

ชื่อวิทยานิพนธ์ โรคสเตรฟโตคอคโคซิสและการประยุกต์ใช้วัคซีนในปลากะพงขาว  
(*Lates calcarifer* Bloch)  
ผู้เขียน นายเฉลิม หวันหมาน  
สาขาวิชา วาริชศาสตร์  
ปีการศึกษา 2546

### บทคัดย่อ

เชื้อ *Streptococcus* sp. แยกได้จากปลากะพงขาวที่ป่วย เจริญได้ดีในอาหารที่มีความเป็นกรด - ด่าง 9 และความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน ความรุนแรงของเชื้อต่อปลากะพงขาวเท่ากับ  $1.937 \times 10^3$  CFU/ml ( $LD_{50}$  ที่ 14 วัน) ปลากะพงขาวมีลำตัวสีคล้ำ เสียการทรงตัว ตาขุ่นและโปน มีของเหลวในช่องท้อง ตับซีด ม้ามบวมและแตกเลือดในสมอง หลังการติดเชื้อจะพบเชื้อในอวัยวะภายในเป็นจำนวนมากและจะลดลงเมื่อระยะเวลาการติดเชื้อนานขึ้น องค์ประกอบของเลือดปลาหลังจากได้รับเชื้อ ได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน ค่าพลาสมาโปรตีน ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม แต่ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง พบว่าเกิดการเสื่อมสภาพ มีช่องว่างและกรานูลในเนื้อเยื่อตับ มีเมลานินแมคโครฟาจ เกิดการหดตัวของไกลเมอรูลัสและไฮยาลินหรือปเฟลทในเนื้อเยื่อไต เกิดการเสื่อมสภาพในส่วนของไวท์พัลและเกิดเมลานินแมคโครฟาจในเนื้อเยื่อม้าม เกิดการอักเสบและกรานูลในเนื้อเยื่อหัวใจ เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์สมอง มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดปกติและการขยายตัวของเส้นเลือดบริเวณซีเหงือก เกิดช่องว่างและแคปซูลในเนื้อเยื่อตา

เมื่อนำวัคซีนเชื้อตายของเชื้อ *Streptococcus* sp. มาทดสอบในปลากะพงขาวขนาด 3.0 - 4.0 นิ้ว โดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง แซ่และกิน พบว่าความปลอดภัยของการให้วัคซีนทั้ง 3 แบบ มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ การตอบสนองของปลากะพงขาวต่อปริมาณเซลล์ของวัคซีน พบว่าปลาตอบสนองดีที่สุดที่ปริมาณเซลล์ของวัคซีนเท่ากับ  $2.50 \times 10^{10}$  CFU/ml การให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดวัคซีนที่ผสม CFA (Complete Freund's Adjuvent) มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยพบว่าค่าความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การรอดตาย (RPS) ของการให้วัคซีนเพียงอย่างเดียวและการฉีดวัคซีนผสม CFA มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (วันที่ 10) ส่วนในวันที่ 20 มีค่าเท่ากับ 54.06 และ 97.29 เปอร์เซ็นต์

และในวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 31.58 และ 73.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การให้วัคซีนด้วยวิธีการแช่แบบ hyperosmotic มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกัน พบว่าค่า RPS ของการแช่วัคซีนโดยตรงและการแช่แบบ hyperosmotic มีค่าเท่ากับ 30.77 และ 71.80 เปอร์เซ็นต์ (วันที่ 10) ส่วนในวันที่ 20 มีค่าเท่ากับ 9.75 และ 70.73 เปอร์เซ็นต์ และในวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 7.14 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การให้วัคซีนด้วยวิธีการแช่ร่วมกับการกินอาหารผสมวัคซีน มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกัน โดยพบว่าค่า RPS ของการกินอาหารผสมวัคซีนและการแช่ร่วมกับการกินอาหารผสมวัคซีน มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (วันที่ 10 และ 20) ส่วนในวันที่ 30 จะมีค่าเท่ากับ 52.39 และ 61.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้วัคซีนด้วยวิธีการแช่ร่วมกับการกินอาหารผสมวัคซีน จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของปลาได้ดีที่สุด รองลงมาคือการให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดวัคซีนผสม CFA

