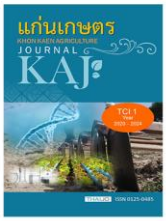
วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



การทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันโรคบิดที่เกิดจากเชื้อ *Eimeria tenella* ของผลิตภัณฑ์ Penergetic-t Broiler®และน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนในไก่เนื้อ

Efficiency test in coccidiosis prevention caused by *Eimeria tenella* of Penergetic-t Broiler® and cassia essential oil products in broilers

ปาลิตา ทรัพย์เดช[1], ภคอร อัครมธุรากุล[1], สิริพร วรรณชาติ[1], ทวีศักดิ์ ส่งเสริม[2], สุรพันธ์ จิตวิริยนนท์[1] และ นวลจันทร์ พารักษา[1]*

Palita Supdet[1], Phakka-orn Akaramathurakul[1], Siriporn Wannachart[1], Taweesak Songserm[2], Surapan Jitviriyanon[1] and Nuanchan Paraksa[1]*

[1] *ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140*
[1] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Kasetsart University, KamphaengSaen Campus, Nakonpathom, 73140*
[2] *ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140*
[2] *Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, KamphaengSaen Campus, Nakonpathom, 73140*

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันโรคบิดที่เกิดจากเชื้อ *E. tenella* ของผลิตภัณฑ์ Penergetic-t Broiler® (PB) และผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (COP) ทั้งการใช้เดี่ยวและการใช้ร่วมกัน โดยใช้ไก่เนื้อ (Ross308) อายุ 1 วัน เพศผู้ 96 ตัว ทำการเลี้ยงรวมกันบนพื้นปูด้วยแกลบและได้รับอาหารที่เสริมสารป้องกันโรคบิดจนอายุ 13 วัน จากนั้นแบ่งเป็น 8 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซ้ำ เลี้ยงในกรงตับช่องละ 2 ตัว สุ่มไก่ให้ได้รับกลุ่มทดลองดังนี้ กลุ่ม 1 ไม่กรอกเชื้อและไม่เสริมสารป้องกันโรคบิด กลุ่ม 2-8 ได้รับเชื้อบิด 2,500 โอโอซิสต์ต่อตัว โดยไม่เสริมสารป้องกันโรคบิด (กลุ่ม 2), เสริมสารป้องกันโรคบิดชนิดโรบินิดีน 33 มก./กก. อาหาร (กลุ่ม 3), เสริม COP ละลายน้ำดื่ม 0.20 มคล./มล. (กลุ่ม 4), เสริม PB ชนิดละลายน้ำดื่ม 500 มก./ล. (กลุ่ม 5), และร่วมกับ COP ที่ 0.20 มคล./มล. (กลุ่ม 6), เสริม PB ชนิดผสมอาหาร 2,000 มก./กก. (กลุ่ม 7), และร่วมกับ COP ละลายน้ำที่ 0.20 มคล./มล. (กลุ่ม 8) ทำการสุ่มไก่ครั้งละ 1 ตัวต่อซ้ำภายหลังการกรอกเชื้อบิด 7 และ 14 วัน เพื่อเก็บไส้ติ่งสำหรับประเมินคะแนนรอยโรคและเก็บมูลเพื่อนับจำนวนโอโอซีสต์ พบว่าหลังการกรอกเชื้อบิด 7 วัน ผลิตภัณฑ์ PB ชนิดผสมอาหาร 2,000 มก./กก. ร่วมกับ COP ที่ 0.20 มคล./มล. แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อบิดชนิด *E. tenella* ดีที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่เสริมสารโรบินิดีนในอาหาร ขณะที่ 14 วันหลังการกรอกเชื้อ ผลิตภัณฑ์ PB ชนิดละลายน้ำ 500 มก./ล. ร่วมกับ COP ที่ 0.20 มคล./มล. ช่วยฟื้นฟูเนื้อเยื่อไส้ติ่งดีที่สุดและแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่เสริมสารโรบินิดีนในอาหาร การเสริมผลิตภัณฑ์ PB และ COP มีผลทำให้การขับโอโอซิสต์ในมูลที่ 7 วันหลังได้รับเชื้อมีปริมาณสูงกว่ากรณีการเสริมสารป้องกันโรคบิดทางการค้า ($P<0.05$) แต่ไม่พบโอโอซิสต์ในมูลในทุกกลุ่มการทดลองภายหลังการกรอกเชื้อ 14 วัน โดยสรุปผลิตภัณฑ์ PB ทั้งชนิดผสมอาหารและละลายน้ำ ร่วมกับ COP สามารถใช้เป็นทางเลือกเพื่อทดแทนสารป้องกันโรคบิดทางการค้าในไก่เนื้อได้

คำสำคัญ: ไก่เนื้อ; น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน; โรคบิด; *Eimeria tenella*; Penergetic-t Broiler®

* Corresponding author: agrnupa@ku.ac.th

Received: date; October 30, 2020 Accepted: date; April 7, 2021 Published: date; December 5, 2021

ABSTRACT: This experiment was conducted to investigate the efficiency of Penergetic-t Broiler® product (PB) and cassia essential oil product (COP) in single and combination uses for Coccidiosis prevention. A total of 96 one-day old Ross 308 broilers was kept in floor-pen and offered a commercial diet until 13 days old. Afterwards, broilers were allocated into 8 groups and 6 replicates with 2 birds per each and randomly assigned to eight treatments as following: group 1 was non-challenged with *E. tenella* and without anticoccidial product supplementation, group 2-8 were challenged groups with 2,500 oocysts per head and without anticoccidial product (group 2), dietary supplementation with 33 mg/kg robenidine, as a commercial anticoccidial drug (group 3), water administration with 0.20 µl/ml COP (group 4), 500 mg/l PB through drinking water (group 5), and in combination with 0.20 µl/ml COP through drinking water (group 6), dietary supplementation with 2,000 mg/kg PB (group 7) and in combination with 0.20 µl/ml COP through drinking water (group 8). During an experiment, cecal tissues were collected from one bird per each replicate at day 7 and 14 post-challenge for histopathological lesion scoring and feces were collected for oocysts shedding enumeration. Results showed that at 7 days after challenge, combination uses of 2,000 mg/kg PB in diet and 0.20 µl/ml COP through drinking water showed the best inhibitory efficiency against *E. tenella* infection with a non-significantly difference with robenidine supplementation group. However, at 14 days post challenge, water application with 500 mg/l PB and 0.20 µl/ml COP revealed the best efficiency to recover caecal tissues after *E. tenella* infection and the response was not significantly different from the commercial anticoccidial drug. At 7 days post challenge, application of PB and COP provided higher amount of oocyst shedding in feces than the robenidine supplementation ($P<0.05$), whereas no oocyst shedding in feces was detected in all experimental groups at 14 days after challenge. The combination uses of Penergetic-t Broiler® and cassia essential oil product can be an alternative approach for the anti-coccidial drug in broilers.
Keywords: broilers; cassia essential oil; coccidiosis; *Eimeria tenella*; Penergetic-t Broiler®

