000173

การตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงในเขตจังหวัดระยอง

Determination of Antibiotic Residues in Black Tiger Shrimp from Culture Ponds in Rayong province

สุธาทิพย์ พัฒนกุล

SUTHATHIP PHATTHANAKUL

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

#Bk080444

0613

ปัญหาพิเศษนี้เป็นหนึ่งส่วนของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ปีการศึกษา 2544

หัวข้อปัญหาพิเศษ การตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงในเขตจังหวัดระยอง

โดย นางสุธาทิพย์ พัฒนกุล

ภาควิชา วาริชศาสตร์

สาขาวิชา การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์กฤษณา จันทร์แก้ว (นักวิชาการประมง 5)

ภาควิชาวาริชศาสตร์ได้พิจารณาปัญหาพิเศษฉบับนี้แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กรรมการตรวจสอบปัญหาพิเศษ

_____ ประธาน

(รศ. ดร. คเชนทร เฉลิมวัฒน์)

_____ อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

_____ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์กฤษณา จันทร์แก้ว)

_____ กรรมการ

(อาจารย์วิชญา กันบัว)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หัวข้อวิจัย	การตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงในเขตจังหวัดระยอง
ชื่อผู้วิจัย	นางสุธาทิพย์ พัฒนกุล
ชื่อปริญญา	วิทยาศาตรบัณฑิต
สาขาวิชา	การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
ภาควิชา	วาริชศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์กฤษณา จันทร์แก้ว (นักวิชาการประมง 5)
ปีการศึกษา	2544

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทคัดย่อ

การตรวจสอบยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ด้วยวิธี Microbiological assay และ Oxolinic acid ด้วยวิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ตัวอย่างกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วันขึ้นไป จากฟาร์มเลี้ยงที่เป็นสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจังหวัดระยอง ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2541 ถึงเดือนกันยายน 2544 จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 404 ตัวอย่าง พบว่า ตรวจพบ Oxytetracycline จำนวน 8 ตัวอย่าง และ Oxolinic acid ที่มากกว่า 0.05 ppm จำนวน 91 ตัวอย่าง คิดเป็น 1.98% และ 22.52% ตามลำดับ

Title	Determination of Antibiotic Residues in Black Tiger Shrimp from Culture Ponds in Rayong
Name	Mrs. Suthathip Phattanakul
Degree	Bachelor of Science
Department	Aquatic Science
Advisor	DR. Subuntith Nimrat
Co- Advisor	Mrs. Kritsana Jankal
Academic Year	2001

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Abstract

Microbiological Assay method and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) were done for Oxytetracycline and Oxolinic acid determination in Black tiger shrimps over 90 days of age from the ponds which member of Inspection Unit in Rayong province. The samples were examined from October, 1998 -- September, 2001. The results showed that 1.98 % of 8 samples and 22.52% of 91 samples were found Oxytetracycline and Oxolinic acid, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาปัญหาพิเศษสำเร็จได้ด้วยดีด้วยความกรุณาจาก ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ อาจารย์กฤษณา จันทร์แก้ว ที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำอย่างดีจนสำเร็จสมบูรณ์ และขอขอบพระคุณ รศ.ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์ อาจารย์วิชญา กันบัว ที่ได้กรุณาแนะนำและตรวจสอบแก้ไขเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ หัวหน้าปัญญา อัศวางกูร หัวหน้าสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่ เครื่องมือในการวิเคราะห์ยาตกค้าง ตลอดจนการให้การสนับสนุนเรื่องการศึกษา ขอขอบคุณ คุณบรรทม ชาติภูธรและคุณศิริพร เมืองชล รวมทั้งเจ้าหน้าที่หน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจังหวัดระยอง ที่คอยช่วยเหลือในการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้าง คุณปิติพร นิลพัฒน์ ที่ช่วยเหลือในการถ่ายภาพ

ขอขอบคุณ คุณสถิตย์ พัฒนกุล คุณสุริยา เฉิดฉิ้ม ที่ช่วยเหลือในการแปลเอกสารและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณวุติ คุปตะวาตินี คุณจารุวัฒน์ นฎีตะภัฏ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษา และให้คำปรึกษาในการศึกษามาตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่เป็นกำลังใจสำคัญในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี และให้การสนับสนุนการศึกษาด้วยดีมาตลอด

สุธาทิพย์ พัฒนกุล

พฤษภาคม 2545

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ค

กิตติมากรรมประกาศ ง

สารบัญ จ

สารบัญตาราง ฉ

สารบัญรูป ช

บทที่ 1

1. บทนำ.....1

จุดประสงค์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สมมุติฐานการค้นคว้า

ขอบเขตการศึกษา

2. เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....4

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ.....13

อุปกรณ์และสารเคมี

วิธีดำเนินการทดลอง

4. ผลการทดลอง.....28

5. สรุปผล อภิปราย เสนอแนะ.....35

เอกสารอ้างอิง.....40

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้าง ปีงบประมาณ 2542 29
2. ผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้าง ปีงบประมาณ 2543 30
3. ผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้าง ปีงบประมาณ 2544 31
4. สรุปผลผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้าง ปีงบประมาณ 2542-2544 32
5. เปอร์เซ็นต์ผลการตรวจยาตกค้าง ปีงบประมาณ 2542-2544 33
6. เปอร์เซ็นต์ผลการตรวจยาตกค้าง ปีงบประมาณ 2542-2544 33

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. การเขี่ยเชื้อ *Bacilius mycodies*	17
2. การเตรียมตัวอย่างกุ้ง	17
3. การปั่นตัวอย่างกุ้ง	18
4. การปั่นด้วย Homogenizer	18
5. การกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง	19
6. ตัวอย่างสารละลายที่กรองได้	19
7. การนำ Peper disk จุ่มบนสารสกัด วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	20
8. การเตรียมตัวอย่างกุ้ง	22
9. การปั่นตัวอย่างกุ้ง	22
10. การปั่นด้วย Homogenized	23
11. การ Centrifuge ตัวอย่างกุ้ง	23
12. การเก็บขวดสารละลายที่ได้ใส่ขวดก้นแบน แล้ว เติม Ethyl acetate	24
13. การระเหยแห้งด้วย Vacuum Rotary Evaporator	24
14. การเก็บตัวอย่างด้วย Syringe ผ่าน Hyperclean Nylon Filter	25
15. การเก็บสารละลายที่ได้ใส่ขวดตัวอย่าง เพื่อเตรียมฉีด	25
16การนำสารละลายที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC	26
17. การรายงานผล โครมาโตแกรม	26
18. โครมาโตแกรมของสารออกโซลินิค แอซิด	27
19. กราฟแสดงการตรวจพบยาปฏิชีวนะ ปีงบประมาณ 2542 – 2544	32
20 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การตรวจพบยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน , ออกโซลินิค แอซิด	34

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1

บทนำ

จากสถานการณ์การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลตั้งแต่ปลายปี 2536 เป็นต้นมา การเลี้ยงกุ้งประสบปัญหาโรคไวรัสหัวเหลืองระบาด และเกิดโรคไวรัสตัวแดงดวงขาวระบาดตั้งแต่ปลายปี 2537 เป็นต้นมา อีกสภาพแวดล้อมเสื่อมโทรมลงมาก น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีคุณภาพต่ำลงมากและยังประสบปัญหาอื่นๆตามมา ได้แก่ โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย เช่น โรคเรืองแสง โรคเสี้ยนดำ โรควิบริโอซีส เป็นต้น ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งหันมาใช้ยาปฏิชีนะเพื่อการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง ตลอดจนถึงการป้องกันและรักษาโรคอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

การเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจโลกในปัจจุบัน ขึ้นอยู่กับการค้าระหว่างประเทศซึ่งมีการแข่งขันกันอย่างรุนแรง สินค้าเกษตรกรรมโดยเฉพาะสินค้าด้านอาหารที่ถูกกักกันหรือส่งกลับก่อให้เกิดผลเสียหายแก่ประเทศผู้ส่งออกจำนวนมหาศาล ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็งและสัตว์น้ำอื่นๆมากประเทศหนึ่ง ขณะเดียวกันกำลังประสบกับปัญหาการกีดกันทางการค้า โดยการใช้มาตรการการคุ้มครองสุขอนามัยและความปลอดภัยของผู้บริโภคตลอดจนการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม ประเด็นปัญหาของยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งแช่แข็งส่งออกได้ถูกนำมาเป็นปัญหากีดกันทางการค้าระหว่างประเทศผู้นำเข้าและประเทศผู้ส่งออก เช่น การตรวจพบยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน (Oxytrtracycline ,OTC) ออกโซลินิค แอซิค (Oxolinic acid) หรือกลุ่มยาซัลฟา ในกุ้งแช่แข็งส่งเข้าประเทศญี่ปุ่น หรือการตรวจพบคลอแรมฟินิคอล (Chloramphenicol) และออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในกุ้งแช่แข็งนำเข้าประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้ทั้งสองประเทศเริ่มใช้มาตรการที่เข้มงวดในการตรวจสอบคุณภาพกุ้งแช่แข็งที่ส่งออกจากประเทศไทย

สุดา (2524) รายงานว่าเชื้อ *Vibrio sp.* strain ที่แยกจากเชื้อกุ้งกุลาดำวัยอ่อนนั้น การใช้ยาปฏิชีวนะออกซี่เตตร้าซัยคลินจะได้ผลดีกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะอื่นๆ ยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดและได้ผลดีคือยาในกลุ่มเตต้าซัยคลิน ซึ่งได้แก่ เตต้าซัยคลินและออกซี่เตตร้าซัยคลิน เป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ในขอบเขตกว้าง (broad spectrum) ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

มณฑิรา และจิราพร (2543) รานงานว่าจากการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในดินและเนื้อกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำในเขตจ.ฉะเชิงเทรา มีรูปแบบการใช้ยาปฏิชีวนะจะเปลี่ยนจากที่เคยใช้ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน เป็นยาชนิดอื่นๆมากขึ้นเช่น ออกโซลินิค แอซิค ซัลฟา ซัลฟาไตรเมทโธพริม เป็นต้น ซึ่งตรงกับการรายงานของ ธนิฏฐา และคณะ (2543) ในปี 2539

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เกษตรกรนิยมใช้ยาในกลุ่ม ออกโซลินิค แอซิค เพิ่มสูงขึ้นจากปี 2538 เนื่องจากมีการดื้อยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน

ปัญหาพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งที่สนับสนุนนโยบายของรัฐบาลในโครงการตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซี่เตตร้าซัยคลิน และออกโซลินิค แอซิด ในกุ้งกุลาดำจากฟาร์มก่อนเข้าส่งโรงงาน พร้อมกับได้แนะนำทำความเข้าใจกับสมาชิกให้กระหนักถึงความสำคัญของระบบการตรวจสอบคุณภาพสินค้ากุ้งกุลาดำ การเลี้ยง และการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างถูกต้องเพื่อไม่ให้สารตกค้างในผลผลิตกุ้งที่จับ

วัตถุประสงค์การศึกษา

1. เพื่อตรวจสอบยาปฏิชีวนะ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน และออกโซลินิค แอซิค ตกค้างในกุ้งกุลาดำตั้งแต่ อายุ 90 วัน ขึ้นไป
2. เพื่อศึกษาปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน และออกโซลินิค แอซิค ในกุ้งกุลาดำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซี่เตตร้าซัยคลิน และออกโซลินิค แอซิด ในกล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการใช้ยาปฏิชีวนะที่ถูกต้อง นำไปสู่การพัฒนาการเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้ได้กุ้งที่มีคุณภาพ ปราศจากยาตกค้างในผลผลิตกุ้งที่จับ ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของขบวนการผลิตที่สำคัญ ก่อให้เกิดผลดีต่อการพัฒนาระบบการผลิตกุ้งทะเลที่ได้คุณภาพตามเป้าหมาย มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ และเป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า

สมมติฐานของการศึกษา

1. การมีการระบาดของโรคมากขึ้น ทำให้เกษตรกรมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา การป้องกันโรคมากขึ้น
2. การใช้ยาปฏิชีวนะในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นจากเดิมและไม่มีระยะเวลาการหยุดยาก่อนจับกุ้งกุลาดำ ที่เหมาะสมจะทำให้มีการตกค้างของยาในกุ้งกุลาดำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขอบเขตของการศึกษา

ตรวจสอบยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline ตกค้างด้วยวิธี Microbiological assay และ Oxolenic acid ด้วยวิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ตัวอย่างกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วันขึ้นไป จากฟาร์มเลี้ยงที่เป็นสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จ. ระยอง ในปีงบประมาณ 2542 เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2541 - เดือนกันยายน 2542, ปีงบประมาณ 2543 เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2542 – เดือนกันยายน 2543, ปีงบประมาณ 2544 เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2543 – เดือนกันยายน 2544 โดยการนับจำนวนตัวอย่างที่พบ Oxytetracycline ทุกตัวอย่าง และ Oxolinic acid เฉพาะที่มากกว่า 0.05 ppm เนื่องจากประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้มีสารปฏิชีวนะตกค้างชนิด ออกโซลินิค แอซิด ได้ไม่เกิน 0.05 ppm และออกซี่เตต้าซัยคลินได้ไม่เกิน 0.08 ppm ในขณะที่สหรัฐอเมริกา ไม่อนุญาตให้มีได้เลย สุภาพรรณ (2538)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

อาสรา (2535) สาเหตุการตกค้างของยาปฏิชีวนะสืบเนื่องมาจากปัญหาที่สะสมมาหลายปี ได้แก่ ปัญหาสภาวะแวดล้อมเสื่อมโทรมเป็นผลทำให้กุ้งที่ติดเชื้อแบคทีเรีย แนวทางในการป้องกัน และแก้ปัญหาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้กันก็คือ การใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะผสมอาหารให้กุ้งกิน ซึ่งกลุ่มยาปฏิชีวนะที่เกษตรกรใช้กันอย่างแพร่หลายและได้ผลดีคือยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน สอดคล้องกับรายงานของ พรเสิศ และชลอ (2534) ยาปฏิชีวนะที่เป็นที่รู้จักและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน และออกโซลินิค แอซิด ในปัจจุบันการใช้ยาดังกล่าวให้ผลไม่แน่นอน ซึ่งอาจจะมาจาก การใช้ยาในอัตราที่ไม่ถูกต้อง ทำให้กุ้งได้รับยาในปริมาณที่ต่ำกว่าความเข้มข้นที่จะมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น และจากการที่ใช้ยาไม่ได้ผลเกษตรกรมักจะเพิ่มปริมาณยาที่ใช้ให้มากขึ้นจากเดิม หรือบางรายใช้ผสมอาหารให้กุ้งกินเกือบตลอดช่วงการเลี้ยง เป็นผลทำให้ เกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะ

มณฑิรา และจิราพร (2543) กล่าวว่า ผลจากการใช้ยาดังกล่าวทำให้มีผลต่อการส่งออกสินค้ากุ้งด้วย เนื่องจากประเทศผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกายินยอมให้ใช้ยาในสัตว์น้ำ แต่ไม่ยินยอมให้มีการตกค้างในเนื้อกุ้งของยาปฏิชีวนะชนิด ออกซี่เตตร้าซัยคลิน ออกโซลินิค แอซิด เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ ประกอบกับประเทศญี่ปุ่นตรวจพบยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้น จาก 4 ครั้งในปี 2535 เป็น 17 ครั้ง ในปี 2536 และ 10 ครั้งในปักษ์แรกของปี 2537 ทำให้ญี่ปุ่นเพิ่มมาตรการเข้มงวดในการตรวจสอบสินค้าสัตว์น้ำแช่เยือกแข็งจากประเทศไทย โดยเฉพาะในกุ้งแช่แข็งญี่ปุ่นอนุญาตให้มีสารปฏิชีวนะตกค้างชนิดออกโซลินิค แอซิด ได้ไม่เกิน 0.05 ppm และ ออกซี่เตต้าซัยคลินได้ไม่เกิน 0.08 ppm ในขณะที่สหรัฐอเมริกา ไม่อนุญาตให้มีได้เลย สุภาพรรณ (2538)

คุณสมบัติของออกซี่เตตร้าซัยคลิน

ออกซี่เตตร้าซัยคลินเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตร้าซัยคลิน สกัดจากเชื้อรา *Streptomyces rimosus* เป็ยยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้กว้าง (broad spectrum) ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ นอกนั้นยังสามารถยับยั้งการเจริญของ rickettsia, โปรโตซัว (protozoa) และพยาธิ (helminth) บางชนิดได้ แต่ไม่มีผลต่อพวกยีสต์ ราเมือก (molds) และเชื้อราอื่นๆ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองปราศจากกลิ่นรสขม มีคุณสมบัติละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่ละลายน้ำได้ดีเมื่ออยู่ในรูปเกลือโซเดี่ยมหรือ

ไฮโดรคลอไรด์ ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม (choroform) อาซีโตน (acetone) และอีเทอร์ โดยทั่วไปละลายได้ดีในในสภาวะที่เป็นกรด ยาดูดซึมในกระเพาะลำไส้ตอนต้นของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ดี เมื่อมีการดูดซึมแล้วปริมาณยาจะได้ระดับสูงสุดในเลือดภายใน 2-4 ชั่วโมงและออกฤทธิ์อยู่นานกว่า 6 ชั่วโมงขึ้นไป ยาส่วนใหญ่จะถูกขับออกทางระบบปัสสาวะ และทางเดินอาหารได้เล็กน้อย ความเข้มข้นของยาในเนื้อเยื่อจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดของยาที่ให้ , การดูดซึม , เมตาโบลีซึม และความสามารถในการขับยาออก ออกซี่เตตร้าซัยคลิน เมื่อให้ในปริมาณน้อยไม่มีผลในการทำให้แบคทีเรียตาย แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ (bacteriostatic) โดยยาจะไปขัดขวางขบวนการ intracellular phosphorylation ของกลูโกส และการเกาะของ Acyl – tRNA กับ 30S subunit ของ ribosome ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างโปรตีนได้ แบคทีเรียจึงไม่สามารถเพิ่มจำนวนหรือเพิ่มได้ช้า ออกซี่เตตร้าซัยคลินมีผลต่อเซลล์ของแบคทีเรียมากกว่าเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ประสบ (2528)

จากการศึกษากลไกการทำงานของออกซีเตตร้าซัยคลินเข้าใจว่ามีไอออนของแมกนีเซี่ยมเกี่ยวข้องด้วย โดยมีโมเลกุลของสารกลุ่มเตตร้าซัยคลินจะสร้างเป็นโมเลกุลซับซ้อนกับไอออนของแมกนีเซี่ยม ซึ่งมีอยู่ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียและผิวของเหยื่อบุเซลล์ ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียสามารถนำในกลุ่มออกซีเตตร้าซัยคลินผ่านเข้าไปอย่างมีประสิทธิภาพ สายสมร (2524)

การใช้ออกซี่เตตร้าซัยคลินในสัตว์น้ำ

การรักษาโรคสัตว์น้ำที่เกิดจากแบคทีเรียมักจะใช้ยาปฏิชีวนะ โดยยาที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม คือ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน เนื่องจากสามารถออกฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียได้ทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ และนำไปใช้โดยการผสมอาหารให้กิน , การฉีด และการแช่ ชะลอ (2528) ซึ่งวิธีการใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของสัตว์น้ำ รวมทั้งวิธีการเลี้ยง โดยสัตว์น้ำขนาดเล็กนิยมใช้วิธีการแช่ ส่วนสัตว์ขนาดใหญ่มักจะใช้วิธีผสมอาหารให้กิน การผสมยาในอาหารมี 2 รูปแบบคือ การคลุกยากับอาหารแล้วเคลือบด้วยน้ำมันปลา อีกวิธีหนึ่งคือ การใช้ยาผสมในอาหารสำเร็จรูปแล้วพึ่งลมให้แห้งหรือหมาดก่อนนำไปใช้

กมลพร และสุปราณี (2539) แนะนำให้ใช้ยาในการรักษาโรคปลา ในอัตรา 2 – 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม กินติดต่อกัน 3 –5 วัน ส่วนในกุ้งกุลาดำนั้นเกษตรกรนิยมใช้ยา 1 – 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แต่ปริมาณยาดังกล่าวให้ผลในการรักษาในปริมาณต่ำ เกษตรกรจึงมักเพิ่มปริมาณยาเป็น 5 – 10 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แต่ยังไม่สามาถรักษาโรคได้ ก็จะจับขายทันทีทำให้มีปริมาณยาตกค้างในสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้น ชะลอ (2534)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ชะลอ (2531) กล่าวว่าการรักษาโรคเสี้ยนดำในกุ้งทะเลซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio vulnificus* อาจทำได้ยากหากเสี้ยนดำในตัวกุ้งมีขนาดใหญ่ โอกาสจะหายได้ต้องใช้เวลานาน ในระยะแรกที่เชื้อปรากฏอาการดังกล่าว จะเกิดบนเปลือกก่อน แล้วจึงแพร่ลงไปถึงเนื้อเยื่อชั้นล่าง อาจรักษาได้โดยให้กินยาปฏิชีวนะผสมในอาหาร เช่น ออกซีเตตร้าซัยคลินปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ให้กินติดต่อกัน 5 – 7 วัน แต่ถ้าใช้ยาแล้วยังคงมีการติดเชื้อเพิ่มก็ควรงดการใช้ยาเพราะจะเป็นการสิ้นเปลือง ส่วน Bayer and Dananiel (1987) ได้ทดลองใช้ออกซีเตตร้าซัยคลินในการป้องกันโรค Gaffkemia ใน lobsters โดยผสมอาหารให้กินในปริมาณ 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กรัม ก่อนนำไปแช่เชื้อ *Aerococcus viridans* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค พบว่า lobsters ที่ไม่ได้รับยามีการตายสูงถึง 78 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มได้รับยาจะมีการตายเพียง 13.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ถ้าเพิ่มปริมาณยาเป็น 11 , 27.5 และ 55 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม กินติดต่อกันนาน 15 วัน ไม่พบการตายของ lobsters เลย สำหรับการใช้ออกซีเตตร้าซัยคลิน ในการรักษาโรคของกุ้งก้ามกรามนั้น ประเทศไทยมีการศึกษาน้อยมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกุ้งก้ามกรามมีมูลค่าทางการตลาดที่ต่ำกว่ากุ้งชนิดอื่นๆ

การตกค้างและการแพร่กระจายของออกซีเตตร้าซัยคลินในสัตว์น้ำ

ได้มีผู้ศึกษาเรื่องการตกค้าง และการแพร่กระจายของ ออกซีเตตร้าซัยคลิน ในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำไว้พอสมควร อาทิ Bayer and Dananiel (1987) ได้ศึกษาปริมาณการตกค้างของออกซีเตตร้าซัยคลิน American lobsters (*Homarus americanus*) ที่ได้รับยาในปริมาณ 1.1 และ 1.2 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กรัม เป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีการตกค้างของยาในกล้ามเนื้อเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 19 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 14 – 15 องศาเซลเซียส มีการตกค้างนานถึง 28 วัน และที่บริเวณ midgut มีการตกค้างนานกว่า 28 วัน

พรเลิศ และ ชลอ (2533) รายงานว่า ระยะเวลาในการตกค้างของยาขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลาของการใช้ยาและระดับความเข้มข้นของยา ซึ่งการใช้ยาปริมาณ 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 3 วัน จะมีการตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ 0.2443 ppm และถ้าให้ยานานขึ้นเป็น 7 วัน พบว่ามีการตกค้างของยาในเนื้อเยื่อมากขึ้น เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของยาเป็น 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม การตกค้างของยาในเนื้อเยื่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 0.8725 และ 0.8844 ppm ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Limpoka *et al.* (1993) ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับการตกค้างของ ออกซีเตตร้าซัยคลิน ในกุ้งกุลาดำขนาด 30 – 40 กรัม โดยให้อาหารผสมยาในอัตรา 2.5 และ 5 กรัม/1 กิโลกรัม ที่อุณหภูมิ 28 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการตกค้างยานาน 4 และ 11 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อาสรา (2535) ได้ศึกษาการแพร่กระจายและการตกค้างของออกซี่เตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำขนาด 8, 15 และ 20 กรัม โดยให้ยาในอัตรา 40, 60 และ 80 มิลลิกรัม/น้ำหนักกุ้ง 1 กิโลกรัม พบว่ามียาแพร่กระจายไปสู่ haemolymph เป็นอันดับแรกและมีปริมาณสูงสุดภายในครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นปริมาณยาเริ่มลดลง และเริ่มพบยาใน hepatopancreas และกล้ามเนื้อมากขึ้น ส่วนการตกค้างของยาในอวัยวะต่างๆมีความแตกต่างกันในช่วงต้น แล้วแต่อัตราการให้ยา แต่เมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น การตกค้างของยาในอวัยวะต่างๆจะไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเพิ่มอัตรายาให้สูงขึ้นปริมาณการตกค้างจะมีค่าสูงขึ้น และพบว่ายาตกค้างอยู่ใน hepatopancreas นานที่สุด กุ้งกุลาดำขนาด 15 และ 20 กรัม ให้ยาในอัตรา 80 มิลลิกรัม/น้ำหนักกุ้ง 1 กิโลกรัม ยาตกค้างที่ hepatopancreas นาน 43 วัน ในขณะที่กุ้งกุลาดำขนาด 8 กรัม ได้รับยาในอัตราเดียวกันมีการตกค้างของยาเพียง 9 วันเท่านั้น

