาคเนย์ และในช่วงปลายปี พ.ศ. 2544 สหภาพยุโรปรายงานการตรวจพบ chloramphenicol ตกค้างในเนื้อกุ้งที่มาจากประเทศจีน เวียดนาม อินโดนีเซีย และไทย (European Commission, 2001 อ้างถึงโดย Katrin *et al.*, 2003) ประกอบกับข่าวทางหน้า

หนังสือพิมพ์เป็นระยะที่บ่งชี้ว่าประเทศไทยยังมีการใช้ยานี้ในขั้นตอนการเลี้ยงและการผลิต (กรุงเทพธุรกิจ, 2545; ผู้จัดการรายสัปดาห์, 2543) จากข้อมูลเหล่านี้แสดงว่าคนไทยยังมีความเสี่ยงต่อการได้รับ chloramphenicol ตกค้างในเนื้อกุ้งหรือเนื้อสัตว์ที่นำมาบริโภค จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่รัฐบาลต้องควบคุมการใช้ chloramphenicol ให้เข้มงวดมากขึ้น นอกจากนี้ควรมีการศึกษาถึงการนำยาต้านจุลชีพชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพมาใช้แทน chloramphenicol เพื่อการรักษาการติดเชื้อ vibrios ในกุ้งกุลาดำ ซึ่งปัจจุบันมีการศึกษาถึงยาชนิดอื่นในกลุ่ม chloramphenicol ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคในระดับเดียวกับ chloramphenicol แต่มีความเป็นพิษที่ไม่พึงประสงค์น้อยกว่า ได้แก่ ไธแอมเฟนิคอล (thiamphenicol) และฟลอเฟนิคอล (florfenicol)

Florfenicol เป็นยาต้านจุลชีพที่เป็นอนุพันธ์ของ chloramphenicol และได้รับการปรับปรุงสูตรโครงสร้างทางเคมีเพื่อให้เป็นยาต้านจุลชีพสำหรับสัตว์ที่เลี้ยงเพื่อการบริโภค (Adams, 1995) florfenicol มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียในลักษณะเดียวกับ chloramphenicol (Plumb, 2002) นอกจากนี้การปรับปรุงสูตรโครงสร้างทางเคมีทำให้ florfenicol มีความปลอดภัยต่อสัตว์ที่ได้รับยาและผู้บริโภค ปัจจุบัน florfenicol ได้รับการยอมรับให้ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์หลายชนิดที่เลี้ยงเพื่อการบริโภค เช่น สุกร โคเนื้อ ไก่เนื้อ ปลา และมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของ florfenicol ที่อนุญาตให้มีได้ (Maximum Residual Limits, MRLs) ในเนื้อเยื่อต่างๆ (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2002) (ตารางที่ 1)

จากเหตุผลหลัก 3 ประการ คือ (1) florfenicol เป็นยาต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียในลักษณะเดียวกับ chloramphenicol (2) florfenicol ได้รับการพิจารณาโดยหลายประเทศแล้วว่าสามารถใช้ป้องกันและรักษาโรคในปลาและสัตว์ชนิดอื่นที่เลี้ยงเป็นอาหาร และ (3) มีการกำหนดปริมาณยาตกค้างของ florfenicol ในเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ได้รับยาในระดับที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวรับของเชื้อ vibrios ที่เป็นสาเหตุของโรคในกุ้งกุลาดำต่อยาต้านจุลชีพชนิด florfenicol และทดสอบการใช้ florfenicol ในกุ้งกุลาดำโดยการให้ยาผสมอาหาร ซึ่งผลการศึกษานี้สามารถเป็นแนวทางสำหรับการใช้ florfenicol เพื่อรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำอย่างถูกต้อง (prudent use of florfenicol) และเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการผลิตกุ้งทะเลไทย

ตารางที่ 1 Maximum Residue Limits (MRLs) ของ florfenicol ในเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ได้รับยา<sup>\*</sup>

Pharmacologically active substance(s)	Marker residue	Animal species	MRLs (µg/kg)	Target tissues	Other provisions	
Florfenicol <sup>**</sup>	Sum of florfenicol and its metabolites	Bovine, ovine, caprine	200	Muscle	Not for use in animals producing milk for human consumption	
			3000	Liver		
		300	Kidney			
		measured as florfenicol	Porcine	300		Muscle
	-amine			500	Skin + Fat	
				2000	Liver	
				500	Kidney	
				Poultry	100	
	200	Skin + Fat				
	2500	Liver				
	750	Kidney				
	All food producing species except bovine, ovine, caprine, porcine, poultry and fin fish			1000	Muscle and skin in natural proportions	
100				Muscle		
			200	Fat		
			2000	Liver		
			300	Kidney		

<sup>\*</sup> The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2002

Annex I of Council Regulation (EEC) NO. 2377/90

<sup>\*\*</sup> Toxicological ADI of 600 µg / person (60 kg bw) / day

Microbiological ADI of 180 µg / person (60 kg bw) / day

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาประสิทธิภาพของ florfenicol ต่อการยับยั้งเชื้อ vibrios ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ
2. เปรียบเทียบผลของ florfenicol กับ chloramphenicol ในการยับยั้งเชื้อ vibrios ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ
3. ศึกษาผลของความเค็มน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำโตเต็มวัย ที่ระดับความเค็ม 5‰ (ความเค็ม 5 ส่วนในสารละลาย 1,000 ส่วน) ต่อประสิทธิภาพของ florfenicol และ chloramphenicol ในการยับยั้งเชื้อ vibrios ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ
4. ศึกษาปริมาณของ florfenicol-amine ใน hepatopancreas และกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำที่ระยะเวลาต่างๆ หลังจากได้รับยาโดยการผสมอาหาร

## ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงการทดลอง (experimental study) ประกอบด้วยการทดลอง 2 ส่วน คือ การทดลองที่ 1 เป็นการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) ของ florfenicol ในการยับยั้งเชื้อ vibrios ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ florfenicol และ chloramphenicol ที่ระดับความเค็ม 0‰ และ 5‰ และการทดลองที่ 2 เป็นการวิเคราะห์ปริมาณ florfenicol-amine (FFA) ในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยาด้วยวิธี HPLC โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณ FFA ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังจากการได้รับยา เพื่อประเมินการกระจายของ florfenicol สู่มuscle และ hepatopancreas ของกุ้งกุลาดำและระยะหยุดยา

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

- 1.ทราบถึงระดับความเข้มข้นต่ำสุดของ florfenicol ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ vibrios ก่อโรคใน กุ้งกุลาดำ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) โดยการสอบในห้องปฏิบัติการ และสามารถ นำค่า MICs ไปใช้ประกอบการคำนวณขนาดของยาสำหรับการให้ยาผสมอาหาร (medication feeding)
- 2.ทราบถึงผลกระทบของความเค็มน้ำทะเลต่อประสิทธิภาพของ florfenicol และ chloramphenicol ในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาข้อบ่งชี้ยา ในการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็ม 5‰
- 3.ทราบถึงการกระจายของ florfenicol ในกล้ามเนื้อและ hepatopancreas ของกุ้งกุลาดำ หลังจากการ ได้รับยาผสมอาหารที่เวลาต่างๆ ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญในการกำหนดข้อบ่งชี้ยา เพื่อการรักษาโรคในกุ้ง กุลาดำ