

การค้นคว้าจากเอกสาร

โรค streptococcosis เป็นโรคที่เกิดขึ้นครั้งแรกในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่นในปี 1957 (Inglis *et al.*, 1993) ในเวลาต่อมายังพบโรคนี้นี้ในปลาหลายชนิดทั่วโลก ทั้งในปลาทะเลและปลาน้ำจืด รวมทั้งสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น กบ (Teska and Shotts, 1994) โดยทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมากต่อวงการเลี้ยงปลาน้ำจืดและปลาทะเล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ปลา yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) ที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่นซึ่งคิดมูลค่าความเสียหายประมาณ 30,000,000 บาท ในปี 1974 (Kusuda *et al.*, 1976 อ้างโดย Austin and Austin, 1987) นอกจากนี้ยังเป็นโรคในปลาไหลทะเล (*Anguilla japonica*) ในประเทศญี่ปุ่น (Kusuda *et al.*, 1978) และปลาสลิคหิน (*Siganus canaliculatus*) ที่เลี้ยงในประเทศสิงคโปร์ (Foo *et al.*, 1985) และสำหรับปลาน้ำจืดที่เป็นโรคนี้นี้ เช่น ปลา rainbow trout (*Salmo gairdneri*), ปลา ayu (*Plecoglossus altivelis*) และปลานิล (*Tilapia nilotica*) ที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่น (Kitao *et al.*, 1981)

โรคนี้จะรู้จักกันในนามของโรค pop-eye ซึ่งเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงปลา rainbow trout ในอเมริกาใต้ (Barham *et al.*, 1979) และในปลา Atlantic croaker (*Micropogon undulatus*), channel catfish, golden shiner (*Notemigonus chrysoleuca*), ปลา menhaden (*Brevoortia patronus*) และ striped mullet (*Mugil cephalus*) ที่เลี้ยงในประเทศสหรัฐอเมริกา (Austin and Austin, 1987) นอกจากนี้ยังมีการแพร่ระบาดของโรคอย่างรุนแรงและรวดเร็วในประเทศไต้หวัน (Tung *et al.*, 1987) และประเทศซาอุดีอาระเบีย ในปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) (Al-Harbi, 1994)

ในประเทศไทยมีรายงานการเกิดโรค Streptococcosis ครั้งแรกในปลาทุกราช (*Oxyeleotris marmoratus*) (จิราพร และคณะ, 2529) จากนั้นในปี 2530 มีรายงานการพบโรคนี้นี้ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) (สถาพร และ เขาวนิตย์, 2530) หลังจากนั้นเป็นต้นมา มีการระบาดของโรคนี้นี้และยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในปลากะพงขาวที่เลี้ยงบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดปัตตานีและจังหวัดสงขลา (เขาวนิตย์ และ คณะ, 2543)

เชื้อ *Streptococcus* sp. เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในคน เช่น *Streptococcus pyogenes* และ *S. pneumoniae* (นันทนา, 2537) และในปลาซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการตกเลือดบริเวณตา หรืออวัยวะภายใน โดยโรคนี้นี้ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นแบบฉับพลัน (acute) โดยจะแพร่กระจายเข้าสู่ปลาภายใน 48 – 72 ชั่วโมง และจะพบการตายภายใน 4 – 5 วัน หลังจากได้รับเชื้อ และอาจจะเกิดในลักษณะเรื้อรัง (chronic) เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในปลาได้แก่ *Streptococcus iniae*, *S. parauberis*, *S. faecium* และ *S. equisimilis* (Plumb, 1994) Bridhe and Sneath (1983) ได้ทำการแยกชนิดของเชื้อ *Streptococcus* โดยคุณลักษณะรูปร่าง ซึ่งจะมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น *S. faecales*, *S. equinus*, *S. lictis* และ *S. casseliffavus* ส่วน Austin and Austin

(1987) ได้รายงานชนิดของเชื้อ *Streptococcus* sp. ได้แก่ *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. equi*, *S. equisimilis*, *S. faecium*, *S. pyogenes* และ *S. zooepidemicus*

ถ้าพิจารณาตามลักษณะการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของเชื้อ จะแบ่งเชื้อเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม non-haemolytic เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดโรค Streptococcosis ในปลาทั่วโลกได้หลายชนิด เช่น ปลาทะเลในอ่าวเม็กซิโก (Plumb *et al.*, 1974), ปลา gulf killfish (*Fundulus grandis*) ทางตอนใต้ของรัฐ Alabama (Rasheed and Plumb, 1984) ส่วนกลุ่ม alpha-haemolytic ทำให้เกิดโรคในปลาสลิคหิน (*Siganus canaliculatus*) ในประเทศสิงคโปร์ (Foo *et al.*, 1985) ปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*) ที่เลี้ยงในประเทศซาอุดีอาระเบีย (Al - Harbi, 1994) และปลา turbot (*Scophthalmus maximus*) ในประเทศสเปน (Domenech *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบโรค Streptococcosis ที่เกิดจากกลุ่ม beta-haemolytic เช่น ปลา yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) (Kawahara *et al.*, 1984) ปลานิลลูกผสม (*Tilapia nilotical* x *T. aurea*) (Perera *et al.*, 1994) และปลา striped bass ลูกผสม (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) (Evans *et al.*, 2000)

โดยทั่วไปอาการของโรคที่เกิดขึ้นในปลาจะปรากฏให้เห็นภายนอก ส่วนใหญ่ปลาที่ป่วยเป็นโรคจะมีอาการว่ายน้ำแบบควงส่ววน เสียการทรงตัว ลำตัวจะมีสีคล้ำ ตาโปนข้างเดียวหรือ 2 ข้าง ตาขุ่น ท้องบวม เกิดการอักเสบบริเวณ dorsal-lateral portion ของลำตัว พบการตกเลือดบริเวณตา กระพุ้งแก้ม โคนครีบ รอบบริเวณปาก บริเวณลำตัว และเกิดแผลบริเวณผิวของลำตัว (Austin and Austin, 1987; Plumb, 1994) นอกจากนี้เชื้อ *Streptococcus* sp. ส่วนใหญ่จะมีผลต่อตา ซึ่งสามารถพบได้บ่อยมาก โดยการเกิดบาดแผลบริเวณตาจะเป็นผลมาจากการคั่งของเลือดบริเวณหลังลูกตาและมีการบวมน้ำ (edema) แต่จะมีการอักเสบมากขึ้น และเกิดการตายของเนื้อเยื่อบริเวณ optic nerve และ choroids เบ้าตา (orbit) ขยายกว้างในตาที่เกิดเลือดคั่ง ซึ่งเกิดจากการตกเลือดบริเวณเนื้อเยื่อในลูกตา (retina) ในส่วนของวุ้นใสที่อยู่ในเบ้าตา (vitreous humor) ต่อมาจะเกิดการตายของเนื้อเยื่อบริเวณกระจกตา และเกิดการฉีกขาดของเนื้อเยื่อตา ทำให้เกิดแผลบริเวณแก้วตา (cornea) (Inglis *et al.*, 1993)

จิราพร และคณะ (2529) ได้ทำการศึกษาโรคของปลานู๋ทรายที่เลี้ยงในกระชัง บริเวณจังหวัดนครสวรรค์ อยุธยา และชัยนาท พบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในปลานู๋ทราย โดยปลาที่ป่วยจะมีอาการ ตาขุ่น ตาโปน มีของเหลวปนน้ำเลือดขังอยู่ภายในลูกตา กมลพร (2539) ได้ทำการศึกษาโรคปลานิล ที่เลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าปลาที่ป่วยเป็นโรคจะมีอาการ ตาขุ่นขาว ว่ายน้ำช้าๆ หรือว่ายน้ำเป็นวงกลมหรือไม่ก็ลอยตัวนิ่งๆ รอบๆ ซ่องขั้วถ่ายมีสีแดง ตาโปน ซึ่งลักษณะอาการดังกล่าวเหมือนกับรายงานของ Al-Harbi (1994) และ Perera *et al.* (1994) ที่รายงานว่าอาการของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) นอกจากนี้ เขาวินิตย์ และคณะ (2543) ทำการแยกเชื้อ *Streptococcus* sp. จากปลากะพงขาวที่เลี้ยงบริเวณจังหวัดปัตตานีและสงขลา โดยปลาที่ป่วยจะมีอาการ