บทนำ

อุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เนื้อเป็นหนึ่งในแหล่งผลิตอาหารโปรตีนที่สำคัญของโลก (Bogosavljevic-Boskovic et al., 2010) ซึ่งมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้สอดคล้องกับจำนวนประชากรที่เพิ่มขึ้น โดยมีการผลิตเพิ่มขึ้นปีละประมาณ 4 หมื่นล้านตัว (FAOSTAT, 2014) ถึงแม้ว่าปริมาณเนื้อไก่ในตลาดโลกจะเพิ่มขึ้นแต่อุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อยังคงมีข้อจำกัดในด้านการจัดการโรงเรือนและการควบคุมโรคในฟาร์ม โดยเฉพาะโรคบิดในไก่ที่เกิดจากเชื้อ *Eimeria* spp. ซึ่งเป็นเชื้อโปรโตซัวที่อาศัยและเพิ่มจำนวนในลำไส้ไก่ได้ (Peek and Landman, 2011) ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจทั่วโลกปีละประมาณ 2.4 พันล้านดอลลาร์ รวมถึงการเพิ่มต้นทุนการผลิตจากการป้องกันโรค (Lal et al., 2009) โดยเฉพาะโรคบิดที่เกิดจากเชื้อ *E. tenella* ที่ทำให้ไก่เนื้อป่วยมีลำไส้อักเสบ มูลปนเลือด และตายอย่างเฉียบพลัน (Shirley et al., 2005) ประกอบกับในปัจจุบันมีการเลี้ยงไก่เนื้อแบบหนาแน่น เป็นผลทำให้เกิดการแพร่กระจายของโรคมากยิ่งขึ้น (Chapman et al., 2013) จึงจำเป็นต้องควบคุมโรคด้วยการใช้สารป้องกันโรคบิด ซึ่งแม้จะได้ผลดีแต่พบการดื้อยาของเชื้อบิดและมีการตกค้างของสารในผลิตภัณฑ์ ทำให้เกิดกระแสต่อต้านการใช้สารป้องกันโรคบิดทั่วโลก ด้วยเหตุนี้จึงมีการค้นหาแนวทางที่ปลอดภัย ทั้งการใช้วัคซีน สารเสริมอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ และล่าสุดได้มีการนำสารเสริมที่ใช้เทคโนโลยีการถ่ายโอนข้อมูลยาในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือคลื่นควอนตัม (Quantum information medicine) มาเก็บไว้ในตัวพา (carrier) ซึ่งจะไม่สามารถตรวจวัดเอกลักษณ์ของยาที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีได้ แต่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางชีวภาพในสิ่งมีชีวิตได้ โดยได้มีการริเริ่มนำมาใช้ในการรักษาโรคและฟื้นฟูสุขภาพในคน (Cobaxin-Cárdenas, 2018) และจากการที่มีรายงานความสำเร็จในการนำสารเสริมที่มีการถ่ายโอนข้อมูลยาในรูปคลื่นควอนตัมมาใช้ในการรักษาโรคในคน (Foletti, 2011) อีกทั้งมีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อน้อยกว่าเนื่องจากไม่ได้สัมผัสกับตัวยาโดยตรง (Foletti et al., 2014) ทั้งนี้มีการรายงานการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีการถ่ายโอนข้อมูลในรูปคลื่นควอนตัม (Penergetic-t) สำหรับโคนมติดต่อกันเป็นเวลานานโดยไม่ก่อให้เกิดพิษต่อตับและไตของโคนม (Shridhar, 2007) ดังนั้นจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยมากกว่าการใช้ยาหรือสารเคมี ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับป้องกันโรคบิดโดยการถ่ายโอนข้อมูลของสารป้องกันโรคบิดทางการค้าชนิดต่างๆ ในรูปของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในชื่อของผลิตภัณฑ์ Penergetic-t Broiler® (PB) แต่ยังขาดข้อมูลประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อบิดในตัวสัตว์ นอกจากนี้ยังมีการรายงานผลการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน (COP) ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อบิดได้เช่นเดียวกัน แต่ประสิทธิภาพยังไม่เทียบเท่ากับการใช้สารป้องกันโรคบิดทางการค้า (กนกชล และ คณะ, 2562) การใช้ร่วมกับสารเสริมอื่นๆ อาจจะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานดีขึ้น ดังนั้น

การทดลองนี้จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อบิดชนิด *E. tenella* ของผลิตภัณฑ์ PB และ COP ทั้งการใช้แบบเดี่ยวและการใช้ร่วมกันเพื่อเป็นแนวทางเลือกที่ปลอดภัยในการใช้ทดแทนสารป้องกันโรคบิดสำหรับไก่เนื้อ

