รายงานการวิจัย

โรคติดเชื้อ Trypanosome ในปลาดุกบิ๊กอุยและปลาน้ำจืดบางชนิด

Trypanosomiasis in hybrid clarias catfish (*Clarias macrocepholus* X *Clarias gariepinus*) and other freshwater fishes

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุทธินี ภูวนาท

นางสาวจรีพร เรืองศรี

นายรังสัญ รักกมล

ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

หอสมุด คุณหญิงหลง ธรรมเกษมสุนทร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่

ได้รับจาก

คณะวิทยาศาสตร์ SUE

วันที่ ___ เลขที่ ..... ท.ส.

โรคติดเชื้อ Trypanosome ในปลาดุกบิ๊กอุยและปลาน้ำจืดบางชนิด

กิจการ ศุภมาตย์[1] สุทธินี ภูวนาท[2] จรีพร เรืองศรี[3] และ รังสัญ รักกมล[4]

Abstract

Kidchakan Supamattaya[1] Suthinee Bhuvanath[2] Jareeporn Ruangsri[3] and Rungsun Ruggamol[4]

Trypanosomiasis in hybrid clarias catfish (*Clarias macrocepholus* X *Clarias gariepinus*) and other freshwater fishes

The infestation of *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) in the hybrid catfish and some freshwater fish were studied showing such parasitic infestation was specific only in catfish. The virulence as determined by LD_{50} for 5 days was $2.28x10^{10}$ cell in a fish sample. The parasitic infestation caused hematological changes by the reduction of red as well as white blood cells. The reduction were highly significant as compare to the healthy sample ($p<0.01$) as note by the red blood cell count which dropped from $2.14\pm 0.48 \times 10^6$ to $1.62\pm0.27x10^6$ cells/ml blood in infested samples while the reduction in white blood cell counts dropped from $1.45\pm3.76x10^5$ to $2.42\pm0.78x10^4$ cells/ml blood in the samples with infestation. Similar trend was noted for hemoglobin and hematocrit which dropped significantly ($p<0.05$). The hemoglobin in healthy fish is 7.075 ± 0.929g/100g which dropped to 6.268 ± 0.697g/100g in the samples with infestation. The percentage of hematocrit in healthy sample is 25.275 ± 3.31% which dropped to 21.722 ± 3.068% in the samples with infestation. The reverse trend was recognized for serum protein and leukocrit which increased in the samples with *Trypanosome* sp. infestation. The density gradient centrifugation technique was employed in the isolation of parasites in which 50% Percoll solution in 0.85% final preparation of saline solution was capable of removing *Trypanosome* sp. from the blood. The study of antibody levels in serum showed that the infested hybrid catfish could develop the antibody which reached the peak 14 days after the infestation. *Trypanosoma* sp. was unable to cause histological changes in the tissues of gill, liver, kidney, spleen, stomach and intestine. Minor inflammations were observed, however, it was noted the presence of parasites in the blood streams and sinuses. Marked reductions were recorded for mature red blood cells while there were the formation of immature red blood and phagocytotic cells at higher rates as compared to the healthy individual.

Keywords : kinetoplastida, trypanosome, blood parasite, catfish, blood parameters

[1, 3, 4]**Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources,**
[2]**Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkhla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand.**

[1] Dr. rer. Nat. (Aquatic Animal Disease) รองศาสตราจารย์ [3] วท.บ. (วาริชศาสตร์) นักวิชาการประมง [4] วท.ม. (วาริชศาสตร์) นักวิชาการประมง ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ [2] Dr. Sc. Hum (ปรัสิตวิทยา) ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

บทคัดย่อ

กิจการ ศุภมาตย์[1] สุทธินี ภูวนาท[2] จรีพร เรืองศรี[2] และ รังสัญ รักกมล

โรคติดเชื้อ Trypanosome ในปลาดุกบิ๊กอุยและปลาน้ำจืดบางชนิด

การศึกษาการเกิดโรคติดเชื้อ *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) ในปลาดุกบิ๊กอุยและปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ พบว่าเชื้อปรสิตดังกล่าวมีความจำเพาะในการเกิดโรคกับปลาดุกบิ๊กอุยเท่านั้น ความรุนแรงของเชื้อมีค่า LD_{50} ที่เวลา 5 วันเท่ากับ $2.28x10^{10}$ เซลล์ต่อตัวปลา การติดเชื้อปรสิตมีผลทำให้องค์ประกอบเลือดเปลี่ยนแปลง ปลาที่ติดเชื้อปรสิตมีปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวลดลงแตกต่างจากปลาปกติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) โดยปริมาณเม็ดเลือดแดงในปลาปกติมีค่า $2.14\pm0.48x10^{6}$ เซลล์/มล ลดลงเหลือ $1.62\pm0.27x10^{6}$ เซลล์/มล ในปลาที่ติดเชื้อปรสิต ปริมาณเม็ดเลือดขาวในปลาปกติมีค่า $1.45\pm3.76x10^{5}$ เซลล์/มล ลดลงเหลือ $2.42\pm0.78x10^{4}$ เซลล์/มล ในปลาที่ติดเชื้อปรสิต เช่นเดียวกับปริมาณฮีโมโกลบินและเม็ดเลือดแดงอัดแน่นก็ลดลงอย่างมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณฮีโมโกลบินในปลาปกติมีค่า 7.075 ± 0.929 กรัม/100 กรัม ลดลงเหลือ 6.268 ± 0.697 กรัม/100 กรัม ในปลาที่ติดเชื้อปรสิต เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นในปลาปกติมีค่า $25.275\pm3.318\%$ ลดลงเหลือ $21.722\pm3.068\%$ เมื่อปลาติดเชื้อปรสิต ส่วนปริมาณโปรตีนในซีรัมและเม็ดเลือดขาวอัดแน่นมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปลาติดเชื้อปรสิต *Trypanosome* sp. การใช้วิธี density gradient centrifugation เพื่อแยกเชื้อปรสิต พบว่าสารละลาย Percoll 50% ในสารละลายเกลือเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.85% สามารถแยกปรสิตจากเลือดปลาได้ การศึกษาปริมาณแอนติบอดี้ในซีรัมปลาพบว่าปลาดุกบิ๊กอุยที่ติดเชื้อปรสิตสามารถสร้างแอนติบอดี้ได้เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 14 วันหลังการติดเชื้อ จากการศึกษาพบว่าปรสิต *Trypanosoma* sp. ชนิดนี้ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือก ตับ ไต ม้าม กระเพาะอาหาร และลำไส้ มากนักพบการอักเสบเล็กน้อย แต่พบปรสิตจำนวนมากในกระแสเลือดและแอ่งเลือด ปริมาณเม็ดเลือดแดงเต็มวัยลดลงอย่างชัดเจน มีการสร้างเม็ดเลือดแดงวัยอ่อนและเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมเพิ่มมากขึ้นกว่าปลาปกติอย่างชัดเจน

บทนำ

ปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) และปลาดุกอุย (*C. macrocephalus*) เป็นปลาน้ำจืดที่นิยมเลี้ยงกันมากในประเทศไทยและจัดเป็นปลาเศรษฐกิจตัวหนึ่งของประเทศ มีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศและส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียง เช่น มาเลเซีย อินโดนีเซีย ลาว และพม่า ในระยะ 10 ปี ที่ผ่านมามีการนำปลาดุกอัฟริกัน (*C. gariepinus*) เข้ามาผสมกับปลาดุกด้านและปลาดุกอุย เนื่องจากปลาดุกอัฟริกันมีขนาดใหญ่ เมื่อมาผสมกับปลาดุกอุย ทำให้ลูกผสมมีขนาดใหญ่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและมีรสชาติของเนื้อคล้ายปลาดุกอุย ทำให้เป็นที่นิยมเลี้ยงของเกษตรกรเป็นอย่างมาก และเรียกปลาดุกลูกผสมนี้ว่า ปลาดุกบิ๊กอุย

