บทที่5

อภิปรายผลการทดลอง

จากงานวิจัยนี้เป็นงานต่อเนื่องจากการศึกษาเบื้องต้น ที่ทำการคัดแยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก 4 สายพันธุ์ จากลำไส้ไก่พันธุ์พื้นเมืองไทย (ฐิติพงษ์, 2539) ซึ่งผ่านการทดสอบเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการมาแล้วว่ามีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของไก่ และสามารถมีชีวิตอยู่รอดในระบบทางเดินอาหารไก่ได้ เมื่อนำมาผสมอาหารเลี้ยงไก่พบว่า ไก่มีน้ำหนักตัวมากกว่าไก่กลุ่มควบคุม และสามารถลดการเป็นพาหะเมื่อทำการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Salmonella* Enteritidis ในปี 2541 ปัญชลี ทำการศึกษาถึงวิธีการเก็บรักษาเชื้อ ชนิดของสื่อที่ใช้เป็นตัวนำโพรไบโอติกให้ไก่ ปริมาณโพรไบโอติกที่เหมาะสมต่อการเสริมให้ไก่ เพื่อนำผลมาประกอบการทดลองเลี้ยงไก่เพื่อเปรียบเทียบผลต่อการเจริญเติบโต และการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ผลการทดลองพบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถเก็บที่ -20° C ได้นาน 12 เดือน จากการทดลองพบว่าการเสริมโพรไบโอติกโดยใช้น้ำเป็นสื่อให้ไก่กินด้วยความเข้มข้น 6 log CFU/ml ให้ผลดีกว่าการใช้อาหารไก่เป็นสื่อ เมื่อพิจารณาจากการรอดชีวิตของ *Lactobacillus* spp. ในน้ำ และน้ำหนักตัวเฉลี่ยของไก่ที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติก ทางน้ำให้ผลดีกว่าการใช้อาหารไก่เป็นสื่อ และสามารถลดการติดเชื้อ *S.* Typhimurium ในไก่กระทง และไก่พันธุ์พื้นเมืองของไทยดีกว่าการใช้สารปฏิชีวนะ ในงานวิจัยนี้ได้ขยายขนาดการทดลองสู่ระดับฟาร์มพาณิชย์ เพื่อประเมินผลของความเป็นไปได้ในการนำโพรไบโอติกที่ได้จากงานวิจัยสู่การเลี้ยงไก่ระดับอุตสาหกรรม

ในการเริ่มต้นงานวิจัยในระดับเชิงพาณิชย์ต้องคำนึงถึงปัจจัยที่มีผลลดประสิทธิภาพการใช้โพรไบโอติกในสัตว์ปีกประกอบด้วย (Edens, 2003)

1. โภชนาการ: เนื่องจากอาหารมีสารอาหารไม่เพียงพอ อาหารเสื่อมคุณภาพ การปนเปื้อนจากสารพิษ และเชื้อรา น้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์

2. สภาพแวดล้อม : อุณหภูมิสูง-ต่ำเกินไป ปริมาณคลอรีนหรือฟลูออรีนในน้ำ ระบบถ่ายเทอากาศ

3. สุขภาพพื้นฐานของไก่

4. การใช้สารปฏิชีวนะ

ดังนั้นในช่วงแรกของงานวิจัยได้ทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐาน และสภาวะแวดล้อมของไก่สายพันธุ์ Cobb ในฟาร์มเลี้ยงระดับอุตสาหกรรมก่อนทำการทดลอง เพื่อสำรวจปัจจัยที่อาจมีผลลดประสิทธิภาพการเสริมโพรไบโอติกในงานวิจัยนี้ โดยศึกษาภูมิหลังของแบคทีเรียในแหล่งน้ำ และ

แหล่งอาหาร รวมทั้งทดสอบการรอดชีวิตของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสในแหล่งน้ำที่ใช้เป็นสื่อเพื่อเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสให้ไก่

5.1 ข้อมูลพื้นฐานก่อนทำการทดสอบประสิทธิภาพโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสในไก่สายพันธุ์ Cobb

ผลการศึกษาพบว่า อาหารไก่มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียในปริมาณสูงกว่ามาตรฐาน (พรบ. อาหารสัตว์ 2525) แต่ไม่พบแลคโตบาซิลลัส และซัลโมเนลลาทำให้ตัดปัจจัยผลกระทบจากแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด และจากผลการตรวจน้ำดื่มไก่ในฟาร์มขณะเลี้ยงไก่เพื่อจำหน่าย และน้ำบาดาลที่ใช้เลี้ยงไก่ในการทดลองระดับโรงเรือน พบว่าแหล่งน้ำทั้ง 2 มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสูงเกินเกณฑ์กำหนด (ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม, 2521) เมื่อทำการทดสอบการรอดชีวิตของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสในแหล่งน้ำทั้ง 2 พบว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสสามารถรอดชีวิตในแหล่งน้ำบาดาลได้ แต่น้ำในฟาร์มเลี้ยงไก่เพื่อจำหน่ายมีปริมาณคลอรีนในน้ำสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานซึ่งทำให้ตรวจไม่พบการรอดชีวิตของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัส แต่หลังการปรับลดระดับคลอรีนในแหล่งน้ำลงให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน พบว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสสามารถรอดชีวิตในแหล่งน้ำได้ จากผลดังกล่าวจึงเป็นข้อควรระวังจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร และน้ำต่อสุขภาพไก่ รวมถึงระดับคลอรีนในแหล่งน้ำที่ใช้เป็นสื่อในการเสริมโพรไบโอติกซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการทดลองในขั้นต่อไป

