บทที่ 5

การทดลองที่ 3

การตกค้างของออกซิเตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์

5.1 บทคัดย่อ

ศึกษาการตกค้างของ OTC ในกุ้งกุลาดำ ซึ่งมีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 17.54 ± 0.05 กรัมต่อตัว โดยเลี้ยงกุ้งในบ่อดิน ขนาด 1.6 ไร่ 2 บ่อ ความหนาแน่น 35 ตัวต่อตารางเมตร และในบ่อซีเมนต์ ขนาด 1.2 × 2.8 ×0.6 ลูกบาศก์เมตร 3 บ่อ ความหนาแน่น 30 ตัวต่อตารางเมตร และให้อาหารผสม OTC อัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัวต่อวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างกุ้งทุกวันตั้งแต่เริ่มให้ OTC ติดต่อกันเป็นเวลา 28 วัน นำมาวิเคราะห์ปริมาณของ OTC ในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆโดยใช้เทคนิค HPLC พบว่าในระหว่างการให้อาหารผสม OTC ตับ/ตับอ่อนเป็นเนื้อเยื่อที่ตรวจพบปริมาณของ OTC มากที่สุด ทั้งกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ โดยมีปริมาณ OTC สูงสุด เฉลี่ยเท่ากับ 34.238 ± 4.370 และ 37.746 ± 3.008 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่มากกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆ ประมาณ 2-3 เท่า กุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินตรวจพบปริมาณของ OTC น้อยที่สุดในเนื้อเยื่อรวม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.562 ± 2.431 ส่วนในล้านส่วน สำหรับในกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์พบปริมาณของ OTC น้อยที่สุดในเปลือก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.920 ± 0.058 ส่วนในล้านส่วน โดยหลังจากการหยุดให้ยา ปริมาณของ OTC ลดลงอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งไม่สามารถตรวจพบได้ (น้อยกว่า 0.01 ส่วนในล้านส่วน) ในวันที่ 15 และ 17 หลังจากการหยุดให้ยาในกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์ ตามลำดับ โดย OTC ที่ตกค้างในตับ/ตับอ่อน มีการสลายตัวเร็วที่สุดทั้งกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์ อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าครึ่งชีวิตการสลายตัวของ OTC ที่ตกค้างเนื้อเยื่อต่างๆในสภาพการเลี้ยงเดียวกันพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบค่าครึ่งชีวิตการสลายตัวของ OTC ในเนื้อเยื่อชนิดเดียวกันระหว่างกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์ พบว่า เปลือก ตับ/ตับอ่อน และเนื้อเยื่อรวม มีค่าครึ่งชีวิตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

5.2 บทนำ

OTC เป็นยาปฏิชีวนะที่ถูกนำมาใช้เป็นยาในการป้องกัน และรักษาโรคติดเชื้อเนื่องจากแบคทีเรีย ทั้งในโรงเพาะฟักและการเลี้ยงกุ้งทะเลในบ่อดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะ 7-9 ปีที่ผ่านมา เกษตรกรในประเทศไทยมีการนำมาใช้ในระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาในบ่อดิน อย่างแพร่หลายมากที่สุด อย่างไรก็ตามการเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย มีลักษณะการเลี้ยงอย่างหนาแน่น ใน

พื้นที่ที่ค่อนข้างจำกัด และมีความต้องการเลี้ยงให้ได้ผลผลิตต่อไร่สูง กล่าวคือ การเลี้ยงโดยมีการปล่อยกุ้งลงเลี้ยงต่อพื้นที่บ่อในอัตราที่สูงมากกว่า 60 ตัวต่อตารางเมตร มีการให้อาหารอย่างเพียงพอตลอดจนมีการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง ด้วยการเปลี่ยนถ่ายน้ำ การใช้เครื่องให้อากาศในน้ำ และการใช้ยาต้านจุลชีพและเคมีภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งการเลี้ยงโดยวิธีดังกล่าว ถ้ามีการจัดการที่ไม่ถูกวิธีจะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังเช่น มีการสะสมของสารอินทรีย์ ยาปฏิชีวนะ และสารเคมีในดินและแหล่งน้ำ ซึ่งมีรายงานการตรวจพบการตกค้างในตะกอนดิน จากบ่อเลี้ยงในหลายพื้นที่เลี้ยงกุ้งทางภาคใต้ ของประเทศไทย (สุดา และ พิกุล, 2537 ; อุษณีย์ และคณะ, 2538) ความเสื่อมโทรมของสภาพแวดล้อมทั้งในและนอกบ่อเลี้ยงอันเนื่องมาจากเหตุผลดังกล่าว เป็นผลให้กุ้งอ่อนแอ ขาดความต้านทานโรค และมักจะเกิดปัญหาโรคระบาดสร้างความเสียหายอย่างมากในหลายพื้นที่ ซึ่งในระยะหลังพบว่าการใช้ OTC ในการป้องกัน และรักษาโรคติดเชื้อเนื่องจากแบคทีเรีย โดยใช้วิธีผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูป ซึ่งอาจจะเคลือบหรือไม่เคลือบด้วยน้ำมันปลา แล้วหว่านให้กุ้งกิน ตามวิธีที่เกษตรกรโดยทั่วไปปฏิบัติกันอยู่นั้น มักจะให้ผลในการรักษาต่ำหรือไม่ได้ผล ดังนั้นในการที่จะควบคุมเชื้อโรคให้ได้ผลยิ่งขึ้น เกษตรกรจึงเพิ่มปริมาณยาในอัตราที่มากกว่า 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในหลายพื้นที่ ถ้าการรักษาไม่ได้ผลก็จะจับขายทันที บางทีอาจจะเนื่องมาจากการใช้ยาที่มากเกินไป ทำให้เชื้อมีการพัฒนาสายพันธุ์ที่สามารถต่อต้าน OTC กล่าวคือ เชื้อเกิดการดื้อยา ซึ่งมีรายงานที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียมีการพัฒนาสายพันธ์ที่สามารถต่อต้าน OTC เพิ่มมากขึ้นกว่าที่ผ่านมาเนื่องจากการใช้ยาอย่างพร่ำเพรื่อ หรือมากเกินไปเป็นระยะเวลานานๆ (Nygaard *et al.*, 1992 ; ลิลา และคณะ, 2539 ; ชัยวุฒิ, 2539 ; สุวรรณา และบริสุทธิ์, 2541)

การใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ เนื่องจากแบคทีเรียถ้าไม่มีระยะเวลาหยุดยา (withdrawal period) ที่เพียงพอก่อนจับกุ้งจำหน่ายจะทำให้มียาตกค้างอยู่ในตัวกุ้ง และมีโอกาสที่ยาปฏิชีวนะจะเข้าสู่ผู้บริโภคได้และอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการเจ็บป่วย เช่นระบบทางเดินอาหารผิดปกติ อาการแพ้ยา โลหิตจาง และมะเร็งได้ ตัวอย่างเช่น คลอแรมฟินิคอลที่ตกค้างในสัตว์น้ำ ทำให้เกิดโรคโลหิตจางในคนหรือการสร้างความต้านทานของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะในคน ทำให้ยากต่อการรักษา (พัฒนี, 2536 ; สุดา และ ฉันทนา, 2540)

การตกค้างของยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาที่มีผลกระทบต่อการส่งออกของประเทศอย่างยิ่ง ดังที่ได้ทราบกันแล้วว่า การตรวจพบ OTC และออกโซลินิค แอซิด ตกค้างในกุ้งของประเทศผู้นำเข้ากุ้งแช่แข็งจากประเทศไทย ได้แก่ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น ประเทศเหล่านี้มุ่งเน้นในด้านความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นหลัก ทำให้ทั้งสองประเทศเริ่มใช้มาตรการที่เข้มงวดในการตรวจสอบคุณภาพที่ส่งออกจากประเทศไทยจากการตรวจสอบเดิม ซึ่งทำเฉพาะโรงงานผลิตและผลิตภัณฑ์กุ้งมาเป็นการตรวจสอบแบบครบวงจร ซึ่งหมายถึงตั้งแต่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้งจนถึงโรงงาน

ผลิตและผลิตภัณฑ์ และยืนยันที่จะให้ประเทศไทยมีการควบคุมแหล่งเลี้ยงกุ้ง ให้ได้มาตรฐานตามหลักวิชาการ ถูกสุขลักษณะและไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

เพื่อที่จะแก้ปัญหาเกี่ยวกับการตกค้างของยาปฏิชีวนะในสัตว์น้ำหรือผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์กุ้งทะเลจึงมีความจำเป็นอย่างมากในการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการใช้ยา การสะสมหรือการตกค้าง และระยะเวลาการสลายตัวของยาในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้ง เพื่อเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในการกำหนดปริมาณและระยะเวลาการใช้ยาที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพ ตลอดจนการกำหนดระยะเวลาในการหยุดยาก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิตกุ้งได้อย่างถูกต้อง เพื่อป้องกันการตกค้างของยาในกุ้ง ซึ่งเป็นการควบคุมคุณภาพของกุ้งและผลิตภัณฑ์กุ้งทะเลให้ได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับของตลาดโลกต่อไป

5.3 วัตถุประสงค์

(1) เพื่อศึกษาปริมาณการตกค้างของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์

(2) เพื่อศึกษาการสลายตัวของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์

5.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

5.4.1 บ่อทดลอง

ทำการทดลองในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ ของศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสตูล โดยใช้บ่อดินที่มี ขนาด 1.6 ไร่ จำนวน 2 บ่อ และบ่อซีเมนต์ ขนาด 1.2 ×2.8 ×0.6 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 3 บ่อ ซึ่งมีการเตรียมบ่อ ดังนี้

5.4.1.1 การเตรียมบ่อดิน

เตรียมบ่อทดลองโดยใช้เครื่องดูดเลนกำจัดตะกอนเลนพื้นบ่อออก แล้วหว่านปูนขาวบ่อละ 500 กิโลกรัม ตากบ่อให้แห้งประมาณ 15 วัน เพื่อปรับปรุงคุณภาพดินพื้นบ่อ หลังจากนั้นเติมน้ำทะเลที่ผ่านการบำบัดด้วยคลอรีนชนิดผง (แคลเซี่ยมไฮโปคลอไรต์) ให้มีระดับความลึกประมาณ 1.20 เมตร และติดตั้งเครื่องเพิ่มอากาศในน้ำ (ตีน้ำ) แบบ paddle wheel ชนิด 9 วงล้อๆ ละ 8 ใบพัด ขับเคลื่อนด้วยมอเตอร์ไฟฟ้าขนาด 3 แรงม้า จำนวนบ่อละ 3 ตัว และขับเคลื่อนด้วยเครื่องยนต์ดีเซล ขนาด 7.5 แรงม้า บ่อละ 1 ตัว โดยติดตั้งในตำแหน่งที่สามารถทำให้น้ำในบ่อไหลหมุนเวียนไปในทิศทางเดียวกันเมื่อเครื่องตีน้ำทำงาน และก่อนปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยง 5 วัน ทำการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงเพื่อเร่งการเกิดอาหารธรรมชาติในบ่อเลี้ยงด้วยการเติมปุ๋ยยูเรีย และ

ปุ๋ยสูตร 16-20-0 (ละลายน้ำสาดทั่วบ่อ) ในปริมาณอย่างละ 5.5 กิโลกรัมต่อบ่อ และเปิดเครื่องตีน้ำตลอดเวลา พร้อมทั้งนำสาหร่ายคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ที่มีอัตราความหนาแน่น 50×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เติมลงในบ่อๆ ละ 6,000 ลิตร

5.4.1.2 การเตรียมบ่อซีเมนต์

ล้างทำความสะอาดบ่อ และเติมน้ำทะเลให้มีระดับความลึกจากพื้นบ่อ 45 เซนติเมตร และติดตั้งระบบเติมอากาศในบ่อ โดยให้อากาศผ่านหัวทรายจำนวน 4 หัวต่อบ่อ และใช้ผ้าพลาสติกพรางแสงปิดคลุมตลอดเวลาเพื่อลดการตื่นตกใจของกุ้ง

5.4.2 การเตรียมกุ้งทดลอง

5.4.2.1 การทดลองในบ่อดิน

นำพันธุ์กุ้งกุลาดำจากโรงเพาะขยายพันธุ์ของศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสตูล ระยะ PL_{15} โดยปล่อยเลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 51 ตัวต่อตารางเมตร (150,000 ตัวต่อบ่อ) ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่วางจำหน่ายในท้องตลาดและไม่ผสม OTC เป็นอาหาร เมื่อกุ้งมีอายุการเลี้ยงประมาณ 3 เดือน ซึ่งมีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 17.54 ± 0.04 กรัมต่อตัว และมีอัตราความหนาแน่น จากการสุ่มประมาณ 35 ตัวต่อตารางเมตร จึงเริ่มทำการทดลองการตกค้างของ OTC ในกุ้ง และเปลี่ยนชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมด้วย OTC