เนื้อ มีลำตัวค้ำ เหนืออกชิด ลอยหัวที่ผิวน้ำ ตกเลือดบริเวณท้อง มีแผลแดงเป็นจุดเล็กๆ บนลำตัว ตาโปนหนึ่งข้าง สำหรับ Domenech *et al.* (1996) ได้ทำการศึกษาโรคของปลา turbot (*Scophthalmus maximus*) โดยพบว่าปลาที่เป็นโรคมักมีการตกเลือดบริเวณช่องขั้วถ่ายและครีบอก มีการตกเลือดที่ตา ซึ่งอาการดังกล่าวมีลักษณะที่เหมือนกันกับอาการของปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) (Eldar *et al.*, 1999) และปลา rabbitfish (*Siganus canaliculatus*) (Yuasa *et al.*, 1999)

เพื่อเป็นการแก้ปัญหาการเกิดโรค จำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงวิธีการป้องกันที่มีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีรายงานว่า โรค Streptococcosis มีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ เช่น nalidixic acid, polymycin B, metronidazole และ furazolidine จึงจำเป็นที่จะต้องมีการพัฒนาเทคนิคการควบคุมและการป้องกัน โดยการใช้วัคซีน ได้มีการทดลองใช้วัคซีนเพื่อป้องกันการเกิดโรค Sakai *et al.* (1987) ได้ทำการทดลองโดยใช้วัคซีนที่เตรียมจาก beta-haemolytic *Streptococcus* sp. โดยวิธี Formalin killed ในการป้องกันโรค Streptococcosis ในปลา rainbow trout (*Salmo gairdneri*) โดยใช้วิธีการแช่ (immersion) นาน 3 นาที และทำการฉีดเชื้อ *Streptococcus* sp. เข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal) พบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดสูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ หลังจากฉีดเชื้อ 10 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sakai *et al.* (1995) ได้รายงานว่า การฉีดวัคซีนป้องกันการเกิดโรค สามารถที่จะใช้ได้ในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Eldar *et al.* (1997) ได้ใช้วัคซีนชนิด Formalin killed ในการต้านทานเชื้อ *Streptococcus iniae* ในฟาร์มปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) โดยวิธีการฉีดเข้าที่ทางช่องท้อง พบว่า มีการผลิต antibody ขึ้นมาได้ นอกจากนี้ยังพบว่าปลา rainbow trout ที่ไม่ได้รับวัคซีนจะมีอัตราการตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาที่ได้รับวัคซีนจะมีอัตราการตายน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์

Klesius *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดเดี่ยว (Single) และวัคซีนชนิดรวมกัน (combined) ในปลาไนล์ โดยเตรียมวัคซีนจากเชื้อ *Streptococcus iniae* และใช้ Formalin killed สำหรับวัคซีนชนิดเดี่ยว (ARS - 10 เป็นเชื้อ *S. iniae* ที่แยกมาจากปลาไนล์) และวัคซีนชนิดรวมกัน (ARS - 10 + ARS - 60 : โดยที่ ARS - 60 เป็นเชื้อ *S. iniae* ที่แยกมาจากปลา striped ลูกผสม) โดยจะทำการฉีดเข้าทางช่องท้อง และกลัมนเนื้อที่ความเข้มข้นของวัคซีน 4×10^9 CFU (OD = 1.9 ที่ 540 nm) จะฉีดให้กับปลาไนล์ ตัวละ 0.1 มิลลิลิตร และในกลุ่มควบคุมจะฉีดด้วย TSB หลังจากได้รับวัคซีนผ่านไป 30 วัน ทำการฉีดเชื้อ *S. iniae* ที่มีความเข้มข้นของเชื้อ 1×10^8 CFU โดยพบว่า ปลาไนล์ที่ฉีดด้วยวัคซีน (ARS - 10) เข้าทางช่องท้อง แล้วฉีดเชื้อ (ARS - 10) จะมีค่า RPS 45.6 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ฉีดเชื้อ (ARS - 60) มีค่า RPS 93.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า ปลาไนล์ที่ฉีดด้วยวัคซีน (ARS - 10) เข้าทางกลัมนเนื้อ แล้วฉีดเชื้อ (ARS - 10) มีค่า 17.7 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ฉีดเชื้อ (ARS - 60) มีค่า RPS 59.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้วัคซีน (ARS - 10

