



การแยกเชื้อ *Streptococcus agalactiae* จากปลานิลที่เลี้ยงในกระชังแม่น้ำโขงจังหวัด
นครพนม และการประเมินความไวต่อยาปฏิชีวนะในห้องปฏิบัติการ
Isolation of *Streptococcus agalactiae* from Net Cage Cultured Nile Tilapia
(*Oreochromis niloticus*) in the Mekong River, Nakhon Phanom Province
and In Vitro Evaluation of Antibiotic Sensitivity Test

วายุ พานศรี¹ และ อติเทพชัยการณัฏ ภาชนะวรรณ¹

Wayu Phansri¹ and Adithepchaikarn Pachanawan, Ph.D.¹

¹สาขาวิชาประมง คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม

Faculty of Agriculture and Technology, Nakhon Phanom University

*E-mail: kaipachanawan@npu.ac.th

Received: date; May 2026 Accepted: date; June 2026 Published: date; June 2026

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เพื่อทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ และเพื่อเปรียบเทียบผลของอาหารผสมยาต่ออัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงในกระชังแม่น้ำโขง โดยใช้ยาปฏิชีวนะต่างชนิดกัน พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ก่อโรคในปลานิล และได้ทำการศึกษาความไวของเชื้อ ต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ Enrofloxacin, Oxytetracycline, Amoxicillin และ Sulfamonomethoxine + trimethoprim โดยใช้ความเข้มข้นของตัวยาแต่ละชนิดคือ 5 %, 10 %, 20 % และ 40 % พบว่า Enrofloxacin 5 % มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ได้มากที่สุด รองลงมาคือ Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %, Amoxicillin 5 % และ Oxytetracycline 10 % ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) เท่ากับ 3.76 ± 0.06 , 2.74 ± 0.17 , 2.30 ± 0.15 และ 1.74 ± 0.10 เซนติเมตร ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* แบ่งการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว เลี้ยงในตู้ปลา เป็นเวลา 28 วัน โดยใช้อาหารผสมยาปฏิชีวนะต่างกัน ทดลองกับปลานิลที่น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 36.6 ± 1.34 กรัมและความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น 13 ± 0.94 เซนติเมตร พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้น (กรัม) จากอาหารผสม Enrofloxacin 5 % มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 49.06 ± 1.52 และน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด คือชุดที่อาหารไม่ผสมตัวยา 33.06 ± 3.05 กรัม ในด้านความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น (เซนติเมตร) พบว่า ชุดอาหารผสม Enrofloxacin 5 % มีความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 3.40 ± 0.34 และพบความยาวเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดคืออาหารชุดไม่ผสมตัวยา 2.33 ± 0.28 เซนติเมตร ส่วนด้านอัตราการรอดตาย (%) พบว่า ชุดอาหารผสม Enrofloxacin 5 % มีอัตราการรอดตายมากที่สุด คือ 83.33 ± 5.77 % และพบอัตราการรอดตายน้อยที่สุด คือชุดที่อาหารไม่ผสมตัวยา 16.66 ± 11.54 % ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) พบว่าชุดที่



อาหารผสม Enrofloxacin 5 % มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด คือ 1.27 ± 0.05 และ พบชุดที่มีค่า FCR สูงที่สุด คือ ชุดที่อาหารไม่ผสมตัวยา 2.90 ± 0.22 สำหรับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน พบว่าชุดอาหารผสม Enrofloxacin 5 % มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมากที่สุดคือ 1.75 ± 0.05 กรัม และพบค่าอัตราการเจริญเติบโตวันน้อยที่สุด คือ ชุดที่อาหารไม่ผสมตัวยา 1.18 ± 0.10 กรัมต่อวัน เมื่อนำข้อมูลจากการทดลองอัตราการเจริญเติบโตที่ผสมยาปฏิชีวนะไปเปรียบเทียบวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) พบว่าทุกด้านของการเจริญเติบโตมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้ยาปฏิชีวนะที่ดีที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ คือ Enrofloxacin 5 %, Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %, Amoxicillin 5 % และ Oxytetracycline 10 % ตามลำดับ

คำสำคัญ : *Streptococcus agalactiae* ยาปฏิชีวนะ ปลาไนล์ การเลี้ยงในกระชังแม่น้ำโขงนครพนม