อมรรัตน์ และ มะลิ (2539) ทดลองพัฒนาอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งก้ามกรามและใช้ออกซี่เตตร้าซัยคลิน ผสมในอาหร 0.25 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับอาหารที่ผสมวิตามินซี 0.25 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงกุ้งก้ามกรามขนาด 0.45 – 0.50 กรัม ในตู้กระจก โดยให้กินอาหารนาน 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งที่กินอาหารผสมวิตามินซี มีน้ำหนักเพิ่ม อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อดีกว่า อีกยังไม่พบยาตกค้างในเนื้อกุ้ง แต่กุ้งที่กินอาหารผสมยา พบยาตกค้าง 2.3 มิลลิกรัม/เนื้อกุ้ง 1 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเลี้ยงกุ้งในบ่อดินผนังซีเมนต์ขนาด 200 ลูกบาศก์เมตร โดยให้อาหารผสมออกซีเตตร้าซัยคลิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมวิตามินซี 0.25 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมวิตามินซีเคลือบ 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 4 เดือน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยที่กุ้งเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อการทดสอบการตกค้างของยาในกล้ามเนื้อกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามียาตกค้างในเนื้อกุ้งที่กินอาหารผสมยาเท่านั้น โดยตรวจพบ 3.27 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อมรรัตน์ และ คณะ (2543)

ชำนาญ และวีรวรรณ (2544) ได้ทำการทดลองระยะเวลาการตกค้างของออกซี่เตตร้าซัยคลิน ในเนื้อกุ้งก้ามกราม ที่ได้รับอาหารผสมยาในปริมาณ 0.3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม 7 วัน ในบ่อซีเมนต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เมตร ลึก 0.7 เมตร เพื่อกำหนดช่วงระยะเวลาหยุดใช้ยาก่อนจับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ผลการศึกษาพบว่า การตกค้างของออกซี่เตตร้าซัยคลิน ในเนื้อกุ้งก้ามกรามสูงสุดหลังจากให้ยาเป็นเวลา 1 วัน ซึ่งปริมาณการตกค้างที่พบในเนื้อกุ้งในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมยาในปริมาณ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีสูงกว่าการตกค้างที่พบในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมยา 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากนั้นปริมาณยาตกค้างในเนื้อกุ้งทั้งสองกลุ่มการทดลองลดลง แต่ไม่มีความแตก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) โดยตรวจไม่พบออกซี่เตตร้าซัยคลินในเนื้อกุ้งทั้งสองการทดลอง หลังจากหยุดให้อาหารผสมยาแล้ว 5 และ 8 วันตามลำดับ

ส่วนในการศึกษาการตกค้างของยาในกุ้ง *Penaeus setiferus* ที่ได้รับยาผสมอาหารในอัตรา 10,000 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามียาตก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รักษาโรค furunculosis ในปลา brown trout และ rainbow trout โดยผสมอาหารให้กินในอัตรา 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 8 วัน พบว่ามีอัตรารอด 99 % ขณะที่กลุ่มซึ่งไม่ได้ให้ยามีอัตรารอดเพียง 69 % Austin และคณะ (1983)

ในปี ค.ศ. 1984 รัฐบาลอังกฤษได้อนุญาตให้ใช้ออกโซลินิค แอซิด ในการรักษาโรค furunculosis และโรค enteric redmouth ในปลากลุ่ม salmonids และ trout (Salmo gairdneri) ได้ตามลำดับ

ในประเทศไทย ออกโซลินิค แอซิค เป็นยาอีกชนิดหนึ่งที่เริ่มนิยมนำมาใช้กันมากขึ้นในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อในกุ้งกุลาดำ เนื่องจากแบคทีเรีย ในขณะนั้นมีรายงานแนะนำให้ใช้ในอัตรา 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และให้กุ้งกินติดต่อกันเป็นเวลา 7 – 10 วัน (ชะลอ,2535) การใช้ออกโซลินิค แอซิค ในการเลี้ยงกุ้งที่มากเกินไปและไม่มีระยะเวลาหยุดให้ยาก่อนจับกุ้งที่เหมาะสม จะทำให้มีการตกค้างของยาในกุ้งได้เช่นเดียวกันซึ่งนอกจากจะมีผลกระทบต่อการส่งออกกุ้งแล้ว อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งที่ได้รับยาด้วยเช่นกัน

การตกค้างและการแพร่กระจายของออกโซลินิคในสัตว์น้ำ

การตกค้างของยาออกโซลินิค แอซิด ในสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งในด้านปริมาณและระยะเวลาที่ตกค้าง เช่น การศึกษาของ Ueno และคณะ (1988b) สรุปได้ว่าในปลา rainbow trout และปลา amago salmon มีการดูดซึมและขับถ่าย ออกโซลินิค แอซิด ช้ากว่าในปลา yellowtail มาก และปริมาณยาตกค้างในไตและตับของกลุ่มปลา salmonids มีค่าสูงกว่าในปลา amago salmon มีค่าเท่ากับ 30 วัน

Endo และคณะ (1973) ศึกษายาออกโซลินิค แอซิด ในปลา carp ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส โดยป้อนยาให้ปลากินในขนาด 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ตรวจพบระดับยาสูงสุดในเลือดระหว่างชั่วโมงที่ 15-24 หลังป้อนยาและยังคงตรวจพบยาในเลือดอยู่นาน 144 ชั่วโมงในปลาที่ได้รับยาขนาด 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจพบยาในเลือดนาน 72 ชั่วโมง ในปลาที่ได้รับขนาด 5 หรือ 10 มิลลิกรัม รายงานต่อมาเป็นรายงานของ Kasuga และคณะ (1984) ใช้วิธีตรวจโดย HPLC ซึ่งตรวจได้ระเอียดขึ้นเป็น 10เท่า ของวิธีทางจุลชีวะ คือตรวจได้ 0.02 ไมโครกรัมต่อกรัม ศึกษาเปรียบเทียบการขับถ่ายของยาออกโซลินิค แอซิด จากกล้ามเนื้อและตับปลา rainbow trout และปลา ayu ที่อุณหภูมิต่างๆโดยให้ยาในขนาด 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันติดต่อกัน 5 วัน ป้อนให้กินที่อุณหภูมิระหว่าง 8-9.5 องศาเซลเซียล ที่อุณหภูมิ 8-11 องศาเซลเซียล ตรวจพบยาในกล้ามเนื้อนาน 13 วันและในตับนาน 16 วัน ในปลาขนาดเล็กน้ำหนัก 10 กรัม ส่วนในปลาขนาดใหญ่คือ 160 กรัมตรวจ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ไม่พบยาในกล้ามเนื้อและตับภายใน 10 วันหลังหยุดให้ยา ที่อุณหภูมิ 17-19 องศาเซลเซียลยังคงตรวจพบยาในกล้ามเนื้อและตับในวันที่ 14 และตรวจไม่พบยาภายใน 21 วันหลังหยุดยาในปลาขนาด 240 กรัม ส่วนในปลา ayu ขนาด 50 กรัมที่อุณหภูมิ 17-19 องศาเซลเซียส ตรวจไม่พบยาภายใน 14 วันหลังหยุดให้ยา จากผลการศึกษา Kasuga และคณะ (1984) ได้แนะนำระยะปลอดยาของออกโซลินิค แอซิด เท่ากับ 21 วันในปลา trout และ 14 วันในปลา ayu ในประเทศญี่ปุ่น

Jacobsen (1989) ทดลองในประเทศเดนมาร์กในปลา rainbow trout โดยตรวจระดับของยาออกโซลินิค แอซิด ในเลือด กล้ามเนื้อ ผิวหนังและทางเดินอาหารที่อุณหภูมิ 6 , 12 และ 18 องศาเซลเซียส และได้ให้ความเห็นว่าควรกำหนดระยะปลอดยาของออกโซลินิค แอซิด จากการตรวจปริมาณของยาในทางเดินอาหารไม่ใช่จากการตรวจในกล้ามเนื้อในปลา trout เพียงอย่างเดียว และอุณหภูมิมีผลต่อการขับถ่ายของออกโซลินิค แอซิด ในปลา trout น้อยมาก ดั้งนั้น Jacobsen(1989) จึงแนะนำระยะปลอดยาสำหรับปลา trout เท่ากับ 20 วันที่อุณหภูมิประมาณ 18 องศาเซลเซียส

Limpoka และคณะ (1993) ศึกษายาออกโซลินิค แอซิด ในกุ้งกุลาดำโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อป้อนยาให้กินโดยใช้ feeding needle และผสมยาในอาหารเม็ดและเนื้อปลาสด ในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 10 กิโลกรัมฉีดหรือป้อนและผสมในอาหารในขนาด 0.5 และ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กินติดต่อกัน 5 วัน ทำการวิเคราะห์ระดับยาในเลือด และกล้ามเนื้อที่ใช้บริโภค จากผลการศึกษาพบว่า ระดับของยาในเลือดและในกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำมีความสัมพันธ์กันตลอดระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างหลังจากฉีดและพ่นยา โดยพบว่าระดับของออกโซลินิค แอซิด ในกล้ามเนื้อมีปริมาณสูงกว่าในเลือดซึ่งมีอัตราส่วน 0.4 – 0.5 ตลอดระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง หลังจากป้อนยาให้กินออกโซลินิค แอซิด มีการดูดซึมอย่างรวดเร็ว

กาญจนา และคณะ ;อมรชัย และคณะ, 2536 ได้ทดลองความเข้มข้นของยาออกโซลินิค แอซิด ในเนื้อกุ้งที่ได้รับอาหารผสมยาทั้ง 2 ระดับ ตรวจพบในระดับที่ต่ำในวันแรกของการใช้ยา และค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับสูงสุด 1.372± 0.107 ppm และ 3.315 ± 0.360 ppm ในวันที่ 5 และ 6 ของการให้อาหารผสมยาในเนื้อกุ้งที่ได้รับอาหารผสมยาในระดับ 1.0 และ 3.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก กล้ามเนื้อไม่ได้เป็นอวัยวะที่รับยาโดยตรง การดูดซึมของยาเกิดขึ้นในส่วนของตับ/ตับอ่อน เป็นอันดับแรก และตรวจพบยาในระดับความเข้มข้นสูง หลังจากจะแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆรวมทั้งกล้ามเนื้อโดยระบบหมุนเวียนของเลือด

การอนุญาตให้ใช้ยาออกโซลินิค แอซิด ในประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกาและกลุ่มประเทศยุโรป ไม่อนุญาตให้มียาออกโซลินิค แอซิด ตกค้างเลย (กรมประมง, 2543) กรมประมง ได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กำหนดระยะงดยาก่อนการจับกุ้งขาย โดยจะต้องงดให้ยา 21 วัน ก่อนการจับกุ้งขาย จะเป็นระยะที่ปลอดภัยที่สุด

ผลของยาปฏิชีวนะต่อสัตว์น้ำและผู้บริโภค

Booth (1977) ได้กล่าวถึงผลปฏิชีวนะตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ที่มีผลต่อมนุษย์โดยแบ่งออกได้ 2 ทาง คือ

