บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

นำ *Lactobacillus* spp. จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1338, *L. bulgaricus* TISTR 1339, *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 และ *L. jensenii* TISTR 1342 เก็บรักษาโดยวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Dried หรือ Lyophilized) ใช้ภาวะในการเก็บรักษาที่ –20°ซ และใช้สารละลายนมพร่องมันเนย 10% เป็นสารป้องกันความเย็น ตรวจสอบการรอดชีวิตทุก 3 เดือน จนครบ 12 เดือน ผลการทดลองพบว่าสามารถเก็บรักษาเชื้อได้ดี โดยยังคงมีการรอดชีวิตในระดับสูงโดยทุกสายพันธุ์มีการรอดชีวิตสูงกว่าร้อยละ 97 *L. bulgaricus* TISTR 1339 และ *L. casei* subsp. *Tolerans* TISTR 1341 มีการรอดชีวิตสูงสุด รองลงมา คือ *L. jensenii* TISTR 1342 และ *L. acidophilus* TISTR 1338 ตามลำดับ การเก็บรักษาเซลล์จุลินทรีย์โดยวิธีนี้อาศัยหลักการระเหิด และการคายดึงน้ำในเซลล์ออก ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ภายใต้สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิต่ำอยู่ในภาวะพักตัว มีการลดลงของแอคติวิตีและกิจกรรมของเอนไซม์แต่ลมบัติของเอนไซม์และโปรตีนไม่ถูกทำลาย เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นเอนไซม์ก็สามารถทำงานได้ตามปกติ (Robinson, 1981, Norris และ Ribbon, 1970) การรอดชีวิตของเชื้อผงแห้งหลังเก็บรักษาเป็นเวลานานมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องได้แก่ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ช่วงอายุการเก็บเชื้อ ชนิดของสารป้องกันความเย็นและสภาวะในการเก็บรักษาเซลล์ จุลินทรีย์ที่มีสายพันธุ์ใกล้เคียงกันจะมีลักษณะสรีรวิทยาใกล้เคียงกันส่งผลต่อการรอดชีวิตภายหลังการเก็บภายใต้อุณหภูมิต่ำและขาดแคลนอาหารได้ใกล้เคียงกัน ดังในการทดลองนี้แต่ละสายพันธุ์ของ *Lactobacillus* spp. มีปริมาณการรอดชีวิตภายหลังการเก็บที่ -20 °ซ นาน 12 เดือน ใกล้เคียงกันประมาณร้อยละ 97- 98 อีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญคือ ช่วงเวลาในการเก็บเซลล์ในการทดลองนี้เลือกเก็บเซลล์ในช่วงปลาย Log phase ต่อกับ stationary phase ซึ่งเป็นช่วงที่จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นสูงสุด ในขณะที่อัตราการตายยังคงมีอยู่น้อย และเซลล์ยังคงอยู่ในสภาพสมบูรณ์ ช่วยให้เซลล์ยังคงมีการรอดชีวิตสูงหลังจากการผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Day และ McLellan, 1995) การเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อให้เพิ่มจำนวนสูงสุดทำในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เอ็ม อาร์ เอส ซึ่งมีทวีน 80 เป็นองค์ประกอบซึ่งมีส่วนสำคัญช่วยเพิ่มความเสถียรของเซลล์ระหว่างการเก็บให้มากขึ้น เนื่องจากมีผลเพิ่มระดับคาร์บอนในชั้นลิปิดรอบๆ เซลล์เมมเบรนให้มากขึ้นเป็นผลให้เซลล์เมมเบรนมีความยืดหยุ่นเพิ่มมากขึ้นเป็นการเพิ่มความเสถียรให้กับเซลล์เมมเบรน (Mayra และ Bigret, 1993) หลังสิ้นสุดทุกขั้นตอนในการทำแห้งแล้วจะเหลือน้ำอยู่ภายในเซลล์ต่ำมากประมาณร้อยละ 1 ทำให้ปฏิกริยาต่าง ๆ ซึ่งมี

น้ำเป็นตัวทำละลายและองค์ประกอบภายในเซลล์หยุดชะงัก (de Valdez และคณะ, 1985) ที่สำคัญ คือ ทำให้ความเข้มข้นของสารละลายภายเซลล์เปลี่ยน สารอิเลคโตรไลต์ภายในเซลล์ถูกทำให้เข้มข้นมากขึ้น มีผลทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนภายในเซลล์และเซลล์จะตายในที่สุด (Mellor, 1978) นอกจากนั้นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เซลล์ถูกทำลายระหว่างการทำแห้งแบบเยือกแข็งเกิดจากแรงดันออสโมติก (Osmotic shock) (de Valdez และคณะ, 1983) เพื่อป้องกันเซลล์จึงต้องเลือกเติมสารป้องกันความเย็นที่เหมาะสม โดยสารป้องกันความเย็นจะมีผลเข้าไปแทนที่โมเลกุลน้ำในโครงสร้างโปรตีนทำให้อิเลคโตรไลต์เป็นกลาง ซึ่งจะช่วยป้องกันโปรตีนจากการเสียสภาพ (Mellor, 1978, Moat, 1979) นอกจากนั้นยังมีผลเคลือบป้องกันผิวเซลล์จากการสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศในกรณีที่มีการเปิดหลอดหรือขวด (สมบูรณ์, 2539) โดยทั่วไปสารป้องกันความเย็นมักมีโครงสร้างเป็นกลุ่มอะมิโนหรือกลุ่มอัลกอฮอล์ลำดับที่สอง รวมทั้งกลุ่มที่เป็นสารประกอบโปรตีน เช่น นม หรือซีรัมมีผลช่วยคงความเสถียรของเซลล์ได้ (Mellor, 1978 และ,Moat, 1979) ดังในการทดลองนี้ใช้สารละลายนมพร่องมันเนย 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นสารป้องกันความเย็นพบว่าได้ผลดีโดยหลังเก็บนาน 12 เดือนยังคงมีการรอดชีวิตในระดับสูง นอกจากนั้นยังเป็นสารป้องกันความเย็นมาตรฐานที่มีการใช้ทั่วไปในศูนย์เก็บรักษาจุลินทรีย์ เช่น ศูนย์เก็บรักษาจุลินทรีย์ในสหรัฐอเมริกา ใช้สารละลายนมพร่องมันเนย 20% ผสมเชื้อให้ได้เข้มข้นสุดท้ายเป็น 10% และบางครั้งใช้สารละลายซูโครส 24% แทนสารละลายนมพร่องมันเนย ผสมให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำตาลเป็น 12% เพื่อเก็บรักษาเชื้อบางจำพวก, (สมบูรณ์, 2539) การเก็บรักษาหลังผ่านการทำแห้งแล้วใช้อุณหภูมิที่–20^{o}ซ ในสภาพที่แห้งในขวดที่มีการปิดผนึกอย่างดีเพื่อไม่ให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับความชื้นและอากาศ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการรอดชีวิตได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีความสามารถที่จะดูดความชื้นได้ดี

ตรวจสอบหาจำนวน ล.อ.บ. ในอาหารไก่ของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน)จำกัด ตรวจไม่พบ เมื่อนำ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมทั้ง 4 สายพันธุ์ผสมในน้ำกรองและในอาหารไก่ของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด ตรวจสอบความสามารถในการเจริญและอยู่รอด เพื่อนำไปใช้จริงในงานภาคสนาม โดยทดลองที่ 21 ^{o}ซ และ 30^{o}ซ โดยที่ 21^{o}ซ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเลี้ยงไก่ เพื่อให้ไก่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี (วรวิทย์, 2532) พบว่า จำนวน ล.อ.บ. ตรวจพบในน้ำกรองและในอาหารไก่ที่ทั้ง 2 อุณหภูมิมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียวกัน ในน้ำกรองจะมีจำนวน *Lactobacillus* spp. ที่ตรวจพบสูงกว่าทั้ง 2 อุณหภูมิ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมสามารถรอดชีวิตในน้ำได้ดีกว่าในอาหารไก่ เนื่องจาก *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถผสมและละลายเข้ากันในน้ำได้อย่างดี สารอาหารที่ยังเหลืออยู่สามารถละลายปนมาในน้ำทำให้ *Lactobacillus* spp. สามารถนำ

