

การประเมินความปลอดภัยของไตรคลอฟอนในขนาดที่ใช้รักษา
โรคปรสิตภายนอก โดยการตรวจวัดการทำงานของ
เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในซีรุ่มปลาแคร์พ (*Cyprinus carpio*)

รังสิวรรณ เพชรอินทร์¹ รุจิรา ธรรมมา¹ อุบลรัตน์ นิมิตไตรทิพย์¹
เจนนุช ว่องธวัชชัย² ปิยะรัตน์ จันทร์ศิริพรชัย^{1*}

Abstract

Rangsiwan Pet-in¹ Rujira Thumma¹ Ubonrat Nimittritip¹ Janenuj Wongtavatchai² Piyarat Chansiripornchai^{1*}

SAFETY EVALUATION OF TRICHLORFON USED AT A THERAPEUTIC
DOSE LEVEL FOR ECTOPARASITIC TREATMENT BY STUDYING
SERUM CHOLINESTERASE ACTIVITY MEASUREMENTS IN CARP
(*CYPRINUS CARPIO*)

The safety of trichlorfon at a therapeutic dose for ectoparasitic treatment in healthy carp (*Cyprinus carpio*) was evaluated by the measurement of serum cholinesterase (ChE) activity. Three groups of juvenile carp (70-80 g b.w., n =30 each) were bathed with 0.5 ppm trichlorfon 1, 2 or 3 times, respectively, at 5-day intervals. Serum ChE activity in each fish were compared pre and post-treatment. A significant post-treatment reduction of serum ChE activity ($p < 0.05$) was found in all groups, although they, resumed their pre-treatment levels 14 days after trichlorfon was withdrawn. All fish were clinically healthy throughout the experiment, suggesting, that the doses of trichlorfon applied in this study were safe.

Keywords : Carp, trichlorfon, cholinesterase enzyme, safety evaluation

¹Department of Veterinary Pharmacology, ²Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan Bangkok 10330

*Corresponding author

¹ภาควิชาเภสัชวิทยา, ²ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

*ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

รังสิวรรณ เพชรอินทร์¹ รุจิรา ธรรมมา¹ อุบลรัตน์ นิมิตไตรพิทย์¹
เจนนุช ว่องวัชชัย² ปิยะรัตน์ จันทศิริพรชัย^{1*}

การประเมินความปลอดภัยของไตรคลอฟอนในขนาดที่ใช้รักษาโรคปรสิตภายนอก โดยการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์โกลีตอินเอสเทอเรสในซีรุ่มปลาแคร์พ (Cyprinus carpio)

ประเมินความปลอดภัยของไตรคลอฟอนในขนาดที่ใช้รักษาโรคปรสิตภายนอก โดยการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์โกลีตอินเอสเทอเรสในซีรุ่มปลาแคร์พ (*Cyprinus carpio*) แบ่งปลาแคร์พเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 30 ตัว ให้ปลาแต่ละกลุ่มสัมผัสกับสารกำจัดแมลงไตรคลอฟอนที่ความเข้มข้นในระดับรักษาโรคปรสิตภายนอกคือ 0.5 ppm โดยการแช่เป็นระยะเวลา 24 ชม. จำนวน 1, 2 หรือ 3 ครั้ง และเว้นระยะระหว่างการแช่แต่ละครั้ง 5 วัน ตรวจวัดค่าการทำงานของเอนไซม์โกลีตอินเอสเทอเรสในซีรุ่มของปลาแต่ละตัวก่อนสัมผัสสาร หลังสิ้นสุดการสัมผัสสาร 24 ชม. และหลังสัมผัสสาร 14 วัน พบว่าปลาแคร์พทุกกลุ่มภายหลังสัมผัสไตรคลอฟอนมีค่าการทำงานของเอนไซม์โกลีตอินเอสเทอเรสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับก่อนสัมผัสสาร ค่าการทำงานของเอนไซม์กลับคืนสู่ระดับปกติเมื่อตรวจวัดที่ 14 วันหลังจากหยุดสัมผัสสาร และพบว่าปลาทุกกลุ่มที่สัมผัสไตรคลอฟอน ในระดับรักษาสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้โดยไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ

คำสำคัญ : ปลาแคร์พ ไตรคลอฟอน เอนไซม์โกลีตอินเอสเทอเรส การประเมินความปลอดภัย

บทนำ

ปลาสวยงามเป็นทั้งสัตว์เลี้ยงและสัตว์เศรษฐกิจอย่างหนึ่งที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยอย่างมากทั้งการเพาะเลี้ยงเพื่อจำหน่ายในประเทศและการส่งออก ในการเลี้ยงปลาจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องรู้จักโรคต่างๆ ที่ทำความเสียหายแก่ตัวปลา โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากปรสิตภายนอก เช่น การติดเชื้อ *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp., *Gyrodactylus* sp., *Lernaea* worm, *Argulus* sp. เป็นต้น (จิรศักดิ์ และคณะ, 1998) ซึ่งก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อตัวปลา ทำให้ผิวหนังเกิดบาดแผลและเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อแทรกซ้อน ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพปลาในที่สุด การรักษาโรคปรสิตภายนอกที่นิยมใช้ ได้แก่ การใช้ยาหรือสารเคมีผสมน้ำแล้วจุ่มหรือแช่ปลา ซึ่งยาหรือสารเคมีเหล่านี้มีจำหน่ายในรูปแบบต่างๆ สารเคมีที่นิยมใช้ป้องกันและกำจัดพยาธิภายนอกในปลาสวยงาม ได้แก่ formalin, potassium permanganate, malachite green, methylene blue, acriflavin และ nitrofurazone (จิรศักดิ์ และคณะ, 1998)

trichlorfon (Dimethyl 2, 2, 2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate) เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่ม organophosphate (OP) ตัวหนึ่งที่น่าสนใจกำจัดพยาธิภายนอกของปลาได้โดยใช้ใน

ขนาดความเข้มข้น 0.5 ppm มีสูตรโมเลกุลคือ $C_4H_8OCl_3P$ น้ำหนักโมเลกุล 257.6 จุดหลอมเหลว 75-84°C. จุดเดือด 100°C. มีฤทธิ์กัดกร่อนโลหะ trichlorfon มีหลายรูปแบบ คือ เป็นผงผลึกสีขาว สารละลายเข้มข้น หรือ granule (Hassan et al., 1965) ละลายได้ในน้ำ, dichloromethane, 2-propanol, toluene, DMSO (dimethyl sulfoxide), ethanol, methanol และ acetone สลายตัวอย่างช้าๆ ในภาวะที่เป็น กรด (pH ต่ำกว่า 5.5) ที่อุณหภูมิ 20°C. มีค่าครึ่งชีวิต 526 วัน (Lorenz et al., 1955) ส่วนในภาวะที่เป็นด่าง (pH สูงกว่า 5.5) trichlorfon จะเปลี่ยนรูปเป็น dichlorvos ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงในกลุ่ม OP เช่นเดียวกัน trichlorfon มีความเป็นพิษปานกลางต่อปลา พบว่าที่ 96 ชม. ค่า lethal concentration (LC_{50}) มีค่าตั้งแต่ 0.4 ถึง 51 ppm และความเป็นพิษที่เกิดในปลาจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิของน้ำ pH และความกระด้างของน้ำ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มจาก 7°C. เป็น 12°C. และ pH เพิ่มขึ้นจาก 6.5 เป็น 8.5 ความเป็นพิษจะเพิ่มขึ้นจาก 3.4 เท่าเป็น 13 เท่า เนื่องจากที่ pH น้อยกว่า 5.5 trichlorfon จะมีความคงตัวสูง แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นเป็น 8.5 trichlorfon บางส่วนจะถูกเปลี่ยนเป็น dichlorvos ทำให้มีความเป็นพิษเพิ่มมากขึ้น (Howe, 1994) กลไกการออกฤทธิ์ของ trichlorfon เป็นเช่นเดียวกับสารกำจัด

แมลงในกลุ่ม OP ตัวอื่นๆ คือ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase (ChE) ทำให้ระดับของเอนไซม์ชนิดนี้ในร่างกายของมนุษย์และสัตว์หลายชนิดมีค่าลดลง (Hofer, 1981) และเป็นที่ยอมรับว่าการลดลงของเอนไซม์ ChE สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิดพิษจากสารกำจัดแมลงกลุ่ม OP (Hallbrook et al., 1992)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความปลอดภัยของสารกำจัดแมลงชนิด trichlorfon ในขนาดที่ใช้รักษาโรครีบาดินนอกในปลาหางนกมัจฉา โดยใช้การเปลี่ยนแปลงค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมเมื่อ 24 ชม. หลังจากสิ้นสุดการรักษาเป็นตัวบ่งชี้

วัสดุและวิธีการ

ปลาการ์ฟขนาดความยาว 10-12 ซม. ซึ่งมีน้ำหนักตัว 70-80 ก. นำมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนทำการทดลอง

แบ่งปลาการ์ฟออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 30 ตัว เลี้ยงปลาแต่ละกลุ่มในบ่อไฟเบอร์กลาสขนาด 60x60x60 ลูกบาศก์เซนติเมตรที่บรรจุน้ำสะอาด 160 ลิตร อุณหภูมิ 26°C. pH 6.0-7.0 ติดหัวทรายให้ออกซิเจนตลอดเวลา เลี้ยงปลาด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป เาะเลือกและแยกซีรัมปลาทุกตัวในทุกกลุ่มเพื่อวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในวันที่ 7 ก่อนการทดลอง

ในวันเริ่มการทดลองให้ปลาการ์ฟทุกกลุ่มสัมผัส trichlorfon ขนาด 0.5 ppm เป็นเวลา 24 ชม. ใช้วิธีการทดลองในน้ำนิ่งแบบเปลี่ยนน้ำทุกวัน โดยให้ปลา กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 สัมผัส trichlorfon 1, 2 และ 3 ครั้ง ตามลำดับ เว้นระยะห่างระหว่างการสัมผัสแต่ละครั้งนาน 5 วัน เมื่อสิ้นสุดการให้ยาทำการเจาะเลือดปลาทุกตัวเพื่อวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE หลังจากการสัมผัสครั้งสุดท้ายแล้ว 24 ชม. และ 14 วัน แยกเก็บซีรัมจากเลือดปลานำไปวัดค่าการทำงานของ ChE โดยประยุกต์ใช้วิธีการของ Ellman และคณะ (1961) และ Harlin and Ross (1990) เปรียบเทียบค่าการทำงานของ ChE ในซีรัมปลาภายหลังสัมผัสสารกับค่าก่อนสัมผัสสาร โดยใช้ ANOVA ที่ $p < 0.05$

ศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟ โดยวัดค่าการทำงานของ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟปกติที่ไม่ได้สัมผัสสาร หลังจากเก็บตัวอย่างซีรัมไว้ที่ -20°C. เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชม. เปรียบเทียบ ค่าการทำงานของ ChE ใน

ซีรัมปลาภายหลังสัมผัสสารกับค่าก่อนสัมผัสสาร และค่าการทำงานของเอนไซม์ที่ระยะเวลาต่างๆ โดยใช้ ANOVA ที่ $p < 0.05$

ผล

ความคงตัวของเอนไซม์ ChE ในตัวอย่างซีรัม

เมื่อเปรียบเทียบค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในตัวอย่างซีรัมปลาการ์ฟ โดยวัดหลังจากเก็บตัวอย่างไว้ ที่ -20°C. เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชม. พบว่าค่า การทำงานของเอนไซม์ ChE ไม่มีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงสามารถเก็บตัวอย่างไว้ที่ -20°C. เป็นเวลานาน 24 48 และ 72 ชม. ได้โดยไม่มีผลต่อค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE

ผลของ trichlorfon ต่อค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟ

ค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟ หลังได้รับการสัมผัส trichlorfon แล้ว 24 ชม. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าก่อนสัมผัสสาร (ตารางที่ 2) แต่ค่าการทำงานของเอนไซม์สามารถกลับคืนสู่ระดับปกติได้ภายหลังสิ้นสุดการสัมผัสสารแล้ว 14 วัน ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในลักษณะเดียวกันในทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับการสัมผัสสาร 1 2 หรือ 3 ครั้ง นอกจากนี้พบว่าปลาในกลุ่มที่สัมผัสสาร 3 ครั้ง มีค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE หลังสิ้นสุดการสัมผัสสารครั้งสุดท้ายแล้ว 14 วัน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าก่อนสัมผัสสาร

วิจารณ์

การเปรียบเทียบค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟเมื่อเก็บตัวอย่างที่ -20°C. เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชม. แสดงถึงความคงตัวของค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE การทดสอบความคงตัวของเอนไซม์ในซีรัมเป็นสิ่งจำเป็นในกรณีที่ไม่สามารถตรวจวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ให้เสร็จสิ้นภายในระยะเวลาอันสั้นและจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างไว้ก่อนผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟมีความคงตัว 72 ชม. เมื่อเก็บตัวอย่างไว้ที่ -20°C. มีรายงานเกี่ยวกับความคงตัวของเอนไซม์ ChE เช่น เอนไซม์ ChE ในเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะคงตัวอยู่ได้หลายสัปดาห์ถ้าเก็บตัวอย่างที่ 0-5°C. และเอนไซม์ ChE ในพลาสมาสามารถคงตัวอยู่ได้นานหลายเดือนถ้าเก็บตัวอย่างที่

ตารางที่ 1 ค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟ เมื่อวัดหลังจากเก็บตัวอย่างไว้ที่ -20°C. เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชม.

