ประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* ที่ต้านต่อโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และการศึกษาคุณลักษณะแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล จังหวัดชลบุรี

Efficacy of *Streptococcus* vaccine against Streptococcosis disease in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Characterization of bacteria isolated from fish farm culture in Chonburi province

กรวิก กวางสูงเนิน
กฤษณา หอมดอก
ศิราวรรณ เพชรอดิเรก

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Efficacy of *Streptococcus* vaccine against Streptococcosis disease in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Characterization of bacteria isolated from fish farm culture in Chonburi province

KORAWIK KWANGSUNGNOEN
KRISSANA HOMDOK
SIRAWAN PHETADIREK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIERMENTS FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMY YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* ที่ต้านต่อโรคสเตรปโตคอคโคซิส ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และการศึกษาคุณลักษณะแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล จังหวัดชลบุรี

Efficacy of *Streptococcus* vaccine against Streptococcosis disease in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Characterization of bacteria isolated from fish farm culture in Chonburi province

ชื่อนักศึกษา นายกรวิก กวางสูงเนิน รหัสนักศึกษา 56050961

นางสาวกฤษณา หอมดอก รหัสนักศึกษา 56050962

นางสาวศิราวรรณ เพชรอดิเรก รหัสนักศึกษา 56051077

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2559

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขลำภู ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการ	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* ที่ต้านต่อโรคสเตรปโตคอคโคซิส ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และการศึกษาคุณลักษณะแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล จังหวัดชลบุรี
ชื่อนักศึกษา	นายกรวิก กวางสูงเนิน รหัสนักศึกษา 56050961
	นางสาวกฤษณา หอมดอก รหัสนักศึกษา 56050962
	นางสาวศิราวรรณ เพชรอดิเรก รหัสนักศึกษา 56051077
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

บทคัดย่อ

ปัจจุบันปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากเป็นปลาที่มีมูลค่าการส่งออกสูงและเป็นที่ต้องการของตลาด จึงทำให้เกิดการเพาะเลี้ยงปลานิลเพิ่มมากขึ้น ซึ่งมีการเลี้ยงด้วยระบบพัฒนาแบบหนาแน่นในทุกภูมิภาคของประเทศ ส่งผลให้เกิดปัญหาตามมาคือการระบาดของโรคในฟาร์มเพาะเลี้ยง ดังนั้นการให้วัคซีนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้ในการจัดการกับโรค งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* ในฟาร์มเลี้ยงปลานิล จังหวัดชลบุรี โดยทำการเปรียบเทียบปลากลุ่มที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน หลังจากปล่อยปลาลงไปแล้ว 2 เดือน ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 60-70 กรัม กลุ่มละ 4 บ่อ สุ่มบ่อละ 10 ตัว ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์จนถึงเดือนพฤษภาคม มาทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตและเก็บเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าทางด้านโลหิตวิทยา ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและแบบจำเพาะ เดือนละครั้ง จำนวน 4 ครั้ง จากผลการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน และค่าโลหิตวิทยาของปลาที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนผลของระบบภูมิคุ้มกันของปลาพบว่า วัคซีนสามารถช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบไม่จำเพาะและแบบจำเพาะได้ โดยพบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลาที่ได้รับวัคซีนมีค่ามากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าสูงสุดในเดือนมีนาคมและลดต่ำลงในเดือนเมษายนตามลำดับ ส่งผลให้การป้องกันโรคมีระยะเวลาประมาณ 3-4 เดือน นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำและปริมาณของแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล ซึ่งพบว่าเมื่ออุณหภูมิของน้ำมีค่าสูงขึ้น จะทำให้ปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิลเพิ่มมากขึ้น เป็นผลทำให้ปลาเกิดโรค จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการให้วัคซีน เพื่อเป็นแนวทางในการใช้วัคซีนให้เกิดประสิทธิผลมากยิ่งขึ้นในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลต่อไป

คำสำคัญ : ปลานิล, ระบบภูมิคุ้มกัน, โรคสเตรปโตคอคโคซิส, โลหิตวิทยา, วัคซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Efficacy of *Streptococcus* vaccine against Streptococcosis disease in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Characterization of bacteria isolated from fish farm culture in Chonburi province
Students	Mr. Korawik Kwangsungnoen Student ID 56050961
	Miss Krissana Homdok Student ID 56050962
	Miss Sirawan Phetadirek Student ID 56051077
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Asst.Prof.Dr.Worakrit Worananthakij

Abstract

At present, Tilapia is a freshwater fish major importance for Thai economy. The demand for tilapia both for domestic consumption and exports is high and increasing. Tilapia culture then, is increasing in Thailand. The resulting outbreak, especially Streptococcosis disease is caused by bacteria *Streptococcus*. This study aimed to investigate the efficacy of *Streptococcus* vaccine from fish farm culture in Chonburi province. The study compare between vaccinated fish and non-vaccinated, with the sample of 10 fish/pond, 8 ponds and average body weight of 60-70 g, during February to May. The growth rate and blood collection were measure to analyzed hematology, innate immune and specific immune, once a month for 4 times. The results indicated that growth rate of vaccinated fish was higher than non-vaccinated fish, hematology of all groups were not statistically significantly at 0.05 level. In addition, it was found that vaccine enhanced the immune response, for both non-specific immune and specific immune. The antibody titer of vaccinated fish showed increase more than non-vaccinated fish which was statistically significant at 0.05 level, higher in March and lower in April. Therefore, the prevention of disease is only 3-4 months. Furthermore, water quality and bacteria counts were also examined in fish farm. The results suggest that raising the temperature affects the increase of bacteria count. This study demonstrates that the efficacy vaccine could be used as a guideline to further use of vaccines in the tilapia culture industry.

Keywords : Hematology, immunity, Nile tilapia, Streptococcosis, Vaccine

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ไม่อาจสำเร็จสมบูรณ์ขึ้นมาได้ หากปราศจากความเมตตากรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ ที่คอยให้คำปรึกษาดูแลอย่างใกล้ชิดและให้ความช่วยเหลือ แนะแนวทางที่ดีในการปรับปรุงข้อบกพร่องในการทำโครงงานพิเศษ รวมไปถึงคอยอบรมสั่งสอน ทางด้านคุณธรรม จริยธรรม ในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ที่คอยให้ความรู้ คำปรึกษา พร้อมชี้แนะแนวนางในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ลินจง สุขลำภู ประธานกรรมการ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ได้กรุณาชี้แนะแนวทางและคำแนะนำ ตลอดจนข้อสังเกตต่างๆ ทำให้คณะผู้วิจัยได้พัฒนาแนวคิดและไตร่ตรองปัญหาต่างๆ ได้อย่างรอบคอบมากยิ่งขึ้น ทำให้โครงงานพิเศษครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ สาขาวิชาชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณตะวัน มีสะอาด คุณพรชัย บัวประดิษฐ์ และคุณธนา เจริญสุข เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล อำเภอพานทอง จังหวัดชลบุรี ที่ให้ความร่วมมือในการทำโครงงานพิเศษ พร้อมทั้งเอื้อเฟื้อสถานที่ในการปฏิบัติงาน ทำให้โครงงานพิเศษครั้งนี้ผ่านลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ครอบครัวคณะผู้จัดทำ ที่คอยช่วยสนับสนุนส่งเสริมในด้านการศึกษา ตลอดจนคอยเลี้ยงดู อบรมสั่งสอนและเป็นกำลังใจ เป็นแรงผลักดันในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆ ทั้งในคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา และคณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง ที่ร่วมกันฝ่าฟันอุปสรรค ทนแดด ทนลม ทนฝน ให้กำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ให้กับคณะผู้จัดทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้ จนประสบความสำเร็จ

กรวิก กวางสูงเนิน
กฤษณา หอมดอก
ศิราวรรณ เพชรอดิเรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ซ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ปลานิล 4
2.2 คุณภาพแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 5
2.2.1 อุณหภูมิ 5
2.2.2 ความเป็นกรด-ด่าง 5
2.2.3 ความเป็นด่าง 5
2.2.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ 6
2.2.5 คลอรีน 6
2.2.6 ไนโตรเจน 6
2.2.5 ก๊าซไข่เน่า 6
2.3 โรคสเตรปโตคอคโคซิส 7
2.4 โลหิตวิทยาของปลา 7
2.4.1 พลาสมา 8
2.4.2 เซลล์เม็ดเลือดแดง 8
2.4.3 เซลล์เม็ดเลือดขาว 8
2.4.3.1 Neutrophile 8
2.4.3.2 Eosinophile 9
2.4.3.3 Basophile 10
2.4.3.4 Monocyte 10
2.4.3.5 Lymphocyte 11
2.4.3.6 Thrombocyte 12
2.5 ระบบภูมิคุ้มกันของปลา 12
2.5.1 ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ 12
2.5.1.1 ภูมิคุ้มกันด่านแรก 12
2.5.1.2 ภูมิคุ้มกันด่านสอง 13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.5.1.3 ระบบคอมพลีเมนต์ 13
2.5.2 ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ 13
2.5.2.1 ด้านสารน้ำ 13
2.5.2.2 ด้านเซลล์ 13
2.5.3 พารามิเตอร์เลือดของระบบภูมิคุ้มกันในปลา 14
2.5.3.1 พารามิเตอร์เลือดของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ 14
2.5.3.2 พารามิเตอร์เลือดของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ 14
2.6 วัคซีน 15
2.6.1 ประเภทของวัคซีน 15
2.6.1.1 วัคซีนเชื้อตาย 15
2.6.1.2 วัคซีนเชื้อเป็นแต่อ่อนฤทธิ์ 15
2.6.1.3 ท็อกซอยด์ 15
2.6.1.4 วัคซันที่ผลิตโดยเทคโนโลยีชีวภาพ 15
2.6.2 วิธีการให้วัคซีนในสัตว์น้ำ 16
2.6.1.1 การให้วัคซีนโดยการฉีด 16
2.6.1.2 การให้วัคซีนโดยการแช่ 16
2.6.1.3 การให้วัคซีนโดยการผสมอาหาร 17
2.7 การพัฒนาวัคซีน *Streptococcus* ในปลานิล 17
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 24
3.1 จัดกลุ่มการทดลอง 24
3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำ และปลาจากฟาร์มเลี้ยงปลานิล 24
3.3 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 24
3.3.1 อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ และพีเอช 24
3.3.2 ปริมาณแอมโมเนีย 24
3.3.3 ปริมาณอัลคาไลน์ 24
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณ และชนิดของแบคทีเรีย 25
3.5 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา 25
3.5.1 การเก็บตัวอย่างเลือด 25
3.5.2 การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว 25
3.5.3 การตรวจวัดค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น(%Hematocrit) 26
3.5.4 การวิเคราะห์หาค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) 26
3.6 การวิเคราะห์ค่าระบบภูมิคุ้มกัน 26
3.6.1 การทดสอบกิจกรรมไลโซไซม์ (Lysozyme activity) 26
3.6.2 การวิเคราะห์ค่าพลาสมาโปรตีน (Plasma protein) 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.6.3 การวิเคราะห์หาค่าอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) 27
3.6.4 การวิเคราะห์แอนติบอดีไตเตอร์ (Antibody titer) 27
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 27
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 28
4.1 การวิเคราะห์ค่าคุณภาพน้ำ 28
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณ และจัดจำแนกของแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล 29
4.3 การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 40
4.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา และระดับระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 41
4.5 การวิเคราะห์ระดับระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 43
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 44
5.1 สรุปผลการวิจัย 44
5.2 ข้อเสนอแนะ 44
เอกสารอ้างอิง 45
ภาคผนวก 54
ภาคผนวก ก สารเคมี 55
ภาคผนวก ข รูปแหล่งที่ทำการศึกษา 61
ภาคผนวก ค รูปตัวอย่างปลานิลที่ใช้ในการศึกษา 65
ภาคผนวก ง ตารางแสดงผลอัตราการเจริญ ค่าโลหิตวิทยา และค่าระบบภูมิคุ้มกัน 69
ภาคผนวก จ ตารางแสดงผลสถิติอัตราการเจริญ ค่าโลหิตวิทยา และค่าระบบภูมิคุ้มกัน 111

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 คุณภาพน้ำของบ่อที่เลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 28
4.2 ปริมาณของแบคทีเรีย (logCFU/ml) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA, MRS และ RS 29
4.3 จำแนกเชื้อแบคทีเรียจากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน ..... *Streptococcus* 32
4.4 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 41
4.5 ชนิดของเม็ดเลือดขาวที่จำแนกได้จากปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 42
4.6 ระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 43
ก.1 การเตรียมฮีโมโกลบินมาตรฐาน (standard hemoglobin) 58
ก.2 การเตรียมความเข้มข้นมาตรฐานของ Hen egg white lysozyme 69
ก.3 การเตรียมแอลบูมินมาตรฐานมาตรฐาน (standard BSA) 60
ง.1 ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 70
ง.2 ค่าโลหิตวิทยาและค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 78
จ.1 ค่าสถิติของอัตราการเจริญของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 111
จ.2 ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 115
จ.3 ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 123

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ปลานิล 4
2.2 เม็ดเลือดขาวชนิด Neutrophile ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain 9
2.3 เม็ดเลือดขาวชนิด Eosinophile ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain 9
2.4 เม็ดเลือดขาวชนิด Basophille ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain 10
2.5 เม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain 11
2.6 เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain 11
2.7 เม็ดเลือดขาวชนิด Thrombocyte ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain 11
4.1 ผลของปริมาณแบคทีเรีย (log CFU/ml) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA, MRS และ RS 30
4.2 อาการป่วยของปลานิลในเดือนเมษายน 31
4.3 ปลาตายในฟาร์มเลี้ยง 31
4.4 ผลอัตราการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* 40
ข.1 ชุดการทดลองที่ 1 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (APV) 61
ข.2 ชุดการทดลองที่ 2 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (APN) 61
ข.3 ชุดการทดลองที่ 3 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (PPV) 62
ข.4 ชุดการทดลองที่ 4 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (PPN) 62
ข.5 ชุดการทดลองที่ 5 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (PSV) 63
ข.6 ชุดการทดลองที่ 6 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (PSN) 63
ข.7 ชุดการทดลองที่ 7 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (TSV) 64
ข.8 ชุดการทดลองที่ 8 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (TSN) 64
ค.1 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ 2560 65
ค.2 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 2 เดือนมีนาคม 2560 66
ค.3 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 3 เดือนเมษายน 2560 67
ค.4 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 4 เดือนพฤษภาคม 2560 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่เจริญเติบโตรวดเร็วและสามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ ทนทานต่อโรคได้ดี มีความแข็งแรง สามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้ดี จึงทำให้ปลานิลเป็นพันธุ์ปลาสากลที่นิยมเพาะเลี้ยงทั้งในประเทศไทยและในต่างประเทศ โดยในประเทศไทยปลานิลได้ถูกนำเข้ามาครั้งแรกโดยเจ้าชายอากิฮิโต มงกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น ทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช รัชกาลที่ 9 และครั้งนั้นได้ทรงโปรดเกล้าฯ ให้ทดลองเลี้ยงปลาในบ่อสวนจิตรลดา ต่อมาจึงได้พระราชทานชื่อว่า “ปลานิล” (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2551)

ในประเทศไทยการเพาะเลี้ยงปลานิลเป็นการเลี้ยงเพื่อการบริโภคภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ โดยมีการปรับปรุงสายพันธุ์ พัฒนาเทคนิค เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีลักษณะคุณภาพตรงกับความต้องการของท้องตลาด (ภักดี, 2556) เพราะในปัจจุบันปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก เป็นปลาที่มีการส่งออกสูงกว่า 3 ล้านตัน ในปี 2551 ซึ่งเป็นครั้งแรกที่ผลผลิตสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งในกลุ่มปลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยง และยังคงสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้ปลานิลเป็นปลาที่น่าจับตามองของทั่วโลก (ประพันธ์ศักดิ์, 2557) ส่งผลให้ประเทศไทยเกิดการเพาะเลี้ยงปลานิลเพิ่มมากขึ้นและมีการพัฒนาระบบการเลี้ยงที่หนาแน่น โดยในปัจจุบันนิยมการเลี้ยงแบบพัฒนาเพราะสามารถควบคุมและเพิ่มปริมาณผลผลิตให้สูงขึ้นได้ โดยอาศัยการปล่อยปลาลงเลี้ยงอย่างหนาแน่น และใช้อาหารสมทบเป็นหลักในการผลิต (ภิรัตน์, 2552) อย่างไรก็ตามในระบบการเลี้ยงดังกล่าวมักประสบปัญหา เช่น ทางด้านลูกพันธุ์ปลานิล อาหาร คุณภาพน้ำ รวมไปถึงการจัดการที่ไม่เหมาะสม ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยง ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคในปลานิล โดยสาเหตุที่มักทำให้เกิดโรคในปลาน้ำจืดและปลานิลมีทั้งที่เกิดจากปรสิต แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส โดยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* นั้นเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดโรค Streptococcosis และมีการระบาดมากในปลานิล รวมไปถึงสร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจให้กับเกษตรกรนับล้านในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Amal และ Zamri-Saad, 2011)

โรค Streptococcosis เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* sp. ซึ่งพบว่าสามารถระบาดได้ทั้งในปลาที่อาศัยตามแหล่งน้ำธรรมชาติและปลาในฟาร์มเพาะเลี้ยง ความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นสร้างความเสียหายอย่างมากต่อผลผลิตในการเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด โดยในประเทศไทยพบการระบาดของโรค Streptococcosis ในปลานิล (สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553) โดยพบว่าปลาที่เป็นโรคจะแสดงอาการตาโปน ว่ายน้ำควงสว่านที่ผิวน้ำ มีแผลตกเลือดตามครีบและเกล็ด บางครั้งจะเห็นตุ่มหนองบริเวณคอดหาง (Suanyuk และคณะ, 2008) ดังนั้นจึงมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการจัดการโรค เนื่องจากการเกิดโรคระบาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นปปัญหาที่สร้างความเสียหายในวงกว้างและเกิดขึ้นกับการเลี้ยงปลานิลในทุกระบบ เกษตรกรส่วนใหญ่จึงได้พยายามใช้ยาและสารเคมีหลายชนิดเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว แต่การรักษาหรือบรรเทาอาการยังคงมีประสิทธิภาพไม่ครอบคลุมทั้งหมดในการเกิดโรคได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ยาและสารเคมีส่งผลกระทบด้านลบหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นการตกค้างของยาและสารเคมีในเนื้อปลา การดื้อยาของเชื้อก่อโรคในปลาหลายชนิด รวมไปถึงผลกระทบต่อประชากรของจุลชีพที่มีประโยชน์ตามธรรมชาติอีกด้วย (ประพันธ์ศักดิ์, 2557)

การให้วัคซีนจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อเสริมสร้างสุขภาพสัตว์น้ำให้มีความต้านทานโรคอย่างจำเพาะเจาะจงและลดความเสี่ยงของการเกิดโรคระหว่างการเพาะเลี้ยง (Gudding และคณะ 1999) โดยใช้คุณสมบัติทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาในการกระตุ้นให้เกิดการต้านทานโรค เนื่องจากตลอดช่วงระยะเวลาในการเลี้ยงจนถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิตเป็นช่วงที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบาดต่างๆ ดังนั้นรูปแบบและวิธีการให้วัคซีนจึงต้องมีประสิทธิภาพที่จะสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดโรคในช่วงระยะเวลาของการเลี้ยงปลาได้ (ภิรัตน์, 2552) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* โดยการศึกษาทางด้านโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และศึกษาคุณลักษณะรวมไปถึงคัดแยกชนิดของแบคทีเรียในน้ำที่ใช้ในฟาร์มเลี้ยงปลานิล เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและรักษาโรคที่เกิดในปลานิลรวมถึงลดต้นทุนจากการใช้ยาและสารเคมีของเกษตรกร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการใช้วัคซีน *Streptococcus* ในปลานิลของฟาร์มเกษตรกร

2) เพื่อศึกษาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

3) เพื่อศึกษาคุณลักษณะและคัดแยกชนิดของแบคทีเรียในน้ำที่ใช้ในฟาร์มเลี้ยงปลานิล

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* โดยการศึกษาอัตราการเจริญ ค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (% Hematocrit) , จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cell) และเม็ดเลือดขาว (White blood cell) และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบจำเพาะ ได้แก่ แอนติบอดีไตเตอร์ (Antibody titer) และ อิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ได้แก่ พลาสมาโปรตีน (Plasma protein) และ กิจกรรมไลโซไซม์ (lysozyme activity) นอกจากนี้ยังทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำในฟาร์มเลี้ยง โดยวัดอุณหภูมิ ค่าพีเอช (pH) ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) ปริมาณอัลคาไลน์ (Alkalinity) และปริมาณแอมโมเนีย (Ammonia, NH_3) รวมถึงตรวจสอบชนิดและปริมาณของแบคทีเรียในน้ำที่ใช้ในระบบเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) นำประสิทธิภาพวัคซีน *Streptococcus* ไปประยุกต์ใช้ ให้ครอบคลุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงในระดับฟาร์มปลานิลของเกษตรกร เพื่อลดอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดโรคและการระบาดของโรคสเตรปโตคอคโคซิส (Streptococcosis) ในปลานิล

2) นำผลการศึกษาครั้งนี้ไปเป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการระบบการเลี้ยงปลานิลให้เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง เพื่อควบคุมระบบการเลี้ยงปลานิลในระดับฟาร์มให้มีประสิทธิผลยิ่งขึ้น

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาในวงศ์ปลาหมอสี (Family Cichlidae) ซึ่งประกอบด้วยปลามากกว่า 600 ชนิดแต่ที่อยู่ในกลุ่มปลานิลมีอยู่จำนวน 70 ชนิดมีแหล่งกำเนิดตั้งแต่บริเวณตอนกลางค่อนไปทาง ใต้ของทวีปแอฟริกาไปจนถึงประเทศอิสราเอล จอร์แดน และซีเรีย (ภูมิภาคตะวันออกกลาง) (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, 2551) ปลานิลจัดว่าเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของสัตว์น้ำเนื่องจากมีโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ไขมันต่ำ แพร่ขยายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ ปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี กินอาหารได้หลากหลาย เนื้อมีรสชาติดี มีความทนทานต่อโรคสูงจึงทำให้ปลานิลเป็นพันธุ์ปลาสากลนิยมและมีความต้องการของตลาดสูง (ณัฏฐา, 2551) ปลานิลมีลักษณะลำตัวสั้น แบนข้าง ฝีปากบนและล่างเสมอกันที่ลำตัวมีลายพาดขวางประมาณ 9-10 แถบ ครีบหลังและครีบก้นประกอบด้วยก้านครีบแข็งและก้านครีบอ่อน ครีบหางจะมีจุดสีขาวและเส้นสีดำตัดขวาง สีของลำตัวจะเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อมของแหล่งที่อยู่อาศัย (ภัทริดา และคณะ, 2554)

รูปที่ 2.1 ปลานิล

ปลานิลได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยเป็นครั้งแรกโดยเจ้าชายอากิฮิโตมงกฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่นได้ทรงจัดส่งเข้ามาทูลเกล้าฯ ถวายต่อพระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดชรัชกาลที่ 9 เมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ.2508 จำนวน 50 ตัว ครั้งนั้นได้ทรงโปรดเกล้าฯ ให้ทดลองเลี้ยงปลานิลในบ่อสวนจิตรลดาเป็นหนึ่งโครงการในโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ปลานิลได้เจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์ได้เป็นอย่างดี ต่อมาจึงได้พระราชทานชื่อว่า “ปลานิล” ถือเป็นปลานิลสายพันธุ์แท้ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วโลกเรียกกันว่า “สายพันธุ์จิตรลดา” (Chitralada strain) และพระราชทานพันธุ์ดังกล่าวให้กับกรมประมงจำนวนหนึ่ง เมื่อวันที่ 7 มีนาคม พ.ศ.2509 เพื่อนำไปขยายพันธุ์และแจกจ่ายแก่พสกนิกร (สถาบันการวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดกรมประมง, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 คุณภาพแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

แหล่งน้ำและคุณภาพน้ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต สุขภาพ การดำรงชีพ การสืบพันธุ์ และการแพร่พันธุ์ของสัตว์น้ำ เนื่องจากสัตว์น้ำต้องอาศัยน้ำเป็นสื่อกลางในการหายใจ การหาอาหาร การรักษาสมดุลของร่างกาย กิจกรรมทางชีวเคมี และการขับถ่ายของเสีย ฉะนั้นน้ำจึงเปรียบเหมือนบ้านของสัตว์น้ำ หากคุณภาพน้ำเหมาะสม สัตว์น้ำก็จะเจริญเติบโตและมีสุขภาพดี จึงสามารถที่จะจำหน่ายได้ในราคาสูง (สันต์, 2548) โดยทั่วไปคุณสมบัติน้ำที่ควรจะพิจารณามีดังนี้

2.2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิ (Temperature) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพล ทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ ปกติอุณหภูมิของน้ำธรรมชาติจะผันแปรตามอุณหภูมิของอากาศ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับฤดูกาล ระดับความสูง และสภาพภูมิประเทศ นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงแดด กระแสลม ความลึก ปริมาณสารแขวนลอยหรือความขุ่น และสภาพแวดล้อมทั่วๆ ไปอีกด้วย โดยอุณหภูมิของน้ำที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูกาลจะส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำในเขตร้อนอยู่ที่ 25-32 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิน้ำสูงขึ้นสัตว์น้ำจะมีกระบวนการเมตาโบลิซึมเพิ่มขึ้น หรือหากอุณหภูมิน้ำที่สูงหรือต่ำเกินไป จะส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำต่ำลง มีผลต่อสุขภาพและการติดเชื้อของสัตว์น้ำได้ (Handeland และคณะ, 2008; พัชราวลัย และคณะ, 2557)

2.2.2 ความเป็นกรด-ด่าง

แหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 5-9 ซึ่งจะขึ้นอยู่กับลักษณะของภูมิประเทศ และสภาพแวดล้อมหลายประการ เช่น ลักษณะพื้นดินและหิน ปริมาณน้ำฝน ตลอดจนการใช้ประโยชน์จากดิน (ฐานันดร์, 2539) pH ของน้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงสัตว์น้ำควรอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 โดยค่า pH ที่ต่ำกว่า 4 จะมีความเป็นกรดสูง ในขณะที่ค่า pH มากกว่า 11 จะมีความเป็นด่างสูง ซึ่งจะส่งผลให้สัตว์น้ำตาย ระดับ pH ที่อยู่ในช่วงระหว่าง 4.0-6.0 จะทำให้ลูกสัตว์น้ำไม่ตายในทันทีแต่จะมีผลในระยะยาว คือ เจริญเติบโตช้า ระบบสืบพันธุ์หยุดชะงักหรืออาจตายในระยะเวลาต่อมา ดังนั้นการควบคุมระดับ pH ให้เหมาะสมจะช่วยลดอัตราการตายของปลาได้ (Wurts และ Durborow, 1992)

2.2.3 ความเป็นด่าง

ความเป็นด่าง (Alkalinity) ของน้ำ คือ คุณสมบัติของน้ำที่ทำให้กรดเป็นกลาง ความเป็นด่างของน้ำจะประกอบไปด้วยคาร์บอเนต ไบคาร์บอเนต และไฮดรอกไซด์ เป็นส่วนใหญ่ แต่อาจมีพวกคาร์บอเนต ซิลิเกต ฟอสเฟต และสารอินทรีย์ต่างๆ อยู่บ้าง แต่มีในปริมาณน้อย ค่าความเป็นด่างไม่ถือว่าเป็นสารมลพิษ แต่มีผลเกี่ยวเนื่องกับคุณสมบัติอื่นๆ เช่น pH ความเป็นกรด และความกระด้าง เป็นต้น (Raju, 2014) โดยคุณสมบัติที่สำคัญของความเป็นด่างต่อแหล่งน้ำ คือ เป็นตัวกั้นกลางช่วยควบคุมไม่ให้แหล่งน้ำมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ pH เร็วเกินไป ค่าความเป็นด่างของน้ำจึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเครื่องชี้ความสามารถของน้ำที่จะควบคุมระดับ pH มิให้เปลี่ยนแปลง แหล่งน้ำใดพบว่ามีค่าความเป็นด่างต่ำ ระดับ pH ของแหล่งน้ำนั้นเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็วซึ่งเป็นอันตรายต่อสัตว์ (Wurts, 2002)

