บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบการรอดชีวิตของหัวเชื้อ *Lactobacillus* spp. ผงแห้ง จำนวน 4 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 ^{0}ซ นาน 12 เดือน

นำ *Lactobacillus spp.* 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1338, *L. bulgaricus* TISTR 1339, *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 และ *L. jensenii* TISTR 1342 ลักษณะโคโลนีแสดงดังรูปที่ 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ จากนั้นนำไปทำให้แข็งและแห้ง เก็บรักษาที่ -20 ^{0}ซ ตรวจสอบการรอดชีวิต (viability) ทุก 0, 3, 6 , 9 และ 12 เดือน ตามลำดับ นำค่า log total count (CFU/g) คำนวนหา % log viability ตามสูตรได้ผลดังตารางที่ 4

$$\% \text{ viability} = \frac{\text{log total count ของจำนวนเซลล์สุดท้าย}}{\text{log total count ของจำนวนเซลล์ตั้งต้น}} \times 100$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

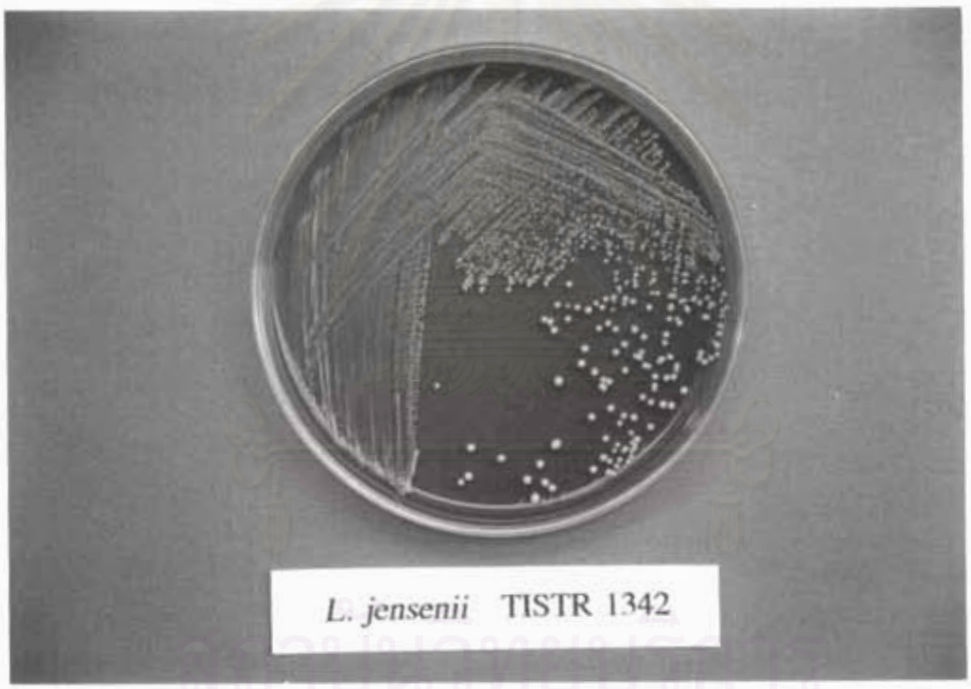
รูปที่ 3 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็ม อาร์ เอส ของ *L. acidophilus* TISTR 1338 หลังการบ่มที่ 37°ซ นาน 48 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็ม อาร์ เอส ของ *L. bulgaricus* TISTR 1339 หลังการบ่มที่ 37°ซ นาน 48 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็ม อาร์ เอส ของ *L. casei* subsp.*tolerans* TISTR 1341 หลังการบ่มที่ 37°ซ นาน 48 ชั่วโมง



รูปที่ 6 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็ม อาร์ เอส ของ *L. jensenii* TISTR 1342 หลังการบ่มที่ 37°ซ นาน 48 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 log total count และ % viablity ของ *Lactobacillus* spp. ผงแห้ง จำนวน 4 สายพันธุ์ เมื่อเก็บรักษาที่ -20^{0} ซ นาน 12 เดือน

เวลา (เดือน)	*Lactobacillus spp.* ผงแห้ง ที่ –20^{0}ซ							
	L. acidophilus TISTR 1338		*L. bulgaricus* TISTR 1339		*L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341		*L. jensenii* TISTR 1342	
	Log total count (CFU/g)	%viability	Log total count (CFU/g)	%viability	Log total count (CFU/g)	%viability	Log total count (CFU/g)	%viability
0	9.88	100.0	9.91	100.0	10.15	100.0	10.26	100.0
3	9.81	99.3	9.86	99.5	10.09	99.4	10.16	99.0
6	9.78	98.9	9.83	99.2	10.08	99.3	10.13	98.7
9	9.75	98.7	9.79	98.8	10.05	99.0	10.11	98.5
12	9.65	97.7	9.72	98.1	9.96	98.1	10.03	97.8

ผลการทดลองจากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าสามารถเก็บรักษา *Lactobacillus* spp. ในรูปผงแห้งโดยใช้อาหารนมพร่องมันเนย 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นสารป้องกันความเย็นได้ และอุณหภูมิ -20^{0}ซ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษา *Lactobacillus* spp. ผงแห้ง โดยหลังจากเก็บรักษาครบ 12 เดือน *Lactobacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์มีการรอดชีวิตสูงกว่าร้อยละ 97 โดย *L. bulgaricus* TISTR 1339 และ *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 มีการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากันคิดเป็นร้อยละของ viability เท่ากับ 98.1 รองลงมาได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1338 และ *L. jensenii* TISTR 1342 คิดเป็นร้อยละของ viability เท่ากับ 97.8 และ 97.7 ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การเปรียบเทียบการรอดชีวิต (viability) ของ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมทั้ง 4 สายพันธุ์ในน้ำดื่มและในอาหารไก่สำเร็จรูป

2.1 นำอาหารไก่สำเร็จรูปทั้ง 3 ขนาด ตรวจหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โดยการทำ serial dilution เจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และทำ heat shock เพื่อตรวจหาปริมาณ *Bacillus* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งทริปติก ซอย และตรวจลอบจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ล.อ.บ.) บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแลคโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส ผสมบรอมเครซอลเพอเพิล ผลการตรวจไม่พบ ล.อ.บ. สำหรับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารไก่อยู่ระหว่าง 10^6 - 10^8 CFU/g จำนวน *Bacillus spp.* ที่ตรวจพบอยู่ระหว่าง 1.5– 9.5 x 10^5 CFU/g แสดงผลดังตารางที่ 5 ดังนั้นในงานวิจัยนี้สามารถใช้ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกเสริมในอาหารไก่ได้โดยไม่มีการปนเปื้อนของ ล.อ.บ. จากอาหารไก่

ตารางที่ 5 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด, *Bacillus* spp. และแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ตรวจพบในอาหารไก่เม็ดสำเร็จรูปของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ มหาชน จำกัด

อาหารไก่	จำนวนแบคทีเรียที่ตรวจพบ (CFU/g)		
	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด	*Bacillus* spp.	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย
เม็ดเล็กละเอียด (ไก่เล็ก 1-19 วัน)	6.8 x 10^8	7.7 x 10^5	ตรวจไม่พบ
เม็ดปานกลาง (ไก่ใหญ่ 20-42 วัน)	1.7 x 10^8	1.5 x 10^5	ตรวจไม่พบ
เม็ดใหญ่ (ไก่ใหญ่ 43 วันขึ้นไป)	8.5 x 10^8	9.5 x 10^5	ตรวจไม่พบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 นำ *Lactobacillus* spp. ผงแห้ง จำนวน 4 สายพันธุ์แต่ละสายพันธุ์มีความเข้มข้น 10^9 CFU/g ผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ผสมลงในน้ำกรอง และในอาหารไก่สำเร็จรูปในอัตราส่วน 1:1,000 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) และ 1:1,000 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ตามลำดับ มีความเข้มข้นหลังเติม 10^6 CFU/g แบ่งชุดทดลองเป็น 2 ชุด ได้แก่ ชุดที่ 1 บ่มที่อุณภูมิ 21^0ซ และชุดที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 30^0ซ ตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแลคโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส ทุก 12 ชม. ผลแสดงดังตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

