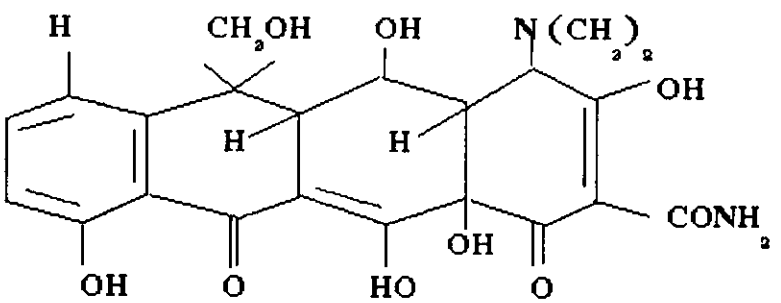
บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 คุณสมบัติของยาปฏิชีวนะออกซิเตตร้าซัยคลิน

OTC เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตร้าซัยคลินที่สกัดได้จากเชื้อรา *Streptomyces rimosus* เมื่อปี ค.ศ 1950 มีชื่อทางเคมีว่า 4 - (Dimethylamino)-1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12a-octahydro-3, 5, 6, 10, 12, 12a-hexahydroxy-6-methyl-1, 11-dioxo-2-naphthacenecarboxamide และมีชื่อทางการค้า ได้แก่ Glomysin, Terrafungine, Riomitsin, Hydroxytetracycline, Berkmycen, Biostat, Imperacin (tablets), Oxacycline, Oxatets, Oxystevacin, Terrajects, Terremycin, Tetramal, Tetran และ Vendarcin. มีสูตรโครงสร้างเป็น polycyclic compound ดังนี้



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างแบบ polycyclic compound ของออกซิเตตร้าซัยคลิน
ที่มา : Degroodt และคณะ (1993)

สารประกอบอนุพันธ์ (derivative compound) ของ OTC เป็น disodiumsalt dihydrate (C_{22} H_{22} N_2 Na_2O_2 $2H_2O$) มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลือง มีรสขม มีความไวต่อแสง ซึ่งแสงจะทำให้ OTC สลายตัวและเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล การเก็บรักษาไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องจะสามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อย 2 ปี แต่ OTC สามารถสลายตัวได้เร็วในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง และความเค็มสูง ตามปกติ OTC มีคุณสมบัติละลายน้ำได้เล็กน้อย แต่เมื่ออยู่ในรูปของเกลือโซเดียม หรือไฮโดรคลอไรด์ (hydrochloride) จะละลายน้ำได้ดี แต่ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม (chloroform) อะซีโตน (acetone) และอีเธอร์ (ether)

OTC เป็นยาที่ออกฤทธิ์ได้ในขอบเขตกว้าง (broad spectrum) สามารถออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ นอกจากแบคทีเรียแล้ว OTC ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ rickettsia และ protozoa บางชนิดได้อีกด้วย (ประสบ, 2528) แต่ไม่มีผลต่อจุลินทรีย์พวกยีสต์

ราเมือก (moulds) และเชื้อราอื่นๆ ยาในกลุ่มเตตร้าซัยคลินมีทั้งหมด 7 ชนิด แต่มีเพียง 2-3 ชนิด เท่านั้นที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในทางการเกษตรคือ เตตร้าซัยคลิน (tetracycline), คลอเตตร้าซัยคลิน (chlortetracycline) และ OTC (Huber, 1971)

OTC เป็นยาปฏิชีวนะที่จัดอยู่ในประเภท bacteriostatic คือไม่สามารถฆ่าเชื้อได้แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ (ทมยันต์, 2530) โดยที่ยาจะไปขัดขวางกระบวนการ intracellular phosphorylation ของกลูโคส และการเกาะของ Acyl–tRNA (transformer Ribosomal Nucleic Acid) กับ 30S subunit ของ ribosome จึงทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างโปรตีนและเพิ่มจำนวนได้ (ประสบ, 2528) หรือเพิ่มได้ช้าและมีผลต่อเซลล์ของแบคทีเรียมากกว่าเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนี้ สารในกลุ่มเตตร้าซัยคลินมักจะผ่านเข้าไปได้น้อย ส่วนเซลล์ของแบคทีเรียนั้นนำสารกลุ่มนี้ผ่านเข้าไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการศึกษากลไกของการทำงานของเตตร้าซัยคลินพบว่ามีอิออนของแมกนีเซี่ยมมาเกี่ยวข้องด้วย โดยโมเลกุลของสารกลุ่มเตตร้าซัยคลินจะสร้างเป็นโมเลกุลซับซ้อนกับอิออนของแมกนีเซี่ยม ซึ่งมีอยู่ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียและผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นโมเลกุลนี้จะถูกนำเข้าสู่เซลล์และปลดปล่อยสารนี้สู่ไซโตพลาสซึม แล้วไปทำปฏิกิริยากับไรโบโซมต่อไป (สายสมร, 2524)

