รายงานการวิจัย
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง

การใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก

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

โดย

จำรูญ มณีวรรณ มงคล ถิรบุญยานนท์ กิตติพงษ์ ทิพยะ

2553

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง การใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2551
จำนวน 403,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นายจำรูญ มณีวรรณ
ผู้ร่วมโครงการ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์ และ นายกิตติพงษ์ ทิพยะ

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
10 / 05 / 2553

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2551 ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
สารบัญตารางผนวก	ง
บทคัดย่อ	ฉ
ABSTRACT	ซ
คำนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
การตรวจเอกสาร	3
วัสดุและอุปกรณ์	12
วิธีการทดลอง	14
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	18
สรุปผลการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก	37

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะ	4
2	น้ำหนักตัวของลูกสุกรตลอดการทดลอง	19
3	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของลูกสุกร	21
4	ปริมาณลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสีย	24
5	จำนวนจุลินทรีย์ในมูล	28

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY แม้โจ้ ๒๘๗๗

สารบัญภาพ

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

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY แม้โจ้ ๒๘๗๗

สารบัญตารางผนวก

ตารางที่		หน้า
	ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลอง	38
	อาหารและสารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	38
	ผลของบาซิลลัส ซับติลิส MP ต่อประสิทธิภาพการผลิตและจุลินทรีย์ในมูลของลูกสุกรระยะดูดนม	40
1	น้ำหนักลูกสุกรก่อนเริ่มทำการทดลอง	40
2	น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 7 วัน	41
3	น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 14 วัน	42
4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 14 วัน	43
5	น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 21 วัน	44
6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 21 วัน	45
7	น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 28 วัน	46
8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 28 วัน	47
9	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 3-7 วัน	48
10	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 8-14 วัน	49
11	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 15-21 วัน	50
12	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 22-28 วัน	51
13	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 3-28 วัน	52
14	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 3-28 วัน	53
15	คะแนนของลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสีย	54
16	จำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหาย	55
17	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหาย	56
18	จำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	57
19	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	57
20	จำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	58

21	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	58
22	จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	59
23	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	59
24	จำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน	60
25	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 7วัน	60
26	จำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	61
27	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	61
28	จำนวนเชื้อซัลโมเนลลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	62
29	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	62
30	จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	63
31	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	63
32	จำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	64
33	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน	64

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

การศึกษาการใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก เป็นการศึกษาผลการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP ต่อประสิทธิภาพการผลิต และจุลินทรีย์ในมูลของลูกสุกรดูดนม โดยทำการศึกษาในลูกสุกรพันธุ์ผสม 3 สายพันธุ์ (Large White x Landrace x Duroc) ตั้งแต่อายุ 3 วัน จนถึงหย่านมที่อายุ 28 วัน จำนวน 80 ตัว แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 20 ซ้ำ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับการป้อน PBS (Phosphate Buffer Saline), กลุ่มที่ 2 ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 จำนวน 10 มิลลิลิตร/ตัว โดยให้วันละ 1 ครั้งติดต่อกัน 7 วัน กลุ่มที่ 3 ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จำนวน 10 มิลลิลิตร/ตัว โดยให้วันละ 1 ครั้งติดต่อกัน 7 วัน และกลุ่มที่ 4 ได้รับการป้ายลิ้นด้วยยาปฏิชีวนะชนิด Chlortetracycline จำนวน 1 กรัม/ตัว ติดต่อกัน 3 วัน ผลการวิจัยพบว่าน้ำหนักของลูกสุกรที่อายุ 14 และ 21 วันของกลุ่มที่ได้รับการเสริม MP 9 และMP 10 สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ ส่วนน้ำหนักของลูกสุกรที่อายุ 28 วัน ลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริม MP 9 และMP 10 สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ สำหรับอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริม MP 9 และ MP 10 สูงกว่ากลุ่มควบคุม($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ ทางด้านจำนวนวันที่ลูกสุกรแสดงอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติของกลุ่มที่ได้รับการเสริม MP 9 ,MP 10 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับจำนวนเชื้อ อี. โค ไล และ ซัลโมเนลล่า ในมูลที่อายุ 7 และ 11 วัน มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

ในขณะที่จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัส และบาซิลลัส ซับติลิสในมูลมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ABSTRACT

The study utilization of probiotic to increase productivity and substitute the use of antibiotic in sows and farrowing pigs was investigated the effects of *Bacillus subtilis* MP on the productive performance and microorganisms in feces of 80 suckling piglets (Large White x Landrace x Duroc) ages of piglets from 3-28 days after born. Piglets were randomly fed 4 kinds of experimental diets, each with 20 replication: control group with added Phosphate Buffer Saline(PBS) (T1); with added *Bacillus subtilis* (MP 9) at 10 ml/pig/day (T2); with added *Bacillus subtilis* (MP 10) at 10 ml/pig/day (*Bacillus subtilis* MP 10^{11} CFU/ml) in 7 consecutive days (T3); and with added antibiotic (Chlortetracycline) at 1g/pig/day for 3 consecutive days (T4). Using the Completely Randomized Design (CRD), analysis of results showed that body weights at 14 and 21 days of age of pig supplemented with MP 9 (T2) and MP 10 (T3) were significantly higher ($P<0.05$) than the control group (T1) but not significantly different than the group receiving antibiotic (T4). However, body weight at 28 days of age was higher than the control group with highly significant difference ($P<0.01$) although not significantly different from the group receiving antibiotic (T4). For daily gain, swine receiving MP 9 and MP 10 showed significantly higher gain ($P<0.05$) than those receiving antibiotic. Piglets receiving MP 9, MP 10 and antibiotic were also found to have a significantly shorter period of diarrhea ($P<0.05$). Bacterial count of *E.coli* and *salmonella* spp. was much lesser in manure of pigs at 7 and 11 days of age went compared to the control group with a highly significant different ($P<0.01$), while bacterial count of *Lactobacillus* spp. and *Bacillus subtilis* in pig manure was comparatively higher than the control group with highly significant different ($P<0.01$).

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 ประเทศโดยเฉพาะประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปได้ยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์แล้ว 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 และกุ้งเป็นต้น 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) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของโปรไบโอติก

ในการป้องกันและลดระดับความรุนแรงของโรคท้องร่วง โดยการใช้โปรไบโอติกชนิด *Bifidobacterium lactis* HNO19 ในปริมาณ 10^9 CFU (โคโลนี)/ตัว/วัน ในลูกสุกร ผลที่ได้พบว่าในกลุ่มที่ให้โปรไบโอติกจะสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งผลดังกล่าวจะสอดคล้องกับการรายงานของ Kyriakis และคณะ (1999) ที่พบว่าโปรไบโอติกชนิด *Bacillus toyoi* สามารถลดความรุนแรงของโรคท้องร่วงในสุกรหลังหย่านม ลดอัตราการตายของลูกสุกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การใช้โปรไบโอติกตั้งแต่สุกรตั้งท้องก็มีผลดีต่อลูกสุกร เช่นเดียวกัน 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 ซึ่งให้เช่นเดียวกับลูกสุกรที่

ได้รับ 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 ไม่ถูกทำลายโดยน้ำย่อยจากกระเพาะอาหารและน้ำดีจาก ตับอ่อน

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 หรือมิฉะนั้นสาร

ยับยั้งที่โปรไบโอติกผลิตขึ้น 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 โดยมีการทดลองนำเอาจุลินทรีย์เดิมในท่อทางเดินอาหารของไก่ที่มีสุขภาพดี 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) และในแง่การกระตุ้นการทำงานของระบบ

ภูมิคุ้มกัน (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

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกเช่น *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 มีการปรับภาวะจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารกลับสู่ปกติได้ 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 มีผลยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของสารโปรไบโอติก

7.คุณสมบัติของแบคทีเรียที่ใช้เป็นส่วนประกอบของโปรไบโอติก

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

ลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis*

Holt และ คณะ (1994) กล่าวว่า บาซิลลัสเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างของเซลล์เป็นรูปแท่งตรง ขนาด 0.5-2.5 × 1.2-7.0 ไมโครเมตร เรียงตัวกันเป็นคู่หรือเส้นสายหรือเป็นวงกลมหรือสี่เหลี่ยม ติดสีแกรมบวก มี Endospore รูปไข่ กลม หรือ ทรงกระบอก เป็นพวกที่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง ต้องการอินทรีย์สารเป็นอาหาร (Chemoorganotrophs) สามารถเกิดกระบวนการหมักหรือกระบวนการหายใจ 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

และมีความทนทานเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม 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*