ไปใช้ในการเจริญได้ ส่งผลให้จำนวน *Lactobacillus* spp. สูงขึ้นนับตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 สำหรับในอาหารไก่มีภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญต่ำกว่าในน้ำกรอง. ได้แก่ การขาดแคลนน้ำและสารอาหาร การสัมผัสกับออกซิเจนและความชื้น และมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ อยู่มาก ทำให้จำนวน ล.อ.บ. ในช่วงหลังชม.ที่ 36 ลดต่ำลงกว่าปริมาณที่ให้ตั้งต้นประมาณ 1-2 log cycle อย่างไรก็ตามใน 24 ชั่วโมงแรกยังคงมีความเข้มข้นใกล้เคียงกับความเข้มข้นตั้งต้น 10^8 CFU/g ซึ่งเป็นปริมาณที่ต้องการให้ในการทดลองภาคสนาม มีรายงานการนำ *Lactobacillus* spp. ในรูปผงแห้งในมาใช้เสริมในอาหารสัตว์ พบว่าสามารถตรวจพบการรอดชีวิตในอาหารแห้งได้นานกว่า 2 สัปดาห์ และรวมทั้งกลุ่มแอนแอโรปส์แบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์สามารถมีชีวิตอยู่ได้โดยไม่มีการสูญเสียการรอดชีวิตนานกว่า 1 สัปดาห์ (Ella, และ Barnes, 1979) จึงเป็นแนวทางในการนำผลที่ได้ไปใช้ทดสอบจริงในการเสริมโพรไบโอติกในน้ำดื่มและในอาหารไก่เพื่อเปรียบเทียบผลที่มีต่อการเจริญและการต้านทานโรคติดเชื้อในไก่ต่อไป

เมื่อนำ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสม 4 สายพันธุ์ เสริมในการเลี้ยงไก่เพื่อดูผลต่อการเจริญเติบโต เมื่อครบการเลี้ยง 42 วัน กลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด คือ กลุ่มที่มีจำนวน ล.อ.บ. ตรวจพบในลำไส้สูงสุดและสม่ำเสมอมากสุด รวมทั้งตรวจพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้มากสุด ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับโพรไบโอติกในน้ำดื่ม กลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงรองลงมา คือ ไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติกเสริมในอาหาร มีจำนวนและสายพันธุ์ของ *Lactobacillus* spp. ที่พบโดยเป็นสายพันธุ์ที่ให้รองลงมา ทั้ง 2 กลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ยและจำนวน ล.อ.บ. ที่พบสูงกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะการเลี้ยง สำหรับค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารมีค่าใกล้เคียงกันระหว่างกลุ่มได้รับโพรไบโอติกในน้ำดื่มและกลุ่มควบคุมได้รับสารปฏิชีวนะในอาหาร โดยทั้ง 2 กลุ่มมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) กับไก่กลุ่มทดลองอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus* spp.สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้ในรูปผงแห้งแบบผสมมีผลเร่งอัตราการเจริญได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมโดยใช้ปริมาณอาหารใกล้เคียงกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้สามารถเข้าไปเจริญอยู่รอดและครอบครองพื้นที่ในลำไส้ได้นับแต่วันแรกๆ ของการเลี้ยงเป็นการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อลำไส้นับตั้งแต่ไก่แรกเกิด โดยสามารถเข้าไปแทนที่ *Enterococcus* spp. และเจริญอยู่ร่วมกับ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์แบคทีเรียประจำถิ่นได้ และมีผลช่วยควบคุมสมดุลย์ของแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหาร ยืนยันได้จากจำนวนแบคทีเรียประจำถิ่นที่ตรวจพบในลำไส้กลุ่มทดลองได้รับโพรไบโอติกมีจำนวนคงที่และค่อนข้างสม่ำเสมอตลอดการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่ได้รับโพรไบโอติกตามตารางที่ 9 สาเหตุที่ *Lactobacillus* spp. สามารถเข้าเจริญแทนที่แบคทีเรียกลุ่มอื่น ๆ ในลำไส้ได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีความจำเพาะเจาะสูงต่อผู้อาศัยและบริเวณที่เข้ายึดเกาะจึง

