



ภาคผนวก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก ให้เป็นไปอย่างถูกต้องเหมาะสม และปลอดภัยต่อการบริโภค

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๓) (๔) (๕) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ อันเป็นกฎหมายที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๓ มาตรา ๔๑ มาตรา ๔๓ และมาตรา ๔๕ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ในประกาศนี้

“จุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic)” หมายความว่า จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับ ในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งนี้ไม่รวมถึง

- (๑) จุลินทรีย์ ที่ใช้เป็นสารชีวบำบัด (biotherapeutic agents)
- (๒) จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (beneficial microorganisms) ที่ไม่ใช้ในอาหาร
- (๓) จุลินทรีย์ที่ได้จากการดัดแปลงพันธุกรรม (Genetically Modified Microorganism, GMM)
- (๔) จุลินทรีย์ บักเตรีย แบคทีเรีย หรือยีสต์ ตามที่กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ดังต่อไปนี้

(๔.๑) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๔๔ (พ.ศ. ๒๕๓๕) เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ ๒ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๓๕ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๐๑) พ.ศ. ๒๕๔๙ เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ ๔) ลงวันที่ ๒๘ กันยายน พ.ศ. ๒๕๔๙

(๔.๒) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๖ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง นมดัดแปลงสำหรับทารกและนมดัดแปลงสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๓) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๗ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง อาหารทารกและอาหารสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๔) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๘ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง อาหารเสริมสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๕) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๖) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง นมปรุงแต่ง ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

(๔.๖) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๗) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง ผลิตภัณฑ์ของนม ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

(๕) จุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ ที่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่นตามความจำเป็นในกระบวนการผลิตอาหารและได้ปฏิบัติตามประกาศว่าด้วยเรื่องนั้น ๆ แล้ว

“การกล่าวอ้างทางสุขภาพ (Health Claim)” หมายความว่า การแสดงรูป รูปภาพ รอยประดิษฐ์ เครื่องหมาย เครื่องหมายการค้า หรือข้อความใด ๆ บนฉลาก ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ส่วนประกอบของอาหาร หรือสารอาหารซึ่งเกี่ยวข้องกับสุขภาพทั้งทางตรงและทางอ้อม แบ่งเป็น ๓ ลักษณะ ได้แก่

(๑) การกล่าวอ้างหน้าที่สารอาหาร (Nutrient function claim) หมายความว่า การแสดงสรรพคุณ หรือคุณประโยชน์เกี่ยวกับบทบาทของสารอาหารที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย เช่น การเจริญเติบโต การพัฒนา หรือการกระทำหน้าที่ตามปกติของร่างกาย ซึ่งผ่านการพิสูจน์และเป็นที่ยอมรับในทางวิชาการแล้ว เช่น แคลเซียมช่วยให้กระดูกและฟันแข็งแรง

(๒) การกล่าวอ้างหน้าที่อื่น (Other function claim) หมายความว่า การแสดง สรรพคุณ หรือคุณประโยชน์นอกเหนือจาก (๑) ของอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่มีผลในทางเสริมสุขภาพอย่างเฉพาะเจาะจง (specific beneficial effects) หรือช่วยในการกระทำหน้าที่ให้ดียิ่งขึ้น (improvement of function) เช่น การกล่าวอ้างหน้าที่ส่วนประกอบของอาหารที่มีผลช่วยกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียม

(๓) การกล่าวอ้างการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค (Reduction of disease risk claim) หมายความว่า การแสดงสรรพคุณ คุณประโยชน์ของอาหาร หรือส่วนประกอบของอาหาร ที่มีผลในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค อาการ หรือสภาวะใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ (health-related condition) โดยเป็นการเปลี่ยนแปลงปัจจัยเสี่ยงหลัก (major risk factor) สำหรับโรคนั้น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ เช่น การกล่าวอ้างว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงมีผลช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคกระดูกพรุน

ข้อ ๒ อาหารที่มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกต้องได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และต้องใช้จุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ และมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ คงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่ออาหาร ๑ กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น

การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกอื่นนอกเหนือจากที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องส่งมอบหลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัย และคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ตามหลักการใน Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, ปี ค.ศ. ๒๐๐๒ พร้อมรายละเอียดข้อมูลประกอบการยื่นขออนุญาต ดังนี้

(๑) การตรวจเอกลักษณ์ของสกุล (genus) ชนิด (species) สายพันธุ์ (strain) ด้วยวิธีการที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ทั้งทางลักษณะ (phenotype) และทางพันธุกรรม (genotype) และการเรียกชื่อ (nomenclature) ของจุลินทรีย์นั้นต้องเป็นชื่อที่ใช้อยู่ในปัจจุบันและเป็นที่ยอมรับร่วมกัน ในทางวิทยาศาสตร์

(๒) การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนี้

(๒.๑) การทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร (resistance to gastric acidity)

(๒.๒) การทนต่อสภาวะของเกลือน้ำดี (bile salt resistance)

(๒.๓) ความสามารถในการเกาะติดกับเยื่อเมือก หรือ เซลล์ผิวเยื่อของมนุษย์หรือ เซลล์ไลน์ (adherence to mucus and/or human epithelial cells and cell line)

(๒.๔) ฤทธิ์ของเอนไซม์ไฮโดรเลสในการย่อยเกลือน้ำดี (bile salt hydrolase activity)

และ

(๒.๕) คุณสมบัติอื่น ๆ (ถ้ามี) แล้วแต่กรณี

(๓) การประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อมนุษย์ โดยการทดสอบ นอกกาย (in vitro) หรือในสัตว์ (in vivo) และการศึกษาในมนุษย์ เพื่อประเมินความปลอดภัย และปฏิกิริยาของร่างกายต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนี้

(๓.๑) การติดต่อสารปฏิชีวนะ

(๓.๒) การประเมินฤทธิ์ทางเมแทบอลิก เช่น การผลิตดี - แลกเตต (D-lactate) หรือ การสลายเกลือน้ำดี เป็นต้น

(๓.๓) การประเมินผลข้างเคียงระหว่างการศึกษามนุษย์

(๓.๔) การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของอุบัติการณ์ที่ไม่พึงประสงค์ในผู้บริโภค หลังออกจำหน่ายในท้องตลาด

(๓.๕) การสร้างสารพิษ กรณีที่สายพันธุ์ที่ประเมินนั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดที่มีการผลิตสารพิษ และ

(๓.๖) ฤทธิ์ทางฮีโมไลติก กรณีที่สายพันธุ์ที่ประเมินนั้นอยู่ในกลุ่มของจุลินทรีย์ ชนิดที่มีโอกาสทำให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง

ข้อ ๓ การกล่าวอ้างทางสุขภาพสำหรับการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารต้องเป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไข ดังนี้

(๑) ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องแจ้งรายละเอียดของอาหารและส่วนประกอบของอาหารในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการกล่าวอ้างนั้นให้ครบถ้วนและเพียงพอ และต้องส่งมอบผลการศึกษามนุษย์อย่างน้อยจากสองสถาบัน เพื่อประกอบการพิจารณาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ ดังนี้

(๑.๑) การศึกษามนุษย์ที่มีการออกแบบอย่างดี (well design human intervention study) หรือ

(๑.๒) การศึกษามนุษย์ที่มีการออกแบบอื่น ๆ ที่เหมาะสมโดยมีจำนวน ตัวอย่าง และผลการศึกษาเบื้องต้นที่เพียงพอที่จะพิจารณาประสิทธิภาพของสายพันธุ์หรืออาหาร

การออกแบบการศึกษามนุษย์ตามข้อ (๑.๑) และข้อ (๑.๒) ต้องมีการออกแบบการศึกษาที่คำนึงถึงรายละเอียดดังต่อไปนี้

(ก) กลุ่มศึกษาต้องเป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรเป้าหมายได้ (study groups that are representative of the target group)

(ข) กลุ่มควบคุม (control) ต้องเหมาะสม (appropriate control)

(ค) ช่วงระยะเวลาการได้รับสัมผัสที่เพียงพอและมีการติดตามเพื่อแสดงผลที่มุ่งหมายให้เกิดขึ้น (an adequate duration of exposure and follow up to demonstrate the intended effect)

