

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพประกอบ	(13)
1. บทนำ	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
1. ปลากระพงขาว	2
2. โรคสเตรฟโตคอคโคซิส	5
2.1 คุณสมบัติของเชื้อ Streptococci	7
2.2 การจำแนกกลุ่มของ <i>Streptococcus</i> sp.	12
2.3 สารพิษและเอนไซม์ของเชื้อ Streptococci	13
2.4 เชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ	14
2.5 การแพร่ระบาดของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ในสัตว์น้ำ	16
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	18
2.7 ลักษณะอาการของปลาที่เป็นโรคสเตรฟโตคอคโคซิส	20
2.8 การควบคุมสเตรฟโตคอคโคซิส	21
3. การใช้วัคซีนในปลา	22
3.1 วัคซีน	22
3.2 ชนิดของวัคซีนที่ใช้ในปลา	24
3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน	25
3.4 การให้วัคซีน	29
3.5 การตรวจสอบประสิทธิภาพของการใช้วัคซีน	32
4. การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน	33
4.1 การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.1 สิ่งกีดขวางบริเวณผิว	34
4.1.2 ปัจจัยทางด้านสารน้ำ	35
4.1.3 ปัจจัยด้านเซลล์	37
4.2 การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ	40
4.2.1 ลิ้มโฟซัยท์	40
4.2.2 อิมมูโนโกลบูลิน	41
5. การศึกษาวัคซีนต่อความต้านทานโรคสเตรฟโตคอคโคซิส	42
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	49
2. วัตถุประสงค์ และวิธีการทดลอง	50
วัตถุประสงค์	50
อุปกรณ์	50
วิธีการทดลอง	52
1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	52
2. การศึกษาความรุนแรงของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่ทำให้ปลากระพงขาวตายครั้งหนึ่งในเวลา 14 วัน	54
3. ศึกษาผลของการติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ในปลากระพงขาว	55
4. ศึกษาวิธีการให้วัคซีนที่เหมาะสมในปลากระพงขาว	56
5. ศึกษาองค์ประกอบของเลือดปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีน	59
6. ศึกษาค่าแอนติบอดีไทเตอร์ปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีน	60
7. ศึกษาพยาธิสภาพเนื้อเยื่อปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีน	60
3. ผลการทดลอง	61
3.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	61
3.2 ผลการศึกษาปริมาณของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่ทำให้ปลากระพงขาวตายครั้งหนึ่งในภายใน 14 วัน	65
3.3 ผลของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ต่อปลากระพงขาว	65

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 ผลการศึกษาการใช้วัคซีนในปลากะพงขาว	82
3.5 ผลการศึกษาองค์ประกอบเลือดปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วย วิธีการต่างๆ กัน	96
3.6 ผลการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของปลากะพงขาวที่ได้รับ วัคซีน	110
4. วิจารณ์	119
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	132
เอกสารอ้างอิง	134
ภาคผนวก ก	151
ภาคผนวก ข	152
ภาคผนวก ค	158
ประวัติผู้เขียน	170

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
1 คุณสมบัติของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่แยกได้จากปลาชนิดต่างๆ	9
2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่ใช้ในการทดลอง โดยแยกได้จากปลากะพงขาวป่วย จังหวัดสงขลา เปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่น	62
3 ความไวของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ต่อยาปฏิชีวนะ	64
4 ปริมาณเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ในอวัยวะต่างๆ ของปลากะพงขาว	68
5 เปรียบเทียบอัตราการตาย (%) และความสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (RPS) ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนในปริมาณเซลล์ของวัคซีนต่างกัน	84
6 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนในปริมาณ เซลล์วัคซีนต่าง ๆ	84
7 เปรียบเทียบอัตราการตาย (%) และความสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (RPS) ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง	87
8 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการฉีด เข้าช่องท้อง	87
9 เปรียบเทียบอัตราการตาย (%) และความสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (RPS) ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการแช่	90
10 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการแช่	90
11 เปรียบเทียบอัตราการตาย (%) และความสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (RPS) ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการกิน	93
12 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการกิน	93
13 เปรียบเทียบค่า RPS ของปลากะพงขาว ที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	96
14 ค่าฮีมาโตคริตของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนโดยวิธีการต่างๆ กัน	100
15 ค่าฮีโมโกลบินของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	102
16 ค่าพลาสมาโปรตีนของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	104
17 ปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	106
18 ปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	108