สามารถแข่งขันเข้ายึดเกาะกับผนังเยื่อบุของระบบทางเดินอาหารตั้งแต่ส่วนกระเพาะพักจนถึงระบบลำไส้ได้ดี (Watkins และ Miller, 1982) นอกจากนี้ *Lactobacillus* spp. ยังสามารถผลิตกรดแลคติก มีผลลด pH ในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในลำไส้ รวมทั้งสร้างสารต่อต้านจุลชีพ ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซิทิล ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคในลำไส้ได้ (Fuller, 1989 และ 1992) รวมทั้งมีผลลดการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ยูรีเอส เป็นการลดการสะสมแอมโมเนียซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์ (Yeo และ Kim, 1997) ภาวะความเป็นกรดในระบบทางเดินอาหารนี้ยังมีผลช่วยการดูดซึมสารอาหารบางตัวให้ดีขึ้น (Shirota,1969) ยังพบอีกว่า *Lactobacillus* spp. สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสช่วยในการย่อยคาร์โบไฮเดรตในกระเพาะพักได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ในสภาพที่มีความเป็นกรดสูง pH ประมาณ 4.2-4.5 (Champ, 1983) เป็นการปรับปรุงเมตาบอลิสมของจุลินทรีย์และผู้อาศัย และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหารของสัตว์ให้ดีขึ้น (Nousiaine และ Setala, 1992) ซึ่งส่งผลช่วยเร่งการเจริญเติบโตในสัตว์ให้ดีขึ้นได้ สามารถสรุปได้ว่าการเสริมโพรไบโอติกให้ไก่กินทั้งในน้ำดื่มและในอาหารไก่ร่วมกับสารปฏิชีวนะสามารถเร่งการเจริญเติบโตในสัตว์ได้ดีกว่าการเสริมสารปฏิชีวนะ และการให้โพรไบโอติกเสริมในน้ำดื่มจะให้ประสิทธิภาพดีกว่าการให้เสริมในอาหาร

สาเหตุที่การให้โพรไบโอติกเสริมในน้ำดื่มมีผลเร่งการเจริญได้ดีกว่า น่าจะมาจาก *Lactobacillus* spp. สามารถเจริญแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนในน้ำดื่มได้ดีกว่าในอาหารไก่ และให้ความสม่ำเสมอของจำนวน *Lactobacillus* spp. มากกว่า (ผลดังตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ) เป็นการเพิ่มโอกาสของ *Lactobacillus* spp. ในการเข้าไปเจริญและเข้าเกาะติดกับผนังของระบบทางเดินอาหารให้มากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง สำหรับการเสริมในอาหารไก่โอกาสที่หัวเชื้อผงแห้งจะสูญเสียไปโดยไก่ไม่ได้รับในช่วง 19-42 วันของการเลี้ยงจะมีมากกว่าในช่วงแรก เนื่องจากอาหารไก่กระทงช่วง 19-42 วัน มีเม็ดใหญ่และยาวกว่า โอกาสที่หัวเชื้อผงแห้งจะเกาะติดกับเม็ดอาหารจะน้อยกว่า และน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้จำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกในอาหารช่วง 19-42 วัน มีค่าลดลง ซึ่งการผสมโพรไบโอติกลงในน้ำดื่มจะไม่เกิดปัญหาในข้อนี้ ไก่ที่ได้รับน้ำดื่มผสมโพรไบโอติกมีความเข้มข้นสม่ำเสมอตลอดการทดลองส่งผลต่อจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ที่มากกว่าและมีผลปรับปรุงอัตราการเจริญของไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกในน้ำดื่มได้ดีกว่า แต่อย่างไรก็ตามสมบัติความเป็นโพรไบโอติกของ *Lactobacillus* spp. ที่ให้แต่ละสายพันธุ์ไม่เท่ากัน เนื่องจาก *Lactobacillus* spp. เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีความจำเพาะเจาะสูงต่อผู้อาศัยและบริเวณที่เข้าอาศัย จึงตรวจพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์ที่ให้บางสายพันธุ์ในลำไส้เท่านั้น ที่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกในทุกกลุ่มทดลองคือ *L. acidophilus* TISTR 1338 สำหรับ

L. bulgaricus TISTR 1339 และ *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกในบางกลุ่มเท่านั้น และ *L. jensenii* TISTR 1342 ไม่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกในการทดลองนี้เนื่องจากตรวจไม่พบในลำไส้อาจมีสาเหตุมาจากขาดความจำเพาะเจาะจงในการเข้ายึดเกาะในบริเวณเยื่อบุผนังลำไส้และระบบทางเดินอาหารในไก่พันธุ์นี้ จึงไม่สามารถเจริญอยู่ในลำไส้และถูกขับออกทางระบบขับถ่าย

ผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นสอดคล้องกับที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ (Toruero (1973), Couch (1978), Arens (1981) และฐิติพงษ์ (2539)) พบว่า การเสริมโพรไบโอติกให้ไก่กินสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตได้ดีกว่าไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ หรือได้รับอาหารที่มีการเสริมสารปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว โดยมีรูปแบบการใช้ต่างกัน งานทดลองของฐิติพงษ์ (2539) ทำการเสริม ล.อ.บ. ให้ไก่กิน ในรูปสารละลายเซลล์สดในโซเดียมคลอไรด์ 0.85% พบว่าสามารถเพิ่มการเจริญและน้ำหนักเฉลี่ยในไก่ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มไม่ได้รับโพรไบโอติก ($P < 0.05$) ล.อ.บ. ที่ให้ประกอบด้วย *Lactobacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้และเพิ่ม *L. acidophilus* อีก 1 สายพันธุ์ในรูปผสมจำนวน 5 สายพันธุ์ และให้ในปริมาณความเข้มข้นเท่ากับที่ให้ในการทดลองนี้ แนวโน้มของการทดลองทั้ง 2 เป็นไปในทางเดียวกัน แต่ในงานวิจัยนี้ผลของน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อาจมีสาเหตุมาจากความแตกต่างของพันธุ์ไก่ที่ใช้ทดลอง สูตรอาหารและวัตถุดิบที่ใช้ประกอบสูตรอาหาร ชนิดและจำนวนสายพันธุ์ของโพรไบโอติก และรูปแบบการให้ โดยสายพันธุ์ไก่ที่ใช้ในการทดลองของฐิติพงษ์ตรวจไม่พบจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่เลยนับตั้งแต่แรกเกิด การให้ *Lactobacillus* spp. จึงมีผลเพิ่มจำนวน *Lactobacillus* spp. โดยตรงและไม่มีผลรบกวนและแข่งขันการเจริญจาก ล.อ.บ. ชนิดอื่นในลำไส้ ในงานวิจัยนี้ตรวจพบ ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่นับตั้งแต่วันแรกของการเลี้ยงและมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ มีแหล่งมาจากในลำไส้เองและจากการปนเปื้อนในอาหารไก่ส่งผลรบกวน *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติก โดย *E. faecium* ที่ปนเปื้อนมาจากอาหารไก่ เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการเป็นโพรไบโอติกช่วยเร่งการเจริญของสัตว์ในฟาร์มและใช้ป้องกันโรคติดเชื้อท้องร่วงได้ (Fuller และคณะ, 1979) *E. faecium* ที่ไก่ได้รับจากอาหารน่าจะส่งผลช่วยเร่งการเจริญเติบโตของไก่ในกลุ่มควบคุมและอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลของน้ำหนักเฉลี่ยของไก่ในกลุ่มควบคุมได้รับสารปฏิชีวนะและกลุ่มทดลองได้รับโพรไบโอติกแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกมีประสิทธิภาพเป็นโพรไบโอติกในการทดลองนี้ได้ดีกว่า เนื่องจากสามารถเจริญแทนที่ *E. faecium* ในลำไส้ไก่กลุ่มทดลองอายุ 42 วันได้ทั้งหมด

สำหรับข้อดีของการให้โพรไบโอติกในรูปผงแห้งผสมในน้ำดื่มให้ไก่ ได้แก่ มีความสะดวกเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในฟาร์มหรือโรงเรือนในระดับอุตสาหกรรมและในระดับครัวเรือน

เนื่องจากสะดวกในการจัดเก็บและในการเตรียม ไม่ยุ่งยาก ประหยัดเวลา และแรงงานคน และสามารถเก็บไว้ใช้ได้ในเวลานานโดยมีการรอดชีวิตสูงภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสม เมื่อเทียบกับการให้ในรูปสารละลายเซลล์สดป้อนให้ไก่ จะมีความยุ่งยากมากกว่า และเป็นไปได้ยากในการปฏิบัติจริงเนื่องจากสิ้นเปลืองเวลาและแรงงาน

ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ในไก่โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นและเว้นระยะการให้ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมไว้เท่าเดิม คือ ความเข้มข้น 10^6 CFU/g หรือ CFU/ml และให้ทุก 3 วันตั้งแต่ไก่อายุ 1 วัน ใช้สภาวะการทดลองที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของไก่พันธุ์เนื้อ คือ การเสริมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม และการเสริมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติกในอาหาร โดยคาดว่าน่าจะให้ประสิทธิภาพในการต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ได้ดีเช่นเดียวกันที่ให้ผลในการเร่งการเจริญ

การทดลองครั้งที่ 1 ใช้ไก่พันธุ์เนื้อของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด ทำการเลี้ยงนาน 36 วัน ไก่กลุ่มได้รับการเสริมโพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวน ล.อ.บ. สูงใกล้เคียงกันและสูงกว่าไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก และตรวจพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้ในลำไส้ไก่กลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1338 และ *L. bulgaricus* TISTR 1339 สำหรับ *L. jensenii* TISTR 1342 ไม่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกในการทดลองนี้ เนื่องจากตรวจไม่พบในลำไส้ไก่กลุ่มทดลองใดๆ เปรียบเทียบในทุกกลุ่มทดลองไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกน้ำดื่มมีประสิทธิภาพในการต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ดีที่สุด เนื่องจากตรวจไม่พบ S. Typhimurium ในลำไส้เลยเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 36 วัน ($10^8 \rightarrow 0$ CFU/g) ใกล้เคียงกับกลุ่มได้รับโพรไบโอติกเสริมในอาหารร่วมกับสารปฏิชีวนะ ($10^8 \rightarrow 0$ และ 10^2 CFU/g) และไม่แตกต่างกับไก่กลุ่มควบคุมมากนัก (10^2 CFU/g) สาเหตุที่จำนวน S. Typhimurium ในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมค่อนข้างมีค่าใกล้เคียงกับไก่กลุ่มทดลองในแต่ละช่วงระยะการเลี้ยง อาจเนื่องมาจากในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมมีจำนวน ล.อ.บ. อยู่ในระบบทางเดินอาหารสูงอยู่แล้ว การที่ตรวจพบ *E. durans* และ *E. faecium* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบในอาหารไก่สำเร็จรูปในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมด้วย แสดงว่า ล.อ.บ. สายพันธุ์แบคทีเรียประจำถิ่นและ ล.อ.บ.จากอาหารไก่สำเร็จรูปสามารถเจริญอยู่ร่วมกันในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมได้โดยเข้าครอบครองพื้นที่ในลำไส้ นับตั้งแต่วันแรก ๆ ของการเลี้ยง ก่อนที่ *Lactobacillus* spp. จะมีบทบาทเข้ามาเจริญแทนที่ในช่วงหลัง 18 วันของการเลี้ยง ส่งผลให้มีการลดลงของจำนวน S. Typhimurium ในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง รวมทั้งจำนวน S. Typhimurium ที่ให้ถึง 3 ครั้ง อาจมีการรบกวนกันเองซึ่งอาจจะมีผลต่อจำนวน S. Typhimurium ที่นับได้ และการค่อย ๆ เพิ่มขนาดของ S. Typhimurium ที่ให้กับไก่ถึง 3 ครั้ง อาจเป็นการกระตุ้นให้ร่างกายเกิดมีภูมิต้านทานขึ้นได้ ทำให้พยาธิสภาพของโรคไม่ปรากฏให้เห็น

สำหรับค่าน้ำหนักเฉลี่ยของไก่เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่สอดคล้องกับความสามารถในการต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium กล่าวคือ กลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดคือกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกเสริมร่วมกับสารปฏิชีวนะ รองลงมาคือ กลุ่มควบคุมได้รับสารปฏิชีวนะและกลุ่มได้รับโพรไบโอติกเสริมในน้ำดื่ม ตามลำดับ จึงไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจนว่าการเสริม *Lactobacillus* spp. ให้ไก่กินสามารถต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ได้ในไก่พันธุ์เนื้อของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด

การทดสอบยืนยันผลต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ของ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติก ยังคงความเข้มข้นและระยะที่ให้ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมไว้คงเดิม เปลี่ยนสายพันธุ์ไก่เป็นไก่พันธุ์ผสมพื้นบ้านไทย ใช้สูตรอาหารสำหรับไก่เนื้อผสมสารปฏิชีวนะของบริษัทซนะพันธุ์ฟาร์ม จำกัดและสายพันธุ์ *S.* Typhimuium ที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ *S.* Typhimruium strain B ซึ่งมี drug resistant marker เพื่อป้องกันปัญหาการปนเปื้อนของ *S.* Typhimurium จากแหล่งอื่น ซึ่งอาจมีผลรบกวนจำนวน S. Typhimurim ที่ตรวจนับ เสริมโพรไบโอติกความเข้มข้นเท่าเดิมให้ไก่กลุ่มทดลองตั้งแต่อายุ 1 วัน เมื่อไก่อายุ 10 วัน ป้อน *S.* Typhimurium strain B ขนาด 10^8 CFU/ml คาดว่าการให้ *Lactobacillus* spp. ก่อนน่าจะมีผลป้องกันการติดเชื้อ S. Typhimurium ได้ดีกว่า ผลการทดลองไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม สามารถต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ได้ดีกว่าไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก โดยไก่กลุ่มได้รับการเสริมโพรไบโอติกในอาหารสามารถต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ได้ดีที่สุด สอดคล้องกับผลของจำนวนและสายพันธุ์ของ ล.อ.บ. ในลำไส้ที่สูงใกล้เคียงกันในไก่กลุ่มทดลองทั้ง 2 จำนวน ล.อ.บ. ที่พบในลำไส้และมูลในไก่กลุ่มทดลองทั้ง 2 สูงกว่ากลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก แสดงว่า *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมสามารถเข้าแข่งขันการเจริญและอยู่รอดในลำไส้ไก่ได้โดยยึดเกาะพื้นที่เยื่อบุผนังลำไส้และระบบทางเดินอาหาร (Fuller, 1975) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการทดลองนี้ได้มีการเสริมโพรไบโอติกก่อนที่จะมีการให้ *S.* Typhimurium เป็นการปรับสภาวะสมดุลย์ของแบคทีเรียประจำถิ่นให้สมบูรณ์และเพิ่มจำนวน Lactobacillus ในระบบทางเดินอาหารให้มากพอ ก่อนที่จะมีการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ยืนยันได้โดยไก่กลุ่มได้รับสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติกผสมในอาหารและไก่กลุ่มได้รับสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติกในน้ำดื่มมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มในช่วงแรก เมื่อไก่อายุ 10 วัน ก่อนให้ S. Typhimurim สูงใกล้เคียงกันมาก โดยมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมกว่าร้อยละ 24-25 แสดงว่า โพรไบโอติกที่ให้ทำให้ไก่มีสุขภาพแข็งแรงเจริญดี มีภูมิคุ้มกันสูง และเป็นการลดโอกาสในการเจริญของ *S.* Typhimurium ยืนยันได้จากเมื่อตรวจพบจำนวน ล.อ.บ.ในลำไส้และมูลไก่ในปริมาณสูงจำนวน *S.* Typhimurium ที่พบก็จะลดลงสัมพันธ์กับในกลุ่มควบคุมจำนวน ล.อ.บ. ที่ตรวจพบต่ำกว่า จะมีจำนวน S. Typhimurium ที่ตรวจพบมาก

กว่า นอกจากนั้นกรดแลคติกและสารต้านจุลชีพที่ *Lactobacillus* spp. ผลิตก็เป็นกลไกสำคัญในการลดปริมาณการติดเชื้อ (Fuller, 1992) *Lactobacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในการทดลองนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในคนและสัตว์ได้ จากการทดลอง *In vitro test* ได้แก่ *Listeria monocytogenes, Salmonella* Enteritidis, *S.* Typhimurium และ *Staphylococcus aureus* (ฐิติพงษ์, 2539)

เปรียบเทียบในรูปแบบการให้เพื่อป้องกันและเพื่อรักษาโรค พบว่าการให้เพื่อป้องกันโดยการให้ไก่ได้รับโพรไบโอติกตั้งแต่แรกเกิดก่อนที่จะมีการติดเชื้อ *S.* Typhimurium สามารถลดการติดเชื้อของ *S.* Typhimurium ในลำไส้ได้ดีกว่าการได้รับ *Lactobacillus* spp. ภายหลัง โดยเป็นการเพิ่มโอกาสในการครอบครองพื้นที่การเจริญของ *Lactobacillus* spp. ให้มากขึ้น Lactobacilli จะเข้าไปเจริญยึดพื้นที่ส่วนใหญ่ในลำไส้ไว้และสร้างสภาวะการเจริญที่เป็นกรดในลำไส้ *S.* Typhimurium ที่ได้รับภายหลังจะถูกกดการเจริญ รวมทั้งถูกแก่งแย่งการใช้สารอาหารทำให้การเจริญลดลง หรือถูกยับยั้ง (Watkins, Miller และ Neil, 1982) ไก่จึงสามารถต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ได้ดีกว่าการให้โพรไบโอติกภายหลัง

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการให้โพรไบโอติกเสริมให้ไก่ทั้งในน้ำดื่มและเสริมร่วมกับสารปฏิชีวนะในอาหารไก่สามารถให้ผลเร่งอัตราการเจริญ รวมทั้งสามารถป้องกันการติดเชื้อ S. Typhimurium ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในคนและไก่ได้ หากพิจารณาถึงการให้เพื่อเร่งการเจริญเติบโตในไก่ การเสริมโพรไบโอติกในน้ำดื่มในความเข้มข้นที่สูงและสม่ำเสมอ รวมทั้งมีการเว้นระยะการให้ที่เหมาะสมสามารถเร่งอัตราการเจริญได้ดีกว่าการเสริมสารปฏิชีวนะในอาหาร โดยมีแนวโน้มว่าการให้โพรไบโอติกเสริมในน้ำดื่มสามารถทดแทนการให้สารปฏิชีวนะในอาหารได้ สำหรับการให้เพื่อผลป้องกันการติดเชื้อ *S.* Typhimurium การเสริมโพรไบโอติกในน้ำดื่มให้ผลดีกว่าการเสริมสารปฏิชีวนะในอาหารแต่ผลที่ได้ค่อนข้างใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ขึ้นกับความเข้ากันได้ของสายพันธุ์โพรไบโอติกและไก่แต่ละสายพันธุ์ ดังในการทดลองนี้ความสามารถของ *Lactobacillus* spp. แต่ละสายพันธุ์ในการเจริญและอยู่รอดในลำไส้ไก่ที่มีการติดเชื้อ S. Typhmurium ไม่เท่ากันโดยพบ *L. caei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 ในลำไส้ไก่พันธุ์เนื้อที่มีการให้ *S.* Typhimurium แต่ไม่พบในลำไส้และมูลไก่พันธุ์พื้นเมืองที่มีการให้ *S.* Typhimurium ดังนั้นการนำโพรไบโอติกเสริมเพื่อป้องกันการติดเชื้อ Salmonella ไปใช้ในพื้นที่จริงที่เคยมีการระบาดของ Salmonella เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการลดการแพร่ระบาดของ Salmonella ควรจะมีการจัดการโรงเรือนและสุขาภิบาลในโรงเรือนไก่ร่วมด้วย นอกจากจะใช้ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกเพื่อเร่งการเจริญในไก่ในลักษณะเสริมในอาหารไก่และในน้ำดื่มแล้วหากมีการปรับปรุงและพัฒนาหารูปแบบการใช้อย่างเหมาะสม

ควบคู่กันก็จะได้ผลดีมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นและสามารถนำไปใช้เพื่อทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะได้ต่อไปในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย