การศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของยาฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Streptococcus agalactiae*

In Vitro Study on Efficacy of Disinfectants against *Streptococcus agalactiae*

อารินี ชัชวาลชลธีระ[1*], เรืองทอง กิจเจริญปัญญา[2], ธนาคาร นะศรี[3], ต้นตระกูล ไชยชนะ[4], นิพันธ์ รงคะกุลพิพัฒน์[5] และชนกนันท์ รัตนประทุมชัย[6]

Arinee Chatchawanchonteera[1*], Ruangtong Kitcharoenpunya[2], Tanakarn Nasri[3], Tontrakul Chaichana[4], Nipan Ronkhakulpipat[5] and Chanoknan Rattanapratumchai[6]

[1, 2, 3] ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

[1, 2, 3] Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

[4, 5, 6] คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

[4, 5, 6] Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

[*] **Corresponding author, E-mail:** arinee@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ ฟอร์มาลิน ด่างทับทิม และโพวีโดนไอโอดีน ต่อเชื้อก่อโรคในปลา *Streptococcus agalactiae* ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำและสามารถก่อโรคในคนและสัตว์หลายชนิด โดยการศึกษาผลของยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน โดยมีเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐาน จากผลการทดลองพบว่า ฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 0.1 % ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *S. agalactiae* ได้ แต่ความเข้มข้น 0.5% ฆ่าเชื้อได้ภายใน 1 ชม. ความเข้มข้น 1 % ฆ่าเชื้อได้ตั้งแต่ 15 นาที กรณีเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.1% ฆ่าเชื้อได้ภายใน 4ชม. ฟอร์มาลินความเข้มข้น 1% ฆ่าเชื้อได้ตั้งแต่ 15 นาที และเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.1% ฆ่าเชื้อได้ภายใน 2 ชม. ความเข้มข้น 0.5% ฆ่าเชื้อได้ตั้งแต่ 15 นาทีสำหรับด่างทับทิมเป็นยาฆ่าเชื้อที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. agalactiae* และ *E. coli* ATCC 25922 ตั้งแต่ความเข้มข้น 30 พีพีเอ็มภายในเวลา 15 นาที ยกเว้น *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งต้องใช้เวลานานขึ้นในการฆ่าเชื้อ และในกรณีโพวิโดนไอโอดีนเป็นยาฆ่าเชื้อที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. agalactiae*,

E. coli ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ตั้งแต่เวลา 15 นาที ทุกความเข้มข้น (0.01- 1 %) โดยสรุป ฟอร์มาลิน ด่างทับทิม และโพวิโดนไอโอดีนที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัส

เชื้อที่เหมาะสม สามารถใช้เป็นยาฆ่าเชื้อสำหรับเชื้อ *S. agalactiae* จากปลาป่วยรวมทั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923

คำสำคัญ: *Streptococcus agalactiae* ยาฆ่าเชื้อ โพวิโดน ไอโอดีน ฟอร์มาลิน ด่างทับทิม

Abstract

The objective of this study was to test the efficacy of three disinfectants: formalin, potassium permanganate and povidone iodine against pathogenic *Streptococcus agalactiae* isolated from fish in Thailand at different concentrations and exposure times. *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus ATCC* 25923 are also included as controls in the study. The results were as follow: 1) Formalin 0.1% could not kill *S. agalactiae* even though after 24 hrs exposure time, but could kill at concentration of 0.5% for 1 hour and higher concentrations at 15 minutes exposure time. For *S. aureus ATCC* 25923 and *E. coli* ATCC 25922, the results were quite similar to *S. agalactiae.* 2) Potassium permanganate 30 ppm. Could kill *S. agalactiae*, *E. coli* ATCC 25922 started at 15 minutes exposure time, except *S. aureus ATCC* 25923 which showed longer time to be killed; and 3) Povidone iodine every concentration from 0.01% up to 1% could kill *S. agalactiae*, *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus ATCC* 25923 within 15 minutes exposure time. In conclusion, formalin, potassium permanganate and povidone iodine, at appropriate concentration and exposure time could be used as antiseptic agents against *S. agalactiae* isolated from fish, and also *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus ATCC* 25923.