2.2 อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่มีต่อความคงตัวของออกซิเตตร้าซัยคลิน

มีปัจจัยสิ่งแวดล้อมหลายประการ ที่มีบทบาทต่อการสลายตัวของยาปฏิชีวนะ เช่น แสง แดด อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และความเค็ม เพราะฉะนั้นเพื่อให้การใช้ยาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและให้ผลคุ้มค่า การใช้ยาชนิดนี้แต่ละครั้งควรจะนำเอาปัจจัยเหล่านี้มาพิจารณาด้วย เมื่อเปรียบเทียบ OTC กับคลอเตตร้าซัยคลิน และเพนนิซิลิน (penicilin) แล้ว พบว่า OTC มีความคงทนต่อความชื้นมากกว่า (ประสบ, 2528) OTC ชนิดแห้งสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นานถึง 2 ปี ส่วนที่เป็นสารละลายสามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้ 2 วัน หรืออาจจะเก็บได้นานถึง 4 วัน แม้ว่าสีของยาจะคล้ำไปก็ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของยา สำหรับปริมาณของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในเนื้อสัตว์จะลดลงได้มากเมื่อใช้ความร้อนสูงเป็นระยะเวลานาน ในขณะที่ความเย็นมีผลเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นในกระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษาโดยวิธีการต่างๆ เช่น การหุงต้ม การแช่เย็น การหั่นและการบด สามารถทำให้ปริมาณของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างอยู่ในเนื้อสัตว์ลดลงได้บ้าง (มาลินี, 2525)

ได้มีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และแสงต่อความคงทนของ OTC ไว้บ้างพอสมควร อาทิ McCraken และคณะ (1976) ซึ่งได้ทำการทดลองโดยใช้ปลา rainbow trout อายุ 1 ปี ในขั้นแรกใช้ OTC และยาปฏิชีวนะชนิดอื่นอีก 3 ชนิด ฉีดเข้า

ช่องท้อง จากนั้นให้ยาปฏิชีวนะดังกล่าวโดยผสมกับอาหารให้กินทุกวันและตรวจสอบการสลายตัวของยาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการสลายตัวของ OTC ที่ตกค้างอยู่ในกล้ามเนื้อของปลา โดยการสลายตัวของยาในกล้ามเนื้อที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

Van Schothorst (1969 อ้างโดย กรรณิการ์, 2534) ได้ตรวจสอบผลของการใช้ความร้อนต่อประสิทธิภาพของยากลุ่มเตตร้าซัยคลินที่ตกค้างในเนื้อสัตว์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ปรากฏว่าประสิทธิภาพของ OTC จะหมดไป เมื่อใช้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 12 นาที ที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที และที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 100 นาที แต่ภายหลังจากใช้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 100 นาที OTC ยังคงมีประสิทธิภาพมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

มาลินี (2522 อ้างโดย กรรณิการ์, 2534) ทดสอบการสลายตัวของยา 5 ชนิด คือ เพนนิซิลิน, OTC, คลอเตตร้าซัยคลิน, คลอแรมฟีนิคอล และสเตรปโตมัยซิน (streptomycin) ที่ อุณหภูมิ 60, 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ยาปฏิชีวนะทุกชนิดใช้ระยะเวลาในการสลายตัวประมาณ 5 นาที เท่านั้น ในขณะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการสลายตัวเกือบชั่วโมง ทั้งนี้ระยะเวลาในการสลายตัวของยาขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของยาด้วย

Samuelsen (1989) ทดสอบการสลายตัวของ OTC ที่ความเข้มแสงต่างกัน 2 ระดับ โดยทำการทดลองใช้ตู้ขนาด 1.5 ลิตร บรรจุน้ำทะเลที่มี OTC ส่วนในล้านส่วน แล้วแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่หนึ่งคลุมด้วยถุงพลาสติกสีดำ ชุดที่สองให้แสงตลอดเวลา 24 ชั่วโมง วัดปริมาณ OTC เป็นระยะจากผลการทดลองพบว่าการให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง ทำให้ ค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของยาลดลงเป็น 128 ชั่วโมง ในขณะที่ในที่มืดมีค่าครึ่งชีวิต เป็น 168 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

