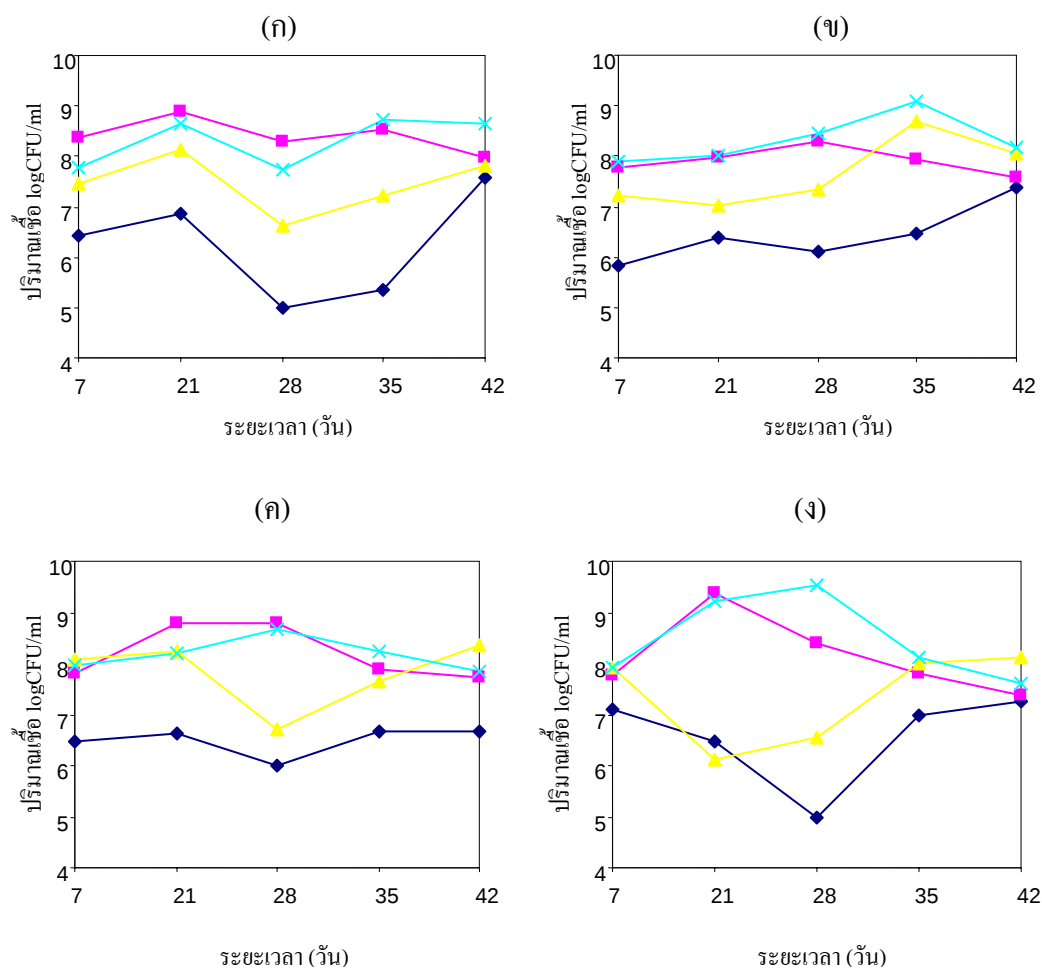


เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกและ *E. coli* เปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง ในรูปกราฟแสดงแนวโน้ม ดังภาพที่ 20 และ 21 พบว่า ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในไอเลียมช่วง 7-21 วัน กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมสายพันธุ์ *Enterococcus faecium* PR-2 และ *L. plantarum* IG-3 มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้น กลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกทางการค้า และเชื้อผสม มีปริมาณค่อนข้างคงที่ แต่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมสายพันธุ์ Rumen bacterium MG-2 และ *L. plantarum* IFS-1 มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกลดลง จากนั้นในช่วง 28-42 วัน พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกในไอเลียมของทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ สำหรับประชากรแบคทีเรียกรดแลคติกในซีกัมนี้พบว่ามีในช่วง 21-28 วัน กลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกลดลง กลุ่มที่ได้รับการเสริมเชื้อผสม และกลุ่มที่ได้รับการเสริม *L. plantarum* IFS-1 มีปริมาณค่อนข้างคงที่ แต่ในกลุ่มที่ทำ การเสริมโปรไบโอติกทางการค้า, *Enterococcus faecium* PR-2, Rumen bacterium MG-2 และ *L. plantarum* IG-3 มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ในช่วง 28-42 วัน พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกในซีกัมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริมเชื้อผสม มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ขณะที่กลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกทางการค้า, *Enterococcus faecium* PR-2, Rumen bacterium MG-2, *L. plantarum* IFS-1 และ *L. plantarum* IG-3 มีปริมาณลดลง การลดลงของแบคทีเรียกรดแลคติกอาจเกิดจากเมื่อมีการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในลำไส้เป็นเวลานาน ทำให้เกิดการสะสมของสารต่างๆที่แบคทีเรียผลิตขึ้น ซึ่งสารเหล่านี้ อาจส่งผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้

