รายงานทางเทคนิค

การเปรียบเทียบผลตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างหลังการหยุดยา อ็อกซี่เตตร้าซัยคลิน ซัลฟาเม็ททอกซาโซล ซัลฟาเม็ททอกซาโซล+ ทรัยเม็ทโทปริม และเอ็นโรฟล็อกซาซินในกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) โดยวิธีไมโครเบียล อินฮิบิชั่น ดิสค์ แอสเสย์และชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้าง "แซมเทสท์"

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ[1] สุรศักดิ์ ดิลกเกียรติ[2] ส่งศักดิ์ ศรีสง่า[3] และ นภาพร เลิศวรปรีชา[3]

Abstract

Chalermchaikit, T.[1], Dilokkiat, S.[2], Srisagha, S.[3] and Lertworapreecha, N.[3]

Residues of Oxytetracycline, Sulfamethoxazole, Sulfamethoxazole+Trimethoprim and Enrofloxacin after withdrawal time in white shrimp (*Penaeus vannamei*) detected by Microbial Inhibition Disc Assay versus Screening Test Kit "SAM-Test"

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(Suppl. 1) : 283-290

Medicated feed had been given to white shrimp (*Penaeus vannamei*) for 7 days. Shrimp samples, collected at day-1 to day-7 after withdrawal time, were tested for antimicrobial residues by microbial inhibi-

[1]Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, [2]"Thai people-Thai shrimp" Network Project, Karnjanavithi Rd., Maung District, Suratthani 84000, [3]Center for Antimicrobial Resistance Monitoring of Foodborne Pathogens (in collaboration with WHO), Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

[1]Ph.D. (Veterinary Medicine) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา [3]วท.บ. (ชีววิทยาประยุกต์) นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์ติดตามการดื้อยาฯ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 [2]สพ.บ. ผู้ประสานงานโครงการเครือข่าย "คนไทย-กุ้งไทย" ชมรมผู้เลี้ยงกุ้งจังหวัดสุราษฎร์ธานี 33/31-32 ถนนกาญจนวิถี ตำบลบางกุ้ง อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84000

Corresponding e-mail: thongchai.c@chula.ac.th

รับต้นฉบับ 14 มกราคม 2548 รับลงพิมพ์ 30 พฤษภาคม 2548

tion disk assay (MIDA) and "SAM-Test". The results from "SAM-Test" indicated much higher numbers of positive (antimicrobial detectable) samples than MIDA. Percentages of positive samples from oxytetracycline, sulfamethoxazole+trimethoprim and enrofloxacin treatment groups were decreased on day-3 or day-4 after drug withdrawal but increased on day-5 or day-6. In one of shrimp samples from sulfamethoxazole treatment groups, residues could not be detected on day-4 to day-6 after drug withdrawal but they were detectable again on day-7. These phenomena might indicate that eating behavior of shrimp had retaken antimicrobial residues that were bound on their faeces. Therefore, it is impractical to determine the antibiotic withdrawal period in white shrimp by using withdrawal time of other aquatic animals. Further data of pharmacokinetics is critically important for determining the withdrawal time of antibiotic use in white shrimp farming.

Key words: *Paneus vanamei*, antimicrobial residue, microbial assay, SAM-Test

บทคัดย่อ

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ สุรศักดิ์ ดิลกเกียรติ ส่งศักดิ์ ศรีสง่า และ นภาพร เลิศวรปรีชา

การเปรียบเทียบผลตรวจยาปฏิชีวนะตกค้างหลังการหยุดยาอ็อกซี่เตตร้าซัยคลิน ซัลฟาเม็ทท็อกซาโซล ซัลฟาเม็ทท็อกซาโซล+ทรัยเม็ทโทปริม และเอ็นโรฟล็อกซาซิน ในกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) โดยวิธีไมโครเบียล อินฮิบิชั่น ดิสค์ แอสเสย์และชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้าง "แซมเทสท์"

ว.สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(ฉบับพิเศษ 1) : 283-290

การทดลองให้ยาปฏิชีวนะแก่กุ้งขาว นาน 7 วันโดยผสมในอาหาร แล้วทำการตรวจหายาปฏิชีวนะตกค้างในวันที่ 1 ถึงวันที่ 7 หลังจากหยุดให้ยา พบว่าการตรวจสอบหายาตกค้างด้วยวิธีไมโครเบียล อินฮิบิชั่น ดิสค์ แอสเสย์ พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกน้อยมาก แต่การตรวจด้วยชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้าง "แซมเทสท์" พบว่าตัวอย่างกุ้งที่ตรวจพบยาตกค้างในกลุ่มที่ได้รับยาอ็อกซี่เตตร้าซัยคลิน ซัลฟาเม็ทท็อกซาโซล+ทรัยเม็ทโทปริม และเอ็นโรฟล็อกซาซิน ลดลงในวันที่ 3 หรือวันที่ 4 หลังจากหยุดให้ยา แต่กลับเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 5 หรือวันที่ 6 หลังจากหยุดให้ยา สำหรับกุ้งขาวกลุ่มที่ได้รับยาซัลฟาเม็ทท็อกซาโซลพบว่าตัวอย่างกุ้งที่ตรวจพบยาตกค้างหมดไปในวันที่ 4-6 หลังจากหยุดให้ยา แต่กลับตรวจพบอีกในวันที่ 7 หลังจากหยุดให้ยา ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้น่าจะมีสาเหตุจากการที่กุ้งขาวมีพฤติกรรมกินสิ่งขับถ่ายของกุ้งเองซึ่งยังอาจมียาตกค้างสะสมอยู่ ดังนั้น ในเบื้องต้นนี้การกำหนดระยะหยุดยาเพื่อให้กุ้งขาวปลอดยาปฏิชีวนะก่อนจับเพื่อจำหน่ายจึงไม่ควรใช้มาตรฐานระยะหยุดยาของสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ และควรมีการศึกษาในด้านเภสัชจลนศาสตร์เพิ่มเติมก่อนที่จะกำหนดระยะหยุดยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงกุ้งขาว

การป้องกันและแก้ไขปัญหายาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์เป็นความสนใจและความตระหนักร่วมของหน่วยงานรัฐและเอกชนที่เกี่ยวข้องกับการคุ้มครองผู้บริโภค รวมทั้งอุตสาหกรรมปศุสัตว์เพื่อการส่งออก เนื่องจากยาปฏิชีวนะตกค้างอาจมีผลข้างเคียงต่อผู้บริโภคและเป็นข้อกีดกันการรับซื้อเนื้อและผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์ของประเทศผู้นำเข้าอาหาร จากข้อมูลรายงานการเฝ้าระวังยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำของกรมประมงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 จนถึงปี พ.ศ. 2543 บ่งบอกว่าสถานภาพการตกค้างของยา ดูเหมือนไม่สามารถแก้ไขให้หมดไปได้โดยง่ายโดยปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกุ้งกุลาดำน่าจะเกิดจากระยะเวลาในการหยุดให้ยา (withdrawal time) ไม่เพียงพอก่อนการจับเพื่อจำหน่าย ซึ่งมีการศึกษาวิจัยในเรื่องดังกล่าวนี้พอสมควร เช่น การให้ยาซัลฟาโมโนเม็ทท็อกซีน 5 กรัม/อาหาร 1 กก. ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะตรวจไม่พบยาตกค้างในเนื้อกุ้งหลังการหยุดยา 7 วัน (อุษณีย์และสิทธิ, 2535) แต่การให้ยาออกซี่เตตร้าซัยคลิน 5 กรัม/อาหาร

1 กก. นาน 7 วัน ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่าปริมาณยาตกค้างจะลดลงอย่างรวดเร็วจาก 19 PPM เหลือ 2 PPM ในวันที่ 7 หลังจากหยุดยา และไม่สามารถตรวจพบในวันที่ 14 และ 17 หลังจากหยุดยาในการทดลองในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ ตามลำดับ (Onkong *et al*., 2000) เป็นต้น ทั้งนี้ ในระยะเวลา 3 ปีที่ผ่านมา อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาว (*Peneaus vannamei*) ในประเทศไทยได้ขยายตัวอย่างรวดเร็วมาก แต่ยังไม่มีข้อมูลทางวิชาการในเรื่องระยะเวลาหยุดยาที่เหมาะสมหากมีการใช้ยาปฏิชีวนะในกุ้งชนิดนี้ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นสำหรับเป็นแนวทางในการกำหนดระยะเวลาหยุดยาที่เหมาะสมเพื่อป้องกันปัญหายาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งขาวโดยใช้วิธี microbial inhibition disk assay และชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้าง "SAM-Test"

