การคัดแยกแบคทีเรียจากลำไส้กุ้งก้ามกรามในครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายหลักเพื่อการคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อก่อโรคในกุ้งก้ามกราม ผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 699 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียแกรมบวก 579 ไอโซเลต และเมื่อนำแบคทีเรียไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค พบว่ามีแบคทีเรียเพียง 12 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* และ *Vibrio parahaemolyticus* ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคในกุ้งก้ามกราม การทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกแบคทีเรีย โดยทำการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ catalase การทนต่อสภาพความเป็นกรดสูงและเกลือน้ำดี 0.3 เปอร์เซ็นต์ การเกิด autoaggregation, coaggregation, hydrophobicity การยึดเกาะกับเซลล์ Caco-2 และการทนต่ออุณหภูมิสูง ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียไอโซเลต P21 และ P65 มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเป็นโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ดี จากการจัดจำแนกแบคทีเรียดังกล่าวโดยการใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป API 50 CHB และการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลต คือ *Bacillus subtilis* และเรียกแบคทีเรียไอโซเลต P21 และ P65 ว่า *Bacillus* P21 และ *Bacillus* P65 ตามลำดับ จากการศึกษาประสิทธิภาพของโปรไบโอติกแบคทีเรียต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคและการทำงานของภูมิคุ้มกันในกุ้งก้ามกราม พบว่ากลุ่มที่มีการเสริม *Bacillus* P21 และ *Bacillus* P65 มีอัตราการตายน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* นอกจากนี้ กลุ่มที่มีการเสริม *Bacillus* P21 มีจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับเชื้อก่อโรคทั้งชั่วโมงที่ 2 และ 8 เมื่อทำการนับชนิดของเม็ดเลือด พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีร้อยละของเม็ดเลือดไฮยาลินน้อยกว่ากรานูล และพบว่ากลุ่มที่มีการเสริม *Bacillus* P21 และ *Bacillus* P65 มีแนวโน้มลดจำนวนของ *A. hydrophila* ที่แพร่กระจายไปยัง hepatopancreas และกล้ามเนื้อน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับเชื้อก่อโรค ในการศึกษานี้สรุปได้ว่าแบคทีเรีย *Bacillus* P21 และ *Bacillus* P65 มีแนวโน้มที่ดีที่จะนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามเพื่อลดอันตรายจากเชื้อก่อโรค

In this particular study, the main objective of the isolation of bacteria from giant freshwater prawn intestines was to screen for probiotic bacteria that could inhibit pathogens and stimulate the immune system against pathogens in giant freshwater prawns. Results showed the total of 699 bacterial isolates from which 579 isolates were gram-positive. After testing for the ability to inhibit pathogenic action, 12 bacterial isolates were found to have the ability to inhibit the pathogenic action of *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio parahaemolyticus* which were considered as the causes of major diseases among giant freshwater prawns. The probiotic bacteria were examined for their properties of produce catalase enzyme production, low pH and 0.3% bile salt tolerance, autoaggregation, coaggregation, hydrophobicity, adhesion to CaCo-2 cell, and high temperature tolerance. Results showed that P21 and P65 bacterial isolates had these properties that made suitable as probiotic bacteria. From the isolation by using the API 50 CHB packaged and comparing their 16S rRNA sequences, these two bacterial isolates were identified as *Bacillus subtilis*, and P21 and P65 were named *Bacillus* P21 and *Bacillus* P65, respectively. Later in the study of these probiotic bacteria on inhibiting pathogens and stimulating the immune system of the giant freshwater prawns, it was found that the addition of *Bacillus* P21 and *Bacillus* P65 caused lower mortality rates than a control group when received the pathogenic bacteria, *A. hydrophila*. Besides, prawns applied with *Bacillus* P21 had the number of total haemocyte that was nearly similar to the control with negative pathogens at 2 and 8 hour-periods. When the blood types were differentiated, all trial groups contained lower percentage of hyaline than granular types. In addition, those with additional *Bacillus* P21 and *Bacillus* P65 had the tendency to reduce the number of *A. hydrophila* which were distributed in the hepatopancreas and muscles as compared to the control with positive pathogens. In summary, *Bacillus* P21 and *Bacillus* P65 bacterial isolates could be used as probiotic bacteria to reduce pathogenic infection in giant freshwater prawns.