ส่วนการศึกษาขององค์ประกอบเลือดปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีน พบว่าในช่วง 2 วันแรกของการให้วัคซีน องค์ประกอบเลือดทุกชนิดจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดควบคุม หลังจากนั้นจะมีแนวโน้มลดลงจนใกล้เคียงกับชุดควบคุม ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนทั้ง 3 แบบ คือ การฉีดเข้าช่องท้อง แช่และกิน มีการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกันคือ มีเมลาโนแมคโครฟาจในเนื้อเยื่อตับ ไตและม้าม เกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัสในเนื้อเยื่อไต และการเพิ่มจำนวนของลิมโฟซัยท์ในเนื้อเยื่อไตส่วนหน้า

Thesis Title            Streptococcosis and Its Application of Vaccine in Seabass (*Lates calcarifer* Bloch)

Author                    Mr. Chalerm Wanman

Major Program        Aquatic Science

Academic Year        2003

### Abstract

*Streptococcus* sp. isolated from infected Seabass (*Lates calcarifer*) can grow on medium at pH 9 and salinity 0 ppt. The lethal dose where the mortality is 50 percent ( $LD_{50}$ ) was  $1.937 \times 10^3$  CFU/ml after 14 days. Sick fish showed dark body coloration, erratic swimming, exophthalmia, dropsy, pale liver, splenomegaly and hemorrhage in the brain. After infectivity experimental trial a large numbers of *Streptococcus* sp. was found in different organs and was decreased with time. Blood parameters i.e. haematocrit, haemoglobin, plasma protein and red blood cell of fish infected with *Streptococcus* sp. were decreased, while white blood cells were increased. Histopathological changes in seabass injected intraperitoneally with *Streptococcus* sp. were necrosis, vacuolization and granuloma of the liver, melanomacrophage, shrinkage to glomerulus and degeneration of hyaline droplet in kidneys, inflammation and necrosis of the spleen, heart and brain, hyperplasia and telangiectatic of the gill, vacuolization and capsulation of the exophthalmic eyes.

Fish with an average length of 3.0 – 4.0 inches vaccinated with either by intraperitoneal immersion and oral methods had a survival rate of 100 %. The highest efficacy was revealed when the vaccine contained bacterin at  $2.50 \times 10^{10}$  CFU/ml Injection of vaccine together with adjuvant (CFA) was highly effective against *Streptococcus* sp. infection. The relative percent survival (%RPS) of fish injected with vaccine alone and vaccine plus adjuvant were 100 % (10 days post vaccination), 54.06 and 92.29 % (20 days post vaccination) and 31.58 and 73.68 % (30 days post vaccination), respectively. The fish which received vaccine by hyperosmotic immersion

showed higher resistance to the disease than direct immersion with the RPS of 30.77 and 71.80 % (10 days post vaccination), 9.75 and 70.73 % (20 days post vaccination) and 7.14 and 16.67 % (30 days post vaccination) for direct immersion and hyperosmotic immersion, respectively. The mixed method of immersion and an oral vaccination was also very effective with the RPS of 100 and 100 % (10 and 20 days post vaccination) and 52.39 and 61.90 % (30 days post vaccination) for oral and mixed method, respectively. The result from the present study indicated that the mixed method can better stimulate the fish immune responses and produce superior protection than the injection with vaccine plus adjuvant method.

After 2 day post vaccination, the blood parameters of the vaccinated fish were higher than those of the control. Histopathological changes of seabass vaccinated by intraperitoneal injection, immersion and oral method were melanomacrophage of the liver, kidney and spleen. Tissue shrinkage and proliferation of lymphocytes were also observed in the kidney.