Abstract

The objectives of this study were to identify pathogenic bacteria, evaluate their antibiotic susceptibility, and compare the effects of medicated feed on the survival and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in cages in the Mekong River in Mueang District, Nakhon Phanom Province. This research was to investigate diseases and treatment methods for Nile tilapia cultured in net cages along the Mekong River using different antibiotics. The results indicated that the causative agent of the disease was the bacterium *Streptococcus agalactiae*. The antibiotic susceptibility of the bacterium was tested against four antibiotics: enrofloxacin, oxytetracycline, amoxicillin, and sulfamonomethoxine + trimethoprim at concentrations of 5%, 10%, 20%, and 40%. The findings showed that enrofloxacin at 5% exhibited the strongest inhibitory effect against *Streptococcus agalactiae*, followed by sulfamonomethoxine + trimethoprim 5%, amoxicillin 5%, and oxytetracycline 10%, with inhibition zone diameters of 3.76 ± 0.06 , 2.74 ± 0.17 , 2.30 ± 0.15 , and 1.74 ± 0.10 cm, respectively. The pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* was further evaluated through an experimental trial consisting of five treatments with three replicates per treatment and ten fish per replicate. The fish were reared in aquaria for 28 days and fed diets supplemented with different antibiotics. The Nile tilapia had an initial average weight of 36.6 ± 1.34 g and an initial average length of 13.0 ± 0.94 cm. The results showed that fish fed diets supplemented with enrofloxacin 5% had the highest mean weight gain (49.06 ± 1.52 g), while the lowest weight gain was observed in the control group without antibiotic supplementation (33.06 ± 3.05 g). The highest mean length increment (3.40 ± 0.34 cm) and survival rate ($83.33 \pm 5.77\%$) were also found in the enrofloxacin 5% group, whereas the control group showed the lowest length increment (2.33 ± 0.28 cm) and survival rate ($16.66 \pm 11.54\%$). In addition, the best feed conversion ratio (1.27 ± 0.05) and the highest average daily growth rate (1.75 ± 0.05 g day⁻¹) were observed in fish fed enrofloxacin 5%, while the poorest feed conversion ratio (2.90 ± 0.22) and the lowest average daily growth rate (1.18 ± 0.10 g day⁻¹) were found in the control group. Statistical analysis using



analysis of variance (ANOVA) showed that all growth performance parameters were significantly different among treatments ($P < 0.01$). The results suggest that enrofloxacin at 5% was the most effective antibiotic in this study, followed by sulfamonomethoxine + trimethoprim 5%, amoxicillin 5%, and oxytetracycline 10%.

Key words : *Streptococcus agalactiae*, Antibiotic, Nile Tilapia, cage cultured Mekong River Nakhon Phanom

บทนำ

ในจังหวัดนครพนม แม่น้ำโขงถือได้ว่าเป็นแหล่งสร้างรายได้ สร้างอาชีพ ให้ชุมชนที่อาศัยอยู่บริเวณริมแม่น้ำ โดยมีอาชีพหลักคือการทำประมง และการเลี้ยงปลานิลในกระชัง สามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงเป็นอย่างมาก แต่การเลี้ยงมีแนวโน้มในการผลิตยังไม่แน่นอน เนื่องจากเกิดโรคระบาด ซึ่งมีปัจจัยหลายองค์ประกอบ เช่น การขนส่ง การคัดขนาด การจับ การย้าย ความแปรปรวน ของสภาพอากาศ อุณหภูมิที่สูงต่ำเกินไป รวมทั้งอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว แหล่งน้ำมีเชื้อโรคและพยาธิต่าง ๆ มากมายหลายชนิด (Reverter et al. 2014) เพียงแต่สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมเชื้อต่าง ๆ จะไม่เจริญเติบโตขยายตัวในปริมาณที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อปลาอย่างรุนแรง และเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิหรือสารอินทรีย์ในน้ำเปลี่ยนแปลง ล้วนมีส่วนทำให้สัตว์น้ำเครียด ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันลดลงอย่างรวดเร็วและอ่อนแอ ส่งผลให้เชื้อโรคบางตัวเข้าสู่ตัวปลาได้ (Feng et al 2019) ในเขตพื้นที่แม่น้ำโขง อำเภอเมืองจังหวัดนครพนม โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่พบมากที่สุดในการเลี้ยงปลานิลในกระชัง คือ *Streptococcus agalactiae* และ *Aeromonas hydrophila* ทำให้ผลผลิตของเกษตรกรเสียหายเป็นอย่างมาก และเป็นปัญหาสำคัญส่งผลให้เกษตรกรมีผลการเลี้ยงที่ไม่แน่นอน อัตราการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ลดลง ส่งผลให้เกษตรกรขาดทุนในการเลี้ยง นอกจากนี้โรคที่มีสาเหตุแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถแพร่กระจายได้ในน้ำ ในดิน ในโคลนและในทุกฤดูกาล (อติเทพชัยการณ, 2555)

