วารสารมหาวิทยาลัยนครพนม ; ปีที่ 2 ฉบับที่ 3 : กันยายน - ธันวาคม 2555
Nakhon Phanom University Journal ; Vol.2 No.3 : September - December 2012

สเตรปโตคอคคัส อะกาแลคเทีย แบคทีเรียก่อโรคในคน โคนม และปลา
Streptococcus Agalactiae Pathogenic Bacteria in Human, Cows and Fish

อดิเทพชัยย์การณ์ ภาชนะวรรณ

คณะเกษตรและเทคโนโลยีนครพนม มหาวิทยาลัยนครพนม

บทคัดย่อ

Streptococcus Agalactiae เป็นเชื้อหนึ่งในแบคทีเรียกลุ่มสเตรปโตคอคคัส ที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น ปลา สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม รวมทั้งคน พบว่าก่อให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในคน เป็นเชื้อก่อโรคประจำถิ่นในระบบทางดินอาหาร และสามารถกระจายไปในบริเวณข้างเคียงได้ และยังพบในช่องคลอดของผู้หญิง 10-30% โดยมีการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จากแม่ผ่านไปยังทารกในขณะตั้งครรภ์ แล้วทำให้ทารกเกิดภาวะแบคทีเรียเป็นพิษตั้งแต่แรกเกิด ทารกเสียชีวิตหรือมีการเจ็บป่วยเป็นเวลายาวนานได้ พบได้ทั้งขณะตั้งครรภ์และหลังคลอด การก่อในโคนมทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบซึ่งอาจมีอาการในระดับขั้นรุนแรงถึงตายหรือทำให้เจ็บป่วยเรื้อรัง ทั้งสองระดับนี้มีผลต่อคุณภาพ และการผลิตน้ำนมของโคลดลง ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จึงมีความสำคัญมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมของหลายประเทศทั่วโลก และยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียนี้มีการระบาดในฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ซึ่งก่อให้เกิดโรคสเตรปโตคอค โคซิส ทำให้ปลาเจ็บป่วย หรือตาย พบการระบาดทั้งในปลาน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ทั้งยังสามารถแพร่กระจายไปยังสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ในสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย สร้างความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการเพาะเลี้ยงปลา โดยเฉพาะปลานิลที่เลี้ยงในแถบทวีปเอเชียรวมทั้งประเทศไทย จากเหตุผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีความสำคัญทำให้ประเทศไทยเกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจ และทำลายคุณภาพชีวิต ดังนั้นบทความนี้จึงได้รวบรวมข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย *S. Agalactiae* ที่ก่อโรคในคน ในโคนม และในปลา เพื่อให้มีความรู้ความเข้าใจและสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและรักษา ไม่ให้เกิดความเสียหายต่อชีวิตและเศรษฐกิจของประเทศต่อไป

คำสำคัญ : แบคทีเรียก่อโรค / ทารกแรกเกิด / โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ / โรคเต้านมอักเสบ / โรคสเตรปโตคอคโคซิส

ABSTRACT

Streptococcus agalactiae is the one species of streptococcus, has a board host range, and is pathogenic to fish, amphibians, reptiles, and mammals including humans. *S. agalactiae* is a member of the gastrointestinal normal flora and can spread to secondary sites including the vagina in 10-30% of women, is meningitis disease in humans. This is of clinical importance, *S. agalactiae* from mother can be transferred to a neonate passing through the birth canal and can cause bacterial septicemia of the newborn, which can lead to death or long-term. This can also occur during pregnancy or maternity. In cows, *S. agalactiae* was recognized as a pathogen in dairy cows. In cows, it causes mastitis, and infection of the udder. It can either give acute, febrile disease or sub-acute, more chronic disease. Both lead to diminishing milk production. This is of major significance for the dairy cows industry of many countries in the world. Moreover, *S. agalactiae* is streptococcosis disease in aquaculture, an emerging pathogen that has been associated with considerable morbidity and mortality in fish. It was found that these bacteria spread to natural fish, and farms. *S. agalactiae* has been associated with numerous disease outbreaks in freshwater, estuaries and marine fish. And it can be transferred to the other aquatic animals and environment, high increasingly recognized as pathogenic to fish farming, most occurs in Nile tilapia farms where is in Asia, including Thailand. All reason shows that *S. agalactiae* is considerable economic of Thailand losses and life damages. Therefore, this article was collected in various knowledge of pathological *S. agalactiae* for more understanding, and how to protect and improve the economic and standard life of Thailand.

Keywords : Pathogenic / Bacteria / Newborn / Meningitis / Mastitis / Streptococcosis

บทนำ

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับมนุษย์มากเช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในระบบนิเวศ ทั้งในด้านที่สร้างคุณประโยชน์และให้โทษมหันต์ ขึ้นกับการรู้จักนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ หรือควบคุมไม่ให้เกิดโทษ มนุษย์รู้จักนำแบคทีเรียบางกลุ่มมาใช้ประโยชน์ทั้งในด้านอุตสาหกรรม การเกษตร และสิ่งแวดล้อม ขณะเดียวกันมีแบคทีเรียบางกลุ่มที่ก่อโรคและฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์และสัตว์ได้ (นงลักษณ์. 2544) ความสามารถของแบคทีเรียที่จะทำให้เกิดโรคได้ (Pathogenicity) รุนแรงเพียงใดนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับสมบัติของเชื้อโรคอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับความสามารถของผู้ถูกอาศัย (host) ที่จะป้องกันการบุกรุกของเชื้อ นอกจากนี้ความรุนแรงของเชื้อโรคยังแตกต่างกันไปตามชนิดของผู้ถูกอาศัยด้วยเช่นกัน

ปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียในกลุ่ม สเตรปโตคอคคัส มีความสำคัญมาก เนื่องจากเป็นเชื้อที่ก่อโรคได้ในคน ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนและร่างกายอ่อนแอ และก่อโรคในสัตว์หลายชนิด เช่น สุกร โคนม และสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และสร้างความเสียหายต่อเศรษฐกิจ มีเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่น่าสนใจคือ *S. agalactiae* ซึ่งก่อความเสียหายเป็นอย่างมากต่อการเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจของไทยในปัจจุบัน (ชะลอ. 2528)

บทความนี้ประกอบด้วยข้อมูลประวัติของเชื้อ อนุกรมวิธาน สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา และการก่อโรคในสิ่งชีวิตได้แก่ คน โคนม และปลา อาการของโรคในผู้ถูกอาศัยแต่ละชนิด อีกทั้งได้นำเสนอวิธีการตรวจสอบเชื้อ การบำบัดเมื่อเกิดการติดเชื้อ และแนวทางป้องกันการติดเชื้อ ทั้งนี้เพื่อให้ผู้สนใจได้รับความรู้ความเข้าใจถึงการก่อโรคของเชื้อ ที่มีผลต่อสุขภาพอนามัยหรือเป็นอันตรายถึงชีวิต และสัตว์เศรษฐกิจในภาคเกษตรซึ่งเป็นรายได้หลักของประเทศไทย

ประวัติการค้นพบของเชื้อ

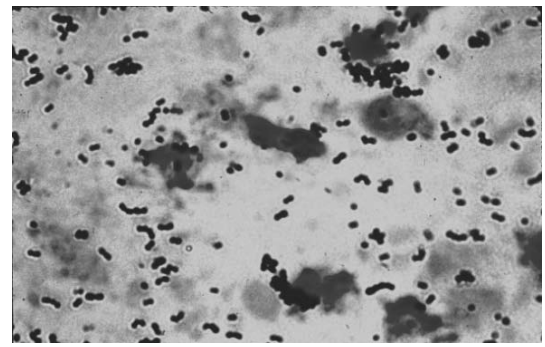
ชื่อเต็มของเชื้อนี้ คือ Lancefield group B beta streptococci ถูกแบ่งกลุ่มตามวิธีการของ Lancefield หรือมีชื่อว่า group B streptococcus เนื่องจากได้ถูกจัดอยู่ใน Group B streptococci ซึ่งมีแบคทีเรียชนิดเดียว เท่านั้น คือ *S. agalactiae* (Joyce et al. 2009) เป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ทั้งในสัตว์ และคน พบว่ามีการระบาดหนักในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจหลายชนิด เช่นปลานิล และปลากะพงขาว (ภิรัตน์. 2552)

การจัดจำแนกตามอนุกรมวิธาน

แบคทีเรียชนิดนี้ได้ถูกจัดและจำแนกให้อยู่ใน Kingdom Bacteria, Phylum Firmicutes, Class Bacilli, Order Lactobacillales, Family Streptococcaceae, Genus Streptococcus และใน Species *S. Agalactiae* มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Streptococcus agalactiae* (Lehmann and Neumann. 1986 : online)

สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา

เชื้อ *S. agalactiae* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (cocci) หรือรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6-1.2 ไมโครเมตร (Robert. 2007) เซลล์แบ่งตัวตั้งฉากกับแกนยาวของสายในแนวเดียว มักเห็นเป็นเส้นสายยาวต่อกัน ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มักพบอยู่เป็นคู่หรือเป็นสาย (รูปที่ 1) แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญได้ในสภาพทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน โคโลนีของแบคทีเรียชนิดนี้มีขนาดใหญ่ ลักษณะเป็นเมือกเยิ้มและโปร่งแสง (ชะลอ. 2528)

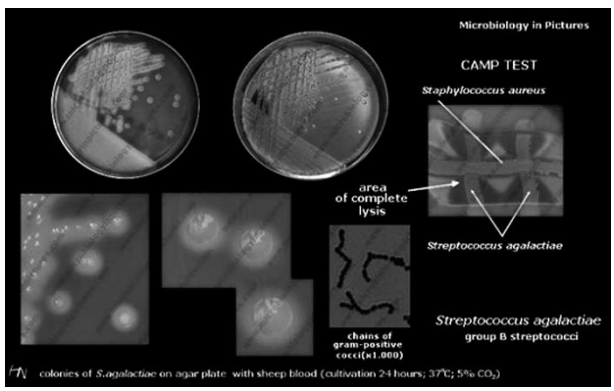


รูปที่ 1 *S. agalactiae กำลังขยาย 100 เท่า (ppdictionary. 2011 : online)*

เชื้อ *S. agalactiae* เป็นแบคทีเรียที่ต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโตค่อนข้างมาก จึงต้องเติมส่วนของเลือด ซีรั่ม หรือน้ำไขสันหลังลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อาหาร Brain Heart Infusion Agar (BHIA) (Kitao. 1982), Todd-Hewitt Broth Agar (THBA), Nutrient Agar (NA) และ Horse Meat Infusion Agar (HMIA) โดยมีการเติมเลือดร่วมกับการเติมยาปฏิชีวนะ oxolinic acid 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร colistin 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือสามารถเพาะเชื้อนี้ได้ในอาหารเหลว ซึ่งมักเจริญได้เป็นดิโพลคอกไคหรือเป็นเส้นสายโซ่สั้นๆ ผิดกับ streptococci group A, C และ G ที่เป็นสายยาว มีบีตาฮีโมไลซิสที่เกิดจากฮีโมไลซินที่ต่างจากของ streptococci

