

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากแผลเปื่อยของเต่าตนุ (*Chelonia mydas*) และการรักษา

เกศรา ปุ่นศิริ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์

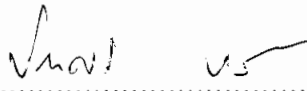
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

มิถุนายน 2552

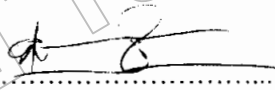
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

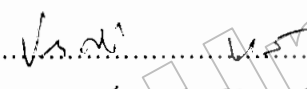
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ เกศรา ปุณศิริ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

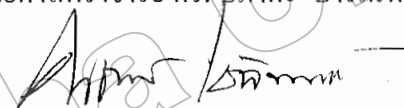
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

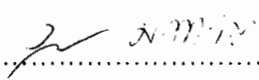

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปภาศิริ บาร์เนท)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

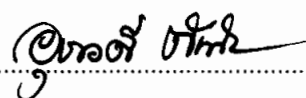

.....ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุริยัน ชาญกิจงานุกิจ)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปภาศิริ บาร์เนท)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. คเชนทร เลณิวัฒน์)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วิภูษิต มั่นทะจิตร์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา


.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันติวรานุกษ์)

วันที่ 16 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2552

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา

จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีการศึกษา 2550

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ปภาศิริ บาร์เนท อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
ผศ.ดร. สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ คณบดีคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
ประธานกรรมการวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วิญญิต มั่นทะจิตร รศ.ดร.กเชนทร เถลิมนวัฒน์ คณะกรรมการ
วิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือต่าง ๆ จนกระทั่งวิทยานิพนธ์
ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

ขอขอบพระคุณ นายฉัตรชัย ทิมกระจ่าง นายกเทศมนตรีเมืองศรีราชา จังหวัดชลบุรี
ที่ให้การสนับสนุนในการศึกษาวิจัย นาวาเอกวินัย กล่อมอินทร์ รองผู้บัญชาการหน่วยบัญชาการ
สงครามพิเศษทำเรือกองเรือยุทธการ และผู้อำนวยการศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลกองทัพบเรือ และ
ข้าราชการทหารทุกท่าน หัวหน้าสถานีวิจัยประมงศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นักวิชาการ
และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลเกาะลอยศรีราชาและเจ้าหน้าที่ ที่ได้ให้คำปรึกษาและ
อำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การ
สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ผู้ซึ่งกรุณาให้คำแนะนำ
ตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. พิชาญ สุว่างวงศ์ ผู้ให้คำแนะนำตรวจแก้ไขบทคัดย่อ
เพื่อความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณ ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนามไว้
ในที่นี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดาและมารดาที่ให้การสนับสนุนในการศึกษา และ
ขอบคุณ ค.ญ.สุชัญญา ปุ่นศิริ ที่คอยให้กำลังใจตลอดการทำวิทยานิพนธ์

เกศรา ปุ่นศิริ

47911095: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: โรคผิวหนังติดเชื้อเต่าตนุ/ *Bacillus sphaericus*/ *Vibrio fluvialis*/ *Acinetobacter junii*/ *Vibrio alginolyticus*

เกศรา ปุณศิริ: การเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากแผลเปื่อยของเต่าตนุ (*Chelonia mydas*) และการรักษา (GROWTH CHARACTERISTICS OF BACTERIA ISOLATED FROM WOUNDS OF GREEN TURTLES (*Chelonia mydas*) AND THEIR TREATMENTS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ปภาศิริ บาร์เนท, Ph.D. 66 หน้า. ปี พ.ศ. 2552.

