NU Science Journal 2010; 7(1): 102 - 113

ความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ในปลาดุกอัฟริกัน (*Clarias gariepinus*) ที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*], วรรณิศา แสนโคตร[2], ไตรมาศ บุญไทย[3] และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[4]

Bacterial diversity of total heterotrophic bacteria in cultured African walking catfish (*Clarias gariepinus*) in Chachoengsao Province

Subuntith Nimrat[1], Wannisa Saenkod[2], Traimat Boonthai[3] and Verapong Vuthiphandchai[3]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[3]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[4]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
* Corresponding author. E-mail: subunti@buu.ac.th

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดของปลาดุกอัฟริกันที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทราจำนวน 14 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 พบว่าจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดจากตัวอย่างผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกันมีค่าเท่ากับ $3.00 \pm 1.50 \times 10^6$ CFU/cm^2, $5.82 \pm 2.00 \times 10^6$ CFU/g และ $10.57 \pm 3.60 \times 10^2$ CFU/g ตามลำดับ ซึ่งแบคทีเรียที่พบได้ในตัวอย่างผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน ได้แก่ *Aeromonas eucrenophila*, *A. veronii*, *Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas putida*, *Alicyclobacillus acidocaldarius* และ *Chryseobacterium meningosepticum* โดย *A. veronii* พบมากที่สุดในตัวอย่างผิวหนังและเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน และ *C. meningosepticum* พบว่ามีมากที่สุดในตัวอย่างลำไส้ของปลาดุกอัฟริกัน นอกจากนี้ยังพบว่า *B. laterosporus* และ *B. megaterium* พบได้เฉพาะในตัวอย่างผิวหนังของปลาดุกอัฟริกัน *Pseudomonas luteola* พบได้เฉพาะในตัวอย่างเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน ส่วน *P. fluorescens* พบได้เฉพาะในตัวอย่างลำไส้ของปลาดุกอัฟริกัน

คำสำคัญ: ปลาดุกอัฟริกัน, แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด

Abstract

The distribution of total heterotrophic bacteria in 14 samples of cultured African walking catfish (*Clarias gariepinus*) in Chachoengsao province, Thailand, during October to December 2008 was investigated. The average of total heterotrophic bacteria numbers from the skin, intestine and fish meat were 3.00 ± 1.50 x10^6 CFU/cm^2, 5.82 ± 2.00 x10^6 CFU/g and 10.57 ± 3.60 x10^2 CFU/g, respectively. *Aeromonas eucrenophila*, *A. veronii*, *Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas putida*, *Alicyclobacillus acidocaldarius* and *Chryseobacterium meningosepticum* were found from all tested samples. The predominant bacterial species from skin and fish meat was *A. veronii* while *C. meningosepticum* was dominant in the intestine. Moreover, *B. laterosporus* and *B. megaterium* were found from the fish skin. *Pseudomonas luteola* were found only from fish meat and *P. fluorescens* were found only from the intestine.

Keywords: Clarias gariepinus, Total heterotrophic bacteria

บทนำ

ปลาน้ำจืดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญและเป็นที่นิยมบริโภคของคนทั่วโลก เนื่องจากมีรสชาติอร่อยและเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ หาง่าย ราคาไม่สูงมาก (จำเนียร ทองพันชั่ง, 2542) ปลาดุกอัฟริกัน (*Clarias gariepinus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาบริโภค รวมทั้งเกษตรกรไทยยังนิยมเพาะเลี้ยงเพื่อนำพ่อพันธุ์ปลาดุกอัฟริกันมาผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ปลาดุกอุยเพื่อให้ได้ปลาดุกลูกผสมที่มีชื่อว่าปลาดุกบิ๊กอุย ซึ่งเป็นปลาที่นิยมบริโภคกันมาก เนื่องจากโตเร็ว รสชาติอร่อยและทนทานต่อโรค ปลาดุกอัฟริกันมีชื่อที่ใช้เรียกในแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกันไป เช่น ปลาดุกยักษ์ ปลาดุกรัสเซีย ปลาดุกอเมซอน ปลาดุกคองโก ปลาดุกคอมมิวนิสต์และปลาดุกอัฟริกัน (สันต์ นาตะสุวรรณ, 2548; สุทธิชัย ปทุมล่องทอง, 2548)

แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรป (Heterotrophic bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน ซึ่งพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ดิน น้ำ อากาศและอาหาร รวมทั้งระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เป็นต้น แบคทีเรียกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงและหมุนเวียนของสารในวัฏจักรธรณีเคมี (Geochemical cycle) ในระบบนิเวศ และยังมีบทบาทสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ ซึ่งสร้างความเสียหายอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำจืด ยกตัวอย่างเช่น *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Flavobacterium columnare*, *Edwardsiella tarda*,

Streptococcus iniae และ *Yersinia ruckeri* เป็นต้น (อุธร ฤทธิลึก, 2550; Kawula *et al*., 1996) นอกจากนี้แบคทีเรียเหล่านี้บางชนิดยังก่อโรคในมนุษย์อีกด้วย เช่น *A. hydrophila* และ *S. iniae* ตามปกติแล้วการเพาะเลี้ยงปลาดุกอัฟริกันมักเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่นในบ่อดินและมีการให้อาหารในปริมาณมาก ทำให้มีเศษอาหารหลงเหลือเป็นจำนวนมากซึ่งเป็นปัจจัยที่เอื้อต่อการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปและอาจนำไปสู่การแพร่ระบาดของแบคทีเรียก่อโรคในระบบเพาะเลี้ยงปลาดุกอัฟริกัน

ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดการและเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของแบคทีเรียก่อโรคในระบบเพาะเลี้ยงปลาดุกอัฟริกันต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปลาดุกอัฟริกัน

สุ่มจับปลาดุกอัฟริกันจำนวน 14 ตัวอย่างที่เพาะเลี้ยงในบ่อดินของฟาร์ม 7 แห่งในจังหวัดฉะเชิงเทรา ในช่วงเดือนตุลาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2551 ซึ่งมีอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 30 – 32 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างมาผ่าเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การศึกษาจำนวนและชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรป (ดัดแปลงจากวิธีของ ชนกันต์ จิตมนัสและคณะ, 2548; Al-Harbi and Uddin 2004; Colwell, 1962)

การศึกษาจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากตัวอย่างผิวหนังปลาดุกอัฟริกัน โดยนำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มใน Normal saline 0.85% Swab บริเวณผิวหนังของปลาดุกอัฟริกันให้ได้พื้นที่ผิว 30 ตารางเซนติเมตร (cm^2) แล้วนำไปจุ่มลงใน Normal saline 0.85% หลอดใหม่ ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารละลายผสมที่ได้มาเจือจางด้วย Normal saline 0.85% ให้ได้ตามระดับความเจือจาง 10^{-1}- 10^{-4} การศึกษาจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากลำไส้ปลาดุกอัฟริกันโดยชั่งน้ำหนักลำไส้ปลา 1 กรัม ผสมกับ Normal saline 0.85% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมอาหาร จากนั้นนำสารละลายผสมที่ได้มาเจือจางด้วย Normal saline 0.85% ให้ได้ตามระดับความเจือจาง 10^{-1}- 10^{-4} ส่วนการศึกษาจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดจากเนื้อปลาดุกอัฟริกันโดยชั่งน้ำหนักเนื้อปลา 25 กรัม ผสมกับ Normal saline 0.85% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วตีบดให้ละเอียดด้วยเครื่องตีผสมอาหาร จากนั้นนำสารละลายผสมที่ได้มาเจือจางด้วย Normal saline 0.85% ให้ได้ตามระดับความเจือจาง 10^{-1}- 10^{-4} นำสารละลายจากตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar โดยแต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำ จากนั้นทำการสเปรดเพลท บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 - 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี

แล้วคำนวณเป็น CFU/cm^2 และ CFU/g ตามลำดับ นำโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะแตกต่างกันชนิดละ 10 ไอโซเลท มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจัดจำแนกแบคทีเรียตามวิธีของ Krieg และ Holt (1984), Sneath และคณะ (1986) และ Winn และคณะ (2006) จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแต่ละชนิดที่จัดจำแนกได้แล้วแสดงผลเป็นค่าร้อยละของแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจพบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองแสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Paired samples t-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการทดลอง

1. จำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากปลาดุกอัฟริกัน

จากการศึกษาจำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากตัวอย่างผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน พบว่าจำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปที่พบบริเวณผิวหนังของปลาดุกอัฟริกันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $3.00 \pm 1.50 \times 10^6$ CFU/cm^2 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับจำนวนแบคทีเรียที่พบบริเวณตัวอย่างลำไส้ปลาดุกอัฟริกัน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $5.82 \pm 2.00 \times 10^6$ CFU/g แต่อย่างไรก็ตามจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปของตัวอย่างผิวหนังและลำไส้ของปลาดุกอัฟริกันมีค่าสูงกว่าจำนวนแบคทีเรียที่พบบริเวณเนื้อปลาดุกอัฟริกันอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $10.57 \pm 3.60 \times 10^2$ CFU/g แสดงดังในตาราง 1

ตาราง 1 จำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน

ตัวอย่าง	จำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรป		
	ผิวหนัง (x 10^6 CFU/cm^2)	ลำไส้ (x 10^6 CFU/g)	เนื้อ (x 10^2 CFU/g)
1	$0.85 \pm 0.04^{b,3}$	$0.10 \pm 0.01^{b,2}$	$9.33 \pm 1.52^{b,1}$
2	$0.46 \pm 0.05^{b,2}$	$1.57 \pm 0.03^{c,3}$	$4.67 \pm 0.57^{a,1}$
3	$0.05 \pm 0.007^{a,3}$	$0.01 \pm 0.002^{a,2}$	$6.00 \pm 5.00^{ab,1}$
4	$0.03 \pm 0.005^{a,3}$	$0.01 \pm 0.002^{a,2}$	$5.33 \pm 1.52^{ab,1}$
5	$0.22 \pm 0.01^{b,3}$	$0.02 \pm 0.0001^{a,2}$	$11.00 \pm 1.00^{b,1}$
6	$0.08 \pm 0.008^{a,1}$	$11.13 \pm 2.00^{d,2}$	$5.33 \pm 1.52^{ab,1}$
7	$1.43 \pm 0.04^{c,2}$	$1.41 \pm 0.12^{c,2}$	$11.00 \pm 2.00^{b,1}$
8	$7.60 \pm 0.50^{c,3}$	$1.41 \pm 0.03^{c,2}$	$18.66 \pm 1.52^{c,1}$
9	$6.73 \pm 0.55^{c,3}$	$4.80 \pm 0.36^{c,2}$	$10.00 \pm 1.00^{b,1}$
10	$16.63 \pm 1.17^{d,3}$	$8.37 \pm 1.17^{cd,2}$	$10.00 \pm 1.00^{b,1}$
11	$0.56 \pm 0.05^{b,2}$	$0.05 \pm 0.001^{a,2}$	$15.00 \pm 3.61^{bc,1}$
12	$0.83 \pm 0.13^{b,3}$	$0.15 \pm 0.01^{b,2}$	$15.67 \pm 3.21^{bc,1}$
13	$1.14 \pm 0.010^{bc,3}$	$0.13 \pm 0.01^{b,2}$	$23.00 \pm 1.00^{d,1}$
14	$5.30 \pm 0.70^{c,2}$	$10.57 \pm 0.90^{d,2}$	$3.00 \pm 2.00^{a,1}$
ค่าเฉลี่ย	3.00 ± 1.50^{2}	5.82 ± 2.00^{2}	10.57 ± 3.60^{1}

หมายเหตุ : ตัวเลขที่ต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปที่พบในปลาดุกอัฟริกัน