5.4.2.2 การทดลองในบ่อซีเมนต์

ทำการคัดกุ้งอายุการเลี้ยง 3 เดือน จากบ่อดินดังกล่าวข้างต้น ที่มีขนาดใกล้เคียงกันซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 17.54 ± 0.04 กรัมต่อตัว จำนวน 400 ตัว นำมาเลี้ยงให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมในบ่อซีเมนต์โดยให้อาหารที่ไม่ผสมยา เป็นเวลา 7 วัน แล้วแบ่งใส่บ่อซีเมนต์ จำนวน 3 บ่อ บ่อละ 100 ตัว (ความหนาแน่น 50 ตัวต่อตารางเมตร) โดยที่ก่อนปล่อยกุ้งลงในบ่อซีเมนต์ ทำการชั่งน้ำหนักรวมของกุ้งเป็นน้ำหนักเริ่มต้น เพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละวัน ซึ่งวิธีการชั่งน้ำหนักกุ้ง จะทำให้กุ้งสลบโดยใช้น้ำที่มีอุณหภูมิต่ำใน 10-15 องศาเซลเซียส ก่อนชั่งน้ำหนักใช้กระดาษหรือผ้าซับน้ำให้แห้งแล้วชั่งด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าที่มีทศนิยม 2 ตำแหน่ง โดยชั่งให้น้ำหนักรวมของแต่ละซ้ำ (บ่อ) มีน้ำหนักเท่ากันหรือแตกต่างกันที่ทศนิยม

5.4.3 การเปลี่ยนถ่ายน้ำ

ในระหว่างการเลี้ยงกุ้งในบ่อดินเพื่อเตรียมพันธุ์กุ้งที่มีอายุการเลี้ยงประมาณ 3 เดือน ก่อนเริ่มทดลองอาหารผสมยานั้น ในเดือนแรกไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ เริ่มมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ตั้งแต่เดือนที่ 2 เป็นต้นไป โดยมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเดือนละ 2-3 ครั้งๆละ 15 –25 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำในบ่อ ด้วยการใช้เครื่องสูบน้ำแบบท่อพญานาคสูบน้ำออกจากบ่อเลี้ยง และสูบน้ำทะเลซึ่งผ่านการบำบัดด้วยคลอรีนจากบ่อเตรียมน้ำเติมลงสู่บ่อเลี้ยงให้ได้ระดับเดิม อย่างไรก็ตามในระหว่างการทดลองซึ่งให้อาหารผสมยาแก่กุ้งเป็นระยะเวลา 7 วัน นั้นไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ส่วนการเลี้ยงกุ้ง (อายุการเลี้ยง 3 เดือน) ในบ่อซีเมนต์มีการดูดตะกอนและเศษอาหารที่เหลือจากกุ้งกิน และเปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 1 ครั้งๆ ละประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรน้ำในบ่อ

5.4.4 การเตรียมอาหารผสมออกซิเตตร้าซัยคลิน

ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปชนิดจมน้ำ เบอร์ 5 ผสมด้วยออกซิเตตร้าซัยคลินไฮโดรคลอไรด์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งมีตัวยาเท่ากับ 86.48 เปอร์เซ็นต์ ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ด้วยการละลายยาในน้ำกลั่นแล้วฉีดพ่นคลุกเคล้าด้วยมือให้เข้ากันกับเม็ดอย่างทั่วถึงแล้วเคลือบด้วยน้ำมันปลา ในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม แล้วจึงนำอาหารไปหว่านให้แก่กุ้ง

5.4.5 การให้อาหารผสมออกซิเตตร้าซัยคลิน

ในระหว่างการทดลองทั้งในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ ให้อาหารผสม OTC แก่กุ้ง ในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักรวมของกุ้งต่อวัน โดยแบ่งเป็น วันละ 4 มื้อ ตามเวลา ดังนี้ 6:00 น., 12:00 น., 18:00 น. และ 24:00 น. ติดต่อเป็นระยะเวลา 7 วัน

5.4.6 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกุ้งทั้งในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ ก่อนการให้อาหารในมื้อที่ 2 (เวลา 12:00 น.) ของแต่ละวัน โดยเริ่มเก็บตั้งแต่วันแรกที่ให้อาหารผสม OTC ไปจนกระทั่งถึงวันที่ 28 ของการทดลอง (ภายหลังการสิ้นสุดให้ยา 21 วัน) การทดลองในบ่อซีเมนต์ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งครั้งละ 3 ตัวต่อบ่อ (ซ้ำ) ส่วนการทดลองในบ่อดิน สุ่มเก็บตัวอย่างจากจุดต่างๆ กระจายทั่วบ่อ บ่อละ 6 จุด โดยเก็บกุ้งจุดละ 5 ตัว (3 ซ้ำ) โดยใช้แหซึ่งจะได้กุ้งตัวอย่างวันละ 30 ตัวต่อบ่อ นำกุ้งตัวอย่างใส่ถุงพลาสติก และเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

5.4.7 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

นำกุ้งตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณ OTC ที่ตกค้างในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ได้แก่ กล้ามเนื้อ (muscle), เปลือก (integument), ตับ/ตับอ่อน (hepatopancreas) และเนื้อเยื่อรวม (วิเคราะห์รวมทั้งตัว, total body mass) โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ของ Oka และคณะ. (1985) โดยนำตัวอย่างปริมาณ 5 กรัม มาบดละเอียดด้วยเครื่อง homoginizer ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งเติมด้วยสารละลาย 0.1 M Na_2EDTA-McIlvaine, pH 4 ในปริมาตร 20, 20 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ และนำไปปั่นตกตะกอน (centrifuged) ที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วดูดสารละลายส่วนใสปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน syringe ขนาด 50 มิลลิลิตรที่ต่อด้วย sep-pak C_{18} ซึ่งผ่านการ activated (ซึ่งทำโดยการ ผ่านด้วย methanol 20 มิลลิลิตร และผ่านด้วยน้ำ Milli-Q 25 มิลลิลิตร) เรียบร้อยแล้ว จากนั้นล้างด้วยน้ำ Milli-Q 25 มล. และใช้ syringe ดูดอากาศ 2 มล. อัดผ่าน sep-pak แล้วชะ (elute) OTC ออกจาก sep-pak ด้วยสารละลาย 50:50 oxalic acid/TEA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเก็บสารละลายให้ครบ 5 มิลลิลิตร โดยการอัดอากาศผ่าน sep-pak เขย่าให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง HPLC ยี่ห้อ WATER (Pump Model 616, UV Detector Model 486, Controller Model 600, Autosampler Model 717) โดยใช้ Column : Nova-Pack C_{18} 3.9 x 150 มิลลิเมตร, Mobile Phase : A = Acetonitrile (HPLC grade) และ B = 0.01 M Oxalic acid-TEA, pH 3.0 ในปริมาตร 20% A, 80% B อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ Detector UV 365 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณ OTC จากสูตร

$$\text{ปริมาณ OTC (ส่วนในล้านส่วน)} = \frac{C \times E}{W}$$

โดยที่ C = ค่าความเข้มข้นที่ได้จาก Calibration Curve (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

E = ปริมาตรของสารละลายที่ได้จากการชะ (elute) OTC ออกจาก sep-pak ซึ่งเท่ากับ 5 มิลลิลิตร

W = น้ำหนักกุ้ง (กรัม)

5.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ Least square linear regression ของค่า ln ของความเข้มข้นและ เวลาหลังจากการหยุดให้อาหารผสมยา และคำนวณค่าครึ่งชีวิต (Half-life, $t_{1/2}$) การสลายตัวของ OTC จากสูตร (Xu and Rogers,1994 ; Uno *et al.*,1992 ; Baggot, 1977)

$$t_{1/2} = \ln 2/\beta$$

โดยที่ β = อัตราการสลายตัวคงที่ (elimination rate constants) ได้มาจาก negative slope ของ regression line

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยค่าครึ่งชีวิตของการสลายตัวของ OTC ตกค้างในเนื้อเยื่อต่างๆของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์ โดยการวิเคราะห์ Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยค่าครึ่งชีวิตด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) และ t-test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (ธวัชชัย, 2542)

5.5 ผลและวิจารณ์

5.5.1 การตกค้างของออกซิเตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดิน

ปริมาณการสะสมหรือตกค้างเฉลี่ยของ OTC ที่ตรวจวัดได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งแสดงไว้ในตารางที่ 7 และ ภาพที่ 4 โดยที่ปริมาณ OTC สะสมหรือตกค้างในตับ/และตับอ่อน กล้ามเนื้อ เปลือก และเนื้อเยื่อรวม ในระหว่างการให้อาหารผสมยา (7 วัน) เฉลี่ยมีค่า อยู่ระหว่าง 6.791 $\pm$ 1.933 - 34.238 $\pm$ 4.370, 1.109 $\pm$ 0.383-11.154 $\pm$ 1.474, 0.825 $\pm$ 0.141-11.002 $\pm$ 1.589, และ 1.185 $\pm$ 0.074 - 10.562 $\pm$ 0.805 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ โดยที่ในกล้ามเนื้อตรวจวัดได้ปริมาณ OTC สูงสุด ในวันที่ 7 ของการให้อาหารผสมยา (11.54 $\pm$ 1.474 ส่วนในล้านส่วน) ในตับและตับอ่อนตรวจวัดได้ปริมาณ OTC สูงสุดในวันที่ 5 ของการให้อาหารผสมยา (34.238 $\pm$ 4.370 ส่วนในล้านส่วน) ในเปลือกตรวจวัดได้ปริมาณ OTC สูงสุดในวันที่ 6 ของการให้อาหารผสมยา (11.002 $\pm$ 1.1589 ส่วนในล้านส่วน) และปริมาณ OTC ในเนื้อเยื่อรวมของกุ้งทดลองตรวจวัดได้ปริมาณสูงสุดในวันที่ 6 ของการให้อาหารผสมยา (10.562 $\pm$ 2.431 ส่วนในล้านส่วน) หลังจากการหยุดให้อาหารผสมยา ปริมาณ OTC ที่ตกค้างในเนื้อเยื่อต่างๆของกุ้งจะค่อยสลายตัวลดลงจนกระทั่งถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ (น้อยกว่า 0.01 ส่วนในล้านส่วน) โดยที่ในตับและตับอ่อนใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดเท่ากับ 11 วัน หลังจากการหยุดยา ในกล้ามเนื้อใช้ระยะเวลา 13 วัน และในเปลือก และเนื้อเยื่อรวมใช้ระยะเวลาการสลายตัวที่ใกล้เคียงกัน เท่ากับ 15 วัน และ 14 วัน ตามลำดับ

5.5.2 การตกค้างของออกซิเตตร้าซัยคลินในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์

ปริมาณการสะสมหรือตกค้างเฉลี่ยของ OTC ที่ตรวจวัดได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 8 และ ภาพที่ 5 โดยที่ปริมาณ OTC สะสมหรือตกค้างในตับและตับอ่อน กล้ามเนื้อ, เปลือก และเนื้อเยื่อรวม ของกุ้งในระหว่างการให้อาหารผสมยา (7 วัน) อยู่ระหว่าง 9.225 $\pm$ 0.664 - 37.746 $\pm$ 3.008, 2.441 $\pm$ 0.999 -11.698 $\pm$ 0.275, 2.520 $\pm$ 0.579 -9.920 $\pm$ 0.058 และ 4.027 $\pm$ 0.995 - 10.154 $\pm$ 1.208 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ โดยที่เนื้อเยื่อของกุ้งทดลองที่ตรวจวัดปริมาณ OTC สะสมได้สูงสุดได้แก่ ตับ/ตับอ่อน (37.746 $\pm$ 3.008 ส่วนในล้านส่วน) ในวันที่ 3 ของการให้อาหารผสมยา ส่วนในกล้ามเนื้อและเปลือก ตรวจวัดปริมาณ OTC สะสมได้สูงสุด ท่ากับ 11.698 $\pm$ 0.275 และ 9.920 $\pm$ 0.058 ส่วนในล้านส่วน ในวันที่ 6 และ 7 ของการให้อาหารผสมยา ตามลำดับ สำหรับปริมาณ OTC ที่สะสมในเนื้อเยื่อรวม พบว่ามีปริมาณสูงสุดในวันที่ 3 ของการให้อาหารผสมยา (10.154 $\pm$ 1.208 ส่วนในล้านส่วน) หลังจากการหยุดให้อาหารผสมยา ปริมาณของ OTC ที่ตกค้างในเนื้อเยื่อต่างๆของกุ้งจะค่อยๆลดลงเช่นเดียวกันกับการเลี้ยงในบ่อดิน แต่ค่อนข้างจะช้ากว่า โดยใช้ระยะเวลาที่ลดลงจนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 15, 16 และ 18 วัน ในส่วนของตับ/ตับอ่อน กล้ามเนื้อ และเปลือก ตามลำดับ ส่วนเนื้อเยื่อรวมใช้ระยะเวลาเท่ากับ 17 วัน

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบค่าครึ่งชีวิตของการสลายตัวของ OTC ในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของกุ้งทดลองทั้งในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ แสดงไว้ในตารางที่ 9 ซึ่งพบว่าค่าครึ่งชีวิตของการสลายตัวของ OTC ในตับ/ตับอ่อน, กล้ามเนื้อ, เปลือก และเนื้อเยื่อรวม ของกุ้งทั้งในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \geq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าครึ่งชีวิตระหว่างเนื้อเยื่อประเภทเดียวกันของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ พบว่าในกล้ามเนื้อไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \geq 0.05$) แต่ในเนื้อเยื่ออื่นๆได้แก่ ตับ/ตับอ่อน เปลือก และเนื้อเยื่อรวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 ปริมาณของ OTC (ส่วนในล้านส่วน) ในส่วนต่างๆ ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดิน ก่อนการให้อาหารผสม OTC (วันที่ 1) ในระหว่างการให้อาหารผสม OTC (วันที่ 2-8) และหลังการให้อาหารผสม OTC (วันที่ 9-23)

