นิพนธ์ต้นฉบับ

การแพร่กระจายของเชื้อ Taura syndrome virus (TSV) และ Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) ในประชากรกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) และการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย

จรีพร เรืองศรี[1] สุภฎา คีรีรัฐนิคม[2] นพดล ศุกระกาญจน์[3] สุพัตรา อรุณรัตน์[4]
นิรุทธิ์ สุขเกษม[5] ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง[6] จิราพร เกษรจันทร์[7] และ กิจการ ศุภมาตย์[8]

Abstract

Ruangsri, J.[1], Kiriratnikom, S.[2], Sukrakanchana, N.[2], Arunrat, S.[1], Sukasem, N.[3], Klowklieng, T.[4], Kasornchandra, J.[5] and Supamattaya, K.[1]

Prevalence of Taura syndrome virus (TSV) and Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) in white shrimp (*Penaeus vannamei*) populations and susceptibility to infection of some aquatic species native to Thailand

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(Suppl. 1): 215-224

This study aimed to survey the prevalence of some infectious diseases e.g. Taura syndrome virus (TSV) and Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) in white shrimp (*Penaeus vannamei*)

[1]Aquatic Animal Health Research Center, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, [2]Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Muang, Songkhla 90000, [3]Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Phuket University, Muang, Phuket 83000, [4]Satun Coastal Fisheries Research and Development Center, Department of Fisheries, Langu, Satun 91110, [5]Aquatic Animal Health Research Institute, Department of Fisheries, Muang, Songkhla 90000, Thailand.

[1]วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) นักวิชาการประมง [4]วท.บ. (ชีววิทยา) ผู้ช่วยวิจัย [8]Dr. rer. nat. (Aquatic Animal Diseases) รองศาสตราจารย์ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112 [2]วท.ม. (วาริชศาสตร์) อาจารย์ [3]วท.ม. (วิทยาศาสตร์การประมง) อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000 [5]วท.ม. (วาริชศาสตร์) อาจารย์ คณะเกษตรและอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต อำเภอเมือง จังหวัดภูเก็ต 83000 [6]วท.บ. (วาริชศาสตร์) นักวิชาการประมง ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล กรมประมง อำเภอละงู จังหวัดสตูล 91110 [7]Ph.D. (Microbiology) นักวิชาการประมง สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

Corresponding e-mail : kidchakan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 26 กุมภาพันธ์ 2547 รับลงพิมพ์ 26 พฤษภาคม 2547

populations and to assess the impact of such infectious agents to indigenous aquatic animals in Thailand. Samples of both larval and juvenile or adult shrimp from each region of the country were collected and screened for TSV and IHHNV using the polymerase chain reaction (PCR) technique. Viruses isolated from affected shrimp were used for determine the susceptibility to infection of some aquatic species native to Thailand.

A total of 163 samples of larval shrimp from hatcheries were screened. The results showed infection with TSV and IHHNV in 3.68 and 44.17%, respectively. As high as 7.32% TSV infection was detected in shrimp samples collected from the South Eastern coast, followed by the Eastern and Central regions with percentages of 5.56 and 4.53, respectively. Shrimp with the highest rate of IHHNV infection, 55.56% were collected from the Eastern region.

A total of 192 samples of shrimp reared in grow-out ponds were also collected. The results showed shrimp were infected with TSV and IHHNV with percentages of 6.67 and 67.19, respectively. The highest prevalence of IHHNV (up to 90%) was found in samples collected from the lower Southern region. The highest prevalence of TSV infection (11.29%) was reported in shrimp from the Central region.

A study of the susceptibility to TSV and IHHNV infection of some indigenous aquatic species of Thailand was also carried out. The results showed many aquatic species native to Thailand e.g. black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), speckled shrimp (*Metapenaeus monoceros*), dwarf prawn (*Macrobrachium equideus*), krill (*Acetes* sp.), mantis lobster (*Chloridopsis immaculatus*), freshwater prawn (*Macrobrachium lanchesteri* and *M. rosenbergii*), mangrove crab (*Sesarma* sp.) and mud crab (*Scylla serrata*) were susceptible to viruses and died due to infection. The mortality of affected species associated with a causative agent was confirmed in most species, except the mud crab and freshwater prawn (*Marcrobrachium rosenbergii*). However, viral particles can be still detected in surviving animals 10 days after infection.

The results of this study will be a helpful tool employed in establishing measures on disease control and reduction of risk with the importation of white shrimp broodstock.

Key words: prevalence, TSV, IHHNV, white shrimp, *Penaeus vannamei*, import risk analysis, aquatic animal, indigenous species

บทคัดย่อ

จรีพร เรืองศรี สุภฎา คีรีรัฐนิคม นพดล ศุกระกาญจน์ สุพัตรา อรุณรัตน์ นิรุทธิ์ สุขเกษม ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง จิราพร เกษรจันทร์ และ กิจการ ศุภมาตย์

การแพร่กระจายของเชื้อ Taura syndrome virus (TSV) และ Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) ในประชากรกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) และการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย

ว.สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(ฉบับพิเศษ 1) : 215-224

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามการแพร่กระจายของโรคติดเชื้อที่สำคัญซึ่งอาจปนเปื้อนมากับการนำเข้ากุ้งขาว โดยเฉพาะโรคติดเชื้อไวรัส Taura syndrome virus (TSV) และ Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) และเพื่อประเมินผลกระทบของโรคติดเชื้อต่อสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองอื่น ๆ ของไทย โดยการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวทั้งจากโรงเพาะฟักและบ่อดินทุกภูมิภาคทั่วประเทศมาตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส (polymerase chain reaction) และนำเชื้อ TSV และ IHHNV ที่แยกได้มาทดสอบการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย

ผลการศึกษาพบว่าลูกกุ้งขาวจากโรงเพาะฟักจำนวน 163 ตัวอย่าง มีการติดเชื้อ TSV คิดเป็น 3.68% และติดเชื้อ IHHNV คิดเป็น 44.17% โดยพบว่าตัวอย่างลูกกุ้งจากเขตภาคใต้ฝั่งตะวันออกมีอัตราการติดเชื้อสูงสุด (7.32%) รองลงมาเป็นลูกกุ้งจากภาคตะวันออกและภาคกลาง คิดเป็น 5.56 และ 4.53% ตามลำดับ และพบการติดเชื้อ IHHNV สูงสุดถึง 55.56% ในตัวอย่างลูกกุ้งจากภาคตะวันออก ตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดินจำนวน 192 ตัวอย่าง ทั่ว

ประเทศมีการติดเชื้อ IHHNV สูงถึง 67.19% ในขณะที่พบการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส TSV เพียง 6.77% โดยพบกุ้งขาวจากภาคใต้ตอนล่างมีการติดเชื้อ IHHNV สูงสุดถึง 90% การแพร่กระจายของเชื้อ TSV พบสูงสุด (11.29%) ในตัวอย่างกุ้งจากภาคกลาง จากการทดลองนำเชื้อไวรัส TSV และ IHHNV ที่แยกได้จากกุ้งขาวมาทดสอบความรุนแรงและการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทย พบว่ากุ้งกุลาดำ กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กุ้งเคย กั้งตั๊กแตน กุ้งฝอยน้ำจืด กุ้งก้ามกราม ปูแสม และ ปูดำ สามารถยอมรับเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด โดยส่วนใหญ่มีการติดเชื้อและเกิดการตาย ยกเว้นกุ้งก้ามกรามและปูดำที่ไม่พบการตายหลังการติดเชื้อ แต่ตรวจพบอนุภาคของไวรัสในสัตว์น้ำที่รอดตายหลังการติดเชื้อนาน 10 วัน

ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะนำไปสู่การกำหนดมาตรการที่มีประสิทธิภาพที่จะช่วยลดความเสี่ยงจากการนำเข้า เพื่อป้องกันและควบคุมโรคติดเชื้อบางชนิดที่อาจปะปนมากับการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากต่างประเทศ

จากการที่ประเทศไทยซึ่งเป็นแหล่งผลิตและส่งออกกุ้งกุลาดำแหล่งใหญ่ของโลกประสบกับปัญหาหลายประการในช่วงเวลาที่ผ่านมา ได้แก่ ปัญหาโรคระบาด สิ่งแวดล้อมเสื่อมโทรมรวมถึงการขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์ที่มีคุณภาพส่งผลให้ผลผลิตรวมทั้งระบบลดลง เกษตรกรจึงพยายามที่จะแก้ปัญหาที่เกิดขึ้น โดยการนำพันธุ์กุ้งชนิดใหม่จากต่างประเทศเข้ามาเลี้ยงทดแทน โดยเฉพาะกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ซึ่งเป็นกุ้งที่มีแหล่งกำเนิดในเขตชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกของเม็กซิโกและอเมริกา และไม่เคยปรากฏในน่านน้ำของประเทศไทยมาก่อน เมื่อปี พ.ศ. 2545 กรมประมงได้อนุญาตให้มีการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากต่างประเทศเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นครั้งแรก แม้ว่าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่นำเข้ามาจะได้รับการตรวจสอบและกักกันโรคจากกรมประมงก่อนนำไปยังโรงเพาะฟัก แต่มาตรการดังกล่าวอาจจะไม่เพียงพอต่อการควบคุมโรค เนื่องจากกุ้งขาวเป็นสัตว์น้ำชนิดใหม่ที่นำเข้ามา (exotic species) การแอบแฝงของเชื้อก่อโรคที่สำคัญบางชนิด โดยเฉพาะโรคติดเชื้อไวรัส Taura syndrome และ Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) หรือ runt deformity syndrome อาจส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำพื้นเมือง (native species) ของไทย โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำ ดังนั้นข้อมูลการแพร่กระจายของโรคในกุ้งขาวจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งสำหรับการใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์ผลกระทบหรือความเสี่ยงจากการ นำเข้าสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ๆ (import risk analysis) เพื่อนำไปสู่การกำหนดมาตรการที่มีประสิทธิภาพที่จะช่วยลดความเสี่ยงจากการนำเข้า และอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นกับสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับการแพร่กระจายของโรคติดเชื้อไวรัสในกุ้งขาวในประเทศไทย มีอยู่ค่อนข้างจำกัด การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อติดตามการแพร่กระจายของโรคติดเชื้อไวรัสที่สำคัญสองชนิด คือ TSV และ IHHNV ตลอดจนการศึกษาการยอมรับเชื้อเหล่านี้ในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทยบางชนิด เพื่อเป็นข้อมูลในการกำหนดมาตรการสำหรับการป้องกันและควบคุมโรคติดเชื้อบางชนิดที่อาจปะปนมากับการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากต่างประเทศ