ปลาดุกบิ๊กอุยเลี้ยงง่ายและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่เนื่องจากพ่อพันธุ์เป็นสายพันธุ์ที่นำมาจากต่างประเทศ (exotic species) จึงก่อให้เกิดปัญหาเรื่องนิเวศวิทยาของการเกิดโรค คือ เชื้อโรคบางชนิดอาจจะเป็น normal flora ของปลาในท้องถิ่น (local strain) โดยไม่มีปัญหาของโรค เนื่องจากสามารถต้านทานโรคได้ดี แต่เมื่อมีสปีชีส์ใหม่เข้ามาก็อาจจะก่อให้เกิดการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเป็นเจ้าบ้านตัวใหม่หรือชนิดที่เข้ามาใหม่อาจจะเป็นตัวนำเชื้อโรคที่รุนแรงเข้ามาก็เป็นได้ ในปลาดุกบิ๊กอุยก็เช่นเดียวกัน มีโรคหลายชนิดที่เกิดในปลาดุกบิ๊กอุยและปลาดุกธรรมดา เช่น โรคแผลแดง แผลหลุมที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* หรืออาจจะทำให้เกิดท้องบวมร่วมด้วย โรคตัวด่างลักษณะแผลเหมือนน้ำร้อนลวกเกิดจากเชื้อ *Flexibacter columnaris* นอกจากนี้ยังมีโรคที่เกิดจากปรสิตภายนอก เช่น เห็บระฆัง อิพิสไทลิส อิ๊ก ปลิงใส และโปรโตซัวเกาะเหงือกอีกหลายชนิด

ในบรรดาโรคที่เคยรายงานว่าตรวจพบในปลาดุกบิ๊กอุย มีโรคซึ่งเกิดจากปรสิตในกระแสเลือดตัวหนึ่ง (blood parasite) ยังไม่เคยมีรายงานในปลาดุกบิ๊กอุยจากที่ใดมาก่อน และตรวจพบโดยศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา

การศึกษาครั้งนี้เพื่อต้องการตรวจสอบดูว่าปรสิตที่พบเป็นชนิดใหม่ (new species) หรือไม่ โดยเปรียบเทียบกับที่เคยศึกษาไว้แล้ว รวมทั้งต้องการศึกษาความรุนแรงของโรคและตัวเชื้อ ผลของการติดเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด และเนื้อเยื่อวิทยาของปลาดุกบิ๊กอุย ศึกษาวิธีการแยกเชื้อโดยใช้เทคนิค density gradient centrifugation และศึกษาการสร้างภูมิต้านทานของปลาต่อเชื้อดังกล่าว

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลองและสภาวะการเลี้ยง

สัตว์ทดลองในที่นี้คือปลาดุกพันธุ์ผสมบิ๊กอุย ปลาดุกอุย ปลากดเหลือง ปลาช่อน และปลาหมอ แต่ละชนิดทำการซื้อจากฟาร์มเลี้ยงโดยคัดเลือกให้มีขนาดใกล้เคียงกัน ประมาณ ตัวละ 100-130 กรัม นำมาเลี้ยงในกระชังในบ่อปลาภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ เพื่อปรับสภาพเป็นเวลา 7 วัน ก่อนเริ่มการทดลอง โดยให้อาหารเม็ดลอยน้ำกินวันละ 2 มื้อ

เชื้อปรสิต

เชื้อปรสิต *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) ที่พบในปลาดุกบิ๊กอุยทำการเก็บ stock ของเชื้อไว้ในตัวปลา โดยนำปลาที่ติดเชื้อมาเจาะเลือดบริเวณเส้นเลือดโคนหาง (caudal vein) และนับจำนวนปรสิตในเลือดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (hemacytometer) ทำการปรับปริมาณเชื้อปรสิตให้ได้ $1x10^7$ เซลล์/มล และนำไปฉีดเข้าตัวปลาดุกปกติตัวละ 0.1 มล เพื่อเก็บเป็น stock ของเชื้อ และทำการถ่ายเชื้อไว้เป็นระยะๆ จนกระทั่งมีการใช้งานในการทดลองต่อไป

การศึกษาการยอมรับเชื้อในปลาดุกและปลาอื่น ๆ

การทดสอบความรุนแรงของเชื้อปรสิตในปลาดุกบิ๊กอุย และปลาน้ำจืดชนิดอื่นทำได้โดย เตรียมตัวอย่างเชื้อปรสิตให้ได้ความเข้มข้นสูงในตัวปลา และนำมาฉีดเข้าช่องท้องของปลาดุกบิ๊กอุย โดยกำหนดให้ปลาแต่ละตัวได้รับเชื้อตัวละ 10^6 เซลล์ ทำการฉีดเชื้อในปลาดุกบิ๊กอุย จำนวน 10 ตัว และชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำเกลือ ทำการเจาะเลือดปลาเพื่อตรวจนับจำนวนปรสิตทุกวันเพื่อศึกษาการเพิ่มปริมาณของเชื้อในปลาชนิดนี้ และในปลาชนิดอื่นคือปลาดุกอุย ปลากด เหลือง ปลาช่อน และปลาหมอก็ใช้วิธีเดียวกัน

การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ

การทดสอบความรุนแรงของเชื้อปรสิตในปลาดุกบิ๊กอุยทำได้โดย เตรียมตัวอย่างเชื้อปรสิตให้ได้ความเข้มข้นสูง 10^8 10^9 10^{10} เซลล์/มล และนำมาฉีดเข้าช่องท้องของปลาดุกบิ๊กอุย โดยกำหนดให้ปลาแต่ละตัวได้รับเชื้อตัวละ $2x10^7$ เซลล์ $2x10^8$ เซลล์ และ $2x10^9$ เซลล์ ทำการฉีดเชื้อแต่ละความเข้มข้นในปลาดุกบิ๊กอุย ชุดละ 10 ตัว และชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำเกลือ บันทึกอัตราการตายในแต่ละวัน และนำมาคำนวณหาค่า LD_{50} ตามวิธีการของ Reed และ Muench (1938)

การศึกษาผลของการติดเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด

นำปลาดุกบิ๊กอุยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 20 ตัว กลุ่มติดเชื้อทำการฉีดเชื้อปรสิตเข้าในปลาตัวละ $1x10^7$ เซลล์ ในกลุ่มควบคุมทำการฉีดด้วยน้ำเกลือ หลังจากฉีดเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ทำการเจาะเลือดเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ของเลือด คือจำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ปริมาณฮีรัมโปรตีน ค่าฮีโมโกลบิน เปอร์เซ็นเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (haematocrit) และเปอร์เซ็นเม็ดเลือดขาวอัดแน่น (leukocrit) ตามวิธีการที่รายงานใน Wedemeyer and Yasutake (1977)

การศึกษาผลของการติดเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อวิทยา

การศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (pathological changes) ของปลาที่ติดเชื้อปรสิตดังกล่าวทำได้โดยการนำปลาที่ติดเชื้อรุนแรงมาเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อเหงือก อวัยวะภายใน ตับ ไต ม้าม สมอง ดองในน้ำยา Bouin's Fixative เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่อง Tissue processor นำมาตัดให้มีความบาง 2-3 ไมครอน และย้อมด้วยสีฮีมาทอกซัยลิน และอีโอซิน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การแยกปรสิตจากเลือดปลาโดยใช้เทคนิค density gradient centrifugation

จุดประสงค์ของการแยกปรสิตโดยใช้เทคนิคดังกล่าวเพื่อให้ได้ตัวปรสิตที่บริสุทธิ์ไม่มีเม็ดเลือดปลาปะปน เพื่อนำปรสิตดังกล่าวมาเตรียมเป็นแอนติเจนในการฉีดเข้าสู่ปลาเพื่อศึกษาการสร้างแอนติบอดี้ หรือนำมาเตรียมเป็นแอนติเจนในการใช้ตรวจหาแอนติบอดี้โดยเทคนิค passive haemagglutination การแยกปรสิตสามารถทำได้โดยวิธีการดังนี้คือ เตรียมสารละลาย Percoll ให้ได้ความเข้มข้น 50 55 60 และ 70% ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.85% นำไปปั่นที่แรงเหวี่ยง 10,000 รอบ/นาที ที่ 4°ซ เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ fixed angle rotor (Avanti ™ 30 Centrifuge, Beckman) และนำเลือดที่เจาะจากปลาผสมกับสารละลาย EDTA 1% ในอัตราส่วน 1:1 มาหยอดลงบนสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นและนำไปปั่นแยกปรสิตโดยใช้แรงเหวี่ยง 3,000 รอบ/นาที ที่ 4°ซ นาน 10 นาที โดยใช้ swing out rotor เมื่อเม็ดเลือดปลาแยกชั้นออกจากปรสิต ใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดชั้นของปรสิตออกมาและปั่นล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS, pH 7.2) และเก็บปรสิตในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ในตู้แช่เย็น -70^0ซ เพื่อนำไปใช้งานต่อไป

การตรวจหาแอนติบอดี้ของปลาต่อเชื้อปรสิตโดยใช้วิธี Passive Haemagglutination

เตรียมแอนติเจน (antigen) สำหรับเคลือบเม็ดเลือดแดงแกะ โดยนำปรสิตที่แยกเก็บไว้ที่ -70^0ซ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์มาวางให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง นำไปทำให้เซลล์แตกผ่านเครื่องสั่นความถี่สูง (Vibra Cell™, Sonics&Meterials Inc. Danbury, Coniticut U.S.A.)

ที่กำลัง 200 วัตต์ นาน 2 นาที แล้วนำไปปั่นแยกด้วยแรงเหวี่ยงที่ความเร็ว 20,000 รอบ/นาที นาน 1 ชั่วโมง แล้วแยกส่วนใสเก็บไว้เพื่อเคลือบเม็ดเลือดแดงแกะ

การเคลือบแอนติเจนโดยอาศัยหลักการเคลือบ Hbs Ag (Hepatitis B surface antigen) นำเม็ดเลือดแดงแกะ (SRBC) ที่เก็บไว้ในสารละลาย Alsever's ที่ 4^{0}ซ มาปั่นล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง ด้วยแรงเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบ/นาที นานครั้งละ 5 นาที และนำเม็ดเลือดแดงแกะมา 0.1 มล ผสมกับแอนติเจน ที่เตรียมไว้ข้างต้น 1.25 มล หลังจากนั้นจึงเติม glutaraldehyde 0.25% ที่เตรียมในสารละลายนอร์มอลซาลีน (0.85% NaCl) 0.25 มล ส่วนผสมที่ได้นำไปหมุนบน rotator ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง นำเซลล์เม็ดเลือดที่เคลือบด้วยแอนติเจนแล้วมาปั่นล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง แล้วนำมาเตรียมเป็น 0.5% แอนติเจน (0.5% cell suspension ด้วยสารละลาย BSA 0.5% ที่เตรียมในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่มี NaN_3 อยู่ 0.1%)

นำแอนติเจนเตรียมไว้ไปตรวจหาแอนติบอดี้ของปลาที่ติดเชื้อปรสิต โดยเจาะเลือดจากปลาตัวอย่าง แล้วนำมาแยกซีรัม แล้วเจือจางซีรัมที่ได้ด้วยสารละลายนอร์มอลซาลีนเป็น 1:2 1:4 1:8 1:16 1:32 1:64 ไปเรื่อยๆ ใน 96 micro well plate ที่มีพื้นหลุมเป็นรูปตัวยู (U-shaped) แล้วนำมาทำปฏิกริยากับเม็ดเลือดแดงแกะที่เตรียมไว้ข้างต้นในอัตราส่วน 1:1 ตรวจปฏิกิริยาการจับกลุ่มภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และบันทึกค่าไตเตอร์ที่ได้ในปลาแต่ละตัว

ผลการทดลอง

เชื้อปรสิต

ในการศึกษาครั้งนี้ปรสิตที่ตรวจพบในปลาดุกบิ๊กอุยที่ขายอยู่ในท้องตลาด โดยมีแหล่งเลี้ยงจากจังหวัดพัทลุง ปรสิตที่พบจัดอยู่ในกลุ่ม *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) ตรวจพบได้ในกระแสเลือดของปลาที่มีอาการของโรคคืออ่อนแอ ตัวผอม สีซีด กินอาหารน้อยลง แสดงอาการขาดออกซิเจน บางครั้งปรสิตจะไปอุดตันบริเวณเส้นเลือดฝอย ทำให้เห็นเป็นตุ่มพองบริเวณครีบ และผิวหนัง ลักษณะของเชื้อ จากการศึกษาโดยวิธีเกลี่ยบนสไลด์แก้วและย้อมด้วยสีจิมซ่า (Giemsa's stained) พบว่ามีลักษณะเรียวยาว มีแฟลกเจลเลต 1 อัน และ undulating membrane ใช้ในการเคลื่อนที่ มีขนาดความยาวลำตัวประมาณ 23-24 ไมครอน ความกว้าง 2-2.3 ไมครอน และมีแฟลกเจลลา ยาว 17-18 ไมครอน (ภาพที่ 1 และ 2)

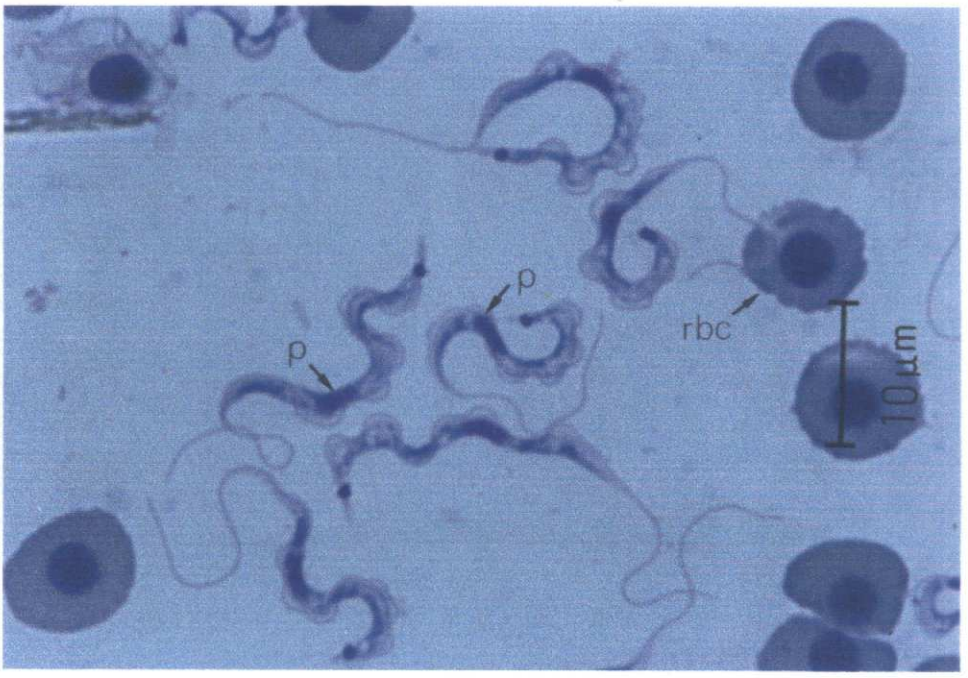
ผลการยอมรับเชื้อในปลาดุกบิ๊กอุยและปลาอื่น ๆ