การอนุบาลลูกพันธุ์เต่าตนุ ในบ่อพักเพื่อรอการปล่อยกลับสู่ทะเล (พ.ศ. 2540-พ.ศ. 2549) ประสบปัญหาการติดเชื้อ ที่ผิวหนัง พบแผลบริเวณส่วนต่อระหว่างคอกับลำตัว ส่วนหาง และส่วนกระดองด้านท้อง จากการเพาะเชื้อบริเวณแผลที่ผิวหนังดังกล่าว พบเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Bacillus sphaericus*, *Vibrio fluvialis*, *Acinetobacter junii* และ *Vibrio alginolyticus* จากการทดสอบการเจริญเติบโตและความทนใน pH (4-9) อุณหภูมิ (4-40 องศาเซลเซียส) และ ความเค็ม (เกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-4%) ระยะเวลา 42 ชั่วโมง พบว่าเชื้อทั้ง 4 ชนิด มีการเจริญเติบโตในระยะเวลาที่แตกต่างกัน จัดเป็นแบคทีเรียพวกฉวยโอกาสเนื่องจากไม่สามารถก่อบาดแผลเมื่อฉีดแบคทีเรียแต่ละชนิดเข้าผิวหนังเต่าตนุ และเมื่อทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะพบว่าเชื้อทั้ง 4 ชนิดมีการคัดต่อยา Sulfadiazine สำหรับ *A. junii* คัดยาเกือบทุกชนิดยกเว้น Oxolinic Acid ส่วนเชื้อที่ไวต่อยามากที่สุด 9 ชนิดจาก 10 ชนิดยกเว้น Sulfadiazine คือ *V. alginolyticus* และพบว่ายาออกซิเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) ให้ผลของความไวได้ดีที่สุดต่อเชื้อทั้งสามชนิดยกเว้น *A. junii* ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการรักษาโดยการแช่เต่าป่วยในสารคอปเปอร์ซัลเฟต พบว่าสามารถช่วยรักษาแผลที่ผิวหนังทั้งแบบตื้นและแบบหลุม ภายใน 5-15 วัน โดยให้ผลดีกว่าการรักษาโดยการให้กินยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลิน จากผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเป็นแนวทางการรักษาเบื้องต้นของโรคผิวหนังติดเชื้อเต่าตนุให้มีประสิทธิภาพ และเป็นประโยชน์ในการอนุรักษ์เต่าทะเล

47911095: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: FIBROPAPILLOMATOSIS/ *Bacillus sphaericus*/ *Vibrio fluvialis*/

Acinetobacter junii/ *Vibrio alginolyticus*

KESSARA PUNSIRI: GROWTH CHARACTERISTICS OF BACTERIA ISOLATED FROM WOUNDS OF GREEN TURTLES (*Chelonia mydas*) AND THEIR TREATMENTS.

ADVISORY COMMITTEE: PRAPARSIRI BARNETTE, Ph.D. 66 P. 2009.

The sea turtle rehabilitation and treatment responsible for treating sick or wounded turtles (1997-2006) before released was encountered many problems from bacterial contamination on the skin, wounds between the neck, the body, the tails, and the stomach. The bacterial analysis on the turtles' body revealed four bacteria: *Bacillus sphaericus*, *Vibrio fluvialis*, *Acinetobacter junii*, and *Vibrio alginolyticus*. Bacterial growth and tolerance studies showed that after placing restraint on environmental variables such as pH level (4-9), temperature (4-40 degrees Celsius), and salinity (Sodium Chloride of 0-4%) for 42 hours, the four bacterial strains expanded growth rate over time had varied. These bacteria were called opportunists, because they were not able to cause external wounds after they were injected into healthy turtles' skin. In addition, the study discovered that these four strains were resistant to Sulfadiazine antibiotic. For *A. junii*, it had become resistant to most medicine except Oxolinic acid, but 9 out of 10 medicine chosen excluding for Sulfadiazine, *V. alginolyticus* gained complete resistance. Furthermore, Oxytetracycline proved to be the most successful in treating all bacterial strains except *A. junii*. Therefore, this study used Copper Sulfate immersion instead of antibiotic (Oxytetracycline) ingestion as a successful method to treat both shallow and deep external open wounds. Only within five to ten days, the wounds disappeared. This study could further be used as an effective basic treatment for turtles and would be helpful in conserving sea turtles.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	จ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
สารบัญ.....	๗
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	

1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
สถานที่และระยะเวลาวิจัย.....	4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชนิดและการแพร่กระจายของเต่าทะเลในประเทศไทย.....	5
ลักษณะทางชีววิทยา และการแพร่กระจายของเต่าตนุ.....	7
สาเหตุของการตายในเต่าทะเลและเต่าตนุ.....	7
โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย.....	7
กลุ่มของแบคทีเรียอาศัยในน้ำทะเล.....	8
ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของแบคทีเรีย.....	9
โรค Fibropapillomatosis (FP) ในเต่าทะเล และโรคอื่น ๆ.....	10
ประเภทของสารเคมีและยาปฏิชีวนะในการต้านแบคทีเรีย.....	12

