การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 18

วิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี

การประชุมทางวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 18

เรื่อง ก้าวนำสังคมวิถีชีวิตใหม่ด้วยงานวิจัยและนวัตกรรม

วันเสาร์ที่ 3 และวันอาทิตย์ที่ 4 กรกฎาคม พ.ศ. 2564

ผ่านระบบการประชุมทางไกลผ่านจอภาพ (Yealink Meeting)

มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

โรคติดเชื้อแอโรโมแนสในปลาคาร์ป (Aeromoniasis); สาเหตุ การวินิจฉัยและรักษา

ผู้วิจัย น.สพ.กัณวีร์ สว่างเนตร
โรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* เนื่องจาก *A. hydrophila* เป็นเชื้อที่ติดในทุกระบบ (systemic infection) ของตัวปลา เชื้อแบคทีเรียมักเข้าทางปากหรือกรณีที่ผิวหนังหรือเหงือกถูกทำลายเชื้อก็สามารถเข้าไปได้เช่นกันและเชื้อจะเพิ่มจำนวนในลำไส้และบริเวณที่ติดเชื้อ จากนั้นจึงแพร่กระจายตามกระแสเลือดไปทั่วตัวปลาคาร์ปที่เป็นโรคติดเชื้อนี้แบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในทางเดินอาหารและหลอดเลือดแล้วแพร่ไปทั่วทุกเนื้อเยื่อที่มีเลือดไปหล่อเลี้ยง หลังจากนั้นผนังหลอดเลือดจะถูกทำลายเกิดการตกเลือด พลาสมาไหลซึมออกมาสะสมระหว่างเซลล์ใต้เกล็ด ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นบวมน้ำ (edema) เกล็ดตัวจึงพองออกมา (ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, 2528)

นอกจากจะพบ *A. hydrophila* ในปลาแล้ว ยังมีรายงานการพบเชื้อนี้ในสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เช่น กุ้งกุลาดำ (*penaeus monodon*), กุ้งแชบ๊วย (*penaeus indicus*), กุ้งกุลาลาย (*penaeus semisulcatus*) (Vivekanandhan *et al.,* 2005) ยังพบเจอได้ในหอยนางรม (Tsai and Kong, 1997) สัตว์เลื้อยคลานเช่น เต่า (Pasquale *et al.,* 1994) สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำเช่น กบ (*rana pipiens*) (Hird *et al.,* 1983) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเช่น แมวน้ำสีเทา (*halichoerus grypus*) (Krovacek *et al*., 1998) สุนัข (Ghenghesh *et al.,* 1999) ซึ่งรวมไปถึงมนุษย์ด้วย โดยการเกิดโรคในมนุษย์จาก *A. hydrophila* นั้นได้มีรายงานการเกิดโรคและอาการหลายชนิดเช่น ลำไส้อักเสบ, ท้องร่วง, แผลติดเชื้ออวัยวะภายใน, เยื่อหุ้มสมอง, ไขสันหลังอักเสบ, ติดเชื้อในกระแสเลือด, หลอดลมอักเสบ, เยื่อบุหัวใจอักเสบ และเยื่อบุช่องท้องอักเสบ (Aslani and Hamzeh, 2004) เป็นต้น ซึ่ง *A. hydrophila* จัดเป็นเชื้อที่ฉวยโอกาสติดเชื้อในคนไข้ที่ภูมิคุ้มกันอ่อนแอหรือเป็นโรคอื่นมาก่อนอยู่แล้ว (Janda and Abbott, 1996, Lai *et al.,* 2007)

การก่อโรค (pathogenicity)

A. hydrophila สามารถเกาะติด (adhesion) และคงอยู่ (colonization) กับโฮสต์ (host) ซึ่งก็คือปลา คุณสมบัติพิเศษที่ทำให้เกาะติดและคงอยู่กับ host cell ได้ (adherence factor) ซึ่งจะมีการยึดจับกับตัวรับ (receptor) ที่จำเพาะของปลาเมื่อมีการยึดเกาะกับผิวเซลล์แล้วแบคทีเรียจะแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อทำให้ผิวเซลล์ฉีกขาดทำลายชั้นผนังของลำไส้ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียมีการสร้างสารพิษออกมาเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดแล้วกระจายไปยังระบบต่างๆทั่วร่างกาย เมื่อสร้างสารพิษออกมาทำให้เกิดพยาธิสภาพหรือรอยโรคในร่างกายขึ้นการสร้างสารพิษและเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพมีหลายชนิดยกตัวอย่างเช่นแอดฮิซิน (adhesins) และเลคติน (lectins) เพื่อยึดเกาะกับเยื่อบุผิวแล้วสร้างสารพิษอื่นๆออกมาเช่น เบต้าฮิโมไลซิน (beta-haemolysin) หรือแอโรไลซิน (aerolysin) ที่สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงได้สารพิษนี้จะแทรกเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เป็นรูและสูญเสียความสามารถในการควบคุมให้สารผ่านเข้า-ออกเซลล์ (permeability) ทำให้ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก นอกจากนี้ยังมี