อุปกรณ์และวิธีการ

1. กุ้งขาว (*Penaeus vanamei*)

ทำการแบ่งกุ้งขาวขนาด 12 กรัมต่อตัวออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 100 ตัว และเลี้ยงแยกในอ่างปูนซีเมนต์ขนาด 4 x 4.5 x 1 เมตร โดยให้มีความหนาแน่นของกุ้งประมาณ 20 ตัว/น้ำ 1 ลบ.เมตร และอุณหภูมิของน้ำในบ่อซีเมนต์ประมาณ 28-30°C ทำการเปิดเครื่องให้ฟองอากาศตลอดระยะเวลาในการทดลอง ให้กุ้งกินอาหารเม็ดสำเร็จรูปซึ่งปลอดยาปฏิชีวนะวันละ 4 มื้อ นาน 14 วัน หลังจากที่กุ้งคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมจึงเริ่มการทดลองให้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารกุ้ง

2. การให้ยาปฏิชีวนะกุ้ง

ทำการให้ยาปฏิชีวนะแก่กุ้งโดยให้แต่ละกลุ่มการทดลองกินอาหารดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ให้ยา oxytetracycline ผสมในอาหารในขนาด 50 มก./นน.กุ้ง 1 กก.

กลุ่มที่ 2 ให้ยา sulfamethoxazole ผสมในอาหารในขนาด 50 มก./นน.กุ้ง 1 กก./วัน

กลุ่มที่ 3 ให้ยา sulfamethoxazole+trimethoprim ผสมในอาหารในขนาด 50 มก./นน.กุ้ง 1 กก./วัน

กลุ่มที่ 4 ให้ยา enrofloxacin ผสมในอาหารในขนาด 50 มก./นน.กุ้ง 1 กก./วัน

กลุ่มที่ 5 กลุ่มควบคุม (negative control) ให้อาหารปลอดยาปฏิชีวนะ

การเตรียมอาหารผสมยาปฏิชีวนะโดยใช้ยาในรูปสารละลายฉีดพ่นลงบนอาหารเม็ดสำเร็จรูปแล้วเคลือบด้วยน้ำมันปลาหมึกและสารเลซิทิน (lecithin) ปริมาณของยาปฏิชีวนะที่ผสมในอาหารทำการคำนวณจากการกินอาหารของกุ้งคือ ประมาณ 3% ของน้ำหนักตัวกุ้งต่อวัน โดยแบ่งอาหารให้ 4 มื้อ/วัน

3. การเก็บตัวอย่างกุ้ง

เมื่อให้อาหารผสมยาปฏิชีวนะแก่กุ้งครบ 7 วัน ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งจากแต่ละกลุ่มๆ ละ 10 ตัว โดยให้เป็นตัวอย่างของกุ้งในวันที่ 0 (Day 0) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างกุ้งจากแต่ละกลุ่มๆ ละ 10 ตัว ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 7 หลังจากหยุดให้อาหารผสมยาปฏิชีวนะและให้อาหารซึ่งปลอดยาปฏิชีวนะ โดยให้เป็นตัวอย่างของกุ้งในวันที่ 1 ถึงวันที่ 7 (Day 1-Day 7) ทำการเก็บรักษาตัวอย่างกุ้งที่อุณหภูมิ -20°C โดยแยกแต่ละกลุ่มและวันที่เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติคที่ปิดสนิท

4. การตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้ง

ตัวอย่างกุ้งจากแต่ละกลุ่มทดลอง (Day 0 ถึง Day 7) จะถูกสุ่มแยกเป็น 2 กลุ่มย่อย กลุ่มละ 5 ตัวซึ่งรวมเป็น 1 ตัวอย่างเพื่อใช้ในการตรวจหายาปฏิชีวนะตกค้างโดยวิธีการดังต่อไปนี้

4.1 วิธี Microbial Inhibition disk assay (MIDA)