รายการตารางผนวก

ตารางผนวก	หน้า
ค1 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหา LD ₅₀ ที่ 14 วัน	158
ค2 การหา standard curve ระหว่างค่า absorbance และจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร (Iny)	161
ค3 การเจริญของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่ระดับความเป็นกรด - ต่าง ต่างๆ กัน	162
ค4 การเจริญของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. ที่ความเค็มต่างๆ กัน	162
ค5 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลากระพงขาวที่ทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนหลังจากได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน เป็นเวลา 7 วัน	163
ค6 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของการทดสอบความคุ้มโรค โดยการฉีดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. เข้าทางช่องท้องปลากระพงขาว หลังจากได้รับวัคซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน	164
ค7 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของการทดสอบความคุ้มโรค โดยการฉีดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. เข้าทางช่องท้องปลากระพงขาว หลังจากได้รับวัคซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 20 วัน	165
ค8 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของการทดสอบความคุ้มโรค โดยการฉีดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. เข้าทางช่องท้องปลากระพงขาว หลังจากได้รับวัคซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	166
ค9 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของการทดสอบความคุ้มโรค โดยการฉีดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. เข้าทางช่องท้องปลากระพงขาว หลังจากได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน	167
ค10 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของการทดสอบความคุ้มโรค โดยการฉีดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. เข้าทางช่องท้องปลากระพงขาว หลังจากได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ เป็นเวลา 20 วัน	168
ค11 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของการทดสอบความคุ้มโรค โดยการฉีดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. เข้าทางช่องท้องปลากระพงขาว หลังจากได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	169

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โครงสร้างของแอนติเจนของเชื้อ Streptococci	11
2 โมเลกุลของอิมมูโนโกลบูลิน (IgM) ของปลาเซลมอน	41
3 เปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริตและค่าฮีโมโกลบินของปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. กับชุดควบคุม	66
4 เปรียบเทียบค่าพลาสมาโปรตีนของปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. กับชุดควบคุม	67
5 เปรียบเทียบปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวของปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. กับชุดควบคุม	67
6 เนื้อเยื่อตับของปลากะพงขาวปกติ เซลล์ตับปกติและนิวเคลียสปกติ	70
7 เกิดช่องว่างและเซลล์ตับเรียงตัวไม่เป็นระเบียบในปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	70
8 เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	71
9 เกิดกรานูล ซึ่งภายในมีแมคโครฟาจจำนวนมากในเนื้อเยื่อตับของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	71
10 เนื้อเยื่อไตส่วนหน้าของปลากะพงขาวปกติ เซลล์ปกติ	72
11 เกิดเมลาโนแมคโครฟาจจำนวนมากในเนื้อเยื่อไตส่วนหน้าของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	72
12 เนื้อเยื่อไตส่วนหลังของปลากะพงขาวปกติ ท่อไตปกติและโกลเมอรูลัสปกติ	73
13 เกิดเมลาโนแมคโครฟาจจำนวนมากในเนื้อเยื่อไตส่วนหลังของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	73
14 เกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัสและเมลาโนแมคโครฟาจแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อไตส่วนหลังของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	74
15 เกิดไฮยาลินดริอปเพลทในท่อไตของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	74
16 เนื้อเยื่อ้ามของปลากะพงขาวปกติ ส่วนของเรดพัลและไวท์พัลปกติ	75
17 เกิดเมลาโนแมคโครฟาจจำนวนมากในเนื้อเยื่อ้ามของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	75

