

การศึกษาการเกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ

จรีพร เรืองศรี¹ และกิจการ ศุภมัตย์²

Abstract

Ruangsi, J.¹ and Supamattaya, K.²

Studies of pathogenesis and virulence of *Vibrio harveyi* in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)

Ten strains of bacteria were isolated from diseased black tiger shrimp collected from the farms in southern Thailand. All the strains belong to *Vibrio harveyi* forming rounded colonies with smooth periphery. The colonies appeared green and yellow on TCBS normally use as selective media and can be of luminescent as well as non-luminescent groups. Their growth and cell proliferation require salts in addition to culture media. The sensitivity tests against antibiotics showed that all ten strains were sensitive to chloramphenicol, norfloxacin, trimethoprim-sulfamethoxaxone, oxolinic acid, oxytetracycline and sarafloxacin at 80, 60, 50, 40, 40 and 30% respectively. When 12-15 g juveniles were tested for the virulence by injecting the bacteria, the strains were highly virulent with OD at 640 nm in the range 0.007-0.139. The 1.60×10^5 - 7.27×10^6 CFU/0.1 ml bacteria caused 50% juvenile mortality in ten days. The physiological changes after susceptibility showed a decline in the blood cells, higher plasma pH, decreases in serum protein within 24 hrs but returned to normal within 48 hrs. There were no differences in blood sugar levels and phenoloxidase activity between the healthy and the susceptible individuals. Histological study showed that at early period of susceptibility, swollen tubular lumen, minor cell degeneration of the hepatic tubules and lymphoid organs and aggregation of blood cells around the degenerating cells were noted. In the juvenile within 7-day susceptibility period, there were large scale of cell degeneration of the hepatopancreas, lymphoid organs, gills and blood forming organs with greater extent of the blood cell aggregation and eventually mortalities occurred. In the juveniles with 14 days susceptibility period, there was almost entire degeneration of cells in hepatic tubules and lymphoid organs causing hepatopancreatic tubular necrosis. During this period, juveniles did not accept the feed and total mortality occurred.

Key words: vibriosis, luminescent vibrio, pathogenesis, virulence, *Vibrio harveyi*, black tiger shrimp, *Penaeus monodon*

¹ ² Aquatic Animal Health Research Center, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand.

¹ วท.บ. วาริชศาสตร์ นักวิชาการประมง ² Dr. rer. nat. (Fish pathology) รองศาสตราจารย์ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

บทคัดย่อ

จรีพร เรืองศรี¹ และกิจการ ศุภมาตย์²

การศึกษาการเกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ

แยกเชื้อแบคทีเรีย 10 สายพันธุ์ จากกุ้งกุลาดำที่ป่วยเป็นโรค จากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในเขตภาคใต้ ผลการทดสอบเชื้อทั้งหมดจัดเป็น *Vibrio harveyi* มีลักษณะโคโลนีกลมขอบเรียบ ต้องการเกลือในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS มีทั้งกลุ่มสีเขียวและสีเหลือง เรืองแสงและไม่เรืองแสงในที่มืด ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อ *V. harveyi* ทั้ง 10 สายพันธุ์ ไวต่อยาคลอแรมเฟนิคอล. นอร์ฟลอกซาซิน. ไครเมโทพริม-ซัลฟามทอกซาโซน. ออกโซลิติก แอซิด. ออกซิเตดร้า ซัยคลิน และซาราฟล็อกซาซิน คิดเป็น 80 60 50 40 40 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทดสอบความรุนแรงของเชื้อต่อกุ้งกุลาดำขนาด 12-15 กรัม ด้วยวิธีการฉีดพบว่าเชื้อมีความรุนแรงสูง โดยทั้ง 10 สายพันธุ์ มีค่าความทึบแสง (OD) ที่ 640 นาโนเมตร อยู่ในช่วง 0.007-0.139 ซึ่งมีปริมาณเชื้อที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 10 วัน ตั้งแต่ $1.60 \times 10^5 - 7.27 \times 10^6$ CFU/ 0.1 มล การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในตัวกุ้งหลังการติดเชื้อพบว่ากุ้งที่ติดเชื้อมีปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนลดลงแตกต่างจากชุดควบคุม ความเป็นกรด-ด่างของน้ำเลือดสูงกว่ากุ้งที่ไม่ติดเชื้ออย่างชัดเจน ปริมาณโปรตีนในซีรัมลดลงในช่วง 24 ชั่วโมงแรกหลังการติดเชื้อ แต่เพิ่มขึ้นสู่ภาวะปกติภายใน 48 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างของปริมาณน้ำตาลในเลือด และกิจกรรมของเอ็นไซม์ฟีนอลออกซิเดสระหว่างกุ้งที่ติดเชื้อและกุ้งปกติ การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าในช่วงแรกที่กุ้งติดเชื้อเริ่มมี tubular lumen ของเซลล์บวม เซลล์ในท่อคืบ ค่อมน้ำเหลืองตายเล็กน้อย พบเม็ดเลือดเข้ามาล้อมจับเซลล์ที่ตายชัดเจน กุ้งที่ติดเชื้อนาน 7 วัน พบเซลล์ในคืบ ค่อมน้ำเหลืองเหี่ยว อวัยวะสร้างเม็ดเลือด ตายเป็นบริเวณกว้างมีเม็ดเลือดเข้ามาล้อมจับมากขึ้นกุ้งทยอยตาย และกุ้งที่ติดเชื้อนาน 14 วัน เซลล์คืบ ค่อมน้ำเหลือง เกือบทั้งหมดตายเกิดเป็นลักษณะ hepatopancreatic tubular necrosis ในระยะดังกล่าวกุ้งไม่กินอาหารและตายทั้งหมด