



รายงานผลการวิจัย
ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ. 2531

๔
เรื่อง

การศึกษาระดับของยาปฏิชีวนะในซีรัมปลาแคร์พ
และผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

(Determination of antibiotic concentration in carps' sera against gram positive and gram negative bacteria)

โดย

คานิส ทวีติยานนท์
วรา พานิชเกรียงไกร
อรวรรณ นวกาพ
วิลรัตน์ คำเมือง
ศรินทร หยิบโชคอนันต์
สุรชนี เสวตศิลา

636.089
5704
11522



รายงานผลการวิจัย
ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ. 2531

เรื่อง

**การศึกษาระดับของยาปฏิชีวนะในซีรัมปลาแคร์พ
และผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ**

(Determination of antibiotic concentration in carps'
sera against gram positive and gram negative bacteria)

โดย

दानิส	ทวิติยานนท์
วรา	พานิชเกียรติงไกร
อรุวรรณ	นวิภาพ
วิลารัตน์	คำเมือง
ศิรินทร	หทัยโชคอนันต์
สุวัชนี	เสวตศิลา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	ii
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการ	2
ผลการทดลอง	7
วิจารณ์ผลการทดลอง	24
กิตติกรรมประกาศ	26
เอกสารอ้างอิง	27

**การศึกษาระดับของยาปฏิชีวนะ
ในซีรัมปลาคาร์พและผลต่อแบคทีเรีย
แกรมบวกและแกรมลบ**

ชื่อผู้วิจัย	1. รองศาสตราจารย์ น.สพ. คานิส	ทวีทยานนท์
	2. รองศาสตราจารย์ สพ.ญ. คร. วรา	พานิชเกรียงไกร
	3. เกษีกรหญิงวิลารัตน์	คำเมือง
	4. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. อรรพรรณ	นวิภาพ
	5. อาจารย์ สพ.ญ. ศิรินทร	หยิบโชคนันต์
	6. เกษีกรหญิงสุรชันี	เสวตศิลา



เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ มกราคม 2537

บทคัดย่อ

ทำการทดลองฉีดยาปฏิชีวนะสองชนิดคือ Erythromycin และ Kanamycin เข้ากล้ามเนื้อปลาคาร์พที่มีขนาดระหว่าง 20-25 ซม. รวม 147 ตัว โดยแบ่งออก 7 กลุ่ม ๆ ละ 21 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม และกลุ่มทดลองฉีดปฏิชีวนะชนิดละ 3 กลุ่ม ด้วยขนาด 5, 10 และ 15 มก./น.น. ตัว 1 กก. ตามลำดับ เจาะเลือดทุกกลุ่ม ๆ ละ 3 ตัว มารวมกัน หลังฉีดปฏิชีวนะที่ 1, 3, 6, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ เพื่อหาระดับความเข้มข้นของยาในซีรัมด้วยวิธีการ Bioassay และทดสอบปฏิชีวนะในซีรัมที่มีต่อการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยวิธีการ agar-gel diffusion พบว่าครึ่งชีวิตของปฏิชีวนะในปลาคาร์พนานกว่าในสัตว์เศรษฐกิจ หรือสัตว์เลี้ยงอื่น ๆ คือ ค่าครึ่งชีวิตของ Erythromycin นาน 11 ชั่วโมง และ Kanamycin นาน 15 ชั่วโมง แต่ผลในการระงับการเจริญของแบคทีเรียที่ขนาด 5 และ 10 มก./กก. ทั้งหมดไม่ได้ผล แต่ Kanamycin ขนาด 15 มก./กก. ได้ผลปานกลางต่อแกรมลบ คือ *Aeromonas hydrophila* ภายใน 6 ชั่วโมง ส่วนแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ไม่เกิดผล ส่วน Erythromycin ขนาด 15 มก./กก. ไม่ได้ผลต่อแบคทีเรีย ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ทุกช่วงหลังฉีด

**Determination of antibiotic
concentration in carps' sera
against gram positive and gram
negative bacteria**

Danis	Davitiyananda
Wara	Panichkriangkrai
Wirarat	Kummuang
Orawan	Navephab
Sirintorn	Yibchokanan
Suratchanee	Savetsila

Abstract

Two kinds of antibiotic, Erythromycin and Kanamycin, were experimentally studied in 147 carps which ranging from 20-25 cm long. Fishes were divided into 7 groups, 1 control and 3 groups per antibiotic, consisting of 21 fishes per group. Dosages of 5, 10 and 15 mg/kg body weight of each antibiotic were intramuscularly injected into experimental groups respectively. Blood were collected, 3 fishes per group, at 1, 3, 6, 24, 36 and 48 hours post injection. Sera of each group of mention time were pooled together. Bioassay was used for antibiotic concentration determination in sera. The efficiency of antibiotic in sera against gram + and gram- bacteria were tested by agar-gel diffusion. The results were found that the half-life of Erythromycin and Kanamycin in carps were 11 and 15 hours respectively which being longer than in livestock and pets. The 5 and 10 mg/kg doses of both antibiotics were not effective against gram + and gram- bacteria. Kanamycin at 15 mg/kg had intermediate effectiveness against gram- Aeromonas hydrophila, within 6 hours post inoculation but non for other bacteria, Erythromycin at 15 mg/kg had no effectiveness against gram + and gram- bacteria at all time post inoculation.



บทนำ

ปลาคาร์พเป็นปลาที่เลี้ยงไว้เพื่อความสวยงามและเป็นที่นิยมอย่างสูงในปัจจุบัน ประกอบกับปลาคาร์พเป็นปลาที่มีราคาแพง ดังนั้นการเลี้ยงและดูแลปลาคาร์พจึงต้องทำอย่างระมัดระวังมาก จากการศึกษาของเกรียงศักดิ์และคณะ (2525) พบว่าเคยมีรายงานถึงโรคของปลาคาร์พจากการติดเชื้อแบคทีเรีย และได้รับการรักษาโดยยาปฏิชีวนะหลายชนิดตลอดจนมีการพบเชื้อที่คอต้อสาเหล่านั้น ปลาคาร์พเป็นปลาที่มีขนาดใหญ่และมักเลี้ยงจำนวนไม่มากนัก เมื่อมีการติดเชื้อหรือเป็นโรค จึงนิยมใช้การรักษาโดยการฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อ ซึ่งบริเวณที่ควรฉีดจะเป็นบริเวณระหว่างตาปลากับก้านครีบหลัง (ปัญญา, 2531)

Erythromycin และ Kanamycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียของสัตว์ต่าง ๆ เช่น โคน กระบือ แพะ แกะ ม้า สุนัขและอื่น ๆ โดยจะออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อแบคทีเรีย ยาปฏิชีวนะ Erythromycin จัดอยู่ในกลุ่ม Macrolides ออกฤทธิ์กีดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อและอาจทำให้เชื้อแบคทีเรียตายได้ หากความเข้มข้นของยาสูงพอและเชื้อมีความไวต่อยานี้ ยานี้ออกฤทธิ์ได้ดีในภาวะที่เป็นด่าง กลไกการออกฤทธิ์จะขัดขวางการสร้างโปรตีนโดยจับกับ 50 s ribosomal subunit ของเชื้อแบคทีเรีย ส่วน Kanamycin เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Aminoglycosides ออกฤทธิ์ทำให้แบคทีเรียตาย (bactericidal) โดยที่ยาจะเข้าไปจับกับ 30 s ribosomal subunit ของแบคทีเรียมีผลขัดขวางการสร้างโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของเชื้อ Kanamycin ออกฤทธิ์ได้ดีในภาวะด่างและต้องอาศัยออกซิเจนในกระบวนการ active transport ของยาเข้าสู่เซลล์ด้วย ดังนั้นยาจะออกฤทธิ์ในภาวะแวดล้อมที่ขาดออกซิเจนหรือในการติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ anaerobes ไม่ได้ จากการที่ยาปฏิชีวนะทั้งสองดังกล่าว ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและลบ จึงเป็นที่นิยมใช้ในสัตว์หลายชนิด kanamycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ดูดซึมไม่ดีจากทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงให้โดยการฉีดเท่านั้น ส่วน Erythromycin สามารถให้สัตว์กินหรือฉีดเข้าร่างกายได้

การวิจัยครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาระดับยาปฏิชีวนะ Erythromycin และ Kanamycin ในปลาคาร์พโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในปริมาณต่าง ๆ กันและเจาะเลือดปลาเพื่อนำซีรัมมาศึกษาผลของยาต่อปลาคาร์พในระดับยาต่าง ๆ ที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ หาค่าครึ่งชีวิตของยาในปลาคาร์พ เพื่อให้ทราบว่าจะให้ยาเพื่อรักษาในโรคติดเชื้อแบคทีเรียสำหรับปลาคาร์พในขนาดเท่าใดและให้กี่ครั้งต่อวัน

