สำนักหอสมุดกลาง
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การสำรวจแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ จังหวัดจันทบุรี

SURVEY OF PATHOGENIC *Vibrio* spp. IN SEAWATER AND OYSTERS FROM THA-CHALAP ESTUARY, CHANTHABURI PROVINCE

จีราพร จันทสิทธิ์

JEERAPORN JUNTASIT

2551
1619

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีทางทะเล

คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การสำรวจแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ จังหวัดจันทบุรี SURVEY OF PATHOGENIC *Vibrio* spp. IN SEAWATER AND OYSTERS FROM THA-CHALAP ESTUARY, CHANTHABURI PROVINCE
โดย	นางสาวจีราพร จันทสิทธิ์
คณะ	เทคโนโลยีทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์มลฤดี สนธิ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์บัญชา นิลเกิด

คณะเทคโนโลยีทางทะเลได้พิจารณาปัญหาพิเศษฉบับนี้ แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางทะเล ของมหาวิทยาลัยมหาวิยาลัยบูรพา

.....ผู้รักษาการแทนคณบดีคณะเทคโนโลยีทางทะเล
(รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณี เทอดเทพพิทักษ์)

คณะกรรมการตรวจสอบปัญหาพิเศษ

.....ประธาน
(อาจารย์มลฤดี สนธิ)

.....กรรมการ
(อาจารย์บัญชา นิลเกิด)

.....กรรมการ
(อาจารย์ปัทมา ศรีน้ำเงิน)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประกาศคุณูปการ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ อาจารย์มลฤดี สนธิ ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความห่วงใย และเป็นผู้ตรวจทานปัญหาพิเศษให้ถูกต้องสมบรูณ์จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์บัญชา นิลเกิด ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำด้านวิชาการ แนวทางการ วิจัย เอกสาร และแนวคิดที่เป็นประโยชน์ต่อข้าพเจ้าเสมอมา และขอขอบพระคุณอาจารย์ ปัทมา ศรีน้ำเงิน ที่ให้ความกรุณารับเป็นกรรมการสอบตรวจทานและแก้ไขปัญหาพิเศษให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ในคณะทุกท่านที่ให้ความรู้และให้การเอาใจใส่มาโดยตลอด รวมทั้งพี่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่จัดสรรอุปกรณ์ และคอยให้คำแนะนำที่ดีในการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลี ไพบูลย์กิจกุล และอาจารย์ธชณัช ภัทรสถาพรกุล ที่ปรึกษาชั้นปี ที่คอยห่วงใย คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาที่ดี

ขอขอบคุณพี่ศศิพา และพี่ศรีภาพรรณ ที่คอยช่วยเหลือด้านอุปกรณ์วิจัยตลอดจนคำปรึกษาที่ดีในการทำวิจัย

ขอบคุณ วรรณนิสา ฉรงค์ วิฑูรย์ และเพื่อน ๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างที่ร่วมทุกข์ร่วมสุขด้วยกันและคอยเป็นกำลังใจให้เสมอมา

ขอบคุณเพื่อน ๆ ศิษย์เก่าโรงเรียนศรีรัตน์ ฯ ทุกคนที่ไม่ลืมกัน ที่โทรหาไม่ขาดสาย และคอยถามสาระทุกข์สุขดิบตลอดระยะเวลาสี่ปีที่ผ่านมา

ขอบคุณนายสุเทพ ปลื้มภักดิ์ และเด็กชายวีระชัย จันทสิทธิ์ ที่คอยเป็นเพื่อน ให้ความเอาใจใส่ และเป็นกำลังใจอย่างมากที่ช่วยให้ข้าพเจ้าทำปัญหาพิเศษนี้สำเร็จ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณปู่ บิดา มารดา และนายจามร พี่ชายที่แสนดีที่ข้าพเจ้ารักเสมอ ที่คอยให้ความสนับสนุนในทุก ๆ ด้าน ทั้งกำลังใจ ความห่วงใย และกำลังทรัพย์ เพื่อความสำเร็จของการศึกษาและปัญหาพิเศษฉบับนี้

จีราพร จันทสิทธิ์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

47330137 : สาขาวิชา : เทคโนโลยีทางทะเล; วท.บ. (เทคโนโลยีทางทะเล)

คำสำคัญ : แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ / น้ำทะเล / หอยนางรม

จีราพร จันทสิทธิ์ : การสำรวจแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ จังหวัดจันทบุรี (SURVEY OF PATHOGENIC *Vibrio* spp. IN SEAWATER AND OYSTERS FROM THA-CHALAP ESTUARY, CHANTHABURI PROVINCE) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ มลฤดี สนธิ, วท.ม., อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์ บัญชา นิลเกิด, วท.ม., 55 หน้า. พ.ศ. 2550.

จากการสำรวจปริมาณและชนิดแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนกุมภาพันธ์ เป็นเวลา 6 เดือน โดยใช้เทคนิค MPN (Most Probable Number) โดยเพาะเชื้อบนอาหาร APW จากนั้นแยกเชื้อบนอาหาร TCBS agar และเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันมาจำแนกสปีชีส์โดยใช้การทดสอบทางชีวเคมีที่เหมาะสม

จากผลการทดสอบทั้งในน้ำทะลและหอยนางรม พบปริมาณวิบริโอรวมสูงสุดในเดือนกรกฎาคม รองลงมาคือ สิงหาคม กันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน ธันวาคม และมกราคม ตามลำดับ นอกจากนี้พบวิบริโอทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. furnissii* และ *V. vulnificus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

47330137 : MARINE TECHNOLOGY; B.Sc. (MARINE TECHNOLOGY)

KEYWORDS : *VIBRIO* SP./ SEAWATER / OYSTERS

JEERAPORN JUNTASIT : SURVEY OF PATHOGENIC *Vibrio* spp. IN SEAWATER AND OYSTERS FROM THA-CHALAP ESTUARY, CHANTHABURI PROVINCE. SPECIAL PROBLEM ADVISOR: MOLRUEDEE SONTHI, M.Sc., SPECIAL PROBLEM CO-ADVISOR: BUNCHA NILKERD., M.Sc., 55 PAGES. 2007.

Pathogenic *Virio* spp. in seawater and oysters were collected from Tha-Chalap, Chanthaburi Province during July 2007 to February 2008 were enumerated by MPN (Most Probable Number) method. Samples were cultured in APW (Alkaline peptone water) followed by isolation on TCBS plates. Represent colonies were identified using biochemical tests.

The highest total *Vibrio* spp. was found in July, August, September, October, November, December and January, respectively. In addition, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. furnissii* and *V. valnificus* were also presence in both seawater and oysters.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ในการวิจัย..... 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

ขอบเขตของการวิจัย..... 2

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หอยนางรม..... 3

ลักษณะของแบคทีเรีย..... 3

โครงสร้างของแบคทีเรีย..... 4

รูปร่างของแบคทีเรีย..... 4

แบคทีเรียใน Family Vibrionaceae..... 5

โรคที่เกิดจากวิบริโอ..... 5

วิบริโอที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ..... 8

ความสำคัญระหว่างโฮสต์กับแบคทีเรีย..... 9

การดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ในน้ำ..... 9

ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียวิบริโอ..... 10

ความสามารถของการเกิดโรคของแบคทีเรีย..... 11

งานวิจัยและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง..... 13

3 วิธีการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี..... 16

พื้นที่ที่ทำการศึกษา..... 17

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
3	วิธีดำเนินการวิจัย (ต่อ)	
	แผนการเก็บตัวอย่างน้ำและหอยนางรม	17
	วิธีการทดลอง	17
	การเก็บตัวอย่างน้ำ	17
	การเก็บตัวอย่างหอยนางรม	18
	การตรวจหาปริมาณของเชื้อ *Vibrio* spp. โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN)	19
	การทดสอบขั้นยืนยันผล	20
	การจำแนกเชื้อ *Vibrio* spp. เบื้องต้น	20
	การจำแนกเพื่อยืนยันเชื้อ โดยการทดสอบ	20
	การคำนวณค่าปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรค	21
	การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ	21
	การวิเคราะห์ข้อมูล	22
4	การวิเคราะห์ผลการวิจัย	
	การศึกษาปริมาณของเชื้อวิบริโอรวม (Total *Vibrio* spp.) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN)	25
	ปริมาณเชื้อวิบริโอรวมในน้ำทะเล	25
	ปริมาณเชื้อวิบริโอรวม ในหอยนางรม	26
	การศึกษาชนิดของวิบริโอที่พบในน้ำทะเลและหอยนางรม	26
5	สรุปและอภิปรายผลการวิจัย	
	อภิปรายผลการวิจัย	29
	สรุปผลการวิจัย	30
	ข้อเสนอ	31
บรรณานุกรม		32
ภาคผนวก		
	ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	37
	ภาคผนวก ข สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	39
	ภาคผนวก ค การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี	41
	ภาคผนวก ง คุณภาพน้ำและปริมาณน้ำฝน	45

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

ภาคผนวก จ ภาพแสดงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อวิบริโอ..... 50

ประวัติย่อของผู้วิจัย..... 55

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2-1 แสดงลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคบน TCBS agar และการวินิจฉัยทางชีวเคมีเบื้องต้น..... 12

2-2 แสดงปฏิกิริยาชีวเคมีของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรค..... 12

3-1 กระชังเลี้ยงหอยนางรม ปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี..... 17

3-2 แสดงค่าดัชนีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number) และความเชื่อมั่น 95% ของหลอดที่ให้ผลบวกเมื่อใช้ระบบ 3 หลอด ของน้ำที่ตรวจวิเคราะห์ 10, 1, 0.1 มิลลิลิตร..... 22

3-3 แสดงค่าเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number) ต่อกรัม (MPN/g.) สำหรับชุดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เมื่อเพาะตัวอย่างที่ความเจือจางต่างกัน 3 ระดับคือ 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ในอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 23

ง-1 แสดงอุณหภูมิ pH ความเค็ม DO และความโปร่งใสของตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บในบริเวณเพาะเลี้ยงหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบอำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงเดือนภุมภาพันธ์ 2551 โดยการใช้เครื่องมือตรวจวัด ภาคสนาม..... 44

ง-2 แสดงแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท บีโอดีและฟอสเฟตของตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บในบริเวณเพาะเลี้ยงหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือน กรกฎาคมถึงเดือนภุมภาพันธ์ 2551 โดยการวัดในห้องปฏิบัติการ..... 45

ง-1 ปริมาณน้ำฝนของจังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2550 ถึงมกราคม 2551..... 47

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	แสดงการแกะเปลือกหอยนางรม	18
2-2	เนื้อหอยนางรมที่แกะเปลือกออกแล้ว	18
2-3	แผนภาพแสดงจุดเก็บตัวอย่างหอยนางรมและตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี	21
4-1	แสดงปริมาณของ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเลและหอยนางรมในแต่ละเดือน	26
4-2	แสดงปริมาณของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในน้ำทะเล	28
4-3	แสดงปริมาณของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในหอยนางรม	29
จ-1	แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ	51
จ-2	แสดงเส้นทางปล่อยน้ำเสียจากชุมชน	51
จ-3	แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียวิบริโอ	52
จ-4	แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS	52
จ-5	แสดงการเกิดฟองก๊าซใน catalase test ของโคโลนีสีเหลือง	53
จ-6	แสดงการผลิตเอนไซม์ Cytochrome oxidase ของเชื้อ *Vibrio alginolyticus*	53
จ-7	ลักษณะโคโลนีของเชื้อวิบริโอที่เจริญบน TCBS	54

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันหอยนางรมกำลังเป็นที่นิยมในการบริโภคกันอย่างแพร่หลาย จัดเป็นหอยเศรษฐกิจที่มีการจัดจำหน่ายตามท้องตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ การเลี้ยงหอยนางรมในประเทศไทยเริ่มขึ้นเป็นครั้งแรกที่ปากน้ำแขมหนู ตำบลคลองขุด อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี ในปีพุทธศักราช 2485 (กรมประมง 2493; วิชัย ถุงเงิน , 2499 อ้างถึงใน คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) สายพันธุ์ที่เลี้ยงเป็นหอยนางรมพันธุ์เล็กหรือที่เรียกว่าหอยนางรมปากจีบ *Saccostrea cuculata* ซึ่งเดิมเคยใช้ชื่อว่า *Saccostrea commercialis* ส่วนในภาคใต้มีการเลี้ยงหอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่เรียกว่า หอยตะโกรมกรามขาว (*Crassostre belcheri*) ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และระนอง (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) ซึ่งการเลี้ยงหอยนางรมสามารถเลี้ยงได้ง่าย โตเร็ว ไม่ต้องดูแลเอาใจใส่ โดยปล่อยให้หอยเจริญเติบโตเองได้ ชอบเกาะในพื้นที่ที่แข็ง ๆ สามารถเลี้ยงได้โดยวิธี เกาะไว้กับก้อนหิน ในกระบะไม้ แท่งซีเมนต์ การเลี้ยงแบบแขวน เป็นต้น ซึ่งการเลี้ยงหอยนางรมแบบแขวนเป็นที่นิยมมากโดยจะแขวนไว้บริเวณแม่น้ำที่เป็นน้ำกร่อยเนื่องจากหอยนางรมเจริญได้ดีในน้ำกร่อยมากกว่าในน้ำทะเลล้วน ๆ น้ำก็จะไหลผ่านตลอดเวลา บริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบก็เป็นแหล่งที่มีการเลี้ยงหอยนางรมกันมากแห่งหนึ่ง ซึ่งเป็นการเลี้ยงแบบแขวนโดยแขวนลูกหอยนางรมเป็นพวงติดกับหลักที่ปักไว้บริเวณที่มีน้ำท่วมถึง เนื่องจากบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบมีชุมชนบ้านเรือนค่อนข้างหนาแน่น ดังนั้นน้ำทะเลดังกล่าวอาจได้รับอิทธิพลของน้ำเสียจากบ้านเรือน ทำให้คุณภาพน้ำทะเลเปลี่ยนไป และยังอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสะสมของเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อวิบริโอที่ก่อโรคในหอยนางรม ซึ่งในปัจจุบันประชาชนนิยมรับประทานหอยนางรมดิบกันมากขึ้นจึงอาจเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคเนื่องจากแบคทีเรียในสกุลวิบริโอ ได้ เนื่องจากหอยนางรมจัดเป็นหอยที่มีการกินอาหารโดยการกรองน้ำ ดังนั้นถ้าเลี้ยงอยู่ในน้ำทะเลที่คุณภาพไม่ดีจะมีโอกาสสะสมเชื้อวิบริโอสายพันธุ์ก่อโรคไว้ในตัวได้ (Sun และ Oliver, 1994 อ้างถึงในกนกลดา เรืองบุญ, 2544) สปีชีส์ของวิบริโอ มีมากกว่า 3 สปีชีส์ แต่เชื้อที่สามารถก่อโรคที่สำคัญที่สุดต่อมนุษย์ได้แก่ *Vibrio cholerae* ทำให้เกิดอาการท้องร่วง *Vibrio palahaemolyticus* ทำให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ ปวดท้อง มีไข้ และถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีเลือดหรือเมือกปนเล็กน้อย *Vibrio vulnificus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ทำให้ติดเชื้อที่บาดแผล โลหิตเป็นพิษ (septicemia) อย่างรุนแรง *Vibrio alginolyticus* เป็นเชื้อก่อโรคอ่อนๆ มักติดเชื้อที่บาดแผลที่สัมผัสกับน้ำทะเล มีอาการของเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายในการสำรวจชนิดและปริมาณแบคทีเรียวิบริโอที่สามารถก่อโรคในมนุษย์ได้ซึ่งทำการศึกษาในหอยนางรมและน้ำทะเลบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ จังหวัดจันทบุรี โดยเทคนิค MPN (Most Probable Number) ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของปริมาณเชื้อวิบริโอในหอยนางรม ซึ่งอาจนำไปสู่การป้องกันการแพร่กระจายเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้และเป็นการส่งเสริมพฤติกรรมการบริโภคของมนุษย์อีกทางหนึ่งด้วย