ทำการสกัดยาปฏิชีวนะด้วยการตีปั่นตัวอย่างเนื้อกุ้ง 5 กรัม (โดยเอาส่วนหัวและเปลือกกุ้งออก) กับ citric acid-acetone buffer 20 มล. ในหลอดทดลองขนาด 30 มล. ด้วยเครื่องตีปั่นชิ้นเนื้อ (Polytron^R PT-MR 3100, Swisszerland) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 15 นาที เก็บส่วนลอยด้านบน (supernatant) แล้วใช้แผ่นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. (Whatman^R Grade AA Discs, England) ซับน้ำส่วนลอย วางลงบนจานเพาะเชื้อ *Micrococcus luteus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ antibiotic medium 5

(AM 5), *Bacillus subtilis* ใน AM 5, *Bacillus subtilis* ใน AM 5+trimethoprim (0.075 µg/mL) และ *Bacillus mycoides* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ AM 8 (AM 5 และ AM 8 เป็นของบริษัท Difco Laboratories, USA) หลังจากอบจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการอ่านผลโดยตัวอย่างที่ไม่มีการแบ่งตัวของเชื้อรอบกระดาษกรองเกิน 1 มม. แสดงว่ามียาปฏิชีวนะตกค้าง (กนกพรรณ, 2536; Kataoka *et al*., 1993)

ตัวอย่างเนื้อกุ้งที่ทำการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างด้วยวิธี MIDA จะทำการตรวจเพียง 1 ซ้ำต่อตัวอย่าง

4.2 การใช้ชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะ "SAM-Test"

ชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะ "SAM-Test" เป็นชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นในห้องปฏิบัติการของผู้วิจัยโดยอาศัยหลักการยับยั้งการแบ่งตัวแบคทีเรีย *Geobacillus stearothermophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสาร bromocresol purple เป็นตัวบ่งบอกว่ามีการสร้างกรด (สิ่งขับถ่ายจากแบคทีเรีย) ดังนั้น ถ้ามีการแบ่งตัวของ *G. stearothermophilus* ในหลอดทดสอบ "SAM-Test" ก็จะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลืองแสดงว่าตัวอย่างที่ตรวจไม่มียาปฏิชีวนะหรือมีในปริมาณที่ไม่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของแบคทีเรีย วิธีการใช้ชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะ "SAM-Test" มีดังนี้

ทำการคั้นน้ำเนื้อจากตัวอย่างเนื้อกุ้ง 10-15 กรัม (เอาส่วนหัวออก) โดยห่อด้วยผ้าขาวบางแล้วบีบด้วยที่บดกระเทียม (garlic cruncher) ให้ได้น้ำเนื้อประมาณ 0.1-0.2 มล. จากนั้นใช้แผ่นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. (Whatman^{R} Grade AA Discs, England) ซับน้ำเนื้อแล้ววางลงในหลอดชุดตรวจสอบ "SAM-Test" โดยให้แผ่นกระดาษกรองสัมผัสกับผิวบนของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดชุดตรวจสอบ ทำการอ่านผลหลังจากอบเพาะหลอดชุดตรวจสอบที่อุณหภูมิ 65±1°C เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดชุดตรวจสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่าตัวอย่างเนื้อกุ้งไม่มียาจุลชีพตกค้าง แต่ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดชุดตรวจสอบยังคงเป็นสีม่วง แสดงว่าตัวอย่างเนื้อกุ้งมียาปฏิชีวนะตกค้าง

ตัวอย่างเนื้อกุ้งที่ทำการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างโดยใช้ชุดตรวจสอบ "SAM-Test" จะทำการตรวจ 5 ซ้ำ (ใช้ชุดตรวจสอบ "SAM-Test" 5 หลอด)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในตัวอย่างกุ้งจากกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะด้วยวิธี MIDA พบว่าเกือบทุกตัวอย่างให้ผลลบคือ ตรวจไม่พบยาตกค้างยกเว้นกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับยาอ็อกซี่เตร้าซัยคลินหลังจากหยุดยาในวันที่ 2 วันที่ 6 และวันที่ 7 รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างกุ้งที่ได้รับเอ็นโรฟล็อกซาซินหลังจากหยุดยาหนึ่งวัน ส่วนการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างด้วยชุดตรวจสอบ "SAM-Test" พบว่าให้ผลบวกมากกว่าโดยตัวอย่างกุ้งในวันที่ให้ยาวันสุดท้ายสามารถตรวจพบยาปฏิชีวนะในทุกตัวอย่าง และยังให้ผลบวกในเกือบทุกตัวอย่างหลังจากหยุดให้ยาตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 7โดยกลุ่มตัวอย่างกุ้งซึ่งได้รับยาอ็อกซี่เตตร้าซัยคลิน ซัลฟาเม็ทท็อกซาโซล+ทรัยเม็ทโทปริม และเอ็นโรฟล็อกซาซินจะมีรูปแบบการตรวจพบยาตกค้างคล้ายคลึงกันคือ เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างที่ตรวจพบยาลดลงในวันที่ 3 หรือวันที่ 4 หลังจากหยุดยา และกลับตรวจพบเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 หรือวันที่ 6 หลังจากหยุดยา ส่วนกลุ่มกุ้งที่ได้รับยาซัลฟาเม็ทท็อกซาโซลพบว่าในวันที่ 1 หลังจากหยุดยาจะตรวจพบตัวอย่างที่มียาตกค้างเพียง 40% และตรวจไม่พบเลยในวันที่ 3-5 หลังจากหยุดยา แต่กลับตรวจพบอีก 20% ในวันที่ 7 หลังจากหยุดยา (Figure 1-4)

การศึกษานี้พบว่าวิธี MIDA สามารถตรวจสอบพบยาปฏิชีวนะตกค้างจากตัวอย่างกุ้งได้น้อยกว่าการใช้ชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้าง "SAM-Test" ซึ่งก่อนหน้านี้ ในปี พ.ศ.2546 ศูนย์ติดตามการดื้อยาฯ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้ทำการเฝ้าระวังยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานครโดยใช้วิธี MIDA เปรียบเทียบกับชุดตรวจสอบ "SAM-Test" พบว่าชุดตรวจสอบ "SAM-Test" สามารถตรวจพบตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่มียาปฏิชีวนะตกค้างถึง 41.4 % (82 จาก 198 ตัวอย่าง) ในขณะที่วิธีการ MIDA ตรวจไม่พบ ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถของชุดตรวจสอบ "SAM-Test" ในการตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้าง (detection limits) ในเนื้อกุ้งต่อยาอ็อกซี่เตร้าซัยคลิน ยากลุ่มซัลโฟนามีดส์ ทรัยเม็ทโทปริม และเอ็นโรฟล็อกซาซินดีกว่าวิธี MIDA (Table 1)

สำหรับผลการตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างใน

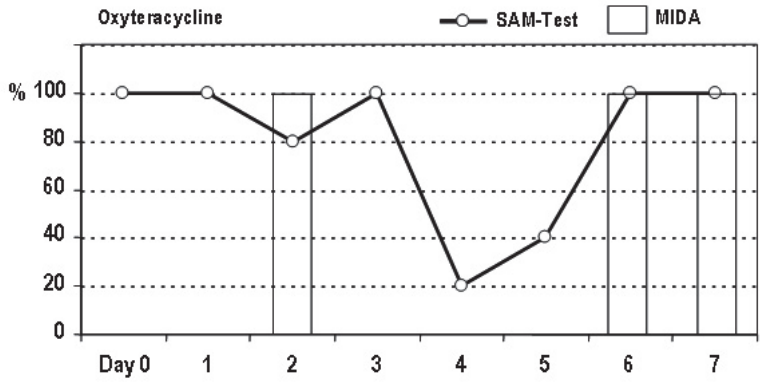

Figure 1. Results of oxytetracycline residue detection in shrimp samples from Day-0 to Day-7 after withdrawal period by "SAM-Test" and microbial inhibition disc assay (MIDA).

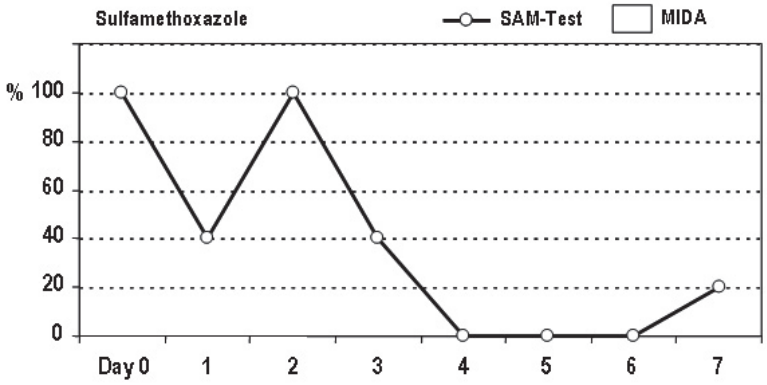

Figure 2. Results of sulfamethoxazole residue detection in shrimp samples from Day-0 to Day-7 after withdrawal period by "SAM-Test". Microbial inhibition disc assay (MIDA) gave negative results in all samples.