Keywords: *Streptococcus agalactiae*, Disinfectants, Povidone iodine, Formalin, Potassium permanganate

บทนำ

Streptococcus เป็นแบคทีเรียที่แบ่งกลุ่มตามคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ Alpha-hemolytic Streptococci, Beta-hemolytic Streptococci และ Non-hemolytic Streptococci สำหรับ *Streptococcus agalactiae* มักจะหมายถึง Group B Streptococcus (GBS) ซึ่งเป็นหนึ่งใน Beta-hemolytic streptococci เชื้อกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้สมบูรณ์ โดยจะเห็นวงใสรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงบน Blood agar จะใส

S. agalactiae, group B streptococcus (GBS) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ติดสี acid-fast ไม่เคลื่อนที่และไม่มีการสร้างสปอร์ ให้ผล oxidase-negative, catalase-negative(Rattanachaikunsopon et al., 2009) มีความสามารถก่อโรคได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำและปลา นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่อาศัยอยู่ในน้ำ ในโลมาปากขวดทั้งที่จับได้และในธรรมชาติ (Zappulli et al.,2005; Evans et al.,2006) GBS เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบในโคและกระบือ เป็นสาเหตุของเยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กแรกเกิด (Evans et al., 2009) และยังเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค Streptococcosis ในปลา (Abuselina et al., 2011) ซึ่งอุบัติการณ์ของโรคที่เกิดขึ้นในปลานั้นพบเชื้อ *Streptococcus* เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยเฉพาะ *S. agalactiae* เป็นเชื้อก่อโรคในปลาสามารถพบได้เป็นประจำในเขตร้อน (Pretto et al., 2010) ปลาที่ติดเชื้อ *S. Agalactiae* แสดงอาการว่ายน้ำผิดท่า ตาโปน (exophthalmos) และตายอย่างเฉียบพลัน ปลานิลที่ติดเชื้อส่วนมาก 71.8% จะมีอาการตาขาวขุ่น (corneal opacity) และตาโปน 41.2% มีจุดเลือดออกสีแดงบริเวณฐานครีบอกและครีบท้องซึ่งแสดงถึงการอักเสบแบบเฉียบพลัน อวัยวะภายในจะเกิดการคั่งเลือดและบวมโดย เฉพาะเหงือก ตับ ม้าม และไต สมองอาจนุ่มหรือมีการบวมน้ำ อัตราการตายประมาณ 58.6-83.4% (Zamri et al., 2010)

การระบาดของเชื้อ *S. agalactiae* ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำรวมถึงการปนเปื้อนมากับวัสดุอุกรณ์เครื่องใช้ภายในฟาร์มต่าง ๆ ซึ่งอาจทำให้เกิดความเสี่ยงในการแพร่เชื้อไปสู่ฟาร์มอื่น ๆ หรือแม้กระทั่งแพร่เชื้อมาสู่คนได้ เนื่องจากเชื้อนี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำ จึงได้มีการศึกษาถึงชนิด ความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของยาฆ่าเชื้อต่าง ๆ ในการฆ่าทำ ลายเชื้อ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการกำจัดเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค Streptococcosis หรืออาจนำมาประยุกต์ใช้ในการทำความสะอาดฆ่าเชื้อวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ ฟอร์มาลิน ด่างทับทิม และโพวีโดนไอโอดีนต่อเชื้อก่อโรคในปลา *Streptococcus agalactiae* โดยศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน โดยมีเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 เป็นเชื้อควบคุมมาตรฐาน

แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิด

ยาฆ่าเชื้อ (Disinfectants และ Antiseptics) คือสารเคมีที่ออกฤทธิ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัว เชื้อรา ไวรัส เป็นต้น ซึ่งโดยปกติแล้วยาฆ่าเชื้อหรือ Disinfectants จะไม่ใช้กับสิ่งมีชีวิตแต่จะใช้ในการฆ่าเชื้อวัสดุ อุปกรณ์ หรือเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ ทั้งนี้เพราะส่วนใหญ่ยาฆ่าเชื้อจะมีความเป็นพิษสูงต่อร่างกายถึงแม้จะใช้ในความเข้มข้นที่แนะนำ ส่วน

Antiseptics จะใช้กับสิ่งมีชีวิตได้ การใช้ยาฆ่าเชื้อมีความสำคัญในอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลา ฟอร์มาลิน (CH_2O) เป็น reducing agent นิยมใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโดยมีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียจากกลไกการจับกับโปรตีนและทำลาย นอกจากนี้มีผลต่อกรดนิวคลิอิกผ่านกลไก alkylation (Maris, 1995) ส่วนด่างทับทิม ($KMnO_4$) เป็นสารประกอบอนินทรีย์ เป็น oxidizing agent ช่วยทำให้น้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาสะอาดขึ้น แต่ระคายเคืองต่อตัวปลาน้อย มีฤทธิ์ในกลไกการขัดขวางขบวนการหายใจระดับอิเลคตรอนของจุลินทรีย์ (Maris, 1995) ยังช่วยละลายสารประกอบที่เป็นของเสียอินทรีย์ สามารถใช้ในการล้างแผลได้ และโพวิโดนไอโอดีน (PVP-I) เป็นยาฆ่าเชื้อที่ออกฤทธิ์กว้างสำหรับการรักษาแผลเฉพาะที่ ความสามารถในการฆ่าเชื้อเกิดจากกลไกการทำลายโปรตีนและกรดนิวคลิอิก มีรายงานผลการฆ่าเชื้อ *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas cepacia* และ*Streptococcus mitis* ได้อย่างรวดเร็ว (Rute et al., 1982) สำหรับเชื้อ *S. agalactiae* เป็นเชื้อก่อโรคในปลาที่สามารถพบได้เป็นประจำในเขตร้อนและก่อความเสียหายมากในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ ฟอร์มาลิน ด่างทับทิม และโพวีโดนไอโอดีน ต่อเชื้อ *S. agalactiae* ที่แยกได้จากปลาป่วยโดยศึกษาที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน โดยคาดหวังว่ายาฆ่าเชื้อเหล่านี้สามารถที่จะฆ่าเชื้อ *S. agalactiae* ในท้องที่ได้ผลเช่นเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น และทราบถึงวิธีใช้ยาให้ได้ผล ได้แก่ระยะเวลาสัมผัสเชื้อและความเข้มข้นยา ซึ่งผลการวิจัยสามารถนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในภาคปฏิบัติจริงในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. **อุปกรณ์และวิธีการ**

1.1 การแยกเชื้อแบคทีเรีย

ทำการเก็บตัวอย่างจากปลาป่วยโดยผ่าซากและเก็บตัวอย่าง นำมาเพาะเลี้ยงบน blood agar (BBL™) และ MacConkey agar แยกโคโลนี นำไปทดสอบคุณสมบัติโดยวิธี Conventional method โดยเชื้อ *S. agalactiae* มีลักษณะโคโลนีกลม ใส ให้ beta hemolysis , catalase-, oxidase-, Camp test +

1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

ทำการเก็บตัวอย่างจากปลาป่วยมาเพาะเลี้ยงและแยกเชื้อ *S. agalactiae* จากนั้นเตรียมเชื้อโดยเพาะเลี้ยงเชื้อ บน blood agar (BBL™) เป็นเวลา 24 ช.ม. จากนั้นเตรียมเชื้อเพื่อการทดสอบในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.07% phosphate buffer saline solution โดยเตรียมเชื้อให้มีความขุ่นเทียบเท่าสารละลายมาตราฐาน 0.5 McFarland (ปริมาณเชื้อ 10^8cfu/ml) เพื่อใช้เป็นเชื้อที่จะทำการทดสอบต่อไป สำหรับการเตรียมเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 เตรียมเช่นเดียวกันกับ *S. Agalactiae*

1.3 การเตรียมยาฆ่าเชื้อ

เตรียมฟอร์มาลิน 10% (J.T.Baker) ความเข้มข้น 0.1%, 0.5%, 1%, 3% และ 5% เตรียมด่างทับทิม (วิทยาศรม) ความเข้มข้น 30, 40, 50, 60 และ 70 พีพีเอ็ม และเตรียมโพวีโดนไอโอดีน 10% (เบต้าเมด โซลูชัน 10% w/v) ความเข้มข้น 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5% และ 1% โดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่น

2. วิธีการทดสอบ

การทดสอบอ้างอิงวิธีการของธีระพงศ์ และ ฎิลก [2551] โดยดูดน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 5 มล. ทั้งหมด 5 ความเข้มข้นและ 6 ระยะเวลาสัมผัสเชื้อสำหรับ แต่ละความเข้มข้นยาและต่อเชื้อแต่ละชนิด จากนั้นดูดเชื้อ *S. Agalactiae* 0.5 McFarland ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ปริมาตร 0.5 มล. เตรียมหลอดควบคุมผลบวกโดยใช้ น้ำกลั่นแทนยาฆ่าเชื้อผสมกับเชื้อตัวอย่าง หลอดควบคุมผลลบใช้น้ำกลั่น และ 0.07% phosphate buffer solution เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที 30 นาที 1, 2, 4 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ในแต่ละช่วงเวลา เก็บตัวอย่างสารละลายในหลอดทดลองปริมาตร 0.5 มล. มาทำการทดสอบโดยการเพาะเลี้ยงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลการเจริญของเชื้อ สำหรับการเตรียมเชื้อ *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 ทำเช่นเดียวกันกับ *S. agalactiae* แต่เพาะเลี้ยงบน Standard plate count agar ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน แล้วบันทึกผล

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิด ต่อเชื้อ *S. agalatiae* แสดงในตารางที่ 1 โดยพบว่า ฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 0.1% ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้หมดในทุกช่วงเวลาหลังจากสัมผัสเชื้อ ฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.5% สามารถฆ่าเชื้อได้หมด หลังจากสัมผัสเชื้อ 1 ชั่วโมง ฟอร์มาลินความเข้มข้น 1%, 3% และ 5% สามารถฆ่าเชื้อได้หมด หลังสัมผัสเชื้อ 15 นาที สำหรับด่างทับทิมสามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ (30- 70 พีพีเอ็ม) ที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที และ โพรวิโดนไอโอดีนสามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่ทุกความเข้มข้น (0.01- 1 %) ที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิด ต่อเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 พบว่า ฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.1 % สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 4 ชั่วโมง ฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 % สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที ด่างทับทิมความ

เข้มข้น 30, 40, 50, 60 และ 70 พีพีเอ็ม สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที และ โพวิโดนไอโอดีนความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 % สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิด ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923พบว่าฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.1 % สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 2 ชั่วโมง และฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 % สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที ส่วนด่างทับทิมทุกความเข้มข้น (30 – 70 พีพีเอ็ม) ต้องใช้เวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง และกรณีโพวิโดนไอโอดีนความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 % สามารถฆ่าเชื้อได้หมดที่เวลาในการสัมผัสเชื้อ 15 นาที

ตารางที่ 1 แสดงประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Streptococcus agalactiae*

ยาฆ่าเชื้อ	ความเข้มข้น	ระยะเวลา (ชั่วโมง)																	
		S. agalactiae						*E. coli* ATCC 25922						*S. aureus* ATCC 25923					
		1/4	1/2	1	2	4	24	1/4	1/2	1	2	4	24	1/4	1/2	1	2	4	24
Formalin (%)	0.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
	0.5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Potassium permanganate (ppm)	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Povidone iodine (%)	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : มีการเจริญของแบคทีเรีย

- : ไม่มีการเจริญของแบคทีเรีย

สรุปและอภิปรายผล

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิด ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อโรคในปลา ซึ่งได้แก่ ฟอร์มาลิน ด่างทับทิมและโพวีโดนไอโอดีน ต่อเชื้อต่าง ๆ *S. agalatiae, E. coli* ATCC 25922 และ *S. Aureus* ATCC 25923 โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการ ซึ่งควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า ฟอร์มาลินความเข้มข้นต่ำสุด 1% และโพรวีโดนไอโอดีน 0.01% สามารถฆ่าเชื้อ

S. agalatiae รวมทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้หมดหลังการสัมผัสเชื้อเพียงแค่ 15 นาที ส่วนด่างทับทิม 30 พีพีเอ็ม ฆ่าเชื้อ *S. agalatiae* และ *E. coli* ได้หมดหลังการสัมผัสเชื้อเพียงแค่ 15 นาที แต่ฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้หมดหลังการสัมผัสเชื้อ 1 ชั่วโมง

จากการทดลองนี้ด่างทับทิม 30 พีพีเอ็มสามารถฆ่าเชื้อ *S. agalatiae* ได้ตั้งแต่ 15 นาทีแรก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของน้ำยาฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ด่างทับทิมที่ความเข้มข้น 30 พีพีเอ็มสามารถฆ่าเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้เช่นกันในเวลา 1 ชั่วโมง [ธีระพงศ์ และ ฎิลก, 2551] แต่เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ Mycobacterium ด่างทับทิมไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ภายใน 36 ชั่วโมง [เต็มดวง และ ธรรมนูญ, 2529]

อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้ออาจเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อม ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของยาฆ่าเชื้ออาจขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของเชื้อ จำนวนเชื้อ [เต็มดวง และ ธรรมนูญ, 2529] สิ่งแวดล้อมและความทนทานของเชื้อ ปริมาณอินทรีย์สารที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำ ยกตัวอย่างเช่น ด่างทับทิมสามารถฆ่าเชื้อในน้ำได้ในสภาพที่น้ำสะอาด แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นเดียวกันนี้ในสภาพที่มีสารอินทรีย์เจือปนมาก เช่น ในบ่อน้ำใช้เลี้ยงปลา ด่างทับทิมที่ความเข้มข้นเดิมอาจไม่สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้ เป็นต้น นอกจากนี้การแช่อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ควรให้เหมาะสมกับยาฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ ไม่ควรแช่อุปกรณ์ในยาฆ่าเชื้อนานเกิน 24 ชั่วโมง เพราะน้ำยาฆ่าเชื้อจะเริ่มเสื่อมสลาย ในการทดลองครั้งนี้ได้ควบคุมสภาวะให้คงที่ แต่ในทางปฏิบัติน้ำยาฆ่าเชื้อเมื่อนำไปใช้ในการฆ่าเชื้ออุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ อุณหภูมิอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ เนื่องจากยาฆ่าเชื้อจะทำลายเชื้อได้ดีเมื่ออุณหภูมิสูงพอเหมาะ และต้องใช้เวลาในการทำลายเชื้อนานขึ้นถ้าอุณหภูมิลดลง ซึ่งอุณหภูมิของน้ำโดยทั่วไปเฉลี่ยที่ 25–28 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการประยุกต์ใช้ อาจจะต้องเพิ่มความเข้มข้นขึ้นหรือเพิ่มระยะเวลาในการฆ่าเชื้อให้นานขึ้น [ธีระพงศ์ โปธา และ ฎิลก วงศ์เสถียร 2551] นอกจากนี้ความทนทานต่อยาฆ่าเชื้อของเชื้ออ้างอิง และเชื้อที่แยกได้จากสัตว์ป่วยในธรรมชาติ ก็อาจมีความแตกต่างกัน ซึ่งควรมีการปรับให้เหมาะสมกับสถานการณ์ในการนำไปใช้

อย่างไรก็ดีผลจากการทดลองนี้ ยาฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิดสามารถฆ่าเชื้อ *S. agalactiae* จากปลาป่วยได้ และอาจเป็นแนวทางในการใช้ ฟอร์มาลิน ด่างทับทิมและโพรวิโดนไอโอดีน ในการฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันหรือเมื่อเกิดการระบาดของเชื้อ *S. agalactiae* ในการเลี้ยงปลาของเกษตรกร ทั้งนี้เพื่อจะได้นำผลไปประยุกต์ใช้อย่างเหมาะสมและเป็นประโยชน์ต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนาคาร นะศรี หัวหน้าภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการในการทดลอง และขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ธีระพงศ์ โปธา และ ฎิลก วงศ์เสถียร. (2551). *การศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของยาฆ่าเชื้อต่อเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟิลล่า*. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร, *6*(2), 145-151.

เต็มดวง สมศิริ และ ธรรมนูญ จตุรพาหุ. (2529). *ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อบางชนิดต่อเชื้อวัณโรคปลา*. สถาบันสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง, pp. 1-9.

Abuselina, A.F., Daud, H.M., Aziz, S.A., Bejo, S.K., & Alsaid, M. (2011). *Pathological of Streptococcus agalactiae isolated from a fish farm in Selangor to juvenile red Tilapia (Oreochromis sp.) Animal and Veterinary Advances*, *10*(7), 914-919.

Evans, J.J., Klesius, P.H., David, J., Pasnik, D.J., Bohnsack, J.F. (2012). *Human Streptococcus agalactiae isolated in Nile Tilapia* (*Oreochromis niloticus*). Emerging Infectious Diseases

[Internet]. 2009 [cited 2012 Oct 3]; 15(5). Available from: http:// www.cdc.gov/eid

Evans, J.J., Pasnik, D.J., Klesius, P.H., Ablani, S.A. (2006). *First report of Streptococcus agalactiae and Lactococcus garvieae from a wild bottlenose dolphin (Tursiops truncatys)*. The Journal of *Wildlife Diseases*, *42*(3), 561–569.

Maris, P. (1995). *Mode of action of disinfectants*. *Research in Veterinary Science (London),14*(1), 47-55.

Pretto, L.G., Müller, E.E., Cesar F.J., Gomes, S.V. (2010). *Evaluation on the Pathogenesis of Streptococcus agalactiae in Nile Tilapia* (*Oreochromis niloticus*). *The journal Brazilian Archives of Biology and Technology,53*(1), 87 - 92.

Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P. (2009). *Prophylactic effect of andrographis paniculata Extracts against Streptococcus agalactiae infection in Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*). The *Journal of Bioscience and Bioengineering,107*(5), 579–582.

Rute, L.B., Betty, W.H., Roger, L.A. (1982). Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *Journal of clinical microbiology*,1982, 635-639.

Zamri, S.M., Amal, M.A., Siti, Z.A., (2010). *Pathological changes in red Tilapias (Oreochromis spp.)naturally infected by Streptococcus agalactiae*. *The Journal*

of Comparative Pathology,*143*, 227-229.

Zappulli, V., Mazzariol S., Cavicchioli, L., Petterino, C., Bargelloni, L., Castagnaro, M. (2005).*Fatal Necrotizing fasciitis and myositis in a captive common bottlenose dolphin (Tursiops truncatus) associated with Streptococcus agalactiae.* The *Journal* of *Veterinary Diagnostic* Investigation*17*, 617–622.