(ง) การแสดงพื้นฐานการบริโภคอาหารและรูปแบบการใช้ชีวิตด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องของกลุ่มศึกษา (characterization of the study groups' background diet and other aspects of relevant of lifestyle)

(จ) ปริมาณของอาหารและส่วนประกอบของอาหารที่สอดคล้องกับรูปแบบการบริโภคที่มุ่งหมาย (an amount of the food or food component consistent with its intended pattern of consumption)

(ฉ) ประเภทและบริบทของอาหารที่ส่งผลต่อหน้าที่ของจุลินทรีย์ โพรไบโอติก (the influence of the food matrix and dietary context on the functional effect of the component)

(ช) การตรวจติดตามความเป็นไปตามข้อกำหนดในการบริโภคอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ทดลองของกลุ่มศึกษา (monitoring of subjects' compliance concerning intake of food or food component under test)

(ซ) วิธีทางสถิติที่มีความหนักแน่นและเหมาะสมในการทดสอบสมมติฐาน (the statistical power to test the hypothesis)

ผลการศึกษาตามข้อ (๑.๑) และข้อ (๑.๒) ดังกล่าว อย่างน้อยต้องระบุตัวแปร หรือปัจจัยที่กำหนด (parameter) ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ชนิดและประเภทของอาหาร ขนาดหน่วยบริโภค ปริมาณของจุลินทรีย์โพรไบโอติก และระยะเวลาที่ทำให้เกิดผลตามความมุ่งหมายในการใช้ กรณีที่ผลการศึกษานั้นไม่สามารถวัดจุดสิ้นสุด (endpoint) โดยตรงได้ เนื่องจากผลกระทบต่อสุขภาพหรือ ประโยชน์หลักที่ต้องใช้เวลาเนิ่นนานจึงจะปรากฏให้เห็น ความเป็นไปได้หรือประเด็นทางจริยธรรม และข้อจำกัดทางทรัพยากร เช่น ค่าตรวจวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายสูง อาจใช้ตัวชี้วัด (markers) ที่เหมาะสมแทน โดยตัวชี้วัดดังกล่าวต้องมีความถูกต้องทางชีวภาพซึ่งสัมพันธ์ต่อผลลัพธ์สุดท้ายและความแปรผันภายในประชากรกลุ่มเป้าหมาย และต้องมีความถูกต้องทางวิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะ ของตัวชี้วัดนั้น

(๒) การกล่าวอ้างทางสุขภาพต้องพิสูจน์ได้ทางวิทยาศาสตร์ โดยคำนึงถึงความครบถ้วนสมบูรณ์ของข้อมูลและหลักฐานที่มีน้ำหนักเพียงพอในประเด็นต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

(๒.๑) ผลที่ได้สอดคล้องกับผลจากหลักฐานหรือวิธีการอื่น

(๒.๒) ความถูกต้องตามวิธีการด้านเทคโนโลยีการอาหาร

(๒.๓) การเก็บตัวอย่างเป็นแบบสุ่มเลือก

(๒.๔) ความสัมพันธ์ด้านการตอบสนองระหว่างปริมาณอาหารหรือส่วนประกอบของอาหาร และผลทางสุขภาพที่เกี่ยวข้อง

(๒.๕) ความเป็นไปได้ทางชีวภาพ

(๓) เงื่อนไขการแสดงการกล่าวอ้างทางสุขภาพบนฉลาก ต้องเป็นดังนี้

การกล่าวอ้างทางสุขภาพต้องไม่ทำให้เข้าใจว่าการบริโภคอาหาร ส่วนประกอบของอาหาร หรือสารอาหารนั้น สามารถบำบัด บรรเทา รักษา หรือป้องกันโรคได้ และต้องแสดงข้อความเป็นภาษาไทย ด้วยขนาดตัวอักษรที่ใกล้เคียงกัน เห็นได้ง่าย อ่านได้ชัดเจน และอาจมีข้อความเป็นภาษาอื่นที่มีความหมายทำนองเดียวกันกับภาษาไทยแสดงไว้ด้วยก็ได้ และข้อความแสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๓.๑) ข้อความว่า “ผลิตภัณฑ์นี้ไม่ใช่สำหรับรักษา บำบัด บรรเทา หรือป้องกันโรค”

(๓.๒) สกุล (Genus) ชนิด (Species) และสายพันธุ์ (Strain) ของจุลินทรีย์ โปรไบโอติก ที่เป็นส่วนผสม

(๓.๓) ปริมาณและช่วงระยะเวลาที่แนะนำให้บริโภคซึ่งให้ผลต่อสุขภาพตามกล่าวอ้าง

(๓.๔) ข้อความกล่าวอ้างทางสุขภาพ เช่น “จุลินทรีย์โปรไบโอติก” “โปรไบโอติก” หรือข้อความกล่าวอ้างอื่น

(๓.๕) ข้อแนะนำการใช้ และสภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสม

(๓.๖) ช่องทางสำหรับให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภค เช่น สถานที่ติดต่อ หมายเลข โทรศัพท์ หรือเว็บไซต์

ข้อ ๔ การแสดงฉลากของอาหารที่มีจุลินทรีย์โปรไบโอติกให้เป็นไปตาม

(๑) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

(๒) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลากโภชนาการ

(๓) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องของอาหารนั้น

ข้อ ๕ ให้ผู้ผลิตหรือนำเข้าอาหารตามข้อ ๒ อยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ปฏิบัติให้เป็นไปตามประกาศฉบับนี้ภายในหนึ่งปีนับแต่วันที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ และให้ใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปได้ แต่ไม่เกินหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ

ข้อ ๖ ประกาศฉบับนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๗ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๔

จรินทร์ ลักษณวิศิษฏ์

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร
แบบถ่ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

๑. บาซิลลัส โคแอกกูแลน	<i>Bacillus coagulans</i>
๒. บีฟิโดแบคทีเรียม อะโดเลสเซนทิส	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
๓. บีฟิโดแบคทีเรียม อะนิมอลิส	<i>Bifidobacterium animalis</i>
๔. บีฟิโดแบคทีเรียม บิฟิดัม	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
๕. บีฟิโดแบคทีเรียม เบรเว	<i>Bifidobacterium breve</i>
๖. บีฟิโดแบคทีเรียม อินฟานทิส	<i>Bifidobacterium infantis</i>
๗. บีฟิโดแบคทีเรียม แล็กทิส	<i>Bifidobacterium lactis</i>
๘. บีฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม	<i>Bifidobacterium longum</i>
๙. บีฟิโดแบคทีเรียม ซูโดลองกัม	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>
๑๐. เอ็นเทอโรค็อกคัส ดูแรน	<i>Enterococcus durans</i>
๑๑. เอ็นเทอโรค็อกคัส เฟเซียม	<i>Enterococcus faecium</i>
๑๒. แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
๑๓. แล็กโทบาซิลลัส คริสปาทัส	<i>Lactobacillus crispatus</i>
๑๔. แล็กโทบาซิลลัส แก็สเซอร์	<i>Lactobacillus gasseri</i>
๑๕. แล็กโทบาซิลลัส จอห์นโซนนี	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
๑๖. แล็กโทบาซิลลัส พาราเคซี	<i>Lactobacillus paracasei</i>
๑๗. แล็กโทบาซิลลัส เรูเทรี	<i>Lactobacillus reuteri</i>
๑๘. แล็กโทบาซิลลัส รามโนซัส	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
๑๙. แล็กโทบาซิลลัส ซาลิวาเรียส	<i>Lactobacillus salivarius</i>
๒๐. แล็กโทบาซิลลัส ซีอี	<i>Lactobacillus zeae</i>
๒๑. โพรพิโอนิแบคทีเรียม อะราบินอซุม	<i>Propionibacterium arabinosum</i>
๒๒. สแตปฟีโลคอคคัส ไชนูรี	<i>Staphylococcus sciuri</i>
๒๓. แซ็กคาโรไมซีส เซร์วิซิอี สับสปิซิเย บัวลาดิอิ	<i>Saccharomyces cerevisiae subsp. Boulardii</i>

