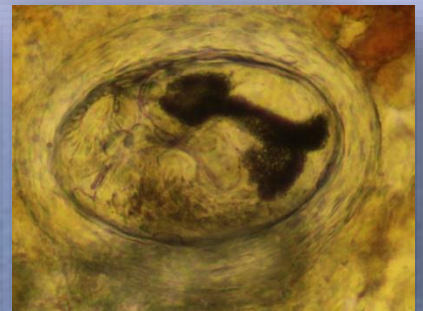
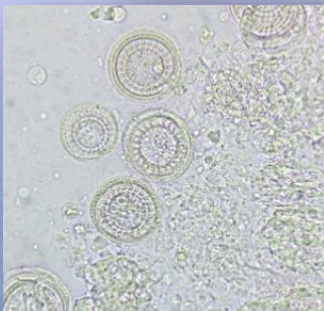
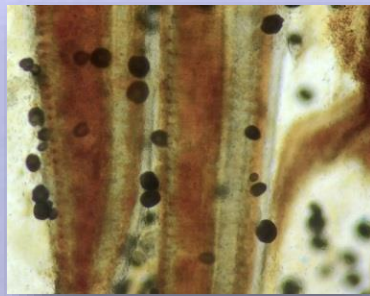




คู่มือการตรวจโรคปรสิตในสัตว์น้ำชายฝั่ง

Diagnostic Manual for Parasites in Coastal Aquatic Animal Species



เจนจิตต์ คงกำเนิด

กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง

2562

คู่มือการตรวจโรคปรสิตในสัตว์น้ำชายฝั่ง

Diagnostic Manual for Parasites in Coastal Aquatic Animal Species

จัดทำโดย

เจนจิตต์ คงกำเนิด

กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง

คำนำ

คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคปรสิตในสัตว์น้ำชายฝั่ง ที่จัดทำขึ้นนี้ มีความมุ่งหมายเพื่อใช้เป็นแนวทางปฏิบัติในการตรวจวินิจฉัยโรคปรสิตในสัตว์น้ำชายฝั่งที่ป่วยหรือตรวจสุขภาพทางห้องปฏิบัติการเพื่อสอบสวนโรค สำหรับห้องปฏิบัติการของกรมประมงที่ให้บริการตรวจโรคสัตว์น้ำชายฝั่งและการเฝ้าระวังโรคในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อให้สามารถปฏิบัติการได้อย่างถูกต้องและเป็นแนวทางเดียวกัน

ขอขอบคุณ คุณพรพิมล ทิวแพ คุณอรอนงค์ คงทวี และคุณจำเริญศรี นักวิชาการประมง ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา เป็นอย่างมากที่ได้ช่วยรวบรวมข้อมูลและจัดทำรูปเล่มคู่มือจนสำเร็จลุล่วง

ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่า คู่มือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่นักวิชาการ ผู้ปฏิบัติงาน และผู้ที่สนใจนำไปใช้ในการทำงานของตน

นางสาวเจนจิตต์ คงกำเนิด
ผู้อำนวยการกองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ
18 เมษายน 2562

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	๗
สารบัญภาพ	ง
บทนำ	1
การตรวจวินิจฉัยโรคสัตว์น้ำ (Disease diagnosis)	2
การเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำเพื่อตรวจวินิจฉัยโรค	2
วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำชายฝั่ง	4
การเตรียมตัวอย่างสัตว์น้ำสำหรับการตรวจวินิจฉัยปรสิต	9
1. เครื่องมือ อุปกรณ์ วัสดุ	9
2. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง	10
2.1 กุ้งทะเล	10
2.2 ปลาทะเล	15
2.3 สัตว์น้ำชายฝั่งอื่น ๆ	17
ปรสิตภายนอกที่พบในสัตว์น้ำชายฝั่ง	19
1. ไฟลัมโปรโตซัว (Phylum Protozoa)	20
1.1 ซูโอแทมเนียม (<i>Zoothamnium</i> sp.)	20
1.2 โรคสนิมเหล็ก	21
1.3 โรคจุดขาว (white spot disease)	22
1.4 เห็บกระซัง	24
1.5 <i>Epistylis</i> sp.	24
1.6 <i>Scyphidia</i> sp.	25
1.7 มิกโซสปอร์	26
2. Phylum Platyhelminthes	27
2.1 Family Gyrodactylidae	28
2.2 Family Dactylogyridae	29
2.3 Family Capsalidae	29
3. หนอนสมอ (Anchor worms)	30
4. พยาธิใบไม้	31

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5. กลุ่ม Crustacean	32
5.1 เห็บปลา (<i>Argulus</i> sp.)	32
5.2 เห่าน้ำ (<i>Caligus</i> sp.)	33
6. กรีกาเร็น (<i>Gregarine</i> : <i>Nematopsis</i> sp.)	33
7. เทอเบลลาเรีย (<i>Turbellaria</i> : <i>Urastoma</i> sp.)	34
เอกสารอ้างอิง	36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กุ้งทะเลชนิดต่าง ๆ ที่เลี้ยงในประเทศไทย	4
2	ลักษณะภายนอกของลูกกุ้งทะเลระยะโพสตาจารย์	4
3	ลักษณะภายนอกของกุ้งทะเลระยะวัยรุ่น	5
4	ปลาน้ำกร่อยที่นิยมเพาะเลี้ยงในประเทศไทย	6
5	ลักษณะภายนอกของปูทะเล	7
6	ลักษณะของหอยทะเลที่พบในประเทศไทย	8
7	วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยปรสิตในสัตว์น้ำ	9
8	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างลูกกุ้งทะเลระยะโพสตาจารย์ เพื่อตรวจปรสิตภายนอก ด้วยวิธี wet mount	10
9	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างกุ้งวัยรุ่น (Juvenile) เพื่อตรวจปรสิตภายนอกด้วยวิธี wet mount	12
10	รยางค์ในลูกกุ้งโพสตาจารย์; (ก) รยางค์ปกติ (ข) รยางค์กุด (ค) และ(ง) รยางค์กร่อน	13
11	Filamentous bacteria บนรยางค์และลำตัวกุ้ง	13
12	ตับและตับอ่อน (Hepatopancreas) ของกุ้ง; (ก): ตับสีปกติ, (ข): ตับสีซีด	14
13	ตับและตับอ่อนผิดปกติ โดยมีลักษณะท่อนตับคอดกั้ว	14
14	การเกิด melanization ในตับและตับอ่อน ของกุ้งวัยรุ่น/ พ่อแม่พันธุ์	14
15	ความผิดปกติในตับและตับอ่อน โดยมีการหลุดลอกของเซลล์ Microvilli (ATM: Aggregated Transfrom Microvilli)	14
16	อวัยวะภายนอกและภายในของปลา	16
17	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างปลาทะเลสำหรับการตรวจปรสิตภายนอกด้วยวิธี wet mount	16
18	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างปู สำหรับการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อปรสิตภายนอก	17
19	ลักษณะภายนอกและอวัยวะภายในของปูทะเล	18
20	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหอยทะเล สำหรับตรวจหาการติดเชื้อปรสิตภายนอก	18
21	ลักษณะอวัยวะภายในของหอยทะเล	19
22	ลักษณะของซูโอแทมเนียม (<i>Zoothamnium</i> sp.)	20
23	ลักษณะของ <i>Zoothamnium</i> sp. ที่เกาะอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์น้ำชายฝั่ง	21
24	<i>Oodinium</i> sp.	22
25	ปรสิตจุดขาว (<i>Cryptocaryon irritans</i>)	23
26	เห็บกระซัง (<i>Trichodina</i> sp.) ที่เหงือกและเมือกบนตัวปลา	24

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
27	<i>Epistylis</i> sp. ที่อวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์น้ำ	25
28	<i>Scyphidia</i> sp. เกาะที่เหงือกปลา	26
29	ปรสิตกลุ่ม Myxosporidia ชนิด <i>Henneguya</i> sp. อยู่ตามซี่เหงือกของปลา	27
30	วงจรชีวิตของ monogenea	27
31	<i>Gyrodactylus</i> sp. เกาะที่ผิวหนัง และเหงือกปลา	28
32	แดคไทโรจิรัส (<i>Dactylogyrus</i> sp.)	29
33	โมนโนจิ้น <i>Capsala</i> sp.	29
34	หนอนสมอ	30
35	ลักษณะไข่ของหนอนสมอ	30
36	แสดงตัวอ่อนของหนอนสมอ	31
37	ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่พบในเหงือกปลา	32
38	เห็บปลา (<i>Argulus</i> sp.) เกาะที่ตัวปลา	32
39	เห่าน้ำ (<i>Caligus</i> sp.) เกาะที่ตัวปลา	33
40	กรีการีน (<i>Nematopsis</i> sp.) ระยะ Oocysts ที่เหงือกของหอยแครง	34
41	กรีการีน (<i>Nematopsis</i> sp.) ระยะ Trophozoid ในลำไส้ของกุ้ง	34
42	เทอเบลลาเรีย (<i>Urastoma</i> sp.) ที่เหงือกของหอยแมลงภู	35

บทนำ

การตรวจปรสิต นับว่าเป็นส่วนหนึ่งของการตรวจวินิจฉัยโรคทั่วไปในสัตว์น้ำ ซึ่งโดยปกติแล้วแม้สัตว์น้ำที่แข็งแรงที่อาศัยในแหล่งน้ำธรรมชาติก็สามารถพบปรสิตได้ด้วยเช่นเดียวกัน แต่จะพบในปริมาณน้อย ส่วนความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อปรสิตนั้น มักจะพบว่าเป็นปัญหามากในสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ปลาขนาดเล็ก ปลาที่เลี้ยงหนาแน่นมาก รวมทั้งสัตว์น้ำที่ได้รับความเครียดจากการเคลื่อนย้ายขนส่ง หรือเลี้ยงในบ่อที่มีคุณภาพน้ำไม่เหมาะสม เช่น บ่อที่มีสารอินทรีย์สูง และในช่วงหน้าหนาว ซึ่งจะส่งผลทำให้สัตว์น้ำอ่อนแอ สามารถยอมรับต่อการติดโรคที่เกิดจากกลุ่มปรสิตได้ง่ายขึ้น

สำหรับตัวอย่างสัตว์น้ำที่ใช้เป็นตัวแทนที่ดีสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคคือ ปลาที่ยังมีชีวิตอยู่ที่แสดงลักษณะและอาการของโรค หรือสัตว์น้ำที่เพิ่งตายใหม่ ๆ ทั้งนี้หากเป็นไปได้ควรตรวจวินิจฉัยโรคทันทีที่จับ หรือถ้าทำไม่ได้ให้เก็บในที่เย็น เก็บปลาแยกเดี่ยวๆ ในถุงพลาสติกและใส่ตู้เย็น อย่าใส่ในช่องน้ำแข็งเพราะยากที่จะตรวจสอบการติดเชื้อปรสิต เนื่องจากหลังจากสัตว์น้ำตายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำและปรสิตได้อย่างรวดเร็ว (rapid post-mortem autolysis) อย่างไรก็ตามในการเก็บตัวอย่างก็มีความสำคัญต่อการตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องเช่นเดียวกัน โดยปรสิตขนาดเล็กจะมีความบอบบางมากกว่าปรสิตขนาดใหญ่ จึงจำเป็นต้องมีความระมัดระวังมากในการเก็บรักษาตัวอย่างเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ปรสิตส่วนใหญ่ควรตรวจดูบนสไลด์เปียก (wet mount) จากตัวอย่างสัตว์น้ำที่ยังมีชีวิตอยู่ อีกทั้งปรสิตบางชนิดโดยเฉพาะภายนอกมักจะหลุดออกไปจากปลาที่ตายอย่างรวดเร็ว ปลาสามารถเก็บรักษาใน fixative (10% neutral buffered หรือ 70% ethanol) แต่ไม่แนะนำสำหรับการตรวจสอบปรสิตแบบทั่วไปที่ทำประจำวัน รวมทั้งไม่ควรใช้ยาสลับปลาเนื่องจากปรสิตบางชนิดจะหลุดออกจากปลาได้ง่ายเมื่อโดยยาสลับ

นอกจากนี้ ควรมีการบันทึกประวัติการเลี้ยงสัตว์น้ำหรือแหล่งที่มาของสัตว์น้ำอย่างถูกต้อง ไม่ว่าจะเป็นชนิด (species) ความยาว น้ำหนัก อายุของปลา สถานที่และวันที่ตรวจสอบ ระยะเวลาการเลี้ยง ปัญหาที่เคยพบมาก่อน อาการที่สังเกตได้ เช่น การกินอาหารที่ลดลง ลักษณะการตาย มีการตายที่ละน้อยหรือการตายรวดเร็วในเวลาอันสั้น บันทึกการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ คุณสมบัติของน้ำ สภาพดินฟ้าอากาศ

การตรวจวินิจฉัยโรคสัตว์น้ำ (Disease diagnosis)

การตรวจวินิจฉัยโรคสัตว์น้ำ สามารถแบ่งออกได้หลายระดับ ตั้งแต่การตรวจเบื้องต้นโดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกหรือรอยโรค (Gross sign) การทดสอบการติดเชื้อ (Bioassay) การตรวจโดยใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เช่น กล้องจุลทรรศน์ การตรวจโดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น In situ hybridization, Antibody based assay, Polymerase Chain Reaction (PCR) ไปจนถึงการหาลำดับเบสของยีนเชื้อที่สนใจ (Sequencing)

ทั้งนี้ ระดับการตรวจวินิจฉัยโรคที่แบ่งตามความถูกต้องและระดับความน่าเชื่อถือของผลการตรวจนั้น ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระดับ ดังนี้ คือ

ระดับ 1 : อาศัยจากการสังเกตด้วยตาเปล่า (site observation) เช่น การสังเกตพฤติกรรม (behavior) อาการป่วยภายนอกหรือรอยโรค (gross sign) ของสัตว์น้ำ การกินอาหาร (feeding) และข้อมูลทางด้านสิ่งแวดล้อม (environmental data) ของบ่อเลี้ยงหรือฟาร์มเลี้ยง เช่น การเปลี่ยนแปลงทางสภาพภูมิอากาศ

ระดับ 2 : อาศัยเทคนิคเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ สำหรับการตรวจวินิจฉัยในระดับนี้ไม่สามารถตรวจได้ทันทีจากที่บ่อหรือฟาร์ม อาจต้องมีการใช้กล้องจุลทรรศน์ในการตรวจวินิจฉัย โดยผู้ที่ทำการตรวจวินิจฉัยต้องมีความชำนาญและผ่านการฝึกฝนมาในระดับหนึ่ง เทคนิคที่นำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคในระดับนี้ ได้แก่ การตรวจทาง Parasitology (ปรสิต), Histopathology (เนื้อเยื่อ), Bacteriology (แบคทีเรีย), และ Mycology (เชื้อรา) เป็นต้น

ระดับ 3 : อาศัยเทคนิคระดับสูงในการตรวจวินิจฉัย (Advance diagnosis) ซึ่งการตรวจวินิจฉัยระดับนี้ก็ไม่สามารถตรวจที่ฟาร์มได้เช่นเดียวกันกับระดับ 2 จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงมากขึ้นและผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจวินิจฉัยมากยิ่งขึ้น การตรวจโรคในระดับนี้ได้แก่ การศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) การศึกษาทางด้านชีวโมเลกุล (Biomolecular) เช่น RT-PCR real-time PCR หรือการใช้เทคนิค In situ hybridization การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscope) เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม การตรวจวินิจฉัยการเกิดโรคในสัตว์น้ำ ไม่สามารถใช้เพียงวิธีการตรวจในระดับใดเพียงระดับหนึ่งในการวินิจฉัยการเกิดโรคได้อย่างถูกต้อง จำเป็นต้องอาศัยผลการตรวจวินิจฉัยจากทั้งสามระดับมาประมวลผลเพื่อหาสาเหตุของการเกิดโรคมีความถูกต้องแม่นยำมากที่สุด

การเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำเพื่อตรวจวินิจฉัยโรค

การเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำเพื่อนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคนั้น จำเป็นต้องมีจำนวนที่มากเพียงพอเพื่อให้ผลการตรวจวินิจฉัยมีความน่าเชื่อถือ ในกรณีพบการป่วยหรือตายของสัตว์น้ำ ควรเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำที่มีอาการป่วยและอาการปกติจำนวน 5 -10 ตัว เพื่อตรวจหาสาเหตุอาการป่วยของสัตว์น้ำที่แท้จริง ส่วนกรณีการตรวจวินิจฉัยโรคทางระบาดวิทยาหรือการเฝ้าระวังโรคควรมีจำนวนและการสุ่มตัวอย่างที่เหมาะสมเพื่อเป็นตัวแทนที่เหมาะสมของประชากรที่ดี

ทั้งนี้สามารถพิจารณาจำนวนในการสุ่มตัวอย่างได้จากตารางการสุ่มตัวอย่างในตารางที่ 1 โดยที่จำนวนตัวอย่างที่สุ่มจะขึ้นอยู่กับความชุกของการเกิดโรค (Disease prevalence) ชนิดนั้น ๆ หากมีความชุกของการเกิดโรคสูง จำนวนตัวอย่างที่เก็บก็จะใช้จำนวนน้อยเนื่องจากมีโอกาสที่จะตรวจพบโรคชนิดนั้นสูง แต่ถ้าหากความชุกของโรคต่ำ จำนวนตัวอย่างที่เก็บก็ต้องมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นด้วย เพื่อให้เพิ่มความเป็นไปได้ของการตรวจพบโรค

อย่างไรก็ตาม สำหรับโรคที่พบว่าเคยมีรายงานการเกิดโรคอยู่แล้ว สามารถใช้ความชุกของโรคที่สูงขึ้นได้ เช่น ในลูกกึ่ง/ลูกปลา จะมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของโรคเท่ากับ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกึ่งและปลาวัยรุ่นและพ่อแม่พันธุ์จะมีเปอร์เซ็นต์ความชุกของโรคเท่ากับ 5.0 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนของตัวอย่างที่ต้องเก็บตามเปอร์เซ็นต์ความชุกของโรค (% prevalence) และจำนวนประชากร (Ossiander and Wedermeyer, 1973)

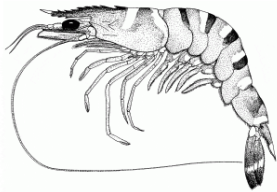
Population size	Prevalence (%)						
	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	10.0
50	46	46	46	37	37	29	30
100	93	93	76	61	50	43	23
250	192	156	110	76	62	49	25
500	314	223	127	88	67	54	26
1000	448	256	136	92	69	55	27
2500	512	279	142	95	71	56	27
5000	562	288	145	96	72	57	27
10000	579	292	146	96	72	57	27
100000	594	296	147	96	72	57	27
1000000	596	297	147	97	72	57	27
>1000000	600	300	150	100	75	60	30

วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำชายฝั่ง

สำหรับตัวอย่างสัตว์น้ำที่จะนำมาใช้ในการตรวจโรคปรสิตนั้น จะต้องเป็นตัวอย่างที่มีชีวิตเท่านั้น เนื่องจากสัตว์น้ำที่ตายแล้ว อาจจะมีปรสิตจากสัตว์น้ำตัวอื่นมาเกาะหรือปรสิตบางตัวอาจหลุดออกจากสัตว์น้ำตัวนั้นแล้ว ส่งผลทำให้อาจไม่พบปรสิตเกาะอยู่ที่สัตว์น้ำ แล้วทำให้เกิดการวินิจฉัยที่ผิดพลาดได้ ทั้งนี้วิธีการเก็บตัวอย่างสามารถแบ่งได้ตามประเภทของตัวอย่างได้ ดังนี้

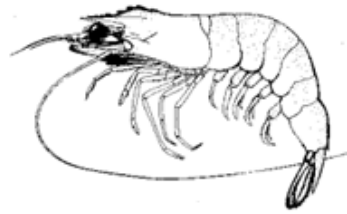
1. กุ้งทะเล แบ่งออกเป็น

สำหรับการเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทยนั้น พบว่ามีหลากหลายชนิด (ภาพที่ 1) โดยส่วนใหญ่มากกว่า 90% เป็นการเลี้ยงกุ้งขาว รองลงมาเป็นกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย



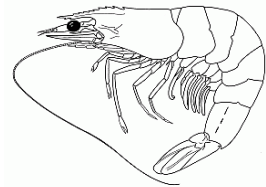
(ก)

ที่มา: www.thefishsite.com/articles/cultured-aquatic-species-giant-tiger-prawn



(ข)

ที่มา: www.niobioinformatics.in/prawns/Gif/TAXONOMY/TAX19.HTM



(ค)

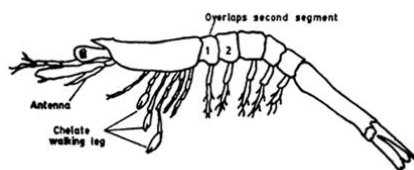
ที่มา: www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/en

ภาพที่ 1 กุ้งทะเลชนิดต่าง ๆ ที่เลี้ยงในประเทศไทย โดยที่ ภาพ ก คือ กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ภาพ ข คือ กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) และภาพ ค คือ กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguensis*)

ทั้งนี้วิธีการในการเก็บตัวอย่างกุ้งทะเลนั้น แตกต่างกันไปตามอายุของกุ้ง ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ ดังนี้

1.1 ลูกกุ้งทะเลระยะโพสลาวาร์ (Post larva, PL)

ระยะนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับกุ้งทะเลวัยรุ่นมากขึ้น โดยมีอวัยวะต่าง ๆ เกือบครบทุกส่วน และพัฒนาการไปเรื่อยๆ จนเข้าสู่ระยะกุ้งวัยรุ่น จะมีขาเดิน 3 คู่ คู่แรกมองเห็นเป็นก้ามชัดเจน หางแคบเข้าเป็นระยะที่มีรยางค์ครบ มีขากรรไกร (mandible) ที่ชัดเจน ขาวว่ายน้ำเจริญให้เห็นชัดเจนขึ้นกรีนกว่าดวงตา ระยะระหว่างตากางออกมองเห็นได้ชัดเจน ลักษณะลำตัวสั้นป้อมจะมีลักษณะใสมีเส้นสีน้ำตาลพาดยาวจากบริเวณหนวดถึงหาง โดยปล้องท้องปล้องที่ 6 จะยาวกว่าปล้องหัวเล็กน้อย (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ลักษณะภายนอกของลูกกุ้งทะเลระยะโพสลาวาร์

ที่มา : www.fao.org/docrep/field/003/AC179E/AC179E00.htm

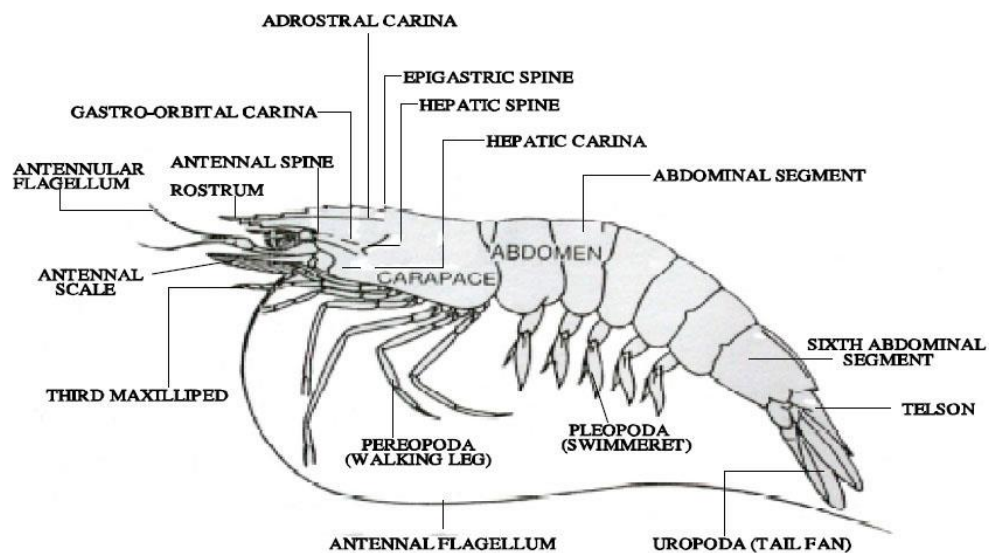
มีขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง ดังนี้

- 1) สุ่มตัวอย่างกุ้งให้กระจายทั่วบ่อ โดยมีรายละเอียดการสุ่มดังนี้
 - กุ้งทะเลระยะ PL8-10: ต้องสุ่มให้ได้กุ้งไม่น้อยกว่า 300 ตัว/บ่อ
 - กุ้งทะเลระยะ PL10 ขึ้นไป: ต้องสุ่มกุ้งให้ได้ไม่น้อยกว่า 200 ตัว/บ่อ
- 2) ใส่ตัวอย่างกุ้งทะเลมีชีวิตในถุงพลาสติกที่บรรจุน้ำทะเลสะอาด แล้วอัดอากาศและมัดปากถุงให้แน่น เขียนชื่อฟาร์มและหมายเลขบ่อ จากนั้นจึงนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

1.2 กุ้งทะเลวัยรุ่น (Juvenile)

เป็นระยะของกุ้งที่มีรูปร่างลักษณะครบถ้วน มีขนาดตัวโตขึ้น โดยมีการเจริญของเหงือกที่สมบูรณ์ มีการพัฒนาของกรืออย่างเต็มที่ มองเห็นกริด้านบนมี 8-9 ฟัน ค่ากลางที่พบประมาณ 8 ฟัน และกริด้านล่างมี 1-2 ฟัน ค่ากลางที่พบประมาณ 2 ฟัน ความยาวกริจะสั้นกว่า exopodite ของหนวด ปลายกริเรียวตรง (ภาพที่ 3) การเคลื่อนไหวจะคล้ายกับกุ้งที่โตเต็มที่แล้ว คือ ใช้ขาเดินและขาว่ายน้ำ เป็นระยะที่เกษตรกรนำไปปล่อยเลี้ยงในบ่อดิน สำหรับขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างกุ้งทะเลระยะวัยรุ่น เป็นดังนี้

- 1) สุ่มตัวอย่างกุ้งให้กระจายทั่วบ่อ ในกรณีกุ้งป่วยให้เลือกกุ้งที่แสดงอาการของโรค โดยให้ได้กุ้งไม่น้อยกว่า 10 ตัว/บ่อ
- 2) ใส่ตัวอย่างกุ้งมีชีวิตในถุงพลาสติกที่มีน้ำทะเลสะอาด และอัดอากาศ มัดปากถุงให้แน่น เขียนชื่อฟาร์มและหมายเลขบ่อ และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที



ภาพที่ 3 ลักษณะภายนอกของกุ้งทะเลระยะวัยรุ่น

ที่มา: www.shrimp-culture.blogspot.com/2010/09/morphology-anatomy-and-physiology-of.html

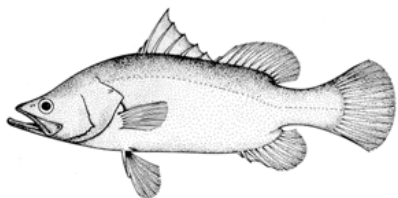
1.3 พ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเล (Broodstocks)

1) สุ่มตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเลให้เป็นไปตามตารางเปอร์เซ็นต์ความชุกของโรค (5% prevalence) และจำนวนประชากร (ตารางที่ 1) เช่น หากมีจำนวนพ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเลเท่ากับ 100 ตัว จะต้องสุ่มตัวอย่างเท่ากับ 43 ตัว เป็นต้น

2) ใส่พ่อแม่พันธุ์กุ้งทะเลมีชีวิตในถุงพลาสติกที่มีน้ำทะเลสะอาด และอัดอากาศ มัดปากถุงให้แน่น เขียนชื่อฟาร์มและหมายเลขบ่อ และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

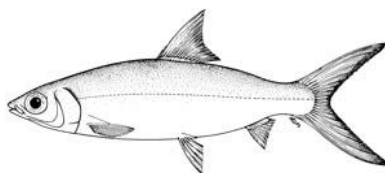
2. ปลาน้ำกร่อย

เป็นปลาที่สามารถปรับตัวให้อาศัยอยู่ได้ทั้งในน้ำเค็มหรือน้ำทะเล (มีความเค็มตั้งแต่ 30 ppt ขึ้นไป) น้ำกร่อย (มีความเค็มอยู่ในช่วง 0.5-30 ppt) สำหรับปลาน้ำกร่อยที่พบว่าการเลี้ยงมากในประเทศไทย มีหลายชนิด ได้แก่ ปลากะพงขาว ปลานวลจันทร์ทะเล ปลากะรัง ปลาตะกรับ เป็นต้น (ภาพที่ 4)



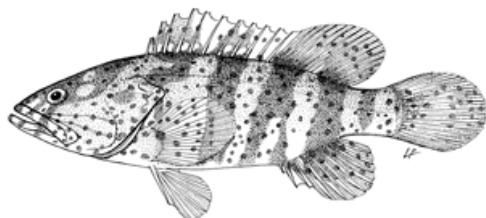
(ก)

ที่มา: www.fao.org/fishery/culturedspecies/Lates_calcarifer/en



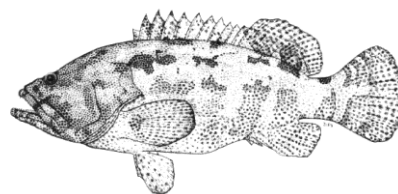
(ข)

ที่มา: www.fao.org/fishery/culturedspecies/Chanos_chanos/en



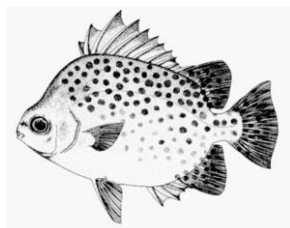
(ค)

ที่มา: www.fao.org/fishery/culturedspecies/Epinephelus_coioides/en



(ง)

ที่มา: www.fishwisepro.com/pictures/details?Zoom=True&sid=25157&pictureId=3&Gallery=True&Page=1&Info=%27Epinephelus+fuscoguttatus%27&Flt=20



ที่มา: www.fishbase.de/Photos/Pictures Summary.php

ภาพที่ 4 ปลาน้ำกร่อยที่นิยมเพาะเลี้ยงในประเทศไทย โดยที่ ภาพ ก คือ ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

(ข) ภาพ ข คือ ปลานวลจันทร์ทะเล (*Chanos chanos*)

ภาพ ค คือ ปลากะรังดอกแดง (*Epinephelus coioides*)

ภาพ ง คือ ปลาเก๋าเสือ (*E. fuscoguttatus*)

และ ภาพ จ คือ ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*)

สำหรับการสุ่มตัวอย่างปลาน้ำกร่อยจะใช้หลักการเดียวกันทั้งลูกปลานขนาดเล็กและปลาน้ำกร่อยวัยรุ่น โดยกำหนดการสุ่มตัวอย่างที่ระดับความซุกของโรคเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ (สำหรับโรคที่ไม่เคยมีรายงานการความซุกของโรคชนิดนั้นมาก่อน) โดยมีขั้นตอนของการสุ่มตัวอย่าง ดังนี้

1) ใช้สวิงตักลูกปลาน้ำกร่อยในบ่อปูนหรือใช้แหในการสุ่มตัวอย่างปลาน้ำกร่อยในบ่อดินให้ทั่วทั้งบ่อ โดยกำหนดให้จำนวนตัวอย่างที่เก็บไม่น้อยกว่าจำนวนตัวอย่างที่เก็บที่ระดับความซุกของโรคเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

