



โรค Koi sleepy disease (KSD)

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

บทคัดย่อ: Carp edema virus (CEV) ซึ่งเป็น poxvirus อยู่ในครอบครัวของ *Chordopoxvirinae* ทำให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพอย่างมากโดยเฉพาะในปลาการ์พระยะวัยรุ่น ในทวีปเอเชียมีการตรวจพบในประเทศญี่ปุ่น ส่วนการระบาดในทวีปยุโรปมีรายงานการตรวจพบในประเทศอังกฤษ เนเธอร์แลนด์ ออสเตรเลีย สาธารณรัฐเชค สหพันธรัฐเยอรมันนี ตามลำดับ ปลาที่ป่วยจะแสดงอาการเฉื่อยชา ไม่เคลื่อนไหวมีลักษณะตาจมน้ำ เหงือกบวม และเนื้อเยื่อซีเหืองตาย ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลาไม่สามารถใช้เหงือกในการหายใจ เหนื่อยนำไปให้ร่างกายขาดอากาศ และเสียชีวิตในที่สุด อัตราการตายอาจสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ การตรวจหาเชื้อไวรัส CEV ในปลาที่แสดงอาการด้วยวิธี PCR และ nested PCR นั้นยังไม่มีความไว (sensitivity) สูงเพียงพอ จึงมีพัฒนาการตรวจหาเชื้อมากขึ้นด้วยวิธี real-time PCR ซึ่งทำให้มีความไวในการตรวจมากขึ้นและยังสามารถตรวจวัดปริมาณของไวรัสในตัวอย่างที่ส่งตรวจได้อีกด้วย

คำสำคัญ: Koi sleepy disease Carp edema virus อาการทางคลินิก การตรวจวินิจฉัย

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2560. 12(1): 29-34.

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

Koi sleepy disease (KSD)

Sumrarn Bunnajirakul^{1,#}

¹Aquatic Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology,
140 Cheumsamphan Road, Nong Chok, Bangkok 10530 Thailand

Abstract: Carp edema virus (CEV) is a poxvirus, which is classified in family *Chordopoxvirinae*. CEV causes a serious health impact on juvenile carp. In some several countries of Asia, Japan for instant, CEV was commonly detected in several fish farms. This is consistent with the epidemiological data in Europe such as in England, Netherland, Austria and Germany respectively. Affected fish show lethargic movement, enophthalmia, swollen and necrotic gill, which induced anoxia and subsequently cause death, which more than 80 % mortality rate was found. Detection of CEV in sickness fish with PCR and nested PCR showed low sensitivity of detection. Therefore, real-time PCR was developed for detection of CEV. This method has more sensitivity response and could detect viral load in sample.

Keywords: Koi sleepy disease, Carp edema virus, Clinical sign, Diagnostic method

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2017. 12(1): 29-34.

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

บทนำ

การติดเชื้อไวรัสเป็นสาเหตุของโรคที่รุนแรงที่ทำให้อัตราการป่วยและอัตราการตายที่สูงในปลา (Amita *et al.*, 2002; Hedrick *et al.*, 2000; Oyamatsu *et al.*, 1997) ทั้งนี้ Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3, KHV) เป็นเชื้อไวรัสสำคัญที่ก่อโรคในปลาคาร์พ (fancy carp) (*Cyprinus carpio*) ทำให้เกิดโรค Koi herpes viral disease (KHVD) นอกจากนั้นเชื้อ Spring viremia of carp virus (SVSV) ที่ก่อโรค Spring viremia of carp (SVC) จัดเป็นโรคที่สำคัญมากที่องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (World organization for animal health หรือ

Office International des Epizooties; OIE (OIE: Aquatic Animal Health Code, 2012) และสหภาพยุโรป (Council Directive 2006/88/EC, 2006) ตลอดจนประเทศแถบเอเชียที่มีการเพาะเลี้ยงปลาคาร์พให้ความสำคัญ ปลาที่ติดเชื้อ KHV แสดงอาการภายนอกบริเวณผิวหนังร่วมกับภาวะเนื้อตายที่เหงือก (gill necrosis) ตั้งแต่การพบอุบัติการณ์ของโรคในราวช่วงปลายปี ค.ศ. 1990 ทำให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อวงการอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงทั่วโลกอย่างมากทั้งปลาคาร์พที่มาจากธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง

นอกจากนั้นการติดเชื้อจาก carp edema virus (CEV) ซึ่งเป็น poxvirus ที่ทราบกันดีว่าทำให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพอย่างมากโดยเฉพาะในปลาคาร์พ ด้วยอุบัติการณ์ที่เด่นชัดปรากฏขึ้นในแต่ละพื้นที่ การติดเชื้อ CEV มีการตรวจพบในประเทศญี่ปุ่นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 โดยเฉพาะฤดูใบไม้ผลิและฤดูใบไม้ร่วงที่อุณหภูมิน้ำระหว่าง 15 – 25 องศาเซลเซียส เมื่อมีการขนย้ายปลาจากบ่อดินไปยังบ่อซีเมนต์ที่บรรจุน้ำใหม่ ในปลาระยะโตเต็มวัย จะพบอาการเฉื่อยชา ไม่เคลื่อนไหว ซึ่งจัดเป็นอาการทางคลินิกที่สำคัญในโรคดังกล่าว และเป็นที่มาของชื่อ “Koi sleepy disease” (KSD) (Ono *et al.*, 1986)

สาเหตุ

Carp edema virus (CEV) จัดเป็น poxvirus ที่อยู่ในครอบครัวของ *Chordopoxvirinae* ซึ่งเป็นไวรัสกลุ่มใหญ่และมีความซับซ้อน ประกอบด้วยส่วนของจีโนมแบบดีเอ็นเอสายคู่ ที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงแบ่งตัวได้ใน cytoplasm และก่อโรคในพวกที่มีกระดูกสันหลังหลายชนิดรวมถึงสัตว์เลื้อยคลาน นก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจากนี้ poxvirus-like particles ตรวจพบในปลาคาร์พ koi carp จากฟาร์มที่ป่วย นอกจากนี้พบในปลา ayu (*Plecoglossus altivelis*) และปลา Atlantic salmon (Gjessing *et al.*, 2015)

ระบาดวิทยา

การระบาดในแถบเอเชียซึ่งเป็นจุดกำเนิดของโรค KSD มีรายงานการพบครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นในช่วงปี ค.ศ. 1970 ในปลาคาร์พวัยรุ่น จัดเป็นโรคระบาดร้ายแรง (epizootic disease) ในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งก่อความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการ

เพาะเลี้ยงปลาของญี่ปุ่นอย่างมาก (Oyamatsu *et al.*, 1997a; Miyazaki *et al.*, 2005) ส่วนการระบาดในทวีปยุโรปมีรายงานการตรวจพบตั้งแต่ปี ค.ศ. 2013 ในประเทศอังกฤษ (Way and Stone, 2013) หลังจากนั้นไม่นานพบการระบาดของไวรัสใน ประเทศเนเธอร์แลนด์ (Haenen *et al.*, 2014) และประเทศออสเตรีย (Lewisch *et al.*, 2015) ส่วนในช่วงฤดูใบไม้ร่วงของปี ค.ศ. 2014 พบการระบาดของ KSD ในฝูงปลา koi ของสหพันธรัฐเยอรมนีตามลำดับ (Jung-Schroers *et al.*, 2015) จนกระทั่งมีการระดมความคิดเห็นจากผู้เชี่ยวชาญ เพื่อหามาตรการเฝ้าระวังและการตรวจติดตามควบคุมโรค KSD ให้เกิดขึ้นอย่างรัดกุม (Haenen *et al.*, 2016)

อาการทางคลินิก

การระบาดของโรคครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นพบปลาคาร์พระยะรุ่นแสดงอาการขาดอากาศหายใจ วายบริเวณผิวหนังหรือบริเวณทางน้ำเข้าส่วนการระบาดในทวีปยุโรปพบในช่วงปลาที่มีอายุ ทั้งในปลาคาร์พทั่วไป และปลาคาร์พสวยงาม โดยปลาที่ป่วยจะนอนนิ่งบริเวณพื้นบ่อ เคลื่อนไหวช้าลงคล้ายอาการง่วงนอน เป็นที่มาของชื่อโรค Koi sleepy disease (KSD) จากการศึกษาที่ผ่านมา (Ono *et al.*, 1986; Oyamatsu *et al.*, 1997a; Miyazaki *et al.*, 2005) ส่วนมากพบ CEV จากเนื้อเยื่อของเหงือกปลาที่ป่วย อาจพบได้บ้างในส่วนของผิวหนัง ตับ หรือม้าม (Amita *et al.*, 2002)

ปลาที่ป่วยมีลักษณะตาจมน (enophthalmia) ซึ่งเหงือกบวม (gill edema) และเนื้อเยื่อเหงือกตาย (necrotic lamellae) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลาไม่สามารถใช้เหงือกในการหายใจ เหนื่อยนำไปร่างกายขาดอากาศ และเสียชีวิตในที่สุดส่วนพยาธิ

