

รายงานวิจัย

โรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* Linn.) และ
การผลิตวัคซีนต่อเชื้อสเตรปโตคอคคัส

STREPTOCOCCOSIS IN SEX - REVERSED RED TILAPIA (*Oreochromis niloticus*
Linn.) AND PRODUCTION OF VACCINE AGAINST *Streptococcus* sp.

กิจการ สุภมาตย์
วุฒิพร พรหมขุนทอง
จรีพร เรืองศรี
นพรัตน์ แทนมาก

ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

บทคัดย่อ

ตั้งแต่เดือนเมษายน 2546 ถึง มกราคม 2548 สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้จากปลานิลป่วยที่เลี้ยงในจังหวัดสุราษฎร์ธานีและนครศรีธรรมราช ผลการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ชีวเคมี และซีรัมวิทยาพบว่าแบคทีเรียที่แยกได้มี 2 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus agalactiae* และ *S. iniae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เรียงตัวเป็นคู่หรือสายโซ่ ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลสและเอนไซม์ออกซิเดส ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบเบต้า และไม่เจริญในสภาพที่มีความเค็ม 6.5 เฟอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 9.6 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อาการของโรคพบว่าปลาที่ติดเชื้อจะเสียการทรงตัวและว่ายน้ำแบบควงส่ว้น คาซุนและโปน ม้ามโต มีของเหลวในช่องท้องและค้ำซิค การทดลองในปลานิลแดงแปลงเพศโดยการฉีดสารละลายเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* เข้าสู่ช่องท้อง ปริมาณ $10^1 - 10^5$ CFU/ตัว ทำให้ปลาตาย 20 - 90 เฟอร์เซ็นต์ ภายใน 10 วัน มีค่า LD_{50} เท่ากับ $3.60 \times 10^1 - 1.72 \times 10^7$ CFU องค์กรประกอบเลือด ได้แก่ ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน พลาสมาโปรตีน และปริมาณเม็ดเลือดของปลาใกล้ตายเนื่องจากได้รับเชื้อมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อพบการอักเสบ การตายของเซลล์ มีการแทรกตัวของลิมโฟไซต์จำนวนมากและเกิดกรานูโลมาในเนื้อเยื่อของอวัยวะที่ติดเชื้อ —

การศึกษาปัจจัยที่สร้างความรุนแรงของโรคสเตรปโตคอคโคซิส พบว่าแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่แยกได้จากปลาป่วยสามารถสร้างเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเนส คีเนสและโปรตีเอสแต่ตรวจไม่พบโปรตีน-เอ็ม

การผลิตวัคซีนเชื้อตายโดยใช้ฟอร์มาลินเพื่อป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสพบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนเข้มข้น $10^7 - 10^{10}$ CFU/ml มีแนวโน้มที่จะสร้างแอนติบอดีได้มากตามความเข้มข้นของวัคซีนที่ได้รับและสามารถสร้างแอนติบอดีได้มากที่สุดเมื่อได้รับวัคซีนเข้มข้น 10^{10} CFU/ml และเมื่อให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *S. iniae* แก่ปลานิลแดงแปลงเพศโดยวิธีการต่าง ๆ ได้แก่ การฉีด (วัคซีนชนิดเดี่ยวและวัคซีนร่วมกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน) การแช่และการกิน พบว่าที่ 10 วันหลังการให้วัคซีน ปลานิลแดงแปลงเพศทุกชุดการทดลองไม่แสดงอาการผิดปกติ และมีอัตราการรอดตาย 100 เฟอร์เซ็นต์ แสดงว่าวัคซีนที่ผลิตมีความปลอดภัย และเมื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนในปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับวัคซีนนาน 1 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนทุกชุดการทดลองจะมีค่าองค์ประกอบเลือด ได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบินและปริมาณเม็ดเลือดขาวไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ยกเว้นค่าพลาสมาโปรตีนและปริมาณเม็ดเลือดแดงที่มีความแตกต่าง ($p < 0.05$) การศึกษาปริมาณแอนติบอดีไคเตอร์พบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนทุกชุดการทดลองสามารถสร้างแอนติบอดีได้แตกต่างกันตามวิธีการให้วัคซีน โดยปลาที่ได้รับวัคซีนโดยการฉีดจะสามารถสร้างแอนติบอดีได้มากที่สุด ส่วนการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อพบว่าปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนร่วมกับ

สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันสามารถต้านทานโรคได้ดีที่สุด (RPS 95.12%) รองลงมาคือปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดเดี่ยว (RPS 80.49%) ปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนโดยการแช่ (RPS 41.46 %) และปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนโดยการกิน (RPS 9.76%) ตามลำดับ

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนในปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับวัคซีนนาน 4 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่าองค์ประกอบเลือดทั้งในปลาชุดควบคุมและปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) แต่พบว่าค่าแอนติบอดีโคเลสเตอร์ของปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดเดี่ยวและฉีดวัคซีนร่วมกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันมีค่าสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนโดยการกินและการแช่ ($p<0.05$) และเมื่อทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อพบว่าปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนร่วมกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันสามารถต้านทานเชื้อได้ดีที่สุด (RPS 76.00%) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดเดี่ยว (RPS 54.00%) ในขณะที่ปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนโดยการแช่และปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนโดยการกินมีอัตราการตายไม่แตกต่างจากชุดควบคุม โดยมีค่า RPS เท่ากับ -4.00 และ -8.00 ตามลำดับ

Abstract

During April 2003 to January 2005, pathogenic bacteria were isolated from infected cultured tilapia in Surat Thani and Nakhon Si Thammarat provinces. Physiological, biochemical and serological testing indicated that bacteria were *Streptococcus agalactiae* and *S. iniae*. Isolates were Gram-positive, cocci in pair or short chain, catalase and oxidase negative, beta-haemolytic, no growth was observed in 6.5% NaCl, pH 9.6 and temperature 45 °C. Streptococcal-infected fish showed swimming abnormalities including serpentine movement, exophthalmia and opacity. Internally, splenomegaly, ascites as well as pale liver discoloration were observed. Fish experimentally infected by peritoneal injection using 10^1 - 10^8 CFU/fish showed 20-90% mortality within 10 days and the LD₅₀ was 3.60×10^1 - 1.72×10^7 CFU. Haematocrit, haemoglobin, plasma protein and blood cell values of infected and moribund fish were significantly decreased ($p < 0.05$). Histopathological findings included the occurrence of inflammation, cells necrosis, infiltration of lymphocytes and the formation of granulomas in the infected organs.

Virulence factors found in *S. agalactiae* were hyaluronidase, DNase and protease but M-protein was not found in this study.

Formalin-killed vaccine with concentration range of 10^7 - 10^{10} CFU/ml were applied in sex – reversed red tilapia. The highest antibody titer response was found in the group received 10^{10} CFU/ml vaccine. Vaccine sterility test indicated that vaccine applied by injection, immersion and oral route were safe for application.

The studies of vaccine application in sex – reversed red tilapia for 1 week showed significant different level on antibody titer responds to different route of application (injection, immersion and oral). Similar to blood parameters i. e. haematocrit, haemoglobin and white blood cell were not different among group of vaccine application except plasma protein and red blood cell ($p < 0.05$).

Vaccine efficiency indicated by relative percent survival (RPS) showed that the best disease resistance (highest RPS = 95.12%) found in the group injected by vaccine plus immunostimulant as an adjuvant followed by injection vaccine alone (RPS = 80.49%), immersion (RPS = 41.46%) and oral vaccination (RPS = 9.76%).

No difference in blood parameters of tilapia after vaccination for 4 week. However, antibody titer of the group received vaccine plus immunstimulant and vaccine alone are

significantly higher than other groups ($p < 0.05$). Relative percent survival of fish at 4 week post vaccination showed the same trend as the highest disease resistance was recorded in the group injected with vaccine plus immunostimulant (RPS = 76.00%) which significantly different from vaccine alone (RPS = 54.00%). Immersion and oral vaccination showed less effect on disease protection (-4.00 and -8.00 repectively).