2) ใส่ตัวอย่างในถุงพลาสติกที่มีน้ำสะอาด (ความเค็มของน้ำขึ้นกับชนิดของปลา) และอัดอากาศ มัดปากถุงให้แน่น เขียนชื่อฟาร์มและหมายเลขบ่อ หากเป็นสัตว์น้ำขนาดใหญ่ ใส่ถังหรือภาชนะที่สามารถบรรจุได้ ให้อากาศ และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

3. สัตว์น้ำชายฝั่งอื่นๆ

นอกจากสัตว์น้ำชายฝั่งในกลุ่มของกุ้งทะเล และปลาชายฝั่งชนิดต่าง ๆ แล้ว ยังมีสัตว์น้ำชายฝั่งชนิดอื่น ๆ ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ และยังพบว่ามีปัญหาของการเกิดโรคกลุ่มปรสิตได้ หากมีการจัดการในระหว่างการเลี้ยงที่ไม่เหมาะสม เช่น มีการหมักหมมของสารอินทรีย์ในบ่อเป็นจำนวนมาก ได้แก่ กลุ่มของปูทะเล และหอยทะเล ทั้งนี้สามารถแบ่งวิธีในการสุ่มและการเก็บตัวอย่างสำหรับการใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคตามชนิดของสัตว์น้ำได้ดังนี้

3.1 ปูทะเล

สำหรับปูทะเลที่พบว่าการเลี้ยงในประเทศไทยนั้นมีหลายชนิด ได้แก่ ปูม้า ปูดำ ปูม่วง ปูเขียว ปูขาว เป็นต้น ดังแสดงในภาพที่ 5



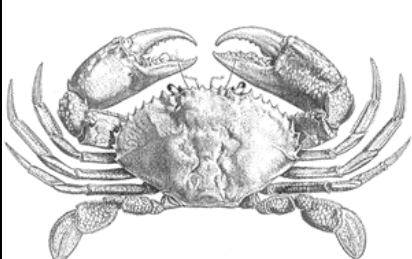
(ก)



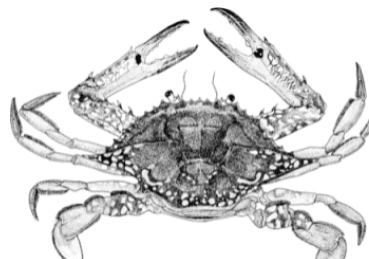
(ข)



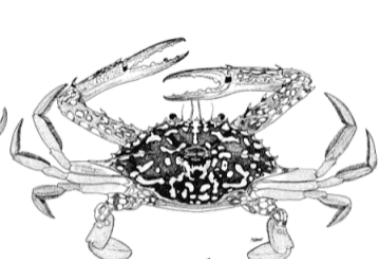
(ค)



(ง)



♀



♂

(จ)

ภาพที่ 5 ลักษณะภายนอกของปูทะเล; โดยที่ (ก) คือ ปูม่วง (*Scylla tranquebarica*); (ข) คือ ปูขาว (*Scylla paramamosain*); (ค) คือ ปูดำ (*Scylla olivacea*); (ง) คือ ปูเขียว (*Scylla serrata*) และ (จ) คือ ปูม้า (*Portunus pelagicus*) ที่มา: Josileen Jose, 2015

มีวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างดังนี้

1) สุ่มตัวอย่างปูทะเลที่มีชีวิต โดยกำหนดให้จำนวนตัวอย่างที่เก็บต้องไม่น้อยกว่าจำนวนตัวอย่างที่ระดับความซุกของโรคเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 1 เช่น หากมีจำนวนปูทะเลทั้งหมดเท่ากับ 100 ตัว จะต้องสุ่มตัวอย่างเท่ากับ 43 ตัว เป็นต้น

2) วางตัวปูทะเลที่มัดก้ามเรียบร้อยลงบนผ้าหรือหนังสือพิมพ์ที่ชุบน้ำหมาด ๆ แล้วบรรจุในกล่องโฟมหรือภาชนะที่มีลักษณะมิดชิด โดยไม่ต้องบรรจุน้ำ เขียนชื่อฟาร์มและหมายเลขบ่อ และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

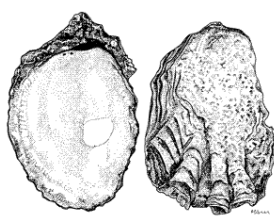
3.2 หอยทะเล

สำหรับตัวอย่างของหอยทะเลที่พบมีการเพาะเลี้ยงในประเทศไทยมาก ได้แก่ หอยแมลงภู่ หอยแครง หอยนางรม และหอยตลับ เป็นต้น (ภาพที่ 6)



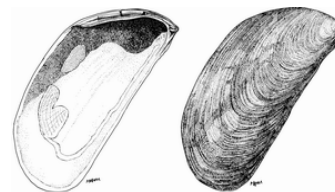
ที่มา: www.conchology.be/

(ก)



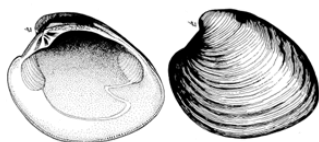
ที่มา: www.fao.org/fishery/culturedspecies/Saccostrea_commercialis/en

(ข)



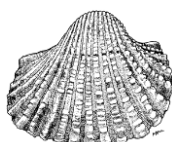
ที่มา: www.fao.org/fishery/species/2691/en

(ค)



ที่มา: www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mercentaria_mercentaria/en

(ง)



ที่มา: www.fao.org/fishery/species/3503/en

(จ)

ภาพที่ 6 ลักษณะของหอยทะเลที่พบในประเทศไทย

โดยที่ ภาพ ก คือ หอยตะไกรกรมขาว (*Crassostrea belcheri*) ภาพ ข คือ หอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea commercialis*) ภาพ ค คือ หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ภาพ ง คือ หอยตลับ (*Meretrix meretrix*) ภาพ จ คือ หอยแครง (*Anadara granosa*)

โดยมีวิธีการสุ่มตัวอย่าง ดังนี้

1) สุ่มตัวอย่างหอยทะเลที่มีชีวิต โดยกำหนดให้จำนวนตัวอย่างที่เก็บต้องไม่น้อยกว่าจำนวนตัวอย่างที่ระดับความซุกของโรคเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 1 เช่น หากมีจำนวนหอยทะเลทั้งหมดเท่ากับ 100 ตัว จะต้องสุ่มตัวอย่างเท่ากับ 43 ตัว เป็นต้น

2) วางตัวหอยทะเลลงบนผ้าหรือหนังสือพิมพ์ที่ชุบน้ำหมาด ๆ แล้วบรรจุในกล่องโฟมหรือภาชนะที่มีลักษณะมิดชิด โดยไม่ต้องบรรจุน้ำ เขียนชื่อฟาร์มและหมายเลขบ่อ และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

การเตรียมตัวอย่างสัตว์น้ำสำหรับการตรวจวินิจฉัยปรสิต

1. เครื่องมือ อุปกรณ์ วัสดุ และสารเคมี

1.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และวัสดุ

- 1) กล้องจุลทรรศน์
- 2) ภาชนะสำหรับรองรับตัวอย่าง: กะละมัง หรือถัง
- 3) สวิง
- 4) อุปกรณ์ให้อากาศ (air pump) และหัวทราย
- 5) ปากคีบ (forceps)
- 6) ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 7) กรรไกรผ่าตัด
- 8) แผ่นสไลด์ (glass slide)
- 9) กระจกปิดสไลด์ (cover glass)
- 10) ถาดใส่สไลด์
- 11) กระดาษเช็ดเลนส์

1.2 สารเคมี

- 1) แอลกอฮอล์ 70% (70% Ethanol)
- 2) แอลกอฮอล์ 95% (95% Ethanol)
- 3) Absolute Alcohol
- 4) น้ำเกลือความเข้มข้น 1.5% (w/v) (1.5% NaCl)
- 5) น้ำกลั่น
- 6) Immersion oil

ดังแสดงในภาพที่ 7



(ก)



(ข)

ภาพที่ 7 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยปรสิตในสัตว์น้ำโดยที่ ภาพ ก คือ วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ ภาพ ข คือ สารเคมี

2. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

แบ่งตามประเภทของตัวอย่างได้ดังนี้

2.1 กุ้งทะเล แบ่งเป็น

2.1.1 ลูกกุ้งทะเลระยะโพสต์ลาร์วาร์ (Post larva) มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างดังนี้

- 1) เปิดถุงบรรจุกุ้งทะเล แล้วเทลูกกุ้งทะเลระยะโพสต์ลาร์วาร์ลงในสวิงที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% ที่วางในกะละมัง
- 2) หยดน้ำเกลือความเข้มข้น 1.5% ลงบนแผ่นสไลด์
- 3) นำปากคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว สุ่มหยิบลูกกุ้งทะเล ประมาณ 10 ตัว วางลงบนแผ่นสไลด์
- 4) ปิดตัวอย่างด้วยกระจกปิดสไลด์แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 20x ถึง 40x รายละเอียดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างลูกกุ้งทะเล ดังแสดงในภาพที่ 8



ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา

(ก)



ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา

(ข)



ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา

(ค)

ภาพที่ 8 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างลูกกุ้งระยะโพสต์ลาร์วาร์ เพื่อตรวจปรสิตภายนอก ด้วยวิธี wet mount

โดยที่ ภาพ ก คือ การเทลูกกุ้งออกจากถุงบรรจุ ลงในสวิงเรียบร้อย

ภาพ ข คือ การสุ่มตัวอย่างลูกกุ้งเพื่อนำมาตรวจปรสิต

ภาพ ค คือ ลูกกุ้งที่เตรียมเรียบร้อยแล้วพร้อมสำหรับนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจสอบภาพกุ้งโพสลาจารย์ทั่วไปด้วยกล้องจุลทรรศน์

1. อายุกุ้ง : นับจำนวนหนามบนกรร (rostrum) โดยเทียบ 1 หนาม เท่ากับ 3 PL
 2. ค่าอัตราส่วนระหว่างกล้ามเนื้อปล้องที่ 6 : ลำไส้ (muscle gut ratio, MGR) : วัดอัตราส่วนกล้ามเนื้อ : ลำไส้ โดยเทียบลำไส้เป็น 1 ส่วน
 3. ความสะอาด และความสมบูรณ์ของรยางค์ และลำตัว
 - รยางค์ : สมบูรณ์ และสะอาด/ กุด/ กร่อน/ ดำ/ ปรสิตภายนอก
 - ลำตัว : สมบูรณ์ และสะอาด/ สกปรก/ คดงอ/ ปรสิตภายนอก
 - เหงือก : สะอาด/ สกปรก/ กุด/ กร่อน/ ปรสิตภายนอก
 4. ความสมบูรณ์ของตับและตับอ่อน (hepatopancreas)
 - ทางกายภาพ : สี เช่น สีน้ำตาล/ สีน้ำตาลเหลือง/ ซีด สภาพตับ เช่น ปกติ/ หนืด/ เละ/ ลิบ ฝ่อ/ คอดกึ่ว/ คด
 - ทางโภชนาการ : ปริมาณเม็ดไขมัน : พบ/ไม่พบ
- โดยระบุเป็นระดับมาก-น้อยดังนี้ : + (น้อย), ++ (ปานกลาง), +++ (มาก)

2.1.1 กุ้งทะเลวัยรุ่น (juvenile) มีวิธีการดังนี้

- 1) เทกุ้งทะเลออกจากถุงหรือภาชนะที่บรรจุใส่ลงในภาชนะรองรับน้ำของห้องปฏิบัติการ ได้แก่ กะละมัง หรือถัง
- 2) ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศ (air pump) สำหรับแต่ละตัวอย่าง
- 3) ใช้สวิงที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% สุ่มตัวอย่างกุ้งขึ้นมาเพื่อนำไปตรวจปรสิตภายนอกด้วยวิธี wet mount
- 4) หยด 1.5% NaCl ลงบนแผ่นสไลด์
- 5) นำกรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วผ่านไฟและทิ้งให้เย็นแล้ว มาตัดปลายรยางค์ขาว่ายน้ำ (pleopod) ปลายแพนหาง (uropod) และเหงือก (gill) วางลงบนแผ่นสไลด์
- 6) ปิดตัวอย่างด้วยกระจกปิดสไลด์แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 20x ถึง 40x รายละเอียดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างกุ้งทะเลวัยรุ่น ดังแสดงในภาพที่ 9



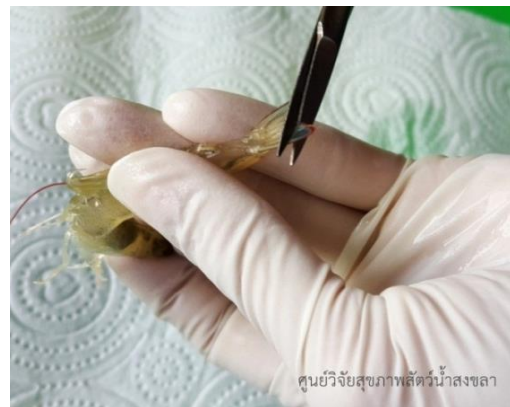
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 9 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างกุ้งวัยรุ่น (Juvenile) เพื่อตรวจปรสิตร่างนอกด้วยวิธี wet mount; (ก) คือ กุ้งวัยรุ่นที่เตรียมใส่ในกะละมัง เพื่อรอการตรวจปรสิตร, (ข) คือ กุ้งวัยรุ่นที่สุ่มขึ้นมาเพื่อตัดตัวอย่างอวัยวะต่าง ๆ, (ค) คือ ลักษณะการตัดปลายรยางค์ขาว่ายน้ำ (pleopod) ของกุ้งทะเล, (ง) คือ ลักษณะการตัดปลายแพนหาง (uropod) ของกุ้งทะเล, (จ) คือ ลักษณะการตัดปลายเหงือก (gill) ของกุ้งทะเล และ (ฉ) คือ ตัวอย่างที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้วก่อนนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจสอบสภาพทั่วไปของกุ้งทะเลด้วยกล้องจุลทรรศน์

1. ความสะอาด และความสมบูรณ์ของรยางค์ และลำตัว

- รยางค์ : สมบูรณ์ และสะอาด/ กุด/ กร่อน/ ดำ/ ปรสิตร
- ลำตัว : สมบูรณ์ และสะอาด/ สกปรก/ คดงอ/ ปรสิตร
- เหงือก : สะอาด/ สกปรก/ กุด/ กร่อน/ ปรสิตร

2. ความสมบูรณ์ของตับและตับอ่อน (hepatopancreas)

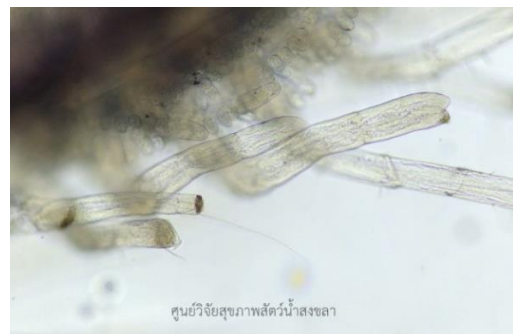
- ทางกายภาพ : สี เช่น สีน้ำตาล/ สีน้ำตาลเหลือง/ ซีด สภาพตับ เช่น ปกติ/ หนืด/ และ/ สืบฝ่อ/ คอดกึ่ง/ คด/ ATM (Aggregated Transform Microvilli)/ melanization/ EHP (*Enterocytozoon hepatopenaei*)
- ทางโภชนาการ : ปริมาณเม็ดไขมัน : พบ/ไม่พบ

โดยระบุเป็นระดับมาก-น้อยดังนี้ : + (น้อย), ++ (ปานกลาง), +++ (มาก)

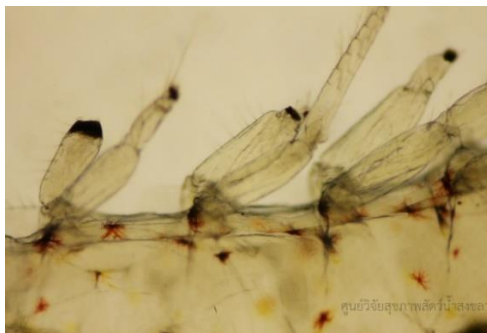
ลักษณะต่างๆ ที่แสดงถึงสุขภาพของกุ้งตรวจ ดังภาพที่ 10 - 15



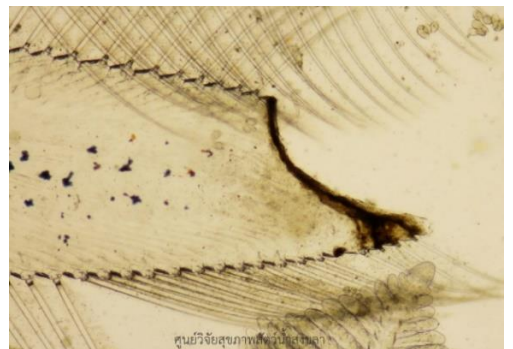
(ก)



(ข)

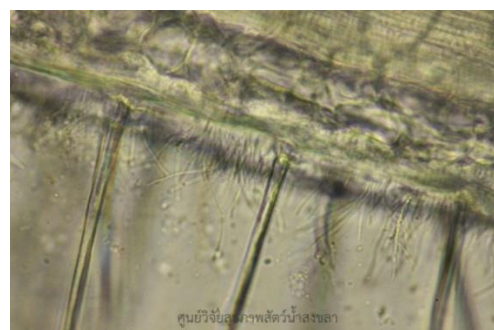
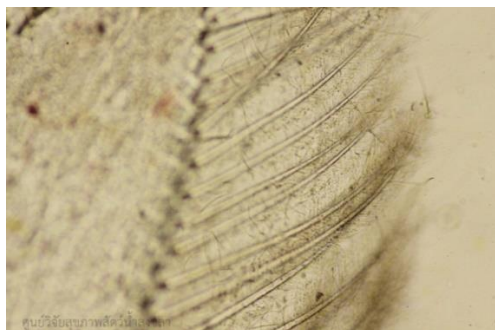


(ค)

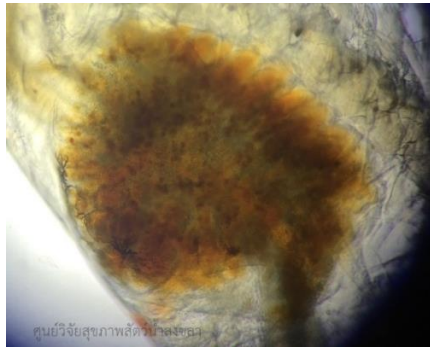


(ง)

ภาพที่ 10 รยางค์ในลูกกุ้งโพสท์ลาร์วาร์; (ก) รยางค์ปกติ (ข) รยางค์กุด (ค) และ(ง) รยางค์กร่อน



ภาพที่ 11 Filamentous bacteria บนรยางค์และลำตัวกุ้ง

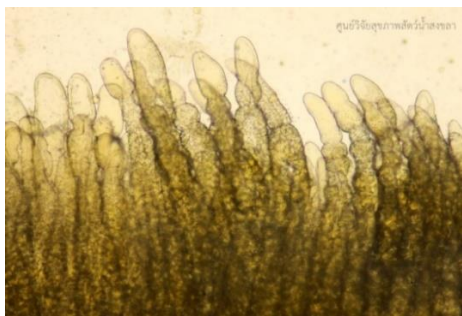


(ก)

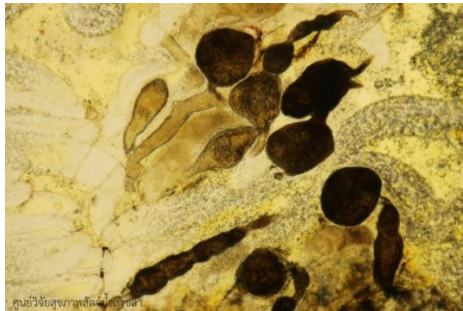


(ข)

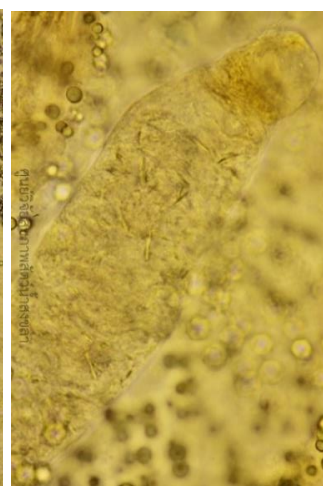
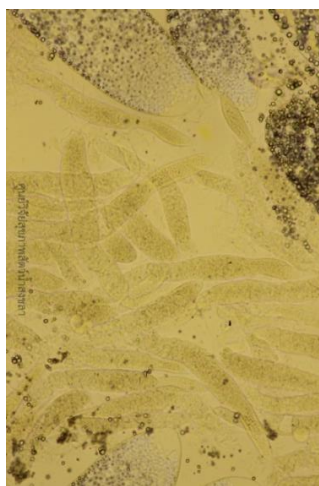
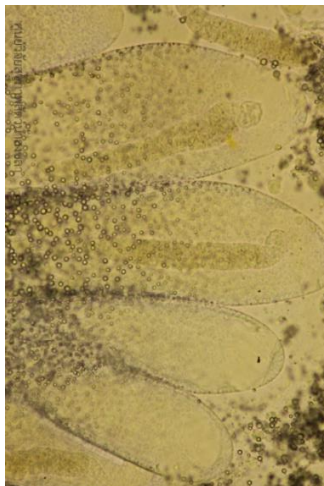
ภาพที่ 12 สีสับและตับอ่อน (Hepatopancreas) ของกุ้ง; (ก): ตับสีปกติ, (ข): ตับสีซีด



ภาพที่ 13 ตับและตับอ่อนผิดปกติ โดยมีลักษณะท่อตับคอดกัก



ภาพที่ 14 การเกิด melanization ในตับและตับอ่อน ของกุ้งวัยรุ่น/ พ่อแม่พันธุ์

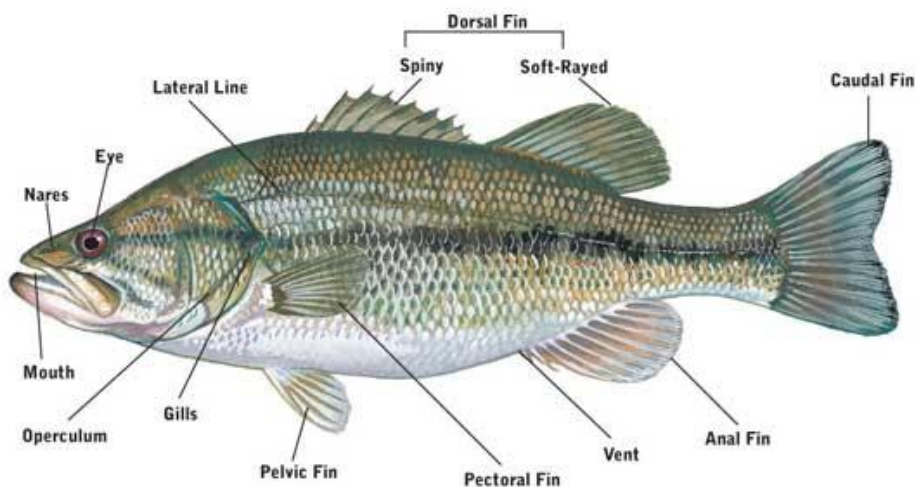


ภาพที่ 15 ความผิดปกติในตับและตับอ่อน โดยมีการหลุดลอกของเซลล์ Microvilli (ATM: Aggregated Transform Microvilli)

2.2 ปลาทะเล

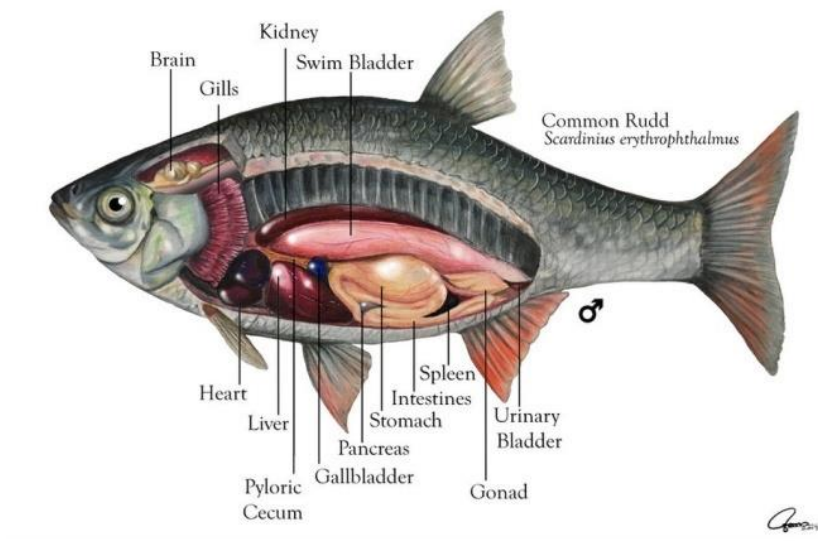
มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

- 1) นำตัวอย่างปลาทะเลที่มีชีวิตใส่ลงในภาชนะรองรับตัวอย่างของห้องปฏิบัติการ
 - 2) ติดตั้งอุปกรณ์การให้อากาศ (air pump) สำหรับแต่ละตัวอย่าง
 - 3) หยดน้ำเกลือ 1.5% (1.5% NaCl) หยดเล็ก ๆ ลงบนแผ่นสไลด์ จำนวน 4 แผ่นต่อหนึ่งตัวอย่าง (2 หยดต่อ 1 กระຈกสไลด์) สำหรับการตรวจการติดเชื่อปรสิตที่เมือก เหงือก ครีบหลัง และครีบอก
 - 4) ใช้สวิงตักปลาทะเลขึ้นมาวางบนภาดสำหรับเตรียมตัวอย่างที่ทำให้ความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70% เรียบร้อยแล้ว
 - 5) ใช้กระจกปิดสไลด์ชุดเมือกที่บริเวณลำตัวปลาตลอดความยาวของตัวปลา โดยเริ่มตั้งแต่บริเวณลำตัวเหนือครีบอก (dorsal fin) จนไปถึงปลายหาง เรียกเทคนิคนี้ว่า “skin scraping”
 - 6) จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์ดังกล่าว มาวางลงบนแผ่นสไลด์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3) จำนวน 1 แผ่น (2 ข้าง)
 - 7) แล้วจึงใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ด้วยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วลนไฟ เมื่อเย็นแล้ว จึงใช้กรรไกรที่ฆ่าเชื้อด้วยวิธีการเดียวกับปากคีบดึงแผ่นปิดเหงือกของปลา (operculum) ขึ้น แล้วใช้กรรไกรตัดบริเวณส่วนปลายของซี่เหงือกปลา (primary lamella) วางลงบนกระจกสไลด์ ที่เตรียมไว้ในข้อ 3) อีกจำนวน 1 แผ่น เรียกเทคนิคนี้ว่า “Gill biopsy” และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์
 - 8) ใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ด้วยการจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% แล้วลนไฟ เมื่อทิ้งให้เย็นแล้ว จึงนำไปตัดปลายครีบหลัง และครีบอก (pectoral fin) (ภาพที่ 16) มาวางลงบนกระจกสไลด์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3) อีกจำนวนอย่างละ 1 แผ่น และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์
 - 9) นำกระจกสไลด์ จำนวน 4 แผ่น ที่เตรียมไว้ข้างต้นไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์
- ดังแสดงรายละเอียดการเตรียมตัวอย่างปลาทะเลในภาพที่ 17



(ก) ที่มา www.dnr.sc.gov/fish/anatomy.html

Internal Anatomy of a Bony Fish



(ข) ที่มา www.ajgus.deviantart.com/art/Fish-Anatomy-706574106

ภาพที่ 16 อวัยวะภายนอกและภายในของปลา



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 17 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างปลาทะเลสำหรับการตรวจปรสิตภายนอกด้วยวิธี wet mount;

(ก) คือ การสุ่มตัวอย่างลูกปลากระพงขาว (ข) คือ ลักษณะการขูดเมือกบริเวณผิวหนังลำตัวปลา ด้วยเทคนิค skin scraping (ค) คือ ลักษณะการตัดเหงือกลูกปลากระพงขาว ด้วยเทคนิค gill biopsy และ (ง) คือ สไลด์ตัวอย่างเหงือกปลากระพงขาวที่เตรียมเสร็จแล้ว

2.3 สัตว์น้ำชายฝั่งอื่น ๆ

2.3.1 ปูทะเล มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ดังแสดงในภาพที่ 18) ดังนี้

- 1) นำตัวอย่างปูทะเลที่มีชีวิตใส่ลงในภาชนะรองรับตัวอย่างของห้องปฏิบัติการ
- 2) หยดน้ำเกลือ 1.5% (1.5% NaCl) หยดเล็ก ๆ ลงบนแผ่นสไลด์ จำนวน 2 แผ่นต่อหนึ่งตัวอย่าง (2 หยดต่อ 1 กระชกสไลด์) สำหรับการตรวจการติดเชื้อปรสิตที่เมือกและเหงือก
- 3) ใช้มือเปิดกระดองของปูออกอย่างเบามือจนเห็นเหงือก และอวัยวะภายใน (ภาพที่ 19)
- 4) ใช้กระชกปิดสไลด์ชุดเมือกที่บริเวณเหงือกของปู แล้วนำกระชกปิดสไลด์ดังกล่าว วางลงบนแผ่นสไลด์ที่เตรียมไว้ในข้อ 2
- 5) ใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์แล้ว ตัดบริเวณปลายเหงือกของปูแล้ววางลงบนแผ่นสไลด์อีกแผ่นที่เตรียมไว้แล้วในข้อ 2)



(ก)



(ข)



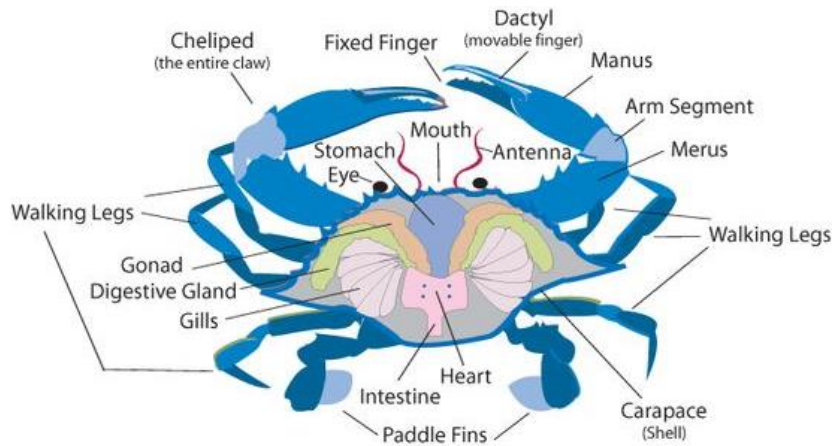
(ค)



(ง)

ภาพที่ 18 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างปู สำหรับการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อปรสิตภายนอก;
(ก-ค) คือ ขั้นตอนการเปิดกระดองของปู (ง) คือ ลักษณะเหงือกของปู

ที่มา: ดัดแปลงจาก <https://thewoksoflife.com/2013/09/cantonese-style-scallion-ginger-crab/>



ภาพที่ 19 ลักษณะภายนอกและอวัยวะภายในของปูทะเล

ที่มา: www.pinterest.com/pin/359865826455717331/

2.3.2 หอยทะเล มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ดังแสดงในภาพที่ 20) ดังนี้

- 1) นำตัวอย่างหอยทะเลที่มีชีวิตใส่ลงในภาชนะรองรับตัวอย่างของห้องปฏิบัติการ
- 2) หยดน้ำเกลือ 1.5% (1.5% NaCl) หยดเล็ก ๆ ลงบนแผ่นสไลด์ จำนวน 1 แผ่นต่อหนึ่งตัวอย่าง (2 หยดต่อ 1 กระจกสไลด์) สำหรับการตรวจการติดเชื้อปรสิตที่เกาะบริเวณเนื้อหอยและเหงือก
- 3) ใช้มีดหรือปากคีบค่อย ๆ เปิดเปลือกหอยให้ออกจากกัน โดยจะต้องระวังไม่ให้มีดไปโดนเนื้อเยื่อหรืออวัยวะของหอย (ภาพที่ 20)
- 4) ใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์แล้ว ตัดเหงือกของหอย (ภาพที่ 21) แล้ววางลงบนแผ่นสไลด์อีกแผ่นที่เตรียมไว้แล้วในข้อ 2)



(ก)



(ข)



(ค)

ที่มา: ดัดแปลงจาก www.topicstock.pantip.com/klaibann/topicstock/H2436646/H2436646.html



(ง)

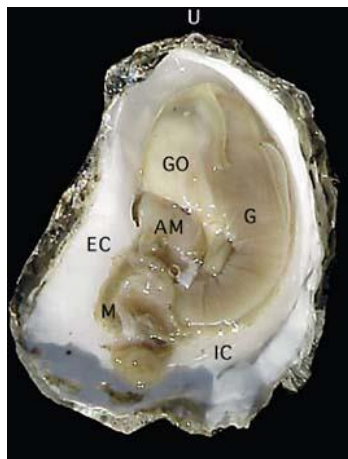


(จ)

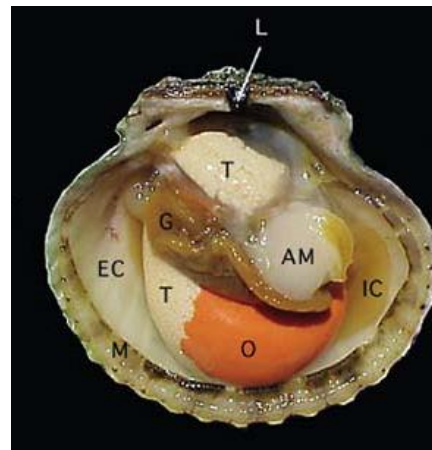


(ฉ)

ภาพที่ 20 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหอยทะเล สำหรับตรวจหาการติดเชื้อปรสิตภายนอก; โดยที่ ภาพ ก-ค คือ ลักษณะการเปิดเปลือกหอยแมลงภู ส่วนภาพ ง-ฉ คือ ลักษณะการเปิดเปลือกหอยแครง



(ก)



(ข)

ภาพที่ 21 ลักษณะอวัยวะภายในของหอยทะเล; โดยที่ (ก) คือ หอยนางรม (*Ostrea edulis*) และ (ข) คือ หอยเชลล์ (*Argopecten gibbus*) ซึ่ง AM หมายถึง adductor muscle; G หมายถึง เหงือก (gills); GO หมายถึง อวัยวะสืบพันธุ์ (gonad) โดย O - ovary และ T - testis; L หมายถึง ligament; M หมายถึง mantle ; U – umbo ; IC หมายถึง inhalant chambers และ EC หมายถึง exhalant chambers ตามลำดับ

ที่มา : ดัดแปลงจาก www.fao.org/docrep/007/y5720e/y5720e07.htm

ปรสิตภายนอกที่พบในสัตว์น้ำชายฝั่ง

ปรสิตที่พบในสัตว์น้ำ มีทั้งที่เป็นปรสิตภายนอกและปรสิตภายใน โดยที่ปรสิตภายนอก (external parasite หรือ ectoparasite) นั้น เป็นปรสิตที่อยู่ภายนอกตัวเจ้าบ้าน (host) เช่น ตามผิวหนัง ตัว เกล็ด ครีบ ช่องปาก ซีเหงือก เมื่อได้แก่ พวก protozoa monogene digene branchiura (เห็บปลา) copepod isopod (เหาปลา) amphipod annelid (ปลิง) เป็นต้น ส่วนปรสิตภายใน (internal parasite หรือ endoparasite) เป็นปรสิตที่อาศัยอยู่ในตัวเจ้าบ้าน โดยจะอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร ระบบท่อต่าง ๆ อวัยวะภายใน กล้ามเนื้อ กระแสเลือด น้ำเหลือง ช่องว่างต่าง ๆ ภายในร่างกายของเจ้าบ้าน สำหรับปรสิตในกลุ่มนี้ได้แก่ protozoa monogene digene cestode nematode acanthocephalan และ isopod (บางชนิด)

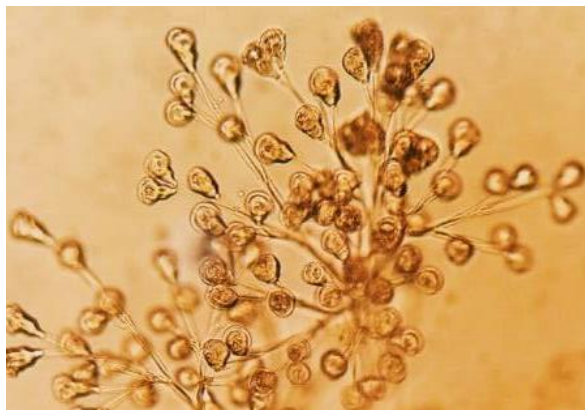
สำหรับคู่มือฉบับนี้ จะเป็นการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับปรสิตภายนอกชนิดต่าง ๆ ที่มักพบในสัตว์น้ำชายฝั่ง ซึ่งบางชนิดจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเกิดขึ้นกับสัตว์น้ำวัยอ่อน ทั้งนี้สามารถแบ่งกลุ่มของปรสิตที่พบในสัตว์น้ำออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1. ไฟลัมโปรโตซัว (Phylum Protozoa)

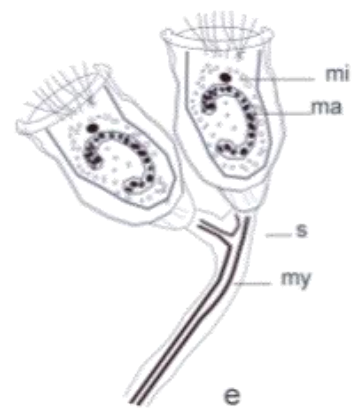
1.1 ซูโอแถมเนียม (*Zoothamnium* sp.)

เป็นโปรโตซัวในกลุ่ม Ciliated protozoa ชนิดหนึ่ง พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม โดยพบเกาะอยู่บริเวณอวัยวะภายนอก ได้แก่ เหงือก รยางค์ เปลือก และลำตัวของกุ้ง ปู ปลา และหอย บางครั้งพบลอยเป็นกลุ่มในน้ำหรือในบ่อคอนกรีตที่เลี้ยงแพลงก์ตอน มีคุณลักษณะเด่น คือ มีเซลล์ที่เรียกว่า zooid อยู่รวมกันเป็นช่อ ๆ เรียกว่า colony ด้วยก้าน (stalk) ที่มีเส้นในแกนกลางเชื่อมต่อกันตลอด เรียกว่า continuous myoneme ทำให้มีการเคลื่อนไหวของเซลล์เป็นแบบยึดหดตัวพร้อมกัน

ซูโอแถมเนียมจะแพร่กระจายไปได้ด้วยระยะที่ว่ายน้ำเป็นอิสระ (free living) พบการแพร่ระบาดในการเลี้ยงกุ้งทะเล ในพื้นที่ที่เลี้ยงกุ้งทั่วโลก นอกจากนี้ ยังสามารถพบซูโอแถมเนียมในการเพาะเลี้ยงปลาน้ำกร่อยได้เช่นกัน เช่น ลูกปลากะพงขาว ปลาทะกรับ และปลากะรัง โดยเฉพาะในบ่อที่มีอาหารเหลืออยู่มาก จะพบมีซูโอแถมเนียมเกาะอยู่ที่เหงือกปลา

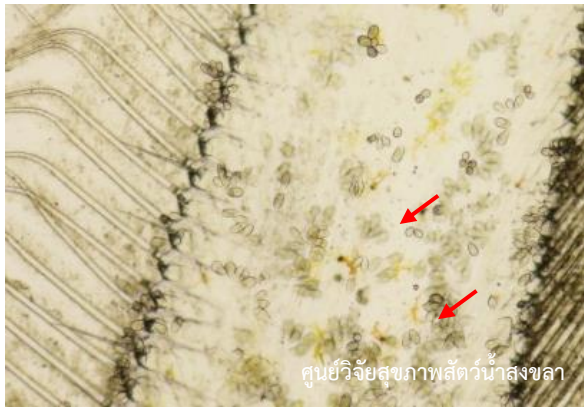


(ก)

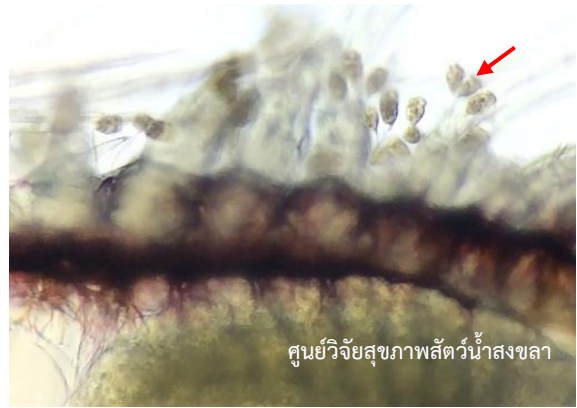


(ข)

ภาพที่ 22 ลักษณะของซูโอแถมเนียม (*Zoothamnium* sp.); โดย (ก) คือ ลักษณะการแตกช่อของซูโอแถมเนียม และ (ข) คือ ส่วนประกอบก้านช่อของซูโอแถมเนียม (mi: micronucleus, ma: macronucleus, s: stalk และ my: myoneme)



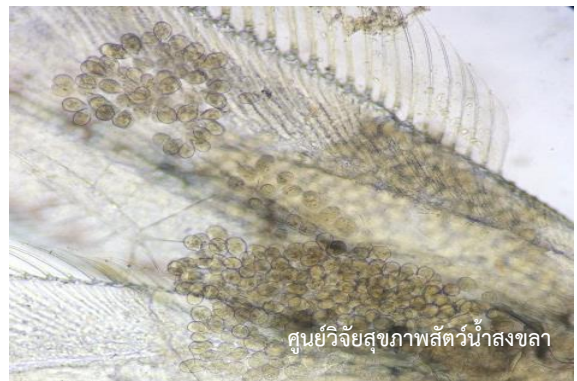
(ก)



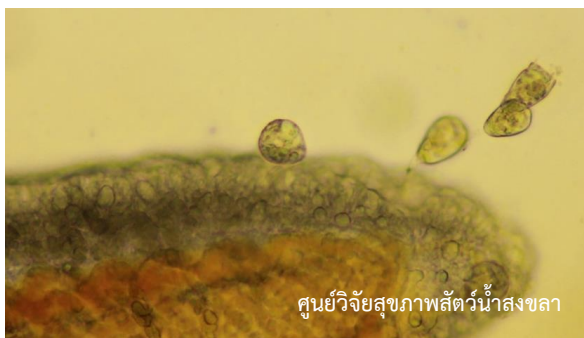
(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

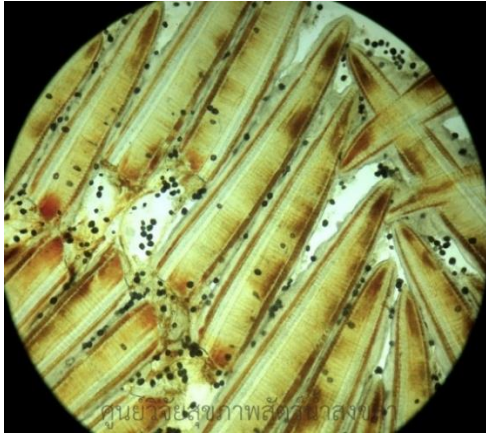
ภาพที่ 23 ลักษณะของ *Zoothamnium* sp. ที่เกาะอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์น้ำชายฝั่ง; (ก-ง) คือ *Zoothamnium* sp. ที่เกาะบริเวณรอยางค์ของกุ้งขาว และ (จ) คือ *Zoothamnium* sp. ที่เกาะเหงือกปลากระพงขาว

การป้องกันและการรักษา

การกำจัดปรสิตในกลุ่มซูโอแถมเนียมในโรงเพาะและอนุบาลสัตว์น้ำชายฝั่ง สัตว์น้ำที่เข้าสู่ระยะวัยรุ่นแล้วที่สามารถใช้ฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 25-40 ppm แช่ทั้งไว้ข้ามคืน แล้วจึงเปลี่ยนถ่ายน้ำ หรือในสัตว์น้ำที่โตขึ้นอาจใช้ฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 50-100 ppm แช่นาน 30 นาที ในกรณีสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือในบ่อดิน สามารถทำได้โดยลดปริมาณการให้อาหาร ทำความสะอาดพื้นบ่อ เปลี่ยนถ่ายน้ำ และเพิ่มการใช้จุลินทรีย์สำหรับย่อยสลายของเสียพื้นบ่อ รวมทั้งการใช้เครื่องให้อากาศให้เหมาะสม จะสามารถทำให้ปัญหาลดลงได้

1.2 โรคสนิมเหล็ก

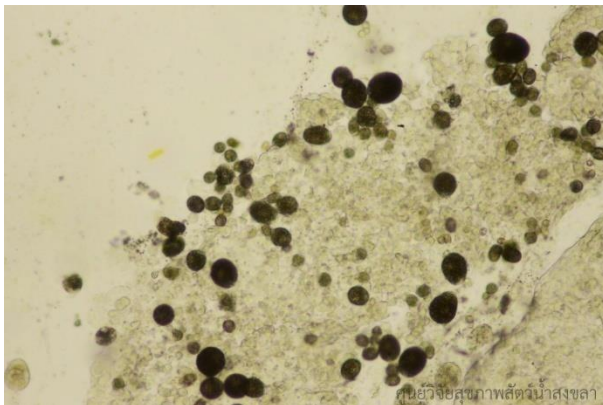
ปรสิตที่ทำให้เกิดโรคนี้ในปลาน้ำจืดมีชื่อว่า *Oodinium* sp. แต่ถ้าในปลาน้ำกร่อยหรือปลาทะเล มีชื่อว่า *Amyloodinium* sp. มีรูปทรงกลมหรือทรงกรวย มีก้าน (stalk) สั้นๆ นิวเคลียสใหญ่ มีรูปร่างกลมรี สีเหลืองปนน้ำตาลหรือเหลืองปนเขียว พบเกาะบริเวณซีเหงือกและผิวหนังของปลา ดูกินอาหารจากเจ้าบ้าน สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว 1 เซลล์สามารถแบ่งตัวอีกครั้งได้ 256 เซลล์ พบมากในลูกปลาขนาดเล็ก หากมีจำนวนมากทำให้ปลาตายได้



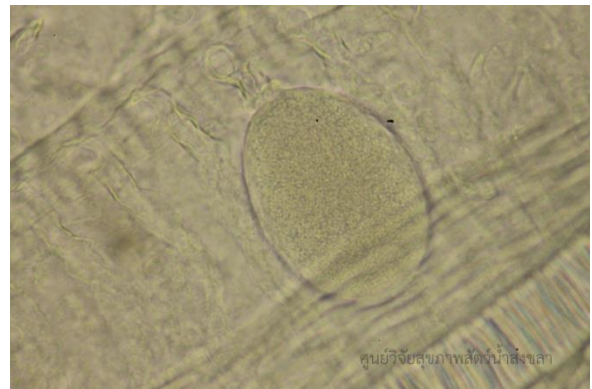
16ก



16ข



16ค



16ง

ภาพที่ 24 *Oodinium* sp.

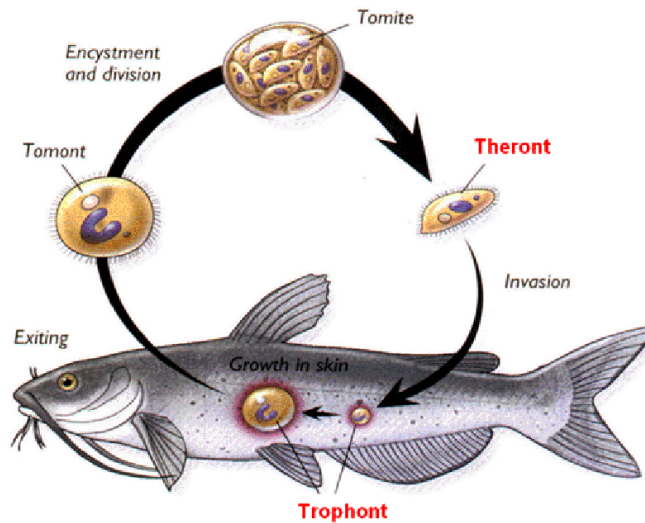
การรักษา

1. แช่ปลาในฟอร์มาลิน (37-40% formalin) 30-40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร นาน 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนน้ำใหม่ ถ้าอาการยังไม่ดีขึ้นให้เปลี่ยนน้ำแล้วทำซ้ำอีก ปลาที่ป่วยควรจะมีอาการดีขึ้นภายใน 3-4 วัน ในระหว่างการใช้ยาถ้ามีปลาตาย ควรตักออกจากตู้ให้หมด
2. เกลือแกง 1-5 กิโลกรัมต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่นาน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของปลา ถ้าปลาขนาดเล็กควรใช้เกลือน้อยกว่าปลาขนาดใหญ่

1.3 โรคจุดขาว (white spot disease)

ปรสิตที่ทำให้เกิดโรคจุดขาวในปลาน้ำจืดมีชื่อว่า *Ichthyophthirius multifiliis* แต่ถ้าทำให้เกิดโรคในปลาน้ำกร่อยหรือน้ำเค็มมีชื่อว่า *Cryptocaryon irritans* ปลาที่เป็นโรคจุดขาวรุนแรงจะพบจุดสีขาวขนาดเท่าปลายเข็มหมุดเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วลำตัวและครีบ *I. multifiliis* มีรูปร่างทรงไข่ มีขนรอบตัว มีนิวเคลียสเป็นรูปเกือกม้าขนาดใหญ่ เคลื่อนที่โดยหมุนรอบตัวเอง และเคลื่อนไปข้างหน้าอย่างช้าๆ หลังจากเจริญเติบโตภายใต้ผิวหนังของปลาระยะหนึ่ง เมื่อถึงระยะสืบพันธุ์ ตัวเต็มวัยจะออกจากตัวปลาและว่ายน้ำเป็นอิสระโดยใช้ซิเลียและเกาะกับวัตถุในน้ำแล้วสร้างเกราะหุ้มตัว ภายในเกราะจะมีการแบ่งตัว เมื่อแบ่งได้ตัวอ่อน 1,000-2,000 ตัว มีรูปร่างกลม มีขนรอบตัว เรียกว่า ciliospore ซึ่งต่อมาจะเจาะผนังออกมาว่ายน้ำเป็นอิสระ 2-3 ชั่วโมง ถ้าหากเข้าเกาะ host ไม่ได้ในระยนี้จะตาย (โดยมากไม่เกิน 3 วัน) แบ่งตัวเจริญได้รวดเร็วในที่มีออกซิเจนมาก วงจร

ชีวิตหนึ่งใช้เวลาประมาณ 3-8 วัน ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ น้ำ อุณหภูมิที่มีการขยายพันธุ์ได้ดี คือ 25-26 องศาเซลเซียส อาจใช้เวลาครบวงจรเพียง 7-8 ชม. เท่านั้น พบในปลาหลายชนิด เช่น ปลาสวาย ดุก ช่อน นิล ฯ



(ก) (ที่มา www.researchgate.net/publication/318317244_NEGATIVE_EFFECTS_OF_PARASITES_ON_FISH_FARMS_PRODUCTION)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 25 ปรสิตจุดขาว (*Cryptocaryon irritans*); (ก): วงจรชีวิต และ (ข-ค): ปรสิตจุดขาวเกาะที่เหงือกปลา

การรักษา

ทำได้ค่อนข้างยากถ้าอยู่ในระยะเข้าเกาะหรือฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเจ้าบ้าน แต่สามารถทำลายตัวอ่อน (tomite) ในน้ำหรือทำลายตัวแก่ขณะว่ายน้ำ (free living) ได้

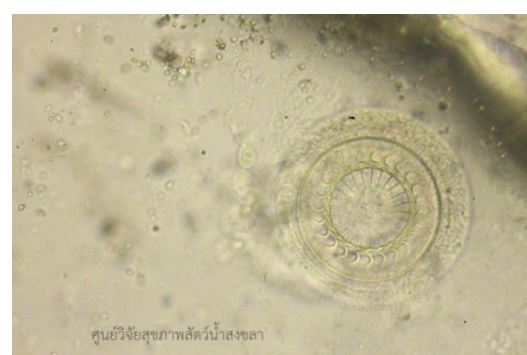
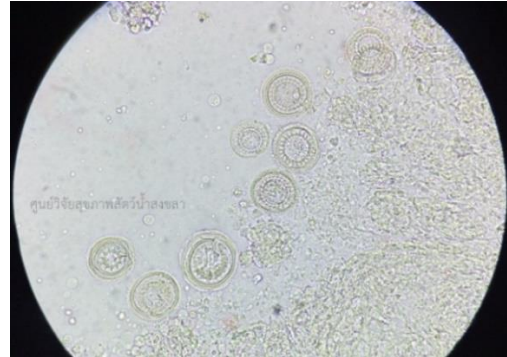
1. สำหรับปลาขนาดใหญ่ ใช้ฟอร์มาลิน 150-200 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่ไว้นาน 1 ชั่วโมง หรือ 25-50 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร นาน 24 ชั่วโมง
2. เกลือ ขนาด 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร สามารถกำจัดระยะที่อยู่ในน้ำได้ สามารถแช่ปลาได้ทั้งวัน
3. อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส จะทำให้เชื้ออ่อนแอลง และเร่งให้เชื้อเข้าสู่ระยะ tomite ซึ่งเป็นระยะที่อ่อนแอที่สุด และกำจัดง่ายขึ้น

การป้องกันการระบาดของโรค

1. ก่อนนำปลามาเลี้ยงควรนำมาขังไว้ในที่กักกันก่อน 7-10 วัน เพื่อตรวจดูว่ามีปรสิตติดมาหรือไม่ เมื่อแน่ใจแล้วว่าไม่มีปรสิตจึงนำไปเลี้ยงต่อ
2. ก่อนนำปลาลงเลี้ยง ให้ทิ้งน้ำไว้ 2-3 วัน เพราะปรสิตจะตายถ้าไม่มีเจ้าบ้าน
3. เมื่อปลาเป็นโรคควรย้ายปลาลออกจากบ่อเลี้ยง แล้วใส่ฟอร์มาลิน 100-150 มิลลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร ลงในบ่อเดิมทิ้งไว้ 10-12 ชั่วโมง เพื่อกำจัดปรสิตให้หมด แล้วจึงถ่ายน้ำทิ้งไป ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง

1.4 เห็บระฆัง

เป็นโปรโตซัวที่พบได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม เมื่อมองจากด้านข้าง ลักษณะคล้ายระฆัง/หมวก/ถ้วยคว่ำ ถ้ามองจากด้านล่างมีลักษณะวงกลม มีแผ่นยึดเกาะ (adhesive disc) คล้ายตะขออยู่ตรงกลางเรียงกันเป็นวงกลม เป็นปรสิตภายนอก เกาะอยู่ตามลำตัวและเหงือกปลา มีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา ทำให้ปลาเกิดแผลขนาดเล็กตามลำตัวและเหงือก ปลาที่มีปรสิตนี้เกาะ จะเห็นมีแผ่นสีขาวขึ้นตามตัว ถ้าเกิดตามบริเวณครีบจะทำให้ครีบเน่าและหลุดได้ ปลาที่มีเกล็ดจะทำให้เกล็ดหลุด การเกาะของเห็บระฆัง ทำให้ปลาระคายเคืองและยังทำอันตรายเนื้อเยื่อบริเวณนั้น เพราะตะขอที่ใช้เกาะตัวปลา จะทำให้ผิวหนังปลาเกิดเป็นแผล ซึ่งเป็นสาเหตุให้ติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราได้ ปรสิตกินเซลล์ผิวหนังและเมือกปลาเป็นอาหาร (กมลพรและสุปราณี, 2526)

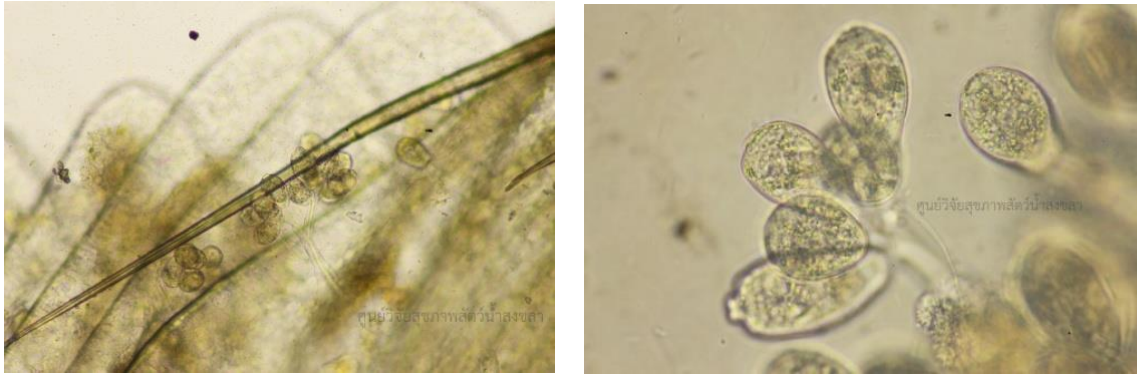


ภาพที่ 26 เห็บระฆัง (*Trichodina* sp.) ที่เหงือกและเมือกบนตัวปลา

การรักษา: ใช้ฟอร์มาลิน 25-30 มิลลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร นาน 24 ชั่วโมง

1.5 *Epistylis* sp.

เป็นปรสิตที่มีขน (cilia) มีลักษณะคล้ายกับซูโอแถมเนียม โดยมีรูปร่างเป็นแบบระฆังหงาย เซลล์มีขนเฉพาะด้านบนบริเวณที่คล้ายปากกระฆัง แต่ละตัวมีก้านสำหรับใช้ยึดติดกับวัตถุในน้ำแต่ยึดติดไม่ได้ เพราะภายในก้านไม่มี myonemes ขณะที่เซลล์แต่ละเซลล์สามารถยึดติดภายในตัวเองได้ เวลายึด-หลุดจะมองเห็นไปพร้อมกันในทิศทางเดียวกันทั้งกลุ่ม มักพบอยู่เดี่ยว ๆ หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม



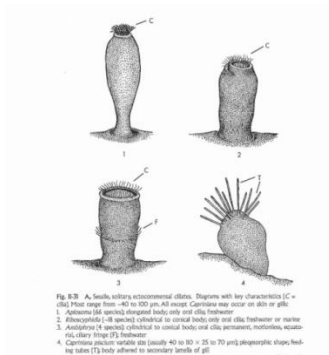
ภาพที่ 27 *Epistylis* sp. ที่อวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์น้ำ

ปรสิตในกลุ่ม *Epistylis* โดยส่วนใหญ่มักพบเป็นปัญหาในสัตว์น้ำจืด เช่น ปลาแฟนซีคาร์พ ปลาแรด ปลาตะเพียน และปลาช่อน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามก็พบว่าสามารถเกิดขึ้นในสัตว์น้ำชายฝั่งได้เช่นเดียวกัน เช่น ปลากะพงขาว โดยทำให้เกิดโรค Red sore โดยจะจับเกาะกับผิวหนัง เหงือก ครีบ หรือช่องปากของปลาทำให้เกิด hemorrhagic lesions มักจะชอบเกาะเนื้อเยื่อแข็งของร่างกาย เช่น ครีบ และเหงือก ส่วนใหญ่จะพบการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนในบริเวณเดียวกัน พบว่าบริเวณรอยโรคมีลักษณะเป็นขุย ๆ การก่อโรคมักเป็นแบบเรื้อรังแต่ก็มีบางกรณีที่เป็นแบบเฉียบพลัน หากมีการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนในกระแสเลือดร่วมด้วย

การป้องกันและการรักษา: ใช้ฟอร์มาลิน จำนวน 25-40 ซีซี ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่นาน 48 ชั่วโมง หลังจากแช่ยาแล้วถ้าปลายังมีอาการไม่ดีขึ้นควรเปลี่ยนถ่ายน้ำแล้วพักไว้ 1 วัน ก่อน จากนั้นจึงใส่ยาซ้ำอีก 1-2 ครั้ง แล้วสังเกตอาการปลาอีกครั้ง

1.6 *Scyphidia* sp.

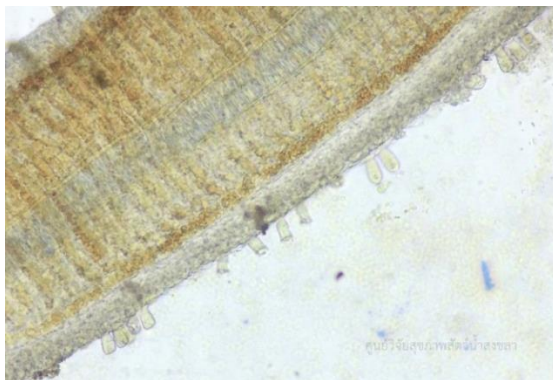
มีรูปร่างหลายแบบแล้วแต่ชนิด บางชนิดอวัยวะที่ยึดติดกับวัตถุในน้ำจะมีลักษณะคล้ายก้านยาว แต่บางชนิดไม่มีที่ยึด จะว่ายน้ำเป็นอิสระ พบอยู่ทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเล พบเกาะอยู่ตามซี่เหงือก เมือก ผิวตัว ครีบ ปลาและกุ้ง ทั้งน้ำจืดและทะเลโดยเฉพาะลูกปลาที่เลี้ยงกันหนาแน่น ทำให้เกิดหลุด หางหลุด ปลาจะขับเมือกออกมามาก เมือกสีนํ้าเงินหรือสีชมพูและขัดขวางการแลกเปลี่ยนแก๊สของเหงือก



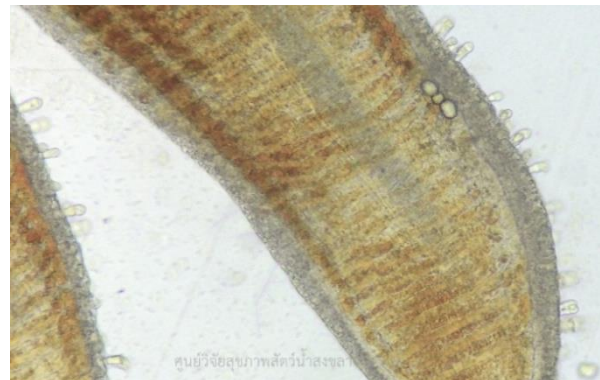
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

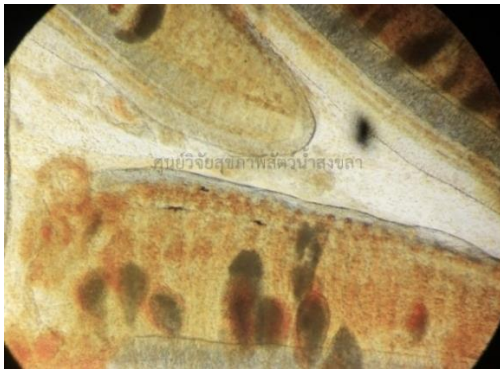
ภาพที่ 28 *Scyphidia* sp. เกาะที่เหงือกปลา

การรักษา

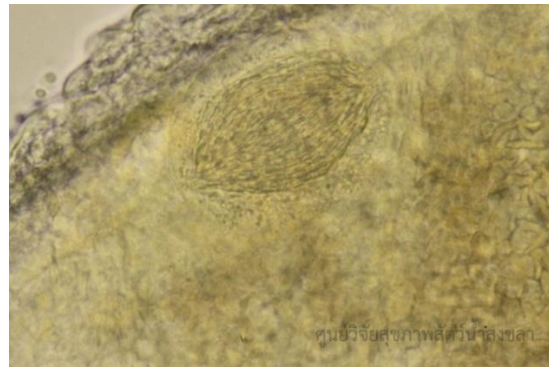
1. แช่ในฟอร์มาลิน 25-40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร นาน 48 ชั่วโมง หลังจากแช่ยาแล้วถ้าปลายังมีอาการไม่ดีขึ้นควรเปลี่ยนน้ำแล้วพักไว้ 1 วันก่อน จากนั้นใส่ยาซ้ำอีก 1-2 ครั้ง ปลาควรมีอาการดีขึ้นหลังจากการรักษา 2-3 วัน
2. ใช้เกลือเม็ด 1-5 กิโลกรัม ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่นาน 48 ชั่วโมง

1.7 มิกโซสปอร์ (Myxosporidia)

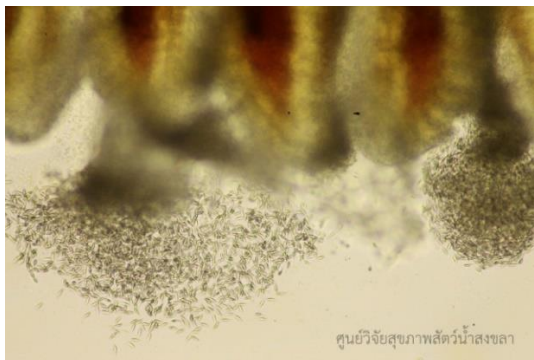
เป็นปรสิตที่สร้างสปอร์ มีรูปร่างแตกต่างกันออกไปแล้วแต่สกุล โดยทั่วไปแล้วจะมีฝา (valve) 2 อัน มีรูปรี่แบน และโค้ง มี polar capsule 1 2 หรือ 4 อันอยู่ภายในโพล่า การยึดเกาะของมิกโซสปอร์ทำให้สัตว์น้ำเกิดการระคายเคืองและเกิดแผล และขัดขวางการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนและตายได้ ปลาจะมีแผลซ้ำหรือมีตุ่มสีขาวขุ่นอมเหลืองอ่อนคล้ายเม็ดสาหร่ายบริเวณลำตัว พบสกุล *Henneguya* sp. อยู่ที่ซีเหงือกและลำตัว ปลาน้ำจืดหลายชนิด เช่น ปลาสวาย ปลาหมอไทย ปลานู และยังพบในปลาทะเลด้วย



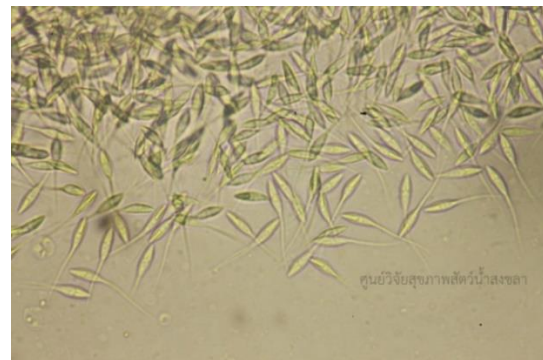
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

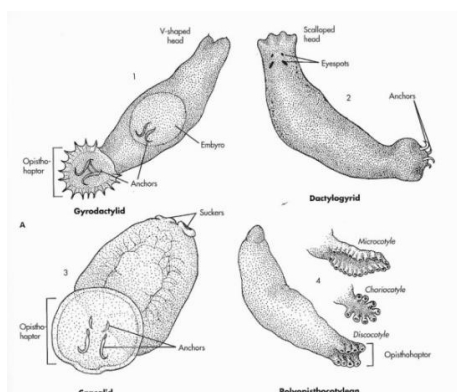
ภาพที่ 29 ปรสิตกลุ่ม Myxosporidia ชนิด *Henneguya* sp. อยู่ตามซี่เหงือกของปลา; (ก) และ (ข): cysts มิกโซสปอร์ที่ซี่เหงือกปลา; (ค) : มิกโซสปอร์ที่ออกมาจากออก cysts; และ (ง) *Henneguya* sp

การป้องกันและควบคุม

เนื่องจากมิกโซสปอร์เป็นปรสิตชนิดที่ฝังตัวเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อ จึงไม่สามารถใช้สารเคมีกำจัดได้ สำหรับสปอร์ที่หลุดออกจากเกราะแล้วอาจจะกำจัดได้โดยใช้สารเคมีชนิดเดียวกับการรักษาโรคจุดขาว ส่วนบ่อหลังจากจับปลาขึ้นหมดแล้ว ควรแช่ด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ [$\text{Ca}(\text{OCl})_2$] เข้มข้น แล้วทิ้งไว้ประมาณ 1 วัน จึงถ่ายน้ำออก และตากบ่อ จะช่วยกำจัดปรสิตที่หลงเหลืออยู่ได้หมด

2. Phylum Platyhelminthes

โมโนจีเนีย (class Trematoda; subclass Monogenea)



ภาพที่ 30 วงจรชีวิตของ monogenea

2.1 Family Gyrodactylidae

มีสีขาวใส ตัวโตเต็มที่ประมาณ 0.3-1 มม. ปลายหน้าสุดแยกเป็น 2 แฉก ไม่มี eye spot มี opisthaptor เป็นรูปถ้วยมี central hook 1 คู่ marginal hook หรือ hooklet 16 อัน ใช้เกาะติดกับเนื้อเยื่อ ปลาพบอยู่ตามผิวหนัง ครีบ เหงือกพบในปลาน้ำจืด และปลาทะเลบางชนิด ทำให้เกิดโรคที่เรียกว่า “skin flukes disease” ปรสิตทำให้เกิดบาดแผลบนเนื้อเยื่อ เกิดการอักเสบ บวม ปลาอ่อนเพลีย ทำให้เชื้อแบคทีเรียและรา เข้าแทรกทำลายต่อไป

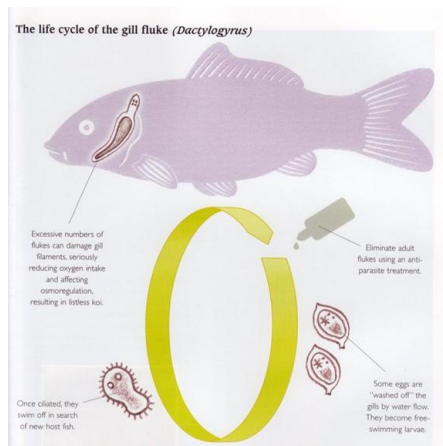


ภาพที่ 31 *Gyrodactylus* sp. เกาะที่ผิวหนัง และเหงือกปลา

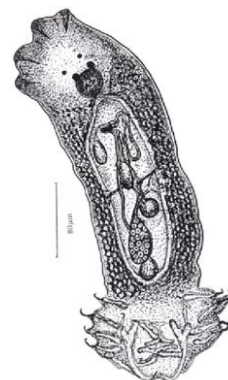
การรักษา: ใช้ฟอร์มาลิน 25-40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่นาน 24 ชั่วโมง

2.2 Family Dactylogyridae

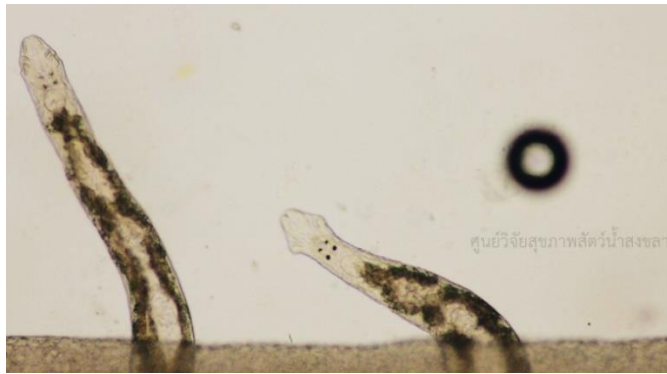
มี eye spot 2 คู่ central hook 1 คู่ marginal hook 14-16 อัน ปรสิตชนิดนี้จะวางไข่ที่เหงือกของปลา มีลักษณะเป็น cocoon ภายในมีตัวอ่อนมาก เมื่อ cocoon แตกออก ตัวอ่อนหลุดว่ายน้ำเป็นอิสระเพียง 18 ชั่วโมง ถ้าหาเจ้าบ้านที่เหมาะสมไม่ได้ก็จะตาย ปรสิตทำให้ปลาวัยน้ำมาสูบอากาศที่ผิวน้ำ เหงือกถูกทำลาย การแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนน้อย หายใจไม่สะดวก ถ้ามีปริมาณมากจะทำให้ขอบเหงือกหนา แผ่นปิดเหงือกเผยอ ปิดไม่สนิท ปลาจะตายเพราะขาดออกซิเจน



(ก)



(ข)



(ค)



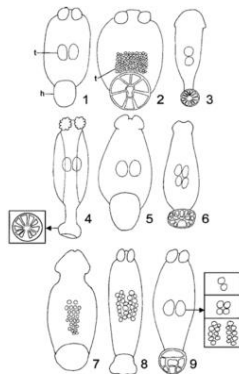
(ง)

ภาพที่ 32 แดคไทโรไจรัส (*Dactylogyrus* sp.); (ก) วงจรชีวิต; (ข) (ค) และ (ง) ปรสิตแดคไทโรไจรัส

การรักษา: ใช้ฟอร์มาลิน 25-40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่นาน 24 ชั่วโมง

2.3 Family Capsalidae

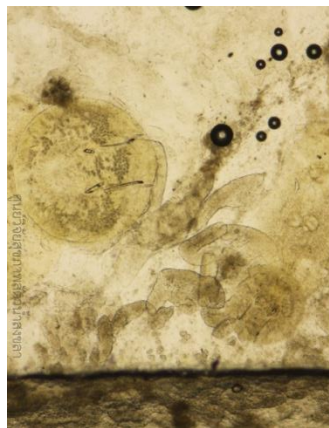
เป็นโมโนจีเนียที่มีขนาดใหญ่ 0.5-3 เซนติเมตร รูปร่างแบนกลม มี Opisthapter ทรงกลมขนาดใหญ่ 1 อัน มี hook 1 คู่ ไม่มี marginal hook พบเกาะตามตัว ครีบ เกล็ดทำให้เกล็ดหลุด ผิวหนังเป็นแผล เนื้อเยื่อฉีกขาด



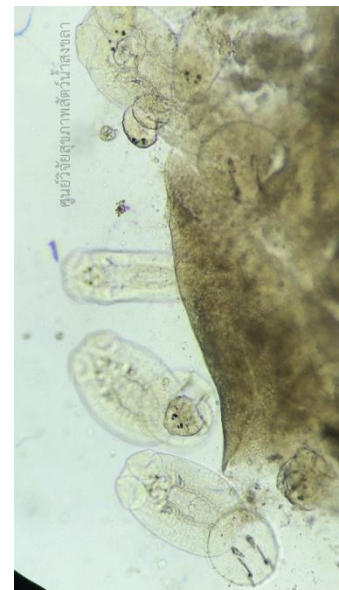
Figs. 1-9. Diagrammatic illustrations (not to scale) of the nine subfamilies comprising the Capsalidae Baird, 1853 in alphabetical order: Hapton (1) morphology (sagittal or ventral) and number (two, four or multiple) and arrangement of testes (2) are major characters that distinguish subfamilies. Haptonal sclerites and marginal valve are not depicted (but see Fig. 10). Fig. 1. Benediniinae. Fig. 2. Capsalinae. Fig. 3. Domesninae. Fig. 4. Eucyathinae. Fig. 5. Eusphallinae. Fig. 6. Tetra-subulminae. Fig. 7. Nitzschinae. Fig. 8. Pseudonitzschinae. Fig. 9. Trochopodinae. Boxed inserts for Figs. 4 and 9 clarify status for hapton and testes arrangement, respectively.

Diagram 1 Diagrammatic of the nine subfamilies Capsalidae

(ก)



(ข)



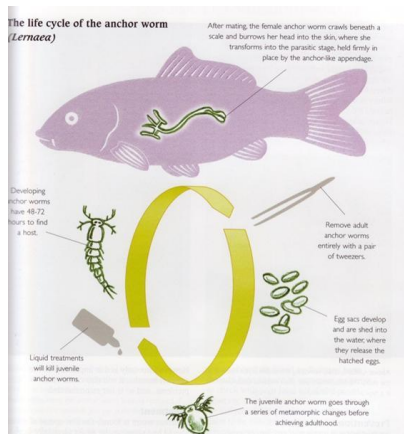
(ค)

ภาพที่ 33 โมโนจีน *Capsala* sp.; (ก) ลักษณะรูปร่างของ *Capsala* sp. (ข) และ (ค) คือ *Capsala* sp. ที่เมื่อกบนตัวปลา

การรักษา: ใช้ฟอร์มาลิน 25-40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แช่นาน 24 ชั่วโมง

3. หนอนสมอ (Anchor worms)

ส่วนหัวลักษณะคล้ายสมอ ลำตัวเป็นเส้นยาว 6-22 มม. ส่วนหัวใช้ยึดเกาะกับตัวปลาโดยแทงทะลุผิวหนังลึกถึงชั้นกล้ามเนื้อ พบในปลาน้ำจืด ทำให้มองเห็นเฉพาะส่วนลำตัว ตอนปลายมีถุงไข่อยู่ 1 คู่ ไข่ค่อนข้างกลมรี สีค่อนข้างเขียว ยาวประมาณ 0.1 มม. เมื่อไข่แก่เยื่อหุ้มไข่จะแตกออก ไข่ฟักออกเป็นตัวอ่อนระยะนาพลิซ (nauplius) แล้วลอกคราบไปเป็นระยะโคพีพอดิด (Copepodid) ซึ่งมี 6 ขั้ว ขั้วที่ 5 จะมีการแยกเพศเป็นตัวผู้ตัวเมีย ตัวเมียจะมีถุงไข่ เมื่อผสมพันธุ์กันตัวผู้จะตาย เมื่อตัวเมียลอกคราบพัฒนาไปเป็นขั้นที่ 6 จะใช้ปากเกาะตัวปลา ต่อมาปากจะสลายพร้อมกับเกิดสมอขึ้นเพื่อยึดเกาะปลาถาวรต่อไป ระยะนี้จะเกาะตัวปลาเพื่อกินเมือกตามตัวปลาเป็นอาหาร หนอนสมอตัวเมียวางไข่ที่พบเกาะอยู่ตามผิวหนังของปลา โดยเฉพาะบริเวณโคนครีบ หนอนสมอจะดูดเลือดและของเหลวในเนื้อเยื่อจากปลา บริเวณรอบๆ ที่มีหนอนสมอเกาะจะมีเลือดซึมออกมา เมื่อตัวเต็มวัยหลุดจะทำให้เกิดแผลและเป็นรูขึ้น เป็นเหตุให้แบคทีเรียและเชื้อราเข้าทำลายต่อไป ปลาที่มีหนอนสมอเกาะมักมีแผลตกลือตามลำตัว มีอาการระคายเคือง และพอมลงจนผิดปกติ จะว่ายน้ำผิดปกติ เอลำตัวสีข้างบ่อ กระโดดขึ้นลงบริเวณผิวน้ำ



(ก)

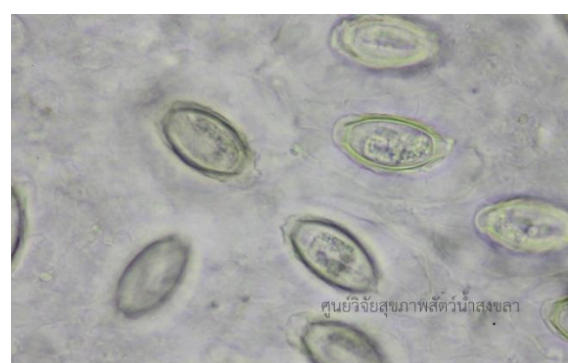
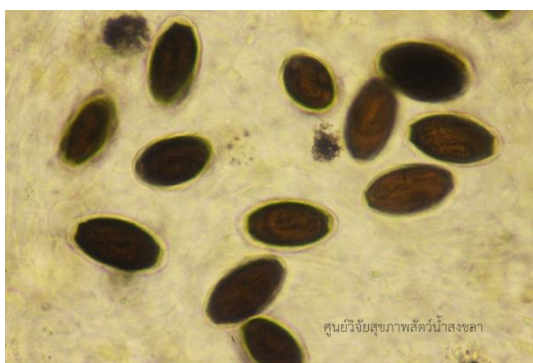


(ข)



(ค)

ภาพที่ 34 หนอนสมอ; (ก) วงจรชีวิต; (ข) ส่วนหัวของหนอนสมอ; และ (ค) ส่วนท้ายของหนอนสมอ



ภาพที่ 35 ลักษณะไข่ของหนอนสมอ



ภาพที่ 36 แสดงตัวอ่อนของหนอนสมอ

การรักษาและป้องกัน:

1. ควรฆ่าเชื้อโรคในบ่อนก่อนปล่อยปลา ถ้าปลาที่เลี้ยงมีหนอนสมอเกาะ ควรแช่ปลาในด่างทับทิมเข้มข้น 20 ppm แช่นาน 1.5-2 ชม. ที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส ซึ่งจะฆ่าหนอนสมอได้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย
2. ควรย้ายปลาที่มีหนอนสมอออกไปไว้ในถังอื่นประมาณ 3-4 สัปดาห์ เพื่อให้ตัวอ่อนที่เพิ่งออกเป็นตัวมี host ให้อาศัย มันก็จะตายลงไปเอง
3. ใช้เกลือแกงเข้มข้น 8,000-11,000 ppm แช่ปลาไว้ 3 วัน หรือความเข้มข้น 30,000-50,000 ppm แช่ปลานาน 1 ชั่วโมง ทำลายตัวอ่อน
4. ใช้ฟอร์มาลิน 250 ppm แช่ปลานาน 30-60 นาที ทำติดต่อกันทุกสัปดาห์ x ประมาณ 1 เดือน ทำลายตัวอ่อน
5. แช่ปลาในสารละลายไตรคลอโรฟอน ในอัตราส่วน 0.5 g ต่อน้ำ 1,000L นาน 24 ชม. แล้วเปลี่ยนน้ำ เว้นระยะ 5-7 วัน จึงแช่น้ำซ้ำอีก 2-3 ครั้ง
6. การกำจัดหนอนสมอในบ่อที่ไม่มีปลาอยู่แล้ว สามารถทำได้โดยละลายไตรคลอโรฟอน ในอัตราส่วน 2 กรัม ต่อน้ำ 1,000 ลิตร แล้วสาดลงไปให้ทั่ว ทิ้งไว้ 1-2 สัปดาห์

4. พยาธิใบไม้

พยาธิใบไม้ที่ทำให้เกิดโรคในปลา พบทั้งขณะที่เป็นตัวเต็มวัยและตัวอ่อน ตัวเต็มวัยจะพบในทางเดินอาหาร ไม่ค่อยทำอันตรายต่อปลาเท่าใดนัก ตัวอ่อนจะพบอยู่บริเวณซีเหงือก ในช่องท้อง และอวัยวะภายในต่างๆ ทำความเสียหายให้เนื้อเยื่อเหล่านั้น ในลูกปลา จะมีการกระพุงแก้มเปิดอ้าตลอดเวลา ว่ายน้ำทุรนทุราย ลอยตัวที่ผิวน้ำ ผอม เหงือกบวม อาจมองเห็นจุดขาวๆบริเวณเหงือกได้ และจะทยอยตาย

การป้องกันและรักษา:

1. ควรหลีกเลี่ยงการใช้ปุ๋ย เพราะอาจจะมีไข่ของพยาธิติดมา ถ้าหากจำเป็นต้องใช้ ควรตากให้แห้งอย่างดีก่อน
2. ตัดวงจรของพยาธิชนิดนี้ เช่น กำจัดหอยออกจากบ่อให้หมด โดยตากบ่อให้แห้งและโรยปูนขาวให้ทั่ว 30-50 กิโลกรัม/ไร่ หลังจากจับปลาขึ้นขายแล้วทุกครั้ง
3. ยังไม่มีวิธีรักษาหรือกำจัดตัวอ่อนของพยาธิที่อาศัยอยู่ในตัวปลา



ภาพที่ 37 ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่พบในเหงือกปลา

5. กลุ่ม Crustacean

5.1 เห็บปลา (Argulus sp.)

เป็นปรสิตที่อยู่ในกลุ่มอยู่ใน Crustacean ไฟลัม Arthropoda เกาะอยู่ตามลำตัว ครีบ หางและเหงือกของปลา มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีขนาดประมาณ 4 – 10 มม. ลำตัวกลมแบนกึ่งโปร่งใส จะเกาะที่ผิวครีบ แผ่นปิดเหงือก และใช้เข็มที่ปากแทงเข้าไปกินน้ำเลี้ยงของปลาซึ่งทำให้ปลาทกเลือด หรือเกิดแผลหลุม พบได้ทั่วไปทั้งในปลาน้ำจืดและน้ำเค็ม ในปลาที่เลี้ยงในบ่อและกระชัง ในปลาที่โตเต็มวัย ได้แก่ ปลาคาร์พ ปลากระพงขาว ปลาช่อนทะเล หากไม่รักษา ปลาจะทยอยตาย

การตรวจวินิจฉัย : gross sign, wet mount (ขูดเมือก และตัดเหงือก)

การป้องกัน/รักษา/กำจัด : กรองน้ำก่อนนำมาเลี้ยงปลา หากปลาดูดโรคแล้วให้แช่ในฟอร์มาลิน 250 ซีซี ต่อน้ำ 1,000 ลิตร นาน 30 นาที วันละครั้งติดต่อกันนานประมาณ 3 วัน



ที่มา: [www.koihealthandpondcare.co.uk/
portfolio_page/fish-lice/](http://www.koihealthandpondcare.co.uk/portfolio_page/fish-lice/)

ภาพที่ 38 เห็บปลา (Argulus sp.) เกาะที่ตัวปลา

5.2 เหาหน้า (*Caligus* sp.)

เป็นปรสิตในกลุ่มโคพิพอดซึ่งเป็นโรคหนึ่งที่เกิดในปลา พบในปลาธรรมชาติและปลาที่เลี้ยงทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม พบในปลาน้ำกร่อยทุกระยะแต่จะพบมากในบ่ออนุบาล และพ่อแม่พันธุ์ ปรสิตชนิดนี้อาศัยอยู่ในเหงือก ปาก แผ่นปิดเหงือก และใช้เข็มที่ปากแทงเข้าไปกินน้ำเลี้ยงของปลาซึ่งทำให้ปลาทกเลือด หรือเกิดแผลหลุม หากไม่รักษาปลาจะทยอยตาย นอกจากนั้นทำให้ปลาอ่อนแอและสามารถเหนียวน้ำให้เกิดโรคอื่นแทรกซ้อนได้



ที่มา : www.alchetron.com/Caligus#-

ที่มา: www.salmonexpert.cl

ภาพที่ 39 เหาหน้า (*Caligus* sp.) เกาะที่ตัวปลา

เหาหน้าเมื่อโตเต็มที่จะสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าเป็นจุดขาวเล็ก ๆ คล้ายหนอน ในขณะที่ตัวอ่อนจะอาศัยอยู่ในน้ำ

การตรวจวินิจฉัย : gross sign, wet mount (ขูดเหงือก และตัดเหงือก)

การป้องกัน/รักษา/กำจัด : สุ่มปลาตรวจก่อนเลี้ยง หากติดโรคให้แช่ในฟอร์มาลิน 250 ซีซี ต่อน้ำ 1,000 ลิตร นาน 30 นาที วันละครั้งติดต่อกันนานประมาณ 3 วัน

6. กรีการีน (*Gregarine* : *Nematopsis* sp.)

ปรสิตชนิดนี้เป็นโปรโตซัวกลุ่มกรีการีนที่อยู่ในกลุ่มไฟลัม Apicomplexa ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในสัตว์ พวกแมลงและหอยอย่างพึ่งพาอาศัยกัน *Nematopsis* มีการพัฒนาหลายระยะในเจ้าบ้านหลายชนิดเพื่อให้วงจรชีวิตสมบูรณ์ โดยหอยหรือหนอนปล้องเป็นเจ้าบ้านตัวกลาง มีกึ่งและปูเป็นเจ้าบ้านตัวสุดท้าย จึงทำให้รูปร่างของ *Nematopsis* ที่พบนั้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระยะ

ปรสิตกลุ่มนี้พบแพร่ระบาดทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ในสัตว์จำพวกหอย ได้แก่ หอยแครง (*Anadara granosa*), หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*), หอยกะพง (*Arcuatula arcuatula*) หอยลาย (*Paphia undulata*) และหอยสองฝาหลายชนิด พบ *Nematopsis* sp. ระยะ Oocysts โดยแทรกอยู่ที่เหงือกและเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของหอย หากมีปริมาณมากจะส่งผลต่อการแลกเปลี่ยนออกซิเจน และแย่งอาหารของหอยทำให้หอยตายได้ และทำให้เนื้อเยื่อเหงือกและเนื้อเยื่อบริเวณอื่น ๆ ของหอยเสียหาย มีภูมิคุ้มกันต่ำลงเกิดโรคแทรกซ้อนได้ง่าย

นอกจากนี้ในกุ้งและปูพบ *Nematopsis* sp. เป็นปรสิตที่อาศัยอยู่ภายในลำไส้หรือทางเดินอาหาร ยึดเกาะและทำลายผนังลำไส้ของกุ้งทำให้กุ้งอ่อนแอ มีภูมิคุ้มกันลดลงเป็นช่องทางให้เชื้อก่อโรคอื่นเข้าแทรกแซงได้ง่าย และอาจทำให้กุ้งเกิดการช้ำขาวและมีการเจริญเติบโตช้า



ภาพที่ 40 กรีการีน (*Nematopsis* sp.) ระยะ Oocysts ที่เหงือกของหอยแครง



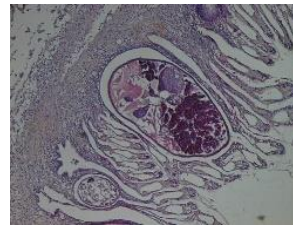
ภาพที่ 41 กรีการีน (*Nematopsis* sp.) ระยะ Trophoziod ในลำไส้ของกุ้ง

การป้องกัน/รักษา/กำจัด: ใช้กระเทียมสดบดละเอียดผสมอาหารให้สัตว์น้ำกิน 7 วัน ป้องกันโดยเตรียมบ่อให้ดี กำจัดและป้องกันหอยเข้ามาในบ่อ

7. เทอเบลลาเรีย (Turbellaria : *Urastoma* sp.)

เทอเบลลาเรียเป็นปรสิตกลุ่มหนอนตัวแบนที่พบได้ทั่วโลก พบในเหงือกของหอยทะเลสองฝา ประเทศไทยมีรายงานการพบในหอยแมลงภู่ ส่งผลต่อการแลกเปลี่ยนออกซิเจนและการใช้สารอาหารของหอยทำให้หอยตายได้ ปรสิตนี้เจริญเติบโตในพื้นที่ที่มีสารอินทรีย์สูง และส่วนใหญ่พบการแพร่ระบาดในพื้นที่ที่มีสภาพเสื่อมโทรมในช่วงฤดูร้อน

การป้องกัน/รักษา/กำจัด : ย้ายพื้นที่เลี้ยงหอยไปยังบริเวณที่มีสารอินทรีย์น้อย



ภาพที่ 42 เทอเบลลาเรีย (*Urostoma* sp.) ที่เหงือกของหอยแมลงภู

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2553. การป้องกันและกำจัดโรคปลา. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2553. 33 หน้า
- กิจการ ศุภมาตย์, สาวิตรี ศีลาเกษ, วุฒิพร พรหมขุนทอง และสิทธิ บุญยรัตผลิน. 2539. เอกสารคำสอนวิชา 530-331 โรคและพยาธิปลา (Fish Disease and Parasites). 209 หน้า.
- นรสิงห์ เพ็ญประไพ, อีรวิทย์ เลิศสุทธิवाल, มาโนช ขำเจริญ, กิตติชนม อุเทนพะพันธุ และกิจการ ศุภมาตย์. 2552. ชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตมิโกสปอร์เรียในปลาเศรษฐกิจของจังหวัดตรัง. วารสารวิจัย เทคโนโลยีการประมง ปีที่ 3 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2552.
- นิติ ชูเชิด. 2559. EHP ภัยมืดในกุ้งขาว. หนังสือประกอบการสัมมนา งานวันกุ้งจันทะวันออกแฟร์. บรรยายงาน วันกุ้งจันทะวันออกแฟร์ ครั้งที่ 20 23 มกราคม 2559.
- ภาศิริ ศรีโสภณภรณ์. 2538. โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์รวีเขียว. 190 หน้า.
- สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง. 2550. โรคและการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง (กุ้งทะเล/ปลาทะเล). โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 55 หน้า
- Aldama-Cano DJ, Sanguanrut P, Munkongwongsiri N, Ibarra-Gómez JC, Itsathitphaisarn O, Vanichviriyakit R, Flegel TW, Sritunyalucksana K, Thitamadee S. 2018. Bioassay for spore polar tube extrusion of shrimp *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). *Aquaculture* 490:156-61.
- Edward, J. N. 1996. Fish Disease Diagnosis and Treatment. North Carolina State University. 367 p.
- Josileen, Jose. 2015. Classification, Biodiversity and Conservation of Marine Crabs. (Teaching Resource). http://eprints.cmfri.org.in/10418/1/13_Josileen_Jose1.pdf
- Ossiander, F.J. and Wedermeyer, G. 1973. *Journal Fisheries Research Board of Canada* 30: 1383-1384.
- Tuntiwaranuruk, C., Chalermwat, K., Upatham, E. S., Kruatrachue, M., & Azevedo, C. 2004. Investigation of Nematopsis spp. oocysts in 7 species of bivalves from Chonburi Province, Gulf of Thailand. *Diseases of Aquatic Organisms*, 58, 47-53.