ในน้ำกรองตรวจพบการเจริญเพิ่มขึ้นของ *Lactobacillus* spp. ตลอดการทดลองทั้ง 2 อุณหภูมิ โดยจำนวนเซลล์สูงสุดตรวจพบที่ 21^0ซ อยู่ระหว่าง 36-48 ชั่วโมง ใกล้เคียงกับที่ 30^0ซ ตรวจพบที่ 24-36 ชั่วโมง มีค่ามากกว่าปริมาณเซลล์ตั้งต้นประมาณ 1 log cycle และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ชั่วโมง 84 ปริมาณเซลล์ที่พบมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณเซลล์ตั้งต้นประมาณ 10^6 CFU/ml แสดงว่า *Lactobacillus* spp. สามารถใช้ในรูปผงแห้งละลายน้ำได้ โดยสามารถเจริญเพิ่มจำนวน และมีชีวิตอยู่ในน้ำได้นานกว่า 3 วัน ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบการรอดชีวิตของ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสม จำนวน 4 สายพันธุ์ในน้ำกรองที่อุณหภูมิ 21^0ซ และ 30^0ซ

เวลา (ชม.)	21^0ซ		30^0ซ	
	จำนวน *Lactobacillus* spp. (CFU/ml)	pH	จำนวน *Lactobacillus* spp. (CFU/ml)	pH
0	9.5×10^6	7.0	9.4×10^6	7.0
12	1.7×10^7	5.7	2.5×10^7	5.7
24	2.9×10^7	5.7	7.3×10^7	5.4-5.5
36	7.2×10^7	5.4-5.5	7.1×10^7	5.4-5.5
48	7.4×10^7	5.4-5.5	5.0×10^7	5.4-5.5
60	1.5×10^7	5.4-5.5	3.0×10^7	5.4-5.5
72	9.8×10^6	5.4-5.5	1.9×10^7	5.4-5.5
84	8.8×10^6	5.4-5.5	9.5×10^6	5.4-5.5

ผลการทดลองในอาหารไก่สำเร็จรูปทั้ง 3 ขนาด ตรวจพบจำนวน *Lactobacillus* spp. ลดลงตลอดการทดลองทั้งที่อุณหภูมิ 21^{0} ซ และ 30^{0} ซ ผลการทดลองที่ชั่วโมง 60 จำนวนเซลล์ที่ตรวจพบต่ำกว่าปริมาณเซลล์ตั้งต้นประมาณ 1-2 log cycle และที่ชั่วโมงที่ 72 ส่วนใหญ่ตรวจไม่พบ เนื่องจากเกิดการเจริญของ *Bacillus* spp. ปกคลุมโคโลนีอื่น ๆ จนไม่สามารถอ่านผลได้ และจำนวนเซลล์ที่ตรวจพบในอาหารไก่แต่ละขนาดมีปริมาณแตกต่างกัน โดยอาหารไก่เม็ดเล็กมีอัตราการลดลงของเซลล์ที่ตรวจพบต่ำกว่าเม็ดกลางและเม็ดใหญ่ทั้ง 2 อุณหภูมิ อาจมีสาเหตุมาจาก *Lactobacillus* spp. เตรียมในรูปผงแห้งสามารถปะปนและผสมเป็นเนื้อเดียวกับอาหารเม็ดเล็กได้ดีกว่าและไม่เกิดการสูญเสียมากเมื่อสุ่มตัวอย่าง ดังนั้น *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมสามารถนำไปใช้ผสมในอาหารไก่ได้โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับใช้เติมในอาหารไก่ทั้ง 3 ขนาดอยู่ในช่วง 0-12 ชั่วโมง (10^{6} CFU/g) ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการรอดชีวิตของ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสม จำนวน 4 สายพันธุ์ในอาหารไก่สำเร็จรูปทั้ง 3 ขนาด ที่อุณหภูมิ 21^{0} ซ และ 30^{0} ซ

เวลา (ชม)	จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ 21^{0} ซ (CFU/g)			จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ 30^{0} ซ (CFU/g)		
	อาหารเม็ดเล็ก	อาหารเม็ดกลาง	อาหารเม็ดใหญ่	อาหารเม็ดเล็ก	อาหารเม็ดกลาง	อาหารเม็ดใหญ่
0	5.1×10^{6}	4.2×10^{6}	4.0×10^{6}	3.7×10^{6}	2.0×10^{6}	2.6×10^{6}
12	3.0×10^{6}	2.8×10^{6}	2.5×10^{5}	1.1×10^{6}	2.2×10^{6}	1.1×10^{6}
24	1.5×10^{6}	9.5×10^{5}	8.8×10^{4}	1.9×10^{6}	1.0×10^{5}	6.8×10^{5}
36	9.8×10^{5}	8.8×10^{5}	5.3×10^{4}	3.0×10^{5}	1.5×10^{5}	6.5×10^{4}
48	8.6×10^{5}	3.7×10^{5}	8.0×10^{4}	3.9×10^{5}	4.0×10^{4}	6.0×10^{4}
60	5.5×10^{5}	8.5×10^{5}	1.9×10^{4}	2.5×10^{5}	3.0×10^{4}	3.2×10^{4}
72	NF	2.5×10^{5}	NF	2.0×10^{5}	NF	NF
84	NF	NF	NF	NF	NF	NF

หมายเหตุ NF :- Not Found ตรวจไม่พบการเจริญ เนื่องจากมีโคโลนีของ *Bacillus* spp. เจริญปกคลุมอยู่

ฐิติพงษ์ ธนะรัชติการนนท์ พบว่าปริมาณเซลล์สดของ *Lactobacillus* spp. ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) 10^6 CFU/ml และให้ทุก 3 วัน เป็นปริมาณเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับป้อนให้ไก่ เนื่องจากให้จำนวนเซลล์ที่อยู่รอดในลำไส้ไก่อยู่ในระดับที่สูงพอสมควร (10^7 CFU/g ที่ 19 วันของการเลี้ยง) และมีการเว้นช่วงระยะเวลาการให้ที่พอเหมาะสามารถนำไปใช้จริงในงานภาคสนามได้กอปรกับจากการศึกษาในงานวิจัยนี้ (ตารางที่ 4-7) ทำให้สรุปได้ว่า *Lactobacillus* spp. เตรียมในรูปผงแห้งแบบผสม ผสมในน้ำดื่มและในอาหารไก่ มีการรอดชีวิตของ *Lactobacillus* spp. 4 สายพันธุ์ หลังการเก็บที่ -20^0ซ นาน 1 ปี มีค่าสูงกว่าร้อยละ 90 และผลการตรวจสอบอาหารไก่สำเร็จรูปของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด ไม่มีการปนเปื้อนจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียอื่น ๆ ในอาหารไก่ และเมื่อนำไปผสมในน้ำกรองและอาหารไก่สำเร็จรูป สามารถมีชีวิตอยู่รอดและเพิ่มจำนวนในน้ำกรองได้นานกว่า 3 วัน ในขณะที่ในอาหารไก่สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานกว่า 2 วัน ด้วยช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับให้ไก่กินอยู่ในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการเติม (10^6 CFU/g) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนำผลดังกล่าวไปทดสอบใช้จริงในภาคสนามต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การทดสอบภาคสนามเพื่อตรวจสอบผลของ *Lactobacillus* spp. ต่อการเจริญเติบโตของไก่

ผลการเปรียบเทียบการให้ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมในน้ำดื่มและในอาหารไก่ แสดงดังตารางที่ 8 ในช่วง 19 วันของการเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่ให้โพรไบโอติก ไก่กลุ่มที่ 2 ซึ่งให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดและสูงกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นๆ พบว่าทุกกลุ่มทดลองให้น้ำหนักเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมยกเว้นไก่กลุ่มที่ 2 และเมื่อพิจารณาถึงค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย พบว่าทุกกลุ่มทดลองให้ค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุม ผลการทดลองในช่วง 42 วัน พบว่าไก่กลุ่มที่ 5 ซึ่งให้อาหารสูตรไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่มมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มสูงสุด รองลงมา ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 2 ซึ่งให้อาหารสูตรผสมสารปฏิชีวนะพร้อมผสมโพรไบโอติก ทั้ง 2 กลุ่มทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุม สำหรับไก่กลุ่มอื่นๆ พบว่าให้น้ำหนักเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม เรียงตามลำดับ ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 4 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก และไก่กลุ่มที่ 3 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม พิจารณาค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุม ยกเว้นไก่กลุ่มที่ 5 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม

เมื่อพิจารณาผลของน้ำหนักเฉลี่ยทุกช่วงอายุการเลี้ยงในไก่แต่ละกลุ่มทดลอง ผลการทดสอบทางสถิติ (Duncan multiple range test) พบว่าไก่กลุ่มที่ 2 และไก่กลุ่มที่ 5 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุม สำหรับไก่กลุ่มที่ 4 และ 3 มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ตามลำดับ ผลการทดสอบที่ได้ในไก่ทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ยตลอดทุกช่วงอายุการเลี้ยง ผลการทดสอบทางสถิติ พบว่าไก่กลุ่มที่ 5 และกลุ่มควบคุมมีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับไก่กลุ่มที่ 3 โดยไก่กลุ่มที่ 2 และ 4 มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงสุด และสูงกว่าไก่กลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และในทุกกลุ่มทดลองเมื่อพิจารณาถึงอัตราการตาย พบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 3.13 - 5.21 ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ปรกติ

