

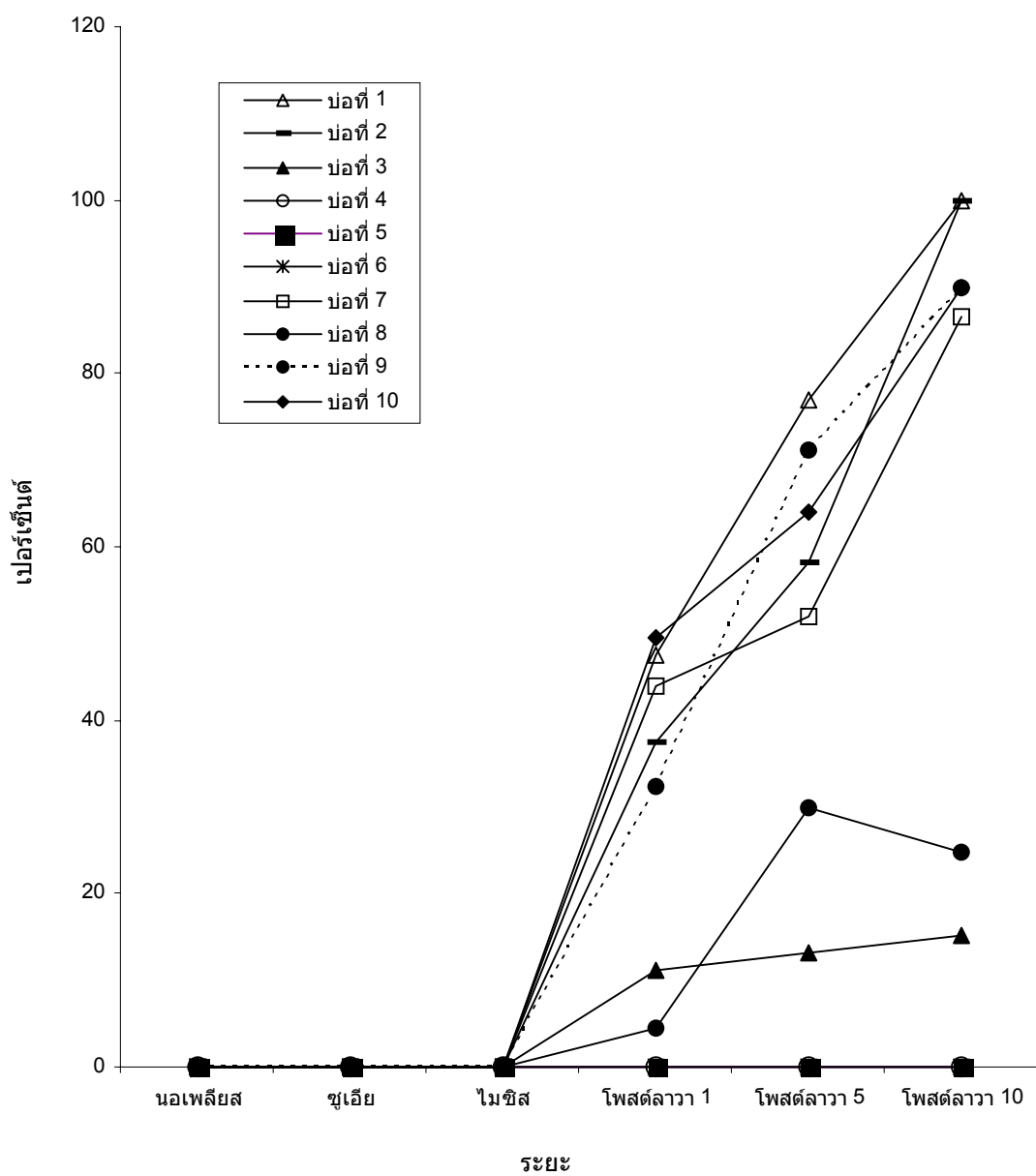
### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง

#### 3.1 การทดลองที่ 1 การเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลารวาในโรงเพาะฟัก

##### 3.1.1 อัตราการพบเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในโรงเพาะฟัก

จากการศึกษาการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะนอเปลี่ยจนถึงระยะโพสต์ลารวา 10 พบว่า ในช่วงระยะนอเปลี่ยพบการติดเชื้อในบ่อที่ 5 และ 6 ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ระยะชู่เฉียและระยะไมซิสไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในทุกบ่อ ส่วนในระยะโพสต์ลารวา 1 โพสต์ลารวา 5 และโพสต์ลารวา 10 พบการติดเชื้อในบ่อที่ 1 2 3 7 8 9 และบ่อที่ 10 สำหรับการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยาพบการติดเชื้อตั้งแต่ระยะโพสต์ลารวา 1 ดังนี้คือ บ่อที่ 1 พบ  $47.50 \pm 3.53$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 2 พบ  $37.50 \pm 3.53$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 3 พบ  $11.15 \pm 1.63$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 7 พบ  $44.00 \pm 5.65$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 8 พบ  $4.50 \pm 0.70$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 9 พบ  $32.30 \pm 3.25$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 10 พบ  $49.50 \pm 3.53$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนบ่อที่ 4 5 และ 6 ไม่พบการติดเชื้อในทุกระยะ นอกจากนี้ในระยะโพสต์ลารวา 5 พบการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในบ่อที่ 1, 2, 3, 7, 8, 9 และ 10 ตามลำดับดังนี้คือ  $76.92 \pm 0.00$ ,  $58.12 \pm 2.65$ ,  $13.27 \pm 1.79$ ,  $52.00 \pm 5.65$ ,  $30.00 \pm 2.82$ ,  $71.13 \pm 8.67$  และ  $64.00 \pm 0.00$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนในระยะโพสต์ลารวา 10 พบการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวี  $100.00 \pm 0.00$  เปอร์เซ็นต์ในบ่อที่ 1 และ 2 บ่อที่ 3 พบการติดเชื้อ  $15.26 \pm 6.70$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 7 พบการติดเชื้อ  $86.50 \pm 4.94$  เปอร์เซ็นต์ บ่อที่ 8 พบการติดเชื้อ  $24.81 \pm 4.51$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนบ่อที่ 9 และ 10 พบการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวี  $90.00 \pm 2.82$  (ตารางที่ 4 และภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 เปอร์เซนต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในลูกกุ้งกุลาดำแต่ละระยะตั้งแต่นอเพ็ลยจนถึงระยะ โปสต์ลาวา 10

### 3.2 การทดลองที่ 2 การเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ่มกุลาดำระยะวัยรุ่น (juvenile) ที่เลี้ยงในบ่อดิน

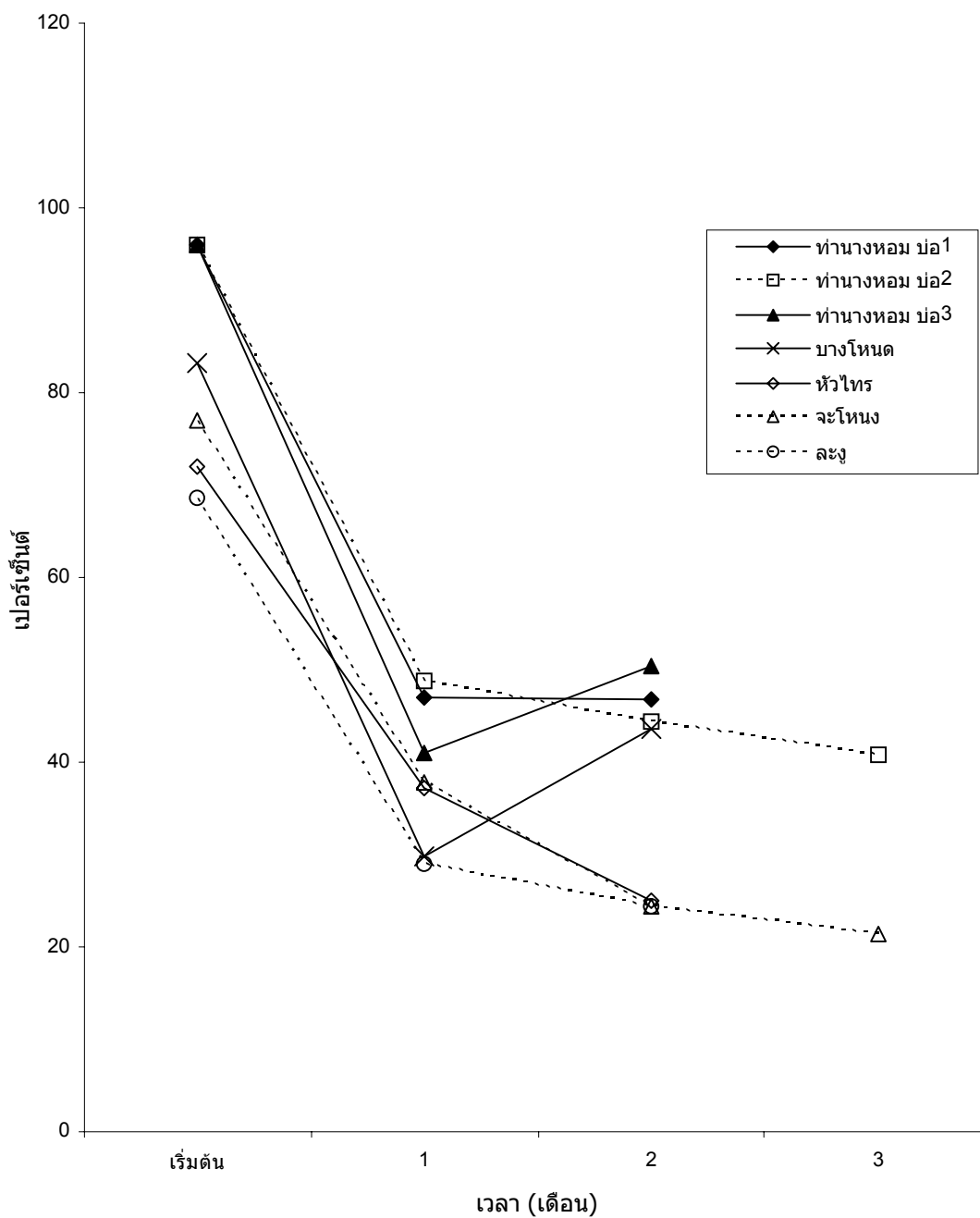
#### 3.2.1 การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ่มกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดิน

จากการศึกษาการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ่มกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินจำนวน 7 บ่อได้แก่ ในพื้นที่จังหวัดสงขลา จำนวน 5 บ่อ คือ บ่อดิน พื้นดินเหนียว ต. ท่านางหอม อ.หาดใหญ่ ขนาด 2 ไร่ จำนวน 2 บ่อและขนาด 1.5 ไร่ จำนวน 1 บ่อ บ่อดินพื้นดินเหนียว ขนาด 3.5 ไร่ ต.บางโหนด อ.หาดใหญ่ จำนวน 1 บ่อ และบ่อดินพื้นดินลูกรัง ขนาด 3 ไร่ ต.จะโหนด อ.จะนะ จำนวน 1 บ่อ พื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แก่ บ่อดินพื้นดินเหนียว ขนาด 3.5 ไร่ ใน อ.หัวไทร จำนวน 1 บ่อ และพื้นที่จังหวัดสตูล ได้แก่ บ่อดินพื้นดินลูกรัง ขนาด 3.5 ไร่ ในสถานีวิจัยวาริชศาสตร์ อ.ละงู สำหรับคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงในบ่อที่ศึกษา แสดงในตารางผนวก ค ที่ 1-7 และผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในแต่ละบ่อดังตารางที่ 5 และ 6

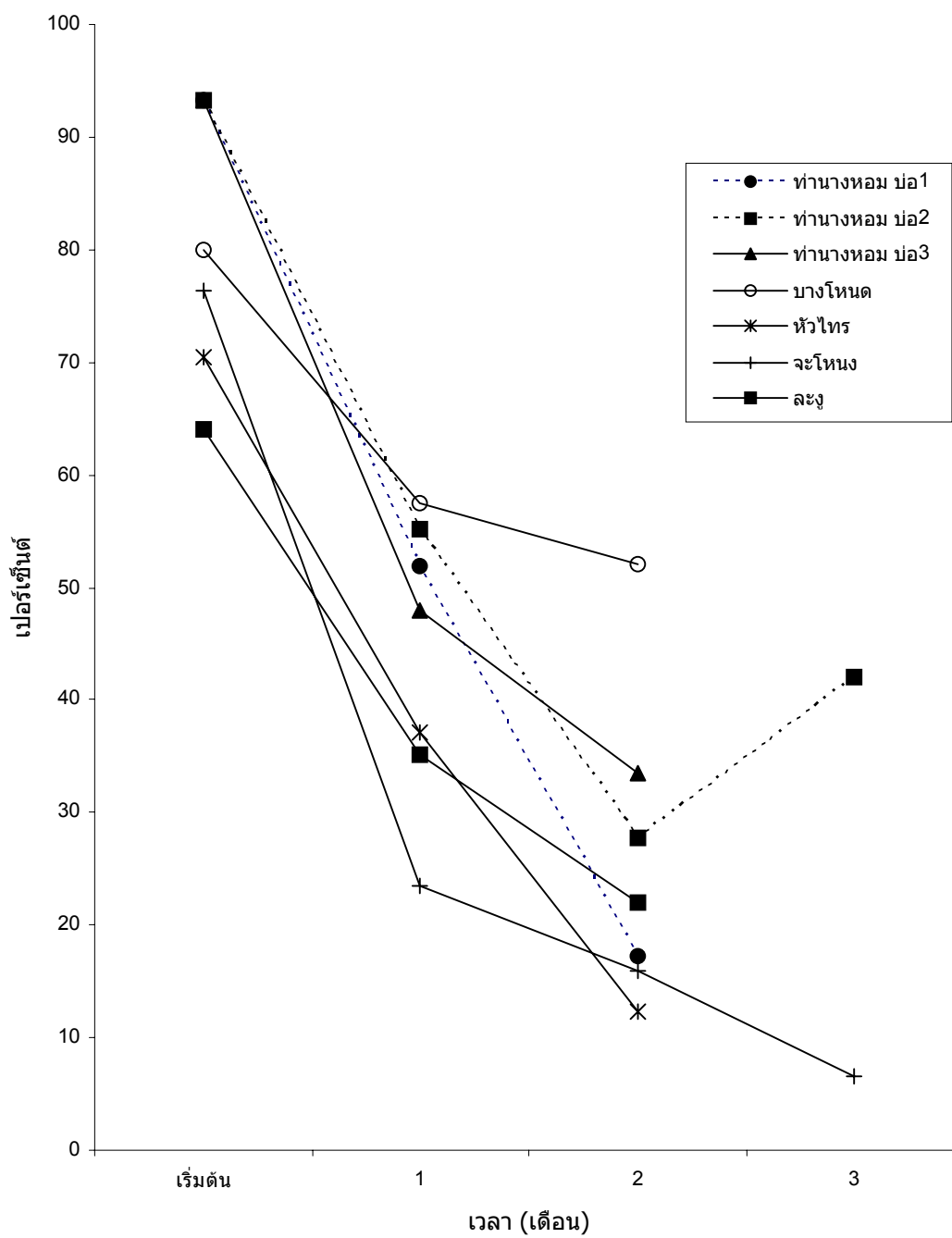
จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การพบเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในบ่อดินทั้ง 7 บ่อ พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเริ่มต้นมีค่าระหว่าง 68.68 – 96 .00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบการติดเชื้อในเดือนที่ 1 ด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา (ตารางที่ 5) พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในทุกบ่อที่ศึกษาลดลงเมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเริ่มต้น เช่นเดียวกันกับในเดือนที่ 2 พบว่ามีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละบ่อดังนี้คือ ท่านางหอม บ่อที่ 1 มีค่าเฉลี่ย  $46.74 \pm 2.23$  เปอร์เซ็นต์ ท่านางหอม บ่อที่ 2 มีค่าเฉลี่ย  $44.31 \pm 13.71$  เปอร์เซ็นต์ ท่านางหอม บ่อที่ 3 มีค่าเฉลี่ย  $50.42 \pm 6.24$  เปอร์เซ็นต์ บางโหนด มีค่าเฉลี่ย  $43.57 \pm 0.62$  เปอร์เซ็นต์ หัวไทร มีค่าเฉลี่ย  $25.00 \pm 16.07$  เปอร์เซ็นต์ จะโหนด มีค่าเฉลี่ย  $24.46 \pm 3.48$  เปอร์เซ็นต์ ละงู มีค่าเฉลี่ย  $24.47 \pm 5.00$  เปอร์เซ็นต์ หลังจากการตรวจสอบการติดเชื้อในเดือนที่ 2 บ่อที่ศึกษาจำนวน 5 บ่อได้ทำการจับกุ่มกุลาดำก่อนที่จะมีการตรวจวินิจฉัยครั้งถัดไป ส่วนอีก 2 บ่อที่ศึกษาการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในเดือนที่ 3 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีลดลงเช่นเดียวกัน โดยกุ่มกุลาดำจาก ท่านางหอม บ่อที่ 2 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ  $40.87 \pm 4.76$  เปอร์เซ็นต์ และกุ่มกุลาดำจากบ่อจะโหนด มีค่าเฉลี่ย  $21.38 \pm 8.06$  เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับการศึกษาการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (ตารางที่ 6) พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในทุกบ่อที่ศึกษามีการติดเชื้อลดลง แต่เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อจากการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์มีค่าน้อยกว่าการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา นอกจากนี้พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีด้วย โดยจากการศึกษาด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา และเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ในกุ่มกุลาดำก่อนปล่อยลงบ่อดินไม่พบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีในทุก

บ่อที่ทำการศึกษา จากนั้น ในเดือนที่ 1 จะเริ่มพบการติดเชื้อ และมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 2 และ 3 (ตารางที่ 7 และ 8)

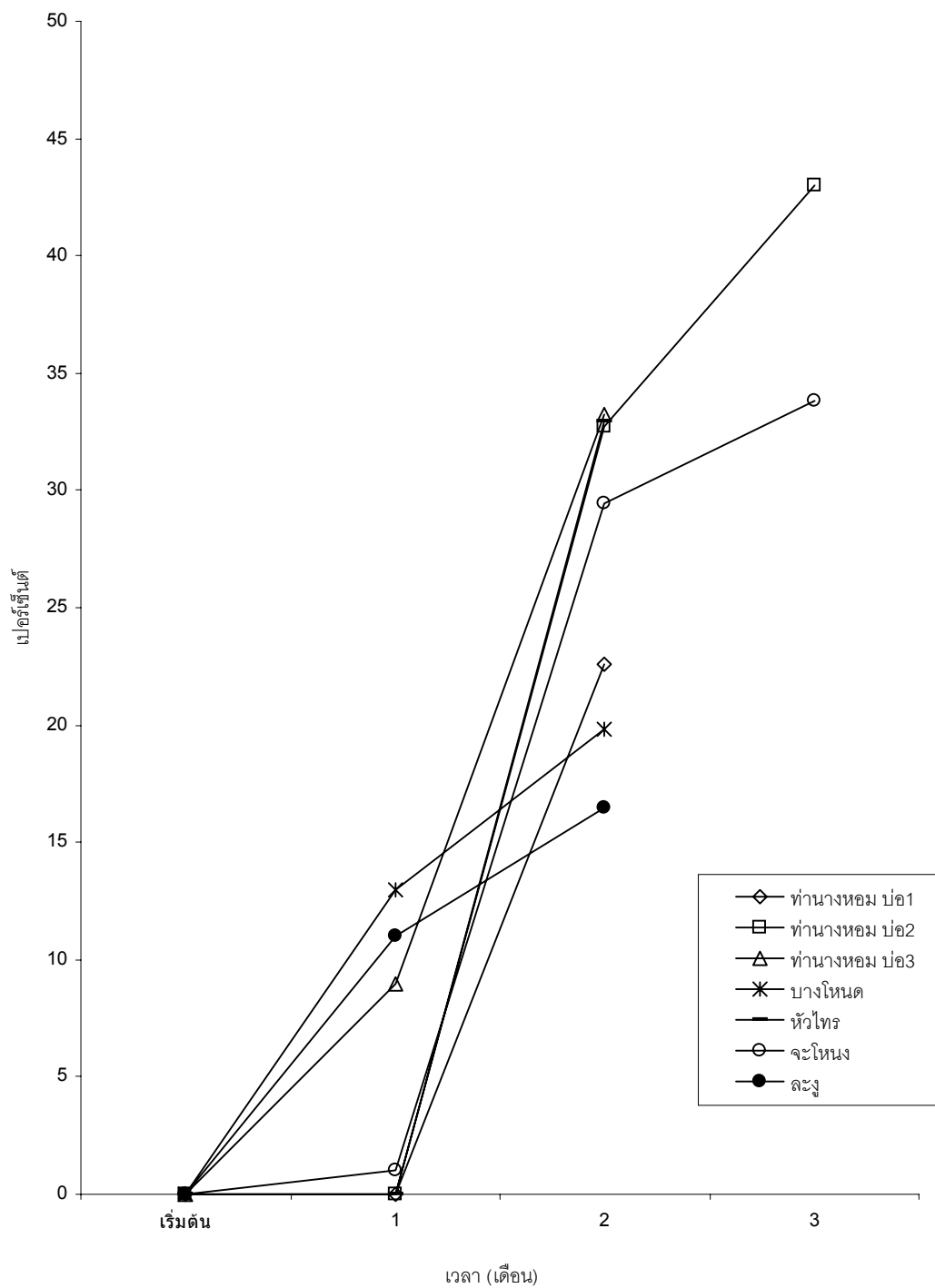
สำหรับการศึกษาการเจริญเติบโต (ตารางที่ 9 และ 11) พบว่า กุ้งกุลาดำระยะก่อนปล่อย ในบ่อที่ศึกษา มีความยาวเฉลี่ยต่อตัวระหว่าง 10.67 – 16.10 มิลลิเมตร และน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 0.0045 – 0.0110 กรัม หลังจากการเก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำในเดือนที่ 1 กุ้งกุลาดำมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.74 – 4.59 กรัม และความยาวเฉลี่ยระหว่าง 47.87 – 87.44 มิลลิเมตร (ตัวใหญ่ 64 - 91.5 มิลลิเมตรและตัวเล็ก 27.5 – 51.5 มิลลิเมตร) ส่วนการศึกษาในเดือนที่ 2 พบว่า กุ้งกุลาดำมีความยาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 87.16 – 105.87 มิลลิเมตร (ตัวใหญ่ 84 - 127.5 มิลลิเมตรและตัวเล็ก 43.5 - 70.5 มิลลิเมตร) และน้ำหนักเฉลี่ย 4.60 – 5.67 ส่วนในเดือนที่ 3 ได้ทำการศึกษาเพียง 2 บ่อ โดย มีความยาวเฉลี่ยระหว่าง 110.87 – 114.01 มิลลิเมตร (ตัวใหญ่ 105-135 มิลลิเมตรและตัวเล็ก 77.5 - 92 มิลลิเมตร) และน้ำหนักเฉลี่ยในช่วง 8.13 – 10.46 กรัม และเมื่อนำมาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของความยาวตัวกุ้งกุลาดำ (ตาราง ที่ 10) พบว่า กุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินทุกบ่อเริ่มมีความแตกต่างของขนาดตั้งแต่เดือนแรกของการเก็บตัวอย่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 14.48 – 28.94 เปอร์เซ็นต์ และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของน้ำหนักตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง (ตารางที่ 12) อยู่ระหว่าง 36.19 - 80.71 เปอร์เซ็นต์ และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเอ็มบีวีในลูกกุ้งกุลาดำกับค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของความยาวตัวกุ้งกุลาดำในระหว่างการเลี้ยง โดยการวิเคราะห์ความถดถอยและสหสัมพันธ์จากการสร้างกราฟแผนภาพการกระจายเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง พบว่า ค่า  $R^2 = 0.3833$  (ภาพผนวก ข ที่ 1) และเมื่อพิจารณาค่าความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในลูกกุ้งกุลาดำกับค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของน้ำหนักตัวกุ้งกุลาดำตลอดการศึกษาในครั้งนี้ มีค่า  $R^2 = 0.0007$  (ภาพผนวก ข ที่ 2)



