การตรวจหาไวรัสจากเซลล์เลี้ยงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์

DETECTION OF VIRUSES FROM CELL CULTURES BY USING ELECTRON MICROSCOPE AND INDUCTION OF DISEASE BY INFECTED CELL CULTURE FLUID

วัฒนา วัฒนวิจารณ์ — Wattana Wattanavijarn

จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ — Jirasak Tangtrongpiros

สุมิตรา วัฒโนดร — Sumittra Wattanodorn

พยอม หุ่นนาค — Payom Hunnak

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ กท. 10500

Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University; Henri Dunant Street, Bangkok 10500

Abstract

Diseased fishes from fish epizootic were submitted to virology laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for detection of viruses by using electron microscope. These fishes included snakehead *(Ophicephalus striatus)*, catfish *(Clarias sp.)*, sand goby *(Oxyeleotris marmoratus)*, eel *(Fulta alba)*, snake skin gourami *(Trichogaster pectoralis)*, hard-lipped barb *(Osteochilus hasselti)*, catfish *(Mystus nemurus)* and carp *(Puntius gonionotus)*. Particles similar to rhabdo, infectious pancreatic necrosis (IPN), picorna, arena, bunya, myxo and unidentified viruses were found from these diseased fishes. Filtrate of liver, spleen and kidney were placed on monolayer cultures of rainbow trout gonad (RTG-2), bluegill fry (BF-2), fathead minnow (FHM) and snakehead fish.

All of these cell cultures were destroyed within 5-7 days. Cell culture fluid from primary cell culture of snakehead fish's kidney was inoculated into normal snakehead fish intraperitoneally. Fourty percent of fish showed symptom and ulcer similar to fish from disease outbreak in 2 days post-inoculation. All diseased fish died on the following day.

บทคัดย่อ

ปลาป่วยหลายชนิด เช่น ปลาช่อน ปลาดุก ปลาบู่ ปลาไหล ปลาสลิด ปลาสร้อยนกเขา ปลากด และปลาตะเพียน ถูกส่งเข้ามาที่หน่วยไวรัสวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อตรวจหาไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบมีอนุภาคคล้าย infectious pancreatic necrosis (IPN), rhabdo, picorna, arena, bunya, myxo และ unidentified viruses จำนวนมากมายอยู่ในปลาป่วยเหล่านั้น เมื่อนำสิ่งกรองของตับ ไต ม้าม จากปลาป่วยเหล่านี้ไปเลี้ยงในเซลล์เลี้ยงชนิดต่าง ๆ เช่น rainbow trout gonad (RTG-2), bluegill fry (BF-2), fathead minnow (FHM) และเซลล์ปลาช่อน พบว่าเซลล์เลี้ยงดังกล่าวทั้งหมดถูกทำลาย (CPE) เมื่อนำของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ของปลาช่อนที่ถูกทำลายนี้ ไปฉีดเข้าช่องท้องของปลาช่อนปกติซึ่งเลี้ยงไว้ในตู้ ปรากฏว่าปลาจำนวน 40% แสดงอาการและมีแผลเกิดขึ้น เช่นเดียวกับที่พบในปลาป่วยจากโรคระบาดปลาตามธรรมชาติ ภายหลังฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ได้ 2 วัน และปลาตายในวันที่ 3