1. อันตรายที่เกิดจากยาโดยตรง มักจะเป็นพิษต่อร่างกายใน 2 ลักษณะคือ
   1.1 ชนิดรุนแรง (acute toxicity) ขึ้นอยู่กับชนิด และขนาดของยาที่ได้รับ โดยทั่วไปมักไม่สูงพอที่จะทำให้เกิดอันตรายอย่างรุนแรงเนื่องจากร่างกายมีการขับถ่ายออกไปเรื่อยๆ และในขบวนการปรุงอาหารสามารถทำลายฤทธิ์ของยาลงได้
   1.2 ชนิดเรื้อรัง (chronic toxicty) เป็นปัญหาระยะยาวที่สำคัญ เนื่องจากยาจะสะสมอยู่ในร่างกาย และอาจเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปที่เป็นอันตรายได้
2. อันตรายที่เกิดผลทางอ้อมมี 2 กรณี
   2.1 ทำให้เกิดการแพ้ เกิดขึ้นได้ทั้งในคนที่ไม่เคยได้รับยานั้นมาก่อน หรือเคยรับมาก่อนก็ได้ แต่ส่วนใหญ่มักเกิดกับคนที่ร่างกายมีความไวต่อสารตัวหนึ่งตัวใดโดยเฉพาะ การแพ้ยาไม่ได้เกิดขึ้นกับขนาดของยาที่ได้รับ แต่ มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ได้รับยา ความถี่ที่ได้รับยา โครงสร้างทางเคมีของยา
   2.2 เกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อดื้อยา ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อดื้อยาจากผลิตภัณฑ์สัตว์ถ่ายทอด R-factor ให้กับจุลินทรีย์ในร่างกายคนหรือโน้มนำให้จุลินทรีย์ในร่างกายคนเกิดการดื้อยาได้ ผลตกค้างของยาในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ จะเข้าสู่ร่างกายคนแล้วออกฤทธิ์ทำลายเชื้อที่ไวต่อยาและทำให้เชื้อดื้อยาเพิ่มจำนวนมากขึ้น

สำหรับยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน ความเป็นพิษที่มีต่อผู้บริโภคคือ การสลายตัวมีพิษสูงต่อไต เป็นพิษต่อกระดูกและฟัน และตับ ทำให้ภูมิต้านทานในร่างกายลดน้อยลง

ผลของออกโซลินิค แอซิด ที่มีต่อผู้บริโภคนั้นยังคงเป็นที่ถกเถียงกันในหมู่นักวิทยาศาสตร์ บางท่านให้ข้อคิดเห็นว่า ออกโซลินิค แอซิด น่าจะเป็นตัวขัดขวางขบวนการ transcription ของยีน ในเซลล์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และเกี่ยวข้องกับความเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์ชั้นสูง (Lunestad, 1991) และจากการศึกษาของ Gross, 1964) พบว่า นาลิดิซิค แอซิด ซึ่งเป็นยาในกลุ่มเดียวกับ ออกโซลินิค แอซิด จะเป็นตัวขัดขวางขบวนการสังเคราะห์ DNA แต่การ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ศึกษาของ Bourguignon และคณะ (1973) สรุปว่านาลิดิซิค แอซิด ไม่มีผลต่อโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์ DNA

พัฒนี (2537) รายงายว่ายาปฏิชีวนะโดยเฉพาะ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน ที่ใช้กันมาก และเกษตรกรหวังผลตอบสนองของยาให้เร็วที่สุด การใช้ยาอาจจะได้ผลดีกับกุ้งที่ยังไม่ป่วย และสามารถกินอาหารได้ตามปกติ แต่สำหรับกุ้งที่ป่วยอยู่แล้วจะไม่กินอาหาร การรักษาด้วยวิธีนี้จึงผิดวัตถุประสงค์ไปและมีผลเสียในด้านต่างๆ คือ

1. ก่อให้เกิดการดื้อยาของเชื้อโรค ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ ลิลา (2537) การใช้ยาอย่างพร่ำเพรื่อและเกินความจำเป็นของเกษตรกร ย่อมก่อให้เกิดอันตรายร้ายแรงประการหนึ่ง คือ เชื้อโรคจะเกิดการดื้อยา ซึ่งแบคทีเรียโดยทั่วไปสามารถปรับสายพันธุ์ (Mutate) ทำให้ตัวเองดื้อยาได้ และคุณสมบัตินี้ยังถูกถ่ายทอดจากตัวหนึ่งไปยังตัวอื่นๆ ทำให้ปริมาณเชื้อที่ดื้อยามีมากขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นการใช้ยาอย่างไม่ถูกต้องจะเป็นการเพิ่มปริมาณและชนิดของแบคทีเรียที่ดื้อยามากขึ้น ด้วยเหตุผลนี้เกษตรกรจึงหันมาใช้ยา ออกโซลินิค แอซิด มากขึ้น หลังจากเกิดการดื้อยาของออกซี่เตตร้าซัยคลิน
2. ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน และ ออกโซลินิค แอซิด ทนต่อการสลายตัวโดยจุลชีพในดินมาก ดังนั้นจึงมีการสะสมยาประเภทนี้อย่างช้าๆ และต่อเนื่อง มีรายงานว่า ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน สามารถอยู่ในดินได้ถึง 2 เดือน หากมีการสะสมของยามาก และอาจทำให้ประชากรของแบคทีเรีย ที่มีประโยชน์ต่อการย่อยสลายอินทรีย์ในสารของดินก้นบ่อหมดไป และอินทรีย์สารก็จะสะสมอยู่ในบ่อ หากสูบออกจากบ่อก็จะเป็นภาระแก่สังคม และหากในดินมี แบคทีเรีย ที่ให้โทษแก่สัตว์น้ำ การสะสมอย่างช้าๆ ของยา จะทำให้เกิดการดื้อยาเกิดขึ้นด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

วัสดุอุปกรณ์

1.การเก็บตัวอย่างกุ้ง

สุ่มตัวอย่างกุ้งกุลาดำขณะมีชีวิต อายุตั้งแต่ 90 วันขึ้นไป ที่เลี้ยงในบ่อดินของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จ. ระยอง โดยเก็บตัวอย่างในยอใส่อาหาร บ่อละ 5 – 10 ตัว บรรจุในถุงพลาสติกแล้วแช่ในถังน้ำแข็งที่มีฝาปิดมิดชิด

2. การตรวจสอบยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน โดยวิธี Microbiological assay method

อุปกรณ์และสารเคมี

<u>อุปกรณ์</u>

1. จานเพาะเชื้อ
2. บีกเกอร์
3. กรวยแก้ว
4. กระดาษกรอง
5. ตู้บ่มเชื้อ
6. เครื่อง Refrigerated Centrifuge
7. เครื่อง Homogenized
8. เครื่อง water bath
9. Paper disc
10. Forcep

<u>สารเคมี</u>

1. Nutrient agar
2. น้ำเกลือ 0.85 %
3. Am 8
4. Oxytetracycline
5. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_2, MW 136.09)

เชื้อแบคทีเรีย (Assay strain) ใช้ *Bacillus mycoides*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. **การตรวจสอบยาออกโซลินิค แอซิด โดยวิธีวิเคราะห์** HPLC

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. เครื่องวิเคราะห์ HPLC
2. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. เครื่อง Homogenized
4. เครื่อง Vacuum Rotary Evaporator
5. เครื่อง Refrigerated Centrifuge
6. ขวดเก็บตัวอย่าง (vial)
7. เครื่องคอมพิวเตอร์
8. ไมโครปิเปต
9. พาสเจอร์ปิเปต
10. บีกเกอร์
11. กระบอกตวง
12. ฟลาสก์ก้นแบน
13. โวลูเมตริกฟลาสก์
14. โฮเปอร์คลีนไซริงค์ฟิลเตอร์
15. หลอด Centrifuge
16. กระดาษกรอง
17. กรวยแก้ว
18. โถปั่นตัวอย่าง

สารเคมี

1. Sodium sulfate anhydrous
2. Ethyl acetate, AR grade
3. Methanol, HPLC grade
4. Oxalic acid $(COOH)_2 2H_2O)$
5. Hexane, AR grade
6. Acetonnitrile, HPLC grade
7. สารมาตรฐาน Oxolinic acid
8. Mili – Q - water

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.1 การเตรียมเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบ

Bacillus mycoides เขี่ยเชื้อ *B. mycoides* ลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มี nutrient agar แล้วไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตรวจดูสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำ plate ที่มีสปอร์ถึง 80 % มาใช้ รวบรวมแบคทีเรียที่ขึ้นบนจานเลี้ยงเชื้อผสมกับน้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในหลอดทดลอง นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 65°C ใน water bath เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสในหลอดทิ้งเติมน้ำเกลือลงในตะกอนที่เหลือเขย่าให้เข้ากัน ส่วนนี้ใช้เป็น Spore solution ซึ่งจะต้องนำมาเจือจางทีละ 10 เท่าด้วยน้ำเกลือ แล้วใส่สารละลายสปอร์แต่ละความเข้มข้นผสมกับ AM 8 (อุณหภูมิ 50°C) ในอัตราส่วน 1% เขย่าให้ทั่วแล้วเทใน plate ละ 8 มล. ทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัว นำ Paper disc จุ่มยา Oxytetracycline ความเข้มข้น 0.25 µg / ml วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจเช็ค inhibition zone 14 ± มม. ซึ่งแสดงว่าสารละลายมีความเข้มข้นนั้นมีจำนวนสปอร์ 10^{7} – 10^{8} spores/ml ซึ่งใช้ในการทดสอบโดยนำสารละลายนี้มาผสมกับอาหาร AM 8 ในอัตราส่วน 1 : 100 เท plate ทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวเพื่อการทดสอบตัวอย่างต่อไป กนกพรรณ (2538)

2.2 Oxytetracycline Standard Solution

Oxytetracycline hydrochloride (Sigma) ที่มี potency 905 µg Oxytetracycline base per mg ใช้ยานี้ 0.1105 g. ละลายด้วย 1.0 N HCL จำนวนเล็กน้อยก่อน จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml. สารละลายที่ใช้เป็น Oxytetracycline stock solution ความเข้มข้น 1,000 µg/ml จากนั้นใช้ phosphate buffer solution pH 4.5 เจือจางให้ได้ working solotion ที่มี Oxytetracycline 0.25 µg/ml

2.3 การเตรียมตัวอย่าง

นำเนื้อกุ้งเฉพาะส่วนกล้ามเนื้อบดตัวอย่างละ 5 กรัม เติม 20 มล. ของ citric acid- acetone buffer และน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บดให้ละเอียด หลังจากนั้นนำตัวอย่างมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No1สารละลายที่กรองได้ นำไปวิเคราะห์ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.4 **การตัดสิน**

โดยการตรวจดูการเกิด inhibition zone บน assay plate ที่บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 18 ชม. และถ้า inhibition zone ของแผ่น disc ที่จุ่มสารละลายของตัวอย่างที่สกัดได้ มีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 12 มม. ถือว่าตัวอย่างนั้นมียาออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำ โดยที่ disc ที่จุ่ม citric acetone buffer solution ต้องไม่เกิด inhibition zone

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 1 การเขี่ยเชื้อ *Bacillus mycoides* สำหรับการทดสอบ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

รูปที่ 2 การเตรียมตัวอย่างกุ้ง โดยการแกะเอาเฉพาะส่วนเนื้อ และทำการผ่าหลัง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 3 นำตัวอย่างกุ้งมาปั่น

รูปที่ 4 นำตัวอย่างกุ้งตัวอย่างละ 5 กรัม เติม Citric acid-acetone buffer 20 ml ปั่นด้วย Homogenizer

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 5 การกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1

รูปที่ 6 ตัวอย่างสารละลายที่กรองได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 7 นำ Paper disk จุ่มสารที่สกัด วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

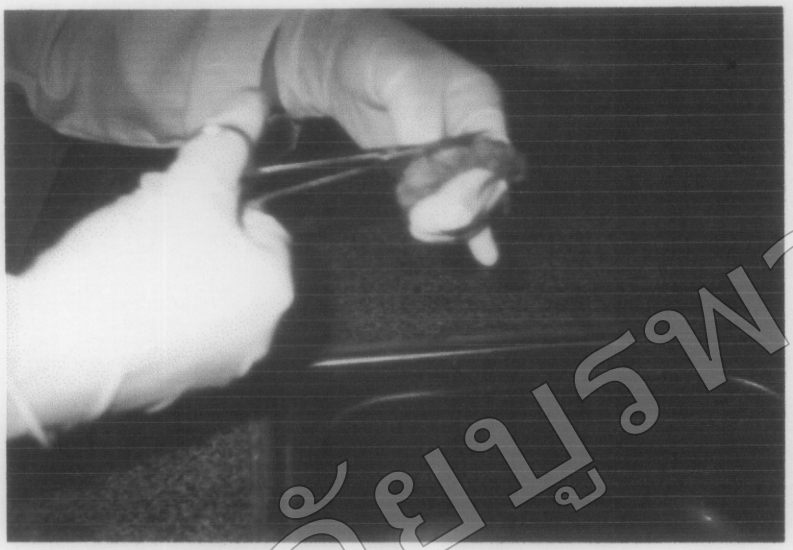
มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