group A ซึ่งฮีโมไลซินนี้มีสมบัติคล้ายของสเตรปโตไลซินเอส (SLS) มากกว่าสเตรปโตไลซินโอ (SLO) ตรงที่จะไม่ขับสารออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนใหญ่จะสร้างรงควัตถุสีเหลืองแดง หรือส้ม รงควัตถุคาโรทีนอยด์จะเกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มเซลล์ และการสร้างรงควัตถุจะถูกยับยั้งถ้าเติมกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (นงลักษณ์. 2544)

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียนี้มาเลี้ยงในอาหารผสมเลือดแกะนาน 24 ชั่วโมง จะสร้างบริเวณบีตาฮีโมไลซิสขนาดเล็กที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร (Robert. 2007) ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารผสมเลือดแกะ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง ด้วย CO_2 50% จะมีขนาดใหญ่และเป็นเมือกเยิ้ม (รูปที่ 2) เชื้อนี้จะสามารถไฮโดรไลซ์โซเดียมฮิพพูเลท (sodium hippurate) ส่วนใหญ่เจริญได้ในโซเดียมคลอไรด์ 6.5% มีส่วนน้อยที่เจริญในน้ำดี 50% ไม่ไฮโดรไลซ์เอสคูลิน สร้าง DNase ฮิพพูริเคส (hippuricase) นิวรามินิเดส (neuraminidase) และไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ไม่ไวต่อยาปฏิชีวนะบาซิตราซิน (bacitracin) มีส่วนน้อยมากที่ไวต่อยา กลุ่มนี้



รูปที่ 2 *โคโลนีของ S. agalactiae บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อผสมเลือดแกะบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24 ชั่วโมง ด้วย CO_2 50% (microbiologyinpictures. 2011 : online)*

โครงสร้างแอนติเจนของ *S. agalactiae* มี group-specific carbohydrate ที่ประกอบด้วย ดี-กลูโคซามิน (D-glucosamine), ดี-กาแลกโทส (D-galactose), กลูซิทอล (glucitol) และแอล-แรมโนส (L-rhamnose), มีแคปซูลซีโรทัยป์ (capsular serotype) อย่างน้อย 5 ชนิด คือ Ia, Ib, Ic, II และ III หรือมี IV, V, VI, VII, VIII ปัจจุบันมีรายงานการวิจัยพบว่า *S. agalactiae* สามารถสร้างสาร glutathinone (GSH, γ-glutamyl-cysteinyl-glycine) ซึ่งเป็นสารที่สร้างจาก γ-glutamylcysteinyl synthetase (γ-GCS) และ glutathione synthetase (GS) โดยสาร glutathinone นี้เป็นลักษณะเด่นอันดับแรก ของสารประกอบในกลุ่ม non-protien thiol compound ของเซลล์สิ่งมีชีวิต ในเซลล์แบคทีเรียสารนี้จะมีความสำคัญและมีบทบาทหลายประการในขบวนการเมตาโบลิซึม เช่น การสร้างสารต่อต้านจำพวก reactive oxygen toxicity (Kuniki et al. 2007)

การก่อโรคในสิ่งมีชีวิต

1. การก่อโรคในคน

S. agalactiae เป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบสืบพันธุ์ของหญิง (Robert. 2009) มักพบเชื้อนี้ได้ในลำไส้ ช่องคลอด กระเพาะปัสสาวะ และลำคอ จำนวน 25% ของหญิงตั้งครรภ์จะพบเชื้อนี้ในช่องคลอดและทวารหนัก ประมาณ 15-20% ของหญิงตั้งครรภ์อาจเป็นพาหะนำ เชื้อโรคนี้ พร้อมทั้งสามารถถ่ายทอดไปยังทารกได้ โดยอาจติดเชื้อก่อนคลอด ขณะคลอด (early-onset disease) และหลังคลอด (late-onset disease) แต่พบว่าการติดเชื้อเกิดขึ้นบ่อยที่สุดภายหลังการคลอด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดของภาวะติดเชื้อรุนแรงในทารกแรกเกิด เกิดภาวะติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (Bacteremia) ปอดบวม เยื่อหุ้มสมองและไขสันหลังอักเสบได้ โลหิตเป็นพิษหรือในเนื้อเยื่อ (neonatal sepsis) หูอักเสบ ข้ออักเสบ และเกิดการติดเชื้อที่ผิวหนัง (นงลักษณ์. 2544) การติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้พบได้ทั่วไป ผู้ที่ได้รับเชื้อบางรายไม่เกิดอาการผิดปกติแต่อย่างใด ผู้ที่ได้รับเชื้อแต่ไม่เกิดโรคจัดเป็นพาหะ โรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ไม่ใช่โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ในระยะหลังๆ เริ่ม มีรายงานทางการแพทย์มากขึ้นเกี่ยวกับการติดเชื้อ *S. agalactiae* ในผู้ป่วยที่ไม่ใช่หญิงมีครรภ์ ซึ่งพบได้ในผู้สูงอายุที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคเบาหวาน และผู้ที่มีเนื้อร้ายหรือมะเร็ง (Lindahl et al. 2005)

อาการในผู้ป่วยรายที่มีการติดเชื้อรุนแรง เรียกว่า invasive disease พบว่า *S. agalactiae* จะกระจายเข้าสู่กระแสเลือด อาจทำให้เกิดภาวะปอดติดเชื้อ กระดูกและข้อติดเชื้อ และในบางรายอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบประสาทได้ มีรายงานพบผู้ป่วยติดเชื้อจะเกิดภาวะลิ้นหัวใจอักเสบ ผิวหนังติดเชื้อ และพบว่ามีการติดเชื้อนี้ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ป่วยโรคมะเร็ง และผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี (HIV)

การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ แบคทีเรียชนิดนี้จะไวต่อยาปฏิชีวนะกลุ่มยาเพนนิซิลิน (Penicilin) แอมพิซิลิน (Ampicilin)

และมีปฏิกิริยาต่อ เซฟาโซลิน (Cefazolin) อีริโทรมัยซิน (Erythromycin) คลินดามัยซิน (Clindamycin) ด้วยเช่นกัน แต่กลุ่มยาเพนนิซิลินถือว่าเป็นทางเลือกอันดับแรกที่จะถูกนำมาใช้บำบัด แพทย์จะพิจารณาใช้ยาในกลุ่มเพนนิซิลินโดยเป็นยาฉีด และใช้เวลารักษาเป็นเวลาเท่าใดนั้น ขึ้นกับความรุนแรงของการติเชื้อ ปกติที่ใช้เวลา 2 สัปดาห์ เชื้อรุนแรงอาจใช้เวลา 4-6 สัปดาห์ และอาจต้องให้ยามากกว่าปกติ 2-3 เท่า สำหรับเด็กทารกแรกเกิดที่พบการติดเชื้อนั้น ต้องให้ยาปฏิชีวนะภายใน 12 ชั่วโมงแรกที่เกิด จากนั้นก็ให้ทุกวันจนครบกำหนดที่เหมาะสม (Heath. 2007)

2. การก่อโรคในโคนม

โรคเต้านมอักเสบในโคนมนั้นมีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียเป็นส่วนมาก แต่อาจเกิดจากเชื้อราหรือยีสต์ก็ได้ ซึ่งโคสามารถติดเชื้อแบคทีเรียได้จาก 2 แหล่งสำคัญ คือ จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ และจากสิ่งแวดล้อมรอบตัวโค เช่น อุจจาระ พื้นคอก มือผู้รีด เป็นต้น การก่อโรคในเต้านมโค เมื่อเชื้อเพิ่มจำนวนมากขึ้น พร้อมกับ มีแรงมากระแทกที่เต้านมจะทำให้รูหัวนมโคเปิดเชื้อก็จะเข้าสู่ภายในเต้านมได้ จากนั้นเชื้อจะไปทำลายเนื้อเยื่อของเต้านมโดยการเกาะยึดเนื้อ เชื้อ *S. agalactiae* สามารถ มีชีวิตอยู่และขยายพันธุ์ได้เฉพาะในบริเวณเต้านมโคเท่านั้น ในสิ่งแวดล้อมภายนอกอาจจะสามารถมีชีวิตอยู่ ได้เพียงระยะเวลาสั้นๆ ไม่กี่วัน (Mike. 2005) Merl et al. (2003) ศึกษาโรคเต้านมอักเสบที่ระบาดในฟาร์มเลี้ยงโคนม ประเทศเยอรมันนี โดยสุ่มตัวอย่างตรวจเชื้อจาก 79 ฟาร์ม พบว่าเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่เป็น *S. agalactiae* ศริญญา และคณะ (2550) ได้ศึกษาโรคเต้านมอักเสบ โคนมที่เกิดเชื้อ *S. agalactiae* แบบไม่แสดงอาการ คุณภาพและปริมาณน้ำนมที่ผลิตลดลง และเชื้อแพร่สู่โคตัวอื่นได้ การรักษาโดยกำจัดเชื้อนี้ออกจากฝูงสามารถลดปัญหาความสูญเสียได้ ส่วนการรักษาโดยการใช้ยาปฏิชีวนะอาจต้องพิจารณาความเหมาะสม และควรพิจารณาถึงปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น ระยะการให้นมของโค สุขศาสตร์การรีดนม ประสิทธิภาพการทำงานเครื่องรีดนม และการจัดการฟาร์มอื่น ๆ

การตรวจวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบในโคนม สามารถตรวจสอบปริมาณของเชื้อแบคทีเรียนี้ โดยการสังเกตว่ามีก้อนเชื้ออยู่ในถังบรรจุนม หรือใช้วิธี DHIA นับโซมาติกเซลล์ของแบคทีเรีย (Somatic Cell Counts; SCC) ซึ่งจะพบว่ามีปริมาณเชื้อมากกว่า 400,000 เซลล์/มิลลิลิตร (Mike. 2005)

การควบคุมและป้องกันโรคเต้านมอักเสบในโคนม ต้องเลี้ยงโคไม่ให้อยู่แออัดจนเกินไป คอกต้องแห้ง สะอาด อุจจาระไม่หมักหมม แม่โคที่นำเข้ามาใหม่ควรได้รับการตรวจโรคเต้านมอักเสบก่อน ก่อนการรีดนมควรล้างเต้านมให้สะอาดด้วยน้ำยาคลอรีนและเช็ดให้แห้ง ผ้าเช็ดเต้านมต้องใช้ตัวละหนึ่งผืนและแห้งสะอาด มือผู้รีดต้องล้างให้สะอาดและเช็ดให้แห้ง ควรสวมถุงมือ ก่อนรีดน้ำนมทุกครั้งต้องตรวจด้วยถ้วยตรวจนม ควรเช็ดหัวนมทุกครั้งหลังรีดนมด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น คลอเฮกซิดีน 0.5% หรือไอโอไดฟอร์ 0.5-1.0% ควรตรวจโคในฝูงด้วยน้ำยา CMT ทุกครั้งที่ตรวจพบว่าโคเป็นโรคหรืออย่างน้อยเดือนละครั้ง ควรสอดยาดราย (Dry) เพื่อป้องกันการเกิดเต้านมอักเสบในช่วงก่อนหรือหลังคลอดลูกใหม่ๆ

การรักษาโรคเต้านมอักเสบในโคนม ต้องใช้ยาปฏิชีวนะเป็นส่วนมาก เพราะสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ส่วนเชื้อ *S. agalactiae* จะรักษาโดยใช้ยาเพนนิซิลิน

3. การก่อโรคในปลา

ปัจจุบันแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสได้สร้างความสูญเสียต่อการผลิตปลาน้ำจืด และปลาน้ำเค็มเป็นจำนวนมาก เชื้อที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคในปลานิล คือ *S. agalactiae* และ *S. iniae* นอกจากนี้องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ World Organization for Animal Health หรือ OIE ระบุว่าเชื้อ *S. iniae* สามารถก่อให้เกิดโรคจากสัตว์สู่คนได้ (Zoonosis) ส่วนการแพร่ระบาดในปลาพบได้ในปลาทุกขนาด สาเหตุอาจเกิดจากรูปแบบการจัดการฟาร์ม โดยฟาร์มที่มีการเปลี่ยนแปลงการจัดการอย่างรวดเร็ว มีความหนาแน่นในการเลี้ยงสูง การจับปลาหรือการขนย้ายปลาที่ไม่เหมาะสมทำให้เกิดบาดแผลตามตัว รวมทั้งคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม เช่น ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำต่ำ ปริมาณแอมโมเนียหรือไนไตร์ตสูง ทำให้ปลาเกิดความเครียด ส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลา การติดเชื้อเข้าสู่ร่างกายเกิดจากการกินปลาป่วยหรือปลาตายที่มีเชื้อแบคทีเรียนี้ หรือติดเชื้อผ่านทางบาดแผลบริเวณผิวหนังและเยื่อบุของอวัยวะต่างๆ (สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2553) คุณสมบัติบางประการของเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสที่สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบได้ (Systemic Infection) ได้แก่ (1) แอนติเจนที่ผิวเซลล์ (Surface Antigens) ช่วยให้เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถเกาะพื้นผิวเซลล์ของปลา ปกป้องการถูกทำลายจากเอนไซม์ไลโซไซม์ของปลา เชื้อสามารถเพิ่มจำนวนและกระจายผ่านทางน้ำเหลือง เลือด (septicemia) ไปยัง

อวัยวะเป้าหมายของปลาได้ เช่น ตับ ไต ม้าม และสมอง (2) การสร้างสารพิษ สารพิษหลักของเชื้อสเตรปโตคอคคัส คือ ฮีโมไลซิน หรือสเตรปโตไลซิน (Streptolysin) แบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ Streptolysin S และ Streptolysin O สารพิษทั้งสองชนิดนี้ทำให้เกิดการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่สมบูรณ์บน Blood agar โดย Streptolysin S ทำให้เกิดการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ส่วนพื้นผิวของ blood agar (Surface Hemolysis) ส่วน Streptolysin O ทำให้เกิดการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ส่วนลึกของ blood agar (deep hemolysis) ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน สารพิษชนิดนี้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่ออย่างรวดเร็ว รวมทั้งเซลล์เม็ดเลือดขาว ตับ และหัวใจ (3) การผลิตเอนไซม์ เอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส ส่วนใหญ่สามารถย่อยโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น ก้อนไฟบริน และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เป็นต้น ทำให้เชื้อโรคสามารถแทรกผ่านเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกายได้ง่าย โดยเฉพาะในกรณีที่เกิดบาดแผลบริเวณผิวหนังหรือเยื่อบุของอวัยวะต่างๆ

ในประเทศไทยพบว่าเชื้อ *S. agalactiae* มีการระบาดในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว และปลานิล ซึ่งมีการระบาดในเขตภาคกลาง และภาคใต้ (ภิรัตน์. 2552) และยังพบว่ามีการระบาดหนักในตัวอ่อนของปลานิลแดงที่เลี้ยงในฟาร์มเสแลงกอร์ ของประเทศมาเลเซีย (Abuseliana et al. 2011)

อาการปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส มักแสดงอาการในปลาขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักตัวมากกว่า 300 กรัม อาการป่วยที่เด่นชัดมี 2 รูปแบบ คือ (1) อาการป่วยแบบเฉียบพลัน ปลาจะว่ายน้ำผิดปกติ ไม่มีทิศทาง สูญเสียการทรงตัว บางตัวว่ายน้ำแบบควงสว่าน มีลักษณะภายนอกที่เด่นชัด คือ ท้องขยายใหญ่ ตาโปน กระจกตาขุ่น หรืออาจมีเลือดออกบริเวณลูกตา มีเลือดคั่งบริเวณโคนครีบ แผ่นปิดเหงือก ผิวหนัง และรอบรูทวาร ลักษณะอาการภายในที่เด่นชัด คือ มีของเหลวลักษณะใส หนืด หรือปนเลือดในช่องท้อง ตับขยายใหญ่มีสีซีดลง ม้ามขยายใหญ่ แต่ลูกปลาอาจไม่พบลักษณะผิดปกติดังกล่าว (2) อาการป่วยแบบเรื้อรัง ปลาที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังอาจพบลอยตัวอยู่บริเวณผิวน้ำ มีสีลำตัวเข้มขึ้นในปลานิลดำ หรือซีดลงในปลานิลแดง อาจพบรอยโรคภายนอก เช่น ตุ่มหนองบริเวณคอดหางหรือใต้คาง และรอยโรคภายใน เช่น การอักเสบของเยื่อบุช่องท้อง การอักเสบของเยื่อหุ้มหัวใจ ปลากินอาหารลดลง อัตราการเจริญเติบโตต่ำ ทำให้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น สภาพซากไม่สมบูรณ์ มีตำหนิ ส่งผลให้เนื้อปลานิลไม่ได้มาตรฐาน (สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2553)

อาการทั่วไปของปลาคือ ตับ ม้าม และไตบวม เกิดช่องว่างภายใน เยื่อหุ้มสมองจะหนาบวมขึ้น และเกิดในส่วนของลำไส้ได้เช่นกัน (Zamri-Saad et al. 2010) การก่อโรคในปลากะพงขาว โดยแยกเชื้อนี้จากปลากะพงขาวที่ป่วย เชื้อจัดอยู่ในกลุ่ม non-haemolytic Streptococci เจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรดด่าง 9.6 และความเค็ม 0 ppt ความรุนแรงของเชื้อต่อปลากะพงขาวเท่ากับ $1.937x10^3$ CFU/ml (LD_{50} ที่ 14 วัน) ปลาป่วยจะแสดงอาการ ดังนี้ มีลำตัวสีคล้ำ เสียการทรงตัว ตาขุ่นและโปน มีของเหลวในช่องท้อง ตับซีด ม้ามบวม และตกเลือกในสมอง ปริมาณเม็ดเลือดแดงต่ำ แต่ปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น (เฉลิม และคณะ. 2548)

การรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในปลา สำหรับปลานิลที่นิยมทำกันอยู่ในปัจจุบัน คือ การใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น Ampicillin, Penicillin G, Erythromycin, Oxytetracycline, Nalidixic acid, Oxolinic acid, Sulphamethoxazol, Chloramphenical และ Nitrofurans แต่การใช้ยาปฏิชีวนะมักก่อให้เกิดปัญหาหลายอย่างตามมา เช่น หากใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานานหรือใช้ในปริมาณที่มาก อาจทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งการดื้อยาดังกล่าวอาจแพร่จากแบคทีเรียสายพันธุ์หนึ่งไปยังแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นได้ ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะในการแก้ไขปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียของปลามีแนวโน้มที่จะถูกควบคุมอย่างเข้มงวด หรือถูกห้ามการใช้ในอนาคต ดังนั้นการวิจัยเพื่อหาสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมเพื่อนำมาใช้แก้ไขปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียของปลาจึงทำกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน มีรายงานจำนวนมากที่กล่าวถึงความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพร ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในปลา เช่น การใช้สมุนไพรจีน (*Astragalus radix* และ *Scutellaria radix*) เพื่อส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในการเกิดโรคของปลานิล (Yin et al. 2005) การใช้กระเทียม และใบหูกวางกำจัดเห็บระฆัง (*Trichodina* sp.) ในลูกปลานิล (ชนกันต์ และคณะ. 2548) และการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* โดยใช้ผงจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยตัว ทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% สามารถยับยั้ง เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ดี (อดิเทพชัยย์การณ์ และประณีต. 2553) นอกจากนี้ยังงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับวัคซีน และวิธียับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ (วิศณุ และคณะ (2550) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน ที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในการป้องกันโรค สเตรปโตคอค

โคซิสในปลานิล โดยเตรียมวัคซีน จากเชื้อ *S. agalactiae* ด้วยวิธี formalin-killed ให้วัคซีนแก่ปลาโดยฉีดเข้าทางช่อง พบว่าวัคซีนที่เตรียมขึ้นสามารถใช้ป้องกันโรคนี้ในปลานิลได้ เมื่อให้วัคซีนแก่ปลาโดยการฉีดเข้าทางช่องท้องที่ความเข้มข้น 10^9 เซลล์/มิลลิลิตร ภิรัตน์ (2552) ได้ทดลองใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อ *S. agalactiae* ในปลานิล พบว่าการใช้วัคซีนนั้นได้เสริมสร้างสุขภาพของปลา ให้มีความต้านทานโรคเพิ่มสูงขึ้น และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคระบาดระหว่างการเพาะเลี้ยงได้เป็นอย่างดี ซึ่งวิธีนี้เหมาะกับรูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบพัฒนา ดังนั้นการพัฒนารูปแบบ และวิธีการให้วัคซีนจึงต้องมีประสิทธิภาพ สุปราณี (2550) ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. agalactiae* ที่ก่อโรคในปลานิล พบว่า *Bacillus licheniformis* และ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของ S. agalactiae ได้ ซึ่งให้ผลคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ ภัทริดา และคณะ (2011) โดยใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas hydrophila* และ *S. agalactiae* ในปลานิล โดยใช้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* โดยวิธี cross streak method พบว่า *B. licheniformis* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ABRCA1 ได้ ส่วนเชื้อ *B. pumilus, B. subtilis* และ *B. licheniformis* สามารถเจริญครอบครองโคโลนีของเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 ในอาหารเหลว ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน คือ 10^5 CFU/มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 ชนิด มีคุณสมบัติที่ดีในการนำไปใช้ลดปริมาณเชื้อก่อโรคในการเลี้ยงปลานิลได้

การชันสูตรโรคสเตรปโตคอคคัสในปลานิลทางห้องปฏิบัติการ

สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหาร แห่งชาติ (2553) ได้กำหนดรายละเอียดที่สำคัญเกี่ยวกับการชันสูตรโรคสเตรปโตคอคคัสในปลานิลทางห้องปฏิบัติการ ด้วยการชันสูตรซากร่วมกับวิธีย้อม สีแบบรวดเร็ว (Rapid Staining Test) การตรวจตัวอย่าง ด้วยวิธีจุลพยาธิวิทยา (Histopathological Method) วิธีจุลชีววิทยา (Microbiological Method) และวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) วัตถุประสงค์ คือ เพื่อคัดกรองและยืนยันโรคในปลาป่วยหรือปลาที่ติดเชื้อโดยไม่แสดงอาการหรือรอยโรค (Carrier Fish) และการเฝ้าระวังโรค ทำให้การควบคุมโรคภายในฟาร์มเป็นไปอย่างรวดเร็ว ลดความสูญเสียในการผลิตและการแพร่กระจายเชื้อสู่สิ่งแวดล้อม วิธีการชันสูตรแต่ละวิธีมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน ควรเลือกใช้วิธีการชันสูตรโรคสเตรปโตคอคคัสขึ้นกับวัตถุประสงค์และชนิดตัวอย่างที่เก็บ เช่น ปลานิลป่วยที่แสดงรอยโรค สามารถชันสูตรโรคได้ โดยวิธีจุลชีววิทยา ลูกปลานิลในโรงเพาะฟัก หรือปลานิลที่สงสัยว่าติดเชื้อ สามารถชันสูตรโรคได้ โดยใช้วิธีจุลชีววิทยา หรือวิธี PCR การตรวจรับรองปลานิลที่จะนำเข้ามาในราชอาณาจักรให้ใช้วิธี PCR

วิจารณ์

S. agalactiae ที่ก่อให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในคน โรคเต้านมอักเสบในโคนม และโรคสเตรปโตคอค-โคซิสในสัตว์น้ำ โดยเฉพาะสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย เช่น ปลานิล และปลากะพงขาว พบว่ามีการระบาดของโรคติดเชื้อ *S. agalactiae* ในฟาร์มเลี้ยงปลานิลในภาคกลาง ภาคใต้ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ภิรัตน์. 2552) เมื่อมีการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้นกับปลานิลในฟาร์มเพาะเลี้ยง เกษตรกรมักประสบปัญหาการขาดทุน เนื่องจากการตายของปลาเป็นจำนวนมาก ส่วนผู้บริโภคก็มักประสบปัญหาในเรื่องราคาของปลาที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ สำหรับการเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของคน และยังส่งผลเสียอย่างร้ายแรงต่อภาคเกษตรกรรม ซึ่งเป็นแหล่งผลิตอาหาร โดยการแพร่ระบาดของเชื้อนี้ทำให้ศักยภาพการผลิตลดลง นับได้ว่าเป็นปัญหาสำคัญที่ต้องได้รับการแก้ไขและหาวิธีป้องกันอันตรายที่อาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้

ในปัจจุบันนี้การแก้ไขปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียของปลานิล และสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ที่นิยมทำกัน คือ การใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แต่การใช้ยาปฏิชีวนะมักก่อให้เกิดปัญหาหลายอย่างตามมา เช่น หากใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน หรือใช้ในปริมาณที่มาก อาจทำให้เกิดการดื้อยาของแบคทีเรีย ซึ่งการดื้อยาดังกล่าวอาจแพร่จากแบคทีเรียสายพันธุ์หนึ่งไปยังแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นได้ ทั้งยังส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหาร ระบบนิเวศ และสิ่งแวดล้อมในระยะยาว ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะในการแก้ไขปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียของปลามีแนวโน้มที่จะถูกควบคุมอย่างเข้มงวด หรือถูกห้ามการใช้ในอนาคต (อดิเทพชัยย์การณ์ และประณีต. 2553)

ดังนั้นถ้าหากเราได้มีความรู้ และความเข้าใจในลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย ก่อโรค *S. agalactiae* รวมทั้งการก่อโรคในสิ่งมีชีวิต การแพร่ระบาดของโรค การป้องกัน และรักษาโรคให้ดียิ่งขึ้น ย่อมสามารถหาวิธีตั้งรับ ยับยั้ง ป้องกัน การระบาด

หรือรักษาโรคติดเชื้อนี้ เพื่อไม่ให้เชื้อโรคก่อความเสียหายให้เกิดแก่สุขภาพร่างกาย หรือถึงขั้นเป็นอันตรายต่อชีวิต และสร้างความเสียหายต่อผลผลิตด้านเกษตรกรรมได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมแล้ว ยังสามารถช่วยควบคุมเชื้อก่อโรคนี้ไม่ให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้เช่นเดียวกัน

เอกสารอ้างอิง

เฉลิม หวันหมาน, ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง และกิจการ ศุภมาตย์. (2548). “โรคสเตรฟโตคอคโคซีสในปลากะพงขาว (Lates calcarifer),” **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสงขลานครินทร์.** 27(1) : 291-305.