ผลการศึกษาการยอมรับเชื้อในปลาดุกบิ๊กอุยโดยการฉีดเชื้อปรสิตที่แยกไว้จากปลาที่เป็นโรคเข้าปลาดุกทดลองปกติตัวละ 10^6 เซลล์ พบว่าปริมาณเชื้อปรสิตชนิดดังกล่าวเริ่มเพิ่มจำนวนขึ้นในวันที่ 2 หลังจากฉีดเชื้อโดยปลาแต่ละตัวมีเชื้อเพิ่มขึ้นในปริมาณที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามปริมาณเชื้อในตัวปลาส่วนใหญ่เพิ่มสูงสุดหลังทำการฉีดเชื้อ 5 วัน แล้วลดลงดังข้อมูลในตารางที่ 1 ภาพที่ 3

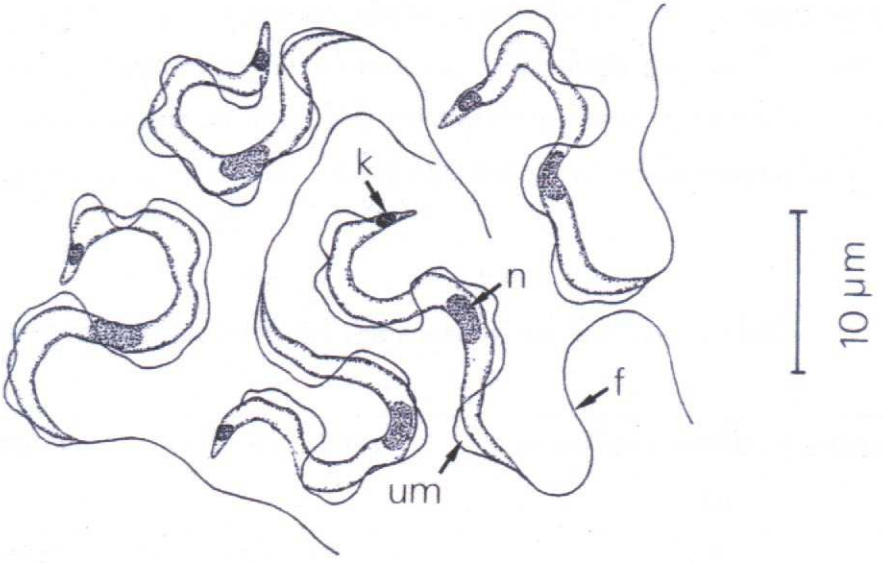
ตารางที่ 1 ผลการศึกษาปริมาณเชื้อที่เพิ่มจำนวนขึ้นในปลาดุกบิ๊กอุยในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ตัวอย่างที่	เวลาหลังการฉีดเชื้อ (วัน)						
	1	2	3	4	5	6	7
1	0	$2x10^2$	$6x10^2$	$2x10^2$	0	0	0
2	200	$3.7x10^3$	$3.7x10^3$	$2.82x10^4$	$5.48x10^4$	$1.14x10^4$	$3.42x10^4$
3	0	$1.2x10^3$	0	0	$2.2x10^3$	$6x10^2$	-
4	0	$2.0x10^3$	$1.8x10^3$	$1.6x10^3$	$5x10^3$	$8x10^2$	-
5	200	$4.0x10^2$	$1x10^3$	$1.6x10^3$	$7.4x10^3$	$2.4x10^3$	-
6	0	$8.0x10^2$	$3.2x10^3$	$6.4x10^3$	$6.4x10^3$	$1.6x10^3$	-
7	0	$4.0x10^2$	$1.3x10^3$	$4.2x10^3$	$5.6x10^3$	$1.6x10^3$	-
8	0	$1.0x10^3$	$7.8x10^3$	$5.24x10^4$	$6.48x10^4$	$5.14x10^4$	-

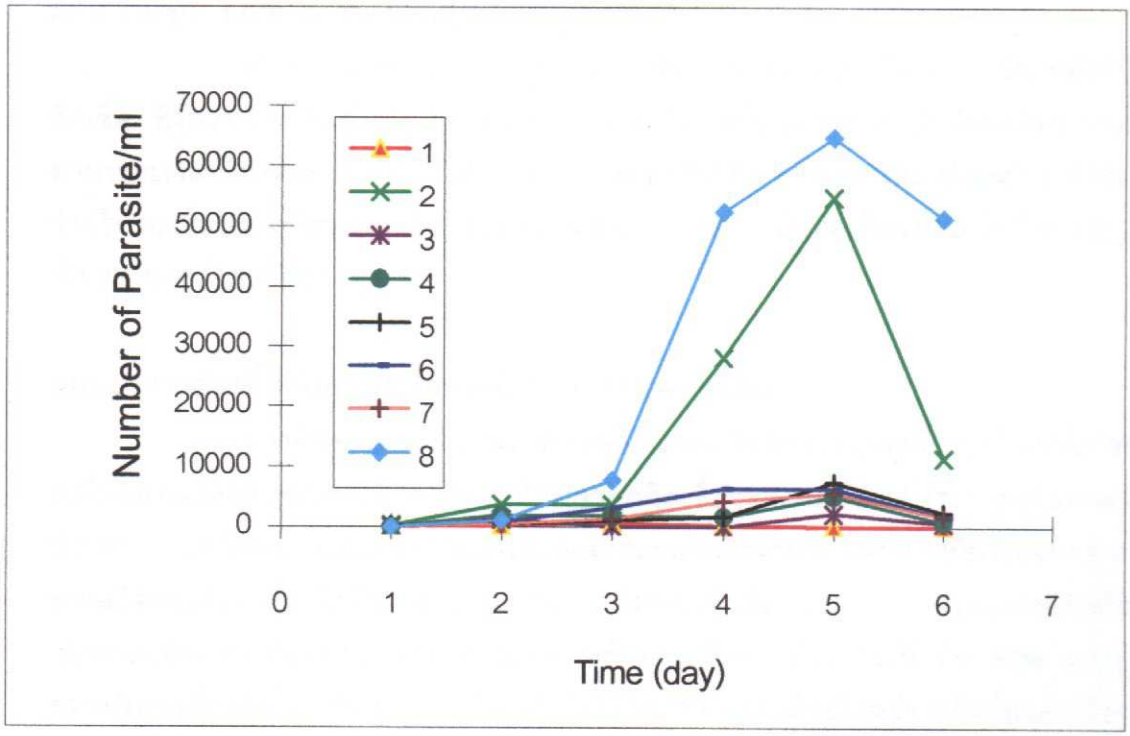
หมายเหตุ: - ไม่ได้ทำการตรวจนับ



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของเชื้อปรสิต *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) ที่ตรวจพบในเลือดปลาดุกบิ๊กอุย (*Clarias macrocepholus* x *C. gariepinus*) (p = parasite; rbc = red blood cell) (Geimsa; bar = 10 µm)