จากการเก็บตัวอย่างปลาดุกอัฟริกันทั้งหมด 14 ตัวอย่าง พบว่าแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปที่พบได้ทั้งบริเวณผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน คือ *Aeromonas eucrenophila*, *A. veronii*, *Bacillus sphaericus*, *Alicyclobacillus acidocaldarius*, *Pseudomonas putida* และ *Chryseobacterium meningosepticum* โดยพบว่า *A. veronii* พบมากที่สุดในตัวอย่างเนื้อและผิวหนังของปลาดุกอัฟริกัน ส่วน *C. meningosepticum* พบมากที่สุดในตัวอย่างลำไส้ของปลาดุกอัฟริกัน นอกจากนี้ยังพบว่า *B. laterosporus* และ *B. megaterium* เป็นแบคทีเรียที่พบได้เฉพาะตัวอย่างผิวหนังของปลาดุกอัฟริกัน ขณะที่ *P. luteola* พบได้เฉพาะในตัวอย่างเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน ส่วน *P. fluorescens* พบได้เฉพาะในตัวอย่างลำไส้ของปลาดุกอัฟริกัน แสดงดังในตาราง 2

ตาราง 2 ชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกัน

แบคทีเรีย	ผิวหนัง (%)	ลำไส้ (%)	เนื้อ (%)
Kytococcus sedentarius	1.00 ± 0.20	4.34 ± 0.83	-
Bacillus coagulans	9.00 ± 2.20	6.00 ± 1.50	-
Bacillus sphaericus	3.50 ± 0.82	8.16 ± 1.67	3.30 ± 0.90
Bacillus laterosporus	5.00 ± 0.80	-	-
Bacillus megaterium	3.00 ± 1.10	-	-
Alicyclobacillus acidocaldarius	2.50 ± 0.93	18.14 ± 3.00	3.00 ± 1.00
Aeromonas eucrenophila	16.00 ± 2.80	16.40 ± 2.74	16.10 ± 2.30
Aeromonas veronii	45.00 ± 3.00	5.48 ± 1.00	28.30 ± 2.80
Pseudomonas putida	1.50 ± 0.38	5.77 ± 1.40	15.00 ± 3.10
Pseudomonas fluorescens	-	5.79 ± 2.00	-
Pseudomonas luteola	-	-	2.00 ±0.53
Burkholderia cepacia complex	5.20 ± 1.30	3.89 ± 0.90	-
Chryseobacterium meningosepticum	7.00 ± 1.20	19.60 ± 3.81	4.20 ± 1.14
Yersinia ruckeri	1.30 ± 0.47	-	25.50 ± 3.00
Acinetobacter spp./*Acinetobacter haemolyticus*	-	6.43 ±1.70	2.60 ± 0.58
รวม	100.00	100.00	100.00

หมายเหตุ: เครื่องหมาย - คือ ไม่พบ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในปลาดุกอัฟริกันที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปจากตัวอย่างผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $3.00 \pm 1.50 \times 10^6$ CFU/cm^2, $5.82 \pm 2.00 \times 10^6$ CFU/g และ $10.57 \pm 3.60 \times 10^2$ CFU/g ตามลำดับ จำนวนแบคทีเรียที่พบในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนค่อนข้างสูง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนทำให้อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำค่อนข้างสูง ซึ่งเหมาะแก่การเจริญของแบคทีเรียกลุ่มชอบอุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) (Rheinheimer, 1985) นอกจากนี้อาจเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สูงขึ้นของสัตว์น้ำและจุลินทรีย์อันเนื่องมาจากปริมาณสารอาหารที่อุดมสมบูรณ์และอุณหภูมิที่เหมาะสมของระบบเพาะเลี้ยง (Shewan and Hobbs, 1967; Hossain *et al*., 1999; Al-Harbi and Uddin, 2005) จำนวน

แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปที่พบในการศึกษาในครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของ Al-Harbi และ Uddin (2004) ที่รายงานว่าจำนวนแบคทีเรียในลำไส้ของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) ที่เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส มีค่าอยู่ระหว่าง $6.8 \times 10^6 - 7.5 \times 10^7$ CFU/g แต่อย่างไรก็ตามจำนวนแบคทีเรียที่พบในการศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณแตกต่างจากจำนวนที่พบในปลาน้ำจืดชนิดอื่น (Sakata *et al*., 1984; Sugita *et al*., 1985; Chowdhury *et al*., 1989) โดยลำไส้ของปลาไน (*Cyprinus carpio*) ที่เพาะเลี้ยงในประเทศญี่ปุ่นมีจำนวนแบคทีเรียเท่ากับ 1.7×10^5 CFU/g (Mahmoud *et al*., 2004) ในขณะที่จำนวนแบคทีเรียที่พบในลำไส้ของปลานิลที่เพาะเลี้ยงแบบกึ่งหนาแน่นในประเทศบังกลาเทศและบราซิลมีค่าเท่ากับ $8.81 \pm 0.45 \times 10^5$ และ $1.5 \times 10^4 - 1.6 \times 10^5$ CFU/g (Molinari *et al*., 2003; Mandal *et al*., 2009) รวมทั้งยังมีรายงานว่าจำนวนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปที่พบบริเวณผิวหนังของปลาดุก (*Clarias* sp.) มีค่าอยู่ระหว่าง $10^4 - 10^5$ CFU/cm^2 (Watanabe, 1971) ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาในครั้งนี้ ($3.00 \pm 1.50 \times 10^6$ CFU/cm^2) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าจำนวนแบคทีเรียที่ตรวจในปลาน้ำจืดมีความแตกต่างกันอาจเป็นผลมาจากสภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกัน (Cahill, 1990; Al-Harbi and Uddin, 2004)

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวนแบคทีเรียที่พบบริเวณลำไส้และผิวหนังของปลาดุกอัฟริกันมีค่าสูงกว่าจำนวนของแบคทีเรียที่พบบริเวณเนื้ออย่างชัดเจน ทั้งนี้แบคทีเรียที่มีปริมาณมากในบริเวณลำไส้อาจเป็นเพราะโครงสร้างของลำไส้นั้นมีลักษณะเป็นช่องหรือโพรงและมีสารอาหารที่เหมาะแก่การเจริญของแบคทีเรีย (Austin and Austin, 1987; Cahill, 1990) ส่วนผิวหนังของปลามีการสัมผัสกับแบคทีเรียจากบ่อเพาะเลี้ยงซึ่งได้รับสารอาหารในปริมาณมาก โดยแบคทีเรียเหล่านี้จะเข้าเกาะที่บริเวณผิวหนังของปลาหรือเมือกของปลา (Horsley, 1973)

แบคทีเรียกลุ่มเด่นที่พบบริเวณผิวหนัง ลำไส้และเนื้อของปลาดุกอัฟริกันส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (76.00%, 63.36% และ 93.70% ตามลำดับ) ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบที่พบในปลาดุกอัฟริกัน ได้แก่ *Aeromonas eucrenophila*, *A.* veronii, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *P. luteola*, *Burkholderia cepacia* complex, *Chryseobacterium meningosepticum*, *Yersinia ruckeri* และ *Acinetobacter* spp./*Acinetobacter haemolyticus* โดย Nahiduzzaman และคณะ (2000) พบว่าแบคทีเรียที่พบในปลาดุกลูกผสม (*Clarias* sp.) ที่เพาะเลี้ยงในบ่อดินของประเทศบังกลาเทศประกอบด้วยแบคทีเรียหลากหลายชนิด ได้แก่ *Aeromonas*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* และแบคทีเรียกลุ่ม Coryneforms นอกจากนั้น Sugita และคณะ (1982) รายงานว่าแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่ในปลานิลเป็นแบคทีเรียในสกุล *Aeromonas*, *Pseudomonas* และแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ในขณะที่แบคทีเรียที่พบในปลาไน ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Bacillus* และแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae (Mahmoud *et al*., 2004) และแบคทีเรียที่พบในปลา

