บทความวิชาการ

สัตวแพทย์มหานครสาร

JOURNAL OF MAHANAKORN VETERINARY MEDICINE

Available online: www.tci-thaijo.org/index.php/jmvm/

โรคไมโครสปอริดิโอซิสในปลา

สำราญ บรรณจิรกุล[1,#]

[1]คลินิกสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร 140 ถนนเชื่อมสัมพันธ์ หนองจอก กรุงเทพมหานคร 10530

บทคัดย่อ: Microsporidia สามารถก่อโรคในปลา เช่น ปลาม้าลาย ปลาสวยงามกลุ่มนีออน ปลาไหลญี่ปุ่น การติดต่อผ่านการสัมผัสโดยตรง ปลาที่ติดเชื้อแบบเรื้อรัง มีลักษณะซูบผอมร่วมกับภาวะ spinal deformities เช่น lordosis หรือ scoliosis พบการสะสมของ spore จำนวนมากในเนื้อเยื่อ วิธีการตรวจมาตรฐานสำหรับยืนยันใช้ transmission electron microscopy ในการระบุลักษณะของ polar filament และโครงสร้างภายในของ spore ควรมีระบบการบำบัดน้ำที่ดี การฆ่าเชื้อด้วยแสง ultraviolet รวมทั้งการกำจัดพาหะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดการติดเชื้อภายในฟาร์ม

คำสำคัญ: Microsporidia, Infection, Fish

[#]ผู้รับผิดชอบบทความ

E-mail address: sbunna@hotmail.com

สัตวแพทย์มหานครสาร. 2566. 18(1): 129-135.

Microsporidiosis in Fish

Sumrarn Bunnajirakul[1,#]

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

Abstract: Microsporidia infected in various species of fish such as zebra fish, ornamental fish in the neon group, Japanese eel direct contact was found as transmission route. Chronic infected fish presented cachexia concurrent with spinal deformities such as lordosis or scoliosis. Accumulation of spore was found in infected tissue. The standard verification method used transmission electron microscopy to identify the polar filament and internal structure of the spores. Good water treatment system, ultraviolet light sterilization including vector elimination should be considered for reduction the risk of infection in the farm.

Keywords: Microsporidia, Infection, Fish

[#]Corresponding author
E-mail address: sbunna@hotmail.com

J. Mahanakorn Vet. Med. 2023 18(1): 129-135.

บทนำ

Microsporidia ก่อโรคในสัตว์มีกระดูกสันหลังและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และยังจัดเป็นปรสิตที่พบได้ในปลาและกลุ่ม arthropods หลายชนิด รายงานการติดเชื้อจากปรสิตดังกล่าวในครัสเตเชียที่อาศัยในน้ำจืดและน้ำเค็มมีจำนวนมากรวมทั้ง microsporidia ที่ก่อให้เกิดความเสียหายในปูทะเล (Sprague and Couch, 1971; Olson et al., 1994; Stentiford and Bateman, 2007; Stentiford et al., 2007) กุ้งทะเล (Lightner, 1996; Azevedo et al., 2000; Azevedo et al., 2001; Clotilde-Ba et al., 2001; Toubiana et al., 2004; Tourtip et al., 2009) ในส่วนของอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทย มีผลทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของผู้เลี้ยงเป็นอย่างมาก

สาเหตุ

Microsporidia จัดเป็นปรสิตที่อาศัยภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อ (obligate intracellular eukaryotic parasites) สามารถก่อโรคได้ในสัตว์น้ำหลายชนิด วงจรการพัฒนาแบ่งเป็น 2 ระยะ ได้แก่ merogony และ sporogony ส่วนของ meronts จำนวนมากมีการแบ่งตัวภายในเซล์ที่ติดเชื้อมีสร้าง sporonts และ spore ซึ่งในที่สุดจะออกจากโฮสต์และทำให้การติดเชื้อแพร่กระจายสู่ภายนอก โครงสร้างของ spore ที่เป็นระยะติดต่อจะมีเปลือกหุ้มที่หนา สามารถคงทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมภายนอก รวมทั้งคงคุณสมบัติในการติดต่อได้นานในแหล่งน้ำ (Shaw et al., 2000) ทั้งนี้ microsporidia สามารถทนต่อสารกำจัดเชื้อที่ใช้เป็นมาตรฐานในฟาร์ม เช่น chlorine และ iodophores สำหรับทำความสะอาดผิวไข่ปลาที่นำมาฟัก (Ferguson et al., 2007)