Dornbush และ Abbey (1972 อ้างโดย กรรณิการ์, 2534) รายงานว่า ยาในกลุ่มเตตร้าซัยคลินไฮโดรคลอไรด์จะสูญเสียประสิทธิภาพ ในสภาพอากาศชื้นหรือเมื่อเปิดทิ้งไว้ในที่มีแสงแดดจัด ถ้าต้องการเก็บไว้ให้ได้นานๆโดยไม่ให้เสียประสิทธิภาพควรเก็บไว้ในสภาพแช่แข็ง ซึ่งจะเก็บได้นานถึง 6 เดือน โดยการละลายในสารละลาย 0.1 M phosphate buffer pH 4.5 ก่อนที่จะแช่แข็ง สารละลายยาในกลุ่มเตตร้าซัยคลินไม่ควรทำการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเพราะจะทำให้สูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นควรฆ่าเชื้อโดยใช้วิธีกรอง ซึ่งในการกรองนั้นควรจะใช้แผ่นกรอง Ultrafine sinter glassfilters มากกว่าที่จะใช้ Seitz หรือ Mandler filter สำหรับการเก็บรักษาอาหารผสมยา OTC นั้นควรเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งเช่นเดียวกัน เนื่องจากสามารถเก็บรักษา

ได้นานโดยไม่สูญเสียประสิทธิภาพ หรือสูญเสียประสิทธิภาพเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังเช่นการศึกษาของ Mohney และคณะ (1997) ที่พบว่าเมื่อเก็บอาหารผสม OTC ซึ่งมี OTC ในอาหาร 1,455 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 191 วัน ยงคงตรวจพบ OTC ในอาหาร 1,451 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

2.3 การใช้ออกซิเตตร้าซัยคลินในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ในการรักษาโรคสัตว์น้ำที่เกิดจากแบคทีเรียนั้นมักจะใช้ยาปฏิชีวนะ โดยยาที่ใช้ได้ผลดีและนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางชนิดหนึ่งคือ OTC ซึ่งเป็นยาที่ U.S. Food and Drug Administration (FDA) อนุญาตให้ใช้กับสัตว์น้ำได้ (Tonguthai and Chanratchakool, 1992) OTC เป็นยาที่ใช้ในการเลี้ยงปลาเพื่อรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Aeromonas และ Pseudomonas และใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลเพื่อรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Vibrio ซึ่งจากทดสอบความไว (sensitivity test) ของเชื้อแบคทีเรียต่อ OTC ของ Kincheloe (1962) พบว่าเชื้อ Myxobacteria จำนวน 23 ชนิด มีความไวต่อ OTC สำหรับวิธีการใช้ยานั้น สามารถใช้ได้โดยการฉีด การแช่ และการผสมกับอาหาร หรือให้กินโดยตรง อย่างไรก็ตามเมื่อปลาหรือสัตว์น้ำเป็นโรค เกิดความเครียดหรือเกิดปรากฏการณ์ธรรมชาติอื่นๆ ปลาหรือสัตว์น้ำจะกินอาหารลดลงหรือไม่กินอาหาร ยาที่ผสมอาหารจะช่วยอะไรไม่ได้เลย (Amend and Fryer, 1968) และปลาที่อ่อนแอหรือเชื่องช้าจะดูดซึมยาได้ในปริมาณน้อย ในขณะที่ปลาที่แข็งแรงว่องไว จะดูดซึมยาได้ในปริมาณมาก (Herwig, 1979) นอกจากนี้การให้ยาแก่สัตว์น้ำต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพในการดูดซึม(bioavailability) ของสัตว์น้ำด้วยเนื่องจากสัตว์น้ำแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการดูดซึมยาที่แตกต่างกัน ซึ่งมีรายงานการศึกษาที่พบว่าประสิทธิภาพในการดูดซึม OTC ของสัตว์น้ำค่อนข้างต่ำ และมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด อาทิ ปลา rainbow trout เท่ากับ 1.3-5.6 เปอร์เซ็นต์ (Bjorklund and Bylund, 1991) ปลา common carp เท่ากับ 0.6 เปอร์เซ็นต์ (Grondel *et al.*, 1987) เป็นต้น

