RESEARCH ARTICLE

Effect of Galangal Oil Against *Ichthyophthirius multifiliis* Theronts in Freshwater Fish

Panyisa Potibut[1], Siriporn Okonogi[2], Wasana Chaisri[3], Surachai Pikulkaew[3*]

Abstract

Objective—To investigate the effects of galangal oil against *Ichthyophthirius multifiliis* infective stage (theront stage) isolated from infected freshwater fish.

Materials and Methods—The essential oils were obtained from fresh rhizomes of *Alpinia galanga* by stream distillation. The oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The theronts were isolated and divided into 6 groups of 600 theronts per group. Group 1 was a control group; group 2 was exposed to formalin at 50 ppm; group 3 was exposed to propylene glycol, groups 4-6 were exposed with 10, 30 and 60 ppm of galangal oil, respectively. Mean mortality of theronts was determined by light microscope at 1, 2, 4 and 6 hrs after treatment.

Results—The GC-MS result indicated that the main compound of galangal oil is eucalyptol. The mean mortality was higher in groups 4-6 (exposed with 10, 30 and 60 ppm of galangal oil, respectively) than in groups 1-3 (control group, exposed to formalin and exposed to propylene glycol, respectively) at the first hour of the experiment ($P<0.05$). In addition, the mean mortality was higher in groups 5-6 (exposed with 30 and 60 ppm of galangal oil) than in group 4 (exposed with 10 ppm of galangal oil) at the first hour of the experiment ($P<0.05$), whereas the mean mortality in group 5 (exposed with 30 ppm of galangal oil) was not significantly different from that in group 6 (exposed with 60 ppm of galangal oil) at the forth hour of the experiment.

Conclusion—Galangal oil has potential against *I. multifiliis* theronts. The lowest effective dose was 30 ppm.

KKU Vet J. 2012;22(1):1-9. http://vmj.kku.ac.th/

Keywords: Galangal oil; Eucalyptol; *I. multifiliis*; Theront

[1]Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand

[2]Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[3]Department of Food Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand

[*]**Corresponding author** E-mail: s.pikul@chiangmai.ac.th

ผลของน้ำมันข่าต่อการต้านเชื้อ *Ichthyophthirius multifiliis* ระยะติดโรคในปลาน้ำจืด

ปัญญิศา โปติบุตร[1], ศิริพร โอโกโนกิ[2], วาสนา ไชยศรี[3], สุรชัย พิกุลแก้ว[3*]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของน้ำมันข่าต่อการต้านเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรคที่แยกจากปลาป่วยน้ำจืด

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่าสดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันข่าด้วยวิธีก๊าซโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโทเมตรี จากนั้นแยกเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรค และแบ่งกลุ่มเป็น 6 กลุ่มๆละ 600 ตัว โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 ได้รับฟอร์มาลินขนาด 50 พีพีเอ็ม กลุ่มที่ 3 ได้รับสาร propylene glycol กลุ่มที่ 4-6 ได้รับน้ำมันข่าที่ระดับ 10 30 และ 60 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ศึกษาอัตราการตายของเชื้อระยะติดโรคในชั่วโมงที่ 1 2 4 และ 6 ของการทดลอง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน

ผลการศึกษา สารสำคัญที่พบมากที่สุดในน้ำมันข่าคือสารยูคาลิปตอล อัตราการตายเฉลี่ยของกลุ่มที่ 4-6 (ได้รับน้ำมันข่าที่ระดับ 10 30 และ 60 พีพีเอ็ม ตามลำดับ) สูงกว่ากลุ่มที่ 1-3 (กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับฟอร์มาลินและกลุ่มที่ได้รับสาร propylene glycol ตามลำดับ) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการทดลอง (P <0.05) นอกจากนี้อัตราการตายเฉลี่ยของกลุ่มที่ 5-6 (ได้รับน้ำมันข่าที่ระดับ 30 และ 60 พีพีเอ็ม) สูงกว่ากลุ่มที่ 4 (ได้รับน้ำมันข่าที่ระดับ 10 พีพีเอ็ม) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการทดลอง (P <0.05) ในขณะที่อัตราการตายเฉลี่ยของกลุ่มที่ 5 (ได้รับน้ำมันข่าที่ระดับ 30 พีพีเอ็ม) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ 6 (ได้รับน้ำมันข่าที่ระดับ 60 พีพีเอ็ม) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง

ข้อสรุป น้ำมันข่ามีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรค ในระดับความเข้มข้นต่ำสุดคือ 30 พีพีเอ็ม

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2555;22(1):1-9. http://vmj.kku.ac.th/

คำสำคัญ: น้ำมันข่า ยูคาลิปตอล *I. multifiliis* ระยะติดโรค

[1]คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50100

[2]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

[3]ภาควิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50100

[*]**ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ** E-mail: s.pikul@chiangmai.ac.th

บทนำ

โรคจุดขาวในปลาน้ำจืด (freshwater white spot disease) เกิดจากเชื้อโปรโตซัว *Ichthyophthirius multifiliis* (*I. multifiliis*) ซึ่งเป็นโปรโตซัวที่มีซีเลียจำนวนมากเรียงเป็นแถวทั่วตัวก่อโรคในปลาน้ำจืดทุกชนิด เช่น ปลากดหลวง ปลานิล ปลาทอง และปลาคาร์พ [1] ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรคคือที่ 15-25 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียสเชื้อมีวงชีวิตประมาณ 3-6 วัน วงชีวิตของ *I. multifiliis* ประกอบด้วย 3 ระยะคือ 1. ระยะ theront หรือระยะติดโรคเป็นระยะที่เชื้อว่ายน้ำอิสระโดยใช้ซีเลียและมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลาเพื่อหาโฮสต์และเจาะเข้าสู่เยื่อบุของผิวหนังหรือเหงือก 2. ระยะ trophont เป็นระยะที่เชื้อฝังตัวในชั้นผิวหนังหรือเหงือกซึ่งเป็นระยะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยพบลักษณะเป็นจุดขาวขนาดเล็กในบริเวณที่มีการติดเชื้อ ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า 3. เป็นระยะสุดท้าย ระยะนี้เชื้อจะพัฒนาไปเป็นระยะ tomont โดยหลุดออกจากตัวปลาและมีการสร้างเมือกเหนียวรอบถุงซีสต์ ซึ่งภายในมีตัวอ่อนจำนวนมากเรียกว่า tomite จากนั้น tomite จะพัฒนาไปเป็นระยะ theront โดยแตกออกจากถุงซีสต์เพื่อก่อโรคต่อไป [1,2] ปลาที่ติดเชื้อจะมีอัตราการตายสูง เนื่องจากความรุนแรงของเชื้อร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน [3] สำหรับการรักษาโรคจุดขาวนั้นนิยมใช้สารเคมีกำจัดเชื้อและหรือการควบคุมอุณหภูมิน้ำ โดยสารเคมีที่นิยมใช้คือฟอร์มาลินและมาลาไคท์กรีน อย่างไรก็ตามสารดังกล่าวมีผลข้างเคียงสูง เช่น สารมาลาไคท์กรีนมีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันในปลาและมีรายงานว่าเป็น สารก่อมะเร็งในมนุษย์ หลายประเทศจึงห้ามใช้ยาดังกล่าวในการเลี้ยงปลาบริโภค [1] พืชสมุนไพรไทยหลายชนิดมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายรวมทั้งฤทธิ์ในการต้านเชื้อปรสิตชนิดโปรโตซัว การวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากข่าหรือน้ำมันข่า (*Alpinia galanga* (*Linn.*) Wild.) ซึ่งเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่หาได้ง่ายต่อการต้านเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรคที่แยกได้จากปลาน้ำจืดโดยเป็นการศึกษาในหลอดทดลอง

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การสกัดน้ำมันข่าและการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันข่า