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ย ประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย และอัตราการตายระหว่างไก่กลุ่มทดลองให้ และไม่ให้โพรไบโอติก เมื่อครบการเลี้ยง 42 วัน

กลุ่ม	อายุ 19 วัน			อายุ 42 วัน			
	น้ำหนัก		ประสิทธิภาพ	น้ำหนัก		ประสิทธิภาพ	อัตรา
	เฉลี่ย (กรัม)	%ความสัมพันธ์ น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่ม[1]	การใช้อาหารเฉลี่ย	เฉลี่ย (กรัม)	%ความสัมพันธ์ น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่ม[1]	การใช้อาหารเฉลี่ย	การตาย (%)
1	601.01 ± 28.55	-	1.22 ± 0.11	$1,888.81^{a}$ ± 82.34	-	1.40^{a} ± 0.13	0
2	605.56 ± 25.98	0.81	1.30 ± 0.05	$1,906.15^{a}$ ± 88.87	0.93	1.60^{ab} ± 0.17	4.16
3	596.52 ± 24.81	-0.80	1.32 ± 0.09	$1,865.40^{a}$ ± 44.37	-1.27	1.43^{b} ± 0.18	5.20
4	592.50 ± 13.18	-1.50	1.29 ± 0.05	$1,873.22^{a}$ ± 86.75	-0.84	1.55^{ab} ± 0.08	3.13
5	594.29 ± 24.30	-1.18	1.24 ± 0.06	$1,913.09^{a}$ ± 90.34	1.32	1.39^{a} ± 0.11	5.20

หมายเหตุ [1] เปรียบเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มของ กลุ่มควบคุม, คิดน้ำหนักเฉลี่ยไก่อายุ 1 วัน เท่ากับ 39.2 กรัม เท่ากันทุกกลุ่ม

กลุ่ม 1 กลุ่มควบคุมให้อาหารสูตรผสมสารปฏิชีวนะ, กลุ่ม 2 ให้อาหารสูตรผสมสารปฏิชีวนะพร้อมผสมโพรไบโอติก, กลุ่ม 3 ให้อาหารสูตรผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม, กลุ่ม 4 ให้อาหารสูตรไม่ผสมสารปฏิชีวนะพร้อมผสมโพรไบโอติก, กลุ่ม 5 ให้อาหารสูตรไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม, $^{a, b, ab}$ ตัวอักษรชุดต่างกัน หมายถึง ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

อย่างไรก็ตามสามารถสรุปได้ว่าการเสริมโพรไบโอติกลงในอาหารร่วมกับสารปฏิชีวนะให้ไก่กิน และการเสริมโพรไบโอติกลงในน้ำดื่มโดยไก่ไม่ได้รับสารปฏิชีวนะให้น้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกเลย โดยในไก่เล็ก (อายุ 1 - 19 วัน) การเสริมโพรไบโอติกลงในอาหารร่วมกับสารปฏิชีวนะจะให้ผลดีกว่าการเสริมสารปฏิชีวนะให้ไก่เพียงอ ย่างเดียว ขณะที่การเสริมโพรไบโอติกลงในน้ำดื่มให้ไก่จะให้ผลดีกว่าในไก่รุ่นหรือไก่กระทง (อายุ 19 - 42 วัน) เมื่อพิจารณาผลของน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 42 วัน และค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ยประกอบกัน พบว่าไก่กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติกลงในน้ำดื่มโดยไก่ไม่ได้รับสารปฏิชีวนะเลยให้ผลดีที่สุด จึงสรุปได้ว่า การใช้โพรไบโอติกเสริมลงในน้ำดื่มให้ไก่มีแนวโน้มให้ผลเร่งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเสริมสารปฏิชีวนะในอาหาร โดยไก่จะมีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงใกล้เคียงกับไก่ที่ได้รับสารปฏิชีวนะจากอาหาร แต่จะมีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองสูงกว่า และมีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารใกล้เคียงกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เปรียบเทียบผลการตรวจนับจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่อายุ 1 ,18 , 27, 36 และ 42 วัน ดังตารางที่ 9 ในไก่ทุกกลุ่มทดลอง พบว่าในไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารสูตรไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม มีจำนวน ล.อ.บ. ที่ตรวจพบสูงสุดกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ในทุกช่วงอายุ (10^6 - 10^7 CFU/g) ยกเว้นในวันที่ 36 ของการเลี้ยง รองลงมา ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะพร้อมผสมโพรไบโอติก (10^5 - 10^7 CFU/g) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างไก่กลุ่มทดลองทั้ง 2 ไก่กลุ่มที่ 5 มีความสม่ำเสมอของปริมาณเซลล์ที่พบมากกว่ากลุ่มที่ 2 และเมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มที่ 3 และ 4 พบว่าไก่กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม และไก่กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกมีจำนวนเซลล์ที่พบตลอดการทดลองต่ำกว่าและมีความสม่ำเสมอของจำนวนเซลล์ที่ตรวจพบต่ำกว่าทั้ง 2 กลุ่มทดลองข้างต้น เมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้เติมโพรไบโอติก พบว่าแบบแผนของจำนวน ล.อ.บ. ที่พบในลำไส้ต่างกัน กล่าวคือ ในไก่กลุ่มควบคุมในช่วงแรกของการเลี้ยงพบ ล.อ.บ. ต่ำมาก (10^2 CFU/g) จำนวนที่พบจะเพิ่มขึ้นในช่วงหลังของการเลี้ยง (ที่ 18 วัน พบ 10^5 CFU/g) และมีจำนวนสูงสุดในวันที่ 36 และ 42 ตามลำดับ (10^6 CFU/g) ในไก่กลุ่มทดลองอื่นแบบแผนจำนวน ล.อ.บ. ที่ตรวจพบต่างกัน โดยในกลุ่มที่ 2 ได้รับสารปฏิชีวนะในอาหารและผสมโพรไบโอติก และกลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก ตรวจพบจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 9 ของการเลี้ยง และจำนวนที่พบลดต่ำลงตามช่วงอายุ ($10^7 \rightarrow 10^5$ CFU/g) สำหรับไก่กลุ่มที่ 3 และ 5 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม และได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม จำนวน ล.อ.บ. ที่พบเพิ่มสูงขึ้นจากวันแรกของการเลี้ยงจนสูงสุดในวันที่ 36 และ 27 ของการเลี้ยง จากนั้นเริ่มลดลงแต่ยังมีปริมาณสูง ($10^7 \rightarrow 10^5$ และ $10^7 \rightarrow 10^6$ CFU/g ตามลำดับ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 Total viable count ของแบคทีเรียประจำถิ่น และ *Lactobacillus* spp. ในลำไส้เล็กไก่อายุ 1-42 วัน

กลุ่ม	จำนวนแบคทีเรีย	จำนวนแบคทีเรียที่ตรวจพบ (CFU/g)					
		1 วัน	9 วัน	18 วัน	27 วัน	36 วัน	42 วัน
1	แบคทีเรียประจำถิ่น	1.56×10^5	1.0×10^{10}	7.95×10^9	4.08×10^{11}	2.18×10^9	8.61×10^8
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	1.87×10^2	8.1×10^4	8.0×10^5	4.23×10^5	1.67×10^6	1.43×10^6
2	แบคทีเรียประจำถิ่น	- *	7.87×10^7	8.75×10^8	5.0×10^{10}	6.0×10^7	5.02×10^7
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	- *	4.63×10^7	8.0×10^5	6.0×10^5	1.72×10^6	7.2×10^5
3	แบคทีเรียประจำถิ่น	- *	8.5×10^6	8.76×10^9	3.35×10^{10}	1.71×10^8	3.93×10^7
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	- *	6.42×10^6	6.95×10^5	5.0×10^4	1.58×10^7	1.08×10^5
4	แบคทีเรียประจำถิ่น	- *	1.03×10^8	1.22×10^9	2.62×10^{10}	2.43×10^8	4.63×10^7
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	- *	1.69×10^7	3.7×10^5	4.5×10^4	1.9×10^6	1.73×10^5
5	แบคทีเรียประจำถิ่น	- *	4.62×10^7	2.46×10^9	1.2×10^9	2.91×10^9	5.10×10^7
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	- *	4.52×10^7	7.8×10^6	8.0×10^7	1.57×10^6	1.61×10^6