การใช้ยาปฏิชีวนะโดยการฉีดนั้นมักจะใช้เพื่อการรักษาโรค โดยฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อ ยาจะถูกดูดซึมเข้าระบบเลือดของปลาได้ไม่เร็วพอที่จะมีผลในการรักษา ดังนั้นปลามักจะตายก่อนที่ยาจะออกฤทธิ์ ส่วนการฉีดเข้าช่องท้องเป็นวิธีที่เร็วกว่า โดยยาจะถูกดูดซึมและผ่านเข้าผนังลำไส้เนื้อเยื่ออื่นๆเข้าสู่ตัวปลาได้ดี แต่ในทางการค้าแล้วทำไม่ได้ เว้นเสียแต่เป็นปลาที่มีราคาและมีจำนวนน้อย (ชลอ, 2528) ดังนั้นส่วนใหญ่จะใช้วิธีแช่ปลาเพื่อควบคุมการติดเชื้อที่ผิวโดยมีการดูดซึมที่เหงือก (mucous membranes) หรือผิวหนังส่วนที่หุ้มภายนอก สำหรับการผสมในอาหารนั้น โดยทั่วไปจะเป็นวิธีที่ใช้ในการป้องกันมากกว่าการรักษาจึงอาจเกิดอันตรายขึ้นได้หากใช้ไม่ถูกต้อง และทำให้ยากในการรักษา การใช้ยาผสมกับอาหารนั้นต้องคำนึงถึงสภาพสิ่งแวดล้อมด้วย โดยเฉพาะอย่าง

ยิ่งอุณหภูมิ ถ้าเปลี่ยนแปลงไปก็จะมีผลต่อการกินอาหารของปลา และการแพร่กระจายของยาออกไปสู่แหล่งน้ำอีกด้วย

ในการผสมยาปฏิชีวนะในอาหารเพื่อให้ได้อาหารผสมยาที่มีคุณภาพดีนั้น ยาและอาหารต้องผสมกันเป็นเนื้อเดียวกัน โดยปริมาณยาที่ให้ต้องมีอยู่ครบถ้วนในอาหาร ยาที่ใส่ควรจะต้องอยู่คงทนในอาหาร อาหารผสมยาต้องมีรสชาติที่ดีเมื่อทำเสร็จแล้ว และสัตว์น้ำต้องกินได้ด้วย องค์ประกอบของอาหารต้องไม่มีผลต่อยา และยาจะต้องไม่ละลายก่อนที่จะถูกกิน Fribourgh และคณะ (1969) ศึกษาถึงการละลายของยาในอาหารที่ผสม OTC 1.83 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส มีการละลาย 5.27, 10.39 และ 19.53 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 3, 9 และ 15 นาที ตามลำดับ การละลายของยาในอาหารยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และพื้นที่ผิวของเม็ดอาหารด้วย

Bayer และ Daniel (1987) ได้ทดลองใช้ OTC ในการป้องกันโรค Gaffkemia ในกุ้งมังกร (lobsters) โดยวิธีผสมอาหารให้กินในอัตรา 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม ก่อนนำไปแช่ในเชื้อ *Aerococcus viridans* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค พบว่ากุ้งที่ไม่ได้รับยามีการตายสูงถึง 78 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับยาในอัตรา 1.1 และ 2.2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม มีการตายเพียง 13.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เมื่อเพิ่มอัตราการให้ยาเป็น 11.0, 27.5 และ 55.0 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม เป็นเวลา 15 วัน พบว่าไม่มีการตายของกุ้งเลย

ในการเลี้ยงกุ้งทะเลมีการใช้ OTC กันอย่างแพร่หลายเช่นเดียวกัน ซึ่งวิธีการให้ยาแก่กุ้งในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* sp. และ *V. alginolyticus* นั้น Lightner (1977) แนะนำให้ใช้วิธีการฉีด และผสมกับอาหาร สำหรับอัตราการให้ยาเพื่อการรักษาโรคติดเชื้อ *Vibrio* sp.ในกุ้ง โดยการผสม OTC ในอาหาร โดยทั่วไปจะให้ในอัตรา 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (พรเลิศ, 2538) ส่วนการใช้ OTC เพื่อรักษาโรคเรืองแสงที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ในกุ้งวัยอ่อน (postlarva, P2 -P15) นั้น สุกิจ และคณะ (2531) แนะนำให้ใช้ในปริมาณ 2.68 - 5.00 ส่วนในล้านส่วน ควบคู่กับฟอร์มาลิน 10.0-15.0 ส่วนในล้านส่วน และ Takahashi และคณะ (1985) แนะนำให้ใช้ OTC ผสมกับอาหารในอัตรา 200-500 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในการรักษาโรคติดเชื้อจาก *Vibrio* sp. ในกุ้ง kuruma (*P. japonicus*) ที่ประเทศญี่ปุ่น อย่างไรก็ตามระยะเวลาการให้ยากับกุ้งก็มีผลต่อการรักษาโรคเช่นเดียวกัน ลิลา (2534) กล่าวว่าโดยทั่วไปแล้ว การให้ยาปฏิชีวนะจะให้ติดต่อกันนาน 5-7 วัน หากให้ยาไม่ครบตามระยะเวลาที่กำหนด จะทำให้การรักษาไม่หายขาด และกุ้งอาจจะมีอาการของโรคขึ้นมาอีกหลังจากหยุดให้ยา นอกจากนี้ยังทำให้เชื้อโรคมีโอกาสดื้อยาได้ง่าย

