The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 32
Issue 4 *December, 2002*

Article 7

12-7-2002

THE INVASION OF GUPPY SKIN BY TETRAHYMENA SPP. AFTER INDUCED INJURIES

Aranya Ponpornpisit

Makoto Endo

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm

Part of the Veterinary Medicine Commons

Recommended Citation

Ponpornpisit, Aranya and Endo, Makoto (2002) "THE INVASION OF GUPPY SKIN BY TETRAHYMENA SPP. AFTER INDUCED INJURIES," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 32: Iss. 4, Article 7.
DOI: https://doi.org/10.56808/2985-1130.1894
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol32/iss4/7

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การแทรกตัวของเตตร้าไฮมีนาเข้าสู่ผิวหนังปลาหางนกยูงที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลต่างชนิดกัน

อรัญญา พลพรพิสิฐ[1*] มาโกโต เอนโด[2]

Abstract

Aranya Ponpornpisit[1*] Makoto Endo[2]

THE INVASION OF GUPPY SKIN BY *TETRAHYMENA SPP.* AFTER INDUCED INJURIES

A study was carried out on the invasion of Guppy skin by *Tetrahymena spp.* after various types of skin injury. Three types of skin injuries, scale removal, brush scratching and acetic acid irritation were performed. *Tetrahymena spp.* only the acetic acid irritation method allowed to invade the damaged skin. Guppy skin using this method, the fish caudal fin was covered with a 10%, acetic acid soaked, cotton strip for three minutes and exposed to water containing *Tetrahymena spp.* for 24 hours. Successful invasion used 100 *Tetrahymena spp.* cells/ml. in the water, at 25°C and a *p*H of 7.0-8.0. Histopathological examination suggested severe damage to the epidermis and dermis were the primary factors enabling successful invasion.

Keywords : *Tetrahymena*, fish disease, Guppy

[1]**Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.**
[2]**Laboratory of Fish Health Management, Tokyo University of Fisheries, Tokyo 108-8477, Japan.**
[*]**Corresponding author**

[1]ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]ห้องปฏิบัติการการจัดการสุขภาพปลา มหาวิทยาลัยการประมงแห่งโตเกียว โตเกียว 108-8477 ญี่ปุ่น
[*]ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

อรัญญา พลพรพิสิฐ[1*] มาโกโต เอนโด[2]

การแทรกตัวของเตตร้าไฮมีนาเข้าสู่ผิวหนังปลาหางนกยูงที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลต่างชนิดกัน

ศึกษาการแทรกตัวของเตตร้าไฮมีนาเข้าสู่ผิวหนังปลาหางนกยูงที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลชนิดต่างๆ กัน 3 วิธี ได้แก่ การดึงเกล็ด การขูดด้วยแปรง และการระคายเคืองด้วยกรดอะซิติค พบว่าการทำให้เกิดบาดแผลที่ผิวหนังด้วยกรดอะซิติคก่อนการสัมผัสเชื้อเป็นวิธีที่ทำให้เตตร้าไฮมีนาแทรกตัวเข้าสู่ผิวหนังปลาหางนกยูงได้ทุกตัว วิธีดังกล่าวทำโดยการใช้แถบสำลีชุบกรดอะซิติคเข้มข้น 10% วางทาบไว้ที่โคนครีบหางปลาเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำปลาไปเลี้ยงในน้ำที่มีเชื้อเตตร้าไฮมีนาที่ความเข้มข้น 100 เซลล์/มล. ที่อุณหภูมิ 25°ซ. และที่ความเป็นกรดด่าง 7.0-8.0 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากการตรวจเนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยาพบว่า การที่เนื้อเยื่อผิวหนังชั้นนอก และชั้นในถูกทำลายอย่างมาก เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เชื้อเตตร้าไฮมีนาสามารถแทรกตัวเข้าสู่เนื้อเยื่อใต้ผิวหนังปลาได้

คำสำคัญ : เตตร้าไฮมีนา โรคปลา ปลาหางนกยูง

บทนำ

การเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเป็นอีกธุรกิจหนึ่งของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีการเติบโตและขยายตัวเป็นอย่างมากในหลายๆ ประเทศรวมทั้งประเทศไทย ปลาสวยงามชนิดที่ได้รับความนิยมมาตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน ได้แก่ ปลาหางนกยูง เนื่องจากเป็นปลาที่มีราคาถูก สามารถเพาะพันธุ์ได้ง่าย มีความทนทาน ปรับตัวได้ดีกับทุกสภาพแวดล้อม สามารถจำหน่ายได้ทั้งในและต่างประเทศอย่างสม่ำเสมอ อย่างไรก็ตาม ปัญหาสำคัญที่ทำให้การผลิตและจำหน่ายปลาหางนกยูงยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรคือการแพร่กระจายโรคที่เรียกว่า "Guppy Killing Disease" หรือที่รู้จักกันในกลุ่มผู้เลี้ยงปลาหางนกยูงของไทยว่า โรคตัวเปื่อย โรคดังกล่าวเกิดจากการติดเชื้อเตตร้าไฮมีนา (ฐิติพร และคณะ, 2001; Lom and Dykova, 1992) โรคติดเชื้อเตตร้าไฮมีนาไม่เพียงแต่ทำความเสียหายต่อเกษตรกรที่เพาะเลี้ยงปลาหางนกยูงโดยตรงเท่านั้นแต่ยังส่งผลกระทบต่อธุรกิจการค้าปลาสวยงามทั้งระบบโดยเฉพาะอย่างยิ่งธุรกิจการส่งออกอันเกิดจากการตายและการแพร่ระบาดของโรคดังกล่าวในปลาหางนกยูงที่ประเทศผู้รับซื้อปลายทาง ทำให้ผู้ซื้อไม่มั่นใจในคุณภาพปลาสวยงามที่มาจากประเทศต่างๆ ในเอเชีย (Biffar, 1997)

เตตร้าไฮมีนาเป็นโปรโตซัวชนิดที่มีเส้นขนรอบตัว (ciliated protozoa) พบได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ การดำรงชีพของเตตร้าไฮมีนาในสภาพแวดล้อมทั่วไปเป็นแบบอิสระ (free-living) (Corliss, 1953) แต่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น สภาพที่ขาดแคลนธาตุอาหาร เตตร้าไฮมีนา ก็สามารถสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ และสามารถปรับตัวให้ดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากสภาพแวดล้อมเดิมอย่างมากได้ (Elliott, 1973) อย่างไรก็ดี สภาวะที่เหมาะสมต่อการแบ่งตัวและเจริญเติบโตของเตตร้าไฮมีนา

คือ ที่อุณหภูมิ 25°ซ. และความเป็นกรดด่าง 7-8 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเช่นเดียวกัน (Ling,1992)

การศึกษาเกี่ยวกับเตตร้าไฮมีนา ได้มีรายงานมาตั้งแต่ คศ. 1953 (Corliss,1953) ในระยะ 3-4 ปีที่ผ่านมามีการตรวจพบการติดเชื้อเตตร้าไฮมีนาในปลาหางนกยูงทั้งในประเทศและต่างประเทศเพิ่มขึ้น (ฐิติพรและคณะ, 2001; Imai et al., 2000) การทดลองให้ปลาหางนกยูงติดเชื้อเตตร้าไฮมีนาในห้องปฏิบัติการนั้นแม้ว่าจะได้เคยมีการศึกษาในสัตว์ต่างๆ รวมถึงปลามาแล้วก็ตาม (Kozloff, 1957; Thompson, 1958; Seaman et al., 1972) แต่ในรายงานดังกล่าวมีรายละเอียดไม่เพียงพอที่จะนำมาใช้ทำการทดลองซ้ำเพื่อหาแนวทางในการควบคุมป้องกันโรคได้ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมที่จะทำให้เตตร้าไฮมีนาแทรกตัวเข้าสู่ผิวหนังปลาเพื่อนำมาใช้ในการศึกษาโรคติดเชื้อเตตร้าไฮมีนาในปลาสวยงามต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การแยกเชื้อ

แยกเชื้อเตตร้าไฮมีนาจากผิวหนังปลาป่วยนำมาตรวจสอบสายพันธุ์ด้วยการตรวจดูรูปร่างลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่กำลังขยาย 400 เท่า ตรวจสอบซ้ำด้วยการย้อมสีซิลเวอร์อิมเพรกเนชั่นตามวิธีของ Lom and Dykova (1992) จากนั้นนำมาเลี้ยงเพิ่มจำนวนและเก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย proteose peptone 0.5% tryptone 0.5% และ K_2HPO_4 0.02% ที่อุณหภูมิ 25°ซ. ก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 48 ชม. นำเชื้อดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนอีกครั้งที่อุณหภูมิ 25°ซ. และปรับความเข้มข้นของเชื้อให้อยู่ในระดับความเข้มข้นที่ต้องการ

การเตรียมปลา

นำปลาหางนกยูงสุขภาพดีปลอดจากการติดเชื้อเตตร้าไฮมีนา ไม่แยกเพศและสายพันธุ์ ความยาวเฉลี่ย 2.5-3 ซม. จำนวน 200 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ชุด ชุดละ 20 ตัว เลี้ยงปรับสภาพในตู้ปลาขนาดความจุน้ำ 5 ลิตร ปรับอุณหภูมิให้คงที่ 25°ซ. ให้อากาศตลอดเวลา เป็นเวลา 7 วัน

วิธีการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ซ้ำ ซ้ำละ 5 กลุ่ม แต่ละกลุ่มเริ่มการทดลองโดยทำให้ปลาหมดสติด้วยยาสลบชนิด benzocaine 50 ppm แล้วจึงเตรียมปลาแต่ละกลุ่มตามวิธีที่กำหนด จากนั้นนำปลามาเลี้ยงไว้ในน้ำที่เตรียมไว้เป็นเวลา 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 25°ซ. และที่ความเป็นกรดด่าง 7.0-8.0 ดังนี้

กลุ่มที่ 1 Control group กลุ่มควบคุม ทำโดยการนำปลามาเลี้ยงในน้ำสะอาดไม่มีเตตร้าไฮมีนาปนเปื้อน

กลุ่มที่ 2 No injury group กลุ่มที่ไม่มีบาดแผลแต่มีเชื้อเตตร้าไฮมีนาปนเปื้อนในน้ำ ทำโดยการนำปลามาเลี้ยงในน้ำที่เตรียมไว้ที่มีเตตร้าไฮมีนา 100 เซลล์/มล.

กลุ่มที่ 3 Scale removing group กลุ่มที่ทำให้เกิดบาดแผลเฉพาะที่ขนาดเล็ก ทำโดยการใช้ปากคีบปลายแหลมดึงเกล็ดปลาออกจากผิวหนังบริเวณโคนหางจำนวน 10 เกล็ด โดยทำการดึงภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ แล้วจึงนำปลามาเลี้ยงในน้ำที่มีเตตร้าไฮมีนา 100 เซลล์/มล.

กลุ่มที่ 4 Brush scratching group กลุ่มที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลถลอก ทำโดยการใช้แปรงสีฟันขูดเบาๆ ที่ผิวหนังบริเวณโคนหางปลา นำปลามาเลี้ยงในน้ำที่มีเตตร้าไฮมีนา 100 เซลล์/มล.

กลุ่มที่ 5 Acid treated group กลุ่มที่ทำให้เกิดบาดแผลกว้างและลึก ใช้แถบสำลีขนาดกว้าง 0.3 มม. ชุบกรดอะซิติคเข้มข้น 10% วางทาบที่โคนครีบ

หางปลาเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำปลาไปเลี้ยงในน้ำที่มีเตตร้าไฮมีนา 100 เซลล์/มล.

การอ่านผล

เมื่อครบ 24 ชม. นำปลามาใส่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 15 นาที ทำการตรวจดูเตตร้าไฮมีนาที่โคนครีบหางปลาทุกกลุ่มภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอที่กำลังขยาย 40 เท่า โดยอ่านผลบวกเมื่อพบเตตร้าไฮมีนาใต้ผิวหนังภายในครีบหางปลาแต่ละตัวไม่น้อยกว่า 10 เซลล์ (รูปที่ 2) อ่านผลลบเมื่อตรวจไม่พบเตตร้าไฮมีนาหรือตรวจพบเตตร้าไฮมีนาน้อยกว่า 10 เซลล์ จากนั้นสุ่มตัวอย่างปลาแต่ละกลุ่มไปตรวจสอบลักษณะของบาดแผลและการแทรกตัวของเตตร้าไฮมีนาทางจุลพยาธิวิทยาซ้ำอีกครั้ง

ผล

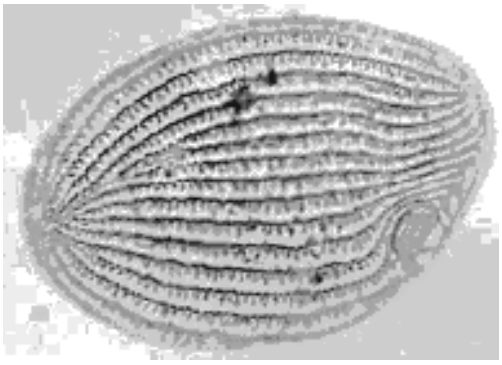
จากการทดลองพบว่าเชื้อเตตร้าไฮมีนาที่แยกได้จากผิวหนังปลาป่วยมีรูปร่างกลม รี (pyriform shape) มีขนาดเฉลี่ย 50 x 80 μm มีแนวเส้นขนรอบตัว (ciliary meridian) 20-30 แถว ไม่มีเส้นขนที่ยาวกว่าเส้นอื่นที่ด้านท้ายลำตัว (caudal cilium) มีปาก (microstome) ที่อยู่บริเวณส่วนหัวม้วนพับเข้าในเซลล์ (รูปที่ 1)

ในการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมที่จะทำให้เตตร้าไฮมีนาแทรกตัวเข้าสู่ผิวหนังปลาให้ได้นั้น พบว่าปลาหางนกยูงทุกตัวในกลุ่มที่ 5 (acid treated group) (รูปที่ 3) ให้ผลบวก ส่วนปลาในกลุ่มที่ 3 ที่ใช้วิธีการดึงเกล็ดปลา และกลุ่มที่ 4 ซึ่งใช้แปรงขนอ่อนขูดเบาๆ ที่ผิวหนังตรวจพบ 50% และ 45-50% ตามลำดับ ในขณะที่ปลาในกลุ่มที่ไม่มีบาดแผลและกลุ่มควบคุมตรวจไม่พบเตตร้าไฮมีนาบนตัวปลา (ตารางที่ 1)

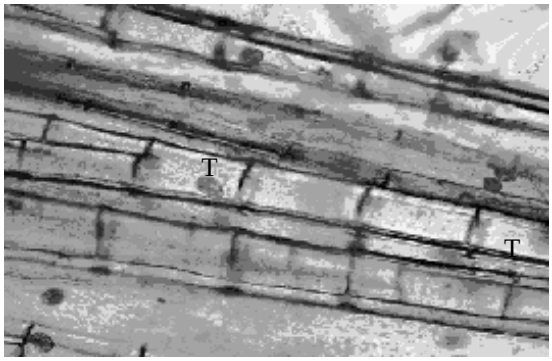
การตรวจบาดแผลที่ทำให้เกิดขึ้นทางจุลพยาธิวิทยาพบว่า เยื่อเมือก เกล็ด เยื่อบุผิวชั้นนอก และเยื่อบุผิวชั้นใน ถูกทำลายในระดับต่างๆ กัน ในแต่ละวิธี โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างผิวหนังปลาปกติที่ไม่มีการทำให้เกิดบาดแผล (รูปที่ 5) กับผิวหนังปลาที่ทำให้เกิดแผลโดยวิธีใช้กรดอะซิติควางทาบบริเวณโคนหางปลา พบว่าเยื่อบุผิวหนังทั้งชั้นนอกและชั้นในถูกทำลายอย่างสม่ำเสมอทั้งในแนวกว้างและแนวลึก โดยเยื่อเมือกที่ปกคลุมผิวหนังชั้นนอกถูกทำลายและลอกหลุด (รูปที่ 6) เปิดเป็นช่องทางให้เชื้อเตตร้าไฮมีนาแทรกตัวเข้าสู่เนื้อเยื่อใต้ผิวหนังได้ง่ายขึ้น ส่วน

ตารางที่ 1 จำนวนปลาหางนกยูงที่ตรวจพบเตตร้าไฮมีนาในแต่ละกลุ่มทดลอง

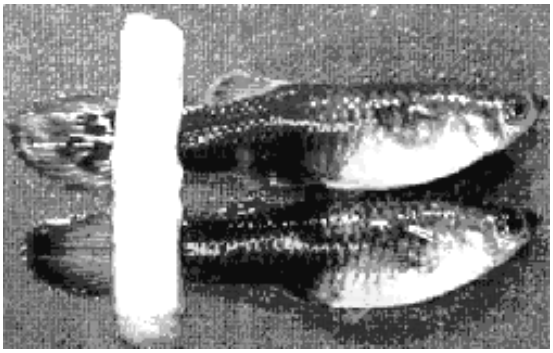
กลุ่มทดลอง	เตตร้าไฮมีนาในน้ำ (เซลล์/มล.)	จำนวนปลาที่ตรวจพบ (%)		เฉลี่ย (%)
		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	
Control group	0	0 (0/20)	0 (0/20)	0
No injury group	100	0 (0/20)	0 (0/20)	0
Scale removing group	100	50 (10/20)	50 (10/20)	50
Brush scratching group	100	50 (10/20)	45 (9/20)	45-50
Acid treated group	100	100 (20/20)	100 (20/20)	100



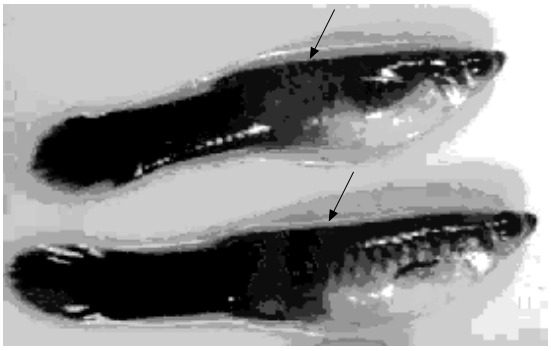
รูปที่ 1 เตตร้าไฮมีนา ไพริฟอร์มิส มีรูปร่างกลม รี ขนาดเฉลี่ย 50 x 80 µm มีเส้นขนรอบตัว 20-30 แถว Silver impregnation stain (bar = 10 µm)



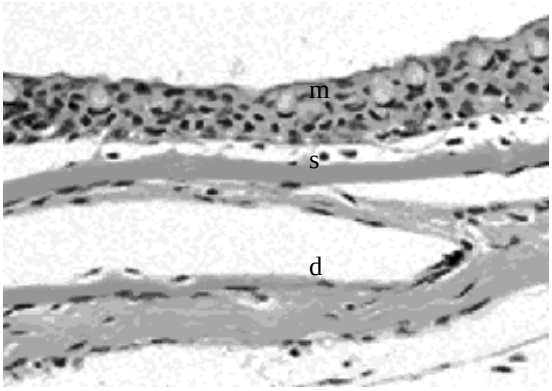
รูปที่ 2 เตตร้าไฮมีนา (T) ที่พบบริเวณโคนครีบหางของปลาหางนกยูงที่ให้ผลบวก fresh mount (100X)



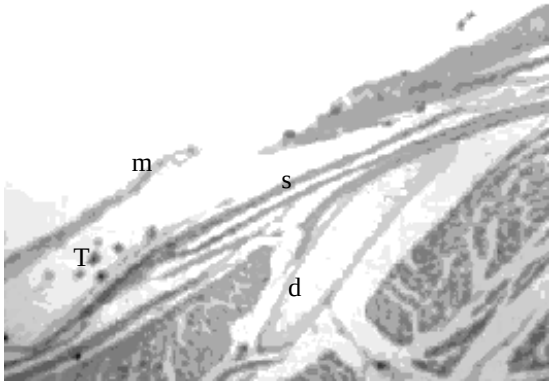
รูปที่ 3 การทำให้เกิดบาดแผลด้วยวิธี acid treated method (bar = 0.5 cm)



รูปที่ 4 ลักษณะรอยโรคสีขาวๆ เปื่อยเป็นขุยที่บริเวณลำตัวของปลาหางนกยูงที่ติดเชื้อ เตตร้าไฮมีนา (ศรชี้) (bar = 0.5 cm)



รูปที่ 5 ผิวหนังของปลาหางนกยูงที่ไม่มีรอยโรคแสดงให้เห็นชั้น epidermis ที่มีเยื่อเมือกปกคลุม (m) เกล็ด (s) และชั้น dermis (d) (H&E, 100X)



รูปที่ 6 ผิวหนังของปลาหางนกยูงที่ทำให้เกิดบาดแผลแสดงให้เห็นการลอกหลุดของเยื่อเมือก (m) เกล็ด (s) เปิดช่องทางให้เตตร้าไฮมีนา (T) แทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง (H&E, 100X)

วิธีการดึงเกล็ดพบว่าเยื่อบุผิวหนังทั้งสองชั้นถูกทำลายเฉพาะที่ในแนวลึก สำหรับวิธีการใช้แปรงขนอ่อนขูดเบาๆ พบว่าระดับการถูกทำลายไม่สม่ำเสมอพบได้ทั้งเยื่อบุผิวหนังชั้นนอกเพียงอย่างเดียว และทั้งสองชั้น

วิจารณ์

การแบ่งชนิดของโปรโตซัวเตตร้าไฮมีนา ได้มีรายงานการแบ่งไว้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ *Pyriformis complex*, *Rostrata complex* และ *Patula complex* โดยเชื้อที่แยกได้จากปลาป่วยในการศึกษาครั้งนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับเตตร้าไฮมีนา ไพริฟอร์มิส ใน *Pyriformis complex* ที่เป็นโปรโตซัวรูปร่างกลมรี มีแนวเส้นขนรอบตัว 15-25 แถว มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 10-90 μm มีนิวเคลียส 2 ชนิด คือ แมคโครนิวเคลียส และไมโครนิวเคลียส ไม่มี caudal cilium (Corliss, 1970; Elliott, 1973)

การดำรงชีพของเตตร้าไฮมีนาชนิดต่างๆ ในธรรมชาติรวมถึงเตตร้าไฮมีนา ไพริฟอร์มิส ส่วนใหญ่เป็นการดำรงชีพแบบอิสระไม่ใช่พาราไซท์ แต่เตตร้าไฮมีนาจะแปรสภาพจากการดำรงชีพอย่างอิสระไปเป็นการดำรงชีพแบบพาราไซท์ได้เมื่อแทรกตัวเข้าสู่ร่างกายปลาที่อ่อนแอผ่านทางบาดแผลที่ผิวหนัง (Nigrelli et al., 1956) จากนั้นแบ่งตัวเพิ่มจำนวน และกัดกินเนื้อเยื่อทำให้ปลาที่ติดเชื้อดังกล่าวมีแผล และเนื้อตายที่บริเวณผิวหนังมากขึ้น มีลักษณะเป็นรอยโรคสีขาวๆ เปื่อยเป็นขุย (รูปที่ 4) เตตร้าไฮมีนาจะแทรกตัวเข้าไปใต้ผิวหนังได้ทั่วร่างกาย รวมถึงในอวัยวะภายใน สามารถทำให้เหงือกบวม ตาโปน อวัยวะภายในขยายใหญ่ อันเกิดจากการที่โปรโตซัวดังกล่าวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วภายในอวัยวะนั้นๆ ในกรณีที่เชื้อเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางจะทำให้ปลาเสียการทรงตัว ว่ายน้ำไร้ทิศทาง ปลาที่ติดเชื้อมากอาจป่วยและตายได้ภายในช่วงระยะเวลา 3-5 วัน (ฐิติพร และคณะ, 2001; Paperna,1991; Imai et al., 2000) การใช้วิธีทำให้ผิวหนังปลาหางนกยูงเกิดบาดแผลต่างชนิดกันเพื่อเปิดช่องทางให้เตตร้าไฮมีนาไพริฟอร์มิส แทรกตัวเข้าสู่ผิวหนังปลาสามารถทำได้ทั้ง 3 วิธีที่ได้ทดลอง แต่วิธีที่ทำให้เตตร้าไฮมีนาแทรกตัวเข้าไปใต้ผิวหนังปลาหางนกยูงมากที่สุดถึง 100% คือ วิธีใช้กรดอะซิติคเข้มข้น 10% วางทาบที่โคนครีบหางปลาเป็นเวลา 3 นาที ซึ่งผู้วิจัยตั้งชื่อวิธีว่า acetic acid treated method วิธีนี้ทำให้เตตร้าไฮมีนาแทรกตัวเข้าสู่ผิวหนังปลาหางนกยูงได้ทุกตัวและสามารถตรวจพบเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ จึงนับเป็นวิธีการที่เหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำมาใช้ในการศึกษาการติดเชื้อเตตร้าไฮมีนาในขั้นต่อไป วิธีดังกล่าวทำให้เกิดการลอกหลุดของเยื่อเมือก เกล็ด เยื่อบุผิวชั้นนอก ชั้นใน และชั้นกล้ามเนื้อ เปิดช่องทางให้เชื้อเตตร้าไฮมีนาแทรกเข้าสู่ร่างกายปลาได้โดยง่าย วิธีนี้ไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อน ถึงแม้ว่าจะเคยมีรายงานการทำให้ปลาหางนกยูงติดเชื้อเตตร้าไฮมีนาโดยการทำให้เกิดบาดแผลที่ผิวหนังปลา แต่รายงานดังกล่าวไม่ได้ให้ข้อมูลรายละเอียดวิธีการทำให้เกิดบาดแผลดังกล่าว (Thompson, 1958) วิธีการที่ได้ผลรองลงมา คือ วิธีการดึงเกล็ดที่ทำให้เกิดการลอกหลุดของเยื่อเมือก เยื่อบุผิวชั้นนอกและชั้นในแต่วิธีการนี้ต้องใช้ความชำนาญในการดึงเกล็ดและเป็นวิธีการที่ใช้เวลาค่อนข้างมากเนื่องจากต้องทำด้วยความระมัดระวังภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในขณะที่วิธีการใช้แปรงขนอ่อนขูดที่โคนครีบหางปลาพบว่ามีอัตราการติดเชื้อไม่แน่นอนขึ้นกับความแรงในการขูดและความลึกของชั้นผิวหนังที่ถูกทำลาย สำหรับปลาในกลุ่มที่ไม่มีการทำให้เกิดบาดแผลที่ผิวหนังถึงแม้จะอยู่ในน้ำที่มีเชื้อเตตร้าไฮมีนา ก็ไม่พบว่ามีการติดเชื้อแต่อย่างใด

เอกสารอ้างอิง

ฐิติพร หลาวประเสริฐ เฉลิมพล ไกรศรี และ สุปราณี ชินบุตร 2001 (2544). การศึกษาโรคตัวเปื่อยในปลาหางนกยูง. วารสารข่าวโรคสัตว์น้ำ กรมประมง 11(2): 5-6.

Biffar, M.1997. The worldwide trade in ornamental fish: current status, trends and problems. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 17(6): 201-204.

Corliss, J.O.1953. Comparative studies on Holotrichous ciliates in the Colpidium- Glaucoma-Leucophrys-Tetrahymena group. II Morphology, life cycles and systemic status of strains in pure culture. Parasitol. 43: 49 -87.

Corliss, J.O.1970. The comparative systemetics of species comprising the Hyminostome ciliate genus *Tetrahymena*. J. Protozool.17(2): 198-209.

Elliott, A.M. 1973. Morphology of *Tetrahymena*. In: Biology of *Tetrahymena*. A.M. Elliott (ed.). Pennsylvania: Dowden Hutchinson and Ross Inc, 5-19.

Imai, S., Tsurimaki, S., Goto, E., Wakita, K. and Hatai, K. 2000. *Tetrahymena* infection in Guppy, *Poecilia reticulata*. Fish Pathol. 35(2): 67-72.

Kozloff, E.N. 1957. A species of *Tetrahymena* parasitic in the renal organ of the slug *Deroceros reticulatum*. J. Protozool. 4: 75-79.

Ling, K.H. 1992. The status of freshwater ornamental fish health in Singapore. Sym posium on Tropical Fish Health Management. Singapore. Biotrop Spec. Publ.48: 47-51.

Lom, J. and Dykova, I. 1992. Protozoan parasites of fishes, Developments in Aquaculture and Fisheries Science, vol. 26, Amsterdam: Elsevier, 252-253.

Nigrelli, R.F., Jakowska, S. and Padnos, M. 1956. *Tetrahymena* as pathogenic epi-biont in fishes and urodeles. J. Protozool. 3 Suppl.: 10.

Paperna, I. 1991. Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. Ann. Rev. Fish Dis.:155-194.

Seaman, G.R., Tosney, T., Berglund, R. and Goldberg, G. 1972. Infectivity and recovery of *Tetrahymena pyriformis* strain S from adult female cockroaches (*Periplaneta americana*). J. Protozool.19(4): 644-647.

Thompson, J.C. 1958. Experimental infections of various animals with strains of the Genus *Tetrahymena*. J. Protozool. 5(3): 203-205.