+ ARS - 60) เข้าทางกล้ามเนื้อ แล้วฉีดเชื้อ (ARS - 10) จะมีค่า RPS 63.1 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ฉีดเชื้อ (ARS - 60) มีค่า RPS 87.3 เปอร์เซ็นต์

วัคซีนในสัตว์น้ำที่ผลิตในเชิงการค้า (commercial vaccine)

ในปัจจุบันการผลิตวัคซีนเพื่อใช้ในสัตว์น้ำในเชิงการค้ามีอยู่ระดับหนึ่ง ส่วนใหญ่จะเป็นวัคซีนเชื้อตายจากแบคทีเรียและใช้กับการเลี้ยงปลาเขตนานาชาติ เช่น ปลาเทราท์และปลาแซลมอน ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ในยุโรปและอเมริกา ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เป็นวัคซีนจะมี 2 กลุ่มหลักคือ *Aeromonas salmonicida* และกลุ่ม *Vibrio* ส่วนวัคซีนของเชื้อ *Streptococcus* มีรายงานจากประเทศญี่ปุ่นเพียงแห่งเดียว รายละเอียดชนิดของวัคซีนและประเทศที่จำหน่ายดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1. Current list of vaccines licensed for aquaculture world-wide

Vaccine	Asia	Australia	Europe	Can.	USA
<i>Aeromonas</i> sp. bacterin			X		
<i>Aeromonas salmonicida</i> bacterin			X		
<i>Aeromonas salmonicida</i> bacterin (Biojec 1500J , FurogenJ)				X	X
<i>Aeromonas salmonicida</i> bacterin (Furogen 2J)				X	
<i>Aeromonas salmonicida</i> immersion vaccine (Furogen bJ , MICROSalm ^{mmJ})				X	
<i>Aeromonas salmonicida</i> bacterin-Vibrio sp. bacterin (MULTIVaCC ^{3J})				X	
<i>Aeromonas salmonicida</i> - <i>Vibrio anguillarum</i> - <i>Salmonicida</i> bacterin (Biojec 1800J , Lipogen TripleJ , Lipogen ForteJ , MULTIVaCC ^{4J})				X	
<i>Aeromonas salmonicida</i> - <i>Vibrio anguillarum</i> - <i>Salmonicida</i> bacterin(Biojec 1900J)				X	X
Autogenous bacterins			X		
Autogenous bacterin(Autogenous BacterinJ)					X
<i>Edwardsiella ictaluri</i> bacterin (EscogenJ)					X
Infectious Pancreatic Necrosis			X		
<i>Pasteurella</i> sp. bacterin			X		
Penaeid multivalent bacterin for shrimp	X				
<i>Streptococcus</i> sp. bacterin	X (Japan)				
<i>Vibrio</i> sp. bacterin		X			
<i>Vibrio</i> sp. bacterin (for ayu)	X (Japan)				
<i>Vibrio</i> sp. bacterin (for salmonids)	X (Japan)				
<i>Vibrio</i> sp. bacterin (MICROViBJ)				X	
<i>Vibrio anguillarum</i> bacterin	X		X		
<i>Vibrio anguillarum</i> - <i>Ordalii</i> bacterin (Biovax 1300J , VibrogenJ , Vibrogen-2J)				X	X
<i>Vibrio anguillarum</i> - <i>salmonicida</i> bacterin (Biovax 1600J)					X
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> bacterin	X				

<i>Vibrio salmonicida</i> bacterin			X		
<i>Vibrio salmonicida</i> bacterin (Biovax 1200J)					X
<i>Vibrio anguillarum-Ordalii-Yersinia</i> bacterin (Biovax 1700J)					X
Viral hemorrhagic septicemia			X		
<i>Yersinia</i> sp. bacterin			X		
<i>Yersinia ruckeri</i> bacterin (Biovax 1100J , Biovax 1150J , ErmogenJ)				X	X

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

- ศึกษาเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่ก่อให้เกิดโรคในปลากะพงขาวและความรุนแรงของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ
- ศึกษาวิธีการผลิตวัคซีนจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp.
- ศึกษาวิธีการใช้และประสิทธิภาพของวัคซีนที่ผลิตได้ในปลากะพงขาว