ประจวบ (2530) กล่าวถึงลูกกุ้งที่ติดเชื้อ *Vibrio* sp. ที่ปะปนอยู่ในน้ำทะเล ซึ่งทำให้ลูกกุ้งอ่อนแอ ไม่ค่อยกินอาหาร ว่ายน้ำช้า จมลงสู่ก้นบ่อ กล้ามเนื้อบริเวณท้องจะขุ่นมัว ระยางค์ และแพนหางจะเปื่อย มีสีดำ ขาดวิ่น ถ้าเชื้อที่ได้รับมีความรุนแรงลูกกุ้งจะตายภายใน 3 วัน และแนะนำให้ป้องกันโดยใช้ OTC หรือ คลอแรมฟินิคอล ในอัตราความเข้มข้น 2-3 ส่วนในล้านส่วน แช่ลูกกุ้งทุกครั้งที่มีการเคลื่อนย้าย

ชลอ (2531) กล่าวว่าเชื้อแบคทีเรีย *V. vulnificus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเสี้ยนดำในกุ้งทะเลมีความไวต่อยาหลายชนิด เช่น เพนนิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล สเตปโตมัยซิน นาลิติซิกแอซิด เตตร้าซัยคลิน และ OTC อย่างไรก็ตามการรักษาอาจจะทำได้ยากถ้าเสี้ยนดำในตัวกุ้งมีขนาดใหญ่ โอกาสจะหายไปคงต้องใช้เวลานานแต่ในระยะแรกๆ ที่เชื้อปรากฏอาการดังกล่าวบนเปลือกก่อนที่เชื้อจะแพร่กระจายลงไปถึงเนื้อเยื่อชั้นล่าง อาจจะรักษาได้โดยการให้กินยาปฏิชีวนะโดยผสมกับอาหาร เช่น OTC ผสมกับอาหารในอัตรา 3 กรัมต่ออาหารเม็ด 1 กิโลกรัม ให้กินติดต่อกันนาน 5-7 วัน และถ้าปรากฏว่า เมื่อใช้ยาแล้วยังติดเชื้อเพิ่มขึ้นก็ควรงดการให้ยาเพราะจะเป็นการสิ้นเปลือง

ลิลา (2534) แนะนำว่าหากการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่ได้ผลในการรักษาโรคกุ้งทะเลแม้ว่าจะเลือกใช้ยาอย่างถูกต้องและปฏิบัติอย่างถูกวิธีแล้วก็ตาม ให้พิจารณาถึงความสามารถในการกินอาหารและยาที่ให้กุ้งที่เป็นโรค การวินิจฉัยโรคของผู้เลี้ยงถูกต้องหรือไม่ และการติดเชื้อโรคชนิดอื่นแทรกซ้อนขึ้นมาหรือไม่ ซึ่งบางครั้งยาปฏิชีวนะที่ให้กุ้งอาจจะทำลายเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ตามปกติในลำไส้ ทำให้เกิดการย่อยอาหารที่ผิดปกติและยังเปิดโอกาสให้เชื้อโรคเจริญขึ้นมาอย่างรวดเร็วได้

สุวรรณา และคณะ (2534) ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะชนิด OTC ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดจากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค โดยมีการเก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่เป็นโรคจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาใน 2 บริเวณ คือ ภาคกลาง ในเขตจังหวัดสมุทรสงคราม และสมุทรสาคร ภาคตะวันออกในเขตจังหวัดจันทบุรี และระยอง โดยในภาคกลางพบเชื้อ *V. anguillarum, V. parahaemolyticus. V. alginolyticus, V. vulnificus* และ *Vibrio.* sp. ส่วนในภาคตะวันออกพบเชื้อ *V. anguillarum, V. parahaemolyticus, V. alginolyticus, V. vulnificus, V. cholerae, Vibrio* sp. และ *Aeromonas* sp. พบว่า OTC ให้ผลในการยับยั้งได้เฉพาะเชื้อ *V. anguillarum* จากภาคตะวันออก และ เชื้อ *Aeromonas* sp. เท่านั้น ส่วนเชื้อ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* บางตัวอย่างก็สามารถยับยั้งได้แต่บางตัวอย่างก็พบการดื้อยา ส่วนเชื้อ *V. cholerae* พบว่าไม่ควรใช้ยาชนิดนี้ในการยับยั้งเนื่องจากมีค่า MIC (Minimal Inhibition Concentration) และ MBC (Minimal Bactericidal Concentration) สูงถึง 50 ส่วนในล้านส่วน