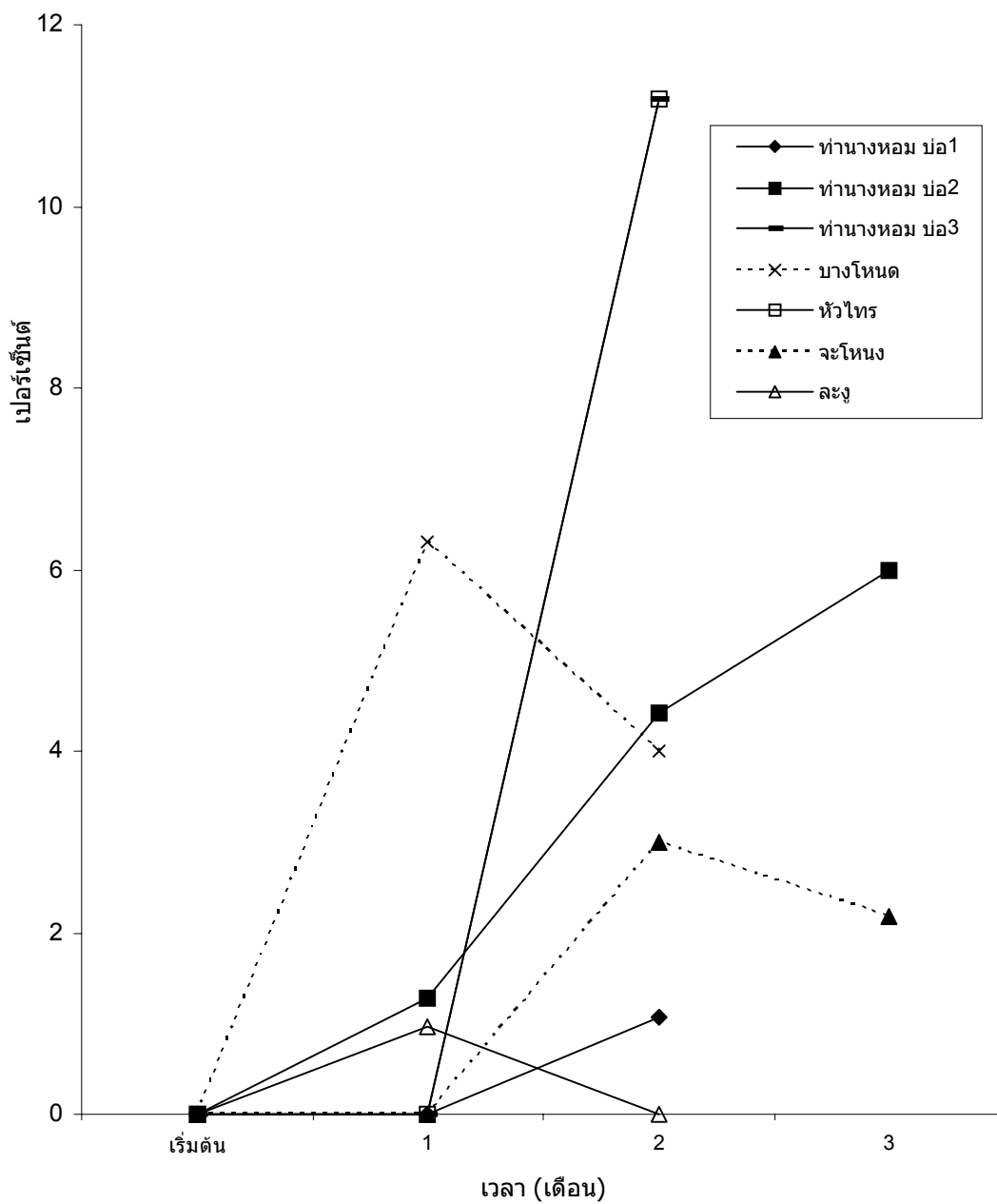
ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์การพบเชื้อไวรัสเอ็มบีวีซึ่งตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา



ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์การพบเชื้อไวรัสเอ็มบีวีซึ่งตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคอิมเพรสชันสเมียร์



ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์การพบเชื้อไวรัสเอชพีวีซึ่งตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา



ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์การพบเชื้อไวรัสเอชพีวีซึ่งตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคอิมมูโนเฟลอรอสซันส์เมียร์



**ตารางที่ 9** ความยาวเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ของกึ่งกลาดำในบ่อดินแต่ละบ่อที่ทำการศึกษา

บ่อที่ศึกษา	ความยาวเฉลี่ย (มิลลิเมตร)			
	ก่อนปล่อยกุ้ง	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
ท่านางหอม บ่อ 1	12.29 ± 1.46	55.93 ± 8.86	88.44 ± 17.49	-
ท่านางหอม บ่อ 2	12.29 ± 1.46	54.37 ± 8.90	92.74 ± 15.94	114.01 ± 16.84
ท่านางหอม บ่อ 3	12.29 ± 1.46	47.87 ± 10.10	87.16 ± 18.24	-
บางโหนด	11.21 ± 0.79	53.10 ± 15.37	87.74 ± 16.50	-
หัวไทร	15.26 ± 1.58	87.44 ± 14.04	105.87 ± 16.46	-
จะโหนด	16.10 ± 1.70	67.11 ± 9.72	87.82 ± 12.30	110.87 ± 16.42
ละอู	10.67 ± 0.99	56.92 ± 12.49	89.51 ± 16.25	-

**ตารางที่ 10** ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation ; CV) ของความยาวตัวกึ่งกลาดำในบ่อดินตั้งแต่ก่อนปล่อยจนถึงสิ้นสุดการเลี้ยง

บ่อที่ศึกษา	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%)			
	ก่อนปล่อย	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
ท่านางหอมบ่อ 1	11.89	15.83	19.77	-
ท่านางหอมบ่อ 2	11.89	16.35	17.19	14.76
ท่านางหอมบ่อ 3	11.89	21.10	20.92	-
บางโหนด	7.06	28.94	18.80	-
หัวไทร	10.35	16.05	15.54	-
จะโหนด	10.54	14.48	14.00	14.81
ละอู	9.27	21.94	18.15	-

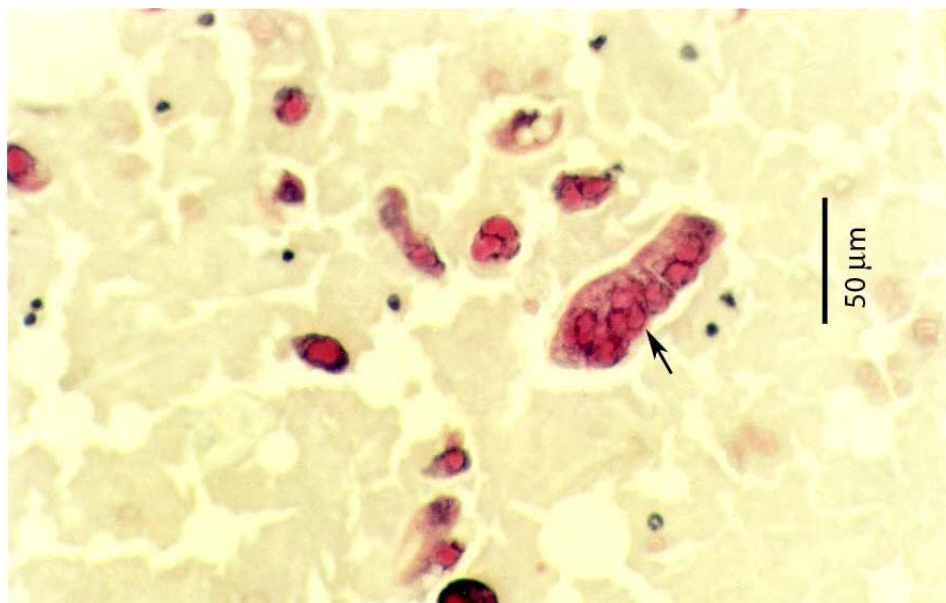
ตารางที่ 11 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของกึ่งกุลาดำในบ่อดินแต่ละบ่อที่ทำการศึกษา

บ่อที่ศึกษา	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม)			
	ก่อนปล่อยกุ้ง	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
ท่านางหอม บ่อ 1	0.0045 ± 0.0017	1.14 ± 0.52	4.88 ± 2.94	-
ท่านางหอม บ่อ 2	0.0045 ± 0.0017	1.07 ± 0.49	5.67 ± 2.65	10.46 ± 4.32
ท่านางหอม บ่อ 3	0.0045 ± 0.0017	0.74 ± 0.44	4.90 ± 3.43	-
บางโหนด	0.0067 ± 0.0015	1.15 ± 0.93	4.89 ± 2.67	-
หัวไทร	0.0110 ± 0.0018	4.59 ± 1.90	8.13 ± 3.65	-
จะโหนด	0.0068 ± 0.0011	2.05 ± 0.74	4.60 ± 1.71	8.13 ± 3.65
ละอู	0.0047 ± 0.0024	1.29 ± 0.78	5.17 ± 3.29	-

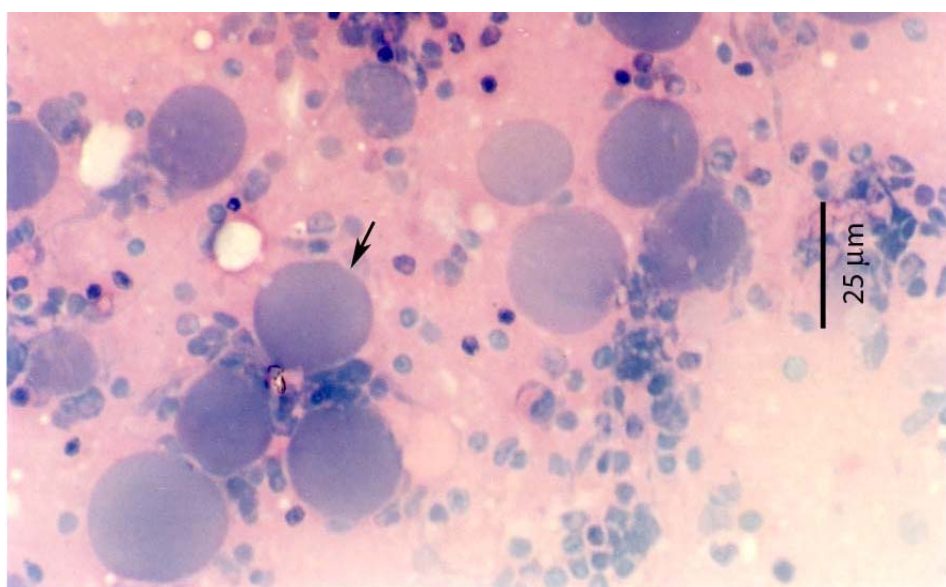
ตารางที่ 12 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation ; CV) ของน้ำหนักตัวกึ่งกุลาดำในบ่อดินตั้งแต่ 1 เดือนจนถึงสิ้นสุดการเลี้ยง

บ่อที่ศึกษา	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%)		
	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3
ท่านางหอมบ่อ 1	46.24	60.22	-
ท่านางหอมบ่อ 2	46.07	46.81	41.36
ท่านางหอมบ่อ 3	59.20	69.88	-
บางโหนด	80.71	54.69	-
หัวไทร	41.50	44.90	-
จะโหนด	36.19	37.34	47.85
ละอู	60.90	63.71	-

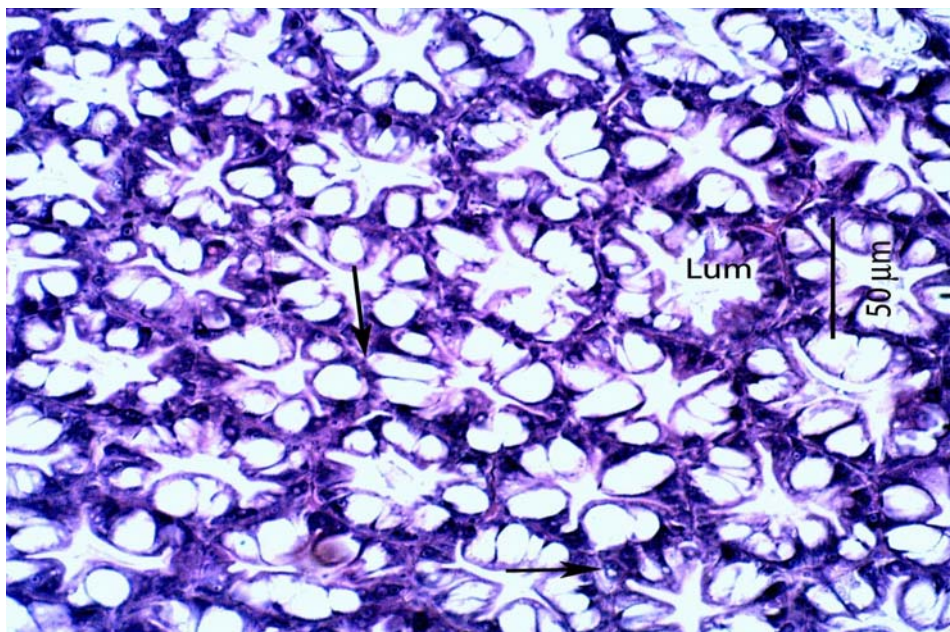
ได้ทำการศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ตับและตับอ่อนที่เกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อไวรัสเอดส์ด้วยเทคนิคต่างๆ คือ เทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา ของที่กึ่งกลางดำจากบอดินที่เก็บตัวอย่าง พบว่า การศึกษาด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งนำตับและตับอ่อนมาเกลี่ยบนสไลด์โดยตรงแล้วผ่านกระบวนการดั่งที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้สามารถเห็นออกคลูชันบอดีมีลักษณะเป็นรูปหลายเหลี่ยมขนาดต่างๆกัน ติดสีแดงของอีโอซิน ซึ่งจากภาพที่ 9 จะเห็นว่า มีบางส่วนที่ยังอยู่ในเซลล์ของท่อตับและบางส่วนที่อยู่ในเซลล์ที่หลุดออกมาเดี่ยวๆ นอกจากนี้บางตัวอย่างที่ส่งมาตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเอดส์ด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ ยังพบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีด้วย (ภาพที่ 10) ส่วนการศึกษาด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ตับและตับอ่อนที่ปกติ (ภาพที่ 11) จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงโดยเกิดช่องว่างระหว่างเซลล์ พบออกคลูชันบอดีในนิวเคลียสของเซลล์ท่อตับและตับอ่อน (ภาพที่ 12) และพบการติดเชื้อไวรัสเอชพีวีในเซลล์ท่อตับและตับอ่อนด้วย โดยสังเกตเห็นอินคลูชันบอดีของไวรัสเอชพีวีติดสีน้ำเงินของฮีมาทอกซิลิน อยู่ภายในนิวเคลียสเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 13) นอกจากนี้แล้วพบการติดเชื้อไวรัสเอดส์และเอชพีวีพร้อมกันในเนื้อเยื่อตับและตับอ่อน (ภาพที่ 14)



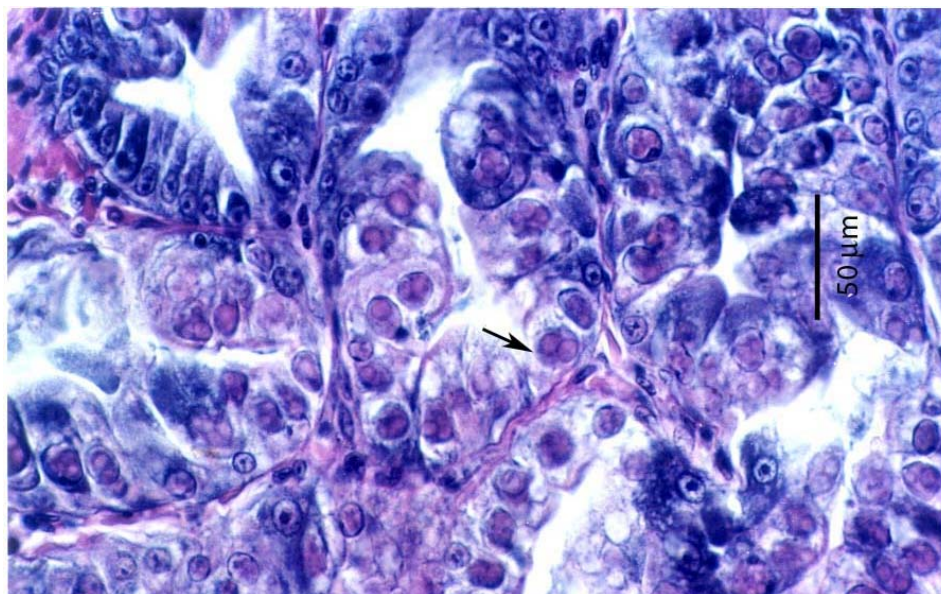
ภาพที่ 9 ลักษณะออกคลูชั่นบอดี (ครวี่) ของไวรัสเริมปีวีที่ได้จากการศึกษาด้วยเทคนิคอิมเพรสชันเสมียร์ (H&E , Bar = 50 μm)



ภาพที่ 10 ลักษณะอินคลูชั่นบอดีของเชื้อไวรัสเอชพีวี (ครวี่) ที่ได้จากการศึกษาด้วยเทคนิคอิมเพรสชันเสมียร์ (H&E , Bar = 25 μm)

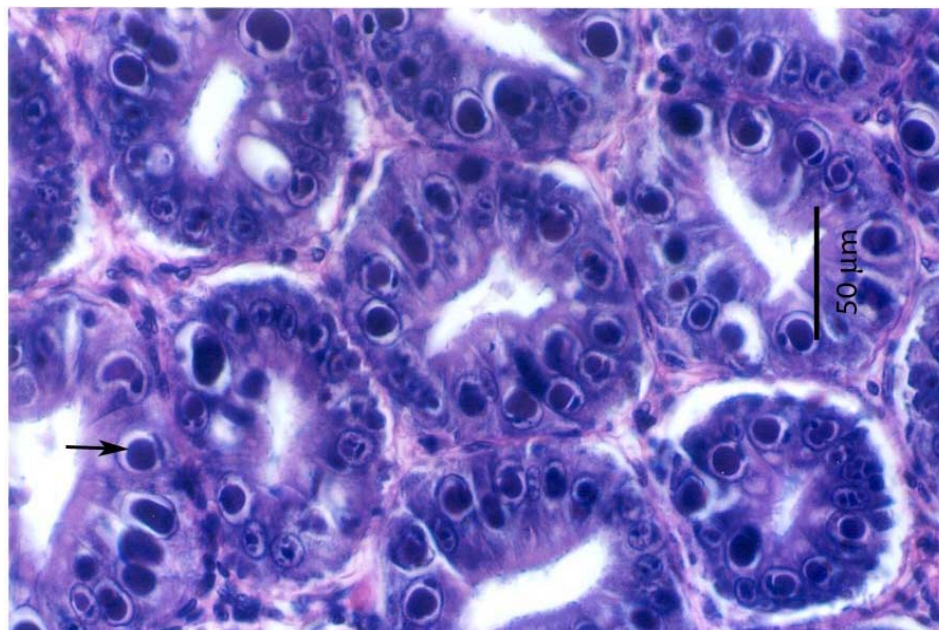


ภาพที่ 11 เซลล์ตับและตับอ่อนปกติ ขอบเขตเซลล์แต่ละเซลล์ชิดกัน (ศรชี้) ท่อตับและตับอ่อนมีลักษณะปกติ (Lum) (H&E , Bar = 50  $\mu$ m)

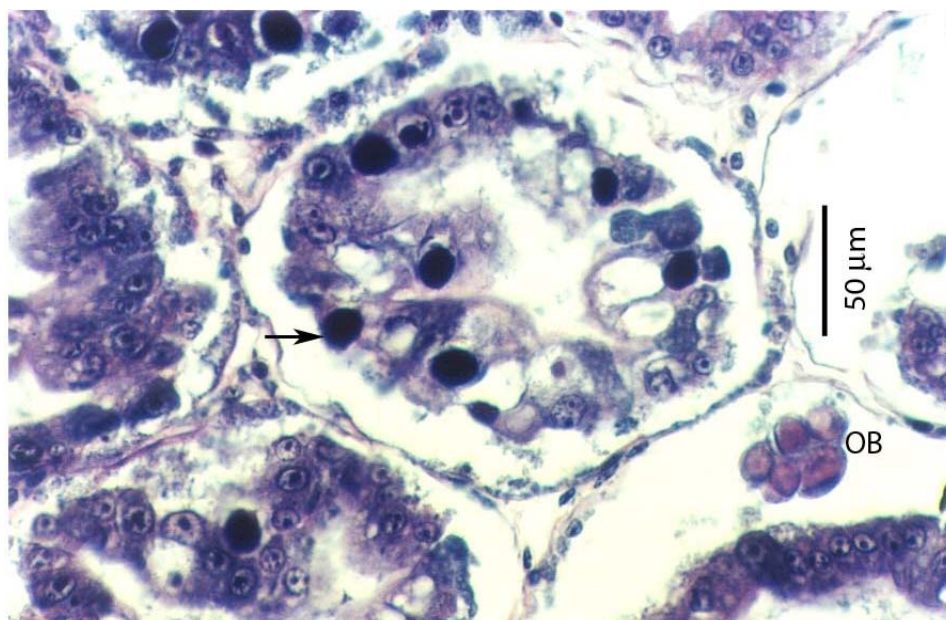


ภาพที่ 12 พยาธิสภาพของเซลล์ตับและตับอ่อนที่ติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีที่ศึกษาด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา (H&E , Bar = 50  $\mu$ m)





ภาพที่ 13 พยาธิสภาพของเซลล์ตับและตับอ่อนที่ติดเชื้อไวรัสเอชพีวีที่ศึกษาด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา สังเกตเห็นอินคลูชันบอดี (ครีซี) (H&E , Bar = 50 μm)



ภาพที่ 14 เกิดออกคลูชันบอดี (OB) ในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวี และเกิดอินคลูชันบอดีในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเอชพีวี (ครีซี) (H&E , Bar = 50 μm)

### 3.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของอาหารชนิดต่างๆที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกึ่งกุลาดำ

#### 3.3.1 การเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีตลอดการทดลอง

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกึ่งกุลาดำที่ได้รับอาหารชนิดต่างๆ ตลอด 10 สัปดาห์ โดยการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา แสดงในตารางที่ 13 และภาพที่ 15 เมื่อเริ่มการทดลองพบว่ามีปริมาณเชื้อในกึ่งกุลาดำก่อนการทดลอง  $100.00 \pm 0.00$  เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลองพบว่ากึ่งที่ได้รับอาหารสด (ชุดการทดลองที่ 3) มีปริมาณเชื้อลดลงมากที่สุด คือ พบการติดเชื้อเฉลี่ย  $55.21 \pm 9.95$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ กึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป (ชุดการทดลองที่ 1) พบปริมาณเชื้อเฉลี่ย  $71.17 \pm 10.48$  เปอร์เซ็นต์ และกึ่งที่ได้รับอาร์ทีเมีย (ชุดการทดลองที่ 2)  $93.44 \pm 9.15$  เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า กึ่งในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อลดลงดังนี้ คือ  $68.80 \pm 12.54$   $79.54 \pm 5.63$  และ  $57.76 \pm 14.50$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 6 มีการเปลี่ยนแปลงลดลงของเชื้อไวรัสเอ็มบีวีมากที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารสด (ชุดการทดลองที่ 3) โดยมีค่า  $42.50 \pm 9.74$  เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแปลงในสัปดาห์ที่ 8 พบว่ากึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปยังมีการพบปริมาณเชื้อไวรัสเอ็มบีวีมากที่สุด คือ  $68.19 \pm 12.69$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนกึ่งที่ได้รับอาร์ทีเมียและอาหารสด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 กลุ่มที่ยังพบเชื้อมากที่สุดคือ กึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป  $52.81 \pm 11.91$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนกึ่งที่ได้รับอาร์ทีเมียและอาหารสด พบเชื้อ  $29.47 \pm 7.98$  และ  $39.09 \pm 12.08$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สำหรับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกึ่งกุลาดำที่ได้รับอาหารชนิดต่างๆตลอด 10 สัปดาห์ โดยการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ แสดงในตารางที่ 14 และภาพที่ 16 เมื่อเริ่มการทดลองพบการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวี  $72.00 \pm 13.03$  เปอร์เซ็นต์ และในสัปดาห์ที่ 2 พบว่า กึ่งที่ได้รับอาหารสด มีการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อลดลงมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย  $56.75 \pm 10.45$  เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า กึ่งที่ได้รับอาหารสด มีการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อลดลงมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย  $44.39 \pm 15.89$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนกึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดและอาร์ทีเมีย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และในสัปดาห์ที่ 6 เปอร์เซ็นต์การพบเชื้อลดลงทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้  $46.70 \pm 11.76$  ,  $52.00 \pm 17.88$  และ  $36.42 \pm$

6.89 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การพบเชื้อในกึ่งกลาดำที่ได้รับอาหารทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่ากึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปและอาร์ทีเมียมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ  $51.00 \pm 10.83$  และ  $41.00 \pm 10.83$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า กึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปและอาร์ทีเมียมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ย  $31.21 \pm 8.62$  และ  $24.00 \pm 7.41$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อในกึ่งกลาดำที่ได้รับอาหารต่างชนิดกัน โดยใช้เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยาและเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ เพอร์เซ็นต์การติดเชื้อที่ได้จากการตรวจวินิจฉัยทั้ง 2 วิธี มีความแตกต่างกัน พบว่าการใช้เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยามีความไวในการตรวจพบเชื้อไวรัสเอ็มบีวีมากกว่า โดยมีเปอร์เซ็นต์การพบเชื้อมากกว่า การใช้เทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์

การเจริญเติบโตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า กึ่งที่ได้รับอาร์ทีเมียมีน้ำหนักเฉลี่ย  $987.90 \pm 173.90$  มิลลิกรัม กึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปมีน้ำหนักเฉลี่ย  $485.50 \pm 45.60$  มิลลิกรัม ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสด พบว่า มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $98.20 \pm 20.70$  มิลลิกรัม (ตารางที่ 15)

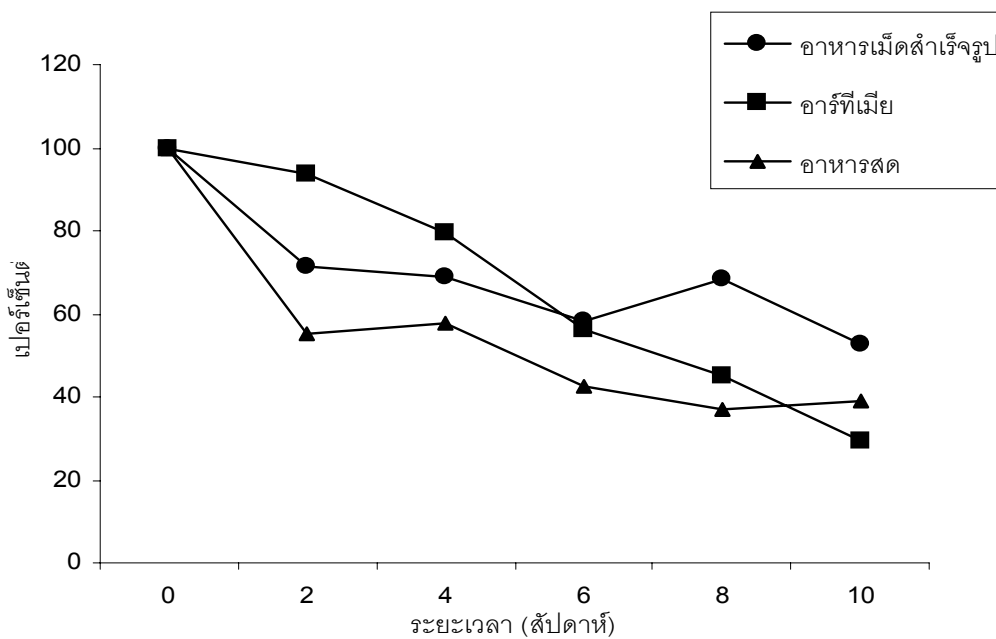
### 3.3.2 เปอร์เซ็นต์การรอดตาย

กึ่งที่ได้รับอาร์ทีเมียมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูงสุดคือ  $35.96 \pm 4.66$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ กึ่งที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปและอาหารสด โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอด  $12.96 \pm 3.31$  และ  $6.76 \pm 0.84$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

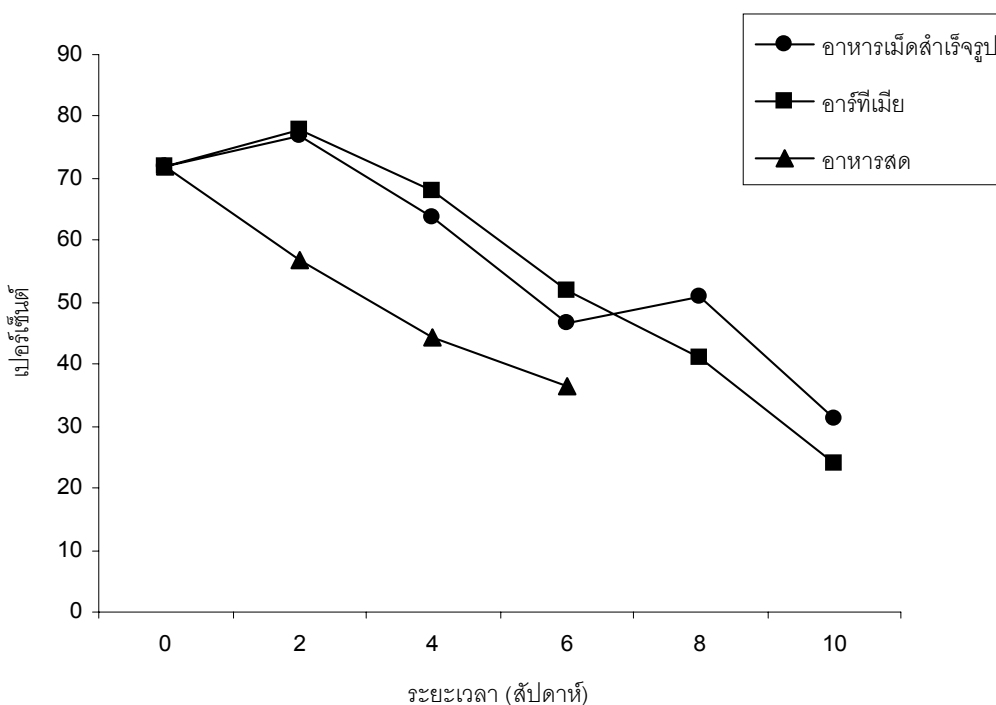
#### 3.3.2.3 คุณภาพน้ำตลอดการทดลอง

คุณภาพน้ำในตู้ทดลองตลอดการทดลอง 10 สัปดาห์ แสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 8 และ 9 โดยมีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 20.0 ถึง 23.5 ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 7.52 ถึง 7.86 สำหรับค่าความเป็นด่างมีค่าอยู่ในช่วง 40.25 ถึง 73.50 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร แอมโมเนียมีค่าอยู่ในช่วง 0.02 ถึง 0.15 มิลลิกรัมแอมโมเนียต่อลิตร และไนโตรเจนมีค่าอยู่ในช่วง 0.00 ถึง 0.36 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร





ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ่มกุลาดำแต่ละชุดการทดลองตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์ ด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา



ภาพที่ 16 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ่มกุลาดำแต่ละชุดการทดลองตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์ ด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์การรอดของกิ้งกูดาคำแต่ละชุดการทดลองที่ได้รับอาหารแตกต่างกันตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์การรอด (%)
T1 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป)	6.76 ± 0.84 <sup>a</sup>
T2 (อาร์ทีเมีย)	35.96 ± 4.66 <sup>c</sup>
T3 (อาหารสด)	12.96 ± 3.31 <sup>b</sup>

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีอักษรไม่เหมือนกันกับค่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.05)

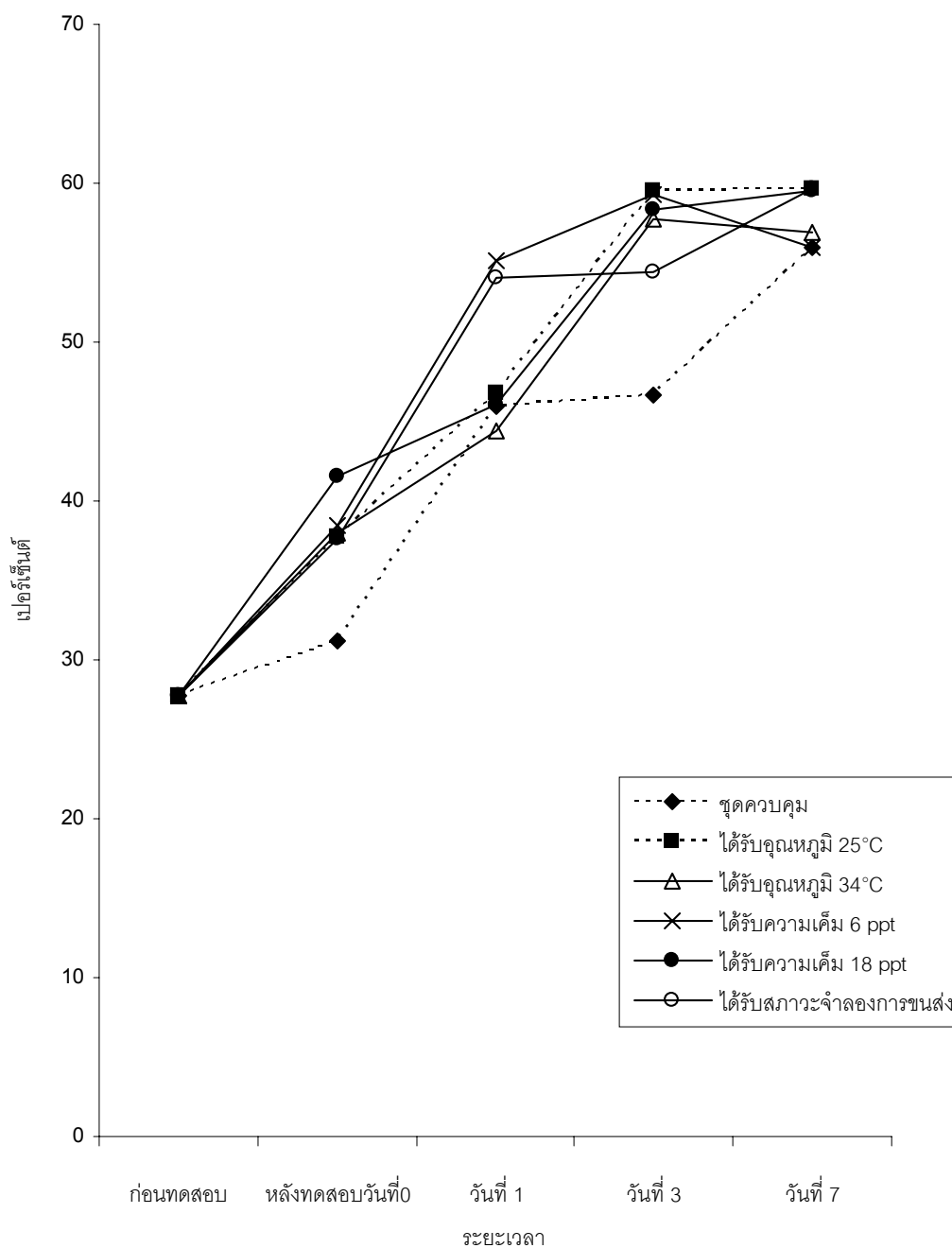
### 3.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของความเครียดต่อการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวี ในกิ้งกูดดำ

#### 3.4.1 การเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวี

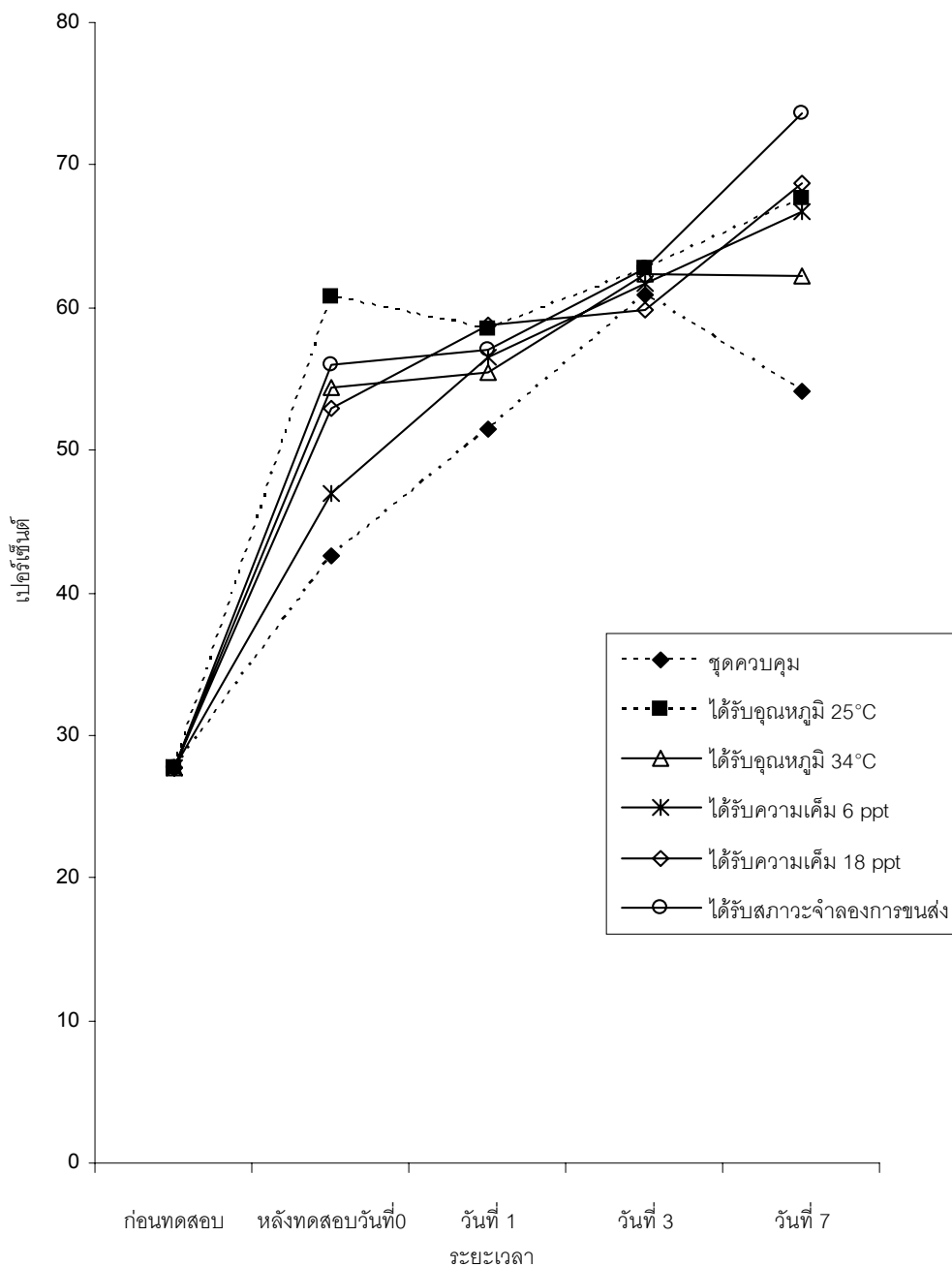
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงการติดเชื้อในกิ้งแต่ละชุดการทดลองที่ได้ทดสอบความเครียดที่สภาวะแตกต่างกันด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของกิ้งเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าเฉลี่ย  $27.75 \pm 0.86$  เปอร์เซ็นต์ แสดงในตารางที่ 17 และภาพที่ 17 หลังจากให้ความเครียดที่สภาวะต่างๆเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในวันที่ 0 พบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุมได้รับอุณหภูมิ  $29^{\circ}\text{C}$  และความเค็ม 12 ppt) มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเฉลี่ย  $31.15 \pm 8.70$  เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ 2 (ได้รับอุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  และความเค็ม 12 ppt) มีค่าเฉลี่ย  $37.77 \pm 2.22$  เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ 3 (ได้รับอุณหภูมิ  $34^{\circ}\text{C}$  และความเค็ม 12 ppt) มีค่าเฉลี่ย  $37.97 \pm 6.56$  เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ 4 (ได้รับความเค็ม 6 ppt และอุณหภูมิ  $29^{\circ}\text{C}$ ) มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเฉลี่ย  $38.50 \pm 14.04$  เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองที่ 5 (ได้รับความเค็ม 18 ppt และอุณหภูมิ  $29^{\circ}\text{C}$ ) หลังจากทดสอบความเครียดแล้วพบว่ามีการติดเชื้อเฉลี่ย  $41.53 \pm 5.98$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดการทดลองที่ 6 (ได้รับสภาวะจำลองการขนส่ง) มีการติดเชื้อเฉลี่ย  $37.62 \pm 9.01$  เปอร์เซ็นต์ หลังจากทดสอบความเครียดในวันที่ 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละชุดการทดลองเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) และวันที่ 3 พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันและมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ 1 พบการติดเชื้อน้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ย  $46.64 \pm 1.68$  เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองวันที่ 7 มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้คือ  $55.97 \pm 4.41$  ,  $59.67 \pm 3.02$  ,  $56.88 \pm 3.85$  ,  $55.97 \pm 3.46$  ,  $59.54 \pm 5.46$  และ  $59.59 \pm 7.51$  เปอร์เซ็นต์

สำหรับผลการทดสอบความเครียดในสภาวะต่างกัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงในตารางที่ 18 และภาพที่ 18 โดยกิ้งมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเริ่มต้น  $27.75 \pm 0.86$  เปอร์เซ็นต์ และหลังจากทดสอบความเครียดครบ 24 ชั่วโมง ในวันที่ 0 พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละชุดการทดลองเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) และเมื่อเลี้ยงในสภาวะปกติเป็นเวลา 1 วัน และ 3 วัน ได้ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อพบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในแต่ละชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเล็กน้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) เช่นเดียวกัน ส่วนเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ

ในแต่ละชุดการทดลองหลังจากเลี้ยงในสภาวะปกติ 7 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) โดยพบว่า ในชุดการทดลองที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อน้อยที่สุดคือ  $54.14 \pm 1.35$  เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ 6 มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย  $73.61 \pm 1.25$  เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เมื่อทำการวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำในชุดการทดลองที่ 6 ที่อยู่ในสภาวะการจำลองการขนส่งหลังจากทดสอบความเครียดที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่ามีค่าออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 2.12 มิลลิกรัม/ลิตร และ 1.63 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ



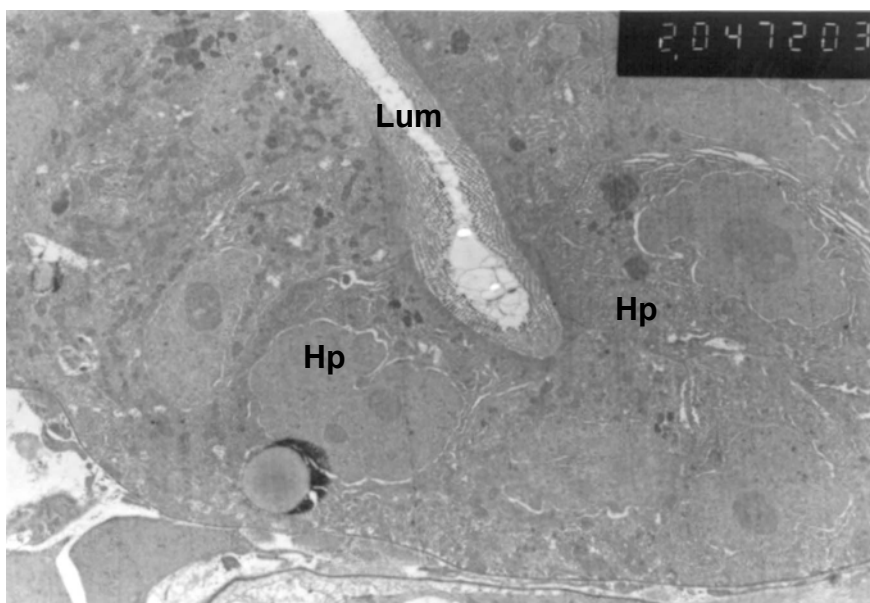
ภาพที่ 17 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ้งกุลาดำ ก่อนทดสอบความเค็มในสภาวะที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และหลังทดสอบความเค็มวันที่ 0 , 1 , 3 และ 7



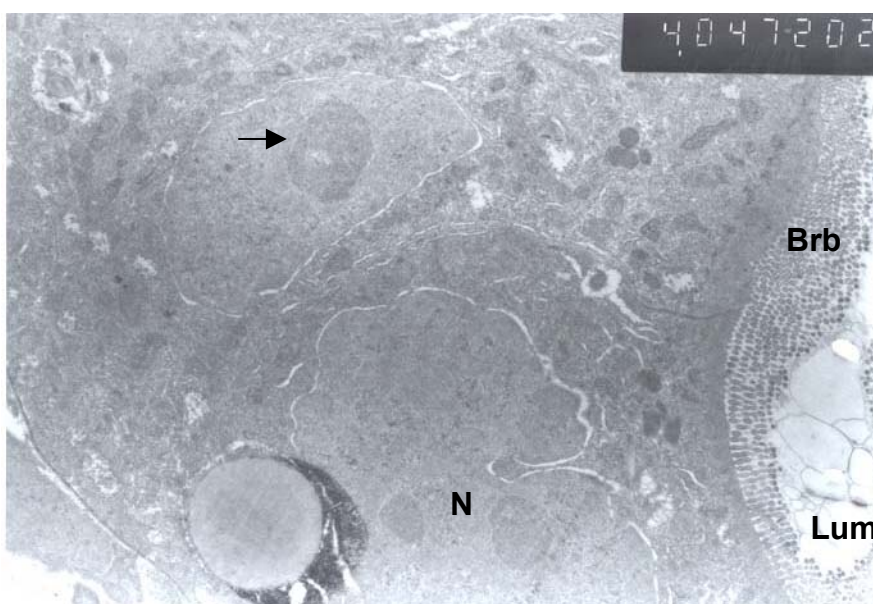
ภาพที่ 18 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีในกุ่มกุลาดำ ก่อนทดสอบความเครียดจากสภาวะที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหลังทดสอบความเครียดวันที่ 0, 1, 3 และ 7

### 3.5 การทดลองที่ 5 การศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีด้วยเทคนิคทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

จากการศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ตับและตับอ่อนของกึ่งกุลาดำที่ติดเชื้อไวรัสเอ็มบีวีด้วยเทคนิคจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (สากล, 2544) จะเห็นว่าภายในเซลล์ที่ยังไม่พบการติดเชื้อ นิวเคลียสมีลักษณะปกติ เห็นขอบเขตเซลล์ที่ชัดเจน (ภาพที่ 19) และไมโครวิลลัส บรัสบอร์ดีเตอร์ บริเวณท่อตับและตับอ่อน เซลล์เรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 20) จากภาพที่ 21 จะเห็นเซลล์ที่ผิดปกติหลายๆเซลล์ด้วยกันโดยเกิดนิวเคลียสบวมพอง บริเวณขอบเขตเซลล์มีรอยแยกกันระหว่างเซลล์ และในเซลล์ที่มีการติดเชื้อในระยะแรกๆจะพบการเปลี่ยนแปลงที่นิวเคลียส และพบก้อนไขมันภายในเซลล์ (ภาพที่ 22) สังเกตเห็นภายในนิวเคลียส นิวคลีโอไลต์เริ่มกระจาย โครมาตินเคลื่อนที่ไปชิดขอบนิวเคลียส (ภาพที่ 23) ในขณะเดียวกันพบการเปลี่ยนแปลงของไมโทคอนเดรีย โดยมีรูปร่างผิดปกติไป เนื่องจากคริสตี (cristea) ที่อยู่ในไมโทคอนเดรียเกิดการบวม (ภาพที่ 24) นอกจากนี้ยังพบแวคคิวโอลเกิดขึ้นภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่ติดเชื้อด้วย (ภาพที่ 25 และ 26) จากภาพที่ 27 ลักษณะของเซลล์เกิดการเสื่อมสลายเนื่องจากการขยายใหญ่ของออกคลูชันบอดีจนมีการแตกสลายของเซลล์ทำให้ออกคลูชันบอดี และอนุภาคไวรัสกระจายออกมานอกเซลล์ ส่วนด้านบนสังเกตเห็น ไมโครวิลไล บรัสบอร์ดีเตอร์ (Brb) รวมทั้งองค์ประกอบเซลล์อื่นๆที่แตกสลายหลุดออกสู่ท่อตับและตับอ่อน (Lum) เมื่อดูภายในออกคลูชันบอดีที่กำลังขยาย  $1.5 \times 20,000$  เท่า (ภาพที่ 28) มีลักษณะเป็นร่างแห ภายในเต็มไปด้วยอนุภาคไวรัสรูปร่างแท่ง และจากภาพที่ 29 จะเห็นว่านอกจากจะพบอนุภาคไวรัสในส่วนออกคลูชันบอดีแล้วยังพบอนุภาคไวรัสอิสระที่กระจายตัวอยู่นอกออกคลูชันบอดีด้วย

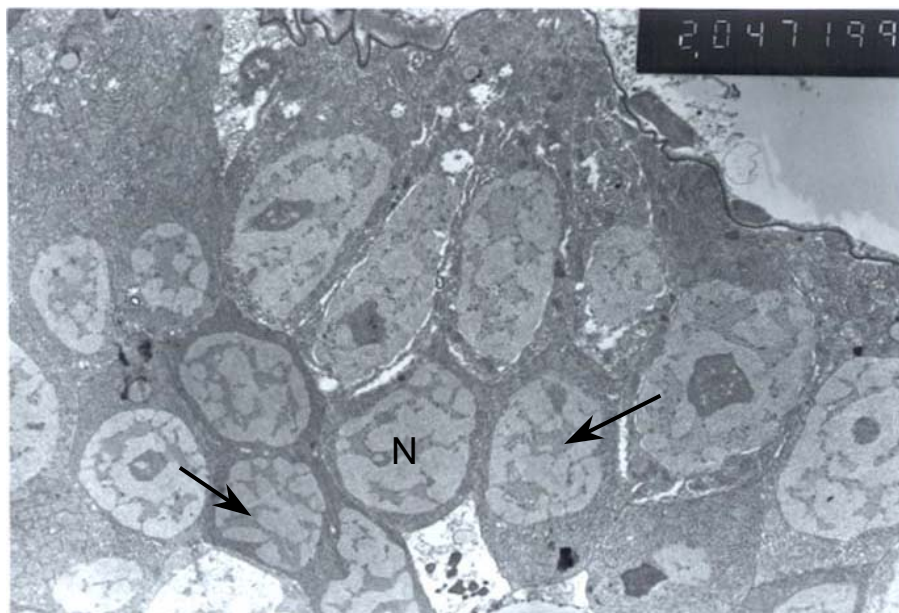


ภาพที่ 19 ท่อ (Lum) และเซลล์ดัดและดัดอ่อน (Hp) ของกุ่มปกติ  
(กำลังขยาย  $1.5 \times 2,000$  เท่า)

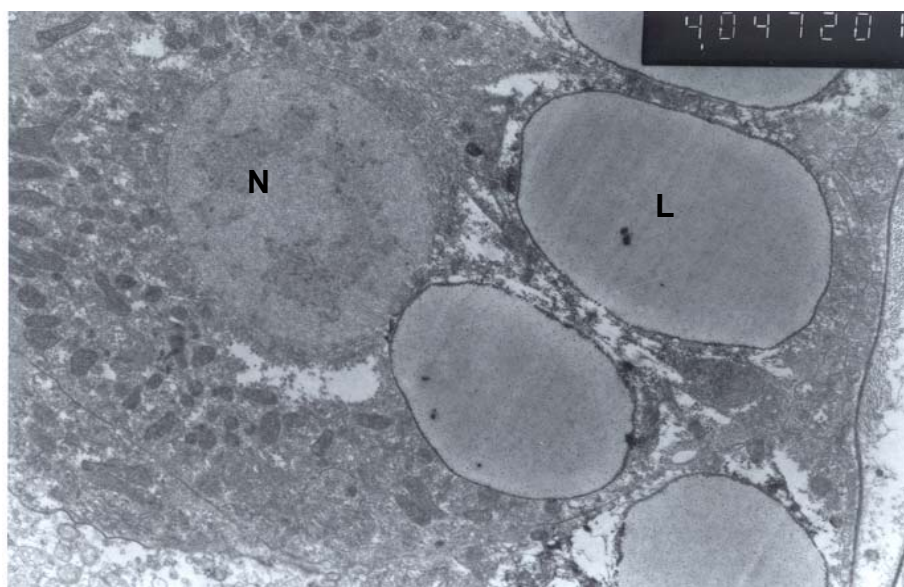


ภาพที่ 20 นิวคลีโอลัส (ศรชี้) ติดสีเข้มในนิวเคลียส (N) และไมโครวิลลัส บรัสบอร์ดเดอร์ (Brb) เรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ (กำลังขยาย  $1.5 \times 4,000$  เท่า)

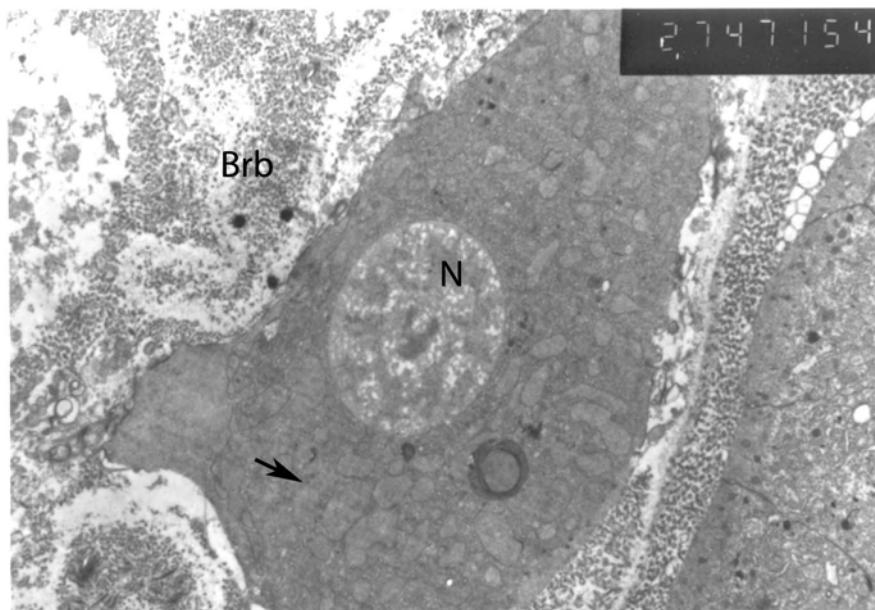




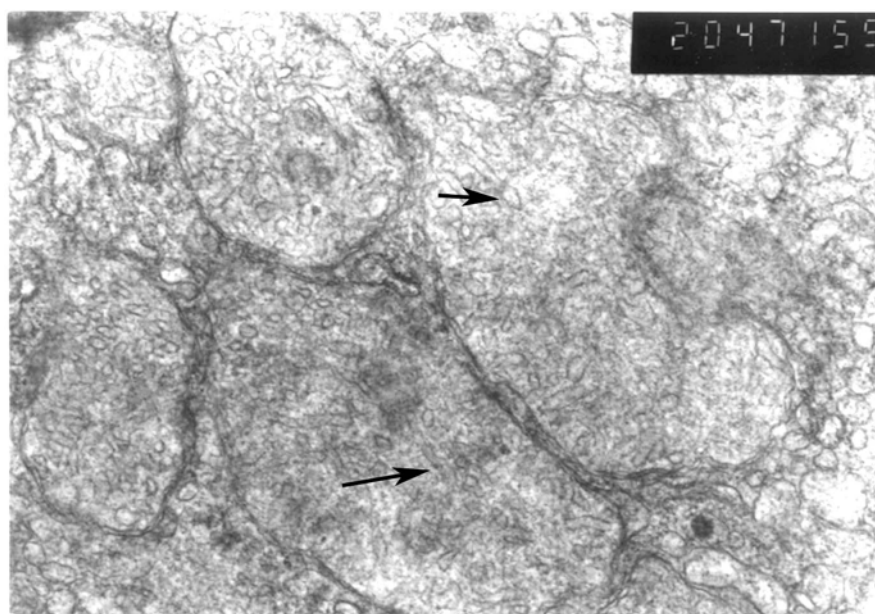
ภาพที่ 21 เซลล์และท่อที่ติดเนื้อ พบนิวเคลียสรวม (N) และนิวคลีโอลัส (ครกซ์) กระจายอยู่ในนิวเคลียส (กำลังขยาย  $1.5 \times 2,000$  เท่า)



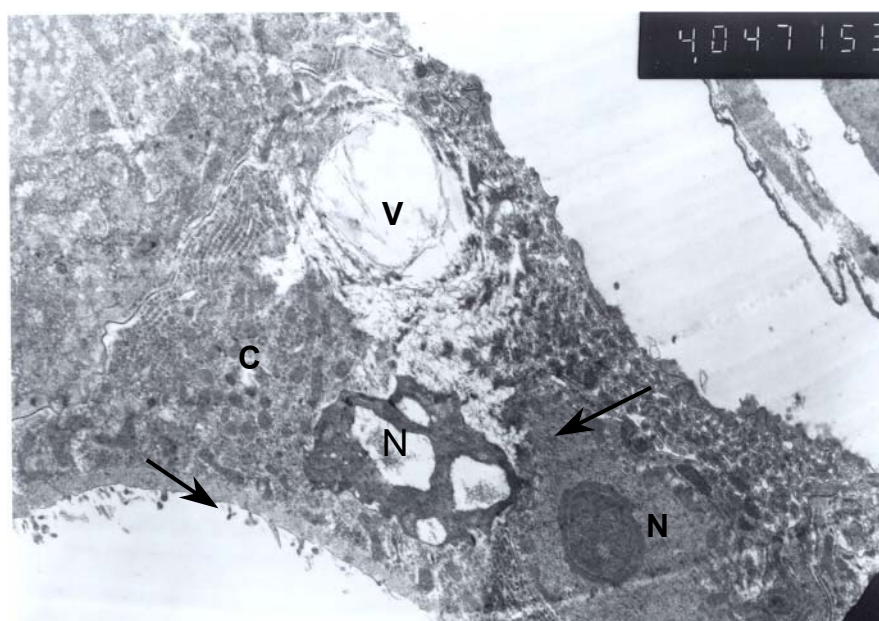
ภาพที่ 22 เซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงภายในนิวเคลียส (N) สังเกตเห็นหยดไขมัน (L) ภายในไซโตพลาสซึม (กำลังขยาย  $1.5 \times 4,000$  เท่า)



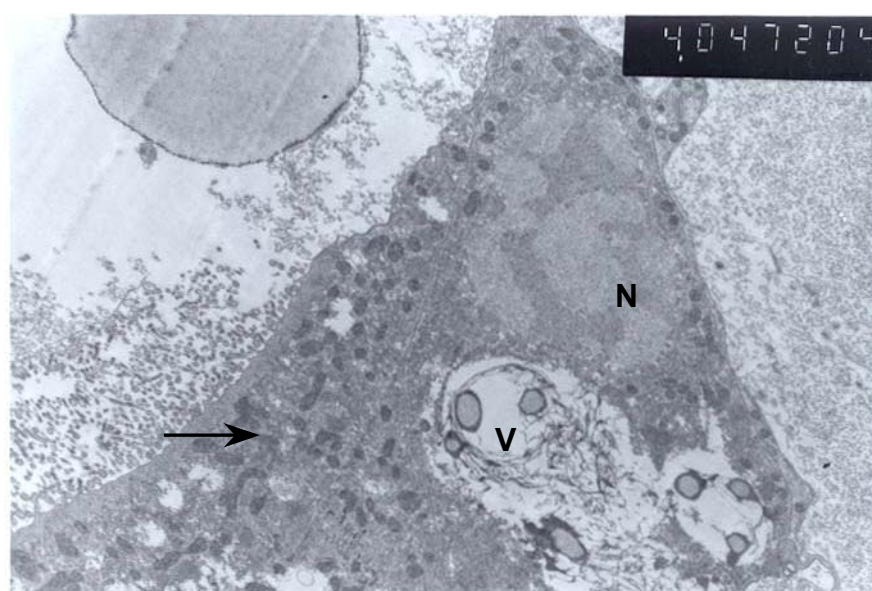
ภาพที่ 23 ภายในนิวเคลียส (N) ของเซลล์ตับและตับอ่อนที่เริ่มติดเชื้อ นิวคลีโอไลต์เริ่มกระจาย โครมาตินเคลื่อนที่ไปชิดขอบนิวเคลียส เกิดการรวมของไมโทคอนเดรีย (ครีตี้) และไมโครวิลลัส บรัสบอร์ดเดอร์ (Brb) (กำลังขยาย  $1.5 \times 2,700$  เท่า)



ภาพที่ 24 คริสตี้ (cristea) (ครีตี้) ภายในไมโทคอนเดรียเกิดการรวม (กำลังขยาย  $1.5 \times 20,000$  เท่า)

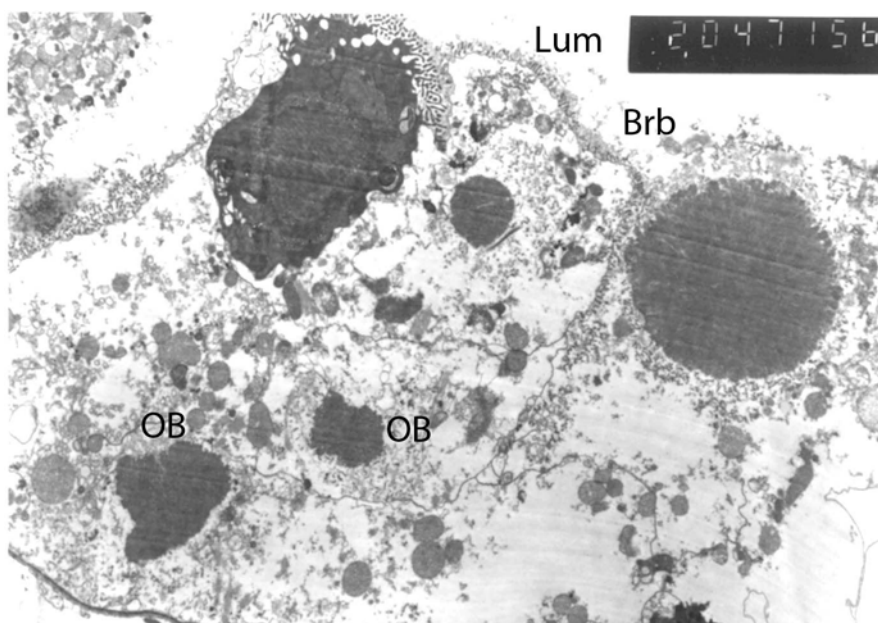


ภาพที่ 25 พบแวคคิวโอล (V) ภายในไซโตพลาสซึม (C) ของเซลล์ตับและตับอ่อนที่ติดเชื้อ (กำลังขยาย  $1.5 \times 4,000$  เท่า)

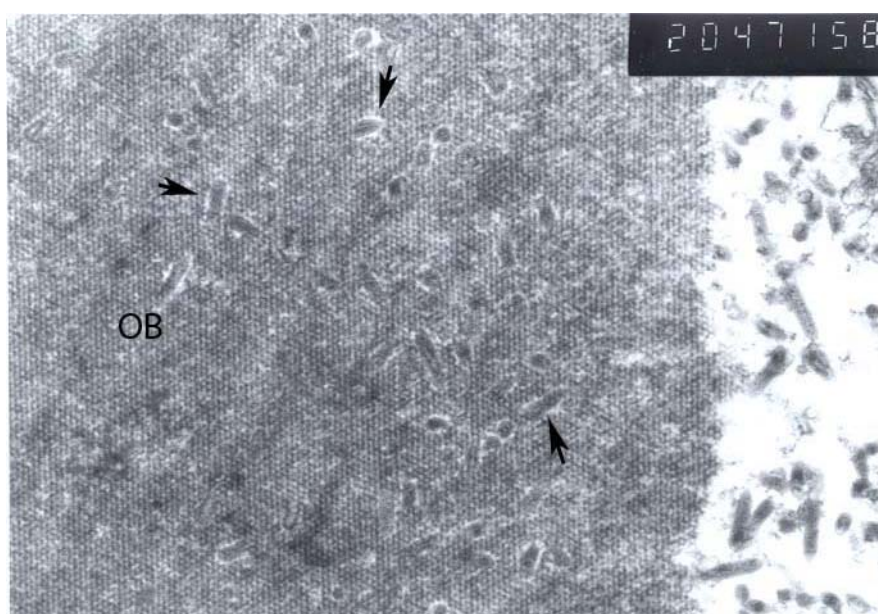


ภาพที่ 26 เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงเกิดนิวเคลียสรวมพอง (N) พบแวคคิวโอล (V) และไมโทคอนเดรียบวม (ครี) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ (กำลังขยาย  $1.5 \times 4,000$  เท่า)

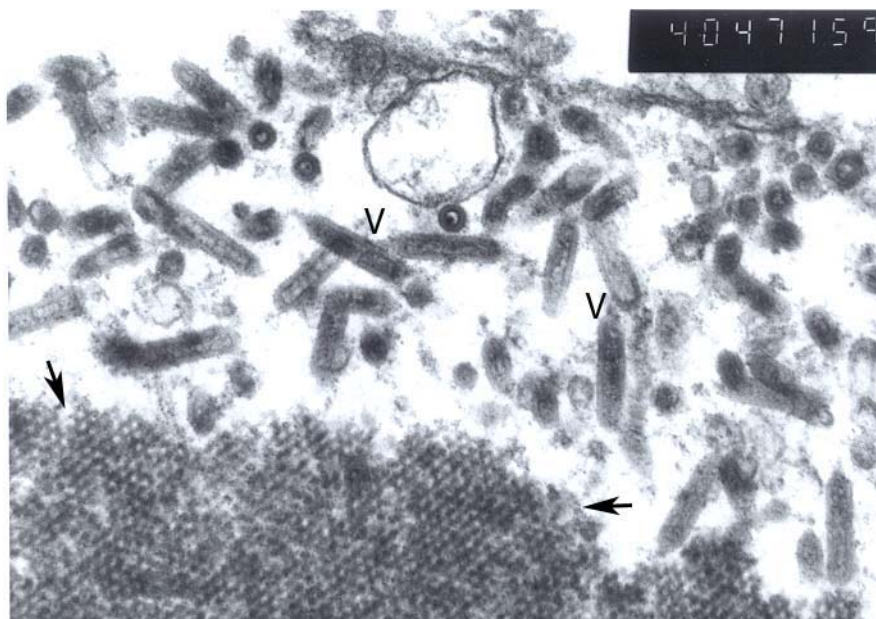




ภาพที่ 27 เซลล์ตับและตับอ่อนของเชื้อไวรัสเอ็มบีวี พบออกคลูชันบอดี (OB) ด้าน  
บนสังเกตเห็น ไมโครวิลลัส บรัสบอร์ดเดอร์ (Brb) รวมทั้งองค์ประกอบเซลล์  
อื่นๆ  
หลอดออกสู่ท่อตับและตับอ่อน (Lum) (กำลังขยาย  $1.5 \times 2,000$  เท่า)



ภาพที่ 28 ออกคลูชันบอดี (OB) มีลักษณะเป็นร่างแหของโพลีอีตริโนโปรตีน ภาย  
ในมีอนุภาคไวรัสเอ็มบีวีที่มีรูปร่าง (ศรชี้) (กำลังขยาย  $1.5 \times 20,000$  เท่า)



ภาพที่ 29 อนุภาคไวรัสอีสุระ (V) ที่อยู่นอกออกคลูชันบอดี (ศรีซี่)  
(กำลังขยาย  $1.5 \times 40,000$  เท่า)