นิพนธ์ต้นฉบับ

โรคสเตรฟโตคอคโคซีสในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

เฉลิม หวันหมาน[1] ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง[2] และ กิจการ ศุภมาตย์[3]

Abstract

Wanman, C.[1], Klowklieng, T.[2] and Supamattaya, K.[1]

Streptococcosis in seabass (*Lates calcarifer*)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(Suppl. 1) : 291-305

***Streptococcus* sp. isolated from infected seabass (*Lates calcarifer*) can grow on medium at pH 9.6 and salinity 0 ppt. The lethal dose where the mortality is 50 percent (LD_{50}) was 1.937×10^3 CFU/ml after 14 days. Diseased fish showed dark body coloration, erratic swimming, exophthalmia, dropsy, pale liver, splenomegaly and hemorrhage in the brain. Blood parameters i.e. haematocrit, haemoglobin, plasma protein and red blood cell of infected fish were decreased, while white blood cells were increased. Histopathological changes in diseased seabass were necrosis, vacuolization and granuloma of the liver, increased number of melano-macrophage in liver and spleen, shrinkage of glomerulus in kidneys, inflammation and necrosis of the spleen and heart, hyperplasia and telangiectasis of the gill, while vacuolization and capsulation of the exophthalmic eyes were observed.**

Key words : Streptococcosis, seabass, *Lates calcarifer*

[1]Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand, [2]Satun Coastal Fisheries Research and Development Center, Department of Fisheries, La-ngu, Satun 91110 Thailand.

[1]วท.ม. (วาริชศาสตร์) [3]Dr. rer. nat. (Aquatic Animal Disease) รองศาสตราจารย์ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112 [2]วท.บ. (วาริชศาสตร์), ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสตูล จังหวัดสตูล 91110

Corresponding e-mail: kidchakan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 12 มีนาคม 2547 รับลงพิมพ์ 1 มิถุนายน 2547

บทคัดย่อ

เฉลิม หวันหมาน ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง และ กิจการ ศุภมาตย์

โรคสเตรฟโตคอคโคซีสในปลากะพงขาว

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(ฉบับพิเศษ 1) : 291-305

เชื้อ *Streptococcus* sp. แยกได้จากปลากะพงขาวที่ป่วยจัดอยู่ในกลุ่ม non-haemolytic streptococci เจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง 9.6 และความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน ความรุนแรงของเชื้อต่อปลากะพงขาวเท่ากับ 1.937×10^3 CFU/ml (LD_{50} ที่ 14 วัน) ปลาป่วยมีลำตัวสีคล้ำ เสียการทรงตัว ตาขุ่นและโปน มีของเหลวในช่องท้อง ตับซีด ม้ามบวม และตกเลือดในสมอง องค์ประกอบของเลือดปลาหลังจากได้รับเชื้อ ได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน ค่าพลาสมาโปรตีน ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม แต่ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ โดยการฉีดเข้าช่องท้อง พบว่าเกิดการเสื่อมสภาพ มีช่องว่างและกรานูลในเนื้อเยื่อตับ มีเมลาโนแมคโครฟาจ เกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัสในเนื้อเยื่อไต เกิดเมลาโนแมคโครฟาจในเนื้อเยื่อม้าม เกิดการอักเสบและกรานูลโลมาในเนื้อเยื่อหัวใจ มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์และการขยายตัวของเส้นเลือดบริเวณซี่เหงือก เกิดช่องว่างและแคปซูลในเนื้อเยื่อตา

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทยมีการพัฒนาอย่างมาก โดยเฉพาะการเลี้ยงปลากะพงขาว ซึ่งเป็นสัตว์น้ำอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง แต่มักจะประสบปัญหาการเกิดโรคปรสิต ไวรัสและแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในปลากะพงขาว ได้แก่ เชื้อ *Flexibacter columnaris, Vibrio* sp. และ *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรคสเตรฟโตคอคโคซีส (Streptococcosis) ในปลากะพงขาว สามารถทำให้ปลาตายภายใน 24-72 ชั่วโมง (เยาวนิตย์ และคณะ, 2543) โรคสเตรฟโตคอคโคซีสเป็นโรคที่เกิดขึ้นครั้งแรกในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่น (Inglis *et al*., 1993) ต่อมามีการแพร่ระบาดในปลาหางเหลือง (yellow-tail, *Seriola quinqueradiata*) (Austin and Austin, 1987) ปลาไหลทะเล (*Anguilla japonica*) ที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่น (Kusuda *et al*., 1978) และปลาสลิดหิน (*Siganus canaliculatus*) ที่เลี้ยงในประเทศสิงคโปร์ (Foo *et al*.,1985) รวมทั้งปลาน้ำจืดหลายชนิด เช่น ปลา ayu (*Plecoglossus altivelis*) (Kitao *et al*., 1981) ปลากดอเมริกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) (Austin and Austin, 1987) และปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus x O. aureus*) (Al-Harbi, 1994) สำหรับในประเทศไทยได้มีรายงานการเกิดโรคสเตรฟโตคอคโคซีสครั้งแรกในปลาบู่ทราย (*Oxyeleotris marmoratus*) (จิราพร และคณะ, 2529) ต่อมาได้มีรายงานการพบโรคชนิดนี้ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) (สถาพร และเยาวนิตย์, 2530) หลังจากนั้นเป็นต้นมา พบว่ายังมีการระบาดของโรคชนิดนี้และยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในปลากะพงขาวที่เลี้ยงบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในจังหวัดปัตตานีและจังหวัดสงขลา (เยาวนิตย์ และคณะ, 2543) ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่ทำให้เกิดโรคในปลากะพงขาว รวมทั้งการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือดและเนื้อเยื่อ เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมโรค

อุปกรณ์และวิธีการ

ก. สัตว์ทดลอง

ลูกปลากะพงขาว ขนาด 3-4 นิ้ว ซื้อจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ จังหวัดสงขลา ที่มีความแข็งแรง ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย นำมาเลี้ยงไว้ที่โรงเพาะฟักของศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา เลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 3 ตัน ให้อากาศตลอดเวลา โดยควบคุมความเค็มของน้ำให้คงที่ที่ 15 ส่วน

ในพันส่วน เลี้ยงไว้ก่อนการทดลองเป็นเวลา 7 วัน ในช่วงของการเลี้ยงให้อาหารเม็ดจมน้ำวันละ 2 มื้อ ดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน

ข. การแยกเชื้อแบคทีเรียจากปลากะพงขาวป่วย

แยกเชื้อแบคทีเรียจากปลากะพงขาวป่วยที่เลี้ยงในจังหวัดสงขลาและจังหวัดสตูล โดยคัดเลือกปลาที่มีอาการลำตัวสีคล้ำและตกเลือดที่บริเวณลำตัว นำมาผ่าท้องปลาด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) แล้วเขี่ยเชื้อแบคทีเรียจากตับ ไต และสมอง นำมาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar (BA) บ่มที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเชื้อเจริญบนอาหาร สุ่มเลือกโคโลนีจากจานเพาะเชื้อมาย้อมสีแกรม เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ และทดสอบ catalase ในการแยกชนิดของเชื้อ จากนั้นนำมาเลี้ยงบน tryptic soy agar (TSA) จนได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วเก็บใน tryptic soy broth (TSB) ที่มีกลีเซอริน (glycerin) ผสมอยู่ 15% นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -70°C จนกว่าจะนำมาใช้งานต่อไป

ค. วิธีการ

1. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

นำเชื้อจากที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70°C มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24 ชั่วโมง เจือจางเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85% ให้ได้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับหลอดมาตรฐาน McFarland No. 0.5 นำเชื้อดังกล่าวไปฉีดเข้าช่องท้องปลากะพงขาว ปริมาตร 0.1 มล. ใช้ปลาขนาดความยาว 3- 4 นิ้ว โดยปลาจะต้องมีความแข็งแรง ไม่แสดงอาการของโรค ชุดควบคุมเป็นปลาที่ฉีดด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85% แทนการฉีดเชื้อ *Streptococcus* sp. หลังฉีดเชื้อจะเลี้ยงไว้จนแสดงอาการของโรค แล้วทำการแยกเชื้อตามวิธีในข้อ ข. โดยเก็บตัวอย่างของเชื้อ *Streptococcus* sp. ไว้ทดสอบต่อไป

2. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Streptococcus* sp.