2.4 ผลข้างเคียงของออกซิเตตร้าซัยคลินต่อสัตว์น้ำ

OTC ที่ใช้กับสัตว์น้ำจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ดังเช่น การทดลองเลี้ยงกุ้ง brown shrimp (*P. aztecus*) ด้วยอาหารผสม OTC ในอัตรา 100, 1,000 และ 5,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมยาในอัตรา 100 และ 1,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารผสมยาในอัตรา 5,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีการชะงักการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ได้รับยา (Corliss *et al.*, 1977) ในทางตรงกันข้าม ประเสริฐ และคณะ (2530) ทดลองใช้คลอเตตร้าซัยคลินผสมกับอาหารในอัตรา 100 และ 200 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้ปลาดุกด้านกินนาน 21 สัปดาห์ พบว่าคลอเตตร้าซัยคลินไม่มีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของปลาดุกด้านเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ผสมยา Higuera-Ciapara และคณะ (1992) ได้ศึกษาผลของยาปฏิชีวนะต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำขนาด postlarvae และขนาดโตเต็มวัย ในการทดลองได้มีการให้ OTC โดยการผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปในอัตรา 250 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าการเพิ่มน้ำหนักกุ้งกุลาดำในทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

2.5 การตกค้างและการแพร่กระจายของออกซิเตตร้าซัยคลิน ในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ

การศึกษาเกี่ยวกับการตกค้างและการแพร่กระจายของ OTC ในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ ได้มีผู้ทำการศึกษาไว้บ้างพอสมควร อาทิ Mohney และคณะ (1997) ศึกษาการตกค้างของ OTC ในกุ้ง *Peneaus stylirostris* วัยรุ่น ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 10.7-11.2 กรัม โดยการผสม OTC กับอาหารในอัตรา 1,500 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กุ้งกินติดต่อกันเป็นระยะเวลา 14 วัน ทำการตรวจปริมาณ OTC ในเนื้อกุ้งในวันที่ 1, 4, 7 และ 14 ของการให้อาหารผสม OTC พบว่ามีปริมาณ OTC เฉลี่ย 0.52, 3.34, 5.14 และ 4.91 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ และหลังจากหยุดให้ OTC แล้ว 5 วัน จึงไม่สามารถตรวจพบ OTC ได้ (น้อยกว่า 0.2 ส่วนในล้านส่วน)

Bayer และ Danial (1987) ได้ทดลองศึกษาหาปริมาณการตกค้างของ OTC ใน กุ้งมังกร (*Homarus americanus*) ที่ได้รับยาในอัตราส่วน 1.1 และ 1.2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม เป็นเวลา 10 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 15-19 องศาเซลเซียส มีการตกค้างของยาในกล้ามเนื้อเป็นเวลานาน 14 วัน และที่อุณหภูมิ 14-15 องศาเซลเซียส มีการตกค้างนานถึง 28 วัน ส่วนใน ตับ/ตับอ่อน และน้ำเลือด พบว่ามีการตกค้างนานกว่า 28 วัน

อาสรา (2535) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการตกค้างของ OTC ในกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 8 กรัม 15 กรัม และ 20 กรัม โดยให้ยาทางปากในอัตรา 40, 60 และ 80 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 1 กิโลกรัม พบว่ากุ้งขนาด 8 กรัม ที่ได้รับยาในอัตรา 40, 60 มิลลิกรัม มีการตกค้างของยานาน 7-8

วัน ส่วนในอัตรา 80 มิลลิกรัม มีการตกค้างของยานาน 15 วัน สำหรับกุ้งกุลาดำขนาด 15 กรัม พบว่ามีการตกค้างของยาในน้ำเลือด อย่างน้อย 8, 6, 9 วัน ใน ตับ/ตับอ่อน อย่างน้อย 6, 13, 34 วัน ในกล้ามเนื้ออย่างน้อย 8, 6, 9 วัน ตามลำดับ และกุ้งกุลาดำขนาด 20 กรัม พบว่ามีการตกค้างของยาในน้ำเลือดอย่างน้อย 9, 6, 10 วัน ในตับ/ตับอ่อน อย่างน้อย 7, 12, 43 วัน ในกล้ามเนื้ออย่างน้อย 8, 5, 9 วัน ตามลำดับ