สารไฮโดทอกซิน (cytotoxins) เป็นสารพิษที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ต่างๆของร่างกายทำให้เกิดขบวนการให้เซลล์นั้นตายได้ และเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxins) ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ทำให้เกิดอาการท้องเสียลิวโคซิดิน (leukocidins) จะไปทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวทำให้ภูมิคุ้มกันต่ำลง นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการสร้างเอนไซม์ต่างๆเช่น เจลาติเนส (gelatinase), โปรดีเอส (proteases), อะไมเลส (amylases), ไลเปส (lipases) และฟอสโฟไลเปส (phospholipases) โดยเอนไซม์เหล่านี้สร้างความเสียหายทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อหลายๆชนิดเช่น ทำให้เชื้อแพร่ผ่านเนื้อเยื่อต่างๆได้ง่ายเชื้อสามารถผ่านทางแผลขนาดเล็กหรือแผลฉีกขาดเข้าไปในร่างกาย

ปัจจัยที่ส่งผลต่อความรุนแรงของโรค (virulence factors)

เมื่อแบคทีเรียแพร่กระจายไปยังปลาที่ไวต่อการรับเชื้อแล้ว แบคทีเรียนั้นต้องมีความสามารถในการเกาะติดและคงอยู่ (adhere and colonize) กับผู้ถูกอาศัยหรือโฮสต์ (host) โดยแบคทีเรียจะต้องมีคุณสมบัติพิเศษสามารถสร้างสารที่ทำให้เกิดการเกาะติดและคงอยู่กับเซลล์ผู้ถูกอาศัยได้ (adherence factor) เช่น พิลไล (pili) และแอดฮีซิน (adhesins) เป็นต้น ซึ่ง adherence factor จะไปยึดจับกับตัวรับ (receptor) ที่จำเพาะของเซลล์ผู้ถูกอาศัย เมื่อมีการยึดเกาะกับผิวเซลล์แล้ว แบคทีเรียต้องมีความสามารถในการแทรกแซงเข้าสู่เนื้อเยื่อของผู้ถูกอาศัยเช่น การทำให้ผิวเซลล์ของผู้ถูกอาศัยฉีกขาด ทำลายชั้นผนังของลำไส้ เป็นต้น ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียมีการสร้างสารพิษออกมา ทำลายการควบคุมระบบต่างๆของเซลล์ผู้ถูกอาศัย ในบางครั้งสภาพของผู้ถูกอาศัยเองก็เปิดโอกาสให้แบคทีเรียเข้าสู่ตัวได้เช่น มีรอยถลอกหรือมีบาดแผลเป็นต้น เมื่อแบคทีเรียเข้าสู่ตัวของผู้ถูกอาศัยได้แล้วก็จะแทรกแซงไปยังเนื้อเยื่อส่วนที่ลึกลงไป เข้าสู่หลอดน้ำเหลืองขนาดเล็กที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อ ไปยังท่อทางเดินน้ำเหลือง เข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตแล้วกระจายไปยังระบบต่างๆทั่วร่างกายแล้วสร้างสารพิษออกมาทำให้เกิดพยาธิสภาพขึ้น

A. hydrophila เมื่อเข้าสู่ตัวของผู้ถูกอาศัยจะมีการสร้างสารจำพวก adhesins และ lectins เพื่อยึดเกาะกับเนื้อเยื่อบุผิวแล้วสร้างสารพิษต่างๆออกมา ซึ่งสารพิษที่ *A. hydrophila* สร้างนั้นได้แก่ exotoxins ซึ่งเป็นสารพิษที่แบคทีเรียสร้างและขับออกมานอกเซลล์ (extracellular products) เช่น beta-haemolysin หรือ aerolysin เป็นสารที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก โดย beta-haemolysin นี้จะแทรกเข้าไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เป็นรูและสูญเสียความสามารถในการควบคุมให้สารผ่านเข้า-ออกเซลล์ (permeability) ทำให้เซลล์แตกและตาย