อุปกรณ์และวิธีการ

แบ่งปลาคาร์พขนาดลำตัวยาวประมาณ 20-25 ซม. จำนวน 147 ตัว ออกเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 21 ตัว โดยเป็นกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม และกลุ่มทดลองหรือกลุ่มที่ได้รับยาจำนวน 6 กลุ่ม

กลุ่มควบคุม ปลาคาร์พที่ได้รับ NaCl 0.9% IM. จำนวน 21 ตัว

กลุ่มที่ได้รับยา

กลุ่มที่ 1 ปลาคาร์พที่ได้รับ erythromycin โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 5 mg/kg จำนวน 21 ตัว

กลุ่มที่ 2 ปลาคาร์พที่ได้รับ erythromycin โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 10 mg/kg จำนวน 21 ตัว

กลุ่มที่ 3 ปลาคาร์พที่ได้รับ erythromycin โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 15 mg/kg จำนวน 21 ตัว

กลุ่มที่ 4 ปลาคาร์พที่ได้รับ kanamycin โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 5 mg/kg จำนวน 21 ตัว

กลุ่มที่ 5 ปลาคาร์พที่ได้รับ kanamycin โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 10 mg/kg จำนวน 21 ตัว

กลุ่มที่ 6 ปลาคาร์พที่ได้รับ kanamycin โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในขนาด 15 mg/kg จำนวน 21 ตัว

ก่อนที่จะฉีดยาปฏิชีวนะและเจาะเลือดปลาคาร์พจะมีการวางยาสลบปลาคาร์พก่อนแล้ว จากนั้นจึงเจาะเลือดปลาก่อนได้รับยา 3 ตัว นำเลือดที่ได้มารวมกันเก็บไว้ และเจาะเลือดหลังจากฉีดยาให้ปลาแล้ว 1, 3, 6, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยเจาะเลือดปลาครั้งละ 3 ตัว

จากนั้นนำเลือดที่เจาะได้ทั้งให้แข็งตัวเพื่อแยกซีรัมออกและนำไปหาระดับยาโดยใช้วิธี Bioassay และศึกษาผลต่อแบคทีเรีย (in vitro)

วิธีการหาระดับยาในซีรัมโดยวิธี Bioassay (Bryant 1981, Hugo and Russell 1983, Reeves et. al. 1978, Victor 1986, Barry 1976, Bailly 1974)

1. การหาระดับยา Erythromycin ในซีรัมหลังจากฉีดยา

1.1 เตรียม medium : โดยใช้ antibiotic medium No. 1

1.2 เตรียม diluent บิวทิลแอลกอฮอล์ คือ

1.2.1 methanol

1.2.2 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 8.0

1.2.3 inactivated horse serum

1.3 เตรียม microorganism : ที่ใช้ในการทดลองนี้คือ Micrococcus luteus strain ATCC 9341 โดยนำเชื้อนี้เติมลงใน agar slants ที่มี antibiotic medium No. 1 จำนวน 15 ml. นำไป incubate ที่ 32-35°C นาน 24 ชั่วโมง ล้างเชื้อที่เจริญเติบโตจากผิวของ agar ด้วย Sterile U.S.P. Saline (T.S.) ให้แสงผ่านได้ 25% จากการวัดสีด้วย photoelectric colorimeter ความยาวคลื่น 580 nanometers

1.4 เตรียม plate

ใช้ petridish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 150 mm. นำไปฆ่าเชื้อให้บริสุทธิ์ เติม standardized inoculum 1 ซีซี จากนั้นทิ้งให้ medium แข็งตัว เจาะรูที่ medium โดยเครื่องมือที่ sterile แล้วให้มีขนาด 4 mm. plate ละ 11 หลุม

1.5 เตรียม working standard

โดยการละลาย Erythromycin standard ใน methanol ให้มีความเข้มข้น 10 mg./ml. เจือจางสารละลายนี้ด้วย 0.1 M potassium phosphate pH 8.0 ให้เหลือความเข้มข้นเป็น 1.0 mg. ของ Erythromycin base/ml. จากนั้นก็เจือจางสารละลายนี้ด้วย inactivated horse serum โดยทำ 2 fold dilutions ให้มีความเข้มข้นของ erythromycin เป็น 4.0, 2.0, 1.0, 0.5 และ 0.25 mcg/ml. ตามลำดับ

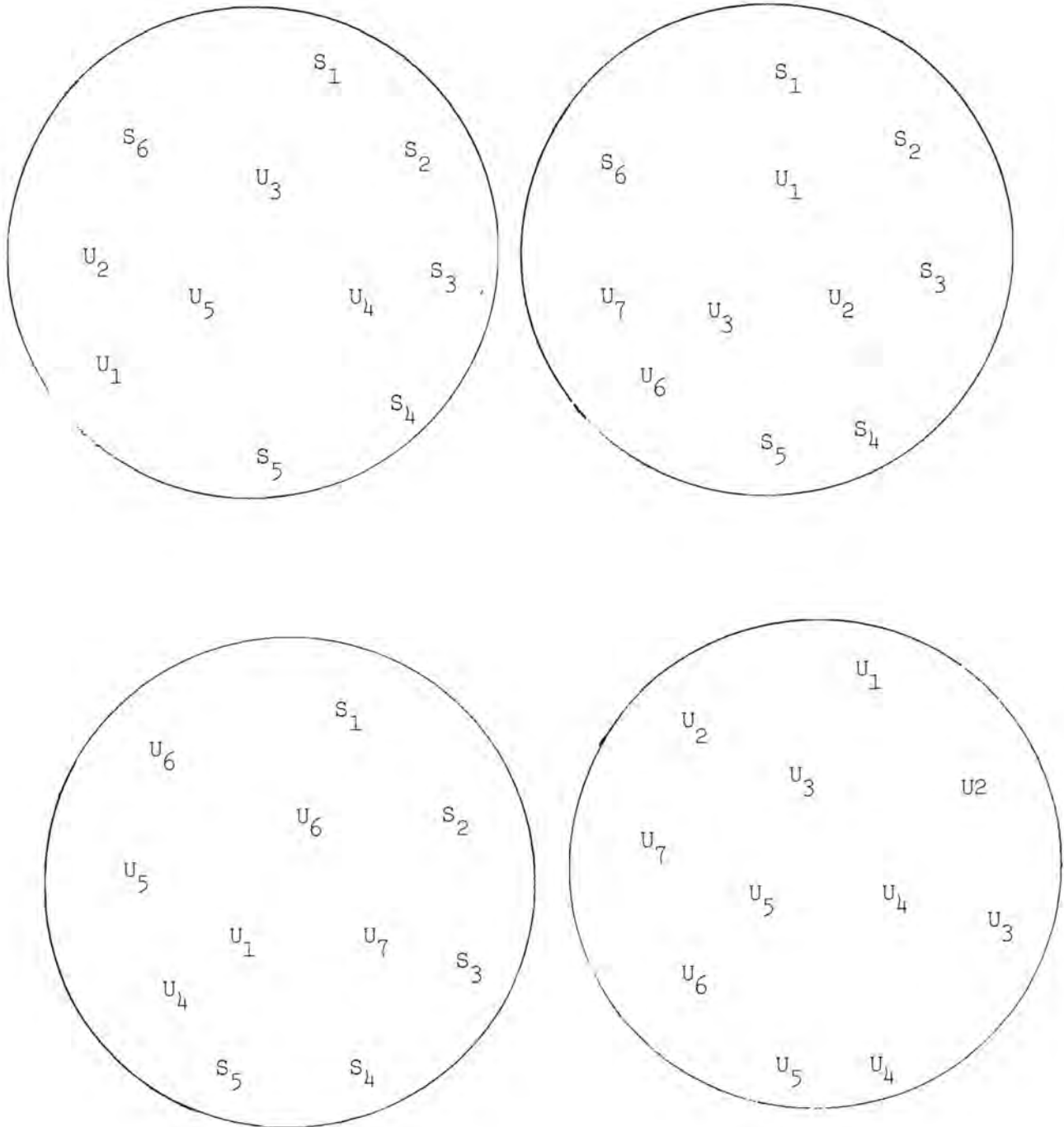
1.6 เตรียมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ

นำซีรัมจากปลาคาร์พที่เวลา 0, 1, 3, 6, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง หลังจากฉีดเข้ามาเก็บที่ -20°C