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. เพื่อสำรวจปริมาณแบคทีเรียวิบริโอในน้ำทะเลและหอยนางรม
2. เพื่อสำรวจชนิดและปริมาณของแบคทีเรียวิบริโอที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการป้องกันการแพร่กระจายของแบคทีเรียก่อโรคชนิดนี้ในแหล่งน้ำและสัตว์น้ำได้
2. ทราบเกี่ยวกับชนิดและปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบในหอยนางรม
3. สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในด้านการส่งเสริมพฤติกรรมการบริโภคหอยนางรมของมนุษย์

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในหอยนางรมและน้ำทะเลบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ในช่วงเดือนกรกฎาคม 2550 ถึงเดือนมกราคม 2551

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หอยนางรม

ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Saccostrea cucullata* (หอยนางรมปากจีบ) และชื่อสามัญคือ oyster หอยนางรมเป็นหอยสองฝาซึ่งฝาทั้งสองมีขนาดไม่เท่ากัน คือด้านที่มีเนื้อจะเว้าลึกลงไปคล้ายรูปถ้วย หรือจานและยึดติดกับวัตถุที่แข็งเช่น ก้อนหิน ไม้หลัก หรือเปลือกหอยจมอยู่ในทะเล ส่วนฝาปิดอีกด้านหนึ่งแบนบาง ขนาดความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เปลือกหอยนางรมประกอบด้วยหินปูน 95 % ส่วนในภาคใต้มีการเลี้ยงหอยนางรมพันธุ์ใหญ่ที่เรียกว่า หอยตะโกรมกรามขาว ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และระนอง (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544) หอยนางรมดำรงชีวิตอยู่ได้โดยการดูดน้ำรอบๆตัวเข้าไปทางด้านหนึ่งและปล่อยทิ้งออกอีกด้านหนึ่ง อาหารและก๊าซออกซิเจนจะเข้าไปพร้อมกับน้ำ หอยนางรมกินอาหารแบบกรองกิน (filter feeder) อาหารของหอยนางรมได้แก่แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ที่ล่องลอยอยู่ในน้ำ

หอยนางรมที่พบในประเทศไทยจะวางไข่ตลอดปี จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิด และแหล่งที่อยู่ เนื่องจากผลผลิตของหอยนางรมส่วนใหญ่จะเก็บได้จากธรรมชาติ

ลักษณะของแบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะโครงสร้างอย่างง่าย ๆ มีเซลล์ที่มีลักษณะแบบ procaryoic cell (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) คือ เป็นเซลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nucleus mambrane) และนิวคลีโอพลาซึม (nucleoplasm)ของแบคทีเรียไม่แยกออกจากไซโทพลาซึม (cytoplasm) ซึ่งเป็นข้อแตกต่างจากยูคาริโอต (eucaryote) (ดวงพร ดันธโชติ, 2545) การแบ่งเซลล์ของ procaryotes จะมีขั้นตอนของ meiosis และ mitosis ด้วย แต่การแบ่งเซลล์ของ procaryotes เป็นแบบ binary fission คือแบ่งจากหนึ่ง ไปเป็นสองไปเรื่อย ๆ เท่านั้น ซึ่งแบคทีเรียสามารถอาศัยอยู่ทั้งในน้ำและบนบก แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในน้ำจะเป็นแบคทีเรียพวก *Vibrio* spp. เป็นแบคทีเรียที่มีการดำรงชีวิตแบบคีโมเฮทเทอโรทรอฟหรือคีโมออแกโนทรอฟ (Chemoheterotrop or Chomoorgranotrop)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โครงสร้างของแบคทีเรีย

1. แฟลกเจลลา (flagella) เป็นรยางค์มีลักษณะคล้ายขนยื่นออกมานอกผนังเซลล์ มีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถมองเห็นด้วย ต้องย้อมสีพิเศษที่จะช่วยให้ติดสีที่แฟลกเจลลา คือช่วยในการเคลื่อนที่ ส่วนอัตราในการเคลื่อนที่จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับขนาดของเซลล์และชนิดของแฟลกเจลลา เช่น *Vibrio cholerae* เคลื่อนที่เร็ว 55 ไมครอนต่อวินาที (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534)

2. ฟิมเบรียหรือพิไล (fimbriae or pili) ฟิมเบรียหรือพิไลมีลักษณะคล้ายกันมาก โดยฟิมเบรียจะมีสักษณะเป็นขนคล้ายกับแฟลกเจลลา แต่มีขนาดเล็กกว่า มีจำนวนมากกว่า และไม่มีเป็นคลื่นแบบแฟลกเจลลา จึงไม่มีหน้าที่ในการเคลื่อนที่ ซึ่งหน้าที่ของฟิมเบรียยังไม่ทราบแน่ชัด ส่วนพิไล นั้นมีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับฟิมเบรีย แต่มีขนาดยาวกว่า และมีจำนวนน้อยกว่า มีหน้าที่เป็นตัวรับจำเพาะ (specific receptor) ของไวรัสบางชนิด และมีส่วนร่วมในกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของแบคทีเรีย

3. แคปซูล (capsule) มีลักษณะเป็นสารเหนียวคล้ายเจลเคลือบหรือปกคลุมเซลล์ มักทำให้โคโลนีมีลักษณะเป็นเมือกเยิ้ม แคปซูลจะมีในแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น ซึ่งแคปซูลสามารถทำให้แบคทีเรียทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ และยังเป็นที่แหล่งสะสมอาหารและที่เก็บของเสียของเซลล์อีกด้วย

4. ผนังเซลล์ (cell wall) เป็นโครงสร้างที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียคงรูปร่างอยู่ได้ ผนังเซลล์ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้เซลล์แตก เป็นที่สำหรับให้แฟลกเจลลาในการยึดเกาะ ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตต่อไปของแบคทีเรีย (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544) ซึ่งผนังเซลล์เป็นส่วนที่สำคัญในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

รูปร่างของแบคทีเรีย

รูปร่างของแบคทีเรียมีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปกลม รูปไข่ รูปทรงกระบอกหรือเกลียว ซึ่งโดยทั่วไปมีการจำแนกรูปร่างของแบคทีเรียออกเป็น 3 แบบ ได้แก่

1. ทรงกลม (coccus) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ อาจอยู่เป็นเซลล์เดียว ๆ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ และอาจอยู่กันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น

2. ทรงกระบอก (bacillus) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปท่อน บางชนิดเป็นท่อนสั้น ๆ บางชนิดเป็นท่อนยาว

3. แบบเกลียว (spirillum) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อนยาวหรือท่อนสั้นแต่จะโค้งงอ แบคทีเรียบางชนิดมีรูปร่างไม่แน่นอน เปลี่ยนแปลงได้หลายแบบที่เรียกว่า pleomorphic เนื่องจากไม่มีผนังเซลล์ที่ทำให้เซลล์คงรูปร่างอยู่ได้ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แบคทีเรียใน Family Vibrionaceae

แบคทีเรีย *Vibrio* spp. จัดอยู่ใน Family Vibrionaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) รูปร่างแบบ comma-shaped หรือ vibrioid เซลล์มีการเคลื่อนที่อย่างเร็วด้วย polar flagella มีการดำรงชีวิตแบบ chemoorganotroph ใช้ น้ำตาลกลูโครส (glucose)เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก เป็น facultative และเป็น normal microbriota ในสัตว์น้ำที่มีความเค็ม น้ำกร่อย บริเวณปากแม่น้ำ Facultative anaerobic type เจริญได้ทั้งในที่มีและไม่มีออกซิเจน เนื่องจากสามารถเปลี่ยนแปลงระบบเมตาบอลิซึมของตังเองได้ แต่โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์พวกนี้เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนมากกว่าในที่ไม่มีออกซิเจน (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534)

แบคทีเรียใน Family Vibrionaceae นี้ประกอบด้วย 5 Genura ได้แก่ *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Plesinomonas* และ *Enhydrobacter* (Genura ใหม่ใน Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology ฉบับรวม อ้างถึงใน ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัย, 2547)แต่มี 3 Genura ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในคน คือ *Vibrio Aeromonas* และ *Plesinomonas* การติดเชื้อส่วนใหญ่ที่เกิดจาก *Vibrio* spp. ทำให้เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับทางเดินอาหารตั้งแต่อหิวาตกโรคจนถึงโรคท้องร่วง นอกจากนี้ *Vibrio* หลายสปีชีส์ยังแยกจากการติดเชื้อและเนื้อเยื่อและจากเลือด (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

โรคที่เกิดจาก *Vibrio* spp.

ซึ่งนงลักษณ์ สุวรรณพินิจ (2547) กล่าวไว้ว่า สปีชีส์ของวิบริโอมีมากกว่า 30 สปีชีส์ แต่เชื้อที่สามารถก่อโรคที่สำคัญที่สุดต่อมนุษย์มีดังนี้

1. *Vibrio cholerae* มีลักษณะเป็นท่อนโค้ง สั้น ขนาด 0.5 ไมโครเมตร X 1.5-30 ไมโครเมตร ติดสีแกรมลบ ถ้าเลี้ยงบนอาหารแข็งไปนาน ๆ รูปร่างเชื้อจะเปลี่ยนเป็นท่อนตรง เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาเส้นเดียวที่อยู่ตรงขั้วเซลล์ ไม่สร้างสปอร์ เชื้อถูกทำลายด้วยความร้อน 55 องศาเซลเซียส 10 นาที และยาฆ่าเชื้อ ไม่ทนต่อความแห้งและความเป็นกรด ถ้าหยดเชื้อไว้บนสไลด์เชื้อจะตายภายใน 2 ชั่วโมง แต่ทนต่อความเย็นและความชื้นได้ *Vibrio cholerae* เป็นพวกที่ชอบออกซิเจน (strongly aerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ตั้งแต่ 16-32 องศาเซลเซียส สามารถเลี้ยงได้ในสภาพ pH ตั้งแต่ 6.4-9.6 และชอบเจริญที่ pH เป็นเบส คือ 7.8-8.0 ความสามารถที่ทนต่อเบสได้ จึงใช้ในการคัดเลือกเชื้อ

1.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Vibrio cholerae สมารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 7.4-9.6 แต่จะไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 6.8 โคโลนีของ *Vibrio*

cholerae บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar เชื้อจะให้โคโลนีสีเหลือง (ดังตารางที่ 1) ทึบแสง กลม ขอบเรียบ ขนาด 2-3 มิลลิลิตร

1.2 ลักษณะทางชีวเคมี

Vibrio cholerae สามารถหมักย่อยกลูโคส มอลโทส แมนโนส ซูโคส และแมนนิทอลให้กรดแต่ไม่มีก๊าซ เชื้อให้ผลบวกต่ออินโดลและสามรถรีดิวส์ไนเตรท์เป็นไนไตร์ได้ สามารถแยก *Vibrio cholerae* ออกจาก *Vibrio* สปีชีส์อื่น ๆ ได้โดยเชื้อสามรถเจริญได้ใน Nutrient broth ที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ ให้ผลลบต่อการทดสอบการผลิตอาร์จีนีนดีไฮโดรเลส แต่ให้ผลบวกต่อการผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลสและออร์นิทีนดีคาร์บอกซิเลส และแยกจาก *Vibrio mimicus* ซึ่งมีลักษณะทางชีวเคมีที่คล้ายกันโดย *Vibrio cholerae* หมักย่อยซูโครสได้ (Holt และคณะ, 1994 อ้างถึงในกนกลดา เรืองบุญ, 2544)

2. *Vibrio parahaemolyticus* เป็นฮาโลฟิลิกแบคทีเรีย (halophilic bacteria) ที่ทำให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบรุนแรง หลังจากการกินอาหารทะเลดิบ ๆ เช่น ปลา กุ้ง หอย เข้าไป โดยมีระยะฟักตัว 12-24 ชั่วโมง จะเกิดอาหารคลื่นไส้ อาเจียน ปวดศรีษะ ปวดท้อง มีไข้ และถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีเลือดหรือเมือกปนเล็กน้อย

2.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เจริญบน TCBS agar ให้โคโลนีสีเขียว นูน ตรงกลางโคโลนีทึบ ขนาด 3-4 มิลลิลิตร ต้องการเกลือในการเจริญเติบโต จะไม่เจริญในอาหารที่ไม่โซเดียมคลอไรด์และสามารถเจริญในอาหาร APW ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 6-8 % แต่ไม่เจริญทีมีโซเดียมคลอไรด์ 10% (ดังตารางที่ 2)