โดยสามารถตรวจหาสารพิษนี้ได้จากการปรากฏของวงใส (haemolysis zone) รอบโคโลนีแบคทีเรียที่เลี้ยงใน blood agar สาร cytotoxins เป็นสารพิษที่ออกฤทธิ์ต่อเซลล์ต่างๆของร่างกายและทำให้เซลล์นั้นๆตายได้ สาร enterotoxins เป็นสารพิษที่ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ทำให้เกิดอาการท้องเสีย สาร leukocidins จะไปทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ถูกอาศัยทำให้ภูมิคุ้มกันของผู้ถูกอาศัยต่ำลง เอนไซม์ต่างๆเช่น proteases, amylases, lipases/phospholipases และ endotoxins เป็นส่วนประกอบที่อยู่ในเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) ของแบคทีเรีย สารที่สำคัญในเยื่อหุ้มชั้นนอกได้แก่ lipopolysaccharide (LPS) LPS เป็นสารที่มีเฉพาะในแบคทีเรียแกรมลบเท่านั้น มีความสำคัญทั้งทางในด้านโครงสร้างและหน้าที่ เพราะเป็นส่วนประกอบของแอนติเจนที่ผิวเซลล์ที่เรียกว่า O antigen ส่วนที่เป็นไขมันใน LPS เรียกว่า lipid-A มีสมบัติเป็น endotoxins LPS จึงมีความสำคัญ

ในการทำให้เกิดโรค ซึ่ง endotoxin จะออกจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ก็ต่อเมื่อเซลล์แตกสลาย เมื่อเซลล์ของแบคทีเรียถูกทำลายในร่างกายทำให้ lipid-A ออกจากผนังเซลล์ ผู้ป่วยจะเกิดอาการ เป็นไข้, ปวดเมื่อยตามตัว, ท้องร่วง อ่อนเพลีย, ช็อค และอาการรุนแรงถึงตายได้

การแพร่ระบาดโรคแอโรโมนิเอซิส

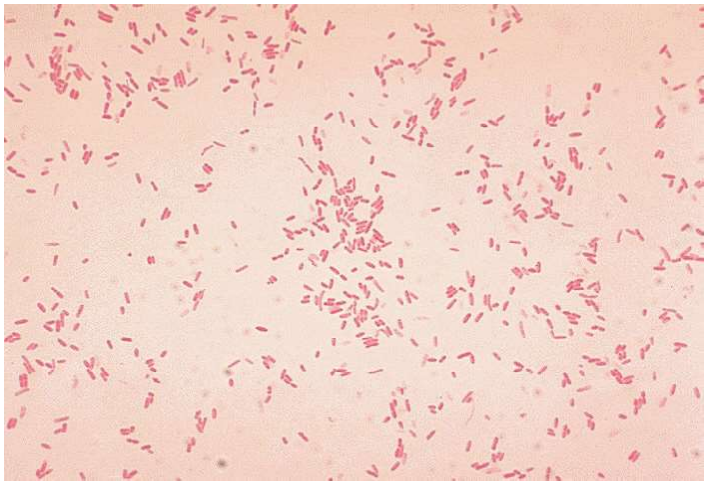
A. hydrophila มักพบมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก ส่วนใหญ่พบในแหล่งน้ำจืดโดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งน้ำที่มีปริมาณอินทรีย์สารมาก น้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน น้ำกร่อยที่มีความเค็มไม่เกิน 10% นอกจากนี้ยังพบในดินด้วย การแพร่กระจายโดยติดไปกับขนของนก สัตว์บก สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลานจากสถานที่หนึ่งไปยังอีกสถานที่หนึ่ง การระบาดของโรคที่เกิดจากพวก motile aeromonad นั้นมีความเกี่ยวข้องกับความเครียดเป็นอย่างมาก ปกติพบ *A. hydrophila* ในแหล่งน้ำทั่วๆ ไปและลำไส้ของปลาปกติ หากแหล่งน้ำนั้นอยู่ในสภาวะสมดุล เชื้อแบคทีเรียนี้จะไม่ทำให้เกิดปัญหากับปลา แต่เมื่อใดก็ตามที่มีสาเหตุทำให้สภาวะสมดุลเปลี่ยนแปลงไปได้แก่ เชื้อโรคเพิ่มปริมาณขึ้นหรือสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่ดีเช่น มีมลพิษสูง และน้ำเน่าเสีย เป็นต้น ทำให้ปลาเกิดความเครียด โอกาสที่ปลาจะเป็นโรคก็มีมากขึ้น สภาพแวดล้อมที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิ ในเขตหนาวปลาที่มี *A. hydrophila* อยู่ในตัวจะไม่เป็นโรคเมื่อเลี้ยงในน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7-8 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของน้ำที่ต่ำลงเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลากินอาหารน้อยลง การสร้างภูมิคุ้มกันอยู่ในระดับต่ำ อัตราการตายของปลาน้อยแต่โรคจะระบาดเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นเกิน 12-14 องศาเซลเซียส แบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วแต่การสร้างภูมิคุ้มกันของปลาเพิ่มอย่างช้าๆ แต่ไม่ได้สัดส่วนกับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย เป็นสาเหตุทำให้ปลาตายโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อปลาเครียดและมีเชื้อปริมาณมากในน้ำ อัตราการตายก็จะเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ได้แก่ ปลาเกิดความบอบช้ำจากการขนส่ง มีบาดแผลที่ผิวหนังหรือเหงือกถูกทำลายเนื่องจากปรสิต คุณสมบัติของน้ำไม่เหมาะสมเช่น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำเกินไปเป็นเวลานานๆ, ปริมาณแอมโมเนีย (NH_3^+) ในน้ำมีมากเกินไป, การปนเปื้อนของมลพิษ, การเลี้ยงปลาหนาแน่นเกินไปทำให้มีของเสียขับถ่ายออกมาปริมาณมาก, การให้อาหารมากเกินไปจนเหลือตกค้างในบ่อหรือกระชัง ซึ่งสาเหตุต่างๆเหล่านี้ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดน้อยลงและจะเป็นสาเหตุโน้มนำให้ปลาอ่อนแอและเครียด เปิดโอกาสให้เชื้อแบคทีเรียเข้าไปทำอันตรายได้ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2528)