เป็นที่น่าสังเกตว่า ปริมาณ *E. coli* ในลำไส้ส่วนไอเลียมของไก่ในช่วง 21-28 วัน มีแนวโน้มลดลงทุกกลุ่ม ยกเว้นในกลุ่มที่ได้รับการเสริมสายพันธุ์ *L. plantarum* IFS-1 โดยกลุ่มที่มีแนวโน้มการลดลงของเชื้อ *E. coli* มากที่สุดคือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมสายพันธุ์ Rumen bacterium MG-2 โดยจะลดลงต่ำสุดเมื่อไก่มีอายุ 28 วัน จากนั้นในช่วง 28-42 วันพบว่ามีปริมาณเชื้อ *E. coli* ในไอเลียม ของทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะที่ช่วงเวลาเดียวกันนี้พบว่ามีปริมาณเชื้อ *E. coli* ในซีกัม มีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ สันนิษฐานว่า การที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกในส่วนไอเลียมเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้น จากนั้นกรดแลคติกเหล่านี้จะถูกกระบวนการบีบตัวของระบบทางเดินอาหารขับเคลื่อนมายังบริเวณซีกัม จึงทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่อาศัยอยู่ในบริเวณซีกัม จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* โดยรวมจะเห็นได้ว่า ในลำไส้ไก่ส่วนซีกัมมีปริมาณเชื้อ *E. coli* สูงกว่าในส่วนไอเลียมในช่วงที่ไก่มีอายุ 7-35 วัน แต่เมื่อไก่มีอายุ 42 วันพบว่ามีปริมาณเชื้อ *E. coli* ในส่วนซีกัมของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกทางการค้าและกลุ่มที่ได้รับการเสริมสายพันธุ์ Rumen bacterium MG-2

มีปริมาณลดลงจนมีค่าใกล้เคียงกับในไอลีเยม ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับการเสริม *L. plantarum* IFS-1, *L. plantarum* IG-3 และเชื้อผสม มีปริมาณ *E. coli* ในซีกัมลดลงจนมีปริมาณต่ำกว่าในไอลีเยม สำหรับกลุ่มที่ได้รับการเสริม *Enterococcus faecium* PR-2 นั้น พบว่า ในซีกัมมีปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลงเล็กน้อย แต่ยังมีปริมาณสูงกว่าในไอลีเยม

เมื่อพิจารณาผลการทดลองโดยรวมพบว่า ในช่วง 21-35 วัน แบคทีเรียกรดแลคติกในส่วนไอลีเยมของทุกกลุ่มมีปริมาณต่ำกว่าซีกัม แต่เมื่อไก่มีอายุ 42 วัน พบว่า ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในรูปเชื้อเดี่ยวทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ *Enterococcus faecium* PR-2, Rumen bacterium MG-2, *L. plantarum* IFS-1 และ *L. plantarum* IG-3 มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในส่วนไอลีเยมสูงกว่าในซีกัม สำหรับข้อมูลเหล่านี้ อาจเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่ในครั้งต่อ ๆ ไป จากผลการทดลองที่พบว่า ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก ของทุกกลุ่มการทดลอง ทั้งในส่วนไอลีเยมและซีกัม มีปริมาณสูงกว่า *E. coli* ในช่วงที่ไก่มีอายุ 28-42 วัน ในขณะที่กลุ่มควบคุมจะเกิดในช่วง 35-42 วัน นอกจากนั้นปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกและ *E. coli* ทั้งในกลุ่มที่เสริมด้วยสารปฏิชีวนะ โปรไบโอติกทางการค้า และโปรไบโอติกจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดเลือกมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ให้ผลใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำแบคทีเรียกรดแลคติกเหล่านี้มาใช้แทนการใช้สารปฏิชีวนะและโปรไบโอติกทางการค้า ในอนาคตถ้าแบคทีเรียเหล่านี้สามารถนำมาผลิตเป็นการค้าได้จะสามารถลดผลข้างเคียงจากการใช้สารปฏิชีวนะในสัตว์ และลดการนำเข้าโปรไบโอติกจากต่างประเทศ ช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยงสัตว์ได้



ภาพที่ 20 เปรียบเทียบปริมาณ *E. coli* และแบคทีเรียกรดแลกติกในชีกัมของแต่ละกลุ่ม

(ก) กลุ่มควบคุม

(ข) กลุ่มที่เสริมโปรไบโอติกทางการค้า

(ค) กลุ่มที่เสริม *Enterococcus faecium* PR-2

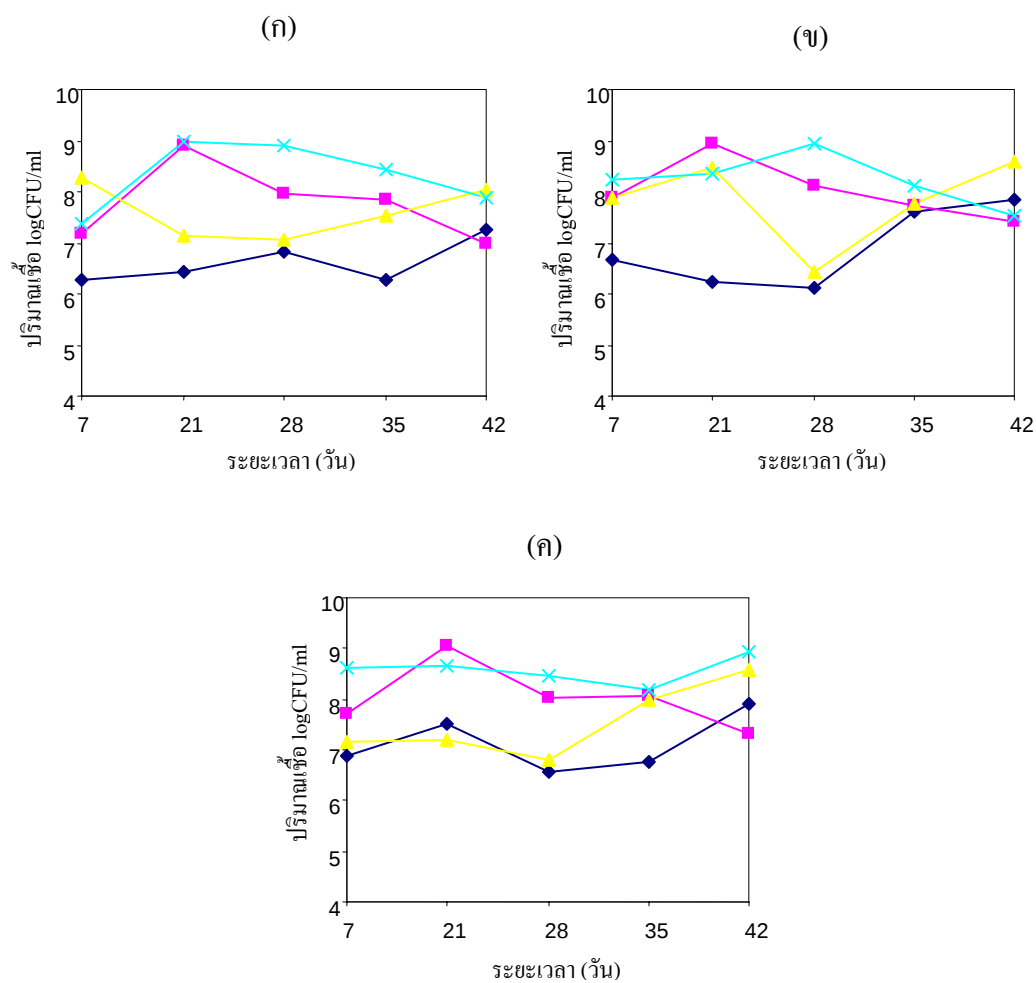
(ง) กลุ่มที่เสริม Rumen bacterium MG-2

หมายเหตุ สัญลักษณ์ : ◆ แสดงปริมาณ *E. coli* ในไอลีเยม

■ แสดงปริมาณ *E. coli* ในชีกัม

▲ แสดงปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในไอลีเยม

× แสดงปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในชีกัม



ภาพที่ 21 เปรียบเทียบปริมาณ *E.coli* และแบคทีเรียกรดแลกติกในไส้ไก่แต่ละกลุ่ม (ต่อ)

(ก) กลุ่มที่เสริม *L. plantarum* IFS-1

(ข) กลุ่มที่เสริม *L. plantarum* IG-3

(ค) กลุ่มที่เสริมเชื้อผสม (mixed culture)

หมายเหตุ สัญลักษณ์ : ◆ แสดงปริมาณ *E. coli* ในไอลิยม

■ แสดงปริมาณ *E. coli* ในซีกัม

▲ แสดงปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในไอลิยม

× แสดงปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในซีกัม

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของแบคทีเรียกรดแลกติกที่คัดเลือกได้จำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท MS-1, IG-5, IG-8, PR-2, MG-2, IFS-1 และ IG-3 พบว่า 4 ไอโซเลท คือ PR-2, MG-2, IFS-1 และ IG-3 สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ดี ซึ่งอาจเป็นผลจากกรดอินทรีย์ หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เชื้อผลิตขึ้นในกระบวนการหมัก จึงได้คัดเลือกมาทำการศึกษาต่อไป

2. เมื่อทำการจัดจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลกติกทั้ง 4 ไอโซเลท จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความสามารถในการเจริญเบื้องต้น และผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ สามารถจำแนกได้เป็นสายพันธุ์ *Enterococcus faecium* PR-2, Rumen bacterium MG-2, *Lactobacillus plantarum* IFS-1 และ *Lactobacillus plantarum* IG-3 สำหรับไอโซเลท MG-2 ซึ่งในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จำแนกได้เป็นสายพันธุ์ Rumen bacterium นั้น ต้องอาศัยการจัดจำแนกด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม เพื่อให้มีความถูกต้อง และมีความน่าเชื่อถือสำหรับการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์

3. การศึกษาสมบัติของแบคทีเรียกรดแลกติกที่คัดเลือกได้เพื่อนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในไก่ โดยการทดสอบความทนทานต่อสภาพความเป็นกรดและด่าง และทดสอบความทนทานต่อน้ำดี(bile) ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า แบคทีเรียกรดแลกติกทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถทนต่อสภาวะต่างๆ ที่ทำการทดสอบได้เพียงพอต่อการรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารของไก่ได้

4. เมื่อทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อและเปอร์เซ็นต์กรดแลกติกพบว่า สายพันธุ์ *Enterococcus faecium* PR-2 และ Rumen bacterium MG-2 มีการเจริญและผลิตกรด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30, 37, 42 และ 50 องศาเซลเซียส ใกล้เคียงกัน ในขณะที่สายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* IFS-1 และ *L. plantarum* IG-3 มีการเจริญและผลิตกรดได้น้อย เมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 42 องศาเซลเซียส สามารถเจริญและผลิตกรดได้มาก จึงทำให้ค่าพีเอชของน้ำหมักลดลงมากกว่า *Enterococcus faecium* PR-2 และ Rumen bacterium MG-2 เมื่อพิจารณาผลการทดลองโดยรวม

พบว่า อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ และผลิตรกรดของแบคทีเรีย ทั้ง 4 สายพันธุ์ จากการที่แบคทีเรียเหล่านี้สามารถเจริญ และผลิตรกรดที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิร่างกายของไก่ได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่แบคทีเรียเหล่านี้จะสามารถเจริญและผลิตรกรดได้ในร่างกายของไก่

5. ผลการเสริมโปรไบโอติกต่อปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ไก่ พบว่า การเสริมโปรไบโอติก มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกและ *E. coli* ในลำไส้ส่วนไอลีียม และซีกัมได้แตกต่างกันในแต่ละช่วงอายุการเจริญของไก่ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 42 วันพบว่า ในไก่กลุ่มที่ทำการเสริมโปรไบโอติกทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Enterococcus faecium* PR-2 Rumen bacterium MG-2 *Lactobacillus plantarum* IFS-1 และ *L. plantarum* IG-3 สามารถเพิ่มจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในลำไส้ส่วนไอลีียม และลดจำนวน *E. coli* ในลำไส้ส่วนซีกัมของไก่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการตรวจสอบความสามารถการยึดเกาะเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกก่อนที่จะนำมาใช้ในสัตว์ทดลอง เนื่องจากมีระยะเวลาที่จำกัด ดังนั้นหากเป็นไปได้ควรมีการศึกษาความสามารถในการยึดเกาะเซลล์เยื่อของอวัยวะภายในทางเดินอาหารในห้องปฏิบัติการก่อนที่จะทำการศึกษากับสัตว์ทดลอง เพื่อให้แน่ใจว่า สามารถนำมาใช้ได้ผลจริง

2. ควรมีการตรวจสอบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก ในทางเดินอาหารของไก่ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้เสริมการเจริญ และป้องกันโรคในไก่กระทาง

3. ควรมีการศึกษาผลการเสริมโปรไบโอติกต่อไก่ที่ได้รับเชื้อ *Salmonella* spp. และ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของไก่