



รายงานการวิจัย

การตรวจแยกเชื้อแบคทีเรีย และปรสิตที่ก่อให้เกิดโรคในปลาการ์ตูน

Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria and Parasites of Clownfish.

ภายใต้แผนงานวิจัยเรื่อง

แผนงานวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามน้ำเค็มในกลุ่มปลาการ์ตูน

วรรณภา กสิฤกษ์

เริ่มบริการ

23 มี.ค. 2552

23 มี.ค. 2552

249101

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2547-2548

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ISBN 978-974-384-355-6

การตรวจแยกเชื้อแบคทีเรีย และปรสิตที่ก่อให้เกิดโรคในปลาการ์ตูน

วรรณภา กสิฤกษ์

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียและปรสิตที่ก่อให้เกิดโรคในปลาการ์ตูนทั้งหมด 498 ตัวอย่าง พบสาเหตุที่ทำให้ปลาตายมากที่สุดได้แก่ โรคที่เกิดจากโปรโตซัว คิดเป็นร้อยละ 51.78 รองลงมาพบโรคที่เกิดจากกลุ่มเชื้อแบคทีเรียและรา และโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ 26.58 และ 21.64 ตามลำดับ

โรคที่เกิดจากโปรโตซัว พบว่า โปรโตซัวที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Brooklynella hostilis* คิดเป็นร้อยละ 37.88 รองลงมาพบ โปรโตซัวชนิดอื่นๆ, *Cryptocaryom irritans* และ *Amyloodinium ocellatum* คิดเป็นร้อยละ 26.14, 20.83 และ 15.15 ตามลำดับ

แบคทีเรียที่พบมากที่สุดได้แก่ *Vibrio* sp. คิดเป็นร้อยละ 55.10 รองลงมา ได้แก่ *Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*, *Enterobacter cloacae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Providencia rettgeri* และ *Shewanella putrefaciens* คิดเป็นร้อยละ 22.45, 10.20, 6.12, 2.04, 2.04 และ 2.04 ตามลำดับ

Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria and Parasites of Clownfish.

Wannapa Kasiroek

Institute of Marine Science, Burapha University, Bangsaen, Chonburi, 20131

Abstract

Examined for bacteria and parasites infested of Clownfishes 498 samples, Protozoa group was found in highest number 51.78 %. Bacteria and Fungi group, and other caused group were 26.58% and 21.64 % respectively.

For Protozoa group, *Brooklynella hostilis* was found in highest number 37.88%. Other protozoa, *Cryptocaryom irritans* and *Amyloodinium ocellatum* were found 26.14%, 20.83% and 15.15% respectively.

For Bacteria group, *Vibrio* sp. was found in highest number 55.10%. *Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*, *Enterobacter cloacae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Providencia rettgeri* and *Shewanella putrefaciens* were found 22.45%, 10.20%, 6.12%, 2.04%, 2.04% and 2.04% respectively.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจากงบประมาณแผ่นดิน
มหาวิทยาลัยบูรพาประจำปี 2547-2548 ซึ่งผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างมาก และ
ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยฉบับนี้
สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทนำ	1
การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง	3
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลการทดลอง	14
อภิปรายผล	34
สรุปผล	37
เอกสารอ้างอิง	39
ภาคผนวก	41

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

1 ข้อมูลการตรวจวินิจฉัยโรคปอดอักเสบ

14

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	<i>Amyloodinium ocellatum</i>	18
2	วงจรชีวิตของ <i>Amyloodinium ocellatum</i>	19
3	ลักษณะเชื้อ <i>Brooklynella hostilis</i>	20
4	ลักษณะอาการของโรค Brook	20
5	ลักษณะเชื้อ <i>Cryptocaryon irritans</i>	21
6	ลักษณะอาการของโรคอีก	21
7	วงจรชีวิตของเชื้อ <i>Cryptocaryon irritans</i>	22
8	เห็บระฆังที่พบที่เมือกปลาการ์ตูน	23
9	ลักษณะพยาธิตัวกลม	24
10	ปลาการ์ตูนที่พบพยาธิตัวกลม	24
11	พยาธิตัวแบนที่พบในปลาการ์ตูน	26
12	ลักษณะอาการตกเลือดบริเวณครีบ	29
13	ลักษณะอาการท้องบวม	29
14	ลักษณะอาการตกเลือดบริเวณหาง	29
15	ลักษณะอาการดัมมีสีดำคล้ำ	29
16	ลักษณะอาการดัมมีสีซีด	29
17	ลักษณะอาการรอบทวารบวมแดง	29
18	ลักษณะอาการเกล็ดหลุด	30
19	ลักษณะอาการลำไส้บวม	30
20	ลักษณะของเชื้อรา	31
21	ลักษณะของบาดแผลที่ติดเชื้อรา	31
22	อาการผิดปกติของปลาการ์ตูนที่เกิดมาจากสาเหตุอื่นๆ	32

บทนำ

ปัญหาสำคัญในการเลี้ยงปลาการ์ตูนคือ ปัญหาเรื่องโรคและพยาธิ การเกิดโรคของปลานั้น มีสาเหตุมาจากสภาวะแวดล้อมรอบตัวปลา โดยปกติแล้วปลาที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติมักจะไม่เกิดปัญหา เพราะธรรมชาติมีความเหมาะสมทั้งในแง่คุณภาพน้ำและอาหาร แต่ปลาที่นำมาเลี้ยงในตู้หรือในพื้นที่ที่มีที่จำกัดและเลี้ยงในปริมาณที่หนาแน่นนั้นจะมีปัญหาตามมามากมาย ทั้งนี้เพราะการขาดสมดุลทางธรรมชาติ ทำให้สัตว์น้ำมีความเครียด อ่อนแอและมีโอกาสเป็นโรคสูง ปลาเลี้ยงจึงอ่อนแอและเป็นโรคได้ง่าย สาเหตุเหล่านี้เป็นสาเหตุโน้มนำทำให้ปลาอ่อนแอ เมื่อมีสาเหตุโน้มนำแล้ว สาเหตุที่แท้จริงซึ่งได้แก่ เชื้อโรคต่างๆจะสามารถเข้าสู่ตัวปลาได้ง่ายขึ้น เมื่อปลาที่เลี้ยงไว้มีอาการป่วย โรคจะค่อยๆ แพร่กระจายไปยังปลาตัวอื่นหรือในตู้อื่น โดยสามารถติดต่อกับน้ำที่ถ่ายเทเข้า-ออก ภาชนะของใช้ต่างๆ อาหาร คนหรือสัตว์และระหว่างปลาด้วยกันเอง ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเกิดโรคขึ้นแล้วการแพร่กระจายของโรคจะเป็นไปโดยง่ายและรวดเร็วมาก การรักษาจะไม่มีทันการณ์ เพราะจะทราบว่าปลาเป็นโรคต่อเมื่อเห็นปลาทาย ซึ่งแสดงว่าโรคได้รุนแรงแล้ว ดังนั้นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมโรคคือ การป้องกัน โดยพยายามลดโอกาส หรือกำจัดสาเหตุออกไปเพื่อปลาจะได้แข็งแรงและมีภูมิคุ้มกันโรคได้ ดังนั้นการศึกษาปัญหาทางด้านโรคและพยาธิของปลาการ์ตูนจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและรักษาโรคและพยาธิ ซึ่งผลของการศึกษาจะเป็นประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนต่อไป

ปัญหาสุขภาพของสัตว์น้ำที่เป็นหลักคือ พาราไซท์ รา และการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยปกติในน้ำเราจะสามารถพบแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก ทำให้ปลาเกือบจะทุกตัวมีพาราไซท์ตัวเล็กๆเกาะอยู่ และเชื้อเหล่านี้จะพยายามเข้าไปทำลายระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเชื้อจะเข้าไปทำลายระบบภูมิคุ้มกันสำเร็จได้นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม อาหาร ความหนาแน่น และคุณภาพน้ำที่ไม่ดี ปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลให้สัตว์น้ำเกิดอาการเครียด และความเครียดจะไปกดดันระบบภูมิคุ้มกันของปลา สภาพต่างๆที่กล่าวมานี้จะยิ่งไปส่งเสริมการเกิดโรคได้จากเชื้อที่ฉวยโอกาส ยังมีปัญหาด้านสุขภาพอีกมากมายที่อยู่นอกเหนือการควบคุมและการรักษา ดังนั้นการป้องกันการเกิดโรคดีกว่าและถูกกว่าการรักษาโรคซึ่งได้เกิดขึ้นแล้ว

ปลาการ์ตูนเป็นปลาที่ถูกจัดอยู่ในครอบครัว Pomacentridae (สุภาพร, 2543) ปลาการ์ตูนที่พบในน่านน้ำไทยมี 7 ชนิด แบ่งเป็นฝั่งอันดามัน 5 ชนิด ได้แก่ ปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนอินเดียน ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนลายปล้องหางเหลือ และปลาการ์ตูนแดงดำ ส่วนปลาการ์ตูนที่พบในอ่าวไทยมี 2 ชนิด คือ ปลาการ์ตูนหลังอาน และปลาการ์ตูนอินเดียนแดง (อุ้นจิต, 2537) สามารถพบปลาการ์ตูนได้ทั้งในที่ตื้นและที่ลึก จากการที่ปลาการ์ตูนแต่ละชนิดมีรูปแบบสีที่

เป็นเอกลักษณ์ มีความสวยงาม และเป็นปลาที่อาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลตลอดเวลา ซึ่งเป็นพฤติกรรมที่น่าสนใจอันแสดงถึงวิวัฒนาการของธรรมชาติ มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพา จึงเป็นที่นิยมนำเอามาเลี้ยงไว้เพื่อความสวยงาม หรือเพื่อศึกษาในแบบปลาตู้ แต่ปัญหาหนึ่งที่ประสบในการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนคือโรคที่เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยง นั่นคือเมื่อเกิดโรคขึ้นแล้วมักจะไม่สามารถแก้ไขและรักษาได้ทัน และบ่อยครั้งที่เมื่อมีโรคเกิดขึ้นก็จะเกิดการระบาดทำให้เกิดความเสียหายได้

จะเห็นได้ว่าการเกิดโรคของปลาการ์ตูนนั้นเกิดมาจากหลายสาเหตุ และมักมีอาการที่แตกต่างกันออกไป โดยขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ การดูแล และการจัดการอื่นๆ ดังนั้นการจะนำปลาการ์ตูนมาเลี้ยงควรต้องศึกษาถึงพฤติกรรมของปลาการ์ตูน และควรพิจารณาปัจจัยแวดล้อมให้ดีและเหมาะสมกับปลาการ์ตูนให้มากที่สุดเพื่อไม่ให้เกิดโรค เพราะหากปล่อยให้เกิดโรคแล้วทางแก้ไขจะมีโอกาสทำได้น้อย การจะรักษาโรคได้ก็จำเป็นต้องมีการวินิจฉัยและวิเคราะห์ที่มาของโรคด้วยการตรวจสอบเพื่อหาสาเหตุ ศึกษาอาการที่เกิดขึ้นก่อนตาย และหาทางที่จะรักษาต่อไป ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษาเพื่อวินิจฉัยสาเหตุการตายของปลาการ์ตูนเพื่อหาทางป้องกันและรักษาโรคของปลาการ์ตูนที่เกิดขึ้น และนำไปพัฒนาการรักษาโรคต่อไป

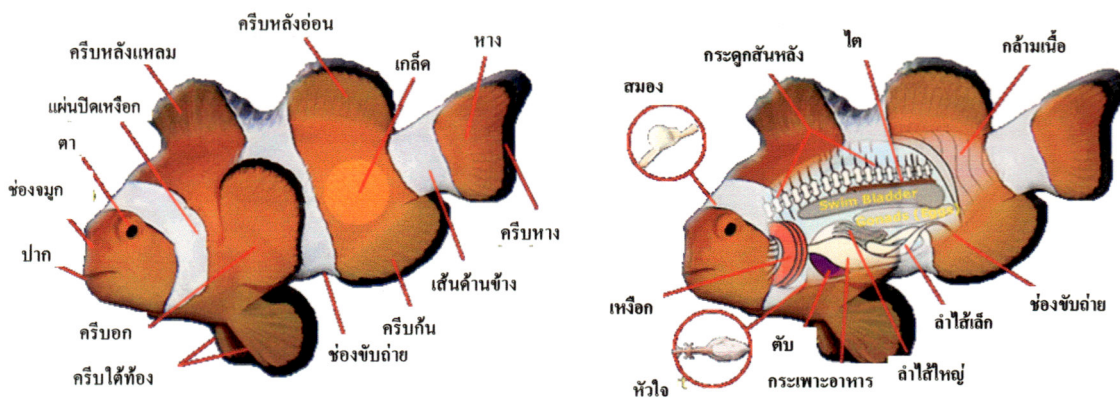
การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ชีววิทยาทั่วไปของปลาการ์ตูน

ปลาการ์ตูนเป็นปลาที่ถูกจัดอยู่ในครอบครัว Pomacentridae ปลาการ์ตูนที่พบทั่วโลกมีอยู่ 2 สกุล คือ *Premnas* และ *Amphiprion* ทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันที่ปลาในสกุล *Premnas* มีหนามที่แผ่นปิดเหงือก (opercular spine) ในขณะที่ปลาการ์ตูนสกุล *Amphiprion* ไม่มีหนามอันนี้ *Premnas* มีสมาชิกเพียงตัวเดียวในสกุลนี้ (Monotypic Genus) คือ *spinecheek anemonefish*, *Premnas biaculeatus* ในโลกนี้มีพันธุ์ปลาการ์ตูนอยู่ทั้งหมดรวม 28 species ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Amphiprion* (นิรนาม¹, 2549) ปลาการ์ตูนพบได้เฉพาะในเขตมหาสมุทรอินเดีย และมหาสมุทรแปซิฟิกบางส่วน ในธรรมชาติปลาการ์ตูนจะอยู่ไม่ได้ถ้าปราศจากดอกไม้ทะเล ดังนั้นเราจะพบปลาการ์ตูนได้ก็ต่อเมื่อได้พบดอกไม้ทะเลเท่านั้น แม้ว่าดอกไม้ทะเลจะมีเข็มพิษแต่กลับไม่ทำอันตรายต่อปลาการ์ตูน ทำให้ปลาการ์ตูนอาศัยอยู่อย่างปลอดภัยในดอกไม้ทะเล จากการสำรวจพบว่าปลาการ์ตูนแต่ละชนิดจะจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของดอกไม้ทะเลที่จะอาศัยอยู่ด้วย แต่ก็มีปลาการ์ตูนอีกหลายชนิดที่สามารถอาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลได้หลายชนิด

ปลาการ์ตูนแต่ละชนิดจะมีรูปแบบสีที่เป็นเอกลักษณ์ ซึ่งปกติจะประกอบไปด้วยสีส้ม แดง ดำ เหลือง และส่วนใหญ่จะมีแถบสีขาวพาดขวางลำตัว 1-3 แถบ ซึ่งถือเป็นเอกลักษณ์ของปลาการ์ตูนก็ได้ อย่างไรก็ตามแม้จะเป็นปลาการ์ตูนชนิดเดียวกันแต่ก็จะมีส่วนที่มีสีแตกต่างกันอยู่เสมอ ซึ่งน่าจะเป็นส่วนที่ทำให้ปลาการ์ตูนจำคู่ของมันได้ นอกจากนั้นปลาที่อาศัยต่างสถานที่กันอาจมีสีที่แตกต่างกันได้เรียกว่าความผันแปรของสี (color variation) โดยปกติปลาการ์ตูนจะอยู่กันเป็นคู่ๆ และอาจมีปลานขนาดเล็กอาศัยรวมอยู่ด้วย แต่ในดอกไม้ทะเลดอกหนึ่ง จะมีปลาตัวผู้และตัวเมียอย่างละตัวเท่านั้น ปลาตัวเมียจะมีขนาดโตกว่าตัวผู้และตัวอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด และทำหน้าที่เป็นผู้นำ คอยปกป้องอาณาเขตที่เป็นที่อาศัยของมัน ถ้าปลาตัวเมียตายไป จะมีปลาตัวใหม่เจริญเติบโตขึ้นมาอย่างรวดเร็วและกลายเป็นตัวเมียแทน หรือหมายความว่า ปลาการ์ตูนสามารถเปลี่ยนเพศจากเพศผู้เป็นเพศเมียได้ Allen (1997) กล่าวว่า ปลาการ์ตูนจะวางไข่เดือนละ 2 ครั้ง ครั้งละ 500-100 ฟอง บริเวณฐานของดอกไม้ทะเล ซึ่งมีหนวดของดอกไม้ทะเลปกคลุม ทำให้ไข่มีความปลอดภัย พ่อปลาจะคอยดูแลไข่ หลังจากนั้น 6-7 วัน ไข่จะฟักเป็นตัวและล่องลอยไปตามน้ำ ใช้ระยะเวลา 1-2 สัปดาห์ จากนั้นปลาต้องหาดอกไม้ทะเลเพื่อเป็นที่อยู่ ไมอย่างนั้นปลาจะตายเนื่องจากอดอาหารหรือถูกกิน (ไพบูลย์ และคณะ, 2545)

สรีรวิทยาปลาการ์ตูน



(ดัดแปลงมาจาก www.saltwater-aquarium-guide.com, 2005)

โรคที่พบในปลาการ์ตูน

การที่นำปลาทะเลมาเลี้ยงในที่ที่จำกัดนั้น สิ่งหนึ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้คือการเกิดโรค และก่อนที่จะรักษาโรคปลาทะเลนั้นเราควรจะต้องรู้ถึงสาเหตุที่จริงเสียก่อน การติดโรคในปลาสวยงามไม่ว่าจะเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ หรือโรคที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการจัดการคุณภาพน้ำ มักมีสาเหตุอื่นๆ โน้มนำทำให้ปลาอ่อนแอก่อน แล้วเชื้อโรคที่อาจจะมียู่แล้วในน้ำเข้าแทรกซ้อนทำให้ปลาเป็นโรค ดังนั้นในการวินิจฉัยและรักษาโรคในปลาสวยงามจึงจำเป็นต้องซักประวัติการเลี้ยงและพิจารณาถึงปัจจัยต่างๆ ที่อาจโน้มนำทำให้ปลาเป็นโรคได้

การนำปลาใหม่เข้ามาเลี้ยงอาจเป็นการนำพาหะของโรคเข้ามาสู่ปลาที่เลี้ยงอยู่ก่อน ปลาใหม่ที่ซื้อจากร้านขายปลามักเป็นพาหะนำโรคเนื่องจากปลาเหล่านี้มาจากแหล่งปลาต่างๆ กันนำมาอยู่รวมกันชั่วคราวเพื่อจำหน่ายปลีก ปลาเหล่านี้จึงมักมีสุขภาพอ่อนแอ ซึ่งเกิดจากการจัดการไม่เหมาะสม เช่น การย้ายที่อยู่การเลี้ยงอย่างหนาแน่น หรือติดเชื้อจากปลาอื่นๆ ที่นำมารวมกัน ดังนั้นในการนำปลาใหม่เข้ามาเลี้ยงควรมีการเตรียมน้ำและอุปกรณ์ต่างๆ ให้พร้อม คุณภาพน้ำควรใกล้เคียงจากแหล่งที่ซื้อปลามา เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และควรแยกเลี้ยงพร้อมกับให้ยาฆ่าพยาธิแก่ปลาจนแน่ใจว่าปลาใหม่มีสุขภาพแข็งแรงแล้วจึงนำมาปล่อยในตู้ร่วมกับปลาที่มีอยู่ก่อนแล้ว การจัดการไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการไม่เปลี่ยนถ่ายน้ำตามกำหนด ทำให้มีแก๊สแอมโมเนียหรือไนไตรท์ในน้ำมากเกินไป ซึ่งเป็นพิษต่อสุขภาพปลา การเลี้ยงปลาหนาแน่นเกินไป หรือการเลี้ยงปลาต่างชนิดกันจำนวนมากในตู้เดียวกัน ทำให้ปลากัดกันเกิดบาดแผลและติดเชื้อ

แทรกซ้อนได้ การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอย่างรวดเร็วทำให้ปลาเกิดความเครียด มักจะพบว่าปลาป่วยหลังฝนตก ซึ่งทำให้มีการเปลี่ยนของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างของน้ำ หรือปลาแสดงอาการป่วยหลังจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำมากเกินไป ปลาไม่สามารถปรับตัวเข้ากับน้ำใหม่ได้ทันหรือทำให้ปลาตกใจ อาหารก็มีส่วนทำให้ปลาเป็นโรคได้ โดยเฉพาะอาหารที่มีคุณภาพหรือปริมาณไม่เหมาะสม เช่น มีไขมันมากเกินไป ทำให้ปลามีการสะสมของไขมันบริเวณช่องท้องและในตับ หรือการขาดวิตามินทำให้ปลามีรูปร่างและสีผิวผิดปกติ อาหารสดก็เป็นอาหารอีกประเภทหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่อาจเป็นพาหะนำโรคมารู้ปลาทะเลได้ ส่วนสาเหตุที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือพวกสารพิษที่ปนเปื้อนมากับน้ำ ซึ่งอาจมีผลต่อสุขภาพปลาโดยตรงแบบเฉียบพลันหรือเรื้อรัง หากปลาได้รับสารพิษในปริมาณมากๆ จะทำให้เกิดการตายอย่างเฉียบพลันจำนวนมาก ปลาได้สัมผัสกับสารพิษปริมาณน้อยๆ วันจะทำให้ปลาอ่อนแอ อาจแสดงอาการเนื้องอกทางผิวหนัง ตาขุ่นขาว ภูมิคุ้มกันต่ำ โรคน้อยลง และมีโรคแทรกซ้อนได้ง่ายขึ้น

Wilkerson (1998), Prescott (1997) ได้กล่าวถึงโรคที่พบเห็นในปลาการ์ตูน ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจาก

1. พยาธิภายนอก อันได้แก่

- โรคอิกน้ำเค็ม (Saltwater Ich) เป็นโรคที่เกิดจากโปรโตซัว *Cryptocaryon irritans* เป็นโปรโตซัวอยู่ในสกุล *Ichthyophthirius* ครอบครัวย่อย *Ophryoglenidae* อันดับ *Hymenostomatida* ชั้น *Ciliata* โปรโตซัวชนิดนี้จะกินเซลล์ผิวหนังของปลาเป็นอาหาร มีรูปร่างกลมรี หรือรูปไข่คล้ายกับอิกน้ำจืด (*Ichthyophthirius multifiliis*) แต่มีขนาดเล็กกว่า มีขนรอบตัวใช้ในการเคลื่อนที่ โดยจะเคลื่อนไปในลักษณะของการหมุนรอบตัวเองไปด้วย เมื่อเข้าเกาะปลาจะฝังตัวเข้าไปอยู่ใต้ผิวหนัง ระหว่างชั้นเยื่อคลุมผิวกับชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เจริญเป็นตัวเต็มวัย ปลาจะสร้างเซลล์ผิวหนังชั้นนอกเพิ่มมากขึ้นจนหุ้มปรสิตรหมด ทำให้บริเวณที่อิกเข้าเกาะนั้นเกิดเป็นจุดขาว ๆ ขึ้นจึงเรียกว่าโรคจุดขาว อิกอาศัยของเหลวจากเนื้อเยื่อเข้าบ้าน บริเวณที่มันฝังตัวอยู่เป็นอาหาร หลังจากอาศัยเจริญเติบโตภายใต้ผิวหนังของปลาระยะหนึ่ง จนเมื่อถึงระยะสืบพันธุ์ ตัวเต็มวัยก็จะออกจากตัวปลา และว่ายน้ำเป็นอิสระโดยใช้ขนช่วยชั่วระยะเวลาหนึ่ง และจะพยายามเข้าเกาะกับวัตถุในน้ำแล้วสร้างเกราะหุ้มตัวติดอยู่กับวัตถุในน้ำ ผนังเกราะของอิกน้ำเค็มจะหนากว่าอิกน้ำจืด ภายในเกราะจะมีการแบ่งตัวของนิวเคลียสจนได้ตัวอ่อนจำนวนมาก นิวเคลียสของอิกน้ำเค็มจะต่างจากอิกน้ำจืด โดยอิกน้ำจืดจะมีนิวเคลียสใหญ่รูปเกือกม้า แต่อิกน้ำเค็มไม่มีนิวเคลียสเป็นรูปเกือกม้า ตัวอ่อนมีรูปร่างกลมมีขนรอบตัว ต่อมาจะเจาะผนังเกราะออกมาว่ายน้ำเป็นอิสระ ถ้าหาปลาเกาะไม่ได้ ภายใน 33-48 ชั่วโมงจะตาย แต่เมื่อพบปลาและเข้าเกาะปลาได้แล้ว มันจะเจาะแทงผิวหนังปลาเข้า

ไปจนถึงเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพื่ออาศัยดำรงชีวิตอยู่ต่อไปในบริเวณนั้น อีกทั้งแบ่งตัวเจริญรวดเร็ว ในที่มีออกซิเจนมาก อุณหภูมิของน้ำที่เหมาะสมในการเจริญ 25 – 26 องศาเซลเซียส อีกทั้งสามารถแพร่กระจายจากปลาตัวหนึ่งไปสู่ปลาอีกตัวได้ง่ายและรวดเร็ว ลักษณะของโรคที่สังเกตได้คือ พบเป็นจุดสีขาวที่บริเวณลำตัว ซึ่งสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า อีกมักจะเกิดขึ้นกับปลาการ์ตูนที่อยู่ในภาวะเครียด การรักษาโรคอีกในปลาการ์ตูนนั้นรักษาได้ดีโดยการลดความเค็มให้เหลือ 15 ppt เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 6 วัน

- **บรูคไคเนลลา (Brooklynella)** หรือเรียกว่าโรคปลาการ์ตูน (clownfish disease) เกิดจากโปรโตซัว *Brooklynella hostilis* อาการที่พบจะเห็นเป็นเมือกสีขาวขุ่นหนาปกคลุมตัวปลา หายใจเร็ว หอบ สีลำตัวซีดจาง บางครั้งอาจนอนอยู่ก้นตู้บางครั้งอาจว่ายอยู่บนผิวน้ำ การรักษาโดยจุ่มลงในน้ำจืด 15 นาที

- **Amyloodinium** หรือเรียกว่า โรคเวลเวท (velvet disease) เกิดจากโปรโตซัว *Amyloodinium ocellatum* เป็นโปรโตซัวอยู่ในสกุล Oodinium อันดับ Dinoflagellate ชั้น Flagellata โปรโตซัวชนิดนี้จะกินอาหารตามลำตัวปลา มีรูปร่างกลมหรือทรงกรวย มีก้านสั้นๆ มีนิวเคลียสใหญ่ 1 อัน ระยะที่เป็นปรสิตจะมีไซโตพลาสซึม โปรเซส (cytoplasmic process) ยึดเกาะตามลำตัวเหงือกปลา ดูกินอาหารจากเจ้าบ้าน เจริญเติบโตอยู่บริเวณนั้นจนเข้าระยะสืบพันธุ์ จะหลุดออกจากบริเวณที่เกาะ ตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนของไซโตพลาสซึม โปรเซส และ แฟลกเจลลา (flagella) จะหดเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ และมีเซลล์โฮสต์มาปิดรูที่ไซโตพลาสซึม โปรเซส และแฟลกเจลล่ายื่นออกมา ภายในเซลล์จะมีการแบ่งตัวเป็น 2 เซลล์ แต่ละเซลล์จะแบ่งตัวเป็นทวิคูณ ต่อมาเมื่อผนังเซลล์แตกตัวอ่อนจะหลุดออกมาว่ายน้ำไปหาที่เกาะ โรคเวลเวทนี้เป็นโรคที่สังเกตเห็นได้ยากมาก เพราะมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า นอกจากจะเป็นถึงขั้นรุนแรงแล้ว โดยระยะที่รุนแรงคือระยะที่มีการแบ่งตัวซึ่งมันจะแบ่งตัวได้เป็นทวิคูณในเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งเมื่อถึงระยะนี้แล้วเราถึงจะสังเกตเห็นเป็นกลุ่มสีน้ำตาลอ่อนหรือสีขาวขุ่นอยู่บนลำตัวปลา การรักษา ใช้คอปเปอร์ 0.20 มิลลิกรัม/ลิตร

2. โรคที่เกิดจากพยาธิ ได้แก่

- หนอนตัวกลม

หนอนตัวกลมที่ตัวไม่เป็นปล้อง หรือเรียกว่าพวกนีมาโทด อยู่ในไฟลัม *Nematoda* มีขนาดต่างกันมากมาย ตั้งแต่ขนาดเล็กมองด้วยตาเปล่าไม่เห็นต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไปจนถึงขนาดใหญ่ยาวเป็นเมตร มีทั้งที่เป็นอิสระ และพวกที่เป็นปรสิต ซึ่งมีทั้งที่เป็นปรสิตภายนอกและภายใน ซึ่งมีทั้งที่เป็นอันตรายและไม่เป็นอันตรายกับเจ้าบ้าน ลักษณะทั่วไปของนีมาโทด เป็นหนอนตัวกลมรูปทรงกระบอกเพรียวยาว หัวท้ายแหลม ลำตัวปกคลุมด้วยเยื่อคลุม ซึ่งเป็นสารพวก

hyaline ถัดไปชั้นใน subcuticula ที่อ่อนนุ่มจะมีกล้ามเนื้อตามยาวชั้นเดียวเรียงอยู่เป็นผนังช่องว่างในตัว ช่องว่างในตัวใหญ่ไม่มีผนังกัน ไม่มีอวัยวะเกี่ยวกับการหมุนเวียนโลหิตหรือการหายใจ ใช้ผิวหนังเป็นตัวดูดซึมและแลกเปลี่ยนก๊าซ มีเส้นประสาทเป็นวงแหวน ล้อมรอบส่วนของหลอดอาหารไว้ นอกจากนี้มีพวกอวัยวะรับสัมผัสได้แก่พวกคิงแพพพิล (papillae) อยู่ตามบริเวณริมฝีปาก หัวหรือใกล้กับทวารหนักตัวผู้ การขับถ่ายของเสียจะมีท่อยาวรูปทรงกระบอกรับของเสียจากอวัยวะต่างๆ รวมกันส่งออกนอกตัวทางช่องเปิดเอคคริโตรี พอร์ ซึ่งส่วนใหญ่จะมีอยู่อันเดียวอยู่บริเวณตรงกลางตัวด้านท้องใกล้กับส่วนกลางของหลอดอาหาร บางชนิดส่วนน้อยมีเอคคริโตรี พอร์ 2 อัน หรือไม่มีเลย ระบบย่อยอาหาร เป็นแบบสมบูรณ์ มีท่อยาวเริ่มต้นจากทางด้านหน้าสุดของตัวเป็นส่วนของปากและไปสิ้นสุดที่ทวารหนัก ซึ่งอยู่ด้านท้องใกล้กับปลายสุดตัว หรือบางชนิดอยู่ปลายสุดตัวเลย ที่ส่วนของปากอาจมีริมฝีปาก หรือมีติ่งที่ไวต่อการสัมผัส บางชนิดส่วนของปากจะมีฟันพวกสารโคตินสำหรับขบเคี้ยว และฉีกเนื้อเยื่อของเจ้าบ้าน ถัดจากปากเป็นช่องปาก อาจเป็นต่อธรรมคาหรือเป็นรูปกรวย บางชนิดจะพองเป็นรูปถ้วย ปากอ้าไม่ปิดทำหน้าที่เป็นอวัยวะสำหรับดูดเกาะ หรือบางชนิดช่องปากมีสารโคตินประกอบขึ้นเป็นกระเปาะเรียก buccal capsule จะเห็นเป็นสีน้ำตาล ซึ่งบางชนิด buccal capsule จะมีสันอยู่ด้วย ลักษณะและจำนวนของสันบนช่องปากนี้ใช้เป็นลักษณะอย่างหนึ่งในการจำแนกชนิดของนิมาโทดได้ ต่อจากช่องปากเป็นหลอดอาหารยาว บางชนิดจะพองเป็นกระเปาะหรือโป่งเป็น 2 ตอน และมีลิ้นกลั่นแบ่งเป็น 2 ส่วน หรือไม่มีลิ้นกัน บางชนิดหลอดอาหารแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหน้าเป็นกล้ามเนื้อ เรียกว่า หลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อ ส่วนหลังเป็นต่อมเรียก หลอดอาหารส่วนต่อม จากหลอดอาหารจะนำไปสู่ลำไส้ ซึ่งเป็นท่อแบนเล็กน้อยและมีช่องใหญ่ในตัวเมียจากลำไส้จะเรียวยาวแคบเข้าสู่เรคตัมและออกสู่ทวารหนัก ส่วนในตัวผู้มีท่อนำอสุจิเปิดทางด้านท้ายของลำไส้ และรวมกันเป็นโคเอกา และออกสู่ทวารหนัก ส่วนของลำไส้ในนิมาโทดบางชนิด นอกจากให้อาหารผ่านและมีการย่อยและดูดซึมแล้ว ยังใช้เป็นที่ดูดซึมของเสียต่างๆ และขับออกนอกตัวทางทวารหนัก ซึ่งจะพบในพวกไม่มีระบบขับถ่ายของเสีย ระบบสืบพันธุ์ เป็นพวกมีเพศแยกกันคนละตัว ตัวผู้มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย ตัวผู้มีถุงอัณฑะ 1 อัน ปลายหางโค้งเป็นเกลียวคล้ายเส้นด้ายนำไปสู่ท่อนำอสุจิ และต่อไปยังถุงพักอสุจิ และต่อกับท่อ ejaculatory ที่ยาวมากไปเปิดออกที่โคเอกา และออกนอกตัวทางทวารหนัก นอกจากนี้ยังมีอวัยวะช่วยในการสืบพันธุ์ เช่น spicule เป็นเส้นยาวเหยียดออกและหดกลับเข้ามาเก็บภายในได้ อยู่ตรงบริเวณช่องเปิดของทวาร และยังมีอวัยวะกลมๆ เป็นตุ่ม 1 คู่ อยู่ที่ปากทวารหนัก คือ gubernaculums และยังมีพวกอวัยวะรับสัมผัสพวกคิงแพพพิลบริเวณท้ายตัว ถ้าอยู่ก่อนทวารหนักก็เรียกว่า pre anal papillae หรือ pre cloacal papillae และถ้าอยู่หลังทวารหนักก็เรียกว่า post anal papillae หรือ post cloacal papillae ในบางชนิดมีอวัยวะช่วยในการผสมพันธุ์ เรียกว่า โคพูลาโตรี เบอร์ซา แผ่กว้างอยู่ท้ายตัว และจะมีซี่ (ray) ช่วยค้ำจุน

เบอร์ซาอีกทีหนึ่ง ตัวเมียจะมีรังไข่ 1 หรือ 2 อัน แต่ปกติมี 1 คู่ มีท่อนำไข่นำไปสู่ถุงรับน้ำเชื้ออสุจิ แล้วเข้ามาคลุกต่อจากมดลูกจะมีท่อส่งไข่ที่ผสมแล้วนำไปสู่ช่องคลอด และออกนอกตัวทางรูทวาร ซึ่ง เป็นช่องเปิดเล็ก ๆ อยู่ทางผิวหนังด้านท้องอยู่ก่อนทวารหนัก ตัวผู้จะมีช่องเปิดสู่ภายนอกทางเดียวคือ ทวารหนัก ซึ่งเป็นช่องออกของอสุจิและกากอาหาร และรูทวารเป็นช่องเปิดของไข่หรือตัวอ่อน อสุจิ มีลักษณะกลมเคลื่อนที่แบบอะมีบา ในบางชนิดอสุจิจะไม่เกิดในตัวผู้ แต่จะพบเจริญอยู่ในตัวเมีย เกิดจาเซลล์แม่ซึ่งผ่านเข้าไปในตัวเมียในขณะที่มีการจับคู่ผสมพันธุ์กัน การผสมพันธุ์ของนีมาโทด เป็นแบบภายใน ไข่มีขนาดเล็กมาก มีเปลือกหุ้ม เจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนมีการลอกคราบหลายครั้ง ได้ตัวอ่อนหลายระยะ ส่วนมากออกลูกเป็นตัว คือไข่ไม่มีเปลือกหุ้มพิเศษ และฟักเป็นตัวอ่อนภายใน ตัวแม่ ตัวอ่อนได้รับอาหารจากต่อมไข่แดงในตัวแม่ และเจริญอยู่ในส่วนท่อนำไข่ที่เปลี่ยนแปลงไป ทำหน้าที่คล้ายมดลูก บางชนิดออกลูกเป็นไข่ คือออกไข่แล้วฟักเป็นตัวนอกตัวแม่ ไม่มีการสืบพันธุ์ แบบไม่มีเพศเลย ตัวอ่อนของนีมาโทดมีการลอกคราบหลายครั้ง ก่อนที่จะเป็นตัวเต็มวัย โดยเฉพาะ พวกที่เป็นปรสิต จะต้องมีการลอกคราบอย่างน้อย 4 ครั้ง ในชั่วชีวิตหนึ่งๆ ตัวอ่อนมีชื่อเรียกต่าง ๆ กันไป (ประไพศิริ, 2546)

- หนอนตัวแบน

หนอนตัวแบนเป็นหนอนที่มีรูปร่างแบนลำตัวซีกซ้ายขวาเหมือนกัน มีรูปร่างต่าง ๆ กันออกไป มีตั้งแต่ขนาดตัวสั้นไปจนถึงขนาดตัวยาวเป็นริบบิ้น ภายในตัวไม่มีช่องว่าง ไม่มีทวารหนักสำหรับขับการอาหาร ไม่มีระบบหมุนเวียนโลหิต ไม่มีระบบแลกเปลี่ยนก๊าซ ไม่มีระบบ โครงสร้าง ระบบขับถ่ายของเสียประกอบด้วย flame cells รวบรวมของเสียส่งผ่านทางท่อและขับ ออกนอกตัวทางรูขับถ่ายของเสีย (excretory pore) มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน พวกพารენไคมา (parenchyma) ซึ่งมีลักษณะคล้ายฟองน้ำยึดอยู่ระหว่างระบบอวัยวะต่างๆ ภายในตัว ระบบย่อยอาหารไม่สมบูรณ์ มีปากและไม่มีทวารหนัก พวกหนอนตัวแบนมีทั้งที่มีชีวิตอยู่อย่างอิสระ อยู่ร่วมกันโดยไม่ทำให้ฝ่ายใดเสียประโยชน์ และพวกที่เป็นปรสิต ไฟลัมนี้แบ่งออกเป็น 3 ชั้น แต่ชั้น ที่เป็นปรสิตทั้งหมด ได้แก่ ชั้น Trematoda หรือเรียกว่า พวกทริมาโทด (Trematode) พบเป็นทั้ง ปรสิตภายนอก และปรสิตภายใน เป็นพวกที่มีระบบย่อยอาหาร แต่ไม่มีเนื้อเยื่อชั้นนอก ตัวปกคลุม ด้วยชั้นเยื่อผิวหนัง (cuticle) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นกลาง ผิวตัวเรียบไม่มีขนปกคลุม ชั้นนี้จะแบ่งเป็น 3 อันดับ อันดับแรก โมโนจีเนีย (Order Monogenea) ได้แก่ พวกโมโนจีนิค (monogeneids) หรือ เรียกว่า โมโนจีน พบเป็นปรสิตภายนอก หรือปรสิตภายในของพวกสัตว์มีกระดูกสันหลังเลือดเย็น ส่วนมากแล้วเป็นปรสิตภายนอก เกาะตามผิวหนัง เหงือก ครีบ เกล็ดของเจ้าบ้าน โดยมีอวัยวะยึดเกาะ 2 แห่ง แห่งหนึ่งอยู่ด้านหน้าตัวใกล้ส่วนปาก หรืออยู่ล้อมรอบปากมี 1 หรือ 2 อัน เรียกว่า โพรแฮพเตอร์ (prohaptor) ซึ่งอวัยวะยึดเกาะนี้อาจเสื่อมเหลือเล็กหรือบางชนิดหายไปมองไม่เห็น อวัยวะยึด

เกาะอีกแห่งจะอยู่ด้านท้ายตัว เรียกว่า โอพิสแซพเตอร์ (opisthaptor) ซึ่งมีขนาดใหญ่ บางชนิดจะแผ่กว้างออกอยู่ท้ายตัว มีลักษณะเป็นถ้วยหรือแผ่นแบนกว้าง ประกอบด้วยขอหนาม (hook) เล็กๆ หรือซัคเกอร์ หรือแคลมป์ (clamp) เล็ก ๆ จำนวนมาก บางชนิดมีลักษณะกลมใหญ่คล้ายซัคเกอร์อันเดียวแต่ภายในอาจมีผนังกันแบ่งเป็นช่อง ๆ บางชนิดเป็นรูปถ้วยมีขอเล็ก ๆ รอบและตรงกลางมีขอใหญ่แข็งแรง 1-2 คู่ บางชนิดชอบหักเว้าคล้ายนิ้วมือตรงปลายมีซัคเกอร์อยู่ หรือบางชนิดอวัยวะยึดเกาะท้ายตัวจะเป็นเพียงหนามใหญ่แข็งแรง 1-2 คู่ ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณท้ายตัว เนื่องจากอวัยวะสำหรับยึดเกาะเป็นขอหนามและหนามเล็ก ๆ จำนวนมาก เวลาเกาะปลาจะทำให้เกิดบาดแผลขึ้นที่เกาะ เช่น ผิวตัว ซึ่งเหวี่ยง เป็นทางให้แบคทีเรียเข้าสู่ตัวปลา ลูกปลาเป็นแผลใหญ่ ระบาดปลาตายได้ โดยเฉพาะลูกปลา อันดับสอง แอสพิโดโบเธเรีย (Order *Aspidobothrea*) ได้แก่พวกแอสพิโดโบธริด (*Aspidobothrids*) ส่วนใหญ่เป็นปรสิตภายใน ในสัตว์มีกระดูกสันหลังเลือดเย็น ไม่มีอวัยวะสำหรับดูดทางด้านหน้าตัว อวัยวะดูดเกาะจะอยู่ทางด้านท้องทั้งหมด เป็นอวัยวะที่แข็งแรง สำหรับเกาะกับเจ้าบ้าน ซัคเกอร์นี้โดยทั่ว ๆ ไปจะมีผนังกันแบ่งออกเป็นแถวเป็นร่องตามยาว มีตั้งแต่ 1 จนถึงหลาย ๆ ร่อง เรียกร่องนี้ว่า อัลวีโอล (alveoli) จำนวนและการจัดเรียงตัวของอัลวีโอลนี้ ใช้เป็นลักษณะหนึ่งในการจำแนกชนิด ด้านหน้าตัวเป็นเส้นแบน บางชนิดปลายทู่ เป็นที่ตั้งของปาก ซึ่งมีรูปปากแตร แม้ว่าในอันดับนี้จะไม่มีซัคเกอร์รอบปาก แต่บางชนิด มีกล้ามเนื้อเป็นแถบอยู่รอบส่วนปาก ทำให้มองเห็นเป็นซัคเกอร์รอบปาก ที่เสื่อมไม่เจริญ จากปากเปิดเข้าสู่คอหอย ถัดไปเป็นลำไส้ ซึ่งแตกแขนงออกไปยาวปลายเป็นถุงตัน เกือบทุกชนิดจะมีแขนงของลำไส้ที่แตกออกไปยาวเกือบจดท้ายตัว อันดับที่สาม ไคจีเนีย (Order *Digenea*) ได้แก่พวกไคจิน (*Digene*) หรือเรียกว่า พยาธิใบไม้ (fluke) ส่วนใหญ่มีอวัยวะสำหรับยึดเกาะ 2 แห่ง คือที่บริเวณด้านหน้าล้อมรอบปากเป็นออร์ลซัคเกอร์ 1 อัน ซึ่งในบางชนิดจะมีหนามเล็ก ๆ อยู่โดยรอบ ซัคเกอร์อีกอันอยู่ทางด้านท้องมีชื่อเรียกเฉพาะในพวกไคจินว่า อะเซตาบูลัม (acetabulum) ซึ่งส่วนมากจะพบอยู่ราว ๆ บริเวณกลางตัว แต่มีบางชนิดอาจเสื่อมไป มีบางพวกมีซัคเกอร์ เพิ่มอีกแห่งหนึ่ง จะมีเจนิทิล พอร์ (genital pore) อยู่ที่ช่องเปิดของเซลล์สืบพันธุ์อีก 1 อัน (ประไพศิริ, 2546)

3. โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย

แบคทีเรียมีอยู่ทั่วไปในน้ำแต่แบคทีเรียเหล่านั้นสามารถเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคได้นั้น จะต้องประกอบด้วยกระบวนการการติดเชื้อและกลไกต่างๆ ที่จะทำให้เกิดโรค ผลจากความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและปลา จะถูกกำหนดด้วยปัจจัยที่ส่งเสริมให้แบคทีเรียที่อยู่ในปลาทำอันตรายแก่ปลา และสามารถต่อต้านกลไกการป้องกันตัวเองของปลาได้ ปัจจัยเหล่านี้ได้แก่ การบุกรุกเข้าสู่เซลล์ ความรุนแรงของเชื้อ ทางเข้าของเชื้อโรค จำนวนเชื้อ ความเป็นพิษต่างๆ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น หรืออาจจะเป็นปัจจัยทางด้านสรีรวิทยาของปลาเอง ได้แก่ การบาดเจ็บ

ความเครียด การอักเสบ และความสามารถที่จะต้านทานระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายของปลา ซึ่งถ้าแบคทีเรียชนิดนี้จะเกิดโรคติดเชื้อแก่ร่างกายได้ (นงลักษณ์, 2544) โรคที่เกิดจากแบคทีเรียที่พบได้บ่อยในปลาการันต์ ได้แก่

- โรควิบริโอซิส (Vibriosis)

เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Vibrio* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียรูปท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ และเคลื่อนที่ว่องไวด้วยแฟลเจลลัมเส้นเดี่ยว ลักษณะอาการที่พบเห็นโดยทั่วไปเมื่อปลาเป็นโรคนี้คือ ปลาจะไม่กินอาหาร สีตัวคล้ำขึ้น การว่ายน้ำช้าลง ว่ายน้ำใกล้ผิวน้ำ สูญเสียการทรงตัว แสดงพฤติกรรมการว่ายน้ำผิดปกติ มีบาดแผลตามลำตัว ตกเลือด ครีบเปื่อย ตาโปนและขุ่นมัว มีอาการตกเลือดในช่องท้อง ถ้าใส่บวมและพบของเหลวสีเหลืองขุ่น (ปภาศิริ, 2538)

- โรคติดเชื้อซูดอโมแนส

เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมลบ และเคลื่อนที่ได้ ปลาที่ติดเชื้อจะมีลักษณะอาการตกเลือดอย่างรุนแรง มีบาดแผลบริเวณลำตัว ผิวหนัง ครีบ หาง ตาโปนและขุ่นมัว อวัยวะภายในจะสังเกตเห็นได้ว่าบริเวณไตมีสีดำคล้ำ มีจุดสีแดงเป็นจ้ำๆ ตับมีสีซีด (ปภาศิริ, 2538)

- โรคติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส

เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* sp. เป็นแบคทีเรียรูปกลม ติดสีแกรมบวก ปลาจะมีอาการอ่อนแอ ว่ายน้ำหุนหัน ไม่มีทิศทาง ตาโปน ตกเลือดบริเวณคอหอย เหงือกปิดเหงือก รอบปาก รอบทวาร บริเวณผิวหนังเป็นบาดแผลบวมแดง พองและแตกออกกลายเป็นบาดแผลที่มีบริเวณกว้าง โดยกล้ำเนื้อบริเวณที่เป็นบาดแผลจะมีการตายของเนื้อเยื่อ (ปภาศิริ, 2538)

4. ระบบภูมิคุ้มกันของปลามีกระดูกสันหลัง

ปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังที่ระบบภูมิคุ้มกันที่มีการพัฒนาต่ำที่สุด แต่ก็สามารถมีวิวัฒนาการในการสร้างระบบภูมิคุ้มกันขึ้นเพื่อป้องกันตัวเองจากเชื้อโรค หรือปรสิตได้ โดยทั่วไประบบภูมิคุ้มกันของปลามีกระดูกสันหลังแบ่งออกเป็น 2 กลไก เหมือนสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไป คือ กลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอมแบบไม่จำเพาะ (Non-specific defense mechanism) และกลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอมแบบจำเพาะเจาะจง (Specific defense mechanism) ซึ่งกลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอมแบบไม่จำเพาะนั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การป้องกันสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายปลาในขั้นแรก (First line defense) ซึ่งประกอบไปด้วยการป้องกันด้านกายภาพ เช่น ผิวหนัง เกิดลึศ และเมือกของปลา ซึ่งจะมีการผลิตสารเคมีบางชนิดเพื่อป้องกันเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย การป้องกันสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายปลาในขั้นที่สอง (Second line defense) หากสิ่งแปลกปลอมสามารถผ่านขั้นแรกมาได้ จะพบกับการทำงานของขั้นที่สอง ซึ่งประกอบด้วย ฟาโกไซโตซิส

(Phagocytosis) ของเซลล์เม็ดเลือดขาว การอักเสบ และการทำงานของสาร โปรตีนที่ต่อต้านแบคทีเรีย (Antibacterial proteins) หากสิ่งแปลกปลอมสามารถผ่านกลไกการทำลายแบบไม่จำเพาะเข้ามาในร่างกายจะถูกจัดการโดยกลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอมแบบจำเพาะหรือระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งระบบนี้เป็นระบบการทำงาน (functional system) มากกว่าที่จะเป็นระบบอวัยวะ (organ system) ระบบการทำงานดังกล่าวประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ มากมายอยู่ตาม lymphatic tissue และของเหลวทั่วร่างกายซึ่งเรียกว่า เซลล์ภูมิคุ้มกัน (immune cells) รวมทั้งโมเลกุลของสารต่างๆ อีกหลายชนิด ถ้าระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำงานได้เต็มที่ ร่างกายสามารถจะต่อต้านเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ ได้ เนื่องจากทั้งการตอบสนองแบบไม่จำเพาะ และระบบภูมิคุ้มกัน ทำงานร่วมกันและต่อเนื่องกันเพื่อให้บรรลุจุดประสงค์ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของร่างกาย กลไกการตอบสนองสิ่งแปลกปลอมแบบไม่จำเพาะ เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีอยู่แล้วในร่างกายตั้งแต่กำเนิด (innate immunity) ส่วนกลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอมแบบจำเพาะเป็นภูมิคุ้มกันที่ปรับเปลี่ยนไปตามสิ่งกระตุ้น (adaptive immunity) การทำงานหลักของระบบภูมิคุ้มกัน คือ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งมี 2 ทาง คือ humoral (antibody-mediated) immune response เป็นการจัดการกับสิ่งแปลกปลอมที่มาจากภายนอกร่างกาย ซึ่งสิ่งแปลกปลอมนี้สามารถกระตุ้นให้ lymphocyte สร้างแอนติบอดี จึงเรียกสิ่งแปลกปลอมนี้ว่าแอนติเจน (antigen) และ cell-mediated immune response เป็นการจัดการกับพวกเชื้อรา พยาธิ เซลล์ของร่างกายที่ติดเชื้อ และเนื้อเยื่อที่ถูกถ่าย อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อทั้งสองก็จะทำงานร่วมกัน (มาลินี, 2540)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และเครื่องมือทั่วไป

- | | |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| - กระชกปิดสไลด์ | - กล้องจุลทรรศน์ |
| - กรวยแก้ว | - ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) |
| - กระดาษกรองเบอร์ 1 | - หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) |
| - กระดาษทิชชู | - จานเพาะเชื้อ (Petridish) |
| - ชุดอุปกรณ์ผ่าตัดซากปลา | - สไลด์ |
| - ตะเกียงเบนเซน หรือ ตะเกียงแอลกอฮอล์ | - แผ่นกระดาษยา |
| - ปิเปตหรือหลอดหยดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ | - สำลี |

สารเคมี

- | | |
|---|--------------------------|
| - ชุดทดสอบ API 20 E | - ชุดทดสอบ API 20 NE |
| - ชุดทดสอบ API OF | - น้ำกลั่น |
| - น้ำยาออกซิเดส | - สังกะสีผง (Zn reagent) |
| - Acetone | - Ammonium oxalate |
| - Crystal violet | - Ethyl alcohol |
| - Iodine | - Mineral oil |
| - Potassium iodide | - Safranin |
| - Sodium Chloride | |
| - ชุดสารเคมีทดสอบ (TDA JAMES VP1 VP2 NIT1 NIT2) | |
| - อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Medium | |
| - อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) | |
| - อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) | |
| - อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile-salt Sucrose (TCBS) | |

ขั้นตอนการวิจัย

1. สังเกตอาการของปลาการ์ตูนในถังและตู้ที่ใช้เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยง และในตู้จัดแสดงของสถานเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล
2. เมื่อปลาการ์ตูนมีอาการผิดปกติ ให้แยกออกมาใส่ตู้ในห้องปฏิบัติการโรควิทยา
3. ศึกษาลักษณะอาการและให้การรักษา
4. ส่วนปลาการ์ตูนที่ตายให้สังเกตลักษณะภายนอกอย่างละเอียดจดบันทึก
5. นำสไลด์ชุดเมื่อกบริเวณผิวหนังหรือบริเวณที่เป็นแผล เพื่อตรวจดูพาราไรต์ โดยส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จดบันทึก และถ่ายภาพ
6. ใช้สำลีสwabแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดบริเวณแผ่นปิดเหงือก และบริเวณท้องของปลาการ์ตูน (บริเวณที่จะผ่า)
7. ใช้กรรไกรตัดแผ่นปิดเหงือกออกแล้วตัดชิ้นเหงือกใส่สไลด์ซึ่งมีน้ำกลั่นหรือน้ำเกลือ 0.85% ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 – 2 หยด ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จดบันทึก และถ่ายภาพ
8. ใช้กรรไกรผ่าตัดช่องท้องเพื่อสังเกตดูอวัยวะภายใน จดบันทึก
9. ตัดชิ้นเนื้อตับและไตไปทำการตรวจโรคสัตว์น้ำที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยนำมาเพาะเชื้อลงใน Tryptic Soy Broth (TSB)+1%NaCl บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร Tryptic Soy Agar + 1% NaCl และ TCBS บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง จดบันทึกลักษณะโคโลนีที่ได้
10. นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาย้อมสีแกรม แล้วนำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วย API 20 E และ API 20 NE เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อ

ผลการทดลอง

ผลการตรวจวินิจฉัยโรคปลาการ์ตูน

เก็บตัวอย่างซากปลาการ์ตูน 498 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาปรสิตและแบคทีเรีย พบโรคที่เกิดจากกลุ่มปรสิตคิดเป็นร้อยละ 51.78 รองลงมาพบโรคที่เกิดจากกลุ่มเชื้อแบคทีเรียและรา และโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ 26.58 และ 21.64 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลการตรวจวินิจฉัยโรคปลาการ์ตูน

ชนิดของโรค	ลักษณะที่พบ	ชนิดปลาการ์ตูนที่พบ	จำนวนตัวอย่าง
<u>โรคที่เกิดจาก Protozoa</u>			
1. <i>Amyloodinium ocellatum</i>	- เห็นเป็นกลุ่มสีขาวขุ่นอยู่บนลำตัวปลา - ตัวซีด เหงือกซีด - มีเมือกมาก หายใจหอบ - ลำตัวมีจุดสีเหลืองน้ำตาล - ไม่กินอาหาร	การ์ตูนส้มขาว	20
		การ์ตูนอานม้า	17
		การ์ตูนลายปล้อง	4
		การ์ตูนแดง	3
		ลูกปลาการ์ตูน	3
		การ์ตูนมะเขือเทศ	2
2. <i>Brooklynella hostilis</i>	- เป็นเมือกสีขาวขุ่นที่ลำตัว - หายใจเร็ว หอบ - ไม่กินอาหาร - ลำตัวซีดจาง	การ์ตูนส้มขาว	42
		การ์ตูนอานม้า	29
		การ์ตูนลายปล้อง	6
		การ์ตูนแดง	6
		การ์ตูนมะเขือเทศ	6
		การ์ตูนดำแดง	5
		การ์ตูนทองเหลือง	4
		การ์ตูนอินเดียนแดง	1
		ลูกปลาการ์ตูน	1

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของโรค	ลักษณะที่พบ	ชนิดปลาการ์ตูนที่พบ	จำนวนตัวอย่าง (ตัว)
<u>โรคที่เกิดจาก Protozoa</u>			
3. <i>Cryptocaryon irritans</i>	- ลำตัวมีจุดสีขาว	การ์ตูนส้มขาว	26
	- หายใจหอบ	การ์ตูนอานม้า	22
	- ไม่กินอาหาร	การ์ตูนลายปล้อง	2
		การ์ตูนดำแดง	2
		ลูกปลาการ์ตูน	1
4. พวก ciliated อื่นๆ	- ว่ายนํ้าลูกหลิก	การ์ตูนส้มขาว	45
	- มีเมือกมาก	การ์ตูนอานม้า	9
	- ลำตัวซีดจาง	การ์ตูนดำแดง	4
		การ์ตูนแดง	3
		การ์ตูนลายปล้อง	3
		การ์ตูน percular	2
		การ์ตูนท้องเหลือง	1
		การ์ตูนมะเขือเทศ	1
		ลูกปลาการ์ตูน	1
<u>โรคที่เกิดจากพยาธิ</u>			
1. พวกหนอนตัวกลม	- ถ่ายเป็นเส้นสีขาว	การ์ตูนส้มขาว	27
	- ท้องบวม ผอม	การ์ตูนอานม้า	10
	- ลำตัวซีด	การ์ตูนลายปล้อง	3
		การ์ตูนแดง	3
		การ์ตูนดำแดง	2
		การ์ตูนมะเขือเทศ	2

ตารางที่ 1 (ต่อ)

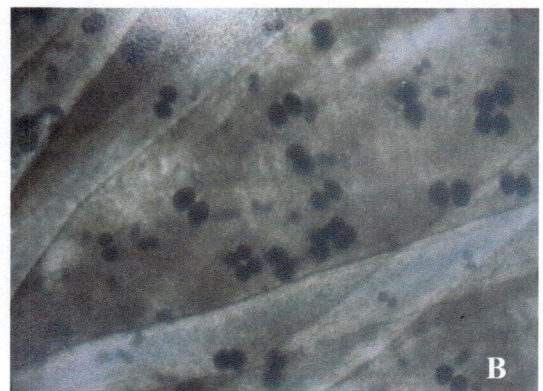
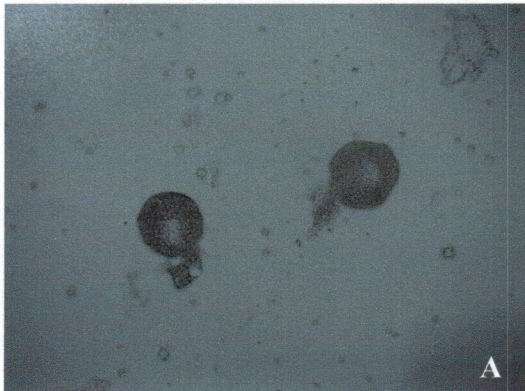
ชนิดของโรค	ลักษณะที่พบ	ชนิดปลาการ์ตูนที่พบ	จำนวนตัวอย่าง (ตัว)
2. พวกหนอนตัวแบน	- หายใจหอบ - เหงือกผิดปกติ	การ์ตูนส้มขาว	6
		การ์ตูนมะเขือเทศ	1
		การ์ตูนอานม้า	1
3. ซีสต์ของพยาธิ		การ์ตูนส้มขาว	28
		การ์ตูนแดง	5
		การ์ตูนอานม้า	4
		การ์ตูนดำแดง	3
		การ์ตูนมะเขือเทศ	2
		การ์ตูนลายปล้อง	1
4. ไข่พยาธิ		การ์ตูนส้มขาว	6
		การ์ตูนอานม้า	4
		การ์ตูนมะเขือเทศ	3
		การ์ตูนแดง	2
		การ์ตูนดำแดง	1
<u>โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย</u>	- ตกเลือดบริเวณลำตัว - สีตัวคล้ำขึ้น - ไม่กินอาหาร - ครีบเปื่อย ลำตัวเป็นแผล - ตาโปน ขุ่นมัว	การ์ตูนส้มขาว	83
		การ์ตูนอานม้า	52
		การ์ตูนลายปล้อง	15
		การ์ตูนมะเขือเทศ	12
		การ์ตูนดำแดง	11
		การ์ตูนแดง	9
		การ์ตูนท้องเหลือง	2
		การ์ตูนอินเดียนแดง	1
		การ์ตูนกำมะหยี่	1
		การ์ตูน percula	1

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของโรค	ลักษณะที่พบ	ชนิดปลาการ์ตูนที่พบ	จำนวนตัวอย่าง (ตัว)
<u>โรคที่เกิดจากเชื้อรา</u>	- ปุยสีเทาบริเวณลำตัว	การ์ตูนส้มขาว	6
		การ์ตูนดำแดง	1
<u>โรคที่เกิดจากไดอะตอม</u>	- ว่ายน้ำหลุกหลิก	การ์ตูนส้มขาว	22
		การ์ตูนอานม้า	6
		การ์ตูนดำแดง	3
		การ์ตูนแดง	3
		การ์ตูนมะเขือเทศ	2
		ลูกการ์ตูน	1
<u>โรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ</u>	- ว่ายน้ำผิดปกติ - ตาโปน ขุ่นมัว - ผอม - ไม่กินอาหาร - เหงือกบวม	การ์ตูนส้มขาว	59
		การ์ตูนอานม้า	18
		การ์ตูนแดง	16
		การ์ตูนมะเขือเทศ	10
		การ์ตูนดำแดง	9
		การ์ตูนท้องเหลือง	3
		การ์ตูน percula	2
		การ์ตูนอินเดียนแดง	2
		การ์ตูนลายปลี้อง	1
		การ์ตูนกำมะหยี่	1
		ลูกการ์ตูน	1

1. โรคโอโอไดเนียมหรือโรคเวลเว็ท

โรคโอโอไดเนียมหรือเรียกว่าโรคเวลเว็ทเป็นโรคซึ่งมีสาเหตุมาจากโปรโตซัวที่มีชื่อว่า *Amyloodinium ocellatum* (ภาพที่ 1) พบเกาะอยู่ที่เหงือก และผิวหนังของปลาการ์ตูน จำนวนปลาการ์ตูนที่พบปรสิตชนิดนี้ 40 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 5.46 พบมากที่สุดในกลุ่มปลาการ์ตูน คิดเป็นร้อยละ 37.5 ลักษณะอาการที่พบ ปลาการ์ตูนไม่กินอาหาร หายใจหอบ ว่ายน้ำบนผิวน้ำ ครีบตกหรือลู่ลง ปรสิตชนิดนี้จะเริ่มเข้าทำลายที่เหงือกก่อนเป็นอันดับแรก แล้วจะค่อยๆ ลุกลามมาบริเวณผิวหนัง ครีบและตา ซึ่งถือว่าการติดเชื้อที่รุนแรงมากแล้ว

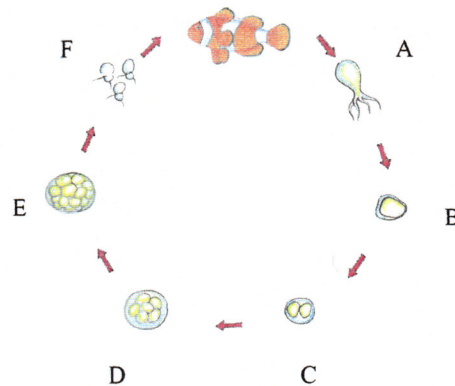


ภาพที่ 1 *Amyloodinium ocellatum*

(A= ระยะปรสิตเกาะอยู่ที่ผิวหนังปลาการ์ตูน, B=ระยะสืบพันธุ์เกาะบริเวณเหงือกปลาการ์ตูน)

Amyloodinium ocellatum ซึ่งปัจจุบันจัดอยู่ในพวกไดโนแฟลกเจลเลต เมื่อปรสิตชนิดนี้เข้าไปเกาะที่เหงือกจะเป็นสาเหตุทำให้เหงือกปลาการ์ตูนถูกทำลาย เกิดการอักเสบ ตกเลือด หรือถ้ามีการติดเชื้อชนิดนี้จำนวนมากก็จะทำให้ปลาขาดออกซิเจน ภายใน 12 ชม. ปลาการ์ตูนก็จะตาย วงจรชีวิตของ *A. ocellatum* (ภาพที่ 2) แบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ระยะที่เป็นปรสิต เรียกว่า โทรฟอนท์ (trophont) จะมีไซโทพลาสซึม โปรเซส (cytoplasmic process) ยึดเกาะตามลำตัว เหงือกปลา คูดินอาหารจากเจ้าบ้าน เจริญเติบโตอยู่บริเวณนั้นจนเข้าระยะที่ 2 ระยะสืบพันธุ์ เรียกว่า โทมอนท์ (tomont) จะหลุดออกจากบริเวณที่เกาะ ตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนของไซโทพลาสซึม โปรเซส จะหดเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ แล้วภายในเซลล์จะมีการแบ่งตัวเป็น 2 เซลล์ แต่ละเซลล์จะแบ่งตัวเป็นทวีคูณจนถึง 256 เซลล์ ภายใน 3-5 วัน ที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียสและที่ความเค็ม 16.7-28.5 ส่วนในพัน ซึ่งเป็นอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมที่สุดในการแบ่งตัว ต่อมาเมื่อผนังเซลล์แตก เข้าสู่ระยะที่ 3 ระยะตัวอ่อนเป็นไดโนสปอร์ (dinospore) เรียกว่า โทไมท์

(tomite) จะหลุดออกมาว่ายน้ำไปหาที่เกาะ ซึ่งสามารถอยู่ได้ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส (ปภาศิริ, 2538 ; Reed and Francis-Floyd, 2006)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของ *Amyloodinium ocellatum*

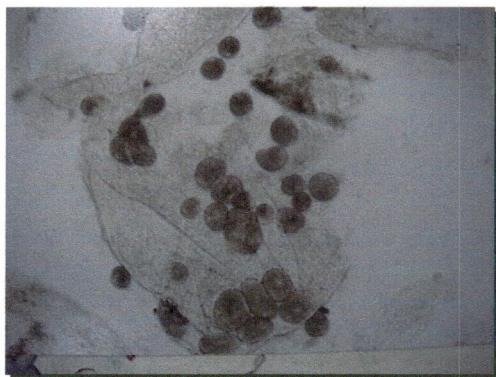
A= ระยะเวลาเป็นปรสิต (trophont), B-E= ระยะสืบพันธุ์ (tomont), F= ระยะเป็นไดโนสปอร์ (tomite)
(วาดภาพโดย นายสามารถ เมฆโหรา คัดแปลงมาจาก Peggy Reed and Ruth Francis-Floyd, 2006)

การรักษา ใช้คอปเปอร์ 0.12-0.15 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร นาน 14 วัน หรือใช้ฟอร์มาลิน 0.2 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที หรือจุ่มน้ำจืด 3 นาที

การป้องกัน แยกปลาการ์ตูนที่ได้มาใหม่ดูอาการภายในอย่างน้อย 20 วัน เพราะถ้ามีเชื้อชนิดนี้ติดมาด้วยจะออกอาการภายใน 20 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลา 2-4 รอบวงจรชีวิตของปรสิตชนิดนี้

2. โรค Brook

โรคบรู๊คหรือเรียกว่าโรคปลาการ์ตูน (clownfish disease) เกิดจากโปรโตซัว *Brooklynella hostilis* (ภาพที่ 3) จำนวนปลาการ์ตูนที่พบปรสิตชนิดนี้ 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 13.66 พบมากที่สุดที่ปลาการ์ตูนทองเหลือง คิดเป็นร้อยละ 40 ลักษณะอาการที่พบปลาที่มีสีของลำตัวจางลง ลำตัวมีเมือกปกคลุม ปลาหายใจเร็ว แผ่นปิดเหงือกอักเสบ และปลาไม่กินอาหาร (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 ลักษณะเชื้อ *Brooklynella hostilis*



ภาพที่ 4 ลักษณะอาการของโรค Brook

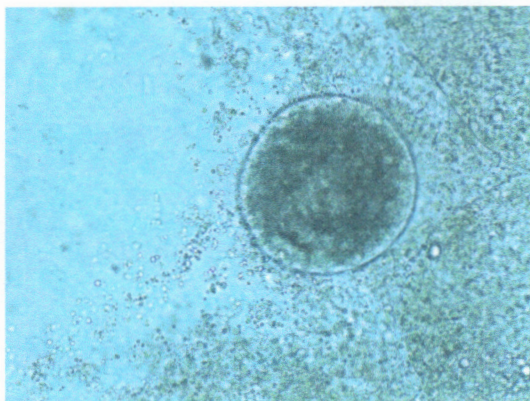
Brooklynella hostilis จัดเป็นพวกโปรโตซัว ที่มีขนาดเล็กๆรอบตัว จัดอยู่ในครอบครัว ไดสเทอริอิดี (*Dysteriidae*) เป็นปรสิตของปลาทะเลในเขตร้อน ส่วนมากพบในปลาที่มีการเลี้ยงกันอย่างหนาแน่น คุณภาพน้ำไม่ดี มีอาการเครียด ภายใต้อาการเหล่านี้ ปรสิตชนิดนี้ก็จะสามารถแพร่ไปได้อย่างรวดเร็ว *Brooklynella* ชอบอาศัยอยู่ตามผิวหนังและเหงือกปลา โดยกินเนื้อเยื่อและเซลล์เม็ดเลือดบริเวณผิวหนังเป็นอาหาร การติดเชื้อจะเริ่มเห็นเป็นบริเวณเล็กๆ สีซีดจางตรงบริเวณผิวหนัง จากนั้นจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นวงกว้าง ปลาที่เป็นโรคนี้อาจจะไม่กินอาหาร ว่ายน้ำช้าลง ขับเมือกออกมามาก และหายใจแรง ถ้าเนื้อเยื่อถูกทำลายเป็นวงกว้าง ปลาก็จะเริ่มตายภายใน 12 ชั่วโมง ปรสิตชนิดนี้จะติดต่อได้จากปลาที่มีการติดเชื้ออยู่ก่อนแล้วนำเข้าไปเลี้ยงร่วมกัน มันจะมีการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วในสภาพที่เหมาะสมคือสภาพที่น้ำไม่สะอาดเพียงพอ

การรักษา ใช้ฟอร์มาลิน 0.2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ส่วนในล้าน นาน 30 นาที หรือจุ่มน้ำจืด 3 นาที

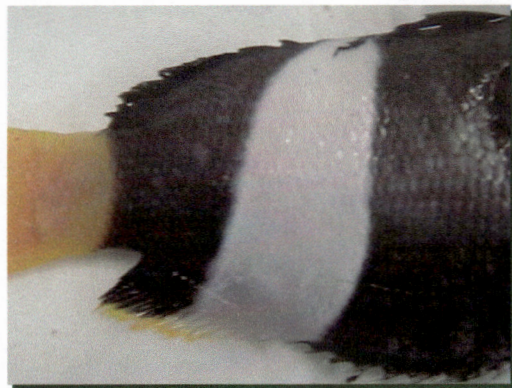
การป้องกัน แยกปลาการ์ตูนที่ได้มาใหม่ดูอาการภายในอย่างน้อย 1 อาทิตย์ รักษาคุณภาพน้ำให้สะอาด อย่าเลี้ยงปลาหนาแน่นจนเกินไป

3. โรคอีก หรือโรคจุดขาว

Cryptocaryon irritans (ภาพที่ 5) หรือโรคจุดขาว พบเกาะอยู่ที่เหงือก และผิวหนังของปลาการ์ตูน จำนวนปลาการ์ตูนที่พบปรสิตชนิดนี้ 55 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.51 พบมากที่สุดที่ปลาการ์ตูนอานม้า คิดเป็นร้อยละ 12.79 ลักษณะอาการของโรค มีจุดขาวขุ่น กระจายอยู่ทั่วลำตัว ว่ายน้ำวายน้าหลุกหลิก ผุดขึ้นผุดลง เอาลำตัวถูกับตู้ ไม่กินอาหาร (ภาพที่ 6)

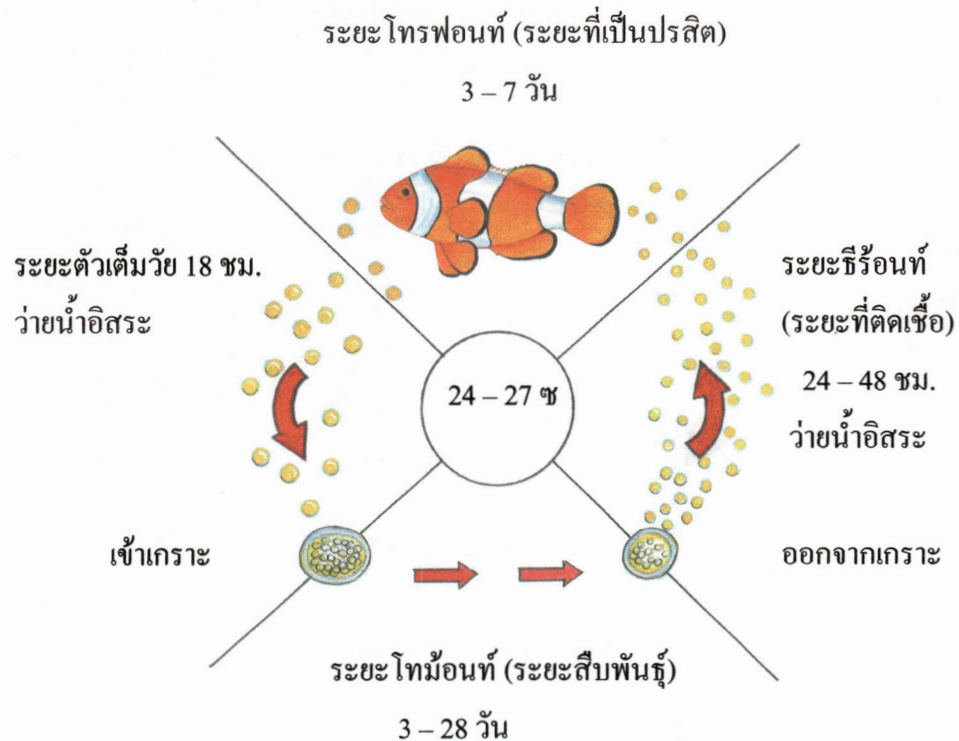


ภาพที่ 5 ลักษณะเชื้อ *Cryptocaryon irritans*



ภาพที่ 6 ลักษณะอาการของโรคอีก

Cryptocaryon irritans หรือมีชื่อพ้องว่า *Ichthyophthirius marinus* เป็นโปรโตซัวชนิดหนึ่ง โปรโตซัวชนิดนี้จะกินเซลล์ผิวหนังของปลาเป็นอาหาร มีรูปร่างแบน มีขนรอบตัว วงชีวิตของ *Cryptocaryon* แบ่งออกเป็น 4 ระยะ (ภาพที่ 7) ระยะที่เข้าไปเกาะตัวปลาการ์ตูนเป็นระยะที่เรียกว่า ทิรอนท์ (theront) หรือ โทไมท์ (tomite) เป็นระยะที่ว่ายน้ำเป็นอิสระ แต่ไม่สามารถหาอาหารเองได้ ถ้าไม่มีสิ่งมีชีวิตให้เกาะอาศัย มันก็จะสามารถใช้พลังงานที่มีอยู่ในตัวในการดำรงชีวิตอยู่ได้แต่ไม่เกิน 12 ชั่วโมงก็จะตาย ดังนั้นในระยะนี้มันจึงต้องหาเจ้าบ้านเกาะอาศัยโดยการเข้าไปเกาะที่ผิวหนังของปลาการ์ตูน แล้วปล่อยเอนไซม์ไฮยาไลติกเอนไซม์ย่อยเซลล์ผิวหนังของปลาการ์ตูน แล้วเปลี่ยนรูปไปเป็นโทรฟอนท์ (trophont) ซึ่งเป็นเป็นระยะปรสิต ระยะนี้จะกินเนื้อเยื่อของปลาการ์ตูนเป็นอาหาร แล้วเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยขนาดจะใหญ่เป็น 2 เท่า ทุกๆ 24 ชั่วโมง แล้วภายในเวลา 48 ชั่วโมง ก็จะสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยจะมองเห็นเป็นจุดสีขาวที่ตัวของปลาการ์ตูน ประมาณวันที่ 3 หรือ 4 นับจากวันที่ติดเชื้อ โทรฟอนท์ก็จะมีขนาดยาวประมาณ 3 – 5 มิลลิเมตร แล้วก็หลุดออกจากตัวปลา แต่โทรฟอนท์มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะว่ายน้ำ ดังนั้นเมื่อออกจากตัวปลาแล้วมันจึงมักเกาะอยู่ตามพื้นผิว เช่น ตามพื้นตู้ ซึ่งต่างจากระยะโทรฟอนท์ของอีกน้ำจืดที่สามารถว่ายน้ำได้อย่างเป็นอิสระหลังจากออกจากเจ้าบ้าน ภายใน 2-3 ชั่วโมง โทรฟอนท์ที่เกาะอยู่ตามพื้นตู้ก็จะสร้างถุงซึ่งมีผนังหนาหุ้มรอบตัว เรียกระยะนี้ว่าระยะเข้าเกราะ หรือ โทมอนท์ (tomont) เป็นระยะสืบพันธุ์โดยภายในเกราะหุ้มจะมีการแบ่งตัวของนิวเคลียสจนได้ตัวอ่อนระยะ ทิรอนท์ประมาณ 100 – 300 ตัว โดยที่ทิรอนท์เหล่านี้จะมีประมาณร้อยละ 5-10 เท่านั้นที่จะสามารถมีชีวิตอยู่รอดโดยการหาเจ้าบ้านเกาะได้ แต่ภายในระบบปิดมันก็สามารถเพิ่มจำนวนเป็น 10 เท่าทุกๆ 6-8 วัน จึงทำให้การติดเชื้อโรคจุดขาวเป็นไปอย่างรวดเร็ว และมีจำนวนมากจนเป็นอันตรายต่อปลาถึงขั้นทำให้ปลาตายหมดตู้ได้ วงจรชีวิตของ *Cryptocaryon* นั้นซับซ้อนและจะคงอยู่ต่อไปเรื่อยๆ ในระบบจนกระทั่งปลาตายทั้งหมดหรือไม่ก็ทำให้ปลาเกิดภูมิคุ้มกัน



ภาพที่ 7 วงจรชีวิตของเชื้อ *Cryptocaryon irritans*

(วาดภาพโดย นายสามารถ เมฆโหรา ดัดแปลงมาจาก Colomi, A., 1987)

การรักษา ใช้คอปเปอร์ 0.4 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ร่วมกับฟอร์มาลิน 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่คอปเปอร์ 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร 24 ชม. เป็นเวลา 10 วัน หรือจุ่มน้ำจืด 3 - 5 นาที แต่ระยะโทรฟอนท์ซึ่งเป็นระยะที่ฝังตัวอยู่ที่เหงือกแล้วเข้าเกราะ โดยมีเมือกจากเหงือกห่อหุ้มไว้อีกชั้นหนึ่งนั้น ในระยะนี้ไม่สามารถรักษาได้

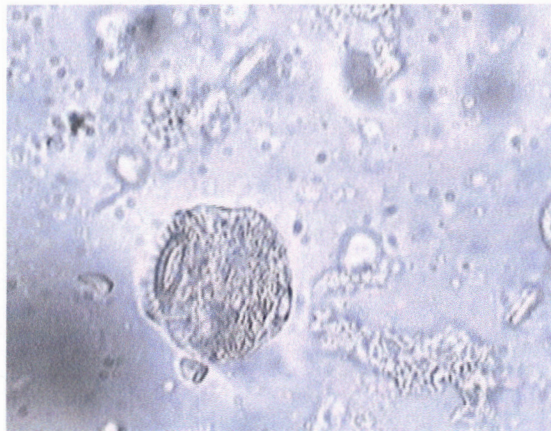
การป้องกัน แยกปลาการ์ตูนที่ได้มาใหม่ดูอาการภายในอย่างน้อย 6 สัปดาห์ ซึ่งเป็นเวลาที่เพียงพอที่จะทำให้ปลาการ์ตูนที่เชื้อชนิดนี้ติดมาด้วยจะแสดงอาการออกมา

4. โปรโตซัวชนิดอื่นๆ

โปรโตซัวชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากโปรโตซัวที่มีความสำคัญ 3 ชนิดที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีโปรโตซัวที่ส่วนใหญ่เป็นพวกโปรโตซัวที่มีขนรอบตัว ซึ่งจัดเป็นพวกโปรโตซัวที่ไม่ใช่ปรสิตที่แท้จริง แต่ถ้าพบเป็นจำนวนมากก็สามารถสร้างความรำคาญให้กับปลา ทำให้ปลาเกิดความเครียดได้ ส่วนมากพบตามบริเวณลำตัวของปลา จำนวนปลาการ์ตูนที่พบโปรโตซัวเหล่านี้มักเป็นร้อยละ

9.43 พบมากที่สุดในการปลาการ์ตูนเพอร์คูลา (Percula) คิดเป็นร้อยละ 33.33 ลักษณะอาการของโรคปลาจะว่ายวน้ำหลุกหลิก เอาตัวชูข้างตู้ ขยับเมื่อกออกมา ตัวอย่างโปรโตซัวที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่

Trichodina sp. หรือเห็บระฆัง (ภาพที่ 8) เป็นโปรโตซัวที่เป็นปรสิตภายนอก เกาะอยู่ตามบริเวณเหงือก ผิวหนัง ครีบของปลา โดยทั่วไปมักเกาะผิวหนังไม่ได้ฝังตัวเจาะเข้าไปได้ผิวเหมือนพวกอีก เห็บระฆังมีรูปคล้ายระฆัง เมื่อมองดูทางด้านข้าง ถ้ามองทางด้านตรงจะเห็นเป็นรูปวงกลม ส่วนล่างเว้าสำหรับใช้เป็นที่เกาะติดกับตัวปลา ส่วนหลังโค้งมีขนเรียงขนานกัน 2 แถว ใช้ในการเคลื่อนไหว และด้านในมีวงของตะขอแบน ๆ เรียงซ้อนกัน ซึ่งเป็นอวัยวะที่ช่วยในการเกาะ นอกจากนี้อวัยวะส่วนนี้ยังใช้เป็นลักษณะหนึ่งในการจำแนกชนิดของปรสิตนี้ด้วย การเคลื่อนไหวของเห็บระฆังเป็นไปในลักษณะแฉลบ ๆ พร้อมทั้งกลับตัวไปพร้อมกันด้วย เห็นระฆังพบเกาะอยู่ตามบริเวณเหงือกและที่ผิวหนัง การสืบพันธุ์ของเห็บระฆังเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่ต้องอาศัยเพศ โดยการแบ่งตัว ตัวอ่อนที่เกิดใหม่จะมีขนาดครึ่งหนึ่งของตัวโตเต็มวัย มีชีวิตอยู่ในเจ้าบ้าน ถ้าไม่มีเจ้าบ้านปรสิตจะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้



ภาพที่ 8 เห็บระฆังที่พบที่เมือกปลาการ์ตูน

การรักษา ใช้มาลาไคท์กรีน 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ละลายให้เข้ากัน เก็บเป็นสารละลายเข้มข้นไว้ เวลาใช้ ให้นำสารละลายเข้มข้นที่เตรียมไว้ 2 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร แช่นาน 3-5 วัน

4. โรคพยาธิตัวกลม

โรคพยาธิตัวกลม (ภาพที่ 9) พบอยู่ในช่องท้องของปลาการ์ตูน จำนวนปลาการ์ตูนที่พบปรสิตชนิดนี้ 47 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.42 พบมากที่สุดในการปลาการ์ตูนลายปล้อง คิดเป็นร้อยละ

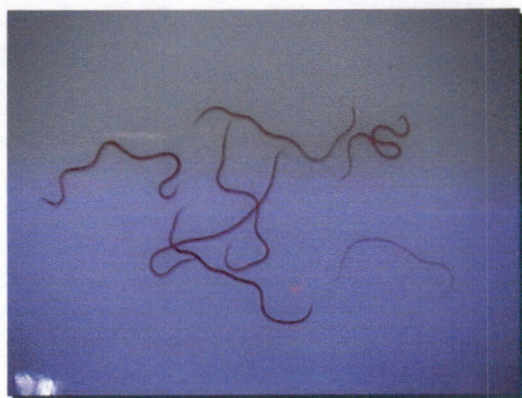
๒๗.๗๒

๒ ๒๕๖

๑. 3

249101

12 ลักษณะอาการของโรค ลำตัวซีด ผอม และถ่ายเป็นเมือกสีขาวขุ่น เมื่อผ่าดูภายในบางตัวจะพบว่ามียาในช่องท้องมาก (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 9 ลักษณะพยาธิตัวกลม



ภาพที่ 10 ปลาการ์ตูนที่พบพยาธิตัวกลม

พยาธิตัวกลม หรือ หนอนตัวกลมที่ตัวไม่เป็นปล้อง หรือเรียกว่าพวกนีมาโทด อยู่ในไฟลัม *Nematoda* มีขนาดต่างกันมากมาย ตั้งแต่ขนาดเล็กมองด้วยตาเปล่าไม่เห็นต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไปจนถึงขนาดใหญ่ยาวเป็นเมตร มีทั้งที่เป็นอิสระ และพวกที่เป็นปรสิต ซึ่งมีทั้งที่เป็นปรสิตภายนอกและภายใน ซึ่งมีทั้งที่เป็นอันตรายและไม่เป็นอันตรายกับเจ้าบ้าน ลักษณะทั่วไปของนีมาโทด เป็นหนอนตัวกลมรูปทรงกระบอกเพรียวยาว หัวท้ายแหลม ลำตัวปกคลุมด้วยเยื่อคลุม ซึ่งเป็นสารพวก hyaline ถัดไปชั้นใน subcuticula ที่อ่อนนุ่มจะมีกล้ามเนื้อตามยาวชั้นเดียวเรียงอยู่เป็นผนังช่องว่างในตัว ช่องว่างในตัวใหญ่ไม่มีผนังกัน ไม่มีอวัยวะเกี่ยวกับการหมุนเวียนโลหิตหรือการหายใจ ใช้ผิวหนังเป็นตัวดูดซึมและแลกเปลี่ยนก๊าซ มีเส้นประสาทเป็นวงแหวน ล้อมรอบส่วนของหลอดอาหารไว้ นอกจากนี้มีพวกอวัยวะรับสัมผัสได้แก่พวกตุ่มแพพิลลา (papillae) อยู่ตามบริเวณริมฝีปาก หัวหรือใกล้กับทวารหนักตัวผู้ การขับถ่ายของเสียจะมีท่อยาวรูปทรงกระบอกรับของเสียจากอวัยวะต่างๆ รวมกันส่งออกนอกตัวทางช่องเปิดเอคคริโตรี พอร์ (excretory pore) ซึ่งส่วนใหญ่จะมีอยู่อันเดียวอยู่บริเวณตรงกลางตัวด้านท้องใกล้กับส่วนกลางของหลอดอาหาร บางชนิดส่วนน้อยมีเอคคริโตรีพอร์ 2 อัน หรือไม่มีเลย ระบบย่อยอาหาร เป็นแบบสมบูรณ์ มีท่อยาวเริ่มต้นจากทางด้านหน้าสุดของตัวเป็นส่วนของปากและไปสิ้นสุดที่ทวารหนัก ซึ่งอยู่ด้านท้องใกล้กับปลายสุดตัวหรือบางชนิดอยู่ปลายสุดตัวเลย ที่ส่วนของปากอาจมีริมฝีปาก หรือมีดั่งที่ไวต่อการสัมผัส บางชนิดส่วนของปากจะมีฟันพวกสารไคติน (chitin) สำหรับขบเคี้ยว และฉีกเนื้อเยื่อของเจ้าบ้าน ถัดจากปากเป็นช่องปาก อาจเป็นต่อธรรมดาหรือเป็นรูปกรวย บางชนิดจะพองเป็นรูปถ้วย ปากอ้าไม่ปิดทำ

หน้าที่เป็นอวัยวะสำหรับดูดเกาะ หรือบางชนิดช่องปากมีสารไคตินประกอบขึ้นเป็นกระเปาะเรียก buccal capsule จะเห็นเป็นสีน้ำตาล ซึ่งบางชนิด buccal capsule จะมีสันอยู่ด้วย ลักษณะและจำนวนของสันบนช่องปากนี้ใช้เป็นลักษณะอย่างหนึ่งในการจำแนกชนิดของนิมาโทได้ ต่อจากช่องปากเป็นหลอดอาหารยาว บางชนิดจะพองเป็นกระเปาะหรือโป่งเป็น 2 ตอน และมีลิ้นกลั่นแบ่งเป็น 2 ส่วน หรือไม่มีลิ้นกลั่น บางชนิดหลอดอาหารแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหน้าเป็นกล้ามเนื้อ เรียกว่า หลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อ ส่วนหลังเป็นต่อมเรียกหลอดอาหารส่วนต่อม จากหลอดอาหารจะนำไปสู่ลำไส้ ซึ่งเป็นท่อแบนเล็กน้อยและมีช่องใหญ่ ในตัวเมียจากลำไส้จะเรียวยาวแคบเข้าสู่เรคตัมและออกสู่ทวารหนัก ส่วนในตัวผู้มีท่อนำสุจิเปิดทางด้านท้ายของลำไส้ และรวมกันเป็นโคเอกา และออกสู่ทวารหนัก ส่วนของลำไส้ใน นิมาโทบางชนิดนอกจากให้อาหารผ่านและมีการย่อยและดูดซึมแล้ว ยังใช้เป็นที่ดูดซึมของเสียต่างๆ และขับออกนอกตัวทางทวารหนัก ซึ่งจะพบในพวกไม่มีระบบขับถ่ายของเสีย ระบบสืบพันธุ์ เป็นพวกมีเพศแยกกันคนละตัว ตัวผู้มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย ตัวผู้มีถุงอัณฑะ 1 อัน ปลายหางโค้งเป็นเกลียวคล้ายเส้นด้ายนำไปสู่ท่อนำสุจิ และต่อไปยังถุงพักอสุจิ และต่อกับท่อ ejaculatory ที่ยาวมากไปเปิดออกที่โคเอกา และออกนอกตัวทางทวารหนัก นอกจากนี้ยังมีอวัยวะช่วยในการสืบพันธุ์ เช่น spicule เป็นเส้นยาวเหยียดออกและหดกลับเข้ามาเก็บภายในได้ อยู่ตรงบริเวณช่องเปิดของทวาร และยังมีอวัยวะกลม ๆ เป็นตุ่ม 1 คู่ อยู่ที่ปากทวารหนัก คือ gubernaculums และยังมีพวกอวัยวะรับสัมผัส พวกตั้งอยู่บริเวณท้ายตัว ถ้าอยู่ก่อนทวารหนักก็เรียกว่า pre anal papillae หรือ pre cloacal papillae และถ้าอยู่หลังทวารหนักก็เรียกว่า post anal papillae หรือ post cloacal papillae ในบางชนิดมีอวัยวะช่วยในการผสมพันธุ์ เรียกว่า โคพูลาโดรีเบอร์ชา แผ่กว้างอยู่ท้ายตัว และจะมีซี่ (ray) ช่วยค้ำจุนเบอร์ชาอีกทีหนึ่ง ตัวเมียจะมีรังไข่ 1 หรือ 2 อัน แต่ปลาคิมมี 1 คู่ มีท่อนำไข่นำไปสู่ถุงรับน้ำเชื้ออสุจิแล้วเข้ามดลูกต่อจากมดลูกจะมีท่อส่งไข่ที่ผสมแล้วนำไปสู่ช่องคลอด และออกนอกตัวทางรูทวาร ซึ่งเป็นช่องเปิดเล็ก ๆ อยู่ทางผิวด้านท้องอยู่ก่อนทวารหนัก ตัวผู้จะมีช่องเปิดสู่ภายนอกทางเดียวคือทวารหนัก ซึ่งเป็นช่องออกของอสุจิและกากอาหาร และรูทวารเป็นช่องเปิดของไข่หรือตัวอ่อน อสุจิมียลักษณะกลมเกลี้ยงที่แบบอะมีบา ในบางชนิดอสุจิจะไม่เกิดในตัวผู้ แต่จะพบเจริญอยู่ในตัวเมีย เกิดจาเซลล์ซึ่งผ่านเข้าไปในตัวเมียในขณะที่มีการจับคู่ผสมพันธุ์กัน การผสมพันธุ์ของนิมาโทเป็นแบบภายใน ไข่มีขนาดเล็กมาก มีเปลือกหุ้ม เจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนมีการลอกคราบหลายครั้ง ได้ตัวอ่อนหลายระยะ ส่วนมากออกลูกเป็นตัว คือ ไข่มีเปลือกหุ้มพิเศษ และฟักเป็นตัวอ่อนภายในตัวแม่ ตัวอ่อนได้รับอาหารจากต่อมไข่แดงในตัวแม่ และเจริญอยู่ในส่วนท่อนำไข่ที่เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่คล้ายมดลูก บางชนิดออกลูกเป็นไข่ คือออกไข่แล้วฟักเป็นตัวนอกตัวแม่ ไม่มีการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศเลย ตัวอ่อนของ

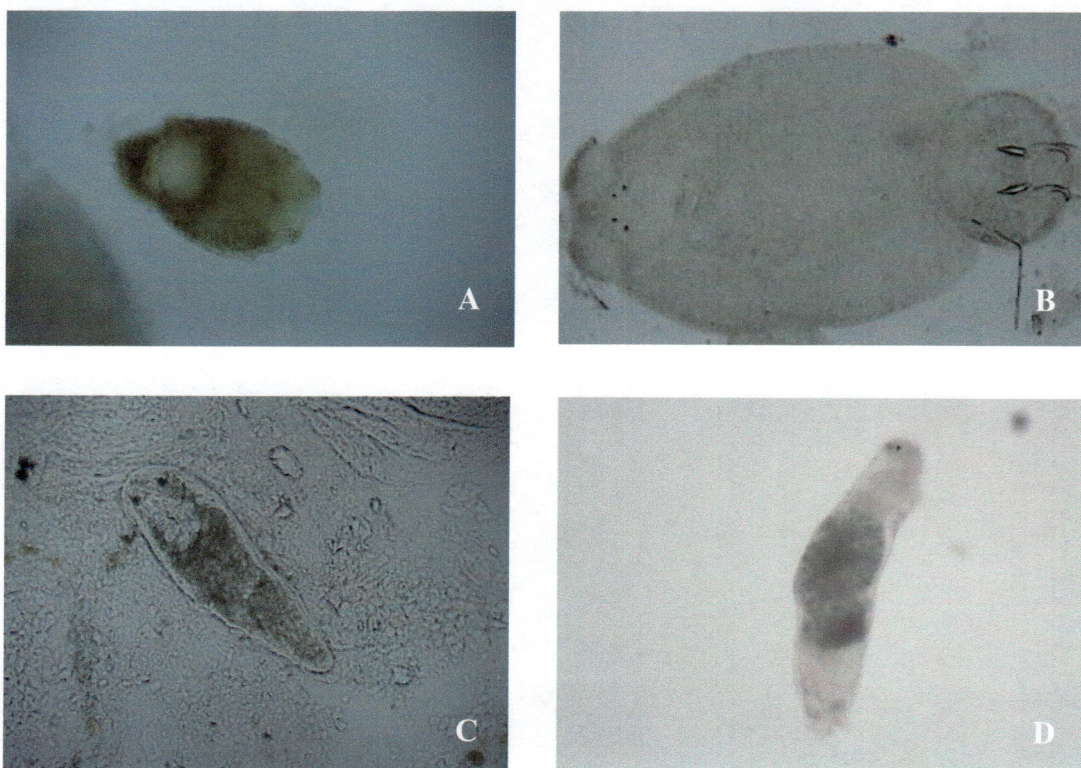
นีมาโทดมีการลอกคราบหลายครั้ง ก่อนที่จะเป็นตัวเต็มวัย โดยเฉพาะพวกที่เป็นปรสิต จะต้องมีการลอกคราบอย่างน้อย 4 ครั้ง ในชั่วชีวิตหนึ่งๆ ตัวอ่อนมีชื่อเรียกต่าง ๆ กันไป

การรักษา แช่ในเลวามิซอล (levamisol) 2 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 24 ชั่วโมง หรือผสมเฟนเบนดาโซล (Fenmendazole) 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ในอาหาร ให้กิน 7 วัน

การป้องกัน ควรต้องระมัดระวังการให้อาหารสด หรืออาหารที่มีชีวิต เพราะอาหารพวกนี้มักจะเป็นพาหะนำโรค เนื่องจากปรสิตพวกนี้ไม่สามารถมีวงจรชีวิตสมบูรณ์ในเจ้าบ้าน ต้องอาศัยพาหะ ซึ่งบางครั้งอาจพบว่าปรสิตพวกนี้จะเข้าเกาะอาศัยอยู่ตามกล้ามเนื้อ เหงือก หรือช่องท้อง ของปลาได้

5. โรคพยาธิตัวแบน

โรคพยาธิตัวแบน(ภาพที่ 11) พบเมือกและเหงือกของปลาการ์ตูน จำนวนปลาการ์ตูนที่พบปรสิตชนิดนี้ 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.37 พบมากที่สุดที่ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ คิดเป็นร้อยละ 4.55 ลักษณะอาการของโรค หายใจหอบ เอาลำตัวชูข้างตู้



ภาพที่ 11 พยาธิตัวแบนที่พบในปลาการ์ตูน
(A = พบที่เหงือกปลาการ์ตูน, B, C และ D = พบที่เมือกปลาการ์ตูน)

พยาธิตัวแบน หรือ หนอนตัวแบนเป็นหนอนที่มีรูปร่างแบนลำตัวซีกซ้ายขวาเหมือนกัน มีรูปร่างต่าง ๆ กันออกไป มีตั้งแต่ขนาดตัวสั้นไปจนถึงขนาดตัวยาวเป็นริบบิ้น ภายในตัวไม่มีช่องว่าง ไม่มีทวารหนักสำหรับขับการอาหาร ไม่มีระบบหมุนเวียนโลหิต ไม่มีระบบแลกเปลี่ยนก๊าซ ไม่มีระบบโครงสร้าง ระบบขับถ่ายของเสียประกอบด้วย flame cells รวบรวมของเสียส่งผ่านทางท่อ และขับออกนอกตัวทางรูขับถ่ายของเสีย (excretory pore) มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน พวกวาเลนไคมา (parenchyma) ซึ่งมีลักษณะคล้ายฟองน้ำยึดอยู่ระหว่างระบบอวัยวะต่างๆ ภายในตัว ระบบย่อยอาหารไม่สมบูรณ์ มีปากและไม่มีทวารหนัก พวกหนอนตัวแบนมีทั้งที่มีชีวิตอยู่อย่างอิสระ อยู่ร่วมกันโดยไม่ทำให้ฝ่ายใดเสียประโยชน์ และพวกที่เป็นปรสิต ไฟลัมนี้แบ่งออกเป็น 3 ชั้น แต่ชั้นที่เป็นปรสิตทั้งหมด ได้แก่ ชั้น Trematoda หรือเรียกว่า พวกริมมาโทด (Trematode) พบเป็นทั้งปรสิตภายนอก และปรสิตภายใน เป็นพวกที่มีระบบย่อยอาหาร แต่ไม่มีเนื้อเยื่อชั้นนอก ตัวปกคลุมด้วยชั้นเยื่อผิวหนัง (cuticle) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นกลาง ผิวตัวเรียบ ไม่มีขนปกคลุม ชั้นนี้จะแบ่งเป็น 3 อันดับ อันดับแรก โมโนจีเนีย (Order Monogenea) ได้แก่ พวกโมโนจีนิด (monogeneids) หรือเรียกว่า โมโนจีน พบเป็นปรสิตภายนอก หรือปรสิตภายในของพวกสัตว์มีกระดูกสันหลังเลือดเย็น ส่วนมากแล้วเป็นปรสิตภายนอก เกาะตามผิวหนัง เหงือก ครีบ เกล็ดของเจ้าบ้าน โดยมีอวัยวะยึดเกาะ 2 แห่ง แห่งหนึ่งอยู่ด้านหน้าตัวใกล้ส่วนปาก หรืออยู่ล้อมรอบปากมี 1 หรือ 2 อัน เรียกว่า โพรแฮพเตอร์ (prohaptor) ซึ่งอวัยวะดูดเกาะนี้อาจเสื่อมเหลือเล็กหรือบางชนิดหายไปมองไม่เห็น อวัยวะยึดเกาะอีกแห่งจะอยู่ด้านท้ายตัว เรียกว่า โอพิสแฮพเตอร์ (opishaptor) ซึ่งมีขนาดใหญ่ บางชนิดจะแผ่กว้างออกอยู่ท้ายตัว มีลักษณะเป็นถ้วยหรือแผ่นแบนกว้าง ประกอบด้วยขอหนาม (hook) เล็กๆ หรือ ซักเกอร์ หรือแคลมป์ (clamp) เล็ก ๆ จำนวนมาก บางชนิดมีลักษณะกลมใหญ่คล้ายซักเกอร์อันเดียว แต่ภายในอาจมีผนังกันแบ่งเป็นช่อง ๆ บางชนิดเป็นรูปถ้วยมีขอเล็ก ๆ รอบและตรงกลางมีขอใหญ่แข็งแรง 1-2 คู่ บางชนิดขบหนี้ยึดไว้คล้ายนิ้วมือตรงปลายมีซักเกอร์อยู่ หรือบางชนิดอวัยวะยึดเกาะท้ายตัวจะเป็นเพียงหนามใหญ่แข็งแรง 1-2 คู่ ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณท้ายตัว เนื่องจากอวัยวะสำหรับยึดเกาะเป็นขอหนามและหนามเล็ก ๆ จำนวนมาก เวลาเกาะปลาก็จะทำให้เกิดบาดแผลขึ้นที่เกาะ เช่น ผิวตัว ซึ่งเหงือก เป็นทางให้แบคทีเรียเข้าสู่ตัวปลา ลูกตามเป็นแผลใหญ่ ระบาดปลาตายได้ โดยเฉพาะลูกปลา อันดับสอง แอสพิโดโบเธเรีย (Order Aspidobothrea) ได้แก่พวกแอสพิโดโบเธริด (Aspidobothrids) ส่วนใหญ่เป็นปรสิตภายใน ในสัตว์มีกระดูกสันหลังเลือดเย็น ไม่มีอวัยวะสำหรับดูดทางด้านหน้าตัว อวัยวะดูดเกาะจะอยู่ทางด้านท้องทั้งหมด เป็นอวัยวะที่แข็งแรง สำหรับเกาะกับเจ้าบ้าน ซักเกอร์นี้โดยทั่ว ๆ ไปจะมีผนังกันแบ่งออกเป็นแถวเป็นร่องตามยาว มีตั้งแต่ 1 จนถึงหลาย ๆ ร่อง เรียกช่องนี้ว่า อัลวีโอล (alveoli) จำนวนและการจัดเรียงตัวของอัลวีโอลนี้ ใช้เป็นลักษณะหนึ่งในการจำแนกชนิด ด้านหน้าตัวเป็นเส้นแบน บางชนิดปลายทุ เป็นที่ตั้งของปาก ซึ่งมีรูป

ปากแตร แม้ว่าในอันดับนี้จะไม่มีซัคเกอร์รอบปาก แต่บางในชนิด มีกล้ามเนื้อเป็นแถบอยู่รอบส่วนปาก ทำให้มองเห็นเป็นซัคเกอร์รอบปาก ที่เสื่อมไม่เจริญ จากปากเปิดเข้าสู่คอหอย ถัดไปเป็นลำไส้ ซึ่งแตกแขนงออกไปยาวปลายเป็นถุงตัน เกือบทุกชนิดจะมีแขนงของลำไส้ที่แตกออกไปยาวเกือบจดท้ายตัว อันดับที่สาม ไคจีเนีย (Order Digenea) ได้แก่พวกไคจิน (*Digene*) หรือเรียกว่า พยาธิใบไม้ (fluke) ส่วนใหญ่มีอวัยวะสำหรับยึดเกาะ 2 แห่ง คือที่บริเวณด้านหน้าล้อมรอบปากเป็นออร์ธซัคเกอร์ 1 อัน ซึ่งในบางชนิดจะมีหนามเล็ก ๆ อยู่โดยรอบ ซัคเกอร์อีกอันอยู่ทางด้านท้องมีชื่อเรียกเฉพาะในพวกไคจินว่า อะเซตานุลัม (acetabulum) ซึ่งส่วนมากจะพบอยู่ราว ๆ บริเวณกลางตัว แต่มีบางชนิดอาจเลื่อนไป มีบางพวกมีซัคเกอร์ เพิ่มอีกแห่งหนึ่ง จะมีเจนนิเทิล พอร์ (genital pore) อยู่ที่ช่องเปิดของเซลล์สืบพันธุ์อีก 1 อัน

การรักษา ใช้ฟอร์มาลิน 0.2 – 0.4 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร แช่นาน 30 นาที หรือใช้เนกัวอน (Neguvon) 0.25 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน

การป้องกัน ปลาที่เลี้ยงมักจะพบหนอนตัวแบนค่อนข้างยากมาก ส่วนมากมักพบในปลาที่จับมาจากธรรมชาติ ซึ่งเป็นระยะเมตาเซอรคาเรียที่เข้าเกราะ เมื่อได้รับสภาวะที่เหมาะสมก็จะเจริญเป็นตัวเต็มวัย และถ้าไม่หาทางกำจัด ก็จะมีวงจรชีวิตอยู่ในระบบ ส่วนปลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะได้รับพยาธิพวกนี้จากตัวอ่อนที่ติดมากับหอย ดังนั้นจึงควรระมัดระวังไม่ให้มีการปนเปื้อนหอยในระบบเลี้ยง

6. โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย มีลักษณะอาการที่พบเห็นโดยทั่วไปเมื่อปลาเป็นโรคนี้คือ ปลาจะไม่กินอาหาร สีของลำตัวคล้ำขึ้น หรืออาจลง การว่ายน้ำช้าลง ว่ายน้ำใกล้ผิวน้ำ สูญเสียการทรงตัว แสดงพฤติกรรมการว่ายน้ำผิดปกติ มีบาดแผลตามลำตัว ตกเลือด ครีบเปื่อย ตาโปนและขุ่นมัว มีอาการตกเลือดในช่องท้อง ท้องบวม ลำตัวซีดขาว ตกเลือดบริเวณครีบ ตกเลือดบริเวณหาง ดับมีสีดำคล้ำ บางครั้งดับมีสีซีด รอบทวารบวมแดง เก็ดหลุด เก็ดพอง (ภาพที่ 12-19) จำนวนปลาการดูที่ตรวจพบแบคทีเรีย 187 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25.55 พบมากที่สุดในการดูปลาการดูตายปล้อง คิดเป็นร้อยละ 60

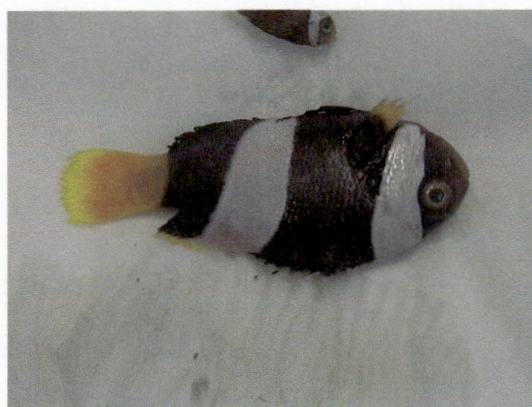
จากการนำแบคทีเรียที่แยกได้จากตับและไตของปลาการดู ไปทำการแยกชนิดโดยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และการทำ API test พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่พบมากที่สุดได้แก่ *Vibrio* sp. คิดเป็นร้อยละ 55.10 รองลงมา ได้แก่ *Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*, *Enterobacter cloacae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Providencia rettgeri*, และ *Shewanella putrefaciens* คิดเป็นร้อยละ 22.45, 10.20, 6.12, 2.04, 2.04 และ 2.04 ตามลำดับ



ภาพที่ 12 ลักษณะอาการตกเลือดบริเวณครีบ
ลำตัวสีซีดจางและตาขุ่นมัว



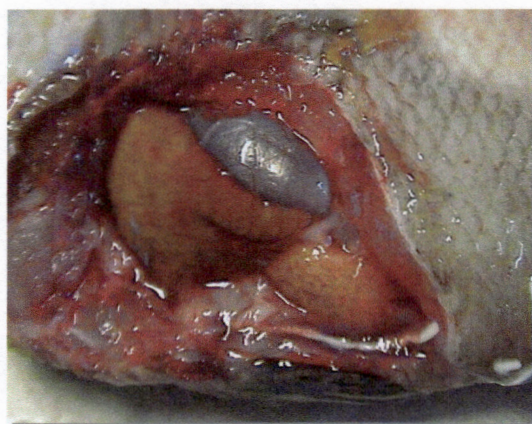
ภาพที่ 13 ลักษณะอาการท้องบวม



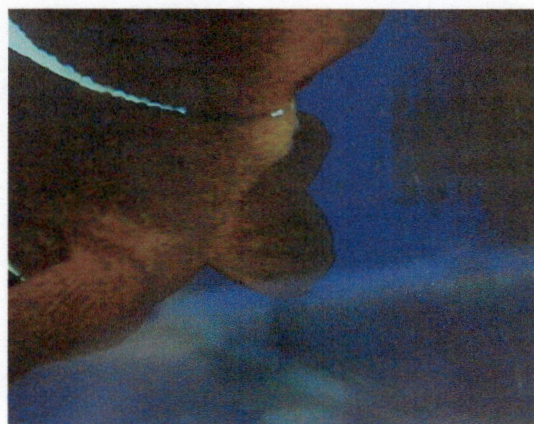
ภาพที่ 14 ลักษณะอาการตกเลือดบริเวณหาง



ภาพที่ 15 ลักษณะอาการตับมีสีดำคล้ำ



ภาพที่ 16 ลักษณะอาการตับมีสีซีด



ภาพที่ 17 ลักษณะอาการรอบทวารบวมแดง



ภาพที่ 18 ลักษณะอาการเกล็ดหลุด



ภาพที่ 19 ลักษณะอาการลำไส้บวม

แบคทีเรียมีอยู่ทั่วไปในน้ำแต่แบคทีเรียเหล่านั้นสามารถเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคได้นั้น จะต้องประกอบด้วยกระบวนการการติดเชื้อและกลไกต่างๆ ที่จะทำให้เกิดโรค ผลจากความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและปลา จะถูกกำหนดด้วยปัจจัยที่ส่งเสริมให้แบคทีเรียที่อยู่ในปลา ทำอันตรายแก่ปลา และสามารถต่อต้านกลไกการป้องกันตัวเองของปลาได้ ปัจจัยเหล่านี้ได้แก่ การบุกรุกเข้าสู่เซลล์ ความรุนแรงของเชื้อ ทางเข้าของเชื้อโรค จำนวนเชื้อ ความเป็นพิษต่างๆ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น หรืออาจจะเป็นปัจจัยทางด้านสรีรวิทยาของปลาเอง ได้แก่ การบาดเจ็บ ความเครียด การอักเสบ และความสามารถที่จะต้านทานระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายของปลา ซึ่งถ้าแบคทีเรียชนิดนี้จะเกิดโรคติดเชื้อแก่ร่างกายได้

การรักษา ใช้ยาดอกซีซัยคลิน 10 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร หรือยาเอ็นโรฟล็อกซาซิน 10 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร แขนาน 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 – 7 วัน

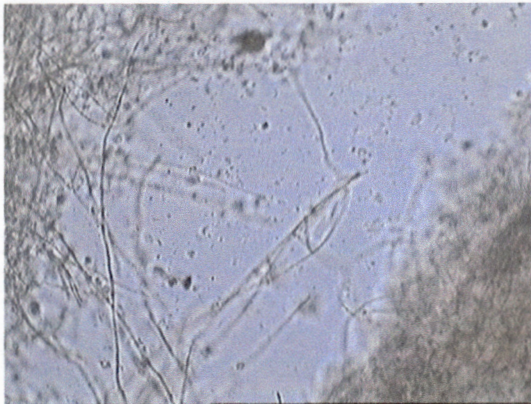
การป้องกัน ควรรักษาคุณภาพน้ำให้ดี อย่าเลี้ยงปลาหนาแน่น ไม่ทำให้ปลาเกิดความเครียด

7. โรคที่เกิดจากเชื้อรา

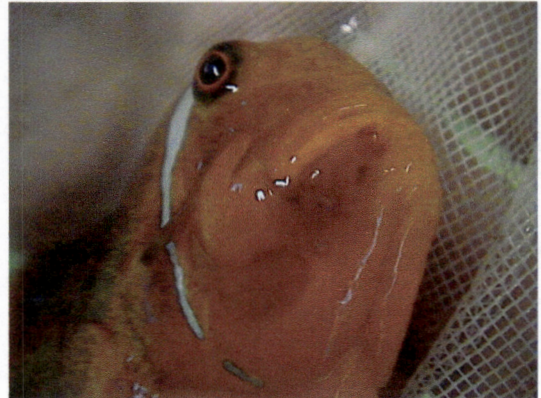
โรคที่เกิดจากเชื้อรา (ภาพที่ 20) พบบริเวณที่เป็นรอยแผลของปลาการ์ตูน จำนวนปลาการ์ตูนที่พบปรสิตชนิดนี้ 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.96 พบมากที่สุดในปลาการ์ตูนดำแดง คิดเป็นร้อยละ 2.5 ลักษณะอาการของโรค มีปุยสีขาวเทา บางครั้งพบเป็นบาดแผลคลุมไปด้วยปุยสีเทา (ภาพที่ 21)

รามิอยู่ทั่วไปในน้ำ ดำรงชีวิตอยู่โดยการกินเศษอาหาร เศษตะกอน รามีลักษณะเป็นเส้นใย แดกแขนงมากมาย สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ สปอร์ของราจะลอยอยู่ในน้ำจนกระทั่งมีเจ้าบ้านและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ก็จะเริ่มขยายพันธุ์ ราเป็นปรสิตต่อปลาโดยดูดซึมอาหารจาก

เนื้อเยื่อของปลา ซึ่งถ้าปลามีบาดแผล เชื้อราจะเข้าไปทำลายแล้วย่อยสลายเนื้อเยื่อตรงบริเวณนั้น โดยการแผ่ขยายเส้นใยของเชื้อราเข้าไปในเนื้อเยื่อ ซึ่งบางครั้งจะทำลายเซลล์เนื้อเยื่อของปลาจนเกิดเป็นบาดแผลอักเสบ และขยายเป็นวงกว้างขึ้น ซึ่งอาจถึงขั้นทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นตายได้



ภาพที่ 20 ลักษณะของเชื้อรา



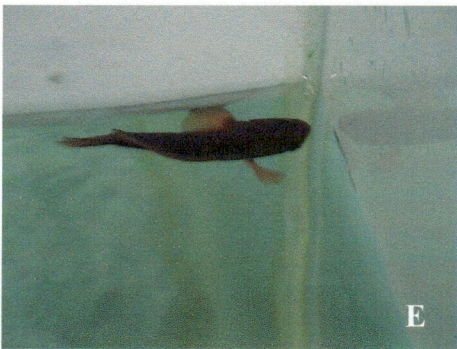
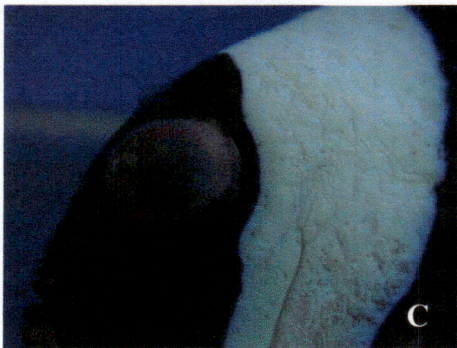
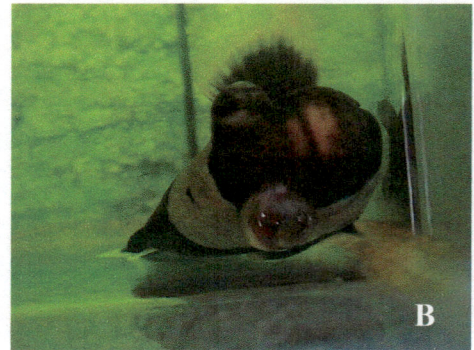
ภาพที่ 21 ลักษณะของบาดแผลที่ติดเชื้อรา

การรักษา ปลาที่มีบาดแผลและมีการติดเชื้อรา ให้ใช้ ยีสี่ Nystatin ทาบริเวณที่เป็นบาดแผล โดยจับบริเวณบาดแผลให้แห้ง ทาวันละ 1-2 ครั้ง หากจนกระทั่งไม่เห็นเส้นใยของเชื้อรา และบาดแผลหายสนิท

การป้องกัน รักษาคุณภาพน้ำให้สะอาด ไม่ให้มีเศษตะกอนซึ่งเป็นแหล่งสะสมเชื้อรา ควรดูแลปลาไม่ให้เกิดบาดแผล ถ้าปลาเริ่มมีบาดแผลเล็กน้อยให้รีบทำการรักษาบาดแผลให้หายโดยใช้ยาเหลือง Acriflavin 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เตรียมไว้เป็นสารละลายเข้มข้น เวลาใช้รักษาบาดแผลให้ใช้จากสารละลายเข้มข้นที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1 ลิตร

8. โรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ

สาเหตุที่ทำให้ปลาตายหรือมีอาการผิดปกติ อาจไม่ได้เกิดจากปรสิตหรือแบคทีเรีย สาเหตุอาจเกิดมาจากปัจจัยภายนอก คุณภาพน้ำ หรือการได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ จำนวนปลาก่อการที่พบโรคที่เกิดจากสาเหตุดังกล่าว 122 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 16.67 พบมากที่สุดที่ปลาก่อการอินเดียนแดงและการ์ตูนก้ามหยา คิดเป็นร้อยละ 50 อาการของปลาจะมีลักษณะที่ผิดปกติ ได้แก่ ลอยตัวอยู่บนผิวน้ำ ว่ายน้ำหงายท้อง นอนอยู่ตามก้นตู้ ว่ายวนไปวนมา ไม่ว่ายน้ำ คาโปน มีฟองอากาศ คาปูนมัว ลำตัวคดงอ เหงือกกร่อน เหงือกบวม (ภาพที่ 22 A – H)



ภาพที่ 22 A – H อาการผิดปกติของปลาการ์ตูนที่เกิดมาจากสาเหตุอื่นๆ

การรักษา โรคที่เกิดจากปัจจัยภายนอก เมื่อปลาเกิดอาการขึ้นแล้ว จะไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ควรเสริมวิตามินโดยผสมวิตามิน 500 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม สำหรับปลาที่มีสุขภาพดี ไม่ควรให้เกินสัปดาห์ละ 2 ครั้ง แต่ถ้าปลาที่ป่วยควรให้ 4 – 5 ครั้งต่อสัปดาห์

การป้องกัน ควรรักษาคุณภาพน้ำ หมั่นตรวจเช็คออกซิเจนในน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเป็นพิษในน้ำ ได้แก่ ค่าแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์

อภิปรายผลและสรุปผล

อภิปรายผล

ปรสิตรากนอกเป็นสาเหตุที่สำคัญที่พบเห็นได้มากที่สุด อาการของโรคที่พบโดยทั่วไปของปลาการ์ตูนที่ตรวจพบปรสิตราก คือ ตามลำตัวจะพบเป็นกลุ่มสีขาวหรือสีน้ำตาล เป็นรอยถลอกหรือแผลพุพอง ตาขุ่นมัว พฤติกรรมหลุกหลิก เอาตัวถูขังตู้ ลำตัวสีซีดจาง หายใจเร็ว โดยปกติปรสิตรากนอกที่อยู่กับปลาการ์ตูนไม่ใช่ปัญหาที่สำคัญของการตายของปลาการ์ตูน แต่เมื่อนำปลาการ์ตูนที่มีการติดเชื้อปรสิตรากนอกเหล่านี้มาด้วยวิธีการจับหรือขนส่งก็จะมีผลทำให้ปลาการ์ตูนเกิดอาการเครียด และบางครั้งในระบบปิดในสถานเลี้ยงสัตว์น้ำเค็มซึ่งสภาพแวดล้อมสามารถเปลี่ยนแปลงได้ง่าย ระบบภูมิคุ้มกันของปลาการ์ตูนก็จะอ่อนแอ ปรสิตรากก็จะถือโอกาสเข้าทำลายปลาการ์ตูนได้อย่างเฉียบพลัน เมื่อพบปรสิตรากมารบกวนอย่างรุนแรง ก็จะทำให้เกิดการทำลายผิวหนัง ครีบ เหงือก ซึ่งจะเป็นผลทำให้เกิดแผลเน่าเปื่อย ครีบเปื่อย หรือมีการผลิตเมือกออกมาจำนวนมาก เพื่อป้องกันปรสิตรากจากการใช้สารเคมี การระคายเคืองอาจเป็นสาเหตุให้เหงือกเกิดภาวะเนื้อเยื่อมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ การเพิ่มเนื้อเยื่อเหงือกมากกว่าปกติจะทำให้เหงือกบวม มีผลทำให้ลดพื้นที่ผิวในการแลกเปลี่ยนอากาศสำหรับหายใจ ซึ่งทำให้เกิดอาการเครียด ปลาการ์ตูนก็จะอ่อนแอ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายก็จะทำงานไม่เต็มที่ด้วยเหตุนี้จึงเป็นสาเหตุทำให้แบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายปลาการ์ตูนได้อย่างรวดเร็ว ปรสิตรากในก็เป็นตัวที่รบกวนปลาการ์ตูนเช่นกันและสามารถทำให้ปลาการ์ตูนตายได้โดยการที่ปรสิตรากจะกินสารอาหารที่สำคัญของปลาการ์ตูนจากเลือดและของเหลวในร่างกายของปลาการ์ตูนทำให้ปลาการ์ตูนเกิดภาวะขาดแคลนสารอาหาร เมื่อเกิดภาวะที่ปลาการ์ตูนได้รับสารอาหารไม่เพียงพอและเหมาะสมก็จะทำให้ปลาการ์ตูนเกิดอาการเครียดซึ่งเป็นสาเหตุทำให้แบคทีเรียสามารถเข้าสู่ร่างกายปลาการ์ตูนได้อย่างรวดเร็วได้เช่นกัน (Miller, 2002) และเมื่อแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายแล้ว เชื้อแบคทีเรียก็จะเข้าไปเจริญเติบโตอยู่ในเนื้อเยื่อของปลาการ์ตูน โดยบุกรุกและเข้าไปเพิ่มจำนวนอยู่ในเนื้อเยื่อ ร่างกายของปลาการ์ตูนที่อ่อนแอก็จะไม่สามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ได้ ในที่สุดเชื้อแบคทีเรียก็จะเข้าไปทำลายเซลล์ของปลาการ์ตูนและทำให้เกิดโรคได้ กระบวนการที่แบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายจนทำให้เกิดโรคได้นั้นเรียกว่าการติดเชื้อ บางครั้งการติดเชื้ออาจไม่จำเป็นต้องทำให้ปลาการ์ตูนเกิดอาการของโรคก็ได้

การรักษาที่ดีที่สุดสำหรับโรคที่เกิดจากปรสิตรากนอกคือการป้องกัน และเมื่อพบปรสิตรากในตู้แสดงไม่ควรรักษาในตู้แสดง ควรแยกออกมารักษาดังนั้นเมื่อพบเห็นอาการของปลาการ์ตูน จึงควรรีบแยกปลาการ์ตูนออกมาเพื่อทำการรักษาเพื่อฆ่าปรสิตรากก่อน ไม่ควรใส่ยาลงไปในตัวเลี้ยงที่มี

ระบบ เพราะยาจะไปมีผลต่อปะการัง สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ตัวกรองชีวภาพ เมื่อแยกออกมา ตู้ที่แยกออกมามีการใช้หน้าที่เดียวกับที่ใช้เลี้ยงเพื่อที่จะทำให้ปลาการ์ตูนไม่เกิดอาการเครียด ซึ่งความเครียดจะทำให้ปลาป่วยหนักเข้าไปอีก และควรมีอุณหภูมิเดียวกัน ปริมาณใหญ่จะสามารถถูกฆ่าและเป็นอันตรายต่อตัวปลาการ์ตูนน้อยที่สุด โดยการอาบน้ำจืด วิธีการเป็นการดูแลปลาการ์ตูนโดยที่ไม่ต้องแยกปลาการ์ตูนออกจากตู้ โดยการใส่น้ำจืดลงไปในถุงพลาสติกและนำถุงนั้นไปลอยอยู่ในตู้ที่เลี้ยงปลาการ์ตูนเพื่อปรับอุณหภูมิแล้วค่อยให้ปลาการ์ตูนเข้าไปในถุงน้ำจืดนานประมาณ 1 นาที ควรสังเกตอาการของปลาการ์ตูนด้วย ถ้าปลาการ์ตูนรู้สึกเครียดหรือดูที่ตัวปลาการ์ตูนว่าถ้าเกิดการเสียสมดุลก็รีบย้ายปลาการ์ตูนกลับสู่ตู้เลี้ยงทันที อย่าทิ้งปลาการ์ตูนในน้ำจืดนานกว่า 3 นาที ซึ่งระยะเวลาขนาดนี้เพียงพอที่จะฆ่าปรสิตและแบคทีเรียได้ ดังนั้นขณะจุ่มน้ำจืดควรสังเกตด้วยว่าถ้าปลาการ์ตูนมีอาการเครียดถึงแม้ยังไม่ถึงเวลาที่ต้องการก็ควรหยุดทันที การรักษาโดยการจุ่มลงในน้ำจืดเหมาะสำหรับปลาการ์ตูนที่มีความแข็งแรงพอสมควร ถ้าปลาการ์ตูนป่วยมากจะไม่สามารถทนต่อการแช่น้ำจืดได้ ดังนั้นการจุ่มน้ำจืดถ้าไม่จำเป็นควรหลีกเลี่ยงเนื่องจากปลาการ์ตูนจะเกิดการช็อก 2 ครั้ง คือครั้งแรกเมื่อใส่ปลาการ์ตูนลงในน้ำจืดและครั้งที่สองเมื่อนำปลาการ์ตูนใส่ลงในน้ำเค็ม เพราะการเปลี่ยนสภาพโดยทันทีทันใดนั้นจะทำให้เกิดการช็อกซึ่งเป็นผลต่อร่างกายอาจทำให้ตายได้เร็วขึ้น (Prescott, 2001)

บางครั้งในการรักษาในแต่ละครั้งอาจจะมีการใช้ยาและสารเคมีหลายอย่าง ตัวอย่างเช่น ฟอร์มาลินเป็นสารเคมีที่ใช้กันโดยทั่วไป หาซื้อได้ง่ายและสามารถใช้รักษาโรคปรสิตภายนอกได้เป็นอย่างดี แต่อาจจะทำให้สถานการณ์เลวร้ายลงไปอีก ในระยะยาวก็อาจจะไม่สามารถแก้ไขสถานการณ์ได้อีกเลย หรือโรคแบคทีเรียที่เหงือกก็อาจจะเกิดขึ้นตามมา สารละลายคอปเปอร์เป็นที่ถูกยอมรับได้เป็นอย่างดี ถ้าปลาการ์ตูนป่วยไม่อ่อนแอมากเกินไป แต่การใช้คอปเปอร์ควรต้องระวังเป็นอย่างมาก ควรใช้ให้อยู่ในระดับ 0.19 พีพีเอ็ม และไม่ควรมากกว่า 0.25 พีพีเอ็ม เนื่องจากคอปเปอร์สามารถกำจัดระบบภูมิคุ้มกันของปลาการ์ตูน ทำให้เป็นสาเหตุให้เกิดโรคติดเชื้อได้ง่าย (Untergasser, 1989) และการให้ยาในสัตว์น้ำอาจให้ได้หลายวิธีการแล้วแต่ความเหมาะสมและความสะดวก เช่น ให้กินยาผสมในอาหาร โดยการแช่น้ำที่ผสมยา โดยการให้น้ำที่ผสมยาไหลผ่าน หรือโดยการฉีดยา การจะเลือกใช้วิธีใดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น สภาพแวดล้อมของสัตว์ที่จะทำการให้ยา ชนิดของสัตว์น้ำและสภาพของสัตว์น้ำ รวมทั้งชนิดของยาที่จะให้ด้วยการให้ยาดังวิธีที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้การรักษาไม่ได้ผลเท่าที่ควร วิธีที่สะดวกที่นิยมใช้กันส่วนมากแล้วจะให้ยาโดยผสมลงในอาหารหรือผสมยาลงในน้ำเพื่อแช่หรือจุ่มตัวสัตว์

การให้ยาโดยผสมยาลงในอาหาร โดยทั่วไปแล้วจะคำนวณขนาดของยาจากน้ำหนักปลาที่จะทำการให้ยาต่อวัน เมื่อทราบขนาดของยาที่ต้องให้ต่อวันแล้วจึงผสมยาลงในอาหาร โดยคำนวณ

ปริมาณของอาหารที่จะต้องให้ตามเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน การให้ยาโดยวิธีนี้ถ้ายา มีรสชาติที่สัตว์ชอบและเป็นยาที่มีการดูดซึมได้ดี และถ้าสัตว์กินอาหารได้ตามปกติ สัตว์จะได้รับยาตามที่ต้องการ ปัญหาของการให้ยาโดยวิธีนี้ก็คือสัตว์ป่วยมักไม่ยอมกินอาหาร หรือกินอาหารได้น้อยลงมีผลทำให้สัตว์ได้รับยาไม่เพียงพอที่จะรักษาโรค อีกทั้งยาบางส่วนอาจสูญเสียไปกับน้ำได้ วิธีให้ยาในสัตว์น้ำโดยผสมในอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสมในกรณีที่ต้องให้ยาแต่สัตว์จำนวนมาก และจำเป็นต้องให้ยาคิดต่อกันทุกวันเป็นเวลาหลายๆ วัน การผสมยาลงในอาหารถ้าอาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสดและเป็นชิ้นๆ โดยทั่วไปแล้วการให้ยาโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด สัตว์จะได้รับยามากกว่าวิธีแช่หรือจุ่มในน้ำผสมยา

การให้ยาโดยการแช่สัตว์ในน้ำที่ผสมยา มักใช้ในกรณีที่สัตว์ป่วยไม่กินอาหาร ยาที่ใช้ต้องเป็นยาที่ละลายได้ดีในน้ำ ถ้ายาไม่ละลายน้ำยาจะต้องแขวนลอยในน้ำในกรณีที่ใช้สารแขวนลอยเป็นตัวช่วย การแช่อาจแช่นานเป็นนาทิจึงหรือแช่เป็นชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตัวยาและความเข้มข้นของยา การแช่หรือจุ่มสัตว์น้ำ ต้องทราบปริมาตรของน้ำในตู้ที่แยกไว้ใช้สำหรับรักษาสัตว์ป่วย วิธีนี้ทำให้สามารถคำนวณขนาดของยาที่จะใช้ได้อย่างถูกต้อง การรักษาสัตว์โดยวิธีการแช่สัตว์ในน้ำผสมยานั้นถ้าแช่นานไม่เกิน 15 นาทีเรียกวิธีนี้ว่าการจุ่ม (dip) แต่ถ้าแช่นานเกินกว่า 15 นาทีหรือเป็นชั่วโมง เรียกวิธีนี้ว่าการแช่ (bath) การจุ่มสัตว์น้ำลงในน้ำผสมยา อาจให้ผลดีสำหรับในกรณีที่ทำการรักษาโรคพยาธิภายนอก แต่สำหรับโรคติดเชื้อในร่างกายแล้วยังเป็นสิ่งที่สงสัยว่าจะให้ผลหรือไม่ ถึงแม้ว่ายาบางชนิดสามารถดูดซึมผ่านทางเหงือกและทางเยื่อหุ้มของผิวหนังได้ แต่การสัมผัสกับยาในช่วงระยะเวลาอันสั้น ปริมาณของยาที่เข้าสู่ร่างกายอาจไม่สูงพอที่จะทำลายเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้

การให้ยาโดยการฉีด วิธีนี้ใช้ในบางกรณีเท่านั้น มักใช้กับพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์หรือใช้กับสัตว์น้ำบางชนิดที่มีคุณค่าสูงทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นวิธีที่ต้องใช้แรงงานและใช้เวลา ปลาบางชนิดอาจต้องวางยาสลบก่อนที่จะทำการฉีดยา อย่างไรก็ตามสัตว์จะได้รับขนาดยาตรงตามที่กำหนด การฉีดยาในสัตว์น้ำทำได้หลายวิธี คือ ฉีดเข้าหลอดเลือด ฉีดเข้าช่องท้อง และฉีดเข้ากล้ามเนื้อ การฉีดเข้าหลอดเลือดมักใช้ในสัตว์ขนาดใหญ่หลังจากที่วางยาสลบแล้ว การฉีดอาจฉีดเข้าหลอดเลือดในปากหรือหลอดเลือดกลางลำตัว นอกจากฉีดเข้าหลอดเลือดแล้ว อาจฉีดเข้าช่องท้องในกรณีที่สัตว์มีอาการป่วยหนัก แต่ทั้งนี้และทั้งนี้ยาที่ฉีดเข้าช่องท้องในปลาต้องเป็นยาที่ไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง และควรเป็นยาที่มีการดูดซึมได้ดีด้วย การฉีดเข้าช่องท้องเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและเหมาะสมสำหรับปลาที่มีขนาดเล็ก เวลาฉีดต้องระวังอย่าให้เข็มถูกกับอวัยวะภายในซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายขึ้นได้ นอกจากนี้การฉีดเข้ากล้ามเนื้อกลางลำตัวก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในสัตว์น้ำได้อย่างปลอดภัย สำหรับปริมาณของยาที่เหมาะสมที่แนะนำให้ฉีดในปลานขนาดเล็กเท่ากับ 1-2

ไมโครลิตรต่อน้ำหนักปลา 1 กรัม โดยไม่จำเป็นต้องใช้ยาสลับก่อนฉีดยา และเช่นเดียวกับกรณีที่ฉีดยาเข้าช่องท้อง ยาที่ฉีดควรเป็นยาที่ไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อ

สัตว์น้ำจำพวกปลาทะเลมีรายงานว่าสัตว์น้ำกลุ่มนี้จะกินน้ำเพื่อให้น้ำเค็มเข้าสู่ร่างกายเพื่อช่วยปรับสภาพของร่างกายให้อยู่ในสภาพที่สมดุลในน้ำเค็ม ดังนั้นบางส่วนของยาจะผ่านเข้าไปในทางเดินอาหารโดยตรงในขณะที่กินน้ำ ไม่ว่าจะยาจะเข้าสู่ร่างกายสัตว์น้ำโดยวิธีใดก็ตามโดยผ่านเข้าทางเส้นเลือดที่เหงือก ผ่านทางผิวหนัง และ/หรือโดยการกินยาเข้าไปโดยตรง คุณสมบัติทางเคมีของยาเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเคลื่อนตัวของยานั้นๆ ผ่านเยื่อชีวสาร ไม่ว่าจะเยื่อชีวสารนั้นจะเป็นเหงือกหรือทางเดินอาหาร หรือผิวหนังก็ตาม ยานั้นต้องอยู่ในสภาพที่ไม่แตกตัวเป็นไอออนและละลายได้ดีในไขมันเท่านั้นจึงจะเคลื่อนตัวผ่านเข้าไปได้ หลังจากที่ยาเข้าสู่ร่างกายแล้ว ก่อนที่ยาจะออกฤทธิ์นั้นยาจะต้องมีการดูดซึมจากตำแหน่งที่ให้ยาเข้าสู่กระแสเลือด หลังจากนั้นแล้วยาจะมีการกระจายตัวไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย บางส่วนของยาจะมีการเปลี่ยนแปลงไปโดยการเกิด เมตาบอลิซึม บางส่วนของยาอาจมีการรวมตัวกับเลือดหรือเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นแล้วยาจึงจะมีการขับถ่ายออกจากร่างกาย ยาที่มีการดูดซึมมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น ชนิดของยาหรือสารที่ให้วิธีการให้ยา ตลอดจนอัตราการซึมผ่านของยาเข้าสู่เยื่อชีวสารเพื่อไปสู่บริเวณที่ยาออกฤทธิ์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำด้วย (มาลินี, 2540)

สรุปผล

จากการศึกษาโรคปลาการ์ตูนตั้งแต่เดือนมกราคม 2547 – ธันวาคม 2548 โดยการเก็บตัวอย่างปลาวงศ์การ์ตูนที่เป็นโรคมาทำการตรวจรักษาทั้งหมดจำนวน 11 ชนิด 498 ตัวอย่าง พบว่าสาเหตุที่ทำให้ปลาตายมากที่สุดได้แก่ โรคที่เกิดจากโปรโตซัว คิดเป็นร้อยละ 51.78 รองลงมาพบโรคที่เกิดจากกลุ่มเชื้อแบคทีเรียและรา และโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ 26.58 และ 21.64 ตามลำดับ

โรคที่เกิดจากโปรโตซัว พบว่า โปรโตซัวที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Brooklynella hostilis* คิดเป็นร้อยละ 37.88 รองลงมาพบ โปรโตซัวชนิดอื่นๆ, *Cryptocaryom irritans*, *Amyloodinium ocellatum* คิดเป็นร้อยละ 26.14, 20.83 และ 15.15 ตามลำดับ

แบคทีเรียที่พบมากที่สุดได้แก่ *Vibrio* sp. คิดเป็นร้อยละ 55.10 รองลงมา ได้แก่ *Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*, *Enterobacter cloacae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Providencia rettgeri* และ *Shewanella putrefaciens* คิดเป็นร้อยละ 22.45, 10.20, 6.12, 2.04, 2.04 และ 2.04 ตามลำดับ

ชนิดของปลาการ์ตูนที่นำมาตรวจรักษามากที่สุดได้แก่ การ์ตูนส้มขาว คิดเป็นร้อยละ 50.68 รองลงมาได้แก่ การ์ตูนอานม้า, การ์ตูนแดง, การ์ตูนมะเขือเทศ, การ์ตูนดำแดง, การ์ตูนลายปลี๋อง, การ์ตูนทองเหลือง, ลูกปลาการ์ตูน, การ์ตูนเพอร์คู,, การ์ตูนอินเดียแดง และการ์ตูนก้ามเหยี่ คิดเป็นร้อยละ 23.5, 6.83, 6.01, 5.46, 3.42, 1.37, 1.09, 0.82, 0.55 และ 0.27 ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- ไพบุลย์ บุญธิปัตตานนท์ อาคม สิงหนุญ สามารถ เศษตติย์ และพิกุล ไชยรัตน์. 2545. การเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูน. http://www.nicaonline.com/articles/site/view_article.asp?idarticle=89. เข้าถึงเมื่อวันที่ 5 สิงหาคม 2549.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค พิมพ์ครั้งที่ 2 NOBLE PRINT กรุงเทพฯ, 400 หน้า.
- นิรนาม¹. 2549. เกราะปลาการ์ตูน. <http://natres.psu.ac.th/Department/AquaticScience/seminar/example.doc>. เข้าถึงเมื่อวันที่ 5 สิงหาคม 2549.
- ปภาศิริ ศรีโสภารณ์. 2538. โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ สำนักพิมพ์ร่วมเขียว กรุงเทพฯ, 190 หน้า.
- ประไพศิริ สิริกาญจน์. 2546. ความรู้เรื่องปรสิตของสัตว์น้ำ พิมพ์ครั้งที่ 6 ห้างหุ้นส่วนจำกัด สกายเวิร์ด แอ็ดเวอร์ไทซิง กรุงเทพฯ, 270 หน้า.
- มาลินี ลิ้มโกคา. 2540. การใช้ยาด้านจุลชีพ "สัตว์บกและสัตว์น้ำ" พิมพ์ครั้งที่ 4 จรัสสินทวงศ์ กรุงเทพฯ, 710 หน้า.
- สุภาพร สุกสีเหลือง. 2542. มীনวิทยา. พิมพ์ดี กรุงเทพฯ. 568 หน้า.
- อุจน์จิต ปาติยเสวี. 2537. ศึกษาพฤติกรรมการวางไข่และการเจริญเติบโตของปลาการ์ตูนส้มขาว. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537. กรมประมง กรุงเทพฯ. หน้า 393-412.
- Allen, G.R. 1997. *Tropical Reef fishes of Thailand*. Asia Books, Bangkok. p 4-5.
- Anonemous. 2005. Marine Fish Anatomy. Available Source: <http://www.saltwater-aquarium-guide.com/Anatomy.htm>. August 13, 2005.
- Coloni, A. 1987. Biology of Cryptocaryon irritans and Strategies for Its Control. *Aquaculture* 67(1-2): 236 – 237.
- Miller, C. 2002. *Disease Treatment Help for Marine Aquarium Fish*. Available Source : <http://www.aquasite.com/knowledge/disease/disease.shtml>. July 2, 2002.
- Reed, P. and R. Francis-Floyd. 2005. *Amyloodinium Infections of Marine Fish*. Available Source: http://www.edis.ifas.ufl.edu/BODY_VM004. August 13, 2005.
- Prescott, S. 2001. Disease of Fish Part 7. Available Source : <http://www.aquarium.net>, October 16, 2001.
- Untergrasser, D. 1989. *Handbook of Fish Diseases*. T.F.H. Publication, Inc., U.S.A., 159 p.

Wilkerson, J.D. 1998. *Clownfishes: A guide to their captive care, breeding and natural history*.

World color book services, U.S.A., 240 p.

ภาคผนวก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการตรวจโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) + 1% NaCl

Bacto Tryptone	15	g
Bacto Soytone	5	g
Sodium Chloride	5	g
Bacto Agar	15	g
Distilled or deionized water	1	l

- วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น เดมโซเดียมคลอไรด์ 1% นำไปต้มจนเดือดและ
วุ่นละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ เป็น
เวลา 15 นาที ปรับ pH ให้ได้ 7.3 ± 0.2 ที่ 25°C

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB)

Bacto Tryptone	17	g
Bacto Soytone	3	g
Bacto Dextrose	2.5	g
Sodium Chloride	5	g
Dipotassium Phosphate	2.5	g
Distilled or deionized water	1	l

- วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น เดมโซเดียมคลอไรด์ 1% คนให้ละลายเป็นเนื้อ
เดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที ปรับ
pH ให้ได้ 7.3 ± 0.2 ที่ 25°C

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile-salt Sucrose (TCBS)

Bacto Yeast Extract	5	g
Proteose Peptone No. 3, Difco	10	g
Sodium Citrate	10	g
Sodium Thiosulfate	10	g

Bacto Oxgall	8	g
Bacto Saccharose	20	g
Sodium Chloride	10	g
Ferric Citrate	1	g
Bacto Brom Thymol Blue	0.04	g
Bacto Thymol Blue	0.04	g
Bacto Agar	15	g
Distilled or deionized water	1	l

- วิธีเตรียม

นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น โดยให้ความร้อนจนเดือด และอุ่นละลายเป็นเนื้อเดียวกัน อย่าทิ้งน้ำเชื้อ ปรับ pH 8.6 ± 0.2 ที่ 25°C นำสารละลายที่ได้เทใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว

การเตรียมสารเคมีและสีย้อมสำหรับการทดสอบเชื้อแบคทีเรียทางชีวเคมี (Biochemical Test)

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมแอลกอฮอล์ 70%
 - ละลาย ethyl alcohol (95%) 70.00 ml ด้วยน้ำกลั่น 25.00 ml ผสมให้เข้ากัน
2. การเตรียมน้ำเกลือ 85%
 - ละลาย NaCl 0.85 g ด้วยน้ำกลั่น 100.00 ml คนให้ NaCl ละลายจนหมด

การเตรียมสีย้อม

1. Gram's crystal violet
 - นำสารละลาย A (crystal violet 20.0 g + ethyl alcohol (95%) 20.0 ml) ผสมกับสารละลาย B (ammonium oxalate 0.8 g + น้ำกลั่น 80.0 ml) และนำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1
2. Gram's iodine
 - ละลาย Potassium iodide 2.0 g ในน้ำกลั่น 300 ml เติม Iodine 1.0 g หลังจาก Potassium iodide ละลายหมดแล้ว
3. Gram's alcohol
 - ละลาย 95% ethyl alcohol 98.0 ml ด้วยสารละลาย acetone 2.0 ml ผสมให้เข้ากัน

4. Gram's safranin

- ละลายสารละลาย safranin (safranin 2.5 g + ethyl alcohol (95%) 100.0 ml) 10.0 ml ใน น้ำกลั่น 100.0 ml ผสมให้เข้ากัน

การตรวจโรคสัตว์น้ำที่เกิดจากแบคทีเรีย

หลังจากที่เชื้อเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ให้นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) ที่ความร้อน 30°C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำออกมาอ่านผล โดยแปลผลจากการเจริญของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดังตารางต่อไปนี้

การแปลผล	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (colony)			
	Quadrant ที่ 1	Quadrant ที่ 2	Quadrant ที่ 3	Quadrant ที่ 4
+1	< 20	-	-	-
+2	> 20	< 20	-	-
+3	> 20	> 20	< 20	-
+4	> 20	> 20	> 20	< 20

+1 เชื้อเจริญน้อยมาก

+2 เชื้อเจริญน้อย

+3 เชื้อเจริญปานกลาง

+4 เชื้อเจริญมาก

- เชื้อไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

การวางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้วางในลักษณะที่ให้อาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านบน (up-side down)

การทดสอบเชื้อแบคทีเรียทางชีวเคมี (Biochemical Test)

1. การทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility)

1. เช็ดแผ่นกระจก (slide) ให้สะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70%
2. หยดน้ำสะอาดลง 1 หยด บนแผ่นกระจก
3. นำเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาเขี่ยลงบนหยดน้ำนั้น
4. ปิดด้วยแผ่นกระจกบาง (cover slip)
5. ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

การอ่านผล

ผลลบ = แบคทีเรียจะไม่เคลื่อนที่ไปมา แต่อาจจะเคลื่อนไหวตามน้ำ
 ผลบวก = แบคทีเรียจะเคลื่อนที่ไปมา

2. การย้อมสีกรัม (Gram's stain)

1. เช็ดแผ่นกระจก (slide) ให้สะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70%
2. หยดน้ำสะอาดลง 1 หยด บนแผ่นกระจก
3. นำเชื้อที่ต้องการทดสอบเขี่ยลงบนหยดน้ำ แล้วรอให้แห้ง
4. นำแผ่นกระจกไปผ่านเปลวไฟ 2 - 3 ครั้ง
5. หยดสี Gram's Crystal Violet ลงให้ท่วมแผ่นกระจก เป็นเวลา 1 นาที
6. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด
7. หยดสี Gram's Iodine ให้ท่วมแผ่นกระจก เป็นเวลา 1 นาที
8. ล้างสีด้วย Gram's Alcohol จนกระทั่งไม่มีสีของ crystal violet ละลายปนออกมา
9. หยดสี Gram's Safranin ให้ท่วมแผ่นกระจก เป็นเวลา 15 - 30 วินาที
10. ล้างออกด้วยน้ำสะอาด
11. ซับน้ำให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู
12. ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

การอ่านผล

กรัมลบ = แบคทีเรียติดสีแดง
 กรัมบวก = แบคทีเรียติดสีน้ำเงิน

3. การทดสอบออกซิเดส (Oxidase Test)

1. นำกระดาษกรองที่ตัดเป็นแผ่นเล็กๆ วางลงบนแผ่นกระจก
2. นำแบคทีเรีย 1 loopfull แตะลงบนแผ่นกระดาษกรอง
3. หยดน้ำยา Oxidase test 1 หยด ลงบนแผ่นกระดาษกรอง ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที

การอ่านผล

ผลลบ = ไม่มีอะไรเปลี่ยนแปลงบนแผ่นกระดาษกรอง

ผลบวก = แบคทีเรียที่อยู่บนกระดาษกรองจะเปลี่ยนสีจากไม่มีสีเป็นสีม่วงจนกระทั่งดำ

4. การทดสอบ OF

1. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบ แทะลงในอาหาร OF ทั้ง 2 หลอด
2. เท mineral oil ปิดทับลงไปประมาณ 1 ซม. ลงไปในหลอดที่ต้องการทดสอบ OF-F
3. ปิดฝาหลอด นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม.

การอ่านผล

ผลลบ = อาหารไม่เปลี่ยนสี หรือเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

ผลบวก = อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

สรุปผลได้ดังตาราง

OF-O	OF-F	ผลที่ได้
+	-	oxidative
+	+	fermentative
-	-	inert

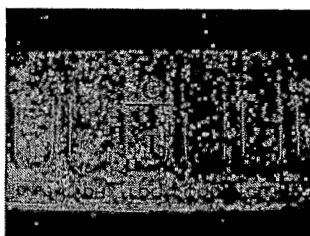
5. การทดสอบ API 20E

การเตรียมเชื้อ

1. ใช้ลูปเขี่ยเชื้อที่แยกบริสุทธิ์แล้ว มาใส่ลงในน้ำเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
2. นำไปปั่นในเครื่อง vortex หรือเขย่าแรงๆ ให้เชื้อละลายเข้ากับน้ำเกลือ
3. นำหลอดน้ำเกลือที่ละลายเชื้อแล้วไปเทียบความขุ่นกับหลอดสารละลายความขุ่นมาตรฐาน 0.5 McFarland

การลงเชื้อในแผ่นทดสอบ API Test

1. เทน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงในภาชนะหลุมพลาสติกให้เต็มหลุม (ใช้น้ำกลั่นประมาณ 5 มล.)
2. นำแผ่น API Test วางลงในภาชนะหลุมพลาสติก
3. ใช้หลอดหยดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้หยดลงในหลุมเล็กๆ ที่อยู่บนแผ่น API Test ให้เต็มตรงส่วนของ T โดยไม่ให้มีฟองอากาศ ดังรูป



4. หลุมที่มีขีดด้านล่าง ได้แก่ ADH LDC ODC H₂S URE ให้หยด mineral oil ปิดทับไว้ในส่วนของ C
5. หลุมที่มีกรอบสี่เหลี่ยม ได้แก่ CIT VP GEL ให้หยดสารละลายเชื้อจนเต็มในส่วนของ T และ C
6. เมื่อหยดสารละลายเชื้อจนครบทุกหลุมแล้ว ให้ใช้ฝาพลาสติกที่นำมาปิดฝาให้เรียบร้อย เขียนชื่อตัวอย่างและวันที่
7. นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 18-24 ชม.
8. เมื่อครบเวลา 18 – 24 ชม. แล้วให้นำมาทดสอบ โดยหยดสารเคมี ดังต่อไปนี้
 - TDA test หยด TDA reagent 1 หยด ในหลุม TDA แล้วอ่านผล
 - IND test หยด JAME reagent 1 หยด ในหลุม IND แล้วอ่านผล
 - VP test หยด VP1 และ VP2 reagent อย่างละ 1 หยด ลงในหลุม VP รอ 10 นาที แล้วอ่านผล
 - NO₂ test หยด NIT1 และ NIT2 reagent อย่างละ 1 หยด ในหลุม GLU รอ 2-5 นาที แล้วอ่านผล ถ้าเป็นสีแดงมีผลเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองมีผลเป็นลบ ให้เติม Zn ลงไป 2-3 มิลลิกรัม หลังจาก 5 นาทีให้อ่านผล ถ้าเป็นสีเหลืองแสดงว่า N₂ เป็นบวก ถ้าเป็นสีแดงส้ม แสดงว่าเป็นลบ
 - ส่วนหลุมที่นอกเหนือจากนี้ให้อ่านผลได้เลย

หมายเหตุ การอ่านผลให้บันทึกผลเป็นบวกหรือลบลงในแบบฟอร์ม โดยผลบวกหรือลบดูได้จากการเปลี่ยนสีในตารางการอ่านผล

ตารางการอ่านผล API 20E

ทดสอบ (TEST)	สาร (SUBSTRATES)	ปฏิกิริยา/เอนไซม์ REACTIONS/ENZYMES	ผล (RESULTS)	
			ลบ (NEGATIVE)	บวก (POSITIVE)
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-B-D-gal-actopyranoside (ONPG) isopropylthiogalacto-pyranotide (IPTG)	beta-galactosidase	ไม่มีสี	สีเหลือง (1)
ADH	arginine	arginine dihydrolase	สีเหลือง	แดง/ส้ม (2)
LDC	lysine	lysine decarboxylase	เหลือง	แดง/ส้ม (2)
ODC	ornithine	ornithine decarboxylase	เหลือง	แดง/ส้ม (2)
CIT	sodium citrate	citrate utilization	เขียวอ่อน/เหลือง	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน
H2S	sodium thiosulfate	H2S production	ไม่มีสี/เทาเข้ม	ตะกอนสีดำ/เส้นบางๆ
URE	urea	urease	เหลือง	แดง/ส้ม (2)
TDA	tryptophane	tryptophane deaminase	เหลือง	แดงน้ำตาล
IND	tryptophane	indole production	เขียวอ่อน/เหลือง	ชมพู
VP	creatine sodium pyruvate	acetic acid production	ไม่มีสี	ชมพู/แดง (5)
GEL	Kohn's gelatin	gelatinase	ไม่กระจาย	จุดดำ
GLU	glucose	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน	เหลือง/เขียวอ่อน
MAN	mannitol	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
INO	inositol	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
SOR	sorbitol	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
RHA	rhamnose	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
SAC	sucrose	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
MEL	melibios	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
AMY	amygdalin	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
ARA	arabinose	fermentation / oxidation (4)	น้ำเงิน/เขียวแกมน้ำเงิน	เหลือง
Nitrate reduction	potassium nitrate	NO ₂ production	เหลือง	แดง
GLU tube		reduction to N ₂ gas	ส้ม-เหลือง	เหลือง
McC	MacConkey medium	growth	ไม่มี	มี
OF-F	glucose	fermentation : under mineral oil	เขียว	เหลือง
OF-O		oxidation : exposed to the air	เขียว	เหลือง

การทดสอบความไวต่อยาชนิดต่างๆ ของแบคทีเรีย

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบผลความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาชนิดต่างๆ นั้นคือ Mueller Hinton Medium (MHM) โดยใช้แบคทีเรียที่แยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว 4 – 5 โคโลนี เลี้ยงไว้ใน TSB 5 มล. ให้มีปริมาณแบคทีเรีย $>10^6$ cell/ml. หรือให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐาน Mcfarland ที่ 0.5 ใช้สำลีพันปลายไม้ที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มใน suspension นำมาป้ายบน MHM เป็น 4 ระบายในลักษณะเดียวกันจนทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นจึงวางแผ่นกระดาษที่มีความเข้มข้นของยาต่างๆ ที่ต้องการวัด (Sensitivity disc) ลงบน MHM ที่เชื้อแบคทีเรียเตรียมไว้แล้ว โดยแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ควรเกิน 9 แผ่นยา เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้อาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ด้านบนในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง (overnight)

เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำมาวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของยาแต่ละชนิดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยไม่ทำให้แบคทีเรียเจริญรอบๆ แผ่นกระดาษยานั้นได้ (clear zone)

Antimicrobial agent	Zone diameter to nearest whole mm.			
	Disc content	Resistant mm. Or less	Intermediate mm. range	Susceptible mm. more
Ampicillin when testing gram Negative microorganism and Enterococci	10 µg	11	12 - 13	14
Ampicillin when testing staphylococci and Penicillin G susceptible microorganism	10 µg	20	21 - 28	29
Ampicillin when testing <i>Haemophilus</i> species	10 µg	19	-	20
Chloramphenicol	30 µg	12	13 - 17	18
Erythromycin	15 µg	13	14 - 17	18
Streptomycin	10 µg	11	12 - 14	15
Sulfonamides	300 µg	12	13 - 16	17
Tetracycline	30 µg	14	15 - 18	19
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	30 µg	9	10 - 11	12
Penicillin G when testing staphylococci	10 units	20	21 - 28	29
Penicillin G when testing other microorganisms	10 µg	11	12 - 21	22
Kanamycin	30 µg	13	14 - 17	18
Nalidixic acid	30 µg	13	14 - 18	19
Neomycin	30 µg	12	13 - 16	17
Nitrofurantoin	300 µg	14	15 - 16	17
Novobiocin	30 µg	17	18 - 21	22

ที่มา: Difco Manual. 1994. Dehydrated culture Media and Reagents for Microbiology. p. 848.