น้ำจืดชนิดอื่น ได้แก่ *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* และแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae เช่นเดียวกัน (Sugita *et al*., 1996; Izvekova *et al*., 2007) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่พบในปลาน้ำจืดส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบและปลาแต่ละชนิดมีความหลากหลายของแบคทีเรียแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเกิดจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงและเทคนิคในการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา (Cahill, 1990; Al-Harbi and Uddin, 2005) รวมทั้งแบคทีเรียแต่ละชนิดที่พบที่บริเวณต่าง ๆ ของปลาดุกอัฟริกันมีการแพร่กระจายที่แตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้พบว่าแบคทีเรียสกุล *Aeromonas* (*A. eucrenophila* และ *A. veronii*) พบมากบริเวณผิวหนัง (16.00 – 45.00%) ส่วน *Al. acidocaldarius*, *A. eucrenophila* และ *C. meningosepticum* พบมากในลำไส้ (16.40 – 19.60%) ในขณะที่ *A. eucrenophila*, *A. veronii*, *P. putida* และ *Y. ruckeri* พบมากบริเวณเนื้อ (15.00 – 28.30%) จากข้อมูลดังกล่าวเห็นได้ว่า *A. eucrenophila* เป็นแบคทีเรียที่พบได้มากในทั้งสามบริเวณที่เก็บตัวอย่าง ซึ่งการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่ไม่เท่ากันในแต่ละบริเวณของปลาดุกอัฟริกันในครั้งนี้อาจเกิดจากความสามารถในการยึดเกาะที่อวัยวะต่างๆ ของแบคทีเรีย ความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตในอวัยวะต่างๆ ของแบคทีเรียและปริมาณออกซิเจนของบริเวณต่าง ๆ ของปลามีความแตกต่างกัน เป็นต้น (Cahill, 1990)

แบคทีเรียบางชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้จัดเป็นแบคทีเรียก่อโรคในปลาน้ำจืดและมนุษย์ ซึ่ง *A. veronii* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในน้ำจืดและเกี่ยวข้องกับสัตว์น้ำ โดยแบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค Motile Aeromonad Disease (MAD) ที่ทำให้เกิดอาการติดเชื้อในกระแสเลือดที่เรียกว่า Motile Aeromonad Septicemia (MAS) (Noga, 2000) โดยทำให้ปลามีเลือดออกบริเวณผิวหนัง ท้องบวม ตาโปนและตายในที่สุด สร้างความเสียหายอย่างมากกับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด นอกจากนั้นแบคทีเรียชนิดนี้ยังเกี่ยวข้องกับการโรคอุจจาระร่วงและการติดเชื้อในกระแสเลือดของผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ ซึ่งทำให้ผู้ติดเชื้อมีโอกาสการเสียชีวิตได้สูง (Janda and Abbott, 1996; Rahman *et al*., 2002) *Y. ruckeri* เป็นแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดโรค Enteric Red Mouth ในปลาหลายชนิด เช่น ปลาเทราต์สายรุ้ง (*Oncorhynchus mykiss*) และปลาสอด (*Xiphophorus maculates*) เป็นต้น (Raida and Buchmann, 2007; Ryckaert *et al*., 2009)

สำหรับ *Burkholderia cepacia* complex และ *Acinetobacter* spp. เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรคแก่สัตว์น้ำทั่วไป แต่แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ โดย *Burkholderia cepacia* complex ก่อให้เกิดโรค Chronic Granulomatous (CGD) ที่ทำให้ผู้ป่วยมีอัตราการเสียชีวิต 1 ในหนึ่งล้านคน นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดโรค Cystic fibrosis ในมนุษย์อีกด้วย (Seed and Dennis, 2005; Winn *et al*., 2006)