วิธีการศึกษา

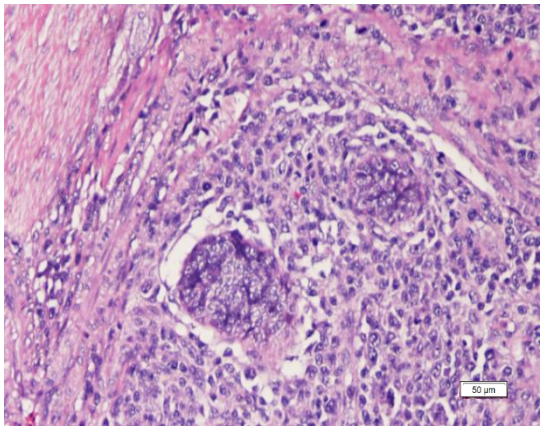
ใช้ไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า Ross 308 เพศผู้ จำนวน 96 ตัว ภายใต้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) เลี้ยงในห้องปิดที่ควบคุมอุณหภูมิและสภาพแวดล้อม ในช่วงไก่ระยะเล็ก (อายุ 1-13 วัน) ไก่ทุกตัวถูกเลี้ยงบนพื้นที่มีแกลบเป็นวัสดุรองพื้นและได้รับอาหารสำเร็จรูปสำหรับไก่เล็กที่มีการเสริมสารป้องกันโรคบิด จากนั้นในช่วงอายุ 14-15 วัน ไก่ได้รับอาหารที่ไม่มีสารป้องกันโรคบิดจนถึงอายุ 16 วัน จึงแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 8 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ตัว โดยทำการเลี้ยงไก่แต่ละซ้ำในกรงลวดตาข่าย แบบยกพื้นที่มีภาชนะให้อาหารและน้ำแยกรายกรง ทำการกรอกโอโอซิสต์ระยะฟักตัว (sporulated oocysts) ของเชื้อบิด *E. tenella* ให้กับไก่กลุ่มที่ 2-8 จำนวนตัวละ 2,500 โอโอซิสต์ ส่วนกลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) ที่ไม่ได้รับเชื้อบิด ทำการกรอกน้ำเกลือปริมาณตัวละ 1 มล. ไก่ทดลองทั้ง 8 กลุ่มได้รับการจัดการ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ไม่ได้รับการกรอกเชื้อและไม่ได้รับสารป้องกันโรคบิดทั้งในอาหารและน้ำดื่ม, กลุ่มที่ 2 ไม่เสริมสารป้องกันโรคบิดทั้งในอาหารและน้ำดื่ม, กลุ่มที่ 3 เสริมสารป้องกันโรคบิดทางการค้าในอาหาร (โรบินิดีน 33 มก./กก.อาหาร), กลุ่มที่ 4 เสริมผลิตภัณฑ์ COP ในน้ำดื่มที่ความเข้มข้น 0.20 มคล./มล., กลุ่มที่ 5 เสริมผลิตภัณฑ์ PB ชนิดละลายน้ำที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. และการเสริมร่วมกับผลิตภัณฑ์ COP ที่ความเข้มข้น 0.20 มคล./มล.(กลุ่ม 6), กลุ่มที่ 7 เสริมผลิตภัณฑ์ PB ชนิดผสมอาหารที่ความเข้มข้น 2,000 มก./ กก.อาหาร และการเสริมร่วมกับผลิตภัณฑ์ COP ที่ความเข้มข้น 0.20 มคล./มล. ในน้ำดื่ม (กลุ่ม 8)

หลังจากที่ไก่ได้รับการกรอกเชื้อบิดไปแล้ว 7 วัน และ 14 วัน ทำการสุ่มไก่ซ้ำละ 1 ตัวต่อครั้ง เพื่อชำแหละและเก็บไส้ติ่งสำหรับเตรียมเนื้อเยื่อตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาด้วยวิธีการของ อาริษา และคณะ (2557) และให้คะแนนรอยโรคบิดตามวิธีการของ สุรพันธ์ (2559) โดยให้คะแนนรอยโรคบิดบริเวณไส้ติ่งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยระดับคะแนน 0 ถึง 4 (คะแนน 0 หมายถึง เนื้อเยื่อปกติ; คะแนน 1 พบเชื้อบิดในระยะชิโซโกนี (schizogony) หรือเมอโรโกนี (merogony) น้อยกว่า 10%, คะแนน 2 มีการพบเชื้อบิดระยะต่างๆ ตั้งแต่ 10-50% และพบเซลล์อักเสบ, คะแนน 3 พบเชื้อบิดในระยะต่างๆมากกว่า 50% และ คะแนน 4 พบเชื้อบิดในระยะต่างๆมากกว่า 50% พบเซลล์อักเสบและเลือดในเนื้อเยื่อ) ดังแสดงใน **Figure 1** นอกจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างมูลไก่แต่ละซ้ำเพื่อตรวจนับปริมาณโอโอซิสต์ที่ขับออกมาตามวิธีของ Conway and McKenzie (2007)

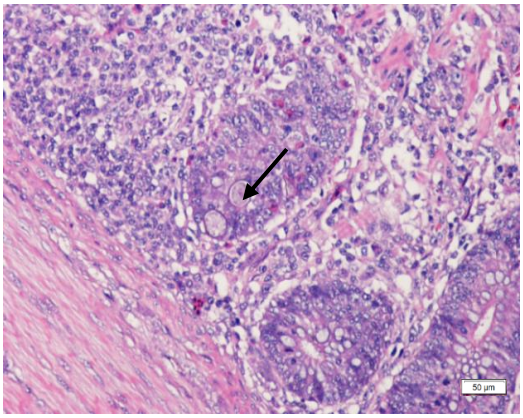
ผลิตภัณฑ์ PB เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่มีการถ่ายโอนข้อมูลในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของสารป้องกันโรคบิดหลายชนิดที่มีการใช้ในปัจจุบัน อาทิ ซาลิโนมัยซิน (salinomycin) โรบินิดีน และมาดูรามิซิน (maduramicin) เป็นต้น โดยใช้สารโซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) และเบนโทไนท์ (bentonite) เป็นสื่อในการดูดซับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า สำหรับผลิตภัณฑ์ชนิดละลายน้ำและชนิดผสมอาหาร ตามลำดับ โดยอัตราการใช้เป็นไปตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ส่วนผลิตภัณฑ์ COP เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการพัฒนาให้อยู่ในรูปของไมโครอิมัลชั่น (microemulsion) โดย ณัฐวุฒิ และ มัลลิกา (2559) ทั้งนี้อัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ COP ตามคำแนะนำของกนกชล และคณะ (2562)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

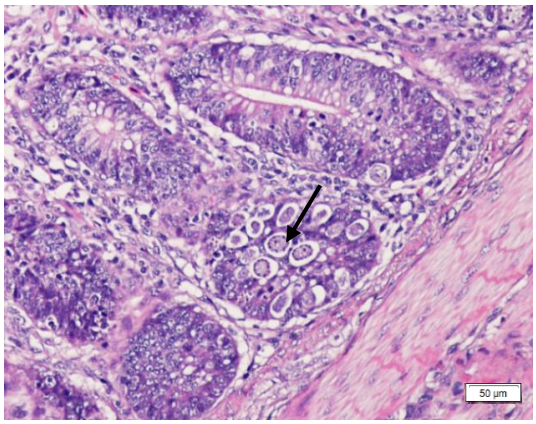
นำข้อมูลคะแนนรอยโรคมาแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปเปอร์เซ็นต์ จากนั้นแปลงข้อมูลดังกล่าวโดยใช้รากที่สอง (square root transformation) เพื่อให้ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ (ทรงพล, 2555) สำหรับข้อมูลปริมาณโอโอซิสต์ที่ปลดปล่อยในมูลนำมาแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปลอการิทึม (Logarithm transformation) จากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม Free Statistic Software, SAS® University Edition



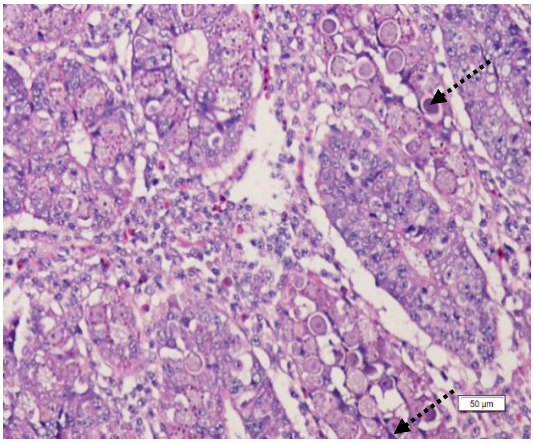
Score 0



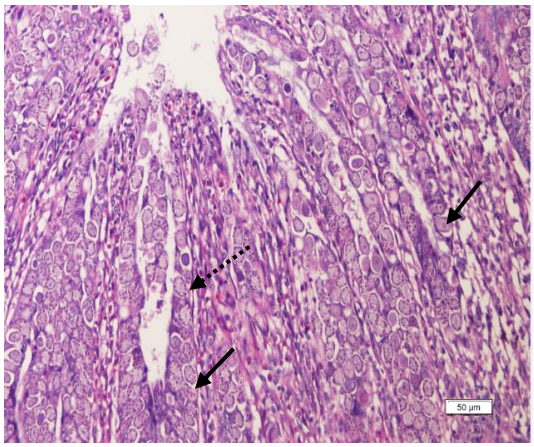
Score 1



Score 2



Score 3



Score 4

Figure 1 Histopathological lesion scoring of cecum (200X) Score 0: normal histological structure, Score 1: presence of the number of schizogonts (➘) or meronts (⇘) less than 10% in tissue, Score 2: the number of schizogonts or meronts between 10-50% in tissue and inflammatory cells aggregation, Score 3: great number of schizogonts or meronts more than 50% in tissue, Score 4: great number of schizogonts or meronts more than 50% in tissue with severe inflammatory cell infiltration and bloody in the epithelium.

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลต่อคะแนนรอยโรคของเนื้อเยื่อไส้ติ่งของไก่เนื้อ

ผลการตรวจรอยโรคที่วันที่ 7 หลังการกรอกเชื้อ

ผลการตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาภายหลังจากการกรอกเชื้อ *E. tenella* ระยะฟักตัวจำนวน 2,500 โอโอซิสต์ต่อตัว ซึ่งเป็นปริมาณที่สามารถก่อให้เกิดรอยโรคบิดที่บริเวณเนื้อเยื่อส่วนไส้ติ่งได้ในวันที่ 7 หลังจากได้รับเชื้อบิด ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ครบวงจรเชื้อบิดของ *E. tenella* (กนกชล และคณะ 2562) ไม่พบรอยโรคบิดที่เนื้อเยื่อไส้ติ่งของไก่ทดลองกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการกรอกเชื้อ ดังแสดงใน **Table 1** ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไก่ทดลองไม่ได้รับเชื้อบิดชนิด *E. tenella* จากธรรมชาติ ในขณะที่กลุ่มที่กรอกเชื้อ (กลุ่ม 2-8) พบรอยโรคระดับคะแนน 0 ถึง 4 ทั้งนี้กลุ่มที่กรอกเชื้อแต่ไม่เสริมสารป้องกันโรคบิด (กลุ่ม 2) มีคะแนนรอยโรคเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.83 จาก 4.0 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อบิดที่กรอกให้กับไก่มีความสมบูรณ์และมีความรุนแรงมากพอที่จะก่อให้เกิดรอยโรคที่บริเวณลำไส้ไก่ได้ การเสริมสารป้องกันโรคบิดทางการค้าชนิดโรบีนิดีนที่ระดับ 33 มก./กก.อาหาร สามารถป้องกันโรคบิดได้ดีที่สุด โดยมีคะแนนรอยโรคต่ำที่สุด (0.17 ± 0.41) ทั้งนี้สารโรบีนิดินเป็นสารที่นำมาใช้ในการควบคุมโรคบิดในไก่เนื้อ (Conway and McKenzie, 2007) เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ คือ 1-3 บิส (พี-คลอโรเบนซิลลิดีนีอะมิโน)-กวานีดีน ไฮโดรคลอไรด์ [1-3-bis (p-chlorobenzylideneamino) – guanidine hydrochloride] ซึ่งเป็นอนุพันธ์สังเคราะห์จากกวานีดีน (guanidine) (Kennett et al., 1974) มีการออกฤทธิ์ป้องกันการพัฒนาของเชื้อบิดระยะชิซอนต์ (Kant et al., 2013) สารดังกล่าวจะเข้าไปยับยั้งกระบวนการสร้างและเผาผลาญพลังงานภายในเซลล์ด้วยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอทีพีเอส (ATPases) ในกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสโฟไรเลชั่น (Oxidative phosphorylation) (Wong et al., 1972) ส่งผลทำให้กระบวนการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อบิดภายในไส้ติ่งลดน้อยลง จึงพบรอยโรคลดลง