1.7 ทำการทดสอบหาระดับยาในซีรัม โดย

นำ plate ที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ 4 plate สำหรับแต่ละการทดลอง 5 หลุม ในแต่ละ plate จำนวน 3 plate จะเติม standard solutions 50 ul ส่วนอีก 5 หลุม จะเติมซีรัมและอีก 1 หลุมเติม standard solution ที่มีความเข้มข้นของ Erythromycin base เป็น 2.0 mcg/ml. (เพื่อตรวจสอบความคลาดเคลื่อนเมื่อเทียบกับ S_e ส่วนอีก 1 plate ที่เหลือจะใส่ซีรัมที่เวลาต่าง ๆ ทั้ง 11 หลุม ดังรูปที่ 1

Figure 1 pattern for assay procedure



หมายเหตุ

- S_1 = Standard concentration of erythromycin base ที่ 4.0 mcg/ml.
 S_2 = Standard concentration of erythromycin base ที่ 2.0 mcg/ml.
 S_3 = Standard concentration of erythromycin base ที่ 1.0 mcg/ml.
 S_4 = Standard concentration of erythromycin base ที่ 0.5 mcg/ml.
 S_5 = Standard concentration of erythromycin base ที่ 0.25 mcg/ml.
 S_6 = Standard concentration of erythromycin base ที่ 2.0 mcg/ml.
 U_1 = Carps' serum level of erythromycin ก่อนได้รับยา
 U_2 = Carps' serum level of erythromycin 1 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา
 U_3 = Carps' serum level of erythromycin 3 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา
 U_4 = Carps' serum level of erythromycin 6 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา
 U_5 = Carps' serum level of erythromycin 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา
 U_6 = Carps' serum level of erythromycin 36 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา
 U_7 = Carps' serum level of erythromycin 48 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา

วาง plate ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง เพื่อให้ยาปฏิชีวนะกระจายทั่ว medium หลังจากนั้นนำไป incubate ที่ 32-35°C นาน 16-18 ชั่วโมง วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ที่เกิดขึ้น ซึ่งจะต้องมีค่า inhibition zone เกิดขึ้นอย่างน้อย 3 ค่า ในแต่ละความเข้มข้นแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย

1.8 การวัดค่า standard curve

วัดค่า standard response line โดยการหาค่าเฉลี่ยจากเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ที่เกิดจากสารละลายมาตรฐาน 3 plate แล้วนำมา plot กราฟ ระหว่างความเข้มข้นกับเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone จากนั้นนำค่าเฉลี่ยที่วัดได้จากซีรัมปลาคาร์ฟที่ต้องการหามาเปรียบเทียบกับ

1.9 การประมาณความเข้มข้น

การประมาณค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง (ระดับยาปฏิชีวนะในซีรัมปลาคาร์ฟ) ทำได้โดยใช้ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ของตัวอย่างมาอ่านค่าเปรียบเทียบกับ standard curve

2. การหาระดับยา Kanamycin ในซีรัมหลังจากฉีดยา

2.2 เตรียม diluent ประกอบด้วย

2.2.1 1.0% potassium phosphate buffer, pH. 6.0

2.2.2 inactivated horse serum

2.3 เตรียม microorganism : ที่ใช้ในการทดสอบ คือ Bacillus subtilis Strain ATCC 6633

2.3.1 เตรียม suspension โดยเติมเชื้อลงใน agar slants ที่มี antibiotic medium No.1 จำนวน 15 ml. นำไป incubate ที่ 32-35°C นาน 24 ชั่วโมง ใช้ sterile U.S.P. saline T.S. 3 ml. ล้างเชื้อที่เจริญบนผิว agar ลงใน Roux bottle แล้วเติม antibiotic medium No. 1 ลงไป 250 ml. นำ Roux bottle ไป incubate ที่ 32-35°C นาน 5 วัน จากนั้น ล้างเชื้อที่เจริญที่ผิวของ agar ด้วย sterile U.S.P. saline T.S. 50 ml. จากนั้นอุ่น suspension ที่ได้ให้ร้อนขึ้นที่อุณหภูมิ 70°C นาน 30 นาที ล้าง spore suspension ด้วย น้ำกลั่นบริสุทธ์ 25-50 ml. 3 ครั้ง จะได้สารแขวนลอยของเชื้อ Bacillus subtilis 50-70 ml. ในน้ำกลั่นบริสุทธ์

2.3.2 การเตรียมสารแขวนลอยมาตรฐาน

dilution factor ที่ใช้คือการวัดการยอมให้แสงผ่านได้ 25% ด้วย photoelectric colorimeter ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร เช่นกัน และในแต่ละ 100 ml. ของ agar จะเติม spore suspension 0.05 ml.

2.4 การเตรียม plate

จะใช้วิธีการเดียวกับหัวข้อ 1.4 ของ Erythromycin แต่ใช้ 0.05 ml. ของ spore suspension ใน 100 ml. ของ agar แทน

2.5 เตรียม working standard

โดยการละลาย working standard ด้วย 1.0% potassium phosphate buffer, pH 6.0 ให้มีความเข้มข้น 1,000 mcg/ml. ของ kanamycin base จากนั้นเจือจางด้วย inactivated horse serum ด้วยวิธี 2 fold dilution ให้มีความเข้มข้นของ kanamycin เป็น 12.0, 6.0, 3.0, 1.5 และ 0.75 mcg/ml. ตามลำดับ

2.6 เตรียมตัวอย่าง

ใช้วิธีการเดียวกับข้อ 1.6 ของ Erythromycin

2.7 ทำการทดสอบหาระดับยาในซีรัม

วิธีการเดียวกับข้อ 1.7 ของ Erythromycin

2.8 การหาค่า standard curve

วิธีการศึกษาฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรีย (in vitro) (CFR, 1985)

ใช้วิธี agar diffusion โดยใช้เชื้อแกรมบวกคือ Streptococcus spp. และ Bacillus cereus เชื้อแกรมลบคือ Escherichia coli และ Aeromonas hydrophila ที่บริสุทธิ์ไม่มีเชื้ออื่นปะปน

นำซีรัมของปลาการ์ทที่เจาะได้ที่เวลา 0, 1, 3, 6, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง หลังจากฉีดยา Erythromycin หรือ Kanamycin มาใส่ใน cyclinder ที่ฝังใน agar plates ที่ smear ด้วยเชื้อแกรมบวกหรือแกรมลบตามต้องการ incubate ที่ 36°C 24 ชั่วโมง แล้วนำ plate มาวัดขนาดของ clear zone เปรียบเทียบกับ standard ของยาแต่ละตัว ทั้งนี้ซีรัม จะต้องทำการหาระดับยาโดยวิธี Bioassay แล้วค่า clear zone ที่ได้จะบ่งชี้ถึงความสามารถของระดับยาในซีรัมที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของ bacteria ทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ในเวลาต่าง ๆ กัน

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาระดับความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ Erythromycin ในซีรัม ปลาการ์ทที่เวลาต่าง ๆ ค่าความเข้มข้นของยา Erythromycin ในซีรัมปลาการ์ทดังแสดงใน ตารางที่ 1, 2 และ 3 เป็นค่าที่ได้จากการนำเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ที่เกิดขึ้นมา อ่านค่าเปรียบเทียบกับ Standard curve ของ Erythromycin ที่ได้จากการทดลอง ซึ่งจะพบว่าระดับยา Erythromycin ในซีรัมปลาการ์ทจะสูงสุดหลังจากฉีดเข้ากล้ามเนื้อของปลาการ์ท 1 ชั่วโมง และจะค่อย ๆ ลดระดับลงจนน้อยกว่า 0.5 ug/ml. ภายหลังจากฉีดยาไปแล้ว 24 ชั่วโมง ส่วนในซีรัมของปลาการ์ทที่เจาะจากปลาก่อนฉีดยา Erythromycin จะตรวจไม่พบระดับของยาในซีรัม

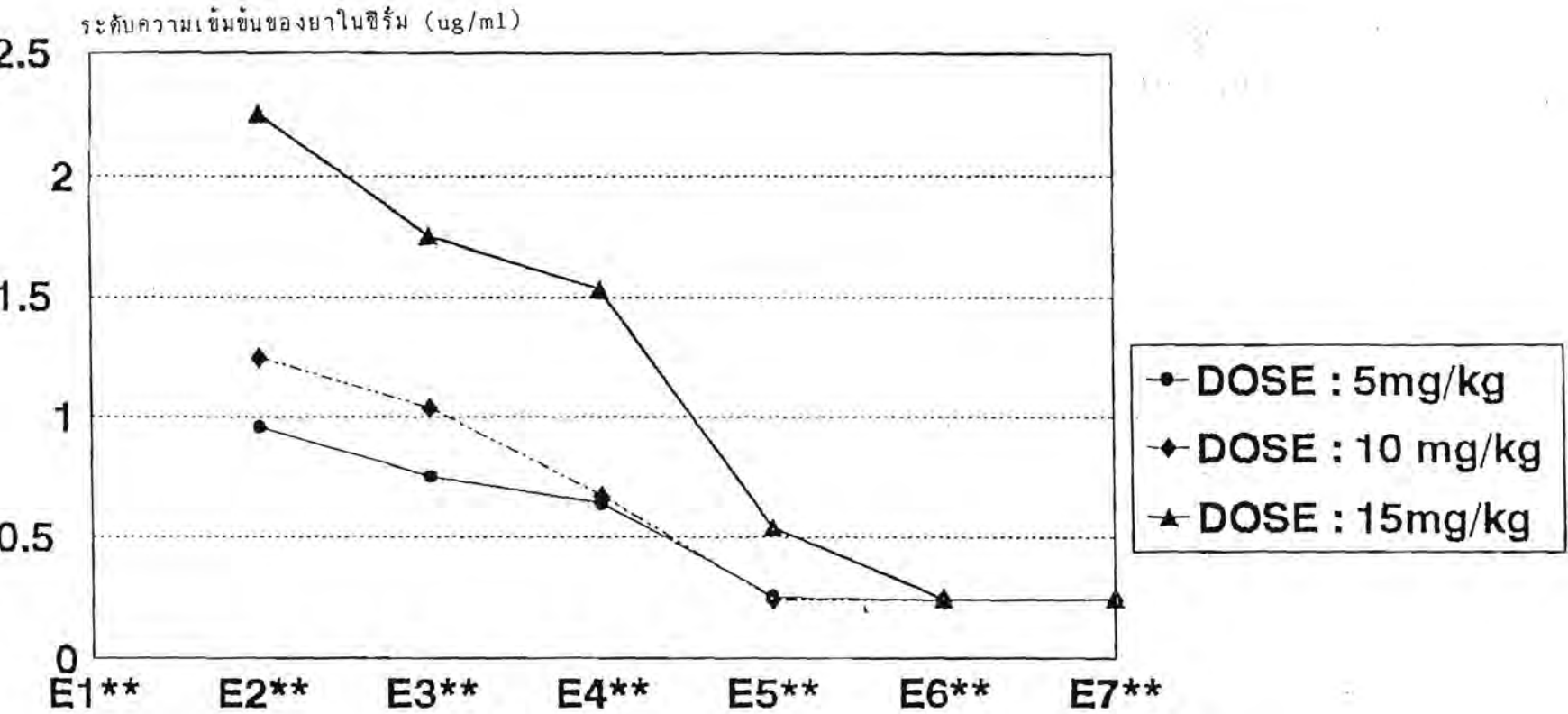
ตารางที่ 1 เปรียบเทียบระดับยา Erythromycin ในซีรัม เมื่อปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 5 mg/kg

ระยะเวลาที่ เก็บซีรัม	ค่าความเข้มข้นของยา Erythromycin ในซีรัม (ug/ml)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm S.D.$ *
E ₁ **	-	-	-	-
E ₂ **	0.72	1.12	1.04	0.96±0.03
E ₃ **	0.63	1.14	0.49	0.75±0.08
E ₄ **	0.61	0.94	0.36	0.64±0.06
E ₅ **	-	0.20	<0.25	<0.26±0.00
E ₆ **	-	<0.25	-	<0.25±0.00
E ₇ **	-	-	-	-

* $\bar{x} \pm S.D.$ = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ Erythromycin ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ** E₁ = กลุ่มที่เจาะเลือดก่อนฉีดยา Erythromycin
- E₂ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 1 ชั่วโมง
- E₃ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 3 ชั่วโมง
- E₄ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 6 ชั่วโมง
- E₅ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 24 ชั่วโมง
- E₆ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 36 ชั่วโมง
- E₇ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 48 ชั่วโมง

กราฟที่ 1 แสดงผล เปรียบเทียบระดับขนาด Erythromycin ในซีรัมปลาการ์ท เมื่อได้รับยาในขนาด 5,10 และ 15 mg/kg



E1** = Before Injection

E2** = After Injection one hour

E3** = After injection three hours

E4** = After Injection six hour

E5** = After Injection twenty four hours

E6** = After injection thirty six hours

E7** = After Injection forty eight hours

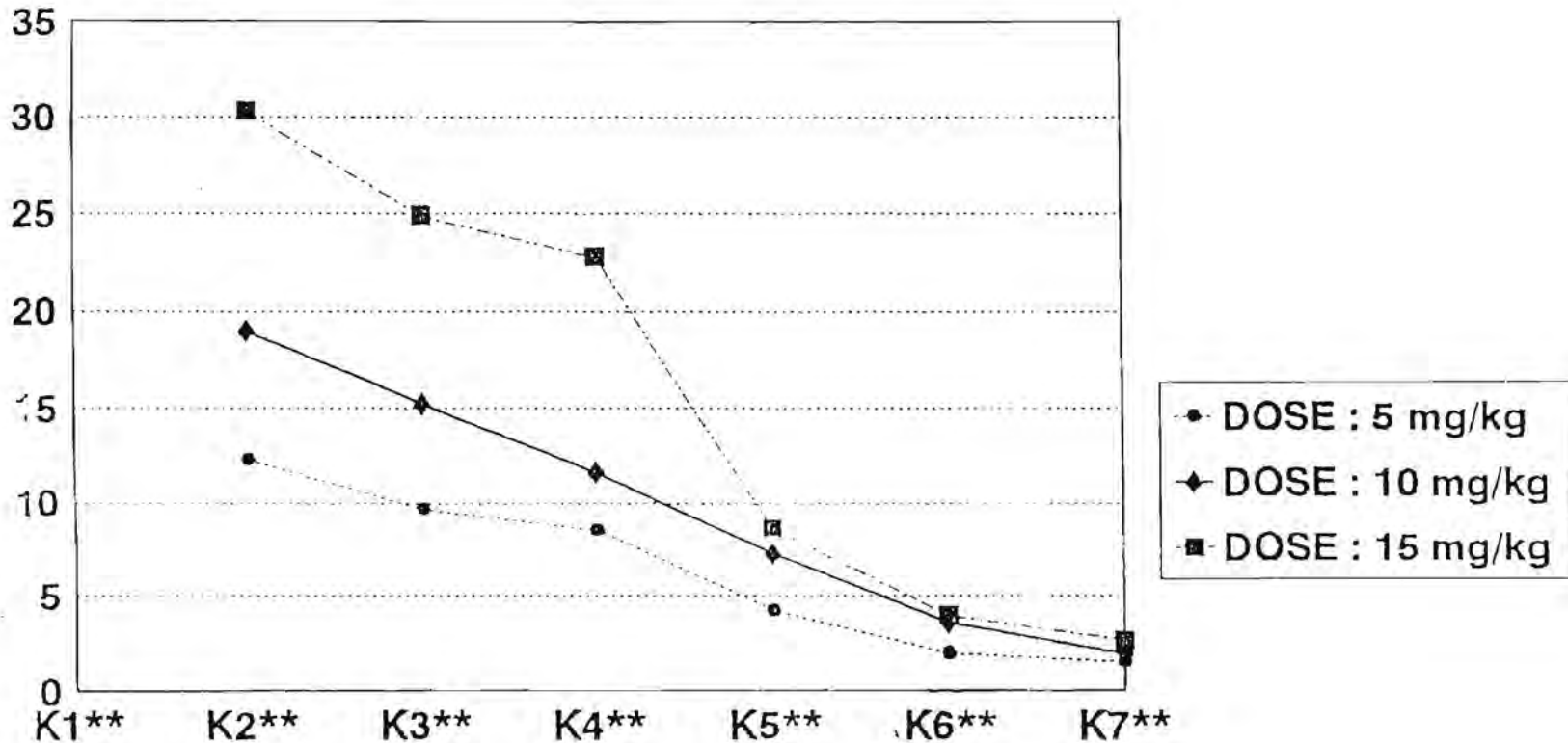
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบระดับยา Erythromycin ในซีรัม เมื่อปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 10 mg/kg

ระยะเวลาที่ เก็บซีรัม	ค่าความเข้มข้นของยา Erythromycin ในซีรัม (ug/ml)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm S.D.$ *
E ₁ **	-	-	-	-
E ₂ **	0.72	1.05	1.96	1.25 \pm 0.27
E ₃ **	0.49	1.22	1.42	1.04 \pm 0.16
E ₄ **	0.76	1.01	0.25	0.67 \pm 0.10
E ₅ **	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25 \pm 0.00
E ₆ **	<0.25	<0.25	-	<0.25 \pm 0.00
E ₇ **	-	<0.25	-	<0.25 \pm 0.00