จำนวน	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าการทำงานของ ChE* (Mean $\pm$ SD)
30	24	0.11 $\pm$ 0.027
30	24 x 2	0.11 $\pm$ 0.024
30	24 x 3	0.14 $\pm$ 0.029

*หน่วยเป็น micromole of substrate hydrolyzed min⁻¹ ml⁻¹

ตารางที่ 2 ค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ในซีรัมปลาการ์ฟเมื่อสัมผัสสาร trichlorfon ในขนาดรักษาโรคปรสิตภายนอก

Trichlorfon*	ค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE**		
	ก่อนสัมผัสสาร ⁽¹⁾	หลังสัมผัสสาร 24 ชั่วโมง ⁽²⁾	หลังสัมผัสสาร 14 วัน ⁽³⁾
สัมผัสสาร 1 ครั้ง	0.181 $\pm$ 0.054	0.041 $\pm$ 0.012 ^a	0.184 $\pm$ 0.066 ^b
สัมผัสสาร 2 ครั้ง	0.175 $\pm$ 0.085	0.028 $\pm$ 0.011 ^a	0.210 $\pm$ 0.075 ^b
สัมผัสสาร 3 ครั้ง	0.150 $\pm$ 0.058	0.039 $\pm$ 0.024 ^a	0.225 $\pm$ 0.114 ^{a,b}

* 0.5 ppm, 24-hr static bath exposure

** n=30, หน่วยเป็น micromole of substrate hydrolyzed min⁻¹ ml⁻¹ (mean $\pm$ SD)

^a แตกต่างจาก (1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^b แตกต่างจาก (2) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

0°C. (Osweiler et al., 1985) อย่างไรก็ตามเพื่อป้องกันความผิดพลาดจากการเก็บตัวอย่างไว้นานจนมีผลต่อค่าการทำงานของเอนไซม์ จึงเสนอแนะให้ตรวจวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ทันทีหรือในระยะเวลาอันสั้นหลังจากการเก็บตัวอย่าง

การใช้ trichlorfon ในขนาดรักษาโรคปรสิตภายนอกคือ 0.5 ppm เป็นเวลา 24 ชม. จำนวน 1 2 หรือ 3 ครั้ง โดยเว้นระยะการแช่ห่างกันครั้งละ 5 วัน มีผลทำให้ปลาการ์ฟที่ได้รับการสัมผัส trichlorfon มีค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับค่าการทำงานของเอนไซม์ก่อนสัมผัสสาร การลดลงของค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE เป็นผลจาก OP ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของ ChE ทั้ง acetylcholinesterase และ pseudocholinesterase ในลักษณะของ competitive inhibition (Osweiler et al., 1985) การลดลงของค่าการทำงานของ ChE

เมื่อสัมผัสสาร OP พบได้ในสัตว์หลายชนิดทั้งสัตว์บก สัตว์น้ำ และแมลง (Clarke, 1981) ค่าการทำงานของ ChE ที่ลดลงสามารถกลับสู่ระดับของค่าเริ่มต้นก่อนที่ปลาจะได้รับยาเมื่อตรวจวัดหลังจากสิ้นสุดการให้ยาแล้ว 14 วัน พบว่าปลาการ์ฟกลุ่มที่สัมผัสสาร 1 และ 2 ครั้ง มีค่าการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นและไม่แตกต่างจากระดับก่อนได้รับ trichlorfon ในขณะที่ปลาการ์ฟในกลุ่มที่สัมผัสสาร 3 ครั้ง มีค่าการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นมากกว่าก่อนการสัมผัสสาร ซึ่งอาจเกิดจากการที่ปลาการ์ฟในกลุ่มนี้ได้สัมผัสสาร trichlorfon ในจำนวนครั้งที่มีมากกว่ากลุ่มอื่นจึงมีการปรับตัวสร้างเอนไซม์ขึ้นมาทดแทน ทั้งนี้ควรที่จะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนครั้งของการสัมผัส trichlorfon กับค่าการทำงานของ ChE เพื่อพิสูจน์สมมติฐานนี้ การปรับตัวของปลาการ์ฟที่ได้รับ trichlorfon ในการศึกษาครั้งนี้แสดงถึงการ

ปรับตัวของปลาที่ได้รับสารกลุ่ม cholinesterase inhibitor ในขนาดที่ใช้รักษาโรคปรสิตภายนอกโดยการปรับระดับการทำงานของซีรัม ChE ที่ลดลงให้กลับเข้าสู่ระดับที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นๆ ในปลาที่ได้รับสารกลุ่มนี้ (Szabo et al., 1992)