โรคสเตรปโตคอคโคซิส (streptococcosis) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะ เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ชื่อเต็มของเชื้อนี้คือ Lancefield group B beta streptococci ซึ่ง แบ่งกลุ่มตามวิธีการของ Lancefield หรือมีชื่อว่า Group B Streptococcus (GBS) เนื่องจากได้ถูกจัดอยู่ใน Group B Streptococci ซึ่งมีแบคทีเรียชนิดเดียวเท่านั้นคือ *S. agalactiae* (อติเทพชัยการณ, 2555 (ก); Joyce et al., 2009) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (gram positive cocci) จัดอยู่ในวงศ์ STREPTOCOCCACEAE ซึ่งมีมากกว่า 100 ชนิด มีรายงานการพบการระบาดครั้งแรกของโรคใน ปี 1957 โดยพบการระบาดในปลา Rainbow trout ในประเทศญี่ปุ่น ในประเทศไทยพบมีการระบาดครั้งแรกในปลานู๋ทราย (*Oxyeleotris marmoratus*) โรคสเตรปโตคอคโคซิส จะแพร่กระจายสู่ปลาภายใน 48-72 ชั่วโมงและพบการตายในวันที่ 4-5 (จิราพร และคณะ, 2529; Robinson and Meyer, 1966; Hoshina et al., 1958) โรคสเตรปโตคอคโคซิส (streptococcosis) เป็นโรคแบบเรื้อรัง ก่อให้เกิดการอักเสบและบาดแผลตามอวัยวะต่าง ๆ ของตัวปลา (inflammatory and granulomatous) เชื้อสามารถ แพร่กระจายจากปลาตัวหนึ่งไปสู่ปลาอีกตัวหนึ่ง แพร่กระจายโดยการสัมผัสโดยตรงและปะปนไปกับ สิ่งขับถ่ายหรือสารคัดหลั่งจากตัวปลา อีกทั้งเชื้อ *S. agalactiae* ยังสามารถตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ในเลน ก้นบ่อ หรือในน้ำ เชื้อ *S. agalactiae* ยังสามารถก่อโรคทั้งในคนและโรคเต้านมอักเสบในโคนม (อติเทพชัยการณ, 2555 (ข)) แต่โอกาสการเกิดโรคจะสัมพันธ์กับ



ระบบภูมิคุ้มกันและพฤติกรรมในการ บริโภค หากภูมิคุ้มกันต่ำ หรือมีพฤติกรรมกินที่กินของดิบหรือกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ก็สามารถก่อให้เกิดโรคได้ โรคแบคทีเรียสเตรปโตคอคโคซิส (streptococcosis) เป็นโรคที่สามารถสร้างความเสียหายต่อระบบการเลี้ยงปลาทั้งในปลาน้ำจืดทั้งในระบบการเลี้ยงในบ่อดินและการเลี้ยง ทำให้เกษตรกรใช้ยาต้านจุลชีพป้องกันรักษาโรค เพื่อไม่ให้เกิดความเสียหายในการเลี้ยง เกษตรกรบางรายขาดความรู้ความสามารถในการใช้ยาต้านจุลชีพ หากนำยาดังกล่าวมาใช้อย่างไม่ถูกต้อง อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพ และการตกค้างของยาต้านจุลชีพในปลานิลจะส่งผลกระทบต่อการใช้เลี้ยงปลานิลได้ (สรณีย์และคณะ, 2561)

ดังนั้นถ้าหากได้มีการศึกษาโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับการเลี้ยงปลานิลในกระชังแม่น้ำโขง เพื่อหาวิธีการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพอย่างเหมาะสมกับสภาพการเลี้ยง ซึ่งจะทำให้ประสบความสำเร็จในการเลี้ยงปลามากยิ่งขึ้น จึงได้มีการศึกษาหาข้อมูลเพื่อสามารถนำข้อมูลไปประกอบอาชีพและเผยแพร่แนวทางและวิธีการที่ถูกต้องปลอดภัยแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในกระชังตามลำแม่น้ำโขงในเขตอำเภอเมือง จังหวัดนครพนมต่อไป

วิธีการศึกษา

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้ออาหารวุ้น Brain heart Infusion agar และ อาหารเหลว Brain heart Infusion ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลเก็บตัวอย่างปลานิลในกระชังที่แสดงอาการเกิดโรคมাত্রาตรวจหาเชื้อที่ห้องปฏิบัติการฆ่าตัวอย่างปลานิลโดยการตัดบริเวณรอยต่อระหว่างหัวและลำตัว หรือโดยการใช้ยาสลบในอัตราที่เกินขนาดผ่าเปิดบริเวณช่องท้อง สังเกตความผิดปกติที่เกิดขึ้น จากนั้นเขียนเชื้อจากอวัยวะภายใน บริเวณตับ ม้าม และไต Streak plate เชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Brain heart Infusion agar (BHIA) ในกรณีที่พบตัวอย่างปลาที่มีความผิดปกติตามลำตัว เช่น มีการอักเสบ บวม เป็นแผลหรือหนอง จะเขียนเชื้อจากบริเวณนั้น ซึ่งในขั้นตอนนี้จะใช้เทคนิคการเพาะเชื้อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เขียนเชื้อเรียบร้อยแล้ว ไปบ่มที่อุณหภูมิ 34 °C เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง แยกเชื้อที่ได้ให้บริสุทธิ์ โดยทำ Single colony culture บน BHIA แยกเก็บเชื้อเป็นโคโลนีเดียว ไว้ศึกษาชนิดคุณสมบัติต่าง ๆ ของเชื้อต่อไป และเก็บไว้เป็น Stock ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI ที่อุณหภูมิ -20 °C และต่อเชื้อทุก 3 เดือน

การศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียทำการย้อมสีแกรม เพื่อทดสอบว่าเป็นแกรมบวก หรือแกรมลบ ทดสอบปฏิกิริยาเอนไซม์ catalase และ oxidase test (ตามวิธีการของ อติเทพชัยการณ, 2555 (ข)) นำไปส่องกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและจำแนกลักษณะรูปร่างของแบคทีเรีย

การศึกษาความไวของเชื้อ ต่อยาปฏิชีวนะ (Sensitivity test) นำเชื้อ ที่แยกจากปลานิลมาเลี้ยงบน BHIA เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นแยก Single colony culture บนอาหารวุ้น BHIA ลงในอาหารเหลว BHI เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงเตรียมตัวยาปฏิชีวนะ 4 ชนิด ได้แก่ Enrofloxacin, Oxytetracycline, Amoxicillin, Sulfamonomethoxine + trimethoprim ที่ความเข้มข้นต่าง 5 % 10 % 20 % 40 % mg/disc กระจายเชื้อ smear ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHIA นำแผ่น Paper Discs วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นใช้ Micropipette ดูดตัวยาแล้วหยดตัวลงไป ใน Paper Discs จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 34 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัด clear zone ที่เกิดขึ้น บันทึกข้อมูล

การศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD: Completely Randomized Design) (ภาพที่ 1) นำปลานิลที่มีขนาดน้ำหนัก 36.6 กรัม ยาว 13 cm. มาเลี้ยงในตู้



กระจกขนาด 30x60x30 เซนติเมตร จำนวน 15 ตู้ โดยเลี้ยงบ่อละ 10 ตัว และปรับสภาพแวดล้อมก่อนการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ระบบน้ำเป็นระบบปิดและมีการให้อากาศด้วยหัวทราย จะเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 3 วัน 25 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำในบ่อเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นล้างใน normal saline ที่ 2,500 รอบต่อนาที 2 ครั้งนำเชื้อมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 1×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดเข้าปลานิลในแต่ละกลุ่มทดลอง โดยกลุ่มทดลองมี 3 ซ้ำ อัตราการฉีด 0.2 มิลลิลิตรต่อตัว (อติเทพชัยการณ, 2555 (ข)) แบ่งการทดลองเป็น 5 Treatment 3 ซ้ำ โดยกำหนดให้

ชุดการทดลอง 1 (T1) อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม Enrofloxacin 5 %

ชุดการทดลอง 2 (T2) อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม Oxytetracycline 10 %

ชุดการทดลอง 3 (T3) อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม Amoxicillin 5 %

ชุดการทดลอง 4 (T4) อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %

ชุดการทดลอง 5 (T5) อาหารเม็ดสำเร็จรูปไม่ผสมยา

สังเกตบันทึกอาการและอัตราการตายของปลานิลเป็นเวลา 28 วัน ตรวจคุณภาพน้ำทุก 7 วัน เก็บปลาที่ป่วยหนักใกล้ตายและปลาที่ตายออกจากบ่อ นำมาแยกเชื้อหาสาเหตุการตายบน BHIA เพื่อยืนยันว่าเกิดจากเชื้อที่ฉีดเข้าไปไม่ได้มาจากสาเหตุอื่น

สถานที่ทำการศึกษา

สาขาวิชาประมง คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม ตำบลขามเฒ่า อำเภอเมือง จังหวัดนครพนม 48000

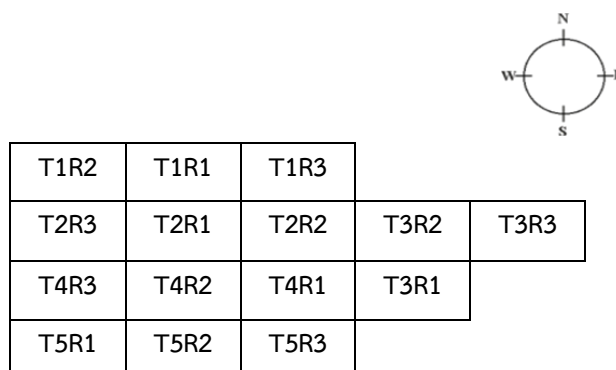


Figure 1 แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์



ผลการศึกษา

ผลการทดสอบด้วยยาและความเข้มข้นที่แตกต่างกันของยาปฏิชีวนะ 4 ชนิด ได้แก่ Enrofloxacin, Oxytetracycline, Amoxicillin, Sulfamonomethoxine + trimethoprim พบว่า Enrofloxacin 5 % และ Enrofloxacin 10 % มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* มากที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) เท่ากับ 3.76 ± 0.06 , 3.76 ± 0.04 เซนติเมตร รองลงมาคือ Enrofloxacin 40 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 3.72 ± 0.00 เซนติเมตร และน้อยที่สุด Enrofloxacin 20 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 3.66 ± 0.13 เซนติเมตร ตามลำดับ Oxytetracycline 10 % มีฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 1.74 ± 0.10 เซนติเมตร รองลงมาคือ Oxytetracycline 40 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 1.66 ± 0.10 เซนติเมตร Oxytetracycline 20 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 1.60 ± 0.06 เซนติเมตร และน้อยที่สุด Oxytetracycline 5 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 1.22 ± 0.05 เซนติเมตร ตามลำดับ Amoxicillin 5 % มีฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.30 ± 0.15 เซนติเมตร รองลงมาคือ Amoxicillin 10 % และ Amoxicillin 40 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.22 ± 0.06 เซนติเมตร และน้อยที่สุด Amoxicillin 20 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.20 ± 0.05 เซนติเมตร ตามลำดับ Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 % มีฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.74 ± 0.17 เซนติเมตร รองลงมาคือ Sulfamonomethoxine + trimethoprim 20 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.64 ± 0.05 เซนติเมตร Sulfamonomethoxine + trimethoprim 40 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.62 ± 0.00 เซนติเมตร และน้อยที่สุด Sulfamonomethoxine + trimethoprim 10 % โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone เท่ากับ 2.58 ± 0.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1)

(Table 2)

Table 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยยาและความเข้มข้นที่แตกต่างกันของยาปฏิชีวนะ

ด้วยยาและความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ	เส้นผ่านศูนย์กลาง Inhibition zone ($\pm$;cm)					mean
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Enrofloxacin 5 %	3.80	3.80	3.70	3.70	3.80	3.76 ± 0.06
Enrofloxacin 10 %	3.70	3.70	$3.80 \pm$	3.80	3.80	3.76 ± 0.04
Enrofloxacin 20 %	3.60	3.70	$3.50 \pm$	3.70	3.80	3.66 ± 0.13
Enrofloxacin 40 %	3.80	3.70	$3.70 \pm$	3.70	3.70	3.72 ± 0.00
Oxytetracycline 5 %	1.20	1.20	1.20	1.30	1.20	1.22 ± 0.05
Oxytetracycline 10 %	1.80	1.60	1.80	1.70	1.80	1.74 ± 0.10

ตัวยาและความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ	เส้นผ่าศูนย์กลาง Inhibition zone ($\pm$;cm)					mean
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Oxytetracycline 20 %	1.80	1.50	1.50	1.50	1.70	1.60 $\pm$ 0.10
Oxytetracycline 40 %	1.70	1.60	1.60	1.70	1.70	1.66 $\pm$ 0.06
Amoxicillin 5 %	2.20	2.50	2.20	2.50	2.30	2.30 $\pm$ 0.15
Amoxicillin 10 %	2.10	2.30	2.20	2.30	2.20	2.22 $\pm$ 0.06
Amoxicillin 20 %	2.00	2.20	2.20	2.30	2.30	2.20 $\pm$ 0.06
Amoxicillin 40 %	2.20	2.20	2.20	2.30	2.20	2.22 $\pm$ 0.05
Sulfamonomethoxine +trimethoprim						
5 %	2.80	2.50	2.80	2.70	2.90	2.74 $\pm$ 0.17
Sulfamonomethoxine +trimethoprim						
10 %	2.60	2.50	2.70	2.60	2.50	2.58 $\pm$ 0.10
Sulfamonomethoxine +trimethoprim						
20 %	2.70	2.60	2.70	2.60	2.60	2.64 $\pm$ 0.05
Sulfamonomethoxine +trimethoprim						
40 %	2.70	2.60	2.60	2.60	2.60	2.62 $\pm$ 0.00

หมายเหตุ : S, Sensitive >3 cm. M, Intermediate = 2 cm. R, Resistance < 1 cm.

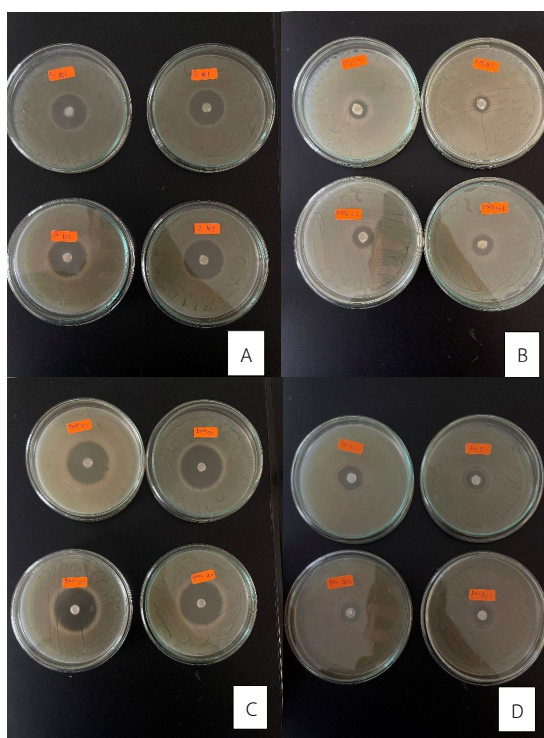


Figure 2 clear zero ที่เกิดขึ้น A= Sulfamonomethoxine + trimethoprim B=Oxytetracycline
C= Enrofloxacin D= Amoxicillin

การศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

ทำการย้อมสีแกรม พบว่า เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม (coccus) หรือรูปไข่ (oval) พบเป็นคู่ (diplococci) หรือเป็นสายโซ่ (chains) อยู่ในวงศ์ *Streptococcaceae* และอยู่ในอันดับ Lactobacillales (S.Bakour et al 2016) (Figure 3)

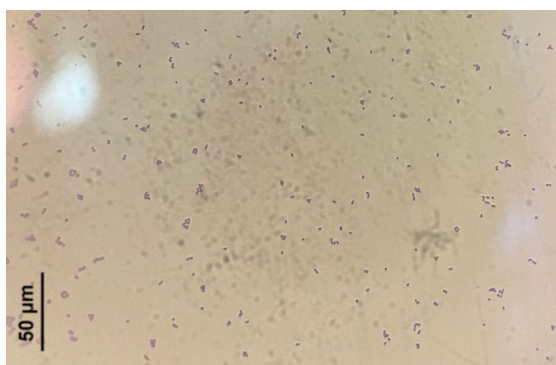


Figure 3 แบคทีเรียแกรมบวก *Streptococcus agalactiae*

การศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียและอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละด้าน

เมื่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* โดยใช้สูตรอาหารผสมยาปฏิชีวนะต่างกันเป็นเวลา 28 วัน พบว่า ปลานิล ชุดการทดลอง 1 อาหารผสม Enrofloxacin 5 % มีอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละด้านดีที่สุด รองลงมาคือ ชุดการทดลอง 4 อาหารผสม Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 % ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสม Amoxicillin 5 % ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสม Oxytetracycline 10 % ชุดการทดลองที่ 5 ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 อัตราการเจริญเติบโตในแต่ละด้าน

สูตรอาหารผสมยาปฏิชีวนะ (Treatment)	อัตราการเจริญเติบโตในแต่ละด้าน				
	นน.เฉลี่ย	ยาวเฉลี่ย	FCR	ADG	% SR
1. Enrofloxacin 5 %	49.06±1.52 ^a	3.40±0.34 ^a	1.27±0.05 ^a	1.75±0.05 ^a	83.33±5.77 ^a
2. Oxytetracycline 10 %	34.06±2.08 ^c	2.50±0.00 ^c	1.48±0.05 ^b	1.22±0.07 ^c	73.33±5.77 ^c
3. Amoxicillin 5 %	40.73±2.08 ^b	2.93±0.11 ^b	1.43±0.07 ^b	1.45±0.07 ^b	76.60±5.77 ^b
4. Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %	42.06±2.08 ^b	3.00±0.00 ^b	1.40±0.05 ^b	1.50±0.07 ^b	80.00±10.00 ^b
5. ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ	33.06±3.05 ^c	2.33±0.28 ^d	2.90±0.22 ^c	1.18±0.10 ^c	16.66±11.54 ^d

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในตารางแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.01)



วิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลานิล การศึกษาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ จำนวน 4 ชนิด พบว่า Enrofloxacin 5 % มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ก่อโรคในปลานิล จากนั้น ทำการศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิลที่เลี้ยงในตู้ปลา เป็นเวลา 28 วัน โดยใช้อาหารผสมยาปฏิชีวนะต่างกัน ทดลองกับปลานิลที่น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 36.6 ± 1.34 กรัมและความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น 13 ± 0.94 เซนติเมตร พบว่าอัตราการเจริญเติบโตทุกด้าน Enrofloxacin 5 % มากที่สุด และอัตราการเจริญเติบโตทุกด้าน น้อยที่สุด คือชุดที่อาหารไม่ผสมตัวยา 33.06 ± 3.05 กรัม เมื่อนำข้อมูลจากการทดลองอัตราการเจริญเติบโตที่ผสมยาปฏิชีวนะไปเปรียบเทียบวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) พบว่าทุกด้านของการเจริญเติบโตมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) สอดคล้องกับการศึกษาชนิดและความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Streptococcus* sp. จำนวน 37 สายพันธุ์ เมื่อนำเชื้อ *Streptococcus* sp. ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะพบว่า มีความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิด Enrofloxacin, Oxytetracycline, Sulphamethoxazole + Trimethoprim, Ampicillin, Erythromycin, Amoxicillin, Doxycycline, Cephalothin, Ciprofloxacin และ Chloramfenicol นอกจากนี้ได้ศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียทำการย้อมสีแกรม พบว่า เชื้อมีลักษณะเซลล์กลม ย้อมติดสีแกรมบวก อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว คู่ หรือสายโซ่ ไม่สร้างเอนไซม์ catalase และ oxidase (Toranzo et al., 2005) โดยมีลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติทางชีวเคมีใกล้เคียงกับที่มีรายงานในปลาชนิดอื่น ๆ มีอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำโดยปะปนอยู่กับน้ำ ติดอยู่กับวัสดุในน้ำ ติดอยู่กับอนุภาคต่าง ๆ ที่ลอยลอยอยู่ในน้ำปะปนอยู่กับของเสียที่ถูกขับถ่ายออกมาจากสิ่งมีชีวิตในน้ำ (ชุดิมา และภฤติมา, 2560) ซึ่งจะพบทั่วไปในสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ปลานิล ปลากดคัง ปลาตะเพียน ปลาเพาะ เป็นต้น ทำให้ผลผลิตของเกษตรกรเสียหายเป็นอย่างมาก นอกจากนี้โรคที่มีสาเหตุแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถแพร่กระจายได้ในน้ำในดินและโคลนและในทุกฤดูกาล (อติเทพชัยการณ, 2555) ซึ่งการรักษาสัตว์น้ำที่ติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวนี้ โดยทั่วไปจะใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันรักษา ซึ่งให้ผลที่รวดเร็ว และการใช้ยาไม่เหมาะสมใช้ในปริมาณที่มากเกินไปจนความจำเป็นจะส่งผลให้เชื้อโรคเกิดการดื้อยาซึ่งความสามารถในการดื้อยาสามารถถ่ายทอดไปอย่างแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นในธรรมชาติได้ (พงศ์ศักดิ์และปาริชาติ, 2553) มีรายงานว่า ได้มีการศึกษาความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคแบคทีเรียในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังและการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาด้านจุลชีพในปลานิลที่เลี้ยงบริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราชพบว่าโรคในปลานิล 3 ชนิดคือ *Streptococcus agalactiae*, *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas hydrophila* จากการเก็บตัวอย่างปลานิลที่ป่วยตายจากกระชังไม่พบการติดเชื้อ *F. columnare* ในช่วงระยะที่ทำการทดลอง พบการติดเชื้อ *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* จากนั้นทำการทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ จำนวน 8 ชนิด พบว่าทั้ง *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* มีการดื้อยา cephalixin สูงที่สุด รองลงมา Tetracycline, Amoxicillin-clavulanate, Oxytetracycline และต่ำสุดคือ Enrofloxacin, Gentamicin และไม่พบการดื้อต่อยา Sulfamethoxazole และ Ciprofloxacin (สุไพล์หามานและคณะ, 2562) จะเห็นได้ว่าโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่พบมากที่สุดในการเลี้ยงปลานิลส่งผลให้ผลผลิตของเกษตรกรเสียหายเป็นอย่างมาก และเป็นปัญหาสำคัญส่งผลให้เกษตรกรมีผลการเลี้ยงที่ไม่แน่นอน คือ *Streptococcus agalactiae* การศึกษารังนี้ได้เล็งเห็นความสำคัญเพื่อหาวิธีการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพอย่างเหมาะสมกับสภาพการเลี้ยง ทำให้เกษตรกรประสบผลสำเร็จในการเลี้ยงปลานิลในกระชังมากยิ่งขึ้น จึงได้มีการศึกษาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกันและศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ดีที่สุดในการศึกษารังนี้ คือ Enrofloxacin 5 % รองลงมาคือ Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %, Amoxicillin 5 % และ Oxytetracycline 10 % ตามลำดับ ดังนั้นการศึกษาในรังนี้ทำให้ทราบถึงโรคที่ทำให้เกิด



ความเสียหายและทราบถึงการเลือกใชยาปฏิชีวนะที่ต่างชนิดกันให้เหมาะสม ทั้งขนาดและปริมาณการใช้ต่ออาหาร เพื่อให้ภัยสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในกระชัง แม่น้ำโขงต่อไป

สรุป

การศึกษาวิธีการรักษาโรคที่เกิดกับการเลี้ยงปลานิลในกระชังเขตอำเภอเมือง จังหวัดนครพนม มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา โรคและวิธีการรักษาโรคที่เกิดกับการเลี้ยงปลานิลในกระชังในแม่น้ำโขง โดยใชยาปฏิชีวนะต่างชนิดกัน พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ก่อโรคในปลานิล และได้ทำการศึกษาความไวของเชื้อ ต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ Enrofloxacin, Oxytetracycline, Amoxicillin และ Sulfamonomethoxine + trimethoprim โดยใช้ความเข้มข้นของตัวยาแต่ละชนิดคือ 5 %, 10 %, 20 % และ 40 % พบว่า Enrofloxacin 5 % มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ได้มากที่สุด รองลงมาคือ Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %, Amoxicillin 5 % และ Oxytetracycline 10 % จะเห็นได้ว่าการใชยาปฏิชีวนะที่ดีที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ คือ Enrofloxacin 5 % รองลงมาคือ Sulfamonomethoxine + trimethoprim 5 %, Amoxicillin 5 % และ Oxytetracycline 10 % ตามลำดับ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบถึงโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายและทราบถึงการเลือกใชยาปฏิชีวนะที่ต่างชนิดกันให้เหมาะสม ทั้งขนาดและปริมาณการใช้ต่ออาหาร เพื่อให้ภัยสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในกระชัง แม่น้ำโขงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิธีการรักษาโรคที่เกิดกับการเลี้ยงปลานิลในกระชังเขตอำเภอเมือง จังหวัดนครพนม สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดีขอขอบคุณอาจารย์ ที่ให้คำแนะนำขั้นตอนต่าง ๆ และรวมถึงอาจารย์ในสาขาวิชาประมงทุกท่าน ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ ในการดำเนินการศึกษาในครั้งนี้ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

จิราพร เกสรจันทร์ สิทธิ บุญยรัตกลิน และกิจการ ศุภมาตย์. (2529). *Streptococcus* sp. กับโรคใน ปลานู๋ทราย.

วารสารสงขลานครินทร์ 8(3): 329-332.

ชุตินา อนุสมสิทธิ์ และกฤติมา เสาวกุล. (2560). โรคสเตรปโตคอคโคซิส: กรณีศึกษาในปลาเศรษฐกิจ. วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร. 39(2): 1-12.

พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุลโสภณ และปาริชาติ พุ่มขจร. (2553). การใช้สมุนไพรในการป้องกันรักษาโรค. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 12(4): 63-71.

สรวนีย์ วิริยะอัศเรขา เบญจพร สัมฤทธิ์เวช และนิติ ชูเชิด, (2561). เชื้อดื้อยาด้านจุลชีพและยาด้านจุลชีพตกค้างในการเลี้ยงปลานิลในจังหวัดอุบลราชธานีและจังหวัดเชียงราย. วารสารแก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ : 355-361.



- สุไพล์หมาน หมาดโหยด สุณิษา คงทอง และอุมาพร ชิมมากทอง. (2562). ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคแบคทีเรียในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังและการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพในปลานิลที่เลี้ยงบริเวณแม่น้ำตาปี จังหวัดนครศรีธรรมราช. รายงานการวิจัย. คณะสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.
- อติเทพชัยการณ ภาชนะวรรณ. (2555) (ก). ศักยภาพการใช้สมุนไพรไทยและสารสกัดสมุนไพรไทยในการใช้แทนยาปฏิชีวนะเพื่อควบคุมการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* และ *Aeromonas hydrophila* ในปลานิล. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- อติเทพชัยการณ ภาชนะวรรณ. (2555) (ข). สเตรปโตคอคคัส อะกาแลคเทีย แบคทีเรียก่อโรคในคน โคนม และปลา. วารสารมหาวิทยาลัยนครพนม 2(3): 10-17.
- Feng, C., Sun, J., Han, Z., & Yang, X. (2019). Isolation, Identification and Characteristics of *Aeromonas veronii* From Diseased Crucian Carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture*, 10, 1-10.
- Bakour, S., Rathored, J., Lo, C. I., Mediannikov, O., Beye, M., Ehounoud, C. B., Biagini, P., Raoult, D., Fournier, P.-E. & Fenollar, F. (2016). Non-contiguous finished genome sequence and description of *Streptococcus varani* sp. nov. *Aquaculture*, 11, 93-102
- Hoshina, T., Sona, T., & Marimoto, Y. (1958). A *Streptococcus* pathogen to fish. *Journal of the Tokyo in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)*. *Emerging Infectious Diseases* 15(5): 774-776.
- Joyce, J.E., Klesius, P.H., Pasnik, D.J., & Bohnsack, J.F. (2009). Human *Streptococcus agalactiae* Isolate mariculture systems. *Aquaculture* 246: 37-61.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.
- Robinson, J.A., & Meyer, F.P. (1966). Streptococcal Fish pathogen. *J. Bacterial* 92: 512.
- Toranzo, A.E., F.P. Magarinos, F.P. & Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish disease in *University of Fisheries* 44: 57-68.