การศึกษาประสิทธิภาพของสารเสริมชีวนะ (*Bacillus subtilis*) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ

Study of the inhibitory efficiency of probiotic (*Bacillus subtilis*) on intestinal pathogenic bacteria and affecting on productive performances of broilers

สุชาติ สงวนพันธุ์[1], ภคอร อัครมธุรากุล[1] และ นวลจันทร์ พารักษา[1*]

Suchart Saguanpan[1], Pakaorn Ak-karamathurakul[1] and Nuanchan Paraksa[1*]

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารเสริมชีวนะชนิด *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) ใช้ไก่เนื้ออายุ 1 วันจำนวน 200 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว ให้ได้รับอาหารควบคุมที่ใช้ข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นหลักและเสริมสารเสริมชีวนะในอัตรา 0 และ $1x10^8$ CFU/กก.อาหาร ตามลำดับ เป็นเวลา 42 วัน สุ่มไก่ที่อายุ 10, 14, 35 และ 42 วัน ซ้ำละ 2 ตัว เพื่อเก็บของเหลวจากไส้ติ่งสำหรับการตรวจนับจุลินทรีย์ ผลพบว่าสารเสริมชีวนะ สามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ โดยพบจำนวนเชื้อ *Bacillus* sp. เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีผลทำให้จำนวนเชื้อ *E. coli* ในของเหลวจากไส้ติ่งลดลงและช่วยให้จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติคเพิ่มขึ้น จากนั้นทำการศึกษาผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อในการทดลองที่ 2 ภายใต้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ลูกไก่เนื้ออายุ 1 วันจำนวน 810 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 9 ซ้ำๆ ละ 30 ตัว สุ่มไก่แต่ละซ้ำให้ได้รับอาหารควบคุม, อาหารควบคุมเสริมสารปฏิชีวนะฟลาโวมัยซินในระดับ 5 มก./กก.อาหาร และอาหารควบคุมเสริม *Bacillus subtilis* ที่ระดับ $1x10^8$ CFU/กก.อาหาร ตามลำดับ ทำการเลี้ยงไก่เป็นเวลา 42 วัน เพื่อวัดสมรรถภาพการผลิตในแต่ละช่วงอายุ (1-10, 11-23, 24-35 และ 36-42 วัน) ผลพบว่าการเสริมเชื้อ *Bacilllus subtilis* ช่วยให้สมรรถภาพการผลิตทั้งการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่เนื้อดีขึ้นเทียบเท่ากับการใช้สารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงระยะเล็กและระยะขุน

คำสำคัญ: สารเสริมชีวนะ, *Bacillus subtilis*, สมรรถภาพการผลิต, ไก่เนื้อ

ABSTRACT: Two hundred one-day old broilers were used to study the inhibitory efficacy of *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) as probiotic on intestinal pathogenic bacteria. Animals were divided into two groups with ten replicates of ten birds per each and were randomly fed the corn-soybean meal based diets supplemented with 0 and $1x10^8$ CFU/kg of *Bacilllus subtilis* for 42 days. Caecal digesta were collected from two animals per each replicate for bacterial enumeration at 10, 14, 35 and 42 day of age (DOA). The supplemented probiotic could proliferate in the intestinal tract of broiler by the significantly increasing of the *Bacillus* sp. population in caecal digesta. Furthermore, supplementation of B. *subtilis* promoted lactic acid bacteria propagation and the population of *Escherichia coli* was decreased in

[1] ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Kasetsart University, Nakonpathom, 73140