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บรวบรวมตัวอย่างลูกกุ้งขาวจากโรงเพาะฟัก และกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินจากพื้นที่การเลี้ยงกุ้งทั่วประเทศ ระหว่างเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2546 โดยกำหนดจำนวนตัวอย่างที่อุบัติการณ์การเกิดโรคที่ 2% (2% prevalence) ตามตารางการสุ่มตัวอย่างของ Ossiander และ Wedermeyer (1973) จากข้อมูลการประเมินจำนวนโรงเพาะฟักและบ่อเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยพบว่ามีพื้นที่การเลี้ยงไม่น้อยกว่า 100,000 บ่อ ทั่วประเทศ จึงต้องสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งขาวทั้งหมดจำนวนอย่างน้อย 147 บ่อ โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งขาวระยะลาวา จำนวน 100 ตัว/ตัวอย่าง กุ้งขาวระยะโพสต์ลาวา จำนวน 50 ตัว/ตัวอย่าง และกุ้งขาวระยะวัยรุ่นถึงระยะโตเต็มวัย จำนวน 10 ตัว/ตัวอย่าง

กำหนดปริมาณการเก็บตัวอย่างลูกกุ้งขาวจากโรงเพาะฟักรวม 163 ตัวอย่าง โดยรวบรวมจากภูมิภาคต่างๆ ทั่วประเทศ ประกอบด้วยพื้นที่ภาคตะวันออก (จังหวัด

ชลบุรี) จำนวน 18 ตัวอย่าง พื้นที่ภาคกลาง (จังหวัดฉะเชิงเทรา และสมุทรปราการ) จำนวน 44 ตัวอย่าง ภาคใต้ฝั่งตะวันตก (จังหวัดสตูล ตรัง กระบี่ พังงา และภูเก็ต) จำนวน 60 ตัวอย่าง และภาคใต้ฝั่งตะวันออก (จังหวัดสงขลาและนครศรีธรรมราช) จำนวน 41 ตัวอย่าง

กำหนดปริมาณการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวจากบ่อดินรวม 192 ตัวอย่าง โดยรวบรวมจากภูมิภาคต่างๆ ประกอบด้วยภาคตะวันออก (จังหวัดตราด ระยอง จันทบุรี และชลบุรี) จำนวน 42 ตัวอย่าง ภาคกลาง (จังหวัด ฉะเชิงเทรา สมุทรสาคร นครปฐม และประจวบคีรีขันธ์) จำนวน 62 ตัวอย่าง ภาคใต้ตอนบน (จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา และภูเก็ต) จำนวน 54 ตัวอย่าง และภาคใต้ตอนล่าง (จังหวัดตรัง สตูล สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส) จำนวน 34 ตัวอย่าง

โดยเก็บตัวอย่างกุ้งมีชีวิตใส่ถุงพลาสติกอัดออกซิเจน ตัวอย่างกุ้งใกล้ตายหรือตายใหม่ๆ เก็บใส่ถุงแช่น้ำแข็งหรือแช่แข็ง นำมาตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2. การตรวจสอบการติดเชื้อและการแยกเชื้อ TSV และ IHHNV จากตัวอย่างกุ้งขาว

นำตัวอย่างกุ้งขาวซึ่งเก็บรวบรวมจากพื้นที่ต่างๆ ทั้งจากโรงเพาะฟักและบ่อดินมาตรวจสอบการติดเชื้อไวรัส TSV และ IHHNV โดยการสกัดและแยก RNA ของเชื้อ TSV จากตัวอย่างกุ้งด้วยสารละลาย Isogen (Japan Science, Inc., Ltd.) แล้วเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยเทคนิค reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Nunan และคณะ (1998) ส่วนการตรวจสอบการติดเชื้อ IHHNV ใช้วิธีการสกัด DNA ของเชื้อจากตัวอย่างกุ้งด้วยสารละลาย DNA-zol reagent (Gibco BRL) แล้วเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Tang และ Lightner (2001) รายงานผลการตรวจสอบการติดเชื้อ และแยกเชื้อ TSV และ IHHNV จากตัวอย่างกุ้งขาวที่แสดงอาการของโรคอย่างชัดเจนและให้ผลบวกจากการตรวจยืนยัน ด้วยเทคนิค RT-PCR และ PCR โดยแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อเป้าหมาย ได้แก่ หัวใจ ต่อมน้ำเหลือง และเหงือก นำมาบดรวมกับอาหารเลี้ยงเซลล์ K-199 pH 7.4 (Itami *et al.*, 1992) โดยใช้สัดส่วนของเนื้อเยื่อต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ ประมาณ 1:9 นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่อัตราเร็ว 10,000 × g อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายส่วนใส (supernatant) กรองผ่านเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุน (pore size) 0.45 ไมครอน เพื่อกำจัดแบคทีเรีย นำสารละลายเข้มข้นของเชื้อไวรัสที่แยกได้มาเจือจาง 1,000 เท่า ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ K-199 สำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. การทดสอบการยอมรับเชื้อ TSV และ IHHNV ในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมือง

สารละลายเชื้อไวรัส TSV และ IHHNV ที่เจือจาง 1,000 เท่า จากข้อ 2 นำมาใช้สำหรับทดสอบการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำชนิดต่างๆ ได้แก่ กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) น้ำหนัก 4-6 กรัม กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) น้ำหนัก 9-12 กรัม กุ้งตะกาด (*Metapenaeus monoceros*) น้ำหนัก 4-6 กรัม กุ้งกะต่อม (*M. equideus*) น้ำหนัก 3-5 กรัม และกั้งตั๊กแตน (*Chloridopsis immaculatus*) น้ำหนัก 6-10 กรัม ปูดำ (*Scylla serrata*) น้ำหนัก 60-70 กรัม และปูแสม (*Sesarma* sp.) น้ำหนัก 20-30 กรัม จำนวนชนิดละ 30 ตัว โดยฉีดสารละลายของเชื้อไวรัสปริมาตรตัวละ 0.1-0.3 มล. เข้าบริเวณกล้ามเนื้อท้องปล้องสุดท้ายของสัตว์ทดลองกลุ่มกุ้ง ส่วนปูจะฉีดเข้าบริเวณขาเดิน สำหรับแช่กุ้งเคย (*Acetes* sp.) และกุ้งฝอยน้ำจืด (*M. lanchesteri*) ซึ่งมีขนาดเล็ก จะทดสอบการยอมรับเชื้อโดยวิธีการแช่ โดยนำสัตว์ทดลองมาเลี้ยงในถังที่มีสารละลายเชื้ออยู่อัตราส่วนเชื้อ 1 มล./น้ำ 2 ลิตร แล้วแช่เชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสัตว์ทดลองที่ฉีดและแช่เชื้อเลี้ยงต่อในสภาวะปกติในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 200 ลิตร ระหว่างการทดลองให้อาหารวันละ 3 มื้อ ดูดตะกอน และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 20-30% ตลอดการทดลองเป็นเวลา 10 วัน สังเกตอาการของสัตว์ทดลอง บันทึกอัตราการตาย และตรวจยืนยันสาเหตุการตายด้วยวิธี PCR หรือ RT-PCR ส่วนชุดการทดลองที่สัตว์น้ำไม่แสดงอาการของโรค ทำการเก็บเลือดเพื่อตรวจสอบการคงอยู่ของเชื้อไวรัสทุก 3-5 วัน

ผลการทดลอง

1. ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ TSV และ IHHNV ในตัวอย่างกุ้งขาวจากโรงเพาะฟัก

จากการตรวจสอบการติดเชื้อ TSV และ IHHNV ในตัวอย่างลูกกุ้งขาวจากโรงเพาะฟักทั่วประเทศจำนวน 163 ตัวอย่าง พบว่าลูกกุ้งขาวมีการติดเชื้อ TSV คิดเป็น 3.68% และติดเชื้อไวรัส IHHNV คิดเป็น 44.17% (Table 1) โดยพบว่าตัวอย่างลูกกุ้งจากเขตภาคใต้ฝั่งตะวันออกมีอัตราการติดเชื้อสูงสุด (7.32%) รองลงมาเป็นลูกกุ้งจากภาคตะวันออกและภาคกลาง คิดเป็น 5.56 และ 4.53% ตามลำดับ และพบการติดเชื้อ IHHNV สูงสุดถึง 55.56% ในตัวอย่างลูกกุ้งจากภาคตะวันออก (Table 2)

Table 1. Prevalence of IHHNV and TSV in larval white shrimp collected from hatcheries in different provinces of Thailand.

Province (sample size)	Percentage prevalence	
	IHHNV	TSV
Songkhla & Nakhon Si Thammarat (41)	48.78	7.32
Satun (6)	83.33	0
Phuket (29)	24.14	0
Phangnga (13)	23.08	0
Krabi (4)	50	0
Trang (8)	62.50	0
Chachoengsao (44)	45.45	4.55
Chon Buri (18)	55.56	5.56

Table 2. Prevalence of IHHNV and TSV in larval white shrimp collected from hatcheries in different parts of Thailand.

Area (sample size)	No. infected sample (percentage)	
	IHHNV	TSV
Central part (44)	20 (45.45)	2 (4.55)
Eastern part (18)	10 (55.56)	1 (5.56)
Southern part (east coast) (41)	20 (48.78)	3 (7.32)
Southern part (west coast) (60)	22 (36.67)	0
Total (163)	**72 (44.17)**	**6 (3.68)**

2. ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ TSV และ IHHNV ในตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดิน

จากการตรวจสอบการติดเชื้อ TSV และ IHHNV ในตัวอย่างกุ้งขาวจากบ่อดินทั่วประเทศจำนวน 192 ตัวอย่าง พบว่ากุ้งในบ่อดินทั่วประเทศมีการติดเชื้อ IHHNV สูงถึง 67.19% ในขณะที่พบการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส TSV ในกุ้งทั่วประเทศเพียง 6.77% (Table 3) โดยพบตัวอย่างกุ้งขาวจากภาคใต้ตอนล่างมีการติดเชื้อ IHHNV สูงสุดถึง 90% และพบการแพร่กระจายของเชื้อ TSV สูงสุด (11.29%) ในตัวอย่างกุ้งจากภาคกลาง (Table 4)

3. ผลการทดสอบการยอมรับเชื้อ TSV และ IHHNV ในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมือง

จากการทดลองนำเชื้อไวรัสสองชนิดคือ TSV และ IHHNV ที่แยกได้จากกุ้งขาวมาทดสอบความรุนแรงและการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทย ได้แก่ กุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกราม กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กั้งตั๊กแตน

Table 3. Prevalence of IHHNV and TSV in white shrimp collected from earthen ponds in different provinces of Thailand.

Province (sample size)	Percentage prevalence	
	IHHNV	TSV
Songkhla (8)	100	25
Nakhon Si Thammarat (10)	40	20
Narathiwat (2)	93.33	0
Patthani (15)	86.67	0
Satun (5)	80	0
Surat Thani (13)	92.31	0
Chumphon (19)	89.47	10.53
Phuket (5)	100	0
Phangnga (5)	80	0
Krabi (2)	100	0
Trang (4)	100	0
Chachoengsao (15)	53.33	20
Samut Sakhon (17)	100	11.76
Nakhon Pathom (20)	60	5
Chon Buri (11)	27.27	0
Prachuap Khiri Khan (10)	100	10
Rayong (10)	10	0
Trat (10)	20	0
Chanthaburi (11)	9.09	0

Table 4. Prevalence of IHHNV and TSV in white shrimp collected from earthen pond in different parts of Thailand.

