มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง การใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2550
จำนวน 300,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นายจำรูญ มณีวรรณ
ผู้ร่วมโครงการ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์ และ นายกิตติพงษ์ ทิพยะ

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
18 / 12 / 2552

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2550 ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
สารบัญตารางผนวก	ง
บทคัดย่อ	จ
ABSTRACT	ฉ
คำนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
การตรวจเอกสาร	3
	12
วัสดุและอุปกรณ์	14
วิธีการทดลอง	15
ผลการทดลองและวิจารณ์	22
สรุปผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ	4
2	ผลของบาซิลลัสซับติลิส (MP) ในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตของแม่พันธุ์และลูกสุกร	18

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของโคโลนีบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 (a), ลักษณะโคโลนีบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 (b)	11
2	ลักษณะของถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการอบและบดพร้อมผสมในอาหาร	13

สารบัญตารางผนวก

ตารางที่		หน้า
1	ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลอง	29
2	อาหารและสารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	29
3	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแม่ก่อนคลอด	31
4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเพิ่มของแม่ก่อนคลอด	32
5	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสูญเสียของแม่หลังคลอด	33
6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสูญเสียของแม่หลังหย่านม	34
7	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอาหารที่แม่กินตลอดการเลี้ยง	35
8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนลูกแรกคลอด	36
9	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนลูกสุกรคายแรกคลอด	37
10	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักลูกสุกรแรกคลอด	38
12	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนลูกสุกรหย่านม	39
13	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักลูกสุกรหย่านม	40
14	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนวันที่ลูกสุกรท้องเสีย	41
15	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลูกสุกรท้องเสีย (เปอร์เซ็นต์)	42

การใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก

UTILIZATION OF PROBIOTIC TO INCREASE PRODUCTIVITY AND SUBSTITUTE THE USE OF ANTIBIOTIC IN SOWS AND FARROWING PIGS

จำรูญ มณีวรรณ มงคล ธิรบุญยานนท์ กิตติพงษ์ ทิพยะ

CHAMROON MANEEWAN MONGKOL TIRABOONYANON

KITTIPHONG THIPHAYA

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูกและใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารแม่สุกร โดยใช้แม่พันธุ์สุกรลูกผสม 2 สายพันธุ์ (Large White x Landrace) จำนวน 32 ตัว แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 8 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ซึ่งแม่พันธุ์สุกรจะได้รับอาหารทดลองดังนี้ กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารสูตรควบคุม, กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 ในรูปของผงถั่วเหลืองหมัก(มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 10^{11} CFU/กรัม) ในอาหารจำนวน 0.1 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ในรูปของผงถั่วเหลืองหมัก(มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 10^{11} CFU/กรัม) ในอาหารจำนวน 0.1 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 4ได้รับอาหารสูตรควบคุมเสริมยาปฏิชีวนะ (Chlortetracycline) ในอาหารจำนวน 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะจะได้รับการเสริมตั้งแต่สุกรแม่พันธุ์มีอายุการอุ้มท้อง 1 วันจนถึงหย่านมลูก รวมเป็นเวลา 145 วัน ผลการทดลองพบว่า น้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมของแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของแม่สุกรก่อนคลอด แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยา

ปฏิชีวนะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จำนวนลูกแรกคลอด แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 กลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุมมีจำนวนลูกแรกคลอดมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตัว/ครอก) จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มควบคุมมีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดตายมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 (P<0.05) สำหรับน้ำหนักลูกสุกรแรกคลอดของทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05)

ABSTRACT

This study which involved the supplementation of *Bacillus subtilis* in diets and its effect on productive performance of sow and litters, investigated the effect of *Bacillus subtilis* in diets on productive performance of 32 sows (Large White × Landrace) which were divided into four groups with each group containing 8 sows in a Completely Randomized Design (CRD). The experimental diets consisted of: diet 1 (T1) as control group; diet 2 (T2) with added *Bacillus subtilis* MP 9 in the form of fermented soybean powder (microbial count at 10^{11} CFU/g) at 10g/kg; diet 3 (T3) with added *Bacillus subtilis* MP 10 in the form of fermented soybean powder (microbial count at 10^{11} CFU/g) at 10g/kg; and diet 4 (T4) with added antibiotic (Chlortetracycline) at 10 g/kg. Swine fed diets supplemented with MP 9 MP 10 and antibiotic received supplementation from 1 day old pregnancy period until weaning at 145 days. Results showed that significantly higher weight loss occurred after weaning ($P<0.05$) for sows fed diets supplemented with MP 9 and antibiotic (Chlortetracycline) than MP 10 and control group. Weight increase in pregnancy sows, significantly higher ($P<0.05$) for sows fed diets supplemented with MP 9 control, MP10 and antibiotic (Chlortetracycline) group. Dead litters of litters at farrowing were significantly higher ($P<0.05$) for sows fed diets supplemented with MP 9 and antibiotic (Chlortetracycline) than MP 10 and control group. Litters at first farrowing much better when compared to the group supplemented and weight with antibiotic and the control group although the 4 groups were non significantly different ($P>0.05$).

คำนำ

ความปลอดภัยของผู้บริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อกำลังได้รับความดูแลอย่างพิเศษจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง สาเหตุหลัก ๆ เกิดจากการตกค้างของยาปฏิชีวนะในขบวนการผลิตสัตว์ โดยเฉพาะการป้องกันและรักษาโรค (Aarestrup และ Wegener, 1999; Bogaard และ Stobbeingh, 1999) แต่ในปัจจุบันการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่องในสัตว์เลี้ยงจะส่งผลถึงการดื้อยาปฏิชีวนะเหล่านี้ได้ (Sorum และ Sunde, 2001) เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในลำไส้ (Orrhage และ Nord, 2000) มีการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (Witte, 2000) ด้วยข้อด้อยของการใช้ยาปฏิชีวนะเหล่านี้ หลาย ๆ ประเทศโดยเฉพาะประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ได้ยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์แล้ว ประเทศไทยในฐานะประเทศผู้ผลิตและส่งออกสินค้าเกษตรรายใหญ่ของโลกประเทศหนึ่ง จำเป็นที่จะต้องมีมาตรการหรือการปรับปรุงยุทธวิธีการผลิตสัตว์ โดยการลดปริมาณหรือยกเลิกการใช้ปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ในประเทศไทย

เทคโนโลยีชีวภาพทางสัตว์ได้ศึกษาถึงบทบาทของโปรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ชนิดต่าง ๆ ในกลุ่ม Lactic acid bacteria เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus thermophilus* เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มศักยภาพการเจริญเติบโตและเป็นการทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ โดยปกติแล้วจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้มีบทบาทในสิ่งมีชีวิตหลายประการดังเช่น กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อก่อโรค (Shu และ Gill, 2001) ผลิตเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยอาหาร (Jin และคณะ, 2000) ลดการผลิตแอมโมเนียในเลือด (Samanya และ Yamauchi, 2002) ป้องกันโรคท้องร่วง (Maruta และคณะ, 1996) และยังรวมไปถึงการเพิ่มการเจริญเติบโตในสัตว์ด้วย (Jin และคณะ, 2000) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับโปรไบโอติกยังมีไม่เพียงพอสำหรับประเทศไทย เพราะฉะนั้นการวิจัยในครั้งนี้ก็เพื่อศึกษาข้อมูลดังกล่าวดังเช่น สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพกับการนำไปประยุกต์ใช้ในสุกรตั้งแต่ระยะหลังหย่านมจนกระทั่งถึงระยะขุน ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้และทดแทนยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทยได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของโปรไบโอติกต่อความสามารถในการป้องกันโรคท้องร่วง และ อัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกรก่อนหย่านม

2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้โปรไบโอติกทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร

3. เพื่อเป็นการค้นหาวิธีการเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

4. เพื่อเป็นการส่งเสริมการทำระบบเกษตรอินทรีย์และส่งเสริมการส่งสินค้าไปต่างประเทศ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ด้านการบริการความรู้แก่ประชาชน เป็นส่งเสริมให้เกษตรกรผู้ทำปศุสัตว์ได้ใช้โปรไบโอติกในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตในสุกร ป้องกันโรคท้องร่วงและยังสามารถใช้ทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในสุกร

2. ด้านการบริการความรู้ด้านธุรกิจ ส่งเสริมให้ผู้ผลิตสัตว์ได้ใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ

3. ด้านการนำไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์ โดยการผลิตโปรไบโอติกให้มีปริมาณที่มากแล้วเตรียมให้อยู่ในรูปแบบที่สะดวกและสามารถจำหน่ายให้แก่ผู้ทำปศุสัตว์ได้ในราคาถูกและมีประสิทธิภาพ

4. ด้านการเป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป เพื่อเป็นการกระตุ้นให้นักวิจัยตามหน่วยงานต่าง ๆ เช่น มหาวิทยาลัย กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้นำองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยไปพัฒนาหรือวิจัยต่อเนื่อง

ตรวจเอกสาร

โปรไบโอติก (probiotic) เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตและนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในสัตว์ โดยที่บทบาทของจุลินทรีย์เหล่านี้มีประโยชน์ต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในลำไส้ของสัตว์ (Fuller, 1989) การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกเริ่มมีบทบาทในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์หรือการป้องกันและรักษาโรคมนุษย์มากขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งยังสามารถที่จะนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะได้ (Sissons, 1989; Tournut, 1989) โดยปกติแล้วพวกเรารับประทานโปรไบโอติกอยู่เสมอ ซึ่งโปรไบโอติกเหล่านี้อาจจะอยู่ในรูปของหลาย ๆ ผลิตภัณฑ์ เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เป็นต้น

การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในด้านการแพทย์ โปรไบโอติกมีบทบาทในการป้องกันและรักษาโรคในมนุษย์หลายประการ Naaber และคณะ (1998) ได้รายงานถึงประสิทธิภาพของโปรไบโอติกที่สามารถยับยั้งการติดเชื้อ *Clostridium difficile* ในหนูทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pinchuk และคณะ (2001) ที่พบว่าโปรไบโอติกในกลุ่ม *Bacillus subtilis* สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคในกลุ่ม *Helicobacter pylori* การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกยังสามารถนำมาเป็นแนวทางในการป้องกันโรคเกี่ยวกับหัวใจที่มีสาเหตุมาจากปริมาณคลอเลสเตอรอลสูงในมนุษย์ได้ (Usman และ Hosono, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าโปรไบโอติกยังสามารถช่วยคนไข้โดยการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายให้เพิ่มในระดับที่สูงขึ้นได้ (Fuller และ Gibson, 1997)

การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ ถึงแม้บทบาทที่สำคัญของยาปฏิชีวนะจะเป็นการป้องกัน การรักษาโรค และยังรวมถึงการเพิ่มการเจริญเติบโตในสัตว์ (Aarestrup และ Wegener, 1999; Bogaard และ Stobbeingh, 1999) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่องในการเลี้ยงปศุสัตว์จะส่งผลถึงการดื้อยา (Sorum และ Sunde, 2001) เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในลำไส้ (Orrhage และ Nord, 2000) มีการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (Witte, 2000) ด้วยเหตุเหล่านี้ หลาย ๆ ประเทศโดยเฉพาะประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ได้ยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์แล้ว การทำปศุสัตว์ยุคใหม่จะเป็นการหลีกเลี่ยงหรือใช้วิธีการอื่น ๆ มาทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะและการใช้โปรไบโอติกก็เป็นแนวทางหนึ่งที่มีการยอมรับและเชื่อว่าสามารถทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะได้ (Sissons, 1998 และ Tournut, 1989) ทั้งนี้เนื่องจากประโยชน์ของโปรไบโอติกสามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตในสัตว์เศรษฐกิจเช่นใน ไก่ สุกร โคนม โคเนื้อ และกุ้ง เป็นต้น ความแตกต่างของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ

โปรไบโอติก	ยาปฏิชีวนะ
<u>คุณสมบัติ</u>	<u>คุณสมบัติ</u>
1. เป็นสิ่งมีชีวิต	1. เป็นสารเคมีบริสุทธิ์
2. ไม่ดูดซึมในทางเดินอาหาร	2. ดูดซึมในทางเดินอาหาร
3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร	3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร
4. ไม่ตกค้างในเนื้อเยื่อ	4. ตกค้างในเนื้อเยื่อ
5. ไม่เกิดการกลายพันธุ์หรือดื้อยา	5. อาจทำให้เชื้ออื่นเกิดการกลายพันธุ์หรือดื้อยา
<u>กลไกการออกฤทธิ์</u>	<u>กลไกการออกฤทธิ์</u>
1. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อเฉพาะที่	1.ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ทั่วร่างกายและออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่าง ๆ ได้มากชนิด
2. เจริญได้ในทางเดินอาหารและแข่งการเจริญกับเชื้อก่อโรคได้	2. ขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์, DNA, RNAและโปรตีนของแบคทีเรีย

ที่มา: Parker (1974); Fuller (1989)

บทบาทของโปรไบโอติกกับการผลิตสุกรนั้นพบว่ามีการประยุกต์ในหลาย ๆ วัตถุประสงค์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตสุกรในปัจจุบันจะเป็นการผลิตในเชิงอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความสูญเสียในด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและด้านสุขภาพของสัตว์อย่างมาก ดังนั้นการใช้โปรไบโอติกก็เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาแก้ไขปัญหาเหล่านี้ การออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกในสุกรมีหลาย ๆ บทบาทดังเช่น

1. การป้องกันโรคทางเดินอาหาร

การเกิดท้องร่วงในสุกรเกิดจากการปล่อยสารพิษของเชื้อก่อโรค ซึ่งบางครั้งอาจเนื่องมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะ (Tsukahara, 2000) ที่มีผลทำให้ขาดความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยทำให้เชื้อก่อโรคเพิ่มจำนวนมากขึ้น การใช้โปรไบโอติกจึงเป็นเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคติดเชื้อบริเวณทางเดินอาหาร (Alexopoulos และคณะ, 2004) เพราะว่าโปรไบโอติกมีความสามารถในการสร้างจุลินทรีย์ท้องถิ่นเข้าสู่สภาวะปกติ โดยจะลดปริมาณเชื้อก่อโรคจำพวก enterbacteria ในลำไส้ (Adami และ Cavazzoni, 1999; Chang และคณะ, 2001; Jadamus และคณะ; 2002) Shu และคณะ (2001) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของโปรไบโอติกในการป้องกันและลดระดับความรุนแรงของโรคท้องร่วง โดย

การใช้โปรไบโอติกชนิด *Bifidobacterium lactis* HNO19 ในปริมาณ 10^9 CFU (โคโลนี)/ตัว/วัน ในลูกสุกร ผลที่ได้พบว่าในกลุ่มที่ให้โปรไบโอติกจะสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งผลดังกล่าวจะสอดคล้องกับการรายงานของ Kyriakis และคณะ (1999) ที่พบว่าโปรไบโอติกชนิด *Bacillus toyoi* สามารถลดความรุนแรงของโรคท้องร่วงในสุกรหลังหย่านม ลดอัตราการตายของลูกสุกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การใช้โปรไบโอติกตั้งแต่สุกรตั้งท้องก็มีผลดีต่อลูกสุกรเช่นเดียวกัน Alexopoulos และคณะ (2001) ได้รายงานการใช้โปรไบโอติกชนิด *Bacillus cereus* ในปริมาณ 85 กรัมต่ออาหาร 1,000 กิโลกรัม ในสุกรตั้งท้องตั้งแต่ 15 วัน ก่อนคลอดจนถึงสิ้นสุดการให้นม พบว่าสามารถลดอัตราการตายและลดความรุนแรงของโรคท้องร่วงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แล้วยังสามารถเพิ่มน้ำหนักลูกสุกร 0.56 กิโลกรัมขึ้นอีกด้วย

2. การยับยั้งการยึดเกาะลำไส้ของเชื้อก่อโรค

การยึดเกาะผิวของลำไส้เป็นคุณสมบัติหนึ่งของโปรไบโอติกที่สำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากการยึดเกาะผิวของลำไส้ของโปรไบโอติกมีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Beachey, 1981; Schiffrin และคณะ, 1997; Juntunen และคณะ, 2001) ควบคุมความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Collado และคณะ, 2007) และยับยั้งการยึดเกาะลำไส้ของเชื้อก่อโรค (Collado และคณะ, 2005; Collado และคณะ, 2006) ซึ่งผลที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะช่วยในการส่งเสริมและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของโฮสต์ (Forestier และคณะ, 2001) Jin และคณะ (2000) พบว่า *Entercoccus faecium* 18C23 มีความสามารถยับยั้งการยึดเกาะของ *E. coli* K88 ที่เยื่อบุผิวของลำไส้เล็กของลูกสุกรได้ โดยการผลิตสารโมเลกุลใหญ่ออกมาขัดขวางการยึดเกาะของ *E. coli* K88 ซึ่งสอดคล้องกับ Roselli และคณะ (2003) พบว่า *Bacillus animalis* มีความสามารถในการลดการยึดเกาะของ *E. coli* K88 ได้ นอกจากนี้ B. *animalis* และ *Lactobacillus casei* มีความสามารถในการลดการบุกรุกเซลล์ของ *E. coli* K88 ได้อีกด้วย

3. การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

การกระตุ้นระบบภูมิคุ้นกันเป็นกลไกที่มีความสำคัญในการทำงานของโปรไบโอติก โปรไบโอติกมีความสามารถในการป้องกันโรคท้องร่วงโดยจะเพิ่มการสร้าง IgA (Perdigon และคณะ, 1995) และกระตุ้นการทำงานของ macrophage และกิจกรรมของ natural killer (NK) (Chiang และคณะ, 2000; Matsuzaki และ Chin, 2000) Shu และคณะ (2001) พบว่าการให้ *Bifidobacterium lactis* HNO19 ในปริมาณ 10^9 CFU (โคโลนี)/ตัว/วัน ในลูกสุกรสามารถเพิ่มการตอบสนองการจับกินของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด leukocyte และการแพร่ขยายของ T-lymphocyte ซึ่งให้เช่นเดียวกับลูกสุกรที่ได้รับ L. acidophilus พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือด (Pollmann และคณะ, 1980) และระดับของแอนติบอดี (Lessard และ Brisson, 1987)

นอกจากนี้โปรไบโอติกยังมีบทบาทสำคัญในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในซีรั่ม (Toit และคณะ, 1998) ลดปริมาณแอมโมเนียในเลือด (Scheuermann, 1993) ลดการเกิดมะเร็งในลูกสุกร (Haberer และคณะ, 2003) ลดการเกิดแผลในลำไส้ใหญ่ (Duncker และคณะ, 2006) ส่งเสริมอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร (Kyriakis และคณะ, 1999) และช่วยในระบบการย่อยอาหาร (Hong และคณะ, 2002) เป็นต้น

ในประเทศไทยการวิจัยเกี่ยวกับถึงประสิทธิภาพของโปรไบโอติกในสุกรยังมีไม่เพียงพอ ดังนั้นการวิจัยของคณะผู้วิจัยในครั้งนี้ จะเป็นการวิจัยเพื่อนำผลการวิจัยที่ได้มาแก้ไขปัญหาของเกษตรกรในการเพิ่มศักยภาพการผลิตสุกร การป้องโรค ตลอดจนเป็นการส่งเสริมการส่งออกสินค้าจำพวกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ และยังลดการนำเข้ายาปฏิชีวนะที่มีราคาแพงจากประเทศอีกด้วย

คุณสมบัติที่ดีของโปรไบโอติก

กิจจาและคณะ (2537) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดีควรมีดังต่อไปนี้

1. ต้องทนกรดได้ดี ไม่ถูกทำลายโดยน้ำย่อยจากกระเพาะอาหารและน้ำดีจากตับอ่อน

2. มีคุณสมบัติที่คงตัว ไม่ถูกทำลายได้ง่ายจากกรรมวิธีการผลิต เช่น การบดละเอียด การถูกความชื้น

3. สามารถผสมผสานกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในทางเดินอาหารและออกฤทธิ์ได้ดีกับทางเดินอาหารทุกส่วน

4. จุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของโปรไบโอติกจะต้องไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติภายหลังจากเข้าไปอยู่ในตัวสัตว์แล้ว

กลไกการทำงานของโปรไบโอติก

กิจจาและคณะ (2537) ได้กล่าวว่าหลักการทำงานของโปรไบโอติกที่ช่วยให้ผลผลิตสัตว์ดีขึ้นนั้น ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่สันนิษฐานว่าเกิดจากเหตุผลต่าง ๆ ดังนี้

1. เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ซึ่งช่วยควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค สมมุติฐานนี้จะเกี่ยวกับกลไกการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ โดยโปรไบโอติกที่มีการแก่งแย่งโภชนะ ได้มาจากการสังเกตเห็นการแย่งโภชนะกันระหว่างจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงโดย Continuous flow system ในห้องทดลองข้อมูลการวิจัยที่ในสภาวะลำไส้เล็กจริง ยังมีไม่เพียงพอที่จะสนับสนุนสมมุติฐานนี้อย่างชัดแจ้ง อย่างไรก็ตาม เชื่อว่ากลไกการยับยั้งการตั้งถิ่นฐานของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่ โดยโปรไบโอติกไม่น่าจะเกิดขึ้นบนลำไส้เล็กอย่างเดียว โปรไบโอติกน่าจะแย่งโภชนะในบริเวณที่เกาะตั้งถิ่นฐานไม่ให้เหลือพอที่เชื้อจุลินทรีย์ใหม่จะใช้ในการเจริญเติบโตและขยายจำนวนได้ หรือมิฉะนั้นสารยับยั้งที่

โปรไบโอติกผลิตขึ้น อาจมีส่วนร่วมในการยับยั้งการตั้งถิ่นฐานของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่ด้วย (สาโรช, 2542)

2. จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์บางตัว มีการสร้างสารคล้ายยาต้านจุลชีพและสารอื่น ๆ ซึ่งคอยควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ เช่น Bacteriocins, Bacteriocin like substances ไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ และกรดอินทรีย์บางชนิด ซึ่ง Bacteriocins และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่จุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกผลิตขึ้นนั้น จะออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง ส่วนกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดไขมันระเหยได้ เช่น กรดแลคติก อะซีติค โพรพิโอนิก และบิวทีริก นอกจากจะช่วยลด pH ของลำไส้ และไส้ติ่งลงให้ไม่เหมาะสมสำหรับการขยายตัวของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่แล้ว กรดที่ยังไม่ไอออนไนซ์ยังมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

3. อาจเกิดจากการสร้างกรดแลคติก (Lactic acid) ทำให้ทางเดินอาหารมีสภาพเป็นกรดไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

4. ลดการสังเคราะห์สารอะมีน (Amine) และแอมโมเนีย (Ammonia) ในทางเดินอาหาร ซึ่งสารเหล่านี้เป็นพิษ และทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารลดลง

5. กลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์แย่งพื้นที่ในการจับตัวกับเยื่อบุลำไส้ ทำให้ จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคมาเกาะและขยายตัวไม่ได้ จุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการต่อต้านการเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่บนผนังลำไส้ โดยกระบวนการที่เรียกว่า Competitive Exclusion หรือ Colonization Resistance ซึ่งเป็นกลไกการต่อต้านการเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่โดยจุลินทรีย์เดิม นอกจากจะขัดขวางการเข้าเกาะของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษโดยตรงแล้ว จุลินทรีย์เดิมในทางเดินอาหารยังผลิตสารซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าไปใหม่ เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ กรดน้ำดีอิสระ เช่น Deoxycholic acid ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยป้องกันการเข้าเกาะและตั้งถิ่นฐาน (Colonization) ของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่ที่เป็นโทษส่วนใหญ่ จากปัญหาการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลล่าในผลิตภัณฑ์สัตว์ ทำให้สัตว์ได้รับเชื้อชนิดนี้เข้าไปมาก จึงเกิดแนวคิดที่จะนำโปรไบโอติกมาแย่งบริเวณยึดเกาะกับเชื้อซัลโมเนลล่าในท่อทางเดินอาหาร โดยมีการทดลองนำเอาจุลินทรีย์เติมในท่อทางเดินอาหารของไก่ที่มีสุขภาพดี ไปให้ลูกไก่ฟักใหม่กิน จะทำให้ลูกไก่พัฒนาจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารที่ทำให้ลูกไก่ต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลล่าได้ดีขึ้น (สาโรช, 2542)

6. จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มีการสร้างน้ำย่อยที่ร่างกายไม่สามารถสร้างได้ เช่น เบต้ากาแลคโตซิเดส เซลลูเลส และเพคติเนส เป็นต้น น้ำย่อยเหล่านี้จะช่วยให้การย่อยสลายสารอาหารในทางเดินอาหารของสัตว์ดีขึ้น สัตว์จะได้รับสารอาหารที่เป็นประโยชน์มากขึ้น

7. จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคในทางเดินอาหารให้สูงขึ้น กลไกการกระตุ้นในสัตว์เกิดภูมิต้านทานโรคของสัตว์ยังไม่แน่นอนนัก แต่เป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าโปรไบโอติก ช่วยกระตุ้นภูมิต้านทานโรคของสัตว์ ทั้งในแง่เพิ่มความต้านทานโรคโดยตัวสัตว์เอง (Non-specific defense mechanisms of the hosts) และในแง่การกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

(Immune system) โดยโปรไบโอติกจะไปกระตุ้นการทำงานของ Macrophages และเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการกินเซลล์ที่แปลกปลอมและกระตุ้นการทำงานของ Immunocompetent cell เช่น Lymphocytes ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับ Cell-mediated immune โดยไม่มีการหลั่ง Antibodies รวมทั้งกระตุ้นการทำงานของ Secretory immune system โดยการหลั่ง Antibodies เช่น IgA ออกมาจับเชื้อจุลินทรีย์แปลกปลอมไม่ให้เกาะกับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กได้ (สาโรช, 2542)

จุลินทรีย์นิยมที่ใช้เป็นโปรไบโอติก

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก เช่น *Lactobacillus* spp. ส่วนใหญ่ได้มาจากทางเดินอาหารของสัตว์หรือผลิตภัณฑ์นม *Bifidobacterium* spp. พบในทางเดินอาหารของทารกที่เลี้ยงด้วยนมแม่ *Enterococcus* spp. พบในลำไส้ของสัตว์ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ยีสต์ *Saccharomyces cerivisiae* และ *Candida pintolopesii* เชื้อรา *Aspergillus niger* จุลินทรีย์โปรไบโอติกส่วนใหญ่จะจำเพาะเจาะจงในการเจริญเติบโตในท่อทางเดินอาหารของสัตว์ที่เป็นที่มาของเชื้อ (Host specific) แต่ก็มีเช่นกันที่สามารถเติบโตในสัตว์ต่างชนิดได้ แต่โปรไบโอติกที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันจะมีจุลินทรีย์หลายชนิดผสมกันอยู่และอาจอยู่ในรูปผง เม็ด (Granule) หรือรูปแป้งเปียก การให้สัตว์กินอาจจะทำโดยการกรอกให้สัตว์กินโดยตรง หรือผสมกับอาหาร เติมลงในน้ำ คุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดีจะต้องสามารถมีชีวิตอยู่ในสภาพการเก็บรักษาตามปกติ และต้องสามารถคงอยู่ในทางเดินอาหารสัตว์ รวมทั้งต้องให้ผลที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ด้วย การเติม โปรไบโอติกในบางกรณีต้องมีการเติมหลายครั้ง หรือให้กินติดต่อกันไประยะหนึ่งเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถตั้งถิ่นฐานอย่างถาวรได้

การจะใช้สารโปรไบโอติกให้ได้ผลดีนั้น ต้องใช้ในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมด้วย ดังที่กล่าวแล้วว่าในสุกรปกติจะมีความสมดุลของจุลินทรีย์ทั้งสองประเภท ในอัตราส่วนที่เหมาะสมอยู่ แต่ถ้าเกิดภาวะเครียดสมดุลนี้จะเสียไป มีการลดลงของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์และเพิ่มขึ้นของ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ทำให้สัตว์แสดงอาการท้องเสีย การเจริญเติบโตช้าลงและอ่อนแอ ในภาวะดังกล่าวนี้ การเสริมสารโปรไบโอติกลงไปจะทำให้สัตว์มีการตอบสนองที่ดี มีการปรับภาวะ จุลินทรีย์ในทางเดินอาหารกลับสู่ปกติได้ สภาวะที่ใช้สารโปรไบโอติกได้ดีได้แก่

1.ช่วงหย่านมสุกร

2.ช่วงที่มีการเคลื่อนย้ายสัตว์

3.ช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างเฉียบพลัน

4.ช่วงเปลี่ยนอาหาร

5.สภาพสัตว์ที่เลี้ยงอย่างแออัด

6.ภายหลังจากการใช้ยาต้านจุลชีพเป็นระยะเวลานาน

แม้ว่าโปรไบโอติกจะมีข้อดีมากมาย แต่ก็ยังมีข้อเสียอยู่บ้าง รวมไปถึงการที่ใช้แล้วมักได้ผลไม่แน่นอน ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ คือ

1.การผลิตและการเก็บรักษาที่ยุ่งยาก ทำให้อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ต่ำ

2.สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้แตกต่างกัน จะให้ผลที่แตกต่างกัน

3.ปริมาณการใช้ที่ไม่แน่นอน อาจให้ผลที่แตกต่างกัน

4.วิธีการให้อาหาร ตลอดจนความถี่ในการให้อาหารของแต่ละฟาร์ม มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์โปรไบโอติก

5.ความเฉพาะเจาะจงของเชื้อจุลินทรีย์กับชนิดของสัตว์ เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดใช้ได้ผลดีกับสัตว์ชนิดหนึ่ง แต่อาจให้ผลไม่ดีกับสัตว์อีกชนิดหนึ่ง