การแพร่ระบาดของเชื้อในกลุ่ม (motile aeromonad) นั้น พบว่าเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคแผลเน่าเปื่อย (ulcerative disease) ในปลาจำพวกปลาดุก (*clarias*) ที่รัฐ java ในประเทศอินโดนีเซีย ในปี ค.ศ.1980 ซึ่งทำให้ปลาตายเป็นจำนวนมาก (Angka *et al.,* 1995) นอกจากประเทศอินโดนีเซียแล้วยังพบการระบาดของโรคแผลเน่าเปื่อยและการตายของปลาจำนวนมากอีกหลายประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Ruangpan *et al.,* 1986, Areerat, 1987, Llobrera and Gacutan, 1987, Angka *et al.,* 1988, Roberts *et al.,* 1992) การตายของแมวน้ำอาจเกิดจากการติดเชื้อร่วมกับแบคทีเรีย จึงนำเชื้อที่แยกได้ไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ความไวต่อยาปฏิชีวนะ ความเป็นพิษต่อเซลล์ และการทำพีซีอาร์ (PCR) ต่อ aerolysin gene พบว่าทุกไอโซเลตที่แยกได้เป็น *A. hydrophila* (Krovacek et al., 1998) ส่วนในอาหารได้มีการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในอาหารทะเลตามตลาดค้าปลาที่บริเวณ

dardanelles ของประเทศตุรกี พบว่าอาหารทะเล 84 ตัวอย่าง จาก 127 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในจีนัส *Vibrio* และ *Aeromonas* โดยพบ *V. alginolyticus* 26.7 เปอร์เซ็นต์, *V. vulnificus* 9.4 เปอร์เซ็นต์, *V. parahaemolyticus* 0.8 เปอร์เซ็นต์ และ *A. hydrophila* 29.1 เปอร์เซ็นต์ (Colakoglu *et al.,* 2006)