Limpoka และคณะ (1993) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการตกค้างของ OTC ในกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนัก 30-40 กรัม โดยให้อาหารผสมยาในอัตรา 2.5 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการตกค้างนานถึง 4 และ 11 วัน ส่วนการศึกษาการตกค้างของ OTC ในกุ้งขาว (*P. setiferus*) ที่ให้กินอาหารผสม OTC ในอัตรา 1,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ามีการตกค้างของ OTC ในเนื้อเยื่อกุ้งนาน 3 และ 14 วัน (Corliss, 1979)

Bjorklund และคณะ (1990) ได้ทำการศึกษาการตกค้างของ OTC ในปลาที่อยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ คือปลา bleak และปลา rosch ซึ่งจับได้จากบริเวณแหล่งน้ำใกล้ฟาร์มเลี้ยงปลา rainbow trout ซึ่งมีการให้ OTC ด้วยการผสมอาหารในอัตรา 50-100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 8-10 วัน และมีการระบายน้ำลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่าในกล้ามเนื้อของปลา bleak มีการตกค้างของยา 0.2-1.3 ไมโครกรัมต่อกรัม และในกล้ามเนื้อปลา rosch สามารถตรวจพบในระดับเฉลี่ย 0.06 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยมีระดับสูงสุดที่ 0.1 ไมโครกรัมต่อกรัม

Bullock และคณะ (1971) ตรวจสอบการตกค้างของ OTC ในกลุ่มปลา fin-fish ซึ่งได้รับยาที่ผสมกับอาหารในอัตรา 1,000, 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่ออาหารกิโลกรัม พบว่าความเข้มข้นของ OTC ตกค้างในกล้ามเนื้อเป็น 1.25, 4.25 และ 5.25 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ

Namdari และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาการตกค้างของ OTC ในปลา chinook salmon ที่ได้รับอาหารผสม OTC ในอัตรา 75 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 21 วัน มีการตกค้างของ OTC ในกล้ามเนื้อ นาน 41 และ 65 วัน ในสภาพอุณหภูมิของน้ำ เท่ากับ 15 และ 9 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าระยะเวลาในการตกค้างของยาขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลาของการใช้ยา และระดับความเข้มข้นของยา การให้ OTC แก่กุ้งที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 3 วัน จะมีการตกค้างของยาในเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำ ปริมาณ 0.244 ส่วนในล้านส่วน และถ้าให้ยานานขึ้นเป็น 7 วัน พบว่าจะมีการตกค้างของยาในเนื้อเยื่อมากขึ้น เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของยาเป็น 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม การตกค้างของยาในเนื้อเยื่อจะมีปริมาณ

เพิ่มขึ้นเป็น 0.873 และ 0.884 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ (พรเลิศ และ ชลอ, 2533) และ ชลอ (2534) ได้เสนอแนะว่า ถ้าให้ยาติดต่อกันประมาณ 7 วัน ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะต้องหยุดการให้ยาก่อนจับอย่างน้อย 14 วัน เพื่อให้กุ้งกำจัดยาออกจากร่างกายหมดเสียก่อน

การอนุญาตให้ใช้ OTC ในแต่ละประเทศมีกฎเกณฑ์ที่แตกต่างกัน และได้กำหนดระยะเวลาการหยุดใช้ยาก่อนจับสัตว์น้ำที่แตกต่างกันด้วย เช่นในสภาพการเลี้ยงที่มีอุณหภูมิของน้ำสูงกว่า 9 องศาเซลเซียส หลายประเทศกำหนดระยะเวลาการหยุดใช้ยาก่อนจับสัตว์น้ำไว้ดังนี้ ญี่ปุ่น 25 วัน สหรัฐอเมริกา 21 วัน แคนนาดา 42 วัน และประเทศในยุโรป่ 30-40 วัน ซึ่งระยะเวลาการหยุดใช้ยาที่เหมาะสมก่อนจับสัตว์น้ำ จะแตกต่างกันตามสภาพอุณหภูมิ เช่น ในสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 12 องศาเซลเซียส ควรมีระยะเวลาในการหยุดยา 60 วัน ที่อุณหภูมิ 12-22 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาในการหยุดยา 40 วัน และที่อุณหภูมิสูงกว่า 22 องศาเซลเซียส ควรมีระยะเวลาในการหยุดยา 15 วัน เป็นต้น (Goebbels, 1991 อ้างโดยอาสรา, 2535)

2.6. การตกค้างของออกซิเตตร้าซัยคลินในแหล่งน้ำและดินตะกอน

ยาปฏิชีวนะจะมีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมจากการให้ยาแก่สัตว์น้ำ ได้โดยตรง คือ การละลายหรือสูญเสียของยาที่ผสมในอาหารลงสู่แหล่งน้ำ หรือพื้นดิน ดังเช่น Samuelsen (1989) รายงานว่าการใช้ยาปฏิชีวนะโดยการผสมกับอาหารให้สัตว์น้ำกินนั้น สัตว์น้ำจะได้รับยาเพียง 20-30 เปอร์เซ็นต์ ของยาที่ผสมในอาหารในขณะที่ยาอีก 70-80 เปอร์เซ็นต์ จะสูญเสียลงในสิ่งแวดล้อม กล่าวคือตกค้างอยู่ในดินและน้ำ ดังนั้นการตกค้างจะมีเพิ่มมากขึ้นในกรณีที่มีการให้ยามากเกินความจำเป็น นอกจากนี้การปนเปื้อนจะเกิดขึ้นโดยทางอ้อมคือผ่านเข้าไปในสัตว์น้ำและมีการสะสมอยู่ในสัตว์น้ำก่อนจะถูกขับออกมาทางปัสสาวะหรืออุจจาระลงสู่แหล่งน้ำหรือดินต่อไป การคงอยู่ของยาปฏิชีวนะในตะกอนพื้นบ่อและค่าครึ่งชีวิตของยาขึ้นอยู่กับ อัตราการตกตะกอนของสารแขวนลอยที่อยู่ในบ่อ

Lunestad และ Goksoyr (1990) ได้ศึกษาถึงปฏิกิริยาของ OTC ในน้ำทะเลที่มีระดับความเค็ม 35 ส่วนในล้านส่วน และมี Ca^{2+}10 มิลลิโมล และ Mg^{2+}54 มิลลิโมล เป็นองค์ประกอบหลัก พบว่า OTC มีคุณสมบัติที่รวมตัวได้เป็นอย่างดีกับ cations ของแคลเซี่ยมและแมกนีเซี่ยม โดยที่มี OTC เพียง 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ที่อยู่ในรูปอิสระส่วนที่เหลืออยู่ในรูปของสารประกอบ OTC กับแคลเซี่ยม หรือ OTC กับแมกนีเซี่ยม ถึงแม้ว่าข้อมูลเกี่ยวกับกลไกการย่อยสลายของสารประกอบนี้ยังไม่เด่นชัด และมีไม่เพียงพอ แต่ก็ได้ตั้งข้อสังเกตว่าหากกลไกเป็นไปอย่างช้าๆ สารประกอบดังกล่าวที่ตกอยู่ที่พื้นดินเป็นเวลานานอาจจะมีผลกระทบต่อแบคทีเรียที่มีอยู่ในดิน และทำให้เกิดการพัฒนาสายพันธุ์ที่ดื้อยาได้

Bjorklund และคณะ (1990) ได้ศึกษาการตกค้างของ OTC ในตะกอนดินจากฟาร์มเลี้ยงปลา rainbow trout และปลา salmon พบว่าตะกอนดินจากฟาร์มเลี้ยงปลา rainbow trout มีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 9 วัน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 6.4 สำหรับฟาร์มเลี้ยงปลา salmon พบว่ามีค่าครึ่งชีวิต ถึง 419 วัน ทั้งๆที่สภาพของฟาร์มใกล้เคียงกัน เพียงแต่ฟาร์มเลี้ยงปลา rainbow trout มีการระบายน้ำมากกว่าเท่านั้น สรุปได้ว่า OTC ในสภาพอุณหภูมิต่ำ และไม่มีอากาศจะตกค้างในฟาร์มได้นาน

Jacobson และ Berglind (1988) ก็ได้ศึกษาการสลายตัวของ OTC ในตะกอนดินโดยใส่อาหารผสม OTC ที่มีระดับความเข้มข้น เท่ากับ 7.5-10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ลงในตะกอนดิน แล้วตรวจสอบปริมาณของ OTC ในตะกอนดิน พบว่า ปริมาณของ OTC มีความแตกต่างอยู่ในช่วง 0.1-4.9 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมของตะกอนดินแห้ง และการสลายตัวของ OTC ขึ้นอยู่กับสภาพทางเคมีในตะกอนดิน โดยสามารถประมาณค่าครึ่งชีวิตการสลายตัวของ OTC ได้เท่ากับ 10 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ในสภาพที่ไม่มีอากาศ