หมายเหตุ * ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากใช้จำนวนแบคทีเรียในไก่กลุ่มควบคุม เป็นตัวแทนของไก่กลุ่มทดลองทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างลำไส้ไก่ทั้ง 3 ตัวอย่างมีค่าอยู่ระหว่าง 1.12- 1.93 x 10^5 CFU/g และจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีค่าอยู่ระหว่าง 3.6-1.0 x 10^2 CFU/g, กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะ, กลุ่ม 2 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก, กลุ่ม 3 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม, กลุ่ม 4 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก, กลุ่ม 5 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม

ผลของน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 42 วัน และผลของ ล.อ.บ. ในลำไส้ พบว่าสอดคล้องกัน กล่าวคือ กลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดเป็นกลุ่มที่ตรวจพบจำนวน ล.อ.บ. สูงสุดตลอดทุกช่วงอายุ ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม และไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะพร้อมทั้งเสริมโพรไบโอติก ตามลำดับ โดยไก่ทั้ง 2 กลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งมีจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ต่ำกว่าตลอดระยะเวลาการเลี้ยง สำหรับไก่กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม และไก่กลุ่มที่ 4 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มควบคุม พบมีจำนวน ล.อ.บ. ตลอดการทดลองต่ำกว่าไก่กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 5 และต่ำกว่าไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก จากผลการทดลองข้างต้น แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ยมีความสัมพันธ์กับปริมาณ ล.อ.บ. ที่เพิ่มขึ้นรวมทั้งเกี่ยวข้องกับความสม่ำเสมอของจำนวน ล.อ.บ. ที่พบ โดยแสดงถึงความเสถียรของ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้

จำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่ช่วงอายุ 9 วันในไก่กลุ่มทดลองใกล้เคียงกับจำนวน ล.อ.บ. ที่ให้ในอาหารและในน้ำดื่ม แสดงว่า ล.อ.บ. ที่เสริมให้ในอาหารและในน้ำดื่มสามารถเข้าไปเจริญเพิ่มจำนวนในลำไส้เล็กในช่วงแรกของการเลี้ยงได้ และในไก่กลุ่มทดลองได้รับโพรไบโอติกมีจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้สูงกว่ากลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติกตลอดการเลี้ยง เปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียประจำถิ่น พบว่าจำนวนแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกมีจำนวนต่ำกว่าไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติกเกือบตลอดอายุการเลี้ยงในไก่ทุกกลุ่มทดลอง อาจเป็นไปได้ว่า ล.อ.บ.ที่เพิ่มขึ้นมีผลลดจำนวนแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ รวมทั้งมีส่วนเข้าไปควบคุมสมดุลย์ของแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารไก่ เมื่อพิจารณาในไก่แต่ละกลุ่มทดลอง พบว่าไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่มมีจำนวน ล.อ.บ. ที่พบใกล้เคียงกับแบคทีเรียประจำถิ่นมากที่สุดในไก่กลุ่มทดลองทั้งหมด แสดงว่า *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้สามารถเข้าไปเจริญเพิ่มจำนวนและแทนที่แบคทีเรียประจำถิ่นส่วนใหญ่ในลำไส้ได้และที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการทดลองนี้ คือ การนำโพรไบโอติกเสริมลงในน้ำดื่ม

ตรวจสอบความสามารถในการอยู่รอดในลำไส้ไก่ของ *Lactobacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับไก่กลุ่มควบคุมไม่ให้โพรไบโอติก พบว่า *L. acidophilus* TISTR 1338 สามารถอยู่รอดในลำไส้ไก่ได้ดีที่สุด โดยตรวจพบในไก่ทุกกลุ่มทดลอง ทั้งช่วงอายุ 18 และ 42 วัน รองลงมาคือ *L. bulgaricus* TISTR 1339 และ *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1441 ตามลำดับ สำหรับ *L. jensenii* TISTR 1342 ไม่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกในการทดลองนี้ เนื่องจากตรวจไม่พบในลำไส้ไก่ในทุกช่วงอายุ

ผลการจำแนกสายพันธุ์ของ ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมไม่ให้

โพรไบโอติกและกลุ่มทดลองให้โพรไบโอติก ดังตารางที่ 10 พบว่าในลำไส้ไก่อายุ 1 วัน ตรวจพบสายพันธุ์ของ group-D-Enterococcus และตรวจพบมากขึ้นที่อายุ 18 วัน รวมทั้งเริ่มตรวจพบการเจริญของ *Lactobacillus* spp. และเมื่อครบการเลี้ยง 42 วัน group-D-Enterococcus ในไก่กลุ่มควบคุมเกือบทั้งหมดถูกแทนที่ด้วย *Lactobacillus* spp. เมื่อเปรียบเทียบกับในไก่ทุกกลุ่มทดลองตรวจพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกเข้าเจริญแทนที่ group-D-Enterococcus ในวันที่ 18 ของการเลี้ยงและพบเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 42 ของการเลี้ยง โดยไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม พบว่า group-D-Enterococcus ทั้งหมดถูกแทนที่ด้วย *Lactobacillus* spp. และพบมีจำนวน *Lactobacillus* spp. ที่ให้มากที่สุด ขาดเพียง *L. jensenii* TISTR 1342 เท่านั้น รองลงมาคือ ไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะพร้อมผสมโพรไบโอติก ตรวจพบ *L. acidophilus* TISTR 1338 และ *L. bulgaricus* TISTR 1339 ในวันที่ 18 และ 42 ของการเลี้ยง ผลการทดลองจากตารางที่ 9 และ 10 แสดงว่า จำนวน ล.อ.บ. ที่เพิ่มมากขึ้นมาจาก *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่เสริมให้ในอาหารและในน้ำดื่ม

สายพันธุ์ที่พบในวันที่ 18 ของการเลี้ยงในไก่ทุกกลุ่ม พบ group-D-Enterococcus เพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในไก่กลุ่มควบคุมไม่ให้โพรไบโอติก คาดว่าอาจเกิดการปนเปื้อนจากอาหารไก่ ทำการตรวจสอบซ้ำโดยนำอาหารไก่สำเร็จรูปผสมสารปฏิชีวนะสูตร CB-I-852, CB-II-852 และ CB-I-853, CB-II-853 สูตรไม่ผสมสารปฏิชีวนะของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด เพิ่มจำนวนเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแลคโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส บ่มที่ 37 °ซ 24 ชั่วโมง ทำ serial dilution ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเอ็ม อาร์ เอส ก่อนทำ spread plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็ม อาร์ เอส บ่มใน candle jar ที่ 37 °ซ นาน 48 ชั่วโมง ผลดังตารางที่ 11 พบมีการปนเปื้อนของ group-D-Enterococcus ซึ่งตรงกับสายพันธุ์ที่พบในลำไส้ไก่อายุ 18 วัน ในอาหารไก่สูตร CB-I-852 และ CB-II-852 ได้แก่ *E. faecium*, *E. bovis variant* และ *E..durans* และในอาหารสูตร CB-I-853 และ CB-II-853 พบ *Pendiococcus* spp. เพิ่มเข้ามา จึงเป็นไปได้ว่า ล.อ.บ. ที่ปนเปื้อนในอาหารไก่เข้ามามีผลรบกวนการทดลอง โดยไปเพิ่มจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุม และรบกวนการเจริญของ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้ในไก่กลุ่มทดลองส่งผลต่ออัตราการเจริญของไก่ทำให้ผลของน้ำหนักเฉลี่ยในไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 10 สายพันธุ์แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ตรวจพบในลำไส้เล็กไก่ อายุ 1, 18 และ 42 วัน

กลุ่ม	สายพันธุ์แลคติกแอซิดแบคทีเรียในลำไส้ไก่		
	อายุ 1 วัน	อายุ 18 วัน	อายุ 42 วัน
1	*Enterococcus faecalis*	*Enterococcus faecalis* *E. faecium* *E. durans* *E. bovis variant* *L. fermentum* *L. salivarius*	*E. faecalis* *E. faecium* *L. fermentum* *L. plantarum* *L. salivarius* *L. delbrecukii*
2	-*	*E. faecalis* *E. faecium* *L. acidophilus* TISTR 1338	*E. faecalis* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. fermentum* *L. delbreuckii*
3	-*	*E. faecium* *E. bovis variant* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. salivarius*	*E. faecalis* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. salivarius* *L. plantarum*
4	-*	*E. faecalis* *E. faecium* *E. durans* *E. bovis variant* *L. acidophilus* TISTR 1338	*E. faecalis* *E. durans* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. delbreuckii* *L. salivarius*
5	-*	*E. durans* *E. bovis variant* *L. acidophilus* TISTR 1338	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 *L. fermentum* *L. salivarius*