6.การใช้ยาต้านจุลชีพในอาหาร มีผลยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของสารโปรไบโอดิก

7.คุณสมบัติของแบคทีเรียที่ใช้เป็นส่วนประกอบของโปรไบโอติก

ผู้เลี้ยงที่คิดจะนำสารโปรไบโอติกมาใช้ จึงควรศึกษารายละเอียดและคุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของโปรไบโอติกนั้นๆ ก่อนที่จะนำมาใช้ ตลอดจนศึกษาการเก็บรักษา วิธีการใช้ ขนาดที่ใช้ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้เพื่อให้คุ้มค่ากับเงินที่ลงทุนไป (กิจจา และคณะ , 2537)

ลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis*

Holt และ คณะ (1994) กล่าวว่า บาซิลลัสเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างของเซลล์เป็นรูปแท่งตรงขนาด 0.5-2.5 × 1.2-7.0 ไมโครเมตร เรียงตัวกันเป็นคู่หรือเส้นสายหรือเป็นวงกลมหรือสี่เหลี่ยม ติดสีแกรมบวก มี Endospore รูปไข่ กลม หรือ ทรงกระบอก เป็นพวกที่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง ต้องการอินทรีย์สารเป็นอาหาร (Chemoorganotrophs) สามารถเกิดกระบวนการหมักหรือ กระบวนการหายใจ ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่เลวร้ายได้ เช่น ทนความร้อนและทนความเค็มได้ดี ทดสอบการสร้างเอนไซม์คาตาเลส (Catalase Test) ให้ผลเป็นบวก แบคทีเรียในตระกูลนี้สามารถพบได้หลาย ๆ แหล่ง บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรคในสัตว์มีกระดูกสันหลังหรือพวกไม่มีกระดูกสันหลัง

Snealth และ คณะ (1986) กล่าวว่า บาซิลลัส ซับติลิส เป็นแบคทีเรียแบบที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic Bacteria) หรือต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (Facultative Anaerobic Bacteria) ไม่ทำให้เกิดโรค มีรูปร่างเป็นแท่งตรง มี flagella รอบเซลล์ (Peritrichous) เจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5-8.5 สร้าง Hydrolytic enzyme ที่สลาย Polysaccharide, Nucleic acid และ Lipid โดยใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นตัวให้อิเลคตรอน มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน บทบาทสำคัญของเชื้อตัวนี้คือการปล่อยเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีน เชื้อบาซิลลัส ซับติลิส เป็นแบคทีเรียแกรมบวก พบโดยทั่วไป มีความสามารถในการสร้างสปอร์ และมีความทนทานเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อม

ที่ไม่เหมาะสม ซึ่งจะเป็นคุณสมบัติพิเศษที่แตกต่างจากจุลินทรีย์ในสายพันธุ์เดียวกัน ลักษณะโดยทั่วไปมีดังต่อไปนี้

1. มีรูปร่างเป็นท่อน ส่วนใหญ่ไม่มีโทษ เป็นสิ่งมีชีวิตที่ย่อยสลายอินทรีย์สาร (Saprophyte) อยู่ในดิน น้ำจืด น้ำเค็ม

2. มีความสามารถสร้างน้ำย่อยภายนอกเซลล์ (Exoenzyme) ที่สามารถย่อยแป้งและเคซินได้

3.มีเอนโดสปอร์ที่ทนความร้อนได้ปานกลาง จึงอาจผ่านขบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน (Pasteurization) ได้

ที่มาและลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis*

จากความต้องการโปรไบโอติกที่เหมาะสมกับพื้นที่ภาคเหนือตอนบน ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จึงได้ทำการศึกษาและคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อที่จะนำมาเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติก โดยทำการคัดเลือกจุลินทรีย์จากถั่วเน่าซึ่งเป็นอาหารพื้นบ้านทางภาคเหนือ จากการคัดเลือกพบจุลินทรีย์จำนวน 689 ไอโซเลท จากนั้นจึงนำมาทดสอบคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติกโดยจะพิจารณาจากความสามารถดังนี้

1. ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเช่น *Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Aeromonas hydrophila*

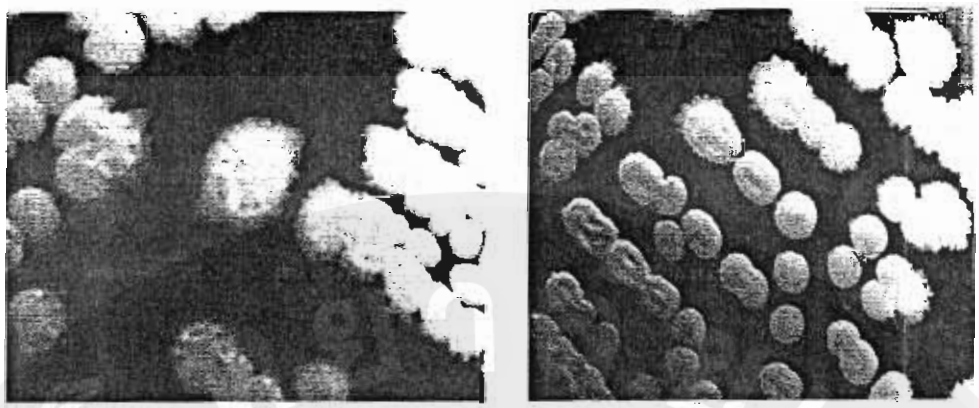
2. ความสามารถในการทนสภาพความเป็นกรดสูง (pH 3.0)

3. ความสามารถทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

4. ความสามารถในการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูง 50 องศาเซลเซียส

จากการคัดเลือกพบแบคทีเรียไอโซเลท T-26.7 และ ไอโซเลท T-29.11 มีศักยภาพเป็นโปรไบโอติกมากที่สุด ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน สร้างสปอร์ได้ และเมื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท โดยใช้ความเหมือนของลำดับเบสของยีน 16S rRNA กับฐานข้อมูลใน GenBank พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท มีความคล้ายคลึงกับ บาซิลลัส ซับติลิส 98 และ 97 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเรียกชื่อใหม่ดังนี้คือ T-26.7 เป็น บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ T-29.11 เป็น บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 แสดงดังภาพที่ 1 (a) และลักษณะโคโลนีของบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 แสดงดังภาพที่ 1 (b)

จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ไปศึกษาการผลิตเป็นโปรไบโอติกผงโดยการกระตุ้นให้เชื้อสร้างสปอร์และการผลิตในรูปเชื้อสด พบว่าการเตรียมเชื้อในรูปสปอร์จะมีจำนวนรอดชีวิตสูงกว่าในรูปเชื้อสดมาก เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (ศศิมา, 2550)



(a) (b)

ภาพที่ 1 ลักษณะของโคโลนีบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 (a), ลักษณะโคโลนีบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 (b)

วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ผลิตบาซิลลัส ซับติลิส MP ในถั่วเหลืองหมัก

1. ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด
2. เชื้อบาซิลลัส ซับติลิส MP 9
3. เชื้อบาซิลลัส ซับติลิส MP 10
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดเหลว (Nutrient Broth)
5. เครื่องเขย่า (Shaker) ความเร็ว 150 รอบ/นาที
6. เครื่องแก้วและอุปกรณ์สำหรับเพาะเชื้อบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10
7. เตาแก๊ส
8. เทอร์โมมิเตอร์
9. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
10. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส
11. เครื่องบดละเอียด
12. ตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับเก็บรักษาโปรไบโอติก

การเตรียมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ในถั่วเหลืองหมัก

ทำการเตรียมเชื้อโดยเพาะเลี้ยงเชื้อบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB (Nutrient Broth) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่า (Shaker) ที่มีความเร็ว 150 รอบต่อนาที จากนั้นนำเชื้อมาใส่ลงในถั่วเหลืองต้มบดในอัตราส่วน 50 มล./ 1,000 กรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณของเชื้อบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 อยู่ที่ 10^{11} CFU/กรัม จากนั้นแช่น้ำแข็ง นาน 30 นาที เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์ เมื่อครบกำหนดนำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด เพื่อสะดวกในการนำไปผสมอาหารต่อไป ลักษณะของถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการบดแสดงดังภาพที่ 2

ภาพที่ 2 ลักษณะของถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการอบและบดพร้อมผสมในอาหาร

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแม่สุกร

1. ซองยืน จำนวน 32 ซองและซองคลอด จำนวน 18 ซอง
2. อุปกรณ์ช่วยในการเลี้ยงสุกร เช่น ที่ตักอาหาร
3. เครื่องผสมอาหารสุกรชนิดถังนอนขนาดความจุ 100 กิโลกรัม
4. เครื่องชั่ง สำหรับชั่งอาหารและน้ำหนักสุกร
5. บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ในถั่วเหลืองหมัก ชนิดผง
6. ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ชนิดผสมอาหาร ชื่อการค้า CTC GRADE TYPE 1® ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอส.ดี.เอส ไบโอเทค สิงค์โปร
7. อาหารทดลองมีดังนี้

7.1 อาหารควบคุม

7.2 อาหารควบคุม + บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 ในถั่วเหลืองหมักชนิดผงที่มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^{11} CFU/ml เสริมลงในอาหาร 10 กรัม/อาหาร 1 กก.

7.3 อาหารควบคุม + บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ในถั่วเหลืองหมักชนิดผงที่มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^{11} CFU/ml เสริมลงในอาหาร 10 กรัม/อาหาร 1 กก.

7.4 อาหารควบคุม + ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline เสริมลงในอาหาร 10 กรัม/อาหาร 1 กก.

สัตว์ทดลอง

ใช้แม่สุกรพันธุ์ผสม 2 สาย (Large white×Landrace) จำนวนทั้งหมด 32 ตัว ที่ได้รับการผสมและตั้งท้อง โดยแบ่งแม่สุกรออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 8 ตัว เริ่มทำการทดลองเมื่อ แม่สุกรได้รับการผสมและตั้งท้องที่ 1 วัน จนหย่านมลูก รวมระยะเวลาการทดลอง 145 วัน

วิธีการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design; CRD) ศึกษาผลของการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส ในอาหารแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก โดยสุกรจะได้รับอาหารทดลองแบบเต็มที่ (*ad libitum*) และได้รับน้ำตลอดเวลา ซึ่งอาหารที่ให้จะมีส่วนประกอบทางโภชนะตรงตามความต้องการของสัตว์ที่แนะนำโดย NRC (1998)

การบันทึกข้อมูล

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่แม่สุกรได้รับการผสมและตั้งท้องจนถึงหย่านม ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง 145 วัน

1. บันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวของแม่สุกรก่อนเริ่มทำการทดลอง เพื่อนำมาเปรียบเทียบหาอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเพิ่มน้ำหนักก่อนคลอด

2. บันทึกน้ำหนักตัวของแม่สุกรหลังคลอดและหย่านมเพื่อหาน้ำหนักสูญเสียหลังคลอดและหลังหย่านม

3. บันทึกอัตราการกินอาหารของแม่สุกรในแต่ละวัน ตั้งแต่วันเริ่มทำการทดลองจนถึงวันที่แม่สุกรหย่านม (ประมาณ 142 วัน)

4. ทำการบันทึกอัตราลูกมีชีวิตแรกคลอด จำนวนลูกต่อครอก และจำนวนลูกตายแรกคลอด

5. ทำการบันทึกน้ำหนักของลูกสุกรแรกคลอดที่อายุ 7 วัน และเมื่อหย่านม

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (Duncan, 1955)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองเสริมบาซิลลัส ซับติลิส ในอาหารแม่สุกร โดยทำการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์แม่โจ้ 9 (MP 9) ในถั่วเหลืองหมัก (จำนวนเชื้อเท่ากับ 10^{11} โคโลนี/กรัม อัตราส่วน 10 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม) บาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์แม่โจ้ 10 (MP 10) ในถั่วเหลืองหมัก (จำนวนเชื้อเท่ากับ 10^{11} โคโลนี/กรัม อัตราส่วน 10 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม) เปรียบเทียบกับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline และกลุ่มควบคุม ตั้งแต่เริ่มผสมพันธุ์จนถึงหย่านมลูก เป็นเวลา 145 วัน โดยใช้แม่สุกรทดลองจำนวน 32 ตัว จากการทดลองพบว่า

สมรรถภาพการผลิตของสุกรแม่พันธุ์อุ้มท้อง

1. ปริมาณอาหารที่กินของแม่สุกร

ผลต่อปริมาณอาหารที่แม่สุกรกินตลอดการทดลองแสดงในตารางที่ 2 พบว่าแม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 กินอาหารเฉลี่ยมากที่สุด 371.00 กิโลกรัม รองลงมา คือ แม่สุกรที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 368.43 กิโลกรัม แม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 366.18 และแม่สุกรกลุ่มควบคุม 364.93 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มการทดลอง

2. น้ำหนักตัวของแม่สุกร

ผลของน้ำหนักแม่สุกรก่อนทำการทดลองแสดงในตารางที่ 2 พบว่าแม่สุกรกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยมากที่สุด 177.87 กิโลกรัม รองลงมาเป็นแม่สุกรกลุ่มที่เสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 176.37 กิโลกรัม กลุ่มที่เสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 176.06 กิโลกรัม และกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 171.12 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มการทดลอง

ผลของน้ำหนักแม่สุกรก่อนคลอดแสดงในตารางที่ 2 พบว่าแม่สุกรกลุ่มที่เสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยมากที่สุด 251.31 กิโลกรัม รองลงมาเป็นแม่สุกรกลุ่มควบคุม 239.12 กิโลกรัม กลุ่มที่เสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 231.00 กิโลกรัม และกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 230.00 กิโลกรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มการทดลอง

ผลของน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยของแม่สุกรก่อนคลอด แสดงในตารางที่ 2 พบว่าแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยมากที่สุด 75.00 กิโลกรัม รองลงมาเป็นแม่สุกรกลุ่มควบคุม 61.25 กิโลกรัม กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 59.87 กิโลกรัม และแม่สุกรที่ได้รับยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 53.93 กิโลกรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของน้ำหนักสูญเสียของแม่สุกรหลังคลอดเฉลี่ย แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักสูญเสียหลังคลอดเฉลี่ยสูงสุด 25.50 กิโลกรัม รองลงมาเป็นแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 17.87 กิโลกรัม ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 15.06 กิโลกรัม ส่วนแม่สุกรกลุ่มควบคุม 14.25 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมเฉลี่ย แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline มีน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมเฉลี่ยสูงสุด 32.10 กิโลกรัม แตกต่างจากแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 20.06 กิโลกรัม และกลุ่มควบคุม 19.50 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

3. ประสิทธิภาพของแม่สุกรในการผลิตลูกสุกร

ผลของจำนวนลูกเฉลี่ยแรกคลอด/ครอก แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนลูกเฉลี่ยแรกคลอด/ครอกสูงที่สุด13.37 ตัว รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 12.50 ตัว กลุ่มควบคุม 10.62 ตัว และกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 8.37 ตัว ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของจำนวนลูกสุกรตายเฉลี่ยแรกคลอด แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดสูงที่สุด0.75 ตัว รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม 0.62 ตัว กลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 0.25 ตัว ส่วนกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 ตัว ไม่พบว่ามีลูกสุกรตายแรกคลอด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของน้ำหนักลูกสุกรเฉลี่ยแรกคลอด แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีน้ำหนักลูกสุกรเฉลี่ยแรกคลอดสูงที่สุด1.67 กิโลกรัม รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม 1.63 กิโลกรัม กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 1.58 กิโลกรัม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 1.46 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของจำนวนลูกสุกรหย่านมเฉลี่ย/ครอก แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับคิลิส MP 9 มีจำนวนลูกสุกรหย่านมเฉลี่ย/ครอกสูงที่สุด 11.25 ตัว รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม 9.62 ตัว กลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 9.50 ตัว และกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 7.62 ตัว ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของน้ำหนักลูกสุกรหย่านมเฉลี่ย/ตัว แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีน้ำหนักลูกสุกรหย่านมเฉลี่ย/ตัวสูงที่สุด7.54 กิโลกรัม รองลงมาเป็นกลุ่มควบคุม 7.35 กิโลกรัม กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 6.57 กิโลกรัม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 6.42 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

เปอร์เซ็นต์ลูกสุกรท้องเสีย แสดงไว้ในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline มีเปอร์เซ็นต์ลูกสุกรท้องเสียมากที่สุด 47.86 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 33.14 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 25.34 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุม 23.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกสุกรท้องเสีย แสดงในตารางที่ 2 พบว่า แม่สุกรกลุ่มควบคุมมีจำนวนวันเฉลี่ยที่ลูกสุกรท้องเสียมากที่สุด 7.30 วัน รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 6.64 วัน กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 5.78 วัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 5.59 วัน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ตารางที่ 2 ผลของบาซิลลัสซับติลิส (MP) ในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตของแม่พันธุ์และลูกสุกร

รายการ	กลุ่มที่ 1[1/]	กลุ่มที่ 2[2/]	กลุ่มที่ 3[3/]	กลุ่มที่ 4[4/]
จำนวนแม่ที่ทำการทดลอง	8	8	8	8
น้ำหนักแม่ก่อนทำการทดลอง	177.87	176.37	176.06	171.12
น้ำหนักแม่ก่อนคลอด	239.12[ab]	251.37[a]	231.00[b]	230.00[b]
น้ำหนักเพิ่มของแม่ก่อนคลอด	61.25[ab]	75.00[a]	59.87[ab]	53.93[b]
น้ำหนักสูญเสียหลังคลอด	14.25	25.50	17.87	15.06
น้ำหนักสูญเสียหลังหย่านม	19.50	32.10	20.06	32.10
ปริมาณอาหารที่แม่กินตลอดการเลี้ยง	364.93	371.00	366.18	368.43
จำนวนลูกแรกคลอด/ครอก	10.62[ab]	13.37[a]	8.37[b]	12.50[a]
จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด	0.62[a]	0.00[b]	0.75[a]	0.25[ab]
น้ำหนักลูกสุกรแรกคลอด	1.63	1.58	1.67	1.46
จำนวนลูกสุกรหย่านม/ครอก	9.62[ab]	11.25[a]	7.62[b]	9.50[ab]
น้ำหนักหย่านม	7.35	6.57	7.54	6.42
เปอร์เซ็นต์ลูกสุกรท้องเสีย	23.11[b]	33.14[ab]	25.34[b]	47.86[a]
จำนวนวันที่ลูกสุกรท้องเสีย	7.30[ab]	5.59[ab]	5.78[b]	6.64[a]

หมายเหตุ [a,b] ตัวอักษรที่กำกับค่าเฉลี่ยที่แตกต่างในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1/] กลุ่มควบคุม

[2/] กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 ในอัตรา 10 ก./กก.อาหาร (10×10^{11}CFU/กก.อาหาร)

[3/] กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ในอัตรา 10 ก./กก.อาหาร (10×10^{11}CFU/กก.อาหาร)

[4/] กลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ในอัตรา 10 ก./กก.อาหาร

จากผลที่แม่สุกรที่ได้รับอาหารเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 พบว่ามีปริมาณอาหารที่กินตลอดการเลี้ยงปริมาณอาหารที่กินทั้งหมดมากกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ส่งผลให้มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในช่วงอุ้มท้อง สูงกว่าทั้ง 3 กลุ่ม โดยอัตราการเพิ่มน้ำหนักของแม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จะดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) นั้นอาจเป็นผลมาจากความสามารถในการย่อย