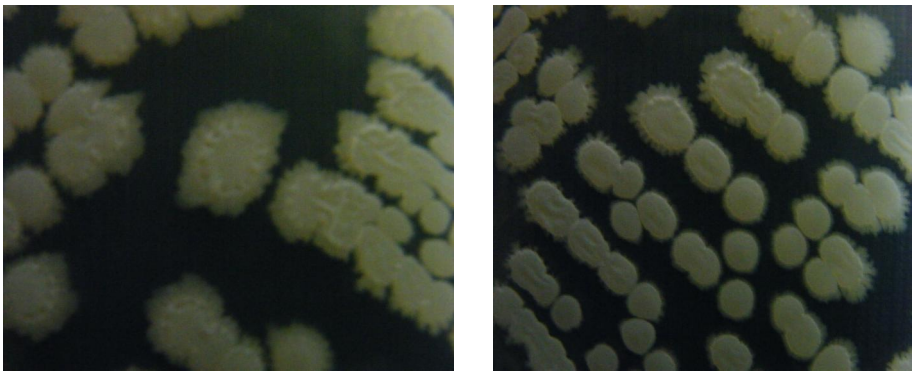
2. ความสามารถในการทนสภาพความเป็นกรดสูง (pH 3.0)

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)

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

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 ทำให้มีปริมาณของเชื้อ บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 อยู่ที่ 10^{11} CFU/กรัม จากนั้นแช่น้ำแข็ง นาน 30 นาที เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์ เมื่อครบกำหนดนำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด เพื่อสะดวกในการนำไปผสมอาหารต่อไป ลักษณะของถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการบดแสดงดังภาพที่ 5

ภาพที่ 2 ลักษณะของถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการอบและบดพร้อมผสมในอาหาร

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสุกร

1. อุปกรณ์สำหรับป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP ได้แก่ กระบอกฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมท่อทองเหลืองสำหรับป้อนยา ยาว 15 เซนติเมตร

2. ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ชนิดป้ายลิ้น ชื่อการค้า สุกรซิน® ผลิตโดย บริษัท เยน เนอร์ราลดรั๊กส์เฮาส์ จำกัด

3. เครื่องชั่งน้ำหนักลูกสุกร

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างมูลสุกร

1. ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ

2. ถุงพลาสติกชนิด Zip lock

3. กระติกใส่น้ำแข็ง

4. แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ สำหรับทำความสะอาดบริเวณทวารของสุกร

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ (Media) (แสดงไว้ในภาคผนวก ก) และสารละลายสำหรับเจือจางตัวอย่างมูลลูกสุกร

2. จานเลี้ยงเชื้อและเครื่องแก้วต่าง ๆ สำหรับเพาะเชื้อ

3. ปิเปตอัตโนมัติ (Auto Pipett)

4. ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 500 มิลลิลิตร

5. บีกเกอร์แก้วขนาด 1000 มิลลิลิตร

6. หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร

7. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

8. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส

9. ตู้ปลอดเชื้อ

สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกสุกรพันธุ์ผสม 3 สาย (Large White - Landrace×Duroc) จำนวนทั้งหมด 80 ตัวโดยแบ่งลูกสุกรออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 20 ตัว ตัวละซ้ำ เริ่มทำการทดลองเมื่อลูกสุกรอายุ 3 วัน จนกระทั่งมีอายุ 28 วัน (โดยอายุที่ 3-28 วันเป็นระยะดูดนมทำการเลี้ยงแบบปกติ คือให้ดูดนมแม่ในคอกคลอดโดยไม่มีการให้อาหารเลียรางตลอดระยะเวลาการเลี้ยง) ซึ่งกลุ่มการทดลองจะถูกแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ได้รับการป้อนด้วย PBS (Phosphate buffered saline ซึ่งเป็นสารละลายที่ช่วยรักษาสภาพของเชื้อ) ตัวละ 10 มิลลิลิตรต่อวัน ติดต่อกัน 7 วันตั้งแต่ลูกสุกรอายุ 3-10 วัน

กลุ่มที่ 2 ป้อนด้วยบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 ที่ละลายใน PBS (จำนวนเชื้อ 10^{11} CFU/ มิลลิลิตร) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/ตัว/ครั้ง วันละ 1 ครั้ง (ให้เฉพาะช่วงเย็น) ตั้งแต่ลูกสุกรอายุ 3-10 วัน (ติดต่อกัน 7 วัน)

กลุ่มที่ 3 ป้อนด้วย บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ที่ละลายใน PBS (จำนวนเชื้อ 10^{11} CFU/ มิลลิลิตร) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร/ตัว/ครั้ง วันละ 1 ครั้ง (ให้เฉพาะช่วงเย็น 18.00 น.) ตั้งแต่ลูกสุกรอายุ 3-10 วัน (ติดต่อกัน 7 วัน)

กลุ่มที่ 4 ป้อนด้วยยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ชนิดป้ายลิ้น ชื่อการค้าสุกรซิน® โดยป้อนปริมาณ 1 กรัม / ตัว / วัน ตั้งแต่ลูกสุกรอายุ 3 วัน ติดต่อกัน 3 วัน (ตามข้อกำหนดการใช้)

วิธีการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ศึกษาผลของการเสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP ต่อประสิทธิภาพการผลิตของลูกสุกรดูดนม โดยลูกสุกรในแต่ละครอกจะถูกจัดให้เข้าแต่ละกลุ่มทดลองจำนวน 4 กลุ่ม รวมทั้งหมด 80 ตัว เสริมบาซิลลัส ซับติลิส MP วันละ 1 ครั้ง (เฉพาะในช่วงเย็นเวลา 18.00 น) โดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมท่อทองเหลืองสำหรับป้อนยาสัตว์ยาว 15 เซนติเมตร ป้อนให้ลูกสุกรกินติดต่อกัน 7 วัน ส่วนลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ จะได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ วันละ 1 ครั้ง (ในเฉพาะช่วงเย็นเวลา 18.00 น.) ติดต่อกัน 3 วัน

ถ้าหากระหว่างที่ทำการทดลองลูกสุกรมีอาการท้องร่วงจะไม่ได้รับการรักษา แต่จะทำการจดบันทึกระยะเวลาที่ลูกสุกรท้องร่วงจนหาย เพื่อนำมาวิเคราะห์ระยะเวลาที่เกิดท้องร่วงในลูกสุกร

การบันทึกข้อมูล

เริ่มบันทึกข้อมูลของลูกสุกรตั้งแต่ลูกสุกรอายุ 3 วัน จนกระทั่งลูกสุกรอายุ 28 วัน

1. บันทึกอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกร โดยการชั่งน้ำหนักของลูกสุกรทุกตัวที่อายุ 3, 7, 14, 21 และ 28 วัน

2. บันทึกข้อมูลจำนวนลูกสุกรที่แสดงอาการท้องร่วง (ที่อายุ 3-28 วัน)

โดยการให้คะแนนแทนการเกิดอาการท้องเสียดังนี้

0 คะแนน = ลูกสุกรที่ไม่เกิดอาการท้องเสีย

1 คะแนน = ลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสีย

3. บันทึกจำนวนวันที่ลูกสุกรแสดงอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติในช่วงที่ทำการวิจัย (ที่อายุ 3-28 วัน)

4. สุ่มเก็บตัวอย่างมูลสดในวันที่ 7 และ 11 ของการเลี้ยงโดยเก็บซ้ำละ 1 ตัว เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้ออี. โคไล ซัลโมเนลล่า แลคโตบาซิลลัส และบาซิลลัส ซับติลิสในมูล

การเก็บตัวอย่างมูลสุกร

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลสุกรสด กลุ่มละ 5 ตัวอย่าง เพื่อนำมานับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยเก็บมูลสุกรทุกกลุ่มที่อายุ 7 และ11 วัน รวมเก็บตัวอย่างมูลสุกรทุกกลุ่มที่ใช้นับจำนวน 40 ตัวอย่าง

วิธีการเก็บมูลสุกรโดยใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อสอดเข้าช่องทวารหนักของสุกร เพื่อกระตุ้นให้สุกรถ่ายมูลออกมา แล้วเก็บมูลสุกรที่ถ่ายออกมาโดยใช้ถุงพลาสติก (Zip lock) รองรับเพื่อไม่ให้มูลตกลงพื้น เมื่อได้แล้วปิดปากถุงให้แน่น นำเก็บลงกระติกน้ำแข็งทันที แล้วจึงนำไปที่ห้องปฏิบัติการต่อไป

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ อี.โคไล ซัลโมเนลล่า แลคโตบาซิลลัส และบาซิลลัส ซับติลิส ในมูลสุกร

ใช้วิธีการทำ Dilution plate count เป็นเทคนิคการทำให้เชื้อหรือตัวอย่างเจือจางลง (dilution) โดยใช้โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 กรัมละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร จะได้เป็น Sodium saline solution 0.85% (w/v) จากนั้นใช้ปิเปต (Pipett) ดูด saline solution ใส่ในหลอดทดลองหลอด

ละ 9 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อภายใต้หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1. การเจือจางตัวอย่าง

นำมูลสดปริมาณ 1 กรัมมาทำการผสมกับ Saline solution ให้เป็นเนื้อเดียวกันภายในตู้ปลอดเชื้อ จะได้ตัวอย่างมูลที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10 หรือ 10^{-1} จากนั้นใช้ ปิเปตอัตโนมัติ (Auto Pipett) ดูดตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มี Saline solution 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันจะได้ตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2} ทำการเจือจางเช่นนี้ไปเรื่อย ๆ จนถึงอัตราส่วน 1: 1,000,000,000 หรือ 10^{-9}