สภาพอื่นที่เด่นชัดที่ผิวหนังที่พบบ่อยบริเวณรอบปาก และส่วนฐานครีบ อัตราการตายอาจสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบการติดเชื้อร่วมจากปรสิต เชื้อรา รวมถึงแบคทีเรียที่ก่อโรครุนแรงปริมาณจำนวนมากในปลาชนิดนี้ (Jung-Schroers *et al.*, 2015)

การตรวจวินิจฉัย

การตรวจคัดกรองโรคใช้การซักประวัติ อาการทางคลินิก ร่วมกับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของปลาที่มีอาการ พบการเพิ่มขึ้นและรวมตัวกันของซีเหงือก มีการหนาตัวและบวม น้ำของเซลล์บุผิวของซีเหงือกย่อย รวมทั้งมีการหลุดลอกของเซลล์บุผิว (Miyazaki *et al.*, 2005; Oyamatsu *et al.*, 1997a; Jung-Schroers *et al.*, 2015) ทั้งนี้การยืนยันการติดเชื้อในฝูงปลาที่ยังไม่แสดงอาการนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อทำการควบคุมไม่ให้แพร่ระบาดในวงกว้างขึ้น

การแยก virus จากตัวอย่างเนื้อเยื่อปลาป่วยสามารถทำได้ใน Common Carp Brain (CCB) cells รวมทั้ง EPC, BF-2, RTG-2 และ CHSE cells แต่ตรวจไม่พบ Cytopathic effect (Lewisch *et al.*, 2015)

การตรวจทางชีวโมเลกุลเพื่อพิสูจน์ทราบ viral genome ด้วยขบวนการทางชีวโมเลกุลได้ถูกนำมาใช้ยืนยันการพบ CEV ในตัวอย่างที่สงสัยว่าป่วยด้วยโรคนี้ การเก็บตัวอย่างสำหรับการส่งตรวจมีความสำคัญอย่างยิ่ง พบว่าการเก็บตัวอย่างจากเมือกของผิวหนัง ซีเหงือก และเลือด สามารถตรวจพบ CEV ได้ดี ส่วนตัวอย่างที่ได้มาจากอวัยวะภายใน เช่น ไต ม้าม ถุงลม ให้ผลบวกที่ไม่ชัดเจน

ปัจจุบันการตรวจหา CEV ในปลาที่แสดงอาการด้วย PCR และ nested PCR นั้นอาจจะยังไม่

พบ CEV ในปลาทุกตัวที่สงสัยได้ทั้งที่ผลการตรวจหา carp herpesvirus แบบที่เรียหรือปรสิตอื่นๆให้ผลเป็นลบ อาจจะเป็นเพราะปริมาณของไวรัสในปริมาณที่ต่ำ (Jung-Schroers *et al.*, 2015) ดังนั้นจึงมีพัฒนาการตรวจหาเชื้อมีความไวด้วย real-time PCR ซึ่งช่วยให้ทราบสถานะของ viral load เชิงคุณภาพ ในตัวอย่างที่ส่งตรวจได้ดียิ่งขึ้น และสามารถประเมินถึงความสำคัญของไวรัสต่อสาเหตุการเกิดโรคทำให้สามารถสืบสวนถึงการเปลี่ยนแปลงของการติดเชื้อของไวรัสในฝูงปลาที่แสดงอาการป่วย (Adamek *et al.*, 2016)

การควบคุมป้องกัน

โรค KSD สามารถก่อความสูญเสียได้สูงถึง 80 % ในฝูงปลา koi พื้นเมืองที่มีการเลี้ยงในญี่ปุ่นจึงจัดเป็นโรคที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเลี้ยงปลา koi จากการสังเกตพบปลาป่วยที่แช่ด้วยเกลือความเข้มข้น 0.5 % จะช่วยให้ซีเหงือกสะอาดและสามารถแลกเปลี่ยนอากาศได้มากขึ้น สามารถลดการสูญเสียของเจ้าของฟาร์มปลาในญี่ปุ่นได้อย่างดี (Miyazaki *et al.*, 2005; Seno *et al.*, 2003) และช่วยให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาสามารถวางแผนควบคุมป้องกันโรค KSD เป็นไปได้ดี ในส่วนสหภาพยุโรปหลังจากอุบัติการณ์ที่พบในหลายประเทศ เช่น อังกฤษ ออสเตรีย และสหพันธ์รัฐเยอรมนีหน่วยงานที่ดูแลสุขภาพปลาได้วางมาตรการเฝ้าระวังโรคนี้อย่างเข้มข้น ตามระเบียบของ EU directive 2006/88/EG ในการวางมาตรการจำกัดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส CEV ในฝูงปลาคาร์พที่มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายหลายประเทศในยุโรปตระหนักถึงการแพร่กระจายของโรคไวรัสที่สำคัญในปลา เช่น โรค KHVD ซึ่งจัดเป็นโรคอันตรายที่เคยพบอุบัติการณ์มา