ได้ที่เพิ่มมากขึ้นของบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 สอดคล้องกับ นงลักษณ์ และ ปรีชา (2550) ที่รายงานว่าบาซิลลัส ซับติลิส สามารถสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ ได้ ส่วนใหญ่จะเป็นพวก Exoenzyme ซึ่งใช้ย่อยสารโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลง แล้วจึงนำสารอาหารที่มีโมเลกุลเล็กเข้าไปภายในเซลล์ ผลจากการทำงานของเอนไซม์นี้ทำให้เกิดการย่อยอาหารที่หลงเหลืออยู่ภายในลำไส้เพิ่มมากขึ้นดังนี้ Tomohiro และ คณะ (2000) ได้รายงานไว้ว่า บาซิลลัส ซับติลิส สามารถสร้างเอนไซม์ Catalase และ Subtilisinได้ นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus* spp.ได้อีกทางหนึ่ง สอดคล้องกับรายงานของ Jadamus และ คณะ (2003) ที่ได้กล่าวว่าจุลินทรีย์โปรไบโอติกมีผลสำคัญต่อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ ทำให้ขบวนการย่อยมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นรวมทั้งยังสอดคล้องกับรายงานของนวลจันทร์ (2533) ที่กล่าวว่า การเสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกที่มีเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* และบาซิลลัส ซับติลิส จะมีการย่อย การดูดซึม และการใช้ประโยชน์ของสารอาหารต่าง ๆ ดีกว่าสูตรอาหารปกติ

สำหรับน้ำหนักสูญเสียของแม่สุกรหลังคลอดของแม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักสูญเสียหลังคลอดเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เนื่องจากค่าเฉลี่ยมีความแปรปรวนสูงจึงทำให้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมพบว่ากลุ่มของแม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ มีน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมสูงกว่าแม่สุกรกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณการกินอาหารในช่วงเลี้ยงลูก (คลอดจนถึงหย่านมลูก) แม่สุกรกลุ่มที่เสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะมีปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยน้อยกว่าแม่สุกรกลุ่มควบคุม แต่จำนวนของลูกสุกรแรกคลอด (ตัว/ครอก) น้ำหนักลูกสุกรแรกคลอดและน้ำหนักเพิ่มขึ้นของลูกสุกรทั้งครอกต่อแม่สูงกว่าทั้งสองกลุ่ม ซึ่งแม่สุกรอาจได้รับปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงทำให้มีปริมาณน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมสูง สอดคล้องกับ วันดี (2546) กล่าวว่า ความต้องการอาหารของแม่สุกรเลี้ยงลูกขึ้นอยู่กับจำนวนลูกสุกรว่ามากน้อยเพียงใด ถ้าขนาดครอกใหญ่ต้องให้อาหารมากเพื่อให้มีการผลิตน้ำนมเพิ่มมากขึ้น นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับขนาดของแม่อีกด้วย ซึ่งโดยปกติการให้อาหารอย่างต่ำไม่ควรน้อยกว่า 1.8 % ของน้ำหนักตัวแม่สุกร รวมกับ 250 กรัมต่อลูกสุกร 1 ตัว เช่น แม่สุกรน้ำหนัก 175 กิโลกรัม เลี้ยงลูก 13 ตัว ก็ควรจะให้อาหาร $(1.8/100\times175) + (13\times0.25) = 3.15+3.25 = 6.4$ กิโลกรัม/วัน ดังนั้นตลอดระยะเวลาการเลี้ยงลูก 28 วันแม่สุกรควรได้รับอาหาร $6.4\times 28 = 179.2$ กิโลกรัม แต่แม่สุกรทุกกลุ่มที่ทำการทดลองครั้งนี้มีจำนวนอาหารที่กินน้อยกว่ามาตรฐาน จึงทำให้แม่สุกรมีน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมสูง

จากผลของประสิทธิภาพในการผลิตลูกของแม่สุกรปรากฏว่า จำนวนลูกสุกรแรกคลอด (ตัวต่อครอก) แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริม บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริม บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดพบว่าแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ มีจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดน้อยกว่าแม่สุกรกลุ่มควบคุมและแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ทั้งนี้การเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 จะช่วยปรับปรุงความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่สุกรช่วยให้แม่สุกรมีความสมบูรณ์พันธุ์เพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ เยาวมาลย์และสาโรช (2544) ซึ่งได้ทำการทดสอบการเสริม โปรไบโอติกโตโยเซอรีนในอาหารสุกรอุ้มท้องและเลี้ยงลูกแบบต่อเนื่องระยะยาวติดต่อกันถึง 2 ครอกกับแม่สุกรที่ตั้งท้องครั้งที่ 2 โดยเสริมโตโยเซอรีน 0.06% ในอาหารแม่สุกรอุ้มท้องและเลี้ยงลูก ผลปรากฏว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพต่อสมรรถนะการผลิตและสุขภาพของแม่ และสุกรที่เลี้ยงภายใต้สภาพเดียวกัน โดยจะมีผลทำให้ลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตและหย่านม น้ำหนักลูกทั้งหมดเมื่อหย่านม ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ความสม่ำเสมอของลูกสุกรเมื่อหย่านมและการเป็นสัดของแม่สุกรหลังหย่านมดีขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริม ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าการเสริม โปรไบโอติก โตโยเซอรีน ติดต่อกันเป็นระยะยาว ทั้งในอาหารแม่และลูกสุกรนอกจากจะมีผลทำให้สมรรถนะการผลิตของแม่สุกรเพิ่มขึ้นแล้วยังเป็นสารเร่งโภชนะทางชีวภาพ และสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคให้แก่ลูกสุกรอีกด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Alexopoulos และ คณะ (2001) ได้ศึกษาการเสริม *Bacillus cereus* ต่อประสิทธิภาพการผลิตของแม่สุกรและลูกสุกร โดยศึกษาในแม่สุกรตั้งท้อง 60 ตัว โดยจะศึกษา คุณลักษณะทางคลินิก (ความรู้สึกอยากอาหาร ไข้หลังคลอด เต้านมอักเสบ ระยะเวลาการกลับสัด อัตราการคาย และการถูกคัดทิ้ง) ระยะเวลาการตั้งท้อง น้ำหนักตัวแม่ก่อนคลอด ขนาดครอกมีชีวิต จากการทดลองพบว่า ในช่วงของการให้นม ไขมันในนมเพิ่มขึ้น 0.46% น้ำหนักสูญเสียของแม่ลดลงและจำนวนลูกหย่านมเพิ่มขึ้น 0.6 ตัวต่อครอก ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ระยะเวลาที่แม่สุกรท้องว่างลดลง 1 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถสรุปได้ว่าการเสริม *Bacillus cereus* ในอาหารตั้งแต่อุ้มท้องถึงหย่านมลูก สามารถที่จะส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตรวมทั้งช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกรได้อีกทางหนึ่งด้วย

ส่วนประสิทธิภาพการผลิตของแม่สุกรโดยวัดจากน้ำหนักของลูกสุกรพบว่าน้ำหนักของลูกสุกรกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่แม่สุกรได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นของลูกสุกรตั้งแต่แรกคลอดถึงหย่านม (รวมทั้งครอก) มากกว่าแม่สุกรได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 กลุ่มที่ได้รับที่เสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับรายงานของ Alexopoulos และ คณะ (2004) ได้ศึกษาประโยชน์จากการใช้โปรไบโอติก ชนิด *Bacillus licheniformis* และ บาซิลลัส ซับติลิส ที่มีต่อสุขภาพ และสมรรถภาพการให้ผลผลิตของแม่สุกรและลูกสุกร พบว่าจุลินทรีย์มีผลต่อคุณภาพเลือดทำให้ปัจจัยของน้ำนมเช่น serum, cholesterol ไขมัน และโปรตีนในน้ำนมสูงขึ้น ลูกสุกรมีสุขภาพดี ลดปริมาณการตายของลูกสุกรก่อนหย่านม ทำให้น้ำหนักตัวของสุกรหย่านมเพิ่มขึ้น แต่เนื่องแม่สุกรที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 กลุ่มที่ได้รับที่เสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline มีจำนวนลูกสุกรมากกว่าจึงส่งผลให้มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นของลูกสุกร

ตั้งแต่แรกคลอดถึงหย่านม (รวมทั้งครอก)น้อยกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่แม่สุกรได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 นอกเหนือจากนี้แล้วยังช่วยปรับปรุงสุขภาพของแม่สุกร เพิ่มอัตราลูกสุกรมีชีวิต ลดอัตราการเกิดเต้านมอักเสบของแม่สุกร และลดปัญหาการกลับสัดช้าของแม่สุกรอีกด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Stamati และ คณะ (2006) กล่าวว่าจากการเสริม *Bacillus toyoi* ในแม่สุกรอุ้มท้อง และเลี้ยงลูกโดยศึกษาผลของสุขภาพลูกสุกรและประสิทธิภาพการผลิตของลูกสุกร พบว่าแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริม *Bacillus toyoi* มีน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมลดลง เนื่องจากปัจจัยของเลือด และน้ำนมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากปริมาณ Cholesterol และไขมันรวมใน serum สูงขึ้น ส่งผลต่อปริมาณไขมันในนม และโปรตีนนม ทำให้คุณภาพของน้ำนมสูงขึ้นตลอดช่วงการให้นม ซึ่งจะส่งผลดีต่อสุขภาพของลูกสุกร ประสิทธิภาพการผลิตของลูกสุกร รวมทั้งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต และสุขภาพของแม่สุกร โดยระยะเวลาในการกลับสัดของแม่สุกรมีแนวโน้มที่ลดลง

สำหรับอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของลูกสุกรพบว่า ลูกสุกรของแม่ในกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดรองลงมาเป็นลูกสุกรของแม่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และลูกสุกรของแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด แต่ทั้งสามกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกรจะขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำนมและปริมาณลูกสุกรต่อแม่ซึ่งจากการทดลองพบว่าลูกสุกรของแม่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ มีจำนวนมากกว่าทั้งสองกลุ่ม จึงทำให้มีปริมาณน้ำนมไม่เพียงพอกับความต้องการของลูกสุกรทำให้อัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าลูกสุกรของแม่ในกลุ่มควบคุมสอดคล้องกับ วันดี (2546) กล่าวว่า แม่สุกรที่มีจำนวนลูกมากหรือขนาดครอกใหญ่ จะทำให้ลูกสุกร ไม่สามารถได้รับน้ำนมอย่างเพียงพอจึงส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของลูกสุกรในกลุ่มที่มีขนาดตัวเล็ก