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 วิธีดำเนินการวิจัย	
วัสดุและอุปกรณ์.....	14
อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี.....	15
การแยกเชื้อแบคทีเรียจากเต้านมที่มีแผลเปื่อยจากการเลี้ยง.....	15
ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่อความเป็นกรดเป็นด่าง.....	16
อุณหภูมิและความเค็ม.....	
การทดสอบความรุนแรงของแบคทีเรียที่ก่อโรคแผลเปื่อย.....	16
การตรวจความไวของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ.....	17
การรักษาเต้านมที่มีแผลเปื่อย.....	17
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	18
4 ผลการทดลอง	
การแยกเชื้อและจำแนกชนิดแบคทีเรียก่อโรคแผลเปื่อยจากบาดแผลของเต้านม.....	19
การเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่อความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิและความเค็ม.....	27
การเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อม.....	27
การศึกษาโอกาสการก่อแผลเปื่อยของแบคทีเรียบนผิวหนังของเต้านม.....	42
การศึกษาความไวของแบคทีเรียก่อโรคแผลเปื่อยต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ.....	42
ศึกษาการรักษาโรคแผลเปื่อยในเต้านม โดยใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมี.....	42
5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	
อภิปรายผล.....	45
สรุปผลการทดลอง.....	49
ข้อเสนอแนะ.....	50
บรรณานุกรม.....	51
ภาคผนวก.....	55
ประวัติผู้วิจัย.....	66

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4-1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>B. sphaericus</i>	21
4-2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>V. fluvialis</i>	22
4-3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>V. fluvialis</i> (ต่อ).....	23
4-4 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>A. junii</i>	23
4-5 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>V. alginolyticus</i>	25
4-6 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>V. alginolyticus</i> (ต่อ).....	26

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 ชนิดของเต่าทะเลที่พบในประเทศไทย.....	6
2-2 ลักษณะของเชื้อ Fibropapillomatosis ที่เกิดกับเต่าตนุ.....	12
4-1 แผลที่ได้คอดและขาคู่หน้าและแผลที่โคนและแขนขาคู่หลังเต่าตนุที่มีแผลเปื่อย.....	19
4-2 เชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด จากเต่าตนุที่มีแผลเปื่อย.....	26
4-3 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>B. sphaericus</i> ที่มีต่อความเป็นกรด-ด่าง.....	30
4-4 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>V. fluvialis</i> ที่มีต่อความเป็นกรด-ด่าง.....	31
4-5 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. junii</i> ที่มีต่อความเป็นกรด-ด่าง.....	32
4-6 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>V. alginolyticus</i> ที่มีต่อความเป็นกรด-ด่าง.....	33
4-7 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>B. sphaericus</i> ที่มีต่อ อุณหภูมิในระดับต่าง ๆ.....	34
4-8 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>V. fluvialis</i> มีต่ออุณหภูมิในระดับต่าง ๆ.....	35
4-9 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. junii</i> ที่มีต่ออุณหภูมิในระดับต่าง ๆ.....	36
4-10 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>V. alginolyticus</i> ที่มีต่ออุณหภูมิในระดับต่าง ๆ.....	37
4-11 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>B. sphaericus</i> ที่มีต่อความเค็มในระดับต่าง ๆ.....	38
4-12 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>V. fluvialis</i> ที่มีต่อความเค็มในระดับต่าง ๆ.....	39
4-13 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. junii</i> ที่มีต่อความเค็มในระดับต่าง ๆ.....	40
4-14 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>V. alginolyticus</i> มีต่อความเค็ม ในระดับต่าง ๆ.....	41
4-15 ทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหาร Muller Hinton Agar กับยาปฏิชีวนะ ชนิดต่าง ๆ.....	43
4-16 ลักษณะแผลตื้นบริเวณขาหน้าของเต่าตนุเปรียบเทียบกับวันที่ 3 หลังการรักษา บาดแผลโดยการแช่ในคอปเปอร์ซัลเฟต.....	44
4-17 ลักษณะแผลหลุมลึกบริเวณคอของเต่าตนุเปรียบเทียบกับที่ 8 วัน หลังการ รักษาบาดแผลโดยการแช่ในคอปเปอร์ซัลเฟต.....	44