นำเชื้อที่บริสุทธิ์มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยทดสอบการสร้างเอนไซม์ catalase และ oxidase การย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (haemolytic) บน BA การทนต่อความเป็นกรด-ด่างที่ 9.6 อาหารที่มีเกลือ 6.5% อุณหภูมิต่ำที่ 10°C และสูงที่ 45°C การทดสอบการย่อยเจลาติน แป้ง sodium hippurate esculin และ arginine การทดสอบความสามารถใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ คือ arabinose, glucose, lactose, maltose, mannitol, sucrose, trehalose และ saccharose และชุดทดสอบ API 20 STREP (bioMérieux, France)

3. การทดสอบความไวของเชื้อ *Streptococcus* sp. ต่อยาปฏิชีวนะ

นำเชื้อ *Streptococcus* sp. โคโลนีเดี่ยว ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ละลายในน้ำเกลือปลอดเชื้อเข้มข้น 0.85% ให้ได้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับหลอดมาตรฐาน McFarland No. 0.5 จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปลอดเชื้อจุ่มลงในสารละลายเชื้อ *Streptococcus* sp. แล้วนำไปเกลี่ยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MH agar) ให้ทั่วจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำแผ่นยา (disc) ชนิดต่างๆ วางลงบนอาหาร MH agar บ่มที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงวัดวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น จากนั้นแปลผลโดยใช้ตารางมาตรฐานในการแปลผลความไวต่อยาปฏิชีวนะ

4. ศึกษาความรุนแรงของเชื้อ *Streptococcus* sp.

ทำการฉีดเชื้อที่ระดับปริมาณเชื้อแตกต่าง 5 ระดับ ซึ่งเป็นระดับปริมาณเชื้อต่ำสุดที่ทำให้ปลาตาย 100% และปริมาณเชื้อสูงสุดที่ไม่ทำให้ปลาตาย แต่ละระดับจะใช้ปลากะพงขาวขนาด 3-4 นิ้ว จำนวน 10 ตัว โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ใช้เข็มฉีดยาขนาด 26G x 1 นิ้ว ฉีดเข้าช่องท้องในปริมาณ 0.1 มล./ตัว ส่วนกลุ่มควบคุมฉีดด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85% นำมาเลี้ยงในตู้ขนาด 44x19x20 นิ้ว ที่บรรจุน้ำทะเลความเค็ม 15 ส่วนในพัน ปริมาตรน้ำ 100 ลิตร บันทึกการตายในแต่ละวันหลังฉีดเชื้อและนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณ LD_{50} ที่ 14 วัน ตามวิธีของ Reed และ Muench (1938)

5. การศึกษาองค์ประกอบของเลือดปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp.

ฉีดเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่ระดับความเข้มข้นของ LD_{50} ที่ 14 วัน โดยฉีดเข้าช่องท้องปลาตัวละ 0.1 มล. ใช้ปลาขนาด 3- 4 นิ้ว แล้วนำไปปล่อยลงในตู้ทดลอง ให้อากาศตลอดเวลา สังเกตอาการและทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลากะพงขาวจำนวน 10 ตัว ที่เวลา 1, 3, 5,

7, 10 และ 14 วัน หลังจากที่ฉีดเชื้อ โดยทำให้ปลาสลบด้วย Quinaldin 1-2 หยด/ลิตร ปลาจะสลบภายใน 30-60 วินาที ทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหาง (caudal vein) โดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มล. และเข็มฉีดยาขนาด 25G x 1 นิ้ว ที่เคลือบด้วย 1% EDTA เป็นตัวป้องกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ตัวอย่างเลือดที่เจาะได้นำมาหาค่าองค์ประกอบต่างๆ ภายใน 3-6 ชั่วโมง (กิจการ, 2538) นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด ได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต (Larsen and Sneizsko, 1961) ปริมาณฮีโมโกลบินรวม ค่าโปรตีนในพลาสมา (Lowry *et al*., 1951) ปริมาณเม็ดเลือดแดงและปริมาณเม็ดเลือดขาว

6. การศึกษาพยาธิสภาพเนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp.

นำตัวอย่างปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. จำนวน 20 ตัว มาเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อโดยการเปิดช่องท้อง ตัดอวัยวะส่วนต่างๆ คือ เหงือกและอวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ ไต ม้าม หัวใจ และสมอง ดองในน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 10% เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อ หลังจากดองในน้ำยาดังกล่าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จึงนำอวัยวะทั้งหมดมาผ่านขั้นตอนการทำเนื้อเยื่อ โดยใช้เครื่อง Automatic Tissue Processor โดยผ่านระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ต่างๆ จาก 50 ถึง 100% เพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์ แล้วผ่านลงในไอโซโพรพิลและไซลีน แล้วฝังในพาราฟลาส นำมาตัดด้วยเครื่องไมโครโตม หนา 3-4 ไมครอน ย้อมด้วยสีฮีมาทอกไซลินและอีโอซิน ตามวิธีของ Humason (1979) เพื่อทำเป็นสไลด์ถาวร และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและบันทึกภาพ (Olympus AX 70)

ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของเชื้อ *Streptococcus* sp.

ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ 35ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีขอบเรียบ สีขาวขุ่น โคโลนี กลมนูน มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 มม เซลล์มีรูปร่างกลมต่อกันเป็นสาย ติดสีแกรมบวก เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BA จะไม่มีการย่อยเม็ดเลือดแดง ทำให้แยกชนิดของเชื้ออยู่ในกลุ่ม non-haemolytic *Streptococcus* sp.

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากปลากะพงขาวที่ป่วยจำนวน 20 ตัว สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากส่วนของสมองปลากะพงขาวที่ป่วยมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้สูงกว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากส่วนอื่นๆ ของปลาป่วย และผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (Table 1)

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ เมื่อนำเชื้อ *Streptococcus* sp. มาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะโดยใช้ยา 12 ชนิด พบว่าเชื้อจะดื้อต่อยาออกโซลินิค แอซิด และนาลิดิอิค แอซิด แต่มีความไวต่อยาคลอแรมเฟ็นนิคัล ซัลฟาเมธท๊อกซาโซล+ไตรเมธโธพริม นอร์ฟล็อกซาซิน ออกซี่เตตร้าซัยคลิน ซาราฟล็อกซาซิน เพนนิซิลิน ไตรเมธโธพริม ไนโตรฟูแรนโทอิน เออริโทรมัยซิน และแอมพิซิลลิน (Table 2)

2. ความรุนแรงของเชื้อ *Streptococcus* sp.

ทำการทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยทำการฉีดเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ให้แก่ปลากะพงขาวขนาด 3.0-4.0 นิ้ว น้ำหนักเฉลี่ย 4.97±1.24 กรัม โดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง แล้วบันทึกเวลาและจำนวนปลากะพงขาวที่ตาย นำผลที่ได้มาคำนวณค่า LD_{50} พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.937×10^3 CFU/ml หรือค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เท่ากับ 0.008 โดยพบว่าอาการของปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ *Streptococcus* sp. มีสีลำตัวเป็นสีคล้ำ เสียการทรงตัว เคลื่อนที่ช้า แต่เมื่อได้รับเชื้อเป็นเวลานาน เกิดอาการตาขุ่น ตาโปนข้างเดียวหรือ 2 ข้าง มีของเหลวในช่องท้อง ตับมีสีซีด ไตและม้ามบวม สมองเป็นสีชมพู

3. องค์ประกอบเลือดของปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ *Streptococcus* sp.

การวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่เวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อ 1 วัน มีค่าฮีมาโตคริต

Table 1. Biochemical tests of the bacterial isolate and the results obtained by other authors.

	Present isolate	Donyadol *et al.* (2000) Seabass	Perera *et al.* (1994) Hybrid tilapia
Gram stain	+	+	+
Haemolysis	γ	β	β
Catalase	-	-	-
Oxidase	-	-	-
Mortality	-	-	-
Growth in 6.5 %NaCl	-	-	-
Tolerance of:			
pH 9.6	+	-	-
temp 10°C	+	-	+
temp 45°C	-	-	+
Indole	-	NT	NT
Pyruvate	-	-	-
OF - medium	-	NT	NT
MR test	-	-	NT
Hippurate	-	NT	-
Esculin	+	+	NT
Pyrrolidonyl 2 naphthylamide	+	NT	NT
α-D-galactopyranoside	-	NT	NT
β-D-glucuronate	-	NT	NT
β-D-galactopyranoside	-	NT	NT
2-naphthyl phosphate	-	NT	NT
L-leucine-2-naphthylamide	-	NT	NT
Arginine	+	+	+
Glycogen	-	NT	NT
Acid from:			
Glucose	+	+	+
Sucrose	-	+	+
Saccharose	-	NT	NT
Lactose	-	-	-
Mannitol	+	+	+
Maltose	+		
Dextrose	-	NT	NT
Sorbitol	-	NT	-
Ribose	+	NT	NT
L-Arabinose	-	-	-
Trehalose	+	-	-
Inulin	-	NT	-
Raffinose	-	NT	-
Xylose	-	-	-
Hydrolysis:			
Starch	+	+	+
Gelatin	-	NT	-

+ = positive - = negative NT = not test

Table 2. Susceptibility of *Streptococcus* sp. to antimicrobial agents.

antibiotics	clear zone (mm.)	result
Chloramphenicol (30 µg)	33	S
Norfloxacin (10 µg)	29	S
Oxolinic acid (2 µg)	0	R
Oxytetracyclin (30 µg)	30	S
Sarafloxacin (5 µg)	28	S
Sulfamethoxazol trimethroprim (25 µg)	35	S
Nalidiic acid (30 µg)	0	R
Penicillin (10 µg)	32	S
Trimethroprim (5 µg)	30	S
Nitrofurantoin (300 µg)	32	S
Erythromycin (15 µg)	30	S
Ampicillin (10 µg)	40	S

R = resistance S = susceptible

สูงกว่าชุดควบคุม แต่หลังจากนั้นจะลดลงต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 3) โดยมีค่าต่ำสุดในวันที่ 10 หลังจากได้รับเชื้อ หลังจากนั้นค่าจะเริ่มเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มกลับเข้าสู่สภาวะของปลาปกติ (Figure 1) ค่าฮีโมโกลบินมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 4) ซึ่งค่าจะลดต่ำลงตามระยะเวลาของการได้รับเชื้อ เมื่อเปรียบกับชุดควบคุม (Figure 2) ส่วนค่าพลาสมาโปรตีนมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 5) ซึ่งค่าจะลดลงต่ำมากในวันที่ 5 และ 7 หลังจากได้รับเชื้อ แต่หลังจากนั้นค่าจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และกลับเข้าสู่สภาวะของปลาปกติ (Figure 3) สำหรับจำนวนเม็ดเลือดแดงลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรกและลดลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาของการได้รับเชื้อ โดยมีจำนวนเม็ดเลือดต่ำในช่วงวันที่ 7-14 วัน หลังจากได้รับเชื้อ โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 6) (Figure 4) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันแรกของการได้รับเชื้อและลดลงเล็กน้อยในวันที่ 3 แต่หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

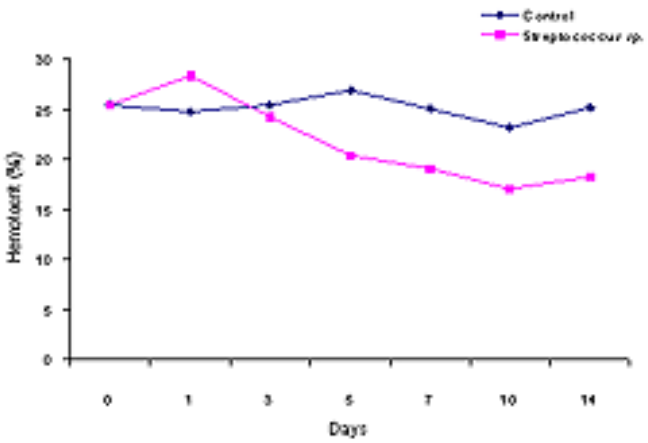

Figure 1. Hematocrit in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

Table 3. Hematocrit in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

Treatment	Post *Streptococcus* sp. (days)						
	0	1	3	5	7	10	14
Control	25.52±0.58^{NS}	24.84±2.63^{a}	25.41±2.17^{b}	27.00±0.81^{b}	25.04±1.39^{b}	23.19±2.19^{b}	25.23±0.42^{b}
Streptococcus sp.	25.52±0.58^{NS}	28.35±4.32^{b}	24.23±0.37^{a}	20.40±0.48^{a}	19.06±1.04^{a}	17.11±0.49^{a}	18.33±1.89^{a}

Mean values in the same row with same superscript are not statistically different at p<0.05.

Table 4. Hemoglobin in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

Treatment	Post *Streptococcus* sp. (days)						
	0	1	3	5	7	10	14
Control	6.23±1.06^{NS}	8.18±0.69^{b}	8.38±0.70^{b}	6.99±0.21^{b}	7.44±0.41^{b}	7.73±0.78^{b}	6.77±0.13^{b}
Streptococcus sp.	6.23±1.06^{NS}	6.92±0.15^{a}	5.85±0.21^{a}	4.71±0.71^{a}	4.15±1.12^{a}	4.03±0.67^{a}	4.08±0.28^{a}

Mean values in the same row with same superscript are not statistically different at p<0.05.

Table 5. Plasma protein in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

Treatment	Post *Streptococcus* sp. (days)						
	0	1	3	5	7	10	14
Control	4.76±0.23^{NS}	5.09±0.32^{b}	5.55±0.38^{b}	4.53±0.42^{b}	6.20±0.65^{b}	4.96±0.30^{a}	4.84±0.25^{NS}
Streptococcus sp.	4.76±0.23^{NS}	4.42±0.06^{a}	4.95±0.16^{a}	3.31±0.31^{a}	3.30±0.76^{a}	5.26±0.74^{b}	4.89±0.55^{NS}

Mean values in the same row with same superscript are not statistically different at p<0.05.

(p<0.05) (Table 7) และมีจำนวนที่ใกล้เคียงกับชุดควบคุมในวันที่ 14 (Figure 5)

4. ลักษณะทางพยาธิสภาพของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp.

จากการศึกษาพยาธิสภาพของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. พบว่าเนื้อเยื่อปลาที่ติดเชื้อเกิดช่องว่างอยู่ภายในเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการเสื่อมสลายของเซลล์ตับ (Figure 6) รวมทั้งการเกิดกรานูโลมา (granuloma) ซึ่งภายในมีแมคโครฟาจจำนวนมากแทรกอยู่ มีเมลาโนแมคโครฟาจจำนวนมากแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อไตส่วนหลัง (Figure 7) และเนื้อเยื่อม้าม (Figure 8) นอกจากนี้ยังพบการหดตัวของโกลเมอรูลัสในเนื้อเยื่อไตส่วนหลัง (Figure 9) ในเนื้อเยื่อหัวใจ พบว่าเกิดการอักเสบและเกิดกรานูโลมาของกล้ามเนื้อหัวใจ (Figure 10) ในส่วนของเนื้อเยื่อเหงือก พบว่าเกิดการเชื่อมต่อกันของซี่เหงือก (Figure 11) นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อตาเกิดการเสื่อมสภาพของเลนส์ตาโดยจะพบช่องว่างและแคปซูลซึ่งมีเชื้อ *Streptococcus* sp. อยู่ภายใน (Figure 12)

วิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากปลากะพงขาวที่ป่วยในจังหวัดสงขลา พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ได้เป็นเชื้อ *Streptococcus* sp. ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมี คือ เซลล์มีรูปร่างกลม ติดสีแกรมบวก ต่อกันเป็นสายสั้นๆ ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับรายงานของเยาวนิตย์ และคณะ (2543) ที่แยกเชื้อจากปลากะพงขาวที่ป่วยใน อ.ยะหริ่ง จ.ปัตตานี และ ต.นาทับ อ.จะนะ จ.สงขลา เมื่อทำการทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือด พบว่าไม่เกิด

Table 6. Red blood cell in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

	Post *Streptococcus* sp. (days)						
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**10**	**14**
Control (x 10^6 cell/mm^3)	5.95±0.42^{NS}	4.81±0.26^a	5.24±0.75^b	5.11±0.61^b	6.19±1.01^b	4.66±0.55^b	5.89±0.55^b
Streptococcus sp. (x 10^6 cell/mm^3)	5.95±0.42^{NS}	5.08±0.22^b	3.72±0.43^a	4.27±0.43^a	3.41±0.19^a	3.33±0.12^a	3.37±0.48^a

Mean values in the same row with same superscript are not statistically different at p<0.05.

Table 7. White blood cell in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

	Post *Streptococcus* sp. (days)						
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**10**	**14**
Control (x 10^4 cell/mm^3)	3.77±0.66^{NS}	4.61±0.62^a	4.55±1.61^a	4.13±0.34^{ab}	4.53±0.83^a	5.50±1.33^a	5.12±0.63^{NS}
Streptococcus sp. (x 10^4 cell/mm^3)	3.77±0.66^{NS}	8.13±1.21^b	5.93±0.83^b	6.63±0.29^b	7.48±0.44^b	7.21±1.07^b	5.64±1.49^{NS}

Mean values in the same row with same superscript are not statistically different at p<0.05.

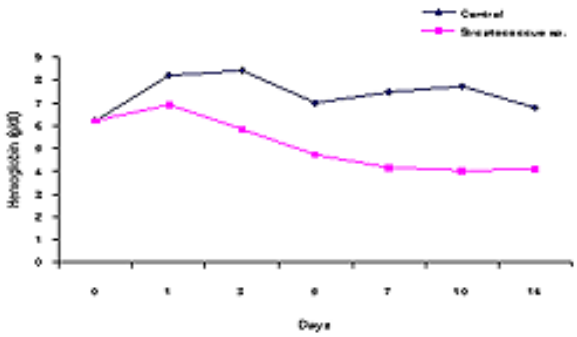

Figure 2. Hemoglobin in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

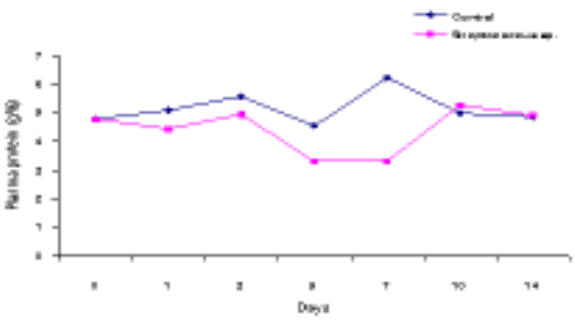

Figure 3. Plasma protein in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

วงใส (clear zone) ทำให้แยกชนิดของเชื้อ *Streptococcus* sp. จัดอยู่ในกลุ่ม non-haemolytic ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสถาพร และเยาวนิตย์ (2530) ที่ได้วิเคราะห์ชนิดของเชื้อ *Streptococcus* sp. เป็น non-haemolytic โดยผู้วิจัยให้เหตุผลว่าน่าจะเป็นผลมาจากการใช้เลือดคนแทนเลือดแกะ แล้วไม่พบวงใสจึงทำให้แยกชนิดของเชื้อ *Streptococcus* sp. เป็น non-haemolytic ส่วนในการศึกษาครั้งนี้ เมื่อใช้เลือดคนและเลือดแกะ ก็ไม่เกิดวงใสเช่นกัน จึงทำให้แยกได้เป็น non-haemolytic ซึ่งแตกต่างจากรายงานของเยาวนิตย์ และคณะ (2543) ที่แยกเชื้อ *Streptococcus* sp. เป็น β-haemolytic

จากผลการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค พบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากสมองจะมีความรุนแรงสูงกว่าเชื้อที่แยกได้จากอวัยวะอื่น เนื่องจากเชื้อที่แยกได้จากสมองจะมีความบริสุทธิ์มากกว่าอวัยวะอื่น เช่นเดียวกับรายงานของ Kitao (1982) การติดเชื้อในสมองมี

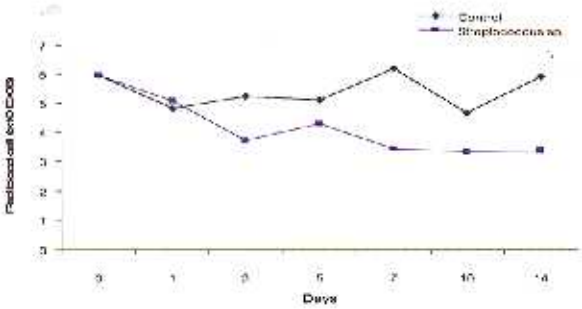

Figure 4. Red blood cell in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

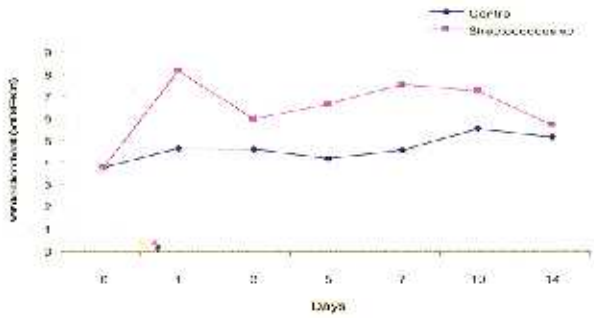

Figure 5. White blood cell in seabass to *Streptococcus* sp. infection.