ชนกันต์ จิตมนัส กิติวรรณ ทองดอนเหมือน และ วิชาญ นุ่นสังข์. (2548). “การใช้สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรในการกำจัดเห็บระฆัง (*Trichodina* sp.) ในลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*),” **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสงขลานครินทร์.** 27(1) : 359–364.

ชะลอ ลิ้มสุวรรณ. (2528). **โรคปลา (Fish Diseases).** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : คณะประมงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2544). **แบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง กับโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ.

ภิรัตน์ มั่นใจอางค์. (2552). **การทดลองใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Streptococcus agalactiae ในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.).** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภัทริดา โปฏก, ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล และนิติ ชูเชิด. (2554). ผลของการใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ก่อโรค *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). **การประชุมทางวิชาการการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ครั้งที่ 49.** (65-74). กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิศณุ บุญญาวิวัฒน์, ทินวรรธน์ ศรีสุข และวรวิทย์ วัชชวัลคุ. (2550). “ประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในการป้องกันโรค สเตรปโตคอคโคซิลในปลานิล,” **วารสารคณะสัตวแพทย์** มหาวิทยาลัยขอนแก่น (KKU. Vet. J.) 17(1) : 21-30.

ศริญญา ฤกษ์อยู่สุข, คณะ. (2550). การรักษาการติดเชื้อ Streptococcus agalactiae ในเต้านม โครีดนม โดยใช้ยาสอดเต้าเซฟควินอม. **การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 33.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุปราณี พึ่งแพง. (2550). **ผลของแบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาต่อการยับยั้งเชื้อ Streptococcus agalactiae ที่ก่อโรคในปลานิล (Oreochromis niloticus).** วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2553). **การชันสูตรโรค สเตรปโทคอกคัสในปลานิล.** มาตรฐานสินค้าเกษตร ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศ และงานทั่วไป เล่ม 127 (150 ง). : 1-25.

อดิเทพชัยย์การณ์ ภาชนะวรรณ และ ประณีต งามเสน่ห์. (2553). “ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อ Streptococcus agalactiae ที่เป็นแบคทีเรียก่อนโรคในปลา,” **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง.** 4(1) : 103-109.

Abuseliana, et al. (2011). ”Pathogenicity of Streptococcus agalactiae Isolated from a Fish Farm in Selangor to Juvenile Red Tilapia (Oreochromis sp.),” **Journal of Animal and Viterinary Advances.** 10(7) : 914-919.

Heath, T.P. (2007). “Perinatal group B streptococcal disease,” **Journal of Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology.** 21(3) : 411-424.

Joyce, et al. (2009). “Human *Streptococcus agalactiae* Isolate in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus),” **Journal of merging Infectious Diseases.** 15(5) : 774-776.

Kitao, T. (1982). “The methods for detection of *Streptococcus* sp., causative bacteria of streptococcal disease of cultured yellowtail (Seriola quinqueradiata) Especially, their

cultural, biochemical and serological properties," **Journal of Fish Pathol.** 17 : 17-26.

Kuniko, K., et al. (2007). "Novel substrate specificity of glutathione synthesis enzymes from Streptococcus agalactiae and Clostridium acetobutylicum," **Biochemical and Biophysical Research Communications.** 352 : 351-359.

Lehmann and Neumann. (1986). Streptococcus Agalactiae [Online], Available : http : //en.wikipedia.org/wiki/Streptococcus agalactiae. [August 1, 2012].

Lindahl, G., Areschoug. (2005). "Surface protiens of Streptococcus agalactiae and related protiens on other bacterial pathogens," **Journal of Clinical Microbiology Reviews.** : 102-127.

Merl, K., A. Et al. (2003). "Determination of epidemiological relationships of Streptococcus agalactiae isolated From bovine mastitis," **Journal of FEMS Microbiology Letters.** 226 : 87-92.

Microbiology in Pictures. (2011). Streptococcus agalactiae. [Online], Available : www.microbiologyinpictures./com/streptococcus agalactiae.html. [August 1, 2011].

Mike, M. (2005). "Milk Money Fact Sheet 02 Streptococcus agalactiae," **Journal of Resources Milk Money, Pamela., Ruegg.** 3 : 5-7.

Ppdictionary. (2011). Streptococcus agalactiae. [Online], Available : www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/agalactiae.com [August 1, 2011].

Robert, W.B. (2009). **Microbiology with diseases by body system.** Second edition. USA : publishing as Pearson Benjamin Cummings.

_____.(2007). **Microbiology with diseases by taxonomy.** Second edition. Pearson International Edition. USA : publishing Pearson Benjamin Cummings.

Yin, G., J. et al. (2005). "Effect of two Chinese herbs (Astragalus radix and Scutellaria radix) on non-specific immune response of Tilapia (Orechromis niloticus)," **Journal of Aquaculture.** 253 : 39-47.

Zamri-Saad, M., et al. (2010). "Pathological Changes in red Tilapias (Oreochromis spp.) naturally Infected by Streptococcus agalactiae," **Journal of Comp. Path.** 143 : 227-229.