คุณสมบัติทั่วไปของ *A. hydrophila*

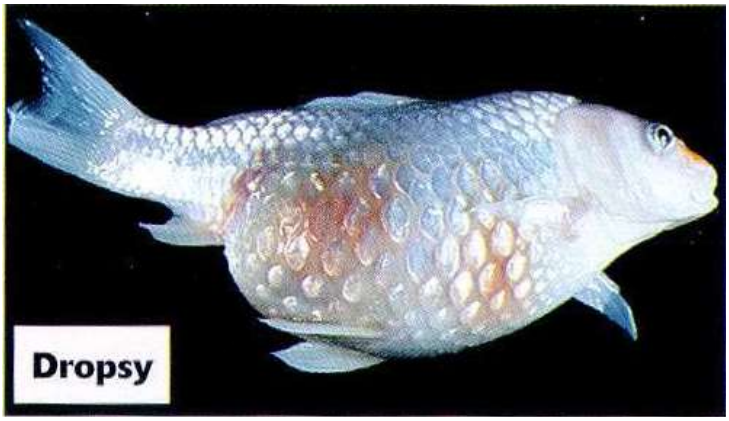
A. hydrophila เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในตระกูล Aeromonadaceae อาศัยอยู่อย่างอิสระในน้ำจืดหรือน้ำกร่อย เชื้อนี้จัดเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่สำคัญที่สุดเชื้อหนึ่ง มีรูปร่างเป็นแท่ง ย้อมติดสีแดงแกรมลบ (ภาพที่ 6) ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูล มีขนาดความกว้าง 0.3-1 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1-4 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้โพลาร์แฟลกเจลลา (polar flagella) มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) *A. hydrophila* เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มมีโซไฟล์ (mesophile) (Janda and Abbott, 1998) เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางระหว่าง 25-40 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิต่ำสุดที่จะเจริญได้ที่ 5-25 องศาเซลเซียส จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่จะเจริญได้ที่ 43 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2547)



ภาพที่ 1 การย้อมติดสีแกรมของ *A. hydrophila*
ที่มา : Rimler (1973)

อาการ

ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อและเน่าเปื่อยตามตัวและผิวหนังปลา เกิดการตกเลือด ทำให้ปลามีอาการเลือดออก เลือดคั่ง เป็นแผลลึกที่ลำตัว ผิวตัวมีสีเข้มขึ้น ตาโปน อาจมีอาการคั่งของของเหลวภายในช่องท้องเนื่องจากไตไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติโดยไม่สามารถขับน้ำออกสู่ภายนอกได้ทำให้ตัวปลาบวมพอง ผิวหนังยืดขยายจนเกิดอาการเกล็ดปลาตั้งพอง (dropsy) (ภาพที่ 1) ปลาบางตัวเมื่อได้รับเชื้ออาจเกิดเป็นแผลฝีลึก แหว่งเป็นรู และตายในที่สุด มีรายงานการตรวจพบเชื้อนี้ทั้งในสัตว์เลื้อยคลาน (Pasquale, *et al.,* 1994) สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (Hird, 1983) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Krovacek, 1998) ในอาหาร และน้ำดื่ม (Daskalov, 2006



ภาพที่ 2 อาการเกล็ดปลาตั้งพอง (dropsy)
ที่มา : (Sandra, 2004)

การตรวจวินิจฉัย

1. การตรวจวินิจฉัยปลามีชีวิต

รับตัวอย่างและสังเกตอาการรอยโรคขณะอยู่ในตู้เลี้ยง, ในถุง, ภาชนะที่ใส่มาเช่น ผิวหนัง, ครีบ, หาง, เกล็ด, ตา, แผ่นปิดเหงือก, ลักษณะสีของแผลบริเวณลำตัว, เมือก, กลิ่น, หรือสิ่งผิดปกติบนลำตัวเช่น หัว, เหงือกมีจุดเลือดออกหรือไม่, ลักษณะการว่ายน้ำ, การทรงตัว, ทั้งปลาป่วย และปลาที่อยู่ร่วมกัน

การตรวจสุขภาพปลา (physical examination) วิธีได้แก่ ชั่งน้ำหนัก, วัดความยาว ตรวจดูบาดแผลหรือสิ่งผิดปกติตามลำตัว, จุดเลือดออก และท้องบวมน้ำ

2. การตรวจวินิจฉัยปลาตาย

กรณีปลาตายจะชันสูตรซากภายในไม่เกิน 3 ชั่วโมงหรือให้เจ้าของร้านปลาสวยงามแช่แข็งปลาไว้ก่อนนำซากปลามาละลายน้ำแข็ง จากนั้นทำการเปิดผ่าซากเก็บตัวอย่างอวัยวะภายใน เช่น ตับ (liver) ไต (kidney) โดยตัดแยกชิ้นส่วนอวัยวะเก็บตัวอย่างลงในกล่องน้ำยาคงสภาพฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อส่งตรวจห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา (เอกรัฐ วงศ์สวัสดิ์, 2554)