* $\bar{x} \pm S.D.$ = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ Erythromycin \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ** E₁ = กลุ่มที่เจาะเลือดก่อนฉีดยา Erythromycin
- E₂ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 1 ชั่วโมง
- E₃ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 3 ชั่วโมง
- E₄ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 6 ชั่วโมง
- E₅ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 24 ชั่วโมง
- E₆ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 36 ชั่วโมง
- E₇ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 48 ชั่วโมง

ระดับความเข้มข้นของยาในซีรัม
(ug/ml)



K1** = Before injection

K2** = After injection one hour

K3** = After Injection three hours

K4** = After injection six hours

K5** = After injection twenty four hours

K6** = After injection thirty six hours

K7** = After Injection forty eight hours

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบระดับยา Erythromycin ในซีรัม เมื่อปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 15 mg/kg

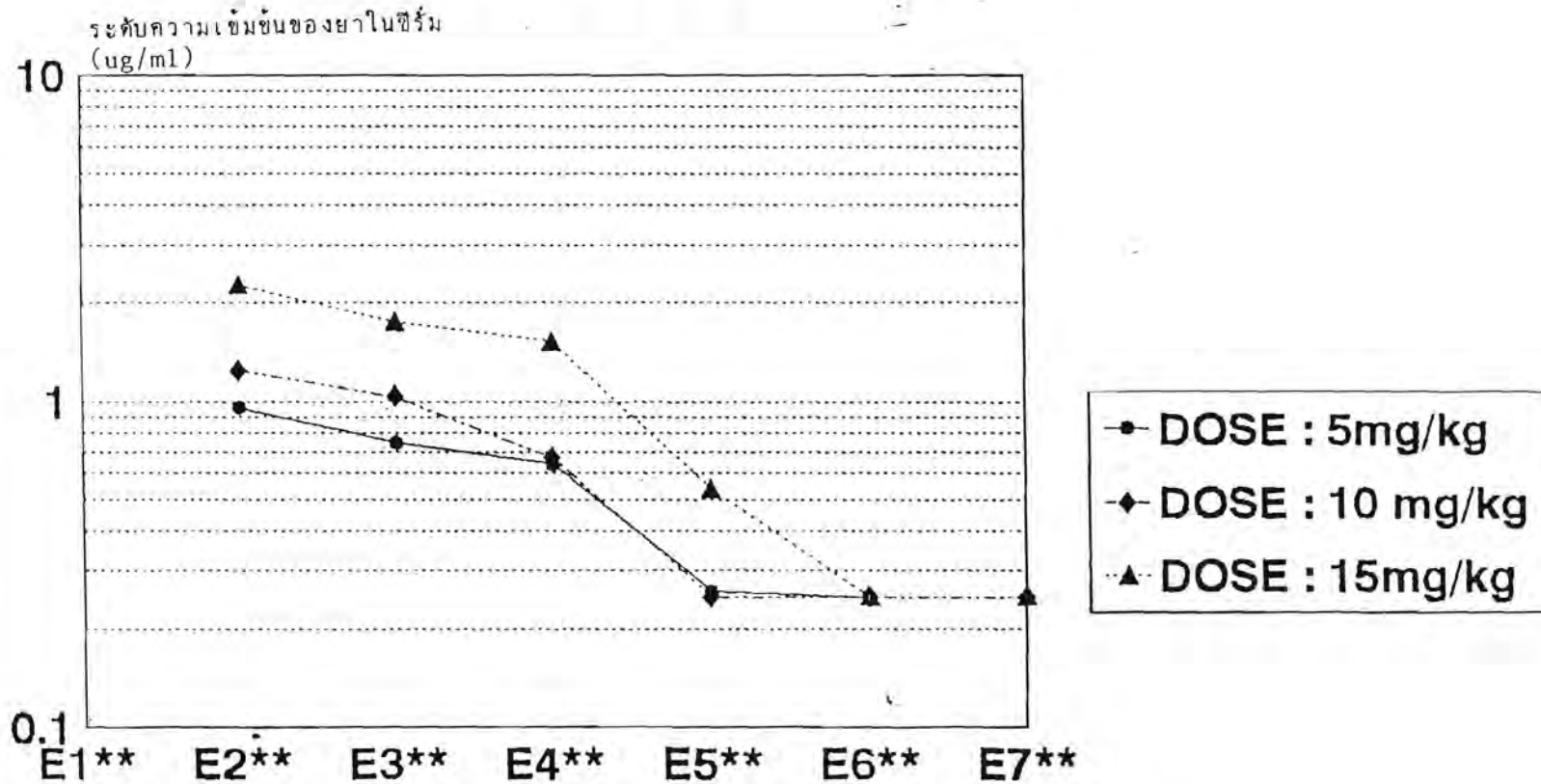
ระยะเวลาที่เก็บซีรัม	ค่าความเข้มข้นของยา Erythromycin ในซีรัม (ug/ml)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm S.D.$ *
E ₁ **	-	-	-	-
E ₂ **	1.85	1.62	3.30	2.26±0.55
E ₃ **	1.25	1.62	2.40	1.75±0.23
E ₄ **	1.38	1.42	1.80	1.53±0.04
E ₅ **	<0.25	<0.29	1.12	<0.54±0.17
E ₆ **	<0.25	<0.25	<0.25	<0.25±0.00
E ₇ **	-	<0.25	<0.25	<0.25±0.00

* $\bar{x} \pm S.D.$ = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ Erythromycin ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ** E₁ = กลุ่มที่เจาะเลือดก่อนฉีดยา Erythromycin
 E₂ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 1 ชั่วโมง
 E₃ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 3 ชั่วโมง
 E₄ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 6 ชั่วโมง
 E₅ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 24 ชั่วโมง
 E₆ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 36 ชั่วโมง
 E₇ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Erythromycin 48 ชั่วโมง

2. ผลการศึกษาระดับยาปฏิชีวนะ Kanamycin ในซีรัมปลาคาร์พที่เวลาต่าง ๆ ค่าความเข้มข้นของยา Kanamycin ในซีรัมปลาคาร์พดังแสดงในตารางที่ 4, 5 และ 6 เป็นค่าที่ได้จากการนำเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ที่เกิดขึ้นมาอ่านค่าเปรียบเทียบกับ standard curve ของ kanamycin ที่ได้จากการทดลองเช่นกัน ซึ่งจะพบว่าในซีรัมของปลาคาร์พที่เจาะจากปลา ก่อนฉีดยา kanamycin จะตรวจไม่พบระดับยาในซีรัมในขณะที่ระดับของ

กราฟที่ 3 กราฟ Liner-logarithmic แสดงผลเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของยา Erythromycin ในซีรัมปลาการ์พ เมื่อได้รับยาในขนาด 5, 10 และ 15 mg/kg



E1** = Before Injection

E2** = After injection one hour

E3** = After injection three hours

E4** = After injection six hour

E5** = After Injection twenty four hours

E6** = After injection thirty six hours

E7** = After Injection forty eight hours



ตรวจพบได้ในระดับค่อนข้างสูง (2.65 ug/ml) หลังจากฉีดยา kanamycin ในขนาด 15 mg/kg ให้ปลาคาร์พนาน 48 ชั่วโมง