ภาพที่ 2 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะของเชื้อปรสิต *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) ที่ตรวจพบในเลือดปลาดุกบิ๊กอุย (*Clarias macrocepholus* x *C. gariepinus*) (f = flegella; k = kinetoplast; n = nucleus; um = undulating membrane) (bar = 10 µm)



ภาพที่ 3 กราฟแสดงปริมาณเชื้อ *Trypanosoma* sp. ที่เพิ่มจำนวนขึ้นในกระแสเลือดปลาดุกบิ๊กอุยแต่ละตัวในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ส่วนการทดลองการยอมรับเชื้อในปลาชนิดอื่นๆ อีก 4 ชนิดคือปลาดุกอุย ปลากดเหลือง ปลาช่อน และปลาหมอ ผลการทดลองพบว่า ปลาดุกอุย ปลากดเหลือง และปลาช่อนไม่ยอมรับเชื้อ *Trypanosoma* sp. ที่แยกได้จากปลาดุกบิ๊กอุย ส่วนการทดลองในปลาหมอพบว่าในช่วงแรกสามารถตรวจพบเชื้อดังกล่าวได้แต่ปลาหมอสามารภกำจัดได้หมดภายใน 7 วัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการทดลองการยอมรับเชื้อ *Trypanosoma* sp. ในปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ

ชนิดปลา	จำนวนปลา	จำนวนที่ยอมรับเชื้อ *Trypanosoma* sp.
ปลาดุกอุย	15	0
ปลากดเหลือง	15	0
ปลาช่อน	10	0
ปลาหมอ	5	3*

* ตรวจไม่พบปรสิตหลังฉีดเชื้อ 7 วัน

Central Library
Prince of Songkla Univ

ผลความรุนแรงของเชื้อในปลาดุกบิ๊กอุย

การทดสอบความรุนแรงของเชื้อปรสิตการหาค่า LD_{50} ที่เวลา 5 วัน หลังทำการฉีดเชื้อ ที่รู้ความเข้มข้นเข้าปลาดุกปกติขนาดเฉลี่ย 125 กรัม และทำการบันทึกผลอัตราการตาย ตามระยะเวลาที่กำหนดแล้วคำนวณหาค่า LD_{50} โดยวิธีการของ Reed และ Muench (1938) พบว่าปริมาณเชื้อปรสิตที่สามารถทำให้ปลาดุกทดลองตาย 50% เมื่อติดเชื้อนาน 5 วันมีค่า LD_{50} เท่ากับ 2.68×10^{10} เซลล์/ตัว

ผลของการติดเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดของปลาดุกบิ๊กอุยที่ติดเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดพบว่าเมื่อปลาดุกติดเชื้อจะส่งผลให้องค์ประกอบเลือดหลายๆ ประการ เปลี่ยนแปลงคือปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวลดลงอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p<0.01$) ในขณะที่ปริมาณฮีโมโกลบินและเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น ก็ลดลงอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$) ส่วนปริมาณโปรตีนในซีรัม และเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวอัดแน่นในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดปลาดุกบิ๊กอุยที่ติดเชื้อ *Trypanosoma* sp.

องค์ประกอบเลือด	ชุดควบคุม	ชุดทดลอง
ปริมาณเม็ดเลือดแดง ($x10^6$ cell/mm^3) **	2.14 ± 0.48^a	1.62 ± 0.27^b
ปริมาณเม็ดเลือดขาว ($x10^4$ cell/mm^3) **	10.45 ± 3.76^a	2.42 ± 0.78^b
ซีรัมโปรตีน (mg/ml) *	75.20 ± 6.99^a	83.35 ± 7.78^b
ฮีโมโกลบิน (g%)*	7.075 ± 0.929^a	6.268 ± 0.697^b
เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%) *	25.275 ± 3.318^a	21.722 ± 3.068^b
เม็ดเลือดขาวอัดแน่น (%) **	1.622 ± 0.522^a	8.44 ± 2.472^b

* ค่าเฉลี่ยในแถวที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p<0.05$)

** ค่าเฉลี่ยในแถวที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ($p<0.01$)

n = 10

ผลการแยกปรสิตจากเลือดปลาโดยใช้เทคนิค density gradient centrifugation

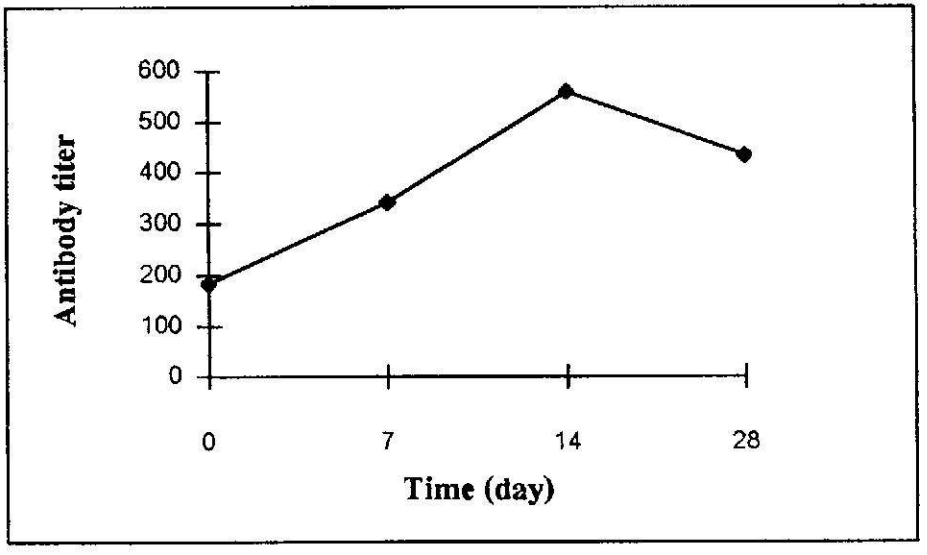
ทำการทดลองแยกปรสิตในเลือดปลาโดยเตรียมสารละลาย Percoll ความเข้มข้นต่างที่มีความเข้มข้นของเกลือสุดท้ายเท่ากับ 0.85% แล้วนำมาปั่นแยกปรสิตการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของ Percoll 50% สามารถแยกปรสิตออกจากเลือดได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่นๆ และเมื่อนำปรสิตที่แยกได้จากความเข้มดังกล่าวครั้งแรกมาแยกซ้ำในความเข้มข้นเดิมอีกครั้งพบสามารถแยกปรสิตได้ค่อนข้างบริสุทธิ์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการแยกปรสิตจากเม็ดเลือดปลาดุกบิ๊กอุยในสารละลาย Percoll ที่สภาวะแตกต่างกัน