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มี 4 ชนิดด้วยกันคือ

1. Eosin Methylene Blue Agar (EMB-agar) สำหรับเลี้ยงเชื้ออี.โคไล
2. *Salmonella Shigella* Agar (SS-agar) สำหรับเลี้ยงเชื้อซัลโมเนลล่า
3. deMan Rogosa Sharpe Agar (MRS-agar) สำหรับเลี้ยงเชื้อแลคโตบาซิลลัส
4. Nutrient Agar + Chloramphenicol สำหรับเลี้ยงเชื้อบาซิลลัส ซับติลิส

ทำการชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อตามอัตราส่วนที่กำหนด ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 1 ลิตรต้มให้วุ้นละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (อาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ) จากนั้นนำมาเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 15 มิลลิลิตร รอให้อาหารเลี้ยงเชื้อเย็นจากนั้นนำไปบรรจุลงในถุง มัดปากถุงให้แน่นเพื่อรอใช้ในการทดลองต่อไป

3. การนับจำนวนเชื้อโดยเทคนิค Spread plate

การนับจำนวนเชื้อโดยวิธีนี้จะใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการเจือจาง (Dilution) 0.1 มิลลิลิตรหยดลงบนจานอาหารที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งแข็งตัวแล้ว (solidified agar medium) เชื้อจุลินทรีย์จะถูกแผ่กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้วพิเศษที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (spreader)

4. การบ่มเชื้อ

1. บ่มเชื้อแลคโตบาซิลลัส ไว้ในสภาพไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

2. บ่มเชื้ออี. โคไล ซัลโมเนลล่า และบาซิลลัส ซับติลิส ไว้ในสภาพมีอากาศที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

5. การนับโคโลนี

หลังบ่มเชื้อครบกำหนดแล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนจานอาหาร เลี้ยงเชื้อ โดยทำการตรวจนับเฉพาะจานเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี ถ้ามีมากหรือน้อยกว่า 30-300 โคโลนี จะไม่ทำการตรวจนับ แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณเชื้อ โดยรายงานผลของจำนวนเชื้อเป็นโคโลนีต่อกรัม ซึ่งการคำนวนจะมีสมการดังนี้ (นลินและศรีกาญจนา, 2546)

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในมูลสุกร 1 กรัม = $\frac{\sum c}{(n_1)} d$ โดยที่

$\sum c$ คือ ผลรวมของโคโลนีที่นับได้บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวน 30-300 โคโลนี

n_1 คือ จำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางสุดท้ายที่นับได้

d คือ ความเจือจางสุดท้ายที่นับได้

การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตจากการเสริม บาซิลลัส ซับติลิส MP (จำนวนเชื้อเท่ากับ 10^{11} CFU/ml.) ในลูกสุกรดูดนม โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 20 ตัว รวมเป็น 80 ตัว กลุ่ม 1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่ม 2 เป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์แม่โจ้ 9 (MP 9) กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์แม่โจ้ 10 (MP 10) และกลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ผลการทดลองมีรายละเอียดดังนี้

น้ำหนักลูกสุกร

จากการจัดกลุ่มของลูกสุกรก่อนทำการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4 พบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 1.88 กิโลกรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 1.87 กิโลกรัม ลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อน ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 1.76 กิโลกรัม และลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำสุด 1.75 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของน้ำหนักลูกสุกรดูดนมที่อายุ 7 วันแสดงไว้ในตารางที่ 4 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 3.06 กิโลกรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 2.99 กิโลกรัม ส่วนลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 2.81 กิโลกรัม และลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักต่ำสุด 2.73 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลของน้ำหนักลูกสุกรดูดนมที่อายุ 14 วันแสดงไว้ในตารางที่ 4 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 4.31 กิโลกรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 4.24 กิโลกรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม 3.64 กิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ไม่มีความแตกต่างกับลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 3.83 กิโลกรัม (P>0.05) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อน ยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ผลของน้ำหนักลูกสุกรดูดนมที่อายุ 21 วันแสดงไว้ในตารางที่ 4 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 5.92 กิโลกรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 5.74 กิโลกรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม 4.79 กิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ไม่มีความแตกต่างกับลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ5.15 กิโลกรัม (P>0.05) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ผลต่อน้ำหนักลูกสุกรดูดนมที่อายุ 28 วันแสดงไว้ในตารางที่ 4 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 7.45 กิโลกรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 7.19 กิโลกรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม 5.94 กิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) แต่ไม่มีความแตกต่างกับลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 6.48 กิโลกรัม (P>0.05) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อน ยาปฏิชีวนะและลูกสุกรกลุ่มควบคุมไม่มีแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 2 น้ำหนักตัวของลูกสุกรตลอดการทดลอง

รายการ	กลุ่มที่ 1[1/]	กลุ่มที่ 2[2/]	กลุ่มที่ 3[3/]	กลุ่มที่ 4[4/]	P-Value
จำนวนลูกสุกร (ตัว)	20	20	20	20	-
น้ำหนักเริ่มการทดลอง (กก.)	1.75 ±0.3	1.88 ± 0.3	1.87 ± 0.4	1.76 ± 0.3	0.32
น้ำหนักที่อายุ 7 วัน (กก.)	2.73 ± 0.6	2.99 ± 0.6	3.06 ± 0.8	2.81 ± 0.5	0.32
น้ำหนักที่อายุ 14 วัน (กก.)	$3.64^{ข}$ ± 0.7	$4.24^{ก}$ ± 0.9	$4.31^{ก}$ ± 1.1	$3.83^{กข}$ ± 0.6	0.05*
น้ำหนักที่อายุ 21 วัน (กก.)	$4.79^{ข}$ ± 1.3	$5.74^{ก}$ ± 1.2	$5.92^{ก}$ ± 1.7	$5.15^{กข}$ ± 1.0	0.03*
น้ำหนักที่อายุ 28 วัน (กก.)	$5.94^{ข}$ ± 1.5	$7.19^{ก}$ ± 1.4	$7.45^{ก}$ ± 1.8	$6.48^{กข}$ ± 1.1	0.007**

หมายเหตุ ^{ก,ข} ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยที่แตกต่างในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ

* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

1/ กลุ่มควบคุมได้รับการป้อน PBS (Phosphate buffer saline) จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

2/ กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

3/ กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

4/ กลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline จำนวน 1 กรัม/วัน ติดต่อกัน 3 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

จากผลที่มีต่อประสิทธิภาพในการเพิ่มน้ำหนักตัวของลูกสุกรพบว่า ลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และMP 10 มีน้ำหนักตัวที่ช่วงอายุ 14, 21 และ 28 วัน ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะChlortetracycline และกลุ่มควบคุมนั้น อาจมีสาเหตุเนื่องมาจากประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์จากน้ำนมแม่ได้อย่างเต็มที่ เพราะคุณสมบัติของบาซิลลัส ซับติลิส สามารถสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้ (Protease) ทำให้เกิดการย่อยโปรตีนที่หลงเหลือจากการย่อยด้วยน้ำย่อยในกระเพาะของลูกสุกร ส่งผลให้เกิดการใช้ประโยชน์จากน้ำนมได้อย่างเต็มที่ ลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP จึงมีน้ำหนักที่อายุ 14, 21 และ 28 วัน

ดีกว่าทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ซึ่งกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารจะถูกทำลาย ทำให้อาจมีโปรตีนหลงเหลือจากการย่อยด้วยน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร การใช้ประโยชน์จากน้ำนมจึงไม่เต็มที่ ส่วนกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักต่ำที่สุดเนื่องจากมีการติดเชื้อก่อโรคทำให้เกิดอาการท้องเสีย และไม่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ทำให้มีระยะเวลาที่เกิดอาการท้องเสียนานกว่าทุกกลุ่ม จึงทำให้กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักต่ำกว่าทุกกลุ่ม จากผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Ushakova และคณะ (2006) ที่ได้ศึกษากลไกการทำงานของโปรไบโอติก ชนิด บาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์ 8130 จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า บาซิลลัส ซับติลิส 8130 จะหลั่งสาร Metabolite 2 ถึง 3 ครั้งในช่วงของการเจริญ และยับยั้งปฏิกิริยาของ Endoglucanase ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปทดสอบเสริมลงในอาหารสุกร 0.2% จากผลการทดลองพบว่าบาซิลลัส ซับติลิส 8130 ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน 19% และสามารถช่วยลดส่วนผสมของอาหารลง 12% ช่วยเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีน ไขมัน สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ 3-4% และเซลลูโลส 12% ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น บาซิลลัส ซับติลิส 8130 เป็น โปรไบโอติกที่ช่วยกระตุ้นการย่อยได้ โดยเฉพาะการย่อยขั้นต้นของเซลลูโลส นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณค่าของอาหาร ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น 12% และประหยัดส่วนประกอบของอาหารลง 10%

อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน

ผลของอัตราการเจริญเติบโตต่อวันในช่วงอายุ 1-7 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 5 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด 167 กรัมต่อวัน รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 161 กรัมต่อวัน ส่วนลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 147 กรัมต่อวัน และลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำสุด 135 กรัมต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อวันในช่วงอายุ 8-14 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 5 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด 182 กรัมต่อวัน รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 175 กรัมต่อวัน ส่วนลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 150 กรัมต่อวัน และลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำสุด 132 กรัมต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อวันในช่วงอายุ 15-21 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 5 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด 227 กรัมต่อวัน รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 214 กรัมต่อวัน ส่วนลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 187 กรัมต่อวัน และลูกสุกรกลุ่ม

ควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำสุด 166 กรัมต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อวันในช่วงอายุ 22-28 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 5 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด 217 กรัมต่อวัน รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 206 กรัมต่อวัน ส่วนลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 189 กรัมต่อวัน และลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำสุด 164 กรัมต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อวันในช่วงอายุ 1-28 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 5 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด 199 กรัมต่อวัน รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 189 กรัมต่อวัน ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม 149 กรัมต่อวัน อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) แต่ไม่มีความแตกต่างกับลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 168 กรัมต่อวัน (P>0.05) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะและลูกสุกรกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 3 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของลูกสุกร

รายการ	กลุ่มที่ 1[1/]	กลุ่มที่ 2[2/]	กลุ่มที่ 3[3/]	กลุ่มที่ 4[4/]	P-Value
จำนวนลูกสุกรที่ทำการทดลอง (ตัว)	20	20	20	20	-
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ที่อายุ 1-7 วัน (ก.)	135 ± 55	161 ± 70	167 ± 82	147 ± 58	0.44
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ที่อายุ 8-14 วัน (ก.)	132 ± 58	175 ± 83	182 ± 94	150 ± 74	0.17
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ที่อายุ 15-21 วัน (ก.)	166 ± 87	214 ± 84	227 ± 108	187 ± 82	0.15
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ที่อายุ 22-28 วัน (ก.)	164 ± 105	206 ± 99	217 ± 51	189 ± 58	0.19
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ที่อายุ 1-28 วัน (ก.)	149[ข] ± 48	189[ก] ± 48	199[ก] ± 58	168[กข] ± 37	0.009*

หมายเหตุ [ก,ข] ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยที่แตกต่างในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

[1/] กลุ่มควบคุมได้รับการป้อน PBS (Phosphate buffer saline) จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

[2/] กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

[3/] กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

[4/] กลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline จำนวน 1 กรัม/วัน ติดต่อกัน 3 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันสูงสุด รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ส่วนลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันต่ำสุด ทั้งนี้เป็นผลมาจากความสามารถในการใช้ประโยชน์จากอาหารที่ได้รับของลูกสุกรแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกัน อีกทั้งการเกิดอาการท้องเสียจากการติดเชื้อก่อโรคส่งผลให้ลูกสุกรมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันลดลง กล่าวคือลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 และกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline มีจำนวนลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสียน้อยกว่ากลุ่มควบคุม อีกทั้งระยะเวลาในการเกิดท้องเสียมีจำนวนวันที่น้อยกว่ากลุ่มควบคุม (ข้อมูลแสดงไว้ในตารางที่ 6) อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันจึงสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยยิ่งสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) นอกเหนือจากนี้ลูกสุกรที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ยังมีจุลินทรีย์ที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยได้ทำให้ลูกสุกรในกลุ่มนี้สามารถใช้อาหารได้อย่างเต็มที่ สอดคล้องกับรายงานของ Bonomi และคณะ (1995) กล่าวว่าผลจากการเสริม *Bacillus subtilis* ในอาหารของลูกสุกรพบว่า บาซิลลัส ซับติลิส สามารถช่วยให้น้ำหนักของลูกสุกรเพิ่มขึ้น 14% การใช้อาหารเพิ่มขึ้น 10% และมีแนวโน้มช่วยให้จุลินทรีย์ในลำไส้เจริญเติบโต และทำงานได้ดี (ลดจุลินทรีย์จำพวก *E.coli* และเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จำพวก *Lactobacillus* spp.) ซึ่งจะส่งผลต่อสุขภาพของลูกสุกร และยังสอดคล้องกับรายงานของ Garcia และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริม *Bacillus subtilis* และ*Bacillus licheniformis* ในอาหารสุกรตั้งแต่หย่านมจนถึงฆ่า ซึ่งทำการเสริม *Bacillus subtilis* จำนวน 1.6×10^9 CFU/g และ *Bacillus licheniformis* จำนวน 1.6×10^9 CFU/g ในอาหารลูกสุกรหย่านมอายุ 28 วัน จนถึงฆ่าที่น้ำหนัก 95 กิโลกรัมโดยใช้สุกรพันธุ์ Large White 75%×Landrace 25% จำนวน 420 ตัว จากการทดลองพบว่าที่ 28-41 วันกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีน้ำหนัก 10.2 กิโลกรัมส่วนกลุ่มควบคุมมีน้ำหนัก 9.8 กิโลกรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีน้ำหนัก 94.7 กิโลกรัมส่วนกลุ่มควบคุมมีน้ำหนัก 92.4 กิโลกรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วงแรกของการทดลอง กลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีอัตราการเจริญเติบโตสูงมากคือ 204 กรัมต่อวัน ส่วนกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโต 174 กรัมต่อวัน

ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวันพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวันคือ 270 กรัมต่อวัน ส่วนกลุ่มควบคุมมีอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวัน 247 กรัมต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับในช่วงที่ 2 และช่วงที่ 3 ของการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาทั้งหมดพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันเท่ากับ 627 กรัมต่อวัน ส่วนกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 611 กรัมต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวันพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวันคือ 1,536 กรัม ส่วนกลุ่มควบคุมมีอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวัน 1,496 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถสรุปได้ว่าโปรไบโอติกที่เสริมในอาหารสุกรสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการกินอาหารต่อตัวต่อวันของสุกรได้

การเกิดอาการท้องเสียของลูกสุกร

ผลคะแนนของลูกสุกรที่แสดงอาการท้องเสียแสดงในตารางที่ 6 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีคะแนนสูงสุด 0.55 คะแนน รองลงมาคือลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline และลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีคะแนน 0.35 คะแนนเท่ากัน ส่วนลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีคะแนน 0.30 คะแนน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ผลต่อจำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติแสดงในตารางที่ 6 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีจำนวนวันสูงสุด 4.7 วัน ซึ่งมากกว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อน ยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 2.0 วัน กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 1.6 วัน และกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 1.5 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่กลุ่มที่ได้รับการป้อน บาซิลลัส ซับติลิส MP 9, MP 10 และกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 4 ปริมาณลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสีย

รายการ	กลุ่มที่ 1[1/]	กลุ่มที่ 2[2/]	กลุ่มที่ 3[3/]	กลุ่มที่ 4[4/]	P-Value
จำนวนลูกสุกรที่ทำการทดลอง (ตัว)	20	20	20	20	-
คะแนนที่ลูกสุกรแสดงอาการท้องเสีย (คะแนน)	0.55	0.35	0.30	0.35	0.39
จำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหาย (วัน)	4.70[ก]	1.60[ข]	1.50[ข]	2.00[ข]	0.02*

หมายเหตุ [ก,ข] ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยที่แตกต่างในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1/] กลุ่มควบคุมได้รับการป้อน PBS (Phosphate buffer saline) จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

[2/] กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

[3/] กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

[4/] กลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline จำนวน 1 กรัม/วัน ติดต่อกัน 3 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

จากผลการทดลองปรากฏว่าลูกสุกรในกลุ่มควบคุมมีคะแนนของการเกิดอาการท้องเสียสูงสุดรองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline ส่วนลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อน โปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีคะแนนของลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสียต่ำสุด ทั้งนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ที่เสริมลงในตัวสัตว์จะเข้าไปปรับสมดุลของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ ทำให้สัดส่วนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มากกว่าจุลินทรีย์ ก่อโรค จุลินทรีย์ก่อโรคจึงมีจำนวนไม่เพียงพอที่จะก่อโรคได้ นอกจากนี้จุลินทรีย์โปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ยังช่วยย่อยสารอาหารที่หลงเหลือจากการย่อยในลำไส้ ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถใช้อาหารเพื่อเพิ่มจำนวนได้ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Kyriakis และคณะ (1999) ที่ได้ทำการศึกษาผลของโปรไบโอติก *Bacillus licheniformis* (LPS122) ต่อการควบคุมการเกิดโรคท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านม ซึ่งการทดลองครั้งนี้เป็นการทดสอบคุณสมบัติของ *Bacillus licheniformis* ในการควบคุมการเกิดโรคท้องเสียในฟาร์มที่มีสุขภาพต่ำ การทดลองครั้งนี้ใช้ลูกสุกรจำนวน 256 ตัว ใช้เวลาในการทดลอง 28 วัน โดยจะสังเกตลักษณะการแสดงออกทางคลินิก อัตราการตาย น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการกินอาหาร จากการทดลองพบว่า ทุกกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกจะมีอัตราการเกิดโรคท้องเสียน้อยลง ส่วนอัตราการตายเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อประเมินดูน้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอ

ติกมีประสิทธิภาพดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกพบว่ากลุ่มที่ได้รับ *Bacillus licheniformis* (LPS122) มีประสิทธิภาพดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และไม่พบการติดเชื้อในวันที่ 22 ของการเลี้ยงในกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติก ส่วนระดับที่เหมาะสมของการใช้โปรไบโอติกคือ 10^7 CFU/g ซึ่งเป็นปริมาณที่สามารถควบคุมเชื้ออี. โคไลได้

ส่วนจำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติพบว่าลูกสุกรกลุ่มควบคุมมีจำนวนวันที่เกิดอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติมากที่สุด รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline สำหรับลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 มีจำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติน้อยที่สุด ทั้งนี้เป็นผลมาจากการป้อนโปรไบโอติก เนื่องจากโปรไบโอติกบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 เมื่อเข้าไปในร่างกายสัตว์แล้วจะเจริญเติบโตขยายจำนวน และยึดครองพื้นที่ภายในลำไส้ เมื่อเกิดการติดเชื้อโปรไบโอติกสามารถสร้างสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก่อโรค ทำให้เชื้อก่อโรคไม่สามารถเจริญและขยายจำนวนได้เพียงพอที่จะสามารก่อโรคในสัตว์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสาโรช (2542) ซึ่งกล่าวว่าโปรไบโอติกแท้จริงแล้วเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติ และเป็นส่วนหนึ่งของกิจกรรมภายในทางเดินอาหาร จุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการต่อต้านการยึดเกาะ (Adhesion) ของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่บนผนังลำไส้ โดยกระบวนการที่เรียกว่า Competitive Exclusion หรือ Colonization Resistance ซึ่งเป็นกลไกการต่อต้านการเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ โดยจุลินทรีย์เดิม นอกจากจะขัดขวางการเข้าเกาะของ จุลินทรีย์ที่เป็นโทษโดยตรงแล้ว จุลินทรีย์เดิมในทางเดินอาหารยังผลิตสารซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าไปใหม่ เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ กรดน้ำดีอิสระ เช่น Deoxycholic acid ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยป้องกันการเข้าเกาะและตั้งถิ่นฐาน (Colonization) ของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่ที่เป็นโทษส่วนใหญ่ จากปัญหาการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลล่า ในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ทำให้สัตว์ได้รับเชื้อชนิดนี้เข้าไปมาก จึงเกิดแนวคิดที่จะนำโปรไบโอติกมาแย่งจับกับเชื้อซัลโมเนลล่า ในท่อทางเดินอาหาร โดยมีการทดลองนำเอาจุลินทรีย์เดิมในท่ออาหารของไก่ที่มีสุขภาพดีไปให้ลูกไก่ฟักใหม่กิน พบว่าลูกไก่สามารถพัฒนาจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารดีขึ้น และต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลล่าได้ดีขึ้น

จำนวนเชื้อแบคทีเรียในมูลของลูกสุกรดูดนม

จากการทดลองเสริมโปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ในลูกสุกรดูดนมอายุ 3 วันจำนวน 80 ตัวโดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 20 ตัว 1) กลุ่มควบคุมได้รับการป้อน PBS 2) ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 3) ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 ซึ่งกลุ่มที่ได้รับการป้อน PBS และโปรไบโอติก จะได้รับการป้อนเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยเชื้อโปรไบโอติกมีจำนวนเท่ากับ 10^{11} CFU/มิลลิลิตร (ป้อนในรูปเชื้อสด) 4) ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ

Chlortetracycline (ชื่อการค้า สุกรซิน®) จำนวน 1 กรัมต่อวัน ติดต่อกัน 3 วัน ตามข้อกำหนดการใช้ ผลการทดลองปรากฏว่า

1. จำนวนเชื้อแบคทีเรียในมูลของลูกสุกรดูดนมที่อายุ 7 วัน

1.1 จำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วัน

ผลต่อจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วัน แสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline มีจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลน้อยที่สุด 3.62 log10 CFU/กรัม ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 4.30 log10 CFU/กรัม บาซิลลัส ซับติลิส MP 10 4.48 log10 CFU/กรัม และกลุ่มควบคุม 4.78 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวนเชื้ออี.โคไล น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

1.2 จำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วัน

ผลของจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วัน แสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลน้อยที่สุด 2.73 log10 CFU/กรัม รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 2.81 log10 CFU/กรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวนเชื้อน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 มีจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูล 3.24 log10 CFU/กรัม น้อยกว่ากลุ่มควบคุม 3.71 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

1.3 จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วัน

ผลต่อจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วันแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลมากที่สุด 11.27 log10 CFU/กรัม รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 11.04 log10 CFU/กรัม และกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 10.54 log10 CFU/กรัม โดยทั้ง 3 กลุ่มมีจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัส มากกว่ากลุ่มควบคุม 9.63 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

1.4 จำนวนเชื้อ บาซิลลัส ซับติลิส ในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วัน

ผลต่อจำนวนบาซิลลัส ในมูลลูกสุกรที่อายุ 7 วันแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลมากที่สุดเท่ากับ 8.28 log10 CFU/กรัม รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 7.97 log10 CFU/กรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลมากกว่าควบคุม 6.64 log10 CFU/กรัม และกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 6.52 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

2. จำนวนเชื้อแบคทีเรียในมูลของลูกสุกรดูดนมที่อายุ 11 วัน

2.1 จำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรที่อายุ 11 วัน

ผลต่อจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรที่อายุ 11 วันแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลน้อยที่สุด 6.32 log10 CFU/กรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 6.35 log10 CFU/กรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 7.06 log10 CFU/กรัม และกลุ่มควบคุม 7.74 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และMP 10 ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะมีจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

2.2 จำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรที่อายุ 11 วัน

ผลต่อจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลที่อายุ 11 วันแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าน้อยที่สุด 3.31 log10 CFU/กรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 3.37 log10 CFU/กรัม และกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 3.54 log10 CFU/กรัม ซึ่งทั้ง 3 กลุ่มมีจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลน้อยกว่ากลุ่มควบคุม 4.05 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$) แต่กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9, MP 10 และยาปฏิชีวนะไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง

2.3 จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรที่อายุ 11 วัน

ผลต่อจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัส ในมูลที่อายุ 11 วันแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสมากที่สุด 11.09 log10 CFU/กรัม) โดยมีมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 10.76 log10 CFU/กรัม และกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 10.41 log10 CFU/กรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสมากกว่ากลุ่มควบคุม 9.23 log10 CFU/กรัม (P<0.01) แต่ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

2.4 จำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรที่อายุ 11 วัน

ผลต่อจำนวนบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรที่อายุ 11 วันแสดงในตารางที่ 7 ปรากฏว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 มีจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสมากที่สุดเท่ากับ 4.68 log10 CFU/กรัม รองลงมาเป็นลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 4.46 log10 CFU/กรัม ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline 3.71 log10 CFU/กรัม และกลุ่มควบคุม 3.58 log10 CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) แต่กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง

ตารางที่ 5 จำนวนจุลินทรีย์ในมูล

ชนิดจุลินทรีย์	กลุ่มที่ 1[1/]	กลุ่มที่ 2[2/]	กลุ่มที่ 3[3/]	กลุ่มที่ 4[4/]	P-Value
อายุ 7 วัน					
Escherichia coli	4.78^{ก} ± 0.1	4.30^{ข} ± 0.4	4.48^{ขค} ± 0.2	3.62^{ค} ± 0.2	0.01**
Salmonella spp.	3.71^{ก} ± 0.1	2.73^{ค} ± 0.1	3.24^{ข} ± 0.4	2.81^{ค} ± 0.4	0.01**
Lactobacillus spp.	9.63^{ข} ± 0.9	11.27^{ก} ± 0.2	11.04^{ก} ± 0.4	10.54^{ก} ± 1.0	0.01**
Bacillus subtilis	6.64^{ข} ± 0.1	8.28^{ก} ± 0.6	7.97^{ก} ± 0.8	6.52^{ข} ± 0.01	0.01**
อายุ 11 วัน					
Escherichia coli	7.74^{ก} ± 0.1	6.32^{ค} ± 0.4	6.35^{ค} ± 0.5	7.06^{ข} ± 0.5	0.01**
Salmonella spp.	4.05^{ก} ± 0.4	3.31^{ข} ± 0.4	3.37^{ข} ± 0.4	3.54^{ข} ± 0.01	0.02*
Lactobacillus spp.	9.23^{ค} ± 0.5	11.09^{ก} ± 0.1	10.76^{กข} ± 0.3	10.41^{ข} ± 0.3	0.01**
Bacillus subtilis	3.58^{ข} ± 0.1	4.68^{ก} ± 0.2	4.46^{ก} ± 0.3	3.71^{ข} ± 0.1	0.01**

หมายเหตุ ^{ก,ข,ค} ตัวอักษรกำกับค่าเฉลี่ยที่แตกต่างในแถวเดียวกันแสดงความความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

$^{1/}$ กลุ่มควบคุมได้รับการป้อน PBS (Phosphate buffer saline) จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