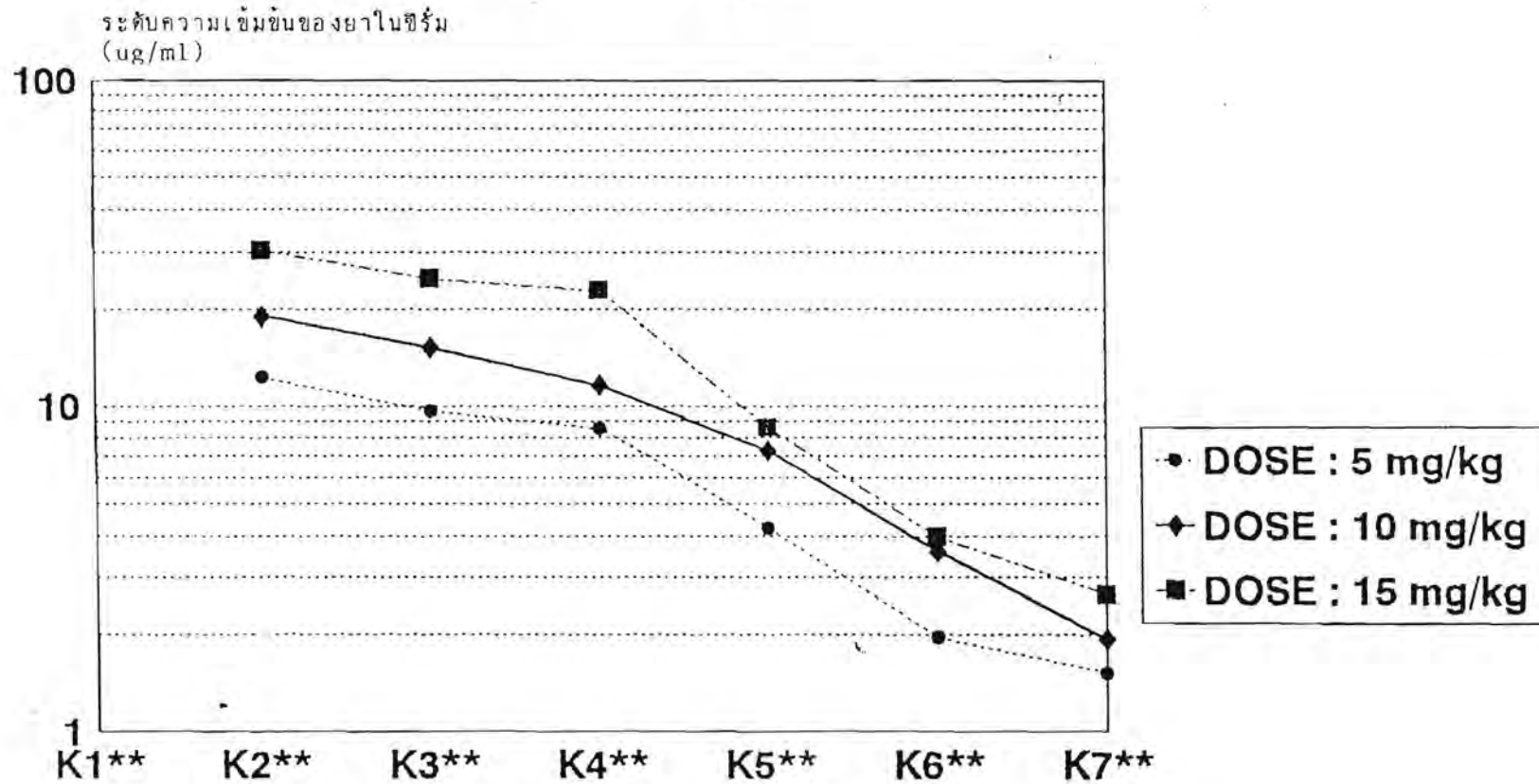
ตารางที่ 4 เปรียบเทียบระดับยา Kanamycin ในซีรัม เมื่อปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 5 mg/kg

ระยะเวลาที่เก็บซีรัม	ค่าความเข้มข้นของยา Kanamycin ในซีรัม (ug/ml)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm S.D. *$
K ₁ **	-	-	-	-
K ₂ **	9.9	10.5	16.5	12.3 \pm 8.88
K ₃ **	8.9	9.1	11.0	9.67 \pm 0.89
K ₄ **	8.6	8.2	8.8	8.53 \pm 0.06
E ₅ **	5.0	5.2	2.45	4.21 \pm 1.57
E ₆ **	2.0	2.15	1.75	1.96 \pm 0.03
E ₇ **	1.22	1.90	1.48	1.53 \pm 0.08

* $\bar{x} \pm S.D.$ = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของยา Kanamycin \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ** K₁ = กลุ่มที่เจาะเลือดก่อนฉีดยา Kanamycin
 K₂ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 1 ชั่วโมง
 K₃ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 3 ชั่วโมง
 K₄ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 6 ชั่วโมง
 K₅ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 24 ชั่วโมง
 K₆ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 36 ชั่วโมง
 K₇ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 48 ชั่วโมง

กราฟที่ 4 กราฟ Liner-logarithmic แสดงผลเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของยา kanamycin ในซีรัมปลาการ์พ เมื่อได้รับยาในขนาด 5, 10 และ 15 mg/kg



K1** = Before injection

K2** = After injection one hour

K3** = After injection three hours

K4** = After injection six hours

K5** = After injection twenty four hours

K6** = After injection thirty six hours

K7** = After injection forty eight hours

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบระดับยา Kanamycin ในซีรัม เมื่อปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 10 mg/kg

ระยะเวลาที่ เก็บซีรัม	ค่าความเข้มข้นของยา Kanamycin ในซีรัม (ug/ml)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm S.D. *$
K ₁ **	-	-	-	-
K ₂ **	19.8	12.3	24.5	18.97 \pm 26.38
K ₃ **	18.5	10.6	16.5	15.20 \pm 11.89
K ₄ **	17.0	5.8	12.0	11.60 \pm 20.99
E ₅ **	7.2	5.35	9.2	7.25 \pm 2.47
E ₆ **	3.8	3.45	3.5	3.58 \pm 0.02
E ₇ **	1.62	2.45	1.75	1.94 \pm 0.13

* $\bar{x} \pm S.D.$ = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของยา Kanamycin \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ** K₁ = กลุ่มที่เจาะเลือดก่อนฉีดยา Kanamycin
 K₂ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 1 ชั่วโมง
 K₃ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 3 ชั่วโมง
 K₄ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 6 ชั่วโมง
 K₅ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 24 ชั่วโมง
 K₆ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 36 ชั่วโมง
 K₇ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบระดับยา Kanamycin ในซีรัม เมื่อปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 15 mg/kg

ระยะเวลาที่เก็บซีรัม	ค่าความเข้มข้นของยา Kanamycin ในซีรัม (ug/ml)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm S.D. *$
K ₁ **	-	-	-	-
K _e **	35.5	25.5	30.0	30.33 _± 16.72
K ₃ **	24.8	17.8	32.0	24.86 _± 33.60
K ₄ **	22.5	14.8	31.0	22.77 _± 43.77
E ₅ **	11.8	7.2	6.8	8.60 _± 5.14
E ₆ **	5.8	3.9	2.2	3.97 _± 2.16
E ₇ **	3.5	2.85	1.6	2.65 _± 0.62

* $\bar{x} \pm S.D.$ = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของยา Kanamycin \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ** K₁ = กลุ่มที่เจาะเลือดก่อนฉีดยา Kanamycin
 K_e = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 1 ชั่วโมง
 K₃ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 3 ชั่วโมง
 K₄ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 6 ชั่วโมง
 K₅ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 24 ชั่วโมง
 K₆ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 36 ชั่วโมง
 K₇ = กลุ่มที่เจาะเลือดหลังฉีดยา Kanamycin 48 ชั่วโมง

3. ผลการศึกษาฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (in vitro) ขนาดความเข้มข้นของยา Erythromycin และ Kanamycin ที่ใช้ทดสอบนี้จะเตรียมขึ้นให้ใกล้เคียงกับระดับของยาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดในซีรัมปลาการ์ทที่วัดได้จากผลการทดลองตามตารางที่ 1-6

ตารางที่ 7 แสดงผลของยา Erythromycin ในซีรัมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

ความเข้มข้นของยา (ug/ml.)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ที่วัดได้ (mm.)			
	Streptococcus spp.	B.cereus	E.coli	A.hydrophila
0.25	-**	-	-	-
0.45	-	-	-	-
0.65	-	-	-	-
0.85	-	7	-	-
1.0	-	8	-	-
1.25	-	10	-	-
1.50	-	11	-	-
1.75	-	11	-	-
2.0	-	12	-	-
2.25	7	13	-	-
2.50	8	14	-	-
2.75	9	14	-	-
3.0	12	15	-	-
3.30	12	15	-	-
ค่ามาตรฐาน*	23	28	-	17
Blank disc	-	-	-	-

หมายเหตุ * = disc มาตรฐานที่ความเข้มข้นของ Erythromycin 15 ug/ml

** = ไม่เกิด clear zone

*** = disc ความคม



ตารางที่ 8 แสดงผลของยา Kanamycin ในซีรุ่มที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

ความเข้มข้นของยา (ug/ml.)	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone ที่วัดได้ (mm.)			
	Streptococcus spp.	B.cereus	E.coli	A.hydrophila
1.0	-**	-	-	-
3.5	-	-	-	-
6.0	-	-	-	7
8.5	-	-	-	8
11.0	-	-	-	11
13.5	7	-	-	12
16.0	7	-	-	14
18.5	8	-	-	15
21.0	10	-	-	15
23.5	10	-	-	15
26.0	10	-	-	13
28.5	11	-	-	13
31.0	12	-	-	15
33.5	12	7	-	15
ค่ามาตรฐาน*	21	16	-	23

หมายเหตุ * = disc มาตรฐานที่ความเข้มข้นของ Kanamycin 30 ug/ml

** = ไม่เกิด clear zone

ตารางที่ 9 ตารางการตัดสินการใช้ยาปฏิชีวนะตามวิธีของ Kirby-Bauer (NCCL, 1981)

Antibiotic or Chemotherapeu tic agents	Disc Potency mcg.	Inhibition Zone Diameter (to nearest)		
		Resistant	Intermediate	Sensitive
Ampicillin				
- S.aureus	10	20 or less	21-28	29 or more
- Gram Negative and Enterococci	10	11 or less	12-13	14 or more
Amoxicillin				
- S.aureus	25	21 or less	22-25	26 or more
- Gram negative	25	15 or less	16-19	20 or more
Bacitracin	10 units	8 or less	9-12	13 or more
Carbenicillin				
- Ps. aeruginosa	100	10 or less	11-17	18 or more
- Other Gram Negative	100	16 or less	17-22	23 or more
Cephalothin	30	14 or less	15-17	18 or more
Cephalosporin	30	11 or less	12-15	16 or more
Chloramphenicol	30	12 or less	13-17	18 or more
Colistin	10	8 or less	9-10	11 or more
Erythromycin*	15	13 or less	14-17	18 or more
Gentamicin	10	12 or less	-	13 or more
Kanamycin*	30	13 or less	14-17	18 or more
Kedacillin				
- Ps. aeruginosa	100	14 or less	15-25	26 or more

อภิปรายผลการทดลอง

1. ผลจากการศึกษาระดับยาปฏิชีวนะ Erythromycin ในซีรัมปลาคาร์พ ณ เวลาต่าง ๆ ภายหลังจากที่ปลาคาร์พได้รับยาในขนาด 5 mg/kg, 10 mg/kg และ 15 mg/kg ตามตารางที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

จากตารางที่ 1 พบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับยาสูงสุดในซีรัมปลาคาร์พหลังจากปลาได้รับยา 1 ชั่วโมง คือ 0.96 ug/ml และสามารถตรวจหาระดับยาในซีรัมได้ต่ำกว่า 0.26 ug/ml ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 จนกระทั่งตรวจไม่พบยาเลยหลังจากฉีดไป 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของระดับยาในซีรัมของปลาคาร์พสูงสุดหลังจากปลาได้รับยาไปแล้ว 1 ชั่วโมง (1.25 ug/ml.) แล้วค่อย ๆ ลดต่ำลงจนน้อยกว่า 0.25 ug/ml ตั้งแต่ 12 ชั่วโมง หลังจากฉีดยา

ตารางที่ 3 คล้ายคลึงกับตารางที่ 2 คือ ค่าเฉลี่ยของระดับยาในซีรัมของปลาคาร์พสูงสุดหลังจากได้รับยา 1 ชั่วโมง (2.26 ug/ml.) และลดต่ำลงจนมีระดับต่ำกว่า 0.25 ug/ml. หลังจากได้รับยา 36 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

2. ผลจากการศึกษาระดับยาปฏิชีวนะ Kanamycin ในซีรัมปลาคาร์พที่เวลาต่าง ๆ ภายหลังจากปลาได้รับยาในขนาด 5 mg/kg., 10 mg/kg. และ 15 mg/kg. ตามตารางที่ 4, 5 และ 6

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของระดับยาสูงสุดในซีรัม ภายหลังจากได้รับยาในขนาด 5 mg/kg. 1 ชั่วโมง จะเป็น 12.3 ug/ml. ในขณะที่ค่าต่ำสุดที่วัดได้หลังจากได้รับยา 48 ชั่วโมงจะเป็น 1.53 ug/kg/

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของระดับยาสูงสุดในซีรัมปลาคาร์พหลังจากได้รับยาในขนาด 10 mg/kg 1 ชั่วโมง จะเป็น 18.97 ug/ml. และระดับของยาค่าต่ำสุดในซีรัมหลังจากได้รับยา 48 ชั่วโมง เป็น 1.94 ug/ml.

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของระดับยาสูงสุดในซีรัมปลาคาร์พหลังจากได้รับยาในขนาด 15 mg/kg นาน 1 ชั่วโมง คือ 30.33 ug/ml. ส่วนระดับยาค่าต่ำสุดในซีรัมหลังจากได้รับยา 48 ชั่วโมง เป็น 2.65 ug/ml.

จากรูปกราฟที่ 1 และ 2 สามารถกล่าวได้ว่า ระดับของยาในเลือดจะลดต่ำลงเรื่อย ๆ ภายหลังจากฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อแล้ว ไม่ว่าจะป็นยาปฏิชีวนะชนิดใดส่วนระดับความเข้มข้นของยาในเลือดนั้นจะแปรผันตามขนาดยาที่ได้รับคือ ปลาที่ได้รับยาในขนาด 15 mg/kg จะตรวจพบระดับของยาในเลือดสูงกว่าที่ได้รับในขนาด 5 mg/kg และ 10 mg/kg ตามลำดับ

จากรูปกราฟที่ 3 และ 4 ซึ่งเป็นกราฟ Linear-logarithmic ระหว่างความเข้มข้นของยาในซีรัมและเวลาพบว่าค่าครึ่งชีวิตของ Erythromycin ในปลาการ์ปประมาณ 11 ชั่วโมง และค่าครึ่งชีวิตของ Kanamycin ในปลาการ์ปประมาณ 15 ชั่วโมง

3. ผลจากการศึกษาฤทธิ์ของยา Erythromycin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งวัดได้จากซีรัมปลาการ์ปต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ตารางที่ 7 พบว่า Erythromycin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ในระดับหนึ่งคือ ผลต่อเชื้อ Staphylococcus spp. ที่ระดับความเข้มข้นของยา Erythromycin 2.25 ug/ml สามารถทำให้เกิด clear zone ได้ในขนาด 7 มม. ซึ่งความเข้มข้นในระดับนี้เป็นระดับที่สูงที่สุดที่สามารถวัดได้ในซีรัมปลาการ์ปหลังจากได้รับยา (15 mg/kg) นาน 1 ชั่วโมง และในระดับของยาที่สูงกว่า 2.25 ug/ml. คือ ระดับ 2.50, 2.75, 3.0, 3.30 และ 15 ug/ml. (disc มาตรฐาน) จะพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้เกิดเป็น clear zone ขนาด 8, 9, 12, และ 23 มม. ตามลำดับ ผลต่อเชื้อ Bacillus spp. สามารถทำให้เกิด clear zone ได้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้นของยาเท่ากับ 0.85 ug/ml. จนกระทั่ง 3.30 ug/ml. สามารถทำให้เกิด clear zone ได้ ในขนาด 13 มม. และผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของ disc มาตรฐาน (15 ug/disc) จะเกิด clear zone ในขนาด 28 มม. จากผลการทดลองนี้หากเทียบกับตารางการตัดสินของ Kirby-Bauer (ตารางที่ 9) พบว่า ตามตาราง Kirby-Bauer ยา Erythromycin เข้มข้น 15 ug/ml สามารถทำให้เกิด clear zone ได้ในขนาด 18 มม. หรือมากกว่า จะถือว่ายานี้มีผลต่อการรักษาได้ จากการทดลองนี้ ความเข้มข้นของยาที่ใช้ทดสอบต่ำกว่าค่ามาตรฐานมาก (ค่าสูงสุด 2.25 ug/ml.) แต่สามารถทำให้เกิด clear zone ได้ขนาด 7 มม. ในเชื้อ Staphylococcus spp. และขนาด 13 มม. ในเชื้อ Bacillus spp. แสดงว่า Erythromycin มีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด เช่น Staphylococcus spp. และ Bacillus spp. ได้

ผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ จากการทดลองพบว่ายา Erythromycin ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli และเชื้อ Aeromonas spp. ได้เลย ยกเว้นผลของ Disc มาตรฐานต่อเชื้อ Aeromonas spp. สามารถทำให้เกิด clear zone ได้ในขนาด 17 มม. ซึ่งหากเทียบกับ Kirby-Bauer พบว่าการทำให้เกิด clear zone ในขนาดเท่านี้ จะให้ผลไม่เด่นชัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย จึงอาจกล่าวได้ว่ายา Erythromycin ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดคือ E. coli และ Aeromonas spp.