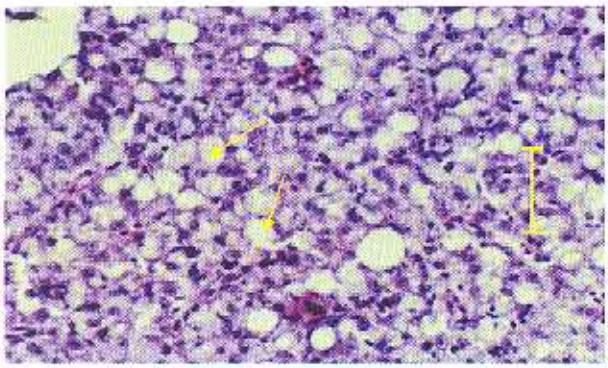

Figure 6. Liver of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing vacuolization of hepatocytes (arrows) (H&E, Bar = 50 μm).

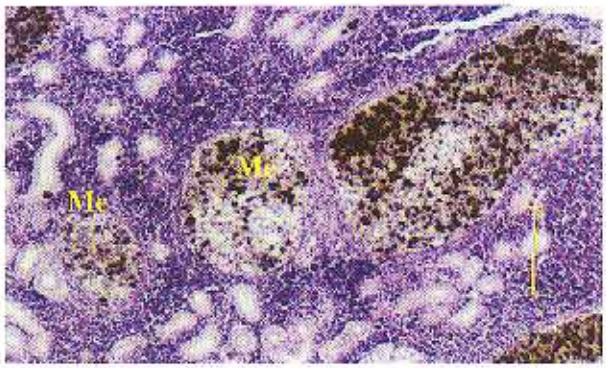

Figure 7. Trunk kidney of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing melanomacrophage (Me) (H&E, Bar = 100 μm).

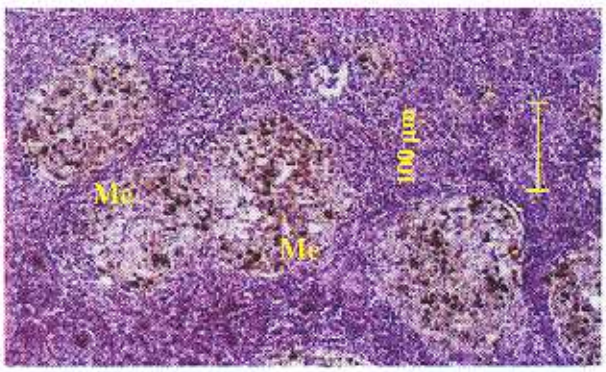

Figure 8. Spleen of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing melanomacrophage (Me) (H&E, Bar = 100 μm).

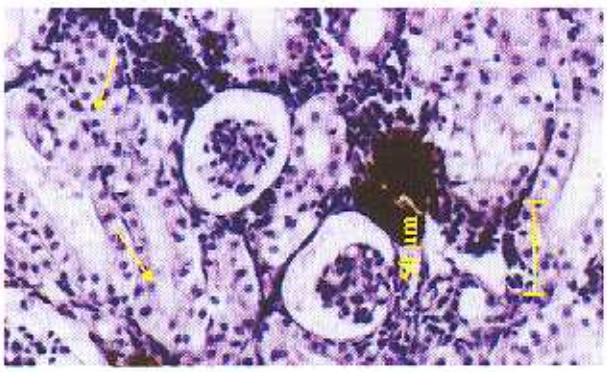

Figure 9. Kidney of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing shrinkage to glomerulus (arrows) (H&E, Bar = 50 μm).

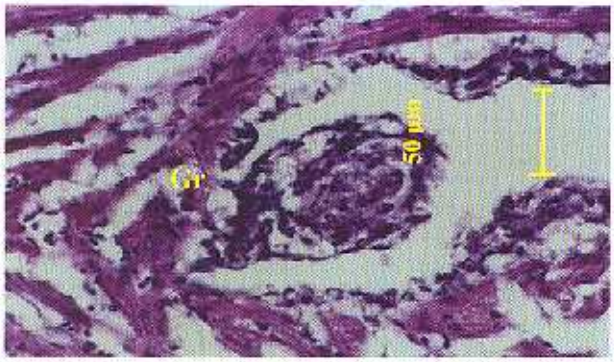

Figure 10. Heart of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing inflammation and granuloma (Gr) (H&E, Bar = 50 µm).

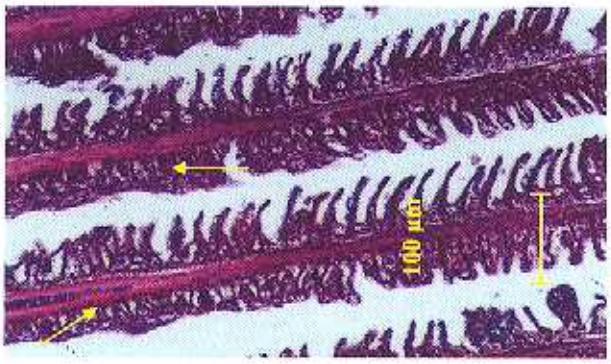

Figure 11. Gill of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing hyperplasia and hypertrophy (arrows) (H&E, Bar = 100 µm).

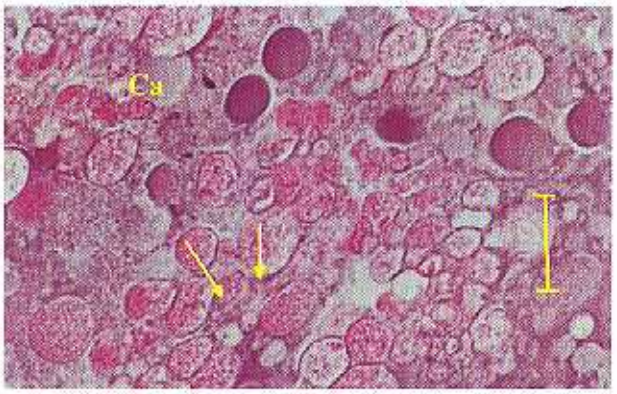

Figure 12. Eye of seabass infected with *Streptococcus* sp. showing capsulation (Ca) and vacuolization to the lens (arrows) (H&E, Bar = 50 µm).

ความสำคัญต่อการผิดปกติของปลาและเป็นอาการเริ่มแรกของการเกิดโรค (Evans *et al.*, 2001) Evans และคณะ (2002) รายงานว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากสมอง จะทำให้ปลากระบอกและปลา seabream ตาย 90-100% ภายใน 7 วัน หลังจากได้รับเชื้อ และยังพบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกจากสมองจะทำให้ปลาตายสูงถึง 81% เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่แยกได้จากอวัยวะอื่น

จากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยใช้ API 20 STREP พบว่าไม่มีการสร้างเอนไซม์ hippurate hydrolase, catalase และ oxidase แต่สามารถสร้างเอนไซม์ amylase เพื่อย่อยแป้ง สำหรับการผลิตกรดจากน้ำตาล พบว่าสามารถผลิตกรดจากน้ำตาล glucose, mannitol, maltose, ribose และ trehalose ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bromage และคณะ (1999) พบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากปลากะพงขาวที่เลี้ยงในประเทศออสเตรเลีย สามารถผลิตกรดจากน้ำตาล glucose, sucrose, mannitol, ribose และ trehalose เช่นเดียวกับรายงานของเยาวนิตย์ และคณะ (2543)

จากการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะในครั้งนี้ พบว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกได้จากปลากะพงขาวมีความไวต่อยาคลอแรมเฟนนิคัล นอร์ฟล็อก-