$^{2/}$ กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 9 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

$^{3/}$ กลุ่มที่ได้รับการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส MP 10 จำนวน 10 มล./วัน ติดต่อกัน 7 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

$^{4/}$ กลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ Chlortetracycline จำนวน 1 กรัม/วัน ติดต่อกัน 3 วัน ตั้งแต่อายุ 3 วัน

จากการทดลองการป้อนโปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 ในลูกสุกรที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ในมูล พบว่าที่อายุ 7 วันลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติกมีจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรค (อี.โคไล และซัลโมเนลล่า) ในมูลน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่มีจำนวนใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ ส่วนจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (แลคโตบาซิลลัส และบาซิลลัส ซับติลิส) มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น การเสริมโปรไบโอติก บาซิลลัส ซับติลิส MP 9 และ MP 10 นอกจากจะช่วยในการแย่งบริเวณจับกับผนังลำไส้แล้ว ยังช่วยปรับสภาพแวดล้อมภายในลำไส้ให้ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ทั้งยังช่วยส่งเสริมให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก ซึ่งกลไกต่าง ๆ ที่กล่าวมานี้จะตรงกันข้ามกับการใช้ยาปฏิชีวนะ เนื่องจากยาปฏิชีวนะจะทำลายทั้งจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และจุลินทรีย์ก่อโรคทำให้ทางเดินอาหารเสียสมดุลของจุลินทรีย์ไปชั่วระยะเวลาหนึ่ง จนเมื่อฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะหมดไปจึงเริ่มมีการเข้าไปเจริญอีกครั้งของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ในมูลของลูกสุกรที่อายุ 11 วัน พบว่าเมื่อลูกสุกรหยุดรับยาปฏิชีวนะไปช่วงระยะเวลาหนึ่ง จุลินทรีย์จะเริ่มมีการเพิ่มจำนวนขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคหรือเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์เพิ่มจำนวนขึ้นก่อนก็ได้ ขึ้นอยู่กับว่าสัตว์ได้รับจุลินทรีย์ชนิดใดเข้าไปในช่วงเวลานั้น สำหรับในการทดลองครั้งนี้พบว่าหลังจากที่หยุดการป้อนยาปฏิชีวนะระยะหนึ่งพบว่าจำนวนของเชื้ออี.โคไล และเชื้อซัลโมเนลล่า มีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนที่มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับรายงานของ Guo และคณะ (2006) ที่ได้ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติกจากลำไส้ไก่ มูลสุกร อาหารหมัก ดิน และ สมุนไพรของจีน พบว่า บาซิลลัส ซับติลิส MA139 มีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการเป็นโปรไบโอติกมากที่สุด จากนั้นจึงนำมาทดลองในลูกสุกรจำนวน 90 ตัว อายุระหว่าง 35 ถึง 40 วัน จากการทดลองพบว่าบาซิลลัส ซับติลิส MA139 สามารถเพิ่มอัตราเจริญเติบโตได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนอัตราการกินอาหารต่อ

ตัวต่อวันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการเสริมยาปฏิชีวนะ Flavomycin พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนการศึกษาจำนวนของแลคโตบาซิลลัส พบว่ามีจำนวนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจำนวนของอี. โคไล ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลทั้งหมดจึงสามารถสรุปได้ว่าบาซิลลัส ซับติลิส MA139 สามารถใช้เป็นทางเลือกเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ได้ และยังสอดคล้องกับรายงานของ Kornergay and Risley (1996) ที่ได้ทำการศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์บาซิลลัสที่มีต่อการย่อยได้ของข้าวโพด และกากถั่วเหลืองในอาหารสุกรขุน โดยศึกษาในสุกรเพศผู้ตอนที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 59.7 กิโลกรัม ซึ่งอาหารที่ใช้ในการทดสอบจะประกอบด้วยโปรตีน 14% ที่ได้จากข้าวโพด และกากถั่วเหลือง (ไลซีน 0.64%, แคลเซียม 0.6% และ ฟอสฟอรัส 0.5%) จากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับการเสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกมีอัตราการใช้อาหารดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนจำนวนจุลินทรีย์ในมูลพบว่าในช่วงแรกจำนวนจุลินทรีย์ประเภท collifrom มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ผลิตกรดมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มที่ได้รับการเสริม Biomate 2B® (BAC1) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ในกลุ่มที่ได้รับ Pelletmate Livestock® (BAC2) ส่วนน้ำหนักตัวพบว่ามีความใกล้เคียงกันทุกกลุ่มในทุกช่วงของการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการป้อนบาซิลลัส ซับติลิส สายพันธุ์แม่โจ้ 9 (MP 9) และ สายพันธุ์แม่โจ้10 (MP10) ต่อประสิทธิภาพการผลิตและจุลินทรีย์ในมูลของลูกสุกรระยะดูดนมพบว่า

1. ประสิทธิภาพในการเพิ่มน้ำหนักตัวของลูกสุกรพบว่าลูกสุกรในกลุ่มที่ได้รับการป้อน MP 9 และMP 10 มีน้ำหนักตัวที่อายุ 14 21 และ 28 วัน ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อน ยาปฏิชีวนะและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จึงสามารถสรุปได้ว่า MP 9 และ MP 10 สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเพิ่มน้ำหนักของลูกสุกรได้

2. อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันพบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อน โปรไบโอติก MP 9 และMP 10 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันสูงกว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะและลูกสุกรกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) จึงสามารถสรุปได้ว่า MP 9 และMP 10 สามารถช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของลูกสุกรได้

3. คะแนนของลูกสุกรที่แสดงอาการท้องเสียพบว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อน โปรไบโอติก MP 9 และMP 10 สามารถทำให้ลูกสุกรมีคะแนนของการแสดงอาการท้องเสียต่ำกว่าลูกสุกรที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุม ส่วนจำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติ พบว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติก MP 9 และMP 10 มีจำนวนวันที่เกิดอาการท้องเสียจนหายเป็นปกติต่ำกว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4. จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคในมูลของลูกสุกรอายุ 7 วัน พบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ มีจำนวนเชื้ออี.โคไล และซัลโมเนลล่าในต่ำกว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติก MP 9 และMP 10 และกลุ่มควบคุม ส่วนจำนวนเชื้อก่อโรคในมูลของลูกสุกรอายุ 11 วัน พบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติก MP 9 และMP 10 มีจำนวนเชื้ออี.โคไล และซัลโมเนลล่าในมูลต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุม สำหรับจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ในมูลของลูกสุกรอายุ 7 และ11 วันพบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับการป้อนโปรไบโอติก MP 9 และMP 10 มีจำนวน แลคโตบาซิลลัส และบาซิลลัส ซับติลิสในมูลมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการป้อนยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

เอกสารอ้างอิง

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

นลิน วงศ์ขัตติยะ และ ศรีกาญจนา คล้ายเรือง. 2546. **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา.** เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 76 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 cereu*s 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.

Bonomi, A., A. Quarantelli and C. Cerati. 1995. The use of *Bacillus subtilis* in association with enzyme pool in the feeding of sows and weaning piglets (experimental contribution). **La Rivista di scienza dell'alimentazione**. 24(4): 583-594.

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.

Garcia, M. I., S. Hansen, J. Sanchez and P. Medel. 2003. Efficacy of addition of *B. licheniformis* and *B. Subtilis* in pig diets from weaning to slaughter. **J. Anim. Sci.** 82: 26.

Guo, X., D. Li, W. Lu, X. Piao, and X. Chen. 2006. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of *in vivo* effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pig. **Ant. v. Leeuwenhoek J.** 90(2):139-146.

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 emission 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.

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 probiotic bacteria to human intestinal in healthy infants during rotavirus infection. **Clin. Dia. Lab. Immunol.** 8: 293-296.

Kornergay E. T. and C. R. Risley. 1996. Nutrient digestibilities of corn-soybean meal diet as influenced by bacillus product fed to finishing swine. **J. Anim. Sci**. 74:799-805.

Kyriakis, S.C., Tsiloyiannis, V.K., Vlemmas, J., Sarris, K., Tsinas, A.C. Alexopoulos, C., and Jansegers, L. 1999. The effect 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 (10thed).** 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 probiotics. **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. A**nn. 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.

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.

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 accumulation in pig large intestine during antibiotic associated diarrhea and the constitution of succinate-producing flora. **J. Gen Appl. Microbiol**. 48: 143-154.

Ushakova, N. A., E. V. Kotenkova, A. A. Kozlova and A. V. Nifatov. 2006. A study of the mechanism of probiotic effect of *Bacillus subtilis* strain 8130. **Appli. Biochem. and Microbiol.** 42(3): 252-257.

Ushakova, N. A., E. V. Kotenkova, A. A. Kozlova and A. V. Nifatov. 2006. A study of the mechanism of probiotic effect of *Bacillus subtilis* strain 8130. **Appli. Biochem. and Microbiol.** 42(3): 252-257.

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® ผลิตโดย 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 Acetate	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 + Chloramphenicol

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

ผลของบาซิลลัส ซับติลิส MP ต่อประสิทธิภาพการผลิตและจุลินทรีย์ในมูลของลูกสุกรระยะดูดนม

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนักลูกสุกรก่อนเริ่มทำการทดลอง

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	1.70	1.60	1.40	1.70
2	1.30	1.60	1.60	1.50
3	1.50	1.80	1.50	1.70
4	2.10	1.90	1.90	1.70
5	1.50	1.70	1.80	1.60
6	1.60	1.90	1.70	1.20
7	1.70	1.60	1.80	1.90
8	1.60	1.70	1.30	1.60
9	1.40	1.80	1.90	1.60
10	1.90	2.00	1.90	2.00
11	2.20	1.90	1.90	1.80
12	1.90	2.20	2.20	2.20
13	1.80	2.20	2.20	2.20
14	2.00	2.10	2.50	1.70
15	1.80	2.50	2.00	1.90
16	1.80	2.00	2.50	2.10
17	1.60	1.70	1.70	1.60
18	2.30	2.10	2.50	1.70
19	1.90	1.60	1.50	1.50
20	1.50	1.60	1.60	1.80
Total	35.10	37.50	37.40	35.00
$\overline{X}$	1.75	1.875	1.87	1.755

ตารางผนวกที่ 2 น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 7 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	2.40	2.30	1.80	2.40
2	1.50	2.30	2.20	2.10
3	2.00	2.70	1.90	3.30
4	3.20	1.70	3.40	3.10
5	2.40	2.70	3.50	2.80
6	2.40	3.10	2.90	2.10
7	2.70	3.00	3.30	2.20
8	2.30	2.80	2.10	2.10
9	2.70	2.90	3.00	2.70
10	2.90	3.40	2.90	3.20
11	3.40	3.10	3.10	2.70
12	2.50	2.80	2.60	2.80
13	2.20	3.00	2.90	3.10
14	3.70	4.00	5.10	3.20
15	3.40	4.60	3.80	3.60
16	3.20	3.90	4.10	3.90
17	2.80	3.10	2.70	2.90
18	3.40	3.30	4.40	2.70
19	3.00	2.60	2.60	2.40
20	2.40	2.60	2.60	2.80
Total	54.50	59.90	60.90	56.10
$\overline{X}$	2.725	2.995	3.045	2.805

ตารางผนวกที่ 3 น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 14 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	3.90	3.30	2.20	4.30
2	2.20	3.20	3.30	2.70
3	2.90	4.80	2.80	4.70
4	3.70	2.30	6.00	4.90
5	3.30	3.50	4.50	3.40
6	3.60	4.20	4.10	3.10
7	3.10	5.80	5.60	3.50
8	3.70	3.80	3.90	3.90
9	3.90	4.30	4.60	4.10
10	4.30	5.00	4.30	4.60
11	4.70	4.50	4.50	4.20
12	3.50	4.00	3.90	3.60
13	2.90	4.50	4.10	4.50
14	4.40	4.90	5.90	3.50
15	4.20	5.00	4.60	4.40
16	3.80	5.80	6.80	4.10
17	2.40	3.60	3.00	2.50
18	5.00	4.60	5.00	3.70
19	4.00	3.80	3.90	3.10
20	3.20	3.80	3.50	3.70
Total	72.70	84.70	86.50	76.50
$\overline{X}$	3.635	4.235	4.325	3.825

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 14 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	6.303	3	2.101	2.742*	0.049
Within Groups	58.227	76	0.766		
Total	64.530	79			

หมายเหตุ SEM = 0.276

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 5 น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 21 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	5.30	4.10	3.50	6.00
2	2.50	4.80	4.30	3.90
3	3.10	5.90	4.10	5.60
4	5.00	3.50	7.40	6.20
5	4.20	4.60	6.70	4.40
6	4.60	5.40	5.50	4.40
7	4.20	8.00	8.00	4.90
8	4.40	4.90	5.60	4.80
9	5.40	6.40	6.80	5.80
10	6.10	7.40	6.40	6.70
11	7.20	6.00	6.70	5.90
12	4.00	4.60	4.20	4.00
13	3.60	6.40	4.80	4.90
14	6.30	7.10	9.00	5.60
15	6.20	7.80	6.60	6.60
16	5.00	6.80	9.30	5.40
17	2.40	4.90	3.10	2.80
18	6.00	5.60	6.50	5.20
19	5.50	5.30	5.40	4.50
20	4.60	5.30	4.50	5.30
Total	95.60	114.80	118.40	102.90
$\overline{X}$	4.78	5.74	5.92	5.14

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 21 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	16.462	3	5.487	3.084*	0.032
Within Groups	135.208	76	1.779		
Total	151.670	79			

หมายเหตุ SEM = 0.421

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 7 น้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 28 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	6.30	6.20	5.20	8.00
2	4.30	7.20	6.20	5.70
3	4.10	6.50	6.30	6.50
4	6.40	5.40	9.30	8.30
5	5.70	5.90	8.60	5.60
6	4.80	6.90	6.80	5.20
7	4.40	10.20	10.00	6.40
8	4.50	5.80	7.20	6.50
9	6.30	7.10	7.90	6.70
10	6.90	8.40	7.60	7.60
11	8.40	6.90	7.60	6.70
12	5.40	6.00	5.50	5.40
13	5.00	6.70	6.10	6.40
14	7.40	9.00	10.30	7.00
15	7.40	9.30	8.20	7.80
16	6.00	9.00	11.00	6.50
17	3.40	5.10	4.30	3.70
18	9.60	7.60	8.40	6.60
19	6.70	7.70	6.70	6.00
20	6.00	6.80	5.70	7.00
Total	119.00	143.70	148.90	129.60
$\overline{X}$	5.95	7.185	7.445	6.48

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักลูกสุกรที่อายุ 28 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	28.012	3	9.337	4.297**	0.007
Within Groups	165.135	76	2.173		
Total	193.147	79			

หมายเหตุ SEM = 0.465

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

ตารางผนวกที่ 9 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 3-7 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	100.00	100.00	57.00	100.00
2	29.00	100.00	86.00	86.00
3	71.00	129.00	57.00	229.00
4	157.00	.00	214.00	200.00
5	129.00	143.00	243.00	171.00
6	114.00	171.00	171.00	129.00
7	143.00	200.00	214.00	43.00
8	100.00	157.00	114.00	71.00
9	186.00	157.00	157.00	157.00
10	143.00	200.00	143.00	171.00
11	171.00	171.00	171.00	129.00
12	86.00	86.00	57.00	86.00
13	57.00	114.00	100.00	129.00
14	243.00	271.00	371.00	214.00
15	229.00	300.00	257.00	243.00
16	200.00	271.00	229.00	257.00
17	114.00	200.00	143.00	129.00
18	157.00	171.00	271.00	143.00
19	157.00	143.00	157.00	129.00
20	129.00	143.00	143.00	143.00
Total	2715.00	3227.00	3355.00	2959.00
$\overline{X}$	135.75	161.35	167.75	147.95

ตารางผนวกที่ 10 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 8-14 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	214.00	143.00	57.00	271.00
2	100.00	129.00	157.00	86.00
3	129.00	300.00	129.00	200.00
4	71.00	57.00	371.00	257.00
5	129.00	114.00	143.00	86.00
6	171.00	157.00	171.00	143.00
7	57.00	400.00	329.00	186.00
8	200.00	143.00	257.00	257.00
9	171.00	200.00	229.00	200.00
10	200.00	229.00	200.00	200.00
11	186.00	200.00	200.00	214.00
12	143.00	171.00	186.00	114.00
13	100.00	214.00	171.00	200.00
14	100.00	129.00	114.00	43.00
15	114.00	57.00	114.00	114.00
16	86.00	271.00	386.00	29.00
17	0.00	71.00	43.00	43.00
18	229.00	186.00	86.00	143.00
19	143.00	171.00	186.00	100.00
20	114.00	171.00	129.00	129.00
Total	2657.00	3513.00	3658.00	3015.00
$\overline{X}$	132.85	175.65	182.9	150.75

ตารางผนวกที่ 11 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 15-21 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	200.00	114.00	186.00	243.00
2	43.00	229.00	143.00	171.00
3	29.00	157.00	186.00	129.00
4	186.00	171.00	200.00	186.00
5	129.00	157.00	314.00	143.00
6	143.00	171.00	200.00	186.00
7	157.00	314.00	343.00	200.00
8	100.00	157.00	243.00	129.00
9	214.00	300.00	314.00	243.00
10	257.00	343.00	300.00	300.00
11	357.00	214.00	314.00	243.00
12	71.00	86.00	43.00	57.00
13	100.00	271.00	100.00	57.00
14	271.00	314.00	443.00	300.00
15	286.00	400.00	286.00	314.00
16	171.00	143.00	357.00	186.00
17	57.00	186.00	14.00	14.00
18	143.00	143.00	214.00	214.00
19	214.00	214.00	214.00	200.00
20	200.00	214.00	143.00	229.00
Total	3328.00	4298.00	4557.00	3744.00
$\overline{X}$	166.40	214.90	227.85	187.20