อ้างอิงจาก *Bulletin of the International Dairy Federation No.377/2002*

บทความปริทัศน์

โรคปลานิล

ชนกันต์ จิตมนัส

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ งานเขียนนี้มีจุดประสงค์เพื่อนำเสนอเกี่ยวกับโรคปลานิลที่ได้จากการทบทวนเอกสารและการสำรวจโรคปลานิลในเขตภาคเหนือตอนบน พบว่า ความเสียหายกับลูกปลานิลมักเกิดจากความบอบช้ำจากการขนส่งที่ทำให้ปลาอ่อนแอและเสี่ยงต่อการเกิดโรค โดยเฉพาะการติดเชื้อแบคทีเรีย *Flavobacterium columnarae* แทรกซ้อน นอกจากนี้ยังพบลูกปลาติดเชื้อปรสิตเห็บระฆัง (*Trichodina* spp.) และเป็นโรค *Epitheliocystis* รายละเอียดเกี่ยวกับโรคติดเชื้อและไม่ติดเชื้อจะมีการอภิปรายในงานนี้ เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลมักจะละเลยเกี่ยวกับการจัดการคุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสม ไม่มีการตรวจวัดปริมาณออกซิเจนในบ่อเลี้ยง มักจะมีการให้ออกซิเจนหรือเปลี่ยนถ่ายน้ำ หลังจากพบปลาตายจำนวนมาก ทำให้การแก้ไขค่อนข้างช้าเกินไป เกษตรกรที่ปล่อยปลานิลหนาแน่นสูง มักจะประสบปัญหาปลาตายเนื่องจากการขาดออกซิเจนเมื่อปลาโตขึ้น การจับปลาขายบางส่วนไม่ใช่เป็นทางออกที่ดี เพราะทำให้ปลาที่เหลือในบ่อช้า อ่อนแอและเกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย ก่อให้เกิดความสูญเสียจำนวนมากรวมทั้งการไม่นำปลาที่ตายหรือป่วยออกจากบ่อ ทำให้น้ำเสีย เกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อโรคและมีแพร่ระบาดของเชื้อโรคไปยังปลาที่อ่อนแอ เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(1): 75-86

คำสำคัญ: ปลานิล โรคปลา ปรสิต เห็บระฆัง แบคทีเรีย ไวรัส

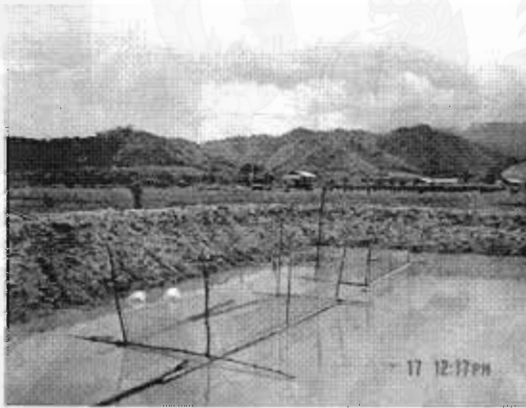
ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: ชนกันต์ จิตมนัส คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 64 หมู่ 3 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ 50290 E-mail address: chanagun1@hotmail.com ได้รับบทความวันที่ 30 สิงหาคม 2555

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปลานิลเป็นอาหารโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ไขมันต่ำ เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว การบริโภคปลานิลในประเทศไทยสูงถึง 30% ของการบริโภคปลาทั้งหมด (Piumsombun, 2003) และมีแนวโน้มการบริโภคที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ไทยได้ผลิตปลานิลได้สูงถึง 221,042 ตันในปี 2552 (ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2552) คิดเป็น 42% ของผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดมีแนวโน้มการส่งออกสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี 2552 มีปริมาณผลผลิตปลานิลส่งออกรวม 14,103 ตัน มูลค่าการส่งออกสูงถึง 1,153

ล้านบาท (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง, 2555) ปัจจุบันผลผลิตปลานิลยังไม่เพียงพอับความต้องการของตลาด ทำให้การเลี้ยงปลานิลเป็นธุรกิจการเกษตรที่ได้รับความสนใจของประชาชนทั่วไป

แม้ว่าปลานิลสามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพทั้งในบ่อดินและในกระชัง อุปสรรคที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงปลานิล คือ โรคปลานิล ปลานิลเป็นโรคได้ง่ายขึ้น เพราะเกษตรกรนิยมปล่อยหนาแน่นมากและขาดการจัดการที่ดี รวมทั้งสภาวะแวดล้อมที่แออัดมีความแปรปรวนสูง (Ghiraldelli, Laterca Martins, Barros Adamante, & Yamashita, 2006) การจัดการสุขภาพปลานิลจึง

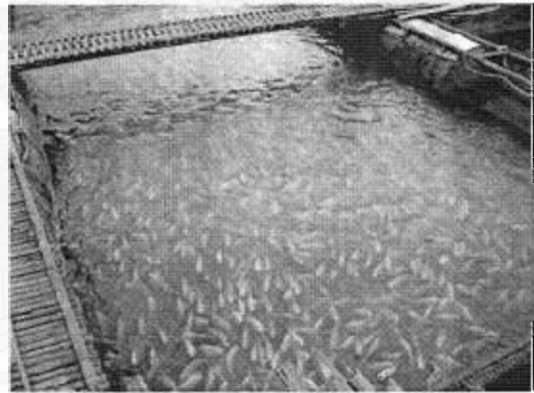
เป็นวิธีการที่ใช้เพื่อวางแผนป้องกันไม่ให้ปลาเกิดโรค และมีความจำเป็นอย่างยิ่งหากปลานิลเป็นโรคแล้ว โอกาสที่จะรักษาทำได้ยากมากและการใช้ยาปฏิชีวนะ เป็นการเพิ่มต้นทุนที่สูงขึ้นมากจนอาจทำให้ผู้เลี้ยงไม่สามารถแบกรับภาระได้ รวมทั้งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นการที่จะประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยง สัตว์น้ำ จะต้องมีการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำที่ดี อันได้แก่ การเตรียมบ่อที่ดี มีการรักษาความสะอาดบ่อ เครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ เพื่อลดโอกาสความเสี่ยงในการเกิดโรค และแพร่ระบาดของโรคสัตว์น้ำ การใช้ลูกพันธุ์ปลาที่ แข็งแรง การจัดการคุณภาพน้ำที่ดี ไม่ใช้ยาและสารเคมี ต้องห้าม การให้อาหารที่ดีมีคุณภาพสูง ทำให้สัตว์น้ำ โตไว ได้ผลผลิตสูงคุณภาพดี สร้างกำไรสูงแก่ผู้เลี้ยงและ ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม



รูปที่ 1 การอนุบาลลูกปลานิลในกระชังก่อนปล่อยลงในบ่อ จะช่วยเพิ่มอัตราการรอด

การเฝ้าสังเกตพฤติกรรมและการกินอาหารของปลา อย่างสม่ำเสมอ จะมีส่วนช่วยในการตรวจสอบเบื้องต้น ว่า ปลามีปัญหาหรือไม่ ช่วยให้มีการแก้ไขสถานการณ์ ได้อย่างรวดเร็ว ก่อนที่ปลาทั้งกลุ่มจะป่วยอย่างรุนแรง ผู้เลี้ยงปลาจะต้องทราบและคุ้นเคยว่า ปลาที่ปกติมี ลักษณะของพฤติกรรมเป็นอย่างไร ซึ่งส่วนใหญ่เรามัก จะมองไม่เห็นปลาที่อาศัยอยู่ในบ่อ ยกเว้นเวลาให้อาหาร และจะสังเกตเห็นปลาได้ชัดเมื่อปลาเป็นโรคคือมีปลา ตายหรือปลากำลังใกล้ตาย ปลาที่ป่วยจะเฉื่อยชาและ ไม่กินอาหาร อาจมีการแขวนลอยตัวอยู่ที่ผิวน้ำ ขึ้นเกลย