หมายเหตุ * ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากใช้จำนวน ล.อ.บ. ในไก่กลุ่มควบคุมเป็นตัวแทนของไก่กลุ่มทดลองทั้งหมด กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะ กลุ่ม 2 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก กลุ่ม 3 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม กลุ่ม 4 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก กลุ่ม 5 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม

ตารางที่ 11 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และสายพันธุ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหารไก่สำเร็จรูปของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด

อาหารไก่	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)[1]	จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (CFU/g)[2]	สายพันธุ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย
CB-I-852 อาหารเม็ดเล็ก (ผสมสารปฏิชีวนะ)	6.45×10^9	3.68×10^8	*Enterococcus faecium* *E. durans* *E. bovis variant*
CB-II-852 อาหารเม็ดกลาง (ผสมสารปฏิชีวนะ)	3.18×10^9	2.46×10^8	*E. faecium* *E. durans* *E. bovis variant*
CB-I-853 อาหารเม็ดเล็ก (ไม่ผสมสารปฏิชีวนะ)	4.12×10^9	2.49×10^8	*E. faecium* *E. durans* *E. bovis variant* *Pediococcus* spp.
CB-II-853 อาหารเม็ดกลาง (ไม่ผสมสารปฏิชีวนะ)	1.8×10^9	3.1×10^8	*E. faecium* *E. durans* *E. bovis variant* *Pediococcus* spp.

หมายเหตุ

[1] ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดบนอาหารแข็งทริปติกซอย บ่มที่ 37 ^{0}ซ นาน 18-24 ชั่วโมง

[2] ตรวจหาจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลี้ยงเชื้อเหลว เอ็ม อาร์ เอส นาน 24 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง เอ็ม อาร์ เอส ผสมบรอมเครซอลเพอเพิล บ่มที่ 37^{0}ซ ใน candle jar นาน 48 ชั่วโมง

4. **การทดสอบภาคสนามเพื่อตรวจสอบผลของ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมต่อการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ในไก่พันธุ์เนื้อของบริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ (มหาชน) จำกัด**

ทดสอบความสามารถในการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ของ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติก โดยการป้อน *S.* Typhimurium สายพันธุ์ที่ได้รับเอื้อเฟื้อจากคณะสัตว์แพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้ไก่แรกเกิดอายุ 1 วัน ขนาด 10^3 CFU/ml ซึ่งเป็นขนาด LD_{50} ในหนูขาว (Brownell, 1969) ตามด้วยการเสริมโพรไบโอติกในอาหารไก่และในน้ำดื่ม ขนาด 10^6 CFU/g และ CFU/ml ให้ไก่ตั้งแต่อายุ 1 วันและให้ซ้ำทุก 3 วัน ตรวจสอบอัตราการตายและอาการของโรค ผลการทดลองในช่วง 10 วันแรกตรวจพบไก่มีอาการท้องเสียอุจจาระเหลว แฉะติดก้น เซื่องซึม กินอาหารได้น้อย แต่ความรุนแรงของอาการที่ปรากฏแตกต่างกันในไก่แต่ละกลุ่ม ไม่สามารถเปรียบเทียบได้อย่างชัดเจนว่าไก่กลุ่มใดมีอาการของโรคพาราไทฟอยด์ที่เกิดจาก *S.* Typhimurium สายพันธุ์ที่ให้จึงป้อนซ้ำ ขนาด 10^6 CFU/g เมื่ออายุ 12 วัน ผลที่ได้เช่นเดียวกับช่วง 10 วันแรก จึงป้อนซ้ำครั้งที่ 3 เมื่ออายุ 21 วันโดยใช้สายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วยที่มีอาการของโรค enteric fevers ได้รับเอื้อเฟื้อจากคณะแพทย์ศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ขนาด 10^8 CFU/ml ผลที่ได้ยังคงมองไม่เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมให้และไม่ให้ *S. Typhimurium* จึงทำการเปรียบเทียบการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium โดยใช้ปริมาณ *S. Typhimurium* ที่ตรวจพบในลำไส้ไก่แต่ละกลุ่มทดลอง

ผลการตรวจสอบปริมาณ S. Typhimurium ในลำไส้ไก่ทั้ง 6 กลุ่ม ดังตารางที่ 12 พบว่าปริมาณ *Salmonella* spp. ตรวจพบช่วงเวลาเดียวกันในไก่กลุ่มควบคุมและไก่กลุ่มทดลองให้ *S.*.Typhimurium แตกต่างอย่างไม่ชัดเจน พิจารณาผลการให้ *S.* Typhimurium ขนาด 10^6 CFU/ml ในวันที่ 21 ของการเลี้ยงจนถึงวันที่ 36 ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการเลี้ยง ไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่มและให้ *S.* Typhimurium มีจำนวน *S.* Typhimurium ลดลงต่ำสุดโดยตรวจไม่พบจำนวน *S.* Typhimurium เลยในวันที่ 36 ($10^8 \rightarrow 10^7 \rightarrow$ 0 CFU/g) และไก่กลุ่มที่ 2 ตรวจพบ 10^2 CFU/g 1 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 50 และตรวจไม่พบเลยในอีก 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 50 เช่นเดียวกัน ($10^8 \rightarrow 10^6 \rightarrow 10^2$, 0 CFU/g) เปรียบเทียบในไก่กลุ่มควบคุมให้ *S.* Typhimurium และไม่ให้โพรไบโอติก พบว่าไก่กลุ่มควบคุมมีจำนวน *Salmonella* spp. ลดลงเช่นเดียวกัน แต่จำนวนที่พบมีค่าสูงกว่าไก่กลุ่มที่ 5 และกลุ่มที่ 2 ตามลำดับ โดยในไก่กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและให้ *S.* Typhimurium ลดลง $10^8 \rightarrow 10^7 \rightarrow 10^2$

CFU/gและไก่กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและให้ *S. Typhimurium* ลดลง $10^8 \rightarrow 10^7 \rightarrow 10^2$ CFU/g

จำนวนแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ตลอดการเลี้ยง ดังตารางที่ 12 พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันในไก่แต่ละกลุ่มทดลอง ($10^3 \rightarrow 10^8$ CFU/g) รวมทั้งไก่กลุ่มควบคุม ($10^3 \rightarrow 10^9$ CFU/g) ผลการตรวจหาจำนวน ล.อ.บ. ในลำไส้ เปรียบเทียบเฉพาะกลุ่มที่ให้สารปฏิชีวนะในอาหารเช่นเดียวกัน พบว่าจำนวน ล.อ.บ. พบที่ช่วงเวลาเดียวกันและตลอดการทดลองไม่แตกต่างกันมากนักทั้งในกลุ่มให้และไม่ให้โพรไบโอติก ($10^2 \rightarrow 10^7$ CFU/g และ$10^2 \rightarrow 10^7$ CFU/g ตามลำดับ) เช่นเดียวกับกลุ่มที่ให้โพรไบโอติกในน้ำดื่ม จากตารางที่ 13 ในไก่กลุ่มควบคุมอายุ 18 วัน ตรวจพบการเจริญของ *L. fermentum* และ *L. delbreuckii* ร่วมกับ group-D-Enterococcus และเมื่อครบการเลี้ยง 36 วัน group-D-Enterococcus ทั้งหมดถูกแทนที่ด้วย *Lactobacillus* spp. ทั้งหมด โดยมีสายพันธุ์ที่พบเพิ่มขึ้น คือ *L. plantarum* และ *L. salivarius*

ตรวจพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกในลำไส้ไก่กลุ่มทดลองให้โพรไบโอติกพร้อมกับตรวจพบ ล.อ.บ. ประจำถิ่นในลำไส้ด้วย แสดงว่า ล.อ.บ. สายพันธุ์โพรไบโอติกมีความเข้ากันได้กับแหล่งที่อยู่ในลำไส้ และเข้าไปเจริญอยู่ร่วมกับ ล.อ.บ. ประจำถิ่นในลำไส้ได้ โดย *L. acidophilus* TISTR 1338 เป็นสายพันธุ์ที่ตรวจพบมากที่สุดโดยพบที่อายุ 18 และ 36 วัน ในไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกและไก่กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะ และผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม ไก่ทั้ง 2 กลุ่มทดลองได้รับ *S.* Typhimurium เช่นเดียวกัน ที่พบรองลงมา คือ *L. bulgaricus* TISTR 1339 โดยพบที่ 36 วันของการเลี้ยงในไก่กลุ่มที่ 2 และ 5 เช่นเดียวกัน สำหรับ *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 และ *L. jensenii* TISTR 1342 ตรวจไม่พบในลำไส้ไก่ทั้ง 2 กลุ่ม

สำหรับไก่กลุ่มที่3 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติกตรวจพบ *L. acidophilus* TISTR 1338 และ *L. bulgaricus* TISTR 1339 และไก่กลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่มตรวจพบ *L. acidophilus* TISTR 1338 , *L. bulgaricus* TISTR 1339 และ *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1342 ในลำไส้ไก่อายุ 36 วันเป็นการยืนยันผลการทดลองในข้อ 3 *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้สามารถเข้าแข่งขันและเจริญเพิ่มจำนวนรวมทั้งเข้าไปแทนที่แบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ไก่ได้ และให้ผลในการเร่งการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ โดยการให้โพรไบโอติกเสริมในน้ำดื่มให้ผลดีกว่าการเสริมในอาหารร่วมกับสารปฏิชีวนะ

ตารางที่ 12 Total viable count ของแบคทีเรียประจำถิ่น แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และ *Salmonella* spp. ในลำไส้เล็กไก่พันธุ์เนื้ออายุ 1-36 วัน

กลุ่ม	ชนิดแบคทีเรีย	Total viable count (CFU/g)				
		1 วัน	9 วัน	18 วัน	27 วัน	36 วัน
1	แบคทีเรียประจำถิ่น	-*	1.6×10^9	1.9×10^8	1.8×10^6	1.6×10^6
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	-*	2.3×10^5	4.1×10^6	6.1×10^5	7.2×10^6
	S. Typhimurium	-*	1.0×10^3	1.0×10^6	2.6×10^8	1.3×10^2
2	แบคทีเรียประจำถิ่น	-*	1.5×10^8	8.5×10^8	2.8×10^7	1.2×10^6
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	-*	3.2×10^6	5.4×10^6	7.1×10^6	1.6×10^7
	S. Typhimurium	-*	1.0×10^3	7.0×10^5	1.1×10^8	1.0×10^2 NF
3	แบคทีเรียประจำถิ่น	8.5×10^3	6.5×10^7	1.4×10^8	3.3×10^5	1.6×10^7
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	3.2×10^2	3.5×10^7	1.2×10^7	3.1×10^6	1.8×10^7
	S. Typhimurium	NF	NF	NF	NF	NF
4	แบคทีเรียประจำถิ่น	-*	3.0×10^8	4.3×10^7	3.0×10^5	2.0×10^6
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	-*	4.8×10^5	6.7×10^6	7.1×10^4	2.0×10^6
	S. Typhimurium	-*	1.2×10^3	1.3×10^6	3.0×10^7	3.5×10^2
5	แบคทีเรียประจำถิ่น	-*	9.9×10^7	1.8×10^8	7.9×10^6	3.5×10^5
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	-*	3.8×10^6	2.8×10^7	1.4×10^7	4.3×10^6
	S. Typhimurium	-*	1.8×10^3	1.0×10^5	1.2×10^7	NF
6	แบคทีเรียประจำถิ่น	9.3×10^3	1.3×10^8	2.8×10^6	2.2×10^6	8.1×10^6
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	1.8×10^2	4.7×10^6	1.9×10^6	2.0×10^7	4.2×10^7
	S. Typhimurium	NF	NF	NF	NF	NF

หมายเหตุ * ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากใช้จำนวนแบคทีเรียในไก่กลุ่มควบคุมเป็นตัวแทนของไก่กลุ่มทดลองทั้งหมด ในไก่กลุ่มควบคุมที่ 3 มีจำนวนแบคทีเรียประจำถิ่นอยู่ในช่วง $7.8\text{-}9.2 \times 10^3$ CFU/g และจำนวน ล.อ.บ. อยู่ในช่วง $2.1\text{-}4.3 \times 10^2$ CFU/g ในไก่กลุ่มควบคุมที่ 6 มีจำนวนแบคทีเรียประจำถิ่นอยู่ในช่วง $8.8 - 9.8 \times 10^3$ CFU/g และจำนวน ล.อ.บ. อยู่ในช่วง $1.2\text{-}2.4 \times 10^2$ CFU/g, ให้ S. Typhimurium จำนวน 3 ครั้ง คือ ไก่อายุ 1 วัน ให้ 10^3 CFU/g อายุ 12 วันให้ 10^6 CFU/g และอายุ 21 วัน ให้ 10^8 CFU/g, NF :- Not Found : ตรวจไม่พบ, กลุ่ม 1 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะ + *S. Typhimurium*, กลุ่ม 2 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติก + *S.* Typhimurium, กลุ่ม 3 คือ ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติก, กลุ่ม 4 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะ + *S.* Typhimurium, กลุ่ม 5 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม + *S.* Typhimurium, กลุ่ม 6 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม

ตารางที่ 13 สายพันธุ์แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ตรวจพบในลำไส้เล็กไก่พันธุ์เนื้ออายุ 1, 18 และ 36 วัน ในการต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium

กลุ่ม	สายพันธุ์แลคติกแอซิดแบคทีเรียในลำไส้ไก่		
	อายุ 1 วัน	อายุ 18 วัน	อายุ 36 วัน
1	*Enterococcus faecalis* *Pediococcus* spp.	*Enterococcus faecalis* *E. faecium* *E. durans* *L. fermentum* *L. delbreuckii*	*L. fermentum* *L. plantarum* *L. salivarius* *L. delbreuckii*
2	-*	*E. faecalis* *E. faecium* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. fermentum*	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. fermentum* *L. salivarius*
3	-*	*E. faecalis* *E. durans* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. fermentum* *L. delbreuckii*
4	-*	*E. faecalis* *E. durans* *L. plantarum*	*L. acidophilus* *L. plantarum* *L. salivarius*
5	-*	*E. faecalis* *E. durans* *L. acidophilus* TISTR 1338	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. fermentum* *L. plantarum*
6		*E. durans* *L. acidophilus* TISTR 1338 *L. fermentum* *L. plantarum*	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. casei* subsp. *tolerans* TISTR 1341 *L. fermentum* *L. delbreuckii*

หมายเหตุ * ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากใช้จำนวน จ.อ.บ. ในไก่กลุ่มควบคุมเป็นตัวแทนของไก่กลุ่มทดลองทั้งหมด กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะ+ S. Typhimurium กลุ่ม 2 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติก + *S. Typhimurium* กลุ่ม 3 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม กลุ่ม 4 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะ + S. Typhimurium กลุ่ม 5 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม + S. Typhimurium กลุ่ม 6 คือ กลุ่มให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม

เปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 36 วัน ดังตารางที่ 14 โดยให้ไก่กลุ่มที่ 4 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและให้ *S.* Typhimurium เป็นกลุ่มควบคุม พบว่าไก่กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและให้ *S.* Typhimurium ให้ผลของน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ให้ผลน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดในกลุ่มได้รับ *S.* Typhimurium ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับสารปฏิชีวนะในอาหารและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม และที่ให้น้ำหนักเฉลี่ยต่ำสุดในการทดลองนี้ได้แก่ กลุ่มได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม ผลที่ได้ไม่สอดคล้องกับผลของจำนวน *Salmonella* spp. ตรวจพบในลำไส้ไก่ ซึ่งมีจำนวนใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มทดลองโดยกลุ่มที่5 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและเสริมโพรไบโอติกในน้ำดื่มเป็นกลุ่มที่ตรวจพบจำนวน *S.* Typhimurium ต่ำสุด ($10^7 \rightarrow 0$ CFU/g) จึงไม่สามารถสรุปอย่างชัดเจนได้ว่า การใช้ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกในรูปผงแห้งแบบผสมเสริมในอาหารไก่และในน้ำดื่มสามารถต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ได้หรือไม่ เนื่องจากมีหลายปัจจัยเข้ามารบกวนการทดลอง จำเป็นจะต้องทำการทดสอบซ้ำเพื่อยืนยันผลอีกครั้ง

นำผลน้ำหนักเฉลี่ยตลอดทุกช่วงอายุ ทดสอบผลทางสถิติ (Duncan's multiple range test) พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในไก่ทุกกลุ่มทดลอง ยกเว้นในไก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับโพรไบโอติกแต่ไม่ได้รับ *S. Typhimurium* สอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติก และกลุ่มได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม น้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทั้ง 2 กลุ่มทดลอง ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาในไก่ทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าผลการทดลองยืนยันการทดลองในข้อ 3 กล่าวคือ ในช่วง 19 วันแรก ไก่กลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกในอาหารผสมสารปฏิชีวนะมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มสูงกว่าไก่กลุ่มที่ 6 ได้รับอาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม ซึ่งตรงข้ามกับผลการทดลองในช่วง 36 วัน ไก่กลุ่มที่ 6 มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มสูงกว่าไก่กลุ่มที่ 3 จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า การให้โพรไบโอติกในน้ำดื่มมีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตในไก่กลุ่มทดลองในระยะยาวได้ดีกว่าการให้โพรไบโอติกผสมในอาหารไก่ที่มีสารปฏิชีวนะ อย่างไรก็ตาม การเสริมโพรไบโอติกให้ไก่ทั้งในลักษณะน้ำดื่มและการผสมโดยตรงในอาหารมีผลเพิ่มน้ำหนักเฉลี่ยได้ดีกว่าการที่ไก่ได้รับสารปฏิชีวนะจากอาหารเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ย ประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย และอัตราการตายของไก่ระหว่างกลุ่มที่ให้และไม่ให้โพรไบโอติกในการต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ในไก่พันธุ์เนื้อ

กลุ่ม	อายุ 19 วัน		อายุ 36 วัน			อัตรา
	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร	น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่ม 19-42 วัน (กรัม)	การตาย (%)
1	566.88 ± 29.75	1.33 ± 0.07	1,439.73 ± 71.64	2.14 ± 0.15	872.86 ± 61.82	1.56
2	562.90 ± 20.68	1.36 ± 0.07	1,471.65 ± 58.00	2.28 ± 0.18	908.75 ± 47.05	0.00
3	621.07 ± 20.64	1.33 ± 0.04	1,497.56 ± 33.54	2.50 ± 0.25	876.49 ± 33.45	9.38
4	548.84 ± 16.90	1.37 ± 0.04	1,426.49 ± 32.98	2.16 ± 0.11	877.65 ± 30.12	6.25
5	547.92 ± 16.79	1.39 ± 0.04	1,420.83 ± 66.99	2.17 ± 0.18	872.92 ± 63.70	4.69
6	605.42 ± 24.17	1.37 ± 0.04	1,505.95 ± 91.69	2.20 ± 0.14	900.63 ± 75.10	7.81

หมายเหตุ คิดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นอายุ 1 วัน เท่ากับ 43.1 กรัม เท่ากันทุกกลุ่มทดลอง, กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะ + S. Typhimurium , กลุ่ม 2 ให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติก + S. Typhimurium, กลุ่ม 3 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารผสมสารปฏิชีวนะและโพรไบโอติก, กลุ่ม 4 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะ + S. Typhimurium, กลุ่ม 5 ให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะ และผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม + S. Typhimurium , กลุ่ม 6 คือ กลุ่มควบคุมให้อาหารไม่ผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม

5. การทดสอบภาคสนามเพื่อยืนยันผลของ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมต่อการต้านการติดเชื้อ S. Typhimurium ในไก่พันธุ์พื้นบ้านไทย

ทำการทดสอบยืนยันผลการต้านทานการติดเชื้อ*S.* Typhimurium ในไก่พันธุ์พื้นบ้านไทย ของ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกผงแห้งแบบผสมในอาหารไก่และในน้ำดื่มโดยให้ขนาด 10^6 CFU/g และ CFU/ml ตั้งแต่ไก่อายุ 1 วัน และให้ซ้ำ ทุก 3 วัน อายุ 10 วัน ให้ *S.* Typhimurium strain B ที่มี drug resistant marker ได้รับเอื้อเฟื้อจากกองอาหารส่งออก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขนาด 10^8 CFU/ml เปรียบเทียบผลของการเสริมโพรไบโอติกต่อการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ที่มีผลต่อสุขภาพและการเจริญเติบโตของไก่ ดังตารางที่ 15 พบว่าการให้โพรไบโอติกเสริมให้ไก่ในช่วงแรกของการเลี้ยง (1-10 วัน) มีผลเพิ่มน้ำหนักเฉลี่ยดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก ทำให้ไก่มีสุขภาพแข็งแรง โดยไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกเสริมในอาหารมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด หลังจากไก่ได้รับ *S.* Typhimurium พบว่าอัตราการเพิ่มของน้ำหนักลดลงในทุกกลุ่มทดลอง ไก่มีอาการท้องเสีย อุจจาระร่วง ตรวจสอบผลต้านทานการติดเชื้อในลำไส้และมูลไก่ที่ 20 และ 30 วัน ตามลำดับ ดังตารางที่ 16 เปรียบเทียบระหว่างจำนวน *S.* Typhimurium ในไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติกและในไก่กลุ่มทดลองได้รับโพรไบโอติกในอาหารไก่และในน้ำดื่ม พบว่าในไก่กลุ่มทดลองทั้ง 2 จำนวน *S.* Typhimurium ลดลงต่ำกว่าไก่กลุ่มควบคุมโดยในลำไส้และมูลไก่กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกมีจำนวน *S.* Typhimurium ที่พบต่ำสุด ในลำไส้ลดลง $10^8 \rightarrow 10^6 \rightarrow 10^3$ CFU/g ในมูลไก่ $10^8 \rightarrow 10^5 \rightarrow 10^4$ CFU/g รองลงมาคือ กลุ่มที่ 3 ได้รับน้ำดื่มผสมโพรไบโอติกในลำไส้ลดลง $10^8 \rightarrow 10^7 \rightarrow 10^4$ CFU/g และในมูลไก่ลดลง $10^8 \rightarrow 10^6 \rightarrow 10^5$ CFU/g และพบมากสุด คือ ไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติกในลำไส้ลดลง $10^8 \rightarrow 10^7 \rightarrow 10^6$ CFU/g และในมูลไก่แทบไม่ลดลงเลย $10^8 \rightarrow 10^8 \rightarrow 10^8$ CFU/g อย่างไรก็ตามหากทำการเลี้ยงต่อไปผลการต้านทานติดเชื้อ *S.* Typhimurium อาจแตกต่างชัดเจนมากขึ้น

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ย ประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย และอัตราการตายของไก่ระหว่างกลุ่มที่ให้และไม่ให้โพรไบโอติกในการทดสอบยืนยันต้านทานการติดเชื้อ S. Typhimurium ในไก่พันธุ์พื้นบ้านไทย

อายุ	กลุ่ม	น้ำหนัก		ประสิทธิภาพการใช้อาหาร		อัตราการตาย (%)
		เฉลี่ย (กรัม)	% ความสัมพันธ์น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่ม[1]	เฉลี่ย	%ความสัมพันธ์น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่ม[1]	
10 วัน	1	76.88 ± 0.88	-	-	-	0
	2	86.88 ± 4.42	25.90	-	-	0
	3	86.25 ± 3.54	24.29	-	-	0
20 วัน	1	206.69 ± 0.63	-	1.94 ± 0.04	-	0
	2	219.86 ± 2.40	7.83	1.90 ± 0.11	+ 2.06	0
	3	219.38 ± 15.03	7.54	1.93 ± 0.09	+ 0.52	0
30 วัน	1	384.29 ± 4.04	-	2.32 ± 0.007	-	0
	2	392.86 ± 16.16	2.48	2.25 ± 0.01	+ 3.02	0
	3	387.86 ± 25.25	1.03	2.23 ± 0.007	+ 3.88	0

หมายเหตุ

[1] เปรียบเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มกลุ่มควบคุมที่ 1 , น้ำหนักเฉลี่ยไก่อายุ 1 วัน เท่ากับ 38.3 กรัม เท่ากันทุกกลุ่มทดลองและผสม *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมในอาหารและในน้ำดื่ม ขนาด 10^6 CFU/ml ให้ทุก 3 วัน ตั้งแต่ไก่อายุ 1 วัน, ให้ S. Typhimurium ขนาด 10^8 CFU/ml เมื่อไก่อายุ 10 วัน, กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะ + S. Typhimurium, กลุ่ม 2 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและเสริมโพรไบโอติก + S. Typhimurium และกลุ่ม 3 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม + S. Typhimurium ,

ตารางที่ 16 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด *Lactobacillus* spp. และ *S.* Typhimurium ตรวจพบในลำไส้และมูลไก่อายุ 1, 10, 20 และ 30 วัน ตามลำดับ

กลุ่ม	ชนิดแบคทีเรีย	จำนวนแบคทีเรียที่ตรวจพบ (CFU /g)							
		1 วัน		10 วัน		20 วัน		30 วัน	
		ลำไส้	มูล	ลำไส้	มูล	ลำไส้	มูล	ลำไส้	มูล
1	แบคทีเรียประจำถิ่น	5.2×10^4	6.2×10^4	6.0×10^8	6.3×10^9	5.0×10^9	3.0×10^8	1.2×10^9	6.4×10^9
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	NF	NF	3.0×10^5	4.7×10^6	3.9×10^5	9.5×10^6	1.8×10^6	1.8×10^6
	S. Typhimurium	NF	NF	NF	NF	4.5×10^7	4.0×10^8	9.0×10^6	2.0×10^8
2	แบคทีเรียประจำถิ่น	-	-	6.0×10^7	2.5×10^9	4.0×10^6	3.1×10^8	2.7×10^8	2.9×10^9
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	-	-	9.8×10^7	1.4×10^9	8.0×10^7	2.2×10^7	1.9×10^8	2.4×10^9
	S. Typhimurium	-	-	NF	NF	1.5×10^6	1.8×10^5	1.6×10^3	5.3×10^4
							NF	NF	NF
3	แบคทีเรียประจำถิ่น	-	-	4.5×10^7	3.5×10^9	1.3×10^8	1.7×10^8	1.9×10^8	6.7×10^8
	แลคติกแอซิดแบคทีเรีย	-	-	6.0×10^7	3.3×10^9	5.0×10^7	8.2×10^7	5.3×10^7	1.6×10^9
	S. Typhimurium	-	-	NF	NF	5.4×10^7	1.4×10^6	2.0×10^4	2.0×10^5
							NF	NF	NF

หมายเหตุ ผสม *Lactobacillus spp.* ผงแห้งแบบผสมในอาหารและน้ำดื่ม ขนาด 10^6 CFU/g และ CFU/ml ตามลำดับ ให้ทุก 3 วัน ตั้งแต่อายุ 1 วัน และป้อน *S.* Typhimurium strain B ขนาด 10^8 CFU/ml เมื่อไก่อายุ 10 วัน, กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมได้รับอาหารบริษัทชนะพันธุ์ฟาร์ม จำกัด + *S.* Typhimurium, กลุ่ม 2 ได้รับอาหารบริษัทชนะพันธุ์ฟาร์ม จำกัด ผสมโพรไบโอติก + *S.* Typhimurium และกลุ่ม 3 ได้รับอาหารบริษัทชนะพันธุ์ฟาร์ม จำกัดและผสมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม + *S. Typhimurium*, NF :- Not Found : ตรวจไม่พบ

จำนวนและสายพันธุ์ของ ล.อ.บ. ที่ตรวจพบในลำไส้ไก่อายุ 1, 10, 20 และ 30 วัน พบว่าไก่กลุ่มที่ 2 และไก่กลุ่มที่ 5 มีจำนวน ล.อ.บ. ที่พบในลำไส้สูงใกล้เคียงกันตลอดการทดลอง (107- 10^9 CFU/g) และมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (10^5- 10^6 CFU/g) ยืนยันผลโดยการตรวจพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกในไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม อายุ 30 วัน ตรวจพบ *L. acidophilus* TISTR 1338 และ *L. bulgaricus* TISTR 1339 ในลำไส้ไก่กลุ่มได้รับ (108- โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม โดยพบ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกเจริญอยู่ร่วมกับ *Lactobacillus spp.* สายพันธุ์แบคทีเรียประจำถิ่น และเข้าแทนที่ group-D-Enterococcus ทั้งหมดที่ตรวจพบเมื่ออายุ 1 วัน ผลการตรวจสอบอาหารสำเร็จรูปบริษัทขนะพันธุ์ฟาร์ม จำกัด ดังตารางที่ 18 ตรวจไม่พบมีการปนเปื้อนของ *Lactobacillus* spp. จึงสามารถยืนยันผลการทดลองได้ว่าเกิดจากผลของ *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้และสายพันธุ์แบคทีเรียประจำถิ่นสามารถเจริญอยู่ร่วมกันและมีผลต้านทานการติดเชื้อ *S. Typhimurium*

ผลการเจริญเติบโต น้ำหนักเฉลี่ย ดังตารางที่ 15 และปริมาณ *S. Typhimurium* ที่ตรวจพบตลอดการทดลอง ดังตารางที่ 16 สอดคล้องกัน กล่าวคือ ไก่กลุ่มที่ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มสูงสุดในไก่ทุกกลุ่มอายุ เป็นกลุ่มที่มีการตรวจพบจำนวน *S.* Typhimurium strain B ต่ำสุดกว่าทุกกลุ่มทดลอง รองลงมา ได้แก่ ไก่กลุ่มที่ 3 และไก่กลุ่มควบคุม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผลของน้ำหนักเฉลี่ยในไก่ทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

จากผลการทดลองข้างต้น สรุปได้ว่า *Lactobacillus* spp. ผงแห้งแบบผสมที่ให้สามารถเข้าไปเจริญในลำไส้ไก่และมีผลต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ได้ ยืนยันได้โดยไก่กลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกมีจำนวน ล.อ.บ. ที่พบเพิ่มขึ้นสูงกว่าในกลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก และยืนยันได้ว่าจำนวน ล.อ.บ. ที่เพิ่มขึ้นเกิดจาก *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์โพรไบโอติกที่ให้เข้าไปเจริญในลำไส้ไก่ และมีผลทำให้จำนวน *S.* Typhimurium ลดลง และให้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมโดยการให้โพรไบโอติกตั้งแต่ไก่แรกเกิดอายุ 1 วัน ก่อนที่จะมีการติดเชื้อ S. Typhimurium จะให้ผลในการต้านทานการเกิดโรคได้ดีกว่าการให้โพรไบโอติกหลังจากหรือพร้อม ๆ กับที่มีการติดเชื้อ *S. Typhimurium*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 สายพันธุ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียตรวจพบในลำไส้และมูลไก่พันธุ์พื้นบ้านไทยได้รับ S. Typhimurium

กลุ่ม	สายพันธุ์แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบ			
	ในลำไส้		ในมูล	
	1 วัน	30 วัน	1 วัน	30 วัน
1	*E. faeciums* *E. faecalis*	*L. fermentum* *L. acidophilus* *L. salivarius*	*E. faecium* *E. faecalis* *Pediococcus* spp.	*L. fermentum* *L. acidophilus* *L. salivarius*
2	-*	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. acidophilus* *L. salivarius*	-*	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. acidophilus* *L. salivarius*
3	-*	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. acidophilus* *L. salivarius*	-*	*L. acidophilus* TISTR 1338 *L. bulgaricus* TISTR 1339 *L. acidophilus* *L. salivarius*

หมายเหตุ

* ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากใช้ ล.อ.บ. ในกลุ่มควบคุมเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ ล.อ.บ.ที่ตรวจพบทั้งหมด, กลุ่ม 1 คือ กลุ่มควบคุมได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะ + S. Typhimurium, กลุ่ม 2 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและเสริมโพรไบโอติก + S. Typhimurium และ กลุ่ม 3 ได้รับอาหารผสมสารปฏิชีวนะและเสริมโพรไบโอติกในน้ำดื่ม + S. Typhimurium

ตารางที่ 18 จำนวนและลักษณะการติดสีแกรมของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย จากอาหารผสมสารปฏิชีวนะของบริษัทชนะพันธุ์ฟาร์ม อุตสาหกรรม จำกัด

อาหารไก่	Total count bacteria (CFU/g)		ลักษณะโคโลนีบนอาหาร MRSA	การติดสีแกรมของโคโลนี บนอาหาร MRSA	ทดสอบการสร้าง เอนไซม์คะตะเลส
	On TSA	On MRSA			
อาหารไก่เม็ดเล็ก (1-20 วัน)	9.2×10^8	2.8×10^8	1. ขาวขุ่น กลม นูน ทึบแสง ขนาด 0.5-1.0 มม. ขอบเรียบ	1. แกรมบวก กลม คู่, tetrad	ผลลบ
			2. เหลืองอ่อน กลม นูน ทึบแสง ขนาด 1.0-1.5 มม. ขอบเรียบ	2. แกรมบวก กลม คู่, สายสั้น	ผลลบ
			3. เหลืองขุ่น กลม นูน ทึบแสง ขนาด 1.5-2.0 มม. ขอบเรียบ	3. แกรมบวก กลม คู่	ผลลบ
อาหารไก่เม็ดใหญ่ (20-30 วัน)	3.2×10^9	5.6×10^7	1. ขาวขุ่น กลม นูน ทึบแสง ขนาด 0.5-1.0 มม. ขอบเรียบ	1. แกรมบวก กลม คู่, tetrad	ผลลบ
			2. ขาวขุ่น กลม นูน ทึบแสง ขนาด 1.0-1.5 มม. ขอบเรียบ	2. แกรมบวก กลม คู่, สายสั้น	ผลลบ
			3. เหลืองขุ่น กลม นูน ทึบแสง ขนาด 1.5-2.0 มม. ขอบเรียบ	3. แกรมบวก กลม สายสั้น	ผลลบ

หมายเหตุ บ่มเชื้อ ที่ 37 °ซ นาน 48 ชั่วโมงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRSA ทดสอบการติดสีแกรมและการสร้างเอนไซม์คะตะเลส