ตารางผนวกที่ 12 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 22-28 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	143.00	300.00	243.00	286.00
2	257.00	343.00	271.00	257.00
3	143.00	86.00	314.00	129.00
4	200.00	271.00	271.00	300.00
5	214.00	186.00	271.00	171.00
6	29.00	214.00	186.00	114.00
7	29.00	314.00	286.00	214.00
8	14.00	129.00	229.00	243.00
9	129.00	100.00	157.00	129.00
10	114.00	143.00	171.00	129.00
11	171.00	129.00	129.00	114.00
12	200.00	200.00	186.00	200.00
13	200.00	43.00	186.00	214.00
14	157.00	271.00	186.00	200.00
15	171.00	214.00	229.00	171.00
16	143.00	314.00	243.00	157.00
17	86.00	29.00	171.00	114.00
18	514.00	286.00	271.00	200.00
19	171.00	343.00	186.00	214.00
20	200.00	214.00	171.00	243.00
Total	3285.00	4129.00	4357.00	3299.00
$\overline{X}$	164.25	206.45	217.85	189.95

ตารางผนวกที่ 13 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 3-28 วัน

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	164.00	164.00	136.00	225.00
2	107.00	200.00	164.00	150.00
3	93.00	168.00	171.00	171.00
4	154.00	125.00	264.00	236.00
5	150.00	150.00	243.00	143.00
6	114.00	179.00	182.00	143.00
7	96.00	307.00	293.00	161.00
8	104.00	146.00	211.00	175.00
9	175.00	189.00	214.00	182.00
10	179.00	229.00	204.00	200.00
11	221.00	179.00	204.00	175.00
12	125.00	136.00	118.00	114.00
13	114.00	161.00	139.00	150.00
14	193.00	246.00	279.00	189.00
15	200.00	243.00	221.00	211.00
16	150.00	250.00	304.00	157.00
17	64.00	121.00	93.00	75.00
18	261.00	196.00	211.00	175.00
19	171.00	218.00	186.00	161.00
20	161.00	186.00	146.00	186.00
Total	2996.00	3793.00	3983.00	3379.00
$\overline{X}$	149.80	189.65	199.15	168.95

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนอัตราการเจริญเติบโตต่อวันช่วงอายุ 3-28 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	29104.738	3	9701.579	4.149**	0.009
Within Groups	177701.250	76	2338.174		
Total	206805.990	79			

หมายเหตุ SEM =5.720

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 15 คะแนนของลูกสุกรที่เกิดอาการท้องเสีย

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	0.00	0.00	1.00	0.00
2	1.00	1.00	0.00	1.00
3	1.00	0.00	0.00	0.00
4	1.00	1.00	0.00	0.00
5	0.00	1.00	0.00	1.00
6	1.00	0.00	0.00	0.00
7	1.00	0.00	0.00	0.00
8	1.00	0.00	0.00	0.00
9	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.00	0.00	0.00	0.00
11	0.00	0.00	0.00	0.00
12	1.00	0.00	1.00	1.00
13	1.00	1.00	1.00	1.00
14	1.00	1.00	0.00	1.00
15	0.00	0.00	0.00	0.00
16	1.00	1.00	1.00	1.00
17	1.00	0.00	1.00	1.00
18	0.00	1.00	1.00	0.00
19	0.00	0.00	0.00	0.00
20	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	11.00	7.00	6.00	7.00
$\overline{X}$	0.55	0.35	0.30	0.35

ตารางผนวกที่ 16 จำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหาย

ลูกสุกรตัวที่	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	0.00	0.00	5.00	0.00
2	12.00	6.00	0.00	3.00
3	10.00	0.00	0.00	0.00
4	7.00	3.00	0.00	0.00
5	0.00	6.00	0.00	5.00
6	6.00	0.00	0.00	0.00
7	15.00	0.00	0.00	0.00
8	6.00	0.00	0.00	0.00
9	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.00	0.00	0.00	0.00
11	0.00	0.00	0.00	0.00
12	5.00	0.00	4.00	5.00
13	5.00	3.00	3.00	5.00
14	5.00	4.00	0.00	3.00
15	0.00	0.00	0.00	0.00
16	10.00	4.00	5.00	5.00
17	13.00	0.00	10.00	14.00
18	0.00	6.00	3.00	0.00
19	0.00	0.00	0.00	0.00
20	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	94.00	32.00	30.00	40.00
$\overline{X}$	4.70	1.60	1.50	2.00

ตารางผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนวันที่ลูกสุกรเกิดอาการท้องเสียจนหาย

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	132.500	3	44.167	5.300**	0.002
Within Groups	633.300	76	8.333		
Total	765.800	79			

หมายเหตุ SEM = 0.912

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 18 จำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	4.91	3.93	4.60	3.54
2	4.83	4.55	4.58	3.57
3	4.85	3.81	4.57	3.95
4	4.77	4.66	4.61	3.54
5	4.56	4.57	4.05	3.52
Total	23.92	21.52	22.41	18.12
$\overline{X}$	4.784	4.304	4.482	3.624

ตารางผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	3.622	3	1.207	17.835**	0.0001
Within Groups	1.083	16	0.068		
Total	4.705	19			

หมายเหตุ SEM = 0.164

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 20 จำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	3.67	2.64	3.56	3.54
2	3.63	2.63	2.81	2.59
3	3.76	2.80	3.61	2.56
4	3.74	2.91	3.51	2.68
5	3.76	2.69	2.73	2.66
Total	18.56	13.67	16.22	14.03
$\overline{X}$	3.712	2.734	3.244	2.806

ตารางผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	3.067	3	1.022	10.825**	0.0001
Within Groups	1.511	16	0.094		
Total	4.578	19			

หมายเหตุ SEM = 0.194

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 22 จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	10.54	11.36	10.95	9.03
2	8.68	11.17	10.92	11.24
3	10.74	11.37	11.25	10.53
4	9.01	11.39	11.13	10.99
5	9.17	11.04	10.94	10.92
Total	48.14	56.33	55.19	52.71
$\overline{X}$	9.628	11.266	11.038	10.542

ตารางผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	7.911	3	2.637	6.154**	0.006
Within Groups	6.856	16	0.428		
Total	14.767	19			

หมายเหตุ SEM = 0.414

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 24 จำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	6.56	8.54	8.59	6.51
2	6.72	8.51	8.51	6.51
3	6.72	8.71	8.59	6.52
4	6.55	7.13	7.09	6.55
5	6.67	8.50	7.08	6.51
Total	33.22	41.39	39.86	32.60
$\overline{X}$	6.644	8.278	7.972	6.520

ตารางผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 7 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	12.177	3	4.059	14.990**	0.0001
Within Groups	4.332	16	0.271		
Total	16.509	19			

หมายเหตุ SEM = 0.329

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 26 จำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	7.78	5.92	6.77	6.90
2	7.86	6.69	6.53	6.52
3	7.78	6.56	5.88	7.63
4	7.74	6.56	6.77	7.50
5	7.54	5.86	5.79	6.75
Total	38.7	31.59	31.74	35.30
$\overline{X}$	7.74	6.318	6.348	7.060

ตารางผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้ออี.โคไลในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	6.851	3	2.284	14.426**	0.0001
Within Groups	2.533	16	0.158		
Total	9.383	19			

หมายเหตุ SEM = 0.251

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 28 จำนวนเชื้อซัลโมเนลลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	4.55	3.51	3.56	3.55
2	3.70	3.53	3.51	3.53
3	4.52	3.51	3.53	3.55
4	3.79	2.53	3.54	3.56
5	3.69	3.49	2.72	3.53
Total	20.25	16.57	16.86	17.72
$\overline{X}$	4.05	3.314	3.372	3.544

ตารางผนวกที่ 29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	1.679	3	0.560	4.278*	0.021
Within Groups	2.093	16	0.131		
Total	3.772	19			

หมายเหตุ SEM = 0.228

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 30 จำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	9.51	11.00	10.85	9.93
2	9.69	11.31	11.28	10.52
3	8.67	11.07	10.53	10.54
4	9.52	10.99	10.57	10.51
5	8.77	11.08	10.56	10.54
Total	46.16	55.45	53.79	52.04
$\overline{X}$	9.232	11.090	10.758	10.408

ตารางผนวกที่ 31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	9.827	3	3.276	31.572**	0.0001
Within Groups	1.660	16	0.104		
Total	11.487	19			

หมายเหตุ SEM = 0.203

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ตารางผนวกที่ 32 จำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

ซ้ำ	Treatment			
	Control	MP 9	MP 10	Chlortetracycline
1	3.53	4.63	4.53	3.74
2	3.54	4.95	4.56	3.74
3	3.55	4.78	4.73	3.61
4	3.74	4.52	4.58	3.74
5	3.54	4.53	3.90	3.73
Total	17.90	23.41	22.30	18.56
$\overline{X}$	3.580	4.682	4.460	3.712

ตารางผนวกที่ 33 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนเชื้อบาซิลลัส ซับติลิสในมูลลูกสุกรอายุ 11 วัน

Source	Sum of squares	df	Mean squares	F-Value	Sig
Between Groups	4.445	3	1.482	39.872**	0.0001
Within Groups	0.595	16	0.037		
Total	5.039	19			

หมายเหตุ SEM = 0.203

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)