

การใช้สมุนไพรฟ้าทะลายโจรในการผลิตไก่เพื่อการส่งออก

1. บทคัดย่อ

ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชสมุนไพรที่มีวงจรชีวิตสั้น หาได้ง่าย ราคาถูก มีการศึกษาวิจัยทดสอบฤทธิ์รักษาอาการท้องเสียและอาการเจ็บคอในคน รวมทั้งมีการทดสอบพิษเฉียบพลันในสัตว์ทดลองมาแล้ว ไม่พบอาการผิดปกติ เป็นการพิสูจน์ยืนยันความปลอดภัยได้ โครงการวิจัยนี้จึงประสงค์ที่จะพัฒนาสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะในการผลิตไก่เพื่อการส่งออก ในรูปแบบเภสัชภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับการป้องกันและรักษาโรคในไก่ให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งหากเป็นไปได้จะช่วยลดต้นทุนการผลิตและลดปัญหาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อไก่สำหรับบริโภค

การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ วัตถุตีบสมุนไพรฟ้าทะลายโจรส่วนใบและลำต้น ที่ผ่านการตรวจพิสูจน์ชนิดพืชตามหลักพฤกษศาสตร์มาตรฐาน และตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเภสัชเวทตามเกณฑ์มาตรฐาน THP1 ปริมาณ Total Lactone เฉลี่ย 7.68 – 10.41% (THP1 \geq 6.0%) ปริมาณ Ethanol soluble extractive เฉลี่ย 27.43 – 27.95% (THP1 \geq 13%) Loss on drying เฉลี่ย 6.56 – 8.17% (THP1 $<$ 11%) Acid insoluble ash เฉลี่ย 1.90 – 1.96% (THP1 \leq 2%) นำมาทำการหมักสกัดผงพืชแห้งด้วยแอลกอฮอล์ 85% พบว่าจะได้ปริมาณ สาร Andrographolide สูงสุด (14.72%) นำมาสกัดที่ไ้ระเหยภายใต้ความดันเพื่อไล่แอลกอฮอล์แล้วนำไปทำให้แห้งสนิทด้วยวิธี Freeze dry ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ Total lactone โดยวิธี Titration และหาปริมาณ Andrographolide โดย HPLC

ทดสอบหาค่า MIC ของผงแห้งสารสกัดฟ้าทะลายโจร ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในไก่ ด้วยวิธี Agar dilution โดยใช้เชื้อมาตรฐาน *S. aureus* ATCC25923 ; *E.coli* ATCC25922 และเชื้อที่แยกได้จากไก่ป่วยอีกจำนวน 35 isolates พบว่าได้ค่า MIC เท่ากับ 50 มก./มล. ซึ่งใช้เป็นหลักในการคำนวณความเข้มข้นของยาเตรียมสำหรับไก่ โดยเตรียมในสองรูปแบบคือรูปแบบอาหารผสมสารสกัดให้ได้ความเข้มข้น 2.5 และ 5% ส่วนรูปแบบที่สองเตรียมเป็นน้ำยาแขวนตะกอนที่มีความเข้มข้น 15 และ 30% โดยใช้สาร CMC เป็นตัวช่วยแขวนตะกอน ซึ่งความเข้มข้นสองระดับของทั้ง 2 รูปแบบดังกล่าวเทียบได้กับ 1 MIC และ 2 MIC ตามลำดับ ผลผลิตภัณฑ์ทั้งสองไ้ยอมรับได้ ซึ่งพบว่ารูปแบบอาหารผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรจะเหมาะสมต่อการป้องกันโรคสำหรับฟาร์มเลี้ยงไก่มากกว่า เพราะสามารถควบคุมการเตรียมให้มีความเข้มข้นของสารตามที่ต้องการ ส่วนรูปแบบน้ำยาแขวนตะกอนยังไม่เหมาะสม ขนาดยาที่ได้รับไม่ครบถ้วนสม่ำเสมอ มีรสขมและสีเขียวเข้มไม่น่าใช้

เชื้อที่ก่อโรคในไก่กระโทงที่นำมาศึกษาทดสอบ Drug Sensitivity Test พบว่าเมื่อทำการเพาะเชื้อจากซากไก่ที่ป่วยด้วยระบบทางเดินหายใจและ/หรือทางเดินอาหาร จำนวนทั้งสิ้น 210 ตัวอย่าง แยกเชื้อก่อโรคได้ 232 isolates *E.coli* เป็นเชื้อที่ตรวจพบมากที่สุด 71.9% ถัดมาได้แก่ *P.mirabilis*, *E.faecium* และ *K. pneumoniae* ตรวจพบ 15.7, 5.2 และ 3.8% ตามลำดับ ผลการทดสอบความไวของเชื้อก่อโรดังกล่าวต่อยา พบว่า *E.coli* ไวต่อยา Colistin มากที่สุด 100% รองลงมาคือ Gentamycin, Norfloxacin และ Levofloxacin คิดเป็น 93.6, 40.4 และ 36.4% ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *Enterococci* ทุกสายพันธุ์ไวต่อ Vancomycin แต่เชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยา Tetracyclin เนื่องจากค่า MIC ของสารสกัดฟ้าทะลายโจรเมื่อทดสอบกับเชื้อที่แยกได้จากไก่มีค่าสูงถึง 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้เพื่อการรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารหรือทางเดินหายใจ เว้นแต่จะต้องพัฒนาสารสกัดของฟ้าทะลายโจรให้อยู่ในรูปแบบที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น

การทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตและการป้องกันโรคในไก่กระທးงที่เลี้ยงดูแบบฟาร์มเกษตรกรรมทั่วไปทดลอง โดยวิธี Randomized Controlled Trial จากการเลี้ยงไก่ 720 ตัว แบ่งเป็น 6 กลุ่มแบบ random sampling กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับยาใดๆ) กลุ่มที่ 2, 3 ได้รับอาหารผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรในขนาด 1 MIC และ 2 MIC กลุ่มที่ 4, 5 ได้รับน้ำผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรในขนาด 1 MIC และ 2 MIC เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 6 ซึ่งได้รับยาปฏิชีวนะผสมน้ำ ตามแบบที่เกษตรกรถือปฏิบัติอยู่ทั่วไป กำหนดการให้ปฏิชีวนะหรือฟ้าทะลายโจรนั้น ให้เฉพาะช่วงวันที่ 2-5 และวันที่ 15-17 ตามหลักการให้วัคซีนป้องกันโรคตามโปรแกรม เลี้ยงไก่จนถึงวันที่ 42 ซึ่งไก่โตได้ขนาดส่งขาย ผลการตรวจค่า ADG, FCR, Uniformity, Mortality ของไก่ทดลองทุกกลุ่ม มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างไก่กลุ่มต่างๆ แต่พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรขนาด 1 MIC สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อ IBD Virus ได้สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรหรือน้ำผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรขนาด 2 MIC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ANOVA, $p < 0.05$)

การทดสอบผลของฟ้าทะลายโจรต่อการรักษาไก่ป่วยตามธรรมชาติด้วยอาการในระบบทางเดินอาหารกลุ่มหนึ่ง (180 ตัว) และอาการในระบบทางเดินหายใจอีกกลุ่มหนึ่ง (180 ตัว) แบ่งไก่ป่วยแต่ละกลุ่มด้วยวิธี random sampling ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 60 ตัว มีกลุ่มควบคุมหนึ่งกลุ่ม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจรในรูปน้ำยาแขวนตะกอนขนาด 2 MIC และ 4 MIC อีกสองกลุ่ม โดยมีกำหนดการให้ติดต่อกัน 5 วันและเลี้ยงในสภาวะแวดล้อมเดียวกันจนสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 26 วัน ไม่พบว่าสารสกัดฟ้าทะลายโจรมีผลรักษาอาการของโรคกลับพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดตายมากกว่า แต่ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการศึกษาด้านภูมิคุ้มกัน HI-geometric mean Titer ต่อ ND-Virus พบว่าไก่ป่วยด้วยอาการในระบบทางเดินหายใจ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจรในขนาด 4 MIC สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้สูงกว่ากลุ่ม 2 MIC และกลุ่ม 2 MIC ก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับไก่ป่วยด้วยอาการในระบบทางเดินอาหาร พบว่า HI-arithmetic mean Titer ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจรในขนาด 2 MIC สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าไก่ที่ป่วยด้วยอาการในระบบทางเดินอาหารซึ่งได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจรจนครบเวลา 21 วัน หลังการให้ยาเมื่ออัตราการติดเชื้อ *Eimeria spp.* ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Chi squares = 9.49, $p = 0.008$)

การทดสอบสาร Andrographolide ตกค้ำงและความเป็นพิษทางจุลพยาธิวิทยาในไก่ ผลการสุ่มตรวจอวัยวะส่วนกล้ำมเนื้ออก, หัวใจ, ตับและไต ของไก่ทดลองที่ได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจร ทั้งในเชิงการป้องกันและการรักษา โดยสุ่มมากลุ่มละ 3X4 ตัว รวมเป็น 6X12 ตัว ผลวิเคราะห์ปริมาณ Andrographolide ด้วยวิธี HPLC ไม่พบว่ามีสารตกค้ำงในไก่ทุกกลุ่ม เช่นเดียวกับการตรวจรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา ไม่พบความเปลี่ยนแปลงที่แสดงการเกิดพิษในร่างกายไก่ทดลองแต่อย่างใด

สรุปการใช้อาหารผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจรสำหรับการเลี้ยงไก่กระທးง มีผลช่วยให้ระดับภูมิคุ้มกันต่อ IBD virus สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและอัตราการแลกเนื้อของไก่ ส่วนการรักษาโรคของไก่ป่วยนั้น ไม่พบว่ามีผลดีอาจเนื่องจากรูปแบบเภสัชภัณฑ์ยังไม่เหมาะสม ควรต้องวิจัยพัฒนาต่อไป สำหรับการใช้ทดแทนปฏิชีวนะเพื่อการป้องกันโรคหรือเสริมสุขภาพ คาดว่ามีความเป็นไปได้สูง เพราะนอกจากไม่พบการตกค้ำงของสารออกฤทธิ์แล้วยังมีผลกระตุ้นการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในขนาดการใช้ที่ต่ำและช่วงเวลาการให้อันสั้น โดยไก่ทดลองกลุ่มที่ให้ปฏิชีวนะตามแบบแผน ก็ไม่แสดงผลของการเจริญเติบโตหรือผลอื่นใดที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจร การศึกษาครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ในเชิงบวกของการที่สารสกัดฟ้าทะลายโจรมีผลเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อ ND-Virus และช่วยลดอัตราการติดเชื้อ *Eimeria spp.* ในไก่ป่วยด้วยอาการของระบบทางเดินอาหารขณะอายุ 17 วันด้วย สมควรที่จะต้องศึกษาวิจัยในส่วนนี้ให้ได้รูปแบบการใช้พืชสมุนไพรฟ้าทะลายโจรสำหรับเสริมภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงไก่กระທးงอย่างถูกต้องเหมาะสมต่อไป

The Use of *Andrographis paniculata* Nees (Fah Talai Joan) for the Export Chicken Production**Abstract**

Andrographis paniculata Nees or Fah-Talai-Joan (FTJ) is a herbal plant which generally prevails in Thailand and economic accessible from the market. There were toxicity studies in experimental animals showing safety in medicinal use. The ultimate objective of this study is to develop pharmaceutical form of the herb for prevention and treatment of major diseases affecting broiler production so that the use of antibiotic could be reduced. The reduction of antibiotic use in poultry production will not only response to consumer demand regarding food safety but also help reducing production cost.

Taxonomic verified leaf and stalk of FTJ being used in this study were found to contain pharmacognostic properties relevant to THP 1 : they were total lactone 7.68-10.41% (THP1 \geq 6.0 %), ethanol soluble extractive 27.43 – 27.95 % (THP1 \geq 13%), loss on drying 6.56-8.17 % (THP1 < 11%) acid insoluble ash 1.90 – 1.96 % (THP1 \leq 2%). Being marcerated with 85% alcohol proved the highest amount of andrographolide. The extract solution was evaporated under pressure and then freeze dried. Analysis for amount of total lactone and andrographolide were carried out by titration technique and HPLC, respectively.

Crude extract was tested for MIC against bacterial pathogens affecting broiler by agar dilution method using standard bacteria *S. aureus* ATCC 25923 and *E.coli* ATCC 25922 together with 35 bacterial isolates from naturally infected chickens. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined as 50 mg/ml which was used for calculating dosage in the next experimental step. Two dosage forms of crude extract were used. They were mixed in the feed at 2.5 and 5% concentration which equivalent to 1 and 2 MIC. The second form was suspension of 15 and 30% concentration using CMC as suspending agent. Both forms had no problem in acceptability by the chickens. The feed mixture form was however more suitable in term of quality control.

210 postmortem samples from respiratory and gastrointestinal problem chickens were cultured for bacterial pathogens. From 230 Isolates *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecium* and *Klebsiella pneumoniae* were found as 71.9, 15.7, 5.2 and 3.8% respectively. The *E.coli* was 100% sensitive to colistin and decreasingly to gentamycin, norfloxacin, levofloxacin. The sensitivity were 93.6, 40.4 and 36.4% respectively. Enterococci spp. was sensitive to vancomycin and mostly resist to tetracycline. This may result in high MIC level. The high MIC level affected unapplicability for using crude extract to treat infection in respiratory and GI tract, unless the extract was developed for higher water solubility.

Randomized control trial was used to monitor effect of FTJ on growth rate and preventive effect in the conventional broiler farm. 720 chickens were randomly divided into 6 groups. Group 1 was control group. Group 2 and 3 obtained herbal crude extract mixed feed of 1 and 2 MIC.

Group 4 and 5 obtained crude extract suspension in drinking water of 1 and 2 MIC. Group 6 obtained Tylosin and Enrofloxacin as in conventional management system. In conventional management chickens were dosed with antibiotic in drinking water during 2-5th and 15-17th day of age. This pattern of herbal or antibiotic use was conventionally aimed to combat stress and prevent complication for 3 days after vaccination. The chickens were reared until 42th day which normally reached the market weight. Average daily gain (ADG), Feed conversion ratio (FCR), Uniformity and Mortality of chickens in each group were compared. They showed no statistical difference and were in standard range. Immune response as shown by ELISA-antibody titer against IBD virus in Groups 1 which fed 1 MIC herb in the feed revealed however significant higher titer than control and groups which received 2 MIC in feed and in drinking water (ANOVA, $p < 0.05$).

Investigation of therapeutic effect on naturally infected chickens which had respiratory sign and sign in gastrointestinal system were conducted in 2 separate group of 180 chickens. They were respiratory sign-chickens and gastrointestinal sign-chickens. The sick chickens in each investigation were randomly divided into 3 groups of 60 chickens. One group was treated with placebo containing 15 ml CMC suspension. The second and third group were treated with 2 MIC and 4 MIC crude extract suspension respectively. The suspension were given 2 times a day for 5 days. The group of sick animals were reared separately but under the same conditions. The observation time was finished on 26th day after starting. It was found that the crude extract suspension did not revealed positive effect on mortality. The immune response in the treated groups of respiratory study, indicated with HI-geometric mean titer against ND virus, was significantly higher in the 4 MIC treated than in the 2 MIC treated, and in the 2 MIC higher than the control ($p < 0.05$). The investigation in GI-sign chickens showed an association of the medication and reduction in *Eimeria spp* infection rate (Chi squares = 9.49, $p = 0.008$).

The andrographolide residue in chickens was investigated. Samples of pectoral muscle, heart, liver and kidney from 72 chickens randomly selected from 6 groups of preventive effect trial were tested for andrographolide residue by HPLC method. No residue was found. Histological examination of those tissues were carried out pararely. No toxic lesions were found.

In conclusion, using FTJ 3 days after vaccination could stimulate significantly higher immune response but revealed no difference in growth rate, feed conversion ratio and mortality. Therapeutic effect of the suspension of herbal crude extract could not be shown, probably because of inappropriate drug form. Using the herb as substitute for antibiotic in poultry production would be highly possible, because the herb extract can induce more immune response with low dosage and short medicating period. The conventional management (using antibiotic) method also showed no better results. In addition this study discovered an association of the herbal medication and the reduction of *Eimeria spp.* infection rate in broiler at early age. Further research and development of dosage and drug form together with application of its immune enhancer action for medicinal use were recommended.