รวมทั้งในเบื้องต้นได้ทำการศึกษาแบคทีเรียในมูลไก่ทั้ง 2 กลุ่มการทดลองอายุ 1-49 วัน ซึ่งเป็นช่วงอายุของการเลี้ยงในระดับพาณิชย์ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียรวมอยู่ในช่วง 9 log CFU/g โคลิฟอร์มอยู่ในช่วง 7 log CFU/g และ *E.coli* อยู่ในช่วง 7 log CFU/g ซึ่งใกล้เคียงกับที่มีการรายงานว่าแบคทีเรียรวมในมูลไก่ 11 log CFU/g (Margie Lee, 2002) ปริมาณ *E.coli* ในมูลไก่ 6.1 log CFU/g (Fuller, 1992) ซึ่งจากการตรวจแบคทีเรียในมูลไก่ข้างต้น ไก่สายพันธุ์ Cobb น่าจะมีแบคทีเรียประจำถิ่นใกล้เคียงกับไก่สายพันธุ์ทั่วไป และจากการตรวจซัลโมเนลลาในมูลไก่เพื่อแยกตามซีโรวาร์ พบซัลโมเนลลากลุ่ม E และ C ซึ่งตรงกับข้อมูลการตรวจพบซัลโมเนลลาของบริษัทสหฟาร์ม (ข้อมูลจากฝ่ายวิจัยบริษัทสหฟาร์ม) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าซัลโมเนลลากลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในไก่สายพันธุ์ Cobb และเนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานถึงการแจงนับเม็ดเลือดไก่สายพันธุ์ดังกล่าวนี้ งานวิจัยนี้จึงสุ่มตัวอย่างเจาะเลือดไก่จากช่วงอายุ 1, 28 และ 49 วัน เพื่อศึกษาองค์ประกอบในเลือดไก่ พบว่าเลือดไก่มีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%Hematrocrit) ตลอด 3 ช่วงอายุมีค่าใกล้เคียงกันโดยเฉลี่ย 17-20% ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวรวม 5,400 9,400 และ8,600 เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับช่วงอายุ เมื่อทำการแจงนับเซลล์เม็ดเลือดชนิด Lymphocyte มีปริมาณ 67, 78, 89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับอายุ และมีปริมาณเม็ดเลือดขาว Heterophil มีปริมาณ 25, 20, 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับอายุ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของไก่ที่เลี้ยงในระดับฟาร์มอุตสาหกรรม หรืออาจนำมา

ประกอบการประเมินประสิทธิภาพการเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสให้ไก่ในการเลี้ยงระดับฟาร์มอุตสาหกรรม ในกรณีที่เห็นผลแตกต่างระหว่างไก่กลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุม

5.2 การทดลองเลี้ยงไก่ในระดับอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์

การทดลองเพื่อประเมินประสิทธิภาพโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสในฟาร์มเชิงพาณิชย์ ที่ใช้จริงในระดับอุตสาหกรรมซึ่งเป็นโรงเรือนระบบ Evaporative Cooling System แบบระบบปิด การจัดการภายในแต่ละโรงเรือนถูกควบคุมให้เหมือนกันโดยระบบอัตโนมัติ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุมที่ให้ดื่มน้ำปกติ และกลุ่มโพรไบโอติกที่ให้ดื่มน้ำผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัส ตลอดการเลี้ยง 7 สัปดาห์ ทำการตรวจอาหาร และน้ำดื่มไก่ ผลการตรวจอาหารพบการปนเปื้อนจากสารพิษ และแบคทีเรีย โดยสารพิษที่ตรวจพบ ได้แก่ อะฟล่าท็อกซิน Fumonisin และ T-2 toxin พบว่าอะฟล่าท็อกซินในอาหารบางเบอร์มีปริมาณสูงกว่ามาตรฐาน (พรบ. ควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์, 2525) และพบการปนเปื้อนจากแบคทีเรียรวม *E.coli* และโคลิฟอร์มในอาหาร เมื่อศึกษาแหล่งน้ำดื่มไก่ พบว่าแหล่งน้ำดื่มไก่ของทั้ง 2 กลุ่มการทดลองไม่มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม และซัลโมเนลลา เนื่องจากแหล่งน้ำที่ให้ไก่ดื่มมีการควบคุมจุลินทรีย์โดยการบำบัดด้วยคลอรีนในปริมาณสูงมากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด (> 3 ppm) ซึ่งมีผลทำให้แลคโตบาซิลลัสที่เสริมให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกกินโดยมีน้ำเป็นสื่อไม่สามารถตรวจพบได้ในช่วง 1-4 สัปดาห์แรกของการเลี้ยงไก่ในกลุ่มเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัส ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ในช่วงแรกของการทดลอง เนื่องจากแหล่งน้ำที่ใช้ในฟาร์มทดลองนี้ และแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการเลี้ยงไก่เชิงพาณิชย์ในฟาร์มอื่นๆ ของบริษัทถูกควบคุมจากจุดเดียวกัน ทำให้ไม่พบการรอดชีวิตของ โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสในน้ำดื่มที่เสริมให้ไก่กิน ตรงกับการรายงานของ Edens (2003) ที่กล่าวว่าปริมาณคลอรีน หรือฟลูออรีนในน้ำดื่มเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลจำกัดประสิทธิภาพการเสริมโพรไบโอติกในสัตว์ปีก แต่หลังการปรับปริมาณคลอรีนในแหล่งน้ำลงในสัปดาห์ 5-7 ตรวจพบ โพรไบโอติก สามารถรอดชีวิตในแหล่งน้ำ

การติดตามผลประเมินโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสจากแบคทีเรียมูลไก่ ลำไส้ไก่ และการเจริญเติบโตของไก่ ในช่วง 1-4 สัปดาห์แรกของการเลี้ยงปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์มในมูลไก่ทั้ง 2 กลุ่ม มีปริมาณใกล้เคียงกันโดยมีประมาณ 9.5, 8.2-8.3, 7.6-8.0 log CFU/g ตามลำดับ(รูปที่ 4 ก-ค) และจากการตรวจซัลโมเนลลาในมูลไก่แบ่งตามฟาร์มทดลอง พบว่าปริมาณซัลโมเนลลาในมูลไก่ที่ตรวจพบในฟาร์มกลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุมมีปริมาณใกล้เคียงกัน (6-7 log CFU/g) รวมทั้งจำนวนฟาร์มในการตรวจพบ 1-2 สัปดาห์แรกไม่แตกต่างกัน โดยตรวจพบซัลโมเนลลาเกือบทุกฟาร์ม (รูปที่ 5) เมื่อพิจารณาแบคทีเรียในลำไส้ที่อายุ 28 วัน พบว่าลำไส้ส่วน Cecum ในไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติก เป็นลำไส้ส่วนที่พบปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่าลำไส้ส่วนอื่น และเป็นลำไส้ส่วนที่ไก่กลุ่มโพรไบติกมีปริมาณ

แลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 1.5 log CFU/g ส่วนปริมาณแบคทีเรียชนิดอื่นในลำไส้แตกต่างกันน้อยกว่า 0.5 log CFU/g ขณะที่ลำไส้ส่วน Duodenum Jejunum และ Ileum กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุม 0.3 log CFU/g ส่วนปริมาณแบคทีเรียชนิดอื่นแตกต่างกันประมาณ 0.2 $\log_{10}$ CFU/g จากการที่ลำไส้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุม อาจเป็นผลมาจากปริมาณคลอรีนในน้ำบางวันซึ่งไม่ได้ทำการสุ่มตรวจมีปริมาณต่ำกว่าวันที่สุ่มตรวจ และมีผลให้โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสสามารถมีชีวิตรอดในน้ำที่ให้แก่ไก่กลุ่มโพรไบโอติก และปริมาณแลคโตบาซิลลัสที่เสริมเข้าไปมีผลเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกแตกต่างจากปริมาณในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุม และโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสที่เสริมให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกน่าจะมีความจำเพาะต่อลำไส้ส่วน Cecum มากกว่าส่วนอื่น และในลำไส้ส่วนนี้อาจมีภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสโดยพบว่ามีความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 5.7-8.4 (Jin และคณะ, 1998) ซึ่งตรงกับการรายงานของ Pollman และคณะ (1980) ที่พบว่าไก่ที่เลี้ยงในสภาพปกติในลำไส้ส่วน Cecum มีปริมาณแลคโตบาซิลลัสประมาณ 10.69 log CFU/g ขณะที่ลำไส้ส่วน Duodenum Jejunum และ Ileum มีปริมาณ 7.95, 7.10, 8.27 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับไก่ที่เลี้ยงในภาวะที่ปลอดเชื้อพบว่ามีปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ทุกส่วนใกล้เคียงกันโดยมีปริมาณ 3.5-3.9 log CFU/g

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตจากการกินอาหารสะสมต่อตัว น้ำหนักตัว ประสิทธิภาพการใช้อาหาร PI และ ADG ใน 4 สัปดาห์แรก พบว่าไก่กลุ่มควบคุมมีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มโพรไบโอติก แม้ว่าปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกบางส่วนจะมีปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุมก็ตาม แต่ผลของโพรไบโอติกที่เสริมการเจริญของไก่ขึ้นอยู่กับปริมาณโพรไบโอติกที่ไก่ได้รับด้วย (Fuller, 1992)

สัปดาห์ที่ 5-7 ของการเลี้ยงไก่ ตรวจพบโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสประมาณ 6-7 log CFU/g ในน้ำดื่มไก่กลุ่มโพรไบโอติก (รูปที่ 3) มูลไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณโคลิฟอร์มและจำนวนฟาร์มในการตรวจพบซัลโมเนลลาน้อยกว่ากลุ่มควบคุม และปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 0.3 log CFU/g ปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* ใกล้เคียงกันทั้ง 2 กลุ่ม จากการผ่าซากที่อายุ 49 วัน ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส่ส่วน Ileum เพิ่มขึ้นจากอายุ 28 วัน ประมาณ 1 log CFU/g ทำให้พบว่าลำไส้ส่วน Ileum และส่วน Cecum ในไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 1 log CFU/g ขณะที่แบคทีเรียชนิดอื่นในลำไส้ของไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติก ที่อายุ 49 วัน มีปริมาณใกล้เคียงกับที่อายุ 28 วัน ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 พบว่าไก่กลุ่มโพรไบโอติกสามารถปรับตัวให้ PI, ADG น้ำหนักตัว อัตราการแลกเนื้อ และสุขภาพไก่ รวมทั้งมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

5.3 การทดลองเลี้ยงไก่ในฟาร์มทดลองระดับ Pilot scale

จากการทดลองจะพบว่าแบคทีเรียในมูลไก่ทั้ง 2 กลุ่ม มีปริมาณแตกต่างกันไม่มาก ยกเว้นจำนวนฟาร์มในการตรวจพบซัลโมเนลลาที่กลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม ในลำไส้กลุ่มโพรไบโอติกที่อายุ 28 วัน และ 49 วัน มีปริมาณใกล้เคียงกัน แสดงว่าโพรไบโอติกที่เสริมเข้าไปอย่างต่อเนื่องไม่สามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่มีการเจริญอยู่ก่อนแล้วได้ ซึ่งโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสที่เสริมเข้าไปอาจเป็นเพียงป้องกันการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียชนิดอื่น ซึ่งเป็นกลไกการทำงานของโพรไบโอติกแบบ Exclusion ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงท้ายของการทดลองนี้ แต่โพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสไม่สามารถแทนที่ (displacement) แบคทีเรียที่มีอยู่ในลำไส้ก่อนได้ (L.Z. Jin, 1996) แต่หากผนังลำไส้มีพื้นที่ที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้อีก แลคโตบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียกลุ่มแรกที่สามารถแย่งพื้นที่ยึดเกาะ (Competition) จากงานวิจัยพบว่าลำไส้ส่วน Ileum ของกลุ่มโพรไบโอติกที่อายุ 49 วัน มีปริมาณแลคโตบาซิลลัสเพิ่มขึ้นจากอายุ 28 วัน ขณะที่ปริมาณแบคทีเรียชนิดอื่นมีปริมาณใกล้เคียงกัน ระหว่าง 2 ช่วงอายุ มีผลให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ส่วน Ileum และ Cecum มากกว่ากลุ่มควบคุม และในลำไส้ส่วน Duodenum และ Jejunum ปริมาณแลคโตบาซิลลัสในกลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณใกล้เคียงกัน (7-8 log CFU/g) สอดคล้องกับ Pollman และคณะ (1980) ที่พบว่าการเลี้ยงไก่แบบปกติ ลำไส้ส่วน Ileum และ Cecum มีปริมาณแลคโตบาซิลลัส (8.27, 10.69 log CFU/g) มากกว่าลำไส้ส่วน Duodenum และ Jejunum (7.95, 7.10 $\log_{10}$ CFU/g)