ก่อน ดังนั้นการตรวจคัดกรองโรค KSD จึงถูกจัดเป็น โปรแกรมตรวจคัดกรองโรคสำหรับการตรวจสุขภาพ ปลาทั้งในห้วงปฏิบัติการตรวจโรคปลาระดับชาติและ ภูมิภาค (Jung-Schroers *et al.*, 2015)

References

- Adamek, M., Jung-Schroers, V., Hellmann, J., Teitge, F., Bergmann, S. M., Runge, M., Kleingeld, D. W., Way, K., Stone, D. M. and Steinhagen, D. 2016. Quantitative detection of CEV in koi tissues *Dis. Aquat. Org.* 119: 245–251.
- Amita, K., Oe, M., Matoyama, H., Yamaguchi, N. and Fukuda, H. 2002. A survey of koi herpesvirus and carp edema virus in color carp cultured in Niigata Prefecture. *Japan Fish Pathol.* 37(4):197–198.
- Council Directive 2006/88/EC of 24 October 2006 on animal health requirements for Aquaculture animals and products there of, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals. 2006: 1–56.
- Gjessing, M. C., Yutin, N., Tengs, T., Senkevich, T., Koonin, E., Rønning, H. P., Alarcon, M., Ylving, S., Lie, K. I., Saure, B., Tran, L., Moss, B. and Dale, O. B. 2015. Salmon gillpoxvirus, the deepest representative of the *Chordopoxvirinae*. *J. Virol.* 89: 9348–9367.
- Haenen, O., Way, K., Stone, D. and Engelsma, M. 2014. ‘Koi Sleepy Disease’ voor het eerst in Nederland aangetoond in koikarpers. *Tijdschr Diergeneeskd.* 139: 26–29.
- Haenen, O., Way, K., Gorgoglione, B., Ito, T., Paley, R., Bigarré, L. and Waltzek, T. 2016. Novel viral infections threatening Cyprinid fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 36(1): 11-23.
- Hedrick, R.P., Gilad, O., Yun, S., Spangenberg, J. V., Marty, G.D. and Nordhausen, R. W. 2000. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of Common carp. *J. Aquat. Anim. Health.* 12(1): 44–57.
- Jung-Schroers, V., Adamek, M., Teitge, F., Hellmann, J., Bergmann, S. M., Schütze, H., Kleingeld, D. W., Way, K., Stone, D., Runge, M., Keller, B., Hesami, S., Waltzek, T. and Steinhagen, D. 2015. Another potential carp killer?: carp edema virus disease in Germany. *BMC Vet. Res.* 11(114): 1-4.
- Lewis, E., Gorgoglione, B., Way, K. and El-Matbouli, M. 2015. Carp edema virus/koi sleepy disease: an emerging disease in Central-East Europe. *Transbound. Emerg. Dis.* 62: 6–12.
- Miyazaki, T., Isshiki, T. and Katsuyuki, H. 2005. Histopathological and electron microscopy studies on sleepy disease

- of koi *Cyprinus carpio* koi in Japan. *Dis. Aquat. Org.* 65: 197–207.
- OIE: Aquatic Animal Health Code. 2012. Chapter 10.6. *Koi Herpesvirus Disease*: 1–6.
- Ono, S., Nagai, A. and Sugai, N. 1986. A histopathological study on juvenile color carp, *Cyprinus carpio*, showing edema. *Fish Pathol.* 21: 167–175.
- Oyamatsu, T., Hata, N., Yamada, K., Sano, T. and Fukuda, H. 1997a. An etiological study on mass mortality of cultured colorcarp juveniles showing edema. *Fish Pathol.* 32: 81–88.
- Seno, R. N., Hata, T., Oyamatsu T. and Fukuda, H. 2003. Curative effect of 0.5% salt water treatment on Carp, *Cyprinus carpio*, infected with Carp Edema Virus (CEV) results mainly from reviving the physiological condition of the host. *Suisan Zoshoku.* 51: 123-124.
- Way, K. and Stone, D. 2013. Emergence of carp edema virus-like (CEV-like) disease in the UK. *CEFAS Finfish News.* 15: 32–34.