อยู่ตามขอบบ่อ พฤติกรรมของปลาที่ผิดปกติเหล่านี้จะ เป็นตัวบ่งชี้ว่า ปลาสื่ออาการของโรคเกิดขึ้น นอกจากนี้ ลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนไป ไม่ว่าจะเป็นเป็นฝี การตก เลือด ครีบหักกร่อน ท้องบวม ตาโปน หากพบว่า ปลา มี ลักษณะผิดปกติ เราควรนำปลาไปตรวจว่าปลา มีการ ติดเชื้อปรสิตหรือแบคทีเรียหรือไม่ พร้อมทั้งมีการ ตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำควบคู่ไปด้วย การตรวจ วินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ จะทำให้ช่วยหา แนวทางแก้ไขและป้องกันการแพร่ระบาดของโรคได้ทันเวลา



รูปที่ 2 ควรสังเกตพฤติกรรมและการกินอาหารของปลาอย่าง ลมำเสมอ



รูปที่ 3 ควรเฝ้าสังเกตพฤติกรรมของปลา หากเห็นปลาขึ้นมา ลอยหัวบนผิวน้ำ ต้องตรวจสอบปริมาณออกซิเจนในน้ำ หรือติดตั้งเครื่องให้อากาศ

สิ่งแรกที่เกษตรกรจะถามนักวิชาการเมื่อปลาเกิดโรค คือ ควรใช้ยาหรือสารเคมีอะไรในการรักษา ซึ่งไม่ถูกต้อง โรคปลานิลอาจเกิดจากคุณสมบัติของน้ำไม่ดี ทำให้

ปลาอ่อนแอ ง่ายต่อการติดเชื้อ เกษตรกรควรตรวจสอบ
คุณสมบัติของน้ำอย่างสม่ำเสมอ



รูปที่ 4 จำนวนกระชังปลาและความหนาแน่นของปลาที่ปล่อย
ควรมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติของน้ำ

ปัจจุบันปัญหาการตายของปลานิลในบ่อและกระชัง
บ่อยครั้ง มีสาเหตุมาจากปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ
ที่ต่ำ โดยเฉพาะในช่วงหน้าร้อน ปลาจะเครียดและ
อ่อนแอ ดังนั้นเกษตรกรต้องมีเครื่องช่วยเพิ่มออกซิเจน
ไว้ใช้งานยามฉุกเฉิน ปริมาณแอมโมเนียที่สูงเป็นสาเหตุ
หนึ่งที่เหนียวทำให้เกิดการระบาดของโรคปลาได้ หาก
เป็นไปได้ควรมีบ่อกักน้ำหรือแหล่งน้ำที่สะอาดเพื่อการ
เปลี่ยนถ่ายน้ำ โดยทั่วไปเราจะต้องตรวจสอบปริมาณ
ออกซิเจนในน้ำ แอมโมเนีย ไนโตรทและความเป็นกรด
ด่างของน้ำเป็นประจำ เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำเหล่านี้
นี้เป็นประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัยโรคปลา

การบันทึกคุณสมบัติของน้ำประจำวันจะเป็นตัว
อ้างอิงเมื่อมีการระบาดของโรค ในการบันทึกควรบันทึก
วันที่ปล่อยปลา ขนาดของปลาที่ปล่อย แหล่งที่มาของ
ปลา อัตราการให้อาหาร อัตราการเจริญเติบโต จำนวน
ปลาที่ตายในแต่ละวันและคุณสมบัติของน้ำ ข้อมูลเหล่านี้
จำเป็นสำหรับนักวิชาการเพื่อใช้ประกอบการตรวจ
วินิจฉัยโรคและแก้ไขปัญหา การบันทึกข้อมูลอย่าง
ละเอียดถูกต้อง การบรรยายลักษณะอาการและ
พฤติกรรมของปลาที่ป่วย ผลของการตรวจสอบ
คุณสมบัติของน้ำ จะมีส่วนช่วยในการวิเคราะห์โรคได้
อย่างดี

ชนิดของโรคปลานิล

โรคปลาสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลัก คือ โรคติด
เชื้อ (infectious diseases) และโรคไม่ติดเชื้อ (non-
infectious diseases) โรคติดเชื้อมีสาเหตุมาจากเชื้อ
โรคซึ่งส่วนใหญ่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมหรือติดมากับ
ปลาซึ่งเป็นพาหะของโรค โรคเหล่านี้สามารถติดต่อกัน
ได้ (contagious diseases) และต้องการการจัดการ
เพื่อที่จะควบคุมการระบาดของโรค ในทางตรงกันข้าม
โรคไม่ติดเชื้อซึ่งเกิดจากสภาวะแวดล้อมอันไม่เหมาะสม
การขาดสารอาหาร ความบกพร่องทางพันธุกรรมเป็น
โรคซึ่งไม่ติดต่อและไม่สามารถใช้ยาในการรักษาได้

โรคติดเชื้อ

อาจมีสาเหตุเกิดมาจากปรสิต แบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา

โรคที่เกิดจากปรสิต

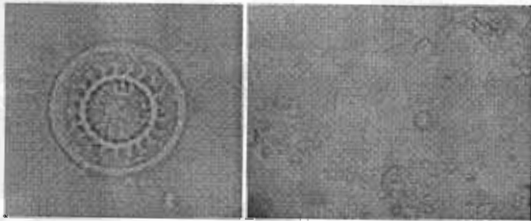
ปรสิตพบได้ทั่วไป โดยเฉพาะบริเวณเหงือกและ
ผิวหนัง ปลาจะมีเมือกมากผิดปกติ เพื่อพยายามที่จะ
กำจัดปรสิตให้หลุดออกไป อาจสังเกตเห็นผลตามลำตัว
ปรสิตบางชนิดก่อให้เกิดมีจุดขาว ๆ บนลำตัว สีของ
ลำตัวปลาที่มีปรสิตเกาะอาจจะซีดหรือเข้มผิดปกติ
ว่ายน้ำทรุดทราย ทำให้ปลาระคายเคือง น้ำหนักลด

ตัวอย่างของปรสิตที่พบบ่อยในปลานิลได้แก่

1. เห็บประจ้ง (*Trichodino* spp.)

เป็นโปรโตซัวที่มีขนาดเล็กมาก เส้นผ่าศูนย์กลาง
ประมาณ 50 ไมครอน (Ghiraldelli et al., 2006) ไม่
สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้อง
จุลทรรศน์กำลังขยายสูงจึงจะเห็นรูปร่างของเห็บประจ้ง
ชัดเจน มีลักษณะคล้ายระฆังคว่ำ มีขนเล็ก ๆ รอบตัว
(cilia) บริเวณผิวหนังด้านข้างมีวิหะยัดเกาะตัวปลาคล้าย
กังจักร ปรสิตนี้พบในเหงือกและผิวหนังปลานิลเกือบ
ทุกตัว ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะมาก ๆ จะไม่ค่อยกิน
อาหาร ว่ายน้ำกระวนกระวาย พลิกตัวไปมา มีการใช้
ลำตัวสีผ่นง้อเพื่อให้ปรสิตหลุดออก และอาจทำให้
ลูกปลาทายในปริมาณมากได้ พบระบาดในบ่อที่มีการ
เลี้ยงปลาหนาแน่นสูงและมีสารอินทรีย์สูง การป้องกัน

ดีกว่ารักษา เพราะปรสิตนี้แพร่ได้รวดเร็ว เกษตรกรมักจะสังเกตเห็นปัญหาการติดเชื้อปรสิตเห็บระฆัง เมื่อมีการระบาดอย่างรุนแรงทำให้ยากแก่การจัดการ การป้องกันทำโดยตรวจปลาก่อนที่จะนำมาเลี้ยง หากปลาที่มีปรสิตติดมาต้องกำจัดโดยใช้ฟอร์มาลิน 25 – 50 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร อย่างไรก็ตาม การใช้ฟอร์มาลินทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงจึงต้องมีการให้อากาศด้วยน้ำมันกระเทียมและกระเทียมบดสามารถใช้สำหรับกำจัดเห็บระฆังได้ (Chitmanat, Tongdonmuan, & Nunsong, 2005; Abd El-Galil & Aboelhadid, 2012) อย่างไรก็ตามการใส่น้ำมันกระเทียมและกระเทียมบดทดแทนสารเคมี ควรระมัดระวังเรื่องน้ำเสียที่อาจจะเกิดขึ้นได้