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
18 เนื้อเยื่อหัวใจของปลากะพงขาวปกติ เซลล์กล้ามเนื้อปกติและนิวเคลียสเป็นรูปยาวรีติดสีเข้ม	76
19 เกิดการอักเสบและเกิดกรานูลในเนื้อเยื่อหัวใจของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	76
20 เนื้อเยื่อสมองของปลากะพงขาวปกติ	77
21 เกิดการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อสมองของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	77
22 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากะพงขาวปกติ	78
23 เซลล์บุผิวของ Secondary lamellae เกิดการเชื่อมต่อกันเป็นรูปทรงกระบอกในปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	78
24 เซลล์บุผิวของ Secondary lamellae มีการเพิ่มจำนวนมากผิดปกติในปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	79
25 เกิดการขยายของเส้นเลือดบริเวณซี่เหงือกของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	79
26 เนื้อเยื่อตาของปลากะพงขาวปกติ เลนส์ตาปกติ	80
27 เกิดการเสื่อมสภาพของเลนส์ตาในปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	80
28 เกิดการเสื่อมสภาพของเลนส์ตา โดยพบช่องว่างและแคปซูล ซึ่งภายในแคปซูลมีเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp. แทรกอยู่ในปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	81
29 เปรียบเทียบค่า RPS ของวัคซีนในปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0 , 2.50×10^8 , 2.50×10^9 และ 2.50×10^{10} CFU/ml โดยทำการวิเคราะห์วันที่ 10, 20 และ 30 วัน หลังจากเริ่มให้วัคซีน	85
30 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไโตเตอร์ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0 , 2.50×10^8 , 2.50×10^9 และ 2.50×10^{10} CFU/ml โดยทำการวิเคราะห์วันที่ 10, 20 และ 30 วัน หลังจากเริ่มให้วัคซีน	85
31 เปรียบเทียบค่า RPS ของปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง	88

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
32 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง	88
33 เปรียบเทียบค่า RPS ของปลากระพงขาว ที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการแช่	91
34 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลากระพงขาว ที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการแช่	91
35 เปรียบเทียบค่า RPS ของปลากระพงขาว ที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการกิน	94
36 เปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์เฉลี่ยของปลากระพงขาว ที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการกิน	94
37 ค่าฮีมาโตคริตของปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนโดยวิธีการต่างๆ กัน	101
38 ค่าฮีโมโกลบินของปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	103
39 ค่าพลาสมาโปรตีนของปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	105
40 ปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	107
41 ปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนด้วยวิธีการต่างๆ กัน	109
42 เมลาโนแมคโครฟาจแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับของปลากระพงขาวที่ฉีดวัคซีนผสม CFA ที่เวลา 1 วัน	111
43 การเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ทีในเนื้อเยื่อไตส่วนหน้าของปลากระพงขาวที่ฉีดวัคซีนผสม CFA ที่เวลา 2 วัน	111
44 เกิดการสะสมของไกลโคเจนในเนื้อเยื่อตับของปลากระพงขาวที่ฉีดวัคซีนผสม CFA ที่เวลา 4 วัน	112
45 เกิดการหดตัวของไกลเมอรูลัสในเนื้อเยื่อไตส่วนหลังของปลากระพงขาวที่ฉีดวัคซีนผสม CFA ที่เวลา 4 วัน	112
46 เกิดการบวมน้ำ ซึ่งเป็นการหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผิวเนื้อเยื่อเหงือกของปลากระพงขาวที่ฉีดวัคซีนผสม CFA ที่เวลา 4 วัน	113
47 แมคโครฟาจแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับของปลากระพงขาวที่แช่วัคซีนโดยตรงและการแช่วัคซีนแบบ hyperosmotic ที่เวลา 1 วัน	115
48 การเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ทีในเนื้อเยื่อไตส่วนหน้าของปลากระพงขาวที่แช่วัคซีนโดยตรงที่เวลา 1 วัน	115

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
49 เกิดการหดตัวของไกลเมอรูลัสและมีเมลานินแมคโครฟาจแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อไต ส่วนหลังของปลากระพงขาวที่แช่วัคซีนแบบ hyperosmotic ที่เวลา 4 วัน	116
50 เมลานินแมคโครฟาจแทรกอยู่ในส่วนของไวท์พัลของเนื้อเยื่อ้ามปลากระพงขาว ที่แช่วัคซีนโดยตรงที่เวลา 7 วัน	116
51 แมคโครฟาจแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับของปลากระพงขาวที่แช่วัคซีนร่วมกับกินอาหาร ผสมวัคซีนที่เวลา 1 วัน	118
52 เมลานินแมคโครฟาจแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับของปลากระพงขาวที่กินอาหารผสม วัคซีนที่เวลา 4 - 7 วัน	118

รายการภาพประกอบผนวก

ภาพประกอบผนวก	หน้า
ค1 standard curve ระหว่างค่า absorbarnce และ จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร (Iny)	160