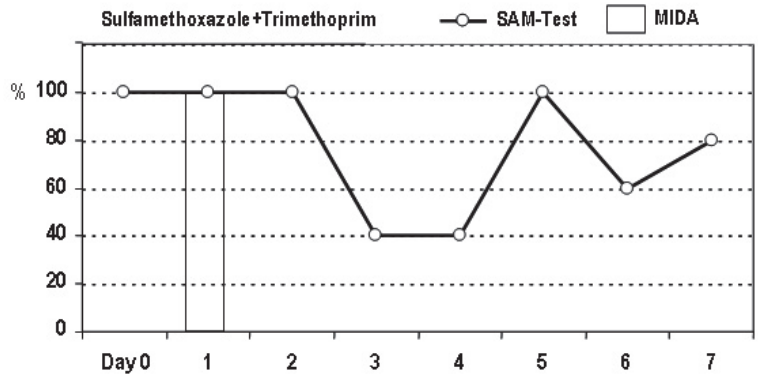

Figure 3. Results of sulfamethoxazole+trimethoprim residue detection in shrimp samples from Day-0 to Day-7 after withdrawal period by "SAM-Test" and microbial inhibition disc assay (MIDA).

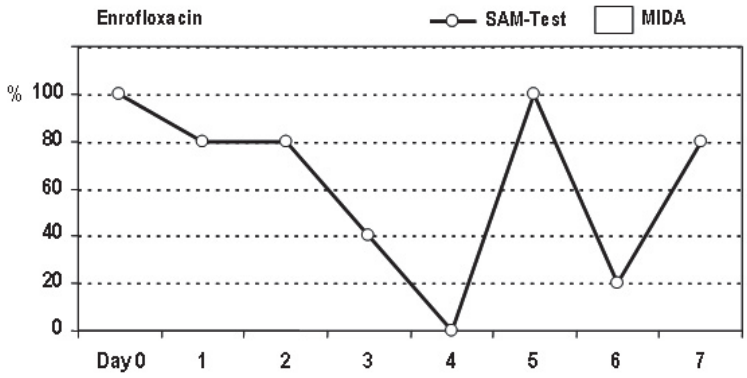

Figure 4. Results of enrofloxacin residue detection in shrimp samples from Day-0 to Day-7 after withdrawal period by "SAM-Test". Microbial inhibition disc assay (MIDA) gave negative results in all samples.