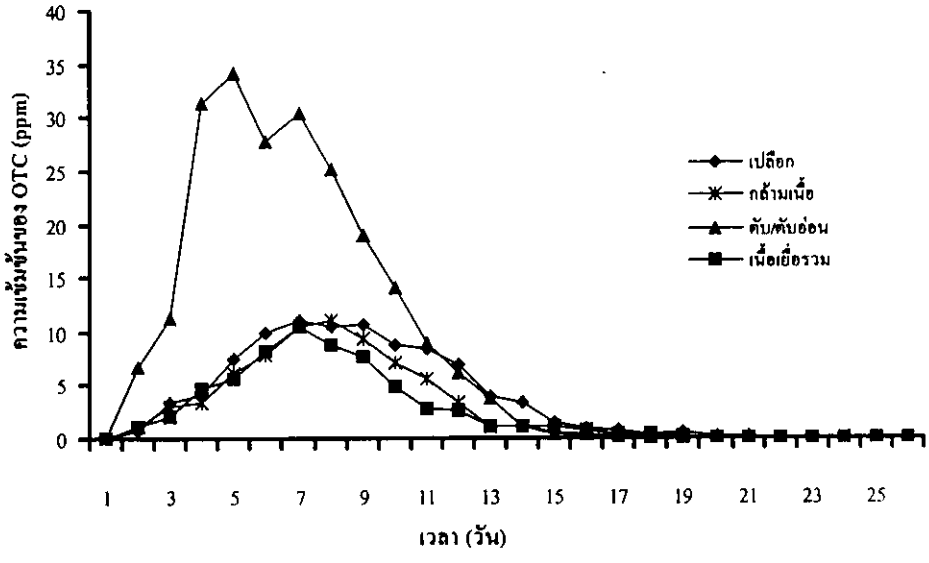
วันที่	ตับ/ตับอ่อน	กล้ามเนื้อ	เปลือก	เนื้อเยื่อรวม
1	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
2	6.791 ± 1.933	1.109 ± 0.383	0.825 ± 0.141	1.185 ± 0.074
3	11.339 ± 1.920	3.047 ± 1.086	3.412 ± 1.396	4.617 ± 0.129
4	31.339 ± 3.652	3.300 ± 0.221	4.210 ± 0.729	4.617 ± 0.680
5	34.238 ± 4.370	6.188 ± 2.014	7.577 ± 0.665	5.696 ± 2.431
6	27.719 ± 2.269	7.837 ± 0.983	9.915 ± 0.717	8.312 ± 0.880
7	30.430 ± 0.327	10.544 ± 0.803	11.002 ± 1.589	10.562 ± 0.805
8	25.235 ± 1.243	11.154 ± 1.474	10.531 ± 0.813	8.777 ± 0.917
9	18.891 ± 1.733	9.403 ± 1.479	10.788 ± 0.803	7.706 ± 1.807
10	14.122 ± 2.540	7.059 ± 2.894	8.843 ± 0.190	4.905 ± 0.436
11	9.055 ± 0.436	5.618 ± 1.412	8.511 ± 1.269	2.901 ± 0.498
12	6.239 ± 1.733	3.374 ± 0.751	7.008 ± 1.570	2.575 ± 0.616
13	3.799 ± 0.180	1.119 ± 0.296	3.984 ± 1.048	1.124 ± 0.247
14	1.098 ± 0.627	1.106 ± 0.297	3.361 ± 0.302	1.088 ± 0.305
15	0.301 ± 0.077	0.512 ± 0.218	1.541 ± 0.020	1.050 ± 0.326
16	0.396 ± 0.529	0.358 ± 0.079	0.958 ± 0.270	0.684 ± 0.145
17	0.101 ± 0.142	0.259 ± 0.005	0.793 ± 0.073	0.376 ± 0.208
18	0.031 ± 0.043	0.213 ± 0.060	0.455 ± 0.096	0.285 ± 0.178
19	0.000 ± 0.000	0.109 ± 0.041	0.526 ± 0.368	0.274 ± 0.300
20	0.000 ± 0.000	0.045 ± 0.064	0.266 ± 0.095	0.076 ± 0.107
21	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.138 ± 0.110	0.044 ± 0.062
22	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.055 ± 0.078	0.000 ± 0.000
23	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000

[1] ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

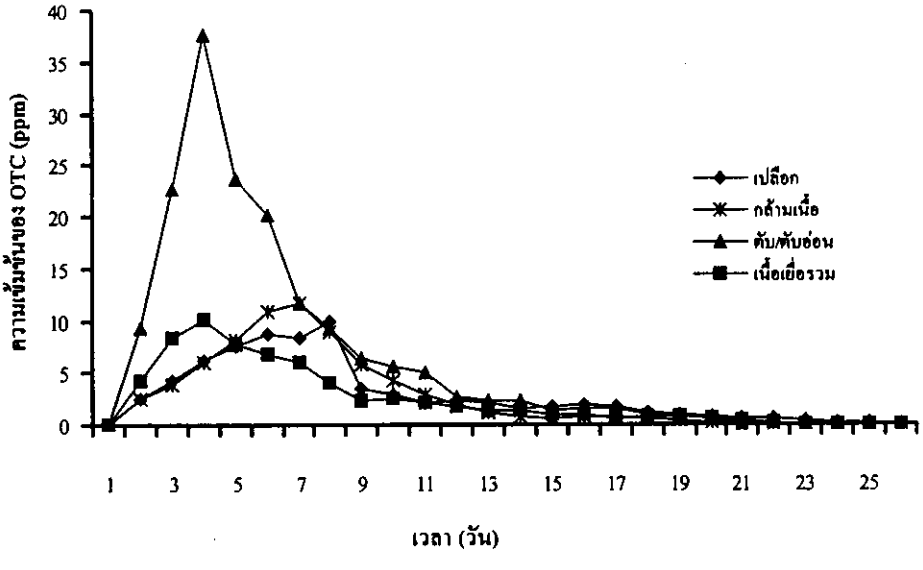
ตารางที่ 8 ปริมาณของ OTC (ส่วนในล้านส่วน)[1] ในส่วนต่างๆ ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ ก่อนการให้อาหารผสม OTC (วันที่ 1) ในระหว่างการให้อาหารผสม OTC (วันที่ 2-8) และหลังการให้อาหารผสม OTC (วันที่ 9-26)

วันที่	ตับ/ตับอ่อน	กล้ามเนื้อ	เปลือก	เนื้อเยื่อรวม
1	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
2	9.258 ± 1.773	2.441 ± 0.999	2.520 ± 0.597	4.185 ± 1.491
3	22.631 ± 5.296	3.820 ± 0.815	4.341 ± 0.877	10.154 ± 1.213
4	37.746 ± 3.008	6.086 ± 1.150	6.236 ± 0.606	10.154 ± 1.208
5	23.596 ± 4.048	8.066 ± 1.243	7.587 ± 1.560	7.750 ± 0.559
6	20.188 ± 2.583	10.820 ± 2.478	8.678 ± 0.946	6.868 ± 1.630
7	11.565 ± 1.655	11.698 ± 0.275	8.353 ± 1.884	6.039 ± 0.824
8	9.225 ± 1.293	9.029 ± 0.288	9.920 ± 0.058	4.027 ± 0.995
9	6.369 ± 1.293	5.873 ± 1.525	3.478 ± 1.925	2.2286 ± 1.050
10	5.640 ± 0.210	4.318 ± 1.875	2.921 ± 0.284	2.484 ± 0.657
11	5.079 ± 1.386	2.825 ± 2.410	2.171 ± 0.728	2.133 ± 0.345
12	2.676 ± 1.131	1.878 ± 0.219	2.375 ± 0.771	1.702 ± 0.343
13	2.427 ± 0.593	1.076 ± 0.121	2.063 ± 0.708	1.451 ± 0.622
14	2.240 ± 0.832	0.830 ± 0.094	1.575 ± 0.571	1.300 ± 0.393
15	1.405 ± 0.307	0.639 ± 0.066	1.755 ± 0.290	0.954 ± 0.101
16	1.602 ± 0..875	0.756 ± 0.375	1.948 ± 0.780	1.013 ± 0.295
17	1.548 ± 0.866	0.718 ± 0.031	1.721 ± 0.527	0.664 ± 0.556
18	0.997 ± 0.448	0.500 ± 0.059	1.132 ± 0.237	0.839 ± 0.158
19	0.867 ± 0.115	0.378 ± 0.115	0.953 ± 0.200	0.719 ± 0.196
20	0.589 ± 0.048	0.184 ± 0.078	0.846 ± 0.142	0.629 ± 0.341
21	0.235 ± 0.060	0.169 ± 0.065	0.631 ± 0.345	0.398 ± 0.146
22	0.197 ± 0.087	0.063 ± 0.062	0.627 ± 0.277	0.141 ± 0.028
23	0.041 ± 0.072	0.021 ± 0.037	0.328 ± 0.129	0.056 ± 0.098
24	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.195 ± 0.131	0.022 ± 0.037
25	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.109 ± 0.098	0.000 ± 0.000
26	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000

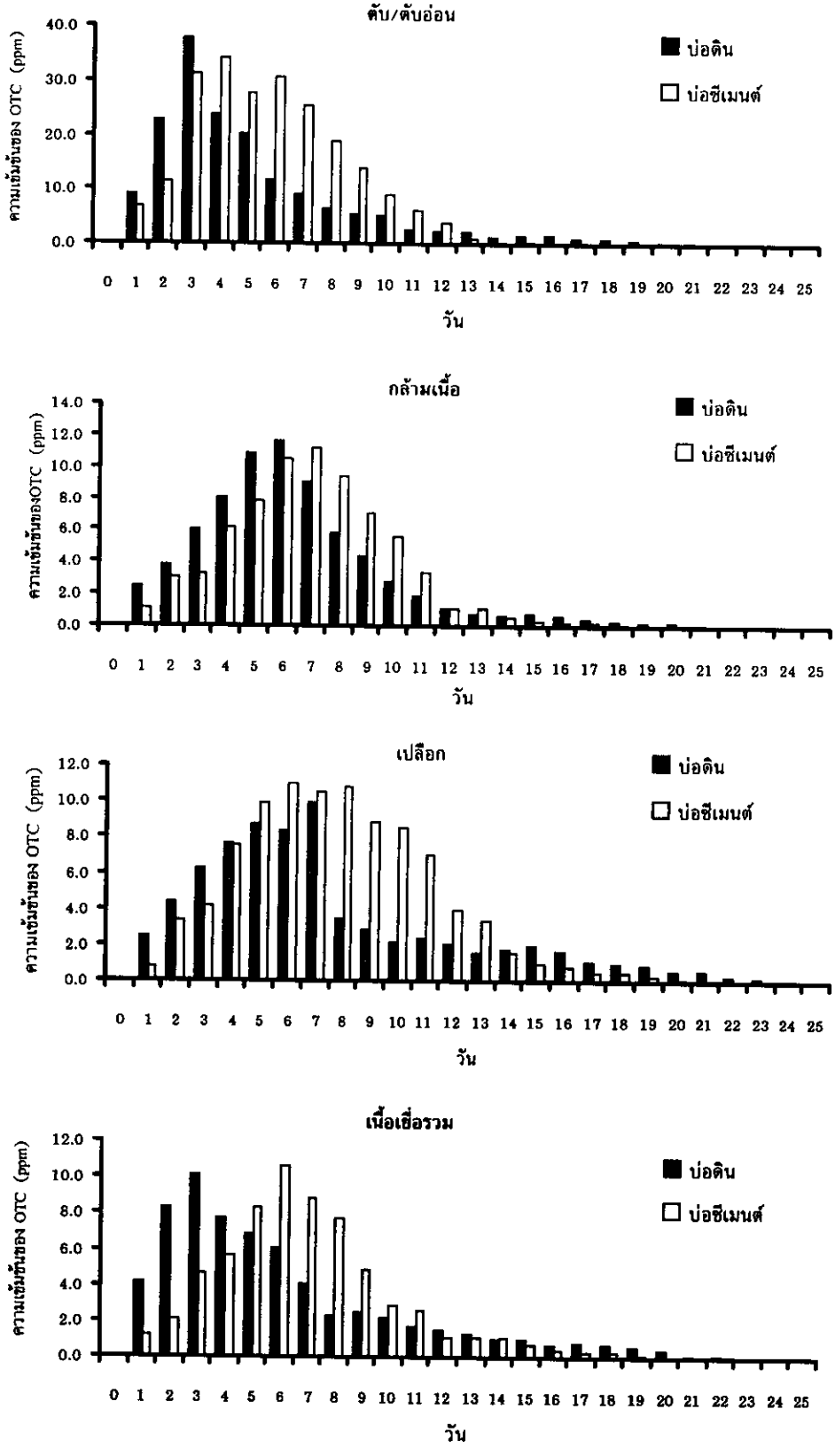
[1] ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 4 ความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินในระหว่างการให้อาหารผสมยา (วันที่ 2-8) และหลังจากการให้อาหารผสมยา (วันที่ 9-26)



ภาพที่ 5 ความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในระหว่างการให้อาหารผสมยา (วันที่ 2-8) และหลังจากการให้อาหารผสมยา (วันที่ 9-26)



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์

ตารางที่ 9 อัตราการสลายตัวคงที่ ค่าครึ่งชีวิตของการสลายตัวของ OTC ในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์[1]

เนื้อเยื่อ	อัตราการสลายตัวคงที่ (ต่อวัน)		ค่าครึ่งชีวิต (วัน)	
	บ่อดิน	บ่อซีเมนต์	บ่อดิน	บ่อซีเมนต์
กล้ามเนื้อ	-0.452 ± 0.023	-0.257 ± 0.086	1.54 ± 0.077^{ax}	2.91 ± 0.965^{ax}
ตับ/ตับอ่อน	-0.769 ± 0.175	-0.256 ± 0.020	0.93 ± 0.215^{ax}	2.72 ± 0.214^{ay}
เปลือก	-0.388 ± 0.045	-0.170 ± 0.017	1.80 ± 0.210^{ax}	4.11 ± 0.430^{ay}
เนื้อเยื่อรวม	-0.380 ± 0.080	-0.188 ± 0.023	1.87 ± 0.393^{ax}	3.73 ± 0.497^{ay}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแต่ละสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

ค่าเฉลี่ยในแต่ละแถวที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าการให้ OTC แก่กุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินด้วยการผสมกับอาหารในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ถ้ากุ้งกินอาหาร OTC สามารถแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ได้อย่างค่อนข้างเร็ว ซึ่งสามารถตรวจพบ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆได้ในวันแรกของการให้ยา โดยที่ตรวจพบได้ในตับ/ตับอ่อนสูงกว่า (6.791 ± 1.935 ส่วนในล้านส่วน) เนื้อเยื่ออื่น เช่น กล้ามเนื้อ (1.109 ± 0.383 ส่วนในล้านส่วน) และเปลือก (0.825 ± 0.141 ส่วนในล้านส่วน) สอดคล้องกับการศึกษาของ อาสรา และคณะ(2536) ซึ่งพบว่าหลังจากการป้อน OTC ให้กุ้งกุลาดำขนาด 8 กรัม ในอัตรา 40, 60 และ 80 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 1 กิโลกรัม สามารถตรวจพบการแพร่กระจายของ OTC ไปยังน้ำเลือด, ตับ/ตับอ่อน และกล้ามเนื้อภายใน 30 นาที เนื่องจากเมื่อ OTC เข้าสู่ระบบทางเดินอาหารโดยผ่านส่วนของ fore gut แล้วจะผ่านไปยัง ตับ/ตับอ่อน ซึ่งจะดูดซึมและขับ OTC ออกก่อนเป็นเนื้อเยื่อแรก จากนั้นจะผ่านระบบเลือดไปสู่เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ต่อไป (Lockwood, 1976) เมื่อระยะเวลานานขึ้นปริมาณ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ จึงค่อยๆเพิ่มมากขึ้นและตรวจพบปริมาณสูงสุดในวันที่ 4, 7 และ 6 ของการให้ยาในส่วนของตับ/ตับอ่อน, กล้ามเนื้อ และเปลือก ตามลำดับ หลังจากนั้นถ้ายังมีการให้ OTC ต่อไปอีกปริมาณ OTC ในส่วนต่างๆค่อนข้างคงที่หรือมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก

ผลการศึกษาในกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในครั้งนี้ก็ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาในกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน คือสามารถตรวจพบ OTC ซึ่งแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ได้ในวันแรกของการให้ยา แต่สามารถตรวจวัดได้ในปริมาณที่มากกว่าโดยตรวจพบในส่วนของตับ/ตับอ่อน สูงกว่าในกล้ามเนื้อ และเปลือก ซึ่งเท่ากับ 9.258 $\pm$ 1.773, 2.441 $\pm$ 0.999 และ 2.520 $\pm$ 0.597 ส่วนในล้านส่วน และมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 4, 6 และ 7 ตามลำดับ หลังจากมีการสะสมในปริมาณที่สูงสุดแล้วในระหว่างการให้ยาปริมาณการสะสมในเนื้อเยื่อต่างๆ ค่อนข้างคงที่เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามปริมาณการสะสมหรือตกค้างของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในช่วงแรกของการให้ยามีแนวโน้มสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน ทั้งนี้เนื่องจากในบ่อซีเมนต์กุ้งสามารถรับอาหารได้ง่ายกว่าในบ่อดิน เนื่องจากเป็นบ่อขนาดเล็กกว่าบ่อดินมาก กุ้งทุกตัวมีโอกาสได้รับอาหารผสมยาอย่างเต็มที่ การสูญเสียของ OTC หรืออาหารมีน้อยกว่า แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้น กุ้งในบ่อซีเมนต์จะเกิดความเครียดมากขึ้นเนื่องจากสภาพแวดล้อมต่างๆมากกว่าในบ่อดินและมีผลทำให้กินอาหารลดลง ปริมาณยาที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายในระยะหลังจึงใกล้เคียงกัน

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณของ OTC ในตัวกุ้งกับค่า MIC ของ OTC ต่อการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* sp. ซึ่งรายงานไว้โดย Takahashi และคณะ (1985) อยู่ระหว่างความเข้มข้นน้อยกว่า 0.1 - 12.5 ส่วนในล้านส่วน และ 1.56 – มากกว่า 100 ส่วนในล้านส่วน โดยมีระดับความเข้มข้นที่ยับยั้งเชื้อได้ 50 และ 90 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 37.5 และมากกว่า 100 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ (ชัยวุฒิ, 2539) จะเห็นได้ว่าปริมาณ OTC ที่ตรวจพบในส่วนของกล้ามเนื้อ เปลือก และเนื้อเยื่อรวม ของการศึกษาในครั้งนี้ แม้ว่าจะอยู่ในช่วงของค่า MIC แต่ก็เป็นปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งอาจจะไม่มีผลในทางรักษาในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่มีการดื้อยา หรือมีค่า MIC สูงกว่านี้ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการให้ยาแก่กุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินของเกษตรกรด้วยการผสมอาหารในอัตรา 5 กรัมต่ออาหารเม็ดสำเร็จรูป 1 กิโลกรัม เพื่อรักษาโรคแบคทีเรียในปัจจุบันมักจะไม่ได้ผลเท่าที่ควร ทั้งนี้เนื่องจากกุ้งได้รับยาไม่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อ และเชื้อโรคมีการดื้อยานั่นเอง ตามรายงานของ ชัยวุฒิ (2539) พบว่าในแหล่งน้ำชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนในของประเทศไทยตรวจพบสายพันธุ์ของแบคทีเรียเรืองแสงที่มีการดื้อยาถึง 56 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามปริมาณ OTC ในส่วนของน้ำเลือดซึ่งไม่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ เป็นข้อมูลที่จำเป็นต่อผลในทางรักษาโรคเช่นเดียวกัน เนื่องจากน้ำเลือดเป็นส่วนที่สัมผัสกับเชื้อโรคอยู่เป็นปกติ

ตามปกติปริมาณ OTC ที่ตกค้างในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของกุ้งจะลดลงเรื่อยๆ หลังจากการหยุดให้ยา เนื่องจากกระบวนการขับยาออกจากตัวกุ้งผ่านทางระบบเลือดและการขับถ่าย จากผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าระยะเวลาในการกำจัดยาออกจากเนื้อเยื่อต่างๆ จนกระทั่งไม่สามารถตรวจวัดค่าได้ (น้อยกว่า 0.01 ส่วนในล้านส่วน) หลังจากการหยุดให้ยาของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน และ

บ่อซีเมนต์ มีระยะเวลานานที่สุด (ในเปลือก) ที่ใกล้เคียงกันคือ ในบ่อดิน 14 วัน และบ่อซีเมนต์ 17 วัน (ภาพที่ 6) อย่างไรก็ตามในบ่อซีเมนต์มีแนวโน้มยาวนานกว่า อาจจะเนื่องมาจากกุ้งในบ่อซีเมนต์มีการสะสมของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ ในปริมาณมากกว่าดังที่กล่าวมาแล้ว และในบ่อซีเมนต์กุ้งมีความเครียดเนื่องจากสภาพแวดล้อมมากกว่าทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมและการกำจัดยาในร่างกายค่อนข้างช้ากว่าในบ่อดิน เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการกำจัดยาออกจากตัวกุ้งจากค่าครึ่งชีวิต จะเห็นได้ว่า โดยส่วนใหญ่กุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์มีค่าครึ่งชีวิตของการสลายตัวจากเนื้อเยื่อต่างๆ มากกว่าในบ่อดิน และค่าครึ่งชีวิตในส่วนของตับ/ตับอ่อน ค่อนข้างสั้นกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆ แสดงว่า ตับ/ตับอ่อนมีการกำจัดยาออกได้ค่อนข้างเร็วกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆ ในขณะที่ค่าครึ่งชีวิตของเปลือกค่อนข้างยาวนานที่สุด แม้ว่าผลการเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งภายในบ่อดินและบ่อซีเมนต์เดียวกันจะไม่มีความแตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติของค่าครึ่งชีวิตในแต่ละเนื้อเยื่อของกุ้ง ระหว่างบ่อดินและบ่อซีเมนต์ พบว่ามีความแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$) ในส่วนของตับ/ตับอ่อน เปลือก และ เนื้อเยื่อรวม ซึ่งน่าจะเนื่องมาจากสาเหตุดังกล่าวแล้วข้างต้น โดยทั่วๆไประยะเวลากำจัดยาออกจากร่างกายขึ้นอยู่กับปริมาณยาที่ได้รับและระยะเวลาที่ได้รับยา (พรเลิศ และชลอ, 2534) ดังเช่นรายงานการศึกษาในกุ้ง *P. setiferus* วัยรุ่นที่ได้รับอาหารผสม OTC ในอัตรา 1,000, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าสามารถตรวจวัดปริมาณ OTC ในกล้ามเนื้อได้เท่ากับ 1.25, 4.25 และ 5.25 ส่วนในล้านส่วน ที่เวลา 48, 24 และ 24 ชั่วโมง หลังจากเริ่มให้อาหารผสม OTC ตามลำดับ และใช้เวลาในการกำจัดยาหมด หลังจากการหยุดให้ยาในกุ้งที่ได้รับยาในอัตรา 1,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เท่ากับ 3 วัน ในขณะที่กุ้งที่ได้รับยา 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ใช้เวลา 14 วัน (Corliss, 1979) นอกจากนี้อุณหภูมิก็มีผลมากต่อการกำจัดออกจากร่างกายกุ้งเช่นเดียวกัน โดยในสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกุ้งจะใช้ระยะเวลากำจัดยาออกจากร่างกายนานกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง เนื่องจากสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกระบวนการเมตาโบลิซึม (metabolism) ของกุ้งจะลดลง การหายใจและการขับถ่ายจึงช้าลงด้วย จากการทดลองในกุ้งมังกร (*Homarus americanus*) โดยให้อาหารผสม OTC ในอัตรา 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 10 วัน ตรวจพบการตกค้างของ OTC ในกล้ามเนื้อนาน 14 และ 28 วัน ที่อุณหภูมิ 15 -19 องศาเซลเซียส และ 14 -15 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Bayer and Daniel, 1987) นอกจากนั้นยังมีผลการศึกษาในปลา rainbow trout ที่คล้ายคลึงกันโดย Herman และคณะ (1969) ซึ่งให้อาหารผสม OTC ในระดับ 75 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าปลา rainbow trout ใช้ระยะเวลาในการกำจัดยาออกจากร่างกายนาน 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 12 - 13 องศาเซลเซียส ในขณะที่ใช้ระยะเวลากำจัดยานาน 4 สัปดาห์ สำหรับปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า (6-7 องศาเซลเซียส) ซึ่งสอดคล้องกับที่ Goebbles (1991) สรุปไว้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อระยะเวลาการ

ตกค้างของยา ในการทดลองครั้งนี้อุณหภูมิของน้ำในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์มีความแตกต่างกัน คือ ในบ่อดินมีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 29.0-31.6 องศาเซลเซียส ในขณะที่บ่อซีเมนต์มีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 27.5-30.0 องศาเซลเซียส ซึ่งโดยทั่วๆไปแล้วอุณหภูมิของน้ำในบ่อซีเมนต์จะต่ำกว่าในบ่อเลี้ยงกุ้ง (บ่อดิน) ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ระยะเวลาการตกค้างของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์นานกว่าในบ่อดิน

จากผลการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงทั้งในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ซึ่งมีสภาพแวดล้อมของแหล่งเลี้ยงที่ค่อนข้างแตกต่างกันมีระยะเวลาการกำจัดหรือการสลายตัวของ OTC ออกจากเนื้อเยื่อต่างๆ จนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ (น้อยกว่า 0.01 ส่วนในล้านส่วน) ไม่เกิน 18 วัน หลังการหยุดให้อาหารผสมยา ดังนั้นเพื่อให้ผู้บริโภคกุ้งกุลาดำที่มาจากการเลี้ยงมีความปลอดภัยจากยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในตัวกุ้ง แนะนำว่าผู้เลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีการให้ OTC แก่กุ้งควรมีระยะเวลาหลังจากการหยุดให้ยา (withdrawal period) ก่อนจับกุ้งจำหน่ายไม่น้อยกว่า 18 วัน