การเตรียม Percoll	ผลการแยกปรสิต		
	แถบ 1	แถบ 2	แถบ 3
1. เตรียม Percoll 50% เหวี่ยงที่ 10000 รอบ/นาที 30 นาที ที่ 4°ซ และปั่นแยกปรสิตที่ 3000 รอบ/นาที นาน 10 นาที	เม็ดเลือดขาว	ปรสิตแถบใหญ่	เม็ดเลือดแดง
2. เตรียม Percoll 55% เหวี่ยงที่ 10000 รอบ/นาที 30 นาที ที่ 4°ซ และปั่นแยกปรสิตที่ 3000 รอบ/นาที นาน 10 นาที	เม็ดเลือดขาวและปรสิต	ปรสิตแถบเล็ก	เม็ดเลือดแดง
3. เตรียม Percoll 60% เหวี่ยงที่ 10000 รอบ/นาที 30 นาที ที่ 4°ซ และปั่นแยกปรสิตที่ 3000 รอบ/นาที นาน 10 นาที	เม็ดเลือดและปรสิตไม่แยกกัน		
4. เตรียม Percoll 70% เหวี่ยงที่ 10000 รอบ/นาที 30 นาที ที่ 4°ซ และปั่นแยกปรสิตที่ 3000 รอบ/นาที นาน 10 นาที	เม็ดเลือดและปรสิตไม่แยกกัน		

ผลการตรวจหาแอนติบอดี้ของปลาต่อเชื้อปรสิตโดยวิธี Passive Haemagglutination

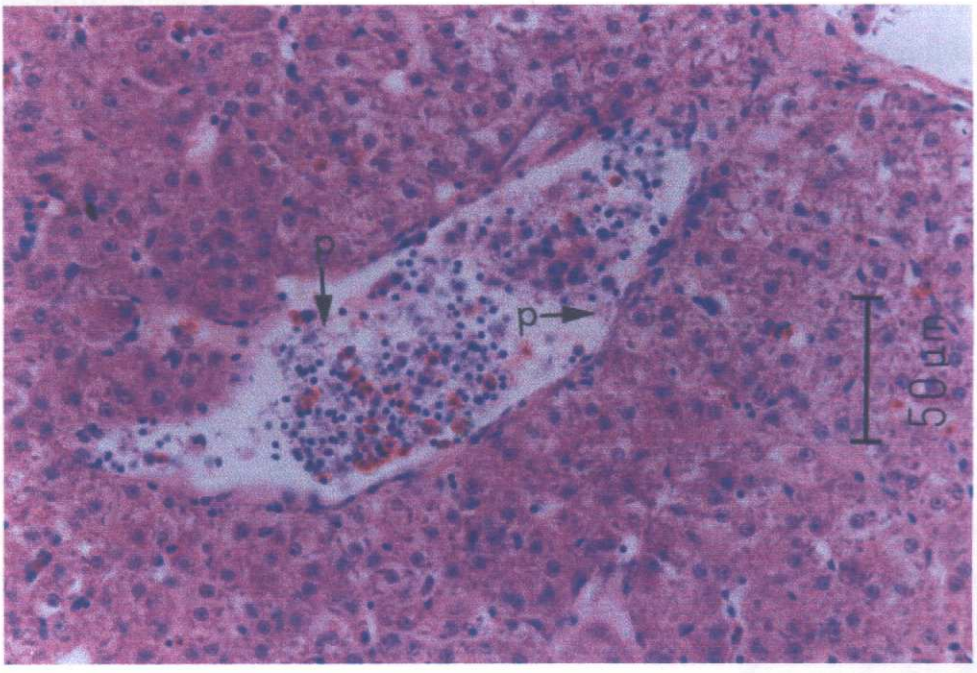
จากการตรวจหาแอนติบอดี้ของปลาดุกบิ๊กอุยที่ไม่ได้ติดเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่าปลาทดลองดังกล่าวมีแอนติบอดี้อยู่บ้างโดยมีค่าเฉลี่ย 182.86 เมื่อทำการติดเชื้อ *Trypanosoma* sp. ในห้องปฏิบัติการแล้วเจาะเลือดตรวจหาแอนติบอดี้พบว่าปลาที่ติดเชื้อสามารถสร้างแอนติบอดี้ได้เพิ่มขึ้นโดยที่เวลา 7 วันปริมาณแอนติบอดี้มีค่า 342.86 ที่ 14 วนหลังติดเชื้อมีค่าแอนติบอดี้สูงที่สุดเฉลี่ย 560 และมีค่าลดลงเมื่อเวลา 28 วัน โดยมีค่าเฉลี่ย 434.29 (ภาพที่ 4)



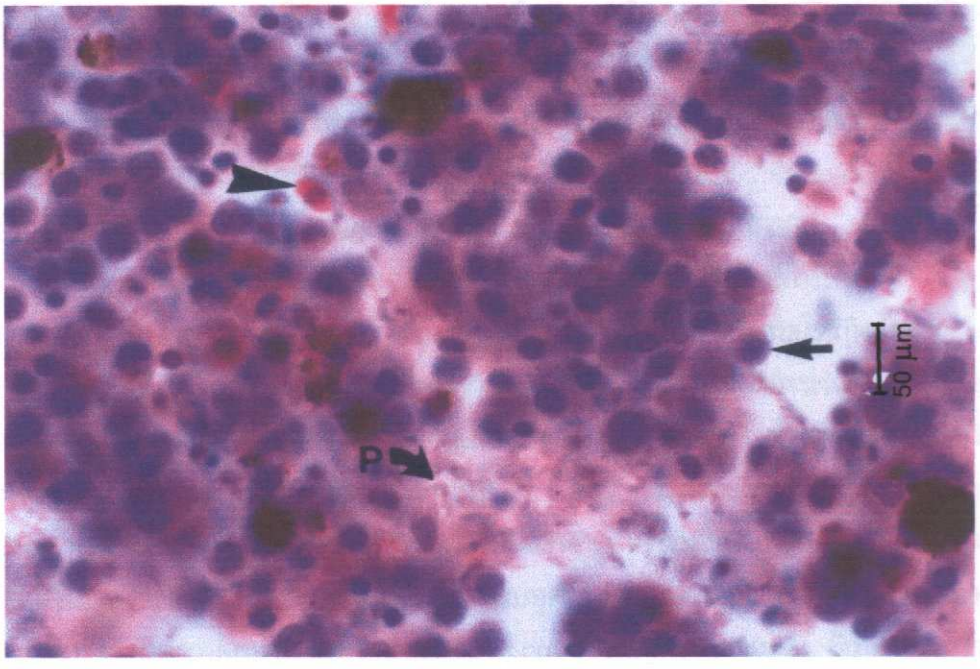
ภาพที่ 4 ปริมาณแอนติบอดี้ของปลาดุกบิ๊กอุยที่ติดเชื้อ *Trypanosoma* sp. ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

การศึกษาผลของการติดเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อวิทยา

การศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (pathological change) ของปลาที่ติดเชื้อปรสิตอย่างรุนแรงพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในระบบหมุนเวียนเลือด คือเม็ดเลือดแดงระยะเต็มวัยถูกทำลาย และมีการสร้างเม็ดเลือดแดงระยะวัยอ่อนรวมทั้งเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมขึ้นมาแทนที่ปะปนกับเซลล์ของปรสิตอยู่ในระบบหมุนเวียน (ภาพที่ 5 และ 6) ขณะที่เนื้อเยื่อเหงือก ตับ ไต ม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้ และสมอง และสมอง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน แต่อาจมีการอักเสบบ้างเล็กน้อย



ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อตับของปลาดุกบิ๊กอุยที่ติดเชื้อปรสิต *Trypanosoma* sp. มีโครงสร้างเนื้อเยื่อตับปกติ พบปรสิตจำนวนมากในท่อเลือด (p) (H&E stained; bar = 50 µm)