รวบรวมข่าสดจากตลาดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ล้างทำความสะอาด จากนั้นนำส่วนเหง้ามาสกัดน้ำมันด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ น้ำมันข่าที่สกัดได้นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีก๊าซโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโทเมตรี (GC-MS) ด้วยเครื่อง GC Agilent system 6890m/แมสสเปคโทรมิเตอร์ MS 5973 ใช้คอลัมน์ HP-5 MS (30.0 m x 250 μm x i.d.,0.25 μm) และเปรียบเทียบกับแมสสเปคตรัมของสารมาตรฐาน โดยภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

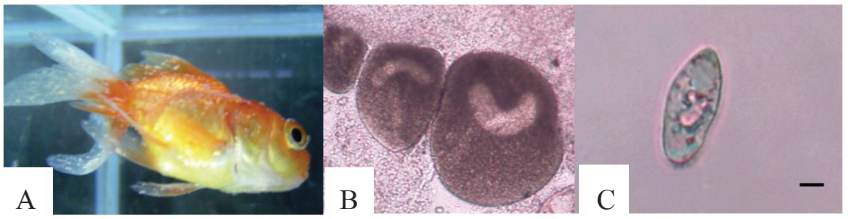
การเก็บเชื้อ I. multifiliis จากปลาป่วย

นำปลาทองที่แสดงอาการของโรคจุดขาว **(Figure 1A)** จากร้านขายปลาสวยงาม ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ มาทำการสลบด้วยสารไตรเคนมีเทนซัลโฟเนต (Sigma-Aldrich, Germany) ที่ระดับความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม จากนั้นเก็บเมือกจากผิวหนังและครีบที่พบลักษณะจุดขาวซึ่งเป็นเชื้อ *I. multifiliis* ระยะ trophont **(Figure 1B)** ส่องตรวจยืนยันทางกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง โดยเมือกที่ได้จะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป ส่วนปลาที่ถูกเก็บตัวอย่างแล้วจะทำการรักษาตามอาการจนหายเป็นปกติ ทั้งนี้การใช้สัตว์ทดลองได้รับการอนุญาตตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การแยกเชื้อ I. multifiliis ระยะติดโรค

นำเมือกปลาที่มีเชื้อ *I. multifiliis* ในระยะ trophont มาล้างด้วยน้ำกรองสะอาดเพื่อกำจัดเมือกและสารอินทรีย์ออกในถาดแก้ว เลี้ยงเชื้อในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (FTC90I, VELP scientifica) ที่ 24-25 องศาเซลเซียส เชื้อระยะ trophont จะพัฒนาไปเป็นเชื้อระยะ theront **(Figure 1C)** โดยใช้เวลาประมาณ 18-20 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณหาจำนวนเชื้อระยะติดโรคโดยใช้ Sedgwick-Rafter Counting Cell Slide ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่านที่กำลังขยาย 100 เท่า

Figure 1. Clinical Sign and Wet Mount of *I. multifiliis* Infection in Goldfish



A: Goldfish with a heavy *I. multifiliis* skin infection, B: Wet mount of skin biopsies showing *I. multifiliis* trophonts (arrow = the C-shaped macronucleus), C: *I. multifiliis* theront (Bar=16μm)

การออกแบบการทดลองและการศึกษาการตายของเชื้อจุดขาวระยะติดโรค

นำเชื้อระยะติดโรคใส่ใน 24 well plate กลุ่มละ 600 ตัว แบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 6 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับน้ำสะอาด กลุ่มที่ 2 ได้รับน้ำสะอาดผสมฟอร์มาลินขนาด 50 พีพีเอ็ม กลุ่มที่ 3 ได้รับน้ำสะอาดผสมสาร propylene glycol ส่วนกลุ่มที่ 4-6 ได้รับน้ำสะอาดผสมน้ำมันข่าที่ระดับความเข้มข้น 10 30 และ 60 พีพีเอ็ม (ทำละลายด้วยสาร propylene glycol) ในชั่วโมงที่ 1, 2, 4 และ 6 ของการทดลอง ทำการสุ่มเชื้อระยะติดโรค 100 ตัวโดยปริมาตร เพื่อศึกษาอัตราการตายของเชื้อจุดขาวระยะติดโรค โดยเชื้อระยะติดโรคที่ตายจะไม่พบการเคลื่อนที่และหรือเซลล์แตกสลาย ส่วนเชื้อระยะติดโรคที่มีชีวิตจะมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลาและพบเซลล์มีรูปร่างสมบูรณ์ [1,4] ควบคุม

อุณหภูมิที่ 24-25 องศาเซลเซียสตลอดระยะเวลาการทดลองและทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการสร้างสมการเส้นตรงแบบทั่วไป (Generalized linear model) โดยมี Model ดังนี้ Mortality = treatment + time + treatment × time + error เมื่อ treatment = กลุ่มน้ำสะอาด, กลุ่มน้ำสะอาดผสมฟอร์มาลิน, กลุ่มน้ำสะอาดผสม propylene glycol และกลุ่มน้ำมันข่าที่ระดับความเข้มข้น 10, 30 และ 60 พีพีเอ็ม, time = ชั่วโมงที่ 1, 2, 4 และ 6 ของการทดลอง, error มีคุณสมบัติ NID (0, σ^2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคู่ที่ทำการทดสอบ (Multiple comparison) ใช้วิธีการของ Bonferroni โดยกำหนดระดับนัยสำคัญ α=0.05 ในทุกการวิเคราะห์ข้อมูล การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้ PROC GLIMMIX (SAS 9.1.3)

ผลการศึกษา

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันข่า

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันข่าที่ใช้ในการทดลองโดยวิธี GC/MS เทียบผลกับฐานข้อมูลมาตรฐานพบว่าน้ำมันข่ามีสารองค์ประกอบหลัก คือ สารยูคาลิปตอลที่ retention time (Rt) เท่ากับ 6.69 นาที มีปริมาณสูงสุด คิดเป็น % Area เท่ากับ 36.33 %w/w สารที่พบรองลงมา คือ สาร terpinenol-4 ที่ Rt เท่ากับ 11.8 นาที มีปริมาณคิดเป็น % Area เท่ากับ 6.02 %w/w เป็นต้น (**Table 1**)

Table 1. Chemical Compositions of Volatile Oil for Galangal Oil

Name	IUPAC name	Rt (min)	Area (%)
I-beta-Pinene	(1S)-6,6-dimethyl-4-methylidenebicyclo[3.1.1]heptane	5.08	3.53
Eucalyptol	2,2,4-trimethyl-3-oxabicyclo[2.2.2]octane	6.69	36.33
Terpinenol-4	4-methyl-1-propan-2-ylcyclohex-3-en-1-ol	11.8	6.02
CHEBI:49266	(4R)-1-methyl-4-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohexene	25.21	5.57
Sesquiphellandrene	3-(6-methylhept-5-en-2-yl)-6-methylidenecyclohexene	25.79	5.24