* Corresponding author: agrnupa@ku.ac.th

consequence. Therefore, B. *subtilis* can be survived during the pelleting process and can inhibit the pathogenic bacteria through promoting the growth of beneficial microbes. Additionally, the effect on productive performances of broilers was also assessed under completely randomized design. Eight hundred and ten one-day old male broilers (Ross 308) were divided into three groups with nine replicates, which consisted of thirty broilers per each. Each replicate was randomly assigned to feed one of these experimental diets for 42 days: control diet without feed additives supplementation, control diets supplemented with 5 ppm.flavophopholipol and $1x10^8$ CFU/kg. *Bacilllus subtilis* (Biogut BS®), respectively. Productive performances of broiler in term of growth rate as well as feed conversion ratio were evaluated in each period of growth (1-10, 11-23, 24-35 and 36-42 day of age). Dietary supplementation of *B. subtilis* improved growth rate and feed conversion ratio of broiler and provided the same response as antibiotic as growth promoter, especially in the starter and finisher periods.
Keywords: Probiotic, *Bacillus subtilis*, Productive performance, Broiler

บทนำ

การจำกัดการใช้สารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโตก่อให้เกิดความเสียหายในการผลิตสัตว์เศรษฐกิจเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตไก่เนื้อ ซึ่งมีระบบการผลิตแบบหนาแน่น ทำให้สัตว์เกิดภาวะเครียดมากขึ้น ส่งผลเสียต่อสุขภาพของสัตว์โดยตรง ด้วยเหตุนี้จึงได้มีความพยายามในการใช้สารเสริมสุขภาพชนิดต่างๆ เพื่อลดความสูญเสียที่เกิดขึ้น โปรไบโอติค (probiotics) หรือสารเสริมชีวนะ เป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างมากเนื่องจากสามารถช่วยส่งเสริมสุขภาพของสัตว์ได้ (Brown, 2011) ซึ่งสารเสริมชีวนะเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายของคนและสัตว์ด้วยการช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Fuller, 1989) อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นสารเสริมชีวนะมีหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการทำงานแตกต่างกันขึ้นกับความสามารถในการรอดชีวิตจากความร้อนในกระบวนการผลิตอาหาร การทนต่อสภาวะกรดในกระเพาะอาหารของสัตว์ ตลอดจนความสามารถในการเจริญและเพิ่มจำนวนภายในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ชนิดนั้นๆ (Brown, 2011) ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp. กำลังได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นสารเสริมชีวนะทั้งในคนและสัตว์ (Cutting, 2011) เนื่องจากสามารถสร้างสปอร์ได้ (Ohashi and Ushida, 2009) ทำให้สามารถทนทานต่อความร้อนในกระบวนการผลิตอาหาร (Cutting, 2011) และทนกรดในกระเพาะอาหารของสัตว์ได้ (Barbosa et al., 2005) ทำให้สามารถมีชีวิตรอดและเจริญในระบบทางเดินอาหารส่วนปลายของสัตว์ได้ดี อีกทั้งสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทั้งกลุ่ม Lactic acid bacteria และ Bifidobacterium จึงสามารถช่วยควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคได้ (Hosoi et al., 2000) ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการคัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์ของ *Bacillus* sp. เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นสารเสริมชีวนะที่ดีได้ รวมทั้ง *Bacillus subtilis* การทดลองนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นสารเสริมชีวนะของเชื้อ *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) ด้วยการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ตลอดจนผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ

วิธีการศึกษา

การศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารเสริมชีวนะของเชื้อ *Bacillus subtilis* ใช้ไก่เนื้อ (Ross308) เพศผู้ จำนวน 200 ตัว แบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว ทำการสุ่มไก่แต่ละซ้ำให้ได้รับอาหารทดลองที่มีการเสริมสารเสริมชีวนะที่ระดับ 0 และ $1x10^8$CFU/กก.อาหาร ตามลำดับ เป็นเวลา 42 วัน จากนั้นทำการสุ่มไก่ซ้ำละ 2 ตัวที่อายุ 10, 14, 35 และ 42 วัน เพื่อเก็บของเหลวจากไส้ติ่งสำหรับการตรวจนับจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรค อาทิ *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp. (Rambach, 1990) และ *Escherichia coli* (Morsea, et al., 1956) รวมทั้งจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์เช่น จุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดแลคติค (lactic acid bacteria) และ *Bacillus* sp. (Renata, et al., 2004)

การศึกษาผลการเสริมสารเสริมชีวนะในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อเปรียบเทียบกับการเสริมสารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโตในการทดลองที่ 2 โดยใช้ไก่เนื้อ (Ross 308) อายุ 1 วันเพศผู้ จำนวน 810 ตัว แบ่งไก่ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 9 ซ้ำๆ ละ 30 ตัว ภายใต้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) สุ่มไก่แต่ละซ้ำให้ได้รับอาหารทดลองดังนี้ อาหารควบคุม อาหารควบคุมเสริมปฏิชีวนะฟลาโวมัยซินในระดับ 5 มก./กก.อาหาร และเสริม *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) ในอัตรา $1x10^8$CFU/กก.อาหาร ตามลำดับ อาหารควบคุมประกอบด้วยข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นหลัก และมีการคำนวณให้มีสารอาหารเพียงพอกับความต้องการของไก่เนื้อสายพันธุ์ Ross 308 ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต (1-10, 11-23, 24-42 วัน) (Ross 308 Broiler: Nutrition Specifications, 2014) ดังแสดงใน **Table 1** อาหารทดลองทุกสูตรผ่านกระบวนการอัดเม็ดภายใต้อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส สารเสริมชีวนะที่ใช้ในการทดลองเป็นเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus subtilis* โดยมีการพัฒนาให้อยู่ในรูปผงสำหรับผสมอาหาร ภายใต้ชื่อการค้า Biogut-BS® ของบริษัทสมาร์ทเวทกรุ๊ป

เลี้ยงไก่แต่ละซ้ำรวมกันในคอกที่ใช้แกลบเป็นวัสดุรองพื้นภายในโรงเรือนที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นด้วยระบบระเหยไอน้ำ โดยใช้ความหนาแน่น 10 ตัว/ตารางเมตร การให้อาหารและน้ำเป็นแบบเต็มที่ ไก่ได้รับวัคซีนตามโปรแกรมการจัดการฟาร์มไก่เนื้อ ทำการเก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้น ที่อายุ 10, 23, 35 และ 42 วัน เพื่อใช้ในการคำนวณสมรรถภาพการผลิตในแต่ละช่วงระยะการเจริญเติบโต

Table 1 Feed compositions and calculated nutrient components of control diet for each stage of growth

Feed ingredients	Stage of growth (day)		
	1-10	11-23	24-42
Corn (7.8% crude protein: CP)	54.24	56.88	61.00
Dehulled soybean meal (48.4% CP)	37.74	34.48	29.77
Soybean oil	2.94	4.07	5.00
Monodicalcium phosphate (21%P)	2.26	2.02	1.81
Calcium carbonate (36.4%Ca)	1.11	1.01	0.93
NaCl	0.31	0.31	0.31
Sodium bicarbonate	0.09	0.09	0.10
Choline chloride 60%	0.07	0.07	0.07
DL-methionine	0.33	0.27	0.25
L-Lysine-HCl	0.23	0.16	0.16
L- Threonine	0.14	0.08	0.05
Vitamin-mineral premix	0.20	0.20	0.20
Pellet binder	0.30	0.30	0.30
Sacox (Salinomycin 12%)	0.05	0.05	0.05
Total	100	100	100
Calculated nutrient components (%)			
Metabolizable energy (cal/g)	3000	3100	3200
Crude protein	23.0	21.5	19.5
Ether extract	5.48	6.65	7.65
Crude fiber	2.67	2.60	2.50
Calcium	0.96	0.87	0.79
Total phosphorus	0.87	0.80	0.74
Available phosphorus	0.48	0.435	0.395
Lysine	1.43	1.29	1.15
Methionine	0.67	0.60	0.55
Threonine	1.00	0.90	0.79
Tryptophan	0.26	0.24	0.22

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้วิธี Analysis of variance (จรัญ, 2534) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Duncan, 1955)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) ในการเป็นสารเสริมชีวนะ โดยการตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคในของเหลวจากไส้ติ่งของไก่เนื้อที่อายุต่างกัน จะเห็นได้ว่าการเสริมเชื้อ *Bacillus subtilis* ส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อายุ 35 วัน ($p<0.05$) ดังแสดงใน **Table 2** อย่างไรก็ตาม ไม่พบเชื้อ *Salmonella* sp. และ *Clostridium perfringens* ในของเหลวจากไส้ติ่งของไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่มทดลอง ทั้งนี้อาจเกิดจากโรงเรือนที่ใช้ในการทดลองได้มีการทำความสะอาดอย่างดี อีกทั้งอาหารที่ใช้ไม่มีส่วนประกอบของวัตถุดิบจากสัตว์และผ่านความร้อนในกระบวนการอัดเม็ดทำให้ไก่มีโอกาสได้รับเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Salmonella* sp. และ *Clostridium perfringens* ได้น้อย

Table 2 Effect of dietary probiotic *(Bacillus subtilis*) supplementation on the population of *E. coli* ($\log_{10}$ CFU/g. digesta) in caecal digesta of broilers

Stage of growth	Population of *E. coli* ($\log_{10}$ CFU/g.digesta)	
	Control	*Bacillus subtilis*
day 10	7.81±0.69	7.24±1.10
day 24	7.38±0.77	7.29±0.58
day 35	7.15^{a}±0.73	6.54^{b}±0.604
day 42	6.27±0.67	6.16±0.52

^{a,b} within a row means without a common superscript letter differ ($P< 0.05$)

เชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ที่นิยมนำมาใช้เป็นสารเสริมชีวนะ (Brown, 2011) สามารถช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคชนิดต่างๆ อาทิ *Salmonella* spp. และ *Clostridium* spp. (Ragione and Woodward, 2003) ส่งผลดีต่อสุขภาพของสัตว์ (Fuller, 1989) โดยมีกลไกการทำงานคือเมื่อเชื้อได้รับออกซิเจนในระบบทางเดินอาหารจะผลิตสารคล้ายเอนไซม์(enzyme like substances) หลายชนิด อาทิ subtilisin และ catalase ซึ่งจะช่วยปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร เช่นกลุ่ม Lactobacilli ทำให้แบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวสามารถเจริญและเกาะกับผนังเยื่อบุลำไส้ได้มากขึ้น ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคเกาะกับเยื่อบุลำไส้ได้ลดลง จึงขาดอาหารและตายในที่สุด (Hosoi et al., 2000) ซึ่งยืนยันโดยผลการตรวจนับจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria ในของเหลวจากไส้ติ่งของไก่เนื้อจากทั้งสองกลุ่มทดลองพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับ *Bacillus subtilis* มีจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria สูงกว่ากลุ่มควบคุมโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อายุ 14 วัน ($P<0.05$) ดังแสดงใน **Figure 1** นอกจากนี้ แบคทีเรียกลุ่ม Lactobacilli จะสามารถสร้างกรดแลคติคซึ่งมีผลโดยตรงต่อเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคทั้งหลาย อาทิ *E. coli*, *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens* และ *Campylobacter* sp. ทำให้จำนวนเชื้อดังกล่าวลดลง (Maruta et al., 1996)

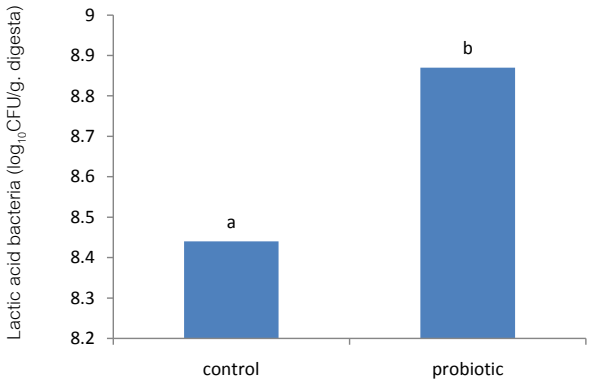

Figure 1 Population of Lactic acid bacteria in caecal digesta of broilers at 14 DOA affecting by probiotic supplementation

[a,b] means without a common superscript letter differ (P<0.05)

แม้ว่าสารเสริมชีวนะจะส่งผลดีต่อสุขภาพและการให้ผลผลิตของสัตว์ แต่จุลินทรีย์บางชนิด อาทิ *Lactobacillus* spp., Bifidobacterium ที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารเสริมชีวนะที่ดี สามารถทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหารของสัตว์ได้ (Jin et al., 1998) แต่ไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดภายหลังจากการผ่านกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ที่ใช้ความร้อน เช่น กระบวนการอัดเม็ด ซึ่งมีการผ่านความร้อนสูงถึง 90 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานในร่างกายสัตว์ลดลง (Cutting, 2011) ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus subtilis* ที่สามารถสร้างสปอร์จึงมีข้อได้เปรียบกว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มอื่นๆ เนื่องจากสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่า (Kampf, 2012) ดังนั้นจึงได้ทำการตรวจสอบความสามารถในการมีชีวิตและความสามารถในการเจริญในระบบทางเดินอาหารของเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่เสริมในอาหารที่ใช้ในการทดลองนี้ภายหลังการผ่านกระบวนการอัดเม็ด โดยการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* sp. ในของเหลวจากบริเวณไส้ติ่งของไก่เนื้อพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมเชื้อ *Bacillus subtilis* ในอาหารพบเชื้อ *Bacillus* sp. ในปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อายุ 42 วัน (P=0.0087) ดังแสดงใน **Figure 2** ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารเสริมชีวนะสายพันธุ์ดังกล่าว สามารถทนต่อความร้อนที่ระดับ 82 องศาเซลเซียส ในกระบวนการอัดเม็ดอาหาร ตลอดจนสามารถทนสภาวะกรดในกระเพาะอาหารของไก่เนื้อ และสปอร์ของเชื้อสามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อได้ สอดคล้องกับรายงานของ Cartman et al. (2008) ที่รายงานว่า สปอร์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* สามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของไก่ได้ภายใน 20 ชั่วโมง หลังการได้รับเข้าสู่ร่างกาย

การเสริมเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารเสริมชีวนะในอาหารไก่เนื้อส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ทั้งในส่วนอัตราการเจริญเติบโต (ADG) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) และอัตราการตายดังแสดงใน **Table 3** จะเห็นได้ว่า การเสริมเชื้อ *Bacillus subtilis* ในระดับ $1x10^8$ CFU/กก.อาหาร ส่งผลดีต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อในช่วงอายุ 1-10 และ 11-23 วัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (P< 0.05) ตลอดจนไก่เนื้อมีสมรรถภาพการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวเทียบเท่ากับกรณีการใช้สารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต สอดคล้องกับรายงานของ Marubashi et al. (2013) ที่ทำการเสริมเชื้อ *Bacillus subtilis* C-3102 ที่ระดับ $10x10^8$ CFU/กก.อาหาร สามารถช่วยให้การเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่เนื้อดีขึ้น 2.7 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ที่ระดับ 5×10^8 CFU/กก.อาหาร สามารถช่วยให้อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้นเท่ากับ 1.6 และ 2.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) มีประสิทธิภาพในการเป็นสารเสริมชีวนะที่ดีโดยสามารถใช้ในอัตราที่ต่ำกว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่มีการรายงานไว้

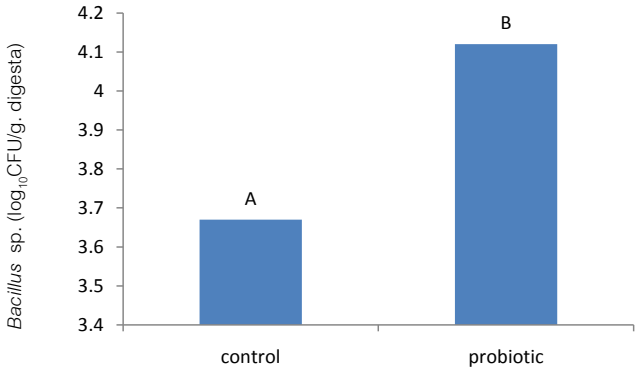

Figure 2 Population of *Bacillus* sp. in caecal digesta of broiler after probiotic feeding at 42 DOA
[A,B] means without a common superscript letter differ (P<0.01)

ทั้งนี้สารเสริมชีวนะเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์ สามารถช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ด้วยการลดจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรค ส่งผลดีต่อสุขภาพของสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสุขภาพของระบบทางเดินอาหาร (Fuller, 1989) ได้มีการรายงานกลไกการทำงานของสารเสริมชีวนะอาทิ การช่วยให้ผนังลำไส้มีความแข็งแรงขึ้น (Ng et al., 2009) การแย่งเกาะกับผนังลำไส้ ทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคขาดอาหารและตายในที่สุด (Ohashi and Ushida, 2009) และการหลั่งสารคล้ายสารปฏิชีวนะ (bacteriocins) ชนิดต่างๆ ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรค (Vila et al., 2010) นอกจากนี้ แบคทีเรียกลุ่ม Lactobacilli จะสามารถสร้างกรดแลคติคซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคทั้งหลาย อาทิ *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* และ *Campylobacter* sp. (Maruta et al., 1996) ทำให้จำนวนเชื้อดังกล่าวลดจำนวนลง ส่งผลให้เซลล์เยื่อบุลำไส้ถูกทำลายลดลง สัตว์จึงสามารถลดอัตราการสร้างเซลล์ทดแทน ทำให้มีพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับกรณีการเสริมสารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโตที่สามารถช่วยให้สมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อดีขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว โดยผ่านกลไกการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ทำให้การสร้างสารเมตาบอไลท์ที่รบกวนการเจริญเติบโตของสัตว์ลดลง (Anderson et al., 1999) ทำให้การสร้างเซลล์เยื่อบุลำไส้ทดแทนลดลง (Dibner and Richards, 2005)

การเสริมเชื้อ *Bacillus subtilis* ส่งผลเด่นชัดในช่วงระยะขุน (อายุ 36-42 วัน) โดยช่วยปรับปรุงทั้งการเจริญเติบโตและค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (P< 0.05) ดังแสดงใน **Table 3** เนื่องจากไก่มีขนาดใหญ่ น้ำหนักตัวมาก อีกทั้งในช่วงการทดลองมีสภาพอากาศค่อนข้างร้อน อุณหภูมิเฉลี่ยภายในโรงเรือนอยู่ระหว่าง 31-33 องศาเซลเซียส จึงส่งผลให้ไก่เกิดความเครียดจากสภาพอากาศร้อนได้ง่าย ซึ่งมีการรายงานว่าปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคในระบบทางเดินอาหารจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อสัตว์อยู่ในสภาวะเครียด (Tollba, 2010) ทำให้สัตว์อ่อนแอ ทั้งนี้สารเสริมชีวนะที่เสริมในอาหารสามารถช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งช่วยส่งเสริมสุขภาพของสัตว์โดยการกระตุ้นการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage) ที่ทำหน้าที่ในการทำลายสิ่งแปลกปลอมและเซลล์เพชรฆาต (natural killer cell) (Chiang et al., 2000) ส่งผลให้สัตว์มีสมรรถภาพการผลิตดีขึ้น ในขณะที่การเสริมสารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโตสามารถช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ได้เช่นเดียวกัน

การเสริมสารเสริมชีวนะส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตตลอดการเลี้ยง 42 วัน เป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยไก่เนื้อมีสมรรถภาพการผลิตดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่เสริม (P<0.05) อีกทั้งผลตอบสนองของสัตว์ไม่แตกต่างจากกรณีการใช้สารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต (**Table 4**)

Table 3 Effect of dietary probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on productive performance of broilers in each stage of growth

Productive performance	Dietary treatment			SEM
	Control	5 ppm. flavomycin	*Bacillus subtilis*	
Period 1-10 DOA				
Average daily feed intake (g.)	31.38[a]±0.52	31.08[ab]± 0.50	30.88[b]±0.40	0.505
Weight gain (g.)	290.20±5.02	291.97±6.11	290.07±4.67	5.191
Average daily gain (g/d)	29.02±0.50	29.20±0.61	29.01±0.47	0.519
Feed conversion ratio (FCR)	1.082[a]±0.02	1.065[b]±0.02	1.065[b]±0.02	0.020
Survival rate (%)	100.0[a]±0.00	99.64[ab]±1.08	98.57[b]±1.70	0.246
Period 11-23 DOA				
Average daily feed intake (g.)	111.27±0.38	109.77±2.59	111.15±1.71	0.367
Weight gain (g.)	1,062.6±39.8	1,083.1±33.6	1,095.7±33.8	7.280
Average daily gain (g/d)	81.74±3.06	83.32±2.58	84.29±2.60	0.560
Feed conversion ratio (FCR)	1.363[a]±0.05	1.318[b]±0.04	1.319[b]±0.03	0.009
Survival rate (%)	98.92±1.61	98.57±2.34	98.55±2.35	0.396
Period 24-35 DOA				
Average daily feed intake (g.)	174.97± 12.6	176.96 ±9.83	178.24± 8.00	2.040
Weight gain (g.)	1,130.1[b]±86.7	1,236.4[a]±108.6	1,184.9[ab]±85.4	20.47
Average daily gain (g/d)	94.18[b]±7.23	103.03[a]±9.05	98.74[ab]±7.12	1.706
Feed conversion ratio (FCR)	1.869±0.21	1.725±0.12	1.811±0.12	0.033
Survival rate (%)	96.69±4.41	96.71±4.95	97.79±2.89	0.778
Period 36-42 DOA				
Average daily feed intake (g.)	137.40[b]±5.24	168.01[a]±5.60	150.49[ab]±9.31	4.874
Weight gain (g.)	215.18[b]±23.8	328.14[a]±36.3	325.15[a]±36.4	21.57
Average daily gain (g/d)	30.74[b]±3.40	46.88[a]±5.19	46.45[a]±5.20	3.081
Feed conversion ratio (FCR)	4.69[b]± 0.38	3.74[a]± 0.30	3.40[a]± 0.23	0.209
Survival rate (%)	94.53 ± 1.47	97.37 ± 1.65	95.15 ± 0.96	0.796

[a,b] within a row means without a common superscript letter differ (P< 0.05)

Values are means±standard deviation; DOA = Day of age

Table 4 Effect of probiotic supplementation on productive performance of broiler in the whole period

	Treatment			SEM
	Control	5 ppm. flavomycin	*Bacillus subtilis*	
Period 1-42 DOA				
Average daily feed intake (g.)	115.59±1.66	120.22±2.74	119.73±1.78	1.264
Weight gain (g.)	2,700.63[b]±40.8	2,952.56[a]±80.2	2,937.8[a]±75.6	45.38
Average daily gain (g/d)	64.30[b]±0.97	70.30[a]±1.91	69.95[a]±1.80	1.081
Feed conversion ratio (FCR)	1.80[b]±0.03	1.712[a]±0.02	1.716[a]±0.02	0.106
Survival rate (%)	91.04±2.39	92.49±1.86	90.32±1.42	1.086

[a,b] within a row means without a common superscript letter differ (P< 0.05)

Values are means±standard deviation

สรุป

เชื้อ *Bacillus subtilis* (Biogut BS®) มีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นสารเสริมชีวนะสำหรับไก่เนื้อ โดยสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ นอกจากนี้สามารถช่วยควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารส่วนปลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *E. coli* ส่งผลให้การใช้ *Bacillus subtilis* เสริมในอาหารที่ระดับ $1x10^8$ CFU/กก.อาหารสามารถช่วยให้สมรรถภาพการผลิตทั้งการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่เนื้อดีขึ้นเทียบเท่ากับการใช้สารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะเล็กและระยะขุน

เอกสารอ้างอิง

จรัญ จันทลักขณา. 2534. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 7. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.

Anderson, D.B., V.J. McCracken, R.J. Aminov, J.M. Simpson, R.J. Mackie, M.W.A. Vestegem, and H.R. Gaskins. 1999. Gut microbiology and growth promoting antibiotics in swine. Pig News and Information. 20: 115N-122N.

Barbosa, T.M., C.R. Serra, R.M. La Ragione, M.J. Woodward, and A.O. Henriques. 2005. Screening for Bacillus isolates in the broiler gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 71: 968-978.

Brown, M. 2011. Modes of action of probiotics: Recent developments. J. Anim. Vet. Adv. 10(14): 1895-1900.

Cartman, S.T., R.M. La Ragione, and M.J. Woodward. 2008. *Bacillus subtilis* spores germinate in the chick gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 74: 5254-5258.

Chiang, B.L., Y.H. Sheih, L.H. Wang, C.K. Liao, and H.S. Gill. 2000. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacteria (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune response. Eur. J. Clin Nutr. 54: 849-855.

Cutting, S.M. 2011. Bacillus probiotics. Food Microbiol. 28: 214-220.

Dibner, J.J. and J.D. Richards. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode action. Poultry Sci. 84(4): 634-643.

Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple-F tests. J. Biometrics. 11: 1-42.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-368.

Hosoi, T., A. Ametani, K. Kiuchi, and S. Kaminogawa. 2000. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase or subtilisin. Can. J. Microbiol. 46: 892-897.

Jin, L.Z., Y.W. Ho, N. Abdullah, and S. Jalaludin. 1998. Growth performance, intestinal microbial populations and serum cholesterol of broilers fed diets containing Lactobacillus cultures. Poult. Sci. 77: 1259-1265.

Kampf, D. 2012. Probiotics in poultry nutrition. DGS-Magazin. 64(14): 25-28.

Maruta, K., H. Miyazaki, S. Masuda, M. Takahashi, T. Marubashi, Y. Tadano, and H. Takashi. 1996. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on the intestinal microflora in broilers. Anim. Feed Sci. Tech. 67(3): 273-280.

Marubashi, T., M.I. Gracia, E. Esteve-Garcia, and M. Piskoriková. 2013. The efficacy of the probiotic feed additive Calsporin® (*Bacillus subtilis* C-3102) in broilers: combined analysis of four different studies. J. Appl. Anim. Nutr. 1(e5): 1-5.

Morsea, M.L., E.M. Lederberg, and J. Lederberg. 1956. Transduction in *Escherichia coli* K.12. Genetics. 41: 142-156.

Ng, S.C., A.L. Hart, M.A. Kamm, A.J. Stagg, and S.C. Knight. 2009. Mechanisms of action of probiotics: Recent advances. Inflamm. Bowel Dis. 15: 300-310.

Ohashi, Y., and U. Ushida. 2009. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. Anim. Sci. J. 80: 361-371.

Ragione, R., and M. Woodward. 2003. Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enteric* serotype *enteritidis* and *Clostridium perfringens* in young chickens. Vet. Microbiol. 94: 245-256.

Rambach, A. 1990. New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp. and other enteric bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 56: 301-303.

Renata, B., I. Moreno, C.L. Zaganini, R.D. Roberta, and O. Josiane. 2004. Isolation bacteriocin producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. J. Microbiol. 35: 137-144.

Ross 308 Broiler: Nutrition and Specification. 2014. pp.1-10. Available: www.aviagen.com. Accessed Jan., 2016.

Tollba, A.A.H. 2010. Reduction of broilers intestinal pathogenic micro-flora under normal or stresses condition. Egypt. Poult. Sci. 30: 249-270.

Vila, B., E. Esteve-Garcia, and J. Brufau. 2010. Probiotic micro-organisms: modes of action. Worlds Poult. Sci. J. 65: 369-380.