



โรคอุบัติใหม่ในปลานิล: Tilapia Lake Virus Disease (TiLVD)

สำราญ บรรณจิริกุล^{1, #}¹คลินิกสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร หนองจอก กรุงเทพมหานคร 10530

บทคัดย่อ: Tilapia lake virus disease (TiLVD) จัดเป็นโรคอุบัติใหม่ในปลานิล (*Oreochromis* spp.) มีการรายงานในหลากหลายภูมิภาคของโลก โดยมีสาเหตุจาก Tilapia lake virus (TiLV) อยู่ในกลุ่ม Orthomyxo-like virus การสูญเสียในฟาร์มปลานิลและปลานิลแดงพบในช่วงหลังจากการเคลื่อนย้ายลูกปลาเล็กเลี้ยงในกระชังช่วงเดือนแรก จึงมีการเรียกความเสียหายนี้ว่า tilapia one month mortality syndrome ปลานิลที่ติดเชื้อ TiLV พบการอักเสบบริเวณแผ่นปิดเหงือกและผิวหนังลอกหลุดบริเวณโคนหาง การตรวจวินิจฉัยด้วย semi-nest RT-PCR ได้รับการพัฒนาให้มีความไวในการตรวจ มาตรการควบคุมการเคลื่อนย้ายปลานิลจากสถานที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ การพัฒนาวัคซีน หรือสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อเชื้อไวรัสอาจพิจารณาใช้ในการควบคุมป้องกันโรค

คำสำคัญ: โรคอุบัติใหม่, Tilapia lake virus disease, TiLVD, ปลานิล

[#]ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2561. 13(1): 77-83.

E-mail address: sumrarn@mut.ac.th

Emerging Disease in Tilapia: Tilapia Lake Virus Disease (TiLVD)

Sumrarn Bunnajirakul^{1,#}

¹Aquatic Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine,
Mahanakorn University of Technology, 140 Cheum-samphan road, Nongchok, Bangkok 10530 Thailand

Abstract: Tilapia lake virus disease (TiLVD) was reported as an emerging disease in tilapia (*Oreochromis* spp.) in various regions of the world. TiLV is classified in Orthomyxo-like virus group. Mortality rate was found on fingerling of Nile and red tilapia after cage rearing during the first month, tilapia one month syndrome was named for this loss. Affected fish revealed inflammation of the operculum and tail erosion. The developed semi-nested PCR showed more sensitivity response for detection TiLV. Restriction of fish movement, development of vaccine and TiLV resistant tilapia strains should be considered as disease control program.

Keywords: Emerging disease, Tilapia lake virus disease, TiLVD, Tilapia

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2018. 13(1): 77-83.

E-mail address: sumrarn@mut.ac.th

บทนำ

การอุบัติใหม่ของโรคไวรัสที่สำคัญทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น โรคเค เอช วี (KHV infection) โรค Koi sleepy disease ที่มีการรายงานในตระกูลปลาแคร์พ (Bunnajirakul, 2017) ส่วนการเลี้ยงปลานิลมีการรายงานในหลากหลายภูมิภาคของโลก โดยอาจพบอัตราการตายสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลกระทบในวงกว้างต่อผลผลิตเป็นอย่างมาก (Eyngor *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2017) ซึ่งความสามารถในการผลิตปลานิลรวมทั้งโลกในปี ค.ศ.2014 ประมาณ 4.5 ล้านเมตริกตันด้วยมูลค่าปัจจุบันเกินกว่า 7.5 พันล้านเหรียญสหรัฐฯ (FAO, 2014) สำหรับประเทศไทยมี

ผลผลิตจากปลานิล (*Oreochromis* spp.) ที่คิดเป็นมูลค่าทางเศรษฐกิจรองมาจากการเลี้ยงกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ทำรายได้มากกว่า 45 % ของผลผลิตรวมทั้งประเทศจากปลาน้ำจืดของไทย (Bhujel 2011; DOF 2014) สถานการณ์ในประเทศไทยพบความเสียหายปลานิลแดงระยะปลาขนาดเล็ก (fingerlings) เลี้ยงในกระชังประมาณ 1 เดือน นอกจากนั้นมีรายงานในโรงเพาะฟักลูกปลานิลเช่นกัน ซึ่งไม่ตอบสนองการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ รวมทั้งมีการนำเข้าลูกปลาจากหลายแหล่งเพาะฟักมาเลี้ยงรวมกัน (Dong *et al.*, 2017) ดังนั้นการติดตามสถานการณ์ของโรคอุบัติใหม่ ตัวอย่างเช่น Tilapia lake virus disease จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับ

การควบคุมป้องกันสุขภาพสัตว์ภายในประเทศและ
ภูมิภาคใกล้เคียง

สาเหตุ

Tilapia lake virus (TiLV) อยู่ใน กลุ่ม
Orthomyxo-like virus จัดเป็น novel segmented
single-stranded RNA virus ที่ประกอบด้วย 10
genome segments แต่ละ segments มีความยาว
ระหว่าง 456 ถึง 1641 nucleotides และ genome
total size มีความยาว 10,323 kb (Bacharach *et al.*, 2016; Del-Pozo *et al.*, 2017) virion particle
มีรูปร่างกลมและเปลือกหุ้ม เส้นผ่านศูนย์กลาง
ประมาณ 60 - 80 nm (Tattiyapong *et al.*, 2017)
จากการตรวจวิเคราะห์ nucleotide sequence

เทียบระหว่าง TiLV และ Syncytial Hepatitis virus
(SHV) ที่มีการระบาดของฟาร์มปลานิลในประเทศ
Ecuador พบว่ามีความคล้ายคลึงกันมาก (Ferguson
et al., 2014; Del-Pozo *et al.*, 2017)

ระบาดวิทยา

การระบาดของ TiLV มีรายงานการระบาดครั้ง
แรกในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลานิล ของประเทศอิสราเอล
(Eynngor *et al.*, 2014) ต่อมาไวรัสชนิดนี้มีการพบใน
ภูมิภาคอื่นๆ เช่น เอกวาดอร์ โคลัมเบีย อียิปต์ และ
ประเทศไทย (Bacharach *et al.*, 2016; Fathi *et al.*, 2017; Kembou Tsofack *et al.*, 2017;
Surachetpong *et al.*, 2017)



รูปที่ 1 แสดงพื้นที่รายงานการพบของ tilapia lake virus (TiLV) ในแต่ละภูมิภาคที่มีการเคลื่อนย้ายลูกปลา
นิล โดย ★ มีการรายงานการพบเชื้อไวรัส ⚙ แสดงความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง และ ▲ แสดงความเสี่ยงต่อ
การติดเชื้อต่ำ (ดัดแปลงจาก Dong, *et al.* 2017)

การสูญเสียในฟาร์มปลานิลและปลานิลแดง ประเทศไทยมีรายงานช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2558-2560 พบอัตราการตายสะสมอยู่ในช่วง 20-100 % ซึ่งช่วงอายุของปลาที่ตายเกิดในช่วงลูกปลาเล็กที่มีการเคลื่อนย้ายจากโรงเพาะฟักมาทำการเลี้ยงในบ่อดินหรือกระชัง ประกอบกับการรายงานการพบเชื้อ TiLV ในปลาที่ป่วยหนัก (moribund fish) จึงทำให้มีการรายงานความสูญเสียนี้ในชื่อ tilapia one month mortality syndrome (Surachetpong *et al.*, 2017)

อาการทางคลินิก

ปลานิลที่ติดเชื้อ TiLV แสดงอาการเฉื่อยชา และสภาพร่างกายผอมลง พฤติกรรมการว่ายน้ำ

ผิดปกติ ร่วมกับภาวะโลหิตจางอย่างรุนแรง ตาขาวโปนทั้งสองด้าน ส่วนของเลนส์มีการขุ่น ในรายที่ติดเชื้อรุนแรงอาจพบการลอกหลุดของเลนส์ตา รอยโรคที่ผิวหนังเกิดแผลแบบลอกหลุด จุดเลือดออก เกสิดั้ง ร่วมกับช่องท้องขยายใหญ่ นอกจากนั้นบริเวณเยื่อหุ้มสมองส่วน leptomeninges และ ม้ามพบจุดเลือดออก (Eynigor *et al.*, 2014; Surachetpong *et al.*, 2017)

ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่มีการรายงานบริเวณสมอง ตา และตับ โดยส่วนสมองพบการบวม น้ำ จุดเลือดออกในชั้น leptomeninges มีการคั่งเลือดในหลอดเลือดฝอยของส่วน white และ grey matter ร่วมกับ neural degeneration อาจพบ foci of gliosis และ perivascular cuffs of



รูปที่ 2 แสดงรอยโรคจากการติดเชื้อในปลานิลแดง red tilapia แสดงลักษณะการอักเสบบริเวณแผ่นปิดเหงือกและผิวหนังลอกหลุดบริเวณโคนหาง (Photographs courtesy of Visanu Boonyawiwat)

lymphocytes ส่วนของตาพบการลอกหลุด lenticular capsule ร่วมกับภาวะ cataract ตับพบ hepatocellular swelling ม้ามมีการเพิ่มขนาดและจำนวนของ lymphocytes นอกจากนั้น Melanomacrophage centres (MMCs) มีการเพิ่มขนาดและจำนวนทั้งในตับและม้าม จากการตรวจเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบ orthomyxo-like virus ภายในเซลล์ที่ติดเชื้อของ hepatocytes ซึ่งเป็นการยืนยันภาวะ syncytial hepatitis (Eyngor *et al.*, 2014; del-Pozo *et al.*, 2016)

การตรวจวินิจฉัย

การสืบสวนโรคจากประวัติการป่วยและอัตราการตายในกลุ่มปลานิล (tilapia species) ที่มีรอยโรคบริเวณตา เช่น ภาวะเลนส์ตาขุ่น ร่วมกับการชันสูตรซากพบผิวหนังลอกหลุด จุดเลือดออกในชั้น leptomeninges และมีการคั่งเลือดในส่วนของม้าม ไต

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น (Presumptive test methods) เชื้อ TiLV สามารถเจริญใน primary tilapia brain cells หรือ E-11 cell line, ซึ่งจะให้ cytopathic effect ที่เวลา 5-10 วัน (Eyngor *et al.*, 2014) นอกจากนั้น Tsofack *et al.* (2016) ได้ทำการปรับสภาพที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงของเชื้อ TiLV ให้ดีขึ้น

การตรวจยืนยัน (Confirmatory test methods) มีการออกแบบและพัฒนา PCR primer set ที่ใช้ในการตรวจด้วยวิธี reverse transcriptase (RT) PCR (Eyngor *et al.*, 2014) ซึ่งผลการตรวจยังมีความแม่นยำน้อย จึงมีการพัฒนาวิธี nested RT-PCR ให้มีความแม่นยำและความไวต่อเชื้อมากขึ้น (Tsofack *et al.*, 2016) ปัจจุบันขบวนการตรวจวินิจฉัยด้วย

semi-nested RT-PCR ได้รับการพัฒนาให้มีความไวในการตรวจมากกว่าวิธี nested RT-PCR โดยสามารถตรวจที่ 7.5 viral copies per reaction ได้ (Dong *et al.*, 2017)

การควบคุมป้องกัน

มาตรการควบคุมการเคลื่อนย้ายปลานิลจากสถานที่เพาะเลี้ยงหรือฟาร์มที่มีการพบเชื้อไวรัสนี้จัดเป็นสิ่งเร่งด่วนเพื่อลดการแพร่กระจายของโรคในวงกว้างขึ้น การป้องกันด้วยระบบความปลอดภัยชีวภาพ (biosecurity measures) ด้วยความเข้มงวดในส่วนของการอุปการณ์ ยานพาหนะ เน้นการทำความสะอาด การใช้สารกำจัดเชื้อที่มีประสิทธิภาพ

การพัฒนาวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันการติดเชื้อหรือการพัฒนาสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อเชื้อไวรัสอาจพิจารณาใช้ในการจัดการโรค (Ferguson *et al.*, 2014) ทั้งนี้ระบบการพัฒนาสายพันธุ์จำเป็นต้องคัดเลือกจากสายพันธุ์ต่างๆของปลานิลที่มีความไวต่อการติดเชื้อไวรัสน้อยที่สุด