แม้ว่าปลาคาร์พที่ได้รับยามีการลดลงของค่าการทำงานของเอนไซม์ ChE แต่ไม่พบความผิดปกติในพฤติกรรม การกินอาหาร การว่ายน้ำ การหายใจ และการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ที่สังเกตเห็นได้ เช่น การเปลี่ยนแปลงของเกล็ด การสร้างเมือกที่ผิวหนัง และไม่แสดงอาการผิดปกติทางคลินิกที่บ่งชี้ว่าเกิดความเป็นพิษจากสาร OP ทั้งในกลุ่มที่ได้รับยา 1 2 หรือ 3 ครั้ง นอกจากนี้ค่าการทำงานของเอนไซม์ที่ลดลงสามารถกลับสู่ระดับของค่าเริ่มต้นก่อนสัมผัสยาหลังจากสิ้นสุดการรักษาหรือได้รับยา ดังนั้นจึงเป็นการแสดงว่าการใช้สารกำจัดแมลง trichlorfon ในขนาด 0.5 ppm มีความปลอดภัยเพียงพอที่จะนำมาใช้ในทางสัตวแพทย์เพื่อรักษาโรคปรสิตภายนอกในปลาสวยงาม อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาความปลอดภัยของสารกำจัดแมลง trichlorfon ในการใช้รักษาโรคปรสิตภายนอกในปลาสวยงาม จึงประเมินความปลอดภัยของปลาสวยงามที่ได้รับยาเท่านั้น หากจะมีการนำ trichlorfon ไปใช้ในการรักษาปลาที่ใช้บริโภค ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคปลาที่ได้รับยาชนิดนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ โครงการเสริมทักษะการวิจัย ปีการศึกษา 2544 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สนับสนุนเงินทุนวิจัย และ ผศ. อัจฉรา ธวัชสิน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ นันทริกา ชันชื้อ สันติ วงศ์อำนวยกุล
สยาม พาใจสงค์ สิทธิคุณ วิสฤตตานนท์ สุภวิวัฒน์
พงษ์เลาพันธ์ และเทพมนัส บุญผาอินทร์. 1998(2541).
โรคปลาสวยงาม. เวชสารสัตวแพทย์ 28(2): 87-94.
Clarke, M.L. 1981. Organic compounds: II. Pesticide.
In: Veterinary Toxicology. 2nded. London: Baillirer
Tindall, 147-152.
Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone,
R.M. 1961. A new and rapid colorimetric

determination of acetylcholinesterase activity.
Biochem. Pharmacol. 7: 88-95.
Halbrook, R.S., Shugart, L.R., Watson, A.P., Munro, N.B.
and Linnabary, R.D. 1992. Characterizing
biological variability in livestock blood choline-
sterase activity for biomonitoring organophosphate
nerve agent exposure. J. Am. Vet. Med. Assoc.
201(5): 714-725.
Harlin, K.S. and Ross, P.F. 1990. Enzymatic spectro-
photometric method for the determination of
cholinesterase activity in whole blood : collaborative
study. Assoc. Off. Anal. Chem. 73: 616-621.
Hassan, A., Zayed, S.M.A.D. and Hashish, S. 1965.
Metabolism of organophosphorus insecticides.VI.
Mechanism of detoxification of dipterex in the rat.
Biochem. Pharmacol. 14: 1692-1694.
Hofer, W. 1981. Chemistry of metrifonate and dichlorvos.
Acta Pharmacol. Scand. 49 (suppl): 7-14.
Howe, G.E. 1994. Effect of water temperature and pH on
toxicity of terbufos, trichlorfon, 4-nitrophenol and 2,
4-dinitrophenol to the amphipod Gammarus
pseudolimnaeus and rainbow trout (*Oncorhynchus
mykiss*). Env. Tox. Chem. 13(1): 51-56.
Lorenz, W., Henglein, A. and Schrader, G. 1955. The new
insecticide O, O-dimethyl 2,2,2-trichloro-1-
hydroxyethylphosphonate. J. Am. Chem. Soc.
77 : 2554-2556.
Osweiler, G.D., Carson, T.L., Buck, W.B. and Van Gelder,
G.A. 1985. Clinical and Diagnostic Veterinary
Toxicology. 3rded. Ames: Kendall/Hunt Pub.
Comp., Ames 298-317.
Szabo, A., Nemcsok, J., Asztalos, B., Rakonczay, Z., Kasa,
P. and Le Hu Hien. 1992. The effect of pesticides on
carp (*Cyprinus carpio*) acetylcholinesterase and its
biochemical characterization. Ecotox. Environ.
Safety. 23: 39-45.