Area (sample size)	No. infected sample (percentage)	
	IHHNV	TSV
Central part (62)	47 (75.81)	7 (11.29)
Eastern part (42)	7 (16.67)	0
Upper Southern (58)	48 (82.76)	4 (6.90)
Lower Southern (30)	27 (90)	2 (6.67)
Total (192)	**129 (67.19)**	**13 (6.77)**

ปูดำ ปูแสม กุ้งเคย และกุ้งฝอยน้ำจืด พบว่ากุ้งกุลาดำ กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กั้งตั๊กแตน ปูแสม กุ้งเคย และกุ้งฝอยน้ำจืด สามารถยอมรับเชื้อไวรัส TSV โดยบางส่วนมีการตายเนื่องจากการติดเชื้อ ส่วนสัตว์น้ำชนิดที่รอดตายและไม่แสดงอาการของโรค พบยังคงมีเชื้อไวรัสปรากฏอยู่ในตัวหลังการฉีดเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ยกเว้นกุ้งกุลาดำที่ไม่พบอนุภาคของไวรัสในตัวหลังจากวันที่ 10 ของการติดเชื้อ (Table 5)

สำหรับผลการตรวจสอบการติดเชื้อ IHHNV ในสัตว์น้ำกลุ่มเดียวกัน พบว่า IHHNV สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในกุ้งกุลาดำ กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กุ้งเคย กั้งตั๊กแตน ปูแสม และกุ้งฝอยน้ำจืด โดยสัตว์น้ำส่วนหนึ่งมีการตายหลังการติดเชื้อ และสัตว์น้ำที่ตายให้ผลบวกจากการตรวจสอบยืนยันด้วยวิธี PCR ส่วนกลุ่มที่รอดตายยังคงพบเชื้ออยู่ในเลือดหลังการฉีดเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ยกเว้นปูแสมที่รอดตายและไม่พบอนุภาคของเชื้อไวรัสในร่างกาย นอกจากนี้พบว่ากุ้งก้ามกรามและปูดำไม่แสดงอาการของโรคและไม่มีการตายหลังจากการฉีดเชื้อไวรัส IHHNV แต่ยังคงพบอนุภาคของไวรัสอยู่ในเลือดของกุ้งก้ามกรามและปูดำหลังจากการฉีดเชื้อเป็นเวลา 6 และ 10 วัน ตามลำดับ (Table 6)

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส TSV และ IHHNV ในตัวอย่างกุ้งขาวจากโรงเพาะฟักและกุ้งขาวที่เลี้ยงบ่อดินทั่วประเทศ พบว่ามีการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดในตัวอย่างกุ้งขาวอย่างกว้างขวางในทุกภูมิภาค ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสดังกล่าวในประเทศไทยส่วนหนึ่งเป็นผลจากการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่เป็นพาหะของโรค สอดคล้องกับรายงานของ Tu และคณะ (1999) ที่พบว่าการแพร่กระจายของเชื้อ TSV ในไต้หวันมีสาเหตุมาจากการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากฮาวาย ซึ่งพ่อแม่พันธุ์กุ้งที่ติดเชื้อสามารถ

Table 5. Susceptibility to TSV infection of some aquatic species native to Thailand.

Species	Mortality of TSV-infected animal (%)	Mortality of the controls (%)	RT-PCR result *	Existence of virus in surviving shrimp after infection**		
				3 days	6 days	10days
Penaeus monodon	14.37	0	+	+	+	-
Metapenaeus monoceros	45	15	+	+	ND	+
Macrobrachium rosenbergii	0	0	0	ND	ND	+
Macrobrachium equideus	71.43	40.91	+	+	+	+
Chloridopsis immaculatus	87.5	5	+	ND	ND	+
Sesarma sp.	42.86	0	+	ND	ND	+
Scylla serrata	0	0	+	+	+	+
Acetes sp.	64	12	+	+	+	+
Macrobrachium lanchesteri	40	6.67	+	ND	ND	+

*** = Detected in dead specimen ; ** = Detected in live specimen ; + = Positive result ;**
- = Negative result ; ND = non-detectable

Table 6. Susceptibility to IHHNV infection of some aquatic species native to Thailand.

Species	Mortality of TSV-infected animal (%)	Mortality of the controls (%)	RT-PCR result*	Existence of virus in surviving shrimp after infection**		
				3 days	6 days	10 days
Penaeus monodon	43.33	0	+	+	+	+
Metapenaeus monoceros	27.27	15	+	+	ND	-
Macrobrachium rosenbergii	0	0	ND	ND	+	-
Macrobrachium equideus	53.33	40.91	+	+	+	+
Chloridopsis immaculatus	22.73	5	+	ND	ND	+
Sesarma sp.	28.57	0	+	-	-	-
Scylla serrata	0	0	-	-	-	+
Acetes sp.	50	12	+	+	+	+
Macrobrachium lanchesteri	20	6.67	+	+	+	+

*** = Detected in dead specimen ; ** = Detected in live specimen ; + = Positive result**
- = Negative result ; ND = non-detectable