References

- Bacharach, E., Mishra, N., Briesse, T., Zody, M.C., Kembou Tsofack, J.E., Zamostiano, R., Berkowitz, A., Ng, J., Nitido, A., Corvelo, A., Toussaint, N.C., Abel Nielsen, S.C., Hornig, M., Del Pozo, J., Bloom, T., Ferguson, H., Eldar, A., Lipkin, W.I., 2016. Characterization of a novel Orthomyxo-like virus causing mass die-offs of tilapia. MBio 7 (e00431-00416).
- Bacharach, E., 2017. Detection of Tilapia Lake virus in clinical samples by culturing

- and nested reverse transcription-PCR. J. Clin. Microbiol. 55: 759–767.
- Bhujel, R.C., 2011. Tilapia Farming Faces Expansion Issues in Thailand. Global Aquaculture Advocate. May/June.
- Bunnajirakul, S., 2017. Koi sleepy disease. J. Mahanakorn Vet. Med. 12(1): 29-34.
- Del-Pozo, J., Mishra, N., Kabuusu, R., Cheetham, S., Eldar, A., Bacharach, E., Lipkin, W.I., Ferguson, H.W., 2017. Syncytial hepatitis of tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) is associated with Orthomyxovirus-like virions in hepatocytes. Vet. Pathol. 54: 164–170.
- DOF, 2014. Fisheries Statistics of Thailand: Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- Dong, H.T., Ataguba, G.A., Khunrae P., Rattanaojpong, T. and Senapin S. 2017. Evidence of TiLV infection in tilapia hatcheries from 2012 to 2017 reveals probable global spread of the disease. Aquaculture. 479: 579–583.
- Eyngor, M., Zamostiano, R., Tsofack, J. E. K., Berkowitz, A., Bercovier, H., Tinman, S., Lev, M., Huryitz, A., Galeotti, M., 7 Eldar, A. 2014. Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. J. Clin. Microbiol. 52(12): 4137–4146.
- FAO. 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations (Vol. 2014). <https://doi.org/92-5-105177-1>
- Fathi, M., Dickson, C., Dickson, M., Leschen, W., Baily, J., Muir, F., Ulrich, K., Weidmann, M., 2017. Identification of Tilapia Lake Virus in Egypt in Nile tilapia affected by ‘summer mortality’ syndrome. Aquaculture. 473: 430–432.
- Ferguson, H.W., Kabuusu, R., Beltran, S., Reyes, E., Lince, J.A., del Pozo, J., 2014. Syncytial of farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): a case report. J. Fish Dis. 37: 583–589.
- Kembou Tsofack, J.E., Zamostiano, R., Watted, S., Berkowitz, A., Rosenbluth, E., Mishra, N., Brieze, T., Lipkin, W.I., Kabuusu, R.M., Ferguson, H., Del Pozo, J., Eldar, A., Bacharach, E., 2017. Detection of Tilapia Lake virus in clinical samples by culturing and nested reverse transcription-PCR. J. Clin. Microbiol. 55: 759–767.
- Surachetpong, W., Janetanakit, T., Nonthabenjawan, N., Tattiyapong, P., Sirikanchana, K., Amonsin, A., 2017. Outbreaks of tilapia lake virus infection, Thailand, 2015–2016. Emerg. Infect. Dis. 23: 1031–1033.
- Tattiyaponga, P., Dachavichitleada, W., Surachetpong, W. 2017. Experimental infection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and

red tilapia (*Oreochromis* spp.)

Veterinary Microbiology. 207: 170–177.

Tsofack, J. E. K., Zamostiano, R. Watted, S., Berkowitz, E., Mishra, N., Briesse, T., Lipkin, W.I., Kabuusu, R.M., Ferguson, H., del Pozo, J., Eldar, A., and Bacharach, E. (2016) Detection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in Clinical Samples by Culturing and Nested RT-PCR. J. Clin. Microbiol. JCM.01808-16; Accepted manuscript posted online 14 December 2016, doi:10.1128/JCM.01808-16.