Abbreviation: Rt, retention time

อัตราการตายของเชื้อ I. multifilis ระยะติดโรค

อัตราการตายเฉลี่ยของเชื้อ *I. multifilis* ระยะติดโรคของทุกกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเวลายาวนานขึ้น **(Figure 2 และ Table 2)** โดยพบว่าอัตราการตายเฉลี่ยของเชื้อระยะติดโรคในกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำสะอาดและ propylene glycol ในชั่วโมงที่ 1, 2 และ 6 ไม่แตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญ โดยอัตราการตายเฉลี่ยของเชื้อระยะติดโรคของทั้ง 2 กลุ่มในชั่วโมงที่ 6 คือ 21.3 % และ 24.7% ตามลำดับ ส่วนอัตราการตายเฉลี่ยในกลุ่มที่ได้รับฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม พบสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำสะอาดและกลุ่มที่ได้รับสาร propylene glycol อย่างมีนัยสำคัญในทุกช่วงของการทดลอง โดยในชั่วโมงที่ 6 พบอัตราการตายเฉลี่ยของเชื้อระยะติดโรคที่ 54.3% อย่างไรก็ตาม พบว่าในชั่วโมงที่ 4 อัตราการตายเฉลี่ยของเชื้อระยะติดโรคในกลุ่มที่ได้รับสาร propylene glycol มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำสะอาดอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนอัตราการตายเฉลี่ยของทุกกลุ่มที่ได้รับน้ำมันข่า (10 30 และ 60 พีพีเอ็ม) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็มในทุกช่วงของการทดลอง นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มที่ได้รับน้ำมันข่าพบว่าในชั่วโมงที่ 1 และ 2 ของการทดลอง อัตราการตายเฉลี่ยสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ตามระดับความเข้มข้นของน้ำมันข่าที่สูงขึ้น แต่ในชั่วโมงที่ 4 และ 6 ของการทดลอง กลุ่มน้ำมันข่าระดับความเข้มข้น 30 และ 60 พีพีเอ็ม พบอัตราการตายเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มน้ำมันข่าระดับความเข้มข้น 10 พีพีเอ็มอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบอัตราการตายสูงกว่าร้อยละ 80 (80.3 % และ 82.3% ในชั่วโมงที่ 4 และ 87.0% และ 86.3% ในชั่วโมงที่ 6 ตามลำดับ)

Figure 2. Mean Mortality of *I. multifiliis* Theront (N=3, Mean ±SD)

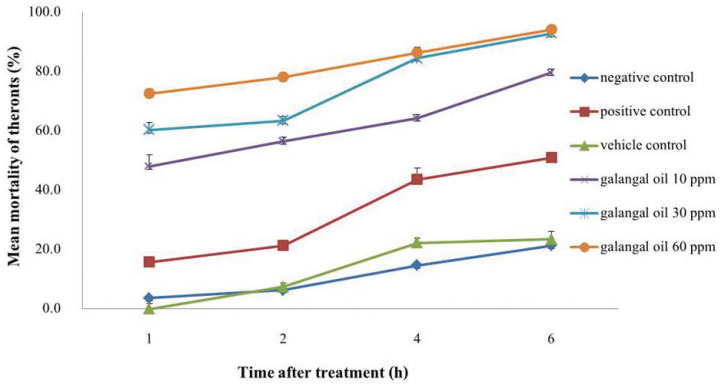


Table 2. Mean ± SD Mortality of *I. multifiliis* Theront at Different Times After Treatment

Treatment	Time after treatment (n=3)			
	1h	2h	4h	6h
Negative control	3.7±0.58	6.3±0.55	14.7±0.58	21.3±0.68
Positive control (formalin 50 ppm)	15.8±1.74	21.4±1.33	43.6±1.64	51.0±2.68
Vehicle control (propylene glycol)	0±0.00	7.4±1.54	22.2±3.97	23.4±1.77
Galangal oil 10 ppm	48.1±3.76	56.6±1.45	64.4±1.14	79.6±1.33
Galangal oil 30 ppm	60.4±2.47	63.5±1.27	84.6±1.56	92.9±1.29
Galangal oil 60 ppm	72.6±1.50	78.1±1.03	86.4±1.76	94.2±1.36