ถ่ายทอดเชื้อไปสู่รุ่นลูกได้ และสอดคล้องกับรายงานของ Pantoja และคณะ (1999) ที่สันนิษฐานว่าการแพร่กระจายของเชื้อ IHHNV ในกุ้ง *P. stylirostris* และกุ้งชนิดอื่นๆ ในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งตรวจพบหลังจากมีการระบาดของโรคนี้มาแล้วระยะหนึ่งในกุ้งเลี้ยงน่าจะมาจากพ่อแม่พันธุ์ที่ปนเปื้อนเชื้อในระบบการเลี้ยงแล้วถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ และมีการถ่ายทอดเชื้อสู่รุ่นต่อๆ ไปมากขึ้น ทำให้โอกาสในการตรวจพบเชื้อดังกล่าวในสัตว์น้ำธรรมชาติเพิ่มขึ้นในเวลาต่อมา

อย่างไรก็ตามผลการสำรวจการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสจากการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งได้ดำเนินการระหว่างเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2546 ไม่สัมพันธ์กับรายงานของกรมประมงที่ตรวจสอบไม่พบการติดเชื้อ TSV ในพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่นำเข้ามาจากต่างประเทศเลยจากการสุ่มตัวอย่างตรวจจำนวน 724 ตัวอย่าง ตลอดปี พ.ศ. 2546 และพบการติดเชื้อ TSV ในพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวเพียง 1.17% จากการสุ่มตรวจตัวอย่างจำนวน 681 ตัวอย่าง ตลอดปี พ.ศ. 2545 (กรมประมง, ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์) ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่สุ่มตรวจขณะนำเข้ามาอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อในระดับต่ำมากจนไม่สามารถตรวจพบได้ แต่เมื่อนำพ่อแม่พันธุ์กุ้งดังกล่าวเข้าสู่ระบบการเลี้ยงในโรงเพาะฟัก ซึ่งมีระยะพักของเชื้อ (incubation time) นานขึ้น ประกอบกับกุ้งมีความต้านทานโรคลดลงเนื่องจากได้รับความเครียดจากการผสมพันธุ์และฟักไข่ หรือสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง ส่งผลให้เชื้อที่มีอยู่ในตัวมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ เมื่อลูกกุ้งที่ติดเชื้อถูกนำไปเลี้ยงในบ่อดิน ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมค่อนข้างสูง จะทำให้เชื้อมีโอกาสแพร่กระจายได้มากขึ้น เช่นเดียวกับที่พบกุ้ง *P. stylirostris, P. setiferus* และ *P. schmitti* แสดงอาการของการติดเชื้อ TSV และมีอัตราการตายสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ทำให้เกิดสภาวะเครียด เช่น การเปลี่ยนแปลงความเค็ม (Lesber *et al*., 2001) ซึ่งสอดคล้องกับผลจากการศึกษาครั้งนี้ที่การแพร่กระจายของเชื้อ TSV และ IHHNV ในกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดินสูงกว่าในกุ้งจากโรงเพาะฟักถึง 1.84 และ 1.52 เท่า ตามลำดับ

จากการสำรวจพบการติดเชื้อ TSV ในลูกกุ้งจากโรงเพาะฟักจากเขตพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออกสูงกว่าเขตอื่นๆ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าโรงเพาะฟักในพื้นที่ดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นโรงเพาะฟักขนาดเล็ก ผู้ประกอบการมักใช้พ่อแม่พันธุ์กุ้งที่ไม่ได้มาตรฐานหรือใช้กุ้งระยะนอเพลียสที่ไม่มีคุณภาพจากพื้นที่อื่นมาเลี้ยงเป็นระยะโพสต์ลาวา ในขณะที่โรงเพาะฟักส่วนใหญ่ในเขตภาคใต้ฝั่งตะวันตกและบางส่วนในพื้นที่ภาคตะวันออกมีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่แข็งแรงและมีการตรวจสอบโรคติดเชื้อที่มีความรุนแรงสูงก่อนนำมาใช้ แต่พบว่าตัวอย่างลูกกุ้งทั้งจากพื้นที่ภาคใต้

ฝั่งตะวันออกและฝั่งตะวันตกมีการติดเชื้อ IHHNV ในระดับสูงใกล้เคียงกัน ส่วนการแพร่กระจายของเชื้อ IHHNV ในตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดิน พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในภาคกลางและภาคใต้ มีการติดเชื้อ IHHNV ในสัดส่วนที่สูงมาก ในขณะที่พบการติดเชื้อค่อนข้างน้อยในตัวอย่างจากภาคตะวันออก ข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ให้เห็นว่าผู้ประกอบการส่วนใหญ่อาจจะละเลย หรือไม่ได้ให้ความสำคัญต่อการคัดเลือกลูกกุ้งที่ปลอดเชื้อ IHHNV เนื่องจากเชื้อ IHHNV ไม่ได้ก่อให้เกิดการตายในอัตราที่สูง เมื่อเทียบกับการติดเชื้ออื่น เช่น TSV หรือ WSSV ที่กุ้งที่ติดเชื้อมักจะตายอย่างรวดเร็ว (Kasornchandra, *et al*., 1998; Chou, *et al*., 1995; Chamberlain, 1994) นอกจากนี้ยังมีข้อสังเกตจากการสำรวจ โดยพบว่าในประชากรกุ้งขาวที่ติดเชื้อ IHHNV ในระดับสูง มีโอกาสที่จะติดเชื้อ TSV ในระดับสูงด้วย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากุ้งที่ติดเชื้อ TSV เมื่อถูกนำไปเลี้ยงในพื้นที่ๆ มีการเลี้ยงกุ้งขาวหนาแน่นเชื้อจะมีการแพร่กระจายได้ง่าย โอกาสในการตรวจพบเชื้อในบ่อดินบริเวณดังกล่าวจึงสูงขึ้นด้วย ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้พบว่ากุ้งขาวจากพื้นที่ภาคกลางซึ่งมีพื้นที่เลี้ยงกุ้งขาวสูงถึง 70% ของพื้นที่การเลี้ยงกุ้งทั้งหมด มีการติดเชื้อ TSV ในระดับที่สูงกว่าเขตอื่นๆ ประกอบกับในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงที่มีฝนตกติดต่อกัน ซึ่งอาจเป็นปัจจัยเสริมให้เชื้อ TSV มีการแพร่กระจายเป็นบริเวณกว้างมากขึ้น ซึ่งมีรายงานว่าการแพร่กระจายของเชื้อ WSSV ในกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน และในสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำธรรมชาติของประเทศไทยจะสูงขึ้นในช่วงฤดูฝน (จรีพร และ กิจการ, 2542; Limsuwan, 1999)

