

โรคติดเชื้อแบคทีเรียในกบนาและความไวต่อยาปฏิชีวนะ **Bacterial Infection in Common Lowland Frog (*Hoplobatrachus rugulosus*) and Antibiotic Susceptibility**

ปณรัตน์ ผาดี^{1*} และไกรจักร แก้วพรหม²

Panarat Phadee^{1*} and Kraijak Keawprom²

Received: June 30, 2019; Revised: October 1, 2019; Accepted: December 18, 2019

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคและแนวทางในการป้องกันรักษาโรคกบนา โดยทำการศึกษากบนา จำนวน 232 ตัว ที่ติดเชื้อแบคทีเรียในพื้นที่อำเภอนาคู จังหวัดมหาสารคาม ระหว่างเดือนสิงหาคม - พฤศจิกายน 2559 พบเชื้อแบคทีเรีย 8 สกุล สกุลที่พบมากที่สุด คือ *Aeromonas* spp. รองลงมาคือ *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. และ *Serratia* spp. ตามลำดับผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากบ่อเลี้ยงกบ พบว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ ค่าความกระด้าง และค่าความเป็นด่างอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกบ ส่วนปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าแอมโมเนียรวม และค่าไนไตรต์มีค่าอยู่ในช่วงที่อาจเป็นอันตรายต่อกบ ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียชนิดเด่น 2 สกุล คือ *Aeromonas* และ *Staphylococcus* พบว่าสามารถทำให้กบทั้ง 3 ระยะเกิดโรคได้ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 cfu/mL โดยพบอัตราการป่วยที่ 40.00 - 76.67 % และอัตราการตายที่ 26.67 - 60.00 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10^6 และ 10^7 cfu/mL จะมีผลทำให้อัตราการป่วยและตายสูงขึ้น โดยพบว่าเชื้อ *Aeromonas* spp. จะทำให้กบทั้ง 3 ระยะ คือ ลูกอ๊อด ลูกกบ และกบเนื้อแสดงอาการติดเชื้อ อัตราการป่วยและตายสูงกว่า *Staphylococcus* spp. ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกบป่วยสกุล *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Rhodococcus* spp. และ *Serratia* spp. จำนวน 30 สายพันธุ์ต่อยาปฏิชีวนะ 20 ชนิด พบว่ายาปฏิชีวนะที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด คือ

¹ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

¹ Faculty of Technology, Mahasarakham University

² Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University

* Corresponding Author E - mail Address: panaratana@hotmail.com

Oxytetracycline รองลงมาคือ Norfloxacin, Tetracycline, Enrofloxacin และ Gentamycin ตามลำดับ ส่วนยาที่ให้ผลในการดื้อยามากที่สุด คือ Ampicillin, Penicillin G, Sulphamethoxazole, Nitrofurantoin และ Amoxycillin ตามลำดับ

คำสำคัญ : โรคกบ; โรคติดเชื้อแบคทีเรีย; คุณภาพน้ำ; ความสามารถในการก่อโรค; ความไวต่อยาปฏิชีวนะ

Abstract

This study aimed to investigate the distribution of pathogenic bacteria in 232 common lowland frog diseases, some factors affecting the disease and guidelines for bacterial disease prevention and treatment of frog in Nadoon District, Maha Sarakham Province, during August to November, 2016. Totally 8 genera including *Aeromonas* spp., the most dominantly, followed by *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* and *Serratia* spp., respectively. Water quality analysis showed pH, temperature, hardness and alkalinity were suitable for frogs, but the low dissolved oxygen, high total ammonia-N ($\text{NH}_3\text{-N}$) and nitrite (NO_2^-) may damage to frogs. Pathogenicity test of 2 dominant genera, *Aeromonas* and *Staphylococcus*, found that both genera could affected to 3 stages of frog; tadpole, young frog and adult frog. A bath challenge at 10^5 cfu/mL could induce morbidity and mortality in the range of 40.00 - 76.67 % and 26.67 - 60.00 %, respectively. At the concentration 10^6 and 10^7 cfu/mL found higher disease induction and death. Moreover, *Aeromonas* showed higher virulence than *Staphylococcus* but faster symptom development and mortality in all stages. Antibiotic susceptibility test of 8 genera including *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Rhodococcus* spp. and *Serratia* spp., 30 isolates, on 20 antibiotics found that oxytetracycline showed highest sensitivity, followed by Norfloxacin, Tetracycline, Enrofloxacin and Gentamycin, respectively. While Ampicillin, Penicillin G, Sulphamethoxazole, Nitrofurantoin and Amoxycillin found highest resistant.

Keywords: Frog Diseases; Bacterial Infection; Water Quality; Pathogenicity Test; Antibiotic Susceptibility

บทนำ

กบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) เป็นสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำที่นิยมเลี้ยงมากในปัจจุบัน โดยพบมีการเพาะเลี้ยงทั่วทุกภาคของประเทศไทย ในช่วงที่ผ่านมาในจังหวัดมหาสารคามได้มีการเลี้ยงกบนาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถือเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สร้างอาชีพและรายได้ให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมาก ทั้งการเลี้ยงเพื่อจำหน่ายลูกออด ลูกกบ และกบนื้อ เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงที่สั้น การเจริญเติบโตเร็ว ใช้น้ำและพื้นที่ในการเลี้ยงน้อย

