บทความวิชาการ

การประยุกต์ใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อในปลา

เอกพล วังคะฮาต*

บทคัดย่อ

ภาวะโรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นในปลายังคงเป็นปัญหาหลักที่สำคัญในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งส่งผลกระทบต่อวางแผนการเพิ่มผลผลิตเป็นอย่างมาก โดยการเลี้ยงปลาในปัจจุบันมักได้รับผลกระทบจากเชื้อก่อโรคหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาเหตุที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและไวรัส การให้วัคซีนจึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการป้องกันการติดเชื้อก่อโรคเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากแนวทางในการลดผลกระทบจากการเกิดโรคเหล่านี้มีอยู่หลากหลายวิธี ส่วนใหญ่มุ่งเน้นเพื่อการรักษาด้วยสารเคมีโดยการใช้ยาปฏิชีวนะ อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะที่มากเกินไปอาจนำไปสู่ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสภาวะของการดื้อยาจากเชื้อก่อโรค นอกจากนี้ ยาปฏิชีวนะยังไม่สามารถต่อต้านการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสได้ ดังนั้น การใช้วัคซีนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้ในการลดผลกระทบเหล่านี้ได้อย่างเหมาะสม บทความนี้เป็นการสรุปความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการใช้วัคซีนในปลาเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อในปัจจุบัน รวมไปถึงข้อดีและข้อจำกัดของวัคซีนและวิธีการให้เพื่อใช้ในการป้องกันโรคของปลา

คำสำคัญ: วัคซีน สัตว์น้ำ โรคติดเชื้อ ระบบภูมิคุ้มกัน

สาขาวิชาประมง ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: eakapol.w@msu.ac.th

Application of Vaccine for Preventing Infectious Diseases in Fish

Eakapol Wangkahart*

ABSTRACT

Infectious diseases in fish are still a huge problem for the aquaculture industry and can severely impact on plans to increase aquaculture production. Nowadays, cultured fish are threatened by many pathogens, especially bacteria and viruses. Vaccination is one of the most effective tools for protecting fish from these pathogens. Several strategies have been implemented to alleviate the damage and one of the most commonly used strategies against diseases is chemotherapy using antibiotics. However, there is a serious concern regarding the over-utilization of antibiotics, which can lead to deleterious damage to environment by upsetting the natural microbial population and can hasten the emergence of antibiotic resistant pathogens. Moreover, antibiotics cannot be used against viral infections. Therefore, one of the most promising techniques is vaccination. This review summarizes current knowledge on types of fish vaccination against infectious diseases. Furthermore, advantages and limitation of vaccine use in fish are described. Attempts to improve vaccine administration have mostly focused on disease protection.

Keywords: vaccine, aquatic animals, infectious diseases, immune system

Division of Fisheries, Department of Agricultural Technology, Faculty of Technology, 1 Mahasarakham University
*corresponding author, e-mail: eakapol.w@msu.ac.th

บทนำ

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (aquaculture) นับเป็นกิจกรรมทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลกรวมทั้งประเทศไทยมาช้านาน เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงเพื่อการบริโภคในครัวเรือนและเพื่อการค้า อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันได้มีการพัฒนาไปเป็นการเลี้ยงแบบหนาแน่นเชิงพาณิชย์ (intensive system) โดยมีการปล่อยในอัตราที่หนาแน่น ทั้งนี้เพื่อเพิ่มการผลิตและผลกำไรให้มากขึ้น ซึ่งสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมากจนกลายเป็นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ และในขณะเดียวกันด้วยระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่นในเชิงพาณิชย์ก็ส่งผลกระทบต่อเกษตรกรหลายประการ เช่น ความเสื่อมโทรมของบ่อเลี้ยงและบริเวณที่ทำการเพาะเลี้ยง รวมถึงการระบาดของโรคในการเลี้ยงสัตว์น้ำทุกประเภท [1] โดยปัญหาของการเกิดโรคมักเกิดขึ้นจากการจัดการและการควบคุมโรคที่ไม่ดีพอ ซึ่งส่งผลเสียหายต่อเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงอย่างมากเช่นเดียวกัน ซึ่งโรคที่เกิดขึ้นและเป็นปัญหาในปัจจุบันมีสาเหตุหลักมาจากเชื้อปรสิต เชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ซึ่งถือได้ว่ามีความรุนแรงและสร้างปัญหากับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก [2] เพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาดังกล่าว เกษตรกรส่วนใหญ่ได้หันมาใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งนอกจากจะใช้ไม่ได้ผลแล้วยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภคที่ได้รับยาและสารเคมีที่ตกค้างในตัวปลาอีกด้วย ด้วยเหตุนี้การใช้วัคซีนเพื่อป้องกันการเกิดโรคจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดผลกระทบที่เกิดขึ้นดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันแล้วในสัตว์หลายชนิดรวมทั้งในปลาบางชนิดว่าสามารถป้องกันการเกิดโรคได้เป็นอย่างดี และได้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องทั้งในส่วนของรูปแบบและวิธีการให้วัคซีน รวมถึงปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของวัคซีน โดยมุ่งเน้นเพื่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มของปลาให้มีต่อเชื้อโรคนั่นเอง [3]

วัคซีนและชนิดของวัคซีนที่ใช้ในปลา (vaccine and type of vaccines in fish)

วัคซีน (vaccine) เป็นสารที่ผลิตหรือเตรียมขึ้นจากเชื้อก่อโรค อาจเป็นแบคทีเรีย ไวรัส หรือส่วนประกอบส่วนหนึ่งส่วนใดของเชื้อก่อโรคที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ เมื่อนำเข้าไปในร่างกายของปลาแล้วมีผลให้เกิดการกระตุ้นและชักนำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรคขึ้นมา [4] โดยหลักการทั่วไป วัคซีนประกอบด้วยส่วนประกอบของเชื้อก่อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคหรือเรียกว่า “แอนติเจน” ซึ่งสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้มีการสร้างสารชนิดหนึ่งที่ใช้ในการตอบสนองขึ้นมาหรือที่เรียกว่า “แอนติบอดี” เพื่อใช้ในการกำจัดหรือทำลายแอนติเจนนั้นๆ ออกนอกร่างกายและยังสามารถจดจำแอนติเจนนั้นได้เมื่อได้รับอีกภายหลังจะมีกลไกการทำลายที่รวดเร็วและรุนแรงขึ้น [5] การใช้วัคซีนเริ่มเข้ามามีบทบาทสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในระบบการเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิดและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เพื่อมุ่งเน้นให้เกิดการป้องกันการเกิดโรคต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยวัคซีนที่ใช้ในปัจจุบันสามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิดหลัก คือ

1. วัคซีนเชื้อเป็นที่ทำให้อ่อนกำลังลง (live attenuated vaccine)

เป็นวัคซีนที่เตรียมได้จากเชื้อก่อโรคที่ยังมีชีวิตอยู่หรือถูกนำมาทำให้หมดคุณสมบัติในการก่อโรค โดยอาจใช้ความร้อนหรือสารเคมีในระดับที่ไม่ทำให้เชื้อนั้นตายหรือการลดความรุนแรงของเชื้อนั้นลงไม่ให้เกิดโรคในปลา [6] ข้อดีของวัคซีนชนิดนี้คือสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนในร่างกายของปลาได้ ทำให้

สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายได้เป็นเวลานานและมีระดับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ดีกว่าวัคซีนประเภทอื่นๆ โดยสามารถให้ในปริมาณที่น้อยและเป็นการเลียนแบบการติดเชื้อตามธรรมชาติ รวมทั้งมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันโรคและไม่จำเป็นต้องฉีดวัคซีนหลายครั้ง [7] อย่างไรก็ตาม วัคซีนชนิดนี้ยังมีข้อด้อยคือเชื้อที่ใช้ในการทำวัคซีนอาจเปลี่ยนสภาพหรือกลายพันธุ์เป็นเชื้อที่มีความรุนแรงได้ กล่าวคือต้องมีขนาดและปริมาณที่เหมาะสมในการให้วัคซีนโดยความรุนแรงของเชื้อจะต้องไม่ต่ำจนเกินไปจนไม่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในปลาได้ [6] การให้วัคซีนเชื้อเป็นในปลาจะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อให้วัคซีนร่วมกับสารเสริมกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulants) ซึ่งจะมีความสามารถในการต่อต้านโรคต่อเชื้อโรคได้มากขึ้น [8]

2. วัคซีนเชื้อตายหรือฆ่าเชื้อแล้ว (Killed vaccine)

เป็นวัคซีนที่เตรียมได้จากเชื้อก่อโรคที่ทำให้เชื้อนั้นตายลงซึ่งประกอบด้วยเชื้อก่อโรคทั้งตัว (whole cell) ผ่านการฆ่าด้วยความร้อนหรือสารเคมี ส่วนใหญ่นิยมใช้ฟอร์มาลินเป็นหลัก (formalin-killed vaccine) โดยหลักการนั้นทั้งวัคซีนเชื้อตายและวัคซีนเชื้อเป็นจะมีวิธีการผลิตและความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่คล้ายคลึงกัน แต่ในกระบวนการทำวัคซีนเชื้อตายโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อไวรัสจำเป็นต้องทำให้เชื้อก่อโรคนั้นหมดสภาพลงจึงจะสามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งเมื่อฉีดเข้าสู่ปลาแล้วจะไม่ก่อให้เกิดโรคหรืออาการข้างเคียง [9] ในปัจจุบัน วัคซีนเชื้อตายที่ใช้ในปลาเริ่มพัฒนาวิธีการและกระบวนการผลิตให้คล้ายคลึงกับในสัตว์ชั้นสูง เช่น การพัฒนาวัคซีนด้วยเทคนิคการสร้างไวรัสลูกผสม (reverse genetics) โดยเป็นวิธีการสร้างวัคซีนจากยีนของไวรัสสายพันธุ์ที่แยกได้จากปลาที่ติดเชื้อซึ่งถูกโคลนอยู่ในพลาสมิด (plasmid) ทำให้สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะพันธุกรรมของไวรัสได้ตามต้องการและมีความรุนแรงในการก่อโรคต่ำ รวมทั้งมีลักษณะทางแอนติเจนที่ตรงกับไวรัสที่แพร่ระบาด นอกจากนี้ ยังช่วยย่นระยะเวลาในการผลิตและการพัฒนาวัคซีนซึ่งสามารถทำได้ในระยะเวลาอันสั้น การผลิตวัคซีนด้วยเทคนิคนี้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการผลิตวัคซีนในปัจจุบัน และมีความเป็นไปได้ในการพัฒนาวัคซีนในอนาคต [10] จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า ข้อดีของวัคซีนเชื้อตายยังไม่ก่อให้เกิดโรคหรือเกิดโรคได้น้อยมาก ดังนั้น จึงเป็นวัคซีนที่มีความปลอดภัยสูง [11] ดังนั้น จึงมีการพยายามพัฒนาวิธีการให้วัคซีนร่วมกับวิธีอื่นเพื่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ดียิ่งขึ้นและสามารถต้านทานต่อโรคและเพิ่มอัตราการรอดของปลาหลังจากการให้วัคซีน [12]

3. ดีเอ็นเอวัคซีน (DNA vaccine)

เป็นวัคซีนที่ผลิตโดยการตัดต่อเอายีนหรือสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคที่กำหนดการสังเคราะห์โปรตีนหรือสารก่อภูมิต้านทานของเชื้อเข้าไปในดีเอ็นเอพาหะ (vector) เมื่อปลาได้รับวัคซีนจะทำให้เซลล์ในร่างกายสร้างสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่กำหนดด้วยยีนนั้นๆ ขึ้นมาโดยตรง [13] ปัจจุบันวัคซีนชนิดนี้กำลังได้รับการพัฒนาและนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงปลาเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความปลอดภัยสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวัคซีนชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตได้อย่างรวดเร็วในระดับห้องปฏิบัติการและมีความเสถียรสูงที่อุณหภูมิห้อง ประกอบกับการดัดแปรสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอที่สามารถกำจัดส่วนที่ทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่เป็นอันตรายได้ ทำให้ดีเอ็นเอวัคซีนมีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น [5]

อย่างไรก็ตาม การใช้ดีเอ็นเอวัคซีนในปลายังมีข้อจำกัดเช่นเดียวกัน กล่าวคือความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในปลายังอยู่ในระดับต่ำ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการให้วัคซีนร่วมกับสารที่ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (adjuvants) ซึ่งจะช่วยส่งเสริมในการกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากการทำงานของดีเอ็นเอวัคซีนและเกิดการแสดงออกของยีนที่อยู่ในดีเอ็นเอวัคซีนได้มากขึ้น [14]

ด้วยข้อจำกัดบางประการของการให้วัคซีนในปลาคือ การเปลี่ยนแปลงจากเชื้อที่ไม่รุนแรงจนกลายเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงมากขึ้น (virulence) จะส่งผลต่อปลาให้เกิดโรคได้โดยตรง ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงมีการคิดค้นวัคซีนโดยการใช้แอนติเจนบางส่วนของเชื้อโรคที่มีสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลา (immunogenicity) มาผลิตเป็นวัคซีนขึ้นแทน (antigenic subunit vaccine) ส่วนใหญ่วัคซีนประเภทนี้มักสร้างขึ้นเพื่อใช้ป้องกันโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสเป็นหลัก [9] จากการศึกษาพบว่าไกลโคโปรตีน (glycoprotein; G-protein) ซึ่งเป็นชิ้นส่วนบนผิวด้านนอกของเปลือกหุ้มไวรัสและมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบจึงมีสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันหรือเป็นแอนติเจนได้ดี ดังนั้น เมื่อนำชิ้นส่วนของไกลโค-โปรตีนเหล่านี้มาผลิตเป็นดีเอ็นเอวัคซีนพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณของยีนให้ได้จำนวนตามเท่าที่ต้องการและสิ่งสำคัญคือไม่มีปัญหาเรื่องการเปลี่ยนเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงได้ [15]

4. การพัฒนาวัคซีนในพืช (plant-derived vaccine)

เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการสร้างวัคซีนทดแทนการสร้างในตัวปลาโดยตรง ซึ่งเป็นการกระตุ้นให้พืชสร้างโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อภูมิคุ้มกันหรือแอนติเจนที่ต้องการสร้างขึ้นด้วยกระบวนการทางพันธุวิศวกรรม [21] เนื่องจากพืชสามารถปลูกได้ง่าย ราคาถูก และลดโอกาสจากการปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรค ซึ่งจะส่งผลให้ปลาได้รับโปรตีนที่สร้างขึ้นนั้นผ่านการให้โดยการผสมลงในอาหาร อันจะทำให้ปลาสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นในร่างกายได้นั่นเอง ตัวอย่างพืชที่นิยมผลิตเป็นวัคซีนและทดลองใช้ในปลา เช่น มันฝรั่ง และมะเขือเทศ [22] จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าการให้วัคซีนด้วยรูปแบบนี้จึงเป็นวิธีที่สะดวกมากขึ้นและไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์มากนัก พร้อมทั้งยังประหยัดอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ยังต้องมีการปรับปรุงให้พืชสามารถผลิตแอนติเจนในระดับที่สามารถกระตุ้นระบบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาให้มากขึ้นด้วย

วิธีการให้วัคซีนในปลา (delivery of vaccine in fish)

เพื่อให้เกิดการป้องกันโรคโดยใช้วัคซีนมีประสิทธิภาพสูงสุด ปัจจุบันจึงมีการพัฒนารูปแบบการให้วัคซีนในปลาหลากหลายรูปแบบ ซึ่งส่วนใหญ่มุ่งเน้นให้วัคซีนที่ผลิตขึ้นเข้าสู่ตัวปลาได้โดยตรงและวัคซีนที่ให้เกิดประสิทธิภาพมากที่สุด สำหรับวิธีการให้วัคซีนในปลาในปัจจุบันนั้นมีด้วยกัน 3 วิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ดังนี้

1. การให้วัคซีนโดยวิธีการฉีด (injected vaccination)

การให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดนี้ส่วนใหญ่มักนิยมฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) หรือฉีดเข้าบริเวณช่องท้อง (intraperitoneal injection) เป็นหลัก ซึ่งการให้วัคซีนโดยวิธีการฉีดมักได้รับความนิยมและพบว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการให้ด้วยวิธีอื่นๆ เนื่องจากวัคซีนที่ให้เข้าสู่ตัวปลามากที่สุดจึงสามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้โดยตรง แต่มีข้อเสียบางประการคือไม่

สามารถใช้ได้กับปลาที่มีขนาดเล็กและอาจจำเป็นต้องใช้ยาสลบก่อนการให้วัคซีน นอกจากนี้ ในระหว่างการให้วัคซีนยังทำให้ปลาเกิดความเครียดและบอบช้ำได้ง่าย รวมถึงเสียเวลาและสิ้นเปลืองแรงงานอีกด้วย [3] โดยส่วนใหญ่การให้วัคซีนโดยการฉีดในปลานั้น จะใช้วิธีการฉีดเข้าช่องท้องซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการให้วัคซีนเข้ากล้ามเนื้อหรือการให้วัคซีนด้วยวิธีการอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตาม การให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดเข้าช่องท้องนั้นสามารถส่งผลกระทบหลายอย่าง ทั้งนี้หากผู้ปฏิบัติขาดความชำนาญในตำแหน่งของการฉีดหรือฉีดไม่ถูกวิธีอาจจะทำให้ปลาเกิดอาการเครียดและอาจทำให้ปลาตายได้เช่นกัน [16] อย่างไรก็ตาม การฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการให้วัคซีนกับปลา และจากผลการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่าวัคซีนที่ฉีดเข้าช่องท้องและกล้ามเนื้อมีประสิทธิภาพของวัคซีนจากการฉีดวัคซีนทั้ง 2 วิธี ให้ผลในระดับที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน [17]

2. การให้วัคซีนโดยวิธีการแช่ (immerged or bath vaccination)

การให้วัคซีนโดยวิธีการแช่นี้นิยมกระทำในปลาที่มีขนาดเล็ก โดยลูกปลาจะถูกแช่ในสารละลายวัคซีนเพื่อให้ดูดซึมผ่านทางเหงือก ผิวหนัง และเส้นข้างลำตัว (lateral line) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์หรืออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสัมผัสจำนวนมาก ข้อดีของการให้วัคซีนโดยวิธีการแช่นี้ เป็นวิธีการที่สะดวกสามารถให้วัคซีนกับปลาในปริมาณมากๆ รวมทั้งทำให้ปลาเกิดความเครียดน้อยและใช้แรงงานไม่มาก นอกจากนี้ ยังพบว่าการให้วัคซีนโดยการแช่จะช่วยเพิ่มคุณสมบัติของเซลล์ที่ผิวหนังของปลา (epidermis cell) ในการต่อต้านเชื้อโรคให้เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย [16] อย่างไรก็ตาม การให้วัคซีนโดยวิธีนี้ยังมีข้อเสียคือต้องใช้วัคซีนปริมาณมากๆ รวมทั้งระดับการป้องกันโรคและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลามักอยู่ในระดับต่ำ ส่วนใหญ่การให้วัคซีนกับปลาโดยการแช่สามารถทำได้ 2 วิธีคือ การแช่โดยตรง (direct immersion) และวิธีการจุ่ม (dip immersion) ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายวัคซีน ลูกปลาที่แช่ลงในสารละลายวัคซีนนิยมทำการแช่ปลาในน้ำเกลือในระยะเวลาสั้นๆ ก่อนเพื่อช่วยให้วัคซีนสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายขึ้น [18] นอกจากนี้ ความเข้มข้นของสารละลายวัคซีนและระยะเวลาในการให้วัคซีนยังมีส่วนสำคัญในการทำให้ปลาเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอีกด้วย โดยมีการศึกษาพบว่าการให้วัคซีนที่ระดับความเข้มข้นสูงจะให้ผลในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ดีกว่าวัคซีนที่มีความเข้มข้นต่ำและปลาที่ได้รับวัคซีนความเข้มข้นต่ำมักจะไม่เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน หรืออาจตอบสนองได้แต่อาจต้องมีการให้วัคซีนซ้ำในครั้งที่สองจึงจะให้ผลในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้น [19]

3. การให้วัคซีนทางปาก (oral vaccination)

สามารถทำได้โดยการผสมลงในอาหาร ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกสามารถใช้ได้กับปลาทุกขนาดและให้กับปลาได้ในจำนวนมากๆ โดยไม่ทำให้ปลาเกิดความเครียด อีกทั้งไม่ทำให้เสียเวลาและแรงงานอีกเช่นกัน ข้อดีอีกประการหนึ่งของการให้วัคซีนทางปากคือ ระดับความเสี่ยงของการปนเปื้อนในกระแสเลือดจะน้อย อย่างไรก็ตาม ข้อเสียของการให้วัคซีนโดยวิธีนี้มักจะให้ผลในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่ำกว่าการให้วัคซีนโดยวิธีการฉีดและการแช่ เนื่องจากต้องใช้สารละลายวัคซีนในปริมาณมากในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันในตัวปลา และแอนติเจนที่ได้จากวัคซีนที่ผสมในอาหารอาจจะถูกทำลายโดยกระบวนการย่อยอาหารทำให้ปริมาณแอนติเจนที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดมีไม่มากพอและความสามารถที่จะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันในร่างกายน้อยและระยะเวลาสั้นเกินไป [20]