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าเมื่อเปรียบเทียบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของปลาดุกอัฟริกันกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ประมงที่กำหนดโดยองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization [FAO], 1979) และสมัชชานานาชาติว่าด้วยข้อตกลงด้านจุลินทรีย์ในอาหาร (International Commission on the Microbiological Specification of Foods [ICMSF], 1982) พบว่าปลาดุกอัฟริกันมีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่าข้อกำหนด ซึ่งกำหนดไว้ว่าผลิตภัณฑ์ประมงที่ยังไม่ผ่านกระบวนการแปรรูปต้องมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปไม่เกิน 10^5 CFU/g ชี้ให้เห็นว่าผู้บริโภคมีความเสี่ยงในการได้รับแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในปลาดุกอัฟริกัน รวมทั้งปลาดุกอัฟริกันมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์และในสัตว์น้ำหลากหลายชนิด ดังนั้นการบริโภคปลาชนิดนี้จึงควรปรุงให้สุกด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแบคทีเรียก่อโรค รวมทั้งเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรตระหนักถึงการควบคุมและการจัดการฟาร์มที่มีประสิทธิภาพ เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของแบคทีเรียก่อโรคที่อาจสร้างความเสียหายให้แก่การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยาและภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการทดลองและอุปกรณ์ต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

จำเนียร ทองพันชั่ง. (2542). *ปลาดุก*. กรุงเทพฯ: เกษตรศาสตร์วิชาการ.

ชนกันต์ จิตมนัส, ภาสินันท์ สาระมาศ และน้ำเพชร ประกอบศิลป์. (2548). แบคทีเรียที่แยกจากปลานิลซึ่งเลี้ยงในระบบต่างกันบริเวณหมู่บ้านแม่แก้ด จังหวัดเชียงใหม่. ใน *การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 6. เชียงใหม่*: มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 133-134.

สันต์ นาตะสุวรรณ. (2548). *คู่มือปลาน้ำจืด*. กรุงเทพฯ: เพ็ท-แพล้น พับลิชชิ่ง.

สุทธิชัย ปทุมล่องทอง. (2548). *ปลาเศรษฐกิจคู่ชีวิตคนไทย*. กรุงเทพฯ: สถาพรบุ๊ค.

อุธร ฤทธิลึก. (2550). *การเลี้ยงปลาเพื่อการค้า*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

Al-Harbi, A. H. and Uddin, M. N. (2004). Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. *Aquaculture*, *229*, 37-44.

Al-Harbi, A. H. and Uddin, M. N. (2005). Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. *Aquaculture*, *250*, 566-572.

Austin, B. and Austin, D. A. (1987). *Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish*. Chichester: Ellis Horwood.

Cahill, M. M. (1990). Bacterial flora of fishes: A review. *Microbial Ecology*, *19*, 21-41.

Chowdhury, M. B. R., Muniruzzaman, M. and Uddin, M. N. (1989). Study on the intestinal bacterial flora of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Bangladesh Journal of Aquaculture*, *11*, 65-70.

Colwell, R. R. (1962). The bacterial flora of Puget Sound fish. *Journal of Applied Bacteriology*, *25*, 147-158.

Food and Agriculture Organization [FAO]. (1979). *Manuals of food quality control*. FAO Food and Nutrition paper 14/4.

Horsley, R. W. (1973). The bacterial flora of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in relation to its environment. *Journal of Applied Bacteriology*, *36*, 377-386.

Hossain, M. M., Uddin, M. N., Islam, M. N., Chakraborty, S. C. and Kamal, M. (1999). Study on the intestinal bacteria of *Labeo rohita* (Ham.). *Bangladesh Journal of Fisheries Research*, *3*, 63-66.

International Commission on the Microbiological Specification of Foods [ICMSF]. (1982). *Microorganisms in food, sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications Vol. 2*. Toronto: University of Toronto Press.

Izvekova, G. I., Izvekov, E. I. and Plotnikov, A. O. (2007). Symbiotic microflora in fishes from different ecological groups. *Biology Bulletin*, *34*, 610-618.

Janda, J. M. and Abbott, S. L. (1996). Human pathogen. In B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling and S. W. Joseph (Eds.), *The genus Aeromonas*. New York: John Wiley & Sons, 151-173.

Kawula, T. H., Lelivelt, M. J. and Orndorff, P. E. (1996). Using a new inbred fish model and cultured fish tissue cell to study *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* pathogenesis. *Microbial Pathogenesis*, *20*, 119-125.

Krieg, N. R. and Holt, J. G. (1984). *Bergey's manual of systematic bacteriology, volume 1*. Baltimore: Williams and Wilkins.

Mahmoud, B. S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., It-Shik, S., Dong Suk, C. and Suzuki, T. (2004). Bacterial microflora of carp (Cyprinus carpio) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, *21*, 657-666.

Mandal, S. C., Hasan, M., Rahman, M. S., Manik, M. H., Mahmud, Z. H. and Islam, S. (2009). Coliform bacteria in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* of shrimp-*Gher*, pond and fish market. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, *1*(3), 160-166.

Molinari, L. M., de Oliveira Scoaris, D., Pedroso, R. B., Bittencourt, N. D. L. R., Nakamura, C. V., Ueda-Nakamura, T., et al. (2003). Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Nile tilapia, *Oreochomis niloticus*, cultured in semi-intensive system. *Maringa*, *25*, 267-271.

Nahiduzzaman, M. D., Ehshan, M. D. A., Chowdhury, B. R. and Rahman Mridha, M. D. A. (2000). Studies on bacterial flora in farmed catfish, *Clarias* hybrid. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *3*(3), 429-432.

Noga, E. J. (2000). *Fish disease, diagnosis and treatment*. Ames: Iowa State University Press.

Rahman, M., Colque-Navarro, P., Kuhn, I., Huys, G., Swings, J. and Mollby, R. (2002). Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*, 650-655.

Raida, M. K. and Buchmann, K. (2007). Bath vaccination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) against *Yersinia ruckeri*: Effects of temperature on protection and gene expression. *Vaccine*, *26*(8), 1050-1062.

Rhienheimer, G. (1985). *Aquatic microbiology* (3rd ed.). New York: John Wiley & Sons.

Ryckaert, J., Pasmans, F., Tobback, E., Duchateau, L., Decostere, A., Haesebrouck, F., et al. (2009). Heat shock proteins protect platyfish (*Xiphophorus maculatus*) from *Yersinia ruckeri* induced mortality. *Fish and Shellfish Immunology*, *28*, 228-231.

Sakata, T., Uno, K. and Kakimoto, D. (1984). Dominant bacteria of the aerobic microflora in tilapia intestine. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, *50*, 489-493.

Seed, K. D. and Dennis, J. J. (2005). Isolation and characterization of bacteriophages of the *Burkholderia cepacia* complex. *FEMS Microbiology Letters*, *251*, 273-280.

Shewan, J. M. and Hobbs, G. (1967). The bacteriology of fish spoilage and preservation. In D. J. D. Hockenhull (Ed.), *Progress in industrial microbiology*. London: Illffe Books.

Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Shape, M. E. and Volt, J. G. (1986). Bergey's manual of systematic bacteriology, volume 2. Baltimore: Williams and Wilkins.

Sugita, H., Ishida, Y., Deguchi, Y. and Kadota, H. (1982). Aerobic microflora attached to the wall surface in the gastrointestine of *Tilapia nilotica*. *Bulletin of the College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University*, *39*, 302-306.

Sugita, H., Tokuyama, K. and Deguchi, Y. (1985). The intestinal microflora of carp, *Cyprinus carpio*, grass carp, *Ctenopharyngodon idella* and tilapia, *Sarotheradon niloticus*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, *51*, 1325-1329.

Sugita, H., Shibuya, K., Shimooka, K. and Deguchi, Y. (1996). Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. *Aquaculture*, *145*, 195-203

Watanabe, K. (1971). Bacteria from fresh fish at Landind on Lakes Kariba and Tanganyika. *Fisheries Research Bulletin of Zambia*, *5*, 187-198.

Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C. et al. (2006). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.