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์แม่โจ้ 9 (MP 9) ในอาหารสุกรแม่พันธุ์อุ้มท้องพบว่า

1. กลุ่มของแม่สุกรที่ได้รับการเสริม MP 9 ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด มีแนวโน้มมากกว่าแม่สุกรในกลุ่มควบคุมและแม่สุกรในกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ซึ่ง MP 9 มีแนวโน้มที่จะช่วยเพิ่มปริมาณอาหารที่กินของแม่สุกรช่วงอุ้มท้องได้แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05)

2. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในช่วงอุ้มท้อง พบว่ากลุ่มของแม่สุกรที่ได้รับการเสริม บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักเพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ส่วนน้ำหนักสูญเสียหลังคลอด พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 กลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุม สำหรับน้ำหนักสูญเสียหลังหย่านมพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 กลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3. ประสิทธิภาพในการผลิตลูกของแม่สุกรพบว่า แม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริม บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนลูกสุกรแรกคลอด (ตัวต่อครอก) สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ แม่สุกรกลุ่มควบคุม และแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP10 ส่วนน้ำหนักของลูกสุกรแรกคลอดของ น้ำหนักเพิ่มขึ้นของลูกสุกรรวมทั้งครอกต่อแม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ส่วนจำนวนลูกสุกรที่ตายแรกคลอดพบว่าแม่สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดน้อยกว่ากลุ่มที่ค้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP10 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติ (P<0.05)

ซึ่งจากผลทั้งหมดนี้มีแนวโน้มว่าบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 สามารถช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตของแม่พันธุ์สุกรอุ้มท้องได้

เอกสารอ้างอิง

กิจจา อุไรรงค์, ธวัชชัย ศักดิ์ภู่อร่าม, วรวิทย์ วัชชวัลคุ และ ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ. 2537. **การควบคุมและป้องกันโรคที่สำคัญในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 273 น.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 735 น.

นวลจันทร์ พารักษา. 2533. สาระน่ารู้เกี่ยวกับโปรไบโอติก. **สุกรสาส์น**. 15(59): 5-8.

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และสาโรช ค้าเจริญ. 2530. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ปีก**. ขอนแก่น: ภาควิชา สัตวศาตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 335 น.

วันดี ทาตระกูล. 2546. **สุกรและการผลิตสุกร**. เชียงใหม่: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 374 น.

ศศิมา วรหาญ. 2550. **การคัดเลือกและศึกษาประสิทธิภาพของโปรไบโอติกแบคทีเรียต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค**. เชียงใหม่: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 141 น.

สาโรช ค้าเจริญ. 2542. **อาหาร และการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง**. ขอนแก่น: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 685 น.

Aarestrup, F.M., and Wegener, H.C. 1999. The effects of antibiotic usage in food animal on the development of antimicrobial resistance for important for humans in Campylobacter and *Escherichai coli*. **Microbes. Infect.** 1: 639-644.

Adami, A. and Cavazzoni, V. 1999. Occurrence of selected bacterial groups in the faeces of piglets fed with *Bacillus coagulans* as probiotic. **J. Basic Microbiol**. 39: 3-9.

Alexpoulos, C., Karagiannidis, A., Kritas, S.K., Boscos, C., Georgoulakis, I.E. and Kyriakis, S.C. 2001. Field evaluation of a bioregulator containing live *Bacillus cereus* spores on health status and performance of sows and their liters. **J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med**. 48: 137-145.

Alexpoulos, C., Georgoulakis, I.E., Tzivara, A., Kyriakis, C.S., Govaris, A., and Kyriakis, S.C. 2004. Field evaluation of the effect of a probiotic-contaning *Bacillus licheniformis* and *Bacilus subtilis* spore on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. **J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med**. 51: 306-312.

Beachey, E.H. 1981. Bacterial adherence: adhesion-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. **J. Infect. Dis.** 143: 325-345.

Bogaard, A.E., and Stobberingh, E.E. 1999. Antibiotic usage in animal: impact on bacteria resistance and public health. **Drugs**. 58: 589-607.

Chang, Y.H., Kim, J.K., Kim, W.Y., Kim, Y.B., and Park, Y.H. 2001. Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent in vivo studied. **Antonie. Van. Leeuwenhoek**. 80: 193-199.

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

Collado, M.C., Meriluoto, J., and Salminen, S. 2007. In vitro analysis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. **Food Res. Inter.** 40: 629-636.

Collado, M.C., Gueimonde, M., Sanz , Y., and Salminen, S. 2006. Adhesion properties and competitive pathogen exclusion ability of *Bifidobacteria* with acquired acid resistance. **J. Food Protect.** 69(7): 1675-1679.

Collado, M.C., Gueimonde, M., Hernandez, M., Sanz, Y., and Salminen, S. 2005. Adhesion of selected *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus and its role enteropathogen exclusion. **J. Food protect.** 68(12): 2672-2678.

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

Duncker, S.C., Lorentz, A., Schroeder, B., Breves, G., and Bischoff, S.C. 2006. Effect of orally administered probiotic *E. coli* strain Nissle 1917 on intestinal mucosal immune cells of healthy young pigs. **Vet. Immunol. Immunopathol**. 111: 239-250.

Forestier, C., de Champs, C., Vatoux, C. and Joly, B. 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. **Res. Microbiol.** 152: 167-173.

Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animal. **J. Appl. Bacteriol**. 66: 365-378.

Fuller, R., and Gibson, G.R. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. **Scand. J. Gastroenterol. Suppl.** 222: 28-31.

Haberer, P., Du Toit, M., Dicks, L.M.T., Ahrensand, F., and Holzapfel, W.H. 2003. Effect of potentially probiotic lactobacilli on faecal enzyme activity in minipigs on a high-fat, high-cholesterol diet-apreliminary in vivo trial. **Int. J. Food Microbiol**. 87: 287-291.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. **Bergey's manual of determinative bacteriology**, 9th ed. Philadelphia: Williams and Wilkins. 552 p.

Hong, J.W., Kim, I.H., Kwon, O.S., Kim, J.H., Min, B.J., and Lee, W.B. 2002. Effects of dietary probiotics supplementation on growth performance and fecal gas cmission in nursing and finishing pigs. **J. Anim. Sci & Technol. (Kor.)** 44: 305-314.

Jadamus, A., Vahjen, W., Schafer, K., and Simon, O. 2002. Influence of the probiotic strain *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the development of enterobacterial growth and on selected parameters of bacterial metabolism in digesta samples of piglets. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr (Berl).** 86: 42-54.

Jadamus, A., W. Vahjen, K. Schafer and O. Simon. 2003. Influence of the probiotic strain *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the development of enterobacterial growth and on selected parameters of bacterial metabolism in digesta samples of piglets. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.),** 86(1-2): 42-54.

Jin, L.Z., marquard, R.R., and Zhao, X. 2000. A strain of *Enterococcus faecium* (18C23) inhibits adhesion of enterotoxigenic *Echerichia coli* K88 to porcine small intestine mucus. World. Appl. Env. Microbiol. 66: 4200-4204.

Juntunen, M., Kirjvainen, P.V., Ouwenhand, A.C., Salminen, S.J., and E. Isolauri. 2001. Adherence of probiotie bacteria to human intestinal in healthy infants during rotavirus infection. **Clin. Dia. Lab. Immunol.** 8: 293-296.

Kyriakis, S.C., Tsiloyiannis, V.K., Vlemmas, J., Sarris, K., Tsinas, A.C. Alexopoulos, C., and Jansegers, L. 1999. The effeet of probiotic LSP122 on the control of post-weaning diseases syndrome of piglets. **Res. Vet. Sci.** 67: 223-228.

Lessard, M., and Brisson, G.J. 1987. Effect of a *Lactobacillus* fermentation product on growth, immune response and fecal enzyme activity in weaned pigs. **Can. J. Anim. Sci**. 67: 509-516.

Maruta, K., miyazaki, H., Masuda, S., Takahashi, M., Marubashi, T., Tadano, Y., and Takahashi, H. 1996. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3120 and its influence on the intestinal microflora in broiler. **Anim. Sci. Technol.** 67: 273-280.

Matsuzaki, T., and Chin, J. 2000. Modulating immune responses with probiotic bacteria. **Immunol. Cell Biol.** 78: 67-73.

Naaber, P., Mikelsaar, R.H., Salminen, S., and Mikelsaar, M. 1998. Bacterial translocation, intestinal microflora and morphological changes of intestinal mucosa in experimental models of *Clostridium difficile* infection. **J. Med. Microbiol.** 47: 591-598.

NRC.1998. **Nutrient Requirements of Swine (10th ed).** National Research Council. National Academy Press, Washington, DC., U.S.A., 189 pp.

Orrhage, K., and Nord, C.E. 2000. Bifidobacteria and lactobacilli in human health. **Drugs Exp. Clin. Res.** 26: 95-111.

Parker, R. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Anim. Nutr. Heal.** 29: 4–8.

Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Aguero, G, and Gobbato, N. 1995. Immune system stimulation by probioties. **J. Dairy Sci.** 78: 1597-1606.

Pinchuk, I.V., Bressollier, P., Verneuil, B., Fenet, B., Sorokulova, I.B., Megraud, F., and Urdaci, M.C. 2001. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics. **Antimicrob. Agents. Chemother**. 45: 3156- 3161.

Pollmann, D.S., Danielson, D.M., and Peo, E.R. 1980. Effects of microbial feed additives on performance of starter and growing-finishing pigs. **J. Anim. Sci.** 51: 577-581.

Roselli, M., Finamore, A., Garaguso, I., Britti, M.S., and Mengheri, E. 2003. Probiotic treatment is able to reduce ETEC-induced neutrophil transmigration in Caco-2 cell. **Ann. Nutr. Metab**. 649.

Samanya, M., and Yamauchi, K. 2002. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. **Comp. Biochem. Physiol. Part A.** 133: 95-104.

Scheuermann, S.E. 1993. Effect of biotic Paciflor (CIP 5832) on energy and protein metabolism in growing pigs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 41: 181.

Schiffrin, E.J., Brassart, D., Servin, A.L., Rochat, F., and A. Donnet-Hughes. 1997. Immune modulation of blood leukocytes in lactic acid bacteria: criteria for strain selection. **Ameri. J. Cli. Nutri.** 66: 5155-5205.

Shu, Q., Qu, F., and gill, H.S. 2001. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhea associated with rotavirus and *Escherichia coli* 0157:H7 infection in a piglet model. **J. Pediatr. Gastroneterol. Nutr.** 33: 171-177.

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Sissons, J.W. 1989. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhea and promote digestion in farm animals. **J. Sci. Food. Agri.** 49: 1-13.

Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. 1986. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology V.2.** Baltimore, Meryland: Williams and Wilkins, 1599 p.

Sorum, H., and Sunde, M. 2001. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. **Vet. Res.** 32: 227-241. **Suinicol.** 36:59.

Stamati, S., C. Alexopoulos, A. Siochu, K. Saoulidis and S. C. Kyriakis. 2006. Probiosis in sows by administration of *Bacillus toyoi* spores during late pregnancy and lactation : Effect on their heath status/ performance and on litter characteristics. **Int. J. Pro. Pre.** 1(1): 33-40.

Toit, M., Franz, C.M., Dicks, L.M. Schillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., Ahrens, F., and Holzapfel, W.H. 1998. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces moisture content. **Int. J. Food Microbiol.** 40: 93-104.

Tomohiro H., A. Ametani, K. Kiuchi and S. Kaminogawa. 2000. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase, or subtilisin. **J. Microbiol.** 46(10): 892-897.

Tournut, J., 1989. Applications of probiotics to animal husbandry. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.** 8: 551-566.

Tsukahara, T and Ushida, K. 2002. Succinate aceumulation in pig large intestine during antibiotic associated diarrhea and the constitution of succinate-producing flora. **J. Gen Appl. Microbiol.** 48: 143-154.

Usman., and Hosono, A. 2000. Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats. **J. Dairy Sci.** 83: 1705-1711.

Witte, W. 2000. Selective pressure by antibiotic use in livestock. **Int. J. Antimicrob. Agents.** 16(Supple 1): S19-24.

ภาคผนวก

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลอง

1. Chlortetracycline ชนิดผสมอาหาร ชื่อการค้า CTC GRADE TYPE 1® ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอส. ดี.เอส ไบโอเทค สิงค์โปร

   ส่วนประกอบของยา

   Chlortetracycline Hydrochloride 160 มิลลิกรัม/ขนาดยา 1 กรัม

2. Chlortetracycline ชนิดป้ายลิ้น ชื่อการค้า สุกรซิน® ผลิต โดย บริษัท เยนเนอราลดรั๊กส์เฮ้าส์ จำกัด

   ส่วนประกอบของยา

   Chlortetracycline 50 มิลลิกรัม/ขนาดยา 1 กรัม

อาหารและสารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

   1.1 Eosin Methylene Blue agar (EMB agar)

Peptone	10.0 g
Lactose	10.0 g
K_2HPO_4	2.0 g
Eosin y	0.4 g
Methylene blue	0.065 g
Agar	15.0 g

   1.2 Salmonella Shigella agar (SS agar)

Beef extract	5.0 g
Lactose	10.0 g
Bile salt mixture	8.5 g
Sodium citrate	10.0 g
Sodium thiosulphate	8.5 g
Ferric citrate	10.0 g
Brilliant green	0.00033 g
Neutral red	0.025 g
Agar	15.0 g

1.3 deMan Rogosa Sharpe Agar

Proteose Peptone No. 3	10.0 g
Beef Extract	10.0 g
Yeast Extract	5.0 g
Dextrose	20.0 g
Polysorbate 80	1.0 g
Ammonium Citrate	2.0 g
Sodium Acetatc	5.0 g
Magnesium Sulfate	0.1 g
Manganese Sulfate	0.05 g
Dipotassium Phosphate	2.0 g
Agar	15.0 g

1.4 Nutrient Agar + Chloramphcnicol

Beef Extract	0.3g
Peptone	0.5g
Agar	1.5g
Distilled water	1,000 ml.
Chloramphenicol	1.0 ml.

1.5 Maximum recovery diluent (MRD-Broth) สารละลายสำหรับการเจือจาง (Dilution) มูล

Sodium chloride	8.5 g
Peptone	1.0 g
Distilled water	1,000 ml.

1.6 Phosphate Buffer Saline

Na_2HPO_4 (anhydrous)	10.9g
NaH_2PO_4 (anhydrous)	3.2g
NaCl	90g
Distilled water	1000 ml

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแม่ก่อนคลอด

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	206.2734	68.7578	0.15	2.95	4.57	0.9298
Ex.Error	28	13052.8438	466.1730				
Total	31	13259.1172	427.7135				

GRAND MEAN = 175.359375

CV = 12.3125 %

LSD .05 = 22.1092245518859

LSD .01 = 29.8280212094047

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T1		177.8750	A
T2		176.3750	A
T4		176.0625	A
T3		171.1250	A

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเพิ่มของแม่ก่อนคลอด

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	1904.1484	634.7161	2.21	2.95	4.57	0.1080
Ex.Error	28	8041.5938	287.1998				
Total	31	9945.7422	320.8304				

GRAND MEAN = 62.515625

CV = 27.1084 %

LSD .05 = 17.3536968148823

LSD .01 = 23.4122384274999

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T2		75.0000	A
T1		61.2500	AB
T3		59.8750	AB
T4		53.9375	B

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสูญเสียของแม่หลังคลอด

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	630.7109	210.2370	1.65	2.95	4.57	0.1985
Ex.Error	28	3559.0938	127.1105				
Total	31	4189.8047	135.1550				

GRAND MEAN = -18.171875

CV = -62.0427 %

LSD .05 = 11.544912744829

LSD .01 = 15.575485309552

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T1		-14.2500	A
T4		-15.0625	A
T3		-17.8750	A
T2		-25.5000	A

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักสูญเสียของแม่หลังหย่านม

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	936.1912	312.0637	0.89	2.95	4.57	0.5388
Ex.Error	28	9829.3475	351.0481				
Total	31	10765.5387	347.2754				

GRAND MEAN = -22.7437499761581

CV = -82.3799 %

LSD .05 = 19.1859489595902

LSD .01 = 25.884168444994

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T4		-19.3125	A
T1		-19.5000	A
T3		-20.0625	A
T2		-32.1000	A

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอาหารที่แม่กินตลอดการเลี้ยง

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	170.7109	56.9036	0.57	2.95	4.57	0.6412
Ex.Error	28	2779.9063	99.2824				
Total	31	2950.6172	95.1812				

GRAND MEAN = 367.640625

CV = 2.7103 %

LSD .05 = 10.2031909854572

LSD .01 = 13.7653401820401

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T2		371.0000	A
T4		368.4375	A
T3		366.1875	A
T1		364.9375	A

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนลูกแรกคลอด

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	117.8438	39.2813	4.44	2.95	4.57	0.0113
Ex.Error	28	247.6250	8.8438				
Total	31	365.4688	11.7893				

GRAND MEAN = 11.21875

CV = 26.5078 %

LSD .05 = 3.0452165768628

LSD .01 = 4.10836591888277

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T2		13.3750	A
T4		12.5000	A
T1		10.6250	AB
T3		8.3750	B

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	2.8438	0.9479	3.86	2.95	4.57	0.0195
Ex.Error	28	6.8750	0.2455				
Total	31	9.7188	0.3135				

GRAND MEAN = .40625

CV = 121.9731 %

LSD .05 = .507407978990139

LSD .01 = .684554807592653

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T3		0.7500	A
T1		0.6250	A
T4		0.2500	AB
T2		0.0000	B

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักลูกสุกรแรกคลอด

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	0.2131	0.0710	1.77	2.95	4.57	0.1750
Ex.Error	28	1.1243	0.0402				
Total	31	1.3374	0.0431				

GRAND MEAN = 1.58875000476837

CV = 12.6127 %

LSD .05 = .20519277386069

LSD .01 = .27682989950053

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T3		1.6775	A
T1		1.6350	A
T2		1.5825	A
T4		1.4600	A

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนลูกสุกรหย่านม

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	52.7500	17.5833	2.25	2.95	4.57	0.1039
Ex.Error	28	219.2500	7.8304				
Total	31	272.0000	8.7742				

GRAND MEAN = 9.5

CV = 29.4556 %

LSD .05 = 2.86543619217539

LSD .01 = 3.86582040965849

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T2		11.2500	A
T1		9.6250	AB
T4		9.5000	AB
T3		7.6250	B

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักลูกสุกรหย่านม

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	7.4146	2.4715	1.61	2.95	4.57	0.2090
Ex.Error	28	43.0546	1.5377				
Total	31	50.4692	1.6280				

GRAND MEAN = 6.97156250476837

CV = 17.7869 %

LSD .05 = 1.2697863786009

LSD .01 = 1.71309558792689

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T3		7.5400	A
T1		7.3500	A
T2		6.5763	A
T4		6.4200	A

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนวันที่ลูกสุกรท้องเสีย

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	2174.7500	724.9167	2.49	2.95	4.57	0.0800
Ex.Error	28	8159.2500	291.4018				
Total	31	10334.0000	333.3548				

GRAND MEAN = 23

CV = 74.2195 %

LSD .05 = 17.4801864651709

LSD .01 = 23.5828882828453

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T4		6.6450	A
T2		5.5950	AB
T1		7.3000	AB
T3		5.7800	B

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลูกสุกรท้องเสีย (เปอร์เซ็นต์)

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01	F-Prob
Treatment	3	3006.3551	1002.1184	2.73	2.95	4.57	0.0618
Ex.Error	28	10279.9023	367.1394				
Total	31	13286.2574	428.5889				

GRAND MEAN = 32.367500141263

CV = 59.1979 %

LSD .05 = 19.6207423088047

LSD .01 = 26.4707573238415

NAME	ID	MEAN	RANKED AT PROBABILITY LEVEL .05
T4		47.8675	A
T2		33.1438	AB
T3		25.3438	B
T1		23.1150	B