การเพาะเชื้อแบคทีเรียจากอวัยวะตัวอย่างจากปลา ในกรณีวินิจฉัยจากการสงสัยปลาติดเชื้อแบคทีเรียให้ใช้สำลีแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เช็คบริเวณท้องที่ต้องการผ่าและใช้มีดผ่าตัดกรีดผ่าเปิดช่องท้องยาวจนถึงอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นใช้สำลีแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เช็คบริเวณส่วนหัวแล้วจากนั้นใช้กรรไกรสะอาดผ่าเปิดส่วนเปลือกหุ้มส่วนหัว (carapace) จะพบไต (kidney) ตับและตับอ่อน (hepatopancreas) ใช้สำลีแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เช็คบริเวณส่วนหัวที่ทำการเปิดผ่าเพื่อลดการปนเปื้อน หลังจากได้นำอวัยวะตัวอย่างทั้งหมดออกมาเพาะเลี้ยงเชื้อในtriple sugar iron agar (TSI) แล้วจึงนำเชื้อมาเลี้ยงให้บริสุทธิ์ trypticase soy agar (TSA) และ Blood agar จากนั้น

นำไปบ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ (incubator) ที่ความร้อน 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจึงนำไปทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและจำแนกต่อไป

ตรวจทางชีวเคมีของ *A. hydrophila*

ให้ผลเป็นบวกในการทดสอบออกซิเดส (oxidase) การทดสอบคาตาเลส (catalase) การทดสอบย่อยสลายเจลาติน (gelatin liquefaction) สามารถผลิตแก๊สจากกลูโคส ไม่ไวต่อ vibriostatic agent (2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) ลักษณะที่ทดสอบทางชีวเคมีของ *A. hydrophila* แสดงดังตาราง 3.1 โดยคุณสมบัติทางชีวเคมี เช่นการผลิตแก๊สจากกลูโคส การทดสอบความสามารถในการย่อยเอสคิวลิน (esculin hydrolysis) และการผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S production) ลักษณะโคโลนีของ *A. hydrophila* โดยทั่วไปมีลักษณะกลม ผิวเรียบ ตรงกลางโค้งนูน ขอบเรียบ สีขาวนวล เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar (TSA) และจะมีโคโลนีเป็นสีเหลืองเมื่อเลี้ยงบน rimler-shotts medium (RS medium) ซึ่ง RS medium นั้นเป็นอาหารสำหรับ *A. hydrophila* ประกอบด้วยกรดอะมิโนบางชนิด

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *A. hydrophila*

คุณสมบัติทางชีวเคมี	*A. hydrophila*
catalase	+
oxidase	+
nitrate reduction	+
H_2S	+
motility	+
brown soluble pigment	-
glucose	A
lactose	V
adonitol	-
arabinose	A
cellobiose	-
dulcitol	-
erythritol	-
galactose	A
glycerol	A

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *A. hydrophila* (ต่อ)

คุณสมบัติทางชีวเคมี	
inositol	-
maltose	A
mannitol	A
mannose	V^+
melibiose	-
raffinose	-
rhamnose	-
salicin	A
sorbitol	-
sucrose	A
trehalose	A
xylose	-
indole	+
DNase	+
citrate (Simmons)	V
esculin hydrolysis	+
arginine dihydrolase	+
lysine decarboxylase	V
ornithine decarboxylase	-
gelatin liquefaction, 22°C	+
KCN	G
lipase	V
malonate	-
ONPG	+
phenylalanine deaminase	-
methyl red (MR)	+
Voges-Proskauer (VP)	+
urease	-

+ = 90-100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลบวก, - = 0-10 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลบวก, V = มีความแปรผัน, V^+ = มีความแปรผันแต่ให้ผลบวก 76-90 เปอร์เซ็นต์, G = สามารถเจริญได้, R = มีความต้านทาน, A = ผลิตกรด

ที่มา : MacFaddin ,(2000)

เติมยาปฏิชีวนะโนโวไบโอซิน (novobiocin) กับโซเดียมดีออกซีโคเลต (sodium deoxycholate) ลงไปด้วย เพื่อเป็นตัวยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียในจีนัส *Vibrio* อาหารเลี้ยงเชื้อนี้ต้องบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเจริญของ *A. salmonicida* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มไซโครไฟล์ (psychrophile) (Janda and Abbott, 1998) สามารถเจริญได้ที่ 15 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญคือ 30 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2547) ซึ่งจะเจริญขึ้นมามีโคโลนีเป็นสีเหลืองเช่นเดียวกับ *A. hydrophila* เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิต่ำ RS medium ให้ผลถูกต้องประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ ในการแยก *A. hydrophila* เนื่องจากไม่สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Citrobacter* ซึ่งมีความผันแปรในการผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S-variable) ได้

การรักษา และการควบคุมโรค

1. การใช้ยาปฏิชีวนะ

- oxytetracyclin (terramycin)

ผสม oxytetracyclin ในอาหารปริมาณ 50-75 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมต่อวัน ให้ปลากินติดต่อกันเป็นเวลา 10 วัน (ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์, 2538)

- chloramphenicol (chloromycetin)

ผสม chloramphenicol ในอาหารอัตราเดียวกันกับ oxytetracyclin คือใช้ chloramphenicol 50-75 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ต่อวัน ให้ปลากินติดต่อกันเป็นเวลา 10 วัน (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2528) และใช้ปริมาณ 3-5 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนัก 100 กรัม ต่อวัน ในการรักษากบที่เป็นโรค red leg disease จากการติดเชื้อ motile aeromonads ให้กบวันละ 2 ครั้ง กินติดต่อกันนาน 5 วัน (ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์, 2538)

- sulfamerazine

ผสม sulfamerazine ในอาหารปริมาณ 264 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมต่อวัน ให้ปลากินเป็นเวลา 3 วัน ตามด้วย 154 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมต่อวัน กินติดต่อกันอีก 11 วัน มักให้ผลในการรักษาดี (ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, 2528)

- furanace

furanace มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อ motile aeromonads หากนำปลาไปแช่ในน้ำที่ผสม furanace 1-2 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 5-10 นาที หรือเลี้ยงปลาในน้ำที่ผสม furanace 0.1 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 1 สัปดาห์ furanace มีความเป็นพิษต่อปลาหากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม จึงมีการห้ามใช้ furanace ในการรักษาปลาที่ประเทศสหรัฐอเมริกา

จากการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อ *A. hydrophila* ทำให้เกิดการปนเปื้อนของแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงไปสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติทำให้ปัจจุบันเริ่มมีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเข้ามาในการบำบัดรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียมากขึ้น

2. การใช้วัคซีน

วัคซีนป้องกันการติดเชื้อแอโรโมนาสมีหลายรูปแบบมีทั้งวัคซีนเชื่อเป็นและวัคซีนเชื่อตาย วัคซีนแบคทีเรียแอโรโมนาสเชื้อตายผลิตขึ้นเพื่อจุดประสงค์ให้สามารถควบคุมและป้องกันการเกิดโรคภายในฟาร์มอย่างมีประสิทธิภาพแต่วัคซีนในรูปแบบดังกล่าวก็ยังมีข้อเสียที่สำคัญคือสารเคมีบางอย่างที่จำเป็นต้องใส่เข้าไปในวัคซีนนั้นมีฤทธิ์กัดกร่อนทำลายเนื้อเยื่ออย่างรุนแรงตรงบริเวณจุดฉีดมีรอยแผลเนื้อตายและการอักเสบซึ่งทำให้คุณภาพเนื้อเสียไป ในหลายๆครั้งพบการอักเสบในบริเวณที่ฉีดทั้งในช่องท้อง (intraperitoneal) หรือในกล้ามเนื้อ (intramuscular) ปัจจุบันมีวัคซีนหลายชนิดที่ใช้ป้องกันโรคในสัตว์น้ำโดยได้รับการรับรองจากหน่วยงานที่น่าเชื่อถือเช่น *Aeromonas salmonicida bacterin* vaccine, *Flavobacterium columnare bacterin* vaccine เป็นต้น แต่เชื้อ *A. hydrophila* ที่พบยังไม่มีวัคซีนที่ได้รับการรับรองและอนุญาตให้ใช้ป้องกันโรคติดเชื้อดังกล่าวในปลาเนื่องจากเชื้อมีความหลากหลายทางด้านสายพันธุ์โดยวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *A. hydrophila* สายพันธุ์หนึ่งไม่สามารถให้ความคุ้มโรคที่เกิดจากเชื้ออีกสายพันธุ์หนึ่งได้ (no cross protection) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาวัคซีนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพขึ้น (มินตรา และ ภัทรพล, 2560)

3. การใช้สมุนไพร

- ขมิ้นชัน โดยมีสารเคมีที่สำคัญชื่อ เคอร์คูมิน (curcumin) มีชื่อทางเคมีว่า bis-(4-hydroxy-3-methoxycinnamoyl)-methane เป็นสารสีเหลืองสามารถละลายได้ใน เอธิลแอลกอฮอล์ ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านการเกิดเนื้องอก ที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการใช้สมุนไพรขมิ้นชันในสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเช่น การศึกษาผลของขมิ้นชันต่อแบคทีเรียสกุลวิบริโอที่ก่อโรคในกุ้งขาว โดยพบว่าการใช้สารสกัดขมิ้นชัน ทำให้กิจกรรมของสารต่อต้านเชื้อแบคทีเรียในกุ้งขาวมีค่าเพิ่มขึ้น (กฤษณา และคณะ, 2559)

- ขิง (*zingiber officinale* roscoe) เป็นพืชพื้นบ้านของทวีปเอเชียแถบร้อนชื่น ส่วนของรากมีกลิ่นฉุนมีรสเผ็ดร้อนและมีคุณสมบัติเป็นยาในหลายประเทศเช่น จีน อินเดียและญี่ปุ่น ซึ่งได้กลายเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในยาเพื่อรักษาโรค เนื่องจากขิงจะประกอบไปด้วยสารที่มีฤทธิ์หลายประการเช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), ต้านแบคทีเรีย (antibacterial), ต้านเชื้อรา (antifungal), ต้านมะเร็ง (anti-carcinogenic), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), ต้านไขมันในเลือด (hypolipidemic), ป้องกันการคลื่นไส้ (anti-nausea) และต้านเกล็ดเลือด (antithrombotic) มีรายงานว่าขิงสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรคได้ทั้งในปลาและกุ้งซึ่งระยะเวลาการให้อาหารผสมขิงเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลาจะใช้ระยะเวลา 14 วันในปลาเรนโบว์เทร้า (ดวงใจ และ คณะ, 2560)

- ฟ้าทะลายโจร (*andrographis paniculata)* เป็นสมุนไพรที่อุดมไปด้วยสารจำพวกกลุ่ม lactones ซึ่งได้แก่สาร andrographolide, 14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide, neoandrographolide และ 14-deoxyandrographolide จะไปมีผลทำให้ความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในกุ้งกุลาดำดีขึ้น อีกทั้งช่วยเพิ่มอัตราการ รอดตาย อัตราการเจริญเติบโต และลดเชื้อแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำ ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในปลาทอง โดยทำให้เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเซลล์เม็ดเลือดขาว และมีผลทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตที่ดี สามารถทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ oxytetracycline ในปลานิลได้ (ดวงใจ และคณะ, 2560) เป็นต้น

จากการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อ *A. hydrophila* ทำให้เกิดการปนเปื้อนของแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงไปสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ ทำให้ปัจจุบันเริ่มมีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเข้ามาในการบำบัดรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียมากขึ้น

บรรณานุกรม

กิจการ ศุภมาตย์, วุฒิพร พรหมขุนทอง, จรีพร เรืองศรี และนพรัตน์ แท่นมาก. (2549). *โรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลานิลแดงแปลงเพศ (Oreochromis niloticus Linn.)* รายงานวิจัย. สำนักงบประมาณ.

กฤษณา เตบสัน และคณะ. (2559). *ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันและฟ้าทะลายโจรต่อระบบภูมิคุ้มกัน และการเจริญเติบโตของปลาคาร์ป.* สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ กรมประมง.

คณิต ชูคันหอม. (2543). *การเลี้ยงปลา.* คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย และคณะ. (2560). *“ผลของการใช้ขิงเป็นระยะเวลานานต่อการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือด แดง และความต้านทานโรคต่อเชื้อ Streptococcus agalactiae ในปลานิล.”* วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2560 : 35 (2) : 31- 40.

มินตรา ลักขณา และ ภัทรพล เปี่ยมสมบูรณ์. (2017). *“วัคซีนป้องกันการติดเชื้อแอโรโมนาส”.* PC Farm Aquacuture Expert.

เอกรัฐ วงศ์สวัสดิ์. (2554). *การป้องกันและกำจัดโรคสัตว์น้ำ.* เอกสารเผยแพร่กรมประมง.กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ : จิราการพิมพ์.

Colakoglu, F.A., Sarmasik, A. and Koseoglu, A. (2006). Occurrence of *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. In *Shellfish Harvested Off Dardanelles Cost of Turkey* (Research report). Turkey: Food Control.

Janda, J.M. and Abbott, L.H. (1998). *Evolving Concepts Regarding the Genus Aeromonas: An Expanding Panorama of Species, Disease Presentations, and Unanswered Question* (Research report). California: Department of Health Services.

Macfaddin, J.F. (2002). *Biochemical Tests for Identification of Medicine bacteria* (Research report). Philadelphia: Lippincott Wiliams & Wilkins.