บทนำ

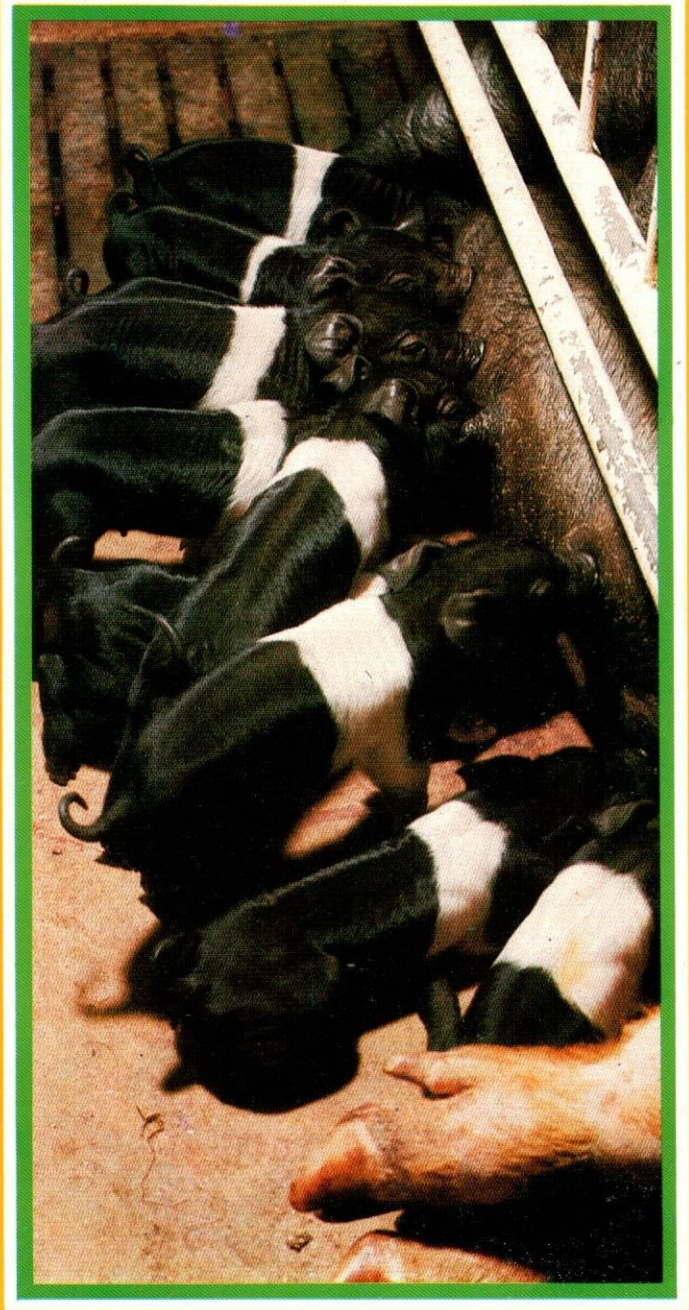
ภายหลังจากที่เกิดโรคระบาดปลาอย่างรุนแรงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 เป็นต้นมา ความสนใจในบทบาทของไวรัสที่มีต่อปลาเลี้ยงและปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติ ได้มีเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ เช่น ปลาช่อน ปลาดุก ปลาบู่ และปลาสลิด ซึ่งได้พบอนุภาคมีลักษณะคล้าย rhabdovirus จากปลาช่อน (Wattanavijarn *et al.*, 1983) Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) จากปลาสลิด (Wattanavijarn *et al.*, 1985) รวมทั้งอนุภาคอื่น ๆ อีกหลายชนิด ซึ่งยังไม่สามารถพิสูจน์ได้ในขณะนี้

E. coli organisms colonized on the surface of a villus magnified 5500X.

E.coli scours breakthrough...

พอร์ซิมูน*

อี. โคไล แบคทีริน สำหรับ



พอร์ซิมูน แบคทีริน เป็นผลิต
คุณภาพ ชนิดหนึ่งของ **พิทแมน-มัวร์** เพื่อ
ป้องกันโรคท้องเสียจาก อี.โคไล ในลูกสุ
พอร์ซิมูน แบคทีริน เป็นวัคซีนเชื้อตาย
ด้วย 3 สเตรน (เค 88, เค 99, 987 พี)
เอ็นเทอโรท็อกซีเจนิค อี.โคไล ซึ่งพบ
90% ของเชื้อ อี.โคไล ทั้งหมดที่แยกได้จา

ภูมิคุ้มระยะยาวที่ผ่านทางนมน้ำเหลือง

หลังจากแม่สุกรได้รับพอร์ซิมูนก็จะส
โรคขึ้น ซึ่งสามารถส่งผ่านภูมิคุ้มนี้ไปยัง
โดยผ่านไปทางนมน้ำเหลือง

วิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสม ในการป้
ท้องเสียในลูกสุกรที่เกิดจากเชื้อ อี.โคไ
จำเป็นต้องทำการแยกเชื้อจากตัวสุกร เพื่
วัคซีนที่มีสเตรนตรงกันและเป็นการป้องกัน
ต่อการนำเชื้อโรคเข้าสู่ฟาร์มจากการใช้วัคซี

สุกรที่ได้รับวัคซีนจะสามารถสร้างภู
ยาวนานและกว้างขวาง เพราะพอร์ซิมูนประ
เชื้อถึง 3 สเตรน ซึ่งกองควบคุมยาสหร
รับรองความปลอดภัย ของผลิตภัณฑ์นี้

พอร์ซิมูนใช้ฉีดเข้ากล้ามเนื้อแม่สุกรตั้
สุขภาพสมบูรณ์ ในขนาด 5 ซี.ซี. 2 ครั้ง
เมื่อ 5 สัปดาห์ก่อนการคลอด ครั้งที่สองอีก
ต่อมา พอร์ซิมูนบรรจุในขวดพลาสติกขนา
โด้ส

สุกร เพื่อป้องกันโรคในสุกร

เพราะว่าโรคท้องเสียจาก อี.โคไล มักจะเกิดอย่างรุนแรงและรวดเร็วในลูกสุกรอายุ 2-3 ชม. แรก ฉะนั้นจึงเป็นการจำเป็นที่ผู้เลี้ยงสุกร จะต้องให้การดูแลเอาใจใส่ต่อลูกสุกรแรกเกิดเร็วที่สุดเท่าที่สามารถทำได้ภายหลังการคลอด เต้านมของแม่สุกรควรจะทำความสะอาดก่อนคลอด พื้นที่สำหรับลูกสุกรควรจะสะอาด แห้ง และอบอุ่น