การเสริมผลิตภัณฑ์ PB ทั้งชนิดละลายน้ำและผสมอาหารสามารถลดคะแนนรอยโรคที่เนื้อเยื่อไส้ติ่งได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เสริมสารป้องกันโรคบิด (**Table 1**) จากกลไกการทำงานของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีข้อมูลของสารป้องกันโรคบิดหลายชนิดเก็บไว้ จึงออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อบิดได้ในลักษณะเดียวกับการทำงานของสารป้องกันโรคบิดจริงๆ แม้ว่าประสิทธิภาพจะด้อยกว่าการได้รับสารป้องกันโรคบิดโดยตรง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Heredia-Rojas et al. (2011) ที่ได้ทำการถ่ายโอนข้อมูลยาต้านจุลชีพเมโทรนิดาโซล (metronidazole) ด้วยวิธีการทางคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าใสในน้ำเพื่อเก็บเป็นข้อมูลความจำ ซึ่งยาเมโทรนิดาโซลเป็นพิษต่อเซลล์ปรสิต และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Entamoeba histolytica* และ *Trichomonas vaginalis* ในระยะโทรโฟซอยต์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำบริสุทธิ์ที่ไม่ได้ผ่านการรับพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะถ่ายโอนข้อมูลยาและจัดเก็บข้อมูลทางชีวภาพเพื่อให้เกิดการถ่ายโอนข้อมูลไปยังระบบชีวภาพอื่นๆ ได้

อย่างไรก็ตาม การเสริมผลิตภัณฑ์ PB ชนิดผสมอาหารในรูปเดี่ยว (กลุ่ม 7) มีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อบิดได้ดีกว่าการเสริมชนิดละลายน้ำ (กลุ่ม 5) โดยมีคะแนนรอยโรคบิดที่ไส้ติ่งต่ำกว่า (0.50 ± 0.55 vs 1.17 ± 0.41 จาก 4.00) ทั้งนี้อาจเกิดจากไก่เนื้อกินอาหารอย่างต่อเนื่อง ทำให้ผลิตภัณฑ์ PB อยู่ในระบบทางเดินอาหารตลอดเวลา จึงสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อบิดได้อย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนการใช้ผลิตภัณฑ์ COP ในรูปเดี่ยว (กลุ่ม 4) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อบิดได้เช่นเดียวกัน โดยมีคะแนนรอยโรคที่ไส้ติ่ง (คะแนน 1.00 ± 0.00) ต่ำกว่ากลุ่มที่ 2 ที่ได้รับการกรอกเชื้อแต่ไม่เสริมสารป้องกันโรคบิดแม้จะแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นการยืนยันประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อบิดของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนตามรายงานของ กนกชล และคณะ (2562) และ วรรณวิภา และคณะ (2558) ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนที่ความเข้มข้น 0.20 มคล./มล. สามารถลดคะแนนรอยโรคบิดบริเวณไส้ติ่งได้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีขนาดโมเลกุลเล็กและมีคุณสมบัติการละลายในไขมัน จึงสามารถแทรกซึมเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อบิดที่มีสารฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) เป็นองค์ประกอบ ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของประจุภายในเซลล์ทำให้เชื้อบิดตายในที่สุด (Remmal et al., 2011) ทั้งนี้องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน คือ สารซินนามอลดีไฮด์ (70% ของน้ำมันหอมระเหยทั้งหมด) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำให้เกิดพันธะบริเวณหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมและการแบ่งเซลล์ของจุลินทรีย์ (Prabuseenivasan et al., 2006)

การใช้ผลิตภัณฑ์ PB ทั้งชนิดผสมอาหารและชนิดละลายน้ำร่วมกับการใช้ผลิตภัณฑ์ COP ชนิดละลายน้ำแสดงคุณลักษณะการเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อบิด โดยมีคะแนนรอยโรคบิดที่ไส้ติ่งต่ำกว่ากรณีการใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวแบบเดี่ยว แม้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แต่การใช้ร่วมกันของผลิตภัณฑ์ PB ชนิดผสมอาหารร่วมกับการใช้ผลิตภัณฑ์ COP ชนิดละลายน้ำทำให้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคบิดแตกต่างจากกรณีการใช้สารป้องกันโรคบิดทางการค้าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนนอกจากจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อบิดโดยตรงแล้ว ยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค ทั้งการสร้างแอนติบอดี้และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยการตอบสนองผ่านเซลล์ (Cell-mediated immune responses) ทั้งชนิด ที-เซลล์ลิมโฟไซท์ (T-lymphocytes) เนเชอรัล คิลเลอร์เซลล์ (Natural killer cell) และแม็คโครฟาร์จ (Macrophages) ในการเข้าจับและทำลายเชื้อภายในตัวสัตว์ จึงทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลายลดน้อยลง (Lillehoj and Trout, 1996)

Table 1 Effects of Penergetic-t Broiler® and cassia essential oil products on histopathological scoring of caecal tissues of broilers

Treatment	Lesion scoring post oocysts challenge[1/]	
	7 day	14 day
G1: No. *E. tenella*+no anticoccidial product	0.00±0.00 ^{c}	0.00±0.00^{c}
G2: *E. tenella*+no anticoccidial product	1.83±1.33 ^{a}	1.17±0.41^{a}
G3: *E. tenella*+ 33 mg/kg robenidine in diet	0.17±0.41^{c}	0.17±0.41^{bc}
G4: *E. tenella*+ 0.20 µl/ml COP in drinking water	1.00±0.00 ^{ab}	0.67±0.52^{ab}
G5: *E. tenella*+ 500 mg/l PB in drinking water	1.17±0.41^{a}	0.33±0.52^{bc}
G6: *E. tenella*+ 500 mg/l PB & 0.20 µl/ml COP in drinking water	0.83±0.75^{ab}	0.00±0.00^{c}
G7: *E. tenella*+ 2,000 mg/kg PB in diet	0.50±0.55^{bc}	0.67±0.52^{ab}
G8: *E. tenella*+ 2,000 mg/kg PB in diet & 0.20 µl/ml COP in drinking water	0.17±0.41^{c}	0.33±0.52^{bc}
SEM	0.8910	0.8107
P-value	0.0001	0.0002

[1/]Values are shown in mean±SD; $^{a-c}$ Means within column followed by different superscripts letters are significantly different (P<0.05)

Note: Score 0: normal histological structure; Score 1: presence the number of schizont or meront less than 10% in tissue; Score 2: the number of schizont or meront between 10-50% in tissue and inflammatory cells aggregation; Score 3: great number of schizont or meront more than 50% in tissue; Score 4: great number of schizont or meront more than 50% in tissue with severe inflammatory cell infiltration and bloody in the epithelium.

PB = Penergetic-t Broiler®, COP = Cassia essential oil product

ผลการตรวจรอยโรคที่วันที่ 14 หลังการกรอกเชื้อ

การตรวจรอยโรคบิดด้วยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไส้ติ่งภายหลังการกรอกเชื้อบิด 14 วัน พบว่าการเสริมผลิตภัณฑ์ PB ที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. ร่วมกับผลิตภัณฑ์ COP ที่ระดับ 0.20 มคล./มล. ในน้ำดื่ม(กลุ่มที่ 6) สามารถลดคะแนนรอยโรคได้ดีเทียบเท่ากับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการกรอกเชื้อ (คะแนนเป็น 0) ดังแสดงใน **Table 1** แสดงให้เห็นว่าข้อมูลเชิงควอนตัมของสารป้องกันโรคบิดในผลิตภัณฑ์ PB มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของเชื้อบิดได้ ทำให้การใช้ข้อมูลเชิงควอนตัมสามารถทดแทนการใช้สารเคมี (Foletti et al., 2014) โดยข้อมูลดังกล่าวเข้าสู่ระบบของเหลวในร่างกายและเนื้อเยื่อซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการถ่ายโอนโฟตอน (photon) ทำให้ข้อมูลในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าถูกส่งไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายได้ อีกทั้งเซลล์ในร่างกายไม่ได้สัมผัสกับยาโดยตรงจึงมีพิษน้อยกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Norman et al. (2016) ที่รายงานว่าระบบชีวภาพจะมีน้ำอยู่ในปริมาณมาก น้ำจึงเป็นทางผ่านเพื่อให้ข้อมูลเชิงควอนตัมส่งไปยังระบบต่างๆ ของร่างกายสิ่งมีชีวิตได้เป็นอย่างดี ซึ่ง Del Giudice et al. (2013) รายงานว่าของเหลวที่เป็นน้ำจะประกอบด้วยชุดอิเล็กตรอนอิสระเกือบทั้งหมดซึ่งสามารถรับพลังงานจากภายนอกและถ่ายทอดคลื่นข้อมูลเชิงควอนตัมไปยังส่วนต่างๆในร่างกาย นอกจากนี้ยังมีการใช้สารโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นสื่อในผลิตภัณฑ์ PB ชนิดละลายน้ำซึ่งมีฤทธิ์เสริมกันเพื่อทำลายเชื้อบิดให้ดียิ่งขึ้น จากการศึกษาของ Peek (2010) พบว่าสารโซเดียมไบคาร์บอเนตช่วยสนับสนุนการทำงานของสารในกลุ่มไอโอโนฟอร์เพื่อทำลายเชื้อบิดได้มากขึ้น โดยกลไกการทำงานของยากลุ่มนี้จะส่งผลให้เกิดการแลกเปลี่ยนประจุไอออนระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ของปรสิต ยับยั้งการพัฒนาของเชื้อบิดในระยะสปอร์โรซอยท์ นอกจากนี้ยังกระตุ้นการทำงานของโพแทสเซียมไอออน และเอนไซม์เอทีพีเอส ซึ่งส่งผลต่อเชื้อบิดในระยะเมอโรซอยด์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการแตก (Mehlhorn et al., 1983) สอดคล้องกับรายงานของ Hooge et al. (1999) ที่พบว่าการเสริมโซเดียมไบคาร์บอเนตในระดับ 0.20% ในอาหารสามารถลดคะแนนรอยโรคจากการทำลายของเชื้อบิด และลดอัตราการตายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้การใช้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อบิดดีขึ้น เนื่องจากสารซินนามอลดีไฮด์ในน้ำมันอบเชยจีนมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory activity) ด้วยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนตริคออกไซด์ซินเตส (Nitric oxide synthase) และเอนไซม์ไซโคลออกซิจิเนส-2 (Cyclooxygenase-2: COX-2) (Hong et al., 2002) จึงลดการอักเสบของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายด้วยเชื้อบิดและช่วยฟื้นฟูเนื้อเยื่อไส้ติ่งในบริเวณที่เสียหาย ส่งผลให้คะแนนรอยโรคจากการตรวจทางจุลพยาธิวิทยามีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ รวมถึงกลุ่มที่ได้รับสารป้องกันโรคบิดทางการค้า

ผลต่อการขับโอโอซิสต์ในมูลของไก่เนื้อ

การวัดปริมาณโอโอซิสต์ที่ปลดปล่อยออกมาทางมูลหลังกรอกเชื้อ 7 วัน และ 14 วัน เป็นการบ่งบอกทางอ้อมถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อบิดของผลิตภัณฑ์ พบว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการกรอกเชื้อและไม่ได้รับสารป้องกันโรคบิด (กลุ่ม 1) ไม่พบการปลดปล่อยโอโอซิสต์ออกมาทางมูล (**Table 2**) ซึ่งสอดคล้องกับผลทางจุลพยาธิวิทยาที่ไม่พบรอยโรคบริเวณไส้ติ่ง แสดงให้เห็นว่าไก่กลุ่มนี้ไม่ได้รับเชื้อบิดจากธรรมชาติจึงไม่มีการสร้างโอโอซิสต์ภายในร่างกาย ส่วนกลุ่มที่ได้รับการกรอกเชื้อและได้รับสารป้องกันโรคบิดทางการค้า (โรบินิดีน) ที่ระดับความเข้มข้น 33 มก./กก. อาหาร (กลุ่มที่ 3) ไม่มีการปลดปล่อยโอโอซิสต์ออกในมูลเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าเชื้อถูกทำลายภายในลำไส้ก่อนเข้าสู่ระยะการสร้างไซโกต (zygote) หรือเชื้อถูกยับยั้งการพัฒนาเป็นโอโอซิสต์ที่สมบูรณ์ จึงไม่พบการปลดปล่อยโอโอซิสต์ออกมานอกร่างกายไก่

Table 2 Effects of Penergetic-t Broiler® and cassia essential oil products on faecal oocysts shedding of broilers at 7d post challenge