รูปที่ 5 เห็บระฆัง

2. ปลิงใส (monogenes)

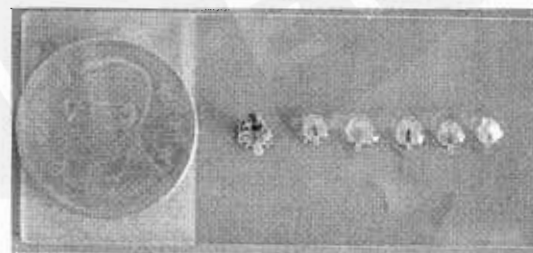
ส่วนใหญ่พบเกาะอยู่ตามซีเหงือกและบริเวณผิวหนัง ที่พบบ่อยในปลาน้ำจืด คือ ไซโรแดคทิลัส (*Gyrodactylus* sp.) และแดคทิลโรโจริส (*Doctyrogyrus* sp.) ส่วนปลิงใสที่มักพบในปลานิล ชื่อว่า ซิคลิโดโจริส

รูปที่ 6 ปลิงใสที่มักพบในปลานิล ชื่อว่า ซิคลิโดโจริส (*Cichlidogyrus* sp.)

โดโจริส (*Cichlidogyrus* sp.) ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะ อาจจะมีสีตัวเข้มกว่าปกติ กินอาหารน้อยลง หากมีเกาะบริเวณซีเหงือกในปริมาณมาก ทำให้เหงือกบวม อักเสบ และการแลกเปลี่ยนอากาศของปลาลดลง มีผลให้ปลาตายได้เช่นกัน พบปรสิตกลุ่มนี้ในปลาเกือบทุกชนิด วิธีการรักษาเช่นเดียวกับเห็บระฆัง คือ ใช้ฟอร์มาลิน 25 – 50 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร

3. โรคเห็บปลา (Fish Louse)

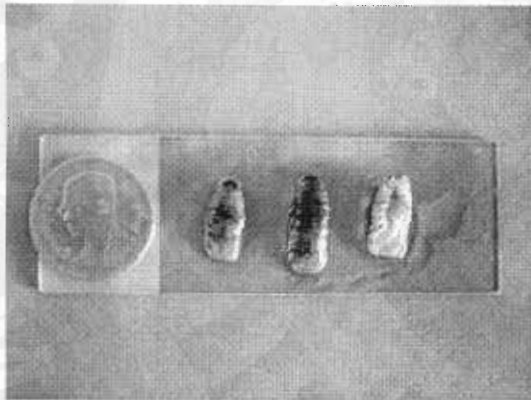
ปลาที่มีเห็บปลาเกาะจะสังเกตเห็นพยาธิรูปร่างกลม สีเขียวปนน้ำตาล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 – 7 มิลลิเมตร พบตามลำตัวและครีบในปลามีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาไน ปลาดุก ปลาช่อน เป็นต้น ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะหนาแน่นจะเกิดแผลตกเลือด ปลาว่ายน้ำทรนทราย และพยายามถูตัวเองกับข้างป้อหรือตู้ เพื่อให้ปรสิตหลุดออก รักษาโดยการแช่ปลาในสารละลายยาฆ่าแมลงกลุ่มไตรคลอฟอน 0.5 – 0.75 กรัมต่อน้ำ 1,000 ลิตร หรือดีฟเทอร์เร็กซ์ (dipterox) 0.25 – 0.5 กรัมต่อน้ำ 1,000 ลิตร อย่างไรก็ตามการใช้ไตรคลอฟอนเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสซึ่งเป็นเอนไซม์ควบคุมการทำงานของระบบประสาทลดลงถึง 75% แต่ไม่ได้ทำให้ปลาตายอย่างใด (Guimarães, Silva de Assis, & Boeger, 2007) ดังนั้นการใช้สารเคมีนี้จึงควรระมัดระวังไม่ให้ปลาเครียดเกินไปและไม่ใช้กับปลาในระยะใกล้จับ เพราะสารเคมีอาจจะปนเปื้อนในเนื้อปลาได้



รูปที่ 7 เห็บปลา

4. โรคหมัดปลา (Isopod)

หมัดปลามีลำตัวยาวรีและเป็นปล้อง ตัวเต็มวัยมีขนาดประมาณ 1.0 – 1.5 เซนติเมตร มีสีแดงเข้มจนเกือบดำ ปลาที่มีหมัดปลาเกาะจะว่ายน้ำทุรนทุราย กระโดดขึ้นผิวน้ำหากหมัดปลาคุดเลือดระบาดจำนวนมาก ทำให้ปลาตายได้ ถ้ามีหมัดปลาเข้าเกาะลูกปลานิลขนาด 2 - 3 เซนติเมตร เพียง 3 - 4 ตัว จะทำให้ปลาตายได้ภายในเวลา 3 - 4 ชั่วโมง เนื่องจากสูญเสียเลือด (สุดา ตัณฑวณิช และคนอื่น ๆ., 2554) รักษาโดยการแช่ไตรโคลฟอน 0.25 – 0.5 กรัม ต่อน้ำ 1,000 ลิตร สัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกัน 3 - 4 สัปดาห์



รูปที่ 8 หมัดปลาหรือเห็บสายฟ้า

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย

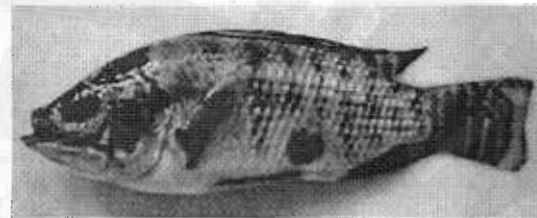
ลักษณะการติดเชื้อทางแบคทีเรียจะคล้าย ๆ กัน จะมีการตกเลือด มีแผลตามลำตัว ครีบกร่อน มีน้ำในช่องท้อง ไม่กินอาหาร ที่พบบ่อยมี 2 ชนิด คือ

1. โรคที่เกิดจากเชื้อแอโรโมแนส (*Aeromonas hydrophilo*)

เป็นโรคที่มีก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ และมักพบบ่อยในบ่อที่เลี้ยงโดยให้อาหารสดหรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน จะพบเชื้อแบคทีเรียนี้ในแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์ปริมาณสูง สาเหตุเหนี่ยวนำให้ปลาติดเชื้อ ได้แก่ ความเครียดหรือการบาดเจ็บจากการขนส่ง การเคลื่อนย้าย ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำ การให้อาหารที่

มีคุณภาพไม่เหมาะสมรวมทั้งบาดแผลที่เกิดจากปรสิต

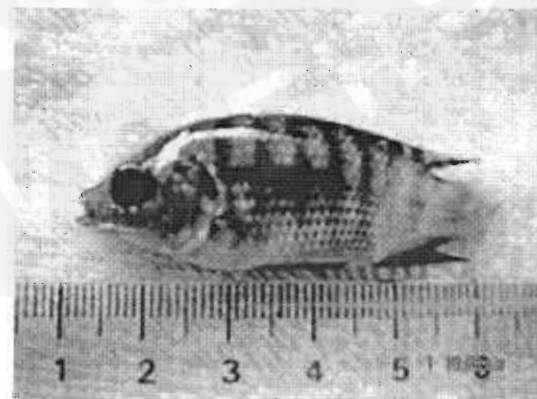
ปลาติดเชื้อจะว่ายน้ำเฉื่อยชา ไม่กินอาหาร ครีบกร่อน มีการตกเลือด เกิดบาดแผล ท้องบวม ตับเหลือง มีการตกเลือดบริเวณลำไส้



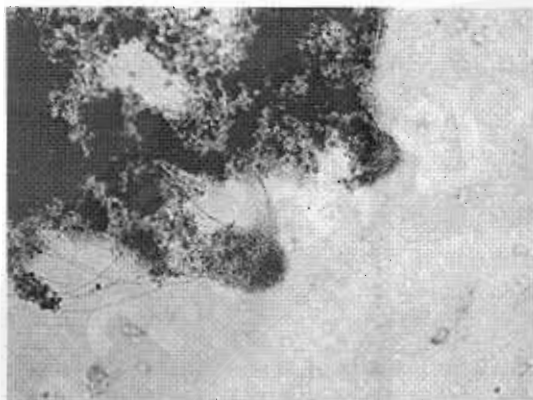
รูปที่ 9 ปลานิลเป็นแผลเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียแอโรโมแนส

2. โรคคอลลัมเนริส

เกิดจากเชื้อฟลาโวแบคทีเรีย (*Flavobacterium columnar*) ชื่อเดิมคือ แฟล็กซ์แบคเตอร์ (*Flexibacter columnaris*) โรคนี้มักเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ เหนี่ยวนำ เช่น ความเครียดจากการขนส่ง โดยเฉพาะในช่วงหน้าร้อน และการเปลี่ยนแปลงอากาศกะทันหัน อาการทางคลินิก ลำตัวปลามีสีต่างชนิดเป็นแถบ ๆ มีเมือกมาก ครีบและเหงือกกร่อน อาจมีสีเหลืองเกิดขึ้น บริเวณบาดแผลการป้องกันการระบาดของโรค ทำได้โดยการลดความบอบช้ำจากการจับและคัดขนาดปลา ไม่เลี้ยงปลาหนาแน่น ฝักระวังอย่าให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำ



รูปที่ 10 ลูกปลานิลหางกร่อน จากการติดเชื้อแบคทีเรียฟลาโวแบคทีเรีย

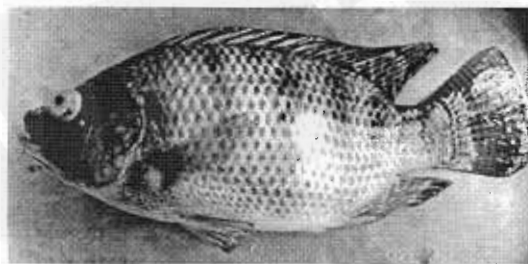


รูปที่ 11 การรวมกลุ่มของแบคทีเรีย *F. columnarum* มีลักษณะคล้ายกองฟาง (haystack-like) จากการทำสไลด์เปียก (wet mount)

3. โรคติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.)

อาการของปลาที่เป็นโรคมีตาขุนขาวและโปนไม่ค่อยวายน้ำ ลอยนิ่ง บางตัววายน้ำคางสว่าง ช่องขับถ่ายบวมแดง พบระบาดรุนแรงในหน้าร้อน สามารถทำให้ปลาตายจำนวนมากในเวลาอันสั้นหากมีการติดเชื้อรุนแรง Mian et al. (2009) รายงานว่า อัตราการตายจากโรคนี้นับสูงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 26 °C โรคติดเชื้อนี้สามารถติดต่อจากปลาที่เป็นโรคที่อาศัยอยู่ในบ่อหรือกระชังเดียวกันเชื้อมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ 4 ชนิด คือ เพนนิซิลิน อิริโทรมัยซิน แอมพิซิลินและออกซีเตตราไซคลิก และดีต่อยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด คือ ซัลฟาเมธอซอล/ไตรเมโธพริม นาลิดีซิค แอซิดและออกโซลิโนนแอซิด (นเรศชวนยุค, หิรัญ กังแฮ, เรวัตร์ คงประดิษฐ์, และกิจการศุภมาตย์, 2009) มีรายงานวิจัยหลายชิ้นที่พยายามพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ (Evans, Klesius, & Shoemaker, 2004; Pridgeon & Klesius, 2011; Eldar, Shapiro, Bejerano, & Bercovier, 1995; Klesius, Shoemaker, & Evans, 2000) ซึ่งผลที่ได้ยังไม่ชัดเจน บางวัคซีนจะป้องกันโรคได้จำเพาะ *S. iniae* แต่ไม่ป้องกันโรคติดเชื้อจาก *S.*

agalactiae (Evans et al., 2004) สำหรับวัคซีนปลาในในประเทศไทย นิลุบลและคณะ (นิลุบล กิจอันเจริญ, ชุตติมา หาญจวนิช และนงนุช สุวรรณเพ็ง, 2549) ทดลองให้วัคซีนเชื้อตายแก่ปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง ในแม่น้ำชี จ.มหาสารคาม พบว่า ปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดสูงกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีนสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ได้ยกย่องผลงานวิจัยวัคซีนป้องกันโรคสเตรปโตคอคคัสในปลานิลภายใต้การควบคุมของ ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นผลงานวิจัยเด่นประจำปี 2553 (สำนักงานสารสนเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2553) ผลจากการวิจัยนี้ทำให้ได้วัคซีนที่สามารถฉีดเข้าไปในตัวปลานิลขนาดตัวตั้งแต่ 10 กรัม ไปจนถึงระดับปลาพ่อพันธุ์แม่พันธุ์จากการใช้วัคซีนดังกล่าวสามารถสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้นานไม่ต่ำกว่า 6 เดือน ซึ่งเพียงพอต่อระยะเวลาการเลี้ยงจนถึงขนาดตลาดซึ่งมักจะใช้ระยะเวลาประมาณ 4 – 5 เดือน โดยมีต้นทุนค่าวัคซีนเพิ่มขึ้นเพียงตัวละ 50 สตางค์เท่านั้น ในขณะที่ลูกปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันมีโอกาสรอดจากการเลี้ยงในกระชังถึงร้อยละ 80 – 87 จัดว่าคุ้มค่าทางเศรษฐกิจอย่างมาก เป็นทางออกที่ดีสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลและเป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงปลานิล



รูปที่ 12 ปลานิลมีตาโปนขุนขาว เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส

4. โรค *Epitheliocystis*

มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียแกรมลบขนาดเล็กคล้ายริกเกตเซีย (a rickettsia-like organism หรือ *Piscirickettsia* sp.) มักสร้างปัญหาในลูกปลานิลขนาดเล็ก หากติดเชื้อรุนแรงทำให้ปลาตายได้ ปลาที่ติดเชื้อนี้ จะพบรอยโรคมีลักษณะคล้ายซิสต์บริเวณเซลล์ของซีเหงือก (รูปที่ 13) ทำให้เกิดปัญหาในการแลกเปลี่ยนออกซิเจน เบื้องพรและคณะ (เบื้องพร สัมฤทธิ์เวช, ปวีณา ทวีกิจการ, เต็มดวง สมศิริ และชลดา มือนันต์, 2552) แนะนำว่า การเปลี่ยนถ่ายน้ำ ใส่เกลือ 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร หรือ ฟอर्मาลิน 30 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร มีผลทำให้จำนวนซิสต์ บริเวณเหงือกลูกปลานิลลดลง



รูปที่ 13 ลูกปลาเป็นโรค *Epitheliocystis* ติดเชื้อแบคทีเรีย ลักษณะเป็นซิสต์บริเวณซีเหงือกสีน้ำตาลเหลือง

โรคติดเชื้อแบคทีเรียมักจะเป็นการติดเชื้อภายใน ซึ่งต้องรักษาด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ โดยทั่วไปปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรียจะมีการตกเลือดหรือเป็นแผลมีบริเวณผิวลำตัว รอบตาและปาก บางครั้งจะพบว่าท้องบวม ตาโปน กลุ่มยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ ออกซิเตตราซัยคลิน เทตราซัยคลิน ออกโซลิติกแอซิด (oxolinic acid) นาลิดิกแอซิด (nalidixic acid) และซัลฟาเมทอซอลิมิน/อิมิพริม (sulfamethoxazole/trimethoprim) ควรใช้ยาติดต่อกัน 5 - 14 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของยา อย่างไรก็ตามไม่ควรใช้ยาต้านจุลชีพในการป้องกันโรค เพราะจะทำให้

ให้เกิดการดื้อยา ควรหยุดใช้ยาอย่างน้อย 21 วัน ก่อนจับขาย เพื่อมิให้ยาเกิดการตกค้างในสัตว์น้ำ หากเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียภายนอก เช่น ปลาที่เป็นโรคคอคัลมนาเลียส ปลาจะมีลักษณะตัวต่าง โรคนี้อาจเกิดขึ้นหลังจากการเคลื่อนย้ายปลา หรือช่วงที่มีอากาศเปลี่ยนแปลงกะทันหัน ช่วงอากาศเย็น หรือช่วงฝนตกหนัก การรักษาอาจทำได้โดยใช้ยาเหลือง (acriflavin) แช่ในอัตราความเข้มข้น 1 - 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