ดังนั้นโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสที่เสริมให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกอย่างต่อเนื่องจึงมีกลไกการทำงานแบบ Competition-Exclusion และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของไก่ ทำให้ไก่กลุ่มที่เสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสสามารถปรับตัวให้ผล PI, ADG น้ำหนักตัว อัตราการแลกเนื้อ และสุขภาพไก่ดีกว่ากลุ่มควบคุม รวมทั้งมีอัตราการตายน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งที่ในช่วงสัปดาห์ที่ 1-3 ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีการเจริญต่ำกว่าไก่กลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับ Verma และ Aggarwal (1996) ที่ได้ทำการผสมยีสต์ที่มีชีวิตในปริมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ลงในน้ำดื่มให้ไก่กิน ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเพิ่มขึ้น และจากรายงานของบุญเรียม (2544)ได้ทำการเสริม *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus* KUL2 ซึ่งอยู่ในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียให้ไก่กิน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่น้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม Arend และคณะ (1983) ได้ศึกษาการเสริม *Lactobacillus acidophilus* แก่ไก่กระทงผ่านทางน้ำดื่มให้ไก่กิน 2 x10^8 CFU/ตัว ขนาดการเลี้ยง 11,000 ตัว ระยะเวลาการให้ 52 วัน พบว่าน้ำหนักไก่กลุ่มทดลองมากกว่ากลุ่มควบคุม 2 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น 0.0625 หน่วย Atherton และ Robins (1987) ทดลองใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ

Lactobacillus acidophilus และ *Streptococcus faecium* เพื่อศึกษาผลการเสริมประสิทธิภาพไก่ โดยเลี้ยงไก่เป็นเวลา 21 วัน พบว่าการเจริญและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น

การทดลองเพื่อประเมินประสิทธิภาพโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสครั้งที่ 2 เป็นการทดลองในฟาร์มทดลองระดับกลาง โดยใช้สถานที่แตกต่างจากการทดลองแรก เป็นฟาร์มระบบปิดแบบ Evaporative Cooling System เหมือนกัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุมที่ให้ดื่มน้ำปกติ และกลุ่มโพรไบโอติกที่ให้ดื่มน้ำผสมโพรไบโอติก มีการควบคุมระดับคลอรีนในน้ำให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ทำให้แลคโตบาซิลลัสสามารถรอดชีวิตในน้ำที่ใช้เป็นสื่อในการเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสตลอดช่วงอายุของการเลี้ยงไก่ และพบการปนเปื้อนจากแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์มในอาหารไก่ทั้ง 2 กลุ่มตลอดการเลี้ยง

ผลการประเมินโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพบว่า สัปดาห์ที่ 1และ 2 ปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม ซัลโมเนลลา ในมูลไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณใกล้เคียงกัน โดยซัลโมเนลลากลุ่มที่ตรวจพบในมูลไก่ทั้ง 2 กลุ่มเหมือนกันคือ ซัลโมเนลลากลุ่ม A-67, C, E แต่พบว่าปริมาณแลคโตบาซิลลัสในมูลไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุม 0.2-0.3 log CFU/g (รูปที่ 18 ง) เมื่อพิจารณาผลการผ่าซากที่อายุ 14 วัน พบว่ากลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ส่วน Jejunum Ileum Cecum มากกว่ากลุ่มควบคุม และมีปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม จากผลการทดลองนี้แสดงว่าการเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสมีผลต่อการเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสที่เข้ายึดเกาะผนังลำไส้ทั้ง 3 ส่วน และลดโอกาสในการยึดเกาะจากแบคทีเรียรวม *E.coli* และโคลิฟอร์ม ด้วยกลไกการทำงานแบบ Competition ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองแรกในระดับพาณิชย์ ที่พบว่าโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสมีกลไกการทำงานแบบ Competition-Exclusion มีผลเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ส่วน Cecum และ Ileum มากกว่ากลุ่มควบคุม และการทดลองครั้งที่ 2 นี้การเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสอย่างต่อเนื่องให้ไก่ตั้งแต่แรกเกิด มีผลเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ส่วน Jejunum ด้วย แต่พบว่าไม่มีผลต่อลำไส้ส่วน Duodenum แม้ว่าภาวะความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ทั้ง 2 ส่วนจะใกล้เคียงกันก็ตาม (5.80-5.90, 5.70-6.00 ตามลำดับ) ซึ่งอาจเนื่องมาจากความจำเพาะของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสต่อลำไส้ส่วน Duodenum น้อยกว่าลำไส้ส่วนอื่น สอดคล้องกับ Barrow และคณะ (1980) Jin และคณะ (1996) ที่กล่าวว่าแบคทีเรียที่แยกจากตำแหน่งของทางเดินอาหารต่างกัน มีผลต่อความสามารถในการยึดเกาะผนังเซลล์ทางเดินอาหารต่างกัน

ในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ปริมาณ *E.coli* และโคลิฟอร์ม ในมูลไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ทั้งที่ในสัปดาห์ที่ 4 กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งอาจมีผลมาจากไก่กลุ่มโพรไบโอติกได้รับ *E.coli* และ โคลิฟอร์มปนเปื้อนมากับน้ำ ส่วนปริมาณซัลโมเนลลาในมูลไก่ทั้ง 2 กลุ่มมีปริมาณใกล้เคียงกัน จากผลการผ่าซากที่อายุ 28 และ 49 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* และโคลิฟอร์ม ในลำไส้ไก่ 2 กลุ่มแตกต่างสูงสุดที่อายุ 14 วัน และมี

ปริมาณใกล้เคียงกันที่ 28 และ 49 วัน แต่พบว่าในไก่ทั้ง 2 กลุ่ม ปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม ในลำไส้ทุกส่วนมีปริมาณต่ำกว่าที่อายุ 14 วัน แต่ปริมาณแลคโตบาซิลลัสกลับพบว่ามีปริมาณต่ำสุดที่อายุ 14 วัน โดยกลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุม สอดคล้องกับผลการทดลอง ฐิติพงษ์ (2539) ที่พบว่าไก่กลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุมมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้เพิ่มขึ้นตามอายุ และกลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้สูงกว่ากลุ่มควบคุม และจากการทดลองครั้งที่ 2 นี้พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ในลำไส้กลุ่มโพรไบโอติกมีความสม่ำเสมอตลอดทั้ง 3 ช่วงอายุที่ทำการผ่าซาก ขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณการเพิ่มขึ้น และลดลงของแบคทีเรียมากกว่า แสดงให้เห็นว่าการเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสให้ไก่มีผลปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร ซึ่งตรงกับคุณสมบัติที่ดีของโพรไบโอติก (Gilliland, 1979; Fuller, 1989; Nousiainen และ Setela, 1992)

จากการศึกษาภาวะภูมิคุ้มกันต่อซัลโมเนลลาจากซีรัมเลือดไก่ พบว่าจำนวนไก่กลุ่มโพรไบโอติกสร้างแอนติบอดีต่อซัลโมเนลลากลุ่ม E1 และ E4 สูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2-7 ซึ่งตรงกับคุณลักษณะที่ดีของโพรไบโอติกที่ช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน ทำให้สัตว์มีแอนติบอดีสูงขึ้น (Gilliland, 1979; Fuller, 1989; Nousiainen and Setela, 1992) สอดคล้องกับ Maassen (2000) ที่ทำการเสริม *L. Reuteri* ในไก่กระทงมีผลให้แอนติบอดีต่อซัลโมเนลลาหลังการชักนำให้เกิดโรคสูงขึ้นกว่าไก่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริม *L. Reuteri* ซึ่งจากงานวิจัยนี้การที่แอนติบอดีไตเตอร์ต่อซัลโมเนลลากลุ่ม E1 และ E4 ในซีรัมไก่ทั้ง 2 กลุ่มสูงขึ้นทั้งที่ไม่ได้ชักนำให้เกิดโรค อาจเนื่องจากไก่ทั้ง 2 กลุ่มได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากซัลโมเนลลาที่ได้รับเข้าสู่ทางเดินอาหาร ยืนยันผลการทดลองมีแนวโน้มเดียวกับผลการตรวจพบซัลโมเนลลากลุ่ม A-67, C และ E ในมูลไก่ทั้ง 2 กลุ่ม ผลการติดตามการเจริญเติบโต พบว่าไก่กลุ่มโพรไบโอติกกินอาหารเฉลี่ยต่อตัวต่อวันมากกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-5 (รูปที่ 26) และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2-6 (รูปที่ 27) มีผลให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีค่า ADG สูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2-6 (รูปที่ 25) และมีประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 (รูปที่ 24) แม้ว่าการเจริญของไก่ทั้ง 2 กลุ่ม จะแตกต่างกันน้อยมาก แต่โดยรวมแล้วกลุ่มโพรไบโอติกมีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่ สัปดาห์ที่ 2-6 สอดคล้องกับการรายงาน (Watkin และ Kratzer, 1983) ที่ทำการเสริมโพรไบโอติก *L. acidophilus* ผ่านทางน้ำดื่ม $2x10^8$ CFU/ตัว/วัน จากการเลี้ยง 7 สัปดาห์ พบว่าไก่กลุ่มทดลองให้น้ำหนักตัว และอัตราการแลกเนื้อไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกอย่างต่อเนื่อง มีผลเพิ่มปริมาณแลคโตบาซิลลัสในลำไส้ไก่ส่วน Jejunum Ileum และ Cecum ด้วยกลไกการทำงานแบบ Competition-Exclusion สอดคล้องกับผลการทดลองครั้งที่ 1 (ในระดับอุสาหกรรม) เป็นการลดโอกาสในการยึดเกาะจากแบคทีเรียชนิดอื่นที่อาจชักนำ

ให้เกิดโรค และช่วยปรับสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งเสริมภูมิต้านทานต่อซัลโมเนลลากลุ่ม E ด้วย แม้ว่าการเจริญของไก่ทั้ง 2 กลุ่ม จะแตกต่างกันน้อยมาก ซึ่งอาจเนื่องจากจำนวนไก่ที่ทำการทดลองมีจำนวนน้อยกว่าการทดลองแรกจึงให้ผลไม่ชัดเจน

5.4 การประเมินผลของ *Lactobacillus* spp. แบบผสมน้ำดื่มให้ไก่กินต่อการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Enteritidis ในไก่พันธุ์เนื้อ ระดับโรงเรือนปฏิบัติการ

การทดลองครั้งที่ 3 เป็นการทดลองในระดับโรงเรือนทดลองขนาดเล็ก ในระบบเปิด โดยการถ่ายเทอากาศแบบธรรมชาติ เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสต่อการเจริญ และการต้านทานการติดเชื้อซัลโมเนลลา โดยแบ่งไก่เป็น 4 กลุ่มการทดลองคือ กลุ่มควบคุม (C) กลุ่มโพรไบโอติก (P) กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค (C+FFS) และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค (P+FFS) โดยกลุ่มควบคุม และกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคให้ดื่มน้ำปกติ ส่วนกลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคให้ดื่มน้ำผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสตลอดการเลี้ยง 7 สัปดาห์ เมื่อไก่อายุ 14 และ 21 วัน ทำการชักนำให้เกิดโรคในไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค โดยเชื้อที่ใช้ในการชักนำให้เกิดโรคแตกต่างจากงานวิจัยที่เคยศึกษามาแล้ว (ปัญชลี, 2544) ซึ่งใช้ *Salmonella* Typhimurium แต่งานวิจัยนี้ใช้ *Salmonella* Enteritidis เนื่องจากพบว่าตั้งแต่ปี 1990 ซัลโมเนลลากลุ่มที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารโดยมีแหล่งเชื้อมากับสัตว์ปีกคือ *Salmonella* Enteritidis ซึ่งก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารแพร่หลายมากกว่า *Salmonella* Typhimurium โดยในปี 1980 และ 1995 พบว่า *S.* Enteritidis เป็นสาเหตุให้เกิดโรค Salmonellosis 8%, 25% ตามลำดับ และในปี 1998 U.S. Department of Agriculture (USDA) พบว่าเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิด Salmonellosis สูงถึง 80 % เนื่องมาจากการปนเปื้อนมากับเปลือกไข่ (Christina, 2001) ประกอบกับข้อมูลจากฝ่ายวิจัยบริษัทสหฟาร์ม แนะนำให้ใช้ *S.* Enteritidis ในการทดสอบการชักนำให้เกิดโรค เนื่องจาก *S.* Typhimurium ไม่สร้างปัญหาให้สุขภาพไก่ไทยเลยในช่วง 7-8 ปีย้อนหลัง

จากการตรวจอาหาร และน้ำดื่มไก่ ผลการตรวจอาหารพบการปนเปื้อนจากสารพิษและแบคทีเรีย โดยสารพิษที่ตรวจพบ ได้แก่ อะฟล่าท็อกซิน Fumonisin และ T-2 toxin โดยพบว่าอะฟล่าท็อกซินในอาหารเบอร์ 333 (ตารางที่ 16) มีปริมาณสูงเกินมาตรฐานกำหนด (พรบ. ควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์, 25252) และพบการปนเปื้อนจากแบคทีเรียรวม และโคลิฟอร์มตลอด 7 สัปดาห์ (รูปที่ 28) ในสัปดาห์ที่ 1 และ 6 พบการปนเปื้อนจาก *E.coli* ในการทดลองนี้น้ำดื่มไก่มาจากแหล่งน้ำบาดาล ที่ไม่ได้บำบัดด้วยคลอรีน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ น้ำปกติ และน้ำที่ผสมโพรไบโอติกจากการทดลองสามารถตรวจพบโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัส ในน้ำที่ให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค และพบการปนเปื้อนจากแบคทีเรียรวม *E.coli* และโคลิฟอร์มในปริมาณสูงกว่าน้ำปกติที่ให้ไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค

ก่อนทำการชักนำให้เกิดโรค จากการเก็บตัวอย่างมูลไก่ของทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง พบว่าปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม และซัลโมเนลลามีปริมาณใกล้เคียงกัน (รูปที่ 30 ก, ข, ค, จ) แต่แลคโตบาซิลลัสมีปริมาณแตกต่างกัน ในช่วงไก่อายุ 1-14 วัน มูลไก่กลุ่มที่ให้น้ำผสมโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสสูงกว่ากลุ่มที่ให้น้ำปกติประมาณ 2 log CFU/g (รูปที่ 30 ง) และหลังจากอายุ 21 วัน พบว่าปริมาณแลคโตบาซิลลัสในมูลไก่ของทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีปริมาณใกล้เคียงกันจนสิ้นสุดการเลี้ยง (ประมาณ 7.5-8.5 log CFU/g) โดยไก่กลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค มีความสม่ำเสมอของปริมาณแลคโตบาซิลลัสในมูลไก่ตลอด 7 สัปดาห์ ขณะที่ไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสเพิ่มขึ้นตามอายุ

ผลข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ ปัญชลี (2541) ที่พบว่าการเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสให้ไก่ตั้งแต่อายุ 1 วัน มีผลให้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 3 log CFU/g ในช่วงอายุ 10 วันแรก และมีปริมาณแตกต่างกันน้อยลงเมื่ออายุไก่มากขึ้น เนื่องจากปริมาณแลคโตบาซิลลัสในมูลไก่กลุ่มควบคุมมีปริมาณสูงขึ้นขณะที่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณคงที่ รวมทั้งพบว่าปริมาณแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณใกล้เคียงกันตลอดการเลี้ยงไก่ 30 วัน

และหลังการชักนำให้เกิดโรคพบว่าปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม แลคโตบาซิลลัส ในมูลไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีปริมาณใกล้เคียงกัน พบว่าปริมาณแลคโตบาซิลลัสในมูลไก่กลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค มีความสม่ำเสมอของปริมาณแลคโตบาซิลลัสในมูลไก่ตลอด 7 สัปดาห์ ขณะที่ไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณแลคโตบาซิลลัสเพิ่มขึ้นตามอายุ และเริ่มมีปริมาณใกล้เคียงกับกลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคที่อายุ 28 วัน ส่วนปริมาณซัลโมเนลลา พบว่าใน 2 สัปดาห์แรกหลังการชักนำให้เกิดโรค พบว่ากลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณซัลโมเนลลามากกว่ากลุ่มที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค และกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณซัลโมเนลลามากกว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่ทำการชักนำให้เกิดโรค (ประมาณ 1-3 log CFU/g) การพิสูจน์เอกลักษณ์ ซัลโมเนลลาที่คัดแยกได้จากมูลไก่แต่ละกลุ่มตามซีโรวาร์ พบว่ากลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคตรวจพบซัลโมเนลลากลุ่ม D ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกันกับที่ใช้ในการชักนำให้เกิดโรคตั้งแต่ไก่อายุ 21- 49 วัน (ตารางที่ 17) ขณะที่กลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคตรวจพบซัลโมเนลลากลุ่ม D ที่อายุ 21 วัน เท่านั้น มูลไก่กลุ่มที่ถูกชักนำให้เกิดโรคและไม่ถูกชักนำให้เกิดโรคพบซัลโมเนลลากลุ่ม A-67, E, C และตลอดการเลี้ยง 7 สัปดาห์ไม่พบซัลโมเนลลากลุ่ม D ในไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค แสดงว่าการเสริมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสมีผลป้องกันการยึดเกาะของซัลโมเนลลา และจากผลจากการผ่าซากหลังการชักนำให้เกิดโรค พบว่าในสัปดาห์ที่ 4 และ5 ปริมาณแบคทีเรียรวม

E.coli และโคลิฟอร์ม ในลำไส้ไก่กลุ่มที่ดื่มน้ำผสมโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสมีปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดชนิดสูงกว่าไก่กลุ่มที่ดื่มน้ำปกติ (รูปที่ 31 ก, ข, ค) ในสัปดาห์ที่ 6-7 พบว่าไก่ทั้ง 4 กลุ่มมีปริมาณแบคทีเรียรวม และ *E.coli* ใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 9.5-9.7 และ 9.1-9.3 log CFU/g ตามลำดับ ส่วนปริมาณโคลิฟอร์มมีปริมาณใกล้เคียงกันเฉพาะในสัปดาห์ที่ 6 แต่ในสัปดาห์ที่ 7 พบว่าไก่กลุ่มที่ถูกชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณสูงกว่าไก่กลุ่มที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค และพบว่าในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมมีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มโพรไบโอติกประมาณ 1 log CFU/g แต่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณใกล้เคียงกับกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค ส่วนปริมาณแลคโตบาซิลลัส พบว่าไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีปริมาณใกล้เคียงกัน และคงที่ตลอด 4 สัปดาห์ โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 7.7-8.6 log CFU/g (รูปที่ 31 ง) ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 5 ที่ไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณปริมาณแลคโตบาซิลลัสในต่ำกว่าไก่กลุ่มอื่นๆ ประมาณ 1.5 log CFU/g เปอร์เซ็นต์การตรวจพบซัลโมเนลลาในลำไส้ไก่ พบว่าตลอด 4 สัปดาห์ กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบมากที่สุด (100%) รองลงมาคือ ลำไส้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค (50-100%) กลุ่มควบคุม (50%) และกลุ่มโพรไบโอติก (20-25%) ตามลำดับ (รูปที่ 32) การพิสูจน์เอกลักษณ์ตามกลุ่มซีโรวาร์จากซัลโมเนลลาที่แยกได้จากลำไส้ พบซัลโมเนลลากลุ่ม D ในลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคตั้งแต่อายุ 4-7 สัปดาห์ สัปดาห์ที่ 6 ตรวจพบในไก่กลุ่มควบคุม แต่ไม่พบในไก่กลุ่มโพรไบโอติก ส่วนซัลโมเนลลากลุ่ม A-67, E ตรวจพบในไก่ทุกกลุ่ม (ตารางที่ 18) ซึ่งผลการศึกษาแบคทีเรียในทางเดินอาหารให้ผลไปในทางเดียวกับการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในมูลไก่โดยพบว่าปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม ในมูลไก่ และลำไส้ไก่ไม่มีความแตกต่างกัน ในระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติก ในภาวะการเลี้ยงไก่แบบปกติ และภาวะที่ทำการชักนำให้เกิดโรค ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่กลุ่มที่ให้น้ำผสมโพรไบโอติก ได้รับปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม มากกว่าไก่กลุ่มที่ให้น้ำปกติ เนื่องจากพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดในน้ำที่ผสมโพรไบโอติก อาจมีส่วนทำให้ไม่พบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดในมูล และในลำไส้ของไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง แต่เมื่อพิจารณาปริมาณซัลโมเนลลาในมูลไก่ และเปอร์เซ็นต์การตรวจซัลโมเนลลาในลำไส้ไก่ พบว่าไก่กลุ่มที่ให้น้ำผสมโพรไบโอติก สามารถต้านทานการติดเชื้อซัลโมเนลลาในไก่ โดยมีผลลดการเป็นพาหะของซัลโมเนลลา ด้วยกลไกการทำงานของโพรไบโอติก แบบป้องกัน

จากผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับ ปัญชลี (2541) ที่พบว่าลำไส้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณซัลโมเนลลาใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคในช่วง 1-2 สัปดาห์แรก และกลุ่มโพรไบโอติกลดลงในสัปดาห์ที่ 3 ขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณคงที่

จากการตรวจเลือดไก่เพื่อศึกษาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะจากจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว และแจงนับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil และ Lymphocyte โดยปริมาณเซลล์

เม็ดเลือดขาวทั้ง 2 ชนิดแปรผกผันกัน ซึ่งปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวบ่งถึงภูมิต้านทานต่อการติดเชื้อจากแบคทีเรีย และพาราสิต โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil เป็นเม็ดเลือดขาวที่ถือว่าเป็นด่านแรกในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมแบบ phagocytosis โดยไม่ต้องอาศัยแอนติเจนในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันก่อน ส่วน Lymphocyte เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ต้องอาศัยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันก่อน ซึ่งการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนี้ค่อนข้างจำเพาะต่อแอนติเจน (Owen, 2002) สำหรับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นนั้นเป็นตัวบ่งถึงความสมบูรณ์ร่างกายของไก่ การลดลงของปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอาจเกิดจากการขาดสารอาหาร หรือการติดเชื้อจากแบคทีเรีย และพาราสิต ส่วนภาวะที่ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงขึ้นอาจเนื่องมาจากการขาดน้ำ การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน testosterone หรือภาวะได้รับออกซิเจนสูงขึ้นอันเนื่องมาจากกิจกรรม (Owen, 2002) จากงานวิจัยในช่วงไก่อายุ 1-14 วัน ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบกันเฉพาะ 2 กลุ่มการทดลองคือ ไก่กลุ่มโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุม โดยพบว่าไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีจำนวนเม็ดเลือดขาวมากกว่ากลุ่มควบคุม ที่ไก่อายุ 1 วันเท่านั้น ขณะที่เซลล์เม็ดเลือดชนิดอื่นๆ รวมทั้งปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าในช่วงไก่อายุน้อย และในภาวะที่ไก่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค การเสริมโพรไบโอติกไม่มีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในเลือดไก่ เมื่อทำการชักนำให้เกิดโรคในไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติก ที่อายุ 14 และ 21 วัน จึงแบ่งไก่เป็น 4 กลุ่มการทดลองตั้งแต่ไก่มีอายุ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างไก่ที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรคด้วยกัน พบว่าที่ไก่อายุ 21-49 วัน ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาณเม็ดเลือดขาว และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil มีค่าไม่แตกต่างจนถึงมากกว่าไก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งที่อายุ 21-35 วัน เป็นช่วงที่ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีค่าเซลล์เม็ดแดงอัดแน่นมากกว่าไก่กลุ่มควบคุม และมากกว่าค่าปกติที่ได้ทำการศึกษาจากข้อมูลพื้นฐานของไก่ที่มีค่าประมาณ 20% และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil มากกว่าไก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทั้งที่ไก่กลุ่มโพรไบโอติกมีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบซัลโมเนลลาน้อยกว่า และมีปริมาณแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์มในลำไส้ใกล้เคียงกับควบคุม เมื่อเปรียบเทียบไก่ในภาวะที่มีการชักนำให้เกิดโรคระหว่างกลุ่มที่เสริมโพรไบโอติก และกลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3-7 พบว่าปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งที่มีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบซัลโมเนลลาในตัวอย่างลำไส้ไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค มากกว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค โดยพบซัลโมเนลลากลุ่ม D ซึ่งใช้ในการชักนำให้เกิดโรคในไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมากกว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรค และเมื่อพิจารณาแบคทีเรียรวม *E.coli* โคลิฟอร์ม ในลำไส้พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าการเสริมโพรไบโอติกให้ไก่ในภาวะที่มีการชักนำให้เกิดโรคมีผลลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ลง แต่การได้รับโพรไบโอติกมีผลให้ไก่มีระดับภูมิต้านทานแบบไม่จำเพาะเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างจากไก่กลุ่มควบคุมที่ถูกชักนำให้เกิดโรคเหมือนกัน และเมื่อพิจารณาระหว่างไก่กลุ่มควบคุม และ

กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคพบว่าไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงกว่าไก่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ชักนำให้เกิดโรค ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การตรวจพบซัลโมเนลลาในลำไส้ไก่กลุ่มที่ชักนำให้เกิดโรคมีการตรวจพบสูงกว่า แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของเซลล์เม็ดเลือดดังกล่าวมีผลจากการติดเชื้อในลำไส้ ซึ่งสอดคล้องกับ Owen และคณะ (2002) ที่พบว่าการติดเชื้อจากแบคทีเรียมีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น และ Heterophil ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวด่านแรกที่ทำหน้าที่ทำลายสิ่งแปลกปลอม รวมทั้งซัลโมเนลลา มีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย (Kogut, 2002) ขณะที่กลุ่มโพรไบติกที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณเม็ดเลือดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มโพรไบโอติกที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค ทั้งที่เปอร์เซ็นต์การตรวจพบซัลโมเนลลาในลำไส้ไก่กลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคมีค่ามากกว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่ไม่ได้ชักนำให้เกิดโรค แสดงว่าการชักนำให้เกิดโรคไม่มีผลกระตุ้นภูมิต้านทานแบบไม่จำเพาะในไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคและกลุ่มโพรไบโอติกที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค พบว่ามีปริมาณเม็ดเลือดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งที่ไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบซัลโมเนลลาในลำไส้มากกว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค แสดงว่าการเสริมโพรไบโอติกมีผลกระตุ้นภูมิต้านแบบไม่จำเพาะให้ไก่โดยไม่ต้องอาศัยการชักนำให้เกิดโรคก่อน จากการศึกษาโดยรวมพบว่าการเสริมโพรไบโอติกให้ไก่มีผลกระตุ้นภูมิต้านแบบไม่จำเพาะในระบบเลือด รวมทั้งช่วยลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ลง มีผลลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอันเนื่องมาจากการติดเชื้อ สอดคล้องกับการรายงานของ Fuller (1992) ที่พบว่าการเสริมแลคติกแอซิดแบคทีเรียในหนูโดยการป้อนปากมีผลกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดยที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหาร และDunham (1993) พบว่าการเสริม *L. Reuteri* ให้ไก่มีผลเสริมการทำงานของ T-cell และเพิ่มการผลิตแอนติบอดี IgM

และจากการศึกษาภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล (ND) อันมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส โดยปกติการป้องกัน และควบคุมโรคจะใช้วัคซีนเสริมให้ไก่ (Alexander, 1997) ซึ่งการประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนเพื่อป้องกันโรค ND มักทำโดยตรวจภูมิคุ้มกัน HI แอนติบอดีในกระแสเลือด จากงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาถึงผลของโพรไบโอติกต่อการเสริมคุ้มกันต่อโรค ND ด้วย ซึ่งพบว่าตั้งแต่ไก่อายุ 1-21 วัน ระดับ HI ของไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองค่อย ๆ ลดลง และลดลงต่ำสุดที่อายุ 28 วัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของวิษณุ (2544) ที่ศึกษาระดับ HI แอนติบอดีในไก่เนื้อพบว่าลดลงระดับต่ำสุดที่อายุ 28 วัน เช่นกัน เนื่องจากการลดลงของระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ แต่หลังการชักนำให้เกิดโรคที่อายุ 14 และ 21 วัน และขณะเดียวกันไก่ทุกกลุ่มได้รับการเสริมวัคซีน ND ที่อายุ 28 วัน พบว่าที่อายุ 28-49 วัน ไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคมีระดับ HI ค่อนข้างคงที่ซึ่งให้ผลคล้ายกับงานวิจัยวิษณุ (2544) ที่ไก่กลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับการเสริมวัคซีนจะมีระดับ HI คงที่ตั้งแต่อายุ 35-49 วัน ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการที่ไก่

ได้รับการชักนำให้ไก่เกิดโรคด้วยเชื้อ *Salmonella* Enteritidis เข้าสู่ทางเดินอาหารมีผลให้การใช้วัคซีนรวมกับการเสริมโพรไบโอติกไม่สามารถเสริมภูมิคุ้มกันต่อโรค NDได้ ซึ่งแตกต่างจากไก่กลุ่มโพรไบโอติกที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรคซึ่งได้รับวัคซีนร่วมด้วย พบว่ามีระดับ HI เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับวัคซีนอย่างเดียวตลอดตั้งแต่ 28-49 วัน ซึ่งมีค่ามากที่สุดที่อายุ 42 วัน และลดลงเล็กน้อยที่ไก่อายุ 49 วัน ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับการเสริมวัคซีนในไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน ที่ระดับภูมิคุ้มกันสูงสุดที่ 49 วัน (วิษณุ, 2544)

จากงานวิจัยนี้พบว่าการเสริมโพรไบโอติกให้ไก่ตั้งแต่แรกเกิดมีผลต้านทานการติดเชื้อซัลโมเนลลา รวมทั้งปรับสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งกระตุ้นภูมิต้านทานแบบไม่จำเพาะในกระแสเลือด และการเสริมโพรไบโอติกร่วมกับการให้วัคซีนมีผลให้ไก่มีภูมิคุ้มกันต่อโรค ND มากกว่าการให้วัคซีนเพียงอย่างเดียว และจากการติดตามการเจริญของไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองพบว่า ตลอดการเลี้ยงอัตราการแลกเนื้อของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันมีแนวโน้วเพิ่มขึ้นในทุกสัปดาห์ แต่หลังการชักนำให้เกิดโรคที่อายุ 14 และ 21 วัน กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรค และกลุ่มโพรไบโอติกที่ชักนำให้เกิดโรคมีค่า ADG ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ถูกชักนำให้เกิดโรค และยังพบว่าการชักนำให้เกิดโรคมีผลให้ไก่กลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีอัตราการตายสะสมสูงกว่ากลุ่มโพรไบโอติกที่ทำการชักนำให้ เกิดโรค ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ Quintero และคณะ (1998) ที่ทดสอบการเสริมโพรไบโอติกซึ่งประกอบด้วย *B. subtilis, B. bifidum, L. acidophilus* และ *L. lactis* ให้ไก่กระทง พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นการอยู่รอดพบว่าไก่ที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการที่ไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมโพรไบโอติกให้ผลการเจริญไม่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากอิทธิพลจากมีปัจจัยภายนอกมีผลต่อการเจริญร่วมด้วย ซึ่งการเจริญของไก่มีปัจจัยหลายอย่างเกี่ยวข้องทั้งจากสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยง องค์ประกอบของอาหาร แบคทีเรียในทางเดินอาหาร และสุขภาพพื้นฐานของไก่เอง (Hermann, 2002) ซึ่งการทดลองนี้เป็นโรงเรือนระบบเปิดไม่มีการป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม ระบบการบำบัดน้ำมีคุณภาพต่ำกว่าการทดลอง 2 ครั้งแรก ซึ่งอาจมีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่ไก่ได้รับ รวมทั้งการเลี้ยงไก่ในระบบเปิดให้อัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดชีวิตของไก่ต่ำกว่าการเลี้ยงในระบบปิด (นพพร, 2547)