วิเคราะห์หาปริมาณ Oxolinic acid โดยการใช้วิธีวิเคราะห์แบบ HPLC (High performance Liquid Chromatography)ตามวิธีการของ สุภาพรรณ (2538) โดยการชั่งตัวอย่างเนื้อกุ้งที่บดแล้วจำนวน 5 กรัม เติม Sodium sulfate anhydrous 10 กรัม และ Ethyl acetate 30 ml คนให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5นาทีแล้วเทส่วนใสผ่านกระดาษกรอง เบอร์1 เก็บในขวดก้นแบนขนาด 250ml (ครั้งที่1)หลังจากนั้นสกัดส่วนที่เหลือจากการกรองเติมEthyl acetate อีก 30 ml ทำซ้ำอีกครั้งหนึ่งจากนั้นนำสารละลายจากการกรองทั้ง 2 ครั้งไประเหยแห้งด้วย Vacuum Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 40องศาเซลเซียสจนแห้งสนิท แล้วละลายด้วย Haxane 1 ml และ Methanol : 0.01 M Oxalic acid pH 2.5 ในอัตราส่วน 7:3 ในปริมาณ 5ml นำไปปั่นตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที แยกส่วนใสด้านล่างมากรองผ่าน Hyperclean Nylon Filter ขนาด 0.45 ไมครอน เก็บสารละลายที่กรองได้ในขวดเก็บตัวอย่าง แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ยี่ห้อ WATERS โดยใช้ Column Nova-Pak C18, 3.9X150 NM.และใช้ Mobile phaseในสัดส่วน30% Acetonitrile 70% 0.01m oxalic acid , pH 2.5) มีอัตราการไหล 1.0 ml./min และตรวจวัดปริมาณโดยการวัดการดูดกลืนแสงที่ 260 nm. นำค่าที่ตรวจวัดได้มาคำนวณหาปริมาณ ออกโซลินิค แอซิด ในเนื้อกุ้งตัวอย่างดังนี้

$$\text{ปริมาณ ออกโซลินิคแอซิด (ppm)} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่อ่านได้จาก calibration(ug/m)x5(ml)}}{\text{น้ำหนักกุ้ง(g)}}$$

ใช้ยา ออกโซลินิคแอซิด ของ sigma ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ,0.1,0.25 และ 0.5 mg/l ใช้เป็นมาตรฐานในการทำ calibration curve เพื่อคำนวณหา peak area ของยา Oxolinic acid ในตัวอย่างกุ้ง ในการเตรียมตัวอย่างแต่ละครั้งจะต้องหาเปอร์เซ็นต์ recovery โดยการเติมยา Oxolinic acid แล้วนำไปสกัดเหมือนวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกขั้นตอน สุภาพรรณ (2538)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 8 การเตรียมตัวอย่างกุ้ง โดยการแกะเอาเฉพาะส่วนเนื้อ และทำการผ่าหลัง

รูปที่ 9 นำตัวอย่างกุ้งมาปั่น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รูปที่ 10 นำตัวอย่างกุ้งที่ปั่นแล้ว 5 กรัม เติม Sodiun sulfate anhydrous 10 กรัม และ Ethyl acetate 30 มิลลิกรัม ปั่นด้วย Homogenizer

รูปที่ 11 นำของเหลวที่ได้ใส่ Centrifuge ความเร็วรอบ 2000 VPM

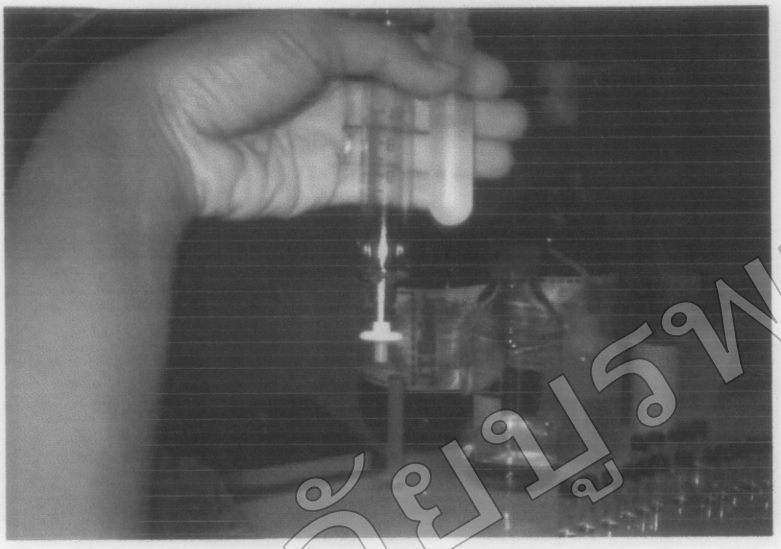
0613
ป.ว
สาขก
2544

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 12 เก็บสารละลายที่ได้ใส่ขวดก้นแบน เติม Ethyl acetate 30 มิลลิลิตร

รูปที่ 13 นำสารละลายที่ได้ไประเหยแห้งด้วย Vacuum Rotary Evaporator

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 14 นำตัวอย่างไปปั่นตกตะกอน เก็บตัวอย่างส่วนใสด้านล่าง ด้วย Syringeกรองผ่าน Hyperclean Nylon Filter ขนาด 0.45 ไมครอน

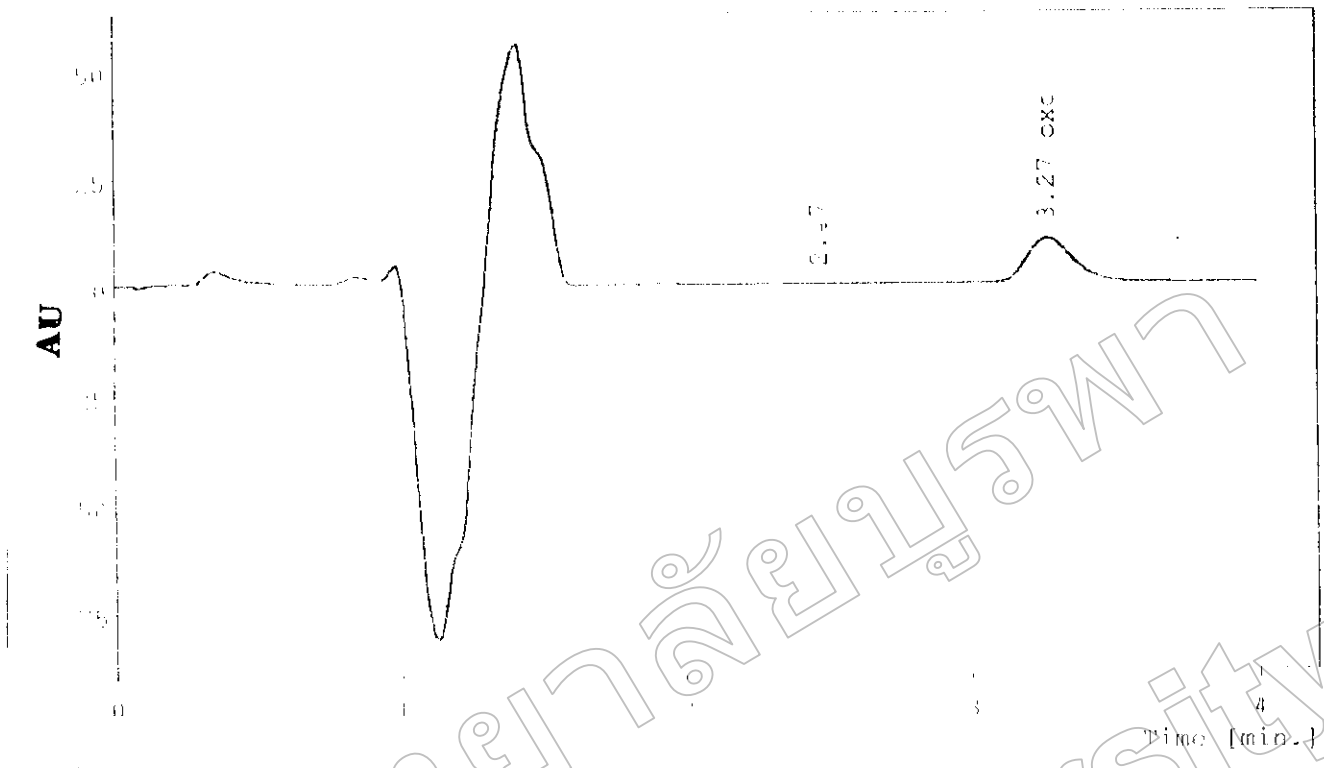
รูปที่ 15 เก็บสารละลายที่ได้ใส่ขวดเก็บตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

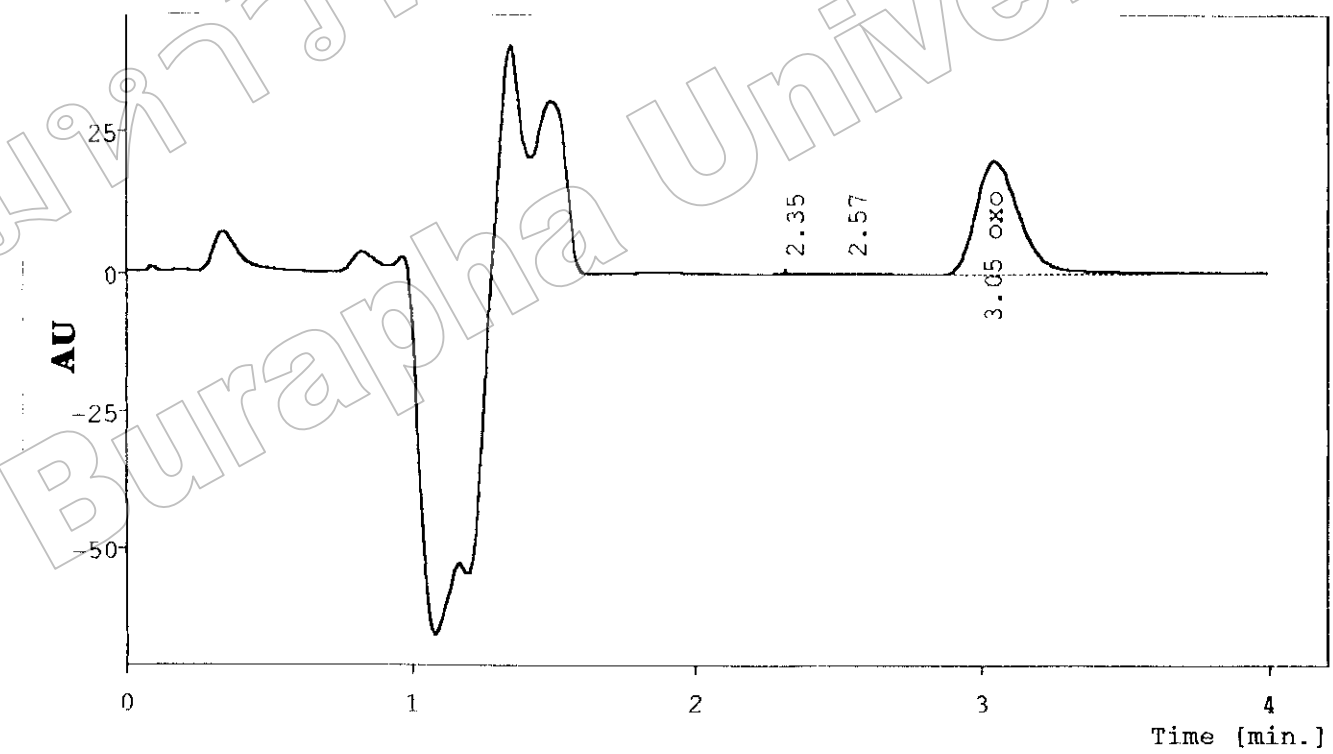
รูปที่ 16 นำสารละลายที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC

รูปที่ 17 โครมาโตแกรม หลังจากฉีดสารละลายมาตรฐาน หรือ สารละลายตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



A



B

รูปที่ 18 **แสดงโครมาโตแกรมของยาออกโซลินิค แอซิค โดยเทคนิค** HPLC

A. **โครมาโตแกรม สาร** standard oxolinic acid 0.25 ppm

B. **โครมาโตแกรมยา** oxolinic acid 0.50 ppm **จากตัวอย่างกุ้งกุลาดำ**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการตรวจยาออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้าง ในกุ้งกุลาดำอายุ ตั้งแต่ 90 วันของสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จ. ระยอง โดยวิธี Microbiogical assay พบว่า ปีงบประมาณ 2542 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 142 ตัวอย่าง พบ ยาออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำจำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.11 % ปีงบประมาณ 2543 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่าง พบยาออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำจำนวน 0 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0 % ปีงบระมาณ 2544 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 172 ตัวอย่าง พบยาออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำจำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 2.91 %

ผลการวิเคราะห์ยาออกโซลินิค แอซิค โดยเทคนิค HPLC (High performance Liquid Chromatography) พบว่า ปีงบระมาณ 2542 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 142 ตัวอย่าง พบยาออกโซลินิค แอซิค ตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำจำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 16.90 % ปีงบประมาณ 2543 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่าง พบยาออกโซลินิค แอซิค ตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำจำนวน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.55% ปีงบระมาณ 2544 มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 172 ตัวอย่าง พบยาออกโซลินิค แอซิค ตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำจำนวน 44 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.58%

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 รายงานผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วัน จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ สมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจ. ระยอง ปีงบประมาณ 2542

เดือน / ปี	จำนวนตัวอย่าง	ผลการวิเคราะห์			
		Oxytetracycline		Oxolinic acid	
		ไม่พบ (ตัวอย่าง)	พบ (ตัวอย่าง)	ไม่เกิน 0.05 ppm	เกิน 0.05 ppm
ตุลาคม 2541	0	0	0	0	0
พฤศจิกายน 2541	24	23	1	14	10
ธันวาคม 2541	9	9	0	7	2
มกราคม 2542	25	24	1	21	4
กุมภาพันธ์ 2542	15	15	0	15	0
มีนาคม 2542	2	1	1	0	2
เมษายน 2542	6	6	0	6	0
พฤษภาคม 2542	11	11	0	11	0
มิถุนายน 2542	5	5	0	5	0
กรกฎาคม 2542	11	11	0	10	1
สิงหาคม 2542	29	29	0	26	3
กันยายน 2542	5	5	0	3	2
รวม	142	139	3	118	24

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2 รายงานผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วัน จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจ. ระยอง ปีงบประมาณ 2543

เดือน / ปี	จำนวนตัวอย่าง	ผลการวิเคราะห์			
		Oxytetracycline		Oxolinic acid	
		ไม่พบ (ตัวอย่าง)	พบ (ตัวอย่าง)	ไม่เกิน 0.05 ppm	เกิน 0.05 ppm
ตุลาคม 2542	13	13	0	11	2
พฤศจิกายน 2542	18	18	0	9	9
ธันวาคม 2542	8	8	0	6	2
มกราคม 2543	6	6	0	5	1
กุมภาพันธ์ 2543	5	5	0	0	5
มีนาคม 2543	6	6	0	6	0
เมษายน 2543	4	4	0	2	2
พฤษภาคม 2543	7	7	0	7	0
มิถุนายน 2543	5	5	0	4	1
กรกฎาคม 2543	4	4	0	4	0
สิงหาคม 2543	8	8	0	8	0
กันยายน 2543	6	6	0	5	1
รวม	90	90	0	67	23

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

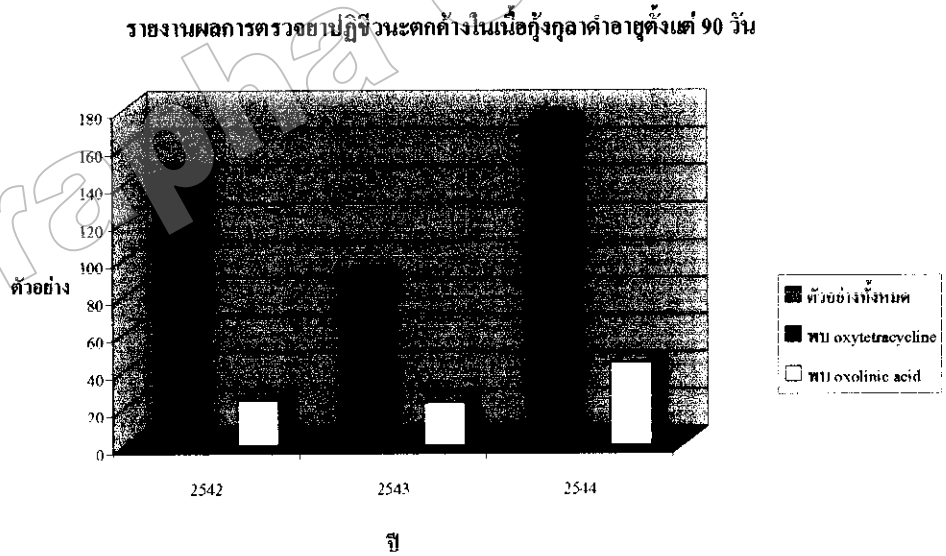
ตารางที่ 3 รายงานผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วัน จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ สมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจ. ระยอง ปีงบประมาณ 2544

เดือน / ปี	จำนวนตัวอย่าง	ผลการวิเคราะห์			
		Oxytetracycline		Oxolinic acid	
		ไม่พบ (ตัวอย่าง)	พบ (ตัวอย่าง)	ไม่เกิน 0.05 ppm	เกิน 0.05 ppm
ตุลาคม 2543	8	8	0	3	5
พฤศจิกายน 2543	12	12	0	7	5
ธันวาคม 2543	8	7	1	6	2
มกราคม 2544	11	11	0	10	1
กุมภาพันธ์ 2544	13	13	0	12	1
มีนาคม 2544	9	9	0	5	4
เมษายน 2544	9	9	0	8	1
พฤษภาคม 2544	8	8	0	5	5
มิถุนายน 2544	18	18	0	12	6
กรกฎาคม 2544	16	16	0	13	3
สิงหาคม 2544	26	26	0	22	4
กันยายน 2544	34	23	4	20	7
รวม	172	167	5	128	44

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4 รายงานผลการตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วัน จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ สมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจ. ระยอง ปีงบประมาณ 2542 - 2544

ปีงบประมาณ	ตัวอย่างเกษตรกร (ตัวอย่าง)	ผลการวิเคราะห์			
		Oxytetracycline		Oxolinic acid	
		ไม่พบ (ตัวอย่าง)	พบ (ตัวอย่าง)	ไม่เกิน 0.05 ppm	เกิน 0.05 ppm
2542	142	139	3	118	24
2543	90	90	0	67	23
2544	172	167	5	123	44
รวม	404	396	8	313	91



รูปที่ 19 กราฟแสดงจำนวนการตรวจพบยาปฏิชีวนะในกุ้งกุลาดำอายุ 90 วัน ปีงบประมาณ 2542 - 2544

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

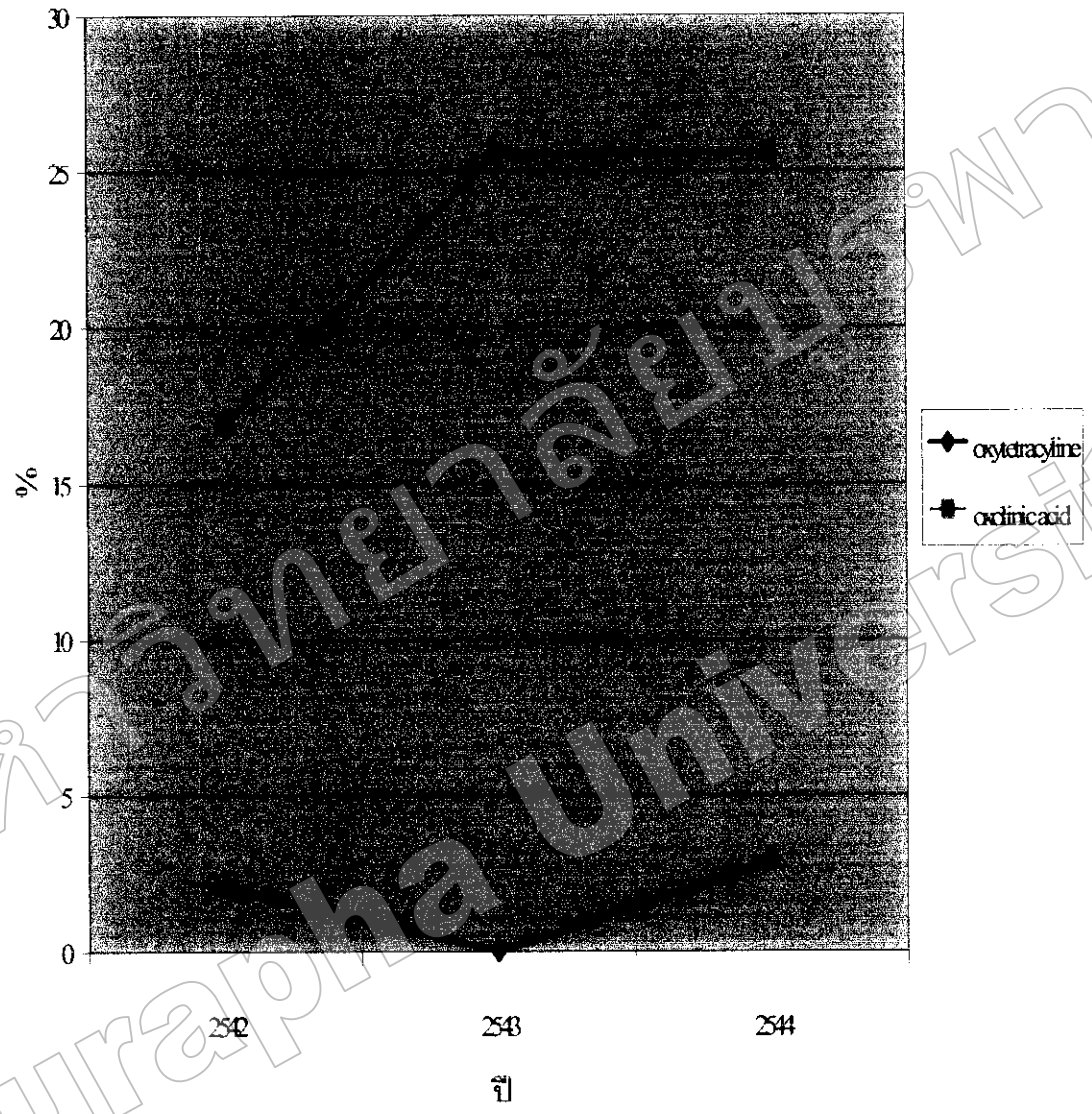
ตารางที่ 5 การตรวจสอบยา Oxytetracylince ตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำ อายุตั้งแต่ 90 วัน ของสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จ. ระยอง ด้วยวิธี Microbiological asay

ปีงบประมาณ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบยา	% ที่พบ
2542	142	3	2.11%
2543	90	0	0 %
2544	172	5	2.91%
รวม	404	8	1.98%

ตารางที่ 6 การตรวจสอบยา Oxolinic acid ตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำ อายุตั้งแต่ 90 วัน ของสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จ. ระยอง ด้วยวิธี HPLC

ปีงบประมาณ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบยา	% ที่พบ
2542	142	24	16.90%
2543	90	23	25.55%
2544	172	44	25.58%
รวม	404	91	22.52%

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 20 กราฟแสดงการตรวจสอบยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน และยาออกโซลินิค แอซิด ใน กุ้งกุลาดำ อายุตั้งแต่ 90 วัน ของสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบจ. ระยอง ปีงบประมาณ 2542 -2544

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. ในช่วงปีงบประมาณ 2542 - 2544 ตรวจพบยาออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในตัวอย่างกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วัน จากบ่อเลี้ยงของสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำจังหวัดระยอง มีจำนวนไม่มาก คือ ตรวจพบจำนวนร้อยละ 2.11, 0, 2.91 ตามลำดับ รวมทั้ง 3 ปี ตรวจพบยาออกซี่เตต้าซัยคลินตกค้าง ร้อยละ 1.98
2. ในช่วงปีงบประมาณ 2542 - 2544 ตรวจพบยาออกโซลินิค แอซิด ตกค้าง เกินกว่า 0.05 ppmในตัวอย่างกุ้งกุลาดำอายุตั้งแต่ 90 วัน จากบ่อเลี้ยงของสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบจังหวัดระยอง มีจำนวนมากกว่าตรวจพบยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน คือ ตรวจพบจำนวนร้อยละ 16.90, 25.55, 25.58 ตามลำดับ รวมทั้ง 3 ปี ตรวจพบยาออกโซลินิค แอซิด ตกค้าง เกินกว่า 0.05 ppm ร้อยละ 22.52
3. แนวโน้มการใช้ยาทั้งสองชนิดนี้ คือ มีการใช้ยาออกโซลินิค แอซิค เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีการดื้อยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน
4. เกษตรกรยังมีการใช้ยาที่ไม่ถูกต้อง โดยเพิ่มปริมาณการใช้ยาในการรักษาโรคมากขึ้น ไม่เป็นไปตามหลักวิชาการ จึงทำให้ตรวจพบยาตกค้างในกุ้งกุลาดำ

อภิปรายผล

การติดตามยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิด คือ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน และ ออกโซลินิค แอซิด ในกุ้งกุลาดำจากฟาร์มเกษตรกร ที่เป็นสมาชิกหน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จ. ระยอง ที่มีอายุตั้งแต่ 90 วันขึ้นไป ซึ่งเป็นระยะที่สามารถจับกุ้งขายได้และในทางปฏิบัติแล้วไม่ควรใช้ยาปฏิชีวนะในช่วงการจับกุ้งดังกล่าว เพราะระยะเวลาที่สารปฏิชีวนะจะสลายไปใช้เวลาประมาณ 21 วันหลังจากใช้ยาเป็นครั้งสุดท้าย ดังนั้นหากจับกุ้งขึ้นในช่วงนี้ ก็จะพบการตกค้างของสารได้ ปรัชญา (2537)

ผลการตรวจสอบพบยาปฏิชีวนะของทั้ง 2 ชนิด พบว่า จำนวนตัวอย่างที่พบออกซี่เตตร้าซัยคลิน ตกค้าง มีไม่มาก คืออยู่ในช่วง 0 - 2.91 % ส่วนตัวอย่างที่พบออกโซลินิค แอซิด เกินกว่า 0.05 ppm มีจำนวนเพิ่มขึ้น คืออยู่ในช่วง 16.95 – 25.58 % โดยเพิ่มจาก 16.90 %ในปีงบประมาณ 2542 เป็น 25.55 % ในปีงบประมาณ 2543 และ 25.58 %

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในปีงบประมาณ 2544 จากผลการวิเคราะห์ยาตกปฏิชีวนะตกค้างในช่วง 3 ปีที่ผ่านมา (2542 – 2543) พบว่า ปริมาณการตกค้างของ ออกโซลินิค แอซิด มีจำนวนตัวอย่างมากกว่าการตกค้าง ของ ออกซี่เตตร้าซัยคลิน เนื่องจากระยะหลังมีความนิยมใช้ออกโซลินิค แอซิด มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ สุดาและฉันทนา (2540) รายงานว่า ในปี 2538 และ 2539 เกษตรกรในจังหวัดภูเก็ตยังนิยมใช้ยาในกลุ่มออกซี่เตตร้าซัยคลิน มากที่สุด รองลงมาคือ ออกโซลินิค แอซิด และ ซัลฟา โดยใช้ยาปฏิชีวนะมากในกุ้งอายุ 1-2 เดือน ส่วนในกุ้งอายุ 90 วันขึ้นไปใช้น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ (3.83 และ 1.83 % ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดในปี 2538 และ 2539 ตามลำดับ) และในปี 2539 เกษตรกรนิยมใช้ยาในกลุ่ม ออกโซลินิค แอซิด เพิ่มสูงขึ้นจากปี 2538 (จาก 17.70 % เป็น 26.43 %)เนื่องจากมีการดื้อยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน

มณฑิรา และ จิราภรณ์ (2543) รายงานว่า จากการสอบถามจากเกษตรกร พบแนวโน้มการใช้ยาปฏิชีวนะ เริ่มเปลี่ยนจากที่เคยนิยมใช้ออกซี่เตตร้าซัยคลิน เป็น ออกโซลินิค แอซิด ซัลฟา และซัลฟาไดรเมทพริมมากขึ้น ซึ่งคล้ายคลึงกับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งในจังหวัดอื่นๆ เช่น จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต จังหวัดสตูล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ธนิฎฐา และคณะ (2543)รายงานผลของโครงการตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ จากฟาร์มเลี้ยงทั่วประเทศ ช่วงปีงบประมาณ 2539-2542 พบว่า การประเมินการใช้สารปฏิชีวนะในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยพิจารณาจากจำนวนตัวอย่างที่พบสารตกค้าง กล่าวได้ว่าจังหวัดทางฝั่งอันดามันนั้นมีการใช้ ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน มากกว่าเขตอื่นๆ ตั้งแต่ปี 2539 – 2542 ประกอบกับมีการใช้ ออกโซลินิค แอซิด เพิ่มมากขึ้นด้วยแต่ก็ยังนับว่าน้อยกว่าเขตอื่นๆ เขตที่ใช้ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน น้อยได้แก่ เขตภาคกลางและเขตภาคตะวันออก จังหวัดในเขตภาคใต้ฝั่งอ่าวไทยเป็นเขตที่พบตัวอย่างที่มี ออกโซลินิค แอซิด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สูงที่สุดและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยจากปี 2539 – 2542 และเขตที่ใช้ ออกโซลินิค แอซิด น้อยกว่าเขตอื่น ได้แก่ เขตภาคใต้ฝั่งอันดามันและเขตภาคกลาง อย่างไรก็ตาม เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างที่พบ ยาออกซี่เตตร้าซัยคลินน้อยกว่าที่พบ ออกโซลินิค แอซิด ในทุกเขตนับตั้งแต่ปี 2540 เป็นต้นมา และมีรายงานว่าในจังหวัดระยองปี 2539 และ 2540 ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน 0.00% และมากขึ้นในปี 2541 และ 2542 ซึ่งในปี 2541 นับว่าสูงสุดในเขตภาคตะวันออก และจัดเป็นอันดับ 3 เมื่อรวมทั้งประเทศ และส่วนยาออกโซลินิค แอซิด ใน 2 ปีแรก คือ 2539 และ 2540 พบในปริมาณน้อย และเพิ่มขึ้นอย่างมากในปี 2541 - 2542 ซึ่งในปี2542 ตรวจพบยาออกโซลินิค แอซิด สูงสุดในเขตภาคตะวันออก หรือจัดอันดับที่ 4 เมื่อรวมทั้งประเทศ

เหตุผลอีกประการหนึ่งที่ตรวจพบ ยาออกโซลินิค แอซิด มากกว่า ยาออกซี่เตตร้าซัยคลินค่อนข้างมากเนื่องจาก วิธีการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ มณฑิรา และจิราพร (2543) อ้างถึง Merck Lab News (1998) ว่า วิธีทางจุลชีววิทยา (microbiological assay) เป็นวิธีการตรวจสอบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ยาปฏิชีวนะในอาหารแบบดั้งเดิมที่นิยมใช้กันมากและเป็นที่ยอมรับเพราะมีข้อดีหลายประการ กล่าวคือ เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ลงทุนน้อย มีความไว และความถูกต้องเม่นยำพอสมควร ตรวจสอบตัวอย่างได้จำนวนมากต่อวัน และผู้วิเคราะห์ไม่จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการตรวจสอบและติดตามผลการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อกุ้ง สุภาพรรณ และคณะ (2540) รายงานว่าการวิเคราะห์ยาในกลุ่มออกซี่เตตร้าซัยคลินตกค้างในเนื้อกุ้ง โดยวิธี microbiological assay นั้น ไม่สามารถตรวจพบปริมาณยาตกค้างที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 0.1 μg / ml ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่การวิเคราะห์ ออกโซลินิค แอซิด โดยวิธี HPLC (High Performance Liguid Chromatography) เป็นเทคนิคของ chromatography สามารถวิเคราะห์สารได้ในระดับต่ำ รวมถึงสามารถควบคุมความถูกต้องในการทำปริมาณการวิเคราะห์ได้ดีและมีประสิทธิภาพสูง

การตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำ ยังคงมีความสำคัญต่อเนื่องต่อไปในอนาคต เนื่องจากตลาดส่งออกที่สำคัญมุ่งเน้นในด้านมาตรฐานคุณภาพเกี่ยวกับความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นหลัก ซึ่งรายงานที่น่าสนใจอีกรายงานหนึ่ง มาลินี (2540) อ้างถึง Steffenak และคณะ (1993) ได้ศึกษาผลของการหุงต้มต่อการตกค้างของ ออกโซลินิค แอซิด ในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของปลา salmon โดยเก็บตัวอย่างจากปลาที่ทราบว่ายังมียาหลงเหลืออยู่ในตับ ตัวอย่างที่ทำการศึกษาคือ กล้ามเนื้อ ตับ ไขมันส่วนหลัง ผิงหนังและกระดูกหลัง ตัวอย่างแต่ละชุดแบ่งเป็น สามส่วน ส่วนแรกนำไปต้ม ส่วนที่สองนำไปย่าง ส่วนสุดท้ายเป็นชุดเปรียบเทียบ นอกจากนี้ได้ทำการเก็บน้ำเลือดที่หยดออกจากตัวอย่างระหว่างที่ทำการทดลองเพื่อตรวจวิเคราะห์หาตัวอย่างด้วย ผลปรากฏว่าหลังจากผ่านการต้มหรือย่างแล้วตรวจพบ ยาออกโซลินิค แอซิด สูงสุดในตัวอย่างกระดูกหลัง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังจากหยุดให้ยาแล้วนานถึง 6 เดือน แต่ยังคงตรวจพบยาสะสมอยู่ในกระดูกในปริมาณ 164 นะโนกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม และยังคงตรวจพบในตัวอย่างผิวหนังในขนาด 35 นะโนกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม และหลังจากผ่านการต้มและย่างแล้วกลับตรวจพบ ยาออกโซลินิค แอซิดในกล้ามเนื้อ ซึ่งในขณะตรวจไม่พบในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการหุงต้มมาก่อน จากการตรวจระดับยาในน้ำที่ใช้ต้มหรือน้ำเลือดที่หยดออกมาจากการการย่าง ตรวจพบยาออกโซลินิค แอซิด จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายาออกโซลินิค แอซิด มีการสะสมอยู่ในกระดูกของปลาเป็นเวลานาน ถึงแม้นเนื้อเยื่อจะผ่านการต้มหรือย่างแล้วก็ตาม

เพราะฉะนั้นการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำหรือในสัตว์น้ำควรมีความเข้มงวดมากขึ้น ในสภาวะเช่นนี้ควรจะให้ความรู้ในการใช้ยาที่ถูกต้องแก่เกษตรกร พรเลิศ และชลอ (2533) รายงานว่า ระยะเวลาในการตกค้างของยาขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลาของการใช้ยาและระดับความเข้มข้นของยา ซึ่งการใช้ยาปริมาณ 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 3 วัน จะมีการตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำ 0.2443 ppm และถ้าให้ยานานขึ้นเป็น 7 วัน พบว่ามีการ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตกค้างของยาในเนื้อเยื่อมากขึ้น เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของยาเป็น 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม การตกค้างของยาในเนื้อเยื่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 0.8725 และ 0.8844 ppm ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Limpoka *et al.* (1993) ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับการตกค้างของออกซี่เตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำขนาด 30 – 40 กรัม โดยให้อาหารผสมยาในอัตรา 2.5 และ 5 กรัม/1 กิโลกรัม ที่อุณหภูมิ 28 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการตกค้างยานาน 4 และ 11 วัน

กมลพร และ สุปราณี (2539) แนะนำให้ใช้ยาในการรักษาโรคปลา ในอัตรา 2 – 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม กินติดต่อกัน 3 –5 วัน ส่วนในกุ้งกุลาดำนั้นเกษตรกรนิยมใช้ยา 1 – 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แต่ปริมาณยาดังกล่าวให้ผลในการรักษาในปริมาณต่ำ เกษตรกรจึงมักเพิ่มปริมาณยาเป็น 5 – 10 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แต่ยังไม่สามารถรักษาโรคได้ ก็จะจับขายทันทีทำให้มีปริมาณยาตกค้างในสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้น ชะลอ (2534)

นอกจากนี้ระยะเวลาในการกำจัดยาออกโซลินิค แอซิด ออกจากตัวกุ้งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำด้วย ในสภาพอุณหภูมิสูงกุ้งสามารถกำจัดยาออกจากร่างกายได้เร็วขึ้น แต่ในสภาพอุณหภูมิของน้ำต่ำสามารถกำจัดยาออกจากร่างกายได้ช้าลง Goebbels (1991) จากการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งในพื้นที่จังหวัดสงขลา ระหว่างปี พ.ศ. 2533 – 2535 ของ คณิต และคณะ (2535) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 28 – 32 °C ดังนั้นการให้ยากับกุ้งในบ่อเลี้ยงกุ้งจึงน่าจะใช้ระยะเวลาในการกำจัดยาออกจากตัวหมด สั้นกว่าการทดลองในครั้งนี้ ซึ่งมีอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 27- 29 °C

ข้อเสนอแนะ

1. เน้นการประชาสัมพันธ์ให้เกษตรเข้าใจและตระหนักในความสำคัญของการเลี้ยงที่มีการใช้ยาหรือสารเคมีอย่างถูกต้อง
2. นักวิชาการควรมีความรอบรู้ และเข้าใจเกี่ยวกับการใช้ยาและสารต่างๆ ทั้งประโยชน์ โทษ ประสิทธภาพของยาแต่ชนิด ตลอดจนกฎระเบียบต่างๆ
3. นักวิชาการโรคสัตว์น้ำควรเน้นการวิเคราะห์ วิจัย การใช้ยาในปริมาณและชนิดที่เหมาะสมเพื่อการรักษาที่มีประสิทธภาพให้มากขึ้น และเพื่อให้การตกค้างของสารปฏิชีวนะในกุ้งกุลาดำลดจำนวนลง
4. ศึกษาตรวจสอบวิธีการตรวจสอบยาปฏิชีวะนะเพื่อนำวิธีการที่มีความถูกต้องแม่นยำที่สุดมาตรวจสอบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. ควรมีการตรวจสอบการใช้ยาของกุ้งกุลาดำในช่วงอายุ 1 - 2 เดือนด้วย เนื่องจากช่วงอายุดังกล่าวเป็นช่วงที่เสี่ยงต่อการเกิดโรค พร้อมทั้งการตรวจสอบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในดินของบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วย
6. การควบคุมชนิดยาที่เสนอขายอย่างแพร่หลายโดยที่ไม่มีการจดทะเบียนอย่างจริงจัง ต้องควบคุมพนักงานขายยาของบริษัทขายยาที่มีอยู่จำนวนมาก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

เอกสารอ้างอิง

กนกพรรณ ศรีมโนภาษ. 2538. การตรวจวิเคราะห์สารปฏิชีวนะตกค้างโดยวิธีทางจุลชีวะ. กองควบคุมตรวจสอบคุณภาพสัตว์น้ำ กรมประมง. (เอกสารโรเนียว)

กมลพร ทองอุไร และสุปราณี ชินบุตร. 2539. การป้องกันและกำจัดโรคปลา. เอกสารแนะนำ กองส่งเสริมการประมง, กรมประมง. 30 หน้า

กาญจณา พยุหะ. 2535. การตกค้างของออกโซลินิค แอซิค ในกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 135 หน้า

กาญจณา พยุหะ, ชลอ ลิ้มสุวรรณ, สุปราณี ชินบุตร และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2536. การตกค้างของออกโซลินิด แอซิด ในกุ้งกุลาดำ. รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 451 – 459.

กรมประมง. มปป. การใช้ยาและเคมีภัณฑ์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. เกกสารเผยแพร่ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 49 หน้า

คณิต ไชยาคำ, พุทธิ ส่องแสงจินดา และดุสิต ตันวิไลย. 2535. คุณสมบัติน้ำและผลผลิตในการจัดการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา 2 ระบบ ในจังหวัดสงขลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11/2535 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 14 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2528. โรคปลา. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 227 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2531. สาเหตุและกราป้องกันโรคเสี้ยนดำในกุ้งกุลาดำ. รายงานการสัมมนาเรื่องจุดดำในกล้ามเนื้อกุ้งและแนวทางการแก้ไข. กรมประมง, กรุงเทพฯ . 5 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2534. คำภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ฐานเศรษฐกิจ, กรุงเทพ. หน้า 16 - 20

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2535. คำภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ฐานเศรษฐกิจ, กรุงเทพ. 202 หน้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ชำนาญ สุขพันธุ์ และวีรวรรณ ชินอักษร. 2544. ระยะเวลาการตกค้างของออกซีเตตร้าซัยคลิน ในเนื้อกุ้งก้ามกราม. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2544. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง. 14 หน้า.

ธนิฏฐา จงพีร์เพียร,รังสิไชย ทับแก้ว และพัชริดา เหมมัน. 2543. สารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon) จากฟาร์มเลี้ยงทั่วประเทศ ช่วงปีงบประมาณ 2539 – 2542. รายงานโครงการตรวจสอบคุณภาพผลผลิตสัตว์น้ำ กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง 2543. 56 หน้า

ปรัชญา ศรีสวัสดิ์. 2537. กล่าวระหว่างการสัมมนา อาหารกับการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกุ้ง จัดโดยกรมประมง ใน เอกสารกองควบคุมและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ. กรมประมง. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 1. 2537. หน้า 47 – 49

พัฒนี จันทรโรทัย. 2537. แนวทางการใช้เวชภัณฑ์และเคมีสำหรับสัตว์น้ำ. นิตยาสารสัตว์น้ำ ปีที่ 6 ฉบับที่ 61 กันยายน 2537. หน้า 79 - 83

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล และชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2533. การตกค้างของยาปฏิชีวนะออกซีเตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง 44(1) :31 – 33.

มาลินี ลิ้มโภคา. 2525. การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์. โรงพิมพ์จรัลสนิทวงศ์, กรุงเทพฯ. 442 หน้า

มาลินี ลิ้มโภคา. 2540. ยาต้านจุลชีพ. คณะสัตว์แพทย์ศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 710หน้า

มณฑิรา ถาวรยุติการต์ และจิราพร ทองนุ่น. 2543. การตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในดินและเนื้อกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา ปี พ.ศ. 2536 – พ.ศ. 2539. เอกสารวิชาการศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งฉะเชิงเทราฉบับที่ 32/2543. 9 หน้า

ลิลา เรืองแป้น. 2537. ยาต้านจุลชีพ. นิตยาสารสัตว์น้ำ ปีที่ 5 ฉบับที่ 56 เมษายน 2537.หน้า 136 – 139.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สายสมร ลำยอง. 2524. สารปฏิชีวนะตกค้างและปฏิกิริยาการทำลายจุลชีพ. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 87 หน้า

สุภาพรรณ บลิลเลียนเตส. 2538. การตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะ Oxolinic acid และ Oxytetracyclince ด้วยเครื่อง HPLC. กองควบคุมตรวจสอบคุณภาพสัตว์น้ำ, กรมประมง. 3หน้า

สุดา ตัณฑวนิช. 2524. การศึกษาประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะที่มีผลต่อโรคที่กุ้งกุลาดำ. รายงานวิชาการปี 2524. สถานีประมงน้ำกร่อย จังหวัดภูเก็ต กรมประมง. 12 หน้า

สุดา ตัณฑวนิช และฉันทนา แก้วตาปี. 2540. การสำรวจยาปฏิชีวนะและการวิเคราะห์การตกค้างของยาออกซี่เตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำก่อนจับ โดยวิธี HPLC และวิธี Microbiological assay. เอกสารวิชาการศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งภูเก็ต ฉบับที่ 25, กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง,กรมประมง. 17 หน้า

สุภาพรรณ บลิลเลียนเตส. 2538. การตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะ Oxolinic acid และ Oxytetracyclince ด้วยเครื่อง HPLC. กองควบคุมตรวจสอบคุณภาพสัตว์น้ำ, กรมประมง. 3หน้า

สุภาพรรณ บลิลเลียนเตส, สุชาดา มะแส และจามรี ผลชนะ. 2540. การวิเคราะห์ออกซี่เตต้าซัยคลินในเนื้อกุ้ง ด้วยเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับวิธีจุลชีวะ. กองควบคุมและตรวจสอบผลิตภัณฑ์และการแปรรูปสัตว์น้ำ. 17 หน้า

อมรชัย สมเจตน์, สปราณี ชินบุตร และชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2536. การตกค้างของยาออกโซลินิคแอซิด ในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อ. รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 460 – 472.

อมรรัตน์ เสริมวัฒนนกุล และ มะลิ บุณยรัตผลิน. 2539. การพัฒนาคุณภาพอาหารเลี้ยงกุ้งก้ามกรามด้วยวิตามินซี. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2539. กองควบคุมและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ, กรมประมง. 10 หน้า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อาสรา ใจเย็น. 2535. การศึกษาการแพร่กระจายของออกซี่เตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 160 หน้า

Austin, B.,J. Rayment and D. Aldermen. 1983. Control of furunculosis by oxolinic acid. Aquaculture 31 : 101 – 108.

Bayer, R.C. Dananiel. 1987. Safety and efficacy of oxytetracycline for control of gaffkemia in the American lobster (*Homarus americanus*). Fish. Res. 5: 71 – 81

Booth, N. H. 1977. Drug and chemical residues in the edible tissue of animal, pp. 325 – 335. In L. M. Jones, N. H. Booth and L. E. Mac Donald (editors) Veterinary Phamarcology and Therapeutics. The Iowa State University Press, Ames.

Bourguignon, G. J., M. Levitt and R. Sternglanz. 1973. Studies on the mechanisms of action of nalidixic acid. Antimicrob. Agents Chemother. 4 : 479 – 486.

Corliss, J. 1979. Accumulation and depletion of oxytetracycline in juvenile white sheimp (*penaeus setiferus*). Aquaculture 16 : 1 – 6

Edo, T.,M. Sakuma,H. Tamaka, K. Ogisshima and T. Hara. 1973. Application of oxolinic acid as a chemotherapeutic agent against infectious disease in fish. Bull. Jpn. Sci. - Fish. 39 : 173 - 177.

Goebbels, J.H.G. 1991. Residues problems with regard to cultivated fish, pp. 333 – 335. In Problems of Chemotherapy in Aquaculture : From theory to reality. O.I.E., Paris. 405 pp.

Gross, W. A., W. H. Deity and T. M. Cook. 1964. Mechanisms of action of nalidic acid on *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 88 : 1112 - 1118.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Jacobsen, M. D. 1989. Withdrawal times of fresh water ranbow trout *salmo gairdneri* Richardson, after treament with oxolinic acid, oxytetracycline and trimethroprim. J. Fish Dis. 12 : 29 - 39

Limpoka M., P. Chai - Anan, S. Pongsakorn, S. Phongvivat, C. Rongrodejanarak, D. Wongsommart, T. Pung and U. Sittiphuprasert. 1993. Giant prawn (*penaeus monodon*) and antimicrobial drugs : 4. Disposition and residues of oxytetracycline after single intramuscular injection, oraladministration and 5 day on medicated diet. R D&E Project Final Report. 16 pp.

Lunestad, B. T. 1991. Fate and effects of antibacteral agents in aquatics enviroments, pp. 97 – 106. In problems of Chemotherphy in Aquaculture : From Theory to Reality. O.I.E., Paris.

Neussel, H. and G. Linzenmeier. 1973. In vitro Investigations with oxolinic acid, a new chemotherapeutic agent. Chemotherapy 18 : 253 – 236.

Ueno, R.,M. Okumura, Y. Horiguchi and S. Kubota. 1988b. Levels of oxolinic acid in cultured rainbow trout and amago salmon after ural administration. Nippon Suisan Gakkaishi 54(3) : 485 – 489.

Smith, J. 1984. Mutational resistance to 4 – quinolone antibacterial agents. Eur. J. Clin. Microbial. 3 : 347 – 350.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

0613

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ สกุล นางสุธาทิพย์ พัฒนกุล

ภูมิลำนำ จังหวัดพัทลุง

การศึกษา ประถมศึกษา โรงเรียนวัดโคกชะงาย

มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสตรีพัทลุง

ประกาศนียบัตรวิชาชีพ วิทยาลัยประมงสงขลาติณสูลานนท์

ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง วิทยาลัยประมงสงขลาติณสูลานนท์

อุดมศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต วาริชศาสตร์ สาขาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยบูรพา ปีการศึกษา 2544

กำลังศึกษา ศิลปศาสตรบัณฑิต รัฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

สถานที่ทำงาน สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดระยอง ม. 10 ต. ตะพง อ. เมือง จ. ระยอง 21000 โทร. 038 655191, โทรสาร. 038 664583, มือถือ 09 6044387

E-mail poysutatip@chaiyomail.com

Rcas@loxinfo.co.th

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University