วิจารณ์

การห้ามใช้สารมาลาไคท์กรีนกับปลาที่เลี้ยงเพื่อการบริโภคทั้งในยุโรป และสหรัฐอเมริกา ส่งผลให้มีการศึกษามากขึ้นถึงสารเคมีและสมุนไพรทางเลือกที่มีความปลอดภัยต่อทั้งตัวปลา และมนุษย์ในการกำจัดเชื้อ *I. multifiliis* ซึ่งเป็นเชื้อที่ระบาดได้ง่ายและก่อความรุนแรงสูงในการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด รายงานสารเคมีชนิดใหม่ เช่น สาร hydrogen peroxide, peracetic acid and peroctanoic acid-based formulation (HPPAPA) ใช้กำจัดเชื้อ *I. multifiliis* ระยะ theront และ tomont [5] สาร peracetic acid [6,7] และสาร potassium ferrate (VI) [4] ที่ทำลายเชื้อ *I. multifiliis* ได้หลายระยะ ส่วนสารสกัดจากใบของต้นหมามุ้ย (*Mucuna pruriens*) ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม แช่ในน้ำนาน 72 ชั่วโมง และสารสกัดจากเมล็ดมะละกอ (*Carica papaya*) ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม แช่ในน้ำนาน 96 ชั่วโมง สามารถลดเชื้อบนตัวปลาได้ถึงร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว [2] นอกจากนี้ Yao และคณะ [8] ได้รายงานผลของสาร sanguinarine ซึ่งเป็นสาร isoquinoline alkaloids ในความเข้มข้น 0.7-0.9 พีพีเอ็ม จากใบของต้น *Macleaya cordata* ซึ่งเป็นพืชมีพิษว่าสามารถฆ่าเชื้อ *I. multifiliis* ในปลาเฉา (*Ctenopharyngodon idella*) เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้น้ำมันข่าเนื่องจากเป็นสมุนไพรที่หาง่ายและมีรายงานถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน รวมทั้งมีรายงานว่าสาร 1'-acetoxychavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate ในน้ำมันข่าสามารถฆ่าเชื้อรา *Microsporum gypseum* และ *Trichophyton mentagrophyte* [9] โดยทำการแยกเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรค และทดสอบในหลอดทดลอง ทำให้พบว่าเชื้อระยะติดโรคถึงแม้จะอยู่ในน้ำสะอาดปกติก็สามารถพบอัตราการตายได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุขัยของเชื้อและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม [1] ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Picon-Camacho และคณะ [5] ที่พบอัตราการตายเฉลี่ยร้อยละ 15 ในกลุ่มควบคุม ดังนั้นสาร propylene glycol อาจไม่มีผลต่อการตายของเชื้อระยะติดโรคเนื่องจากพบอัตราการตายไม่แตกต่างกันในส่วนมากของช่วงการทดลอง

น้ำมันข่ามีประสิทธิภาพดีในการฆ่าเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรคโดยเปรียบเทียบกับสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม โดยน้ำมันข่าให้ผลดีในการฆ่าเชื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการทดลองในความเข้มข้น 10 พีพีเอ็มและให้ผลดีขึ้นเมื่อความเข้มข้น สูงขึ้น คือ 30 และ 60 พีพีเอ็ม แต่เมื่อคำนึงถึงขนาดที่น้อยแต่ประสิทธิภาพสูงพบว่าความเข้มข้น 30 พีพีเอ็มให้ผลดีที่สุด โดยชั่วโมงที่ 4 และ 6 ของการทดลองให้ผลในการฆ่าเชื้อระยะติดโรคที่สูงและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับความเข้มข้น 60 พีพีเอ็ม สารยูคาลิปตอลพบเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันข่าในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม monoterpene มีรายงานถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อโปรโตซัวของสารยูคาลิปตอล โดย Su และคณะ [10] พบว่าสารยูคาลิปตอลจากการสกัดใบยูคาลิปตัสยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Plasmodium falciparum* ระยะ trophozoite ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพา (*Ocimum basilicum*) ที่มีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารพวก monoterpene เช่น limonene, eucalyptol

และ linalool มีฤทธิ์ทำลายเชื้อ *Giardia lamblia* [11] นอกจากนี้สารสกัดจากข่ายังมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Leishmania donovani* ระยะ promastigote โดยให้ผลดีขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดจากข่าในขนาดที่สูงขึ้นด้วย[12] อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของสารยูคาลิปตอลต่อเชื้อโปรโตซัวที่แน่นอนแต่เป็นไปได้ว่าสารยูคาลิปตอลอาจรบกวนผนังเซลล์ของเชื้อโปรโตซัว และส่งผลต่อการยับยั้งการผ่านเข้าออกของสารเคมีที่จำเป็นในกระบวนการเจริญและพัฒนาของเชื้อโปรโตซัว และยังมีรายงานว่าสารในกลุ่ม monoterpene เช่น สาร limonene และ nerolidol ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งวิถีเมวาโลเนท (mevalonate pathway) ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการชีวสังเคราะห์ระดับเซลล์ของเชื้อโปรโตซัวอีกด้วย [10]

จากผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าน้ำมันข่าสามารถฆ่าเชื้อ *I. multifiliis* ระยะติดโรคได้ โดยคาดว่าสารที่ออกฤทธิ์ คือ สารยูคาลิปตอลซึ่งพบเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนต่างๆ เช่น ผลของน้ำมันข่าต่อระยะอื่นๆของเชื้อ *I. multifiliis* การทดสอบพิษวิทยาของน้ำมันข่าต่อตัวสัตว์ รวมทั้งการศึกษาความคุ้มค่าในการนำไปใช้ เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อนำน้ำมันข่าเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคจุดขาวในปลาน้ำจืดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนเงินรายได้คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี พ.ศ 2554 และขอขอบคุณ อ.น.สพ.ดร.วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

1. Dickerson HW. *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans* (Phylum *Ciliophora)* In: Woo PTK, editor. *Fish diseases and disorders, Protozoan and Metazoan Infections*. Wallingford: CAB International; 2006. p.181-227.
2. Ekanem A, Obiekezie A, Kloas W, Knopf K. Effects of crude extracts of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) and *Carica papaya* (Caricaceae) against the protozoan fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitol Res*. 2004;92:361-366.
3. Liu YJ, Lu CP. Role of *Ichthyophthirius multifiliis* in the Infection of *Aeromonas hydrophila*. *J Vet Met B.* 2004;51:222-224.
4. Ling F, Wang JG, Liu QF, Li M, Ye LT, Gong, XN. Prevention of *Ichthyophthirius multifiliis* infestation in goldfish (*Carassius auratus*) by potassium ferrate (VI) treatment. *Vet Parasitol.* 2010;168 (3-4):212-216.
5. Picón-Camacho SM, Marcos-Lopez M, Beljean A, Debeaume S, Shinn AP. In vitro assessment of the chemotherapeutic action of a specific hydrogen peroxide, peracetic, acetic, and peroctanoic acid-based formulation against the free-living stages of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora). *Parasitol Res*. 2011;110:1029-1032.
6. Straus DL, Meinelt T. Acute toxicity of peracetic acid (PAA) formulations to *Ichthyophthirius multifiliis*

theronts. *Parasitol Res*. 2009;104:1237-1241.

7. Sudová E, Straus DL, Wienke A, Meinelt T. Evaluation of continuous 4-day exposure to peracetic acid as a treatment for Ichthyophthirius multifiliis. *Parasitol Res*. 2010;106(2):539-544.
8. Yao JY, Shen JY, Li XL, Xu Y, Hao GJ, Pan XY, Wang GX, Yin WL. Effect of sanguinarine from the leaves of Macleaya cordata against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitol Res.* 2010;107:1035-1042.
9. Chudiwal AK, Jain DP, Somani RS. *Alpinia galanga* Willd.– An overview on phyto-pharmacological properties. *Indian J Nat Prod Resour*. 2010;1(2):143-149.
10. Su V, King D, Woodrow I, McFadden G, Gleadow R. *Plasmodium falciparum* growth is arrested by monoterpenes from eucalyptus oil. *Flavour Fragr J.* 2008;23:315–318.
11. de Almeida I, Alviano DS, Vieira DP, Alves PB, Blank AF, Lopes AH, Alviano CS, Rosa Mdo S. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. *Parasitol Res.* 2007;101(2):443-452.
12. Kaur A, Singh R, Dey CS, Sharma SS, Bhutani KK, Singh IP. Antileishmanial phenylpropanoids from *Alpinia galangal* (Linn.) Wild. *Indian J Exp Biol*. 2010;48(3):314-317.