ระบาดวิทยา

การติดเชื้อจาก microsporidia พบได้ในสัตว์น้ำหลายชนิด รวมทั้ง crustaceans และ amphipods ส่วนในปลามีการรายงานความหลากหลายของปรสิตที่มีมากกว่า 18 ชนิด (Lom, 2002; Lom and Nilsen, 2003) เช่น *Pseudoloma neurophilia* มีการรายงานครั้งแรกในปลาม้าลาย (Zebrafish, *Brachydanio rerio*) ที่ใช้ทำการทดสอบทางพิษวิทยา ได้มาจากร้านขายสัตว์เลี้ยงในฝรั่งเศส (de Kinkelin, 1980) และหลังจากนั้นมีการศึกษาในรายละเอียดของโครงสร้างของปรสิตโดย Matthews et al (2001) ส่วน *Pleistophora hyphessobryconis* พบในปลาม้าลายเช่นเดียวกัน (Sanders et al., 2010) นอกจากนั้นทำให้เกิดโรค neon tetra disease ในปลาสวยงามกลุ่มนีออน (neon tetra, *Paracheirodon innesi*) อัตราการตายสูง ก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก และพบได้ในปลาม้าลายสายพันธุ์อื่นๆ เช่น *Danio rerio* และ *Danio nigrofasciatus* (Steffens, 1962) ในฟาร์มปลาไหลญี่ปุ่น (Japaneese eel) ทีมีการเลี้ยงในประเทศไทย ญี่ปุ่น และเกาหลี พบการติดเชื้อจาก *Heterosporis* (*Pleistophora*) *anguillarum* (Bunnajirakul et al., 2004) ทำให้เกิดโรค Beko disease (Kano et al., 1982; Joh et al., 2007) ทั้งนี้อาจพบการติดเชื้อแบบ hyperparasites จาก unidentified microsporidian, ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียง *Nucleospora* spp. (Enterocytozoonidae) ติดเชื้อใน caligid copepod (*Lepeophtheirus salmonis*) ซึ่งเป็นปรสิตของ Atlantic salmon (*Salmo salar*) (Freeman et al., 2003)

การติดต่อผ่านการสัมผัสโดยตรง (direct horizontal transmission) พบได้ใน *Enterocytozoon salmonis* (Baxa et al., 1992), *Loma salmonae* (Shaw et al., 1998), *Glugea anomala* (Weissenberg et al., 1968), *Glugea plecoglossi* (Lee et al., 2004), *Glugea stephani* (Mc Vicar et al., 1975; Olson et al., 1976) ส่วนการติดต่อโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการติดเชื้อ *H. anguillarum* ในห้องปฏิบัติการผ่านการป้อนหรือแช่ด้วย fresh spore ทำให้พบระยะ schizonts, cysts ในกล้ามเนื้อของลำตัว กล้ามเนื้อรอบทางเดินอาหารและ peritoneal fluid เช่นเดียวกับการติดเชื้อในธรรมชาติ มากกว่าการติดเชื้อทาง blood vascular system ทั้งนี้พบว่าการติดเชื้อมีแนวโน้มลดลงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส (Kano et al., 1982)

อาการทางคลินิก

ปลาม้าลายที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังจาก *P. neurophilia* มีลักษณะซูบผอมร่วมกับภาวะ spinal deformities เช่น lordosis หรือ scoliosis (Matthews et al.. 2001) *P. hyphessobryconis* และ *H. anguillarum* พบการรวมตัวกันของปรสิตแทรกตัวในกล้ามเนื้อที่เรียกว่า xenoma ส่งผลทำให้เกิด depigmented regions บริเวณครีบหลัง ทั้งนี้อาการของปลาที่ติดเชื้อ *P. neurophilia*, *P. hyphessobryconis* จะปรากฏอย่างเด่นชัดในภาวะที่ถูกเหนี่ยวนำการติดเชื้อในห้องปฏิบัติการหรือ immunosuppression (Bunnajirakul et al, 2004; Sanders et al., 2010) หรืออาจพบอัตราการตายเพิ่มขึ้นเมื่อปลาอยู่ภายใต้ความเครียด (Ramsay et al., 2009) สอดคล้องรายงานในมนุษย์ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องจาก HIV infection ร่วมกับการติดเชื้อจาก novel microsporidium ที่ มี phylogenetic relationship ใกล้เคียงกับ genus Endoreticulatus ใน lepidopteran microsporidia แสดงอาการกล้ามเนื้ออักเสบ ร่วมกับอาการทางระบบประสาท (Suankratay et al, 2012)

ส่วนลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาที่จากการติดเชื้อของ *P. neurophilia* พบการสะสมของ spore จำนวน

มากในส่วน neural tissue ของ posterior brain และ spinal cord นอกจากนั้นพบปริมาณของ spore จำนวนน้อยในส่วนของ kidney, skeletal muscle, gut epithelium และ ovary (Kent and Bishop-Stewart, 2003) หรือภายใน developing follicles ทั้งนี้ spore ดังกล่าวอาจถูกปล่อยมาจาก xenoma ในบริเวณ myocytes หรือ peripheral nerves ใน somatic muscle จากการอักเสบของเนื้อเยื่ออย่างรุนแรง (Ramsay et al., 2009) ในขณะที่ส่วนของกล้ามเนื้อจะเป็นบริเวณแรกของการติดเชื้อจาก *P. hyphessobryconis* หลังจากการติดเชื้อที่ทวีความรุนแรงมากขึ้นทำให้ proliferative stages และ spore ที่อยู่ภายใน myocyte ก่อความเสียหายอย่างรุนแรง ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายสู่ส่วนของ kidney, spleen, intestine และ ovaries (Sanders et al., 2010)

การตรวจวินิจฉัย

วิธีการตรวจมาตรฐาน (gold standard method) สำหรับยืนยัน microsporidia infection ได้แก่ การใช้ transmission electron microscopy (TEM) ในการระบุลักษณะของ polar filament และโครงสร้างภายในของ spore (Ghosh and Weiss, 2009)

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในการคัดกรองส่วนของ microsporidian spores จากเนื้อเยื่อที่พบรอยโรค เช่น กล้ามเนื้อ ที่รวมตัวกันเป็นกลุ่มจะติดสี hematoxylin and eosin (H&E) หรือ Gram ชัดเจน ส่วนกรณีที่เป็น spore เดี่ยวอาจเห็นโครงสร้างไม่ชัดเจน (Sanders et al., 2012) กรณีที่สงสัยการติดเชื้ออาจใช้สีพิเศษอื่นช่วยยืนยัน เช่น Luna stain หรือ periodic acid Schiff (Peterson et al., 2011) ทั้งนี้อาจใช้ chitin-specific fluorescent stain เช่น Fungi-Fluor (Polysciences, Warrington, PA) เพิ่มความไวในการตรวจหา spore และตรวจด้วย fluorescence microscope (Kent and Bishop-Stewart, 2003) ในการตรวจตัวอย่างจากกล้ามเนื้อและไขกระดูกมนุษย์ใช้ Gram, acid- fast bacilli, Wright, and Gomori methenamine silver stain ส่วนตัวอย่างที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงของ urine ใช้วิธี modified trichrome stain (Suankratay et al., 2012)

ในปัจจุบันการตรวจในระดับโมเลกุลสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคนี้มีพัฒนาการค่อนข้างมาก อาศัยหลักการของวิธีเหล่านี้ ได้แก่ 1) Nucleic Acid-Based Detection Methods 2) Antigen- Based Detection Methods 3) Antibody-Based Detection Methods ส่วนวิธีการที่มีการปฏิบัติ เช่น การใช้ polymerase chain reaction (PCR) immunofluorescence assays (IFAs) ELISA และ immunoblot เป็นต้น (Ghosh and Weiss, 2009)

การควบคุมป้องกัน

การตรวจติดตามการติดเชื้อภายในฝูงสัตว์น้ำแต่ละชนิด ควรมีการจัดทำ sentinel program ที่รัดกุมและมีประสิทธิภาพ สำหรับการ *P. neurophilia* ในห้องปฏิบัติการเลี้ยงปลาม้าลาย แนะนำให้เลี้ยง sentinel fish ในแต่ละฝูงก่อนการเก็บตัวอย่างอย่างน้อย 3 เดือน (Kent et al., 2009) ส่วนในฟาร์มควรมีการสุ่มตรวจสัตว์น้ำในแต่ละกลุ่ม เช่น พ่อแม่ที่นำเข้ามาใหม่ ลูกพันธุ์ที่เริ่มลงบ่อดิน ตลอดจนการปลาในแต่ละช่วงอายุ

สำหรับการเตรียมน้ำที่เข้าสู่ระบบการเลี้ยง ควรมีระบบการบำบัดน้ำที่ดีที่ช่วยลดการปนเปื้อนของสปอร์เข้าสู่ฟาร์ม ในฟาร์มที่มีการจัดการน้ำแบบระหมุนเวียนน้ำใช้การฆ่าเชื้อด้วยแสง ultraviolet การกำจัดพาหะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดการติดเชื้อภายในฟาร์ม (Joh et al., 2007) การใช้สารเคมีในการทำความสะอาดไข่ปลาม้าลาย ด้วยการแช่ sodium hyphochlorite ที่ความเข้มข้น 25 - 50 ppm ระยะเวลานาน 10 นาที

(Harper and Lawrence, 2010) รายงานการใช้ fumagillin ในปลาไหลญี่ปุ่น ด้วยการให้กินหรือแช่ (oral or immersion administration) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดการติดเชื้อ *H. anguillarum* มีผลทำให้ป้องกันโรค (prophylactic effect) (Kano et al., 1982)

เอกสารอ้างอิง

Azevedo C., L. Corral and C. P. Vivares. 2000. Ultrastructure of the microsporidian *Inodosporus octospora* (Thelohaniidae), a parasite of the shrimp *Palaemon serratus* (Crustacea, Decapoda). Dis Aquat Org. 41: 151-158.

Azevedo C. 2001. Ultrastructural aspects of a new species, *Vavraia mediterranica* (Microsporidia, Pleistophoridae), parasite of the French Mediterranean shrimp, *Crangon crangon* (Crustacea, Decapoda). J Invert Path. 78: 194-200.

Baxa, D. ,J. Groff and R. Hedrick. 1992. Experimental horizontal transmission of *Enterocytozoon salmonis* to Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. J. Protozool. 39: 699–702.

Bunnajirakul, S., T. Mamom, and W. Koerting. 2004. Pathological study of Japaneese Eel natuarally infected with Microsporidia (*Heterosporis anguillarum*) . Proceedings of the 30th Veterinary Medicine and Livestock Development Annual Conference. Bangkok, Thailand, 10 -12 November 2004: 150.

Clotilde-Ba F. L. and B. S. Toguebaye. 2001. Infection of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) by *Agmasoma penaei* (Microspora, Thelohaniidae) in Senegal, West Africa. Bull Eur Ass Fish Pathol. 21: 157-159.

Ferguson J. A., V. Watral, A. R. Schwindt and M. L. Kent 2007. Spores of two fish microsporidia (*Pseudoloma neurophilia* and *Glugea anomala*) are highly resistant to chlorine. Dis Aquat Org. 76: 205-214.

Freeman M.A., A. S., Bell and C. Sommerville. 2003. A hyperparasitic microsporidian infecting the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* an rDNA-based molecular phylogenetic study. J Fish Dis. 26: 667-676.

Ghosh, K. and L. M. Weiss. 2009. Molecular Diagnostic Tests for Microsporidia. Interdiscip Perspect Infect Dis. 926521: 1-13.

Harper, C. and C. Lawrence. 2010. The Laboratory Zebrafish. Boca Raton FL: CRC Press; 274 p.

Joh, S. J., Y. K. Kwon, M. C. Kim, M. J. Kim, H. M. Kwon, J. W. Park, J. H. Kwon and J. H. Kim. 2007. *Heterosporis anguillarum* infections in farm cultured eels (*Anguilla japonica*) in Korea. J Vet Sci. 8(2): 147–149.

de Kinkelin, P. 1980. Occurrence of a microsporidian infection in zebra danio, *Brachydanio rerio* (Hamilton Buchanan). J Fish Dis. 3: 71–73.

Kano, T. and H. Fukui. 1982. Studies on *Pleistophora* infection in eel, *Anguilla japonica*-I. Experimental induction of

microsporidiosis and fumagillin efficacy. Fish Pathol. 16(4): 193–200.

Kent M.L. and J.K. Bishop-Stewart. 2003. Transmission and tissue distribution of *Pseudoloma neurophilia* (Microsporidia) of zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). J Fish Dis. 26: 423–426.

Kent M. L., S. W. Feist, C. Harper, S. Hoogstraten-Miller, J. M. Law, J. M. Sánchez-Morgado, R. L. Tanguay, G .E. Sanders, J. M. Spitsbergen and C. M. Whipps. 2009. Recommendations for control of pathogens and infectious diseases in fish research facilities. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 149: 240–248.

Lee, S.J., H. Yokoyama and K. Ogawa. 2004. Modes of transmission of *Glugea plecoglossi* (Microspora) via the skin and digestive tract in an experimental infection model using rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Dis. 27: 435–444.

Lightner D. V. 1996. .A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for disease control of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society. Baton Rouge: Section 6: 1-9.

Lom, J. 2002. A catalogue of described genera and species of microsporidians parasitic in fish. Syst Parasitol. 53: 81–99.

Lom, J. and F. Nilsen. 2003. Fish microsporidia: Fine structural diversity and phylogeny. Internat J Parasitol. 33: 107–127.

Matthews, J. L., A. M. V. Brown, K. Larison, J. K. Bishop-Stewart, P. Rogers and M. L. Kent. 2001. *Pseudoloma neurophilia* ng, n. sp., a new microsporidium from the central nervous system of the zebrafish (*Danio rerio*). J Eukaryot Microbiol. 48: 227–233.

Mc Vicar, A. H. 1975. Infection of plaice *Pleuronectes platessa* L. with *Glugea* (*Nosema*) *stephani* (Hagenmüller 1899) (Protozoa: Microsporidia) in a fish farm and under experimental conditions. J. Fish Biol. 7: 611–619.

Olson, R. E., K. L., Tiekotter and P. W. Reno. 1994. *Nadelspora canceri* n.g., n.s. an unusual microsporidian parasite of the Dungeness crab, *Cancer magister*. J Euk Microbiol, 41: 349-359.

Peterson T. S., J.M. Spitsbergen, S. W. Feist and M. L. Kent. 2011. Luna stain, an improved selective stain for detection of microsporidian spores in histologic sections. Dis Aquat Org. 95: 175–180.

Ramsay J. M., V. Watral, C. B. Schreck and M. L. Kent. 2009. *Pseudoloma neurophilia* infections in zebrafish *Danio rerio*: Effects of stress on survival, growth, and reproduction. Dis Aquat Org. 88: 69–84.

Sanders J. L., C. Lawrence, D. K. Nichols, J. F. Brubaker, T. S. Peterson, K. N. Murray and M. L. Kent. 2010. *Pleistophora hyphessobryconis* (Microsporidia) infecting zebrafish *Danio rerio* in research facilities. Dis Aquat Org. 91: 47–56.

Sanders J. L., V. Watral and M. L. Kent. 2012. Microsporidiosis in Zebrafish Research Facilities. ILAR J. 53(2): 106–113.

Suankratay, C., E. Thiansukhon, V. Nilaratanakul, C. Putaporntip and S. Jongwutiwes. 2012. Disseminated Infection Caused by Novel Species of Microsporidium, Thailand. Emerg. Infect. Dis. 18(2): 302-304.

Shaw, R. W,, M. L. Kent and M. L. Adamson. 1998. Modes of transmission of *Loma salmonae* (Microsporidia). Dis. Aquat. Organ. 33: 151–156.

Shaw, R. W., M. L. Kent and M. L. Adamson. 2000. Viability of *Loma salmonae* (Microsporidia) under laboratory conditions. Parasitol Res. 86: 978–981.

Sprague, V. and J. Couch. 1971. An annotated list of protozoan parasites, hyperparasites and commensals of decapod crustacea. J Protozool. 18: 526-537.

Steffens W. 1962. Der heutige Stand der Verbreitung von *Plistophora hyphessobryconis* Schäperclaus 1941 (Sporozoa, Microsporidia). Parasitol Res. 21: 535–541.

Stentiford G. D. and K. S. Bateman. 2007. *Enterospora* sp., an intranuclear microsporidian infection of hermit crab *Eupagurus bernhardus*. Dis Aquat Org. 75: 61-72.

Stentiford G. D., K. S. Bateman, M. Longshaw and S.W. Feist. 2007. *Enterospora canceri* n. gen., n. sp., intranuclear within the hepatopancreas of the European edible crab *Cancer pagurus.* Dis Aquat Org. 75: 61-72.

Toubiana M., O. Guelorget, J. L. Bouchereau, H. Lucien-Brun and A. Marques. 2004. Microsporidians in penaeid shrimp along the west coast of Madagascar. Dis Aquat Org 58: 79-82.

Tourtip S., S. Wongtripop, G. D. Stentiford, K. S., Bateman, S. Sriurairatana, J. Chavadej, K. Sritunyalucksana and B. Withyachumnarnkul. 2009. *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microsporida: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*

(Decapoda: Penaeidae): fine structure and phylogenetic relationships. J Invert Path 102: 21-29.

Weissenberg, R. 1968. Intracellular development of the microsporidan *Glugea anomala* Moniez in hypertrophying migratory cells of the fish *Gasterosteus aculeatus* L., an example of the formation of “xenoma” tumors. J. Protozool. 15: 44–57.