

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประเภทความร่วมมือกับต่างประเทศ ไทย-ญี่ปุ่น ประจำปีงบประมาณ 2547-2548

บทคัดย่อ

168068

ปลากระพงขาวป่วยมีอาการลำตัวสีคล้ำ เสียการทรงตัว ตาขุ่นและโปน มีของเหลวในช่องท้อง ตับซีด ม้ามบวมและตกเลือดในสมอง สามารถแยกเชื้อแกรมบวก รูปกลม คาตาเลสเป็นลบ จากการทดสอบทางชีวเคมีพบว่าสามารถจำแนกอยู่ในกลุ่ม *Streptococcus* sp. เชื้อเจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง 9 และความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน ความรุนแรงของเชื้อต่อปลากระพงขาวเท่ากับ 1.937×10^3 CFU (LD₅₀ ที่ 14 วัน) หลังการติดเชื้อจะพบเชื้อในอวัยวะภายในเป็นจำนวนมากและจะลดลงเมื่อระยะเวลาการติดเชื้อนานขึ้น องค์ประกอบของเลือดปลาหลังจากได้รับเชื้อ ได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบิน ค่าพลาสมาโปรตีน ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม แต่ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลากระพงขาวที่ได้รับเชื้อ โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง พบว่าเกิดการเสื่อมสภาพ มีช่องว่างและกรานูลในเนื้อเยื่อตับ มีเมลาโนแมคโครฟาจ เกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัส และไฮยาลินครีโอลิซิสในเนื้อเยื่อไต เกิดการเสื่อมสภาพในส่วนของไวท์พัลและเกิดเมลาโนแมคโครฟาจในเนื้อเยื่อม้าม เกิดการอักเสบและกรานูลในเนื้อเยื่อหัวใจ เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์สมอง มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ผิดปกติและการขยายตัวของเส้นเลือดบริเวณซีเหงือก เกิดช่องว่างและแคปซูลในเนื้อเยื่อตา

เตรียมวัคซีนเชื้อตายของเชื้อ *Streptococcus* sp. และนำมาทดสอบในปลากระพงขาวขนาด 3.0 - 4.0 นิ้ว โดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง แซ่ และกิน พบว่าความปลอดภัยของการให้วัคซีนทั้ง 3 แบบ มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ การตอบสนองของปลากระพงขาวต่อปริมาณเซลล์ของวัคซีน พบว่าปลาตอบสนองดีที่สุดที่ปริมาณเซลล์ของวัคซีนเท่ากับ 2.50×10^{10} CFU/ml การให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดวัคซีนที่ผสม CFA (Complete Freund's Adjuvant) มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยพบว่าค่าความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การรอดตาย (RPS) ของการให้วัคซีนเพียงอย่างเดียวและการฉีดวัคซีนที่ผสม 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 ของการแช่วัคซีนโดยตรง (direct immersion) และการแช่แบบ 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

168068

ตามลำดับ การให้วัคซีนด้วยวิธีการเข้าร่วมกับการกินอาหารที่ผสมวัคซีน มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกัน โดยพบว่าค่า RPS ของการกินอาหารที่ผสมวัคซีนและการเข้าร่วมกับการกินอาหารที่ผสมวัคซีน มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (วันที่ 10 และ 20) ส่วนในวันที่ 30 จะมีค่าเท่ากับ 52.39 และ 61.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้วัคซีนด้วยวิธีการเข้าร่วมกับการกินอาหารที่ผสมวัคซีนจะมี ประสิทธิภาพในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของปลาได้ดีที่สุด รองลงมาคือการให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดวัคซีน ที่ผสม CFA

Abstract

168068

Diseased seabass (*Lates calcarifer* Bloch) exhibited body darkening, loss of equilibrium, exophthalmia and cloudy of cornea, ascites, pale liver, splenomegaly and hemorrhage in the brain. Gram positive cocci and catalase negative bacteria was isolate from the diseased seabass. They grow well in media with pH range 7-9 as well as with 0-30% salt (NaCl). Base on physio-chemical and biochemical characteristic, bacteria were identified as *Streptococcus* sp.

The virulence of these bacteria to juvenile seabass was 1.937×10^3 CFU (14 day-LD₅₀). The results from experimental infection found high number of bacteria in various tissue in the initial stages of infection and decline in the later stages. Diseased fish exhibited reduction of hematocrit, hemoglobin, plasma protein as well as red blood cell count. In contrast with white blood cell count was found higher in diseased fish than healthy fish.

Histopathological changes of diseased seabass included large number of melano-macrophage infiltrated into liver, spleen and kidney. Necrosis and degeneration were found in various tissue including liver, kidney and brain. Inflammation and granuloma were found in heart and brain tissue. Cell hyperplasia and fusion of lamella were found in gill. Eye was severely effect by bacteria, eye chamber filled with bacteria and inflammative cell as well as vacuolation of retina.

Formalin-killed vaccine was prepared and tested in juvenile seabass (3-4 inch in length) by mean of peritoneal injection, immersion and oral administration. All 3 routes of administration were saved to fishes. Fish produced the best respond to 2.5×10^{10} CFU/ml vaccine. Injection vaccine plus Complete Freund's Adjuvant (CFA) gave a good protection against *Streptococcus* challenge. Hyperosmotic immersion vaccine produced a better result than direct immersion with RPS 30.77 and 71.80%, 9.75 and 70.73, 7.14 and 16.67 in 10, 20 and 30 days, respectively. Combination of immersion vaccine with oral route gave a better protection than single route.