จากตารางที่ 8 ผลของการศึกษาฤทธิ์ของยา Kanamycin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่วัดได้จากซีรัมของปลาการ์ปต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียพบว่า Kanamycin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางตัวได้

คือ แบคทีเรียแกรมบวก Kanamycin สามารถทำให้เกิด clear zone ในการทดสอบกับเชื้อ Staphylococcus spp. ได้ ตั้งแต่ความเข้มข้น 13.5 ug/ml. จนถึง 33.5 ug/ml. ในขนาด 7 มม. จนถึง 12 มม. ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบกับ disc มาตรฐานที่ความเข้มข้น 30 ug/ml. จะเกิด clear zone ได้ในขนาด 21 มม. (ค่าความเข้มข้นของยาสูงสุดที่ตรวจพบในซีรัมปลาคาร์ปคือ 30.33 ug/ml. เกิด clear zone ขนาด 12 มม.) ผลการทดสอบกับเชื้อ Bacillus spp. จะเกิด clear zone เฉพาะที่ความเข้มข้น 33.5 ug/ml. และ disc มาตรฐาน (ความเข้มข้น 30 ug/ml.) โดยขนาดของ clear zone ที่เกิดขึ้นเป็น 7 มม. และ 16 มม. ตามลำดับ

การทดสอบฤทธิ์ของยากับแบคทีเรียแกรมลบ พบว่า Kanamycin ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli เลย แต่มีผลต่อเชื้อ Aeromonas spp. บ้าง นั่นคือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ตั้งแต่ความเข้มข้นของยาในซีรัมมีค่า 6 ug/ml. จนถึง 33.5 ug/ml. และใน disc มาตรฐาน แต่หากเทียบกับตารางการตัดสินของ Kirby & Bauer แล้วพบว่าที่ความเข้มข้น 30 ug/ml. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ได้ผลจะต้องเกิด clear zone ตั้งแต่ขนาด 18 มม. ขึ้นไป ซึ่งในการทดสอบนี้ที่ความเข้มข้น 31 ug/ml. (ใกล้เคียงค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจได้จากซีรัม) จะทำให้เกิด clear zone ได้เพียง 12 มม., 7 มม. และ 15 มม. ในเชื้อ Staphylococcus spp., Bacillus spp. และ Aeromonas spp. ตามลำดับ แสดงว่าจากการทดลองกล่าวได้ว่า Kanamycin ในขนาดที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ E. coli ส่วนเชื้อ Bacillus spp. และ Staphylococcus spp. สามารถทนทานต่อยา Kanamycin ในขนาดที่ใช้ในการทดลองได้ ในขณะที่ผลต่อเชื้อ Aeromonas spp. ไม่เด่นชัดนัก (Intermediate) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการ plot กราฟ Linear-logarithmic (กราฟที่ 3 และ 4) ระหว่างความเข้มข้นของยาในซีรัมและเวลาพบว่าคุณค่าครึ่งชีวิตของ Erythromycin ในปลาคาร์พ คำนวณได้ประมาณ 11 ชั่วโมง ส่วนใน Kanamycin ประมาณ 15 ชั่วโมง ซึ่ง Prescott และ Baggot (1988) แนะนำว่าคุณค่าครึ่งชีวิต (Half life) Erythromycin ในม้านาน 1 ชั่วโมง, ในโค กระบือ 3.2 ชั่วโมง และในคนประมาณ 1.1-3.5 ชั่วโมง ส่วนค่าครึ่งชีวิตของ Kanamycin ในม้านาน 1.8 ชั่วโมง, ในสุนัข 1 ชั่วโมง และในคน 2.1 ชั่วโมง ระยะเวลาในการให้ยาแต่ละครั้งสำหรับม้าหรือสุนัขและแมว ประมาณ 8 ชั่วโมง ซึ่งจากการทดลองพบว่าค่าครึ่งชีวิตของยาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดในปลาคาร์พอาจว่าในสัตว์เลี้ยงหรือม้ามาก ดังนั้นระยะเวลาในการให้ยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดนี้แก่ปลาคาร์พแต่ละครั้งจึงอาจห่างกันมากกว่า 8 ชั่วโมงได้

2. จากการศึกษาฤทธิ์ของยาต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่าทั้ง Kanamycin และ Erythromycin มีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Bertram, 1989) แต่จากการทดลอง Erythromycin มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกคือ Streptococcus spp. และ Bacillus spp. เท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากขนาดความเข้มข้นของยาในซีรัมที่ใช้ศึกษาค่าเกินไป จึงไม่เกิดผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบหรืออาจเป็นเพราะเชื้อต่อต้านยาได้

3. จากตารางที่ 4, 5 และ 6 ซึ่งพบว่า การศึกษาระดับยาปฏิชีวนะ Kanamycin ในซีรัมปลาคาร์พที่เวลาต่าง ๆ กัน มีค่าแกว่งมาก (ค่าเขียนเบนมาตรฐานมีค่าสูง) อาจเนื่องจากปลาคาร์พเป็นปลาที่เกล็ด โอกาสที่ปลาจะได้รับปริมาณยาจะไม่แน่นอนเท่าที่ควรและในการฉีดยาจำเป็นจะต้องใช้เข็มขนาดใหญ่ จึงทำให้มีการรั่วไหลของยากลับออกมาในบางครั้ง รวมทั้งการฉีดยาปลานั้นจะต้องมีการวางยาสลบปลา ในขณะที่ฉีดยาและเจาะเลือด แต่การวางยาจะไม่วางให้สลบลึกเกินไป เพราะไม่ต้องการให้เป็นอันตรายต่อตัวปลาและไม่ต้องการให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อน เนื่องจากผลของยาสลบ ดังนั้นอาจมีการคืนของปลาในขณะที่ฉีดยาให้ปลา ทำให้ขนาดยาที่ปลาได้รับไม่แน่นอนได้

สรุป

1. ค่าครึ่งชีวิตของยาปฏิชีวนะ Erythromycin และ Kanamycin ในปลาคาร์พจะนานกว่าในสัตว์บกทั่วไป เช่น ม้า, สุนัขและแมว
2. ขนาดของยาที่ใช้ในการทดลองต่ำเกินไปจนทำให้ผลการศึกษาเรื่องฤทธิ์ของยาต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบไม่ชัดเจน

ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาถึงระดับของยาปฏิชีวนะในซีรัมสัตว์น้ำอื่น ๆ ที่มีการเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรม เช่น ปลาดุกและผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบต่อเนื่องไปโดยเพิ่มขนาดของยาที่ให้แก่ปลาดุกและระยะเวลาจะเลือกปลาภายหลังได้รับยาให้นานมากขึ้น เพื่อที่จะได้ทราบถึงขนาดของยาที่เหมาะสมที่สามารถใช้รักษาหรือป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในปลาดุกได้

กิตติกรรมประกาศ

ดังนี้

ผู้วิจัยและคณะขอขอบพระคุณผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

รองคณบดีฝ่ายวิจัยและคณะกรรมการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น.สพ. ประโยชน์ ตันติเจริญยศ นักวิจัยชำนาญการ

คุณวารุณี พุ่มจันทร์

ศูนย์คอมพิวเตอร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ สายชนู และ โสมทัต วงศ์สว่าง 2525 โรค Red-Sore ในปลาคว่ำพ
วารสารโรคสัตว์น้ำ 5 (3) : 79-86
- บุญเจือ ชวณินทร์, ประกอบ วิบูลย์สุข และชัชฎวรัตน์ ศรีประสงค์ 2532. ชาติประสงค์
ตำราเภสัชวิทยา โรงพิมพ์เวียนแก้วการพิมพ์, กรุงเทพฯ หน้า 597-644
- ปัญญา โทษฐิติรัตน์ 2531, โรคปลาสาวยงามและการป้องกัน. เทคนิคการเลี้ยงและการ
เพาะพันธุ์ปลาสาวยงาม. กรุงเทพฯ. หน้า 213-217
- Bailly, Scott. 1974. Diagnostic Microbiology. 4th ed., The C.V.
Mosby Company. P : 24-25, 65, 138, 143, 323.
- Barry, A.L. 1976. The Antimicrobial Susceptibility test.
In: Principle and Practice. Lea and Febiger, Philadelphia.
P : 76-83
- Bertram G. katzung 1989. Principle of Antimicrobial drugs. In :
Basic and clinical Pharmacology. Prentice-Hall
International Inc. P. 545-552.
- Code of Federal Regulation 21 1987. part 300 to 499. U.S. Government
Printing office. P. 271-287.
- Hugo W.B., Russell A.D. 1983. Pharmaceutical Microbiology, 3rd ed.
Backwell Scientific Publications, London. P. 140-148.
- Loriam v. 1986. Antibiotics in Laboratory medicine. 2nd ed.,
William and Wilkin Inc., USA. P. 155-156.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCL)., 1981.
modified Kirby-Bauer Test. P. 107.
- Prescott J.F., Baggot J.D. 1988. Aminoglycosies and Aminocyclitols.
In : Antimicrobial therapys in Veterinary Medicine. Blackwell
Scientific Publications, Boston. P. 121-152.
- Prescott J.F., Baggot J.D. 1988. Lincosamides and Macrolides.
In : Antimicrobial therapys in Veterinary Medicine. Blackwell
Scientific Publications, Boston. P. 162-169.
- Shideman F.E. 1980. The United State Pharmacopoeia XX. Mack Printing
Company. P. 882-888.