โรคติดเชื้อไวรัส

โรคนี้ไม่สามารถตรวจวินิจฉัยตามห้องปฏิบัติการทั่วไปและไม่สามารถใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษามีรายงานว่า เชื้อไวรัส Bohleiridovirus เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคควงสว่าง (spinning tilapia syndrome) ในปลา *O. mossambicus* (Ariel & Owens, 1997) ส่วนไวรัส aquatic birnavirus สามารถเพิ่มจำนวนและก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในม้าม (infectious pancreatic necrosis) ในลูกปลานิลที่เลี้ยงหนาแน่นสูง (Cy et al., 2003) มีการแยกเชื้อไวรัส Nodavirus จากปลานิล *O. mossambicus* และปลานิล *O. niloticus* (Skiris & Richards, 1999)

สำหรับปลานิลในประเทศไทยมีรายงานว่าได้แยกเชื้อไวรัสคล้ายรีโอไวรัส (Reo-like virus) จากปลานิลที่ตายด้วยโรคระบาดโดยสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด ในช่วงปี พ.ศ. 2551 ปลานิลป่วยจะมีอาการซึมมีจุดเลือดตามลำตัวเหงือกและตบมีสีซีดลง อย่างไรก็ตามปลานิลที่ติดเชื้อไวรัสนี้มักมีการติดเชื้อแบคทีเรียและปรสิตร่วมด้วยจึงทำให้ปลาที่ป่วยมีอัตราการตายสูง (สุดา ตัญทวนิช และคนอื่น ๆ., 2554)

โรคปลาที่เกิดจากเชื้อรา

เชื้อราที่พบเป็นกลุ่ม *Achly* sp. หรือ *Saprolegnia* sp. โดยพบสปอร์ของเชื้อราอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำ ส่วนใหญ่จะติดเชื้อในไซท์ที่มีการฟักที่ไม่ดี มักเป็นการติดเชื้อแทรกซ้อน (secondary infection) คือมีปรสิตภายนอกหรือเชื้อแบคทีเรียเช่นแอโรโมแนสเข้าทำอันตราย

ผิวหนังปลาก่อน (สุตา ตันทวนิช และคนอื่น ๆ., 2554) หรือเมื่อปลาเกิดบาดแผลจากการจับและบอบช้ำจากการขนส่ง เชื่อว่าสามารถที่จะไปเจริญบนบาดแผลดังกล่าว ทำให้เห็นเป็นปุยสีขาวหรือสีน้ำตาลปรากฏอยู่ สารเคมีที่ใช้ในการรักษา คือฟอร์มาลินและด่างทับทิม เนื่องจากส่วนใหญ่แล้วการติดเชื้อจะเกิดขึ้นมาจากสาเหตุอื่นเหนี่ยวนำมาก่อน ดังนั้นควรตรวจหาสาเหตุเบื้องต้นว่า ทำไมปลาจึงติดเชื้อราเพื่อจะได้แก้ไขที่ต้นเหตุ

โรคไม่ติดเชื้อ

สามารถแบ่งได้เป็นโรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม โรคที่เกิดจากอาหารและโรคที่เกิดจากความบกพร่องทางพันธุกรรม

โรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม

สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่วงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวนมาก ซึ่งอาจเกิดจากปัญหาออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมีปริมาณต่ำ (ไม่ควรต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร) การเลี้ยงปลาในอัตราที่หนาแน่นเกินไป เมื่อเลี้ยงในระยะหนึ่งปลาจะว่ายน้ำลอยหัวในช่วงเช้า ถ้าไม่รีบแก้ไข ปลาจะทยอยตาย สาเหตุเกิดจากออกซิเจนในบ่อไม่เพียงพอ หรือมีปริมาณแอมโมเนียในรูปที่ไม่มีประจุสูง (ค่าที่เหมาะสมไม่ควรเกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร) ควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำหรือใช้เครื่องตีน้ำหรือดูดน้ำพันไปในอากาศเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในบ่อ

ปัญหาความแปรปรวนของสภาพอากาศเป็นปัญหาที่อยู่เหนืออำนาจเกษตรกรที่จะควบคุมได้ ผู้เลี้ยงปลาต้องเผื่อระวังไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำอย่างรวดเร็วเกินไป การจัดการคุณภาพน้ำที่ดีจะเป็นวิธีการในการป้องกันโรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมได้ ในช่วงฤดูหนาวต้องสังเกตว่ามีปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นโรคหรือไม่ หากเจอปลาในแหล่งน้ำเป็นโรค ให้รีบปิดทางน้ำเข้าและหยุดการเติมน้ำจากบ่อธรรมชาติ

ระมัดระวังอย่าให้ปลาบอบช้ำเมื่อมีการขนย้ายปลา

อาจใช้เกลือแกง 0.5 – 1% เพื่อลดความเครียดจากการขนส่งและเคลื่อนย้ายปลา

ปลาที่ได้รับสารพิษในปริมาณมาก อาจจะเป็นพิษจากยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช หรือน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อาจทำให้ปลาตายจำนวนมาก มักพบการขับเมือกออกจากตัวจำนวนมาก กระพุ้งแก้มเปิดกว้าง การตายในลักษณะนี้แก้ไขได้ยาก ต้องมีการป้องกันที่ดี ผู้เลี้ยงปลาในกระชังในแม่น้ำต่าง ๆ ควรมีการร่วมมือกันสร้างเครือข่ายในการตรวจสอบคุณภาพน้ำและอนุรักษ์แหล่งน้ำให้มีคุณภาพดีเพียงพอในการเลี้ยงปลา รวมทั้งช่วยเตือนภัยยามที่เกิดปัญหาน้ำหลาก น้ำท่วม หรือการลอบปล่อยน้ำทิ้งที่ไม่ได้บำบัดลงสู่แหล่งน้ำ

บ่อที่เลี้ยงปลามาแล้วหลายรุ่น หากไม่มีการลอกเลน ทำให้เกิดการสะสมของเสียต่าง ๆ ที่พื้นบ่อ เกิดสารพิษที่เป็นอันตรายต่อปลา ทำให้ปลาโตช้า เกิดโรคได้ง่าย รวมทั้งอาจส่งผลให้ปลามีกลิ่นโคลนและขายได้ราคาไม่ดี ดังนั้นก่อนปล่อยปลาเลี้ยงทุกครั้งต้องมีการเตรียมบ่อที่ดี กำจัดเลนกันบ่อ ตากบ่อให้แห้งสนิท ปรับสภาพพื้นบ่อด้วยปูนขาว ระวังไม่ให้อาหารมากจนเกินไป

โรคที่เกิดจากอาหาร

ในช่วงฤดูหนาวปลาจะกินอาหารลดลง เราจะต้องปรับปริมาณอาหารที่ให้อดด้วย เพื่อไม่ให้อาหารเหลือและน้ำในบ่อเน่าเสีย ควรจัดหาอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารครบถ้วน จัดเก็บไว้ในที่แห้ง และไม่ควรจัดเก็บเกิน 3 เดือน อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตพบว่าการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปมากเกินความจำเป็นทำให้ปลานิลอ้วนและมีก้อนไขมันสะสมในช่องท้องจำนวนมาก ฝูงน้ำดีจะขยายขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้ปลาเหล่านี้อ่อนแอและตายได้ง่ายหากสภาพแวดล้อมไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lim *et al.* (Lim, Yildirim-Aksoy, Li, Welker, & Klesius, 2009) ที่รายงานว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงกว่า 12% จะเจริญเติบโตช้าและมีไขมันสะสม ปลามีงานวิจัยหลายชิ้นทดลองให้อาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลานิล เช่น ชนกันต์และคณะ (ชนกันต์ จิตมนัส, น้ำเพชร ประกอบศิลป์ และสุฤทธิ์