สามารถเลี้ยงได้ทั้งในบ่อดิน บ่อซีเมนต์ กระชังหรืออื่น ๆ ใช้ต้นทุนในการเลี้ยงต่ำ รวมทั้งราคาจำหน่ายค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่น [1] - [3] ประกอบกับกบในธรรมชาติมีจำนวนลดลงเป็นอย่างมาก แต่ความต้องการบริโภคกบเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ อีกทั้งตลาดต่างประเทศก็เปิดกว้างมากขึ้น โดยเฉพาะประเทศในแถบเอเชีย ได้แก่ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว มาเลเซีย ชองกง จีน และสิงคโปร์ เป็นต้น [4] อย่างไรก็ตามจะเห็นว่า ปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงกบนั้นมีทั้งที่ประสบความสำเร็จและไม่ประสบความสำเร็จ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากเกษตรกรยังขาดความรู้และความเข้าใจอย่างถูกต้องเกี่ยวกับวิธีเพาะเลี้ยงและการจัดการฟาร์มที่ดี [5] โดยเฉพาะการจัดการด้านโรค ซึ่งมักก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างต่อเนื่องในการเลี้ยงกบทุกระยะ โรคในกบมักพบสาเหตุมาจากเชื้อโรคสำคัญ ได้แก่ ปรสิต แบคทีเรีย เชื้อรา หรือไวรัส โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียพบทำให้กบป่วยและตายเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีสาเหตุจากสภาพแวดล้อม การที่เลี้ยงกบหนาแน่นเกินไป ทำให้มีของเสียสะสมในบ่อเลี้ยง ความต้านทานโรคของกบลดลง รวมทั้งกบมักกินกันหรือทำร้ายกันเอง เมื่อกบเกิดบาดแผลจะทำให้กบรับเชื้อและแพร่กระจายไปทั่วร่างกายอย่างรวดเร็ว ทำให้กบป่วยและตายในระยะเวลาอันสั้น [3], [6] โดยทั่วไปโรคติดเชื้อแบคทีเรียในกบมักเกิดจากแบคทีเรียฉวยโอกาส (Opportunistic Bacteria) และมักพบในกรณีที่มีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ซึ่งแบคทีเรียที่มีรายงานว่าพบในกบ ได้แก่ *Aeromonas*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* และ *Bacillus* เป็นต้น [1], [7] การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิด และการแพร่กระจายของแบคทีเรียในกบระยะต่าง ๆ ผลของคุณภาพน้ำต่อการเกิดโรค ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย ตลอดจนแนวทางการป้องกันรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในกบในท้องปฏิบัติกร เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและรักษาโรคในฟาร์มเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

ทำการศึกษาสภาพการเลี้ยงและรูปแบบการจัดการฟาร์มเลี้ยงกบในพื้นที่อำเภอนาคู จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 4 ฟาร์ม ทำการเก็บตัวอย่างเดือนละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 4 เดือน ระหว่างเดือนสิงหาคม - พฤศจิกายน 2559 โดยเก็บตัวอย่างกบที่แสดงอาการป่วย 3 ระยะ คือ ลูกอ๊อด (ระยะที่มิทาง) ลูกกบ (หลังจากทางหลุดจนถึงอายุ 45 วัน) และกบเนื้อ (ขนาดที่จำหน่ายเพื่อบริโภคในท้องตลาด) ระยะละ 10 10 และ 3 - 5 ตัวต่อเดือนต่อฟาร์ม ตามลำดับ โดยทำการศึกษาลักษณะอาการกบป่วยภายในฟาร์ม สังเกตอาการ พร้อมบันทึกการเปลี่ยนแปลงและลักษณะอาการป่วยที่เกิดขึ้นในแต่ละฟาร์ม แล้วนำมาแยกเชื้อแบคทีเรียภายในท้องปฏิบัติกร

2. การศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรียในกบ

นำตัวอย่างกบป่วยทั้ง 3 ระยะ มาสังเกตลักษณะอาการภายนอกของกบ แล้วทำการตรวจหาสิ่งผิดปกติตามผิวหนังด้วยวิธี Wet Mount และแยกเชื้อแบคทีเรียจากแผลและผิวหนัง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA), Brain Heart Infusion Agar (BHIA) และ Ogawa Media (OM) เป็นต้น และแยกเชื้อแบคทีเรียจากอวัยวะภายในของกบ เช่น ตับ ไต ม้าม รวมทั้งลำไส้ โดยก่อนแยกเชื้อแบคทีเรียทำให้กบหมดความรู้สึกโดยการแช่กบลงในน้ำแข็ง แล้วทำการผ่าตัดเปิดช่องท้อง และสังเกตลักษณะอาการของอวัยวะภายใน แยกเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique)

เพาะเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (Pure Culture) จากนั้นนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรียจากลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี [8] - [10] และใช้ API 20 NE และ API 20 STREP (Bio Mérieux) ตามคู่มือจากบริษัทผู้ผลิต เป็นต้น แล้วจึงทำการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้เพื่อการศึกษาต่อไป

3. การศึกษาคุณภาพน้ำระหว่างเก็บตัวอย่าง

ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตามวิธีมาตรฐาน ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) แอมโมเนีย (Ammonia) ไนไตรต์ (Nitrite) ความเป็นด่าง (Alkalinity) และวัดอุณหภูมิ (Temperature) ด้วย Thermometer โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำฟาร์มละ 3 จุด ลึกจากผิวน้ำ 15 เซนติเมตร เพื่อทำการวิเคราะห์และศึกษาผลกระทบของคุณภาพน้ำที่มีผลต่อการเกิดโรคในกบ [11]

4. การศึกษาความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรียต่อกบ 3 ระยะ

ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียชนิดที่พบในกบป่วยมากที่สุด 2 สกุล คือ *Staphylococcus* spp. และ *Aeromonas* spp. สกุลละ 2 สายพันธุ์ต่อกบ 3 ระยะ เพื่อศึกษาว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สกุล เป็นสาเหตุที่แท้จริงในการก่อให้เกิดโรคในกบหรือไม่ ตามวิธีของ [12] โดยนำลูกอ๊อดน้ำหนัก 0.8 - 1.2 กรัม ลูกกบน้ำหนัก 2.0 - 2.5 กรัม และกบเนื้อน้ำหนัก 60 - 75 กรัม นำมาพักไว้ในถังพลาสติกในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (เช้า - เย็น) จากนั้นดำเนินการทดลองในกะละมังบรรจุน้ำ 3 และ 1.5 ลิตร และตู้กระจกขนาด 24 นิ้ว ที่บรรจุน้ำ 10 ลิตร พร้อมวัสดุเกาะสำหรับทดลองในกบระยะลูกอ๊อด ลูกกบ และกบเนื้อ ตามลำดับ โดยนำกบระยะต่าง ๆ มาใส่ในภาชนะทดลองจำนวน 20 10 และ 5 ตัว ตามลำดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับลูกอ๊อดและลูกกบทำการทดลองโดยวิธีการแช่เชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 0×10^5 10^6 และ 10^7 cfu/mL ส่วนกบเนื้อทดลองด้วยวิธีการฉีดเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นเดียวกันเข้าที่กล้ามเนื้อโคนขา [3] โดยกลุ่มควบคุมทำการแช่และฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.85 % ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C มีการให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (เช้า - เย็น) ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 14 วัน ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตามวิธีมาตรฐาน ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง แอมโมเนีย ไนไตรต์ ความเป็นด่าง และวัดอุณหภูมิทุก ๆ 3 วัน สังเกตอาการของกบและความผิดปกติที่เกิดขึ้น และบันทึกผลการทดลอง หากพบกบป่วยและตาย ทำการแยกเชื้อทุก ๆ 3 วัน ตามวิธีการแยกกบป่วยจากธรรมชาติ เพื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่แยกได้ครั้งแรก และจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้อีกครั้ง

5. การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ

ทำการทดสอบความไวของยาด้วยวิธี Standard Disc Diffusion Method ตามวิธีของบริษัทผู้ผลิต เตรียมเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกบป่วยจากการศึกษาครั้งนี้จำนวน 8 สกุล ได้แก่ *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. และ *Serratia* spp. จำนวน 5 5 5 4 3 3 3 และ 2 สายพันธุ์ (Strains) ตามลำดับ รวม 30 สายพันธุ์ โดยนำเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการป้ายเชื้อจากโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาละลายลงในน้ำเกลือ 0.85 % ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No.1 (3×10^8 cfu/mL) พร้อมกับนับจำนวนแบคทีเรียโดยวิธี Total Plate Count ใช้ Cotton Bud ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มสารละลายเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ และป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) ให้ทั่วหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ และวางแผ่นยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ 20 ชนิด (ตารางที่ 1) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานละ 4 ชนิด โดยทำจำนวน 3 ซ้ำ บ่มให้เชื้อเจริญที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา

24 ชั่วโมง บันทึกขนาดของ Clear Zone โดยใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตร และเทียบความไวต่อยาปฏิชีวนะตามวิธีการของ [8], [13] และบริษัทผู้ผลิต

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกบนาจำนวน 30 สายพันธุ์ ต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ

ยาปฏิชีวนะ	Sensitivity (%)		
	S	I	R
Ampicillin (AMP30)	4.55	0	95.46
Amoxycillin (Amx10)	18.18	22.73	59.09
Ciprofloxacin (CIP5)	50	9.09	40.91
Chloramphenicol (C30)	50	4.55	45.45
Enrofloxacin (ENR 5)	59.09	22.73	18.18
Gentamycin (CN10)	59.09	18.18	22.73
Kanamycin (K30)	54.55	9.09	36.36
Nalidixic acid (NA30)	40.91	18.18	40.91
Neomycin (N30)	22.73	31.82	45.46
Nitrofurantoin (F300)	27.27	4.55	68.18
Norfloxacin (NOR10)	63.64	9.09	27.27
Novobiocin (NV5)	45.46	18.18	36.36
Oxytetracycline (OT30)	81.82	4.55	13.64
Oxolinic acid (OA2)	50	4.55	45.46
Penicillin G (P10)	9.09	9.09	81.82
Polymycin (PB300)	27.27	22.73	50
Tetracycline (TE30)	63.64	9.09	27.27
Streptomycin (S10)	36.36	9.09	54.55
Sulphamethoxazole (RL25)	0	27.27	72.73
Trimethoprim (W5)	40.91	13.64	45.45

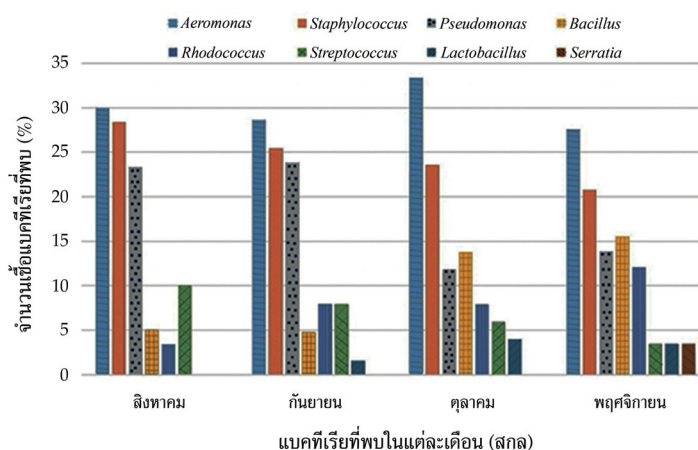
หมายเหตุ: S = Sensitive I = Intermediate และ R = Resistance

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. ผลการศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรียในกบนา

จากการศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียในกบนาจากฟาร์มเลี้ยงกบจำนวน 4 ฟาร์ม จากอำเภอนาดูน จังหวัดมหาสารคาม ระหว่างเดือนสิงหาคม - พฤศจิกายน 2559 ในกบ 3 ระยะ ได้แก่ ลูกอ๊อด ลูกกบ และกบเนื้อ ระยะละ 80 80 และ 72 ตัว ตามลำดับ รวมทั้งสิ้น 232 ตัว โดยลูกอ๊อดและลูกกบสามารถเก็บตัวอย่างได้เฉพาะเดือนสิงหาคมและกันยายน ส่วนเดือนตุลาคม - พฤศจิกายน เกษตรกรไม่สามารถเพาะพันธุ์กบได้ จึงไม่มีตัวอย่างสำหรับศึกษา มีเพียงกบเนื้อที่สามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้ง

4 เดือน เมื่อนำกบป่วยทั้ง 3 ระยะมาศึกษาลักษณะอาการป่วยพบว่า ระยะลูกอ๊อดมีอาการเชื่องซึม ไม่กินอาหาร แยกฝูง หงายท้อง สีลำตัวซีด ตกเลือด ครีบหรือรยางค์กร่อน หรือท้องบวม เป็นต้น ระยะลูกกบ จะไม่กินอาหาร เชื่องซึม แยกฝูง สีลำตัวซีด มีแผลตามลำตัว หรือตกเลือด และตัวซีด เป็นต้น ส่วนกบเนื้อ หรือกบโตเต็มวัยพบอาการพอม เชื่องซึม มีการตกเลือดตามลำตัว มีแผลที่ปากและเท้า ตาเป็นฝ้าขาว คาโปน อวัยวะภายในพบตัวซิดหรือมีสีดำ มีน้ำในช่องท้องหรือลำไส้ ลำไส้บวมหรือไม่มีอาหาร มีก้อนสีขาว (Nodule) กระจายตามตับและม้าม ผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย พบว่ากบทุกระยะทุกตัวอย่าง (100 %) สามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งในตับ ไต ม้าม และลำไส้ โดยพบเชื้อแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* spp. มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. และ *Serratia* spp. คิดเป็น 29.74 24.41 18.69 9.48 7.76 6.90 2.16 และ 0.86 % ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับ [1] ที่รายงานพบแบคทีเรีย 7 ชนิด ได้แก่ *Flavobacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Aeromonas* spp., *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Weeksella* sp. และ *Vibrio* spp. ในกบนาจากฟาร์มกบในพื้นที่ภาคใต้ และ [14] รายงานพบแบคทีเรีย *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Citrobacter* sp., *Proteus* sp., *Diplococcus* sp. และ *Flexibacter columnaris* ในกบเลี้ยงทั้ง 3 ฤดูกาล อีกทั้ง [15] กล่าวว่า พบแบคทีเรีย *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus* และ *Brevundimona* ในกบ Cascades ที่รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ระหว่างเดือนสิงหาคม - พฤศจิกายน พบเชื้อแบคทีเรีย 6 7 7 และ 8 สกุล ตามลำดับ โดยพบเชื้อแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* ปริมาณใกล้เคียงกันทั้ง 4 เดือน และเชื้อแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus*, *Pseudomonas* และ *Streptococcus* พบมากในช่วงเดือนสิงหาคมและกันยายน ส่วนเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Lactobacillus* และ *Serratia* จะพบมากช่วงเดือนตุลาคมและพฤศจิกายน (รูปที่ 1) จะเห็นว่า การแพร่กระจายของแบคทีเรียในกบนาจะแตกต่างกันตามฤดูกาล ซึ่ง [14] รายงานพบเชื้อแบคทีเรียในกบนามากที่สุดฤดูฝน รองลงมาเป็นฤดูร้อนและฤดูหนาว ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptococcus* spp. และ *Serratia* spp. ที่บริเวณตับ ไต และม้าม ส่วนบริเวณลำไส้จะพบ *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Rhodococcus* spp. และ *Lactobacillus* spp. ตามลำดับ โดยพบกบบางตัวมีการติดเชื้อแบคทีเรียมากกว่า 1 ชนิด ส่วนขนาดและระยะของกบไม่มีผลต่อชนิดของแบคทีเรียที่พบในการศึกษาครั้งนี้ นอกจากนี้ยังพบว่ากบตัวอย่างมีการติดเชื้อร่วมกับปรสิตในลำไส้ถึง 98.56 % โดยแยกเป็น *Opalina* sp., *Balantidium* sp., กลุ่มโรดิเฟอร์ และ *Opalina* sp. ร่วมกับ *Balantidium* sp. 16.10 5.85 4.88 และ 73.65 % ตามลำดับ สอดคล้องกับ [16] ที่ศึกษาปรสิตในทางเดินอาหารของกบนา (*Rana tigerina*) พบปรสิตจำนวนมากที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายและไส้ตรง 4 ชนิด ได้แก่ *Nyctotherus cordiformis*, *O. obtrigonoidea*, *O. hylaxena* และ *B. duodeni* เช่นเดียวกันกับ [17] ที่พบว่า กบนา มีการติดเชื้อปรสิตในลำไส้ 2 สกุล คือ *Opalina* และ *Balantidium* และ [1] ที่พบการติดเชื้อปรสิตในกบนาจากฟาร์มเลี้ยงในพื้นที่ภาคใต้ คือ *Opalina* sp., *Protoopalina* sp. และ *Balantidium* sp. ร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 1 การแพร่กระจายของแบคทีเรียที่พบในกบนาในอำเภอนาคู จังหวัดมหาสารคาม

2. ผลการศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกบ

ผลการศึกษาคุณภาพน้ำในการเลี้ยงกบทั้ง 4 ฟาร์ม พบว่าทุกฟาร์มมีการใช้น้ำประปาที่สูบจากใต้ดินไม่มีการใช้คลอรีน เกษตรกรไม่ปรับสภาพน้ำก่อนนำมาใช้ น้ำในบ่อนูบาลูกออกส่วนใหญ่มีสีเขียวเข้มจากแพลงก์ตอนเนื่องจากการให้อาหารจำนวนมาก ใช้เวลาเลี้ยง 17 - 20 วัน ระยะเวลาไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ส่วนบ่อเลี้ยงลูกกบที่เลี้ยงต่อจากลูกออกใช้เวลาเลี้ยง 7 - 10 วัน มีการเลี้ยงแบบหนาแน่นให้อาหารจนเหลือทำให้น้ำเสียเร็ว มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 2 - 3 วัน ส่วนบ่อเลี้ยงกบเนื้อน้ำจะคุณภาพต่ำมากที่สุด ส่วนใหญ่มีกลิ่นเหม็นคาว จะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเมื่อเกิดการเน่าเสีย โดยจะเปลี่ยนถ่ายน้ำร้อยละ 60 - 100 % และระหว่างเก็บตัวอย่างกบป่วยคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกบทั้ง 3 ระยะเวลาของแต่ละฟาร์มมีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ค่าแอมโมเนียรวม ค่าไนไตรต์ ค่าความกระด้าง และค่าความเป็นด่างมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.50 - 8.50 27.68 - 32.45 °C 1.58 - 3.65 mg/L 5.38 - 6.63 mg/L 0.10 - 0.38 mg/L 50.67 - 170.33 mg/L และ 49.36 - 142.88 mg/L ตามลำดับ จะเห็นว่าคุณภาพน้ำอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ยกเว้นค่า DO มีค่าค่อนข้างต่ำ ใกล้เคียงกับรายงานของ [1] ที่รายงานว่า ฟาร์มเลี้ยงกบในพื้นที่ภาคใต้มีค่า DO ระหว่าง 1.20 - 4.30 mg/L ซึ่งมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ควรมี DO สูงกว่า 3.00 mg/L [18] ส่วนค่าแอมโมเนียรวม (NH₃ - N) มีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่นเดียวกับ [14] ที่รายงานว่า ในบ่อเลี้ยงกบส่วนใหญ่จะมีค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 2.4 - 4.5 mg/L ในขณะที่ [1] พบว่า แอมโมเนียในบ่อเลี้ยงกบในพื้นที่ภาคใต้มีค่าระหว่าง 0.06 - 0.132 mg/L ซึ่งค่าที่ความเหมาะสมควรต่ำกว่า 0.02 mg/L [19] ส่วนปริมาณไนไตรต์ตรวจพบ 2 ฟาร์ม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ [1] ที่พบว่า บ่อเลี้ยงกบในพื้นที่ภาคใต้มีค่า 0.20 - 0.50 mg/L แต่ค่าความเข้มข้นของไนไตรต์ที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำควรต่ำกว่า 0.017 mg/L [18] จะเห็นว่า คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกบเนื้อจะค่อนข้างต่ำกว่าระยะอื่น ๆ ทั้งนี้พบน้ำในบ่อเลี้ยงจะมีสีน้ำตาลดำและส่งกลิ่นเหม็น หากไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นเวลานานจะมีการสะสมทั้งสิ่งขับถ่าย อาหารเหลือ และเมือกที่ขับออกมาจากตัวกบ รวมทั้งการสะสมของเชื้อโรคในบ่อเลี้ยงกบเมื่อคุณภาพน้ำไม่ดี จะทำให้กบเครียดและอ่อนแอ จึงเกิดการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น

3. ผลการศึกษาความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรียต่อกบ

การศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียชนิดเด่น 2 สกุล ที่แยกได้จากกบป่วย คือ *Aeromonas* และ *Staphylococcus* สกุลละ 2 สายพันธุ์ ทดลองในกบ 3 ระยะ ที่ความเข้มข้น 0 10^5 10^6 และ 10^7 cfu/mL โดยวิธีการแช่ในลูกอ๊อดและลูกกบ และวิธีการฉีดเข้าบริเวณโคนขาหลัง ในกบเนื้อ สังเกตอาการเป็นเวลา 14 วัน เพื่อศึกษาความสามารถของแบคทีเรีย ว่าเป็นสาเหตุที่แท้จริง ที่ทำให้กบเกิดโรคหรือไม่ รวมทั้งเป็นการศึกษาพัฒนาการของการเกิดโรค เพื่อนำไปสู่การวางแผน การป้องกันรักษาโรคต่อไป [12], [20] ผลการทดลองพบว่า อัตราการติดเชื้อแบคทีเรียที่ระดับ ความเข้มข้นสูงจะติดเชื้อได้รุนแรงและรวดเร็วกว่าความเข้มข้นต่ำ และเชื้อแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* ทำให้กบมีการติดเชื้อมากกว่า *Staphylococcus* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อและระยะเวลาเท่ากัน (ตารางที่ 2) โดยกบที่ได้รับเชื้อ *Aeromonas* ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 cfu/mL จะแสดงอาการป่วยในวันที่ 3 และเริ่มตายในวันที่ 4 ในระยะลูกอ๊อดและลูกกบ ส่วนกบเนื้อจะพบแสดงอาการป่วยในวันที่ 2 ที่ระดับ ความเข้มข้น 10^6 cfu/mL พบกบแสดงอาการป่วยและเริ่มตายในวันที่ 2 ในระยะลูกอ๊อดและลูกกบ ส่วนกบเนื้อจะพบแสดงอาการป่วยในวันที่ 4 และตายในวันที่ 5 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10^7 cfu/mL พบกบแสดงอาการป่วยและเริ่มตายในวันที่ 2 ในระยะลูกอ๊อดและลูกกบ ส่วนกบเนื้อจะพบกบแสดงอาการป่วย ในวันที่ 3 เริ่มตายในวันที่ 5 จะเห็นว่าหลังจากกบแต่ละระยะได้รับเชื้อแบคทีเรียในทุกความเข้มข้นจะพบ อัตราการป่วยสูงกว่าอัตราการตาย (ตารางที่ 2) และพบว่ากบทั้ง 3 ระยะ จะหยุดการตายภายใน 7 - 8 7-9 และ 10 - 12 วัน ตามลำดับ หลังจากนั้นกบบางส่วนจะคงอาการป่วยและบางส่วนจะหายป่วยภายใน 10 - 14 วัน ซึ่งอาการป่วยของกบระยะลูกอ๊อดจะแสดงอาการเชื่องซึมไม่กินอาหาร ว่ายน้ำผิดปกติ ตกเลือดตามลำตัว มีแผลที่ขา ระยะลูกกบจะแสดงอาการเชื่องซึม ไม่กินอาหาร ว่ายน้ำผิดปกติ ตกเลือด ตามลำตัว มีแผลที่ขาและลำตัว ท้องบวม และตกเลือดบริเวณตับ และระยะกบเนื้อจะแสดงอาการเชื่องซึม มีแผลที่ขา ดับซิดและตกเลือด ม้ามมีจุดสีขาว เป็นต้น

ส่วนความสามารถในการก่อโรคของ *Staphylococcus* ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 cfu/mL พบกบแสดงอาการป่วยในวันที่ 4 และเริ่มตายในวันที่ 5 ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 cfu/mL พบกบแสดง อาการป่วยในวันที่ 2 และเริ่มตายในวันที่ 3 ในระยะลูกอ๊อดและลูกกบ ส่วนกบเนื้อจะพบแสดงอาการป่วย ในวันที่ 4 และตายในวันที่ 6 และที่ระดับความเข้มข้น 10^7 cfu/mL พบกบแสดงอาการป่วยและเริ่มตาย ในวันที่ 2 ในระยะลูกอ๊อดและลูกกบ ส่วนกบเนื้อจะพบแสดงอาการป่วยในวันที่ 3 และเริ่มตายในวันที่ 5 (ตารางที่ 2) จะเห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียสูงกว่าจะส่งผลให้กบทุกระยะเกิดการติดเชื้อ ได้รวดเร็วและรุนแรงกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และพบว่ากบทั้ง 3 ระยะจะหยุดการตายภายในระยะเวลา 5 - 7 8 - 9 และ 7 - 10 วัน ตามลำดับ หลังจากนั้นกบบางส่วนจะคงอาการป่วยและบางส่วนจะหายป่วยได้ ภายใน 12 - 14 วัน ซึ่งกบระยะลูกอ๊อดจะแสดงอาการเชื่องซึม ไม่กินอาหาร ว่ายน้ำผิดปกติ ท้องบวม ดับซิด ระยะลูกกบจะมีอาการเชื่องซึม ไม่กินอาหาร ว่ายน้ำผิดปกติ ดับซิด หากอาการหนักดับจะมีสีดำ ส่วนกบเนื้อจะแสดงอาการเชื่องซึม ไม่กินอาหาร ดับมีสีดำ ม้ามมีจุดขาว ท้องบวม และลำไส้บวม สอดคล้องกับ [21] รายงานว่า กบนา (*Rana tigerina* Cantor) ที่ติดเชื้อ *Aeromonas* sp. จะพบอาการ เชื่องซึม ไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น บริเวณท้องและขามีสีแดง ท้องบวม ดับมีการตกเลือด เลือดคั่ง ในหลอดเลือด ม้ามอักเสบ พร้อมทั้งมีเลือดคั่งและของเหลวระหว่างมดกกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ [22] ได้ศึกษา ความรุนแรงของการก่อโรคนาที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Aeromonas* sp., *A. hydrophila* และ *A. sobria*

โดยวิธีการแช่เชื้อความเข้มข้น 1×10^5 cfu/mL พบว่าเชื้อ *Aeromonas* sp. มีความรุนแรงมากที่สุด และการแช่เชื้อ *Aeromonas* sp. เข้มข้น 1×10^4 cfu/mL ที่ 96 ชั่วโมง พบว่า ตับ ม้าม ไต หัวใจ เกิดการตกลีด หัวใจ กระเพาะและลำไส้มีการอักเสบ และมีเลือดคั่งบริเวณกล้ามเนื้อขาและหน้าท้อง ส่วน [23] รายงานว่าเชื้อ *A. hydrophila* ที่ความเข้มข้น 2×10^7 cfu/mL ไม่สามารถทำให้กบคันไม้สีน้ำตาล (*Litoria ewingii*) เกิดโรคได้ด้วยวิธีการแช่ ส่วน [24] กล่าวว่า การแช่กบ (*Rana rugulosa*) ด้วยเชื้อ *Aeromonas* spp. ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu/mL ใช้เวลา 6 วัน จึงทำให้กบแสดงอาการของโรคได้ ในขณะที่การทำให้เกิดโรคโดยการฉีดจะใช้เวลาเพียง 24 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นเดียวกัน และที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/mL จะสามารถก่อให้เกิดโรคได้รวดเร็วและรุนแรงกว่าที่ความเข้มข้น 10^6 และ 10^7 cfu/mL อย่างไรก็ตามสาเหตุการเกิดโรคในกบ นอกจากชนิดและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียแล้วยังสัมพันธ์กับความหนาแน่นในการเลี้ยงและสภาพแวดล้อมที่จะมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของกบอีกด้วย [23], [25] - [26]

ตารางที่ 2 ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* และ *Staphylococcus* ต่อกบนาในระยะต่าง ๆ

ระยะของกบ/เชื้อ แบคทีเรีย	รหัสสายพันธุ์ แบคทีเรีย	ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย (%)							
		Control		10 ⁵ cfu/mL		10 ⁶ cfu/mL		10 ⁷ cfu/mL	
		ป่วย	ตาย	ป่วย	ตาย	ป่วย	ตาย	ป่วย	ตาย
ลูกอ๊อด									
Aeromonas	MSUBF59009	0	0	66.67	46.67	83.33	63.33	100	86.67
	MSUBF59111	0	0	63.33	46.67	76.67	60.00	100	83.33
Staphylococcus	MSUBF59007	0	0	53.33	40.00	63.33	46.67	80	66.67
	MSUBF59098	0	0	50.00	40.00	60.00	43.33	83.33	70.00
ลูกกบ									
Aeromonas	MSUBF59009	0	0	76.67	60.00	96.67	73.33	100	86.67
	MSUBF59111	0	0	70.00	56.67	86.67	70.00	100	80.00
Staphylococcus	MSUBF59007	0	0	40.0	26.67	60.00	36.67	63.33	40.00
	MSUBF59098	0	0	43.33	30.00	60.00	37.33	66.67	43.33
กบเนื้อ									
Aeromonas	MSUBF59009	0	0	20.00	0	46.67	13.33	93.33	26.67
	MSUBF59111	0	0	13.33	6.67	33.33	6.67	80.00	20.00
Staphylococcus	MSUBF59007	0	0	20.00	0	33.33	6.67	60.0	13.33
	MSUBF59098	0	0	13.33	6.67	40.00	13.33	46.66	20.00

4. ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ

ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกบป่วย จำนวน 8 สกุล ได้แก่ *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Rhodococcus* spp. และ *Serratia* spp. จำนวน 30 สายพันธุ์ต่อยาปฏิชีวนะ 20 ชนิด

พบว่ายาปฏิชีวนะที่มีผลต่อแบคทีเรียมากที่สุดคือ Oxytetracycline มากที่สุด รองลงมาคือ Norfloxacin, Tetracycline, Enrofloxacin และ Gentamycin มีค่าความไว 81.82 63.64 63.64 59.09 และ 59.09 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จะเห็นว่าแบคทีเรียที่ทดสอบมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดย *Aeromonas*, *Pseudomonas* และ *Serratia* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ส่วน *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* และ *Rhodococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้แบคทีเรียตอบสนองต่อยาแตกต่างกันไป ส่วนยาที่มีผลทำให้แบคทีเรียดื้อยา (Resistant) มากที่สุดคือ Ampicillin รองลงมาคือ Penicillin G, Sulphamethoxazole, Nitrofurantoin, Amoxycillin และ Streptomycin มีค่าการดื้อยาที่ 95.46 81.82 72.73 68.18 59.09 และ 54.55 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อพิจารณาจากเชื้อแบคทีเรียแต่ละสกุล พบว่ามีความไวและการดื้อต่อยาแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3 จะเห็นว่ายาที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อได้ดีอยู่ในกลุ่ม Tetracyclines เช่น Oxytetracycline และ Tet-racycline ยาในกลุ่ม Quinolones เช่น Ciprofloxacin, Enrofloxacin และ Norfloxacin และกลุ่ม Aminoglycosides เช่น Gentamicin และ Kanamycin รวมทั้งยาในกลุ่ม Chloramphenicols ส่วนยาที่ให้ผลในการดื้อยาส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Penicillins ได้แก่ Amoxicillin, Ampicillin และ Penicillin ยาในกลุ่ม Sulfonamides เช่น Sulfamethoxazole/Trimethoprim ยาในกลุ่ม Nitrofurantoin และยาในกลุ่ม Aminoglycosides เช่น Streptomycin ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของ [2] ที่รายงานว่า เชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ที่แยกได้จากกบนาจากจังหวัดสกลนคร มีความไวต่อยา Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Oxytetracycline, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, Nitrofurantoin, Enrofloxacin, Gentamicin, Kanamycin, Norfloxacin, Tetracycline และ Streptomycin ที่ 94.12 98.04 41.18 98.04 100.00 96.08 98.04 92.16 96.08 39.22 และ 92.16 % ตามลำดับ แต่รายงานว่า Tetracycline และ Oxytetracycline ให้ผลการรักษาที่ไม่คงที่และมีความแปรผันในการรักษาค่อนข้างสูง ส่วนยาที่มีผลทำให้ *A. hydrophila* เกิดการดื้อยา คือ Amoxicillin, Ampicillin, Erythromycin และ Penicillin G มีอัตราการดื้อยาที่ 100 100 96.08 และ 100 % ตามลำดับ ส่วน [1] รายงานว่า เชื้อแบคทีเรียแยกได้จากกบนาในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ *Flavobacterium*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Weeksella* และ *Vibrio* มีความไวต่อยา Chloramphenicol และ *Bacillus* มีความไวต่อยา Gentamicin และ Oxolinic Acid โดยไม่พบการดื้อยาของเชื้อทั้ง 8 สกุล และ [27] ทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* spp., *Edwardsiella* spp., *Flavobacterium* spp. และ *Vibrio* spp. จากลำไส้กบบูลฟร็อก (*Rana catesbeiana*) จำนวน 40 สายพันธุ์ ต่อยาปฏิชีวนะ 21 ชนิด พบว่า เชื้อแบคทีเรียมีความไวต่อยา 57.30 % และดื้อต่อยา 35.40 % โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียกว่า 70 % มีความไวต่อยา Furazolidone และ Chloramphenicol ซึ่งเชื้อ *Aeromonas* spp. มีความไวต่อยา Flumequine และ Oxolinic acid มากที่สุด ซึ่งในการศึกษาคครั้งนี้พบว่า ยาที่ให้ผลดีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 8 สกุล ที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้ คือ Oxytetracycline และ Enrofloxacin ยาที่ให้ผลปานกลาง คือ Oxolinic acid ส่วนยาที่ไม่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ คือ Amoxicillin และ Sulfamethoxazole ส่วนยาชนิดอื่น ๆ ที่อนุญาตให้ใช้แต่ไม่ได้ทดสอบ คือ Sarafloxacin, Toltrazuril และ Sulfamonomethoxine sodium [28]

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกบนาต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ

ยา ปฏิชีวนะ	เปอร์เซ็นต์ความไว (S) และการดื้อยา (R) ของแบคทีเรีย (%)															
	<i>Aeromonas</i>		<i>Staphylococcus</i>		<i>Pseudomonas</i>		<i>Bacillus</i>		<i>Lactobacillus</i>		<i>Streptococcus</i>		<i>Rhodococcus</i>		<i>Serratia</i>	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	I	S	R
AMP30	0	100	0	100	0	100	0	100	33.3	66.7	0	100	0	100	0	100
Amx10	0	80	0	100	20	60	25	25	0	100	0	100	100	0	0	100
CIP5	40	40	0	80	80	20	75	50	100	0	66.7	33.3	66.7	33.3	50	0
C30	60	20	0	100	20	80	75	0	66.7	0	33.3	33.3	100	0	0	100
ENR5	60	0	0	80	80	0	75	0	100	0	100	0	66.7	0	50	0
CN10	20	60	60	0	80	20	100	25	33.3	0	33.3	33.3	66.7	0	100	0
K30	40	40	60	20	20	80	25	0	0	100	33.3	66.7	66.7	33.3	100	0
NA30	40	40	0	100	100	0	0	25	0	0	100	0	0	100	100	0
N30	40	40	0	20	20	60	100	75	0	100	33.3	33.3	0	66.7	0	0
F300	40	40	0	100	0	100	100	0	0	50	0	100	50	50	0	100
NOR10	20	40	0	100	100	0	0	0	100	0	100	0	100	0	50	0
NV5	40	20	0	80	100	0	80	50	33.3	33.3	66.7	33.3	66.7	0	0	50
OT30	100	0	60	40	80	0	25	0	100	0	66.7	33.3	66.7	33.3	0	100
OA2	60	40	0	80	100	0	0	50	33.3	66.7	66.7	66.7	0	66.7	100	0
P10	0	100	0	100	0	80	0	100	0	100	0	66.7	100	0	0	100
PB300	0	80	80	20	0	100	50	50	100	0	0	100	33.3	33.3	0	0
TE30	100	0	0	100	80	0	75	25	0	66.7	100	0	66.7	0	0	100
S10	40	40	0	100	20	80	0	0	0	100	33.3	33.3	66.7	0	0	50
RL25	0	60	0	40	0	80	0	100	0	66.7	33.3	33.3	0	100	0	100
W5	40	40	0	100	100	0	0	50	33.3	100	66.7	0	0	66.7	100	100

หมายเหตุ: S = Sensitive และ R = Resistance

สรุปผลการวิจัย

การแพร่กระจายของแบคทีเรียก่อโรคนกบนาในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม พบเชื้อแบคทีเรีย 8 สกุล ได้แก่ *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. และ *Serratia* spp. ซึ่งสามารถพบการติดเชื้อในกบตัวอย่างทุกตัวและมีการแพร่กระจายตลอดระยะเวลาที่ศึกษา ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำพบว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ ค่าความกระด้าง และค่าความเป็นด่างอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกบ ส่วนปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าแอมโมเนียรวม และค่าไนโตรค้อยู่ในช่วงที่อาจเป็นอันตรายต่อกบ ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียชนิดเด่น คือ *Aeromonas* spp. และ *Staphylococcus* spp. พบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สกุล สามารถทำให้กบทั้ง 3 ระยะ เกิดโรคได้ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 cfu/mL ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10^6 และ 10^7 cfu/mL จะมีผลทำให้อัตราการป่วยและตายสูงขึ้น ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกบป่วย 8 สกุล ได้แก่ *Aeromonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Rhodococcus* และ *Serratia* spp. ต่อยาปฏิชีวนะ 20 ชนิด พบว่ายาปฏิชีวนะที่มีผลต่อแบคทีเรียมากที่สุดคือ Oxytetracycline รองลงมา คือ Norfloxacin, Tetracycline, Enrofloxacin และ Gentamycin ตามลำดับ ส่วนยาที่ให้ผลในการดื้อยามากที่สุดคือ Ampicillin, Penicillin G, Sulphamethoxazole, Nitrofurantoin และ Amoxycillin ตามลำดับ ดังนั้นในการป้องกันรักษาติดเชื้อแบคทีเรียในกบสามารถเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่มีความไวต่อเชื้อด้วยวิธีการฉีดหรือผสมอาหาร และสิ่งสำคัญที่สุดคือ การจัดการฟาร์มให้ถูกสุขลักษณะและจัดการคุณภาพน้ำภายในบ่อเลี้ยงกบให้สะอาดและเหมาะสม ตลอดจนการฆ่าเชื้อโรคภายในบ่อเป็นระยะ ๆ จะช่วยลดการเกิดโรคนกบได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกบ นิสิตสาขาวิชาประมงในการเก็บข้อมูลวิจัย และคณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคามที่อนุเคราะห์สถานที่ และสำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในการให้ทุนสนับสนุนงบประมาณสำหรับวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี

References

- [1] Sririkanonda, S. (2009). Diseases of Cultured Frog (*Rana tigerina*) in Southern Part of Thailand. **Princess of Princess of Naradhiwas University Journal**. Vol. 1, No. 3, pp. 102-117
- [2] Arungamol, S., Jitjak, T., Patchanee, N., and Jensiriwong, S. (2017). The Testing of Antibiotic Sensitivity from Isolated *Aeromonas hydrophila* from Infected Lowland Frog (*Hoplobatrachus rugulosus*) in Sakon Nakhon province. **Prawarun Agricultural Journal**. Vol. 14, No. 2, pp. 238-246

- [3] Phadee, P., Thaiso, K., and Jullawong, P. (2018). **Report of the Science and Technology Village Project “Frog raising village”**. Office of the Permanent Secretary for Science and Technology, Ministry of Science and Technology, Bangkok
- [4] Department of Fisheries. (2015). **Freshwater Aquaculture Production Survey 2013**. Bangkok: Fishery Statistics Analysis and Research Group, Information and Communication Technology Center, Ministry of Agriculture and Cooperatives
- [5] Srisaad, A. (2011). **How to raise frogs guide**. (1st ed). Bangkok: Naka intermedia co., Ltd.
- [6] Kanchanakarn, S. (1993). Diseases in Adult Frogs. **Journal of Aquaculture Diseases News**. Vol. 3, No. 2, pp. 9-11
- [7] Glorioso, J. C., Amborski, R. L., Amborsky, G. F., and Culley, D. D. (1974). Microbiological Studies on Septicemic Bullfrogs (*Rana catesbeiana*). **American Journal of Veterinary Research**. Vol. 35, No. 9, pp. 1241-1245
- [8] MacFaddin, J. F. (1980). **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**. 2nd edition. Maryland: Williams and Wilkins
- [9] Austin, D. A. and Austin, B. (1999). **Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish**. 3rd Edition. Chichester: Springer Praxis Publishing
- [10] Buller, N. B. (2004). **Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals: A Practical Identification Manual**. Oxford: CAB International Publishers
- [11] APHA, AWWA and WPCF. (1998). **Standard Method for Examination of Water and Wastewater**. 20th Edition. Washington DC: American Public Health Association
- [12] Evans, A. S. (1976). Causation and Disease: the Henle-Koch Postulates Revisited. **The Yale Journal of Biology and Medicine**. Vol. 49, No. 2, pp. 175-195
- [13] Whitman, K. (2004). **Finfish and Shellfish Bacteriology Manual: Techniques and Procedures**. Iowa: Iowa State Press, Blackwell Publishing Company
- [14] Singthonhchai, V. (1997). **Study on the Diseases of Cultured Frog (*Ranatigrina Cantor*)**. Master of Science (Fisheries Science), Faculty of Fishery, Kasetsart University
- [15] Roth, T., Foley, J., Worth, J., Piovita-Scott, J., Pope, K., and Lawler, S. (2013). Bacterial Flora on Cascade Frogs in the Klamath Mountain of California. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**. Vol. 36, pp. 591-598
- [16] Rasmidatt, A., Wattanasirmit, K., and Pariyanonth, P. (1989). Protozoa Content in the Farm-frog (*Rana tigerina*), Rearing in the Mud and Cement Ponds. In **Proceedings of the 27th Kasetsart University Annual Conference: Science, Agro-Industry, Engineering**. Bangkok: Ministry of Agriculture and Cooperatives. pp. 239-245
- [17] Chat Mongkolkul, M., Pariyanonth, P., and Satetasit, J. (2007). **Parasites of *Hoplobatrachus rugulosus* in Areas of Plant Genetics Conservation Project Under the Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Mahachakri Sirindhorn**. Bangkok: National Research Council of Thailand

- [18] Lohalakeanadech, D. (1998). **Fisheries Water Quality Guide**. Trang: Rajamangala Institute of Technology Srivijaya Trang Campus
- [19] Jiwyam, W. (2001). **Introduction to Water Quality and Water Wuality Analysis in Aquaculture Ponds**. Bangkok: Chulalongkorn University Press
- [20] Phadee, P. (2009). **Diseases and Diseases Diagnosis of Fish**. Bangkok: Odeon Store Publishing Company
- [21] Siyapong, B. (1995). **Study on Pathogenesis of Bacterial Disease in Frog, *Rana tigerina* Cantor**. Master of Science (Fisheries Science), Faculty of Fishery, Kasetsart University
- [22] Somsiri, T., Chinabut, S., Phanwichien, K., Soontornvit, S., and Damrongphol, Y. (1998). Virulence of *Aeromonas* spp. Isolated from Red Leg Disease Frog. In **Proceedings of the 36th Kasetsart University Annual Conference**. Bangkok: Kasetsart University. pp. 1-10
- [23] Schadich, E. and Cole, A. L. J. (2010). Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* to Brown Tree Frogs (*Litoria ewingii*). **Comparative Medicine**. Vol. 60, No. 2, pp. 114-117
- [24] Pearson, M. D. (1998). **Motile *Aeromonas* Septicaemia of Farmed *Rana* spp.** Ph.D. thesis, Stirling, UK: University of Stirling
- [25] Janda, J. M. (1991). Recent Advances in the Study of the Taxonomy, Pathogenicity, and Infectious Syndromes Associated with the genus *Aeromonas*. **Clinical Microbiology Reviews**. Vol. 4, No. 4, pp. 397-410. DOI: 10.1128/cmr.4.4.397
- [26] Woodhams, D. C., Ardipradja, K., Alford, R. A., Marantelli, G., Reinert, L. K., and Rollins-Smith, L. A. (2007). Resistance to Chytridiomycosis Varies Among Amphibian Species and is Correlated with Skin Peptide Defenses. **Animal Conservation**. Vol. 10, pp. 409-417
- [27] Lee, S. W., Najiah, M., Wendy, W., Nadirah, M., and Faizah, S. H. (2008). Occurrence of Heavy Metals and Antibiotic Resistance in Bacteria from Internal Organs of American Bullfrog (*Rana catesbeiana*) Raised in Malaysia. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**. Vol. 15, No. 2, pp. 353-358. DOI: 10.1590/S1678-91992009000200016
- [28] Food and Drug Administration. (2019). Ministry of Public Health Announcement In accordance with the Food Act BE 2522 (No. 303) BE 2550 Regarding Food Containing Animal Residues. In **The Food Act BE 2522, with the Ministerial Regulations and Notifications of the Ministry of Public Health (Revised version, 2019)**. Bangkok: Food and Drug Administration, Ministry of Public Health. pp. 418-433