ตัวอย่างกุ้งด้วยชุดตรวจสอบ "SAM-Test" ซึ่งพบว่าให้ผลบวกเป็นจำนวนมากกว่า รวมทั้งทุกกลุ่มตัวอย่างมีรูปแบบการตรวจพบตัวอย่างที่มียาตกค้างลดลงในวันที่ 3 หรือวันที่ 4 หลังจากการหยุดยา แต่กลับพบตัวอย่างที่มียาตกค้างเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 5 หลังจากการหยุดยา ยกเว้นกุ้งในกลุ่มที่ได้รับยาซัลฟาเม็ทท็อกซาโซลที่ตรวจไม่พบยาตกค้างในวันที่ 4-6 หลังจากการหยุดยา แต่กลับพบตัวอย่างที่มียาตกค้างอีกในวันที่ 7 หลังจากการหยุดยา ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้ไม่ใช่เป็นผลบวกเท็จ (false positive) เนื่องจากชุดตรวจสอบ "SAM-Test" ใช้หลักการยับยั้งการแบ่งตัวของแบคทีเรีย *Geobacillus stearothermophilus* ในหลอดชุดตรวจสอบซึ่งเป็นหลักการที่ใช้ในชุดตรวจสอบยาตกค้างในน้ำนมและมีการใช้แพร่หลาย เช่น Delvotest^{R}-SP (DSM Food Specialties, The netherlands) และ Charm Farm Test (Penicillin Assays, Inc., USA.), AM-test^{TM} (คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) นอกจากนี้ ตัวอย่างกุ้งจากกลุ่มที่ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ (negative control) ก็ไม่พบว่าให้ผลบวกเท็จทุกตัวอย่าง รวมทั้งยังมีงานวิจัยทดสอบความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อ " CM-Test^{TM} " (คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) ซึ่งใช้หลักการเดียวกันและพบว่าในการตรวจเนื้อไก่และซีรั่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะอาจให้ผลลบเท็จได้ 13 และ 7% ตามลำดับ แต่ในไก่ที่ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะชุดตรวจสอบจะให้ผลลบ 100% ส่วนผลการทดสอบกับซีรั่มและปัสสาวะสุกรพบว่าจะให้ผลบวกจริง 100% แต่อาจให้ผลบวกเท็จในตัวอย่างซีรั่มสุกร 6.7% (ธงชัยและคณะ, 2545; Chalermchaikit *et al.*, 2003) ดังนั้นปรากฏการณ์การตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้างในตัวอย่างกุ้งตลอด 7 วันหลังจากการหยุดยา ผู้วิจัยได้สังเกตพบว่าน่าจะเกิดจากพฤติกรรมการกินของกุ้งขาวที่กินสิ่งขับถ่ายบนพื้นบ่อเลี้ยงซึ่งน่าจะมียาปฏิชีวนะตกค้างสะสมอยู่จึงอาจจะเป็นสาเหตุทำให้ยาปฏิชีวนะสามารถกลับเข้าสู่ตัวกุ้งขาวได้แม้จะหยุดให้ยาปฏิชีวนะแล้วก็ตาม พฤติกรรมของกุ้งขาวดังกล่าวจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะต้องตระหนักในการใช้ยาปฏิชีวนะและอาจจะต้องมีระยะเวลาหยุดยาที่ยาวนานกว่าปกติโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเลี้ยงในบ่อดินเนื่องจาก มีการศึกษาเรื่องการสะสมของยาปฏิชีวนะในตะกอนดินพื้นบ่อกุ้งก่อนหน้านี้แล้วเช่น การศึกษาของโสภณและธนาวุฒิ (2539) พบยาปฏิชีวนะตกค้างในกุ้ง

Table 1. Detction limits of "SAM-Test" and Microbial Inhibition Disk Assay (MIDA) on antibiotic residue detection of fortified shrimp samples

Antibiotics	Detection limits (PPM)	
	SAM-Test	MIDA
Oxytetracycline	0.4 PPM	3.0 PPM
Sulfathiazole	0.15 PPM	9.0 PPM
Gentamicin	0.5 PPM	6.0 PPM
Norfloxacin	9.0 PPM	9.0 PPM

กุลาดำ 12.2% (15/123 ตัวอย่าง) แต่ตรวจพบในตะกอนดินพื้นบ่อ 16.3% (20/123 ตัวอย่าง) ซึ่งต่อมาโสภณ (2545) พบว่าค่าครึ่งชีวิต (half-life) ในการสลายตัวของออกซี่เตตราซัยคลินในน้ำเท่ากับ 1.9±0.6 วัน แต่การสลายตัวในตะกอนดินจะนานถึง 13.6±1.9 วัน หรือการศึกษาของสุทธินีและคมน์ (2538) พบว่าการตกค้างของยาในตัวอย่างดินก้นบ่อ 58.3% และ 30.3% ในปี พ.ศ. 2536 และ 2537 ตามลำดับ รวมทั้งการศึกษาของพิชญาและคณะ (2543) ที่พบว่าบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีอายุ 1-2, 3-4, 5-6, และ 7 ปีขึ้นไป ตรวจพบยาตกค้างในตัวอย่างตะกอนดินก้นบ่อ 52.5, 32.5, 27.5 และ 45% ตามลำดับ

สรุป

จากการศึกษาของงานวิจัยนี้สังเกตุพบว่ากุ้งขาวมีพฤติกรรมกินสิ่งขับถ่ายและ/หรือตะกอนที่พื้นบ่อเลี้ยง ดังนั้นการกำหนดระยะหยุดยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมเพื่อให้กุ้งขาวปลอดยาก่อนจับเพื่อจำหน่ายจึงไม่ควรใช้มาตรฐานของระยะหยุดยาที่กำหนดในสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เนื่องจากอาจต้องใช้ระยะเวลานานกว่าปกติ ทั้งนี้ ควรได้มีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวรวมทั้งเภสัชจลนศาสตร์ของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในกุ้งขาวที่ขับออกมากับสิ่งขับถ่ายเพื่อกำหนดระยะเวลาที่เหมาะสมต่อไป อย่างไรก็ดีข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการสนับสนุนมาตรการการจัดการฟาร์มที่ดีเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาว

เอกสารอ้างอิง

กนกพรรณ ศรีมโนภาษ. 2536. การตรวจวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะตกค้าง (Oxytetracycline) โดยวิธีทางจุลชีววิทยาในกุ้งกุลาดำแช่เย็นเยือกแข็ง. รายงานประจำปี 2536 ฝ่ายตรวจรับรองคุณภาพผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำกรมประมง (รหัสทะเบียนวิจัยเลขที่ 41-14602-4214-225-012). 11 หน้า.

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ เกรียงศักดิ์ พูนสุข เกรียงศักดิ์ แดงพรหม มณฑล เลิศวรปรีชา และกิตติกร โชติสกุลรัตน์. 2545. “ประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อสัตว์ CM-Test” ว. วิทยาศาสตร์เกษตร 33(6): 376-379.

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ เกรียงศักดิ์ พูนสุข มณฑล เลิศวรปรีชา นภาพร เลิศวรปรีชา ส่งศักดิ์ ศรีสง่า นันทนา ศิริวัฒน์วสันต์ อำโพธิ์ และศักดิ์ชัย วงษาหมี. 2547. “SAM-Test” นวัตกรรมใหม่สำหรับการเฝ้าระวังยาตกค้างในกุ้ง. หนังสือพิมพ์กุ้งไทย ฉบับที่ 15 ปักษ์แรก กุมภาพันธ์ 2547. หน้า 24-25.

พิชญา ชัยนาค กัลยาณี นาเวศน์ และนงลักษณ์ สำราญราษฎร์. 2543. การตรวจสอบและติดตามยาปฏิชีวนะออกซี่-เตตราซัยคลินในดินตะกอนจากบ่อกุ้งกุลาดำจังหวัดพังงา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 46/2543 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งพังงา. 10 หน้า.

สุทธินี ลิ้มธรรมมหิศร และคมน์ ศิลปาจารย์. 2538. สารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งและดินจากบ่อกุ้งกุลาดำในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ปี พ.ศ. 2535-2537. เอกสารวิชาการฉบับที่ 16/2538 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 94 หน้า.

โสภณ อ่อนคง และธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง. 2539. การติดตามและตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้างในกุ้งกุลาดำและตะกอนดินจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในจังหวัดสตูล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 21/2539 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสตูล. 10 หน้า.

โสภณ อ่อนคง. 2545. อาหารผสมยาออกซิเตราซัยคลินกับการตกค้างของยาในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus-monodon* Fabricius). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร-มหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 95 หน้า.

อุษณีย์ เอกปณิธานพงศ์ และสิทธิ บุณยรัตผลิน. 2535. การศึกษาการแพร่กระจายและการตกค้างของยาซัลฟาโมโน-เมท็อกซีนโซเดียม ในกุ้งกุลาดำ. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2535 กรมประมง, 16-18 กันยายน 2535 ณ สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด บางเขน. หน้า 263-267.

Chalermchaikit, T., Lertworapreecha, M., Poonsook, K., Kantaprom, S., Lertworapreecha, N., Srisanga, S., and Jotisakulratana, K. 2003. “CM-Test” (Clean Meat-Test): The New Anti-microbial Residue Screening Test Kit in Meat. Proceedings of The 11th International Symposium of The World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians and OIE Seminar on Biotechnology, Bangkok, Thailand, 9-13 November 2003: O35.

Kataoka, J., Jinbo, K. and Itoh, T. 1993. Simplified Classification method for the Detection of Residual Antibacterial agents in meat and Fish by Microbiological Assay. Proceeding 11th International Symposium of The World Association of Veterinary Food Hygienists. Organized by The Thai Veterinary Medical Association under The Royal Patronage, Bangkok, Thailand, 24-29 October 1993: 457-460.

Onkong, S., Sermwatanakul, A. and Tantikitti, C. 2000. Residues of oxytetracycline in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) reared in cement tank and earthen pond. Songklanakarin J.Sci.Technol., 22 (Suppl.): 717–724.