ภาพที่ 6 ภาพขยายของท่อเลือดบริเวณตับ (hepatic vein) พบเม็ดเลือดวัยอ่อน (erythroblast) (ศรชี้) จำนวนมากปนอยู่กับปรสิต (P) และเม็ดเลือดแดง (red blood cell) (หัวลูกศร) (H&E stained; bar = 50 µm)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าปรสิตที่แยกได้ครั้งนี้ เป็นปรสิตที่ก่อให้เกิดโรคในปลาดุกบิ๊กอุย เมื่อดูจากลักษณะของตัวเชื้อ ขนาดรูปร่างแล้วเชื้อปรสิตดังกล่าวน่าจะจัดให้อยู่ในจีนัส *Trypanosoma* sp. (Kinetoplastida) และก่อให้เกิดโรคชนิดใหม่ในปลาดุกบิ๊กอุย ซึ่งไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับโรคที่เกิดจากปรสิต trypanosome ในปลาดุกบิ๊กอุยในประเทศไหนมาก่อน โดยลักษณะทั่วไปของปรสิตเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปรสิตที่มีรายงานการแพร่ระบาดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ชนิดอื่นๆ เช่น *Trypanosoma ophiocephali* ในปลาช่อน *T. trichogasterae* ในปลากระดี่ และ *T. carassi* ในปลาทอง (Kabata, 1985; Lom and Dyukova, 1992) พบว่ามีลักษณะและขนาดแตกต่างกันมาก ซึ่งคาดว่าปรสิตที่พบในครั้งนี้อาจเป็นชนิดใหม่ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในรายละเอียดทางชีวะวิทยา โครงสร้างทางจุลทรรศน์อิเลคตรอนของตัวเชื้อ รายละเอียดทางชีวเคมี รวมทั้งโครงสร้างของสารพันธุกรรม รวมทั้งวงจรชีวิต ชนิดของพาหะนำเชื้อที่สามารถแพร่กระจายในธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนรายงานดังกล่าว อย่างไรก็ตามในครั้งนี้เมื่อได้ศึกษาตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของตัวเชื้อต่อเจ้าบ้าน ทำให้ทราบชัดเจนว่าเป็นปรสิตที่มีความจำเพาะเจาะจงกับปลาดุกบิ๊กอุยเท่านั้นเนื่องเชื้อมีการเพิ่มปริมาณในตัวปลาได้มากขึ้นจนก่อให้ปลาแสดงอาการของโรคได้ชัดเจนและตายได้เมื่อติดเชื้อมากขึ้น ในขณะที่การทดลองติดเชื้อในปลาท้องถิ่นคือปลาดุกอุย ปลากดเหลือง ปลาช่อน ตรวจไม่พบเชื้อและไม่ก่อให้เกิดอาการของโรค แม้ว่าการทดลองติดเชื้อในปลาหมอสามารถตรวจพบเชื้อได้ในช่วงแรกๆ แต่เมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นก็ตรวจไม่พบเชื้อ กินอาหารได้ปกติ และปลาไม่แสดงอาการของโรคและไม่ตาย จึงอาจจะเป็นเหตุผลได้ว่าเชื้อชนิดนี้เป็น normal flora ของปลาน้ำจืดท้องถิ่น เมื่อมีการนำปลาสายพันธุ์ใหม่เข้าสู่แหล่งเลี้ยง เช่น ปลาดุกอัฟริกันลูกผสม (บิ๊กอุย) จึงทำให้มีโอกาสติดเชื้อได้ง่าย เช่นเดียวกับโรคติดเชื้อต่างๆ ที่เคยพบว่ามีการแพร่ระบาดของโรคในลักษณะเดียวกันนี้ (Nguenga, 1987; Piyakarnchana, 1989)

การศึกษาความรุนแรงของเชื้อแม้ว่าปริมาณปรสิตที่ส่งผลให้เกิดการตายของปลาดุก 50% มีค่าค่อนข้างสูง ($2.68x10^{10}$ เซลล์/ตัว) ซึ่งเป็นการบ่งชี้ว่าไม่ก่อให้เกิดโรคที่รุนแรงนัก อย่างไรก็ตามปลาที่ใกล้ตาย ซึ่งปรสิตมีการขยายเพิ่มจำนวนมากในกระแสเลือด แสดงอาการอ่อนแอ ตัวผอม สีซีด กินอาหารน้อยลง แสดงอาการขาดออกซิเจน โดยการลอยขึ้นมาผิวน้ำและแผ่นปิดเหงือกมีการปิดเปิดเร็วกว่าปลาปกติ ซึ่งอาการดังกล่าวเป็นไปได้ว่าปรสิตที่มีปริมาณมากทำให้ปริมาณออกซิเจนในเลือดลดลง นอกจากนี้การทดลองพบปลาบางตัวเป็นตุ่มพองบริเวณครีบ และผิวหนัง เนื่องจากปรสิตจะไปอุดตันบริเวณเส้นเลือดฝอย จากลักษณะอาการที่เกิดดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับรายงานของ Lom และ Dykova (1992) ที่ว่าอาการทั่วไปของปลาที่เป็นโรคจากเชื้อปรสิตในกลุ่ม trypanosome คือพบมีอาการเหงือกซีด ว่ายน้ำเสียการทรงตัว และตัวที่ว่ายน้ำปกติจะพยายามลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำ เนื่องจากมีปริมาณออกซิเจนในเลือดต่ำ นอกจากนั้นยังพบว่าปรสิตมีผลทำให้เกิดการอุดตันของเส้นเลือดฝอย ปลาจะตายได้เนื่องจากเส้นเลือดอุดตันและเกิดโรคโลหิตจาง ซึ่งสนับสนุนการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าองค์ประกอบเลือด

ปลาหลายประการมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งบ่งชี้ว่าผลของเชื้อโรคดังกล่าวทำให้ปลามีอาการของโลหิตจางดูได้จากปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริตของปลามีค่าลดลงแตกต่างจากปลาปกติอย่างชัดเจน ส่วนองค์ประกอบเลือดอื่นๆ พบว่าปริมาณเม็ดเลือดขาวในปลาที่ติดเชื้อลดลงอย่างชัดเจน ซึ่ง Ellis (1978) กล่าวไว้ว่าเม็ดเลือดขาวในปลามีบทบาทในการควบคุมกระบวนการภูมิคุ้มกัน ถ้าปริมาณเม็ดเลือดขาวลดลงก็จะทำให้มีส่วนในการลดภูมิต้านทานโรคลงด้วยเช่นกัน ซึ่งในกรณีการติดเชื้อปรสิตชนิดนี้ปริมาณเม็ดเลือดขาวลดลงก็มีโอกาส ให้ปลาเกิดโรคแทรกอื่นๆ เช่นแบคทีเรียได้ง่ายขึ้น ส่วนปริมาณโปรตีนในซีรัมที่เพิ่มสูงขึ้นกว่าปลาปกติ ก็บ่งชี้ถึงสภาวะของปลาที่เกิดความเครียด เพราะว่าปลาที่เกิดความเครียดจากสาเหตุใดก็ตามสามารถตรวจสอบได้จากปริมาณโปรตีนในซีรัมที่สูงขึ้น นอกจากนี้ผลการศึกษาพบว่าปลาป่วยมีเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวอัดแน่น (Leukocrit) สูงกว่าปลาปกติอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าปลาป่วยอาจจะมีเซลล์มาโครฟาจที่ใหญ่ผิดปกติ หรือมีการบวมพองจึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวอัดแน่นสูงได้ แม้ว่าปริมาณเม็ดเลือดขาวจะลดลงก็ตาม ซึ่งเยาวนิตย์ และคณะ (2540) รายงานว่าลักษณะเซลล์มาโครฟาจที่บวมพองผิดปกติ สามารถตรวจพบได้จากปลาป่วยที่เป็นโรคติดเชื้อไวรัส แต่ตรวจไม่พบในปลากะพงปกติ ดังนั้นลักษณะของเซลล์มาโครฟาจที่ผิดปกติ หรือเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวอัดแน่นสูงก็น่าจะใช้เป็นตัวบ่งชี้อาการป่วยของปลาได้

ส่วนการศึกษาเทคนิคการแยกปรสิตด้วยวิธี density gradient centrifugation ในครั้งนี้พบว่าการเตรียม Percoll 50% ในสารละลายเกลือเข้มข้นสุดท้าย 0.85% สามารถแยกปรสิตให้ออกจากเม็ดเลือดได้ โดยเฉพาะถ้าทำการแยกซ้ำ 2-3 ครั้งสามารถแยกปรสิตได้บริสุทธิ์เพื่อการศึกษาในขั้นต่อไปได้

การศึกษาแอนติบอดี้ของปลาดุกที่ติดเชื้อเปรียบเทียบกับปลาดุกปกติ ในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าปลาดุกบิ๊กอุยสามารถผลิตแอนติบอดี้ได้ เมื่อมีการติดเชื้อในปริมาณไม่สูงนัก และปริมาณแอนติบอดี้จะสูงที่สุดที่ระยะเวลาประมาณ 14 วันหลังจากเริ่มติดเชื้อ แล้วจะลดลงหลังจากนั้น ซึ่งผลดังกล่าวนี้ก็สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการประกอบในการใช้วัคซีน หรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแก่ปลาเพื่อเพิ่มภูมิต้านทานโรคได้

ส่วนการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (pathological change) ของปลาที่ติดเชื้อพบว่ามีลักษณะทางพยาธิสภาพสอดคล้องกับรายงานของ Dykova และ Lom (1978) (อ้างโดย Dykova and Lom , 1992) โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่าในเนื้อเยื่อเหงือก ตับ ไต ม้าม กระเพาะอาหาร ไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนนัก แต่อาจพบลักษณะการอักเสบเล็กน้อย นั่นแสดงให้เห็นว่าอวัยวะต่างๆ ดังกล่าวไม่ใช่อวัยวะเป้าหมายของเชื้อชนิดนี้ แตกต่างจากการเปลี่ยนแปลงในกระแสเลือดที่พบปริมาณเม็ดเลือดแดงอยู่น้อยมาก ซึ่งอาจจะเป็นเพราะปรสิตสร้างสาร hemolysin ที่มีผลย่อยและทำลายเม็ดเลือดแดง จึงทำให้เจ้าบ้านพยายามสร้างเม็ดเลือดแดงวัยอ่อน รวมทั้งเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมเข้ามาในระบบหมุนเวียนเลือดทดแทนส่วนที่ถูกทำลายไป ซึ่งพบลักษณะเซลล์ดังกล่าวมากขึ้นเมื่อเทียบกับปลาปกติ

จากศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบแน่ชัดแล้วว่าปรสิตดังกล่าวก่อให้เกิดโรคในปลาดุกบิ๊กอุยที่เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจภายในประเทศของเรา และเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่าปรสิตที่ก่อให้เกิดโรคที่อาศัยอยู่ภายในตัวปลานั้น การใช้ยาหรือสารเคมีในการรักษามีประสิทธิภาพน้อยมาก ดังนั้น แนวทางการป้องกันรักษาสามารถทำได้โดยการแยกปลาตัวที่เป็นโรคออกไปทำลายโดยการเผาหรือฝัง และควรมีการทำลายพาหะ (vector) นำเชื้อ ซึ่งมีรายงานว่าพาหะส่วนใหญ่ของปรสิตกลุ่มนี้คือสัตว์น้ำจำพวกปลิง (Martin and Desser, 1991; Jones and Woo, 1992) ซึ่งจะดูดเลือดจากเจ้าบ้านที่มีการติดเชื้อปรสิตไปสู่อีกตัวหนึ่ง โดยที่ปรสิตสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบย่อยอาหารของเจ้าบ้านตัวกลางได้เป็นอย่างดี การกำจัดพาหะอาจใช้วิธีทางกายภาพ คือ ก่อนเลี้ยงปลาควรตากบ่อฆ่าเชื้อ กรองน้ำก่อนนำเข้าบ่อ ส่วนการใช้สารเคมีก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ให้ผลดี สารเคมีที่นิยมใช้ได้แก่ เกลือแกง (sodium chloride) จุนสี (copper sulphate) ไดล็อค (dylox) (Kabata, 1985) อย่างไรก็ตามผู้วิจัยก็จำต้องทำการศึกษาถึงรายละเอียดของตัวเชื้อ รวมทั้งวิธีการควบคุมที่มีประสิทธิภาพต่อไป เช่นการประยุกต์ใช้วัคซีน หรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่างๆ ซึ่งจะรายงานให้ทราบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เยาวนิตย์ คลยดล สถาพร ดิเรกบุษราคม ลิลา เรืองแป้น และวินัย กระจายวงศ์. 2540. ความเป็นไปได้ในการนำองค์ประกอบเลือดบางประการมาใช้วินิจฉัยโรคติดเชื้อ iridovirus ในปลากระพงขาวอย่างรวดเร็ว. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 16/2540, สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ. สงขลา. 10 หน้า.

Ellis, A.E. 1978. The immunology of Teleosts. In Fish Pathology (Ronald J. Roberts ed.) Biliere Tindall, London. 92-94.

HBs Ag and anti-HBs Hemagglutination screening kit. 1982. Leaflet of The Green Cross Corporation, Osaka, Japan.

Jones, S.R.M. and Woo, P.T.K. 1992. Vector specificity of *Trypanosoma catostomi* and its infectivity to freshwater fishes. J. Parasitol. 78(1): 87-92.

Kabata, Z. 1985. Parasites and diseases of fish culture in the tropic. Taylor & Francis Ltd. London. 318 p.

Lom, J. and Dykova, I. 1992. protozoan parasites of fish. Elsevier. Amsterdam. 315 p.

Martin, D. S. and Desser, S.S. 1991. Development of *Trypanosoma fallisi* in the leech, *Desserobdella picta,* in Toads (*Bufo americanus*), and in vitro. Parasitol. Res. 77(1): 18-26.

Nguenga, D. 1988. A note on infestation of Oreochromis niloticus with *Trichodina* sp. and *Dactylogyrus* sp. The second international symposium on Tilapia in aquaculture (Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K., Maclean, J.L. eds.) 16-20 March 1987, Bangkok Thailand.

Piyakarnchana, T. Exotic aquatic species in Thailand. 1989. Exotic aquatic organisms in Asia: Proceedings of a workshop on introduction of exotic aquatic organisms in Asia (Silva, S.S. ed.). 3: 119-124.

Reed, L. J. and Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty percent end prints. Am. J. Hyg. 27: 493-497.

Vyas, G. N., and Shulman N. R. 1970. Hemagglutination assay for antigen and antibody associated with viral hepatitis. Science. 170:332-333.

Wedemeyer, G. A. and Yasutake, W. T. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. U.S. Fish Wildl. Ser. Tech. Pap. No.89 : 1-18.