ประสิทธิภาพที่ได้รับการพิสูจน์แล้ว

จากการศึกษาผลการใช้พอร์ซิมูนครั้งละ 5 ซีซี. 2 ครั้ง ในแม่สุกรต่อการให้ภูมิคุ้มที่ยาวนาน ในลูกสุกรจากแม่ที่ไม่ได้ทำวัคซีนและจากแม่ที่ได้รับพอร์ซิมูน เมื่อลูกสุกรเหล่านี้ได้รับเชื้อเอ็นเทอโรท็อกซิเจนิค อี.โคไล พอร์ซิมูนสามารถลดความสูญเสียในลูกสุกรได้ถึง 87.3%*

ผลจากการได้รับเชื้อ อี. โคไล

	ลูกสุกรจากแม่ที่ไม่ได้ทำวัคซีน	ลูกสุกรจากแม่ที่ได้รับ **พอร์ซิมูน**
จำนวนแม่สุกร (ตัว)	19	16
จำนวนลูกสุกรแรกเกิด (ตัว)	159	130
จำนวนลูกสุกรที่ท้องเสีย (ตัว)	125	50
จำนวนลูกสุกรที่ตาย (ตัว)	49 (30.8%)	5 (3.9%)*
จำนวนลูกสุกรหย่านม (ตัว)	110 (69%)	125 (96%)

* 3.9% น้อยกว่า 30.8% อยู่ 87.3%

และในระหว่างสัปดาห์แรก ลูกสุกรจากแม่ที่ได้รับพอร์ซิมูนจะโตเร็วกว่าลูกสุกรจากแม่ที่ไม่ได้ทำวัคซีน

พอร์ซิมูนให้ผลทางเศรษฐกิจได้อย่างชัดเจนในแง่ของโปรแกรมของสุขภาพสัตว์ในฟาร์ม พอร์ซิมูนสามารถช่วยชีวิตลูกสุกรและลดต้นทุนการผลิตโดยการช่วยให้ลูกสุกรโตเร็วขึ้น

อี.โคไล โรคที่พบมากที่สุดในลูกสุกร

โคไลแบซิลโลซีส เป็นโรคที่พบมากโรคหนึ่งในลูกสุกร มีสาเหตุมาจากเชื้อ อี.โคไล

กลุ่มอาการจาก อี.โคไล ในลูกสุกรแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ กลุ่มอาการโลหิตเป็นพิษและตายอย่างรวดเร็ว อีกกลุ่มอาการหนึ่งคือ อาการทางระบบทางเดินอาหาร

กลุ่มอาการที่ทำให้เกิดโลหิตเป็นพิษมักจะเกิดขึ้นในช่วง 24-48 ชม. แรกหลังคลอด ลูกสุกรมักจะตายโดยยังไม่แสดงอาการ ลูกสุกรบางตัวที่ยังไม่ตายจะหนาวสั่น อุณหภูมิของร่างกายต่ำกว่าปกติและโคม่ามักจะไม่แสดงอาการท้องเสีย

กลุ่มอาการทางระบบทางเดินอาหาร มักจะเกิดในช่วงอายุ 12 ชม. - 3 วัน เป็นอาการที่พบมากที่สุดของโรคโคไลแบซิลโลซีส อุจจาระของลูกสุกรจะเป็นน้ำสีเหลือง ลูกสุกรจะอ่อนเพลียและสูญเสียน้ำอย่างรวดเร็ว และตายใน 24 ชม.

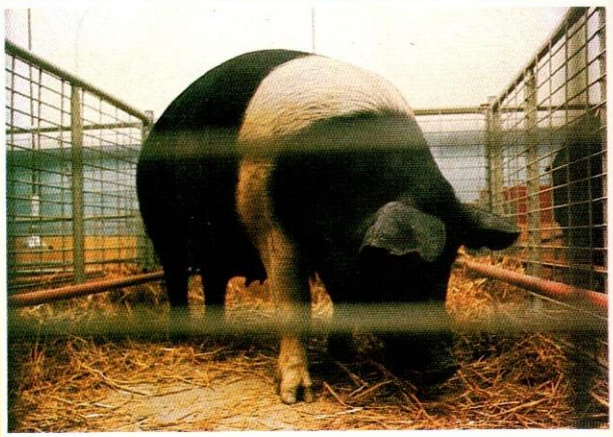
ผนังลำไส้ที่ปกติ

ผนังลำไส้ที่ติดเชื้อ อี.โคไล

พิทแมน-มัวร์...

ผู้นำในการต่อสู้กับโรคของสุกร

ในอดีต **พิทแมน-มัวร์** เคยอยู่ในระดับแนวหน้าด้านการพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร ปัจจุบัน **พิทแมน-มัวร์** เป็นผู้นำในการต่อสู้กับโรคสุกรที่สำคัญ กว่า 80 ปีที่ **พิทแมน-มัวร์** เป็นผู้ริเริ่มผลิต ผลิตภัณฑ์คุณภาพยอดเยี่ยม เพื่อวงการปศุสัตว์ ซึ่งเป็นที่ยอมรับของสัตวแพทย์ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สัตวแพทย์และผู้เลี้ยงสัตว์ทั่วไปตระหนักถึงความเป็นผู้นำ และความดีเด่นในวงการยาของ **พิทแมน-มัวร์**



ผู้นำทางด้านชีวภัณฑ์

พอร์ซิมูน*

ผู้แทนจำหน่าย

บริษัท กรุงเทพ เวท ดรัก จำกัด

36 ซอยเย็นจิต ถนนจันทน์ ยานนาวา กรุงเทพฯ 10120

โทร. 2114660-79, 2110801

PITMAN-MO

*Tra

จากการเฝ้าระวังโรคมาตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน ยังคงตรวจพบอนุภาคต่าง ๆ อยู่เสมอ ทั้งในปลาปกติและปลาป่วย รวมทั้งปลาที่ได้มาจากประเทศพม่า ก็เป็นข้อยืนยันได้ว่า การระบาดของโรคได้เกิดขึ้นในภูมิภาคนี้ ซึ่งมีภูมิอากาศใกล้เคียงกัน โดยปกติแล้วโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสจะเป็นบางช่วงฤดูเท่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูหนาว ซึ่งอิทธิพลของอากาศจะทำให้ปลาอ่อนแอลงแล้วทำให้เกิดโรคระบาดได้ อย่างเช่นโรคที่เกิดจาก IPNV ในยุโรป อเมริกา ญี่ปุ่น จะเกิดขึ้นในช่วงฤดูหนาวเท่านั้น โอกาสที่จะเกิดโรคระบาดปลาในภูมิภาคแถบนี้ก็คงจะมีขึ้นต่อไป ทั้งนี้เพราะว่าในปลาปกติก็ตรวจพบไวรัส แต่ความรุนแรงของโรคอาจจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากปลาสร้างภูมิคุ้มกัน ซึ่งต่างจากการระบาดในระยะต้น คือ ปลาไม่มีความต้านทานเลย จึงทำให้ความรุนแรงของโรคมีมากกว่าในปัจจุบัน

การศึกษาครั้งนี้ เพื่อตรวจหาไวรัสจากปลาป่วยชนิดต่าง ๆ และดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เลี้ยง ซึ่งเกิดจากการนำสิ่งกรองจากตับ ไต และม้ามของปลาป่วยมาใส่ในเซลล์เลี้ยง หลังจากเซลล์เลี้ยงเปลี่ยนแปลงหมดแล้ว ก็นำของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ไปฉีดเข้าปลาปกติ รวมทั้งตรวจหาอนุภาคไวรัสจากเซลล์เลี้ยง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

อุปกรณ์และวิธีการ

นำตับ ไต ม้ามและกล้ามเนื้อใต้แผลของปลาป่วยขนาด 1 มม.^{3} มาใส่ใน 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M cacodylate buffer pH 7.2 นาน 24 ชม. ล้าง 3 ครั้งด้วย 0.1 M cacodylate buffer แล้ว post-fix ด้วย 1% osmium tetroxide ใน 0.05 M cacodylate buffer นาน 2 ชม. นำไปย้อมด้วย 1% aqueous uranyl acetate หลังจากนั้นนำไประเหยน้ำออกด้วย alcohol และ propylene oxide ระดับต่าง ๆ แล้วฝังใน Epon Araldite ที่ 60°C นาน 2 วัน นำเนื้อเยื่อเหล่านี้ไปตัดด้วย ultramicrotome (LKB Ultrotome, Model V) แล้วย้อมด้วย uranyl acetate และ lead citrate ตรวจหาอนุภาคไวรัสและถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน JEM-200C × ที่ 80 KV ส่วนเซลล์เลี้ยงก็ดำเนินการด้วยวิธีเดียวกัน

นำ monolayer ของ rainbow trout gonad, RTG-2 (Wolf and Quimby, 1962), bluegill fry, BF-2 (Wolf and Quimby, 1966), เซลล์เลี้ยงปลาช่อนและ primary cell culture

ของเซลล์ไตปลาช่อน ซึ่งได้พัฒนาในหน่วยไวรัสวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาใช้ในการศึกษานี้ เซลล์เหล่านี้เลี้ยงใน Leibovitz L–15 medium, 10% fetal calf serum พร้อมด้วย glutamine และ antibiotics ที่อุณหภูมิ 22° และ 28°C

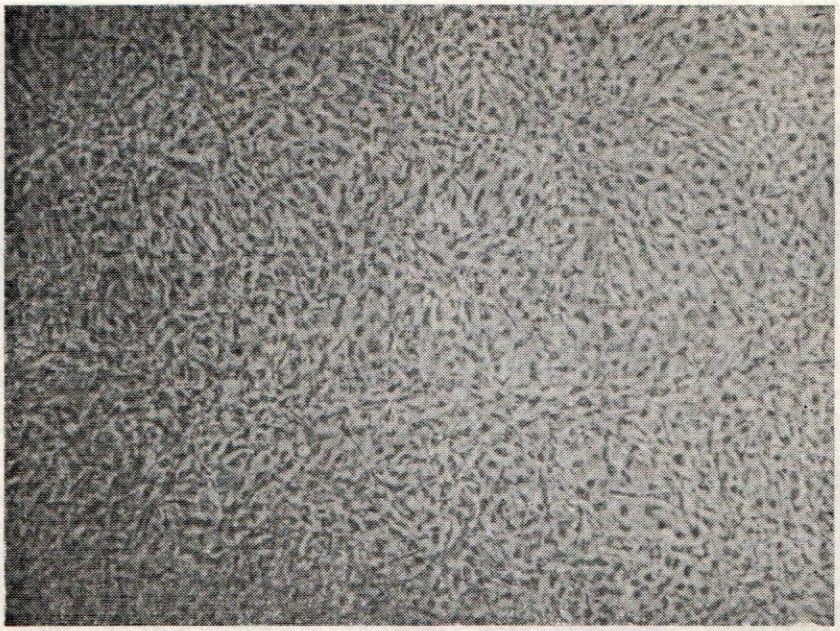
นำตับ ไต ม้ามของปลาป่วยมาบดรวมกันในโกร่ง เจือจางด้วย Hank's balance salt solution (HBSS) ในอัตรา 1 : 10 แล้วนำไปปั่นที่ 120 g นาน 20 นาที ที่ 4°C ดูดส่วนใสจำนวน 2 มิลลิลิตรมาผสมกับ HBSS จำนวน 8 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45μ นำสิ่งกรองนี้จำนวน 1 มิลลิลิตรมาใส่ในเซลล์เลี้ยงต่าง ๆ ดังกล่าว ทิ้งไว้ 1 ชม. แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ลงไป พร้อมด้วย negative และ positive control ซึ่งใช้ HBSS และ IPNV ตามลำดับ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เลี้ยงทุกวัน เมื่อเซลล์เปลี่ยนแปลงหมด นำไปปั่นที่ 80 g นาน 20 นาที นำส่วนเซลล์ที่ก้นหลอดไปตรวจหาไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ส่วนใสนำไปฉีดเข้าปลาปกติ

นำลูกปลาช่อนปกติซึ่งช้อนมาได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ และเลี้ยงไว้ในตู้ปลามาแล้วนานประมาณ 2 เดือนก่อนการทดลอง ด้วยการแบ่งปลาเหล่านี้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว กลุ่มแรกฉีดของเหลวจำนวน 0.01 มิลลิลิตร จากอาหารเลี้ยงเซลล์ของ primary cell culture ของไตปลาช่อน ภายหลังที่เซลล์เลี้ยงมีอาการเปลี่ยนแปลงหมดแล้ว กลุ่มที่ 2 ฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเดียวกันแต่ไม่ได้ใส่สิ่งกรองของปลาป่วย และกลุ่มที่ 3 ฉีดน้ำเกลือขนาดเดียวกัน เข้าช่องท้องของปลาปกติทุกตัว แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงของปลาทั้งสามกลุ่มทุกวัน

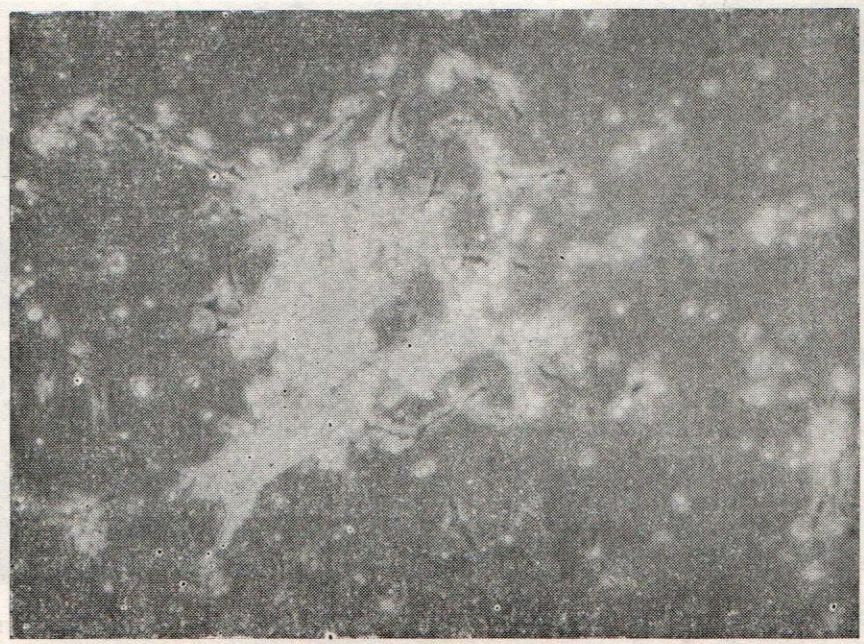
ผล

จากการตรวจดูอวัยวะภายในและกล้ามเนื้อใต้แผลของปลาป่วย พบอนุภาคคล้ายไวรัสพวก rhabdovirus, picornavirus, arenavirus, myxovirus, bunyavirus, IPNV และ unidentified viruses จำนวนมากมายจากปลาป่วยเหล่านี้

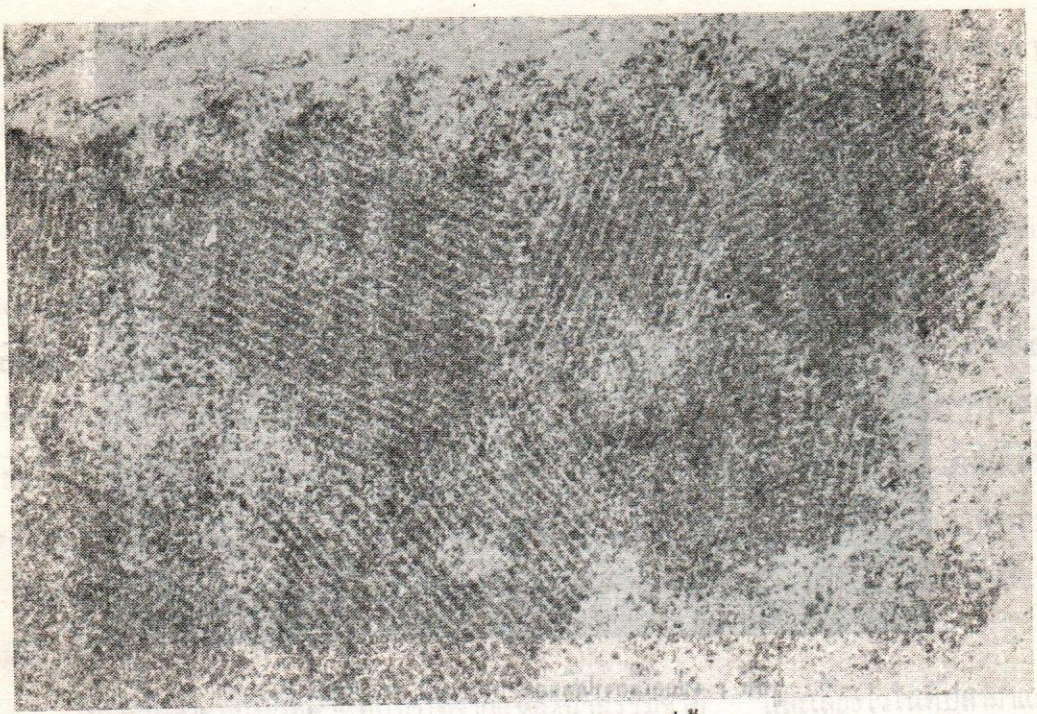
ภายหลังที่นำสิ่งกรองไปใส่ในเซลล์เลี้ยงปกติ (รูปที่ 1) ปรากฏว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นประมาณวันที่ 2–3 โดยเซลล์เปลี่ยนเป็นรูปกลม และเริ่มหลุดลอยขึ้นมาอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้เกิดขึ้นในเซลล์เลี้ยงทุกชนิด ประมาณวันที่ 5–7 เซลล์จะเปลี่ยนเป็น



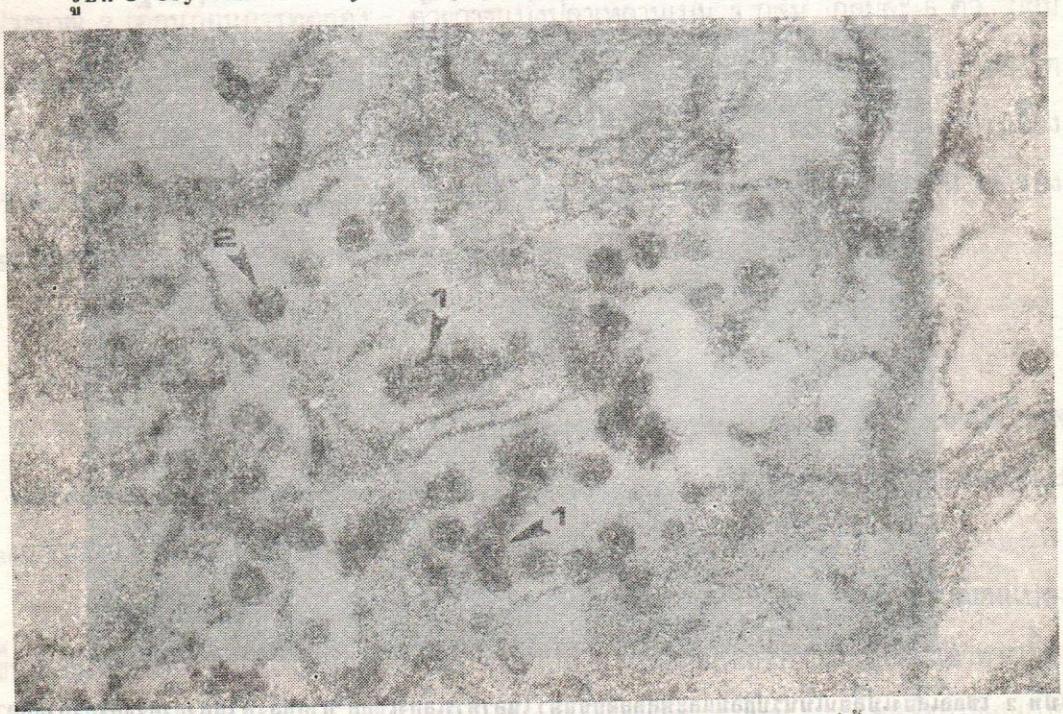
รูปที่ 1 เซลล์เลี้ยงปกติของ bluegill fry (BF-2)



รูปที่ 2 เซลล์เลี้ยงเปลี่ยนเป็นรูปกลมและหลุดลอยขึ้นมาในอาหารเลี้ยงเซลล์ ภายหลังที่ใส่สิ่งกรองของอวัยวะปลาป่วย



รูปที่ 3 Crystalline arrays ใน cyoptlasm ของเซลล์เลี้ยง ภาพขยาย 165,000 X

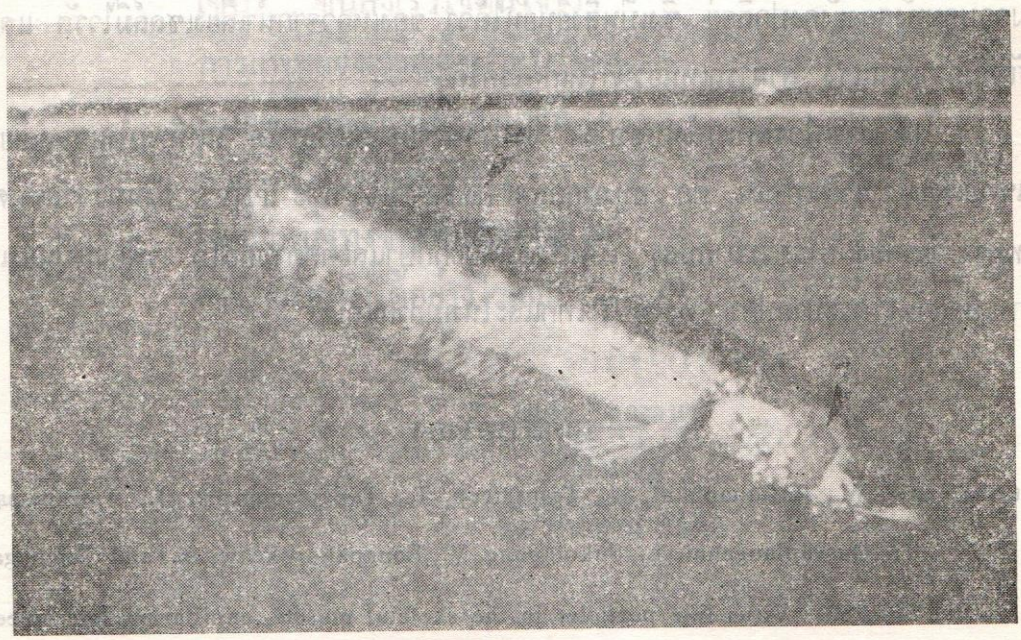


รูปที่ 4 อนุภาคคล้าย rhabdovirus (1) และ IPNV (2) ใน cytoplasm ของเซลล์เลี้ยงปลาช่อน ภาพขยาย 87,500 X

รูปกลมมากขึ้น และหลุดลอยขึ้นมาอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์แทบทั้งหมด (รูปที่ 2) ส่วน negative และpositive control ก็ได้ผลตรงตามที่คาดหมายทั้งนั้น

เมื่อตรวจเซลล์เลี้ยงเหล่านี้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบ crystalline arrays เรียงตัวกันอยู่มากมายใน cytoplasm ของเซลล์เลี้ยง (รูปที่ 3) ซึ่งลักษณะของ crystalline arrays นี้ ก็เหมือนกับที่พบใน cytoplasm ของปลาป่วยจากแหล่งต่าง ๆ เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบอนุภาคคล้าย rhabdovirus และ IPNV เหมือนเช่นที่พบในปลาป่วยอีกด้วย (รูปที่ 4)

ผลของการฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ และน้ำเกลือเข้าช่องท้องของปลาปกติทั้งสามกลุ่ม พบว่าปลาในกลุ่มที่ 1 ซึ่งฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์หลังจากที่เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงหมดแล้ว แสดงอาการป่วยในวันที่ 2 โดยลอยตัวอยู่ที่ผิวน้ำ เคลื่อนไหวน้อยมากและพบแผลที่บริเวณ operculum บางส่วนของ dorsal fin หลุดหายไป (รูปที่ 5) ทำให้มีปลาตายไป 40%



รูปที่ 5 ปลาป่วยภายหลังฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์เข้าช่องท้องได้ 2 วัน สังเกตแผลที่บริเวณ operculum (1) และ dorsal fin บางส่วนหลุดหายไป (2)

(2/5) ในวันที่ 3 ส่วนกลุ่มที่ 2 และ 3 ซึ่งฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีสิ่งกรองและน้ำเกลือนั้น ปลามีชีวิตอยู่อย่างปกติ โดยไม่แสดงอาการใด ๆ ตลอดการทดลอง

วิจารณ์

จากการทำสิ่งกรองของอวัยวะปลาป่วยมาใส่ในเซลล์เลี้ยง และเซลล์เลี้ยงทุกชนิดถูกทำลายหมดนั้น แสดงให้เห็นว่ามีไวรัสอยู่ในปลาป่วยเหล่านี้อย่างแน่นอน ส่วนการพบ crystalline arrays ใน cytoplasm ทั้งในปลาป่วยจากทุกแหล่งที่ตรวจและในเซลล์เลี้ยง บ่งชี้ว่าการพัฒนาของไวรัสในปลาป่วยและเซลล์เลี้ยง เป็นไปในทำนองเดียวกัน

ผลจากการฉีดของเหลวจากอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสิ่งกรองของอวัยวะปลาป่วย และไม่มีสิ่งกรอง รวมทั้งน้ำเกลือเข้าช่องท้องของปลาปกตินั้น ได้ทำการทดลองเพียงครั้งเดียว ภายหลังเกิดโรคระบาดปลาอย่างรุนแรงในปี พ.ศ. 2526 เท่านั้น ซึ่งปลาปกติในขณะนั้นตรวจไม่พบ inclusion body เลย การเหนี่ยวนำโรคด้วยวิธีดังกล่าว สามารถทำให้ปลาช่อนเกิดโรคได้ โดยกลุ่มควบคุมทั้งสองยังคงปกติอยู่ ซึ่งเป็นสิ่งยืนยันได้ว่า ของเหลวจากน้ำเลี้ยงเซลล์มีไวรัส และเป็นไวรัสที่มีความรุนแรง สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคได้

เนื่องจากไวรัสที่พบในปลาป่วย มีรูปร่างลักษณะหลายชนิด แต่ที่พบในเซลล์เลี้ยงเห็นเด่นชัดมีเพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ อนุภาคคล้าย rhabdovirus และ IPNV ดังนั้นไวรัสชนิดไหนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับโรคระบาดปลา เป็นเรื่องที่ต้องศึกษาและติดตามต่อไป เพื่อจะเป็นแนวทางในการป้องกันโรคระบาดปลา ทั้งในประเทศและในภูมิภาคแถบนี้

เอกสารอ้างอิง

Wattanavijarn, W., Rattanaphani, R., Tesprateep, T., Tangtrongpiros, J., Thirapatsakun, T., Ousvaplangchai, L., Sukolapong, V., Eongpakornkeaw, A., and Vetchagarun, S. 1983. Virus-like particles in the skeletal muscle, capillaries, and spleen of sick snakehead fish (*Ophicephalus striatus*) during a disease epidemic. Thai J. Vet. Med., 13 : 121–130.

Wattanavijarn, W., Tangtrongpiros, J., Wattanodorn, S., and Hunnak, P. 1985. Unpublished report.

Wolf, K. and Quimby, M.C. 1962. Established eurythermic line of fish cells in vitro. Science. 135 : 1065–1066.

Wolf, K. and Quimby, M.C. 1966. Lymphocystis virus : isolation and propagation in centrarchid fish cell lines. Science, 151 : 1004–1005.

สักวาโลกเราแสนก้าวหน้า
วิทยาทันสมัยหลายหลากสิ่ง
เช่น.....ขนส่งเร็วไวทันใจจริง
การแพทย์ยิ่งเจริญล้ำนำหน้าไกล
คนยุคนี้มีปัญญาและสามารถ
อวกาศเวิ้งว้างยังบุกไหว
แต่สิ่งหนึ่งทิ่งจนมืนแตกตื่นใจ
ต่ออายุเขาทำได้อย่างไรเอย

เผ็จ บุญหนุน
สยามรัฐ
22 มีนาคม 2528