ซาซิน ออกซี่เตตร้าซัยคลิน ซัลฟาเมธท๊อกซาโซล+ไตรเมธโธพริม ซาราฟล๊อกซาซิน เพนนิซิลิน ไตรเมธโธพริม ไนโตรฟูแรนโทอิน เออริโทรมัยซินและแอมพิซิลลิน แต่ดื้อต่อยาออกโซลินิค แอซิด และนาลิดิอิค แอซิด สำหรับยาคลอแรมเฟ็นนิคัลและไนโตรฟูแรนโทอินนั้น เป็นยาที่ห้ามมิให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อบริโภค แต่สำหรับในสัตว์น้ำที่ไม่ได้นำมาบริโภค เช่น ปลาสวยงามหรือพ่อแม่พันธุ์น่าจะสามารถนำยาคลอแรมเฟ็นนิคัลและไนโตรฟูแรนโทอินมาใช้ในการควบคุมโรคในโรงเพาะฟักได้ ซึ่งในการทดสอบความไวและการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อที่แยกได้ในครั้งนี้คล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่มีรายงานจากปลาสลิดหินในประเทศสิงคโปร์ (Foo *et al*., 1985) ปลานิลลูกผสมในเท็กซัส (Perera *et al*., 1994) และปลา turbot ในสเปน (Doménech *et al*., 1996) จากการใช้ยาต้านจุลชีพในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* sp. สามารถที่จะควบคุมอย่างได้ผลดังรายงานต่างๆ เช่น Kusuda และ Takemaru (1987) ใช้ยา josamycin ในการรักษาปลาหางเหลืองที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยผสมลงในอาหารให้ปลากินในอัตรา 20 มก./ปลา 1 กก. ติดต่อกัน 5 วัน และใช้ในอัตรา 30 มก./ปลา 1 กก. ติดต่อกัน 3 วัน พบว่าสามารถรักษาการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลาได้ ซึ่งทำให้ปลามีการรอดตายถึง 100% ส่วน Aoki และคณะ (1989) ใช้ lincomycin และ tetracyclin ในปลาหางเหลืองที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. นอกจากนี้ Ghittino และ Prearo (1992) ใช้ erythromycin ผสมอาหารให้กินในอัตรา 50 มก./ปลา 1 กก. ติดต่อกัน 7 วัน ในปลา rainbow trout ที่ติดเชื้อ *S. faecalis* หรือ *S. faecium* จากการหาค่า LD_{50} พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.937x 10^3 CFU/ml หรือค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรเท่ากับ 0.008 ซึ่งปลากะพงขาวจะยอมรับการติดเชื้อได้ง่ายและรวดเร็ว โดยปริมาณเชื้อที่ทำให้ปลาตายจะขึ้นอยู่กับขนาดของปลา ถ้าปลาขนาดเล็กการยอมรับการติดเชื้อจะง่ายขึ้นถึงแม้ว่าปริมาณเชื้อจะต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา การยอมรับการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลากะพงขาว ปลานิล และปลา gulf killifish (Rasheed and Plumb, 1984; Bromage *et al*., 1999; Evans *et al*., 2002) ส่วนอาการของโรคที่ปรากฏให้เห็นในการทดลองครั้งนี้ พบว่าปลาที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. มีอาการว่ายน้ำควงสว่าน เสียการทรงตัว เคลื่อนที่ช้า ลำตัวจะมีสีคล้ำ ตาโปนข้างเดียวหรือ 2 ข้าง ตาขุ่น มีของเหลวในช่องท้อง เช่นเดียวกับรายงานการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลากะพงขาวที่เลี้ยงในจังหวัดปัตตานีและสงขลา (เยาวนิตย์ และคณะ, 2543) ร่วมทั้งปลาบู่ทราย (จิราพร และคณะ, 2529) และปลานิล (กมลพร, 2539) นอกจากนี้ยังพบอาการอื่นๆ อีก เช่น การตกเลือดบริเวณตา กระพุ้งแก้ม โคนครีบ บริเวณปาก บริเวณลำตัว รวมทั้งการเกิดบาดแผลบริเวณลำตัว (Plumb,1994) โดยส่วนใหญ่แล้วการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. จะมีผลต่อตา ซึ่งสามารถพบได้บ่อย โดยจะเกิดบาดแผลบริเวณตา การบวมน้ำ มีการตายของเนื้อเยื่อบริเวณ optic nerve รวมทั้งเลนส์ตา (Inglis *et al*., 1993) สำหรับอาการภายในนั้นพบว่าตับมีสีซีด ไตและม้ามบวม สมองเป็นสีชมพู เช่นเดียวกับรายงานในปลานิล (กมลพร, 2539) ปลาหางเหลือง (Sano and Fukuda, 1987) และปลา rabbitfish (Yuasa *et al*., 1999)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดปลากะพงขาวที่ได้รับเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่เวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 14 วัน พบว่าค่าฮีมาโตคริตลดลงต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการทดลองของ Foo และคณะ (1985) โดยมีค่าต่ำสุดในวันที่ 10 หลังจากได้รับเชื้อ แสดงว่าปลาอยู่ในสภาวะเลือดจาง (anemia) หลังจากนั้นค่าฮีมาโตคริตจะเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มที่จะกลับเข้าสู่สภาวะของปลาปกติ ค่าฮีโมโกลบินมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งค่าจะลดลงตามระยะเวลาของการได้รับเชื้อ โดยค่าฮีโมโกลบินมีความสัมพันธ์กับค่าฮีมาโตคริต เมื่อค่าฮีมาโตคริตลดลง ย่อมจะส่งผลให้ค่าฮีโมโกลบินลดลงตามไปด้วย (Cardwell and Smith, 1971; Hammerschlag and Bejarano, 1991) นอกจากนี้ Foda (1973) รายงานว่าปลา atlantic salmon ที่เป็นโรคฟูรันคูโลซีส ค่าฮีมาโตคริตและค่าฮีโมโกลบินลดลงต่ำกว่าปลาปกติอย่างเห็นได้ชัด และตามรายงานของ Takahashi (1984) ปลาที่เกิดโรคจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จะมีค่าฮีมาโตคริตและค่าฮีโมโกลบินลดลงตามระยะเวลาของการติดเชื้อ ซึ่งแสดงว่าเมื่อปล่อยปลาให้เป็นโรคมากขึ้น ค่าฮีมาโตคริตและค่าฮีโมโกลบินจะยิ่งลดลง (Cruz and Muroga, 1989; Kakuta and Namba, 1990) ในส่วน

ของค่าพลาสมาโปรตีนมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม ซึ่งค่าลดลงต่ำมากในวันที่ 5 และ 7 หลังจากได้รับเชื้อ แต่หลังจากนั้นค่าจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและกลับเข้าสู่สภาวะของปลาปกติ เช่นเดียวกับรายงานของ Taylor (1977) สำหรับปริมาณเม็ดเลือดแดงจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรกและลดลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาของการได้รับเชื้อ โดยปริมาณเม็ดเลือดแดงต่ำสุดในช่วงวันที่ 7-14 หลังจากได้รับเชื้อ และปริมาณเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับรายงานของส่งศรี และชัยชาญ (2525) และ Pearson และคณะ (1994) นอกจากนี้ปริมาณเม็ดเลือดขาวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันแรกของการได้รับเชื้อ เช่นเดียวกับรายงานของ Lehmann และคณะ (1987) และลดลงต่ำสุดในวันที่ 3 แต่หลังจากนั้นปริมาณเม็ดเลือดขาวจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและมีปริมาณที่ใกล้เคียงกับชุดควบคุมในวันที่ 14 โดยที่ปริมาณเม็ดเลือดขาวจะเป็นตัวบ่งชี้สภาวะความเครียดในตัวปลา (Mcleay and Gordon, 1977) โดยส่วนใหญ่แล้วปลาที่เกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรียจะมีค่าองค์ประกอบเลือด (ค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน และพลาสมาโปรตีน) ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างชัดเจน (Harbell *et al*., 1979; Qoentel and Aldrin, 1986; Lehmann *et al*., 1987) นอกจากนี้ค่าองค์ประกอบเลือดเหล่านี้ มีการเปลี่ยนแปลงได้ในกรณีอื่นๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลหรือสภาพของตัวปลา (Banks *et al*., 1971) สารพิษ (สิทธิ และคณะ, 2530) หรือการขาดสารอาหารบางตัว เช่น การขาดวิตามินซี (Agrawal and Mahajan, 1980) และวิตามินอี (Moccia *et al*., 1984)