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อในปลา (vaccines against infectious diseases in fish)

การประยุกต์ใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อเป็นวิธีหนึ่งที่มีการพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมการระบาดของโรคและแก้ไขปัญหาการใช้ยาและสารเคมีทำให้เกิดการตกค้างในปลา ซึ่งมีการศึกษาและพัฒนามาอย่างต่อเนื่องทั้งในส่วนของรูปแบบและวิธีการให้ รวมถึงปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของวัคซีนโดยมีการศึกษาแล้วในปลาเศรษฐกิจหลายชนิด โดยโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสนับเป็นปัญหาหลักที่สำคัญที่สร้างความเสียหายอย่างมากต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อไวรัสซึ่งพบว่ายังไม่สามารถรักษาโรคที่เกิดขึ้นได้โดยการใช้ยาหรือสารเคมี นอกจากนี้การเลี้ยงปลาแบบหนาแน่นในเชิงพาณิชย์ที่เกษตรกรมักปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่นเพื่อเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้นนั้นมักส่งผลกระทบตามมาหลายประการ ซึ่งสิ่งที่สำคัญที่สุดก็คือปัญหาของการเกิดโรคหากการจัดการฟาร์มและแนวทางในการป้องกันโรคที่ไม่ดีพอโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงปลาในภูมิภาคเขตร้อนรวมถึงประเทศไทยมักได้รับผลกระทบจากการติดเชื้อเหล่านี้เป็นอย่างมาก การพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อเหล่านี้จึงมีการศึกษาวิจัยมาอย่างต่อเนื่องและประสบผลสำเร็จในระดับที่น่าพอใจ จนปัจจุบันวัคซีนในปลาบางชนิดสามารถพัฒนาในเชิงการค้าได้แล้วในต่างประเทศ [9] ในบทความนี้ขอยกตัวอย่างชนิดของวัคซีนในปลา วิธีการให้และประสิทธิภาพของวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากไวรัสและแบคทีเรียที่สำคัญ ดังตารางที่ 1

สารเสริมฤทธิ์ของวัคซีน (adjuvants)

สารเสริมฤทธิ์ของวัคซีน (adjuvants) เป็นสารประกอบที่มีสมบัติในการช่วยเพิ่มระยะเวลาในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของแอนติเจนที่ใช้ร่วมกับวัคซีนและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ในปัจจุบันมีการคิดค้นและพัฒนาสารเสริมฤทธิ์ชนิดใหม่ๆ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการให้วัคซีนในปลาซึ่งสามารถผลิตใช้ได้แล้วในเชิงการค้า [42] ทั้งนี้เพื่อใช้กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของปลาและเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนให้มากขึ้น โดยสารเสริมฤทธิ์ที่ดีนั้นควรมีความคงตัวสูงสามารถนำไปใช้ร่วมกับวัคซีนหลายชนิดโดยไม่มีผลข้างเคียง (side effects) และควรมีความสามารถในการกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ในหลายกลไก รวมทั้งสามารถเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าการใช้วัคซีนเพียงอย่างเดียว [43] เนื่องจากวัคซีนที่ใช้ในปลาบางชนิดมีผลในการป้องกันโรคในระยะเวลาที่สั้นเกินไป ดังนั้น สารเสริมฤทธิ์จะช่วยกระตุ้นให้ปลาสร้างภูมิคุ้มกันและเพิ่มระยะเวลาในการป้องกันโรคได้ยาวนานขึ้นและไม่จำเป็นต้องให้วัคซีนกระตุ้นซ้ำอีกหลายครั้งโดยเฉพาะอย่างยิ่งดีเอ็นเอวัคซีน (DNA vaccine) ที่ถูกพัฒนาขึ้นและนำมาใช้ในการป้องกันโรค ในปัจจุบันพบว่ายังมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ต่ำ อย่างไรก็ตาม เมื่อให้สารเสริมฤทธิ์ในวัคซีนพบว่าช่วยให้ปลาสามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้นานขึ้น [14] สำหรับสารเสริมฤทธิ์ที่นิยมใช้ร่วมกับการให้วัคซีนในปลาที่สำคัญมีหลายชนิดเช่น Freund's incomplete adjuvant (FIA) ซึ่งมีสมบัติในการชะลอการปลดปล่อยแอนติเจนและกระตุ้นการจับกับแอนติเจนของแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้น [44] นอกจากนี้ยังนิยมใช้น้ำมันในรูปของสารละลายอิมัลชัน (oil emulsions) [45] รวมถึงผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ เช่น CpG oligonucleotides และ polyinosinic: polycytidylic acid (poly I:C) [46, 47] นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้สารในกลุ่มไซโตไคน์ (cytokines) เช่น interleukin-1β (IL-1β), IL-8, IL-15, tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) และ transforming growth factor-beta

(TGF-β) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารที่สร้างและหลั่งจากการทำงานของกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน โดยสารในกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ต่อเซลล์ข้างเคียงหรือเซลล์เดิมที่ผลิตขึ้นมา โดยมีความสำคัญอย่างมากต่อการพัฒนาตัวและกระตุ้นให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องเกิดการแบ่งตัวเพื่อตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ [48] จากการทดลองใช้ IL-22 ร่วมกับวัคซีนเพื่อป้องกันโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio anguillarum* ในปลา Cod *(Gadus morhua)* และปลา Haddock *(Melanogrammus aeglefinus)* เมื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนจากการทดสอบความต้านทานโรคพบว่าสารเสริมฤทธิ์สามารถช่วยในการกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาได้ดีขึ้น โดยปลามีอัตราการรอดตายสูงถึง 100% และแตกต่างจากปลาในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารเสริมฤทธิ์ [49]

การประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนที่ใช้ในปลา (efficacy of vaccine in fish)