2.2 ลักษณะทางชีวเคมี

V. parahaemolyticus ให้ผลบวกต่อต่อการผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส ซึ่งสามารถแยกจากสปีชีส์อื่นได้และ *V. parahaemolyticus* ไม่หมักย่อยซูโคส ซาลิซิน เซลโลไบโอส และส่วนมากหมักย่อยอาราบิโนส (พิพัฒน์ ศรีเบญจลักษณ์และอรุณลักษณ์ ลุสิตานนท์, 2540) *V. parahaemolyticus* คล้ายกับ *V. cholerae* ทั้งด้านโครงสร้างและสมบัติการย้อมสี เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวและในอาหารที่ pH 8.5 หรือมากกว่า จะสร้างแฟลกเจลลาเส้นเดียว (sheathed flagella) แต่ถ้าเลี้ยงบนอาหารแข็งจะสร้างแฟลกเจลารอบตัว (unsheathed peritrichos flagella) เจริญได้ดีที่สุดในสภาพเป็นเบสระหว่าง pH 7.6-9.0

3. *Vibrio vulnificus* เป็น *Vibrio* ในน้ำทะเลที่เฟอร์เมนแลกโทสได้ และทำให้เกิดโรคกับคน การติดเชื้อมักเกิดในฤดูร้อนที่เชื้อเพิ่มขึ้นได้ดี ทำให้เกิดโรคกับคนได้ 3 ลักษณะ คือ

1) การติดเชื้อที่บาดแผล (wound infection) ที่มีการลุกลามอย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) การติดเชื้อเนื่องจากการสัมผัสกับน้ำทะเล โดยมีอาการบวม ร้อนแดงที่ผิวหนัง เจ็บปวด และอาจกลายเป็นตุ่ม จนเกิดอาการเนื้อตาย (necrosis)ได้

2) เกิดอาการโลหิตเป็นพิษ (septicemia) อย่างรุนแรง หลังจากการติดเชื้อที่ผิวหนัง ซึ่งมีอัตราการตายสูงและมากกว่า 50 % ของคนที่เกิดอาการโลหิตเป็นพิษจะตาย การเกิดโรคนี้เนื่องมาจากการกินอาหารทะเลดิบ ๆ โดยเชื้อจะผ่านเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองที่ลำไส้ โดยมีอาการไม่สบาย มีไข้ หนาวสั่น อ่อนเพลียมาก คนไข้ 20-40 % ที่มีเชื้ออยู่ในเลือดหรือในเนื้อเยื่อจะมีอาการอาเจียน ท้องร่วง ความดันต่ำ

3) อาการท้องร่วงรุนแรง หลังจากกินอาหารทะเลเข้าไป โดยปรกติไม่ค่อยพบอาการแบบนี้ และอัตราการน้อยมาก ความเชื้อรุนแรงเกี่ยวข้องกับการมีแคปซูล ซึ่งทำให้เชื้อทนต่อการถูกฟาโกไซโทซิสและการทำลายของซีรัมได้ เชื้อสร้างทอกซินหลายชนิดทำทำลายเนื้อเยื่อ เช่น คอลลาเจเนส ไซโททอกซิน เป็นต้น

3.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เชื้อ *Vibrio vulnificus* เจริญบน TCBS agar ให้โคโลนีสีเขียว

3.2 ลักษณะทางชีวเคมี

Vibrio vulnificus ต้องการเกลือในการเจริญและอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *V. palahaemolyticus* ซึ่งให้ผลบวกต่อการผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส ให้ผลลบต่อการผลิตอาร์จีนินดีไฮโรเลส แต่แยกจากสปีชีส์อื่นๆจากกลุ่มได้โดยเชื้อหมักย่อยซาลิซินและเซลโลไบโอส (ดังตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังดื้อต่อโคลิสติน แต่ไวต่อแอมพลิซิลินและคาร์เบนนิซิลลิน ซึ่งแตกต่างจากสปีชีส์อื่น ๆ ในกลุ่ม

4. *Vibrio alginolyticus* เป็นเชื้อก่อโรคอ่อนๆ มักติดเชื้อที่บาดแผลที่สัมผัสกับน้ำทะเล มีอาการของเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) อ่อน ๆ มีรายงานน้อยมากถึงการติดเชื้อที่ตา หู และทางเดินอาหาร

4.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Vibrio alginolyticus เดิมจัดเป็น *V. palahaemolyticus* biotype 2 เป็นพวกฮาโลฟิลิก เจริญในที่มีคลอไรด์ 10 % เจริญได้ดีใน TCBS ให้โคโลนีขนาดใหญ่สีเหลือง (เฟอร์เมนต์ซูโครสได้) **ดังตารางที่ 2-2**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.2 ลักษณะทางชีวเคมี

V. alginolyticus แยกออกจากสปีชีส์อื่นในกลุ่มได้โดยให้ผลบวกต่อ Voges-Proskauer หมักย่อยซูโคส แต่ไม่หมักย่อยอาราบิโนส แล็คโทส ซาลิซินหรือเซลโลไบโอส และส่วนมากเชื้อจะเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมคลอไรด์ 8-10 %

5. *Vibrio damsela* เป็น *V ibrio* ในทะเลที่พบในแถบร้อน ทำให้เกิดการติดเชื้อที่บาดแผลรุนแรงได้

Vibrio fluvialis เดิมเรียกว่า *Vibrio* group F หรือ EF-6 ปัจจุบันมีสายพันธุ์หนึ่งที่แยกออกมาเป็นสปีชีส์ใหม่ คือ *V. furnissii* และ *Vibrio* fluvialis พบครั้งแรกเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง ในปลายปี ค.ศ. 1970 และมีรายงานว่ามีการระบาดโรคในบังกลาเทศในปี ค.ศ. 1980

5.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เชื้อ *Vibrio fluvialis* ให้โคโลนีสีเหลืองบน TCBS agar **ดังตารางที่ 2-1**

5.2 ลักษณะทางชีวเคมี

เกิดก๊าซในการหมักย่อยน้ำตาล **ดังตารางที่ 2-1**

6. *Vibrio hollisae* เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในเลือดและท้องร่วง โรคนี้มีอาการอาเจียน ท้องร่วง มีไข้และปวดท้อง

7. *Vibrio mimicus* ทำให้เกิดท้องร่วงหลังจากกินหอยนางรมดิบ ๆ แต่ก็มีรายงานว่าเกิดการติดเชื้อที่หูได้

7.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เชื้อ *V. mimicus* ให้โคโลนีสีเหลืองบน TCBS agar **ดังตารางที่ 2-1**

7.2 ลักษณะทางชีวเคมี

เชื้อสามารถหมักย่อยได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ หมักย่อยซาลิซินได้

วิบริโอที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ

Vibrio spp. ที่ก่อโรคในสัตว์น้ำได้แก่ *Vibrio anguillarum* ก่อให้เกิดโรค red boil ในปลาไหลและปลาไพค์ (pike) ปลาที่ป่วยอาการมีจุดเลือดบริเวณปาก กระพุ้งแก้ม บริเวณผิวตัว ด้านท้องทั้งหมดและด้านบนของครีบอก *Vibrio harveyi* ก่อให้เกิดโรคเรืองแสง โรคเพชรพลอยในสัตว์จำพวกกุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกรามในช่วงลูกกุ้งวัยอ่อน อาการของลูกกุ้งจะอ่อนแอไม่ว่ายน้ำไม่กินอาหาร *Vibrio vulnificus* ก่อให้เกิดโรคเสี้ยนดำ โรคจุดดำ ในกุ้งกุลาดำ อาการจะพบจุดหรือเสี้ยนดำหรือน้ำตาลตำแหน่งใต้เปลือก ทำให้มีปัญหาต่อการขายให้แก่ผู้บริโภคได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์, 2538) และนอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของโรควิบริโอซิสในหอยโดยเฉพาะตัวอ่อนของหอยนางรม หอยเป๋าฮื้อ และหอยกาบคู่ จะทำให้มีอัตราการตายสูงมาก เนื่องจากเนื้อเยื่อหอยจะถูกทำลายทั้งโดยตรงและจากท็อกซินที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมา (Sindermann and Lightner, 1988 อ้างถึงใน ประดิษฐ์ ชื่นชอบ, 2548)

ความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์กับแบคทีเรีย

สารอาหารและแหล่งพลังงานของแบคทีเรีย *Vibrio* spp. จะดำรงชีวิตโดยอาศัยแหล่งพลังงานแบบคีโมเฮทเทอโรทรอฟ (Chemoheterotrop or Chomoorgranotrop) คือแบคทีเรียที่ดำรงชีพโดยอาศัยพลังงานและแหล่งคาร์บอนจากแหล่งที่มีสารประกอบอินทรีย์ (organic compound) แบคทีเรียส่วนใหญ่ดำรงชีพโดยวิธีนี้

แบคทีเรียมีทั้งที่พบตามธรรมชาติ ดำรงชีวิตแบบอิสระ (saprophyte) แบบอยู่ร่วมกันกับสิ่งมีชีวิตอื่นและให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน (mutualism) อยู่ร่วมกันแบบได้รับประโยชน์ฝ่ายเดียวอีกฝ่ายไม่ได้ประโยชน์หรือโทษ (commensalism) แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในร่างกายคนและสัตว์และในพืชในภาวะปกติและมีประโยชน์ (normal microbiota) นอกจากนี้ยังมีพวกปรสิต (parasite) ซึ่งมีชีวิตร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นแบบเบียดเบียน และพวกก่อโรค (pathogen) (ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัย, 2547) ซึ่งแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เป็นเชื้อที่อยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นแบบเบียดเบียนและทำให้ก่อโรคในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ด้วย

ดังนั้นอาจแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 ประเภท คือ พวกก่อโรค (strict pathogens) พวกไม่ก่อโรค (nonpathogens) และพวกฉวยโอกาสเกิดโรค (opportunistic pathogens) เชื้อก่อโรคคือเป็นเชื้อที่เกี่ยวข้องและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค พวกเชื้อไม่ก่อโรคคือเชื้อประจำถิ่นในร่างกายคนและสัตว์ แต่บางครั้งสามารถทำให้เกิดโรคได้ เช่น *Escherichia coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อยู่ในลำไส้ของคนปกติ แต่อาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ และเชื้อฉวยโอกาสก่อโรคในคนที่ภูมิคุ้มกันของร่างกายผิดปกติ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

การดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ในน้ำ

การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ ซึ่งต้องอาศัยปัจจัยที่สำคัญคือ ปัจจัยด้านปริมาณและความเป็นประโยชน์ของอาหารกับด้านปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีความปกติ ซึ่งปัจจัยด้านอาหารเป็นเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลมากที่สุดของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์มีการเจริญ

เติบโตขึ้นมาในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ซึ่งแต่ละสภาพแวดล้อมก็จะมีจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีการปรับตัวให้ทนทานกับสภาพแวดล้อมดังกล่าว บริเวณปากน้ำมีจุลินทรีย์ปริมาณสูงมาก เพราะน้ำจืดและน้ำเค็มมาผสมกันแต่ปริมาณต่ำมากบริเวณทะเลเปิดประมาณ 1- 100 เซลล์/มิลลิลิตร (ดวงพร คันธโชติ, 2545)

ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย *Vibrio* spp.

จากการดำรงชีวิตของแบคทีเรียที่ได้กล่าวไว้เบื้องต้น แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของอาหารและสภาพแวดล้อมต่อจำนวนและกิจกรรมของแบคทีเรีย ซึ่งมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมของน้ำดังนี้

1. อาหาร เป็นแหล่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต การมีชีวิตอยู่ และการแบ่งเซลล์ ซึ่งสารอาหารที่แบคทีเรียต้องการซึ่งอาจแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรีย ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นต้น

2. พลังงาน เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์ และใช้ในกระบวนการเคลื่อนที่ และการส่งผ่านสารอาหารจากภายนอก เข้าสู่เซลล์ภายใน ซึ่งพลังงานจะได้จากสิ่งแวดล้อมที่เซลล์นั้นอาศัยอยู่ ส่วนแบคทีเรีย *Vibrio* sp. จะได้พลังงานจากสารประกอบอินทรีย์

3. น้ำเป็นแหล่งสารอาหารที่เซลล์นำเข้าสู่ภายใน และของเสียที่เกิดขึ้นและที่ต้องการปล่อยออกสู่ภายนอก ซึ่งแบคทีเรียจะเจริญเติบโตได้จะต้องการน้ำในปริมาณมาก แบคทีเรียต่างชนิดกันจะสามารถทนต่อการอยู่รอดภายใต้สภาวะขาดน้ำได้ดีไม่เท่ากัน (เสาวนีย์ ธรรมสถิติ, 2547) ซึ่งแบคทีเรียมีกระบวนการพิเศษที่เกิดขึ้นเพื่อช่วยให้เซลล์ทนต่อช่วงที่น้ำลงเป็นเวลานาน ๆ ได้

4. อุณหภูมิ แบคทีเรียมีความต้องการอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (optimum growth temperature) ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อปฏิกิริยาทางเคมีภายในเซลล์ ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิสูง ๆแต่บางชนิดบางชนิดสามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิต่ำ ๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมจะแตกต่างกันไปสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด แบคทีเรียที่เติบโตในช่วงอุณหภูมิ 15-45 °C ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งพวกที่สามารถก่อโรคในคน สัตว์ และพืช อุณหภูมิมีผลมากต่อการกระจายของแบคทีเรียในแหล่งน้ำ และมีผลต่อความหนาแน่นของน้ำ

5. pH แบคทีเรียจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH 7 ซึ่งเป็นกลาง โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจืดสามารถเจริญที่ pH 6.5- 8.5 ขณะที่ pH ของน้ำทะเล คือ 7.5- 8.5

และ pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ในทะเล 7.2 – 7.6 ขณะที่ในทะเลสาบและแม่น้ำ ค่า pH จะอยู่ในช่วงที่กว้างกว่าขึ้นกับสภาวะสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้น (ดวงพร คันธโชติ, 2545)

6. Oxygen ซึ่งแบคทีเรียมีความต้องการออกซิเจน เพื่อใช้ในการสร้างพลังงานแบบ oxidative

ความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรีย

ความสามารถในการเกิดโรคของแบคทีเรียนั้นต้องเกิดจากการติดเชื้อและกลไกต่าง ๆ ซึ่งกำหนดด้วยปัจจัยที่ส่งเสริมให้แบคทีเรียส่งผลต่อโฮสต์ที่มันอาศัยอยู่ด้วย และสามารถต่อต้านกลไกการป้องกันตัวเองโฮสต์ ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคมีดังนี้