สมบูรณ์ชัย, 2549) ได้ทดลองใช้กระเจี๊ยบแดงในการผสมอาหารเพื่อเลี้ยงปลานิล พบว่า กระเจี๊ยบแดงสามารถช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะแต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตายและอัตราแลกเนื้อของปลา Christyapita *et al.* (Christyapita, Divyagnaneswari, & Michael, 2007) ได้ใช้ใบกระเม็ง (*Eclipta alba*) ผสมอาหารให้ปลานิล พบว่า ปลานิลมีภูมิคุ้มกันโรคแบบไม่จำเพาะเพิ่มสูงขึ้นและมีอัตราการตายลดลงเมื่อทดสอบให้ปลาได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*

โรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม

ทำให้ปลามีลักษณะร่างกายที่ไม่สมบูรณ์ อ่อนแอ ติดโรคได้ง่าย อัตรารอดต่ำ สาเหตุน่าจะมาจากการใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อยคู่ ทำให้เกิดการผสมเลือดชิด สายพันธุ์มีผลต่อการต้านทานโรค Cai (Cai, Li, & Ma, 2004) กล่าวว่า ปลานิลลูกผสมระหว่างปลานิลเทศเมีย (*Oreochromis niloticus*) กับ blue tilapia (*Oreochromis aureus*) เพศผู้ ทนต่อโรคที่ดีขึ้น

การตายของปลานิลและโรคระบาดปลา ส่วนใหญ่มีสาเหตุหนึ่งย่นำมาจากปลาเกิดอาการเครียด เนื่องจากคุณภาพน้ำที่แย่ง การเลี้ยงที่หนาแน่นเกินไป การเลี้ยงปลาในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ การให้อาหารไม่เพียงพอ การตัดสินใจในการรักษาโรคลานั้น ต้องวินิจฉัยโรคให้ถูกต้องก่อน ว่า ปลาเกิดโรคจากการติดเชื้ออะไร หรือปลาเป็นโรคไม่ติดเชื้อ เพื่อที่จะทำการป้องกันรักษาได้ถูกต้องและทันเวลา ส่วนใหญ่โรคระบาดปลา มักจะเกิดจากสาเหตุร่วมกันของเชื้อโรคและสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม การรักษาป้องกันจึงต้องใช้วิธีการจัดการควบคู่ไปกับการใช้ยาและสารเคมี ควรมีการปรึกษานักวิชาการประมงหรือสัตวแพทย์ใกล้บ้าน เนื่องจากการใช้ยาในบ่อขนาดใหญ่อาจจะไม่คุ้มค่างบ่อกับค่ายา

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2555

เอกสารอ้างอิง

- เบญจพร สัมฤทธิ์เวช, ปวีณา ทวีกิจการ, เต็มดวง สมศิริ และชลดา มือนันต์. (2552). การรักษาโรค *epitheliocystis* ในลูกปลานิล การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. 17 – 20 มีนาคม 2552. กรุงเทพฯ ฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชนกันต์ จิตมนัส, น้ำเพชร ประกอบศิลป์ และสุฤทธิ์ สมบูรณ์ชัย. (2549). การใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิล. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- นเรศ ช้วนยุก, หิรัญ กังนย, เรวัตร์ คงประดิษฐ์และกิจการ สุภมาตย์. (2009). โรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). *Vet Microbiol*, 14 (136), 180–183.
- นิลุบล กิจอันเจริญ, ชุติมา หาญจวนิช และนงนุช สุวรรณเพ็ง. (2549). ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus ogalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. *วารสารวิจัย มช*, 11, 53–61.
- ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. (2552). สถิติการประมง ปี 2552. กรมประมง. ค้นจาก <http://www.fisheries.go.th/it-stat/yearbook/>
- สำนักงานสารสนเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2553). ผลงานวิจัยจากคณาจารย์จุฬาฯ 5 ใน 12 ผลงานวิจัยเด่น สกว. ปี 2553. ค้นจาก <http://www.>

- chula.ac.th/idcucm1/groups/guniversity/documents/cu_researchawards/cu_p012011.pdf
- สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง. (2555). โครงการยกระดับมาตรฐานฟาร์มปลานิลเพื่อการส่งออก. ค้นจาก <http://www.fisheries.go.th/freshwater/web3/>
- สุดา ตันชาวนิช, เต็มดวง สมศิริ, วรวิทย์ มณีพิทักษ์สันติ, จารี ผลชนะ, วารินี ปัญญาวิช, ฐิติพร หลาวประเสริฐ. ... จิราภรณ์ บำรุงกิจ. (2554). โรคปลานิล. กรุงเทพฯ ๖: สถาบันวิจัยสุขภาพน้ำจืด กรมประมง.
- Abd El-Galil, M. A. A., & Aboelhadid, S. M. (2012). Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. *Veterinary parasitology*, 185(2-4), 57–63. doi:10.1016/j.vetpar.2011.10.035
- Ariel, E., & Owens, L. (1997). Epizootic mortalities in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Diseases of aquatic organisms*, 29(1), 1–6.
- Cai, W., Li, S., & Ma, J. (2004). Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia x male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. *Aquaculture*, 229(1-4), 79–87. doi:10.1016/S0044-8486(03)00357-0
- Chitmanat, C., Tongdonmuan, K., & Nunsong, W. (2005). The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27 (Suppl.1), 359–364.
- Christybapita, D., Divyagnaneswari, M., & Michael, R. D. (2007). Oral administration of *Ecliptaalba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology*, 23 (4), 840–852. doi:10.1016/j.fsi.2007.03.010
- Cy T., Yh L., Yl W., Cw S., Sw H., & Ws *Wang. (2003). In vitro and in vivo replication of aquatic birnavirus in tilapia (*Oreochromis aureus*) tissues. *Taiwan Veterinary Journal*, 29(4), 323–332.
- Eldar, A., Shapiro, O., Bejerano, Y., & Bercovier, H. (1995). Vaccination with whole-cell vaccine and bacterial protein extract protects tilapia against *Streptococcus difficile* meningoencephalitis. *Vaccine*, 13(9), 867–870.
- Evans, J. J., Klesius, P. H., & Shoemaker, C. A. (2004). Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine*, 22(27-28), 3769–3773. doi:10.1016/j.vaccine.2004.03.012
- Ghiraldelli, L., Laterca Martins, M., Barros Adamante, W., & Yamashita, M. (2006). First

- Record of *Trichodinacompacta* Van As and Basson, 1989 (Protozoa: Ciliophora) from Cultured Nile Tilapia in the State of Santa Catarina, Brazil. *International Journal of Zoological Research*, 2(4), 369–375. doi:10.3923/ijzr.2006.369.375
- Guimarães, A. T. B., Silva de Assis, H. C., & Boeger, W. (2007). The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 68(1), 57–62. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.08.005
- Klesius, P. H., Shoemaker, C. A., & Evans, J. J. (2000). Efficacy of single and combined *Streptococcus iniae* isolate vaccine administered by intraperitoneal and intramuscular routes in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 188 (3-4), 237–246. doi:10.1016/S0044-8486(00)00345-8
- Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Li, M. H., Welker, T. L., & Klesius, P. H. (2009). Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge. *Aquaculture*, 298, 76–82. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.09.025
- Mian, G. F., Godoy, D. T., Leal, C. A. G., Yuhara, T. Y., Costa, G. M., & Figueiredo, H. C. P. (2009). Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. *Veterinary microbiology*, 136(1-2), 180–183. doi:10.1016/j.vetmic.2008.10.016
- Piumsombun, S. (2003). Analysis of demand for fish consumed at home in Thailand. *Fisheries Gazette*, 56, 113–121.
- Pridgeon, J. W., & Klesius, P. H. (2011). Development and efficacy of a novobiocin-resistant *Streptococcus iniae* as a novel vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vaccine*, 29(35), 5986–5993. doi:10.1016/j.vaccine.2011.06.036
- Skliris, G. P., & Richards, R. H. (1999). Nodavirus isolated from experimentally infected tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Diseases*, 22(4), 315–318. doi:10.1046/j.1365-2761.1999.00171.x