ผลการทดสอบการยอมรับเชื้อไวรัส TSV และ IHHNV ในสัตว์น้ำสายพันธุ์พื้นเมืองชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ พบว่ากุ้งกุลาดำ กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กุ้งเคย กั้งตั๊กแตน ปูแสม และกุ้งฝอยน้ำจืดบางส่วนมีการตายหลังการติดเชื้อ แสดงให้เห็นว่าสัตว์น้ำเหล่านี้สามารถยอมรับเชื้อไวรัส มีการแสดงอาการของโรคและตายเมื่อสัมผัสกับเชื้อ สอดคล้องกับรายงานของ Brock และคณะ (1995) ที่พบว่าสารสกัดจากเนื้อเยื่อกุ้งที่ติดเชื้อซึ่งเจือจาง 10,000 เท่า ทำให้กุ้งขาว *P. vannamei* สามารถติดเชื้อในระบบการทดลองได้อย่างรวดเร็ว ในขณะที่มีรายงานว่า TSV สามารถติดต่อได้ง่ายโดยผ่านการกินกุ้งหรือสัตว์ที่ปนเปื้อนเชื้อ (Brock *et al*., 1995; Erickson *et al*., 1997; Overstreet *et al*., 1997; Lotz, 1997a) และสามารถติดต่อได้โดยผ่านทางน้ำ (Lotz, 1997b)

ในขณะที่พบว่ากุ้งก้ามกราม และปูดำไม่แสดงอาการของโรคหลังจากการฉีดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด ส่วนกุ้งฝอยน้ำจืดไม่แสดงอาการของโรคหลังการแช่เชื้อตลอดการทดลองเป็นเวลา 10 วัน แต่พบการปนเปื้อนของอนุภาคไวรัส TSV ในเลือดของกุ้งก้ามกรามและปูดำหลังการติดเชื้อเป็นเวลา 10 วัน และตรวจพบการปรากฏของเชื้อ IHHNV ในกุ้งก้ามกรามและปูดำหลังการติดเชื้อ 6 และ 10 วัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ที่รอดตายจากการติดเชื้อก็พบสามารถตรวจพบอนุภาคของไวรัสคงอยู่ในร่างกาย จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าแม้เชื้อไวรัสทั้งสองชนิดจะไม่ทำให้สัตว์น้ำตาย แต่การคงอยู่ของอนุภาคไวรัสในตัวโดยที่สัตว์น้ำไม่แสดงอาการของโรค อาจทำให้สัตว์น้ำดังกล่าวอยู่ในภาวะเป็นพาหะนำเชื้อและส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำอื่นๆ สอดคล้องกับรายงานของ Hasson และคณะ (1995) และ Lightner (1996) ที่พบว่าแมลงน้ำ (*Trichocorixa reticulate*) ซึ่งมีอยู่ทั่วไปในบ่อเลี้ยงกุ้งสามารถเป็นพาหะนำเชื้อจากบ่อหนึ่งไปยังบ่อหนึ่งได้ เนื่องจากพบกุ้งขาวแสดงอาการของโรคเมื่อฉีดด้วยสารสกัดจากแมลงดังกล่าว นอกจากนี้ Garza และคณะ (1997) ยังพบว่าเชื้อ TSV สามารถแพร่กระจายเป็นบริเวณกว้างได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากนกนางนวลที่กินกุ้งที่ติดเชื้อสามารถนำเชื้อ TSV จากบ่อหนึ่งไปยังบ่อใกล้เคียง หรือแพร่ไปสู่ฟาร์มใกล้เคียงได้ โดยเชื้อที่อยู่ในมูลนกสามารถลงสู่แหล่งน้ำ แล้วเข้าสู่ตัวสัตว์น้ำโดยผ่านทางน้ำหรือโดยการกิน ซึ่งในสภาพแวดล้อมของการเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยก็มีปรากฏการณ์ดังกล่าวเมื่อเกิดการระบาดของโรคต่างๆ

ผลจากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยมีความเสี่ยงค่อนข้างสูง โดยเฉพาะการเป็นพาหะนำโรคที่มีความรุนแรงสูงและมีผลกระทบต่อสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองในวงกว้าง ดังนั้นควรจะมีการกำหนดมาตรการที่มีประสิทธิภาพเพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการนำเข้ากุ้งขาว เช่น การสร้างระบบของด่านกักกัน (Quarantine) การแสดงใบรับรองการปลอดโรค (Health certificate) จากประเทศที่ส่งออกกุ้งขาวซึ่งจะต้องเป็นแหล่งปลอดเชื้อไวรัสที่มีความเสี่ยงสูง การควบคุมและจดทะเบียนโรงเพาะฟัก เป็นต้น และมาตรการในระยะยาว

คือการพัฒนาศูนย์ผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวปลอดโรค (specific pathogen free, SPF) เพื่อผลิตพ่อแม่พันธุ์ปลอดโรคให้เพียงพอต่อความต้องการในประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) และกรมประมง สำหรับการสนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัย และขอขอบคุณ ดร.เรณู ยาชิโร ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งระยอง ดร.ลิลา เรืองแป้น ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี ดร.วิสุทธิ์ พิริยพงศ์วิริยา สถานีวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่งชลบุรี และกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำหรับการอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเพื่อการศึกษาครั้งนี้ ขอขอบคุณ นส.พ.สุจินต์ ธรรมศาสตร์ บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ในความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง

เอกสารอ้างอิง

จรีพร เรืองศรี และกิจการ ศุภมาตย์. 2542. การตรวจหาดีเอ็นของเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจากพาหะนำเชื้อและสิ่งมีชีวิตธรรมชาติโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส. ว. สงขลานครินทร์ ฉบับ วทท. 21: 41-51.

Brock, J.A., Gose, R., Lightner, D.V. and Hasson, K.W. 1995. An overview on taura syndrome, an important disease of farmed *Penaeus vannamei*. **In**: Browdy, C.L. and Hopkins, J.S. (eds.). Swimming through Troubled Waters, Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture' 95. World Aquacult. Soc. Baton Rouge, LA. 84-89.

Chamberlain, G.W. 1994. Taura syndrome and China collapse caused by new shrimp viruses. World Aquacult. 25: 22-25.

Chou, H.Y., Huang, C., Wang, C.H., Chiang, H.C. and Lo, C.F. 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. Dis. Aquat. Org. 23: 165-173.

Erickson, H.S., Lawrence, A.L., Gregg, K.L., Lotz, J. and McKee, D.V. 1997. Sensitivity of *Penaeus vannamei, P. vannamei* TSV survivors and *P. setiferus* to taura syndrome virus infected tissue and TSV infected pond water and sensitivity of *P. vannamei* to TSV bioassays with *P. setiferus* and *P. aztecus*. World Aquaculture' 97, Book of Abstracts. World Aquacult. Soc., Baton Rouge, LA. p. 39.

Garza, J.R., Hasson, K.W., Poulos, B.T., Redman, R.M., White, B.L. and Lightner, D.V. 1997. Demonstration of infectious taura syndrome virus in the feces of seagulls collected during an epizootic in Texas. Aquat. Anim. Health 9: 156-159.

Hasson, K.W., Lightner, D.V., Poulos, B.T., Redman, R.M., White, B.L., Brock, J.A. and Bonami, J.R. 1995. Taura syndrome in *Penaeus vannamei*: demonstration of a viral aetiology. Dis. Aquat. Org. 23: 115-126.

Itami,T., Yan, Y. and Takahashi, Y. 1992. Study vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus* I : effect of vaccine concentration and duration of vaccination efficacy. J. Shimonoseki University of Fisheries 40: 83-87.

Kasornchandra, J., Boonyaratpalin, S. and Itami, T. 1998. Detection of white spot syndrome virus in cultured penaeid shrimp in Asia: Microscopic observation and polymerase chain reaction. Aquacult. 164: 243-251.

Lesber S.A., Soto, A.M. and Lotz, J.M. 2001. Effect of chronic taura syndrome virus (TSV) infections on survival of the shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to salinity street. **In**: Aquaculture 2001: Book of Abstracts, 143 Parker, J.M., World Aquacult. Soc., Coliseum Louisiana State University, Baton Rouge, LA., USA. p. 564.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquacult. Soc., Baton Rouge, LA, USA.

Limsuwan, C. 1999. Shrimp culture in Thailand toward year 2000. AAHRI Newsletter. 8: 5-6.

Lotz, J.M. 1997a. Effect of host size on virulence of taura virus to the marine shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae). Dis. Aquat. Org. 30: 45-51.

Lotz, J.M. 1997b. Special topic review: viruses, biosecurity and specific pathogen-free stocks in shrimp aquaculture. World J. Microbiol. Biotechnol. 13: 405-413.

Nunan, L.M., Poulos, B.T. and Lightner, D.V. 1998. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) used for the detection of taura syndrome virus (TSV) in experimentally infected shrimp. Dis. Aquat. Org. 34 : 87-91.

Ossiander, F.J. and Wedermeyer, G. 1973. Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. J. Fish. Res. Bd. Can. 30: 1383-1384.

Overstreet, R.M., Lightner, D.V., Hasson, K.W., McIlwain, S. and Lotz, J.M. 1997. Susceptibility to taura syndrome virus of some penaeid shrimp species native to the gulf of Mexico and the South-eastern United States. Invertebr. Pathol. 69: 165-176.

Pantoja, C.R. and Lightner, D.V. and Holtschmidt, K.H. 1999. Prevalence and geographic distribution of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in wild blue shrimp *Penaeus stylirostris* from the Gulf of California, Mexico. Aquat. Anim. Health 11: 23-34.

Tang, K.F.J. and Lightner, D.V. 2001. Detection and quantification of infectious hypodermal and haaematopoietic necrosis virus in penaeid shrimp by real-time PCR. Dis. Aquat. Org. 44:79-85.

Tu, C., Huang, H.T., Chuang, S.H., Hsu, J.P., Kuo, S.T., Li, N.J., Hsu, T.L., Li, M.C. and Lin, S.Y. 1999. Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. Dis. Aquat. Org. 38: 159-161.