Treatment	Faecal oocysts (log_{10}/ g. feces) [1/]
G1: No. *E. tenella*+ no anticoccidial product	0.00±0.00[c]
G2: *E. tenella*+ no anticoccidial product	6.45±0.22[a]
G3: *E. tenella*+ 33 mg/kg robenidine in diet	0.00±0.00[c]
G4: *E. tenella*+ 0.20 µl/ml COP in drinking water	6.36±0.19[a]
G5: *E. tenella*+ 500 mg/l PB in drinking water	6.31±0.10[a]
G6: *E. tenella*+ 500 mg/l PB & 0.20 µl/ml COP in drinking water	6.22±0.34[a]
G7: *E. tenella*+ 2,000 mg/kg PB in diet	5.65±0.15[b]
G8: *E. tenella*+ 2,000 mg/kg PB in diet & 0.20 µl/ml COP in drinking water	5.61±0.23[b]
SEM	0.0870
P-value	<.0001

[1/]Values are shown in Mean±SD. [a-d] Means within column followed by different superscripts letters are significantly different (P<0.05)
PB = Penergetic-t Broiler®, COP = Cassia essential oil product

การเสริมผลิตภัณฑ์ PB และ COP ทุกรูปแบบในไก่ที่ได้รับเชื้อบิด (กลุ่มที่ 4-8) มีผลทำให้การขับโอโอซิสต์ออกมาในมูล ในวันที่ 7 หลังได้รับเชื้อมีปริมาณสูงกว่าการเสริมสารป้องกันโรคบิดทางการค้า (P<0.05) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับคะแนนรอยโรคที่ไส้ติ่ง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ PB เป็นสารที่ได้รับการถ่ายโอนข้อมูลของสารป้องกันโรคบิดในรูปแบบคลื่นควอนตัมไม่ใช่ตัวยาจริง การทำงานเป็นการส่งคลื่นไฟฟ้าไปยังส่วนต่างๆของร่างกายและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (Foletti et al., 2014) จึงอาจทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อบิดด้อยกว่าสารป้องกันโรคบิดที่มีกลไกในการทำลายเชื้อบิดอย่างเฉพาะเจาะจง อีกทั้งระดับการใช้ผลิตภัณฑ์ COP ที่ 0.2 มคล./มล. ไม่ใช่ระดับที่สามารถยับยั้งเชื้อบิดได้สูงสุด แต่เป็นระดับการใช้ที่ไม่มีผลต่อการกินอาหารและน้ำของไก่เนื้อ (กนกชล และคณะ 2562) จึงทำให้ยังมีเชื้อบิดเหลืออยู่จึงเข้าทำลายเนื้อเยื่อไส้ติ่งจนเกิดรอยโรค (**Table 1**) และพัฒนาต่อไปเป็นโอโอซีสต์ขับออกมาทางมูล อย่างไรก็ตามการเสริมผลิตภัณฑ์ PB ในอาหารที่ระดับ 2,000 มก./กก. ทั้งในรูปเดี่ยวและใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์ COP พบการขับโอโอซิสต์ในมูลต่ำกว่าแบบให้ในน้ำดื่มอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไส้ติ่งเช่นเดียวกัน ส่วนการตรวจวัดโอโอซิสต์ที่ปลดปล่อยออกมาทางมูลหลังการกรอกเชื้อ 14 วัน ไม่พบโอโอซิสต์ถูกปล่อยออกมานอกร่างกายสัตว์ในทุกกลุ่มการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ You (2014) ที่พบว่าหลังการกรอกเชื้อ *E. tenella* ในระยะฟักตัวจะพบโอโอซิสต์ถูกขับออกมามากที่สุดในวันที่ 7 หลังการกรอกเชื้อ จากนั้นจะลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 8 หลังการกรอกเชื้อเป็นต้นไป เนื่องจากวงจรเชื้อบิด *E. tenella* มีระยะเวลา 7 วัน (Del Cacho et al., 2014) อีกทั้งไก่ทดลองถูกเลี้ยงบนกรงตับจึงมีโอกาสในการได้รับเชื้อบิดที่อยู่ในมูลกลับเข้าสู่ร่างกายอีก (reinfection) น้อยกว่ากรณีที่เลี้ยงบนพื้นคอก

สรุป

ผลิตภัณฑ์สำหรับการป้องกันโรคบิดในรูปของการถ่ายโอนข้อมูลด้วยวิธีทางคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือข้อมูลเชิงควอนตัม (ผลิตภัณฑ์ Penergetic-t Broiler®) และผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยอบเชยจีนสามารถยับยั้งเชื้อบิดได้ การใช้แบบเดี่ยวมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อบิดด้อยกว่าสารป้องกันโรคบิดทางการค้า แต่การใช้ร่วมกันทำให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น โดยสามารถลดคะแนนรอยโรคบิดของเนื้อเยื่อไส้ติ่งที่เกิดจากเชื้อ *E. tenella* และช่วยฟื้นฟูเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายด้วยเชื้อบิดได้ดีเท่ากับการใช้สารป้องกันโรคบิดทางการค้า

คำขอบคุณ

คณะวิจัยขอขอบคุณบริษัท Behn Meyer Chemicals (T) Co., Ltd ในการสนับสนุนงบประมาณและผลิตภัณฑ์ Penergetic-t Broiler®

เอกสารอ้างอิง

กนกชล อินทร์วิมล, ทวีศักดิ์ ส่งเสริม, ภคอร อัครมธุรากุล, สุรพันธ์ จิตวิริยนนท์ และนวลจันทร์ พารักษา. 2562. การศึกษประสิทธิภาพการป้องกันโรคบิดที่เกิดจาก *Eimeria tenella* ของน้ำมันหอมระเหยอบเชยจีน. แก่นเกษตร. 47: 809-818.

ณัฐวุฒิ เจริญไทย และมัลลิกา ชมนาวัง. 2559. การพัฒนาน้ำมันอบเชยจีนชนิดระบบนำส่งยาแบบก่อให้เกิดไมโครอิมัลชันเองเพื่อใช้ในการต้านจุลชีพในไก่เนื้อ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพฯ.

ทรงพล รดิศพงศ์. 2555. การแปลงข้อมูลผลการวิจัยโดยวิธีทางสถิติ. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 189: 16-19.

วรรณวิภา วรรณศิริ, นันทวัน บุณยะประภัศร, ทวีศักดิ์ ส่งเสริม และนวลจันทร์ พารักษา. 2558. การใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยชนิดละลายน้ำเพื่อการป้องกันโรคบิดในไก่เนื้อ. แก่นเกษตร. 43: 729-738.

สุรพันธ์ จิตวิริยนนท์. 2559. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการป้องกันโรคบิดในไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อาริยา แสงศรี, เสาวลักษณ์ จงประกิจพงส์ และอำไพ นุสสติ. 2557. การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อด้วยน้ำยาเคมีเพื่อการตรวจทางพยาธิวิทยาโดยปราศจากไซลีน. สถาบันพยาธิวิทยา, กรมการแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.

Bogosavljevic-Boskovic, S., S. Mitrovic, R. Djokovic, V. Doskovic, and V. Djermanovic. 2010. Chemical composition of chicken meat produced in extensive indoor and free range rearing systems. African Journal of Biotechnology. 9: 9069-9075.

Chapman, H. D., J. R. Barta, D. Blake, A. Gruber, M. Jenkins, N. C. Smith, X. Suo, and F. M. Tomley. 2013. A selective review of advances in Coccidiosis research. Advances in Parasitology. 83: 93-171.

Cobaxin-Cárdenas, M. E. 2018. Natural compounds as an alternative to control farm diseases: Avian Coccidiosis, pp.135-149. In: R. E. Quiroz Castañeda. Farm Animals Diseases, Recent Omic Trends and New Strategies of Treatment. IntechOpen, London, UK.

Conway, D. P., and M. E. McKenzie. 2007. Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures. 3rd Edition. Blackwell Publishing, Australia.

Del Cacho, E., M. Gallego, H. S. Lillehoj, J. Quílez, E. P. Lillehoj, A. Ramo, and C. Sánchez-Acedo. 2014. IL-17A regulates *Eimeria tenella* schizont maturation and migration in avian coccidiosis. Veterinary Research. 45: 1-9.

Del Giudice, E., A. Tedeschi, G. Vitiello, and V. Voeikov. 2013. Coherent structures in liquid water close to hydrophilic surfaces. Journal of Physics. 6: 1-5.

FAOSTAT. 2014. Livestock poultry production. Live Animals (Production). Available: http://faostat.fao.org/. Accessed Aug. 25, 2020.

Foletti, A., M. Ledda, E. D'. Emilia, S. Grimaldi, and A. Lisi. 2011. Differentiation of human LAN-5 neuroblastoma cells induced by extremely low frequency electronically transmitted retinoic acid. Journal of Alternative and Complementary Medicine. 17: 701-704.

Foletti, A., L. Mario, P. Sara, G. Settimio, and L. Antonella. 2014. Electromagnetic information delivery as a new tool in translational medicine. International Journal of Clinical and Experimental Medicine.7: 2550-2556.

Heredia-Rojas, J. A., A. C. Torres-Flores, A. O. Rodríguez-De, B. D. Mata-Cárdenas, L. E. Rodríguez-Flores, M. P. Barrón-González, A. C. Torres-Pantoja, and J. M. Alcocer-González. 2011. *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*: Trophozoite growth inhibition by metronidazole electro-transferred water. Experimental Parasitology. 127: 80-83.

Hong, C. H., S. K. Hur, O. J. Oh, S. S. Kim, K. A. Nam, and S. K. Lee. 2002. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. Journal of Ethnopharmacology. 83: 153-159.

Hooge, D. M., K. R. Cummings, J. L. McNaughton, C. L. Quarles, and B. A. George. 1999. Dietary sodium bicarbonate, coccidial challenge, and ionophore coccidiostats in broiler chickens. Journal of Applied Poultry Research. 8: 89-99.

Kant, V., P. Singh, P. K. Verma, I. Bais, M. S. Parmar, A. Gopal, and V. Gupta. 2013. Anticoccidial drugs used in the poultry: An overview. Forensic Science International. 1: 261-265.

Kennett, R. L., S. Kantor, and A. Gallo. 1974. Efficacy studies with robenidine, a new type of anticoccidial, in the diet. Poultry Science Journal. 53: 978-986.

Lal, K., E. Bromley, R. Oakes, J. H. Prieto, S. J. Sanderson, D. Kurian, L. Hunt, J. R. Yates, J. M. Wastling, R. E. Sinden, and F.M. Tomley. 2009. Proteomic comparison of four *Eimeria tenella* life-cycle stages: Unsporulated oocyst, sporulated oocyst, sporozoite and second-generation merozoite. Proteomics. 9: 4566-4576.

Lillehoj, H. S., and J. M. Trout. 1996. Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to *Eimeria* parasites. Clinical Microbiology Reviews. 9: 349-360.

Mehlhorn, H., H. Pooch, and W. Raether. 1983. The action of polyether ionophorous antibiotics (monensin, salinomycin, lasalocid) on developmental stages of *Eimeria tenella* (Coccidia, Sporozoa) *in vivo* and *in vitro*: Study by light and electron microscopy. Zeitschrift fuer Parasitenkunde. 69: 457-471.

Norman, R. L., J. Dunning-Davies, J. A. Heredia-Rojas, and A. Foletti. 2016. Quantum information medicine: Bit as it-The future direction of medical science: Antimicrobial and other potential non-toxic treatments. World Journal of Neuroscience. 6: 193-207.

Peek, H. W. 2010. Resistance to anticoccidial drugs: Alternative strategies to control coccidiosis in broilers. Utrecht University Repository. Utrecht University, Netherland.

Peek, H. W., and W. J. M. Landman. 2011. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. Veterinary Quarterly. 31: 143-161.

Prabuseenivasan, S., M. Jayakumar, and S. Ignacimuthu. 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complement. Alternative and Complementary Medicine. 6: 1-8.

Remmal, A., S. Achahbar, L. Bouddine, N. Chami, and F. Chami. 2011. *In vitro* destruction of *Eimeria* oocysts by essential oils. Veterinary Parasitology. 182: 121-126.

Shirley, M. W., A. L. Smith, and F. M. Tomley. 2005. The biology of avian *Eimeria* spp. with an emphasis on their control by vaccination. Journal of Parasitology. 60: 285-330.

Shridhar, N. B. 2007. Efficacy of penergetic-t on health and production status of cross-bred cows. Indian Journal of Animal Research. 41: 235-243.

Wong, D. T., J. S. Horng, and J. R. Wilkinson. 1972. Robenzidene, an inhibitor of oxidative phosphorylation. Biochemical and Biophysical Research Communications. 46: 621-627.

You, M. J. 2014. The comparative analysis of infection pattern and oocyst output in *Eimeria tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina* in young broiler chicken. Veterinary World. 7: 542-547.