1. ปัจจัยที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์เอง ได้แก่ ความรุนแรงของเชื้อ การบุกรุกของเชื้อ บริเวณที่เชื้อบุกรุก ปริมาณของเชื้อที่บุกรุก เป็นต้น

2. ปัจจัยที่เกิดจากสภาพร่างกายของโฮสต์เอง ได้แก่ การมีบาดแผล ความเครียด การหลั่งฮีสตามีน (histamine) การอักเสบ

3. ปัจจัยที่เกิดจากเซลล์ของโฮสต์ ได้แก่ กระบวนการฟาโกไซโทซิส (plagocytosis) เป็นแมคโครเฟจ (macrophage) และโพลิเมอร์นิวเคลียร์ลิวโคไซต์ (polymorphonuclear leucocyte) และลิมโฟไซต์ (lymphocyte)

ตารางที่ 2-1 แสดงลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคบน TCBS agar และการวินิจฉัยทางชีวเคมีเบื้องต้น

สีโคโลนีบนTCBS	Oxidase	TSI				LIM			เชื้อที่สงสัย
		Slant	Butt	H_2S	Gas	Lys	Ind	Mot	
สีเหลือง	+	A/K	A	-	-	+	+	+	*V. cholerae*
	+	A	A	-	-	+	+	+	*V. alginolyticus*
	+	A	A	-	-	+	d	+	*V. fluvialis*
	+	A	A	-	+	+	d	+	*V. furnissii*
สีเขียว	+	K	A	-	-	+	+	+	*V. mimicus*
	+	K	A	-	-	+	+	+	*V.parahaemolyticus*
	+	K	A	-	-	+	+	+	*V. vulnificus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หมายเหตุ + = มากกว่าร้อยละ 90 ให้ผลบวก

- = มากกว่าร้อยละ 90 ให้ผลลบ

d = ปฏิกิริยาเป็นได้ทั้ง +/-

Lys = Lysine decarboxylase

TSI = Triple sugar iron agar

K = alkaline

A = acid

Mot = Motality

Ind = Indole

LIM = Lysin Indole motility medium

ตารางที่ 2-2 แสดงปฏิกิริยาชีวเคมีของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรค

Characteristic	*Vibrio cholerae*	*Vibrio palahaemolyticus*	*Vibrio vulnificus*	*Vibrio alginolyticus*
Oxidase	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+(-)
Voges-Proskauer	+(-)	-	-	+
Simmon citrate	+(-)	+	+	+(-)
Decarboxylases				
Lysine	+	+	+	+
Ornithine	+	+	+	+(-)
Arginine dihydrolase	-	-	-	-
Fermentation of				
Sucrose	+	-	-	+
Lactose	(+)	-	+	-
L-Arabinose	-	+	-	-
D-Mannitol	+	+	+(-)	+
Moltose	+	+	+	+
Cellobiose	-	-	+	-
Salicin	-	-	+	-
Gas from glucose	-	-	-	-
Nitrate to nitrite	+	+	+	+
Gelatinase	+	+	+	+

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2-2 (ต่อ)

Growth in :				
0% NaCl	+	-	-	-
3% NaCl	+	+	+	+
6% NaCl	-	+	+(-)	+
10% NaCl	-	-	-	+

หมายเหตุ : +(-),ส่วนมากให้ผลบวก; -(+),ส่วนมากให้ผลลบ; (+) , ให้ผลบวกหลังจาก 3 วัน

(นง ลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

งานวิจัยและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

กนกลดา เรืองบุญ (2544) ได้ทำการสำรวจ *Vibrio* สปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณในอ่างศิลาและบางพระ จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม - กันยายน 2543 โดยวิธี MPN จากผลการวัดอุณหภูมิ pH และความเค็มของน้ำทะเลในช่วงการเก็บตัวอย่าง พบว่าทั้งสองแหล่งมีค่าใกล้เคียงกันมาก และพบว่า *Vibrio* สปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณในอ่างศิลาและบางพระคล้ายคลึงกัน กล่าวคือในน้ำทะเล บริเวณบางพระพบ *V. alginolyticus*, *V. palahaemolyticus*, *V. cholerae* และ *V. mimicus* และบริเวณบางพระยังพบ *V. fluvialis* ในหอยนางรมจากอ่างศิลา และ *V. furnisii* ในหอยนางรมจากบางพระจากการเปรียบเทียบหาปริมาณ *V. cholerae* โดยวิธี MPN พบว่าเมื่อเพิ่มขั้นตอนการเพาะเลี้ยงใน APW ที่ไม่มี NaCl จะทำให้พบ *V. cholerae* ในน้ำทะเลและหอยนางรมเพิ่มขึ้นจากเมื่อไม่มีขั้นตอนการเพาะเลี้ยงใน APW (Alkaline peptone water) ที่ไม่มี NaCl

ธิดาพร ฉวีภักดิ์ และคณะ (2549) ได้ทำการสำรวจ ปรสิต และแบคทีเรีย *Vibrio* spp.ในแม่กุ้งแชบ๊วย *Penaeus merguiensis* de Man, 1883 จากแหล่งธรรมชาติภาคตะวันออกพบว่าปริมาณของแบคทีเรีย *Vibrio* sp. ในตับ/ตับอ่อนของแม่กุ้งที่ตรวจพบในช่วง 3 ฤดู ปรากฏว่าปริมาณ *Vibrio* sp. กลุ่มสีเหลือง มีปริมาณต่ำสุดในฤดูหนาว 38.00% และมีปริมาณสูงสุดในฤดูร้อน 95.24% และลดลงในฤดูฝนเหลือ 66.32% ส่วน *Vibrio* spp. กลุ่มสีเขียวมีปริมาณสูงในฤดูหนาว 61.71% ในช่วงฤดูร้อนและฝนมีปริมาณ 2.18 และ 26.47% ตามลำดับ และ *Vibrio* เรืองแสงที่พบในฤดูหนาวมีปริมาณใกล้เคียงกับฤดูร้อน คือ 1.62 และ 2.70% และมีปริมาณสูงสุดในฤดูฝน 7.09%

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เพ็ญศรี บุญตามช่วย และโสภณ อ่อนคง (2548) ได้ทำการศึกษาปริมาณวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ในแหล่งน้ำที่มีการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในจังหวัดสตูล พบว่าปริมาณวิบริโอไม่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติของน้ำ คือ บีโอดี พีเอช ความเค็ม และอุณหภูมิ

มณีย์ กรรณรงค์ และ จินตนา โสภากุล (2543) ได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบการเจริญเติบโต การปนเปื้อนของแบคทีเรีย ในหอยตะโกรมกรามขาว, หอยตะโกรมกรามดำ และหอยนางรมปากจีบ บริเวณแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าการสะสมแบคทีเรียในเนื้อหอยทั้ง 3 ชนิด พบว่าหอยตะโ กรมกรามขาวมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในเนื้อหอยมากกว่าในหอยตะโกรมกรามดำและหอยนางรมปากจีบ ยกเว้น *Vibrio* spp. และ *V. palahaemolyticus* ที่พบว่าในหอยตะโกรมกรามดำพบในปริมาณที่สูงกว่าหอยนางรมตะโกรมกรามขาวและหอยนางรมปากจีบ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) กำหนดให้อาหารทะเลดิบพร้อมบริโภคมีแบคทีเรียไม่เกิน $1.0x10^{6}$ CFU/กรัม และ *V. parahaemolyticus* ไม่เกิน $1.0X10^{2}$ CFU/กรัม

Bilung *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในหอยแครง 100 ตัว จาก Tanjong Karang, Kuala Selangor โดยใช้เนื้อหอยที่บดละเอียด 25 กรัม ผสมกับสารละลายเปปโตน 225 มิลลิลิตร และทำการเจือจางที่ 10^{-5} โดยใช้วิธีนับ MPN (most probable number) แบบ 3 หลอด บ่มเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส 6 ชั่วโมง แล้วอีก 9 หลอด ใส่ polymixin 1 มิลลิลิตร และบ่มที่ 35-37 องศา นาน 6 ชั่วโมง และนำเชื้อมา streaked บน CHROM agar พบโคโลนีสีม่วงที่มีลักษณะแตกต่างกัน แล้วทดสอบด้วย tox R และวิธีนับแบบ MPN ซึ่งส่วนมากให้ผลเป็นบวก จึงต้องทำการยืนยันเชื้อด้วยวิธี PCR

Alam *et al.* (2002) ได้ศึกษาสาเหตุของการก่อโรคของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในทะเล เกาะ Seto ประเทศญี่ปุ่น พบว่าสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น คุณภาพน้ำ อาหาร ฤดูกาล ล้วนเป็นสาเหตุของการก่อโรคทั้งสิ้น โดยทำการนับเชื้อ *Vibrio* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) และเลี้ยงเชื้อในอาหารจำเพาะ (TCBS) และยืนยันยันผลด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ toxR primer สำหรับการค้นหาเซลล์เป้าหมาย ซึ่ง 107 เซลล์ของ DNA ให้ผลเหมือนกัน ซึ่งการนับแบบเอ็มพีเอ็น สามารถบ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำและอาหารบริเวณที่แบคทีเรียอาศัยอยู่ได้

Pang *et al.* (2006) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงพลวัตประชากรของแบคทีเรียรวมและเชื้อวิบริโอ ในการเลี้ยงร่วมกันของสาหร่ายกับหอยเป๋าฮื้อในระบบการเพาะเลี้ยง ได้คัดเลือกการเพาะเชื้อ *Vibrio cholerae* และ *Vibrio* สายพันธุ์อื่นๆ การผสม thymol bluebromothymol blue เป็นตัวชี้วัด จะเป็นการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเป็นสีเหลือง เมื่อเกิดการสร้างกรด จะมีโคโลนีเป็นสีเหลือง หรือ สีเขียว เมื่อผ่านไป 3 วัน ที่อุณหภูมิ 20 °C สำหรับการกำหนดระดับวิบริโอรวม ในน้ำเป็นน้ำตัวอย่าง 6 มิลลิลิตร น้ำตัวอย่างเดิมหรือเจือจาง 100 ไมโครลิตร แล้วเพิ่มจำนวนเชื้อโดยวิธี

spread plate เพื่อนับจำนวนโคโลนี บนอาหาร TCBS agar ซึ่งใช้เวลาการเพาะเชื้อ 3 วัน ที่ 20 °C ก่อนนับเชื้อ ระดับวิบริโอรวม และเปอร์เซ็นต์ชนิดโคโลนีเฉลี่ย โดยทำ 3 ซ้ำ ของน้ำตัวอย่างแต่ละชนิด ค่าแสดงเป็น CFU/ มิลลิลิตร ของน้ำทะเล ดูผลการตอบสนองจากสาหร่าย *Gracilaria tertoril* โดยดูการแพร่กระจายเชื้อ *Vibrio* บนอาหาร TCBS หลังจาก 3 ชั่วโมง จึงตรวจสอบหา *Vibrio nolaticus* (โคโลนีสีเหลือง) และ*Vibrio logei* (โคโลนีสีเขียว) โดยใช้การเปรียบเทียบการวิเคราะห์ยีน 16S rRNA จากการตรวจสอบเชื้อบริสุทธิ์ ของเชื้อ *Vibrio* ทั้ง 2 ชนิดพบว่าเชื้อบริสุทธิ์ของ *Vibrio* ทั้ง 2 ชนิด หาจากการวิเคราะห์ ยีน 16S rRNA ที่ใช้วิธี PCR วิเคราะห์ DNA ผลคือยีน 16S rRNA จะสร้างเชื้อโคโลนีสีเหลือง เป็น 98% และการสร้างโคโลนีสีเขียวเป็น 99% ของ *Vibrio alginolaticus* และ *Vibrio logei* ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างหอยนางรม

- ถุงสำหรับใส่ตัวอย่างหอยนางรม (ฆ่าเชื้อแล้ว)

1.2 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างน้ำ

- กระบอกเก็บตัวอย่างน้ำ (ฆ่าเชื้อแล้ว)
- ขวดใส่ตัวอย่างน้ำ (ฆ่าเชื้อแล้ว)

1.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์แบคทีเรียในหอยนางรม

- จานเพาะเชื้อ (Culture plate)
- แท่งแก้ว
- บีกเกอร์ (Beaker)
- ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
- ขวดรูปชมพู่ (Flask)
- กระบอกตวง (Cylinder)
- ออโตปิเปต (Autopipette)
- ทิป (Tip)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์

2. สารเคมี

- อาหาร APW (Alkaline peptone water ที่ pH 8.5 ± 2)
- อาหาร TCBS agar (Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar)
- 0.1% Peptone
- 1% NaCl
- Voges-Proskauer (VP)
- Triple Sugar Iron agar (TSI agar)
- Nitrate broth

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

- ONPG broth
- Oxidase reagent
- Andrade's indicator
- 5% Naphthol solution
- 40% potassium hydroxide
- Methyl red indicator solution
- Kovac' s solution

3. พื้นที่ที่ทำการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำและหอยนางรม แบ่งออกเป็น 5 สถานี ซึ่งมีตำแหน่งละติจูดและลองติจูด **ดังตารางที่ 3-1**

ตารางที่ 3-1 กระชังเลี้ยงหอยนางรม ปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี

station	Lat	Long
1	12° 32' 00.57" N	102° 03' 26.49" E
2	12° 31' 56.36" N	102° 03' 14.64" E
3	12° 31' 48.15" N	102° 03' 02.75" E
4	12° 31' 54.72" N	102° 02' 47.25" E
5	12° 32' 09.64" N	102° 02' 40.57"E

4. แผนการเก็บตัวอย่างน้ำ และหอยนางรม

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างหอยนางรม และตัวอย่างน้ำ เป็นเวลา 7 เดือน โดยนำมาเป็นตัวแทนในแต่ละเดือน โดยวิเคราะห์เดือนละ 1 ครั้ง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแบคทีเรีย

5. วิธีการทดลอง

5.1 การเก็บตัวอย่างน้ำ

5.1.1 การเก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้กระบอกเก็บน้ำ โดยเก็บเป็น 5 จุด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

- ทำการเก็บตัวอย่างน้ำในขวดที่สะอาด โดยเก็บลึกประมาณ 20-30 เซ็นติเมตร

- วัดอุณหภูมิของน้ำทะเลด้วยเทอร์โมมิเตอร์ โดยการจุ่มเทอร์โมมิเตอร์ลงไปในน้ำเมื่ออุณหภูมิคงที่ก็ทำการอ่านค่า

- วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลโดย pH meter

- วัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ โดยใช้เครื่อง DO meter

- วัดค่าความโปร่งใสของน้ำทะเล โดยใช้ Sachidisc

- เก็บน้ำทะเลใส่ขวดบีโอดี 4/5 ของขวด ปิดฝาในน้ำเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศและไม่ให้โดนแสงแดดแล้วนำไปวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการ

5.2 การเก็บตัวอย่างหอยนางรม

5.2.1 การเก็บตัวอย่างหอยนางรม โดยสุ่มเก็บจากฟาร์มละ 1 พวง แล้วนำมาแกะเปลือกออกแล้วชั่งเอา 25 กรัม มาตัวแทนในการวิเคราะห์

- ล้างหอยนางรมทั้งเปลือกให้สะอาด

- แกะเอาเปลือกหอยนางรมออก ดังภาพที่ 3-1 และ 3-2

- นำเนื้อหอยนางรมที่แกะได้ 25 กรัม มาบดด้วยเครื่องตีป่นให้ละเอียด

ภาพที่ 3-1 แสดงการแกะเปลือกหอยนางรมออก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 3-2 เนื้อหอยนางรมที่แกะเปลือกออกแล้ว

5.3 การตรวจหาปริมาณของเชื้อ *Vibrio* โดยวิธี MPN

5.3.1 การทดสอบขั้นต้น

การเพิ่มจำนวนเชื้อ *Vibrio* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก. การหาปริมาณเชื้อ *Vibrio* ในน้ำทะเล

โดยใช้อาหาร APW + 1% NaCl ทั้งความเข้มข้น1 และความเข้มข้น 2 เท่า

-ชุดที่ 1 ถ่ายตัวอย่างน้ำทะเล เพาะเลี้ยงในอาหาร APW + 1% NaCl เข้มข้น 2 เท่า 3 หลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร

-ชุดที่ 2 ถ่ายตัวอย่างน้ำทะเล เพาะเลี้ยงในอาหาร APW + 1% NaCl 3 หลอด ๆ ละ 1 มิลลิลิตร

-ชุดที่ 3 ถ่ายตัวอย่างน้ำทะเล เพาะเลี้ยงในอาหาร APW + 1% NaCl 3 หลอด ๆ ละ 0.1 มิลลิลิตร

นำหลอดที่มีเชื้อ *Vibrio* spp. ทั้ง 3 ชุด บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ข. การหาปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ในหอยนางรม

การเจือจางตัวอย่าง โดยการชั่งเนื้อหอยนางรมที่บดละเอียด 25 กรัมใส่ถุง เท 0.1% Peptone 255 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำมาเจือจาง และนำไปเลี้ยงในอาหาร APW ดังนี้

- ตัวอย่างชุดที่ 1 เจือจางตัวอย่างหอยนางรม 10^{-1} 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด
- ตัวอย่างชุดที่ 2 เจือจางตัวอย่างหอยนางรม 10^{-2} 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด
- ตัวอย่างชุดที่ 3 เจือจางตัวอย่างหอยนางรม 10^{-3} 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด

นำจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่เจือจางแล้วไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.3.2 การทดสอบขั้นยืนยันผล

การเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารจำเพาะ (TCBS agar)

โดยการใช้ลูปขีดแยกเชื้อจากหลอดที่เลี้ยงในอาหาร APW ทุกหลอดที่ขุ่นลงบนอาหาร TCBS agar และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำแต่ละ plate เชื้อจาก TCBS agar ที่ได้จากหลอดที่บรรจุ APW ทุกหลอดที่ขุ่นมาเลือกโคโลนี โดยเลือกโคโลนีที่แตกต่างกันแต่ละ plate แล้วนำไปจำแนกเชื้อต่อ

5.3.3 การจำแนกเชื้อ *Vibrio* เบื้องต้น

ซึ่งทดสอบทางชีวเคมีดังนี้

- Oxidase test
- Catalase tese
- TSI

5.3.4 การจำแนกเพื่อยืนยันเชื้อ โดยการทดสอบดังตารางที่ 2 (หน้า 10)

วิธีการทดสอบแต่ละชนิดดังแสดงในภาคผนวก ค (หน้า 40)

5.3.5 การคำนวณค่าปริมาณ *Vibrio* sp. ที่ก่อโรค

โดยการนำผลที่ได้จาก multiple tubc มาหาปริมาณ *Vibrio* sp. แต่ละสปีชีส์ โดยอ่านผลเป็นค่า MPN/100 ml. ของน้ำทะเล และ MPN/g. ของหอยนางรม จากตาราง MPN (ภาคผนวก ง, หน้า 44)

5.3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองเชิงสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม (SPSS) โดยหาค่าเฉลี่ยของปริมาณวิบริโอและวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ One Way ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละเดือนด้วย Dancan`s Multiple Range Tast ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 3-3 แผนภาพแสดงจุดเก็บตัวอย่างหอยนางรมและตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี

ที่มา: www. googleearth. com

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี MPN (Most Probable Number) ซึ่งบันทึกผลจำนวนหลอดที่ได้ผลบวกในการวิเคราะห์ขั้นต้น ขั้นยืนยันผล หรือขั้นสมบรูณ์ นำมาเปรียบเทียบกับตาราง MPN จะได้ค่าดัชนีของเอ็มพีเอ็น (MPN) ต่อ100 มิลลิลิตร ของตัวอย่างน้ำ ส่วนตัวอย่างหอยจะได้ค่าดัชนีของ MPN ต่อ 1 กรัม

ตารางที่ 3-3 แสดงค่าดัชนีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต่อ 100 มิลลิลิตร และความเชื่อมั่น 95% ของหลอดที่ให้ผลบวก เมื่อใช้ระบบ 3 หลอดของน้ำทะเลที่ตรวจวิเคราะห์ 10, 1, 0.1 มิลลิลิตร

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกใน 3 หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ			MPN/100 มิลลิลิตร
10 มิลลิลิตร	1 มิลลิลิตร	0.1 มิลลิลิตร	
0	0	1	3
0	0	2	6
0	0	3	9
0	1	0	3
0	1	1	6
0	1	2	9
0	1	3	12
0	2	0	6
0	2	1	9
0	2	2	12
0	2	3	16
0	3	0	9
0	3	1	13
0	3	2	16
0	3	3	9

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3-3 (ต่อ)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกใน 3 หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ			MPN/100 มิลลิลิตร
10 มิลลิลิตร	1 มิลลิลิตร	0.1 มิลลิลิตร	
1	0	0	4
1	0	1	7

ตารางที่ 3-4 แสดงค่าเอ็มพีเอ็น (MPN) ต่อกรัม (MPN/g.) สำหรับชุดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เมื่อเพาะตัวอย่างหอยนางรมที่ความเจือจางต่างกัน 3 ระดับคือ 10^{-1}, 10^{-2},และ 10^{-3} ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกใน 3 หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ			MPN/กรัม
ความเจือจาง 10^{-1}	ความเจือจาง 10^{-2}	ความเจือจาง 10^{-3}	
0	0	0	<3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	29

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3-4 (ต่อ)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกใน 3 หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ			MPN/กรัม
ความเจือจาง 10^{-1}	ความเจือจาง 10^{-2}	ความเจือจาง 10^{-3}	
3	1	0	43
3	1	1	75
3	2	0	93
3	0	1	150
3	0	2	210
3	0	0	240
3	0	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>1100

ที่มา : ดัดแปลงจาก Collin *et al.*, 1995 อ้างถึงใน กนกลดา เรืองบุญ (2544)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 4
การวิเคราะห์ผลการวิจัย

การสำรวจหาชนิดและปริมาณแบคทีเรียวิบริโอที่ก่อโรคทั้งในน้ำทะเลและหอยนางรม ที่เพาะเลี้ยงบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึง กุมภาพันธ์ 2551 โดยวิธี โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number, MPN) ได้ผลดังต่อไปนี้

1. การศึกษาปริมาณของเชื้อวิบริโอรวม (Total *Vibrio* spp.) โดยวิธี MPN

1.1 ปริมาณเชื้อวิบริโอรวมในน้ำทะเล

จากการศึกษาปริมาณเชื้อวิบริโอในน้ำทะเล พบว่าเดือนกรกฎาคมมีปริมาณเชื้อวิบริโอสูงที่สุด (1100.00 ± 0.00) รองลงมาคือ กันยายน (386.67 ± 107.35) สิงหาคม (273.00 ± 165.79) ตุลาคม (58.47 ± 23.05) พฤศจิกายน (26.60 ± 3.04) ธันวาคม (22.73 ± 0.70) และมกราคม (20.53 ± 0.83) ตามลำดับ **ดังแสดงในตารางที่ 4-1 และภาพที่ 4-1** นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณวิบริโอรวมในน้ำทะเล เดือนกรกฎาคม กันยายน และสิงหาคม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เดือนตุลาคม พฤศจิกายน ธันวาคม และมกราคม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนปริมาณเชื้อวิบริโอในหอยนางรม ในเดือนกรกฎาคม และ กันยายน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเดือนสิงหาคม ตุลาคม พฤศจิกายน ธันวาคม และมกราคม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4-1 แสดงปริมาณวิบริโอในน้ำทะเลและหอยนางรม

เดือน	ปริมาณวิบริโอในน้ำทะเล (MPN/100 ml.)	ปริมาณวิบริโอในหอยนางรม (MPN/g.)
กรกฎาคม	1100.00 ± 0.00 [a]	386.67 ± 107.35 [a]
กันยายน	386.67 ± 107.35 [b]	273.00 ± 165.79 [b]
สิงหาคม	273.00 ± 165.79 [c]	58.47 ± 23.05 [c]
ตุลาคม	58.47 ± 23.05 [d]	26.60 ± 3.043 [c]
พฤศจิกายน	26.60 ± 3.04 [d]	22.73 ± 0.70 [c]

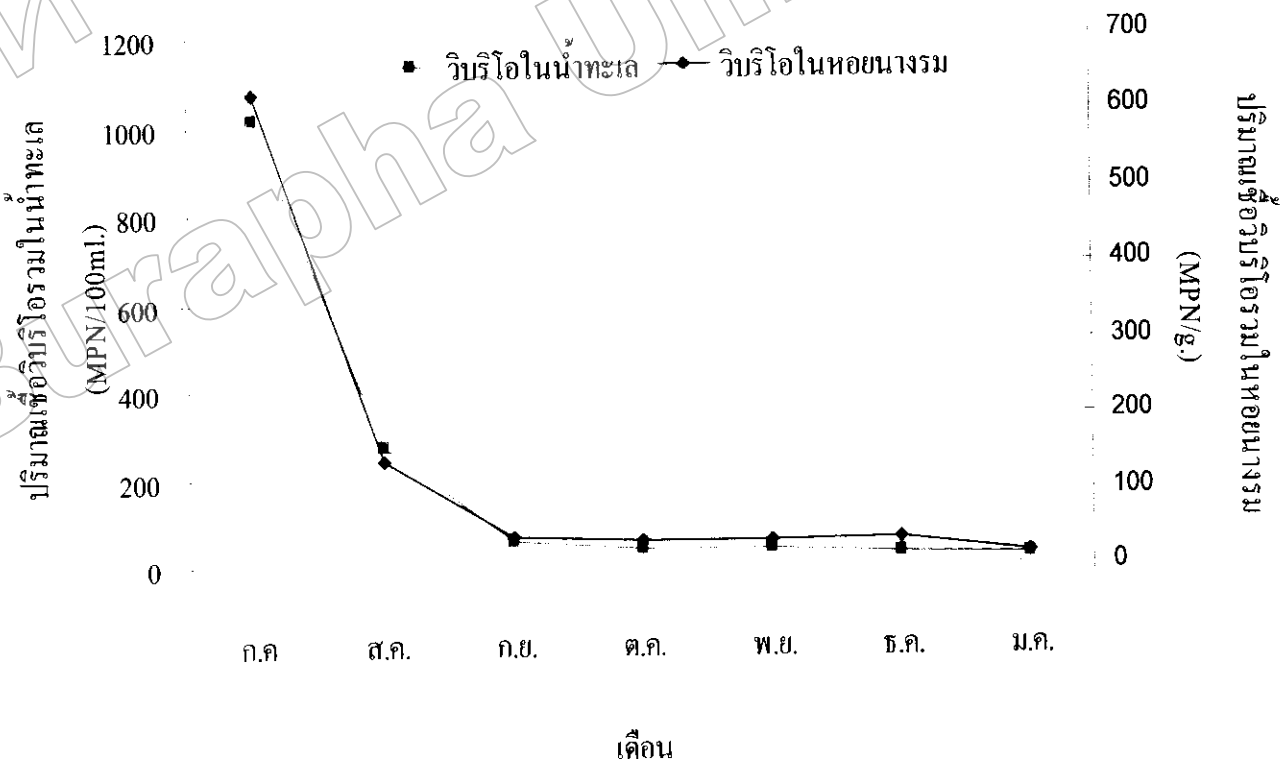
ตารางที่ 4-1 (ต่อ)

เดือน	ปริมาณวิบริโอในน้ำทะเล (MPN/100 ml.)	ปริมาณวิบริโอในหอยนางรม (MPN/g.)
ธันวาคม	22.73 ± 0.70^{d}	20.53 ± 0.83^{c}
มกราคม	20.53 ± 0.83^{d}	18.47 ± 3.02^{c}

หมายเหตุ: อักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.2 ปริมาณเชื้อวิบริโอรวม ในหอยนางรม

พบว่าเดือนมกราคมมีปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp. สูงสุด (386.67 ± 107.35) รองลงมาคือ กันยายน (273.00 ± 165.79) สิงหาคม (58.47 ± 23.05) ตุลาคม (26.60 ± 3.043) พฤศจิกายน (22.73 ± 0.70) ธันวาคม (20.53 ± 0.83) มกราคม (18.47 ± 3.02) ตามลำดับ **ดังแสดงในตารางที่ 4-1 และ ภาพที่ 4-1**



ภาพที่ 4-1 แสดงปริมาณของ วิบริโอรวมในน้ำทะเลและหอยนางรมที่พบในแต่ละเดือน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. การศึกษาชนิดของแบคทีเรียวิบริโอที่ก่อโรคที่พบในน้ำทะเลและหอยนางรม

จากการทดสอบเชื้อวิบริโอทั้งในน้ำทะเลและหอยนางรมโดยวิธีทางชีวเคมีพบวิบิโอทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus, V. cholerae, V. mimicus, V. furnissii* และ *V. vulnificus* พบว่าในน้ำทะเลและหอยนางรมมีปริมาณ *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* พบมากในเดือนกรกฎาคม นอกจากนั้นพบ *V. mimicus, V. furnissii* และ *V. vulnificus* แต่พบปริมาณน้อยในทุกเดือนที่ทำการศึกษา ซึ่งเชื้อวิบริโอที่พบในน้ำทะเลและหอยนางรมเป็นชนิดเดียวกัน แต่ในน้ำทะเลพบปริมาณของเชื้อวิบริโอมากกว่าในหอยนางรม **ดังแสดงในตารางที่ 4-2 และ 4-3 และภาพที่ 4-2 ก. และ ข.**

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-2 แสดงชนิดและปริมาณของ *Vibrio* spp. ในน้ำทะเลแต่ละเดือน

ชนิด / เดือน	ปริมาณวิบริโอแต่ละชนิดในน้ำทะเล (CFU/ml.)						
	ก.ค	ก.ย.	ส.ค.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.
VA	161.93±12.94^{a}	67.20±7.45^{a}	45.87±6.03^{b}	20.80±5.17^{c}	14.27±3.90^{d}	6.37±1.62^{e}	6.06±2.71^{f}
VP	138.93±9.19^{a}	62.00±9.28^{b}	47.14±9.68^{c}	18.50±2.92^{d}	15.33±1.87^{ef}	12.73±2.31^{ef}	10.27±1.98^{f}
VC	6.87±3.58^{a}	20.13±2.53^{b}	14.73±1.98^{c}	7.06±1.44^{d}	2.13±1.24^{d}	1.47±0.74^{c}	2.00±0.76^{c}
VM	20.64±2.40^{a}	16.10±2.53^{b}	12.07±2.00^{c}	10.13±1.51^{d}	3.33±0.82^{ef}	3.07±1.49^{ef}	4.53±1.41^{ef}
VF	3.53±0.64^{a}	2.73±0.59^{b}	1.80±0.68^{c}	1.60±0.51^{d}	1.00±0.00^{ef}	1.33±0.49^{ef}	2.00±0.00^{ef}
VV	2.33±0.48^{a}	1.87±0.35^{b}	1.20±0.41^{d}	1.00±0.00^{d}	1.00±0.26^{d}	1.07±0.26^{d}	1.73±0.60^{d}

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 4-3 แสดงชนิดและปริมาณของ *Vibrio* spp. ในหอยนางรมแต่ละเดือน

ชนิด / เดือน	ปริมาณวิบริโอแต่ละชนิดในหอยนางรม (CFU/g.)						
	ก.ค	ก.ย.	ส.ค.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.
VA	135.60±11.62^{a}	40.87±3.09^{b}	41.53±1.73^{b}	7.02±1.15^{c}	3.93±0.80^{cd}	1.07±0.26^{d}	1.07±0.26^{d}
VP	129.27±4.25^{a}	12.67±1.54^{b}	11.20±1.42^{c}	10.00±1.73^{c}	5.73±1.16^{d}	1.00±0.00^{e}	0.93±0.26^{e}
VC	9.00±0.38^{a}	1.07±0.26^{b}	1.20±0.41^{b}	1.07±0.26^{b}	1.07±0.26^{b}	1.00±0.00^{b}	1.00±0.00^{b}
VM	4.80±0.56^{a}	3.27±0.46^{b}	2.80±0.41^{c}	2.07±0.46^{d}	1.80±0.56^{d}	1.07±0.26^{e}	1.00±0.00^{e}
VF	2.07±0.26^{a}	1.87±0.35^{a}	2.07±0.26^{a}	0.87±0.35^{bc}	0.73±0.46^{c}	0.73±0.46^{c}	1.00±0.00^{b}
VV	1.33±0.63^{a}	1.07±0.26^{b}	0.93±0.26^{bc}	0.87±0.35^{bc}	0.73±0.46^{c}	0.93±0.26^{bc}	1.00±0.00^{b}

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

อธิบายตัวอักษรย่อ

VA คือ *Vibrio alginolyticus*

VP คือ *Vibrio parahaemolyticus*

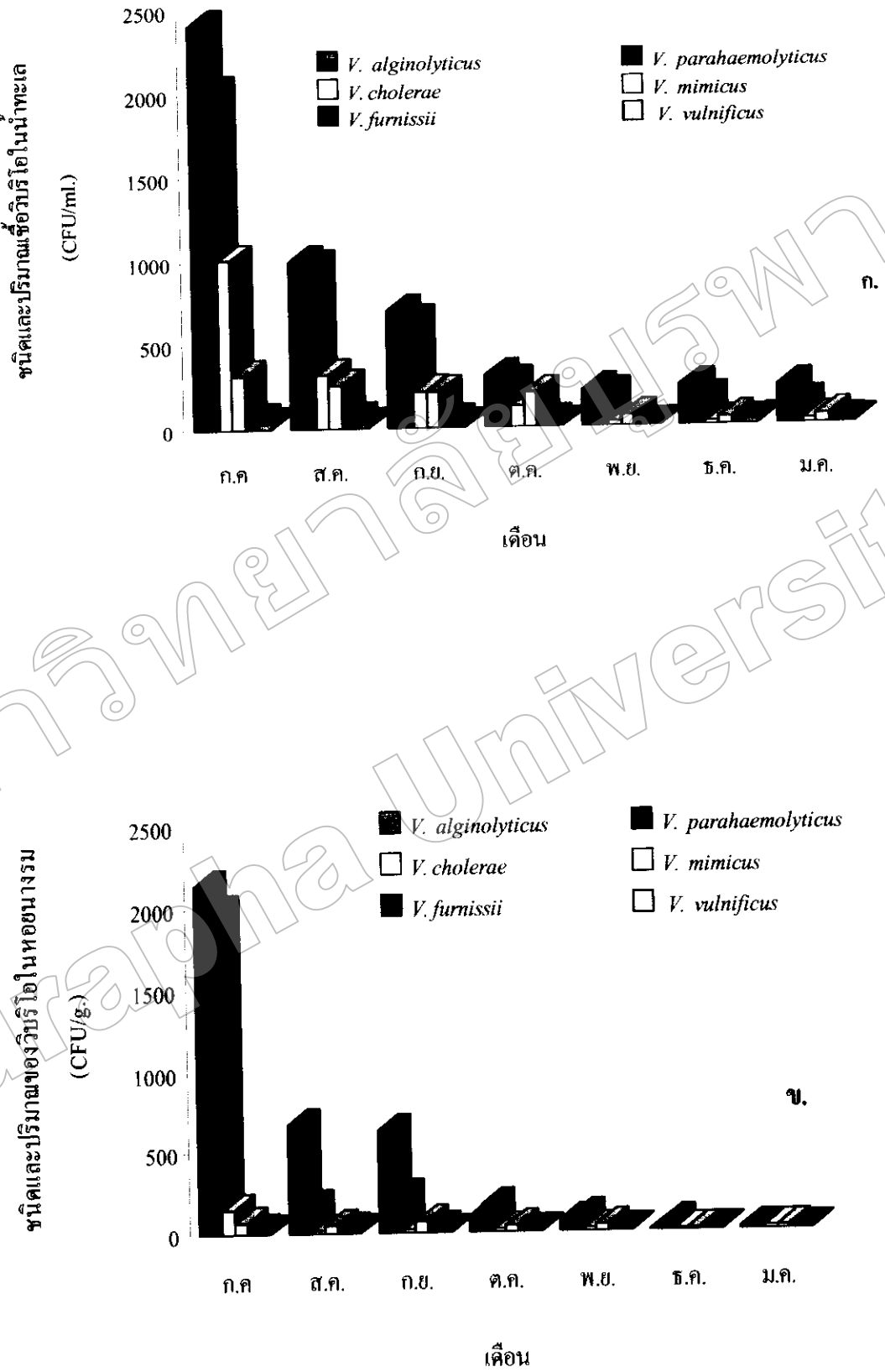
VC คือ *Vibrio cholerae*

VM คือ *Vibrio mimicus*

VF คือ *V. furnissii*

VV คือ *Vibrio vulnificus*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-2 แสดงชนิดและปริมาณของวิบริโอสปีชีส์ที่ก่อโรคในน้ำทะเล (ก) และหอยนางรม (ข)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

อภิปรายผลการวิจัย

จากการสำรวจปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ จังหวัดจันทบุรี พบปริมาณเชื้อวิบริโอน้ำทะลและหอยนางรมสูงสุดในเดือนกรกฎาคมรองลงมาคือ เดือนสิงหาคม เดือนกันยายน เดือนตุลาคม เดือนพฤศจิกายน เดือนธันวาคม และเดือนมกราคม ตามลำดับและพบวิบริโอ 6 ชนิด ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. furnissii* และ *V. vulnificus*

1. การศึกษาปริมาณวิบริโอรวมในน้ำทะเลและหอยนางรม

เมื่อทำการการพิจารณาปริมาณแบคทีเรียวิบริโอในน้ำทะเลและหอยนางรม โดยจำแนกตามเดือน โดยพบว่าในช่วงเดือนกรกฎาคมพบปริมาณมากที่สุด รองลงมาได้แก่ เดือนกันยายน เดือนสิงหาคม และเดือนตุลาคม พบในปริมาณที่ปานกลาง และในเดือนพฤศจิกายน เดือนธันวาคม และเดือนมกราคม จะพบในปริมาณที่น้อยที่สุด ซึ่งการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของทัศวรรณ ขาวสีจาน (2547) ที่รายงานไว้ว่าปริมาณของวิบริโอในช่วงกลางปีจะมีปริมาณสูง เนื่องจากเป็นช่วงฤดูฝน โดยจะมีการชะล้างสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์จากบ้านเรือนหรือการชะล้างจากน้ำฝน **(ภาพที่ จ-1 และภาพที่ จ-2)** ทำให้องค์ประกอบของน้ำทะเล เช่น ความเค็ม บีโอดี (BOD) พีเอช (pH) เปลี่ยนไปซึ่งส่งผลให้เชื้อวิบริโอสปีชีส์ที่ก่อโรคเพิ่มมากขึ้นได้ (โสภณ คงสำราญและคณะ, 2524) ซึ่งควงพร คันธโชติ (2545) ได้รายงานไว้ว่าการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์

อย่างไรก็ตามปริมาณวิบริโอรวมในน้ำทะเลในแต่ละเดือนที่ทำการศึกษามีปริมาณมากกว่าที่พบในหอยนางรมเนื่องจากหอยนางรมเป็นสัตว์ที่กรองกินสารอินทรีย์ที่ลอยมากับน้ำ และหอยนางรมยังมีกลไกในการขับสารพิษออกนอกร่างกายอีกด้วย จึงพบปริมาณเชื้อวิบริโอน้อยกว่า

2. ชนิดของแบคทีเรียวิบริโอก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรม

จากการจำแนกเชื้อโดยอาศัยความแตกต่างทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย พบเชื้อแบคทีเรียวิบริโอในน้ำทะเลและหอยนางรมมีปริมาณ *V. alginolyticus* มากที่สุด รองลงมาคือ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

V. parahaemolyticus และ *V. cholerae* พบมากเดือนกรกฎาคม นอกจากนั้นพบ *V. mimicus* *V. furnissii* และ *V. vulnificus* ในปริมาณน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ กนกลดา เรืองบุญ (2544) ที่ได้สำรวจหาปริมาณของวิบริโอสปีชีส์ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรม บริเวณอ่างศิลา และบางพระ จังหวัดชลบุรี พบ *V. alginolyticus*, *V.parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ปริมาณมาก และ *V. mimicus* และบริเวณบางพระพบ *V. vulnificus* ปริมาณน้อย

V. alginolyticus เป็นเชื้อโรคอ่อน ๆ มักติดเชื้อที่บาดแผลที่สัมผัสกับน้ำทะเล มีอาการเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) อ่อน ๆ *V. parahaemolyticus* ก่อให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบรุนแรง หลังจากกินอาหารทะเลดิบ ๆ *V. cholerae* ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง *V. mimicus* ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงหลังจากกินหอยนางรมดิบ ๆ *V. furnissii* ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงและ *V. vulnificus* ก่อให้เกิดโรคการติดเชื้อที่บาดแผล โลหิตเป็นพิษและอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง โดย *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคในคนได้รุนแรงมากที่สุด โดย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ได้กำหนดให้อาหารทะเลดิบพร้อมบริโภคมีแบคทีเรียรวมไม่เกิน $1.0X10^6$ CFU/กรัม *Vibrio parahaemolyticus* ไม่เกิน$1.0X10^2$ CFU/กรัม ในเนื้อหอยนางรมต้องไม่ตรวจพบ *Vibrio cholerae* (มณีย์ กรรณรงค์และจินตนา โสภากุล, 2543) นอกจากนี้ *V. vulnificus* สามารถก่อโรคในสัตว์น้ำได้อีกด้วย พบว่ายังเป็นสาเหตุของโรควิบริโอซิสในหอย โดยเฉพาะตัวอ่อนของหอยนางรม หอยเป๋าฮื้อ และหอยกาบคู่ จะทำให้มีอัตราการตายสูงมาก เนื่องจากเนื้อเยื่อหอยจะถูกทำลายทั้งโดยตรงและจากท็อกซินที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมา (Sindermann and Lightner, 1988 อ้างถึงใน ประดิษฐ์ ชื่นชอบ, 2548) โดยบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอื่น ๆ เช่น ปลาเก๋า ปลากะพง ซึ่งอาจส่งผลให้สัตว์น้ำเหล่านี้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรียที่มีปริมาณแบคทีเรียวิบริโอก่อโรคเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้มีความรุนแรงในการก่อโรคมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะฤดูฝน (ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม) ควรมีการเฝ้าระวังหรือจัดการสุขภาพของสัตว์น้ำ เช่น การใช้ยาปฏิชีวนะผสมอาหารให้สัตว์น้ำกินเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าว

สรุปผลการวิจัย

1. น้ำทะลและหอยนางรม พบปริมาณวิบริโอรวมสูงสุดในเดือนกรกฎาคมรองลงมาคือเดือนสิงหาคม เดือนกันยายน เดือนตุลาคม เดือนพฤศจิกายน เดือนธันวาคม และเดือนมกราคม ตามลำดับ

2. น้ำทะเลและหอยนางรมพบวิบริโอทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. furnissii* และ *V. vulnificus* โดย *V. alginolyticus* *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* พบมากสุดในเดือนกรกฎาคม และ

V. mimicus, *V. furnissii* และ *V. vulnificus* พบปริมาณน้อย

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองควรใช้ระบบ MPN แบบ 5 หลอดเพื่อลดความแปรปรวนซึ่งจะทำให้ได้ค่าที่แม่นยำมากขึ้น

2. ควรหาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้สามารถคาดการณ์ได้ชัดเจนมากขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บรรณานุกรม

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2536). *ประกาศเรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร*. เลขที่ สธ 0524/5756.

กรมอุตุนิยมวิทยา กระทรวงคมนาคม. (2550). *แบบบันทึกรายงานอุตุนิยมวิทยา สำหรับสถานีน้ำฝนประจำปี 2550*. เลขที่1608.

กนกลดา เรืองบุญ. (2544).*การสำรวจ Vibrio สปีชีส์ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณอ่างศิลาและบางพระ จังหวัดชลบุรี*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยบรูพา. 320 หน้า.

คเชนทร เฉลิมวัฒน์ . (2544) *การเพาะเลี้ยงหอย*. กรุงเทพ ฯ : สำนักพิมพ์รั้วเขียว. 318 หน้า.

ทัศวรรณ ขาวสีจาน. (2547). *ผลของฤดูกาลและวิธีต่อการปนเปื้อนของโลหะหนักและแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ. ในหอยนางรม บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยบรูพา. 331 หน้า.

ธิดาพร ฉวีภักดิ์. (2549). *ปรสิต และแบคทีเรีย Vibrio spp. ในแม่กุ้งแชบ๊วย, Penaeus merguiensis de Man, 1883จากแหล่งธรรมชาติภาคตะวันออก*. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี, ประเทศไทย.

ดวงพร คันธโชติ. (2537). *อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 219 หน้า.

ดวงพร คันธโชติ. (2537). *การจำแนกแบคทีเรีย*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 313 หน้า.

ดวงพร คันธโชติ. (2545). *นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์*. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์. 206 หน้า.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2547). *จุลชีววิทยาทั่วไป*. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 735 หน้า.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). *แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค*. กรุงเทพฯ :จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 287 หน้า.

นันทนา อรุณฤกษ์. (2537). *การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอร์โรปส์*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 310 หน้า.

บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). *จุลชีววิทยาทั่วไป*. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 507 หน้า.

ประภาศิริ ศรีโสภาภรณ์. (2538). *โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ*. กรุงเทพ ฯ : สำนักพิมพ์รั้วเขียว. 298 หน้า.

ประดิษฐ์ ชนชื่นชอบ (2548) *ดัชนีทางแบคทีเรียของน้ำทะเลเพื่อการจำแนกพื้นที่ที่เหมาะสมต่อการ*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ต่อการเลี้ยงหอยสองฝาบริเวณชายฝั่งจังหวัดสุราษฎร์ธานี.ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสุราษฎร์ธานี, ประเทศไทย.

พิพัฒน์ ศรเบจลักษณ์ และอรุณลักษณ์ ลุตินานนท์. (2540). *แบคทีเรียวิทยาคลินิก*. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลวิทยา, คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 320 หน้า.

เพ็ญศรี บุญตามช่วย และโสภณ อ่อนคง. (2548). *ปริมาณวิบริโอ (Vibrio* spp.) *ในแหล่งน้ำที่มีการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในจังหวัดสตูล*. สถาบันวิจัยสุขภาพน้ำชายฝั่ง, จังหวัดสงขลา, ประเทศไทย.

มณีย์ กรรณรงค์ และ จินตนา โสภากุล. (2543). *การเปรียบเทียบการเจริญเติบโต การปนเปื้อนของแบคทีเรีย ในหอยตะโกรมกรามขาว, หอยตะโกรมกรามดำ และหอยนางรมปากจีบ. บริเวณแหล่งเลี้ยงอ่าวบ้านดอน จังหวัดสุราษฎร์ธานี*. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสุราษฎร์ธานี, ประเทศไทย.

ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัย. (2547). *การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียกรัมบวกและกรัมลบ*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 96 หน้า.

สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล. (2547). *ภาวะติดเชื้อ Molecular /Cellular and Clinical basis*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์เม็ดทรายพริ้นติ้ง. 1001 หน้า.

โสภณ คงสำราญ. (2524). *แบคทีเรียทางการแพทย์*. กรุงเทพ ฯ: โครงการตำราศิริราช, คณะแพทย์ศาสตร์พยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล. 276 หน้า.

ศิริโฉม ทุ่งเก้า. (2543). *ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร*. ชลบุรี: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 241 หน้า.

Alam, M.J.,Tomochila K.I.,Miyoshi, S.I. and Shinoda, S (2002). Environmental investigation of potentially pathogenic Vibrio paraheamolyticus in the Seto – Inland Sea, Japan. *FEMS Microbiology Letters. 208*, 83-87.

Bilung, L. M., Radu, S., Bahaman, A. R., Rahim, A. R., Napis, S., Ling, M. W. C. V., Tanil, G.B. and Nishibuchi, M. (2005). Detection of *Vibrio paraheamolyticus* in cockle (*Anadara anadara*) by PCR.. *FEMS Microbiology Letters. 252*, 85-88.

Pang, S. J., Xiao,T. and Bao, Y. (2006). Dynamic changes of total bacteria and Vibrio in an integrated seaweed–abalone culture system. *Aquaculture. 252*, 289-297.

Sancho, J., Baldris R., and Sanchez. (1996). *Microbiology medium*. Spain.

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. Alkaline peptone water (APW) มีสูตรดังนี้ (ศิริโฉม, 2543)

Peptone	10.0 กรัม
Sodium chloride	10.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

pH 8.5 ± 0.2 ที่ 25 °C

นำส่วนผสมทั้งหมด ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน (autoclave) โดยใช้อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar (TCBS agar) มีสูตรดังนี้ (Sancho, J., *et al*, 1996)

Casein peptone	5.0 กรัม
Meat peptone	5.0 กรัม
Yeast extract	5.0 กรัม
Sodium citrate	10.0 กรัม
Sodium thiosulphate	10.0 กรัม
Ox bile	5.0 กรัม
Sodium Cholet	3.0 กรัม
Sucrose	20.0 กรัม
Sodium chloride	10.0 กรัม
Ferric citrate	1.0 กรัม
Thymol blue	0.04 กรัม
Bromthymol blue	0.04 กรัม
Agar	14.0 กรัม

pH 8.5 ± 0.2 ที่ 25 °C

ละลายส่วนผสม 88 กรัมด้วยน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลายปรับ pH เป็น 7.4 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ต้มจนเดือดประมาณ 10 นาที (ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ) ทิ้งให้อุณหภูมิลดลง 45-50 °C และเทใส่จานเพาะเชื้อที่สะอาด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ข

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. Kovac's reagent ประกอบด้วย (ศิริโฉม, 2543)

Amyl alcohol or isoamyl alcohol	750	มิลลิลิตร
P-dimethylaminobenzaldehyde	50	มิลลิลิตร
Conc.hydrachioric acid	250	มิลลิลิตร

ละลาย P-dimethylaminobenzaldehyde ลงใน Amyl alcohol แล้วค่อยๆ เติม Conc.hydrachioric acid ช้า ๆ แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

2. Voges-Proskause reagent ประกอบด้วย (ศิริโฉม, 2543)

ละลาย ก alpha-naphtol 5.0 กรัม ใน ethanol (absolute) 100 มิลลิลิตร

ละลาย ข potassium hydroxide 40.0 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3. Nitrate reduction reagent (ศิริโฉม, 2543)

สารละลาย ก ละลาย sulfuric acid 0.5 กรัม และglacial acetic acid 30.0 กรัมในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

สารละลาย ข ละลาย N(napthly) ethylenediamine dihydrochloride 0.2 กรัม และ glacial acetic acid 30.0 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 120 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ค
การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย

1. Oxidase test (นันทนา, 2537)

เป็นการทดสอบ การผลิตเอนไซคม์ Cytochrome oxidase ของแบคทีเรียบางชนิด

การทดสอบ

เตรียมสารละลายรีเอเจนต์ 1% tetramethyl-p phenylenediamine dihydrochloride น้ำเกลือปราศจากเชื้อ แล้วหยดสารละลายบนกระดาษกรองปราศจากเชื้อ ใช้เข็มฉีดยาขีดเชื้อมาขีดบนกระดาษกรองนั้น สีของแบคทีเรียที่เขี่ยลงบนกระดาษกรองเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้มหรือสีม่วงภายใน 10 วินาที แสดงถึงผลบวก (อย่าใช้ไม้เขี่ยเชื้อที่ทำด้วยเหล็ก หรือนิโคม อาจทำให้ผลบวกได้) การทดสอบอาจทำได้โดยตรงลงบนโคโลนีที่เจริญบน Blood หรือ chocolate agar แล้วสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำเงินเข้ม หรือสีม่วงให้เห็น

การอ่านผล

ผลบวก : เกิดสีม่วงหรือสีน้ำเงินเข้มบนกระดาษกรอง หรือสีน้ำเงินเข้มบนโคโลนีที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood หรือ chocolate agar เมื่อหยดรีเอเจนต์ลงไป

ผลลบ : ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้นให้เห็น

2. Catalase test (นันทนา, 2537)

เป็นการทดสอบเพื่อจำแนกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ Catalase โดยปกติในขบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน อะตอมของไฮโดรเจนจะรวมตัวกับออกซิเจน ทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ แต่แบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถผลิตเอนไซม์ Catalase เพื่อย่อยสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แตกออก ให้ก๊าซออกซิเจนและน้ำ

การทดสอบ

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อตรงกลางโคโลนี แตะบนสไลด์ที่สะอาด แล้วหยด 3 % H_2O_2 ลงบนเชื้อที่อยู่บนสไลด์ดูฟองก๊าซที่เกิดขึ้นในทันที

การอ่านผล

ผลบวก : มีฟองก๊าซเกิดขึ้นทันที

ผลลบ : ไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. Decarboxylase test (Lysine Ornithine และ Arginine) (นันทนา, 2537)

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถย่อยกรออะมิโน ให้เอมีน และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยที่กรดอะมิโน L-Lysine จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ lysine decarboxylase ทำให้ได้ cadavarine สำหรับกรดอะมิโน L-ornithine เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ornithine decarboxylase ทำให้ได้ putrescine และเอนไซม์ทั้งสองชนิดดังกล่าวข้างต้น สามารถย่อยสลาย L- arginine ทำให้ได้ alkaline amine putrescine พร้อมทั้งเอนไซม์ arginine decarboxylase และ arginine dihydrolase อาจทำงานแยกกันหรือต่อเนื่องกัน

4. Voges- Proskause (VP) test (นันทนา, 2537)

การทดสอบ VP นิยมใช้แยกแบคทีเรียพวก Enterobacteriaceae ซึ่งมีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคสได้ เป็นการตรวจหา actioin ในอาหารที่เชื้อเจริญ

การทดสอบ

ใส่ alpha-naphtol 0.6 มิลลิลิตร เขย่าหลอด แล้วใส่ KOH 0.2 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ วางทิ้งไว้ 15 นาที สังเกตการณ์เกิดสีแดง ถ้ายังไม่มีสีแดงเกิดขึ้นทิ้งไว้ต่อไปอีก 45 นาที ดูผล

การอ่านผล

ผลบวก : เกิดสีแดงให้เห็นภายใน 15-45 นาที

ผลลบ : ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

5. Nitrate และ Nitrite test (นันทนา, 2537)

เป็นการทดสอบความสามารถของเชื้อที่จะรีดิวส์ไนเตรดเป็นไนไตรต์ หรือก๊าซไนโตรเจน แบคทีเรียที่สามารถหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน และใช้สารอินทรีย์

การทดสอบ

เพาะเชื้อที่ต้องการลงบน Nitrate broth หรือ Nitrate agar slant บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง นำมาเติม 0.5% alpha-naphtyllamine และ 0.8% sulfanillic acid solution อ่านการเปลี่ยนสีของอาหาร

การอ่านผล

ผลบวก : มีสีแดงเกิดขึ้น หรือไม่มีสีแดงเกิดขึ้นในการทดสอบตอนแรก และเมื่อเติมผงสังกะสีลงไปก็ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ผลบวก : ไม่มีสีแดงเกิดขึ้นในตอนแรก และจะมีสีแดงเกิดขึ้นเมื่อมีการเติมผงสังกะสีลงไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

6. Triple sugar iron (TSI) agar (นันทนา, 2537)

อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI ใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนโดยใช้ความสามารถของแบคทีเรียในการใช้น้ำตาลกลูโคส แล็คโทส และซูโครส ทำให้ได้กรด และอาจให้ก๊าซเป็นผลผลิตสุดท้าย นอกจากนั้น ยังเป็นการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ด้วย

การทดสอบ

เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบ โดยการเขี่ยเชื้อบนหน้าวุ้นของ TSI agar ให้ทั่วและแทงปลายเข็มที่ขีดเชื้อในตอนแรกลงลึกประมาณ 2 ใน 3 ของอาหารเลี้ยงเชื้อจนถึงก้นหลอด บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่งโมง อ่านผล

การอ่านผล

1. ผลการหมักย่อยน้ำตาลต่างๆ

1.1 ถ้าแบคทีเรียสามารถย่อยน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว บนผิววุ้น(slant) ที่มีสีแดงส้มซึ่งเป็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม (alkaline หรือ K) ส่วนที่ก้นหลอด (butt) เปลี่ยนจากสีแดงส้มเป็นสีเหลือง (acid หรือ A) หรืออ่านผลว่าK/A

1.2 ถ้าแบคทีเรียสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแล็คโตรส หรือสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสหรือร่วมกับน้ำตาลซูโครส หรือสามารถหมักย่อยน้ำตาลทังสามชนิด ทั้งบนผิวและที่ก้นของหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดง-สีส้มเป็นเหลืองทั้งหมด หรืออ่านผลว่า A/A

1.3 หากแบคทีเรียไม่สามารถใช้น้ำตาลชนิดใดๆ เลย มีอยู่ 3 แบบ คือ N/N K/N K/K (N: ไม่เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ K:เปลี่ยนเป็นสีสีแดงเข้ม)

2. การเกิดก๊าซ จะเห็นเป็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองอากาศ

3. การเกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะเห็นสีดำของตะกอน เฟอร์รัสซัลไฟด์อยู่ที่ก้นหลอด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง
คุณภาพน้ำและปริมาณน้ำฝน

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ง
คุณภาพน้ำและปริมาณน้ำฝน

ตารางที่ ง-1 แสดงอุณหภูมิ pH ความเค็ม DO และความโปร่งใสของตัวอย่างน้ำทะเล ที่เก็บในบริเวณเพาะเลี้ยงหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม – เดือนกุมภาพันธ์ 2551 โดยการใช้เครื่องมือตรวจวัดภาคสนาม

เดือน	จุดที่เก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิ (°C)	pH	ความเค็ม (ppt)	DO	ความโปร่งใส (ซม.)
กรกฎาคม	1	27	6.34	28	7.42	60
	2	27	7.13	28	7.34	65
	3	28	7.43	28	7.15	65
	4	28	6.69	28	6.89	60
	5	-	-	-	-	-
สิงหาคม เวลา 11:45	1	31	7.48	0	4.31	40
	2	31.2	7.501	0	4.37	30
	3	32	7.502	0	4.29	40
	4	32	7.516	0	4.27	50
	5	30.2	7.547	0	4.18	40
กันยายน เวลา 14:20	1	27	7.33	0	4.22	90
	2	28	6.59	0	4.34	85
	3	28	6.32	0	4.51	75
	4	30	7.41	15	4.26	50
	5	30	7.37	15	4.34	40
พฤศจิกายน	1	33	7.0	33	6.20	65
	2	33	6.8	33	6.15	90
	3	33	6.7	33	6.50	75

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-1 (ต่อ)

เดือน	จุดที่เก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิ (°C)	pH	ความเค็ม (ppt)	DO	ความโปร่งใส (ซม.)
	4	33	7.0	33	5.70	80
	5	33	6.9	33	6.40	50
ธันวาคม	1	35	7.0	33	6.30	65
	2	35	6.8	33	6.35	105
	3	35	6.9	33	6.60	70
	4	35	7.0	33	5.80	70
	5	35	7.0	33	6.50	60
มกราคม	1	35	6.8	33	6.33	100
	2	35	7.2	33	6.40	105
	3	35	7.3	33	6.56	100
	4	35	7.0	33	6.57	90
	5	35	7.4	33	6.15	90

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวัด

สถานีที่ 2 มีหอยตายเยอะ และมีขนาดเล็ก น้ำขุ่นมาก

สถานีที่ 5 หอยมีขนาดเล็ก

ตารางที่ ง-2 แสดงแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท บีโอดีและฟอสเฟตของตัวอย่างน้ำทะเล ที่เก็บในบริเวณเพาะเลี้ยงหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม – เดือนภุมภาพันธ์ 2551 โดยการวัดในห้องปฏิบัติการ

เดือน	จุดที่เก็บตัวอย่าง	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสเฟต	บีโอดี
กรกฎาคม	1	0.088	0.01	0.008	0.025	3.0
	2	0.078	0.013	0.078	0.027	2.5
	3	0.077	0.010	0.077	0.015	3.0

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-2 (ต่อ)

เดือน	จุดที่เก็บตัวอย่าง	แอมโมเนีย	ไนไตรท์	ไนเตรท	ฟอสเฟต	บีโอดี
	4	0.033	0.012	0.033	0.010	2.5
	5	0.090	0.014	0.017	0.017	2.5
สิงหาคม	1	0.068	0.015	0.008	0.025	2.0
	2	0.074	0.011	0.078	0.027	3.5
	3	0.087	0.010	0.073	0.025	3.0
	4	0.076	0.012	0.033	0.010	2.5
	5	0.093	0.014	0.017	0.018	2.5
กันยายน	1	0.033	0.011	0.056	0.027	2.0
	2	0.080	0.013	0.078	0.026	2.5
	3	0.073	0.015	0.077	0.025	3.0
	4	0.055	0.013	0.033	0.010	2.0
	5	0.076	0.014	0.020	0.017	2.0
ตุลาคม	1	0.067	0.015	0.021	0.016	3.0
	2	0.077	0.016	0.008	0.025	3.0
	3	0.033	0.013	0.078	0.027	3.5
	4	0.082	0.010	0.077	0.015	3.0
	5	0.078	0.012	0.033	0.010	3.0
พฤศจิกายน	1	0.077	0.014	0.017	0.017	3.0
	2	0.079	0.01	0.008	0.025	3.0
	3	0.078	0.013	0.078	0.027	2.5
	4	0.077	0.010	0.077	0.015	3.0
	5	0.078	0.013	0.078	0.027	2.5
ธันวาคม	1	0.090	0.014	0.017	0.017	3.0
	2	0.078	0.021	0.008	0.025	3.0
	3	0.057	0.013	0.078	0.027	2.5

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-2 (ต่อ)

เดือน	ชุดที่เก็บตัวอย่าง	อุณหภูมิ (°C)	pH	ความเค็ม (ppt)	DO	ความโปร่งใส (ซม.)
	4	0.033	0.010	0.077	0.025	3.0
	5	0.090	0.012	0.033	0.014	2.5
มกราคม	1	0.032	0.014	0.017	0.017	2.5
	2	0.090	0.012	0.033	0.010	3
	4	0.078	0.01	0.008	0.016	2
	5	0.077	0.013	0.078	0.023	2.3

ภาพที่ ง-1 ปริมาณน้ำฝนของจังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2550 ถึงมกราคม 2551 (กรมอุตุนิยมวิทยา จังหวัดจันทบุรี, 2550)

เดือน	ปริมาณน้ำฝน(มม.)
กรกฎาคม	851.9
สิงหาคม	299.8
กันยายน	519.9
ตุลาคม	144.1
พฤศจิกายน	13.1
ธันวาคม	0
มกราคม	0

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก จ

ภาพแสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างและภาพแสดงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก จ

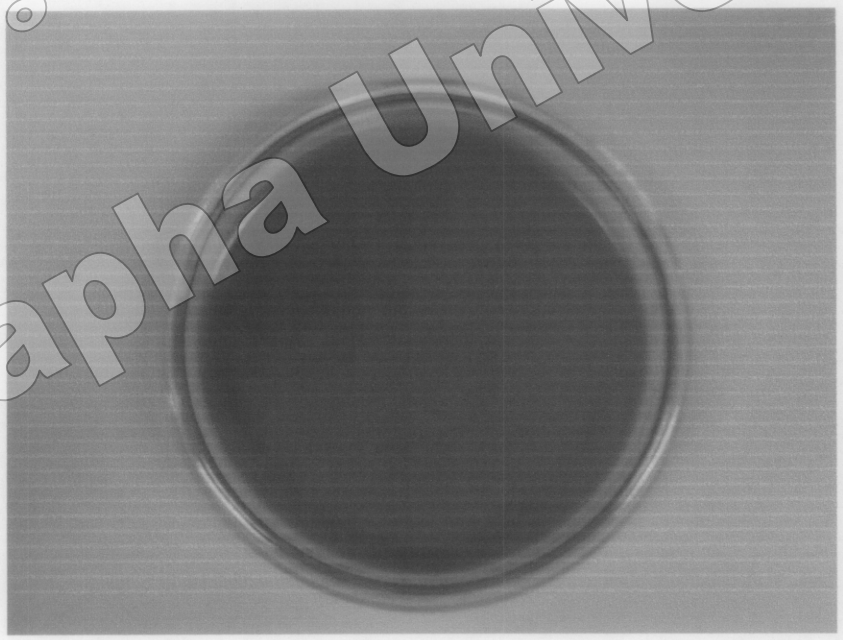
ภาพแสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างและภาพแสดงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิด

ภาพที่ จ-1 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ

ภาพที่ จ-2 แสดงเส้นทางการปล่อยน้ำเสียจากชุมชนสู่ปากแม่น้ำท่าแฉลบ

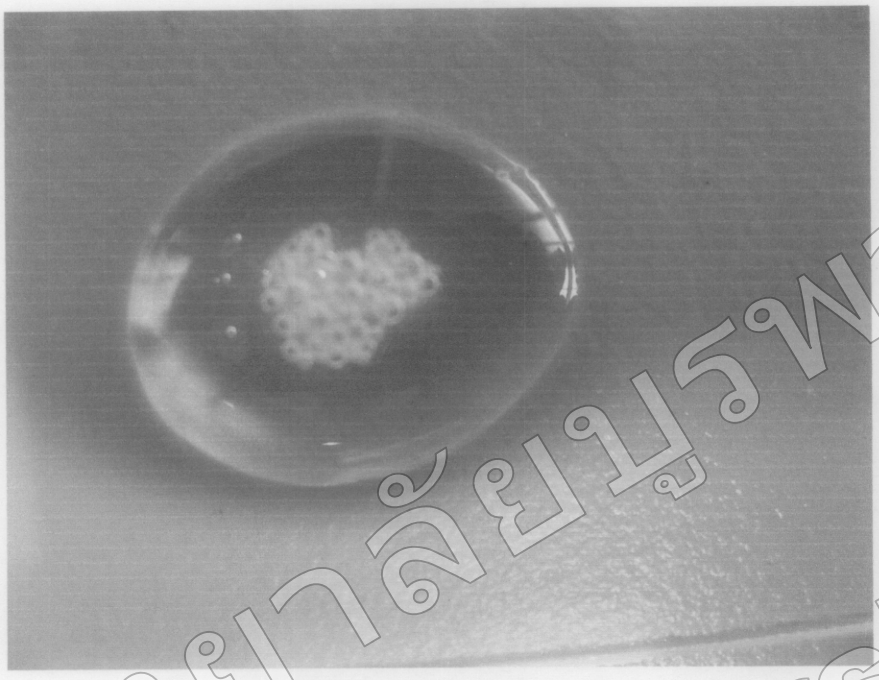
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ จ-3 แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียวิบริโอ

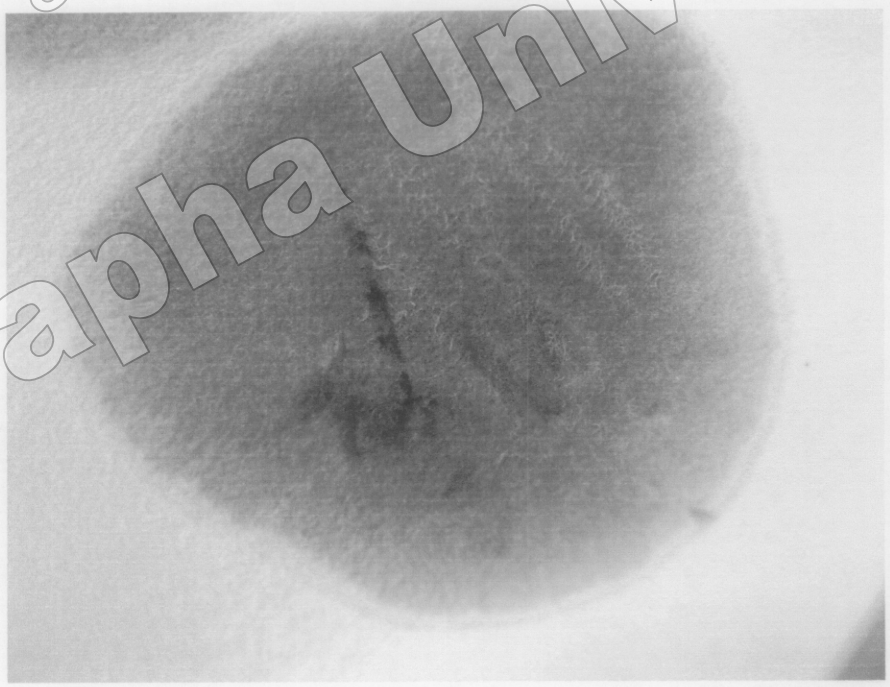


ภาพที่ จ-4 แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ จ-5 แสดงการเกิดฟองก๊าซใน catalase test ของโคโลนีสีเหลือง



ภาพที่ จ-6 แสดงการผลิตเอนไซม์ Cytochrome oxidase ของเชื้อ *Vibrio alginolyticus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ จ-7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อวิบริโอที่เจริญบน TCBS

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจีราพร จันทสิทธิ์
วันเดือนปีเกิด	16 กุมภาพันธ์ 2528
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	39/8 หมู่10 ตำบลรำพัน อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี 22170

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2541	มัธยมศึกษาตอนต้น- ตอนปลายโรงเรียนศรีรัตน์ราษฎร์นุเคราะห์
พ.ศ. 2547	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ) สาขาเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ผลงานการร่วมกิจกรรม

พ.ศ. 2547	-นิสิตวิทยากร สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี
	-พี่เลี้ยงค่ายวิทยาศาสตร์ทางทะเลครั้งที่19
พ.ศ. 2548	พี่เลี้ยงค่ายมะพร้าวอ่อน
	-ฝึกงาน ณ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี
	-อบรมการฟื้นฟูแนวปะการัง อ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดจันทบุรี
	-สำเร็จการฝึกวิชาทหารชั้นปีที่ 5 ประจำปีการศึกษา 2548 ณ ศูนย์ฝึกมลฑลทหารบกที่ 14
พ.ศ. 2549	-ฝึกงานด้านวิศวกรรมชายฝั่ง และโปรแกรมการทำนายระดับน้ำ ณ กรมอุทกศาสตร์ กองทัพเรือ จังหวัดกรุงเทพมหานคร
	-ฝึกงานด้านนิเวศวิทยาชายฝั่ง และการปลูกปะการัง ณ ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันออก (เกาะมันใน) จังหวัดระยอง
พ.ศ. 2550	-อบรมเชิงปฏิบัติการในหัวข้อเรื่อง "ครบเครื่องเรื่องบุคลิกภาพ" ณ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสารสนเทศจันทบุรี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University