2.2.4 ปริมาณออกซิเจนละลาย

ออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจเพื่อการเจริญเติบโต เช่นเดียวกันในสัตว์น้ำก็มีความต้องการออกซิเจนในกระบวนการหายใจ โดยค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ คือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (Dissolved Oxygen) อยู่ในน้ำ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (กาญจนา, 2557) ในน้ำสะอาดออกซิเจนละลายมีค่าอยู่ในช่วง 14.6-7 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 0-35 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณออกซิเจที่ละลายน้ำจะลดลงเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้น รวมไปถึงสิ่งเจือปนในน้ำ เช่น ความเค็ม สารแขวนลอย เป็นต้น ดังนั้นค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำควรมีค่าไม่ต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (เจียมจิตร, 2550)

2.2.5 คลอรีน

ปัญหาที่เกิดขึ้นจากคลอรีน (Chlorine) มักเกิดขึ้นในฟาร์มที่มีการใช้น้ำประปาเลี้ยงปลา เนื่องจากน้ำประปาจะมีสารคลอรีนในระดับหนึ่งเพื่อกำจัดเชื้อโรคในน้ำที่ใช้ในการอุปโภคและบริโภค ซึ่งคลอรีนที่พบในแหล่งน้ำมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาหรือสัตว์น้ำ เช่น หากในน้ำมีคลอรีน 0.2-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ปลากะพงขาวและกุ้งก้ามกรามตายภายใน 48 ชั่วโมง และถ้าอุณหภูมิสูงขึ้น ความเป็นพิษของคลอรีนก็จะมากขึ้นด้วย สำหรับน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์น้ำควรมีคลอรีนไม่เกิน 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าหากจำเป็นต้องใช้น้ำประปาในการเพาะเลี้ยงควรมีการพักน้ำไว้สักระยะในบ่อที่ได้รับแสงแดด และมีการเติมอากาศ คลอรีนจะสลายตัว หรือเติมสารโซเดิมไทโอซัลเฟต เพื่อกำจัดสารคลอรีนให้หมดไป (Bhatnagar และ Garg, 2000)

2.2.6 ไนโตรเจน

สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogen) ของแหล่งน้ำมีอยู่หลายรูปแบบ ประกอบด้วย แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์ โดยแหล่งของสารประกอบไนโตรเจนในน้ำส่วนใหญ่มาจากสารอินทรีย์ ซึ่งเกิดจากขบวนการเน่าสลายของเศษอาหาร ที่เหลือ แพลงก์ตอนที่ตาย เศษซากพืชซากสัตว์ สารอินทรีย์อื่นๆ โดยจุลินทรีย์จะปล่อยแอมโมเนีย ไนไตรท์ สู่น้ำในบ่อเลี้ยง ซึ่งความเป็นพิษของแอมโมเนียจะทำให้สัตว์น้ำสูญเสียพลังงานในการกำจัดแอมโมเนียออกนอกร่างกายมากกว่าปกติ ส่วนไนไตรท์จะไปรบกวนการแลกเปลี่ยนออกซิเจนของเม็ดเลือดแดง ทำให้สัตว์น้ำขาดออกซิเจนได้ ถ้ามีในปริมาณมากจะทำให้สัตว์น้ำอ่อนแอ ภูมิต้านทานโรคต่ำ และติดเชื้อได้ง่าย ปริมาณแอมโมเนียรวมในบ่อปลานิลไม่ควรเกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนไตรท์ไม่ควรเกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Santhosh และ Singh, 2007; ทัศนีย์ และสุวรรณา, 2559)

2.2.7 ก๊าซไข่เน่า

ก๊าซไข่เน่า (Hydrogen Sulfide) เกิดจากขบวนการย่อยสลายของเสีย และเศษอาหารตกค้างในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน มีผลทำให้ปลาตาย ปริมาณก๊าซควรอยู่ในช่วง 0.1-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นในการเลี้ยงควรมีการตรวจสอบสภาพพื้นบ่อ โดยสังเกตดินก้นบ่อว่ามีสีดำคล้ำหรือไม่ หาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีให้ทำการแก้ไขโดยการลดปริมาณอาหาร เพิ่มเครื่องให้อากาศ เปลี่ยนถ่ายน้ำให้มากขึ้น เพื่อระบายของเสียบริเวณพื้นก้นบ่อ หรือตะกอนสีดำที่เน่าเสียออกไป หรืออาจใส่ปูนขาวและเกลือแกงลงในบ่อเป็นระยะ เป็นต้น (นฤมล, 2541)

2.3 โรคสเตปโตคอคโคซิส

Streptococcus เป็นเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น ปลา สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีการระบาดในฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ซึ่งก่อให้เกิดโรคสเตรปโตคอคโคซิส ทำให้ปลาเจ็บป่วยหรือตาย ซึ่งพบการระบาดได้ทั้งในปลาน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม สร้างความเสียหายต่อผลผลิตเป็นจำนวนมาก (Evans และคณะ, 2009; Zappulli และคณะ, 2005) โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค คือ *Streptococcus agalactiae* และ *S. iniae* จะเข้าไปทำลายอวัยวะภายใน โดยสามารถติดเชื้อชนิดนี้ได้จากการให้อาหาร การนำปลาที่เป็นโรคเข้าฟาร์ม (ชาญณรงค์, 2550) หรือเกิดจากรูปแบบการจัดการฟาร์ม โดยฟาร์มที่มีการเปลี่ยนแปลงการจัดการอย่างรวดเร็ว มีความหนาแน่นในการเลี้ยงสูง ให้อาหารไม่พอดีกับความต้องการของสัตว์น้ำ ทำให้มีอาหารเหลือตกค้างจำนวนมาก ส่งผลให้คุณภาพน้ำไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง จึงก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมา เช่น ปัญหาน้ำเน่าเสีย ปัญหากลิ่นเหม็น เป็นต้น (สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2555)

สำหรับโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิลเกิดจากการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* โดยอาการปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มักแสดงอาการในปลาขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักตัวมากกว่า 300 กรัม อาการป่วยที่เด่นชัดมี 2 รูปแบบ คือ อาการป่วยแบบเฉียบพลัน ปลาจะว่ายน้ำผิดปกติ ไม่มีทิศทาง สูญเสียการทรงตัว บางตัวว่ายน้ำแบบควงสว่าน มีลักษณะภายนอกที่เด่นชัด คือ ท้องขยายใหญ่ ตาโปน กระจกตาขุ่น หรืออาจมีเลือดออกบริเวณลูกตา มีเลือดคั่งบริเวณโคนครีบแผ่นปิดเหงือก ผิวหนัง และรอบรูทวาร ลักษณะอาการภายในที่เด่นชัด คือ มีของเหลวลักษณะใสหนืด หรือปนเลือดในช่องท้อง ตับขยายใหญ่มีสีซีดลง ม้ามขยายใหญ่ แต่ลูกปลาอาจไม่พบลักษณะผิดปกติดังกล่าว และในส่วนอาการป่วยแบบเรื้อรัง ปลาที่ติดเชื้อแบบเรื้อรัง อาจพบการลอยตัวอยู่บริเวณผิวน้ำ มีสีลำตัวเข้มขึ้นในปลานิลดำหรือซีดลงในปลานิลแดง อาจพบรอยโรคภายนอก เช่น ตุ่มหนองบริเวณคอดหางหรือใต้คาง และรอยโรคภายใน เช่น การอักเสบของเยื่อบุช่องท้อง การอักเสบของเยื่อหุ้มหัวใจ ปลากินอาหารลดลง อัตราการเจริญเติบโตต่ำ (เฉลิม และคณะ, 2548; สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553)

2.4 โลหิตวิทยาของปลา

ปลาจัดเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังที่มีระบบหมุนเวียนเลือดแบบปิด ประกอบด้วย เหงือก หัวใจ และหลอดเลือด โดยเลือดเสียจากทั่วร่างกายเข้ามาบริเวณ sinus venosus ผ่านหัวใจห้องบนและห้องล่างตามลำดับผ่าน ventral aorta ไปฟอกที่เหงือก โดยมีหลอดเลือดทำหน้าที่ในการส่งเลือดไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย (วาสนา, 2555) โดยทั่วไปเลือดของปลา ประกอบด้วยส่วนที่เป็นของเหลวหรือพลาสมา (Plasma) และส่วนที่เป็นของแข็งได้แก่ เม็ดเลือดแดง (Red blood cell), เม็ดเลือดขาว (White blood cell) และเกล็ดเลือด (Platelets) (ขวัญตา และคณะ, 2551)

2.4.1 พลาสมา

พลาสมา (Plasma) เป็นน้ำเลือดที่แยกเอาส่วนของเม็ดเลือดแดงออกไปแล้วมีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองใสซึ่งมีสารต่างๆละลายอยู่ ได้แก่ โปรตีนชนิดต่างๆ คาร์โบไฮเดรต อิออน และสารที่มีปัจจัยทำเลือดแข็งตัว เป็นต้น (Hoover และคณะ,1998)

2.4.2 เซลล์เม็ดเลือดแดง

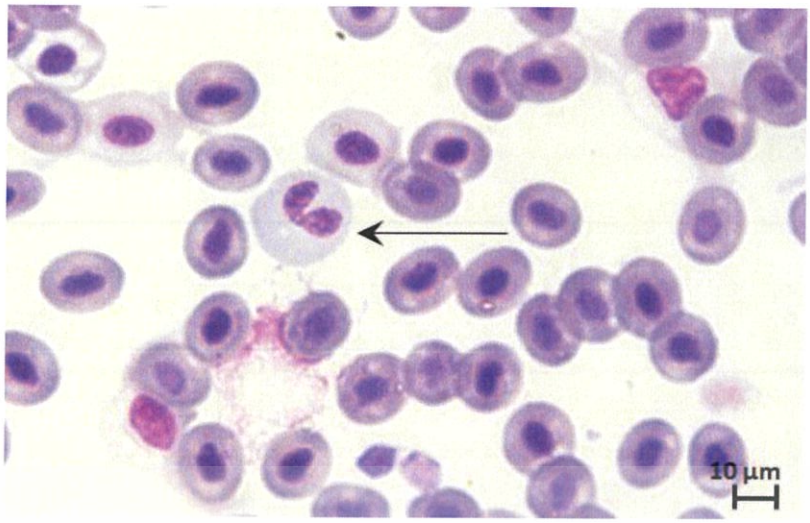
เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cell) ของปลากระดูกแข็งมีลักษณะคล้ายคลึงกับสัตว์ปีกและสัตว์เลื้อยคลานทั่วไปในปลาพบว่าเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่ มีไซโตพลาสซึมขนาดใหญ่ นิวเคลียสเป็นวงรีขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ ขนาดและจำนวนของเม็ดเลือดแดงแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ (นันทริกา, 2553) ภายในเม็ดเลือดแดงบรรจุฮีโมโกลบินโดยมีฮีม เป็นโปรตีนที่จับกับเหล็กซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการแลกเปลี่ยนออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ไปยังอวัยวะต่างๆของร่างกาย (Brauner และ Randall, 1996)

2.4.3 เซลล์เม็ดเลือดขาว

เซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell) มีหน้าที่ต่อต้านและทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายด้วยระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีแกรนูล ได้แก่ Neutrophile, Eosinophile และ Basophille และกลุ่มที่ไม่มีแกรนูลได้แก่ Lymphocyte, Monocyte และ Thrombocyte (วิจิตรา, 2554)

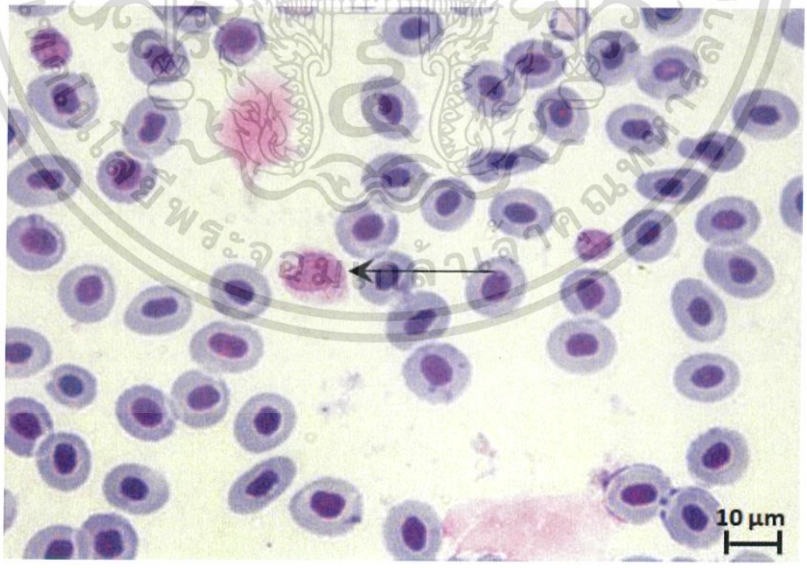
2.4.3.1 Neutrophile ของปลากระดูกแข็งมีลักษณะคล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกลม นิวเคลียสประมาณ 3-5 lobes ภายในไซโตพลาสซึมบรรจุแกรนูลชนิด azurophilic granule ประกอบด้วย lysozyme, complement, lectins และ proteolytic enzymes ซึ่งจะหลั่ง IgM และ IgT ออกมาทำลายสิ่งแปลกปลอมด้วยวิธี Phagocytosis และหลั่ง Cytokine ก่อให้เกิดการอักเสบ พบว่านิวโทรฟิลเป็นเม็ดเลือดขาวชนิดแรกที่เข้ามาทำลายบริเวณที่เกิดการติดเชื้อและ ชักนำสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบเข้ามาบริเวณที่เกิดการติดเชื้อ (Vidal และคณะ, 2016) นิวโทรฟิลจะทำงานร่วมกับแมคโครฟาจมีประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมได้ดีทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกเซลล์, เซลล์มะเร็ง, นำเสนอแอนติเจนให้กับลิมโฟไซต์ในการกระตุ้นแอนติบอดีและ กำจัดเศษเซลล์ที่หมดอายุ (Silva และ Neves, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงเม็ดเลือดขาวชนิด Neutrophile ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain

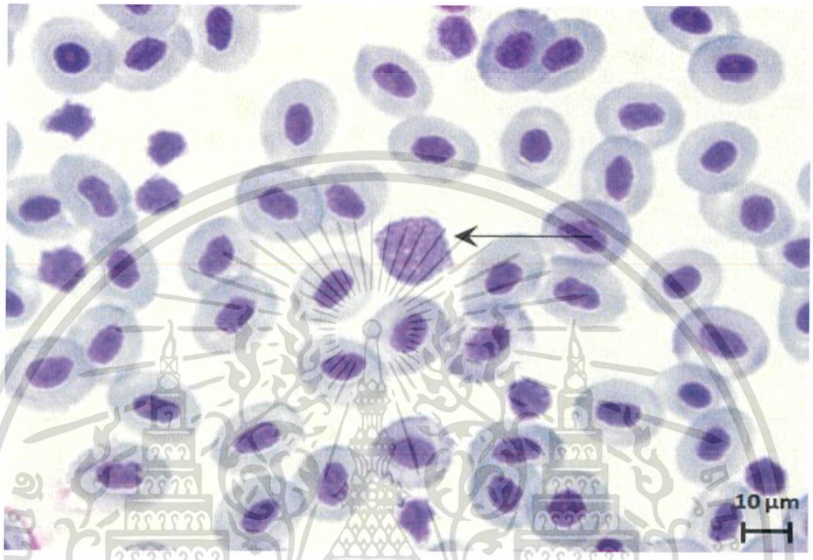
2.4.3.2 Eosinophil เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูลภายในแกรนูลบรรจุเอนไซม์ต่างๆ เมื่อย้อมด้วยสี Wright-Giemsa Stain ติดสีส้มแดง มีนิวเคลียส 2 lobes มีขนาด 10-15 ไมครอน พบปริมาณน้อยในกระแสเลือด อีโอสิโนฟิลมีคุณสมบัติเป็นฟาโกไซต์ (Phacocyte) และเกี่ยวข้องการตอบสนองต่อการติดเชื้อพยาธิและปรสิต โดยปล่อยสารพิษที่มีพิษสูงล้อมรอบใช้ทำลายพยาธิหรือปรสิตที่เข้าสู่ร่างกายได้ (Bella, 2017) นอกจากนี้อีโอสิโนฟิยังมีหน้าที่ทำลายสารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ โดยหลั่งสารที่อยู่ภายในแกรนูลออกมาทำลาย ช่วยให้ลดอาการภูมิแพ้ลง (Burka, 1998)



รูปที่ 2.3 แสดงเม็ดเลือดขาวชนิด Eosinophile ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

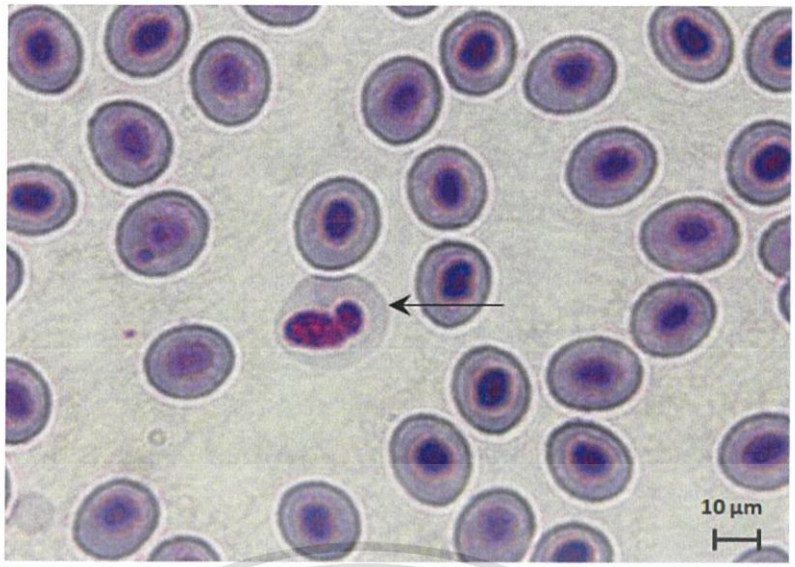
2.4.3.3 Basophille ของปลากระดูกแข็งพบได้น้อยมากมีรูปร่างไม่แน่นอนนิวเคลียสมีรูปร่างกลมและใหญ่เมื่อย้อมสีด้วยวิธี Wrigth-Giemsa Stain แกรนูลจะติดสีน้ำเงินเข้ม (Arnold, 2009) ภายในแกรนูลบรรจุสาร histamine และ histidine carboxylase enzyme เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการอักเสบ ปฏิกิริยาภูมิแพ้และยังช่วยรักษาและซ่อมแซมบริเวณที่เกิดการอักเสบเกิดขึ้นโดยสารต่างๆจะถูกหลั่งออกมาจากแกรนูลด้วยวิธีการ degranulation (Villegas และคณะ, 2016)



รูปที่ 2.4 แสดงเม็ดเลือดขาวชนิด Basophille ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain

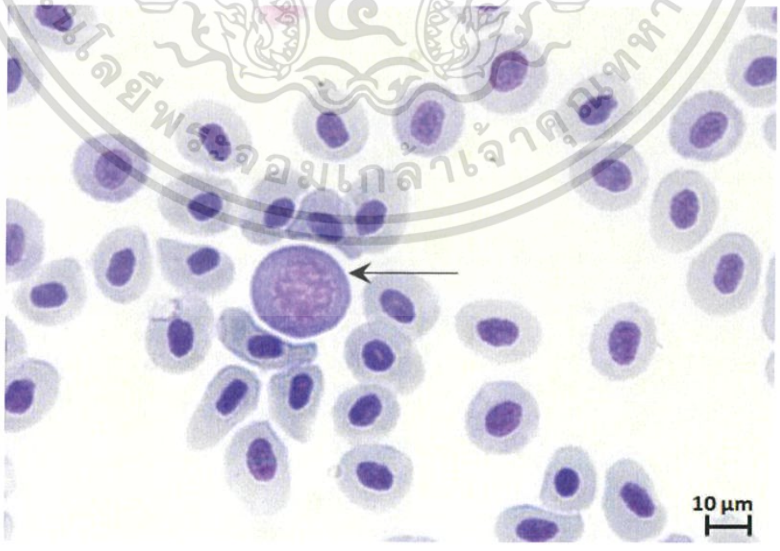
2.4.3.4 Monocyte เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุดจัดเป็น mononuclear cytes ไม่มีแกรนูล ไซโตพลาสซึมติดสีเทาหรือน้ำเงินเทา มีขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจนภายในไซโตพลาสซึมมี vacuole รูปร่างนิวเคลียสมีลักษณะคล้ายไต และเป็นlobe (นันทริกา, 2553) โมโนไซต์มีบทบาทคล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเมื่อเคลื่อนที่เข้าสู่เนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆของร่างกายมีการเจริญเติบโตแบ่งตัวและเปลี่ยนรูปร่างเป็นเซลล์ที่เรียกว่า แมคโครฟาจ มีประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยวิธี Phagocytosis ได้ดีทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกเซลล์และเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการอักเสบแบบเฉียบพลัน (Kirsten และคณะ, 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 แสดงเม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain

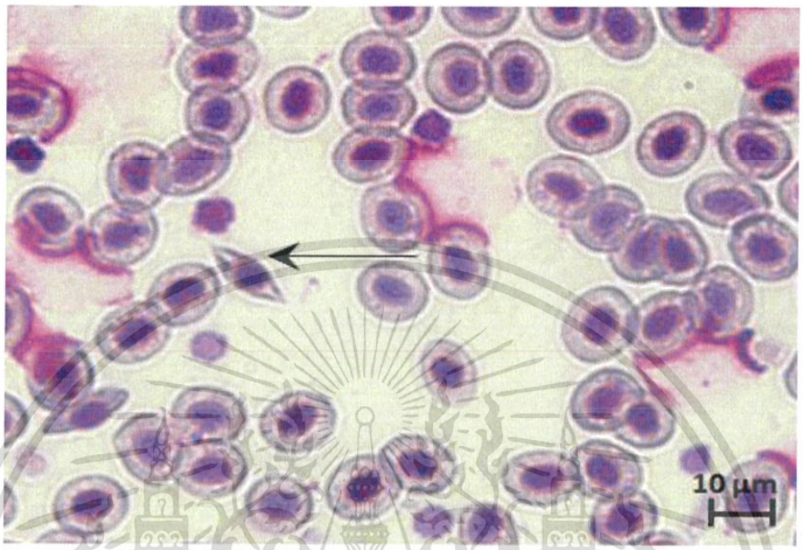
2.4.3.5 Lymphocyte เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีนิวเคลียสกลมขนาดใหญ่แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่มี antigen receptor บนผิวเซลล์และ กลุ่มที่ทำงานผ่านเซลล์โดยตรง ทั้งสองกลุ่มนี้เรียกว่า T cells และ B cellsทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงโดย B cells จะสร้างแอนติบอดีชนิดบนผิวเซลล์ซึ่งเป็นที่รับและจับกับแอนติเกิดการกระตุ้นอย่างกลายเป็น plasma cells จะสร้างและปล่อยแอนติบอดีออกมานอกเซลล์และ memory B cells เมื่อสัมผัสกับแอนติเจนครั้งแรก T cells จะจับกับแอนติเจนบนผิวเซลล์เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม (Scapigliati, 2013)



รูปที่ 2.6 แสดงเม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.6 Thrombocyte ลักษณะเม็ดเลือดเป็นทรงรูปกระสวยนิวเคลียสยาวแคบติดสีน้ำเงินเข้มส่วนไซโทพลาสซึมใสบางเซลล์ค่อนข้างกลมหรือยาว ช่วยในการแข็งตัวของเลือดเมื่อเกิดบาดแผลหรือเกิดการฉีกขาด เกิดการกระตุ้นให้มีการหลั่ง mediators ต่างๆทำให้หลอดเลือดขยายตัว และยังหลั่งคอมพลีเมนท์ดึงดูดเม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆให้ข้ามาทำงานบริเวณที่มีการทำลายเนื้อเยื่อ (ศิริพรรณ และคณะ, 2551)



รูปที่ 2.7 แสดงเม็ดเลือดขาวชนิด Thrombocyte ย้อมด้วยวิธี Wright-Giemsa Stain

2.5 ระบบภูมิคุ้มกันของปลา

ปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังที่มีระบบภูมิคุ้มกันคล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คือ ประกอบด้วยระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (innate immune system) และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (adaptive immune system) ทั้งสองระบบสามารถแบ่งออกเป็นภูมิคุ้มกันแบบด้านเซลล์ (cell-mediated immunity หรือ CMI) และ ภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำ (humoral-mediated immunity หรือ HMI) การตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะนี้จะเกิดขึ้นอย่างทันทีทันใดคือตอบสนองเฉพาะกับเชื้อโรคเท่านั้น โดยไม่มีการจดจำแอนติเจน ในขณะที่ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะอาศัยการทำงานของ T cells และ B cells โดยจะสร้างแอนติบอดีที่มีความจำเพาะกับแอนติเจน สามารถรับรู้และทำลายสิ่งแปลกปลอมได้โดยไม่จำเป็นว่าเซลล์นั้นจะแสดงส่วนของแอนติเจนที่รู้จักมาก่อน อวัยวะที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของปลา ได้แก่ ต่อมไทมัส ไตส่วนหน้า และม้าม (Press และ Evensen, 1999; Mulero และคณะ, 2007)

2.5.1 ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

2.5.1.1 ภูมิคุ้มกันด่านแรก

ภูมิคุ้มกันด่านแรก ประกอบไปด้วยผิวหนัง เยื่อบุและ สารน้ำ ผิวหนังเป็นด่านแรกที่สัมผัสกับสิ่งแปลกปลอมมีการสร้างเมือกซึ่งสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียหรือปรสิตได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Immonoglobulin, antimicrobial peptides และ lysozyme สารต่างๆเหล่านี้จะสร้างออกมามากขึ้นเมื่อปลามีการติดเชื้อ ซึ่งไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการป้องกันเชื้อโรคซึ่งเกี่ยวข้องกับการกำจัดแบคทีเรียที่สำคัญของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Ellis, 2001 ; Demers และ Bayne, 1997)

2.5.1.2 ภูมิคุ้มกันด่านสอง

ภูมิคุ้มกันด่านสองเป็นการทำงาน macrophages และเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูล ได้แก่ neutrophil, basophil และ eosinophil ซึ่งจะใช้กระบวนการ phagocytosis จะเข้าจับกินเชื้อจุลินทรีย์และทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่เซลล์และเซลล์อีกชนิดที่พบในปลา คือ natural killer cells ทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสและเซลล์มะเร็ง (Blanc และ Davies, 2015)

2.5.1.3 ระบบคอมพลีเมนท์

ระบบคอมพลีเมนท์เป็นกลุ่มของเอ็นไซม์ที่ยังไม่สามารถทำงานได้เอ็นไซม์กลุ่มนี้จะถูกกระตุ้นให้ทำงานเพื่อทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งแปลกปลอมฉีกขาดโดยมีโปรตีนกลุ่ม C-reactive proteins ทำหน้าที่สร้างสาร antimicrobial มาทำลายและยับยั้งฤทธิ์ของแบคทีเรีย โปรตีน lectins ทำเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดยจะจับกับผิวของเชื้อโรคทำให้เกิดการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนท์และเกิดการจับกินสิ่งแปลกปลอม (Swain และคณะ, 2009)

2.5.2 ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ

2.5.2.1 ด้านสารน้ำ

ระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดจาก B cells ที่ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น Plasma cellsเพื่อสร้างแอนติบอดีให้ตอบสนองต่อแอนติเจนแต่ละชนิดอย่างจำเพาะเจาะจงซึ่งแอนติบอดีที่สร้างขึ้นมาอย่างจำเพาะนี้เรียกว่า อิมมูโนโกลบูลิน ในปลาพบว่ามีแอนติบอดี3ประเภท คือ IgM, IgD และ IgT โดย IgM เป็นแอนติบอดีที่มีบทบาทสำคัญในเลือด IgD พบบนผิวของ B cells ส่วน IgT ทำหน้าที่คล้ายกับ IgA ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยเกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันบริเวณเยื่อบุ (Li และคณะ, 2015)

2.5.2.2 ด้านเซลล์

เป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการทำหน้าที่ของเซลล์จำเพาะ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาวพวก T cells เป็นกลุ่มเซลล์ที่สร้างและพัฒนาจากต่อมไทมัสเริ่มทำงานเมื่อได้รับสัญญาณจาก Antigen presenting cell เป็นการตอบสนองผ่านการทำงานของเซลล์ เรียกว่า cell-mediated immune responses ซึ่ง T cells แบ่งออกเป็น CD4+ และ CD8+ T cells โดยหน้าที่ของ CD4+ T cells (Toda และคณะ, 2011) ซึ่งเซลล์นี้จะไม่ทำลายเซลล์ที่เป็นพิษและไม่สามารถฆ่าเซลล์ที่เป็นสิ่งแปลกปลอมแต่มีหน้าที่กระตุ้นการทำงานของเซลล์อื่นบนระบบภูมิคุ้มกัน และ CD8+ T cells เป็นเซลล์ที่มีการจำแนกและจดจำสิ่งแปลกปลอมว่าเป็นเซลล์ของตัวเองหรือเซลล์สิ่งแปลกปลอมถ้าหากพบว่าเป็นเซลล์แปลกปลอมจะเข้าไปทำลายโดยอาศัยการทำงานของ helper T-cells โดยการนำเสนอแอนติเจนบนโมเลกุลเรียกว่า major histocompatability complex (MHC) class I หรือ II ขึ้นกับชนิดของแอนติเจนทำให้สามารถจดจำแอนติเจนต่างๆที่เคยเข้าสู่ร่างกายมาแล้ว (Lugo-Villarino และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 พารามิเตอร์ของระบบภูมิคุ้มกันในปลา

2.5.3.1 พารามิเตอร์ของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

1) Hemoglobin

ในเม็ดเลือดแดง มีสารที่เรียกวา ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) บรรจุอยู่ ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เม็ดเลือดแดงดูดซึมเอาแกสออกซิเจนได้มากกว่าน้ำ แต่ละโมเลกุลของฮีโมโกลบินประกอบด้วย 4 หน่วยย่อยแต่ละหน่วยย่อยประกอบด้วยฮีมจับกับเหล็ก (Fe) ทำหน้าที่รับส่งแก๊สออกซิเจนและเป็นบัฟเฟอร์ที่ปรับสมดุลกรด-เบส (วาสนา, 2555)

2) Plasma protein

เป็นโปรตีนที่มีอยู่ 6.5 – 8.5 g/dL หรือ 67% ของโปรตีนในเลือด ทำหน้าที่รักษาปริมาณน้ำภายในหลอดเลือด ควบคุม pH ของเลือด มีความสามารถในการรับหรือให้อิเล็กตรอน ขนส่งสารหรือโมเลกุลต่างๆ ไปตามกระแสเลือด เป็นแอนติบอดีชนิดหนึ่ง (ภัทรบุตร, 2557)

3) Lysozyme

ไลโซไซมเป็น innate immunity ซึ่งสิ่งมีชีวิตใช้เป็น defense mechanism ในการป้องกันตนเองจากการติดเชื้อแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอม โดยไลโซไซมจะเรงปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสพันธะเบตา-1,4-ไกลโคซิดิก (β-1,4-glycosidic linkages) ระหวาง N-acetylglucosamine (GlcNAc) และ N-acetylmuramic acid (MurNAc) ซึ่งเป็นเฮทเทอรโรพอลิเมอร (heteropolymer) ที่เป็นสวนประกอบของเพปติโดไกลแคนในโครงสร้างของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่เข้าจู่โจมบริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก โดยเข้าทำลายที่ตำแหน่ง sugar backbone ของชั้น peptidoglycan ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (พลากร และคณะ, 2547)

2.5.3.2 พารามิเตอร์ของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ

1) Immunoglobulin

อิมมูโนโกลบูลิน เป็นไกลโคโปรตีนที่อยู่ในเลือดและสารคัดหลั่งต่างๆ ในร่างกาย ทำหน้าที่เป็นตัวจับจำเพาะสำหรับแอนติเจนที่จำเพาะและเริ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน สำหรับชนิดที่อยู่บนผิวเซลล์ นอกจากนี้ ยังมีชนิดที่หลั่งออกมาจากพลาสมาเซลล์ เพื่อทำหน้าที่ในการจับกับแอนติเจนและก่อให้เกิดผลต่างๆ เพื่อทำลายแอนติเจนนั้นๆ อย่างไรก็ตามระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมีความสามารถในการสร้างอิมมูโนโกลบูลินที่แตกต่างและมีความความจำเพาะได้เพียงพอต่อความต้องการ โดยในระหว่างที่บีเซลล์เจริญเติบโต ยีนของอิมมูโนโกลบูลินจะมีการจัดเรียงตำแหน่งใหม่ โดยอาศัยกลไกการเชื่อมต่อกันของยีน ทำให้ได้อิมมูโนโกลบูลินที่มีความหลากหลายจำนวนมากพอในการจับกับแอนติเจน (Lebien และ Tedder, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) Agglutination

เป็นปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนที่มีลักษณะเป็นอนุภาค (particulate antigen) กับแอนติบอดี โดยที่แอนติเจนนั้นอาจเป็นแอนติเจนที่อยู่บนผิวของเซลล์หรืออนุภาคต่างๆ เช่น แอนติเจนบนผิวของเซลล์แบคทีเรีย แอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง เป็นต้น ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีแลวเกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่ม (agglutination) ขึ้น (สุวิน, 2555)

2.6 วัคซีน

วัคซีนเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่เตรียมจากจุลชีพ หรือแอนติเจนที่ผลิตมาจากเชื้อโรคที่ถูกเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ โดยสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของผู้ที่ได้รับให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรค ซึ่งวัคซีนจะกระตุ้นให้ร่างกายพร้อมที่จะต่อสู้และกำจัดเชื้อโรคหรือสารพิษก่อนที่จะก่อโรค โดยอาศัยกลไกการป้องกันแบบจำเพาะในการสร้างแอนติบอดีที่สามารถทำปฏิกิริยาจำเพาะกับสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคนั้นโดยอาศัยปฏิกิริยาของเซลล์ชนิดต่างๆ ซึ่งสามารถจำแนกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ การตอบสนองโดยใช้สารน้ำ (humoral immune response หรือ HIR) และการตอบสนองชนิดพึ่งเซลล์ (cell-mediated immune response หรือ CMIR) (สถาบันวัคซีนแห่งชาติ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2554) จึงทำให้ปัจจุบันการใช้วัคซีนเริ่มเข้ามามีบทบาทสำคัญอย่างมากไม่ว่าจะเป็นการใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคในทางการแพทย์และในระบบการเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด

2.6.1 ประเภทของวัคซีน

2.6.1.1 วัคซีนเชื้อตาย (inactivated vaccine)

วัคซีนประเภทนี้เตรียมจากเชื้อโรคที่ถูกฆ่าด้วยสารเคมีหรือความร้อน จัดเป็นวัคซีนที่มีความคงตัวสูงและปลอดภัยเพราะเชื้อโรคที่ใช้เตรียมนั้นจะไม่กลับเป็นเชื้อโรคที่รุนแรงได้อีก

2.6.1.2 วัคซีนเชื้อเป็นแต่อ่อนฤทธิ์ (Live attenuated vaccine)

วัคซีนประเภทนี้ได้จากการนำเชื้อโรคมาเพาะพันธุ์ในสภาวะพิเศษต่าง ๆ ของห้องปฏิบัติการ ทำให้ความรุนแรง (Virulence) ของเชื้อลดหายไป วัคซีนประเภทนี้เสื่อมง่ายถ้าเก็บรักษาไม่ดี แต่มีข้อดีที่การกระตุ้นเพียงครั้งเดียวก็เพียงพอที่จะทำให้เกิดภูมิคุ้มกันชนิด HIR และชนิด CMIR ข้อพึงระวังของวัคซีนประเภทนี้คือการที่เชื้ออาจเปลี่ยนแปลงกลับมาเป็นเชื้อที่รุนแรงขึ้นได้อีก

2.6.1.3 ท็อกซอยด์ (Toxoid vaccine)

วัคซีนประเภทนี้เป็นวัคซีนที่ทำจากพิษของแบคทีเรียที่ถูกทำให้สิ้นพิษแต่ยังคงสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันได้ (Gudding และคณะ, 1999; สถาบันวัคซีนแห่งชาติกรมควบคุมโรคกระทรวงสาธารณสุข, 2554)

2.6.1.4 วัคซีนที่ผลิตโดยเทคโนโลยีชีวภาพ

จากงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้วัคซีนที่ผลิตโดยเทคโนโลยีชีวภาพในการเลี้ยงสัตว์น้ำแสดงให้เห็นถึงโอกาสความเป็นไปได้ในการพัฒนาวัคซีนกลุ่มนี้เพื่อใช้ในวงการการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเช่นเดียวกับการใช้ในสัตว์บกทั่วไปได้ โดย Huang และคณะ (2014) ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการศึกษาเกี่ยวกับความปลอดภัยและความสามารถในการกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยใช้ DNA Vaccine ที่ถอดรหัสยีน Sip จาก *Streptococcus agalactiae* และใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* เป็นพาหะในการนำ DNA Vaccine เข้าทางปากของปลานิล ซึ่งพบว่า *Salmonella typhimurium* SL7207 ที่มีฤทธิ์อ่อนลง มีความสามารถในการเป็นพาหะขนส่ง DNA vaccine ในปลานิลได้ มีผลทำให้สามารถป้องกันแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิลได้ ในขณะที่ อนงค์ และคณะ (2556) ได้ศึกษาความต้านทานโรคและค้นหายีนที่มีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล พบว่า granzyme เป็นยีนที่มีความสัมพันธ์กับการต้านทานโรคสเตรปโตคอคซิสในปลานิล และระดับความต้านทานโรคจะแตกต่างกันไปตามกลุ่มประชากร เป็นต้น

2.6.2 วิธีการให้วัคซีนในสัตว์น้ำ

2.6.2.1 การให้วัคซีนโดยการฉีด

จากการศึกษางานวิจัยของ Li และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาการให้วัคซีนโดยวิธีการฉีดเข้าในตัวสัตว์น้ำโดยตรง พบว่า การให้วัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* (YM001) โดยการฉีดเข้าช่องท้องในปลานิล ไม่แสดงอัตราการตายหรืออาการของโรค ในขณะที่ Pasnik และคณะ (2005) ได้ทำการทดลองฉีดวัคซีนชนิดเชื้อตายในปลานิลเพื่อควบคุมการเกิดโรคจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่เตรียมจาก formalin killed whole cells ของ *Streptococcus agalactiae* และมี extracellular product (ECP) ผสมรวมในวัคซีน โดยใช้วิธีการฉีดเข้าช่องท้อง พบว่า ปลาได้รับการกระตุ้นด้วยการฉีดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* เข้าช่องท้อง มีเปอร์เซ็นต์อัตราการตายสูงกว่าปลาที่ได้รับวัคซีน แต่อย่างไรก็ตาม Pretto-Giordano และคณะ (2010) ได้ทำการทดลองประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อตายในปลานิล พบว่า สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิลได้ ดังนั้นการให้วัคซีนโดยการฉีดเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ เพราะสามารถทราบปริมาณวัคซีนที่ปลาได้รับ แต่ในขณะที่การให้วัคซีนโดยวิธีการฉีดจะทำให้ปลาได้รับบาดเจ็บ ก่อให้เกิดความเครียด รวมไปถึงต้องใช้แรงงานจำนวนมากในการปฏิบัติงาน

2.6.2.2 การให้วัคซีนโดยวิธีการแช่

จากการศึกษางานวิจัยของ Evans และคณะ (2004) ได้ทำการทดลองโดยการแช่ด้วยวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิลน้ำหนักเฉลี่ย 5 และ 30 กรัม พบว่า ปลานิลน้ำหนักเฉลี่ย 30 กรัม ที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการตายสูงกว่าในปลานิลน้ำหนักเฉลี่ย 5 กรัม แต่ไม่มีความแตกอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การให้วัคซีนโดยวิธีการแช่เหมาะสำหรับสัตว์น้ำที่มีขนาดเล็กปริมาณมากๆ พร้อมกัน โดยระหว่างการแช่ สารละลายวัคซีนจะถูกดูดซึมผ่านเข้าสู่ตัวปลาในบริเวณเหงือกและเส้นข้างลำตัว (Navot และคณะ, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2.3 การให้วัคซีนโดยการผสมอาหาร

จากการศึกษางานวิจัยของ Li และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาพัฒนาวัคซีนเชื้อเป็น จากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* โดยการฉีดพ่นวัคซีนผสมลงในอาหารและมีการทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันของการให้วัคซีนโดยวิธี Oral administration พบว่าปริมาณความเข้มข้น 1.0×10^{9} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ 15 และ 30 วัน ภายหลังการกระตุ้นด้วยเชื้อ *Streptococcus agalactiae* (HN016) ปลานิลสามารถสร้างภูมิคุ้มกันและแสดงอัตราการรอดดีที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และในการให้วัคซีนครั้งที่ 2 และ 3 อัตรารอดของกลุ่มที่ได้รับวัคซีน 2 และ 3 ครั้ง มีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีน 1 ครั้ง ดังนั้น วิธีการนี้สามารถใช้กับปลาได้ทุกขนาดโดยไม่ก่อให้เกิดความเครียด แต่ให้ผลในการป้องกันโรคค่อนข้างต่ำ เนื่องจากปริมาณวัคซีนที่ปลาได้รับมีปริมาณไม่แน่นอนตามปริมาณการกินอาหาร และพบว่าปริมาณวัคซีนส่วนหนึ่งจะถูกทำลายเมื่อผ่านเข้าสู่ทางเดินอาหารที่มีเอนไซม์ย่อยโปรตีน จึงทำให้มีการพัฒนาวิธีป้องกันหรือลดการถูกทำลายของวัคซีนในทางเดินอาหาร โดยทำการเคลือบไมโครแคปซูลตามวิธีของ Romald และคณะ (2004) เป็นต้น

2.7 การพัฒนาวัคซีน *Streptococcus* ในปลานิล

Streptococcus เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น ปลา สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมทั้งคน และยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีการระบาดในฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ซึ่งก่อให้เกิดโรคสเตรปโตคอคโคซิส ทำให้ปลาเจ็บป่วยหรือตายสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการเพาะเลี้ยงปลา โดยเฉพาะปลานิลที่เลี้ยงในแถบทวีปเอเชียรวมทั้งประเทศไทย (อดิเทพชัยย์การณ์, 2555) เมื่อปลานิลเป็นโรคผู้ประกอบการฟาร์มมักจะใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคซึ่งเป็นวิธีที่ควบคุมได้ยาก เนื่องจากเป็นการแก้ไขที่ปลายเหตุ สิ้นเปลืองงบประมาณจากการใช้ยาปฏิชีวนะ และที่สำคัญอาจมีตัวยาตกค้างอยู่ในเนื้อปลาซึ่งอาจส่งผลต่อผู้บริโภค และยิ่งถ้าหากส่งออกปลานิลไปจำหน่ายยังต่างประเทศอาจทำให้ต้องสูญเสียงบประมาณจากการส่งออกเนื่องจากมีการตรวจพบยาตกค้างในเนื้อปลาได้ (ประพันธ์ศักดิ์, 2557) จากเหตุผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีความสำคัญทำให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจและทำลายคุณภาพชีวิต จึงทำให้เกิดการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิส จากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* เพื่อฉีดให้ปลานิลสร้างภูมิต้านทานโรคสเตรปโตคอคโคซิส

จากงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความเป็นไปได้ของการใช้วัคซีนเพื่อการป้องกันโรคสเตรปโตคอคซิสในปลานิล โดยทำการศึกษาทั้งในห้องปฏิบัติการและในการเลี้ยงจริง พบว่าการให้วัคซีนเป็นการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในสารน้ำและแบบพึ่งเซลล์ มีผลให้ร่างกายปลาเกิดความพร้อมในการต้านทานเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมพร้อมกับเกิด Immunological memory ซึ่งทำให้ lymphoid cells จดจำและตอบสนองอย่างรวดเร็วเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสิ่งแปลกปลอมชนิดเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ภิรัตน์ และคณะ, 2552) ในขณะที่การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ มีรายงานว่า lysozyme, trypsin, ระบบcomplement, granulocytes และ macrophages จะมีบทบาทสำคัญเมื่อปลามีการติดเชื้อ (Dalmo และคณะ, 1997) โดยมีรายงานว่าระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะสามารถจดจำลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของจุลชีพได้ เช่น กลูแคนของผนังเซลล์ยีสต์, bacterial lipopolysaccharide (LPS), peptidoglycan, สารพันธุกรรมของแบคทีเรียและไวรัส (Robertsen, 1999) อย่างไรก็ตามประโยชน์ที่ได้จากงานวิจัยการใช้วัคซีนสามารถลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* ในปลานิลได้ ทำให้ปลานิลมีอัตราการเจริญสูงขึ้นและมีคุณภาพมากขึ้นด้วย แต่วัคซีนมีข้อจำกัดด้านความจำเพาะกับสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรค ซึ่งแต่ละพื้นที่มีเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคต่างสายพันธุ์กัน จึงไม่สามารถใช้วัคซีนที่ผลิตขึ้นในพื้นที่หนึ่งไปใช้ในอีกพื้นที่หนึ่งได้ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ปลานิลให้มีความทนทานต่อโรคสเตรปโตคอคโคซิสจึงเป็นเรื่องที่น่าจับตามอง เนื่องจากเป็นการแก้ปัญหาในระยะยาวได้อย่างถูกต้องและตรงจุดมากที่สุด ซึ่งนำไปสู่การลดการใช้ยาและสารเคมีในการเพาะเลี้ยงปลานิล โดยใช้เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลในการค้นหาและพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับลักษณะของโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล (พนม, 2555 ; อนงค์ และคณะ, 2556)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ธารทิพย์ และคณะ (2558) ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่เตรียมด้วยวิธีต่างกันต่อภูมิคุ้มกันของปลานิล โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง คือชุดควบคุม (0.85% NaCl), Formalin-killed cell vaccine (FK), Lysed-cell vaccine (LC) และ Extracellular product (ECP) + FK โดยฉีดเข้าช่องท้องสองครั้งเพื่อวิเคราะห์ antibody titer ทุกสัปดาห์ และค่าทางภูมิคุ้มกันในสัปดาห์ที่ 2 และ 5 นอกจากนี้ยังทำการทดสอบความต้านทานโรคโดยการฉีด พบว่า titer ของทุกชุดทดลองที่ได้รับวัคซีนครั้งแรกไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) และหลังการกระตุ้นซ้ำพบว่ามีเพียงชุดการทดลอง FK ที่มีระดับ titer สูงกว่าและแตกต่างกับชุดควบคุม ($p<0.05$) ขณะที่อัตรารอดหลังการฉีดเชื้อของทุกชุดการทดลองสูงกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) ส่วนกิจกรรมทางภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนสองครั้งที่มีค่าสูงขึ้นและแตกต่างจากชุดควบคุม คือ superoxide anion, lysozyme activity และ alternate complement activity ($p<0.05$) การศึกษาครั้งนี้พบว่าวัคซีนทั้งสามประเภทสามารถกระตุ้นความต้านทานต่อโรค streptococcosis ในปลานิล แต่วัคซีน FK มีแนวโน้มในการกระตุ้นการสร้าง antibody ได้ดีกว่าวัคซีน LC และ ECP+FK โดยประเมินค่า titer ด้วยวิธี agglutination assay

ศิริพรรณ และคณะ (2555) ได้ศึกษาข้อมูลทางโลหิตวิทยา ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดอัดแน่น (PCV) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hb) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด (RBC) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด (WBC) ค่าเฉลี่ยปริมาตรเซลล์เม็ดเลือดแดง (MCV) ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน (MCH) ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง (MCHC) จำนวนร้อยละและขนาดของเซลล์เม็ดเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระดับจุลทรรศน์และจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของปลาหมอไทย จำนวน 39 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 17 ตัว เพศเมีย 22 ตัว ที่รวบรวมได้ในภาคอีสานระหว่างเดือนตุลาคม 2555 และกุมภาพันธ์ 2556 พบว่า ปลาหมอมีค่าโลหิตวิทยาแตกต่างกันระหว่างเพศและฤดูกาล โดยเฉพาะจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดและความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดของปลาหมอ ซึ่งจำแนกได้ทั้งในระดับจุลทรรศน์และจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า มีเซลล์เม็ดเลือด 7 ชนิด คือ เซลล์เม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ เฮทเทอโรฟิลล์ อิโอสิโนฟิลล์ และเบโซฟิลล์ สรุปได้ว่าปลาหมอไทยมีค่าโลหิตวิทยาแตกต่างกันระหว่างเพศและฤดูกาล โดยเฉพาะค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ปลาหมอที่อยู่ในภาวะสุขภาพไม่ดี จะตรวจสอบได้จากการแสดงออกของค่าทางโลหิตวิทยา โดยเฉพาะปริมาณของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดจะสูงขึ้นจนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับปลาหมอที่สุขภาพดี นอกจากนี้ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นก็จะลดลงด้วย

เอกพล และปวีณา (2555) ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินถูกทดสอบในปลาดุกลูกผสมน้ำหนักเฉลี่ย 75±5 กรัม โดยปลากลุ่มทดลองได้รับการฉีดวัคซีน (5x107 cfu/ตัว) เข้าทางช่องท้องหรือกล้ามเนื้อใต้โคนครีบหลัง และเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.5% เมื่อทำการเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดค่าแอนติบอดีไตเตอร์ในซีรัมทุก 7 วัน นาน 9 สัปดาห์ หลังจากการให้วัคซีนพบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์เฉลี่ยจากการฉีดทั้ง 2 วิธี มีค่าสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 24.89±3.08 และ 41.78±56.21 ตามลำดับ หลังจากนั้นค่าแอนติบอดีไตเตอร์มีแนวโน้มลดลงในสัปดาห์ที่ 5 จึงให้วัคซีนซ้ำเป็นครั้งที่ 2 โดยให้วัคซีนในปริมาณและด้วยวิธีการเดียวกันกับวัคซีนเข็มแรกจากการศึกษาพบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์เฉลี่ยจากการฉีดทั้ง 2 วิธี มีค่าสูงสุดในสัปดาห์ที่ 7 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 881.78+246.34 และ 568.89+98.54 ตามลำดับ เมื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนโดยการทดสอบความต้านทานโรคต่อเชื้อ *A. hydrophila* พบว่าปลาดุกลูกผสมที่ได้รับวัคซีนจากการฉีดเข้าช่องท้องและกล้ามเนื้อใต้โคนครีบหลังสามารถต้านทานโรคได้ โดยให้ค่า Relativepercent survival เท่ากับ 100 และ 90.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการฉีดวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *A. hydrophila* สามารถกระตุ้นให้ปลาดุกลูกผสมมีภูมิต้านทานต่อการติดเชื้อ *A. hydrophila* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นภดล และคณะ (2552) ได้เปรียบเทียบค่าโลหิตวิยา และองค์ประกอบเลือด ได้แก่ สัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดแดง ปริมาณเลือด ค่าฮีโมโกลบิน ระดับน้ำตาลในเลือด ปริมาณซีรัมโปรตีน ตลอดจนความเข้มข้นของไอออนต่างๆในน้ำเลือด ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม และคลอไรด์ ของปลาดุกลำพันที่อยู่ในระบบการเลี้ยงที่แตกต่างกันระหว่างบ่อคอนกรีตและบ่อดินที่ระดับความหนาแน่นของการเลี้ยงเท่ากัน พบว่าค่าโลหิตวิทยาและองค์ประกอบเลือดของปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในบ่อดินมีค่าสูงกว่าของปลาที่เลี้ยงในบ่อคอนกรีตอย่างมีนัยสำคัญ ความแตกต่างนี้ไม่ได้เป็นผลจากความแตกต่างระหว่างสภาพแวดล้อมบ่อคอนกรีตและบ่อดินเนื่องจากผลการวิเคราะห์ปัจจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง พบว่าค่าเฉลี่ยของปัจจัยคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงทั้งในบ่อคอนกรีตและบ่อดินมีค่าใกล้เคียงกัน และเป็นค่าปัจจัยคุณภาพน้ำที่อยู่ในเกณฑ์ปกติที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลาน้ำจืดทั่วไป อย่างไรก็ตามพบว่าค่า Alkalinity ของน้ำในบ่อคอนกรีตมีค่าค่อนข้างสูง (124-125 mg/L $CaCO_3$) เมื่อเทียบกับน้ำในบ่อดิน (35-37 mg/L $CaCO_3$) จึงมีความเป็นไปได้ว่าค่า Alkalinity ที่แตกต่างกันระหว่างบ่อคอนกรีตและบ่อดินจะส่งผลต่อการเจริญของเติบโตขอปลาดุกลำพัน ซึ่งจากการเก็บข้อมูลน้ำหนักของปลาก่อนเก็บเลือดพบว่าปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในบ่อดินมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงถึงตัวละ 135.67 กรัม ในขณะที่ปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในบ่อคอนกรีตมีน้ำหนักเฉลี่ยเพียง 44.91 กรัม โดยสรุปงานวิจัยนี้เป็นการนำเสนอค่าโลหิตวิทยา และองค์ประกอบของเลือดของการเลี้ยงปลาดุกลำพันภายใต้ระบบการเลี้ยงในสภาวะปกติ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการอ้างอิง และใช้เป็นดัชนีในการบ่งชี้สรีรวิทยา ภาวะเครียด การติดเชื้อ และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในร่างกายปลาอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อม เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจับเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาดุกลำพันต่อไปในอนาคต

นันทริกา และมนทกานติ์ (2549) ได้ศึกษาผลของคาโลหิตวิทยาและคาเคมีคลินิคปลาหมอตาล (Helostoma temmicki) ที่มีลักษณะภายนอกสมบูรณแข็งแรง คละเพศ อายุประมาณ 12 เดือน จำนวน 50 ตัว ในบอเพาะเลี้ยง ของศูนยวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดสุพรรณบุรี น้ำหนักตัวเฉลี่ย 185.14±1.04 กรัม ความยาวเฉลี่ย 20.80±2.41 เซนติเมตร เก็บตัวอยางเลือดหาคาโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิค ผลจากการศึกษาพบค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดเทากับ 3.19±0.11 ($\times 10^6$) เซลล/ไมโครลิตร ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแนน เทากับ 35.56±8.06% คา hemoglobin (Hb) นอยกวา 5 กรัม/เดซิลิตรจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดเทากับ 79.73±7.43 ($\times 10^3$) เซลล/ไมโครลิตร คารอยละแยกตามประเภทของเม็ดเลือดขาว ไดแก ลิมโฟไซต โมโนไซดทรอมโบไซด นิวโทรฟลล์เบโซฟลล อีโอซิโนฟิลล์มีคาพิสัยอยูในชวง 46-88%, 12-26%, 0-11%, 0-25%, 0-28,% และ 0-3% ตามลำดับ ผลการตรวจคาทางเคมีคลินิคของเลือดพบ alanine aminotransferase (ALT) เทากับ 65.22±28.14 ยูนิต/ลิตร aspartate aminotransferase (AST) เทากับ 221.44±52.19 ยูนิต/ลิตร blood urea nitrogen (BUN)นอยกวา 2 มิลลิกรัม/เดซิลิตร creatinine น้อยกวา 0.5 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ส่วนน้ำในบ่อเลี้ยงมีคาความเปนกรด-ดาง (pH) 7.5 คาความเปนดาง 10^4 มิลลิกรัม/ลิตร คาความกระดาง 180 มิลลิกรัม/ลิตร คาแอมโมเนีย 0.017 ppm และ คาไนไตรท 0.006 ppm การศึกษานี้เพื่อหาขอมูลเบื้องตนในการจัดทำมาตรฐานคาโลหิตวิทยา และคาเคมีคลินิคของปลาหมอตาล

Khaled และคณะ (2015) ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการใช้โปรไบโอติกมาช่วยในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ ประเมินการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลหลังจากให้ *Bacillus amyloliquefaciens* ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ (G3) และ $1x10^4$ (G2) CFU/g โดยทำการเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีการเพิ่มด้วย *Bacillus amyloliquefaciens* (G1) ในการทดลองนี้จะใช้ลูกปลาทั้งหมด 180 ตัว (น้ำหนักเริ่มต้น 27.7 ± 0.22 กรัม) แบ่งเป็นกลุ่ม 3 กลุ่ม (กลุ่มละ 20 ตัว) และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ในทุกๆสองอาทิตย์จะมีการตรวจวัดระบบ innate immune โดยวัดจาก serum bactericidal, serum lysozyme, serum nitric oxide (mmol/L)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ phagocytic activity หลังจากครบ 1 เดือนจะมีการทดสอบการแสดงออกของ interleukin-1(IL-1) และ tumer necrosis factor (TNF-α) นอกจากนี้ หลังจบการทดลองยังมีทดสอบการต้านทานโรคเพื่อหาอัตราการรอดชีวิต เมื่อถูกกระตุ้นด้วย*Yersinia ruckeri* หรือ *Clostridium perfringens* type D ใน 15 วัน เปอร์เซ็นต์ของ serum killing และการทำงานของ phagocytic จะมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญใน G3 มากกว่า ในกลุ่ม G1 และ G2 ในขณะเดียวกันหลังจาก 30 วัน จะมีค่าการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่ม G3 และ G2 มากกว่า G1 ส่วนผลของไลโซไซม์ และการทดสอบ nitric oxide (mmol/L) ของทั้ง 15 และ 30 วัน มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ใน G3, G2 และ G1 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ของ serum killing, serum nitric oxide และ serum lysozyme activity จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามความเข้มข้น และระยะเวลาที่บริโภค *Bacillus amyloliquefaciens* ที่ใช้เป็นโปรไบโอติก และเปอร์เซ็นต์การทำงานของ phagocytic จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญในตอนท้ายของการทดลอง การให้อาหารด้วย *Bacillus amyloliquefaciens* มีผลทำให้มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของ IL-1 และ TNF-α mRNA ในไต ดังนี้ G3>G2>G1 ปลาที่ถูกให้อาหารด้วย *Bacillus amyloliquefaciens* พบว่ามีเปอร์เซนต์การรอดตายมากกว่ากลุ่มที่ถูกควบคุมโดยการกระตุ้นด้วย *Yersinia ruckeri* หรือ *Clostridium perfringens* type D ดังนั้น การเสริมอาหารด้วย *Bacillus amyloliquefaciens* จะช่วยพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน และต้านทานโรคในปลานิล

Lina และคณะ (2015) ผลของ bifloc ต่อการเจริญเติบโตของปลานิลซึ่งในการทดลองประกอบด้วย Biofloc technology (BFT) และระบบชุดควบคุมหรือระบบการเพาะเลี้ยงที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ มีการเติมglucose เข้าไปในระบบเพาะเลี้ยงแบบ BFT เพื่อให้มีการสร้าง คาร์บอน/ไนโตรเจนในสัดส่วน15 อัตราความหนาแน่นเป็น 3 kg m^{-3} ในถังน้ำ500ลิตรและพบว่าความเข้มเข้นของ nitrite และ nitrate ในระบบ BFT มีค่าต่ำกว่าระบบชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อัตราการรอดชีวิตเป็น100%พบว่าหลังการเก็บเกี่ยวอัตราการเจริญมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ BFT เปรียบเทียบกับระบบชุดควบคุมต่อระบบ BFT พบว่า น้ำหนักของตัวปลา, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและปริมาณโปรตีนอัตราส่วนของปลาในระบบ BFT สูงกว่าระบบชุดคบคุมเป็น ซึ่งในทางตรงกันข้ามพบว่าอัตราส่วนการให้อาหารกลับต่ำกว่ามีค่าเท่ากับ17.5% ปริมาณโปรตีน,ปริมาณไขมันและเถ้าในระบบ BFT เป็น 41.13% , 1.03% และ 6.07% ตามลำดับในขณะที่ปริมาณไขมันของปลาแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นและพบว่าการทำงานของเอนไซม์ amylase ในลำไส้และ เอนไซม์ lipase ในตับ สูงกว่าระบบชุดควบคุมอีกด้วยแต่ในทางด้านโลหิตวิทยากลับไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ของระบบการเพาะเลี้ยงทั้งสองแบบแต่พบว่าการทำหน้าที่เป็นสาร antioxidant (glutathione- peroxidase) และ lysozyme ในระบบ BFT สูงกว่าระบบชุดควบคุม ผลของการศึกษาในครั้งนี้พบว่า Biofloc technology สามารถพัฒนาการเจริญเติบโต เสริมปฏิกิริยาการย่อยเอนไซม์ของปลานิล

Huan และคณะ (2014) ศึกษาการใช้ *Salmonella typhimurium* SL7207 ที่มีฤทธิ์อ่อนลงเป็นพาหะสำหรับสร้าง DNA vaccine เพื่อต้านทาน *Streptococcus agalactiae*. ชิ้นส่วน DNA ขนาด 1.02 kb. ถอดรหัสมาจากส่วนของโปรตีนบริเวณพื้นผิวที่มีความสามารถในการกระตุ้นให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอย่างจำเพาะของ *Streptococcus agalactiae* จากนั้นถูกทำการแทรกเข้าไปในพลาสมิด pVAX1 กลายเป็นพลาสมิด pVAX1-sip จากนั้นถูกนำใส่เข้าไปใน EPC cells โดยวิธี transfected เพื่อตรวจสอบการแสดงออกแบบ transient expression โดยการทดสอบวิธีทางอิมมูโนวิทยาร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์การแสดงออกในระดับโปรตีน pVAX1-sip ถูก transformed เข้าสู่ SL7207 โดยวิธี electroporation ความเสถียรของ pVAX1-sip ที่สามารถเข้าไปใน Salmonella มีมากกว่า 90% หลังจากเลี้ยงไป 50 generations กับการคัดเลือกโดยใช้ยาปฏิชีวนะในห้องปฏิบัติการ ขณะที่ภายใต้เงื่อนไขที่ไม่มียาปฏิชีวนะยังคงมีเสถียรภาพกว่า 80% ในช่วง 35 generations ค่า LD50 ของ SL / pVAX1-sip มีค่าเท่ากับ 1.71 × 1011 CFU / fish โดยการให้วัคซีนทางปากซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษต่ำ ปลานิลถูกให้วัคซีนทางปากที่ 108 CFU / fish โดย SL / pVAX1-sip ถูกพบอยู่ในบริเวณ ลำไส้ ม้าม และตับ และในที่สุดเมื่อถูกสร้างภูมิคุ้มกันแล้วจะถูกกำจัดออกจากเนื้อเยื่อใน4 สัปดาห์ ปลาที่ได้รับวัคซีนที่ 107 ,108 และ 109 CFU / fish กับเวลาในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ต่างกันส่งผลให้ serum antibody มีระดับต่างกัน และมีผลในการป้องกันเชื้อ *S. agalactiae* ดั้งเดิม จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า pVAX1-sip ไม่ได้รวมกับโครโมโซมของปลานิล ดังนั้น DNA vaccine SL / pVAX1-sip ถูกพิสูจน์แล้วว่าปลอดภัยและมีผลในการป้องกันการติดเชื้อ *S. agalactiae* ของปลานิล

Sichewo และคณะ (2014) ศึกษาผลของการการเลี้ยงปลาที่ได้รับปุ๋ยจากการปศุสัตว์ในประเทศซิมบับเว (Zimbabwe) พบว่าปุ๋ยคอกทำให้เกิดการเจริญเติบของสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงได้ จึงเกิดการเพิ่มขึ้นของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้ก่อให้เกิดโรคในคนและสัตว์น้ำ ซึ่งแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาสามารถทำให้เกิดโรคในมนุษย์ได้โดยผ่านการบริโภค หรือการเพาะเลี้ยง โดยทำการสุ่มตัวอย่างจากน้ำในบ่อปลา 3 บ่อ คือ Imbayago, Nyamakwe และ Nhengo จากนั้นทำการคัดแยกเชื้อที่ได้จากการน้ำในแต่ละบ่อ พบว่าบ่อ Nyamakwe มีปริมาณแบคทีเรียมากที่สุด เชื้อที่ทำให้ก่อโรคในมนุษย์ที่แยกได้ ได้แก่ *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Enterococcus faecalis* แบคทีเรียที่แยกได้นี้เป็นตัวบ่งชี้ถึงน้ำที่มีการปนเปื้อนสิ่งปฏิกูล หรือก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำ และยังแสดงให้เห็นอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับมนุษย์ จึงสรุปได้ว่าในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาควรได้รับการจัดการเพื่อลดการเสียหายของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับสุขภาพของคน

Uddin และ Al-Harbi (2012) ได้ศึกษาชนิดของแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงปลาไน (*Cyprinus carpio*) และปลาดุกรัสเซีย (*Clarias geriepinus*) โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำ นำมาวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรีย และจำแนกชนิด โดยให้ค่าเฉลี่ยของแบคทีเรียเป็นจำนวนร้อยละที่พบในน้ำของบ่อเลี้ยงคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียที่พบทั้งหมดมี 10 ชนิด 12 สายพันธุ์ ชนิดที่พบคือ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholera*, *Shewanella putrefaciens* และ *Staphylococcus* sp. แต่พบมากที่สุด คือ *Aeromonas hydrophila* จำนวน 29.93% แบคทีเรียที่พบมากที่สุดมีความอุดมสมบูรณ์ของสารอินทรีย์ self-cleaning และ re-mineralization มีรายงานว่าจำนวนแบคทีเรียในบ่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงปลาดุก คิดเป็น $1.3x10^4$ ถึง $5.6x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเก็บรักษาและผลผลิต

Prasad และ Areechon (2010) ศึกษาการใช้วัคซีนเชื้อตาย *S. agalactiae* ในปลานิลแดงขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 150 กรัม โดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้องและเก็บตัวอย่างซีรั่มเพื่อศึกษาดูการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี้ในซีรัม ซึ่งพบว่า ภายหลังการให้วัคซีนเข็มแรกค่าแอนติบอดีไตเตอร์ที่ตรวจพบ มีค่าสูงสุดเท่ากับ 2 แต่เมื่อฉีดกระตุ้นด้วยวัคซีนเข็มที่ 2 สามารถยกระดับค่าแอนติบอดีได้โดยค่าไตเตอร์เพิ่มขึ้นเป็น 101.3 ซึ่งผลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการจดจำของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นทำให้การตอบสนองต่อวัคซีนในครั้งที่สองเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและรุนแรงกว่าครั้งแรก และจากการทดลองแช่ลูกปลานิลแดงในสารละลายวัคซีนเชื้อดังกล่าวภายหลังการทดสอบความคุ้มโรคด้วยการแช่พบว่า ค่า RPS ของปลาที่ได้รับวัคซีนมีค่าเท่ากับ 42.5 ซึ่งค่าที่ได้ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานบ่งบอกถึงการให้วัคซีนโดยการแช่ยังให้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคไม่ดีพอ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 จัดกลุ่มการทดลอง

ทำการทดลองในฟาร์มเลี้ยงปลานิลในอำเภอพานทอง จังหวัดชลบุรี จำนวน 8 บ่อ ขนาดปลาเริ่มต้น 60-70 กรัม ความหนาแน่นของปลาในการปล่อย 1,000-1,200 ตัวต่อไร่ โดยแบ่งออกเป็นชุดการทดลอง 2 ชุด คือ

ชุดการทดลองที่ 1 : รูปแบบการเลี้ยงปลานิลโดยใช้ลูกพันธ์ปลาที่ได้รับวัคซีน จำนวน 4 บ่อ

ชุดการทดลองที่ 2 : รูปแบบการเลี้ยงปลานิลโดยใช้ลูกพันธ์ปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน จำนวน 4 บ่อ

3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำ และปลาจากฟาร์มเลี้ยงปลานิล

เก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้กระบอกเก็บน้ำที่ระดับความลึกประมาณ 20-30 เซนติเมตร 3 บริเวณ ได้แก่ ต้นบ่อ กลางบ่อ และท้ายบ่อ จากนั้นนำน้ำที่เก็บจากทั้ง 3 บริเวณผสมลงในขวดเดียวกัน ซึ่งน้ำแต่ละจุดต้องมีปริมาณที่เท่ากัน นำไปใช้วิเคราะห์คุณภาพน้ำ และหาค่าปริมาณแบคทีเรีย นอกจากนี้ทำการเก็บตัวอย่างปลา โดยสุ่มปลาบ่อละ 10 ตัว เดือนละครั้งเป็นจำนวน 4 ครั้ง ทั้งกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* นำมาวัดอัตราการเจริญโดยการชั่งน้ำหนัก (กรัม) และวัดความยาว (เซนติเมตร) ทำการบันทึกผล

3.3 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

3.3.1 อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ และ pH

ทำการวัดอุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) thermometer ยี่ห้อ YSI รุ่น pro 20 และวัด pH วัดด้วยเครื่อง pH meter ยี่ห้อ Hanna รุ่น HI98127

3.3.2 ปริมาณแอมโมเนีย

การหาปริมาณแอมโมเนีย (NH_3) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sasaki และ Sawada (1980) โดยปิเปตตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นทำการสารละลายการเติมฟีนอล 0.4 มิลลิลิตร, สารละลายออกซิไดซิง 1 มิลลิตร และสารละลายไนโตรปรัสไซด์ 0.4 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1-24 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 นาโนเมตร บันทึกค่าเพื่อนำไปคำนวณความเข้มข้นเทียบกับ standard

3.3.3 ปริมาณอัลคาไลน์

การหาค่าอัลคาไลน์จะใช้วิธีการของ APHA, AWWA และ WFE (1998) ตวงตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หยดฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์ลงไป 2-3 หยด ถ้าสารละลายมีสีชมพูไตเตรทด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.02 N จนสีชมพูหมดไป จากนั้นหยดเมทิลออเรนจ์อินดิเคเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2-3 หยด ถ้าตัวอย่างมีสีเหลืองให้ไตเตรทด้วยกรดซัลฟิวริกจนมีสีส้ม บันทึกปริมาตรของกรดซักฟิวริกที่ใช้ นำไปคำนวณค่าความเป็นด่าง ดังนี้

$$\text{Phenophthalein alkalinity (as mg } CaCO_3\text{/L)} = \frac{A \times N \times 50{,}000}{\text{ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง (ml)}}$$

$$\text{Methyl orange alkalinity (as mg } CaCO_3\text{/L)} = \frac{B \times N \times 50{,}000}{\text{ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง (ml)}}$$

Total alkalinity (T) = Phenopthalein alkalinity + Methyl orange alkalinity

เมื่อ A = มิลลิลิตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรทน้ำตัวอย่างถึงพีเอช 8.3

B = มิลลิลิตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรทน้ำตัวอย่างถึงพีเอช 4.5

N = นอร์มอลของกรด

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณ และชนิดของแบคทีเรีย

นำตัวอย่างน้ำในแต่ละบ่อมาทำการเจือจางในน้ำเกลือ 0.85% ด้วยวิธี ten-fold serial dilution ในอัตราส่วน 1:10 1:100 และ 1:1000 จากนั้นนำไป Spread plate โดยปิเปตตัวอย่างน้ำที่ทำการเจือจาง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร TSA (Tryptic Soy Agar), MRS (De Man Rogosa and Sharpe) และ RS (Rimler-Shotts) เพื่อวิเคราะห์หาแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียก่อโรค *Streptococcus* sp. และ *Aeromonas* sp. ตามลำดับ ทำการเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารด้วย Sterile spreader บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีและจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยการทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้น

3.5 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

3.5.1 การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดที่บริเวณ caudal vein ที่บริเวณคอดหาง ของปลาทั้งกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* โดยใช้กระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตรและใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 26 และ 23 ทำการดูดเลือดใส่ลงในหลอด eppendrof จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2-3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที ทำการเก็บส่วนใส หรือ ซีรัม เพื่อนำไปใช้ในวัดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน

3.5.2 การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว

การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Blaxhall และ Daisley (1973) โดยการเจือจางอย่างเลือดปลาในสารละลายเดซี่ (dacie solution) ในอัตราส่วน 1:100 (เลือดปริมาตร 10 ไมโครลิตร:สารละลายเดซี่ปริมาตร 990 ไมโครลิตร) เขย่าไปมาในแนวนอน 15-20 ครั้ง นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว โดยใช้ฮีมาไซโตรมิเตอร์ (hemacytometer) นับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10X หรือ 40X

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การตรวจวัดค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit)

ทำการตรวจวัดค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ตามวิธีการของ จุไลวรรณ และสมพร (2551) นำตัวอย่างเลือดใส่หลอดแคปิลลารี่ (capillary tube) ชนิดที่มี heparin เคลือบเพื่อป้องกันเลือดแข็งตัว (clot) อุดปลายด้วยดินน้ำมัน จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง haematocrit centrifuge ที่ความเร็วรอบ 12000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ตรวจวัดค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วย haematocrit accessories นำค่ามาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ haematocrit จากสูตร

$$\% \text{ Haematocrit} = \frac{\text{ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (มิลลิลิตร)} \times 100}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมด (มิลลิลิตร)}}$$

3.5.4 การวิเคราะห์หาค่าฮีโมโกลบิน (hemoglobin)

การวิเคราะห์หาค่าฮีโมโกลบิน ดัดแปลงมาจากวิธีการ Thaylor และคณะ (1965) ซึ่งเป็น Cyanmethemoglobin method โดยนำเลือดจากปลาที่ทำการสุ่มมาในทุกบ่อ 20 ไมโครลิตร ใส่ลงหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายเดรบกิ้น (Drabkin's solution) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้สารละลายเดรบกิ้นเป็น blank

3.6 การวิเคราะห์ค่าระบบภูมิคุ้มกัน

3.6.1 การทดสอบการทำงานไลโซไซม์ (lysozyme activity)

วัดระดับ Lysozyme activity ที่ดัดแปลงวิธีการของ Lie และคณะ (1989) เป็นวิธี lysoplate assay โดยทำการเติมเชื้อ *Micrococcus lysodeikticus* ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตซิเตรทบัฟเฟอร์ (Phosphate/Citrate Buffer) ปริมาตร 490 มิลลิลิตร และทำการปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 5.8 นำมาเทลงเพลท รอจนวุ้นแข็งตัวจึงทำการเจาะหลุมบน lysoplate จากนั้นทำการเติมซีรัมตัวอย่าง และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อลงในรูที่เจาะไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัด clear zone โดยใช้เวอเนียคาลิปเปอร์ (Vernier Caliper) โดยเปรียบเทียบกับความเข้มข้นมาตรฐานของ Hen egg white lysozyme

3.6.2 การวิเคราะห์ค่าพลาสมาโปรตีน (plasma protein)

การวิเคราะห์หาค่าพลาสมาโปรตีน ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Lowry และคณะ (1951) โดยใส่ซีรัมปริมาตร 5 ไมโครลิตรลงในน้ำกลั่นปริมาตร 995 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการเติมสารละลายอัลคาร์ไลน์คอปเปอร์ (alkaline copper) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายโฟลินรีเอเจนท์ 1:10 (folin reagent 1 ส่วน:น้ำกลั่น 9 ส่วน) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณโปรตีน ซึ่งมีน้ำกลั่นเป็น blank โดยเปรียบเทียบกับกราฟแอลบูมินมาตรฐาน (Standard albumin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 การวิเคราะห์หาค่าอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin)

การวิเคราะห์หาค่าอิมมูโนโกลบูลิน ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Al-Dohail และคณะ (2009) นำซีรัมปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมรวมกับ 12% โพลีเอทธีลีนไกลคอล (12% polyethyleneglycol solution, PEG) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำซีรัมส่วนใสด้านบนไปทำต่อตามวิธีการหาค่าพลาสมาโปรตีน การวิเคราะห์อิมมูโนโกลบูลินรวมนั้นต้องทำการวิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมา และโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินด้วย 12 % Polyethylene glycol จากนั้นนำความเข้มข้นของโปรตีนรวมในพลาสมาไปลบกับโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนก็จะได้ โปรตีนที่เป็นอิมมูโนโกลบูลินทั้งหมด คำนวณตามสูตร ค่าอิมมูโนโกลบูลิน = โปรตีนรวมในพลาสมา – โปรตีนที่ผ่านการตกตะกอนด้วย 12% PEG

3.6.4 การวิเคราะห์แอนติบอดี้ไตเตอร์ (antibody titer)

การวิเคราะห์ปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มของแอนติบอดี้ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Yildirim และคณะ (2003) ให้เหมาะสำหรับใช้ใน microtiter plates ซึ่งนำซีรัมตัวอย่างปลาแต่ละชุดการทดลองมาตรวจสอบหาระดับแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Streptococcus aglactiae* เริ่มแรกทำการเตรียมแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ โดยการเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus aglactiae* ในอาหาร TSB นาน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 300 rpm เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เชื้อตายด้วย 10% Formalin แช่ไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 300 rpm เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสออก ล้างเซลล์ที่ตกตะกอน ด้วย 0.85% phosphate buffer saline (PBS) 2 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 300 rpm เป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนที่ใสทิ้ง เจือจางด้วย PBS จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้ได้ค่าประมาณ 0.8 เจือจางซีรัมต่อ PBS แบบ two-fold dilution ในอัตราส่วน 1:10, 1:20, 1:40, 1:160, 1:320 และ 1:640 โดยให้ได้ปริมาตรของแต่ละหลุมเท่ากับ 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 16-18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจปฏิกิริยาการจับกลุ่ม (agglutination) ด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 560 nm นำค่าที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีไตเตอร์จากสูตร

$$\% \text{ Antibody titer} = \frac{\text{ค่า Absorbance positive control} - \text{ค่า Absorbance ตัวอย่าง} \times 100}{\text{Absorbance positive control}}$$

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลคุณภาพน้ำ อัตราการเจริญ ค่าโลหิตวิทยา และระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลของกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีนมาเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ t-test ที่นัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS version 23.0

เอกสารนี้มีไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การวิเคราะห์ค่าคุณภาพน้ำ

จากการวิเคราะห์ค่าคุณภาพน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลอำเภอพานทอง จังหวัดชลบุรี ทั้งบ่อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน พบว่าค่าอุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ พีเอช ปริมาณอัลคาไลน์ และปริมาณแอมโมเนีย มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 อุณหภูมิของน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 27-33 องศาเซลเซียส พีเอชมีค่าระหว่าง 6-8 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าไม่ต่ำกว่า 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณอัลคาไลน์มีค่าระหว่าง 50-126 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแอมโมเนียมีค่าไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำประเภท 2 เพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ, 2547) โดยอุณหภูมิตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงพฤษภาคมค่าที่สูงขึ้น ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 34.18 และ 33.42 องศาเซลเซียส ในบ่อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 คุณภาพของน้ำของบ่อที่เลี้ยงปลานิลที่ได้รับ และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือน	ปัจจัย	พารามิเตอร์				
		อุณหภูมิ (℃)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (ppm)	พีเอช	อัลคาไลน์ (mg/l)	แอมโมเนีย (mg/l)
ธันวาคม	V	30.30±0.69	4.95±0.05	6.75±1.47	126.00±50.94	0..38±0.05
	N	29.87±1.46	4.11±0.43	6.08±1.26	116.67±21.63	0.31±0.03
มกราคม	V	27.59±0.37	5.47±0.40	8.18±0.35	88.99±51.37	0.04±0.01
	N	27.58±0.44	5.38±0.64	7.89±0.52	77.67±13.44	0.04±0.02
กุมภาพันธ์	V	29.15±0.79	6.46±0.51	8.45±0.48	88.99±51.37	0.04±0.01
	N	28.48±0.85	6.90±0.40	8.29±0.63	115.03±71.12	0.04±0.02
มีนาคม	V	31.67±0.95	7.71±0.49	8.85±0.51	75.17±61.67	0.05±0.03
	N	31.64±0.76	7.99±0.87	8.69±0.75	80.83±51.11	0.03±0.01
เมษายน	V	32.57±1.67	6.57±0.69	8.71±0.14	51.34±18.61	0.05±0.04
	N	32.73±0.76	7.83±0.93	8.54±0.26	50.00±21.47	0.03±0.02
พฤษภาคม	V	34.18±1.13	9.91±1.48	8.72±0.05	82.00±25.41	0.14±0.05
	N	33.42±1.07	9.54±1.59	8.64±0.22	82.17±44.06	0.10±0.07

หมายเหตุ : V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน (n=4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิของน้ำจะผันแปรตามอุณหภูมิของอากาศ เมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงเกินไปทำให้สัตว์น้ำต้องใช้พลังงานในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ประสิทธิภาพในการดูดซึมอาหารและการนำอาหารไปใช้ประโยชน์จะลดลง ส่งผลให้อัตราการเจริญต่ำ (Baysa, 2009) นอกจากนี้อุณหภูมิส่งผลต่อคุณภาพน้ำอื่นๆ ในฤดูร้อนอุณหภูมิของอากาศสูงและแสงส่องลงสู่ผิวน้ำมากทำให้เกิดการแบ่งชั้นของน้ำ โดยน้ำชั้นบนจะมีอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่สูง ในขณะที่น้ำชั้นล่างที่แสงส่องไม่ถึงจะมีอุณหภูมิต่ำและปริมาณออกซิเจนที่ต่ำกว่า พื้นบ่อจะมีกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นจึงมีการสะสมของแอมโมเนีย และของเสียต่างๆ เพิ่มขึ้น หากความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงจนถึงระดับที่เป็นพิษ จะทำให้ปลามีอาการเฉื่อย และตายในที่สุด (Ahmed, 2012) การที่เราได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำจึงนำไปใช้ประโยชน์เพื่อคาดการณ์การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในบ่อ ทำให้สามารถจัดการคุณภาพน้ำและรับมือกับกับความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นได้

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณ และจำแนกชนิดของแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล

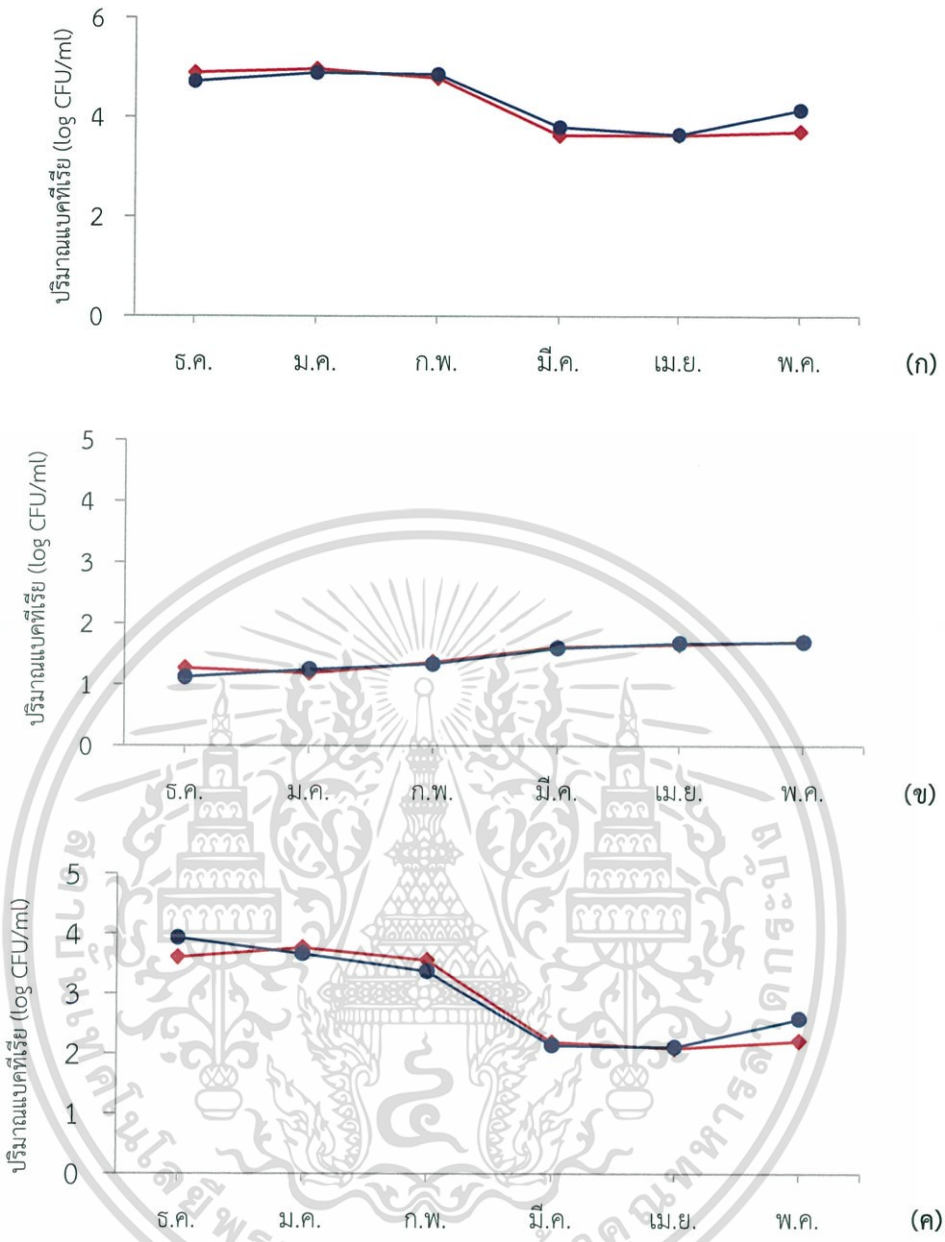
จากการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิลด้วยวิธีการ spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA, MRS และ RS เพื่อวิเคราะห์หาแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียก่อโรค *Streptococcus* sp. และ *Aeromonas* sp. ตามลำดับ พบว่าปริมาณของแบคทีเรียในบ่อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนบนอาหาร TSA MRS และ RS มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 แต่ในเดือนมีนาคมพบว่าปริมาณแบคทีเรียในอาหาร TSA และ RS มีปริมาณที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงในรูปที่ 4.1 ก และรูปที่ 4.1 ค ซึ่งแตกต่างจากอาหาร MRS ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ข ที่พบว่ามีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรีย

ตารางที่ 4.2 ปริมาณของแบคทีเรีย (logCFU/ml) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA, MRS และ RS

เดือน	ปัจจัย	ปริมาณแบคทีเรีย (log CFU/ml)		
		TSA	MRS	RS
ธันวาคม	V	4.89±0.31	1.27±0.18	3.61±0.35
	N	4.72±0.28	1.12±0.22	3.93±0.10
มกราคม	V	4.97±0.22	1.19±0.16	3.77±0.16
	N	4.89±0.24	1.25±0.10	3.66±0.22
กุมภาพันธ์	V	4.78±0.12	1.37±0.11	3.56±0.44
	N	4.86±0.31	1.34±0.15	3.37±0.33
มีนาคม	V	3.63±0.45	1.62±0.32	2.19±0.13
	N	3.80±0.32	1.60±0.35	2.14±0.18
เมษายน	V	3.64±0.20	1.66±0.42	2.09±0.55
	N	3.65±0.29	1.68±0.39	2.11±0.43
พฤษภาคม	V	3.71±0.18	1.71±0.26	2.21±0.09
	N	4.15±0.56	1.70±0.19	2.58±0.36

หมายเหตุ : V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน (n=4)

เอกสารนี้มีเพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ผลของปริมาณแบคทีเรีย (log CFU/ml) (ก) อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (ข) อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ (ค) อาหารเลี้ยงเชื้อ RS

หมายเหตุ : V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน

ผลของการจำแนกแบคทีเรียด้วยวิธีการทดสอบชีวเคมีเบื้องต้น ที่ทำการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคมถึงพฤษภาคม พบว่าสามารถจำแนกจำนวนแบคทีเรียได้ 7 กลุ่ม คือ คือ *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Vibrio* sp., *Enterobactericeae*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp. และ *Streptococcus* sp. ดังแสดงในตารางที่ 4.2 เดือนมีนาคมถึงพฤษภาคมพบว่าปริมาณของแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. มีปริมาณที่เพิ่มขึ้น และพบสูงสุดในเดือนพฤษภาคม จากผลของการวิเคราะห์ค่าคุณภาพน้ำ และศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรีย พบว่าสอดคล้องกับการรายงานของศุภมาศ (2552) ที่ได้ศึกษาคุณภาพน้ำของการเลี้ยงปลาทับทิมในกระชังบริเวณแม่น้ำมูล จังหวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุรีรัมย์ รายงานว่าผลว่าปริมาณของแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นในช่วงหน้าร้อน อุณหภูมิที่สูงจะช่วยให้เชื้อแบคทีเรียสามารถแบ่งตัวได้รวดเร็วขึ้น จึงพบปลาป่วยจากเชื้อแบคทีเรียในฤดูร้อนมากกว่าในฤดูหนาว จากผลทดลองพบว่ามีการป่วยและตายของปลาเกิดขึ้นในเดือนเมษายน โดยในเดือนเมษายน พบว่าอุณหภูมิของน้ำในฟาร์มเลี้ยงมีค่าระหว่าง 32-33 องศาเซลเซียส (ตารางที่4.1) ซึ่งถือว่าสูงสำหรับการเพาะเลี้ยงปลานิล อาการที่พบในปลาจะมีอาการตกเลือด (Hemorrhagic Septicemia) ที่ผิวลำตัว คอดหาง หรือที่ครีบต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 และ 4.3 เมื่อนำปลาเหล่านี้มาตรวจดูการติดเชื้อในอวัยวะตับ ม้าม และไต พบว่าอวัยวะมีการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ที่ก่อโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล ดังนั้น หากมีการควบคุมอุณหภูมิของน้ำให้เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจะช่วยทำให้อัตราการป่วยของปลาในช่วงหน้าร้อนลดลง

รูปที่ 4.2 แสดงอาการป่วยของปลานิลในเดือนเมษายน

รูปที่ 4.3 แสดงภาพปลาตายในฟาร์มเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
APV-I-R003	rod	Negative	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
APV-I-R004	rod	Negative	+	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPN-I-R007	rod	Negative	+	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPV-I-R008	rod	Negative	+	+	+	K/N	-	+	-	-	-	*Pseudomonas* sp.
PSN-I-R010	rod	Negative	-	+	-	K/A	-	-	+	+	-	*Aeromonas* sp.
PSV-I-R011	rod	Negative	+	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Pseudomonas* sp.
PSV-I-R012	rod	Negative	+	+	+	K/N	-	-	-	-	-	*Pseudomonas* sp.
TSN-I-R013	rod	Negative	+	+	+	K/N	-	+	-	-	-	*Pseudomonas* sp.
TSV-I-R015	rod	Negative	+	+	+	K/N	-	+	-	-	-	*Vibrio* sp.
TSV-I-R016	cocci	Positive	-	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
APN-I-T002	rod	Negative	+	-	-	K/N	-	-	-	-	-	*Pseudomonas* sp.
APN-I-T003	rod	Negative	+	-	-	K/N	-	-	-	-	-	*Pseudomonas* sp.
PPN-I-T008	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	+	+	-	*Aeromonas* sp.
PPN-I-T009	rod	Negative	+	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-I-T010	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	+	+	-	*Aeromonas* sp.
PSV-I-T014	rod	Negative	+	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
TSN-II-R016	rod	Negative	+	+	-	A/A	-	-	+	+	-	*Aeromonas* sp.
APN-II-T019	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PSV-II-M004	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
APV-II-T013	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
APV-II-T014	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	+	+	+	*Aeromonas* sp.
TSN-II-T018	rod	Negative	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
TSV-II-M007	rod	Negative	-	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Peudomonas* sp.
PPN-II-M005	cocci	Positive	+	-	-	A/A	-	-	-	+	-	*Staphylococcus* sp.
TSV-II-M006	rod	Negative	-	+	-	A/A	-	-	-	+	-	Aeromonas sp.
TSV-II-T003	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPV-II-T004	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Peudomonas* sp.
PSN-II-T016	cocci	Positive	+	-	-	K/A	-	-	-	-	-	*Micrococcus* sp.
PPN-II-R013	cocci	Positive	+	-	-	K/A	-	-	-	-	-	*Micrococcus* sp.
PPN-II-R014	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	-	-	-	-	*Peudomonas* sp.
APV-II-R003	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	-	-	-	-	*Peudomonas* sp.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
APV-II-R004	rod	Negative	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
APV-II-M002	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Lactobacillus* sp.
PSN-II-R007	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	+	-	-	-	*Peudomonas* sp.
PPV-II-R008	rod	Negative	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPN-II-T017	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	+	+	-	*Aeromonas* sp.
APV-I-R004	rod	Negative	+	+	-	K/N	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPN-II-T018	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	+	+	-	-	*Vibrio* sp.
PSN-II-R005	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
APN-II-T010	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	+	+	+	*Aeromonas* sp.
PPV-II-T007	rod	Negative	+	+	+	K/A	-	-	-	-	-	*Peudomonas* sp.
APN-II-T008	cocci	Positive	+	+	-	A/A	-	-	-	-	-	*Micrococcus* sp.
TSV-II-R011	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
TSV-II-R012	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
APN-II-R010	rod	Negative	-	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
APV-II-T011	cocci	Positive	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Staphylococcus* sp.
APV-II-T012	cocci	Positive	-	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Micrococcus* sp.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
APV-II-R004	rod	Negative	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
APN-III-T003	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	+	-	-	-	*Vibrio* sp.
TSN-III-T005	rod	Negative	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPV-III-T009	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSN-III-T010	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSN-III-T011	cocci	Positive	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PSN-III-M003	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PPN-III-M002	cocci	Positive	-	+	-	K/A	-	-	+	+	-	*Streptococcus* sp.
PPN-III-M001	rod	Negative	-	+	-	A/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
TSN-III-R001	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	+	-	-	-	*Peudomonas* sp.
TSN-III-R002	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
APV-III-R004	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	+	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPN-III-R005	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPN-III-R006	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
APN-III-T001	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	+	-	-	-	*Aeromonas* sp.
APV-III-R010	rod	Negative	-	+	-	A/A	-	-	+	+	-	*Aeromonas* sp.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
APV-II-R004	rod	Negative	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
TSV-III-R013	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
TSV-III-R014	rod	Negative	+	+	+	K/K	-	+	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSN-III-R015	rod	Negative	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
APV-III-R009	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPV-III-R008	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPV-III-R007	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	+	-	-	-	*Aeromonas* sp.
APV-II-R004	rod	Negative	+	-	-	A/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
PSN-IV-R001	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Enterobactericeae*
PPN-IV-R002	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	+	+	-	*Enterobactericeae*
APN-IV-R004	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	+	-	-	-	*Enterobactericeae*
TSN-IV-R006	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	+	-	-	-	*Aeromonas* sp.
TSV-IV-T001	rod	Negative	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
TSV-IV-T002	rod	Negative	-	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-IV-T005	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Enterobactericeae*

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test		Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
PPV-IV-T006	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	+	-	-	-	*Aeromonas* sp.
APN-IV-T008	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSV-IV-T010	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Enterobactericeae*
TSN-IV-M003	cocci	Positive	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Micrococcus* sp.
TSN-IV-M004	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	+	+	-	*Vibrio* sp.
TSN-IV-M005	cocci	Positive	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Micrococcus* sp.
PSN-IV-M007	rod	Negative	-	-	-	A/A	-	-	+	-	-	*Aeromonas* sp.
PSV-IV-M008	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	+	-	-	*Streptococcus* sp.
PSV-IV-M009	cocci	Positive	-	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PPN-IV-M010	cocci	Positive	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PSV-V-T003	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PSV-V-R002	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSV-V-R001	rod	Negative	+	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSV-V-M003	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	+	+	+	*Streptococcus* sp.
PSN-V-T002	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	+	-	*Enterobactericeae*

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
PSN-V-T001	rod	Negative	-	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PSN-V-R004	rod	Negative	-	+	-	K/A	+	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-V-T006	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPV-V-T003	rod	Negative	+	+	-	A/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-V-M006	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	+	-	*Streptococcus* sp.
PPV-V-M005	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PPV-V-M001	cocci	Positive	-	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PPN-V-T007	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	+	-	-	*Vibrio* sp.
APN-IV-R004	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	+	-	-	-	*Enterobactericeae*
PPN-V-R005	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PPN-V-M007	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PPN-V-M002	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	+	-	*Streptococcus* sp.
APV-V-T010	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Enterobactericeae*
APV-V-R007	rod	Negative	+	-	-	K/A	+	-	+	+	-	*Vibrio* sp.
APV-V-M008	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
APN-V-T009	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	+	-	-	-	*Enterobactericeae*

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

code	Shape	Gram stain	Catalase	Oxidase	Bile Esculin	Glucose Fermentation			OF test			Type
						Fermentation	Gas	H_2S	Oxidation	Fermentation	Gas	
PPV-VI-M001	rod	Negative	-	+	-	K/A	-	-	-	+	-	*Aeromonas* sp.
PSN-VI-M002	cocci	Positive	-	-	-	A/A	-	-	-	+	-	*Streptococcus* sp.
PSV-VI-T003	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-VI-T004	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-VI-T005	rod	Negative	-	+	-	K/A	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
PPV-VI-T006	cocci	Positive	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
APV-VI-T007	cocci	Positive	+	+	-	K/K	-	+	-	-	-	*Streptococcus* sp.
PSN-VI-T008	rod	Negative	+	-	-	K/K	-	-	-	-	-	*Enterobactericeae*
PSN-VI-T009	rod	Negative	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Aeromonas* sp.
TSN-VI-T010	cocci	Positive	+	+	-	K/K	-	-	-	-	-	*Streptococcus* sp.
APV-VI-R001	rod	Negative	+	+	-	K/A	+	-	+	+	-	*Vibrio* sp.
APV-VI-R002	rod	Negative	+	-	-	K/A	-	-	+	+	-	*Vibrio* sp.

หมายเหตุ : K/A = มีการ ferment Glucose อย่างเดียว

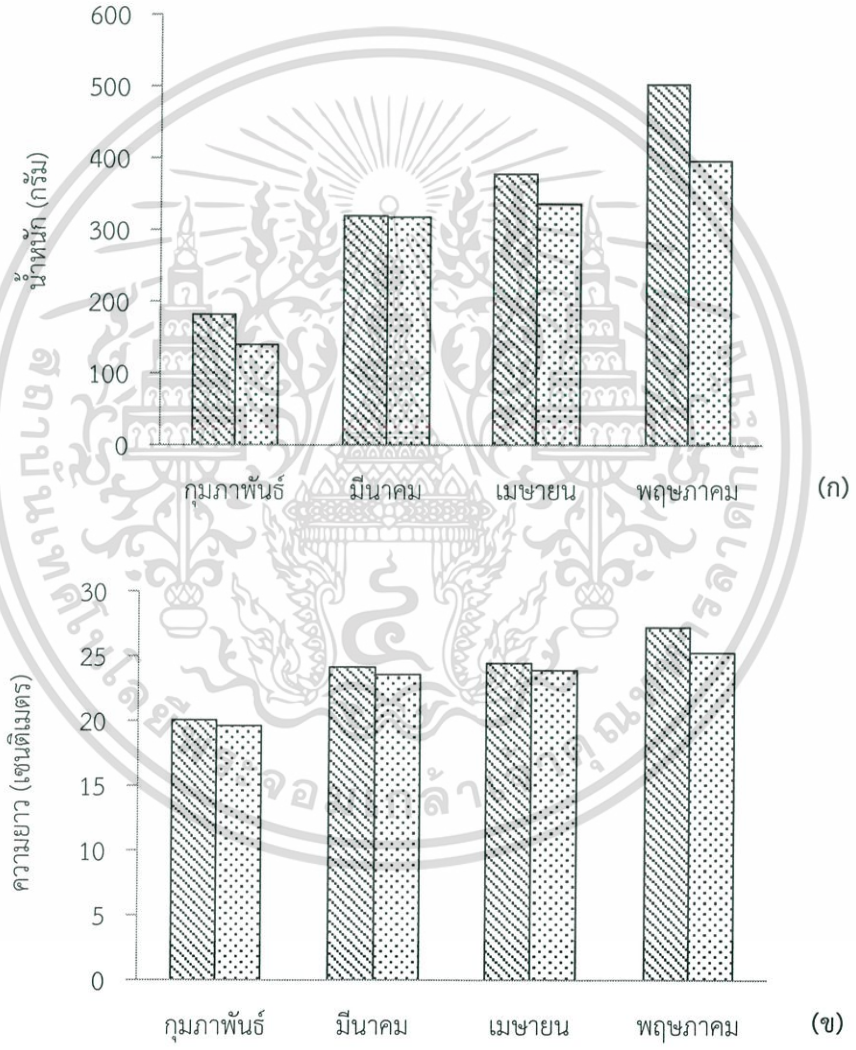
K/K, K/N, N/N = ไม่มีการ ferment ทั้ง Glucose, Lactose และ Sucrose

A/A = มีการ ferment Glucose, Lactose และ/หรือ Sucrose

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4.3 การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

จากการวัดอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลพบว่ากลุ่มปลานิลในบ่อที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีนมีอัตราการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในเดือนกุมภาพันธ์และเดือนพฤษภาคม และพบว่าอัตราการเจริญของปลาที่ได้รับวัคซีนมีค่ามากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน ดังแสดงในรูปที่ 4.4 สอดคล้องกับงานวิจัยของนิลุบลและคณะ (2549) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล พบว่าปลานิลที่ได้รับวัคซีนจะมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน



รูปที่ 4.4 แสดงผลอัตราการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* (ก) น้ำหนัก และ (ข) ความยาว

หมายเหตุ : ▨ V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, ▨ N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

จากผลการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาพบว่าค่าโลหิตวิทยาในปลาที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนในเดือนกุมภาพันธ์และเดือนพฤษภาคมมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่ในเดือนเมษายนปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และในเดือนมีนาคมเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งปลาที่ได้รับวัคซีนจะมีค่าโลหิตวิทยามากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ผลค่าโลหิตวิทยาสอดคล้องกับงานวิจัยของจุไลวรรณ และสมพร (2551) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด และความต้านทานโรคในปลากะพงต่อ *Streptococcus* sp. เชื้อตาย รายงานผลการทดลองว่าค่าโลหิตวิทยาในปลากระพงที่ได้รับการฉีดเชื้อตายจะมีค่ามากกว่าปลากระพงที่ไม่ได้รับการฉีดเชื้อตาย โดยค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีความสัมพันธ์กับค่าฮีโมโกลบิน เมื่อค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นลดลง ย่อมจะส่งผลให้ค่าฮีโมโกลบินลดลงไปด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Mali และ Chavan (2530) ที่ได้รายงานว่าองค์ประกอบของค่าเลือดสามารถเปลี่ยนแปลงได้ในกรณีอื่นๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล หรือการขาดสารอาหารบางตัว

ตารางที่ 4.4 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

พารามิเตอร์	ปัจจัย	เดือน			
		กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม
Red blood cell	V	1.03±0.15	1.13±0.11	1.10±0.08	1.33±0.62
($x10^6$ cell/µl)	N	0.99±0.11	1.08±0.06	1.09±0.26	1.09±0.38
White blood cell	V	0.98±0.06	1.31±0.71	1.64±0.95*	1.28±0.33
($x10^4$ cell/µl)	N	0.99±0.12	1.36±0.65	0.89±0.41	1.48±0.48
%hematocrit	V	33.45±3.45	34.10±4.92*	31.85±5.57	30.54±5.29
	N	33.09±3.52	29.53±3.41	31.03±3.97	29.45±6.29
Total hemoglobin	V	12.31±1.54	12.79±1.83	12.09±1.84	11.88±2.56
(g/dl)	N	11.57±1.87	11.71±1.47	12.71±2.24	10.85±3.07

หมายเหตุ : * คือ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (n=40)

V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน

จากผลการวิเคราะห์ชนิดของเม็ดเลือดขาว (Leukocyte) พบเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte), โมโนไซต์ (Monocyte), ทรอมโบไซต์ (Thrombocyte), นิวโทรฟิล (Neutrophil), อีโอสิโนฟิล (Eosinophil) และ บาโซฟิล (Basophil) ดังแสดงในตาราง 4.5 การวิเคราะห์ชนิดเม็ดเลือดขาวพบว่า ลิมโฟไซต์ พบมากที่สุด โดยพบถึง 45-60% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ลิมโฟไซท์เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีความสำคัญในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน รับรู้ต่อสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนที่เข้าสู่ร่างกาย (Fillatreau และคณะ, 2013) ลิมโฟไซท์แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ B cell ที่ทำหน้าที่ผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำที่เรียกว่า แอนดิบอดี โดยที่ B cell จะถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนแล้วจึงเปลี่ยนเป็น Plasma cell เพื่อสร้างแอนดิบอดีจำเพาะต่อแอนติเจนนั้น และ T cell ทำหน้าที่ด้านการตอบสนองทางด้านเซลล์ เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพ (Laing และ Hansen, 2011) แบ่งเป็น Helper T-cell และ Cytotoxic T-cell จากผลการทดลองพบว่าชนิดของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดทั้งบ่อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังนั้น การให้วัคซีนไม่มีผลต่อชนิดของเม็ดเลือดขาว ซึ่งอาจจะมีปัจจัยแวดล้อมอื่นร่วมด้วย เช่น สภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำ อัตราการเลี้ยงที่หนาแน่น ความถี่ในการให้อาหาร เป็นต้น อย่างไรก็ตาม พบว่าในเดือนพฤษภาคมมีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด อีโอสิโนฟิล และบาโซฟิลมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในบ่อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

ตารางที่ 4.5 ชนิดของเม็ดเลือดขาวที่จำแนกได้จากปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

% Leukocyte	ปัจจัย	เดือน			
		กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม
Lymphocyte	V	48.39±11.05	46.29±6.76	60.02±5.92	48.80±5.17
	N	47.88±10.41	51.09±3.15	59.63±8.90	45.18±9.33
Thromboctye	V	9.44±2.30	14.03±1.02	13.14±2.72	7.54±3.83
	N	12.32±5.51	10.24±2.56	13.94±3.55	8.04±5.19
Monocyte	V	38.70±7.06	32.89±6.94	21.27±4.16	38.99±15.38
	N	34.17±4.92	30.86±6.03	18.79±7.78	41.92±16.82
Neutrophil	V	2.72±0.58	6.13±1.14	4.68±0.46	4.133±3.70
	N	5.01±2.48	7.19±0.59	6.83±3.87	4.86±2.86
Eosinophil	V	0.23±0.02	0.15±0.09	0.22±0.08	0.28±0.04*
	N	0.17±0.10	0.24±0.03	0.12±0.04	0.14±0.03
Basophil	V	0.52±0.06	0.49±0.07	0.68±0.05	0.25±0.03*
	N	0.44±0.04	0.39±0.13	0.67±0.04	0.21±0.02

หมายเหตุ : * คือ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (n=40)

V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน

โดยปกติเม็ดเลือดขาวชนิดอีโอสิโนฟิลจะพบในปริมาณน้อย จำนวนร้อยละ 0-3 ของจำนวนเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอสิโนฟิลในปลาพบว่ามีบทบาทเช่นเดียวกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งมีหน้าที่หลักในการหลั่งสารพิษ (foreign protein) ออกมาเพื่อกำจัดปรสิตหรือพยาธิ (Balla, 2017) จากผลการทดลองที่พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของอีโอซิโนฟิลในปลาที่ได้รับวัคซีน อาจบ่งชี้ได้ว่าปลามีการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับปรสิต สำหรับเม็ดเลือดขาวชนิดยาโซฟิลโดยปกติพบได้น้อยในกระแสเลือดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หน้าที่ทั่วไปของบาโซฟิล คือ ยับยั้งการแข็งตัวของเลือด กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดขยายตัวเมื่อเกิดการอักเสบเกิดขึ้น และยังมีหน้าที่ในการตอบสนองก่อการเกิดภูมิแพ้อีกด้วย (จิตติ, 2557) แต่หน้าที่ของบาโซฟิลในปลายังมีการศึกษาไม่ชัดเจน โดยมีรายงานว่าบา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซฟิลไม่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดโรคใดเฉพาะเจาะจง (นันทริกา, 2553) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของบาโซฟิลอาจแสดงถึงการติดเชื้อ หรือเกิดการอักเสบเกิดขึ้น

4.5 การวิเคราะห์ค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

จากผลการทดลองการวิเคราะห์ระบบภูมิคุ้มกัน พบว่าค่าพลาสมาโปรตีน และค่ากิจกรรมไลโซไซม์ ซึ่งเป็นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลาที่ได้รับวัคซีนมีค่ามากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าค่าของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะที่วิเคราะห์ได้จากค่าอิมมูโนโกลบูลิน และค่าแอนติบอดีไตเตอร์ ในเดือนกุมภาพันธ์ มีนาคม และเมษายนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับวัคซีนจะมีค่ามากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน ดังแสดงในตารางที่ 4.6 สอดคล้องกับการรายงานของ Suanyuk และ Itsaro (2011) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพวัคซีน *Streptococcus iniae* ในปลานิลลูกผสมที่พบว่าค่าระบบภูมิคุ้มกันในปลานิลที่ได้รับวัคซีนจะมีค่ามากกว่าปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน

ตารางที่ 4.6 แสดงระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

พารามิเตอร์	ปัจจัย	กุมภาพันธ์	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม
Lysozyme	V	13.58±4.46	14.76±2.94	18.09±4.79	19.74±3.38
activity (µg/ml)	N	13.84±3.59	14.45±2.71	15.70±6.79	19.06±3.57
Plasma protein	V	167.33±42.69	176.87±33.58	189.74±48.71	166.71±35.29
(µg/ml)	N	144.84±37.98	166.48±22.69	196.15±66.69	162.98±41.89
Immunoglobulin	V	83.16±27.87*	121.54±45.44*	89.38±32.79*	65.19±22.44
(µg/ml)	N	68.03±25.29	111.56±68.00	70.60±26.27	61.19±34.18
%Antibody titer	V	20.23±8.20*	25.78±6.25*	18.19±3.12*	6.59±2.01
	N	18.72±3.67	19.26±9.15	14.30±3.92	5.89±2.05

หมายเหตุ : * คือ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (n=40)
V = บ่อที่ได้รับวัคซีน, N = บ่อที่ไม่ได้รับวัคซีน

ในเดือนกุมภาพันธ์และมีนาคมพบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์มีค่าเพิ่มขึ้น จากนั้นในเดือนเมษายนและพฤษภาคมมีค่าลดลงตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณเอกพล และปวีณา(2555) ในการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนแบบฉีดที่ได้จากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลาดุกลูกผสมซึ่งพบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์ จะเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 7 จากนั้นจะมีค่าลดลง การให้วัคซีนในครั้งแรกจะให้ผลในการป้องกันโรคได้ยาวนานประมาณ 3-4 เดือน ในการกระตุ้นซ้ำโดยการให้ครั้งที่ 2 จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนให้มากขึ้น ตามงานวิจัยของธารทิพย์ และคณะ (2554) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus agalactiae* ที่เตรียมด้วยวิธีที่ต่างกันต่อภูมิคุ้มกันของปลานิล รายงานว่าปลาที่ได้รับวัคซีนในครั้งที่ 2 จะมีค่าแอนติบอดีไตเตอร์จะมีค่าเพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นครั้งแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* และการศึกษาคุณลักษณะแบคทีเรียในฟาร์มเลี้ยงปลานิล อำเภอพานทอง จังหวัดชลบุรี จำนวน 8 บ่อ โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 2 ชุด คือ ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงปลานิลโดยใช้ลูกพันธุ์ปลาที่ได้รับวัคซีน จำนวน 4 บ่อ และชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลานิลโดยใช้ลูกพันธุ์ปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน จำนวน 4 บ่อ โดยทำการทดลองตั้งแต่เดือนธันวาคม 2559 ถึงเดือนพฤษภาคม 2560 ผลการวิเคราะห์ค่าคุณภาพน้ำพบว่าคุณภาพน้ำมีค่าในบ่อที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงปลานิล ผลของวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียพบว่าในเดือนมีนาคมปริมาณแบคทีเรียบนอาหาร TSA และ RS มีปริมาณลดลง ซึ่งต่างจากปริมาณแบคทีเรียบนอาหาร MRS ที่พบว่ามีค่าสูงขึ้น นอกจากนี้ผลของการคัดแยกชนิดของแบคทีเรียในน้ำ พบว่าในอาหาร TSA จำแนกได้ 5 กลุ่ม ได้แก่ *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., *Enterobactericeae*, *Micrococcus* sp., และ *Stapphylococcus* sp. อาหาร MRS และ RS จำแนกแบคทีเรียได้ *Streptococcus* sp. และ *Aeromonas* sp. ตามลำดับ

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน *Streptococcus* พบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน และมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในเดือนกุมภาพันธ์และพฤษภาคม ผลของค่าโลหิตวิทยาในปลาที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนมีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนผลของวัคซีนต่อระบบภูมิคุ้มกันพบว่าสามารถช่วยเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันทั้งแบบไม่จำเพาะ และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์ในเดือนกุมภาพันธ์และมีนาคมมีค่าที่เพิ่มขึ้น จากนั้นในเดือนเมษายนและพฤษภาคมมีค่าลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของวัคซีนจะให้ผลการป้องกันโรคได้ 3-4 เดือน การกระตุ้นซ้ำโดยการให้ครั้งที่ 2 จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนให้มากขึ้น จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการให้วัคซีนเพื่อเป็นแนวทางในการใช้วัคซีนให้เกิดประสิทธิผลมากยิ่งขึ้นในระดับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) ควรศึกษาอัตราการรอดชีวิตของปลาที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

2) ควรมีการทำศึกษาค่าโลหิตวิทยา และระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลก่อนทำการทดลอง เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบกับผลการทดลอง

3) ควรทำการสุ่มตรวจปลาทุกบ่อในทุกเดือนมาทำการตรวจโรค เพื่อใช้ในการพิจารณาค่าโลหิตวิทยา และระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา จ้ายเกิด. 2557. “การศึกษาผลกระทบของการเลี้ยงปลาในกระชังต่อคุณภาพน้ำ บริเวณอำเภอคลองท่อม จังหวัดกระบี่.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ขวัญตา พูลสำราญ ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ชนกันต์ จิตมนัส. 2551. “ค่าโลหิตวิทยาของลูกปลาบึก.” *เชียงใหม่สัตวแพทยสาร.* 6(2) : 153-163.

จิตติ ท่าไว. 2557. **เอกสารประกอบการสอนวิชาอิมมูนวิทยา.** กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ และ สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์. **การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด และความต้านทานโรคในปลากะพงขาวต่อ *Streptococcus* sp. เชื้อตาย.** กรุงเทพฯ : สำนักงานวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เจียมจิตร ขวัญแก้ว. 2550. **คู่มือปฏิบัติงานการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.** กรุงเทพฯ : ส่วนวิจัยและพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์สำนักวิจัยและพัฒนา กรมชลประทาน.

ชาญณรงค รอดคำ. 2550. “โรคสำคัญที่สงผลกระทบตอการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย.” หน้า 319-322. ใน **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทยและการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 33.** กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เฉลิม หวันหมาน, ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง และกิจการ ศุภมาตย์. “โรคสเตรฟโตคอคโคซิสในปลากระพงขาว.” *Songklanakarin Journal of Science Technology.* 27 : 292-305.

ฐานันดร์ ทัตตานนท์. 2539. “พิษเฉียบพลันของความเป็นกรด-ด่างจากน้ำพรุต่อปลากะพงขาว 3 ขนาด : 300, 430 และ 550.” เอกสารวิชาการสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดนราธิวาสกองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 1-18.

ณัฏฐา นิธิกุลวรวงศ์. 2551. “ประสิทธิภาพของสารสกัดสิรินธรวัลลีต่อความต้านทานเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*).” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ สาขาการประมงประยุกต์ วิทยาศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ทัศนีย์ นลวชัย และสุวรรณา หวานจริง. 2559. “ผลของระดับพีเอชและแอมโมเนียต่ออัตราการรอดตายของลูกปลาทับทิม.” *แก่นเกษตร.* 44(1) : 643-649.

ธาราทิพย์ พิทักษ์วงศ์. 2554. “ผลของการเสริมวิตามินซีร่วมกับวิตามินอีในอาหารปลาดุกลูกผสมต่อความต้านทานความเครียดภายใต้สภาวะน้ำที่มีอุณหภูมิและ pH ต่ำ.” ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

นันทริกา ชันซื่อ และ มนทกานติ์ วงศ์ภากร. 2549. "ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิคของเลือดปลาหมอตาลในบ่อเพาะเลี้ยงจังหวัดสุพรรณบุรี." *วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ*. 1 : 108-115.

นันทริกา ชันซื่อ. 2553. **โรคปลา : อายุรศาสตร์และคลินิกปฏิบัติ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : บริษัท โฮลิสติก พับลิชชิ่ง จำกัด.

นภดล ศุกระกาญจน์, สุภฏา คีรีรัฐนิคม, กฤษณะ เรืองคล้าย และพันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกร. 2552. "การศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) ในระบบการเพาะเลี้ยง." โครงการวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

นฤมล อัศวเกศมณี. 2544. **เอกสารประกอบการสอนวิชาการเลี้ยงปลาน้ำจืด**. พิมพ์ครั้งที่ 2. นครศรีธรรมราช : สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมาราช.

นิลุบล กิจอันเจริญ, ชุติมา หาญจวณิช และ นงนุช สุวรรณเพ็ง. 2549. "ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล." *วารสารวิจัยมหาลัยขอนแก่น*. 11(1) : 53-61.

ประพันธ์ศักดิ์. 2557. "ปลานิล : ความเสี่ยงที่จะยอมรับหรือเตรียมรับ." *วารสารสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สวก.)*.

พัชราวลัย ศรียะศักดิ์, นิวุฒิ หวังชัย, ชนกันต์ จิตมนัส และหลุยส์ เลอเบล. 2557. "ผลกระทบจากสภาพอากาศและฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ." *วารสารวิจัยมหาลัยขอนแก่น*. 19(5): 743-751.

พนม กระจ่างพจน์ สอดสุข. 2555. **รายงานประจำปี 2555**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : บริษัท เปเปอร์คอลัส จำกัด.

พลากร พลโยธี, ศักดา ดาดวง, ธีรศักดิ์ สมดี และ สมปอง ธรรมศิริรักษ์. 2547. "การแยกบริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติเบื้องต้นทางเคมีและทางโครงสร้างของโปรตีนไลโซไซม (Lysozyme) ในไข่ขาวของตะพาบน้ำ (*Trionyx sinensis tiwanese*)". ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ไพฑูรย์ หมายมั่นสมสุข. 2553. การวิเคราะห์น้ำและน้ำเสียเบื้องต้น. กรมโรงงานอุตสาหกรรม.

ภักดี มากช่วย. 2556. "ความหนาแน่นของปลานิลที่เหมาะสมในการอนุบาลเมื่อแปลงเพศด้วยน้ำแช่ใบมังคุด." โครงงานปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (การประมง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

ภัทริดา โปฏก, ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล และนิติ ชูเชิด. 2554. "ผลของการใช้แบคทีเรียสกุล Bacillus ssp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*)." การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49.

ภิรัตน์ มั่นใจอางค์. 2552. "การทดลองใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.)." ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยุทธนา หมั่นดี. 2551. "เลือดและผลิตภัณฑ์." *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่*. 41(2): 53- 61.

วิจิตรา กลิ่นเจริญ. 2554. "ผลของ hypoxia ตอคาโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอรฮอรน และการคืนสภาพหลังจากไดรับออกซิเจน." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วาสนา คงวัน. 2555. "คาโลหิตวิทยาของปลานิลลูกผสมในระดับความเค็มที่ตางกัน." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการประมง วิทยาศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยแมโจ.

ศิริพรรณ พลเสน, นวลอนงค์ นาคคง, ธงชัย บุญสอน, วรพล เองวานิช. 2551. "ค่าทางโลหิตวิทยาและสัณฐานของเซลล์วิทยาของเซลล์เม็ดเลือดปลาหมอไทย." หน่วยปฏิบัติการวิจัยภาวะเครียดและภาวะเครียดออกซิเดชั่นทางสัตว์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 595-600.

ศุภมาศ ศรีวงศ์พุก. 2552. "โรคและลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพเนื้อเยื่อของปลาทับทิมที่เลี้ยงในกระชังบริเวณแม่น้ำมูลจังหวัดบุรีรัมย์." *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์*. 1 : 58-66.

สันต์ นาตะสุวรรณ. 2548. **คู่มือปลาน้ำจืด**. กรุงเทพฯ: เพ็ท-แพล้น พับลิชชิ่ง จำกัด.

สุรนันท์ ตีระวัฒนวงศ์ และปฐมาภรณ์ เล็กประเสริฐ. 2551. **เซลล์และอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน**. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2553. "การชันสูตรโรคสเตรปโทคอคัสในปลานิล." มาตรฐานสินค้าเกษตร ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศ และงานทั่วไป เล่ม127. (150 ง) : 1-25.

สำนักจัดการคุณภาพน้ำ. 2547. "คุณภาพน้ำและการจัดการรายงานสถานการณ์มลพิษทางน้ำ." กรมควบคุมมลพิษ.

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2551. "การเพาะและอนุบาลปลานิล." เอกสารองค์ความรู้สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2555. **แนวทางการประกอบกิจการที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ประเภท การเลี้ยงสัตว์น้ำ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักงานกิจการโรงพิมพ์ องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สถาบันวัคซีนแห่งชาติ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2554. **หลักสูตรเชิงปฏิบัติการสำหรับเจ้าหน้าที่ เสริมสร้างภูมิคุ้มกันโรค**. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี : บริษัท สหมิตรพริ้นติ้งแอนด์พับลิสชิ่ง จำกัด.

หนึ่งฤทัย นิลศรี, แสงชัย นทีวรนาถ และ สุภาพร ขำจันทร์. 2557. "ฤทธิ์ของสารสกัดจากเปลือกลิ้นจี่ ต่อการยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือด." *วารสารนเรศวรพะเยา*. 7(3) : 196-203.

เอกพล วังคะฮาต และปวีณา รัตนเสนา. 2555. "ประสิทธิภาพของวัคซีนแบบฉีดที่ผลิตจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินในปลาดุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*)." *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*. 1: 50-64.

อดิเทพชัยย์การณ์ ภาชนะวรรณ. 2555. "สเตรปโตคอคคัส อะกาแลคเทีย แบคทีเรียก่อโรคในคน โคนม และปลา". *วารสารมหาวิทยาลัยนครพนม*. 2(3) : 10-17.

อนงค์ นุ่มละมัย, ปิยะพงศ์ โชติพันธุ์, สถาพร ดิเรกบุษราคัม และสุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี. 2556. "ความต้านทานโรคและการค้นหายีนที่มีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล." *วารสารวิจัยเทคโนโลยีประมง*. 7(2): 38-50

Al-Dohail, M.D., Hashim, R. and Alivu-Paiko, M. 2009. "Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling." *Aquaculture Research*. 40 : 1642-1652.

Ahmed, A.M., Faten, F.M. and Abdel-Rahman, A. 2012. "Ecomonitoring of Climate Impact on Tilapia niloticus Performance and Development of Different Histopathological Changes." *Global Veterinaria*. 8(3): 209-221.

APHA, AWWA, WEF. 2012. **Standard Methods for examination of water and wastewater**. 22nd ed. Washington: American Public Health Association

Amal M.N.A. and Zamri-Saad M. 2011. "Streptococcosis in Tilapia (*Oreochromis niloticus*)." *Tropical Agricultural Science*. 34 (2): 195 – 206..

Arnold, E.J. 2009. "Hematology of Fish : WBC and RBC Cell Morphology." Biological Programs Department, National Aquarium.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Balla, K.M., Lugo-Villarino, G. and Spitsbergen, J.M. 2017. "Eosinophils in the zebrafish: prospective isolation, characterization, andeosinophilia induction by helminth determinants." *Blood.* 16(9): 3944-3954. doi:10.1182/blood-2010-03-267419.

Baysa, P.R. and Whangchai, N. 2009. "Effect of culture season and stocking density on the growth and production of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii de Man*) raised in Northern Thailand." Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources Maejo University, Chiang Mai, Thailand.

Bhatnagar, A. 2013. "Water quality guidelines for the management of pond fish culture." *International Journal of Environmental Sciences*. 3(6): 1980-2009.

Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. "Routine haematological methods for use with fish blood". *Journal of Fish Biology*. 5 : 771–781.

Brauner, C.J. and Randall, D. 1996. "The Interaction Between Oxygen and Carbon Dioxide Movements in Fishes." *Comparative Biochemistry and Physiology.* 113(1) : 83-90.

Burka, J., Powell, M., Huntsman, L., Speare, D. and Wright, G. 1998. "Eosinophil Granule Cells of Salmonids: A Potential Target for Anti-inflamatory Therapy." Department of Anatomy and Physiology Atlantic Veteriany College, University of Prince Edward Island.

Dalmo, R.A., Ingebrigtsen, K. and Bogwald, J. 1997. "Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES)." *Journal of fish disease*. 20 : 241 –273.

Demers, N.E. and Bayne, C.J. 1997. "The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in Rainbow trout." *Development and Comparative Immunology.* 21(4): 363-373.

Ellis, A.E. 2001. "Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria." *Development and Comparative Immunology*. 25 : 827-839.

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.

Evans, J.J., Klesius, P.H., Pasnik, D.J, and Bohnsack, F. 2009. "Human *Streptococcus agalactiae* Isolate in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)." *Emerging Infectious Diseases Journal.* 5(15) : 774-776.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Fillatreau, S., Six, A., Magadan, S., Castro, R., Sunyer, J. O. and Boudinot, P. 2013. "The astonishing diversity of Ig classes and B cell repertoires in teleost fish." *Frotiers in Immunology*. 4(28) : 1-14.

Gudding, R., Lillehaug, A. and Evensen, O. 1999. "Recent developments in fish vaccinology." *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 72: 203-212.

Handeland, S.O., Imsland, A.K. and Stefansson, S.O. 2008. "The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts." *Aquaculture*. 283: 36-42.

Hoover, J.G., Mowafi, E.A., Simko, E., Kocal, E.T., Ferguson, W.H. and Hayes, A.M. 1998. "Plasma proteins of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) isolated by binding to lipopolysaccharide from *Aeromonas salmonicida*." *Comparative Biochemistry and Physiology*. 120 : 559-569

Huang, L.Y., Wang, K.Y., Xiao, D., Chen, D.F., Geng, Y., Wang, J., He, Y., Wang E.L., Huang, J.L. and Xiao, G.Y. 2014. "Safety and immunogenicity of an oral DNA vaccine encoding Sip of *Streptococcus agalactiae* from Nile tilapia *Oreochromis niloticus* delivered by live attenuated *Salmonella typhimurium*." *Fish and Shellfish Immunology*. 38(1) : 34-41.

Khaled, M.S. and Rasha, M.R. 2015. "Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*." *Fish and Shellfish Immunology*. 44:496-503.

Kirsten, S.K., Canova, S., Soveral, F.L., Friendrich, T.M., Frandoloso, R. and Kreutz, C.L. 2017. "Reduced expression of selective immune-related genes in silver catfish (*Rhamdia quelen*) monocytes exposed to atrazine." *Fish and Shellfish Immunology*. 64: 78-83.

Laing, K.J. and Hansen, J.D. 2011. "Fish T cells: recent advances through genomics." *Developmental and Comparative Immunology*. 35(12) : 1282-1295.

Lebien, T.W. and Tedder, T.F. 2008. B lymphocytes: How they develop and function. 155-162.

Li, L.P., Wang, R., Ling, W.W., Huang, T., Huang, Y., Luo, F.G., Lei, A.Y., Chen, M. and Gen, X. 2015. "Development of live attenuated *streptococcus agalactiae* vaccine for tilapia via continuous passage in vitro." *Fish and Shellfish Immunology* 45 : 955-963.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาผลประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Lie, O., Evensen, O., Sorensen, A. and Froysadal, E. 1989. "Study on lysozyme activity in some fish species". *Diseases of Aquatic Organisms*. 6 : 1-5.

Lina, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C. and Wy, F. 2015. "Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)." *Aquaculture.* 448 : 135-141.

Lowry, OH., Rosenbrough, NJ., Farr, A. and Randall, RJ. 1951. "Protein measurement with the Folin phenol reagent". *The Journal of Biological Chemistry*. 193 : 265-275.

Lugo-Villarino, G., Balla, K.M., Stachura, D.L.,Banuelos, K., Werneck, M.B. and Traver, D .2010. "Identification of dendritic antigenpresentingcells in the zebrafish." *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107(36) : 15850-15855.

Mali, R.P. and Chavan, P.N. 2014. "Temperature Dependent Haematological Alterations of Freshwater Cultivable Fish, *Oreochromis Mossambicus* from Nanded District (Ms) India." *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 3(11) : 17178-171780.

Mulero, I., García-Ayala, A., Meseguer, J. and Mulero, V. 2007. "Maternal transfer of immunity and ontogeny of autologous immunocompetence of fish: A minireview." *Aquaculture*. 268 : 244-250.

Navot, N., Kimmel, E. and Avtalion, R.R. 2004. "Enhancement of antigen uptake and antibody production in goldfish (*Carassius auratus*) following bath immunization and ultrasound treatment." *Vaccine.* 22 : 2660-2666

Pasnik, D.J., Evans, J.J., Panangala, V.S., Klesius, P.H., Shelby, R.A. and Shoemaker, C.A. 2005. "Antigenicity of *Streptococcus agalactiae* extracellular products and vaccine efficacy." *Fish Diseases.* 28 : 205-212.

Press, C. MCL. And Evensen, O. 1999. "The morphology of the immune system in teleost fishes." *Fish and Shellfish Immunology*. 9 : 309-318.

Pretto-Giordano, L.G., E.E. Müller, P. Klesius and V.G.D. Silva. 2010. "Efficacy of an experimentally inactivated *Streptococcus agalactiae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in Brazil." *Aquaculture Research*. 41: 1539-1544.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Raju, P.A.R.K., Reddy, M.S.R., Raghuram, P., Babu, G.S., Rambabu, T. and Kumar J. J. 2014. Alkalinity and Hardness Variation in Ground Waters of East Godavari District due to Aquaculture. International Journal of Fisheries and Aquatic. 1(6) : 121-127.

Romalde, L., Luzardo-Alva, A. Ravelo, L., . Toranzo, A.E. and Blanco-Mendez, J. 2004. "Oral immunization using alginate microparticles as a useful strategy for booster vaccination against fish lactoccocosis." *Aquaculture*. 236 : 119–129.

Prasad, S. and Areechon, N. 2010. "Efficacy of Formalin-killed *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus* sp. Vaccine in Red Tilapia." *Our Nature*. 8 : 231-240.

Sakasi, K. and Sawada, Y. 1980 "Determination of Ammonia in Estuary." *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 46(3) : 319.321.

Santhosh, B. and Singh, N.P 2007. "Guidelines for Water Quality Management for Fish Culture in Tripur." *Indian Council of Agricultural Research*. 1(6) : 121-127

Sichewo, P.R., Gono, R.K., Muzondiwa, J. and Mungwadzi, W. 2014. "Isolation and identification of pathogenic bacteria in edible fish: A case studyof rural aquaculture projects feeding livestock manure to fish in Zimbabwe." *International Journal of current Microbiology and Applied science*. 3: 897-904.

Scapigliati, G. 2013. "Functional aspects of fish lymphocytes." *Developmental and Comparative Immunology*. 41(2): 200-208.

Silva, T.M., and Neves, C.M. 2012. "Nuetrophils and macrophage: the main partners of Phagocyte cell systems." *Frontiers in Immunology*. 174(3): 1-6.

Stefano, G.F. 1997. "Eeffects of chlorine and ammonia compounds on the bioenergetic physiology of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Thesis Presented to The Faculty of Graduate Studies of The University of Guelph.

Suanyuk, N. and Itsaro, A. 2011. "Efficacy of inactivated *Streptococcus iniae* vaccine and protective effect of β-(1,3/1,6)–glucan on the effectiveness of vaccine in red tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*." *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 33(2) : 143.

Suanyuk, N., Kong, F., Ko, D., Gilbert, G. L. and K. Supamattaya. 2008. "Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp. and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand-relationship to human isolates." *Aquaculture*. 284 : 35-40.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Swain, P. and Nayak, S.K. 2009. "Role of maternally derived immunity in fish." *Fish and Shellfish Immunology*. 27 : 89-99.

Thaylor, J.D. and Miller, J.D. 1965. "A source of error in the cyanmethemoglobin method of determination of hemoglobin concentration in blood containing carbon monoxide." *The American Journal of Clinical Pathology*. 43(3): 265-271.

Toda, H., Saito, Y., Koike, T., Takizawa, F., Araki, K.,Yabu, T., Somamoto, T., Suetake, H., Suzuki, Y., Ototake, M., Moritomo, T. and Nakanishi, T. 2011. "Conservation of characteristics andfunctions of CD4 positive lymphocytes in ateleost fish." *Development and Comparative Immunology*. 35(6) : 650-660.

Uddin, N. and Al-Harbi, A. 2012. "Bacterial flora of polycultured common carp (*Cyprinus carpio*) and African catfish (*Clarias gariepinus*)." *International Aquatic Research*. 4 : 1-10.

Vidal, V.A., Lopez, R.F., Teles, M. and Mackenzie, S. 2016. "The response of fish to immunostimulant diets." *Fish and Shellfish Immunology*. 56 : 34-69.

Villegas, G.J., Garcia, G.E. and Mulero, V. 2016 "Role of histamine in the regulation of intestinal immunity in fish." Fish and Shellfish Immunology. 64 : 178-186

Wurts W.A. 2002. "Alkalinity and Hardness in Production Ponds." *World Aquaculture*. 33(1): 16-17.

Wurts W.A. and Durborow R.M. 1992. "Interactions of pH, Carbon Dioxide, Alkalinity and Hardness in Fish Ponds." *Southern Regional Aquaculture Center*. 464-467.

Yildirim, M., Lim, C., Wan, P. and Klesius, P.H. 2003. "Growth performance and immune response of channel catfish (*Ictalurus puctatus*) fed diets containing graded levels of gossypol–acetic acid." *Aquaculture*. 219 : 751-768.

Zappulli, V., Mazzariol, S., Cavicchioli, L., Petterino, C., Bargelloni L. amd Castagnaro M. 2005. "Fatal necrotizing fasciitis and myositis in a captive common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) associated with *Streptococcus agalactiae*." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : SAGE Journals*. 17 : 617–622.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สารเคมี

1) การเตรียมเดซี่ (Dacie's solution)

สารเคมี

1. Formaldehyde	10	มิลลิลิตร
2. Trisodium citrate	31.1	กรัม
3. Brilliant cresol blue	1.0	กรัม
4. Distrilled water	1	ลิตร

วิธีการ

1. นำ ไตรโซเดียมซิเตรต (Trisodium citrate, $Na_3C_6H_5O_7$) ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
2. นำบิลเลียนกลีซอลบลู (Brilliant cresol blue) ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
3. เติมฟอลมัลดีไฮด์ (Formaldehyde) ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
4. นำไปกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 45 ไมโครเมตร

2) การเตรียมเดรบกิ๊น (Drabkin's solution)

สารเคมี

1. $NaHCO_3$	1	กรัม
2. KCN	0.05	กรัม
3. $K_3Fe(CN)_6$	0.20	กรัม
4. น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีการ

1. ชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate, $NaHCO_3$) ปริมาณ 1.00 กรัม
2. โปแตสเซียมไซยาไนด์ (Potassium cyanide, KCN) ปริมาณ 0.05 กรัม
3. โปแตสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ (Potassium ferricyanide, $K_3Fe(CN)_6$) ปริมาณ 0.20 กรัม นำสารละลายทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3) การเตรียมสารลายโฟลิน (Folin reagent)

สารเคมี

1. Folin reagent	100	มิลลิลิตร
2. น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	900	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. เตรียมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 900 มิลลิลิตร (ที่ไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง)
2. ตวง Folin reagent 100 มิลลิลิตร ผสมในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 900 มิลลิลิตร
3. เก็บในขวดทึบแสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (Alkaline copper solution)

สารเคมี

1. Na_2CO_3	5	กรัม
2. NaOH	10	กรัม
3. $C_4H_4Na_2O_6$	0.1	กรัม
4. $CuSO_4.5H_2O$	0.05	กรัม

วิธีการ

1. เตรียม 1% โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2CO_3) ใน 0.5 M NaOH
   - โดยชั่ง Na_2CO_3 ปริมาณ 5 กรัมและ NaOH ปริมาณ 10 กรัม ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 500 มิลลิลิตร
2. เตรียม 1% เตรียม 1% โซเดียมทาร์เทต (Sodium tartrate, $C_4H_4Na_2O_6$)
   - ชั่ง $C_4H_4Na_2O_6$ ปริมาณ 0.1 กรัมในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เตรียม 0.5% คอปเปอร์ ซัลเฟตเพนทาไฮเดรต (Copper Sulfate Pentahydrate)
   - โดยชั่ง $CuSO_4.5H_2O$ 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายในข้อ 1, 2 และ 3 ผสมให้เข้ากัน

5) 12% โพลีเอทธีลีนไกลคอล (12% Polyethyleneglycol)

สารเคมี

1. $C_3H_8O_2$	60	กรัม
2. น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	1	ลิตร

วิธีการ

ชั่งโพลีเอทธีลีนไกลคอล (Polyethyleneglycol, $C_3H_8O_2$) ปริมาณ 60 กรัม ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

6) PBS

สารเคมี

1. $NaH_2PO_4.2H_2O$	0.876	กรัม
2. $Na_2HPO_4.2H_2O$	2.56	กรัม
3. NaCl	8.77	กรัม

วิธีการ

1. ชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium dihydrogen phosphate,NaH2PO4·2H2O) ปริมาณ 0.876 กรัม

2. ชั่งไดโซเดียมฟอสเฟต (Disodium phosphate, Na2HPO4•2H2O) ปริมาณ 2.56 กรัม

3. ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) ปริมาณ 8.77 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.2 จากนั้นฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) การเตรียมสารทดสอบกิจกรรมไลโซไซม์ (Lysoplate)

สารเคมี

1. Na_2HPO_4	8.903	กรัม
2. Citric acid	4.22	กรัม
3. NaCl	0.90	กรัม
4. Agar	17.0	กรัม
5. *Micrococcus Lysodeikticas*, ATCC	0.025	กรัม

วิธีการ

1. เตรียมฟอสเฟตซิเตรตบัฟเฟอร์ (Phosphate Citrate buffer)

- ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Di-sodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4) 8.903 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แบ่งออกมา 345 มิลลิลิตร
- ชั่งกรดซิตริก (Citric acid) 4.22 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร แบ่งปริมาตร 145 มิลลิลิตร นำไปผสมฟอสเฟตซิเตรตบัฟเฟอร์ ได้ปริมาตรรวมทั้งหมด 490 มิลลิลิตร
- ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ให้ได้ประมาณ 5.8
- ใส่โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) ปริมาณ 0.45 กรัม และวุ้น (Agar) ปริมาณ 8.5 กรัม ลงไป
- ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. เตรียมเชื้อ *Micrococcus Lysodeikticus* ATCC ปริมาณ 0.025 กรัม ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3. นำเชื้อที่เตรียมผสมในฟอสเฟตซิเตรตบัฟเฟอร์ปริมาตร 490 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรรวมทั้งหมด 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเทเพลท และเจาะวุ้น เพลทละ 6 หลุม

8) การเตรียม Giemsa stock solution

สารเคมี

1. Giemsa powder	3.8	กรัม
2. Methyl alcohol	75	มิลลิลิตร
3. Glycerin	25	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ผสม Giemsa powder ลงใน glycerin คนให้เข้ากัน นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วจึงเติม methyl alcohol

2. เจือจาง Giemsa stock ในสัดส่วน 1 ต่อ 10 (Giemsa stock ต่อ methyl alcohol)

9) การเตรียม Wright Stain

สารเคมี

1. Wright 's	1	กรัม
2. Methyl alcohol	600	มิลลิลิตร

วิธีการ

บดผงสี Wright' s ให้ละเอียด ผสมลงใน Methyl alcohol ทิ้งไว้ 1 คืน กรองก่อนใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11) การเตรียมฮีโมโกลบินมาตรฐาน (Standard hemoglobin)

วิธีการ

1. ชั่ง hemoglobin 0.2 กรัม ละลายใน Drabkin's solution 1 มิลลิลิตร
2. เตรียมตามความเข้มข้น ดังนี้

ตารางที่ ก.1 การเตรียมฮีโมโกลบินมาตรฐาน (standard hemoglobin)

ความเข้มข้นฮีโมโกลบินมาตรฐาน (mg/ml)	Stock hemoglobin(µl)	Drabkin's solution (µl)	ปริมาตรรวม(µl)
0	0	100	100
20	10	90	100
40	20	80	100
60	30	70	100
80	40	60	100
100	50	50	100
120	60	40	100
140	70	30	100
160	80	20	100
180	90	10	100
200	100	0	100

3. ดูดฮีโมโกลบินมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 20 ไมโครลิตร
4. เติม Drabkin's solution 5 มิลลิลิตร ในแต่ละความเข้มข้น
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
6. เขียนกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12) การเตรียมความเข้มข้นมาตรฐานของ Hen egg white lysozyme

วิธีการ

1. ชั่ง Hen egg white lysozyme 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมตามความเข้มข้น ดังนี้

ตารางที่ ก.2 การเตรียมความเข้มข้นมาตรฐานของ Hen egg white lysozyme

ความเข้มข้นมาตรฐาน ของ Hen egg white lysozyme (µg/ml)	Hen egg white lysozyme (µl)
10	1.0
25	2.5
50	5.0
75	7.5
100	10.0
125	12.5
150	15.0
300	30.0
400	40.0
500	50.0
1000	100.0

3. เติมแต่ละความเข้มข้นลงใน lysoplate ที่เจาะหลุมไว้ และเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 5 ไมโครลิตร ในแต่ละตัวอย่าง บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
4. วัดระดับความเข้มข้นมาตรฐานจาก clear zone บน lysoplate
5. เขียนกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13) การเตรียมแอลบูมินมาตรฐาน (Standard BSA)

วิธีการ

1. เตรียมแอลบูมินความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (ชั่ง albumin 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร)

2. เตรียมตามความเข้มข้น ดังนี้

ตารางที่ ก.3 การเตรียมแอลบูมินมาตรฐานมาตรฐาน (standard BSA)

ความเข้มข้นแอลบูมินมาตรฐาน (µg/ml)	Stock hemoglobin(ml)	น้ำกลั่น (ml)	ปริมาตรรวม(ml)
50	0.1	0.9	1
150	0.3	0.7	1
250	0.5	0.5	1
350	0.7	0.3	1
450	0.9	0.1	1
500	1	0	1

3. เติม alkaline copper 2 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละความเข้มข้น เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที

4. เติม folin reagent 3 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละความเข้มข้น เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

6. เขียนกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
รูปแหล่งที่ทำการศึกษา

รูปที่ ข.1 ชุดการทดลองที่ 1 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (APV)

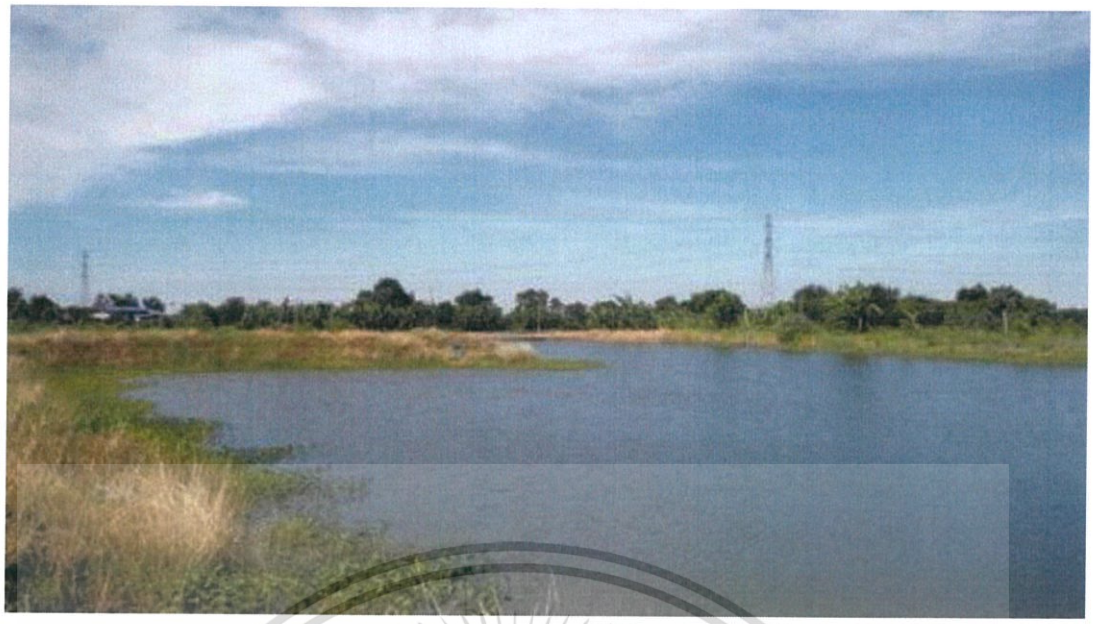
รูปที่ ข.2 ชุดการทดลองที่ 2 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (APN)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.3 ชุดการทดลองที่ 3 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (PPV)

รูปที่ ข.4 ชุดการทดลองที่ 4 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (PPN)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.5 ชุดการทดลองที่ 5 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (PSV)

รูปที่ ข.6 ชุดการทดลองที่ 6 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (PSN)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข.7 ชุดการทดลองที่ 7 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ได้รับวัคซีน (TSV)

รูปที่ ข.8 ชุดการทดลองที่ 8 บ่อเลี้ยงปลานิลที่ไม่ได้รับวัคซีน (TSN)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

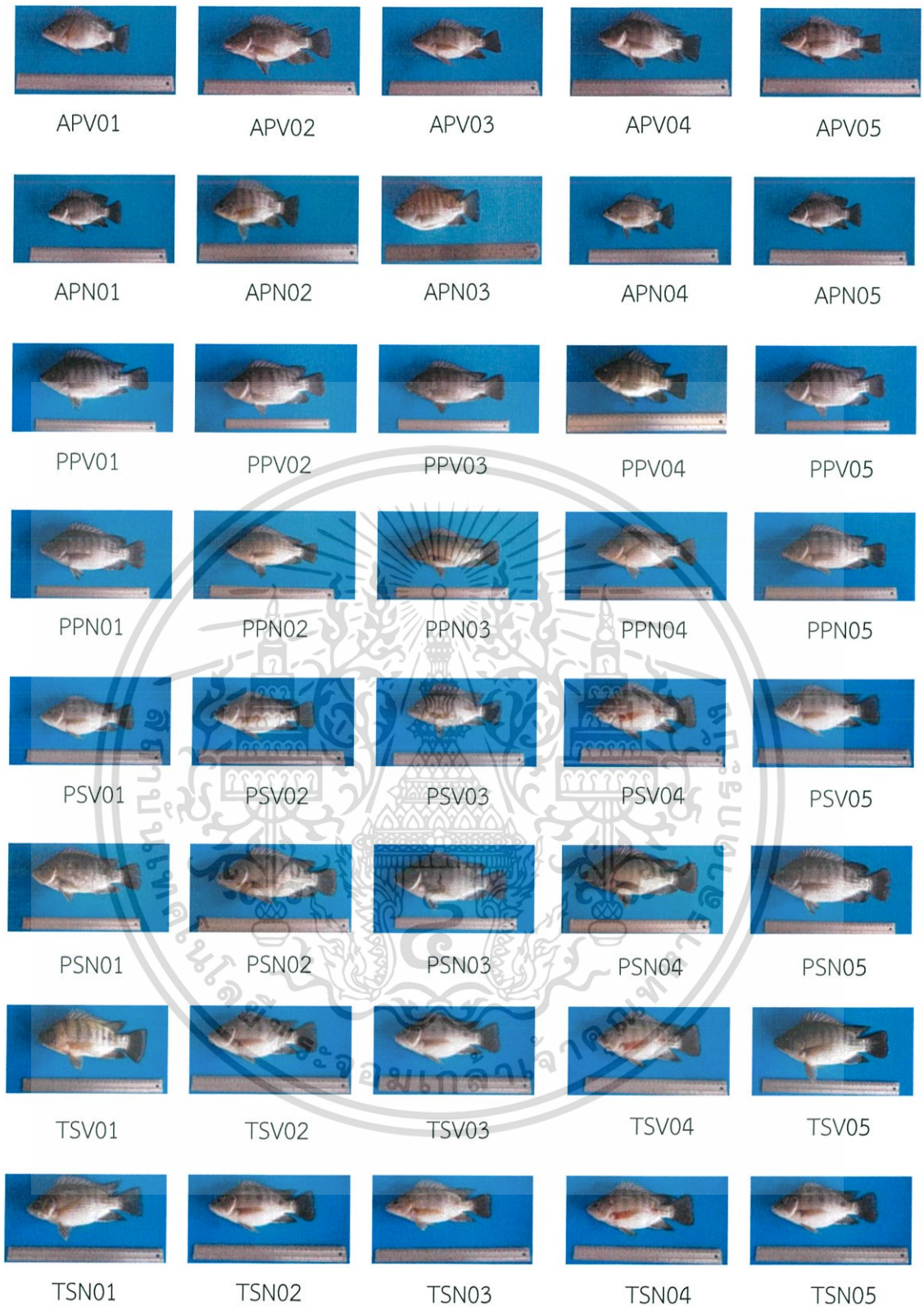
ภาคผนวก ค
รูปตัวอย่างปลานิลที่ใช้ในการศึกษา

รูปที่ ค.1 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ค.2 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 2 เดือนมีนาคม 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.3 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 3 เดือนเมษายน 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ค.4 ตัวอย่างปลานิลครั้งที่ 4 เดือนพฤษภาคม 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ตารางแสดงผลอัตราการเจริญ ค่าโลหิตวิทยา และค่าระบบภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
APV	1	143	19.20	APN	1	147	18.80
	2	168	19.20		2	131	17.20
	3	161	18.20		3	98	16.30
	4	153	17.70		4	104	18.00
	5	127	17.80		5	82	16.10
	6	116	16.90		6	106	17.00
	7	136	18.50		7	98	16.90
	8	155	18.90		8	83	15.90
	9	102	17.00		9	99	16.40
	10	134	19.00		10	90	16.30
PPV	1	170	21.00	PPN	1	231	22.50
	2	189	21.00		2	144	19.70
	3	199	21.50		3	313	24.40
	4	202	21.60		4	241	22.60
	5	216	22.90		5	115	25.70
	6	220	22.80		6	118	18.00
	7	168	20.00		7	179	15.90
	8	171	19.70		8	91	16.50
	9	349	17.30		9	93	17.00
	10	120	18.00		10	113	18.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
PSV	1	238	18.60	PSN	1	131	22.70
	2	240	19.40		2	151	22.30
	3	276	19.10		3	149	23.40
	4	262	20.10		4	156	22.50
	5	232	20.40		5	163	22.00
	6	207	17.80		6	127	22.00
	7	240	20.10		7	170	22.60
	8	268	22.30		8	214	23.00
	9	239	16.50		9	82	21.50
	10	213	17.30		10	122	21.20
TSV	1	111	17.80	TSN	1	153	18.00
	2	148	18.00		2	144	19.30
	3	136	18.50		3	185	20.50
	4	181	20.50		4	200	20.70
	5	108	17.80		5	142	20.20
	6	108	17.50		6	132	18.80
	7	98	17.00		7	146	19.80
	8	110	17.60		8	118	18.80
	9	92	16.80		9	109	17.90
	10	107	17.50		10	111	18.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

ในเดือนมีนาคม

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
APV	1	252	23.40	APN	1	154	18.80
	2	242	22.80		2	142	16.90
	3	169	21.00		3	156	19.50
	4	181	21.00		4	130	17.50
	5	212	21.30		5	139	18.20
	6	195	21.60		6	151	17.80
	7	202	21.50		7	144	19.00
	8	159	19.80		8	114	17.90
	9	213	21.80		9	139	18.80
	10	180	21.10		10	139	18.50
PPV	1	415	26.50	PPN	1	421	27.00
	2	362	24.90		2	327	25.20
	3	282	26.60		3	411	24.30
	4	378	28.00		4	482	25.50
	5	365	25.50		5	397	25.60
	6	472	27.20		6	454	28.80
	7	345	26.40		7	449	25.20
	8	406	25.20		8	348	26.50
	9	504	26.00		9	377	28.30
	10	461	21.80		10	221	26.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนมีนาคม

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
PSV	1	383	23.40	PSN	1	489	28.00
	2	288	23.50		2	478	27.20
	3	348	25.60		3	428	26.40
	4	246	23.20		4	370	25.60
	5	422	26.10		5	445	27.00
	6	303	23.90		6	410	26.50
	7	204	21.80		7	485	28.50
	8	446	26.00		8	495	27.30
	9	320	25.00		9	414	27.00
	10	234	22.90		10	283	24.30
TSV	1	394	25.10	TSN	1	359	25.30
	2	411	25.50		2	286	23.70
	3	375	25.90		3	324	24.90
	4	278	23.00		4	353	25.90
	5	358	25.40		5	370	25.30
	6	363	26.00		6	340	25.80
	7	419	26.50		7	348	24.90
	8	304	24.50		8	277	23.20
	9	405	25.90		9	266	23.10
	10	278	23.40		10	200	21.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนเมษายน

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
APV	1	294	23.00	APN	1	162	19.00
	2	236	21.70		2	126	18.00
	3	220	20.50		3	131	17.00
	4	289	23.00		4	176	20.00
	5	287	22.50		5	126	18.20
	6	256	21.00		6	166	20.10
	7	212	21.50		7	117	16.00
	8	231	21.00		8	155	18.00
	9	264	22.00		9	148	18.30
	10	295	23.00		10	126	17.70
PPV	1	575	28.70	PPN	1	392	28.00
	2	727	30.00		2	362	23.50
	3	473	28.50		3	312	23.00
	4	519	26.50		4	591	29.50
	5	542	27.50		5	384	24.50
	6	750	30.50		6	427	25.00
	7	431	26.50		7	523	26.50
	8	527	27.50		8	414	27.00
	9	733	30.50		9	402	24.00
	10	329	23.10		10	249	21.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนเมษายน

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
PSV	1	281	22.00	PSN	1	636	30.00
	2	348	23.50		2	306	31.20
	3	283	22.50		3	694	35.50
	4	314	22.50		4	341	24.50
	5	305	24.50		5	474	25.60
	6	234	21.00		6	490	27.50
	7	300	23.00		7	268	23.00
	8	258	21.00		-	-	-
	9	224	21.50		-	-	-
	10	200	20.50		-	-	-
TSV	1	602	29.30	TSN	1	372	24.60
	2	438	26.50		2	437	26.50
	3	512	28.20		3	365	25.20
	4	435	27.00		4	214	23.00
	5	-	-		5	315	23.50
	6	-	-		6	224	22.80
	7	-	-		7	-	-
	8	-	-		8	-	-
	9	-	-		9	-	-
	10	-	-		10	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
APV	1	262	23.30	APN	1	147	18.40
	2	259	22.50		2	167	18.00
	3	309	24.00		3	176	20.60
	4	270	23.00		4	140	18.70
	5	262	22.50		5	226	21.30
	6	372	26.00		6	149	18.00
	7	296	23.50		7	136	17.50
	8	382	23.30		8	161	19.70
	9	346	24.50		9	216	21.30
	10	234	22.70		10	162	19.10
PPV	1	389	24.80	PPN	1	452	26.40
	2	724	31.00		2	498	27.80
	3	214	21.30		3	478	28.50
	4	431	26.50		4	422	27.80
	5	767	30.00		5	750	33.00
	6	684	30.50		6	518	29.60
	7	490	27.20		7	629	30.90
	8	503	27.50		8	445	27.00
	9	450	26.00		9	366	23.50
	10	354	26.50		10	212	23.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 (ต่อ) ค่าน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)	Pond	No.	Weight(g)	Length(cm)
PSV	1	711	31.50	PSN	1	608	29.50
	2	905	32.00		2	566	28.20
	3	426	26.00		3	402	26.50
	4	806	30.00		4	598	29.00
	5	708	31.00		5	282	23.50
	6	546	29.00		6	299	22.50
	7	340	24.50		7	218	21.50
	8	650	29.50		8	605	29.30
	9	460	25.80		9	296	22.50
	10	469	27.00		10	346	24.00
TSV	1	705	30.50	TSN	1	518	28.50
	2	665	30.60		2	434	26.40
	3	571	29.00		3	533	28.40
	4	710	30.20		4	582	28.50
	5	664	30.00		5	560	30.00
	6	611	31.60		6	493	28.20
	7	473	28.10		7	504	27.90
	8	677	30.60		8	536	28.30
	9	318	24.80		9	468	28.20
	10	694	31.20		10	542	29.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2 ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APV	1	1.31	0.92	36	10.87	21.88	252.15	98.50	11.32
	2	1.14	0.74	37	10.45	17.55	209.90	91.75	7.19
	3	0.97	0.83	31	12.80	18.16	212.15	111.25	3.95
	4	1.06	0.67	33	12.32	20.39	136.90	61.00	10.73
	5	1.08	0.98	30	9.74	10.82	131.40	72.75	3.95
	6	0.93	0.64	39	10.02	11.19	215.65	102.00	1.45
	7	0.99	0.53	28	14.00	21.12	165.40	95.25	12.20
	8	1.07	0.53	28	12.15	17.21	211.40	87.25	10.29
	9	0.99	0.52	29	11.17	11.12	80.90	14.00	3.36
	10	1.05	0.59	34	10.63	13.81	113.40	32.00	3.51

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APN	1	1.06	2.28	34.00	8.69	16.51	128.90	81.25	4.37
	2	1.05	0.80	34.50	8.86	18.80	115.40	57.00	5.45
	3	0.98	1.95	32.50	10.80	13.95	126.65	51.00	6.83
	4	1.02	0.85	25.00	7.65	14.14	148.65	39.00	6.22
	5	0.96	0.95	29.50	8.11	13.51	143.15	46.00	0.54
	6	0.93	0.75	32.00	10.91	11.74	118.65	72.75	1.46
	7	1.04	1.48	34.00	11.60	14.53	53.40	13.25	1.46
	8	1.06	1.88	35.00	12.50	15.04	106.15	37.00	1.77
	9	1.05	1.68	29.00	9.80	13.39	137.15	50.50	6.83
	10	1.01	1.63	33.50	12.10	15.93	104.65	57.50	9.44

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPV	1	0.96	1.73	38.00	13.61	14.86	136.65	95.00	26.45
	2	1.29	1.38	35.00	12.08	10.03	191.65	143.50	25.16
	3	1.12	1.13	37.00	10.45	13.36	175.90	129.50	23.55
	4	1.14	1.23	37.50	11.43	21.27	150.40	84.75	28.72
	5	1.10	1.23	34.00	10.43	3.50	137.90	67.00	40.52
	6	1.12	1.18	39.50	11.54	15.16	157.65	106.00	46.36
	7	1.26	1.08	35.00	11.61	17.28	144.65	97.50	32.30
	8	1.22	1.05	31.00	11.86	11.60	172.65	92.00	41.03
	9	1.11	1.33	30.50	9.45	8.60	127.65	64.00	37.38
	10	1.23	1.03	30.00	14.69	13.59	158.15	95.00	19.67

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPN	1	0.97	0.86	30.00	10.17	18.98	132.15	73.50	19.01
	2	1.12	0.69	32.00	10.02	11.60	260.40	163.75	19.69
	3	1.10	0.56	36.00	10.97	15.22	96.40	53.75	25.00
	4	1.12	0.61	38.00	11.69	15.78	111.40	65.75	26.92
	5	1.11	0.61	38.00	12.71	10.88	135.65	79.75	19.16
	6	1.12	0.59	33.00	9.60	13.49	92.90	59.25	15.28
	7	1.09	0.54	39.00	10.93	14.67	122.65	70.50	9.94
	8	1.02	0.53	39.00	10.21	5.83	116.40	68.00	15.12
	9	1.03	0.66	33.00	8.08	5.89	135.40	90.00	20.60
	10	1.08	0.51	43.00	12.17	8.56	159.65	93.50	7.57

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSV	1	1.04	0.76	35.00	13.69	13.02	104.40	58.50	21.828
	2	0.91	0.70	39.00	12.60	11.54	142.90	52.75	17.190
	3	1.21	0.93	35.00	12.86	11.06	143.40	36.75	21.555
	4	0.99	0.90	32.00	13.60	10.84	231.65	118.75	21.692
	5	1.22	0.83	32.00	13.49	11.91	228.90	119.00	20.873
	6	1.01	0.73	34.00	12.47	8.74	166.15	68.00	22.101
	7	1.04	0.73	41.00	14.41	14.02	263.15	128.50	30.150
	8	0.93	0.55	38.00	13.56	24.06	221.90	126.00	27.285
	9	0.99	1.01	28.00	13.08	14.44	156.65	55.50	31.105
	10	0.95	0.93	30.00	13.21	8.59	104.40	56.75	18.417

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSN	1	0.88	1.04	29.00	10.34	10.86	116.65	69.50	24.63
	2	0.94	0.88	30.00	12.19	3.19	131.15	84.25	22.42
	3	0.94	0.87	33.00	13.58	13.32	192.15	81.25	32.51
	4	0.80	0.60	32.00	16.30	14.58	167.40	66.75	27.15
	5	0.92	0.65	32.00	11.60	15.72	174.15	74.50	11.22
	6	0.84	4.75	34.00	12.30	10.83	180.15	65.25	2.39
	7	0.80	0.65	33.00	12.93	13.75	202.40	97.25	2.08
	8	1.04	0.55	32.00	15.08	11.86	196.40	85.25	2.08
	9	0.63	0.79	33.00	11.73	13.38	164.65	71.00	0.81
	10	0.87	0.95	33.50	11.95	14.95	121.90	70.75	4.44

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSV	1	1.06	0,65	34.00	12.24	16.14	123.65	75.50	33.30
	2	1.07	0.56	38.00	13.11	19.83	200.15	107.00	28.28
	3	0.92	0.79	36.00	14.97	14.24	193.15	97.50	31.52
	4	1.10	0.73	38.00	15.76	24.89	192.40	77.00	39.45
	5	1.00	0.88	34.00	13.28	17.45	148.90	54.50	40.58
	6	0.95	0.84	31.00	12.32	23.44	149.65	56.50	44.95
	7	1.07	0.68	33.00	13.49	13.08	51.90	-64.00	40.26
	8	0.79	0.55	37.00	13.34	14.12	186.40	75.75	7.07
	9	1.00	0.58	38.00	14.43	11.74	185.90	85.50	20.67
	10	1.01	0.60	40.00	12.89	8.82	181.40	75.25	11.28

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSN	1	1.00	0.79	38.00	13.50	18.17	146.15	45.50	19.26
	2	0.99	1.46	35.00	12.84	16.27	184.65	73.75	18.15
	3	1.10	0.60	35.00	12.04	14.93	160.65	69.25	25.75
	4	0.81	0.50	35.00	13.43	17.16	160.15	58.75	30.98
	5	0.94	0.50	32.00	12.21	20.26	142.15	36.50	27.18
	6	1.04	0.90	28.00	13.32	16.97	133.15	47.75	26.39
	7	1.06	0.54	29.00	13.74	13.78	143.15	42.50	8.34
	8	0.97	0.96	28.00	11.65	12.70	192.15	97.25	7.23
	9	1.00	0.75	31.00	11.49	19.10	206.90	115.00	12.93
	10	1.02	0.79	31.00	13.11	13.56	131.65	46.00	19.89

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APV	1	1.07	1.30	28.00	11.58	9.60	136.40	74.25	17.05
	2	0.97	0.58	24.00	11.08	11.00	203.65	127.25	23.14
	3	1.10	2.28	25.00	10.05	10.71	134.65	67.00	21.69
	4	1.03	2.29	23.00	9.52	9.61	186.15	104.50	23.81
	5	1.02	1.59	23.00	9.91	13.08	217.90	121.50	17.45
	6	0.99	2.06	27.00	12.55	15.33	139.40	61.00	23.81
	7	1.04	0.78	29.00	11.08	11.02	167.40	105.00	26.59
	8	1.05	1.26	26.00	10.91	11.62	168.15	100.00	22.61
	9	1.06	0.81	29.00	11.44	12.83	175.90	89.50	23.81
	10	1.04	0.78	29.00	10.30	9.13	177.65	98.50	27.65

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APN	1	1.06	0.51	25.00	12.08	12.14	163.65	86.00	10.38
	2	1.00	2.55	33.00	11.99	13.56	180.15	93.50	14.21
	3	1.07	0.49	31.00	10.69	14.51	159.90	79.50	17.21
	4	1.03	0.79	29.00	10.47	13.61	166.40	103.00	22.71
	5	1.06	1.13	28.00	9.80	13.14	200.15	107.25	11.88
	6	1.03	1.06	27.00	10.36	11.05	166.40	90.00	12.38
	7	1.05	1.23	30.00	9.44	11.72	170.40	76.00	8.22
	8	1.05	0.65	29.00	11.19	10.54	147.90	65.75	5.39
	9	1.07	1.05	26.00	10.63	13.31	142.15	75.50	0.39
	10	1.04	0.79	30.00	10.13	12.15	168.90	107.25	3.72

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPV	1	1.15	0.40	36.00	12.22	18.11	196.65	118.25	22.30
	2	1.12	0.39	31.00	12.13	19.97	247.90	157.50	17.11
	3	1.06	0.98	30.00	10.72	17.52	170.65	137.75	22.58
	4	1.03	0.89	29.00	11.44	13.68	154.90	76.00	20.34
	5	1.11	0.64	29.00	11.52	18.97	176.90	74.00	27.63
	6	1.15	0.95	31.00	10.36	18.01	188.90	90.25	34.34
	7	1.07	0.64	27.00	10.24	18.12	208.15	128.00	35.12
	8	1.01	0.84	26.00	10.72	18.11	171.65	74.75	35.37
	9	1.03	0.95	28.00	9.97	16.02	233.90	151.00	39.32
	10	1.06	0.90	29.00	10.61	14.84	201.40	107.75	25.11

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPN	1	1.24	1.31	33.00	15.94	16.32	195.15	95.25	19.93
	2	0.80	0.69	33.00	13.19	14.02	170.40	53.00	27.89
	3	1.08	1.00	30.00	12.99	8.56	169.65	56.25	33.66
	4	1.01	1.23	30.00	12.36	22.23	137.90	34.50	36.63
	5	1.24	0.68	33.00	12.94	14.28	132.65	50.75	28.20
	6	1.33	1.58	30.00	12.52	12.68	176.65	105.50	35.22
	7	1.23	1.65	37.00	15.08	15.29	170.90	23.00	10.87
	8	1.20	1.83	28.00	11.77	13.62	173.15	81.75	10.72
	9	1.18	1.85	36.00	14.66	16.28	234.15	115.25	6.04
	10	1.16	1.31	34.00	13.63	19.38	201.65	80.75	9.31

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSV	1	1.08	1.00	29.00	11.11	18.76	89.90	55.00	22.87
	2	1.18	1.64	33.00	11.83	13.20	279.15	161.00	36.21
	3	1.11	1.46	31.00	11.77	15.51	189.40	66.25	33.04
	4	1.08	1.30	31.00	11.74	17.29	156.90	24.50	32.27
	5	1.13	0.69	31.00	12.30	16.43	138.15	44.75	27.57
	6	1.09	2.01	29.00	10.08	16.10	169.15	67.00	25.03
	7	1.10	3.74	27.00	12.44	12.23	207.15	84.75	33.42
	8	1.05	0.45	26.00	10.58	14.23	137.40	94.25	28.46
	9	1.24	0.53	32.00	12.86	12.83	171.65	80.50	29.73
	10	1.19	0.74	33.00	10.94	14.50	165.40	57.75	32.42

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSN	1	1.24	1.98	40.00	14.52	14.38	189.90	43.75	26.10
	2	1.15	1.20	36.00	13.08	19.46	135.40	23.25	19.29
	3	1.32	1.51	37.00	13.27	17.06	142.15	17.25	29.44
	4	1.32	1.46	34.00	13.02	11.10	151.15	68.00	26.77
	5	1.11	1.19	37.00	13.61	17.99	157.15	73.75	14.08
	6	1.31	1.38	39.00	13.49	14.63	134.90	87.00	23.56
	7	1.17	0.63	37.00	12.02	15.35	191.15	72.75	16.75
	8	1.21	1.41	34.00	11.97	16.50	173.90	85.50	23.96
	9	1.08	3.86	33.00	11.36	15.14	148.15	48.75	27.17
	10	1.14	3.04	27.00	10.02	15.01	132.40	48.75	27.97

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSV	1	1.04	1.68	36.00	14.80	16.37	193.65	95.00	35.32
	2	1.07	2.20	35.00	16.22	19.89	165.40	91.25	26.25
	3	1.12	2.15	29.00	12.13	13.93	162.90	32.25	26.67
	4	0.90	1.35	32.00	13.36	15.30	162.40	83.50	23.19
	5	1.07	1.70	27.00	12.02	17.54	138.65	52.00	20.82
	6	1.08	2.28	32.00	14.27	15.97	164.90	65.25	16.64
	7	1.08	1.00	35.00	14.30	13.69	177.40	65.25	16.64
	8	1.10	1.88	27.00	11.02	11.65	169.65	59.75	20.26
	9	1.06	1.38	36.00	13.77	13.99	185.40	129.25	19.42
	10	1.12	1.78	31.00	12.33	13.68	191.90	102.25	18.03

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSN	1	1.26	1.14	43.00	16.02	11.14	153.40	81.00	20.68
	2	1.17	1.24	38.00	14.02	16.92	168.65	61.50	13.26
	3	1.18	1.00	43.00	14.94	15.45	146.40	43.50	10.30
	4	1.11	1.30	39.00	15.44	11.11	158.15	75.25	20.14
	5	1.18	1.38	37.00	14.83	13.53	155.65	36.00	17.45
	6	1.11	1.33	42.00	15.08	12.89	171.15	25.75	22.30
	7	1.09	1.98	40.00	14.55	13.45	163.15	79.75	30.94
	8	1.00	1.63	38.00	13.13	15.04	159.40	72.25	25.13
	9	1.10	1.33	38.00	14.72	17.29	212.90	93.50	26.35
	10	1.07	1.21	40.00	10.74	15.98	185.90	107.00	23.79

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APV	1	1.05	7.75	33	10.19	16.39	71.90	58.50	17.56
	2	1.13	0.84	30	7.91	17.70	171.90	130.00	32.95
	3	1.18	0.56	33	10.91	14.26	113.65	97.00	15.82
	4	1.04	0.70	28	10.97	19.68	156.40	105.00	17.42
	5	1.12	1.21	30	9.38	17.13	323.40	215.75	13.21
	6	1.04	1.65	26	10.94	22.39	121.90	97.75	15.09
	7	1.04	0.65	26	10.61	22.19	289.15	194.00	14.37
	8	1.12	0.56	37	9.22	18.81	200.40	134.50	14.66
	9	1.16	1.16	22	11.19	22.83	130.40	78.25	13.21
	10	1.10	0.69	30	9.58	18.52	152.65	102.75	16.26

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC ($cell/mm^3 \times 10^6$)	WBC ($cell/mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APN	1	1.34	1.81	29	11.86	15.22	162.90	80.50	5.39
	2	1.11	1.10	31	10.86	15.66	223.40	115.75	9.22
	3	0.89	0.51	33	9.13	16.86	173.90	119.00	17.88
	4	1.02	0.58	30	10.52	19.09	155.15	86.75	5.72
	5	1.11	0.79	26	9.58	15.36	88.65	54.75	5.22
	6	2.07	0.59	31	9.91	9.34	140.90	107.75	4.72
	7	1.15	0.71	31	9.22	3.91	152.90	119.50	12.72
	8	1.07	0.66	28	10.74	6.31	134.65	89.50	6.22
	9	1.09	0.80	24	9.55	10.71	250.65	207.00	7.72
	10	0.95	0.52	29	10.61	11.68	149.90	105.00	2.72

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPV	1	1.13	0.84	19	14.55	13.03	246.65	164.50	11.57
	2	1.05	0.78	19	14.02	23.34	222.15	216.25	10.47
	3	1.05	1.58	33	13.11	11.92	215.40	209.75	24.23
	4	1.33	0.95	34	13.38	16.77	235.65	156.50	6.44
	5	1.00	0.91	40	12.13	18.22	216.90	183.50	6.38
	6	1.11	0.65	31	13.97	13.60	158.65	62.00	14.16
	7	1.13	0.61	36	13.66	17.71	181.65	74.25	41.60
	8	1.02	0.85	31	14.91	13.23	197.90	113.00	30.96
	9	1.10	0.81	40	14.19	10.69	225.90	123.75	8.55
	10	1.07	0.58	36	12.88	31.08	169.65	93.75	18.59

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPN	1	1.31	0.90	37	17.47	28.54	264.40	113.75	19.41
	2	1.23	1.05	34	14.91	17.51	216.40	115.00	33.48
	3	1.07	1.09	31	14.08	22.39	262.40	121.25	32.68
	4	1.32	1.24	31	11.38	22.02	233.65	128.50	24.98
	5	1.26	1.21	30	13.47	26.93	172.65	109.25	14.63
	6	1.44	1.11	31	13.97	35.36	234.65	123.00	30.03
	7	1.13	1.28	22	12.66	8.32	222.15	148.00	23.52
	8	1.07	1.88	36	13.63	18.29	212.90	128.25	24.32
	9	1.29	1.31	37	13.86	13.95	201.65	116.25	24.32
	10	1.08	1.54	33	12.80	18.26	250.15	155.25	30.69

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSV	1	1.13	0.76	35	11.91	15.90	163.40	100.25	21.56
	2	1.08	0.65	33	11.02	21.18	160.40	66.50	26.45
	3	1.08	0.68	33	10.27	9.02	186.15	148.50	28.75
	4	1.22	0.85	31	11.47	16.33	201.40	92.25	29.66
	5	1.06	1.69	45	11.27	15.44	165.90	82.75	20.34
	6	1.00	0.90	34	12.63	13.80	253.15	178.00	23.55
	7	0.99	1.09	34	12.74	25.99	191.15	121.50	19.72
	8	1.10	0.92	39	11.88	15.07	182.65	112.75	21.41
	9	1.02	1.09	33	12.38	27.84	184.65	104.75	29.05
	10	1.06	1.06	33	11.74	15.63	156.15	52.00	19.11

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSN	1	0.73	0.79	42	17.91	16.28	273.90	161.50	17.60
	2	1.00	1.73	32	15.36	14.23	197.65	82.00	11.94
	3	1.05	0.69	33	14.77	23.73	181.40	41.75	13.22
	4	0.97	0.49	34	11.16	14.92	211.65	123.75	16.47
	5	0.74	0.60	29	13.94	18.92	178.65	147.00	11.24
	6	0.71	0.44	36	13.69	14.32	114.30	1.40	16.61
	7	0.57	0.49	29	9.99	19.74	223.15	133.00	29.33
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
	1	1.35	3.31	30	13.13	19.45	225.40	133.00	24.73
	2	1.14	8.55	25	11.83	20.74	176.90	96.75	24.73
	3	1.17	5.10	32	15.27	17.59	205.90	123.50	22.35
	4	1.08	4.90	32	15.66	21.65	195.65	109.25	32.96
TSV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSN	1	1.04	0.44	30	13.27	12.92	183.40	103.00	19.55
	2	1.13	0.46	33	14.77	4.36	103.65	0.50	24.85
	3	1.05	0.58	29	14.30	12.13	208.15	110.75	24.08
	4	0.99	0.76	33	13.99	11.29	124.15	35.50	37.40
	5	1.13	0.66	26	12.30	15.33	123.65	23.75	30.93
	6	0.88	0.48	28	13.02	5.69	186.65	82.00	23.82
	7	1.05	0.86	27	13.63	14.35	454.90	403.00	24.08
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APV	1	0.99	1.30	26.00	9.77	16.58	179.40	58.00	8.22
	2	1.07	1.29	25.00	9.94	17.68	140.15	68.75	8.95
	3	1.15	1.88	25.00	11.08	19.96	201.15	90.00	9.15
	4	1.06	2.40	26.00	9.91	20.10	113.90	44.50	8.37
	5	1.04	1.18	27.00	10.72	20.85	103.40	65.00	8.46
	6	1.09	1.41	25.00	10.52	15.56	116.40	47.00	7.73
	7	1.15	2.09	24.00	9.69	17.03	115.15	65.75	8.07
	8	1.06	1.43	23.00	9.80	18.64	100.15	40.75	7.49
	9	1.08	1.51	26.00	10.44	19.60	142.40	45.50	7.49
	10	1.14	1.46	23.00	10.02	19.70	128.40	53.50	8.22

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
APN	1	1.09	1.36	19.50	7.16	12.20	113.15	67.50	6.29
	2	1.08	1.54	22.00	8.41	13.59	130.65	40.75	6.65
	3	1.04	1.04	24.00	8.38	15.25	73.90	28.50	1.02
	4	1.07	1.18	20.50	6.77	24.23	128.90	48.25	4.65
	5	1.17	1.86	22.00	8.83	18.74	101.90	55.00	7.11
	6	1.08	0.91	22.00	8.44	16.98	102.90	28.00	6.19
	7	1.06	0.94	17.50	6.97	15.88	147.40	126.75	6.96
	8	1.10	1.08	23.50	7.13	15.67	104.15	13.50	4.14
	9	1.18	1.45	19.50	5.94	11.59	130.65	66.75	4.25
	10	1.08	1.21	18.50	6.36	17.67	118.90	16.00	5.47

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/mm^3×10^6)	WBC (cell/mm^3×10^4)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPV	1	1.07	1.46	25.00	10.13	25.17	178.15	66.50	7.71
	2	1.08	1.25	25.00	10.27	24.36	217.65	125.25	7.41
	3	1.06	0.86	38.00	9.94	21.81	218.90	83.75	5.23
	4	1.14	1.39	30.00	9.72	25.41	185.90	51.25	5.28
	5	1.05	1.81	34.50	12.49	23.34	164.65	45.25	4.99
	6	1.08	1.55	35.00	12.16	20.02	170.15	46.75	7.12
	7	1.02	1.63	35.00	12.41	27.58	171.40	37.00	8.06
	8	1.12	0.91	29.00	11.33	19.26	185.65	51.00	7.95
	9	1.07	1.39	32.50	11.99	16.55	207.65	90.25	6.40
	10	1.09	1.26	35.00	11.88	18.25	164.65	74.75	4.37

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PPN	1	1.11	2.40	33.00	13.52	24.39	241.90	79.25	3.09
	2	1.08	1.13	36.00	11.63	19.32	197.65	75.25	5.52
	3	1.09	1.73	37.00	14.44	23.54	162.15	33.75	2.64
	4	1.10	1.94	38.00	13.38	20.48	225.90	63.50	7.03
	5	1.08	2.25	31.00	12.97	23.89	247.90	117.00	5.32
	6	1.09	1.88	35.00	11.86	22.64	188.90	32.50	7.34
	7	9.85	1.65	33.00	11.52	22.30	165.15	17.25	1.83
	8	1.05	2.15	27.00	10.49	20.61	247.15	129.25	4.82
	9	1.25	2.18	32.00	11.38	26.51	195.90	95.50	6.68
	10	1.19	2.43	33.00	10.33	21.79	157.65	16.50	5.88

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSV	1	1.22	0.85	36.00	15.47	20.03	129.90	21.50	7.07
	2	1.12	0.66	32.00	11.55	17.56	147.65	36.25	5.83
	3	1.05	0.74	32.00	12.44	14.46	119.40	15.00	6.67
	4	1.21	0.99	32.00	11.49	16.42	155.65	72.25	0.85
	5	1.12	0.73	31.00	11.11	16.71	134.65	45.25	6.62
	6	1.12	0.83	28.00	9.52	15.89	181.15	74.75	7.66
	7	1.16	1.46	29.00	7.80	16.79	133.40	48.50	0.93
	8	1.08	1.01	26.00	10.16	16.37	138.65	31.75	8.15
	9	1.15	0.96	27.00	8.02	16.61	168.65	97.25	5.54
	10	1.14	0.83	24.50	9.77	19.93	168.15	65.50	2.48

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
PSN	1	1.07	1.81	31.00	9.88	21.38	173.90	71.50	7.61
	2	1.08	1.30	26.00	10.38	23.64	125.40	18.25	7.16
	3	1.10	1.30	29.00	10.52	23.72	142.90	55.50	6.86
	4	1.10	1.79	31.00	10.86	19.89	119.15	50.50	6.41
	5	1.06	1.20	34.00	10.38	19.99	193.65	90.75	7.11
	6	1.08	1.21	31.00	10.97	17.95	174.65	122.25	1.80
	7	1.06	2.59	29.00	7.74	16.13	145.90	61.50	2.18
	8	1.06	1.45	26.00	8.55	15.87	179.65	84.00	6.86
	9	1.08	1.09	33.00	10.83	20.83	118.65	84.00	6.61
	10	1.11	1.40	28.00	8.36	17.06	208.15	129.50	8.80

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSV	1	1.09	0.65	28.00	11.55	22.50	187.40	73.75	4.72
	2	1.09	1.45	34.00	15.16	17.86	197.90	90.50	5.07
	3	1.21	1.23	40.00	16.11	19.10	211.40	42.75	5.32
	4	1.17	1.35	34.00	15.05	25.89	212.15	97.50	9.89
	5	0.98	1.40	37.00	16.63	14.52	168.40	51.00	6.18
	6	1.01	1.13	32.00	12.74	23.14	205.90	78.00	7.14
	7	0.99	1.25	42.00	17.02	20.54	172.90	54.00	7.50
	8	1.15	1.45	36.00	16.38	23.28	218.40	75.75	4.92
	9	1.09	1.58	42.00	16.41	25.20	215.90	66.00	7.44
	10	1.22	1.08	30.00	16.61	19.32	195.40	59.75	7.29

ตารางที่ ง.2 (ต่อ) ค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Pond	No.	RBC (cell/$mm^3 \times 10^6$)	WBC (cell/$mm^3 \times 10^4$)	%Hematocrit	Total Hemoglobin (g/dL)	Lysozyme Activity (µg/ml)	Plasma Protein (mg/ml)	Immunoglobulin (µg/ml)	Agglutination Antibody titer
TSN	1	1.07	1.64	32.00	11.16	20.85	188.65	35.75	6.84
	2	1.25	1.63	33.00	14.55	17.86	178.90	83.75	5.95
	3	1.22	1.21	35.00	18.66	17.27	155.65	41.00	7.29
	4	1.32	1.66	37.00	15.08	18.57	183.40	74.50	7.83
	5	1.20	1.23	39.00	16.63	21.26	186.40	63.50	7.93
	6	1.18	1.01	33.00	12.88	14.52	181.90	75.00	3.28
	7	1.16	0.90	29.00	10.38	18.11	129.90	23.75	7.04
	8	1.00	0.85	21.00	8.49	16.20	195.15	105.25	8.32
	9	1.15	0.71	37.00	16.02	18.32	177.40	93.00	9.66
	10	1.19	0.81	40.00	15.74	15.67	177.15	93.75	7.34

ภาคผนวก จ
ตารางแสดงผลสถิติอัตราการเจริญ ค่าโลหิตวิทยา และค่าระบบภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.1 ค่าสถิติของอัตราการเจริญของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Group Statistics

Factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
weight	V	40	175.3250	60.07277	9.49834
	N	40	141.6250	50.87122	8.04345
length	V	40	18.9700	1.72749	.27314
	N	40	19.7075	2.72842	.43140

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
weight	Equal variances assumed	2.369	.128	2.708	78	.008	33.70000	12.44650	8.92091	58.47909
	Equal variances not assumed			2.708	75.939	.008	33.70000	12.44650	8.91032	58.48968
length	Equal variances assumed	14.660	.000	-1.444	78	.153	-.73750	.51060	-1.75403	.27903
	Equal variances not assumed			-1.444	65.939	.153	-.73750	.51060	-1.75696	.28196

ตารางที่ จ.1 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าอัตราการเจริญของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
weight	V	40	319.3500	95.14349	15.04351
	N	40	317.8750	124.81231	19.73456
length	V	40	24.1500	2.09529	.33130
	N	40	23.9275	3.63995	.57553

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
weight	Equal variances assumed	4.234	.043	.059	78	.953	1.47500	24.81451	-47.92690	50.87690
	Equal variances not assumed			.059	72.884	.953	1.47500	24.81451	-47.98158	50.93158
length	Equal variances assumed	12.902	.001	.335	78	.738	.22250	.66407	-1.09956	1.54456
	Equal variances not assumed			.335	62.289	.739	.22250	.66407	-1.10483	1.54983

ตารางที่ จ.1 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าอัตราการเจริญของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
weight	V	34	380.1176	161.50425	27.69775
	N	34	321.5588	156.52634	26.84405
length	V	34	24.4559	3.26647	.56019
	N	34	23.5853	4.46659	.76601

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
weight	Equal variances assumed	.213	.646	1.518	66	.134	58.55882	38.57160	-18.45186	135.56950
	Equal variances not assumed			1.518	65.935	.134	58.55882	38.57160	-18.45327	135.57091
length	Equal variances assumed	.978	.326	.917	66	.362	.87059	.94900	-1.02414	2.76532
	Equal variances not assumed			.917	60.447	.363	.87059	.94900	-1.02740	2.76857

ตารางที่ จ.1 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าอัตราการเจริญของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนพฤษภาคม

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
weight	V	40	502.6750	187.36423	29.62489
	N	40	396.0000	173.17325	27.38109
length	V	40	27.2375	3.20430	.50664
	N	40	25.2700	4.30493	.68067

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
weight	Equal variances assumed	.336	.564	2.644	78	.010	106.67500	40.34053	26.36318	186.98682
	Equal variances not assumed			2.644	77.521	.010	106.67500	40.34053	26.35536	186.99464
length	Equal variances assumed	6.955	.010	2.319	78	.023	1.96750	.84853	.27821	3.65679
	Equal variances not assumed			2.319	72.065	.023	1.96750	.84853	.27602	3.65898

ตารางที่ จ.2 ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนกุมภาพันธ์

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
RBC	V	40	1.0600	.11415	.01805
	N	40	.9878	.10652	.01684
WBC	V	40	2.4650	10.14487	1.60405
	N	40	.9983	.75272	.11902
hematocrit	V	40	34.3875	3.65409	.57776
	N	40	33.0875	3.52261	.55697
hemoglobin	V	40	12.5025	1.50538	.23802
	N	40	11.5725	1.86581	.29501

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
RBC	Equal variances assumed	.256	.614	2.927	78	.004	.07225	.02469	.02310	.12140
	Equal variances not assumed			2.927	77.629	.004	.07225	.02469	.02310	.12140
WBC	Equal variances assumed	3.055	.084	.912	78	.365	1.46675	1.60845	-1.73544	4.66894
	Equal variances not assumed			.912	39.429	.367	1.46675	1.60845	-1.78552	4.71902
hematocrit	Equal variances assumed	.927	.339	1.620	78	.109	1.30000	.80252	-.29768	2.89768
	Equal variances not assumed			1.620	77.895	.109	1.30000	.80252	-.29772	2.89772
hemoglobin	Equal variances assumed	.828	.366	2.453	78	.016	.93000	.37906	.17535	1.68465
	Equal variances not assumed			2.453	74.663	.016	.93000	.37906	.17482	1.68518

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
RBC	V	40	1.0763	.06088	.00963
	N	40	1.1313	.10842	.01714
WBC	V	40	1.3068	.70621	.11166
	N	40	1.3645	.65473	.10352
hematocrit	V	40	29.5250	3.41180	.53945
	N	40	34.1000	4.91883	.77774
hemoglobin	V	40	11.7055	1.46841	.23218
	N	40	12.7923	1.83860	.29071

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนมีนาคม

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
RBC	Equal variances assumed	12.736	.001	-2.798	78	.006	-.05500	.01966	-.09414	-.01586
	Equal variances not assumed			-2.798	61.369	.007	-.05500	.01966	-.09431	-.01569
WBC	Equal variances assumed	1.683	.198	-.379	78	.706	-.05775	.15227	-.36089	.24539
	Equal variances not assumed			-.379	77.557	.706	-.05775	.15227	-.36092	.24542
hematocrit	Equal variances assumed	8.011	.006	-4.834	78	.000	-4.57500	.94651	-6.45936	-2.69064
	Equal variances not assumed			-4.834	69.473	.000	-4.57500	.94651	-6.46301	-2.68699
hemoglobin	Equal variances assumed	3.822	.054	-2.921	78	.005	-1.08675	.37204	-1.82743	-.34607
	Equal variances not assumed			-2.921	74.364	.005	-1.08675	.37204	-1.82800	-.34550

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
RBC	V	34	1.1015	.08151	.01398
	N	34	1.0894	.25590	.04389
WBC	V	34	1.6435	1.97563	.33882
	N	34	.8868	.41251	.07075
hematocrit	V	34	31.8529	5.57120	.95545
	N	34	31.0294	3.96565	.68010
hemoglobin	V	34	12.0853	1.84160	.31583
	N	34	12.7150	2.24116	.38436

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนเมษายน

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
RBC	Equal variances assumed	8.932	.004	.262	66	.794	.01206	.04606	-.07990	.10402
	Equal variances not assumed			.262	39.627	.795	.01206	.04606	-.08106	.10517
WBC	Equal variances assumed	12.553	.001	2.186	66	.032	.75676	.34612	.06571	1.44782
	Equal variances not assumed			2.186	35.872	.035	.75676	.34612	.05471	1.45882
hematocrit	Equal variances assumed	1.835	.180	.702	66	.485	.82353	1.17279	-1.51802	3.16508
	Equal variances not assumed			.702	59.609	.485	.82353	1.17279	-1.52271	3.16977
hemoglobin	Equal variances assumed	1.598	.211	-1.266	66	.210	-.62971	.49747	-1.62294	.36353
	Equal variances not assumed			-1.266	63.609	.210	-.62971	.49747	-1.62364	.36423

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
RBC	V	40	1.0995	.06185	.00978
	N	40	1.3345	1.38258	.21861
WBC	V	40	1.2773	.38374	.06067
	N	40	1.4775	.48534	.07674
hematocrit	V	40	30.5375	5.29439	.83712
	N	40	29.4500	6.29693	.99563
hemoglobin	V	40	11.8800	2.56192	.40507
	N	40	10.8493	3.07322	.48592

ตารางที่ จ.2 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
RBC	Equal variances assumed	3.272	.074	-1.074	78	.286	-.23500	.21882	-.67064	.20064
	Equal variances not assumed			-1.074	39.156	.289	-.23500	.21882	-.67756	.20756
WBC	Equal variances assumed	3.541	.064	-2.047	78	.044	-.20025	.09783	-.39501	-.00549
	Equal variances not assumed			-2.047	74.060	.044	-.20025	.09783	-.39517	-.00533
hematocrit	Equal variances assumed	1.466	.230	.836	78	.406	1.08750	1.30079	-1.50217	3.67717
	Equal variances not assumed			.836	75.766	.406	1.08750	1.30079	-1.50337	3.67837
hemoglobin	Equal variances assumed	.864	.356	1.629	78	.107	1.03075	.63262	-.22869	2.29019
	Equal variances not assumed			1.629	75.552	.107	1.03075	.63262	-.22933	2.29083

ตารางที่ จ.3 ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนกุมภาพันธ์

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
lysozyme	V	40	14.6118	4.83520	.76451
	N	40	13.8445	3.59048	.56771
plasmaprotein	V	40	166.4875	45.67810	7.22234
	N	40	144.8375	37.98312	6.00566
immunoglobulin	V	40	80.0250	36.77050	5.81393
	N	40	68.0250	25.29834	4.00002
antidodytiter	V	40	22.9662	12.87560	2.03581
	N	40	13.7123	9.83443	1.55496

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนกุมภาพันธ์

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
lysozyme	Equal variances assumed	4.667	.034	.806	78	.423	.76725	.95224	-1.12852	2.66302
	Equal variances not assumed			.806	71.982	.423	.76725	.95224	-1.13102	2.66552
plasmaprotein	Equal variances assumed	1.736	.192	2.305	78	.024	21.65000	9.39309	2.94979	40.35021
	Equal variances not assumed			2.305	75.488	.024	21.65000	9.39309	2.93999	40.36001
immunoglobulin	Equal variances assumed	3.320	.072	1.700	78	.093	12.00000	7.05705	-2.04950	26.04950
	Equal variances not assumed			1.700	69.163	.094	12.00000	7.05705	-2.07783	26.07783
antidodytiter	Equal variances assumed	2.027	.159	3.612	78	.001	9.25390	2.56172	4.15390	14.35390
	Equal variances not assumed			3.612	72.950	.001	9.25390	2.56172	4.14833	14.35947

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนมีนาคม

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
lysozyme	V	40	14.7593	2.94288	.46531
	N	40	14.4453	2.70947	.42841
plasmaprotein	V	40	176.8688	33.58372	5.31005
	N	40	166.4813	22.69646	3.58863
immunoglobulin	V	40	89.3813	32.79340	5.18509
	N	40	70.6000	26.27424	4.15432
antidodytiter	V	40	25.7773	6.25202	.98853
	N	40	19.2598	9.14562	1.44605

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนมีนาคม

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
lysozyme	Equal variances assumed	1.059	.307	.496	78	.621	.31400	.63249	-.94519	1.57319
	Equal variances not assumed			.496	77.473	.621	.31400	.63249	-.94533	1.57333
plasmaprotein	Equal variances assumed	2.521	.116	1.621	78	.109	10.38750	6.40897	-2.37178	23.14678
	Equal variances not assumed			1.621	68.476	.110	10.38750	6.40897	-2.39979	23.17479
immunoglobulin	Equal variances assumed	1.436	.234	2.827	78	.006	18.78125	6.64406	5.55394	32.00856
	Equal variances not assumed			2.827	74.459	.006	18.78125	6.64406	5.54402	32.01848
antidodytiter	Equal variances assumed	7.476	.008	3.721	78	.000	6.51750	1.75164	3.03025	10.00475
	Equal variances not assumed			3.721	68.917	.000	6.51750	1.75164	3.02299	10.01201

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนเมษายน

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
lysozyme	V	34	18.0918	4.79780	.82282
	N	34	15.7035	6.79792	1.16583
plasmaprotein	V	34	189.7382	48.71076	8.35383
	N	34	196.1544	66.69254	11.43768
immunoglobulin	V	34	121.5441	45.44500	7.79375
	N	34	111.5559	68.00697	11.66310
antidodytiter	V	34	20.2315	8.20040	1.40636
	N	34	18.7268	9.67111	1.65858

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนเมษายน

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
lysozyme	Equal variances assumed	1.813	.183	1.674	66	.099	2.38824	1.42695	-.46077	5.23724
	Equal variances not assumed			1.674	59.340	.099	2.38824	1.42695	-.46675	5.24322
plasmaprotein	Equal variances assumed	1.438	.235	-.453	66	.652	-6.41618	14.16358	-34.69467	21.86231
	Equal variances not assumed			-.453	60.408	.652	-6.41618	14.16358	-34.74361	21.91126
immunoglobulin	Equal variances assumed	.116	.735	.712	66	.479	9.98824	14.02749	-18.01855	37.99502
	Equal variances not assumed			.712	57.572	.479	9.98824	14.02749	-18.09528	38.07175
antidodytiter	Equal variances assumed	1.882	.175	.692	66	.491	1.50471	2.17457	-2.83695	5.84637
	Equal variances not assumed			.692	64.282	.491	1.50471	2.17457	-2.83912	5.84853

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus* เดือนพฤษภาคม

Group Statistics

factor		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
lysozyme	V	40	19.7393	3.37816	.53413
	N	40	19.0590	3.56612	.56385
plasmaprotein	V	40	166.7062	35.29925	5.58130
	N	40	162.9813	41.89951	6.62489
immunoglobulin	V	40	61.1875	22.44286	3.54853
	N	40	65.1938	34.17641	5.40377
antidodytiter	V	40	6.5985	2.00959	.31774
	N	40	5.8940	2.05064	.32423

ตารางที่ จ.3 (ต่อ) ค่าสถิติของค่าระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน *Streptococcus*

เดือนพฤษภาคม

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
lysozyme	Equal variances assumed	.368	.546	.876	78	.384	.68025	.77668	-.86600	2.22650
	Equal variances not assumed			.876	77.772	.384	.68025	.77668	-.86607	2.22657
plasmaprotein	Equal variances assumed	1.124	.292	.430	78	.668	3.72500	8.66257	-13.52085	20.97085
	Equal variances not assumed			.430	75.815	.668	3.72500	8.66257	-13.52868	20.97868
immunoglobulin	Equal variances assumed	7.609	.007	-.620	78	.537	-4.00625	6.46473	-16.87654	8.86404
	Equal variances not assumed			-.620	67.362	.538	-4.00625	6.46473	-16.90863	8.89613
antidodytiter	Equal variances assumed	.088	.767	1.552	78	.125	.70450	.45397	-.19929	1.60829
	Equal variances not assumed			1.552	77.968	.125	.70450	.45397	-.19929	1.60829