จากการศึกษาทางด้านพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. พบว่าเนื้อเยื่อตับเกิดช่องว่างอยู่ภายในเซลล์จนดันนิวเคลียสไปชิดขอบเซลล์เป็นจำนวนมากทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ และเกิดการเสื่อมสลายของเซลล์ตับ อาจจะเนื่องจากการที่เซลล์บวมและมีไซโตพลาสซึมมากผิดปกติ รวมทั้งการเกิดกรานูโลมาและมีแมคโครฟาจแทรกอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Rasheed และคณะ (1985) ที่พบว่าเนื้อเยื่อตับปลา bullminnows (*Fundulus grandis*) ที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. มีลักษณะของเซลล์เสื่อมสภาพเกิดช่องว่างและการเกิดกรานูโลมา ส่วนความผิดปกติของเนื้อเยื่ออื่นในการศึกษาครั้งนี้ พบเมลาโนแมคโครฟาจแทรกอยู่เป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อไตส่วนหลังและม้าม โดยเห็นเป็นกลุ่มเซลล์สีน้ำตาลอ่อน เมื่อย้อมด้วยสี H&E (สุปราณี และคณะ, 2536) แต่จะมีสีเข้มในปลาที่อายุมากหรือปลาที่เป็นโรค (Ferguson,1989) เมลาโนแมคโครฟาจจะมีลักษณะทรงกลมหรือรี ซึ่งจำนวนและขนาดของเมลาโนแมคโครฟาจจะขึ้นอยู่กับอายุปลา ความเครียด และโรค โดยพบว่าปลาที่มีอายุมากจะมีจำนวนและขนาดของเมลาโนแมคโครฟาจเพิ่มขึ้น (Ferguson,1989) จากการศึกษาครั้งนี้พบเมลาโนแมคโครฟาจมีจำนวนมากผิดปกติ เนื่องจากการตอบสนองต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ว่าตับปลา pisces (*Cichlasoma dimerus*) ที่เป็นโรคจะมีจำนวนเมลาโนแมคโครฟาจเพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่กว่าปลาที่ไม่เป็นโรค นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อไตส่วนหลัง พบว่ามีการหดตัวของโกลเมอรูลัส เช่นเดียวกับการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลานิลและปลากดอเมริกัน (Chang and Plumb, 1996) ส่วนเนื้อเยื่อหัวใจพบว่าเกิดการอักเสบ และเกิดกรานูโลมาในกล้ามเนื้อหัวใจ สำหรับความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกนั้น พบว่าเกิดการเชื่อมต่อกันของซี่เหงือก เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์มากผิดปกติและการขยายตัวของเส้นเลือดบริเวณซี่เหงือก และยังพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตาเกิดการเสื่อมสภาพของเลนส์ตาโดยจะพบช่องว่างและแคปซูลซึ่งมีเชื้อ *Streptococcus* sp. อยู่ภายใน จากลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในการทดลองครั้งนี้มีความคล้ายคลึงกับการติดเชื้อ *Lactococcus garvieae* ในปลา rainbow trout (Eldar and Ghittino, 1999) และเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ในปลานิล (Miyazaki *et al*., 1984a) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Miyazaki *et al*. (1984b) พบว่าปลานิลที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. มีการอักเสบและการตายของเนื้อเยื่อบริเวณตา ซึ่งจะมีแมคโครฟาจแทรกอยู่ในบริเวณที่อักเสบ รวมทั้งการเกิดแคปซูล โดยมีเชื้อ *Streptococcus* sp. อยู่ภายใน เกิดการอักเสบและเกิดกรานูโลมาในกล้ามเนื้อหัวใจ เกิดการการตายเสื่อมสภาพของเซลล์ตับและการเกิดช่องว่างในเนื้อเยื่อม้ามมีแมคโครฟาจและฮีโมซิดารินเพิ่มขึ้น เนื้อเยื่อไตเกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัส และเกิดไฮยาลินดร๊อปเพลท รวมทั้งเกิดการตายของเซลล์สมอง

โรคติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัสในปลากะพงขาว นับว่ามีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในประเทศไทย เนื่องจากก่อให้เกิดความสูญเสียและทำให้ผลผลิตลดลง แนวทางการพัฒนาเกี่ยวกับการใช้วัคซีนในการป้องกันจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ (เลขที่สัญญาเงินทุน กปจ. 2/JSPS 13/2546)

เอกสารอ้างอิง

กมลพร ทองอุไทย. 2539. โรคปลานิล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 176. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กิจการ ศุภมาตย์. 2538. คู่มือปฏิบัติการโรคและพยาธิปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จิราพร เกษรจันทร์, สิทธิ บุณยรัตผลิน และกิจการ ศุภมาตย์. 2529. *Streptococcus* sp. แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคในปลาบู่ทราย. ว. สงขลานครินทร์ (วทท) 8: 329-332.

เยาวนิตย์ ดนยดล, สถาพร ดิเรกบุษราคม และเพ็ญศรี เมืองเยาว์. 2543. คุณสมบัติของเชื้อและการเกิดโรคจากเชื้อ β-hemolytic *Streptococcus* sp. ในปลากะพงขาวที่เลี้ยงในจังหวัดปัตตานีและจังหวัดสงขลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2543. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ส่งศรี มหาสวัสดิ์ และชัยชาญ มหาสวัสดิ์. 2525. การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเลือด และส่วนประกอบไอออนของพลาสม่าในปลาดุกด้านที่เป็นโรคเชื้อแอร์โรโมนาสไฮโดรฟิลล่า. ว. เกษตรศาสตร์(วิทย) 20: 74-79.

สถาพร ดิเรกบุษราคม และเยาวนิตย์ ดนยดล. 2530. โรคระบาดที่เกิดจาก non-hemolytic *Streptococcus* sp. ในปลากะพงขาว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2530. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงน้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง กระทรวงเกษตร และสหกรณ์.

สิทธิ บุณยรัตผลิน, กิจการ ศุภมาตย์, วุฒิพร พรหมขุนทอง และ สมหมาย เชี่ยววารีสัจจะ. 2530. ผลของคาร์โบฟูรานต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือดบางประการและการสร้างแอนติบอดี้ในปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*). ว. สงขลานครินทร์ (วทท) 9: 69-77.

สุปราณี ชินบุตร, กัลยา จำเริญรัตนะ และชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2536. เนื้อเยื่อของปลาช่อน. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Agrawal, N.K. and Mahajan, C.L. 1980. Hematological changes due to vitamin C deficiency in *Channa punctatus* Bloch. J. Nutrition 110: 2172 - 2181.

Al-Harbi, A.H. 1994. First isolation of *Streptococcus* sp. from hybrid tilapia (*Oreochomis niloticus x O. aureus*) in Saudi Arabia. Aquacult. 128: 195-201.

Aoki, T., Takami, K. and Kitao, T. 1989. Spread of drug-resistant strains of *Streptococcus* sp. in yellow-tail farms. The Second Asian Fisheries Forum. Proceeding of the Second Asian Fisheries Forum. Tokyo, Japan 17-22 April 1989 pp. 697-699.

Austin, B. and Austin, D.A. 1987. Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish. Chichester, Ellis Horwood, UK.

Bank, J.L., Fowler, L.G. and Elliott. 1971. Effects of rearing temperature on growth, body form and hematology of fall chinook fingering. Prog. Fish Cult. 33: 20-26.

Bromage, E.S., Thomas, A. and Owens, L. 1999. *Streptococcus iniae*, a bacterial infection in barramundi *Lates calcarifer*. Dis. Aquat. Org. 36: 177-181.

Cardwell, R.D. and Smith, L.S. 1971. Hematological manifestation of vibriosis upon juvenile chinook salmon. Prog. Fish. Cult. 33: 232-235.

Chang, P.H. and Plumb, J.A.1996. Effects of salinity on *Streptococcus* infection of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus*. J. Appl. Aquat. 6: 39-46.

Cruz, M.C. and Muroga, K. 1989. The effects of *Vibrio anguillarum extracellular* products on Japanese eels. Aquacult. 80: 201-210.

Doménech, A., Fernandez-Garayzabal, J.F., Pascual, C., Garcia, J.A., Cutul, M.T., Moreno, M.A., Collins, M.D. and Dominguez, L. 1996. *Streptococcus* in cultured turbot, *Scophthalmus maximus*

(L.), associated with *Streptococcus parauberis*. J. Fish Dis. 19: 33-38.

Eldar, A. and Ghittino, C. 1999. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *On-corhynchus mykiss*: similar, but different diseases. Dis. Aquat. Org. 36: 227-231.

Evans, J.J., Klesius, P.H., Gilbert, P.M., Shoemaker, C.A., Al Sarawi, M.A., Landsberg, J., Duremdiz, R., Al Marzouk, A. and Al Zenki, S. 2002. Characterization of β-haemolytic Group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day) in Kuwait. J. Fish Dis. 25: 505-513.

Evans, J.J., Shoemaker, C.A. and Klesius, P.H. 2001. Distribution of *Streptococcus iniae* in hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) following nare inoculation. Aquacult. 194: 233-243.

Ferguson, H.W. 1989. Systemic Pathology of Fish. A text and Atlas of Comparative Tissue Responses in Diseases of Teleosts. Iowa State University Press/Ames.

Foda, A. 1973. Changes in hematocrit and hemoglobin in Atlantic salmon, *Salmo salar* as a result of furunculosis disease. J. Fish Res. Board Can. 30: 467-468.

Foo, J.T.W., Ho, B. and Lam, T.J. 1985. Mass mortality in *Siganus canaliculatus* due to Streptococcal infection. Aquacult. 49: 185-195.

Ghittino, P. and Prearo, M. 1992. Report of Streptococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy: Preliminary note. Boll. Soc. Ital. Patol. Ittica. 8: 4-9.

Hammerschlag, E. and Bejarano, I. 1991. Study of variables in the blood rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during the breeding period, for the prediction of disease promeness. Fish Fish. Isr. 24: 117-122.

Harbell, S.C., Hodgins, H.O. and Schiewe, M.H. 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in coho salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). J. Fish Dis. 2: 391-404.

Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Techniques. 4th ed. W.H. Freeman, San Francisco.

Inglis, V., Roberts, R.J. and Bromage, N.R. 1993. Bacterial Disease of Fish. Academic Press, New York.

Kakuta, I. and Namba, K. 1990. Isometric twitch tension of lateral muscle in carp, *Cyprinus carpio* L., with sekoke disease. J. Fish Dis. 13: 135-144.

Kitao, T. 1982. Methods for detection of *Streptococcus* sp., causative bacteria of streptococcal disease of cultured yellowtail (*Seriola quinquiradiata*). Fish Pathol. 17: 17-26.

Kitao, T., Aoki, T. and Sakoh, R. 1981. Epizootic caused by b-haemolytic *Streptococcus* species in cultured freshwater fish. Fish Pathol. 15: 301-307.

Kusuda, R. and Takemaru, I. 1987. Efficacy of josamycin against experimental Streptococcal infection in cultured yellowtail. Nippon Suisan Gokkaishi. Bull. Jap. Soc.Sci. Fish 53: 1519-1523.

Kusuda, R., Komatsu, I. and Kawai, K. 1978. *Streptococcus* sp. isolated form an epizootic of culture eels. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 44: 295-298.

Larsen, H.N. and Snieszko, S.F. 1961. Modification of the microhematocrit technique with trout blood. Trans Amer. Fish. Soc. 90: 139-142.

Lehmann, J., Stuerenberg, F.J. and Mock, D. 1987. The changes of the haemogram of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to an artificial and a natural infection with *Yersinia ruckeri*. Z. Angew Ichthyol J. Appl. Ichthyol. 3: 174-183.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 140: 879-885.

Mcleay, D.J. and Gordon, M.R. 1977. Leucocrit: a simple hematogical technique for measuring acute stress in salmonid fish, Including stressful concentrations of pulpmill effluents. J. Fish Res. Board Can. 34: 2164-2175.

Miyazaki, T., Kubota, S.S. and Miyashita, T. 1984a. A histopathological study of *Pseudomonas fluorescens* infection in tilapia. Fish Pathol. 19: 161-166.

Miyazaki, T., Kubota, S.S., Kaige, N. and Miyashita, T. 1984b. A histopathological study of Streptococcal disease in tilapia. Fish Pathol. 19: 167-172.

Moccia, R.D., Hung, S.S.O., Slinger, S.J. and Ferguson, H.W. 1984. Effect of oxidized fish oil, vitamin E and ethoxyquin on the histopathology and haematology of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis. 7: 269-282.

Pearson, M.D., Chinabut, S., Karnchanakharn, S. and Somsiri, T. 1994. Jaundice disease in the farmed catfish hybrid, *Clarias macrocephalus* (Gunther) x C. *gariepinus* (Buechell), in Thailand. J. Fish Dis. 17: 325-336.

Perera, R.P., Johnson, S.K., Collins, M.D. and Lewis, D.H., 1994. *Streptococcus iniae* associated with mortality of *Tilapia nilotica* x T. *aurea* hybrids. J. Aquat. Anim. Health 6: 335-340.

Plumb, J.A. 1994. Health maintenance of cultured fish: Principal Microbial Disease. CRC Press, Inc. U.S.A.

Qoentel, C. and Aldrin, J.F. 1986. Blood changes in catherized rainbow trout (*Salmo gairdneri*) intraperitoneally inoculated with *Yersinia ruckeri*. Aquacult. 53: 169-185.

Rasheed, V., and Plumb, J.A. 1984. Pathogenecity of a non-haemolytic group B *Streptococcus* sp. in gulf killifish (*Fundulus grandis*, Baird and Girard). Aquaculture 37: 97-105.

Reed, L.J. and Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty percent end points. Am. J. Hyg. 27: 493-497.

Sano, T. and Fukuda, H. 1987. Principal microbial diseases of mariculture in Japan. Aquacult. 67: 59 -69.

Takahashi, T. 1984. Appearance mechanisms of haematological symptoms of the Aeromonas disease in carp. The Journal of Shimonoseki University of Fisheries 32: 67-74.

Taylor, P.W. 1977. Serum protein and hemoglobin characteristics of various catfishes (*Ictarulus* sp.) under normal and disease conditions. Ph.D. Thesis, Auburn University, Alabama.

Yuasa, K., Kitancharoen, N., Kataoka, Y. and Al-Murbaty, F.A. 1999. *Streptococcus iniae* the causative agent of mass mortality in rabbitfish, *Siganus canaliculatus* in Bahrain. J. Aquat. Anim. Health 11: 87-93.