การให้วัคซีนในปลานั้นควรคำนึงถึงประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันโรครวมถึงข้อจำกัดต่างๆ ของวัคซีน ความปลอดภัยและความเป็นไปได้ของวัคซีนในการนำไปใช้จริง ในการประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนสามารถวัดระดับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาต่อวัคซีนได้โดยอาศัยค่าแอนติบอดีไตเตอร์ (antibody titer) ซึ่งเป็นระดับการสร้างแอนติบอดีในซีรัมต่อแอนติเจน ดังนั้น การประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนจึงเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญในการตรวจสอบความคุ้มโรคหรือความต้านทานโรคของปลาที่ได้รับวัคซีนต่อเชื้อก่อโรคในสภาพจริง โดยหลักการทดสอบเบื้องต้นจะเป็นการตรวจหาฤทธิ์ในการยับยั้งการติดเชื้อเพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดีที่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อได้ (neutralization assay) โดยวิธีการทดสอบจะเป็นการหาความเข้มข้นที่พอเหมาะของเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลา โดยจะเลือกใช้ระดับความเข้มข้นที่สามารถทำให้ปลาทดสอบตายร้อยละ 50 (Lethal dose 50% หรือ LD_{50}) หรืออีกวิธีหนึ่งมักจะใช้ขนาดของเชื้อที่ทำให้เซลล์ที่ใช้ในการทดสอบการติดเชื้อตายร้อยละ 50 (Tissue culture infective dose 50% หรือ $TCID_{50}$) ซึ่งการประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนมักจะทำการทดสอบภายหลังจากการให้วัคซีนสิ้นสุดลง โดยในระหว่างการประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนนี้จะต้องสังเกตอาการของโรคและเก็บตัวอย่างปลาที่ตายหรือแสดงอาการของโรคเพื่อนำไปตรวจยืนยันหาสาเหตุของการเกิดโรคและอาจวัดการเจริญเติบโตหลังสิ้นสุดการทดลองจากการให้วัคซีนด้วยน้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่เพิ่มขึ้น (growth rate) รวมทั้งการตรวจนับจำนวนปลาที่ตายเพื่อหาอัตราการรอด (survival rate) และการตายสะสมของปลาทั้งหมดในแต่ละกลุ่มการทดลอง (cumulative percent mortality) เพื่อนำข้อมูลของร้อยละจากการตายสะสมของปลาในกลุ่มทดลองและปลาในกลุ่มควบคุมเพื่อทดสอบความต้านทานโรคของปลาหลังจากที่ได้รับวัคซีน (challenge test) ด้วยความสัมพันธ์จากค่า Relative percent survival (RPS) [50] โดยสามารถหาได้จากสูตร RPS = [1 - (% mortality of vaccinated fish / % mortality of control fish)] x 100 ซึ่งในการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันการเกิดโรคที่ดีนั้นควรจะให้ค่า RPS ที่มากกว่า 60% ขึ้นไป [51]

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของวัคซีน ประเภทของวัคซีน ขนาดของปลาทดลอง วิธีการให้และประสิทธิภาพของวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรียในปลา

ชนิดของเชื้อ	ปลา	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชนิดของวัคซีน	วิธีการให้วัคซีน	น้ำหนักปลา (g)	RPS (%)	อ้างอิง
Viral nervous necrosis viruses; VNNV	Grouper	*Epinephelus septemfasciatus*	Live vaccine	Intramuscular injection	53	95	[23]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	DNA vaccine	Oral vaccination	1-2	67-84	[13]
	Atlantic salmon	*Salmo salar*	DNA vaccine	Intramuscular injection	20	84	[24]
Viral haemorrhagic septicemia viruses;VHSV	Japanese flounder	*Paralichthys olivaceus*	DNA vaccine	Intramuscular injection	3	93-100	[25]
	Japanese flounder	*Paralichthys olivaceus*	Live vaccine	Intramuscular injection	8-25	12-95	[8]
	Japanese flounder	*Paralichthys olivaceus*	Live vaccine	Immersion	8-25	0-100	[8]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	DNA vaccine	Intramuscular injection	13	94-97	[26]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	DNA vaccine	Immersion	6	50	[27]
Infectious haematopoietic necrosis viruses; IHNV	Atlantic salmon	*Salmo salar*	DNA vaccine	Intramuscular injection	57-73	90-100	[28]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	DNA vaccine	Intramuscular injection	2-3	100	[29]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	DNA vaccine	Intramuscular injection	1-4	58-88	[30]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	DNA vaccine	Intramuscular injection	2	94	[31]
Spring carp viremia viruses; SVCV	Common carp	*Cyprinus carpio*	DNA vaccine	Intramuscular injection	1-4	50-88	[32]
	Common carp	*Cyprinus carpio*	DNA vaccine	Intramuscular injection	10-11	33-48	[33]
Salmon alphaviruses; SAV	Atlantic salmon	*Salmo salar*	Inactivated	Intraperitoneal injection	30	0	[34]
Infectious salmon anaemia viruses; ISAV	Atlantic salmon	*Salmo salar*	Inactivated	Intraperitoneal injection	10-50	70-94	[35]
	Grouper	*Epinephelus coioides*	Inactivated	Immersion	0.2	79-95	[19]
	Atlantic salmon	*Salmo salar*	DNA vaccine	Intramuscular injection	20	39-60	[147]
Aeromonas hydrophila	Hybrid catfish	*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*	Formalin-killed	Intramuscular injection Intraperitoneal injection	75	90-100	[36]
	Channel catfish	*Ictalurus punctatus*	Live-attenuated	Intraperitoneal injection	4	86-100	[17]
Streptococcus agalactiae	Nile tilapia	*Oreochromis niloticus*	Formalin-killed	Intraperitoneal injection	50	44-98	[37]
	Nile tilapia	*Oreochromis niloticus*	Formalin-killed	Immersion	5-30	25-80	[38]
Edwardsiella ictaruri	Channel catfish	*Ictalurus punctatus*	Live-attenuated	Immersion	(eggs)	45-67	[39]
Flavobacterium spp.	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	Formalin-killed	Intraperitoneal injection	33	77-87	[40]
	Rainbow trout	*Oncorhynchus mykiss*	Live-attenuated	Intraperitoneal injection	15	40-98	[41]

การพัฒนาวัคซีนในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (development of vaccine in aquaculture)

ประสิทธิภาพและมาตรฐานของวัคซีนที่ผลิตขึ้นนับเป็นประเด็นหลักของการพัฒนาวัคซีนในปลา กล่าวคือ วัคซีนต้องสามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของปลาและป้องกันการเกิดโรคได้เป็นอย่างดี มีการออกฤทธิ์หรือมีความคุ้มโรคได้สูงและมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน วิธีการให้วัคซีนสะดวกและไม่ยุ่งยาก รวมทั้งควรเก็บรักษาง่ายและมีความคงตัวสูง โดยวัคซีนที่ออกฤทธิ์ได้ดีและมีความปลอดภัยสูงจะสามารถช่วยลดอัตราการตายของสัตว์น้ำลงได้ [52] จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าการผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อในปลานั้นก้าวหน้าและพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว ทั้งในส่วนของรูปแบบและวิธีการให้วัคซีนซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้จริงในระดับฟาร์ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในต่างประเทศที่มีระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ได้มาตรฐาน นอกจากนี้ ความก้าวหน้าของเทคนิคและวิธีการทางด้านชีววิทยาโมเลกุล (molecular biology) ได้นำไปสู่การพัฒนาดีเอ็นเอวัคซีนเพื่อใช้ในการป้องกันโรคในปลาเช่นกันดังที่กล่าวไว้แล้วข้างต้น ซึ่งได้มีการศึกษาและวิจัยมาอย่างต่อเนื่องและแพร่หลายกันมากขึ้น นอกจากนี้ ดีเอ็นเอวัคซีนที่พัฒนาขึ้นยังใช้ในการป้องกันโรคได้อย่างจำเพาะเจาะจงและครอบคลุมโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องอีกหลายชนิด ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า หลังการให้วัคซีนกับปลาส่วนใหญ่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาได้อย่างเป็นที่น่าพอใจ โดยให้ค่า RPS ที่มากกว่า 60% (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม ด้วยข้อจำกัดบางประการของระบบนำส่งวัคซีนในปลาที่ต้องการให้วัคซีนเข้าสู่ตัวปลาได้ง่ายขึ้น ดังนั้นจึงมีการพัฒนาแนวทางใหม่ๆ เพื่อให้วัคซีนคงความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและอยู่ในร่างกายเป็นระยะเวลานานเพียงพอ เพื่อให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในรูปแบบที่ต้องการได้ นอกจากนี้ ในปัจจุบันได้มีการนำเอาชีวสารสนเทศศาสตร์ (bioinformatics) มาประยุกต์ใช้เพื่อคัดเลือกหาวัคซีนใหม่ๆ มาใช้ในปลาเช่นเดียวกัน โดยหลักการแล้วจะอาศัยข้อมูลจีโนมของเชื้อ (genome) มาประมวลผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อช่วยในการสืบค้นยีนที่สำคัญๆ ที่คาดว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาได้มากที่สุดก่อนทำการทดสอบจริงในห้องปฏิบัติการ [53] นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์ยังได้พัฒนาวิธีการผลิตวัคซีนที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์ให้ต้านทานต่อเชื้อก่อโรคได้มากขึ้นโดยอาศัยเทคนิค Expression library immunization (ELI) จากการใช้จีโนมทั้งหมดของเชื้อ (whole genome) ในการสร้างเป็นห้องสมุดของวัคซีนขึ้น (vaccine library) เพื่อใช้คัดเลือกหาวัคซีนที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรค [54, 55] การพัฒนาวัคซีนด้วยเทคนิค ELI นี้ได้นำมาประยุกต์ใช้ครั้งแรกในปลา Salmon *(Oncorhynchus kisutch)* เพื่อใช้ในการป้องกันโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Piscirickettsia salmonis* ซึ่งจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนสามารถต้านทานต่อเชื้อโดยมีอัตราการรอดตายมากถึง 80% [56]

ข้อจำกัดของการใช้วัคซีนในปลา (limitation of vaccines in fish)

ปัจจุบันมีการคิดค้นและพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อในปลามากมายหลายชนิด ทั้งนี้เพื่อใช้ทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีที่อาจมีปัญหาตามมาจากการตกค้างในตัวปลารวมทั้งการดื้อยาของเชื้อในธรรมชาติ ในส่วนของประเทศไทยมีการศึกษาวิจัยไม่มากนัก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียและเป็นวัคซีนเชื้อตายที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินเป็นหลัก (formalin-killed vaccine) เช่น วัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *S. agalactiae* ในปลานิล [57, 58] และวัคซีนป้องกันโรค motile aeromonad septicemia ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *A. hydrophila* ในปลาดุกลูกผสม

[17] ข้อจำกัดในการใช้วัคซีนในปลาจึงเป็นประเด็นหลักสำคัญมากที่ต้องคำนึงถึง เนื่องจากการใช้วัคซีนในปลานั้นยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น กลไกการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่ยังมีข้อมูลอันจำกัดและมีการศึกษาไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์มีกระดูกสันหลังกลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้ ชนิดของปลาก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีการเลือกใช้วัคซีนซึ่งส่วนใหญ่มักจะเป็นปลาเศรษฐกิจแทบทั้งสิ้น (ตารางที่ 1) ทั้งนี้อาจขึ้นกับความคุ้มทุนทางเศรษฐกิจและยังเกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคที่ต้องการควบคุมในปลาชนิดนั้นๆ อีกด้วย และข้อจำกัดที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ สภาพแวดล้อมและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ ความเค็มของน้ำ และสภาพการเลี้ยง ด้วยปัจจัยเหล่านี้วัคซีนที่ผลิตขึ้นจึงควรครอบคลุมการป้องกันโรคในปลาได้หลายชนิด ดังนั้น คุณสมบัติของวัคซีนที่ดีเมื่อให้วัคซีนกับปลาแล้วควรมีความต้านทานโรคหรือความคุ้มโรคได้ดีและสิ่งที่สำคัญที่สุดของการให้วัคซีนในตัวปลานั้นต้องสามารถนำไปใช้ได้จริงในระดับฟาร์มอีกด้วย

สรุป

จากการศึกษาวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อในปลาที่ผ่านมาทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจเพิ่มมากขึ้นเกี่ยวกับชนิดของวัคซีนที่ใช้ วิธีการให้ รวมทั้งรูปแบบการตรวจวัดและประเมินประสิทธิภาพของวัคซีน เพื่อให้สามารถนำมาใช้ได้จริงในการป้องกันโรคในปลาได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเพื่อหาแนวทางหรือวิธีการใหม่ๆ ในการเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนจากการใช้สารเสริมฤทธิ์ รวมทั้งรูปแบบและวิธีการให้วัคซีนที่จะใช้ในสัตว์น้ำอย่างเหมาะสม จากการศึกษาที่ผ่านมายังพบว่าสามารถป้องกันโรคในปลาได้ครอบคลุมมากขึ้นและก้าวหน้าไปอย่างต่อเนื่อง ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเทคโนโลยีการใช้วัคซีนและการประยุกต์ใช้ในปลาเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อได้ และยังคาดหวังเป็นอย่างยิ่งว่าในอนาคตวัคซีนที่พัฒนาขึ้นจะสามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการป้องกันโรคที่อาจจะส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

เอกสารอ้างอิง

1. Bondad-Reantaso, M., Subasinghe, P., Arthur, J., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Zilong, T., and Shariff, M. 2005. Disease and Health Management in Asian Aquaculture. *Veterinary Parasitology* 132: 249-272.
2. Murray, A. G., and Peeler, E. J. 2005. A Framework for Understanding the Potential for Emerging Diseases in Aquaculture. *Preventive Veterinary Medicine* 67: 223-2353.
3. Planta, K., and LaPatra, S.E. 2011. Advances in Fish Vaccine Delivery. *Developmental and Comparative Immunology* 35: 1256-1262.
4. Newman, S. G. 1993. Bacterial Vaccines for Fish. *Annual Review of Fish Diseases* 3: 145-185.
5. Tonheim, T. C., Bogwald, J., and Dalmo, R. A. 2008. What Happens to the DNA Vaccine in Fish? A review of Current Knowledge. *Fish and Shellfish Immunology* 25: 1-18.
6. Shoemaker, C. A., Klesius, P. H., Drennan, J. D., and Evans, J. J. 2011. Efficacy of a Modified Live *Flavobacterium columnare* Vaccine in Fish. *Fish and Shellfish Immunology* 30: 304-308.

7. LaFrentz, B. R., LaPatra, S. E., Call, D. R., and Cain, K. D. 2008. Isolation of Rifampicin Resistant *Flavobacterium psychrophilum* Strains and their Potential as Live Attenuated Vaccine Candidates. *Vaccine* 26(44): 5582-5589.
8. Nishizawa, T., Takami, I., Yang, M., and Oh, M. J. 2011. Live Vaccine of viral Hemorrhagic Septicemia Virus (VHSV) for Japanese Flounder at Fish Rearing Temperature of 21°C Instead of Poly(I:C) Administration. *Vaccine* 29: 8397-8404.
9. Gomez-Casadoa, E., Estepab, A., and Coll, J. M. 2011. A Comparative Review on European-Farmed Finfish RNA Viruses and their Vaccines. *Vaccine* 29: 2657-2671.
10. Ammayappan, A., LaPatra, S. E., Vikram, N., and Vakhari, E. 2010. A Vaccinia-Virus-Free Reverse Genetics System for Infectious Hematopoietic Necrosis Virus. *Journal of Virological Methods* 167: 132-139.
11. Zhu, K., Chi, Z., Li, J., Zhang, F., Li, M., Yasoda, N., and Wu, L. 2006. The Surface Display of Haemolysin from Vibrio harveyi on Yeast Cells and their Potential Applications as Live Vaccine in Marine Fish. *Vaccine* 24: 6046-6052.
12. Munang'andu, H. M., Fredriksen, B. N., Mutoloki, S., Brudeseth, B., Kuo, T., Marjara, I. S., Dalmo, R. A., and Evensen, O. 2012. Comparison of Vaccine Efficacy for Different Antigen Delivery Systems for Infectious Pancreatic Necrosis Virus Vaccines in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in a Cohabitation Challenge Model. *Vaccine* 30: 4007-4016.
13. de las Heras, A. I., Rodríguez, S., and Pérez-Prieto, S. I. 2010. Immunogenic and Protective Effects of an Oral DNA Vaccine against Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Fish. *Fish and Shellfish Immunology* 28: 562-570.
14. Anderson, D. A. 1992. Immunostimulants, Adjuvants, and Vaccine Carriers in Fish: Applications to Aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 2: 281-307.
15. Seo, J. Y., Kim, K. H., Kim, S. G., Oh, M. J., Nam, S. W., Kim, Y. T., and Choi, T. J. 2006. Protection of Flounder against Hirame Rhabdovirus (HIRRV) with a DNA Vaccine Containing the Glycoprotein Gene. *Vaccine* 24: 1009-1015.
16. Corbeil, S., Kurath, G., and LaPatra, S. E., 2000. Fish DNA Vaccine against Infectious Hematopoietic Necrosis Virus: Efficacy of Various Routes of Immunisation. *Fish and Shellfish Immunology* 10: 711-723.
17. เอกพล วังคะฮาต และปวีณา รัตนเสนา. 2555. ประสิทธิภาพของวัคซีนแบบฉีดที่ผลิตจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินในปลาดุกลูกผสม *(Clarias macrocephalus × Clarias gariepinus). วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง* 6(1): 53-64.
18. Nakanishi, T., Kiryu, I., and Ototake, M. 2002. Development of a New Vaccine Delivery Method for Fish: Percutaneous Administration by Immersion with Application of a Multiple Puncture Instrument. *Vaccine* 20: 3764-3769.

19. Kai, Y. H., and Chi, H. C. 2008. Efficacies of Inactivated Vaccines against Betanodavirus in Grouper Larvae *(Epinephelus coioides)* by Bath Immunization. *Vaccine* 26: 1450-1457.
20. Cuesta, A., Chaves-Pozo, E., de las Heras, A. I., Rodríguez, S.,Pérez-Prieto, S., and Tafalla, C. 2010. An Active DNA Vaccine against Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) with a Different Mode of Action Than Fish Rhabdovirus DNA Vaccines. *Vaccine* 28: 3291-3300.
21. Rybicki, E. P. 2009. Plant-Produced Vaccines: Promise and Reality. *Drug Discovery Today* 14(1-2): 16-24.
22. Companjen, A. R., Florack, D. E., Slootweg, T., Borst, J. W., and Rombout, J. H. 2006. Improved Uptake of Plant-Derived LTB-Linked Proteins in Carp Gut and Induction of Specific Humoral Immune Responses upon in Feed Delivery. *Fish and Shellfish Immunology* 21: 251-260.
23. Oh, M. J., Gye, H. J., and Nishizawa, T. 2013. Assessment of the Sevenband Grouper *Epinephelus septemfasciatus* with a Live Nervous Necrosis Virus (NNV) Vaccine at Natural Seawater Temperature. *Vaccine* 31: 2025-2027.
24. Mikalsen, A. B., Torgersen, J., Alestrom, P., Hellemann, A. L., Koppang, E. O., and Rimstad, E. 2004. Protection of Atlantic *Salmon Salmo* salar against Infectious Pancreatic Necrosis after DNA Vaccination. *Diseases of Aquatic Organisms* 60: 11-20.
25. Byon, J. Y., Ohira, T., Hirono, I., and Aoki, T. 2005. Use of a cDNA Microarray to Study Immunity against Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) in Japanese Flounder *(Paralichthys olivaceus)* Following DNA Vaccination. *Fish and Shellfish Immunology* 18(2): 135-147.
26. Lorenzen, N., Lorenzen, E., Eoner-jensen, K., Heppell, J., Wu, T., and Davis, H. 1998. Protective Immunity to VHS in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss,* Walbaum) Following DNA Vaccination. *Fish and Shellfish Immunology* 8: 261-270.
27. Fernandez-Alonso, M., Rocha, A., and Coll, J. M. 2001. DNA Vaccination by Immersion and Ultrasound to Trout Viral Haemorrhagic Septicaemia Virus. *Vaccine* 19: 3067-3075.
28. Traxler, G. S., Anderson, E., LaPatra, S. E., Richard, J., Shewmaker, B., and Kurath, G. 1999. Naked DNA Vaccination of Atlantic Salmon Salmo salar against IHNV. *Diseases of Aquatic Organisms* 38: 183-190.
29. Kurath, G., Garver, K. A., Corbeil, S., Elliott, D. G., Anderson, E. D., and LaPatra, S. E. 2006. Protective Immunity and Lack of Histopathological Damage Two Years after DNA Vaccination against Infectious Hematopoietic Necrosis Virus in Trout. *Vaccine* 24(3): 345-354.
30. Peñaranda, M. M., Scott, E., LaPatra, E., and Kurath, G. 2011. Specificity of DNA Vaccines against the U and M Genogroups of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV) in Rainbow Trout *(Oncorhynchus mykiss). Fish and Shellfish Immunology* 31: 43-51.
31. Einer-Jensen, K., Delgado, L., Lorenzen, E., Bovo, G., Evensen, O., and Lapatra, S. 2009.

Dual DNA Vaccination of Rainbow Trout *(Oncorhynchus mykiss)* against Two Different Rhabdoviruses, VHSV and IHNV, Induces Specific Divalent Protection. *Vaccine* 27(8): 1248-1253.

32. Emmenegger, E. J., and Kurath, G. 2008. DNA Vaccine Protects Ornamental Koi (*Cyprinus carpio* koi) against North American Spring Viremia of Carp Virus. *Vaccine* 26: 6415-6421.
33. Kanellos, T., Sylvester, I. D., D'Mello, F., Howard, C. R., Mackie, A., and Dixon, P. F. 2006. DNA vaccination can protect *Cyprinus carpio* against spring viraemia of carp virus. *Vaccine* 24(23): 4927-4933.
34. Lopez-Doriga, M. V., Smail, D. A., Smith, R. J., Domenech, A., Castric, J., and Smith, P. D. 2001. Isolation of Salmon Pancreas Disease Virus (SPDV) in Cell Culture and its Ability to Protect Against Infection by the 'Wild-Type' Agent. *Fish and Shellfish Immunology* 11: 505-522.
35. Jones, R. M., MacKinnon, A. M., and Salonius, K. 1999. Vaccination of Freshwater-Reared Atlantic Salmon Reduces Mortality Associated with Infectious Salmion Anemia Virus. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists* 19: 98-100.
36. Mikalsen, A. B., Sindre, H., Torgersen, J., and Rimstad, E. 2005. Protective Effects of a DNA Vaccine Expressing the Infectious Salmon Anemia Virus Hemagglutinin-Esterase in Atlantic Salmon. *Vaccine* 23: 4895-4905.
37. Pridgeon, J. W., and Klesius, P. H. 2011. Development and Efficacy of a Novobiocin-Resistant *Streptococcus* iniae as a Novel Vaccine in Nile tilapia *(Oreochromis niloticus). Vaccine* 29: 5986-5993.
38. Chen, M., Wang, R., Li, L. P., Liang, W. W., Li, J., Huang, Y., Lei, A. W., Huanga, W. Y., and Gan, X. 2012. Screening Vaccine Candidate Strains against *Streptococcus agalactiae* of Tilapia Based on PFGE Genotype. *Vaccine* 30: 6088-6092.
39. Evans, J. J., Klesius, P. H., and Shoemaker, C. A. 2004. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) Vaccine in Tilapia *(Oreochromis niloticus)* by Intraperitoneal and Bath Immersion Administration. *Vaccine* 22: 3769-3773.
40. Shoemaker, C. A., Klesius, P. H., and Evans, J. J. 2007. Immunization of Eyed Channel Catfish, *Ictalurus punctatus,* Eggs with monovalent *Flavobacterium columnare* Vaccine and Bivalent *F. columnare* and *Edwardsiella ictaluri* vaccine. *Vaccine* 25: 1126-1131.
41. Fredriksen, B. N., Olsen, R. H., Furevik, A., Souhoka, R. A., Gauthier, D., and Brudeseth, B. 2013. Efficacy of a Divalent and a Multivalent Water-In-Oil Formulated Vaccine against a Highly Virulent Strain of *Flavobacterium psychrophilum* after Intramuscular Challenge of Rainbow Trout *(Oncorhynchus mykiss). Vaccine* 31: 1994-1998.
42. Tafalla, C., Bogwald. J., and Dalmo, R. A. 2013. Adjuvants and Immunostimulants in Fish

Vaccines: Current Knowledge and Future Perspectives. *Fish and Shellfish Immunology* 34(6): 1-11.

43. El Sayed, H., Ashry, E. I., and Ahmad, T. A. 2012. The Use of Propolis as Vaccine's Adjuvant. *Vaccine* 31: 31-39.
44. Jiao, X., Cheng, S., Hu, Y., and Sun, L. 2010. Comparative Study of the Effects of Aluminum Adjuvants and Freund's Incomplete Adjuvant on the Immune Response to an *Edwardsiella tarda* Major Antigen. *Vaccine* 28: 1832-1837.
45. Michael, S., Sinyakov, S., Dror, M., Lublin-Tennenbaum, T., Salzberg, S., Margel, S., and Avtalion, R. R. 2006. Nano- and Microparticles as Adjuvants in Vaccine Design: Success and Failure is Related to Host Natural Antibodies. *Vaccine* 24: 6534-6541.
46. Klinman, D. M., Klaschik, S., Sato, T., and Tross, D. 2009. CpG Oligonucleotides as Adjuvants for Vaccines Targeting Infectious Diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61: 248-255.
47. Thim, H. L., Iliev, D. B., Christie, K. E., Villoing, S., McLoughlin, M. F., Strandskog, G., and Jǿrgensen, J. B. 2012. Immunoprotective Activity of a Salmonid Alphavirus Vaccine: Comparison of the Immune Responses Induced by Inactivated Whole Virus Antigen Formulations Based on CpG Class B Oligonucleotides and Poly I:C Alone or Combined with an Oil Adjuvant. *Vaccine* 30: 4828-4834.
48. Secombes, C. J., Zou, J., Laing, K., Daniels, G. D., and Cunningham, C. 1999. Cytokine Genes in Fish. *Aquaculture* 172: 93-102.
49. Corripio-Miyar, Y., Zou, J., Richmond, H., and Secombes, C. J. 2009. Identification of Interleukin-22 in Gadoids and Examination of its Expression Level in Vaccinated Fish. *Molecular Immunology* 46(10): 2098-2106.
50. Amend, D.F. 1981. Potency Testing of Fish Vaccines. *Developments in Biological Standardization* 49(2): 447-454.
51. Ellis, A. E. 1982. Difference between the Immune Mechanism of Fish and Higher Vertebrate, pp. 1-30. In: Roberts, R. J., Editor. Microbial Disease of Fish. London. Academic Press.
52. Midtlyng, P. J., Hendriksen, C., Balks, E., Bruckner, L., Elsken, L., Evensen, O., Fyrand, K., Guy, A., Halder, M., Hawkins, P., Kisen, G., Romstad, A. B., Saloniusm, K., Smith, P., and Sneddon, L. U. 2011. Three Rs Approaches in the Production and Quality Control of Fish Vaccines. *Biologicals* 39: 117-128.
53. Ou-yang, Z., Wang, P., Huang, Y., Huang, X., Wan, Q., Zhou, S., Wei, J., Zhou, Y., and Qin, Q. 2012. Selection and Identification of Singapore Grouper Iridovirus Vaccine Candidate Antigens Using Bioinformatics and DNA Vaccination. *Veterinary Immunology Immunopathology* 149(1-2): 38-45.

54. Barry, M. A., Howell, D. P., Andersson, H. A., Chen, J. L., and Singh, R. A. 2004. Expression Library Immunization to Discover and Improve Vaccine Antigens. *Immunology* Review 199: 68-83.

55. Talaat, A. M., and Stemke-Hale, K. 2005. Expression library immunization: a road map for Discovery of Vaccines against Infectious Diseases. *Infection and Immunity* 73(11): 7089-7098.

56. Miquel, A., Muller, I., Ferrer, P., Valenzuela, P. D., and Burzio, L. O. 2003. Immunoresponse of Coho Salmon Immunized with a Gene Expression Library from *Piscirickettsia salmonis. Biological Research* 36(3-4): 313-323.

57. นิลุบล กิจอันเจริญ ชุติมา หาญจวณิช และ นงนุช สุวรรณเพ็ง. 2549. ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซีสในปลานิล. *วารสารวิจัย มข.* 11(1): 53-61.

58. วิศณุ บุญญาวิวัฒน์ ทินวรรธน์ ศรีสุข และ วรวิทย์ วัชชวัลคุ. 2550. ประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. *วารสารสัตวแพทย์ มข.* 17 (1): 43-52.

ได้รับบทความวันที่ 23 เมษายน 2556
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 16 กรกฎาคม 2556